

CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE MINAS GERAIS

Departamento de Química

Bacharelado em Química Tecnológica

LUANA ROCHA DO CARMO

**PREPARO DE NANOSSISTEMAS POLIMÉRICOS PARA LIBERAÇÃO
CONTROLADA DE GÁLIO(III) PARA APRIMORAR AÇÃO ANTITUMORAL**

Belo Horizonte- MG

2025

Luana Rocha do Carmo

**PREPARO DE NANOSSISTEMAS POLIMÉRICOS PARA LIBERAÇÃO
CONTROLADA DE GÁLIO(III) PARA APRIMORAR AÇÃO ANTITUMORAL**

Trabalho de Conclusão apresentado na modalidade Monografia ao Curso Química Tecnológica do Centro Federal de Educação Tecnológica como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Química Tecnológica.

Orientador (a): Profa. Dra. Priscila P. Silva Caldeira

Coorientador (a): Dra. Kele Cristina Ferreira Dantas

Belo Horizonte

2025

FOLHA DE APROVAÇÃO

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus, sem o qual eu não teria forças para continuar. Aos meus pais, por toda a dedicação, carinho, por nunca desistirem de mim e por me ensinarem a nunca desistir dos meus sonhos, sem vocês nada seria possível. Em especial a minha mãe Lúcia que me aguentou durante meus momentos de estresse, que me viu triste quando as análises e as reações davam errado e nunca soltava minha mão.

À minha orientadora a Professora Doutora Priscila Pereira Silva Caldeira, que me deu a oportunidade de trabalhar com um tema tão significativo e que não desistiu de mim mesmo depois de anos e 3 temas diferentes. Desejo a você todo sucesso do mundo e muitas outras parcerias por vir.

Ao anjo do meu trabalho, minha coorientadora, Doutora Kele Cristina Ferreira Dantas que salvou esse trabalho tantas vezes, durante as minhas correrias diárias e sem quem esse trabalho não teria saído. Espero poder voltar a trabalhar com você no futuro.

Ao pessoal do QInotec pelas contribuições, apoio e convívio e aos meus professores do curso de Química Tecnológica que me passaram todos os ensinamentos utilizados durante a confecção deste trabalho.

Aos meus amigos que aguentaram saídas perdidas e sumiços esporádicos, especialmente aos meus amigos Daniel e Hemerson, que me ajudaram quando eu precisei e por todos os nossos anos de amizade.

À minha panelinha pessoal Carol, Douglas, Flávia, Daniele e Ester por me aguentarem por todo esse caminho e sempre me encorajarem.

*“A química é a ciência central, [...] e a
biologia é seu ramo”*
- *Linus Pauling (adaptado)*

RESUMO

O câncer hoje é uma das maiores preocupações no mundo e os tratamentos efetivos contra essa doença possuem elevados efeitos colaterais; portanto, é importante o desenvolvimento de estratégias que visem vetorizar os ativos para maximizar a ação farmacológica e minimizar efeitos colaterais. O gálio é uma boa alternativa de tratamento do câncer, uma vez que os íons de gálio(III) conseguem mimetizar o ferro(III), fazendo com que as proteínas carreadoras do ferro não consigam distingui-los. Sendo assim, fazendo com que a necessidade de ferro das células tumorais não seja suprida e interferir nas metaloenzimas à base de ferro(III) importantes no processo de síntese do DNA. Contudo, o gálio possui baixa biodisponibilidade, o que impede sua administração por via oral. Neste trabalho foram desenvolvidos dois nanossistemas poliméricos utilizando íons de gálio(III) como reticulante iônico, com o objetivo de melhorar a entrega do gálio por via oral. Nos primeiros nanossistemas, denominamos N1A, N1B e N1C, foram utilizadas soluções de alginato de sódio (SA) e de nitrato de gálio aquoso, por sua vez, nos segundos nanossistemas, denominados N2A, N2B e N2C, foram utilizadas soluções de alginato de sódio reticulado ao gálio e solução de quitosana (CS). Os sistemas obtidos foram submetidos a análises de potencial Zeta, tamanho de partícula e análise da dosagem de gálio para cálculo da eficiência de encapsulamento. As amostras apresentaram tamanhos variando entre 515 à 743 nm para os nanossistemas 1 e variando de 260 a 340 nm para os nanossistemas 2. Foi observado um aumento tanto nos valores de eficiência de encapsulamento quanto nos rendimentos, bem como uma diminuição no tamanho de partícula, para os nanossistemas obtidos após a adição de quitosana. A presença dos polímeros (quitosana e alginato) e dos nanossistemas poliméricos (PNPs) obtidos foi confirmada por meio de espectroscopia vibracional na região do infravermelho. A análise do potencial Zeta indicou limitações quanto à estabilidade das nano formulações, pois os valores obtidos foram abaixo de 30mV, mesmo não sendo este um parâmetro determinante para nano formulações de uso oral. Assim, ao obter tamanhos próximos a 200 nm, parâmetro importante para a biodisponibilidade do gálio com bom %EE, observa-se que sistemas utilizando quitosana apresentaram potencial para liberação controlada de gálio(III) a fim de potencializar sua ação antitumoral.

Palavras-chave: nano sistema polimérico, câncer, gálio(III), alginato de sódio, quitosana

ABSTRACT

Cancer is one of the biggest concerns in the world today, and effective treatments for this disease have significant side effects. Therefore, it is important to develop strategies that aim to vectorize active ingredients to maximize pharmacological action and minimize side effects. Gallium is a good alternative for cancer treatment, since gallium(III) ions can mimic iron(III), making it impossible for iron-carrying proteins to distinguish between them, thus preventing the iron needs of tumor cells from being met and also interfering with iron(III)-based metalloenzymes that are important in the DNA synthesis process. However, gallium has low bioavailability, which prevents its oral administration. This study developed two polymeric nano systems using gallium(III) ions as crosslinkers to improve oral gallium delivery. The initial nano systems, designated as N1A, N1B, and N1C, were prepared using sodium alginate (SA) in conjunction with aqueous gallium nitrate solutions. In N2A, N2B, and N2C nano systems, sodium alginate and chitosan (CS) were crosslinked with gallium. The nano systems underwent analyses for zeta potential, particle size, and gallium dosage to determine encapsulation efficiency. The samples had sizes ranging from 515 to 743 nm for nano systems 1 and from 260 to 340 nm for nano systems 2. Adding chitosan increased encapsulation efficiency and yield, while reducing particle size in the resulting nano systems. Infrared vibrational spectroscopy confirmed the presence of chitosan, alginate, and polymeric nanoparticles (PNPs). The Zeta potential analysis indicated limitations in the stability of the nano formulations, as the values obtained were below 30 mV, even though this is not a determining parameter for oral nano formulations. Therefore, achieving particle sizes near 200 nm—a crucial factor for the bioavailability of gallium with high encapsulation efficiency (%EE)—demonstrated that chitosan-based systems have potential for the controlled release of gallium(III), thereby enhancing its antitumor efficacy.

Keywords: polymeric nano system, cancer, gallium(III), sodium alginate, chitosan

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. CICLO DE SURGIMENTO DO CÂNCER.....	2
FIGURA 2. ESQUEMA COM ILUSTRAÇÃO DE ALGUMAS VANTAGENS DO USO DE DISPOSITIVOS POLIMÉRICOS COMO NANOCARREADORES DE FÁRMACOS.	4
FIGURA 3. ILUSTRAÇÃO ESQUEMÁTICA DAS VIAS PASSIVA E ATIVA DE INTERNALIZAÇÃO DOS NANOCARREADORES EM CÉLULAS TUMORAIS E DA LIBERAÇÃO CONTROLADA DE METALOFÁRMACOS A PARTIR DAS NPS POR ESTÍMULOS INTRÍNSECOS E/OU EXTRÍNSECOS.	6
FIGURA 4. ESTRUTURA MOLECULAR DA QUITOSANA.....	10
FIGURA 5. ESTRUTURA MOLECULAR DO BLOCO G, BLOCO M E DO BLOCO ALTERNADO DO ALGINATO	11
FIGURA 6. FIGURA ESQUEMÁTICA MOSTRANDO UMA POSSÍVEL COMPLEXAÇÃO ENTRE O GÁLIO E O ALGINATO	12
FIGURA 7. ILUSTRAÇÃO ESQUEMÁTICA DAS INTERAÇÕES ENTRE QUITOSANA E ALGINATO	13
FIGURA 8. FIGURA REPRESENTATIVA DO APARATO UTILIZADO NAS SÍNTESES_	19
FIGURA 9. REAÇÃO DE RETICULAÇÃO IÔNICA ENTRE O GÁLIO E O ALGINATO_	21
FIGURA 10. COMPLEXO POLIELETRÔNICO FORMADO ENTRE O RETÍCULO IÔNICO DE GÁLIO-ALGINATO E A QUITOSANA	21
FIGURA 11. ESPECTROS VIBRACIONAIS DAS NANOPARTÍCULAS REFERENTES AOS PNP'S 1 E 2.....	25

LISTA DE TABELAS

TABELA 1- DADOS E PROPRIEDADES DOS REAGENTES UTILIZADOS	16
TABELA 2- DADOS DOS EQUIPAMENTOS UTILIZADOS	16
TABELA 3- VOLUMES (ML) DAS SOLUÇÕES PARA OBTENÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS	18
TABELA 4-MASSAS OBTIDAS PARA OS NANOSISTEMAS	22
TABELA 5- CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DOS MATERIAIS OBTIDOS....	22
TABELA 6-VALORES DE CONCENTRAÇÃO ENCONTRADAS.....	24
TABELA 7-VALORES DE EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAMENTO (%EE) PARA CADA NANOSISTEMA DE PNP	24

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

°C: Grau Celsius

5'UTR: Região 5' não traduzida do mRNA

ABS: Absorbância

CS: Quitosana

DNA: Ácido desoxirribonucleico

Efeito colateral: É um efeito não pretendido causado por um medicamento

EPR- Enhanced permeability and Retention. *Trad.* permeabilidade e retenção melhorada

FDA- Food and drug administration. *Trad.* Órgão de administração de alimentos e fármacos

IRE: Elementos de resposta ao ferro

IRP: Proteínas reguladoras de ferro

ISO- Organização internacional de normalização

IV: Infravermelho

OMS- Organização mundial de saúde

mg: Miligrama

mL: Mililitro

mm: Milímetro

mRNA: RNA mensageiro

U.S. NCI- National Cancer Institute of the United States. *Trad.* Instituto nacional de câncer dos Estados Unidos.

NP: Nanopartícula

PEC: Complexos polieletrônicos

PNP: Nanosistema polimérico

RNA: Ácido Ribonucleico

RR: Ribonuclease redutase

SA: Alginato de sódio

SRE: Sistema retículo endotelial

Tf: Transferrina

TfR1: Receptor 1 de transferrina

Toxicidade: Capacidade de uma substância de causar efeitos nocivos ao organismo como um todo ou a parte dele. No caso de medicamentos a toxicidade pode estar relacionada a algum composto presente em sua fórmula ou por possíveis sobredosagens.

UV: Ultravioleta

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVOS.....	1
2.1 OBJETIVO GERAL.....	1
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	2
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	2
3.1 O CÂNCER	2
3.2 NANOCIÊNCIA	3
3.3 NANOSISTEMAS DE ENTREGA DE MEDICAMENTOS.....	5
3.4 NANOSISTEMAS POLIMÉRICOS.....	7
3.5 USO MEDICINAL DO GÁLIO(III).....	7
3.6 OBTENÇÃO DE UM NANOSISTEMA POLIMÉRICO PARA CARREAMENTO DE GÁLIO(III).....	9
3.6.1 Polímeros.....	10
3.7 VARIÁVEIS QUE PODEM IMPACTAR NA ENTREGA DE MEDICAMENTOS.....	13
3.7.1 Potencial Zeta	14
3.7.2 Tamanho de partícula	15
3.7.3 pH	15
4 PARTE EXPERIMENTAL.....	16
4.1 REAGENTES.....	16
4.2 INSTRUMENTOS E EQUIPAMENTOS.....	16
4.5 PROCEDIMENTOS	17
4.5.1 Obtenção de nanopartículas.....	17
4.5.1 Métodos de análise	19
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO DE RESULTADOS	20
5.1 PREPARO DOS NANOSSISTEMAS	20
5.2 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS.....	22
5.2.1 Tamanho de partícula, potencial Zeta e pH.....	22
5.2.2 Dosagem de gálio presente nos sobrenadantes.....	23
5.2.3 Eficiência de encapsulamento %EE	24
5.2.4 Espectrometria vibracional na região do infravermelho.....	25
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS.....	26

REFERÊNCIAS	28
-------------------	----

1 INTRODUÇÃO

O câncer atualmente, é uma das principais preocupações de saúde no mundo, um estudo realizado pelo INCA em 2022 estimou para o período de 2023 a 2025 cerca de 704 mil casos por ano. Devido à diversidade do câncer no organismo, é importante considerar tratamentos que possam reduzir os efeitos colaterais dos atuais tratamentos e aumentar as chances de sucesso. A utilização de sistemas de entrega de medicamentos pode ser eficaz no tratamento do câncer, pois as nanopartículas podem ser direcionadas e se acumular em áreas inflamadas ou tumorais, facilitando o tratamento.(ANDRADE *et al.*, 2023; INCA, 2022a; FERREIRA, 2018; SANFELICE *et al.*, 2022; PRATA *et al.*, 2017)

Alguns estudos investigam a utilização de íons de gálio(III) no tratamento de neoplasias, considerando que esses íons possuem características físico-químicas semelhantes às do ferro(III). Pelo fato do íon gálio(III) possuir a relação carga/raio similar ao do íon ferro(III), as proteínas carreadoras do ferro não conseguem distinguir esses dois íons, fazendo com que a necessidade de ferro das células tumorais não seja suprida, uma vez que o gálio(III) poder ser absorvido pelas células no lugar do ferro(III). Assim, é possível sua complexação com proteínas que se ligam ao ferro, ajudando a interromper o crescimento de células tumorais, o gálio também pode se acumular em células tumorais, através de vetorização ativa, permitindo uma entrega mais focada, o que pode resultar em menos efeitos colaterais e maior eficácia em tratamentos convencionais. A complexação do íon Ga^{3+} com ligantes orgânicos é atualmente vista como uma estratégia promissora para terapias inibidoras de tumores, especialmente em relação à biodisponibilidade oral. Esses fatores, juntamente com o fato de o gálio não ter função fisiológica conhecida e sua baixa toxicidade, fazem dele uma alternativa interessante no tratamento de neoplasias como linfomas, câncer de bexiga, câncer de pulmão e câncer de mama. (CHITAMBAR, 2010; CHITAMBAR, MATTHAEUS, ANTHOLINE,1988)

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver nanossistemas de entrega de gálio(III) por via oral.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1 Preparar e caracterizar dois tipos de nanossistemas:

1.1 Nanopartículas de alginato de sódio utilizando gálio(III) como reticulante iônico;

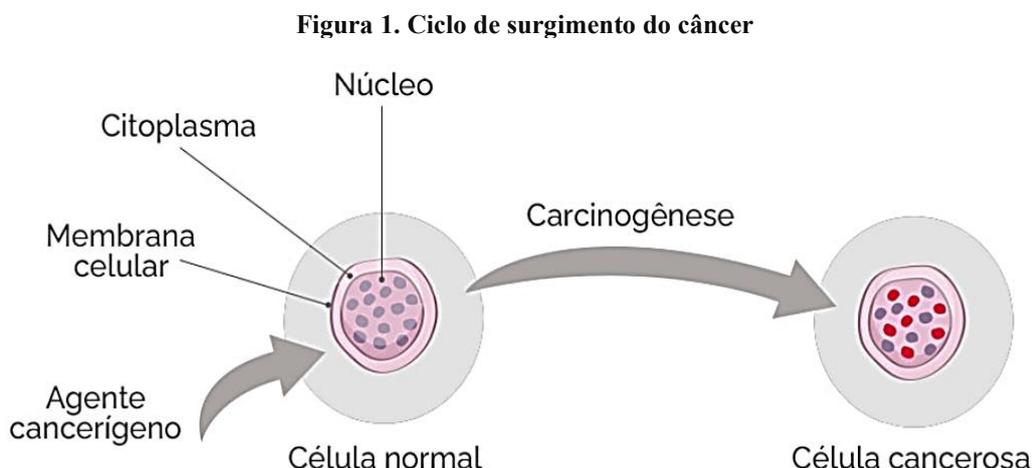
1.2 Nanopartículas de alginato de sódio utilizando gálio(III) como reticulante iônico com posterior formação de complexo polieletrônico com quitosana;

2 Estudar eficiência de encapsulamento de gálio(III) em ambos os sistemas;

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 O CÂNCER

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) o câncer pode ser definido como sendo um conjunto de doenças que se caracterizam pelo crescimento descontrolado de células anormais no organismo. Geralmente, isso ocorre devido a mudanças em genes específicos (os oncogenes) que controlam como as células crescem e se dividem. Esse processo de transformação de células normais em células doentes se chama carcinogênese e está representado na figura 1. (GUYTON, HALL, 2011; GAD *et al.*, 2015)



Fonte: adaptado de INCA- Como surge o câncer?

Existem diversos fatores que influenciam o aparecimento, a promoção e a progressão de um tumor dentre eles estão fatores externos relacionados ao meio no qual a pessoa está inserida e a hábitos próprios da pessoa, como por exemplo o contato com compostos cancerígenos ou o hábito prolongado de fumar. Outros fatores que contribuem para o

aparecimento do câncer são fatores internos como fatores genéticos. O tratamento do câncer comumente pode ser realizado através de cirurgia, quimioterapia, radioterapia ou transplante de medula óssea, a esses tratamentos são relatadas falhas regulares como resistência a drogas e questões farmacológicas como a toxicidade medicamentosa que aliada aos efeitos colaterais, impactam na qualidade de vida do paciente. Avanços relacionados à nanotecnologia, permitem a combinação de tratamentos como forma de, não apenas, melhorar as propriedades dos medicamentos, mas também reduzir a incidência de efeitos colaterais. (INCA, 2022b; INCA, 2022c; GONÇALVES, HAAS, 2021; WANG *et al.*, 2024)

3.2 NANOCIÊNCIA

Em 1985, o físico norte-americano Richard Feynman apresentou a possibilidade de controlar e obter materiais em escalas reduzidas. Em uma de suas palestras, Feynman afirmou que não existiriam limites físicos para a manipulação da matéria em níveis extremamente pequenos. No ano de 1974 o professor universitário Norio Taniguchi associou o conceito “nano” a tecnologia para descrever processos de semicondução que ocorreram na ordem de 1 nm. Ele defendia que a nanotecnologia consistia no processamento, separação, consolidação e deformação de materiais em níveis atômicos e através de uma molécula. (BAYDA *et. al.*, 2020; FERREIRA, 2018; HULLA, SAHU, HAYES, 2015)

De acordo com a ISO/TC 229/2005, de forma geral um material é classificado como nanomaterial quando apresenta dimensões compreendidas entre 1 e 100 nm. A FDA, por sua vez, permite que para medicamentos que apresentem nanopartículas em sua formulação, se o tamanho for projetado para exibir propriedades ou fenômenos específicos, seja considerado como nano produtos com uma ou mais dimensões de até 1000 nm. Devido à pequena escala do material, propriedades físicas e químicas são alteradas àquelas apresentadas pelo mesmo material em escala macrométrica. Isso se deve ao aumento da quantidade de átomos presentes na superfície do material, o que é denominado dispersão. (ISO, 2005; FDA, 2024)

A nanomedicina é uma vertente moderna da medicina que surgiu para aproveitar os avanços no uso de nanomateriais dentro da prática médica tradicional. O termo “nanomedicina” combina as palavras “nano” e “medicina” e envolve o desenvolvimento de técnicas para melhorar a entrega de medicamentos. A capacidade de adicionar moléculas à superfície de nanopartículas possibilita o uso desses materiais em diagnósticos e terapias. A área começou a

se consolidar com essa proposta. Muitos medicamentos com estrutura “nano” já foram aprovados pela FDA (Food and Drug Administration) e estão disponíveis comercialmente. (ANDRADE *et al.*, 2023; JASMIN, BOROJEVIC, 2018)

As matrizes poliméricas têm atraído grande interesse como carreadores para liberação de fármacos devido à sua boa farmacocinética, tempo prolongado de circulação na corrente sanguínea, propriedades desejáveis de biocompatibilidade e biodegradabilidade, adaptabilidade de composição e outras características vantajosas, conforme esquematizado na Figura 2. (DANTAS, 2022)

Figura 2. Esquema com ilustração de algumas vantagens do uso de dispositivos poliméricos como nanocarreadores de fármacos.



FONTE: ADAPTADO DE DANTAS *et al.* (2022)

A ação de agentes antitumorais sobre o DNA celular, promovendo alterações em sua estrutura e bloqueando sua replicação, é uma estratégia terapêutica consolidada, especialmente quando mediada por complexos metálicos. A nanotecnologia potencializa essa abordagem por meio da nanoentrega, garantindo maior seletividade e eficácia dos fármacos. Além disso, novas aplicações emergem, como diagnósticos moleculares e terapias personalizadas. Nesse contexto,

o Instituto Nacional do Câncer destaca a nanotecnologia como uma aliada promissora no enfrentamento do câncer. (ZAKI, ARKMAND, TABASSUN, 2016; ALEXIS, 2010)

3.3 NANOSISTEMAS DE ENTREGA DE MEDICAMENTOS

Nanomateriais carreadores de medicamentos são partículas coloidais que apresentam a possibilidade de aumentar a estabilidade e a solubilidade dos medicamentos, permitindo a entrega direcionada e a liberação controlada dos medicamentos. As nanopartículas (NPs) usadas podem ser feitas de diversos materiais, tais como, metais, lipossomas (LP), nanossistemas poliméricos PNPs, materiais baseados em carbono, entre outros. (DIN *et al.*, 2017)

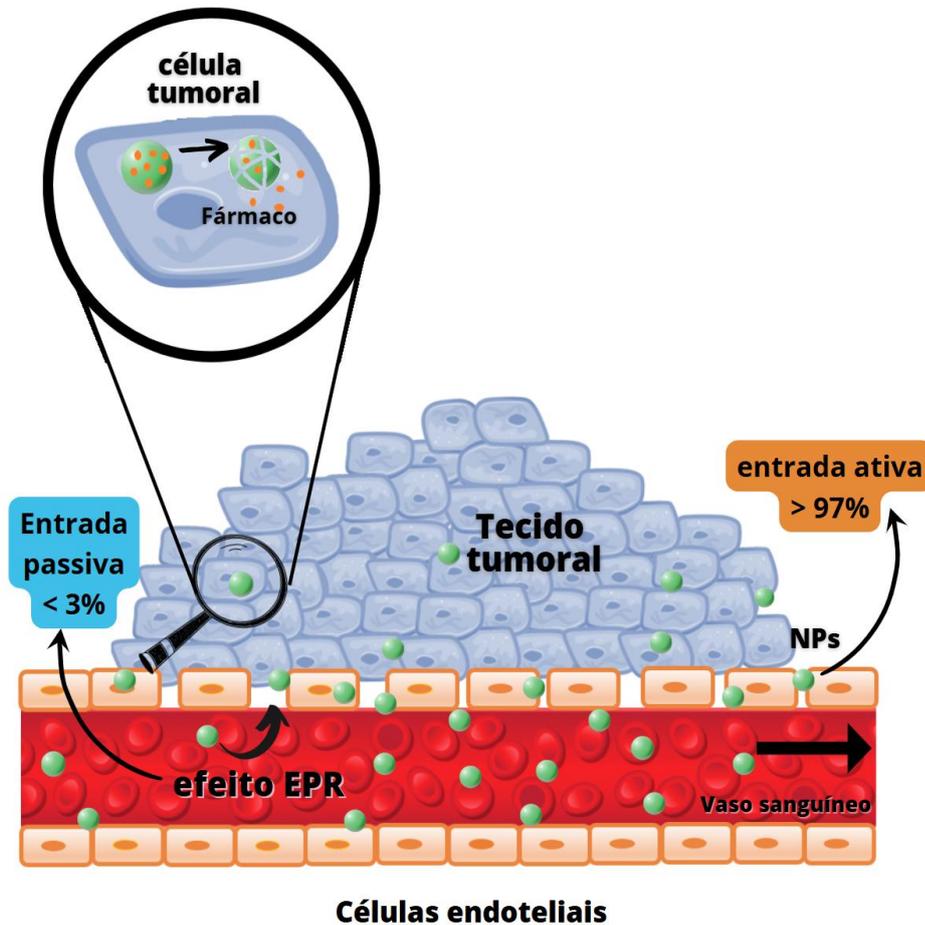
Existem diversos mecanismos no qual essas nanopartículas podem ser internalizadas no organismo, um desses mecanismos é o Enhanced Permeability and Retention (EPR), ou vetorização passiva, que se baseia na habilidade das partículas de se acumularem nas áreas do tumor devido à maior permeabilidade dos vasos sanguíneos tumorais. Outro método, conhecido como vetorização ativa, envolve a modificação das nanopartículas com ligantes específicos que se conectam diretamente aos receptores das células cancerígenas, garantindo que o tratamento seja direcionado de forma mais precisa. (ALEXIS, 2010; BOISSEAU, LOUBATON, 2011)

Considerando-se que o endotélio vascular saudável apresenta um diâmetro entre as aberturas das células de aproximadamente 5 e 10 nm e os vasos neoformados em decorrência da atividade tumoral apresentam aberturas significativamente maiores, podendo variar de 100 a 780 nm, ocorre um efeito de maior permeabilidade a nanopartículas de até 400 nm nos tecidos tumorais. Além disso, uma deficiência na drenagem linfática observada em tumores favorece o acúmulo dessas nanopartículas em células tumorais, resultando em uma maior concentração de fármacos no interior do tumor. (ALEXIS, 2010; PRATA *et al.*, 2017; QI *et al.*, 2018).

O efeito de permeação e retenção aumentadas, definido pela primeira vez por Maeda e Matsumura, permite que nanocarreadores entrem nos tumores de forma passiva por meio de espaços entre as células dos vasos sanguíneos (como mostra a Figura 3). Apesar de atualmente haver discussões e dúvidas sobre esse conceito, durante quase trinta anos acreditou-se que o efeito EPR era o principal caminho para as nanopartículas (NPs) chegarem aos tecidos cancerosos. No entanto, estudos recentes mostraram que o transporte ativo através das células dos vasos sanguíneos é, na verdade, o principal mecanismo de entrada das NPs nos tumores — chegando a representar até 97% do processo (Figura 3). Ainda assim, mais pesquisas são

necessárias para entender exatamente quais mecanismos moleculares levam as NPs aos tumores sólidos. (MATSUMORA, MAEDA, 1986; DANHIER, 2022; DROZODOV, NIKITIN, ROZENBERG, 2021; SINDHWANI *et al.*, 2020)

Figura 3. Ilustração esquemática das vias passiva e ativa de internalização dos nanocarreadores em células tumorais e da liberação controlada de metalofármacos a partir das NPs por estímulos intrínsecos e/ou extrínsecos.



Células endoteliais
FONTE: ADAPTADO DE DANTAS *ET AL.* (2022)

No contexto da vetorização ativa, podem ser empregados ligantes funcionais com o propósito de estabelecer interações seletivas com células tumorais. Esses ligantes são incorporados à superfície dos fármacos, direcionando-os de maneira precisa a tecidos ou órgãos de regiões específicas dos organismos. Esse processo aproveita as afinidades moleculares entre os ligantes e os receptores celulares para promover um aumento significativo na absorção e retenção do fármaco dentro das células cancerígenas. (ALEXIS, 2010; PRATA *et al.*, 2017; QI *et al.*, 2018)

3.4 NANOSISTEMAS POLIMÉRICOS

Ao ser introduzido no organismo humano um nanomaterial entra em contato com ambientes distintos dependendo do tecido ou órgão no qual se encontra. A via de administração adotada exerce impacto direto sobre a interação do material com moléculas biológicas específicas. Um exemplo que pode ser dado é a formação de uma camada proteica adsorvida ao redor da nanopartícula, que pode se modificar por meio de trocas com outras proteínas presentes no meio biológico. Essa camada proteica, conhecida como corona, pode afetar de maneira significativa a biocompatibilidade do sistema. Para contornar esses efeitos e promover a melhoria da eficiência do tratamento é possível funcionalizar nanomateriais com moléculas específicas favorecendo a biodisponibilidade do fármaco. Dentro desse contexto, as nanopartículas poliméricas vêm se destacando como uma alternativa promissora, uma vez que elas podem transportar o fármaco de forma incorporada ou de forma conjugada à sua superfície, reduzindo a dose sistêmica, aumentando a quantidade de agente ativo no local de ação pretendido e minimizando os efeitos colaterais negativos do fármaco. (BREGOLI *et al.*, 2016; NAPIER, DESIMONE, 2007)

Os PNPs são partículas coloidais sólidas, nanométricas, compostas por polímeros biodegradáveis. (DIN *et al.*, 2017; LI *et al.*, 2017)

3.5 USO MEDICINAL DO GÁLIO(III)

O gálio foi descoberto por Paul-Émile Lecoq de Boisbaudran em 1875, na França, sendo um metal de cor branco-prateado em seu estado natural. Seu uso no tratamento de câncer teve início após a observação das propriedades antineoplásicas da platina. Inicialmente, o gálio era utilizado apenas para exames de imagens tumorais, no entanto, em 1971, pesquisadores do NCI passaram a estudar as propriedades antineoplásicas dos metais do grupo IIIA, como o gálio. Os resultados dessas pesquisas confirmaram a alta eficácia clínica do nitrato de gálio, especialmente no tratamento de linfomas não-Hodgkin e câncer de bexiga. (CHITAMBAR, 2004; CHITAMBAR, 2010)

Células cancerígenas têm uma maior demanda de ferro do que as células normais, como é o caso do aumento de receptores de transferrina em linfomas, cânceres de mama e bexiga. Essas alterações nos receptores de transferrina estão associadas a variações nos níveis de

ferritina, que é a proteína que armazena ferro. Pesquisas realizadas com biópsias de pacientes com câncer de mama indicam uma diminuição da ferroportina em comparação com os cânceres menos agressivos. Essa modificação sugere que o aumento da expressão dos receptores de transferrina, combinado com a diminuição da ferroportina, favorece a maior concentração de ferro dentro das células tumorais, essencial para o crescimento do câncer. (CHITAMBAR, ANTHOLINE, 2013; JAKUPEC, KEPPLER, 2004; CHITAMBAR, 2010; MERLI *et al.*, 2018)

Uma vez que o gálio pode mimetizar o ferro(III) em processos biológicos, processos de homeostase do ferro podem ser perturbados por compostos de gálio, o que leva a interrupção da proliferação celular seguida da morte da célula tumoral. Para isso o gálio é absorvido pelas células via receptor de transferrina (Tf) formando um complexo Ga-Tf. O gálio ligado a transferrina é internalizado através de endocitose mediada pelo receptor 1 de transferrina(TfR1) e pode ser liberado da transferrina após acidificação dentro do endossomo, assim como o ferro. A exposição das células de gálio- transferrina resulta em uma absorção prejudicada de ferro diminuindo o conteúdo de ferritina, reduzindo o processo de liberação de ferro da transferrina, interferindo nos mecanismos de acidificação dentro dos endossomos. Devido à falta de ferro causada pela ação do gálio, as células aumentam a produção de mRNA e proteínas do receptor TfR1 ativando a ligação entre IRP (proteínas reguladoras do ferro) e IRE (elementos de respostas ao ferro) na região 5'UTR bloqueando a tradução diminuindo a síntese de ferritina. O que impede o processo de replicação das células. (CHITAMBAR, ANTHOLINE, 2013; COLLERY *et al.*, 2002; KIRCHEVA, DUDEV, 2021)

O gálio também pode afetar a enzima Ribonuclease redutase (RR), impedindo a entrada de ferro(III) na subunidade R2 tornando a enzima inativa. Quando o gálio(III) substitui o ferro(III) na RR, a enzima perde sua função redutora essencial porque o gálio não consegue participar das reações redox necessárias para a conversão de ribonucleotídeos em desoxirribonucleotídeos, o que inibe a síntese de DNA e, conseqüentemente, interrompe a proliferação celular, algo crítico em células tumorais. Nas mitocôndrias, o gálio induz ainda uma saída de cálcio de forma dose-dependente, acelerando a morte celular. (CHITAMBAR, MATTHAEUS, ANTHOLINE, 1988; JAKUPEC, KEPPLER, 2004)

Quando administrado tradicionalmente, o gálio(III), apresenta uma biodisponibilidade limitada, tanto por sua rápida ligação a proteínas plasmáticas quanto pela dificuldade em atravessar barreiras biológicas, como por exemplo a membrana celular. No entanto, a

incorporação do gálio em nanopartículas, como polímeros biodegradáveis, lipossomas ou óxidos metálicos, resulta em aumento de sua biodisponibilidade. Porém, a dose adequada para a administração de gálio deve ser analisada, pois a alteração das características do gálio em escala nanométrica pode modificar seu perfil toxicológico. Estudos realizados mostram que determinadas formas de nanopartículas contendo gálio podem induzir ao estresse oxidativo, danos ao DNA, inflamação e até mesmo alterações na função mitocondrial. Modelos *in vitro* e *in vivo* são confiáveis para a avaliação dos riscos e para a melhoria do perfil farmacocinético dos sistemas nanoestruturados contendo gálio. (RAI *et al.*, 2016, CHITAMBAR, 2010; ARORA, RAJWADE, PAKINIKAR, 2012)

3.6 OBTENÇÃO DE UM NANOSISTEMA POLIMÉRICO PARA CARREAMENTO DE GÁLIO(III)

A complexação do gálio(III) com ligantes orgânicos é uma estratégia promissora para aumentar sua biodisponibilidade oral no tratamento do câncer. No desenvolvimento de nanossistemas poliméricos para a liberação de fármacos, é importante considerar uma série de parâmetros como solubilidade, peso molecular, composição química, grau de cristalinidade, hidrofobicidade, estabilidade e capacidade de dispersão no meio, levando-se em consideração o uso pretendido. Diversos métodos para a síntese de NPs podem ser empregadas, dentre elas está a nanoprecipitação (RUDNEV *et al.*, 2006; ZHAO *et al.* 2014)

A técnica de nanoprecipitação é amplamente utilizada na produção de nanossistemas poliméricos em virtude de sua simplicidade operacional, boa reprodutibilidade e não exigência de equipamentos complexos. Neste método, quando uma das fases é adicionada a outra, sob agitação constante, de forma controlada, ocorre a formação espontânea de nanopartículas, sem a necessidade do uso de surfactantes ou estabilizantes. Este processo reduz a solubilidade do polímero favorecendo a formação do núcleo nanoparticulado. (FESSI *et al.*, 1989; GUERRERO, FESSI; DOELKER, 1998)

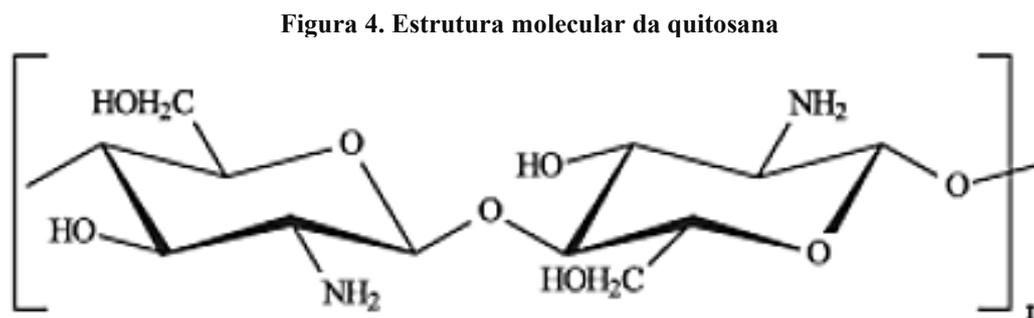
Após a síntese das nanopartículas, estas são recuperadas por meio de centrifugação, seguidas pelas etapas de lavagem e liofilização. Recomenda-se que o armazenamento seja realizado em temperaturas reduzidas para garantir a estabilidade do material. Dentro das técnicas de nanoprecipitação os complexos polieletrônicos têm ganhado destaque como sistemas de encapsulamento versáteis, sendo amplamente utilizados como matrizes poliméricas

para a liberação de diversos compostos. Dentre os materiais mais utilizados, a quitosana e o alginato de sódio se destacam (FESSI *et al.*, 1989; GUERRERO, FESSI, DOELKER, 1998; KULIG, 2016)

3.6.1 Polímeros

3.6.1.1 Quitosana

A quitosana (CS) é um polímero linear, derivado da desacetilação da quitina, um composto amplamente encontrado em exoesqueletos de crustáceos e paredes celulares de fungos. Sua estrutura apresenta três grupos funcionais reativos: um grupo amino, e dois grupos hidroxila, um primário e outro secundário, localizado nas posições C2, C3 e C5 (Figura 4). Essa composição confere à quitosana uma série de propriedades que a tornam especialmente adequada para aplicações farmacêuticas como sua biodegradabilidade, biocompatibilidade, baixa toxicidade, ação antimicrobiana e um custo relativamente acessível. (KULIG, 2016; RINAUDO, 2006; MOHAMMED *et al.*, 2017)

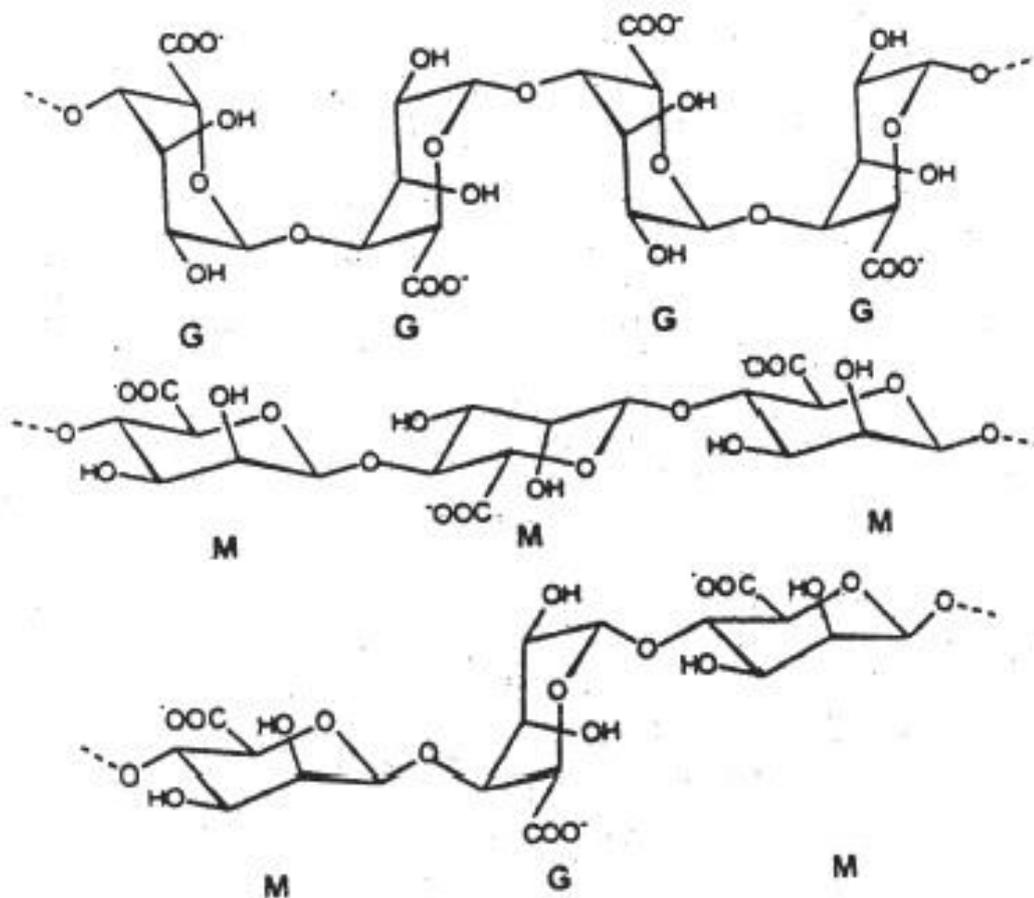


FONTE: ASSIS & SILVA (2003)

3.6.1.2 Alginato

O alginato é um polímero aniônico de origem natural, sintetizado por algas e bactérias. Dentre suas formas, o alginato de sódio (SA), se destaca por ser um polissacarídeo coloidal hidrofílico, geralmente identificado por sua aparência branca, estrutura amorfa e ausência de odor característico. Devido a suas propriedades físico-químicas o alginato de sódio, apresenta ampla aplicação na área farmacêutica, atuando como espessante, agente estabilizador de emulsões e componente gelificante em formulações de medicamentos. (PAQUES *et al.*, 2014)

Figura 5. Estrutura molecular do bloco G, bloco M e do bloco alternado do alginato



FONTE: PAWAR & EDGAR (2012)

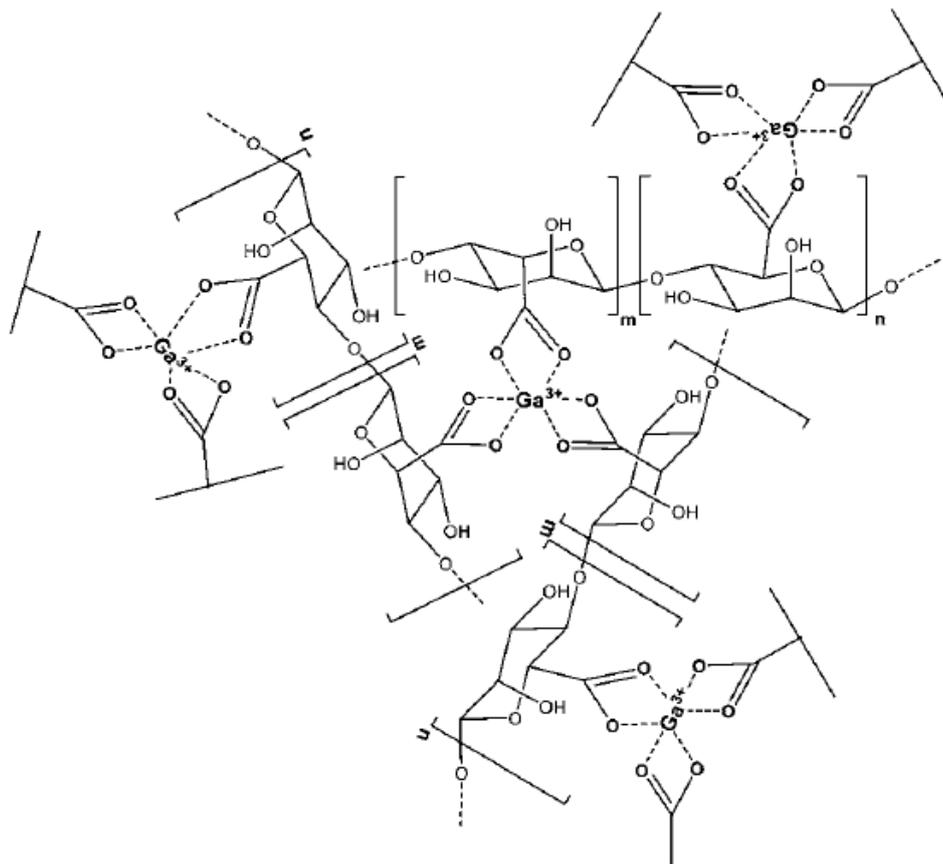
O alginato é conhecido como uma família de copolímeros composta por blocos de resíduos de Beta-D-manuronato (Bloco M) e alpha-L-guluronato (Bloco G). Os blocos podem apresentar resíduos G consecutivos formando uma cadeia de blocos G, podem apresentar resíduos M consecutivos formando uma cadeia de blocos M ou apresentar uma cadeia de blocos G e M alternados. Acredita-se que a maior possibilidade para uma reticulação intermolecular com cátions divalentes ou trivalentes está apresentada pelos blocos G. Porém não se é possível associar a qual bloco um cátion está realmente ligado. (LEE, MOONEY, 2012)

3.6.1.2. 1 Interação química entre o gálio e o alginato

O gálio(III) pode interagir principalmente por meio de ligações eletrostáticas com os grupos carboxilatos ($-\text{COO}^-$) das unidades de ácido gulurônico (Bloco G) e manurônico (Bloco M) do alginato. Essa interação de modo similar ao que ocorre com cálcio(II) e ferro(III), pode resultar na formação de uma rede tridimensional semelhante a um gel. O modelo mais aceito para esse tipo de estrutura é no qual os íons metálicos se encaixam entre as cadeias do alginato,

promovendo a reticulação do polímero (Figura 6). Quando o gálio(III) é incorporado nessa rede, ele pode ser gradualmente liberado, o que é útil para aplicações terapêuticas, como sistemas de liberação controlada de fármacos, especialmente no tratamento de infecções ou câncer. Além disso, o alginato pode aumentar a estabilidade do gálio no meio biológico. (DRAGET *et al.*, 2004; CHITAMBAR, 2010; LEE, 2012; MOURIÑO *et al.*, 2011)

Figura 6. Figura esquemática mostrando uma possível complexação entre o gálio e o alginato



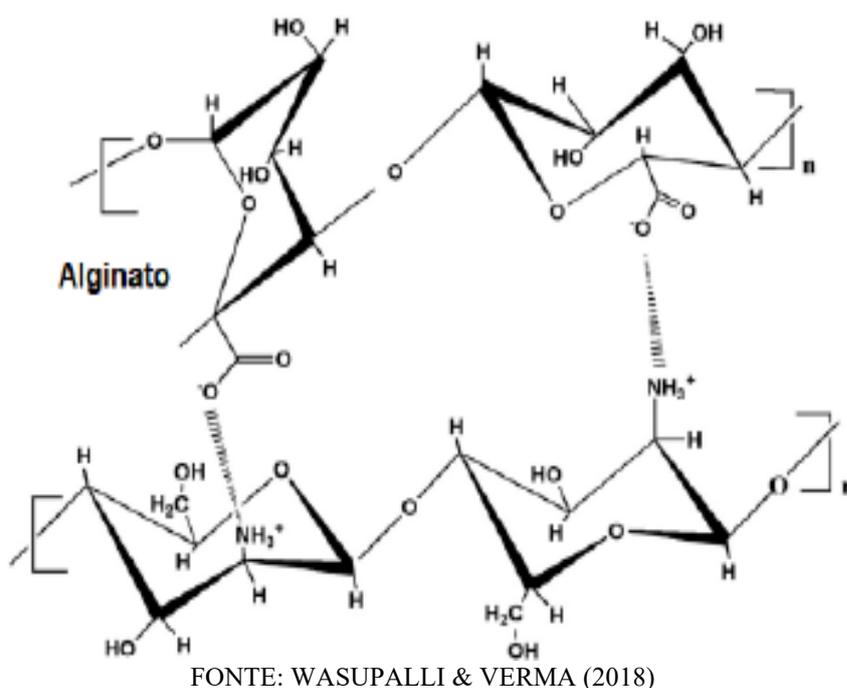
FONTE: ADAPTADO DE MOURIÑO ET. AL. (2011)

3.6.1.2.2 Formação de complexos polieletrólítico entre quitosana e o alginato

Uma das estratégias para a obtenção de um hidrogel estável é a utilização de estratégias não covalentes que aproveitam das forças eletrostáticas hidrofílicas e de ligação de hidrogênio entre cadeias poliméricas do polímero quitosana. A associação entre a quitosana e o alginato vem sendo amplamente investigada devido a sua alta biocompatibilidade, biodegradabilidade e capacidade de formar estruturas estáveis sob condições fisiológicas brandas. (BERGER *et al.*, 2004; GEORGE, ABRAHAM, 2006; WANG *et al.*, 2012)

O PEC (complexo polieletrólítico) à base de quitosana pode ser produzido utilizando polissacarídeos aniônicos como o alginato. A interação entre alginato e a quitosana acontece principalmente por meio de ligações eletrostáticas entre os grupos amino ($-\text{NH}_3^+$) da quitosana e os grupos carboxilato do alginato ($-\text{COO}^-$), o que resulta na formação de uma matriz tridimensional (Figura 7). Essa estrutura pode ser modulada ao se variar fatores como a razão entre os polímeros, pH da solução, força iônica do meio e condições de agitação, o que influencia diretamente sobre a morfologia, estabilidade, capacidade de encapsulamento e perfil de liberação do sistema formado. (RINAUDO, 2006; BERGER *et. al.*, 2004)

Figura 7. Ilustração esquemática das interações entre quitosana e alginato



A possibilidade de funcionalização adicional desses complexos, por meio de técnicas como a conjugação com ligantes específicos, amplia ainda mais seu potencial em terapias direcionadas e na entrega de genes ou vacinas (LIU *et al.*, 2014). Com isso os complexos polieletrólítico entre quitosana e alginato representam uma plataforma versátil e eficaz para o desenvolvimento de sistemas avançados de liberação de fármacos.

3.7 VARIÁVEIS QUE PODEM IMPACTAR NA ENTREGA DE MEDICAMENTOS

A estabilidade das nanoformulações é um fator crucial para o sucesso terapêutico dos nanomedicamentos utilizados no tratamento do câncer. A eficácia desses sistemas depende da

sua capacidade de manter suas propriedades físico-químicas, como por exemplo, tamanho, carga superficial, morfologia e integridade do fármaco encapsulado, da sua fabricação até o momento do uso e durante o trajeto no organismo. Alterações nesses parâmetros podem comprometer não apenas a liberação controlada do agente terapêutico, mas também sua biodistribuição, seletividade e segurança. A instabilidade da amostra pode levar à agregação das nanopartículas, à liberação prematura do fármaco ou à degradação do sistema carreador, o que reduz sua eficácia terapêutica e pode aumentar os efeitos colaterais sistêmicos. Para garantir a estabilidade das amostras, diversos fatores devem ser controlados, como o pH, a temperatura de armazenamento, a presença de eletrólitos, a composição da formulação e o uso de estabilizantes apropriados. Além disso, estudos de estabilidade são essenciais para definir a validade do produto e garantir reprodutibilidade clínica. Sistemas mais estáveis tendem a apresentar melhor desempenho terapêutico, com maior acúmulo no tumor e menor toxicidade fora do local desejado. (DANAIE *et al.*, 2018; VENTOLA, 2017; SERCOMBE *et al.*, 2015; ALMEIDA *et al.*, 2011)

3.7.1 Potencial Zeta

Um dos principais parâmetros que influenciam a estabilidade de um nanosistema é o potencial Zeta, que representa a carga elétrica na superfície das partículas dispersas em um meio. Essa medida está diretamente relacionada à repulsão eletrostática entre as partículas e, conseqüentemente, à sua tendência a permanecerem dispersas ou se agregarem à solução. Nanopartículas com valores de potencial Zeta elevados (positivos ou negativos, geralmente superiores a ± 30 mV) apresentam maior repulsão mútua, o que reduz o risco de agregação e aumenta a estabilidade coloidal. Já partículas com potencial Zeta próximo de zero tendem a se aglomerar com facilidade, comprometendo a uniformidade da formulação e, por consequência, sua eficácia terapêutica para formulações de entregas por via venosa ou tópicas. (ALEXIS *et al.*, 2008; OWENS III, PEPPAS, 2006; DANAIE *et al.*, 2018)

No contexto oncológico, a estabilidade proporcionada por um potencial Zeta adequado influencia diretamente a biodistribuição, o tempo de circulação sanguínea e a capacidade de penetração tumoral dos nanomedicamentos por EPR, no caso de nanoformulações entregues por via venosa. Além disso, a carga superficial impacta a interação com proteínas plasmáticas e células do sistema imunológico, afetando a formação da *corona* proteica e o reconhecimento pelo sistema retículo endotelial (SRE), que pode levar à remoção precoce das nanopartículas da

circulação. A modulação do potencial Zeta também permite ajustar a afinidade das partículas por membranas celulares tumorais, já que essas geralmente apresentam carga negativa. Nesse sentido, nanopartículas com carga levemente positiva podem favorecer a adesão e a internalização pelas células-alvo, melhorando a entrega intracelular do fármaco. (ALEXIS *et al.*, 2008; OWENS III, PEPPAS, 2006; DANAEI *et al.*, 2018)

3.7.2 Tamanho de partícula

Variáveis como o tamanho da partícula e sua composição podem ser consideradas características chave para a internalização celular do medicamento, uma vez que partículas de tamanhos muito pequenos (<10 nm) são suscetíveis à rápida eliminação pelo sistema renal, enquanto partículas muito grandes (>200 nm) podem ser reconhecidas pelo sistema imunológico e removidas da circulação por fagocitose. Partículas com tamanho entre 10 e 200 nanômetros são consideradas apropriadas para aplicações antitumorais, pois tendem a se acumular nos tecidos tumorais por meio do fenômeno EPR. Esse efeito ocorre porque os vasos sanguíneos de tumores apresentam maior permeabilidade em relação aos de tecidos saudáveis, devido ao maior diâmetro das aberturas nas células do endotélio vascular tumoral quando comparadas às observadas em células saudáveis, o que facilita a penetração das nanopartículas. (BERTRAND *et al.* 2014; DANAEI *et al.*, 2018)

3.7.3 pH

O pH do microambiente tumoral tem grande influência na eficiência da entrega de nanomedicamentos. Células tumorais costumam apresentar um meio intracelular com pH variando entre 6,7 e 7,1, em comparação aos tecidos saudáveis (pH ~7,4), devido à intensa atividade metabólica. No entanto esse valor pode diminuir para até pH igual a 6,0 para células cancerígenas no meio extracelular, uma vez que o ácido láctico produzido pela atividade das enzimas glicolíticas e transportadoras de glicose, e acumulam-se extracelularmente, pois as vasculaturas tumorais malformadas inibem a sua remoção, reduzindo a capacidade de tamponamento do ambiente extracelular. Essa diferença pode ser estrategicamente explorada no desenvolvimento de sistemas de liberação controlada de fármacos. (ESTRELLA *et al.*, 2014; WARD, 2020; CHENG *et al.*, 2025; MI, 2020; BAE, PARK, 2012)

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 REAGENTES

Tabela 1- Dados e propriedades dos reagentes utilizados

Reagente	Marca	Fórmula química	MM (g mol ⁻¹)
Ácido Acético P.A.	SCIAVICCO	C ₂ H ₄ O ₂	60,05
Alginato de sódio	Êxodo científica	(C ₁₄ H ₂₁ O ₁₃ Na) _n	120000-190000
Fosfato de potássio monobásico P.A.	Êxodo científica	KH ₂ PO ₄	136,09
Fosfato de sódio dibásico anidro P.A.	Labsynth	Na ₂ HPO ₄	141,96
Nitrato de gálio	Sigma Aldrich	Ga(NO ₃) ₃	255,74
Quitossana	Êxodo científica	(C ₆ H ₁₁ N ₄) _n	~8.303- 31.550
Sacarose	Dinâmica	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	341,3

4.2 INSTRUMENTOS E EQUIPAMENTOS

Tabela 2- Dados dos equipamentos utilizados

Equipamento/ instrumento	Marca	Modelo
Analisador de tamanho de partícula e potencial Zeta	Malvern	ZTS1240 Malvern sizer
Agitador magnético	Magnetic Stirrer	HS-12
Balança analítica	Unibloc	ATY 224
Centrífuga	Novatecnica	NT 810
Estufa com circulação e renovação de ar	Limatec	LT 502/200
Incubadora agitadora orbital termostática	Limatec	LT 501
pHmetro	Marte científica	OneSense
Titulador automático	SCHOTT	titronic
Ultracentrífuga	SIGMA	3-30KS
Ultra Homogeneizador	IKA	T25 digital Ultra Turrax

4.5 PROCEDIMIENTOS

4.5.1 Obtenção de nanopartículas

4.5.1.1 Preparo de soluções

Preparo de ácido acético 1%v/v: mediu-se, utilizando micropipeta automática, 1mL de ácido acético P.A, transferiu-se o volume para um balão volumétrico de 100 mL, previamente ambientado com água destilada, e completou-se o volume do balão com água destilada.

Preparo da solução de alginato 0,15% m/v: pesou-se 750 mg do alginato de sódio que foi transferido para um béquer contendo 500 mL de água destilada e manteve-se a solução sob agitação magnética a 60 °C por uma hora. Posteriormente, a solução foi mantida sob agitação branda overnight (~12 horas) à temperatura ambiente. No dia seguinte filtrou-se a solução obtida, utilizando papel de filtro faixa preta e transferiu-se a mesma para um balão volumétrico de 500mL, previamente ambientado.

Preparo da solução de quitosana 0,06% m/v: pesou-se 60,2 mg de quitosana, que foi transferida para em um béquer de 100mL. Adicionou-se a solução de ácido acético 1% v/v previamente preparada ao béquer. Para a completa solubilização do polímero, o sistema foi mantido em agitação magnética overnight (~12 horas) à temperatura ambiente. Após esse período o pH da solução foi medido obtendo-se um pH igual a 5. Filtrou-se a solução, utilizando papel de filtro faixa preta.

Preparo da solução de nitrato de gálio 0,075% m/v: mediu-se 0,2752 g de nitrato de gálio(III) que foi transferido para um béquer de 250 mL.

4.5.1.2 Preparo dos nanossistemas

O método de preparo de nanopartículas empregado neste trabalho foi adaptado da literatura LONG et. al. (2015), DANTAS et. al. (2025). Dois nanossistemas diferentes foram preparados em triplicata, a estes foram dados a identificação de nanossistema N1A, N1B e N1C para nanossistemas contendo apenas gálio e alginato, e nanossistema N2A, N2B e N2C para nanossistemas contendo gálio, alginato e quitosana, conforme descrito na tabela 3.

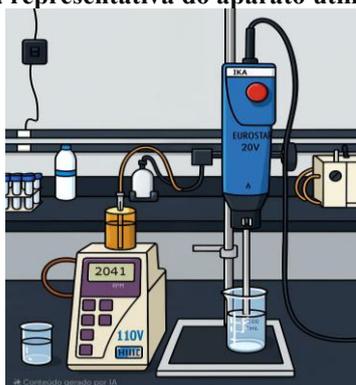
Tabela 3- Volumes (mL) das soluções para obtenção das nanopartículas

Nanosistema	Solução de Ga 0,075% m/v (mL)	Solução de alginato 0,15% m/v (mL)	Solução de Quitosana 0,06% m/v (mL)
N1A	20	40	0
N1B	20	40	0
N1C	20	40	0
N2A	20	40	20
N2B	20	40	20
N2C	20	40	20

O aparato utilizado para a síntese consiste no uso de um titulador automático em conjunto com um ultra homogeneizador (**Figura 8**). Para o preparo dos nanossistemas N1A, N1B e N1C, com o auxílio do titulador automático foi adicionado 20 mL de solução de gálio (fluxo 1 mL min^{-1}), a uma altura de 8 cm em cada sistema, sob agitação constante, utilizando-se ultra homogeneizador (6000 rpm), em um béquer de 100 mL, contendo 40 mL da solução de alginato 0,15% m/v. As soluções foram agitadas por aproximadamente 20 minutos, até a finalização do processo de reticulação. As soluções foram armazenadas em geladeira para análises posteriores.

O preparo dos nanossistemas N2A, N2B e N2C, seguiu o mesmo princípio do preparo dos nanossistemas N1A, N1B e N1C. Desta forma, seguindo os mesmos procedimentos, com o auxílio de um titulador automático, foram adicionados 20 mL de solução de gálio 0,075% m/v (fluxo 1 mL min^{-1}), a uma altura de 8 cm em cada sistema, sob agitação constante, utilizando-se ultra homogeneizador (6000 rpm) em um béquer de 100 mL, contendo 40 mL da solução de carragena 0,15% m/v. As amostras foram agitadas por aproximadamente 20 minutos. Em seguida, ainda utilizando um titulador automático 20 mL de solução de quitosana 0,06% m/v, foram adicionados a uma altura de 8 cm em cada sistema, utilizando um fluxo de 1 mL min^{-1} , sob agitação constante utilizando-se ultra homogeneizador (6000 rpm), em um béquer de 100 mL, já contendo a solução de alginato reticulada com gálio(III). As amostras foram então agitadas por 20 minutos, até a finalização do processo de reticulação e, posteriormente, foram armazenadas em geladeira para análises subsequentes.

Figura 8-Figura representativa do aparato utilizado nas sínteses



FONTE: IMAGEM OBTIDA POR IA A PARTIR DE UMA FOTOGRAFIA, À ESQUERDA O TITULADOR AUTOMÁTICO E À DIREITA O ULTRAHOMOGENIZADOR

Soluções contendo as nanopartículas produzidas foram submetidas a análises do tamanho de partícula, potencial Zeta e medidas de pH. Posteriormente, 60 mL das amostras de N1A, N1B, N1C e 80 mL das amostras N2A, N2B e N2C foram centrifugadas por 10 minutos à 3000 rpm, com o objetivo de remover possíveis aglomerados do sobrenadante. O sobrenadante foi então ultra centrifugado a 13.000 rpm/ por 20 min para a recuperação das nanopartículas. Nos nanossistemas N1A, N1B e N1C não houve a formação de particulado visível após a ultracentrifugação. Sendo assim, com o auxílio de pipetas Pasteur descartáveis, o sobrenadante foi retirado até um volume de aproximadamente 5 mL, de cada amostra. Nos nanossistemas N2A, N2B e N2C houve a formação de particulados visíveis. Sendo assim, com o auxílio de pipetas Pasteur descartáveis todo o sobrenadante foi retirado. Os materiais resultantes foram depositados em placas Petri e levadas à estufa com renovação e circulação de ar (37 °C) pelo período de dois dias. O sobrenadante foi reservado, para posterior análise da dosagem de gálio por absorção atômica e teste colorimétrico.

Passados dois dias as amostras foram retiradas da estufa e pesadas em eppendorfs. As amostras foram enviadas para análise de Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho, e seguiram para o estudo de liberação cumulativa de fármacos *in vitro*.

4.5.1 Métodos de análise

4.5.2.1 Tamanho de partícula e potencial Zeta

O tamanho de partícula e o potencial Zeta da suspensão de PNPs obtidas, foram determinados utilizando o equipamento Malvern Zetasizer Advanced Pro. Para a análise de

tamanho de partícula as amostras foram diluídas 10x. Para a análise de potencial Zeta as amostras foram diluídas 100x.

4.5.2.2 pH

O pH das amostras foi medido utilizando pHmetro Marte científica. Para isso primeiramente, o equipamento foi calibrado utilizando soluções tampão de pH 4 e de pH 7. Em seguida o eletrodo foi inserido na amostra analisada, lavando-se bem o eletrodo após cada análise. Os pHs medidos foram anotados para uma posterior análise.

4.5.2.3 Espectroscopia de absorção da região do Infravermelho

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos utilizando um espectrômetro da marca IR Prestige 21 Shimadzu com ATR, no Campus VI do CEFET-MG, na região entre 500 a 4000 cm^{-1} . As análises foram realizadas em temperatura ambiente.

4.5.2.4 Determinação de gálio por absorção atômica

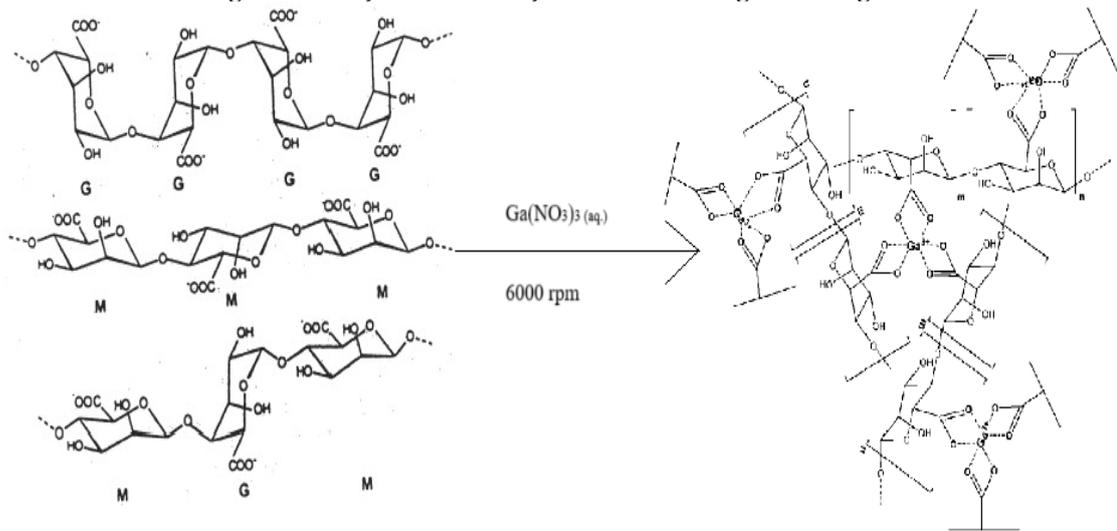
Os teores de gálio presentes nos sobrenadantes obtidos a partir da centrifugação das amostras foram analisados retirando-se uma alíquota de 2mL do sobrenadante de cada nanossistema individualmente e enviando as alíquotas para serem analisadas com o auxílio do espectrofotômetro de absorção atômica Hitachi - modelo Z8200 locado no Departamento de Química da UFMG.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO DE RESULTADOS

5.1 PREPARO DOS NANOSSISTEMAS

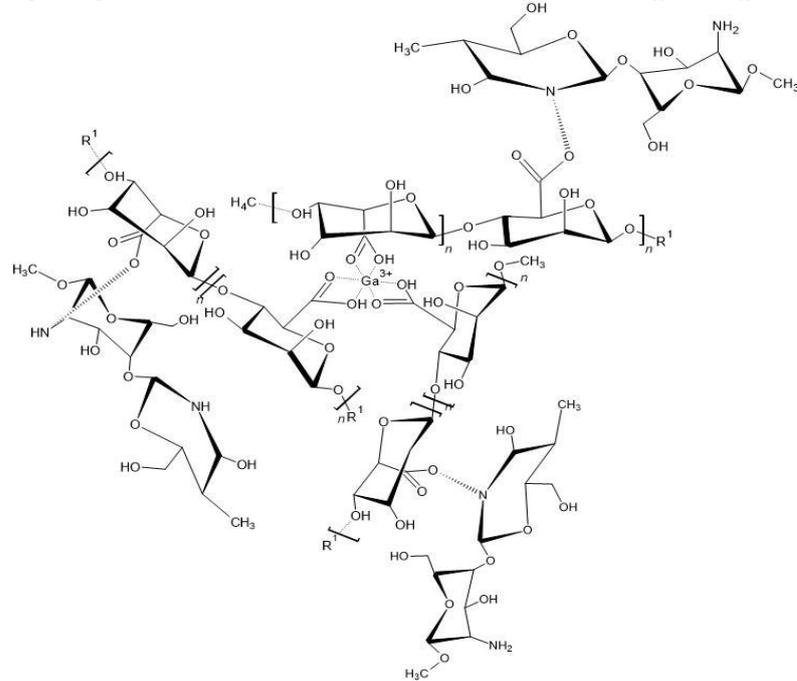
Com o objetivo de produzir nanossistemas poliméricos para a liberação controlada de gálio por via oral, foram preparados dois nanossistemas contendo gálio(III), um contendo a reticulação iônica entre o gálio e o alginato (**Figura 9**) e outro contendo o alginato reticulado com gálio(III) revestido com quitosana (**Figura 10**).

Figura 9- Reação de reticulação iônica entre o gálio e o alginato



FONTE: AUTORIA PRÓPRIA

Figura 10- Complexo polieletrônico formado entre o retículo iônico de gálio-alginato e a quitosana



FONTE: AUTORIA PRÓPRIA

Os produtos liofilizados para os nanossistemas 1 apresentaram coloração acastanhada, por sua vez os produtos obtidos para os nanossistemas 2 apresentaram coloração branca amarelada. A seguir estão apresentados os resultados obtidos para as técnicas de caracterização dos nanossistemas obtidos. As massas obtidas a partir do preparo dos nanossistemas, (tabela 4) são utilizadas no cálculo do rendimento do preparo, a partir da equação 1:

$$\% \text{ Rendimento do preparo} = \frac{\text{Quantidade de produto obtido}}{\text{Quantidade de produto teórico}} \times 100$$

Equação 1

Tabela 4-Massas obtidas para os nanossistemas

Nanosistema	Massa obtida (mg)	Massa esperada (mg)	%Rendimento do preparo
N1A	12,20	82,00	14,88
N1B	8,60	82,00	10,49
N1C	6,10	82,00	7,62
N2A	50,30	94,04	53,49
N2B	54,30	94,04	57,74
N2C	36,90	94,04	39,24

Os resultados obtidos mostram que para os nanossistemas 1 (N1A, N1B, N1C) rendimentos baixos para a reação de gálio(III) e alginato. Por sua vez, para os nanossistemas 2 (N2A, N2B, N2C) os rendimentos foram significativamente maiores após a adição de quitosana. Isso ocorre por conta a formação do PEC (complexo polieletrônico), entre o alginato (polieletrólito aniônico) e a quitosana (polieletrólito catiônico). O PEC promove uma estrutura estável, uma vez que a quitosana consegue “ fechar” a rede iônica mantendo o gálio na matriz polimérica, o que permite encapsular os reagentes de uma forma mais eficiente.

5.2 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS

5.2.1 Tamanho de partícula, potencial Zeta e pH

As suspensões dos nanossistemas foram analisadas quanto a tamanho de partícula, potencial Zeta e pH. As leituras dos parâmetros: tamanhos de partícula e potencial Zeta foram realizadas em triplicatas. A média dos valores estão descritos na tabela 5.

Tabela 5- Características físico-químicas dos materiais obtidos

Nanosistema	Tamanho de partículas (nm)	Potencial Zeta (mV)	pH
N1A	515,7	-20,86	4,93
N1B	522,3	-31,83	4,82
N1C	743,3	-1,124	4,58
N2A	298,6	-8,77	3,31
N2B	343,5	-12,88	3,26
N2C	262,0	-12,31	3,26

Observando a tabela 5 percebe-se uma diminuição do pH após a adição de quitosana. Esse efeito de diminuição do pH já era esperado e pode ser observado devido ao pH ácido da solução de quitosana que foi adicionada e pela liberação de prótons, presentes nos grupos carboxilatos do alginato, durante a reação de complexação entre o retículo iônico gálio-alginato e a quitosana.

Conforme apresentado, ainda na tabela 5, os tamanhos médios das PNPs estão na faixa de 200 a 500 nm e, portanto, estão dentro do permitido pela FDA. Ao comparar-se os valores de tamanho para os nanossistemas 1 e nanossistemas 2, observa-se uma diminuição dos tamanhos médios dos PNPs adicionando-se quitosana, obtendo-se tamanhos próximos de 300 nm, isso ocorre devido ao nanoencapsulamento das PNPs de gálio-alginato. O tamanho próximo a 200 nm é considerada uma característica chave para a internalização celular do medicamento, o que pode aumentar a biodisponibilidade do gálio(III), tamanhos próximos do ideal, ainda que os obtidos tenham sido relativamente maiores que este valor, demonstram um bom encapsulamento do gálio.

Em relação ao potencial Zeta, são esperados valores maiores ou iguais a ± 30 mV (em módulo) para evitar agregação de nanopartículas e contribuir para boa estabilidade coloidal da formulação. Para a administração por via oral o potencial Zeta pode influenciar a interação entre o medicamento e a mucosa intestinal, potenciais Zeta negativos como os obtidos podem interagir melhor com a mucosa intestinal, facilitando a absorção de medicamentos. Os valores obtidos para os nanossistemas 1 (N1A, N1B) indicam estabilidade dos sistemas, independentemente do rendimento alcançado no preparo. O nanossistema 1 por sua vez apresentou valor próximo de zero indicando uma baixa estabilidade do sistema. Para os nanossistemas 2 (N2A, N2B, N2C), mesmo apresentando valores baixos, estes ainda são considerados aceitáveis, visto que foram negativos e, para administração oral, o agregamento de nanopartículas não representa uma limitação significativa. É importante ressaltar, porém que o potencial Zeta não é o único parâmetro relacionado à estabilidade de nanopartículas.

5.2.2 Dosagem de gálio presente nos sobrenadantes

Os sobrenadantes, obtidos a partir da ultracentrifugação dos PNPs, foram submetidos a análise de absorção atômica. Os resultados para a dosagem estão apresentados na tabela 6.

Tabela 6-Valores de concentração encontradas

Nanosistema	Concentração de gálio (mg L ⁻¹)
N1A	7,71
N1B	9,81
N1C	12,13
N2A	0,80
N2B	1,32
N2C	1,12

Conforme dito anteriormente na seção 5.1 a formação do PEC consegue “ fechar” a rede iônica mantendo o gálio na matriz polimérica. A formação do PEC também diminui a solubilidade do complexo, tornando o material final mais estável, o que evita perdas pela degradação do material o que libera gálio no sobrenadante. Sem a presença de quitosana como nos nanossistemas 1 (N1A, N1B e N1C) parte do gálio pode permanecer livre na solução. Dessa forma, ao adicionar quitosana se tem uma melhoria no encapsulamento do gálio e evita que se tenha uma maior concentração de gálio no sobrenadante.

5.2.3 Eficiência de encapsulamento %EE

As quantidades de gálio que foram encapsuladas (%EE) podem ser estimadas a partir da concentração de gálio presente nos sobrenadantes, utilizando a equação 2. Os resultados calculados para a eficiência de encapsulamento estão representados na tabela 7.

Tabela 7-Valores de eficiência de encapsulamento (%EE) para cada nanossistema de PNP

Nanosistema	% EE
N1A	96,91
N1B	96,07
N1C	95,15
N2A	99,57
N2B	99,29
N2C	99,40

$$\%EE = \frac{\text{Quantidade total} - \text{Quantidade de g\u00e1lio no sobrenadante}}{\text{Total}} \times 100$$

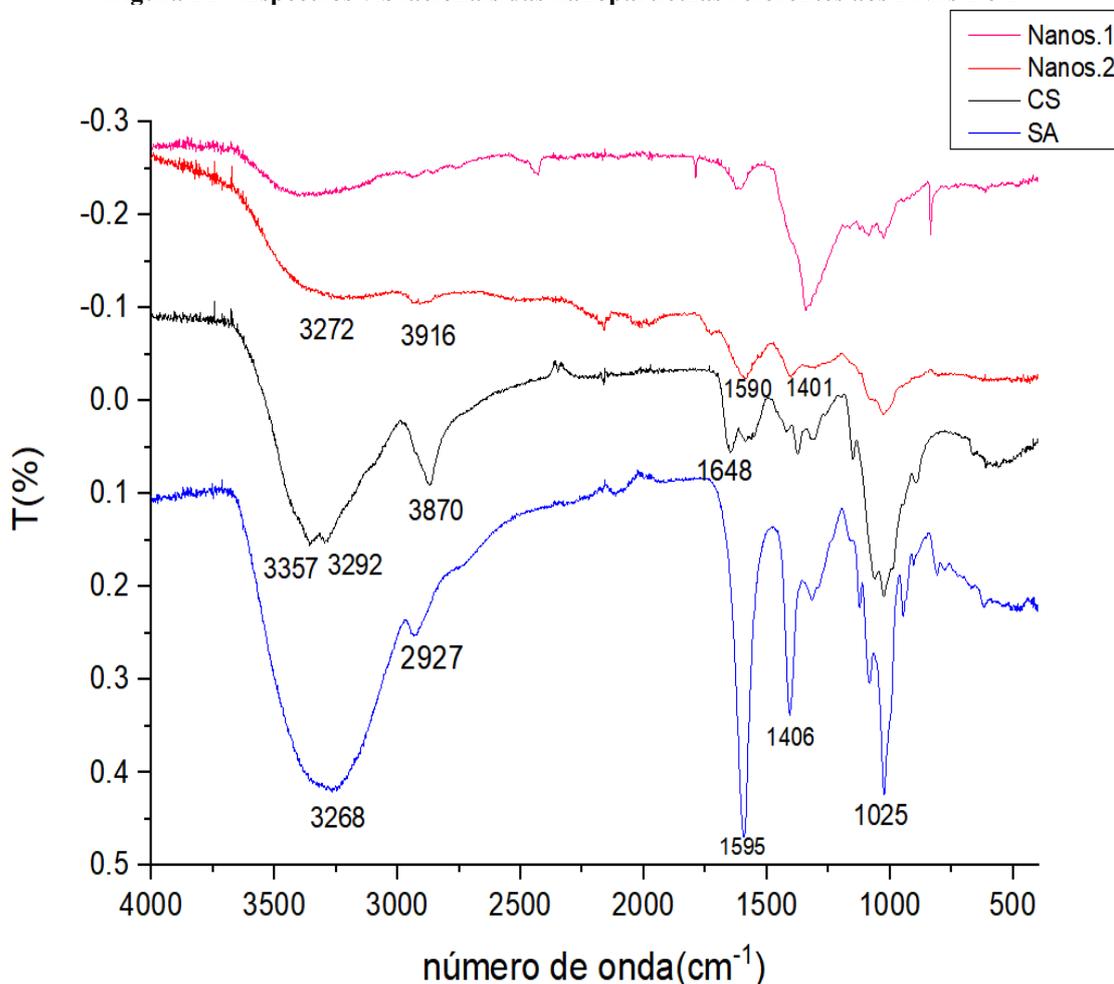
Equa\u00e7\u00e3o 2

Os resultados para a efici\u00eancia de encapsulamento confirmam o resultado obtido para a efici\u00eancia do preparo, mostrando que de fato o g\u00e1lio(III) foi bem encapsulado pelos dois sistemas, mas teve seu encapsulamento melhorado com a adi\u00e7\u00e3o de quitosana.

5.2.4 Espectrometria vibracional na regi\u00e3o do infravermelho

A espectroscopia vibracional foi utilizada para confirmar a forma\u00e7\u00e3o do complexo polieletr\u00f3lico SA-CS e a presen\u00e7a de G\u00e1lio nas nanop\u00e1rticulas. Os espectros vibracionais do CS, SA, nanossistemas 1(nanop\u00e1rticula de alginato com g\u00e1lio) e nanossistemas 2 (nanop\u00e1rticula de alginato com g\u00e1lio revestida com quitosana) foram registrados e comparados (**Figura 11**).

Figura 11-- Espectros vibracionais das nanop\u00e1rticulas referentes aos PNPs 1 e 2



FONTE: AUTORIA PR\u00d3PRIA

Comparando-se os espectros vibracionais dos polímeros livres de SA e CS com os obtidos para os nanossistemas (**Figura 11**), observa-se um deslocamento da banda do SA (referente ao estiramento do grupo OH), centrada em 3268 cm^{-1} teve um considerável alargamento nas amostras dos nanossistemas, o que indica a formação de ligações de hidrogênio entre o CS e SA. Além disso, pôde-se observar que comprimentos de onda característicos do SA, 1595 cm^{-1} (estiramento COO^- assimétrico) e 1406 cm^{-1} (estiramento COO^- simétrico) sofreram mudanças de intensidade no espectro das amostras dos nanossistemas 1 e 2, indicando interações entre o CS e os grupos carboxilatos do SA. Esses resultados indicam a interação dos grupos hidroxila e carbonila do SA com as hidroxilas do CS.

As frequências típicas de alongamento de carboxilato assimétrico e simétrico de SA livre em 1654 e 1467 cm^{-1} , aparecem nos espectros SA em 1595 e 1406 e nas NPs em torno de 1590 e 1401 cm^{-1} , respectivamente; porém com intensidade bem menor. Esta diminuição de intensidade das bandas pode apontar para a interação eletrostática entre os poliânions (COO^-) do SA com grupos amino carregados positivamente (NH_3^+) do CS (HAMEDI *et. al.*, 2019). Além disso, a banda larga entre 3627 e 2998 cm^{-1} nos espectros de NPs pode ser atribuída aos grupos hidroxila e amino de SA e CS e às ligações de hidrogênio (HAMEDFAR *et. al.*, 2023; HO *et. al.*, 2009). Esses resultados provaram que os grupos carboxilato de ALG ($-\text{COO}^-$) reagem com os grupos amino protonados de CS ($-\text{NH}_3^+$) por interação eletrostática para formar o complexo polieletrólito (HAMEDI *et. al.*, 2019).

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

Os resultados indicam que a incorporação de quitosana à solução modifica significativamente as propriedades físico-químicas dos nanossistemas, demonstrando potencial para promover a liberação controlada do gálio(III) e aprimorar sua ação antitumoral.

A análise do sobrenadante revelou baixas concentrações de gálio e altas taxas de encapsulamento nos nanossistemas 1 e 2. Todos os sistemas desenvolvidos apresentaram valores negativos de potencial Zeta (ZP), sendo que, na maioria dos casos, os valores ficaram fora da faixa considerada ideal (± 30 mV). Apesar de essa característica poder indicar estabilidade eletrostática limitada, os valores negativos de ZP podem favorecer a interação com a mucosa intestinal, contribuindo para o aumento da biodisponibilidade do fármaco.

O tamanho das partículas é outro parâmetro essencial para a biodisponibilidade do gálio. Observou-se uma redução no tamanho das partículas nos nanossistemas 2, que continham quitosana, em comparação com os nanossistemas 1, nos quais a quitosana não foi adicionada. Tamanhos próximos a 200 nm são considerados ideais para favorecer a absorção intestinal e, conseqüentemente, melhorar a biodisponibilidade do medicamento.

Dessa forma, a adição de quitosana mostrou-se um fator determinante para a obtenção de nanossistemas com características adequadas de tamanho de partícula e eficiência de encapsulamento. No entanto, ainda são necessárias análises adicionais, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, para avaliar a eficácia antitumoral do gálio(III) e confirmar sua biodisponibilidade nos nanossistemas formados pelo complexo entre gálio(III), alginato e quitosana.

REFERÊNCIAS

- Alexis, F. Et. Al. **Factors Affecting the Clearance and Biodistributions of Polymeric Nanoparticles.** *Pharmaceutics.* v 5(4). p. 505-515. 2008. DOI: [https://Doi.Org/10.1021/Mp800051m](https://doi.org/10.1021/Mp800051m)
- Alexis, F.; Pridgen, E. M.; Langer, R. Farokhzard. **Nanoparticle Technologies for Cancer Therapy.** *Handbook Of Experimental Pharmacology*, v.197.p.55-86. 2010.DOI: 10.1007/978-3-642-00477-3_2
- Almeida Jp, Chen Al, Foster A, Drezek R. **In Vivo, Biodistribution of Nanoparticles.** *Nanomedicine*, v.6(5). p.815-35. 2011.DOI: 10.2217/Nnm.11.79. PMID: 21793674.
- Alsawafthah, N. M.; Awas, N. S.; Pitt, W.G.; Husseini, G.A. **pH-Responsive Nanocarriers in Cancer Therapy.** *Polymers (Basel)*, v.14(5). 2022. DOI: 10.3390/Polym14050936
- Arora, S.; Rajwade, J. M.; Paknikar, K. M. **Nanotoxicology And In Vitro Studies: The Need of The Hour.** *Toxicology And Applied Pharmacology*, v. 258(2). p. 151-165. 2012. DOI: [https://Doi.Org/10.1016/J.Taap.2011.11.010](https://doi.org/10.1016/J.Taap.2011.11.010)
- Assis, O. B. G.; Silva, V. L. Da. **Caracterização Estrutural E Da Capacidade De Absorção De Água Em Filmes Finos De Quitosana Processados Em Diversas Concentrações.** *Seção Técnica- Polimeros*, v. 13(4). 2003. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0104-14282003000400006>
- Bae Yh, Park K. **Targeted Drug Delivery to Tumors: Myths, Reality and Possibility.** *J Control Release*, v153(3), p. 198-205. 2011. DOI : 10.1016/J.Jconrel.2011.06.001. [Epub].
- Boisseau, P. ; Loubaton, B. **Nanomédecine Et Nanotechnologies Pour La Médecine.** *Comptes Rendus Physique*, v.12(7). p. 620-636. 2011. DOI : <https://doi.org/10.1016/J.crhy.2011.06.001>
- Bregoli, L. et. al. **Nanomedicine Applied to Translational Oncology: A Future Perspective on Cancer Treatment.** *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, v. 12(1). p.81-103. 2016. DOI:[https://Doi.Org/10.1016/J.Nano.2015.08.006](https://doi.org/10.1016/J.Nano.2015.08.006)
- Cancino, J.; Marangoni, V. S.; Zucolotto, V. **Nanotecnologia Em Medicina: Aspectos Fundamentais E Principais Preocupações.** *Quimica Nova*, v. 37(3). 2014. DOI: [http://Dx.Doi.Org/10.5935/0100-4042.20140086](http://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20140086)
- Cheng, H. Et. Al. **Advances in Targeted Therapy for Tumor with Nanocarriers: A Review.** *Materials Today Bio*, v.31. 2025. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.mtbio.2025.101583>
- Chitambar, C. R. **Apoptotic Mechanisms of Gallium Nitrate: Basic and Clinical Investigations.** *Oncology (Williston Park, N.Y)*, v. 18(13), p. 39-44.2004. [PubMed] Disponível Em: [https://Pubmed.Ncbi.Nlm.Nih.Gov/15651176/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15651176/)
- Chitambar, C. R. **Medical Applications and Toxicities of Gallium Compounds.** *J. Environ. Res. Public Health.* v.7(5). 2010. p.319 DOI: <https://doi.org/10.3390/Ijerp7052337>

Chitambar, C. R.; Antholine, W. E. **Iron-Targeting Antitumor Activity Of Gallium Compounds and Novel Insights into Triapine (®)- Metal Complexes.** *Antioxid Redox Signal*, v.18(8), p. 956-972. 2013. [PubMed] DOI:10.1089/Ars.2012.4880

Collery, P. Et. Al. **Combination of Three Metals for The Treatment of Cancer: Gallium, Rhenium and Platinum.1.Determination of The Optimal Schedule of Treatment.** *Anticancer Research*. v.32. 2012. p. 2769-2782

Danaei, M. Et. Al. **Impact of Particle Size and Polydispersity Index on The Clinical Applications of Lipidic Nanocarrier Systems.** *Pharmaceutics*, v. 10(2), p. 3244. 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/Pharmaceutics10020057>

Dantas, K. C. F; Rosário, J. Dos S.; Caldeira, P. P.S. **Polymeric Nanosystems Applied for Metal-Based Drugs and Photosensitizers Delivery: The State of The Art and Recent Advancements.** *Pharmaceutics*. v.14(7). 2022. DOI : <https://doi.org/10.3390/Pharmaceutics14071506>

Draget, K. I. Et. Al. **Alginic Acid Gels: The Effect of Alginate Chemical Composition and Molecular Weight.** *Carbohydrate Polymers*. v. 25. 1994. p.31-38. DOI:0144-8617/94/\$07.00

Estrella V, Chen T, Lloyd M, Wojtkowiak J, Cornell Hh, Ibrahim-Hashim A, Bailey K, Balagurunathan Y, Rothberg Jm, Sloane Bf, Johnson J, Gatenby Ra, Gillies Rj. **Acidity Generated by The Tumor Microenvironment Drives Local Invasion.** *Cancer Res.*, v.73(5), p.1524-35. DOI: 10.1158/0008-5472.Can-12-2796

Fadeel, B.; Pietroiusti, A. **Mechanisms of Nanotoxicity: Complex Interactions at The Nano-Bio Interface.** *Small*, v.17(19). 2021.

Fessi, H. Et. Al. **Nanocapsule Formation by Interfacial Polymer Deposition Following Solvent Displacement.** *International Journal of Pharmaceutics*. v.55(1). p.R1-R4.1989. DOI:[https://doi.org/10.1016/0378-5173\(89\)90281-0](https://doi.org/10.1016/0378-5173(89)90281-0)

Gad, S. C.; Spainhour, C. B.; Gad, S. E. **Carcinogenicity and Genotoxicity.** *Mammalian Toxicology*, v. 1. p. 341- 392 DOI: <https://doi.org/10.1002/9781118683484.Ch17>

George, M.; Abraham, T. E. **Polyionic Hydrocolloids for The Intestinal Delivery of Protein Drugs: Alginate and Chitosan- A Review.** *Journal Of Controlled Release*, v.114(1), p.1-14.2006. DOI:<https://doi.org/10.1016/J.jconrel.2006.04.017>

Guyton, A. C.; Hall., J. E. **Tratado De Fisiologia Médica.** 12ª edição. Elsevier Editora Ltda. 2011.p.40

Honary, S. Zahir, F. **Effect of Zeta Potential on The Properties of Nano-Drug Delivery Systems- A Review.** *Tropical Journal Of Pharmaceutical Research*. v12(2). 2013. DOI:10.4314/Tjpr.V12i2.19

Instituto Nacional De Câncer- INCA. **Como Surge O Câncer?** *Ministério Da Saúde*. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/como-surge-o-cancer>

Instituto Nacional De Câncer- INCA. TRATAMENTO DO CÂNCER. 2022c. Disponível: <https://Www.Gov.Br/Inca/Pt-Br/Assuntos/Cancer/Numeros>

Jasmin; Borojevic, R. **Uso De Nanopartículas No Rastreamento De Células Em Terapias Avançadas**: Possibilidades E Desafios Para A Aplicação Clínica.

Kamaly, N. Et. Al. **Degradable Controlled-Release Polymers and Polymeric Nanoparticles: Mechanisms of Controlling Drug Release**. *Chem. Review*. v 116(4). 2017. DOI: 10.1021/Acs.Chemrev.5b00346

Kaur, H Et. Al. **Polymeric Nanoparticles as Nanovaccine Carriers for Eliciting Anticancer Immunity**. In: Nanoparticles In Cancer Therapy. Innovations And Clinical Applications. Crc Press. Editado Por Neelan, T.; Bhukya, P. L. 2025. P. 3-15 Disponível em: https://Books.Google.Com.Br/Books?HI=Pt-Br&Lr=&Id=6m0ieqaaqbaj&Oi=Fnd&Pg=Pp1&Dq=Related:3ewvoyoluu0j:Scholar.Google.Com/&Ots=Ygixcmgadm&Sig=03mwnyndglhynqu1dpiynzj2pw&Redir_esc=Y#V=Onepage&Q&F=False

Kircheva, N. Dudev, T. **Competition Between Abiogenic and Biogenic Metal Cations in Biological Systems: Mechanisms of Gallium's Anticancer and Antibacterial Effect**. *Journal Of Inorganic Biochemistry*. V. 214. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.Jinorgbio.2020.111309>

Lee, K. Y.; Mooney, D. J. **Alginate: Properties and Biomedical Applications**. *Progress In Polymer Scienc*, v. 37(1).p. 106-126. 2012 DOI: <https://doi.org/10.1016/J.Progpolymsci.2011.06.003>

Mi, P. **Stimuli-Responsive Nanocarriers for Drug Delivery, Tumor Imaging, Therapy and Theranostics**. *Theranostics*, v.10(10). p. 4557-4588.2020. DOI: 10.7150/Thno.38069

Mohammed, M. A.; Syeda, J. T. M.; Wasan, K. M.; Wasan, E. K. **An Overview of Chitosan Nanoparticles and Its Application in Non-Parental Drug Delivery**. *Pharmaceutics*. v.9(4). 2017. p. 53 DOI: <https://Doi.Org/10.3390/Pharmaceutics9040053>

Owens (III), D. E.; Peppas, N. A. **Opsonization, Biodistribution, And Pharmacokinetics of Polymeric Nanoparticles**. *International Journal of Pharmaceutics*. v.307(1). p.93-102.2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.Ijpharm.2005.10.010>

Pawar, S. N.; Edgar, K. J. **Alginate Dirivatization: A Review of Chemistry Properties and Applications**. *Biomaterials*, v. 33(11). p. 3279-3305.2012 DOI : <https://doi.org/10.1016/J.Biomaterials.2012.01.007>

Prata, M. S. Et. Al. **Nanoncologia: Tratamento De Tumores Malignos Com Nanopartículas**. *Caderno De Graduação- Ciências Biológicas E Da Saúde- Unit- Sergipe*, v. 4(1), p.67. 2017. Disponível em: <https://periodicos.set.edu.br/Cadernobiologicas/Article/View/3598>

Qi, J. Et. Al. Gallium (Iii) **Complexes Of α -N-Heterocyclic Piperidylthiosemicarbazones**: Synthesis, Structure- Activity Relationship, Cellular Uptake and Activation of Caspases-3/7/9. *Journal Of Inorganic Biochemistry*, v. 186. p.42-50.2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.Jinorgbio.2018.05.005>

Quintar-Guerrero, D.; Allémann, E.; Fessi, H. Doelker, E. **Preparation Techniques and Mechanisms of Formation of Biodegradable Nanoparticles from Preformed Polymers.** *Drug Development and Industrial Pharmacy*. v. 24(12). p. 1113-1128.1998. DOI:<https://doi.org/10.3109/03639049809108571>

Rai, M.; Ingle, A. P.; Birla, S.; Yadav, A.; Santos, C. A. D. **Strategic Role of Selected Noble Metal Nanoparticles in Medicine.** *Critical Reviews in Microbiology*, 42(5), p.696–719. 2015. DOI: <https://doi.org/10.3109/1040841x.2015.1018131>

Rinaldo, M. **Chitin, and Chitosan: Properties and Applications.** *Progress In Polymer Science*, v.31(7). p.603-632.2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.Progpolymsci.2006.06.001>

Rudnev, A. V. Et. **Al Preclinical Characterization of Anticancer Gallium(III) Complexes: Solubility, Stability, Lipophilicity and Binding to Serum Proteins.** *Journal Of Inorganic Biochemistry*. v. 100(11),p.1819-1826. 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.Jinorgbio.2006.07.003>

Sercombe, L. Et. Al. **Advances and Challenges of Liposome Assisted Drug Delivery.** *Integrative And Regenerative Pharmacology*, v. 6. 2015. DOI: <https://doi.org/10.3389/Fphar.2015.00286>

Tønnesen, H. H.; Karlsen, J. **Alginate in Drug Delivery Systems.** *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 28(6), p. 621–630.2002.DOI: <https://doi.org/10.1081/Ddc-120003853>

U.S. Food and Drug Administration. **Drug Products, Including Biological Products, That Contain Nanomaterials-** Guidance For Industry. 2022. Disponível em: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/drug-products-including-biological-products-contain-nanomaterials-guidance-industry>

Wang, B. W. Et. Al. **Current Advance of Nanotechnology in Diagnosis and Treatment for Nalignant Tumors.** *Signal Transduction and Targeted Therapy*, v.200. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1038/S41392-024-01889-Y>

Ward. C. Et. Al. **The Impact of Tumor Ph on Cancer Progression: Strategies for Clinical Intervention.** *Explor Target Antitumor*, v.1(2). p.71-100.2020. DOI: 10.37349/Etat.2020.00005