

**MINISTÉRIO DA DEFESA
EXÉRCITO BRASILEIRO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA
INSTITUTO MILITAR DE ENGENHARIA
CURSO DE DOUTORADO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS**

VAGNER DE OLIVEIRA MACHADO

**DESENVOLVIMENTO DE NANOPARTÍCULAS
PARA APLICAÇÕES BIOMÉDICAS**

Rio de janeiro

2018

INSTITUTO MILITAR DE ENGENHARIA

VAGNER DE OLIVEIRA MACHADO

**DESENVOLVIMENTO DE NANOPARTÍCULAS
PARA APLICAÇÕES BIOMÉDICAS**

Tese de doutorado submetida ao Programa de Pós-graduação em Ciência dos Materiais como um requisito parcial para a obtenção do grau de doutor em Ciências em Ciência dos Materiais.

Orientador: Prof. Carlos Nelson Elias – D.C.

Co-orientadora: Prof^a. Flávia Almada do Carmo – D.C.

Co-orientadora: Prof^a. Ângela Leão Andrade – D.C.

Rio de Janeiro
2018

c2018

INSTITUTO MILITAR DE ENGENHARIA

Praça General Tibúrcio, 80 – Praia Vermelha

Rio de Janeiro – RJ CEP: 22290-270

Este exemplar é de propriedade do Instituto Militar de Engenharia, que poderá incluí-lo em base de dados, armazenar em computador, microfilmear ou adotar qualquer forma de arquivamento.

É permitida a menção, reprodução parcial ou integral e a transmissão entre bibliotecas deste trabalho, sem modificação de seu texto, em qualquer meio que esteja ou venha a ser fixado, para pesquisa acadêmica, comentários e citações, desde que sem finalidade comercial e que seja feita a referência bibliográfica completa.

Os conceitos expressos neste trabalho são de responsabilidade do(s) autor(es) e do(s) orientador(es).

620.1	Machado, Vagner de Oliveira
M149d	Desenvolvimento de nanopartículas para aplicações biomédicas / Vagner de Oliveira Machado; orientado por Carlos Nelson Elias; Flávia Almada do Carmo; Ângela Leão Andrade – Rio de Janeiro: Instituto Militar de Engenharia, 2018.
	73p.: il.
	Tese (Doutorado) – Instituto Militar de Engenharia, Rio de Janeiro, 2018.
	1. Curso de Ciência dos Materiais – teses e dissertações. 2. Nanotecnologia. 3. Biomateriais. I. Elias, Carlos Nelson. II. Carmo, Flávia Almada do. III. Andrade, Ângela Leão. IV. Instituto Militar de Engenharia.

INSTITUTO MILITAR DE ENGENHARIA

VAGNER DE OLIVEIRA MACHADO

**DESENVOLVIMENTO DE NANOPARTÍCULAS PARA
APLICAÇÕES BIOMÉDICAS**

Tese de doutorado submetida ao Programa de Pós-graduação em Ciência dos Materiais do Instituto Militar de Engenharia como um requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciência dos Materiais.

Orientador: Prof. Carlos Nelson Elias – D.C.

Co-orientadora: Prof^a. Flávia Almada do Carmo – D.C.

Co-orientadora: Prof^a. Ângela Leão Andrade – D.C.

Aprovado em 21 de Maio de 2018 pela seguinte Banca Examinadora:

Prof. Carlos Nelson Elias, DC do IME – Orientador/ Presidente

Prof^a. Flávia Almada do Carmo, DC da UFRJ – Co-orientadora

Prof^a. Ângela Leão Andrade, DC da UFOP – Co-orientadora

Prof. André Ben-Hur da Silva Figueiredo, DC do IME

Prof^a. Adriana Cristina Motta, D.C. da INT

Prof. Claudio Teodoro dos Santos, D.C. da INT

Prof^a. Alice Simon, D.C. da UNIFESO

Prof. Plínio Cunha Sathler, DC da UFRJ

Rio de Janeiro

2018

AGRADECIMENTOS

No fim deste ciclo, posso dizer que foi um caminho longo, com os seus altos e baixos, mas certamente não teria sido possível chegar aonde cheguei, sem a força, ajuda e compreensão de um conjunto de pessoas importantes.

A minha família, por seu encorajamento, confiança, compreensão, carinho e amor.

Ao meu amigo Cláudio Teodoro dos Santos, pelo apoio científico, amizade e irmandade.

Aos meus amigos Raphael Aragonês Leite e Ramona Rodrigues Santos, pelo apoio científico e momentos de descontração durante o curso de doutorado.

Ao professor Carlos Nelson Elias, pelo extremo apoio incondicional, paciência, orientações, habilidade de exercitar o bom senso com responsabilidade, humanismo, conhecimento compartilhado, honestidade e, principalmente, pelo respeito.

À professora Eliana A.R. Duek, pela atenção, sugestão do seu material, orientações iniciais e apoio extremo mediado pela Dra. Adriana Motta que teve papel primordial no uso do terpolímero e na elaboração deste trabalho.

À professora Flávia Almada do Carmo, pela confiança, apoio incondicional, extrema atenção, paciência, por mediar a aprovação do uso do laboratório pelo chefe do LabTIF/ UFRJ, Prof. Lúcio Mendes Cabral, e, principalmente, pelas orientações na transferência de tecnologia industrial farmacêutica em nanotecnologia durante este trabalho.

À professora Ângela Leão Andrade, pela confiança, extrema disponibilidade, atenção e apoio, por mediar a aprovação de uso do laboratório LaMPaC, chefiado pela Profa. Rosana Zacarias Domingues, pelas orientações na transferência de tecnologia de síntese envolvendo nanopartículas magnéticas. Além de promover novas relações profissionais condicionadas aos renomados professores em nanotecnologia, tais como: José Domingos Fabris emérito – DQ/ UFMG, José Domingos Ardisson – CDTN/ CNEN e Luís Eugênio Fernández Outon – DF/UFMG/ CDTN/ CNEN.

À Profa Alice da UNIFESO e pesquisadora do LabTIF/UFRJ, pela atenção, conhecimento compartilhado, alegria, paciência, proatividade, extrema humildade e habilidade intrínseca de conviver na comunidade científica.

Aos pesquisadores LabTIF/ UFRJ Letícia Coli Louvise de Abreu, Carolina Siqueira Escudini e Raphael Ferreira da Silva, pela extrema atenção, rapidez nas

atividades, humildade no conhecimento compartilhado e, principalmente, pela consideração profissional durante a execução deste trabalho.

Ao Prof. André Ben-Hur do IME, pelo conhecimento em nanotecnologia e, principalmente, por ceder seu tempo na cantina, ou mesmo no laboratório, para um bate-papo informal de grande valia no aperfeiçoamento da minha modesta maturidade científica.

Aos professores Sérgio Neves Monteiro, Eduardo de Sousa Lima e Alaelson Vieira Gomes, pela sensibilidade e habilidade no relacionamento com as pessoas, pelo caráter profissional extremo e pela requintada capacidade de compartilhar conhecimentos com rigor teórico e didático, respeitando a individualidade de cada estudante.

Aos professores e pesquisadores do IME, LabTIF/ UFRJ, LaMPaC/ UFMG, DEMP/INT, LAMAP/INT e CDTN/ CNEN, pelas conversas descontraídas, pelo apoio na operação dos equipamentos e pelo conhecimento compartilhado durante este trabalho.

Aos bibliotecários da Escola de Enfermagem Alfredo Pinto/Unirio/Urca, por compartilhar a conexão de internet, via cabo de rede, disponibilizar a estrutura e ambiente agradável da biblioteca, pela extrema gentileza, humanidade, atenção e, principalmente, pela extrema disponibilidade a meu favor, durante parte significativa deste curso de doutorado - 2015.

Aos membros da biblioteca do IME, pela habilidade em manter um ambiente e uma relação extremamente agradável a favor das pessoas e, principalmente, pela sensibilidade em disponibilizar uma visão paradisíaca através das janelas da biblioteca.

Aos funcionários da limpeza e da segurança do IME, INT, UFMG, CDTN/CNEN e UFRJ, pela gentileza, cordialidade, conversas descontraídas e por promover um ambiente saudável.

À Secretaria de pós-graduação do IME, pela habilidade em efetivar os requerimentos dos alunos com rapidez e cordialidade.

À CAPES, pelo comprometimento incondicional e apoio financeiro.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho.

Muito obrigado!!!

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES	8
LISTA DE TABELAS	10
LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS.....	11
1 INTRODUÇÃO.....	14
1.1 Escolha do Tema.....	17
1.2 Objetivo da Pesquisa.....	17
1.2.1 Objetivos Gerais	17
1.2.2 Objetivos Específicos	17
1.2.3 Originalidade da Pesquisa.....	18
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	19
2.1 Superparamagnetismo.....	19
2.2 Magnetita	20
2.3 Ferrofluido magnético: magnetita/TMAOH.....	20
2.4 Poli(L-co-D,L ácido láctico-co-trimetileno carbonato) (PLDLA-co-TMC) ...	21
2.5 Degradação	22
2.6 PEO-PPO-PEO	22
2.7 Finasterida.....	23
2.8 Mecanismos de liberação de fármacos em polímeros.....	23
2.8.1 Polímeros hidrofóbicos.	23
2.8.2 Polímeros Hidrofílicos.....	24
2.9 Nanosistemas de Liberação Controlada.....	25
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	26
3.1 Materiais	26
3.2 Métodos	26

3.2.1	Síntese e funcionalização da magnetita: ferrofluido magnético	27
3.2.2	Síntese das nanopartículas híbridas	28
3.2.3	Síntese das nanopartículas com finasterida encapsulada	28
3.2.4	Caracterização.....	28
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	32
4.1	Nanosistema de entrega oral controlada de medicamentos	32
4.1.1	FTIR	32
4.1.2	TGA.....	33
4.1.3	DSC	35
4.1.4	DLS	37
4.1.5	MEV-FEG.....	39
4.1.6	CLAE.....	40
4.2	Nanosistemas híbridos	42
4.2.1	FTIR.....	42
4.2.2	DRX.....	44
4.2.3	TGA	45
4.2.4	DSC.....	48
4.2.5	AAS.....	50
4.2.6	DLS	51
4.2.7	VSM.....	54
5	CONCLUSÃO	57
6	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	59
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1.	Espinélio Inverso na magnetita. Modificado de (FERREIRA, 2009a).....	20
Figura 2.	Ferrofluida magnetita / TMAOH. Modificado de (ANDRADE et al., 2012b).....	21
Figura 3.	Fórmula estrutural de PLDLA-co-TMC. Modificado de (KOMATSU et al., 2017).....	21
Figura 4.	Degradação de poliésteres de alta massa molar. Modificado de (MONTEIRO, 2007).	22
Figura 5.	Estrutura química de PEO-PPO-PEO (hidrofílico (PEO) - lipofílico (PPO) balance, HLB 29). Modificado de (SANTANDER-ORTEGA et al., 2007).	22
Figura 6.	Estrutura química da finasterida. Modificado de (SANTOS et al., 2015). 23	
Figura 7.	Mecanismo de liberação de fármaco em polímeros hidrofóbicos. Modificado de (LOPES; LOBO; COSTA, 2005).	24
Figura 8.	Mecanismo de liberação de fármaco em polímeros hidrofílicos. Modificado de (LOPES; LOBO; COSTA, 2005).	25
Figura 9.	Sistema de liberação controlada de fármacos. Modificado de (MANADAS; PINA; VEIGA, 2002).....	25
Figura 10.	Fluxograma da metodologia empregada para o desenvolvimento das nanopartículas.....	27
Figura 11.	Espectro infravermelho das amostras: a) PEO-PPO-PEO, b) terpolímero (PLDLA-co-TMC), c) nanopartícula em branco, d) nanopartícula com finasterida, e) finasterida e D) correspondente sinal ampliado.....	33
Figura 12.	Curva de TGA das amostras: (a) polímero (PLDLA-co-TMC), (b) PEO-PPO-PEO, (c) partícula em branco, (d) finasterida e e) nanopartículas com finasterida.	35
Figura 13.	Perfis termogravimétricos de a) PLDLA-co-TMC, b) finasterida, c) PEO-PPO-PEO, d) nanopartículas brancas e e) nanopartículas com finasterida.	36
Figura 14.	Distribuição do tamanho das nanopartículas em função do volume hidrodinâmico (%).	38
Figura 15.	Micrografias das nanopartículas em branco a) e com finasterida b).....	40

Figura 16.	Curva de calibração da finasterida no método CLAE.....	40
Figura 17.	Percentual de liberação acumulada das nanopartículas carregadas com finasteridas (n=3).....	41
Figura 18.	Espectro de infravermelho das amostras: a) PLDLA-co-TMC, b) PEO-PPO-PEO e c) nanopartícula em branco.	42
Figura 19.	Espectro infravermelho das amostras: a) nanopartículas em branco, b) MAG, c) MAG1, d) MAG1 (0,25), e) MAG1 (0,5) e f) MAG1 (1,0).	44
Figura 20.	Padrões de difração de raios X das amostras: (a) MAG, (b) MAG1, (c) mag1 (0,25), (d) MAG1 (0,5), (e) MAG1 (1,0), e (f) magnetite (Arquivo ICDD No: 19-0629).	45
Figura 21.	Curva de TGA (mg X °C) das amostras: (a) terpolímero (PLDLA-co-TMC), (b) copolímero em bloco (PEO-PPO-PEO), (c) partícula em branco, (d) mag1, (e) mag1 (0,25), (f) mag1 (0,5) e (g) mag1 (1,0).....	48
Figura 22.	Curva DSC das amostras: (a) polímero (PLDLA-co-TMC), (b) PEO-PPP-PEO, (c) nanopartícula em branco, (d) MAG1, (e) MAG1 (0,25), (f) MAG1 (0,5) e (g) MAG1 (1,0).	50
Figura 23.	Distribuições do tamanho de partícula das amostras: a) blank nanoparticle, b) MAG1, c) MAG1 (0,25 ml), d) MAG1 (0,5 ml) e MAG1 (1,0 ml).	53
Figura 24.	Loops de histerese de amostras: a) MAG, b) MAG1 (0,25), c) MAG1 (0,5), d) MAG1 (1,0). Inserção mostra ciclos de histerese da amostra mag.....	55
Figura 25.	Relação entre magnetização e porcentagem de magnetita nas nanopartículas híbridas e na própria magnetita.....	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características das nanopartículas.	39
Tabela 2. Concentração de magnetita em nanopartículas híbridas.....	51
Tabela 3. Diâmetro médio de tamanho de partícula para diferentes amostras obtidas da análise DLS.....	53
Tabela 4. Parâmetros magnéticos dos nanocompósitos de magnetita e copolímero com diferentes teores de nanopartículas de magnetita.....	55

LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS

AAS	Atomic absorption spectroscopy
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
DLS	Dynamic light scattering
DRX	Difração de raios-X
DSC	Differential scanning calorimetry
ICDD	International Centre for Diffraction Data
HPLC	High-performance liquid chromatography
MAG	Magnetita
MAG1	Fluido magnético (Magnetita/TMAOH)
MAG1(0,25)	Nanopartícula com 0,25 mL de fluido magnético encapsulado
MAG1(0,5)	Nanopartícula com 0,5 mL de fluido magnético encapsulado
MAG1(0,1)	Nanopartícula com 1,0 mL de fluido magnético encapsulado
MEV-FEG	Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo
PEO-PPO-PEO	Poli(óxido de etileno)-poli(óxido de propileno)-poli(óxido de etileno)
PLDLA-co-TMC	Poli(L-co-D,L Ácido Láctico-co-Trimetileno Carbonato)
TGA	Thermogravimetric analysis
TMAOH	Tetramethylammonium hydroxide
VSM	Vibrating-sample magnetometer
H_C	Campo Coercivo
M_s	Magnetização de saturação
Ψ	Fração volumétrica das Nanopartículas Magnéticas
ms	Momento de Saturação
M_r	Campo Remanescente

RESUMO

A medicina regenerativa é reconhecida por desenvolver *scaffolds* associados às células-tronco e biomoléculas capazes de promover a substituição dos tecidos danificados. As diferenças dimensionais das estruturas naturais do tecido substituído são minimizadas pelo acoplamento de nanopartículas capazes de alterar as propriedades desses *scaffolds*, os quais combinam formulações farmacêuticas e tecnologias para aplicações em diagnóstico e terapia. Tais formulações de nanopartículas à base de PLDLA-co-TMC/PEO-PP-PEO foram associados ao fluido magnético ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{TMAOH}$) e a finasterida (fármaco modelo, hidrofóbico), individualmente, com os objetivos de desenvolver novos nanossistemas e estudar suas propriedades físico-químicas. Neste contexto, visando superar as limitações do fármaco (baixa biodisponibilidade, por exemplo) e obter a multifuncionalidade do fluido magnético, dois novos nanocarreadores foram desenvolvidos pelo método de deslocamento de solvente. As técnicas de caracterização dos nanomateriais utilizadas foram: FTIR, DSC, TGA, DLS, MEV-FEG, CLAE, DRX, AAS e VSM. Os resultados do encapsulamento da finasterida pelas nanopartículas à base de PLDLA-co-TMC/PEO-PP-PEO sugerem alta eficiência de encapsulação e liberação acumulada de finasterida até 24 horas, uma dispersão molecular da finasterida na matriz que aumenta a estabilidade térmica do polímero, forma esférica, polidispersividade estreita, distribuição unimodal do tamanho das partículas e energia superficial negativa. Enquanto que o encapsulamento do fluido magnético pelas nanopartículas à base de PLDLA-co-TMC/PEO-PP-PEO sugerem um arranjo estrutural ordenado e uniforme de nanopartículas no interior da matriz do copolímero, estabilidade coloidal, superparamagnético, aumento da magnetização de saturação com o aumento do conteúdo de Fe_3O_4 no nanocompósito e aumento da quantidade de Fe_3O_4 proporcional ao aumento da dificuldade de encapsulamento do Fe_3O_4 . Portanto, essas características direcionam fortemente ao uso potencial destes novos biomateriais em aplicações biomédicas.

ABSTRACT

Regenerative medicine is recognized for developing scaffolds associated with stem cells and biomolecules capable of promoting the replacement of damaged tissues. The dimensional differences of the natural structures of the replaced tissue are minimized by the coupling of nanoparticles capable of altering the properties of these scaffolds, which combine pharmaceutical formulations and technologies for diagnostic and therapeutic applications. These formulations of PLDLA-co-TMC/PEO-PP-PEO-based nanoparticles were associated with magnetic fluid ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{TMAOH}$) and finasteride (model drug, hydrophobic) individually for the purpose of developing new nanosystems and studying their physico-chemical properties. In this context, in order to overcome the limitations of the drug (low bioavailability, for example) and obtain the multifunctionality of the magnetic fluid, two new nanostructured biomaterials were developed by the solvent displacement method. The techniques of characterization of the nanomaterials used were: FTIR, DSC, TGA, DLS, MEV-FEG, CLAE, DRX, AAS and VSM. The results of encapsulation of finasteride by PLDLA-co-TMC/PEO-PP-PEO-based nanoparticles suggest high encapsulation efficiency and cumulative release of finasteride up to 24 hours, a finasteride molecular dispersion in the matrix that increases the thermal stability of the polymer, spherical shape, narrow polydispersity, unimodal particle size distribution and negative surface energy. While the encapsulation of magnetic fluid by PLDLA-co-TMC/PEO-PP-PEO-based nanoparticles suggests an orderly and uniform structural arrangement of nanoparticles within the copolymer matrix, colloidal, superparamagnetic stability, increase of saturation magnetization with the increase of the content of Fe_3O_4 in the nanocomposite and increase of the amount of Fe_3O_4 proportional to the increase of the difficulty of encapsulation of Fe_3O_4 . Therefore, these characteristics strongly indicate the potential use of these new biomaterials in biomedical applications.

1 INTRODUÇÃO

As pesquisas na área da nanotecnologia e da medicina regenerativa resultaram no desenvolvimento de *scaffolds* (estruturas artificiais de suporte 3D) associados às células-tronco e biomoléculas. Estes sistemas apresentam características biomiméticas viáveis para promover a substituição dos tecidos danificados (GREGOR et al., 2017; VIEIRA et al., 2017). As diferenças dimensionais das estruturas naturais do tecido substituído são propriedades que têm sido aprimoradas para melhorar o desempenho dos *scaffolds*. Nesta área, a medicina possui resultados protagonistas no desenvolvimento de nanopartículas capazes de alterar as propriedades desses *scaffolds*, os quais combinam formulações farmacêuticas e tecnologias para aplicações em diagnóstico (biossensores) e terapia. Os sistemas atuais podem ser usados no tratamento (terapias baseadas em células, liberação de fármacos e genes, hipertermia), monitoramento (rotulagem e rastreamento de células para imagens) e prevenção (vacinas) de doenças (MORNET et al., 2004b; BABIC et al., 2008a; ANDRADE et al., 2011; DE ABREU et al., 2016; POLYAK et al., 2016b; VIEIRA et al., 2017). A eficiência dos compósitos é atribuída à versatilidade das propriedades físico-químicas e biológicas dessas nanopartículas que são incorporadas aos componentes biológicos ativos (SOUZA et al., 2008b; ANDRADE et al., 2009a, 2009b, 2010, 2011, 2012a, 2012e, 2015b, 2017; PAIVA et al., 2015).

Entre as nanopartículas empregadas na medicina destaca-se a magnetita (Fe_3O_4). Estas nanopartículas são superparamagnéticas (MORNET et al., 2004b), apresentam baixa ou ausência de toxicidade (DANIEL-DA-SILVA et al., 2007), bom efeito clínico com contraste negativo (tempo de relaxação T2 - imagem escura) (BAE et al., 2010b), alta saturação magnética, reatividade inversamente proporcional ao diâmetro, alta instabilidade química, biodegradabilidade em ambientes biológicos (FERREIRA, 2009b; ANDRADE et al., 2015b; BELYANINA et al., 2017b), habilidade de atravessar barreiras biológicas, internalizar células, responder ao campo magnético externo, liberar fármacos (DI CORATO et al., 2014; SATALKAR; ELGER; SHAW, 2016) e facilidade de preparação (ANDRADE et al., 2011, 2012e, 2015b). Estas características permitiram seu uso na nanotecnologia biomédica (BABIC et al., 2008b; SOUZA et al., 2008a; BAE et al., 2010a; ZHANG et al., 2010; DAS et al., 2011; PARK et al., 2011; NARAYANAN et al., 2012; HARJANTO et al., 2013; ZHOU et al., 2014; BARROW

et al., 2015; KHALKHALI et al., 2015; POLYAK et al., 2016a). Alternativamente, para superar algumas limitações, tais como baixa estabilidade coloidal, tempo reduzido de circulação em ambientes biológicos e baixa afinidade por locais-alvo (ANDRADE et al., 2015a; BELYANINA et al., 2017a),(MORNET et al., 2004a; CRUCHO; BARROS, 2017; EL-SAY; EL-SAWY, 2017), foram desenvolvidos vários nanosistemas híbridos de magnetita-polímero (ZHANG et al., 2010; ZHOU et al., 2014; ILLÉS et al., 2015; KHALKHALI et al., 2015).

As nanopartículas poliméricas obtidas por métodos químicos (monômero) ou físicos (polímeros pré-formados) apresentam vantagens, tais como: ausência ou mínima toxicidade (BANIK; FATTAHI; BROWN, 2016), tamanho reduzido e capacidade uniforme de influenciar a biodistribuição. Estas características dependem da via de administração (HICKEY; SANTOS; WILLIFORD, 2016), formas geométricas (esféricas ou cilíndricas), capacidade de influenciar o tempo de circulação, interação celular e internalização dos tecidos (WILLIFORD et al., 2015), diâmetro hidrodinâmico, carga superficial e composições químicas. As nanopartículas devem ter permeabilidade e possibilidade de retenção em tumores (SHI et al., 2017). O nível de liberação dos fármacos depende do grau de biodegradabilidade, da composição do polímero, eficiência de direcionamento, dispersividade aquosa e biodisponibilidade modulada pela funcionalização da superfície (CHEN et al., 2016). Além disto, devem apresentar facilidade de processamento. Os polímeros podem ser hidrofóbicos, hidrofílicos, naturais ou sintéticos, propriedades que influenciam na biocompatibilidade e na biodegradabilidade (CHEN et al., 2016). Portanto, as características do polímero precursor influenciam nas propriedades das nanopartículas poliméricas. O terpolímero PLDLA-co-TMC, cientificamente chamado de poli (L-co-D, L ácido láctico-co-trimetileno carbonato), possui propriedades adequadas para uso na preparação de nanopartículas. Este polímero possui elevada massa molar, apresenta biocompatibilidade, é bioabsorvível e apresenta potencial para estudos no campo da nanotecnologia e da medicina regenerativa (MESSIAS et al., 2014a; MOTTA; DUEK, 2014; KOMATSU et al., 2017), (PRIDGEN; ALEXIS; FAROKHZAD, 2015).

Para melhorar o desempenho das nanopartículas são agregados fármacos. Aprovada clinicamente, o fármaco finasterida é usado no tratamento sistêmico oral da hiperplasia benigna da próstata e alopecia androgenética (VENTURA et al., 2011; PARSONS et al., 2012; POHLMANN, 2012; SHRIVASTAVA; GUPTA, 2012; FAGIR et al., 2015; OLESOVSKY; KAPOOR, 2016). Especificamente, uma dosagem de 1 a 5 mg/ dia

induz uma taxa de redução da próstata de 19%. O uso de 5 mg/ dia permite biodisponibilidade média de 63%. Este resultado indica que as propriedades físico-químicas e biológicas do fármaco apresentam limitações de biodisponibilidade (POHLMANN, 2012; IZUMI; LI; CHANG, 2014; AHMED, 2016a). A via oral, como forma de administração do fármaco através do trato gastrointestinal, sofre alteração do pH do organismo (estômago pH 1 e intestino pH 8), induz a degradação enzimática e há variação na camada do muco. Além disso, atua como barreiras intrínsecas (monocamada de células epiteliais), modifica os sistemas metabólicos, bombas de efluxo de P-gp e sistema imunitário (células T, macrófagos). Estas alterações ocorrem antes da permeabilidade e absorção do nanosistema quimioterapêutico na corrente sanguínea (ou circulação sistêmica) (PRIDGEN; ALEXIS; FAROKHZAD, 2015; LUO et al., 2016; MUHEEM et al., 2016). Por outro lado, apresenta boa aceitação pelo paciente por não ser invasivo, além de ter produção simples e baixo custo quando comparado a outros sistemas de liberação.

O método de deslocamento de solvente é um processo relativamente simples com duas fases em que, sob agitação, o solvente orgânico da fase orgânica é dissolvido no solvente não-orgânico (fase aquosa), miscíveis entre si, e promove a produção de nanopartículas (50-300 nm) originárias de materiais precursores das respectivas fases (BECK-BROICHSITTER et al., 2010). Os parâmetros do processo (quantidade e peso molecular do polímero, natureza do solvente, sequência de adição e concentração das fases, taxa de gotejamento e quantidade de surfactante) influenciam nas propriedades físico-químicas finais das nanopartículas (MILADI et al., 2016a). Tais peculiaridades do método permitem a produção de nanopartículas com versatilidade significativa no antifúngico de uso vaginal (200-800 nm), oncológico (60-400 nm), intra-ocular (10-1000 nm) (DINARVAND et al., 2011; DE ABREU et al., 2016; VIEIRA et al., 2017) e várias aplicações em nanomedicina e engenharia de tecidos (NITTA; NUMATA, 2013).

O uso do método de deslocamento de solvente para sintetizar nanopartículas baseadas em nanopartículas magnéticas e finasterida revestidas por PLDLA-co-TMC são inovadores. Este método foi escolhido por permitir a obtenção de nanopartículas híbridas contendo fármacos encapsulados (BARICHELLO et al., 1999; SATHLER et al., 2014; MILADI et al., 2016a). Espera-se com os resultados obtidos, a possibilidade de desenvolver nanosistemas híbridos e multifuncionais para aplicações na medicina regenerativa.

1.1 ESCOLHA DO TEMA

O desenvolvimento de nanomateriais necessita da união de pesquisadores de diferentes áreas da ciência para permitir a evolução científica. Além disso, a capacidade de manipular e conhecer as propriedades dos nanomateriais pode gerar produtos inovadores. Neste contexto, ao desenvolver novas nanopartículas baseadas em PLDLA-co-TMC e promover um método inovador no processamento de novas nanopartículas híbridas (PLDLA-co-TMC e magnetita/ TMAOH), buscou-se gerar nanopartículas com propriedades inovadoras e capazes de atender problemas atuais e futuros da sociedade.

1.2 OBJETIVO DA PESQUISA

1.2.1 Objetivos Gerais

Os objetivos desta pesquisa são: (i) desenvolver novos nanosistemas baseados em PLDLA-co-TMC (biomaterial nanohíbrido baseado em Fe_3O_4 / TMAOH (hidróxido de tetrametilamônio) / PLDLA-co-TMC), (ii) estudar a interação entre nanopartículas de magnetita e PLDLA-co-TMC, (iii) desenvolver um biomaterial baseado no PLDLA-co-TMC para sistemas de liberação oral controlada de fármacos, encapsulando finasterida, e (iv) estudar a interação entre a finasterida e o PLDLA-co-TMC.

1.2.2 Objetivos Específicos

Os objetivos específicos foram divididos em duas partes com base nos sistemas a serem desenvolvidos:

- I. Desenvolver nanosistema de liberação controlada de fármaco:
 - Sintetizar e caracterizar novas nanopartículas baseadas em PLDLA-co-TMC contendo finasterida incorporada pelo método de deslocamento de solvente;
 - Desenvolver a metodologia analítica para a quantificação da finasterida incorporada em nanopartículas utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC);

- Determinar a eficiência do encapsulamento e carregamento do fármacos nas nanopartículas;
- Analisar a cinética de liberação do fármaco livre e encapsulado nas nanopartículas.

II. Desenvolver nanosistema Híbrido:

- Realizar a síntese, funcionalização e caracterização da magnetita: ferrofluido magnético;
- Realizar a síntese e caracterização de novas nanopartículas híbridas utilizando um novo método para identificar a magnetita/ TMAOH encapsulada.

1.2.3 Originalidade da Pesquisa

- I. Será realizada a síntese de novos nanosistemas que envolvem o terpolímero com nanopartículas de magnetita híbrida / TMAOH / PLDLA-co-TMC e nanopartículas de PLDLA-co-TMC / finasterida; e
- II. Será executado o desenvolvimento de novo método de síntese para o encapsulamento de magnetita / TMAOH pelo terpolímero.

Esta pesquisa possui caráter inédito uma vez que a tecnologia envolve o desenvolvimento de novos nanomateriais e analisa a possibilidade de aplicações dos terpolímeros na medicina regenerativa. Possui ainda, a inovação em nanotecnologia farmacêutica com a incorporação de fármaco em nanopartículas à base de PLDLA-co-TMC.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 SUPERPARAMAGNETISMO

O ordenamento antiparalelo desproporcional da interação magnética de momentos em múltiplos domínios dos materiais sólidos (ou volumosos) ferrimagnéticos (óxidos de ferro, por exemplo) tende a alinhar, promover a magnetização de saturação e a magnetização espontânea na presença ou ausência do campo magnético externo. Quando a temperatura neste material está acima da temperatura de Curie (T_C), a desordem total dos momentos de dipolo no material descaracteriza o estado ferrimagnético e determina uma transição de fase para paramagnética na qual a magnetização total é zero (FRANCISQUINI; SCHOENMAKER; SOUZA, 2014). Quando os materiais sólidos transformam-se em nanopartículas magnéticas, os momentos magnéticos de dipolos atômicos efetivos e alinhados estão ausentes de interação magnética. Abaixo do diâmetro crítico, os momentos magnéticos se tornam efetivos por estarem num único monodomínio (TOGNOLO, 2017). Da mesma forma, como o material sólido, o estado paramagnético de desordem dos momentos de dipolos, acima do T_C , promove a magnetização nula. Por outro lado, abaixo de T_C , os estados magnéticos são dependentes da temperatura de bloqueio que, por sua vez, está diretamente associada aos diâmetros e distribuições das nanopartículas (FRANCISQUINI; SCHOENMAKER; SOUZA, 2014; FERREIRA, 2009b; TOGNOLO, 2017).

Segundo Stoner-Wohlfarth e Neel (CAMILO, 2006), a energia de ativação (ou térmica) é diretamente dependente do diâmetro da nanopartícula e representa a barreira de energia entre dois estados de equilíbrio (ou diferentes direções cristalográficas). Com isto, há desorientações dos campos magnéticos dos momentos de dipolo que, por via de regra, correspondem a uma condição de $K_B T_{\text{ambiente}} \gg EA$ (energia de ativação) e 10 nm. Esta condição representa uma frequência de reversão ou de relaxação entre duas posições de equilíbrio e está associada ao estado de bloqueio e superparamagnéticos, equivalentes a 10^{10}s^{-1} ou a um período de 10^{-10}s . A frequência de reversão depende da temperatura capaz de promover desorientação ao longo de um tempo de relaxação mais longo, comparado ao tempo médio. Este estado magnético é definido como

superparamagnetismo (FRANCISQUINI; SCHOENMAKER; SOUZA, 2014; FERREIRA, 2009b; TOGNOLO, 2017).

2.2 MAGNETITA

A magnetita apresenta magnetização espontânea devido à estrutura espinélica inversa (FIG. 1). A localização do íon ferro é delimitada pelos interstícios octaédricos (sítio B) e tetraédrico (sítio A), de acordo com o íon $\{\text{Fe}^{3+}_8, \text{Fe}^{2+}_8\} [\text{Fe}^{3+}_8] \text{O}_{32}$. O spin não pareado do íon Fe^{2+} associado ao magneton de Bohr e o volume da célula unitária determinam a magnetização de saturação, porque o Fe^{3+} nos sítios A e B é cancelado (FERREIRA, 2009a; TRISTÃO, 2010). Além do superparamagnetismo, a magnetita foi escolhida por apresentar características físico-químicas viáveis e biocompatíveis para práticas biomédicas (MORNET et al., 2004b; ANDRADE et al., 2011, 2015b; PAIVA et al., 2015).

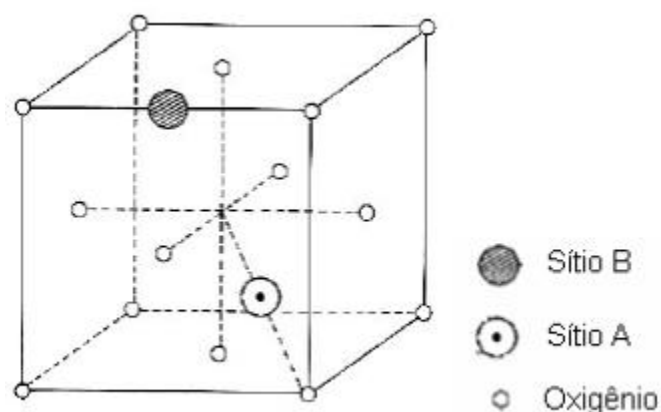


Figura 1. Espínelio Inverso na magnetita. Modificado de (FERREIRA, 2009a).

2.3 FERROFLUIDO MAGNÉTICO: MAGNETITA/TMAOH

As superfícies das nanopartículas magnéticas à base de óxido de ferro (magnetita, por exemplo) podem ser funcionalizadas por polímeros orgânicos, camadas metálicas, óxidos ou moléculas bioativas. Após o revestimento da superfície adequado, as nanopartículas podem originar suspensões homogêneas, conhecidas como ferrofluidos (ANDRADE et al., 2013). Segundo (TEBALDI et al., 2018), o encapsulamento dos

ferrofluidos pelas nanopartículas poliméricas permite modificar a estrutura das nanopartículas híbridas e modular a liberação de fármacos.

A funcionalização da magnetita com hidróxido de tetrametilamônio promove a adsorção de $[(\text{CH}_3)_4\text{N}]^+$ na superfície do óxido de ferro e gera estabilidade repulsiva e ordem cristalina (FIG.2) (ANDRADE et al., 2012b). Tais características permitem que o ferrofluido magnetita / TMAOH aumente a sua eficiência de encapsulamento e estabilidade coloidal (ANDRADE et al., 2013).

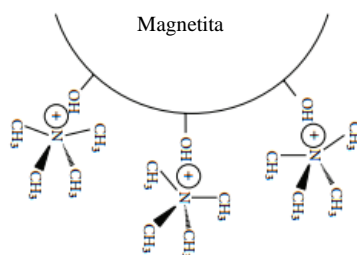


Figura 2. Ferrofluida magnetita / TMAOH. Modificado de (ANDRADE et al., 2012b).

2.4 POLI(L-CO-D,L ÁCIDO LÁCTICO-CO-TRIMETILENO CARBONATO) (PLDLA-CO-TMC)

O poli (ácido lático), PLA, é um poli (α -éster) sintético, biorreabsorvível e hidrofóbico (grupo lateral - CH_3) derivado dos monômeros do ácido L-lático ou ácido D-lático. Após polimerização, o ácido poli(L, D)-lático, PLDLA, torna-se amorfo e permanece frágil (OLIVEIRA, 2008; MESSIAS et al., 2014b). Devido à flexibilidade limitada do PLDLA, o policarbonato alifático elastomérico, chamado trimetileno carbonato (TMC), foi adicionado ao PLDLA, resultando no terpolímero biocompatível PLDLA-co-TMC (FIG.3) (CABRERA, 2014; MOTTA; DUEK, 2014).

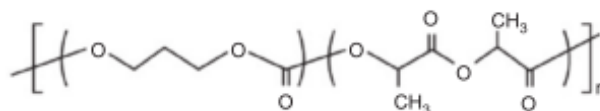


Figura 3. Fórmula estrutural de PLDLA-co-TMC. Modificado de (KOMATSU et al., 2017).

2.5 DEGRADAÇÃO

Em ambientes aquosos, os poliésteres sofrem hidrólise nas ligações ésteres (FIG.4). Eles apresentam diferenças na absorção de moléculas de água nas ligações éster, sendo que os fatores capazes de influenciar a taxa de degradação desta classe de polímeros são: massa molar, cristalinidade, temperatura de transição vítrea, dimensões morfológicas e ambientes de aplicação podem determinar diferentes taxas de degradação. Assim, no caso dos poliésteres semicristalinos, a progressão inicial da degradação hidrolítica ocorre na região de maior mobilidade das cadeias poliméricas - região amorfa. No entanto, se a região amorfa estiver acima da Tg do material, a taxa de degradação aumenta devido à maior mobilidade das cadeias amorfas e depois progride com a degradação nas regiões cristalinas (MONTEIRO, 2007).

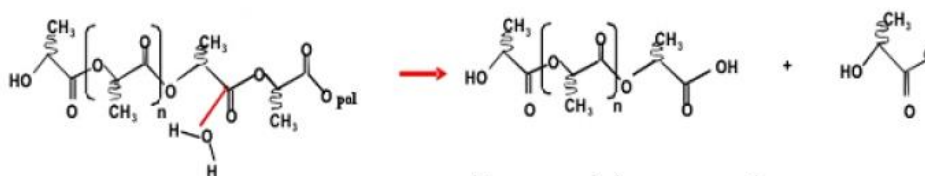


Figura 4. Degradação de poliésteres de alta massa molar. Modificado de (MONTEIRO, 2007).

2.6 PEO-PPO-PEO

O copolímero em bloco não-iônico poli (óxido de etileno) – poli (óxido de propileno) – poli (óxido de etileno) (PEO-PPO-PEO) possui características adequadas para uso na liberação de fármacos (FIG.5). A escolha deste tensoativo está associada à versatilidade do tamanho, estrutura e propriedades de adsorção, automontagem em solução aquosa, solubilização de fármacos hidrofóbicos e estabilização para evitar a coalescência das partículas (TOTH; WENBY; MEISELMAN, 2000; KEUM et al., 2011; YORDANOV; SKROBANSKA; PETKOVA, 2016; BODRATTI; ALEXANDRIDIS, 2018). Além disso, o PEO-PPO-PEO é solúvel em água e semi-cristalino (DELGADO, 2013).

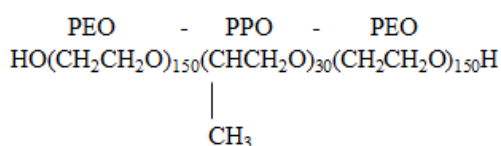


Figura 5. Estrutura química de PEO-PPO-PEO (hidrofílico (PEO) - lipofílico (PPO) balance, HLB 29). Modificado de (SANTANDER-ORTEGA et al., 2007).

2.7 FINASTERIDA

A finasterida (FIG. 6) é uma molécula esteroide insolúvel em água, de uso oral, pertence à classe II biofarmacêutica, apresentando baixa solubilidade e alta permeabilidade. Ela é solúvel em solventes orgânicos polares (etanol, metanol, DMSO e clorofórmio), além de soluções aquosas ácidas e básicas (PUPE et al., 2013). Na triagem clínica aplicada à hiperplasia benigna da próstata, com o controle da dosagem entre 1 e 5 mg/ dia de finasterida é possível variar a taxa de redução da próstata. É possível obter redução de 19% com uma dose de 5 mg/ dia a qual apresenta biodisponibilidade média de 63% (IZUMI; LI; CHANG, 2014; AHMED, 2016a).

As vantagens do encapsulamento da finasterida por nanopartículas poliméricas são conhecidas por promover a penetração e a permanência nos tecidos celulares por um tempo prolongado, atingir a solubilização, reduzir a dose utilizada e prevenir ou eliminar os efeitos colaterais (ROQUE et al., 2017). Efetivamente, as nanopartículas alteram o perfil de liberação e pode melhorar a biodisponibilidade da finasterida (AHMED et al., 2017).

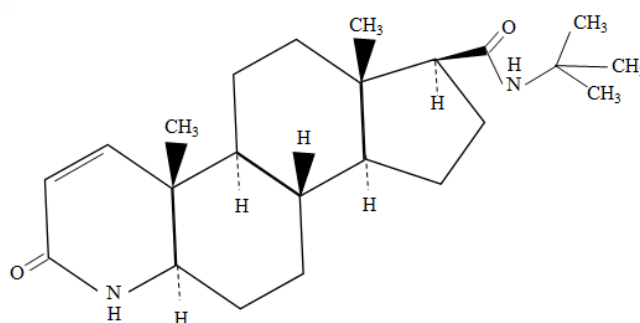


Figura 6. Estrutura química da finasterida. Modificado de (SANTOS et al., 2015).

2.8 MECANISMOS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS EM POLÍMEROS.

2.8.1 Polímeros hidrofóbicos.

Nas nanopartículas poliméricas hidrofóbicas, o fármaco é disperso nas estruturas porosas. Após a administração oral, o meio de liberação penetra nos poros e dissolve o fármaco. Tal dissolução gera canalículos originados de mecanismos de erosão matricial

e difusão gradual da droga. (FIG. 7) (LOPES; LOBO; COSTA, 2005; PEZZINI; SILVA; FERRAZ, 2007; SALAZAR, 2015).

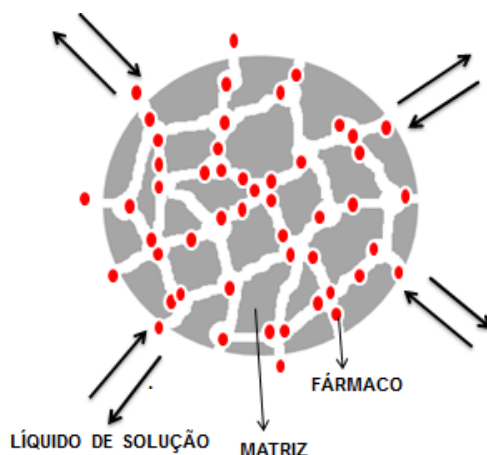


Figura 7. Mecanismo de liberação de fármaco em polímeros hidrofóbicos. Modificado de (LOPES; LOBO; COSTA, 2005).

2.8.2 Polímeros Hidrofílicos

Nas nanopartículas poliméricas hidrofílicas, a dissolução por inchaços sucessivos promove a difusão do fármaco através do polímero (FIG.8). Com o inchaço são criados espaços livres nas cadeias macromoleculares. Este processo gera um efeito de inchamento/relaxação, aumenta a interação água-polímero, diminui interações entre as cadeias do polímero. As cadeias podem girar e aumenta gradualmente o raio de rotação das cadeias poliméricas. Devido a esse processo, a difusão e a liberação do fármaco ocorrem na superfície. A erosão gradual das cadeias poliméricas ocorre com maior velocidade que a velocidade de inchamento, o que favorece a desintegração das nanopartículas (PEPPAS et al., 2000; LOPES; LOBO; COSTA, 2005; SALAZAR, 2015).

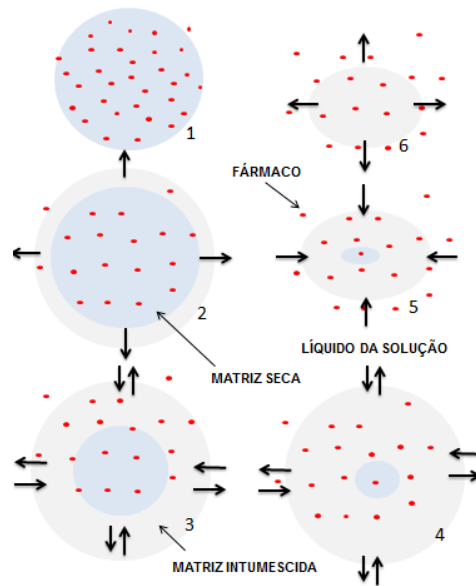


Figura 8. Mecanismo de liberação de fármaco em polímeros hidrofílicos. Modificado de (LOPES; LOBO; COSTA, 2005).

2.9 NANOSISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA

As nanopartículas garantem uma cinética de liberação controlada, ou seja, uma concentração constante de fármaco que pode ser liberada na faixa terapêutica. Este processo impede a superação à faixa tóxica e a decadência para nível sub-terapêutico (FIG.9) (MANADAS; PINA; VEIGA, 2002; KAMALY et al., 2016).

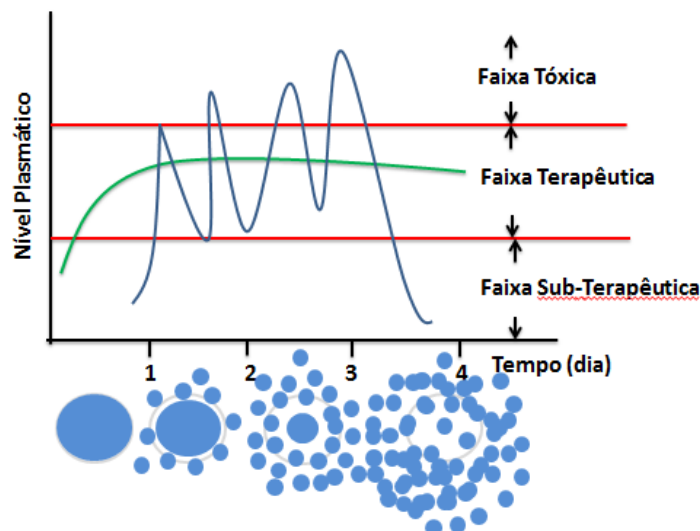


Figura 9. Sistema de liberação controlada de fármacos. Modificado de (MANADAS; PINA; VEIGA, 2002).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 MATERIAIS

Neste presente trabalho, para a preparação dos novos nanosistemas, foram empregados os produtos abaixo relacionados:

- a) Cloreto de ferro(III) hexahidratado, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Riedel-de Haen, França);
- b) Sulfito de sódio, Na_2SO_3 (Sigma-Aldrich, Japão);
- c) Hidróxido de amônio, NH_4OH (Fluka, Alemanha);
- d) 25% solução aquosa de hidróxido de tetrametilamônio, $\text{C}_4\text{H}_{13}\text{NO} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (TMAOH) (Aldrich, Alemanha, Japão);
- e) Ácido clorídrico, HCl (Sigma-Aldrich);
- f) Poli(óxido de etileno)-poli(óxido de propileno)- poli(óxido de etileno) (PEO-PPO-PEO) copolímero em bloco P188 ($\text{EO}_{150}\text{-PO}_{30}\text{-EO}_{150}$, M_w 7.680-9.510, ≤ 0.75 % water, teor de oxietileno 79.9-83.7 %, pH 5.0-7.5 (2,5 % em solução)) - (Sigma-Aldrich);
- g) Metanol, CH_3OH (UN1230) - Tedia[®];
- h) Acetona, CH_3COCH_3 (UN1090-Tedia[®]);
- i) Poli(L-co-D,L Ácido Lático-co-Trimetileno Carbonato) (70:30, 30% TMC, M_w =200.000g/mol; M_n = 95.820 g/mol (MOTTA, A. C. & DUEK, 2011); e
- j) Finasterida USP (100201) – DEG Importação de Produtos Químicos Ltda (São Paulo, Brazil).

3.2 MÉTODOS

A FIG.10 demonstra a metodologia empregada para o desenvolvimento dos novos biomateriais nanoestruturados, tais como: nanopartículas à base de PLDLA-co-TMC encapsulando finasterida e nanopartículas à base de PLDLA-co-TMC encapsulando fluido magnético (magnetita funcionalizada com TAMOH).

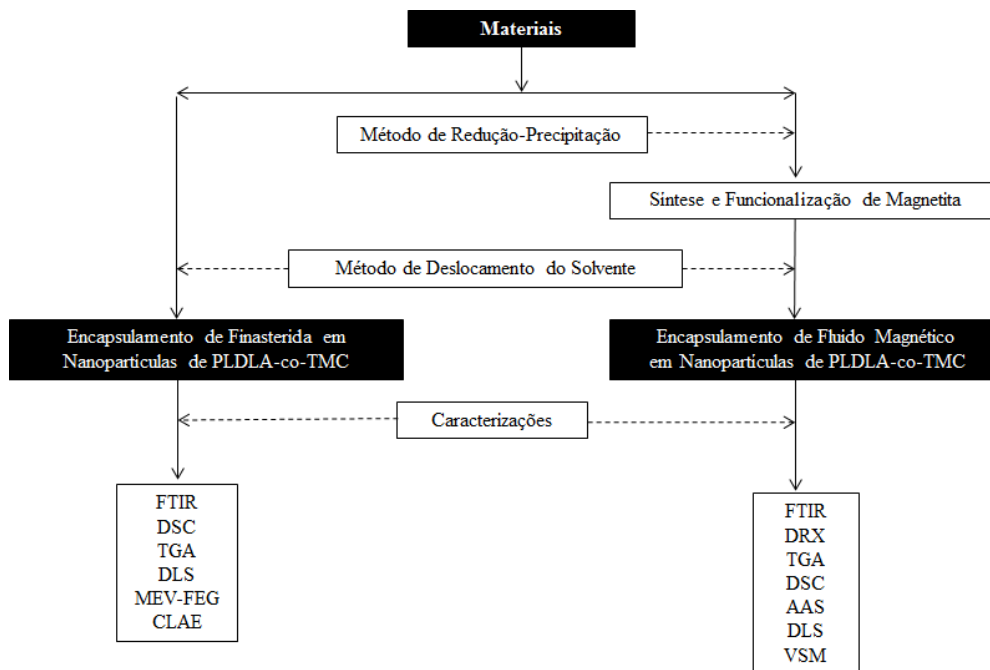


Figura 10. Fluxograma da metodologia empregada para o desenvolvimento das nanopartículas.

3.2.1 Síntese e funcionalização da magnetita: ferrofluido magnético

Amostras de nanopartículas de Fe_3O_4 foram obtidas pelo método de redução-precipitação, seguindo o procedimento descrito na literatura (ANDRADE et al., 2012d). A metodologia consistiu na adição de 5 mL de Na_2SO_3 (1 mol.L^{-1}) a 7,5 mL de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (2 mol.L^{-1}), previamente dissolvido em HCl ($0,25 \text{ mol.L}^{-1}$). A solução foi preparada em um frasco de fundo redondo com gargalo de 500 mL. A adição foi realizada borbulhando gás N_2 para assegurar, tanto quanto possível, uma atmosfera quimicamente inerte. Logo após a mistura de Fe^{3+} e SO_3^{2-} , a cor da solução mudou de amarelo claro para vermelho e depois voltou para amarelo. A seguir, 200 mL de solução de hidróxido de amônio a $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ foram adicionados na solução sob agitação vigorosa. A solução apresentou precipitados pretos. A suspensão contendo o pó precipitado foi centrifugada a 2000 rpm durante 3 min. O sobrenadante foi descartado. Este procedimento foi repetido cinco vezes por redispersão das massas resultantes em água destilada. O precipitado obtido foi identificado como “MAG”. As nanopartículas foram então tratadas para serem revestidas com hidróxido de tetrametilamônio (TMAOH). Nesta fase, adicionou-se 1 mL de solução comercial de TMAOH a 25% em quatro tubos de centrifuga contendo uma quantidade de massa úmida com cerca de 1 g de pó seco. As massas foram redispersas com uma haste de vidro fino até obter

suspensões homogêneas. A seguir, as suspensões foram secas para obter os pós finais. A amostra tratada com TMAOH para obter as nanopartículas revestidas na superfície foi designada como “MAG1”.

3.2.2 Síntese das nanopartículas híbridas

O método de deslocamento de solvente usado para obter as amostras de nanopartículas híbridas de PLDLA-co-TMC foi descrito por Fessi (BARICHELLO et al., 1999). Diferentes quantidades volumétricas (0,25 mL, 0,5 mL e 1 mL) de ferrofluido à base de magnetita/TMAOH (MAG1) foram adicionadas em 7,5 mL de fase aquosa (37,5 mg de PEO-PPO-PEO dissolvido em 7,5 mL de água Milliq). Em paralelo, 20 mg de PLDLA-co-TMC foram dissolvidos em 2,2 mL de acetona e 0,3 mL de metanol (fase orgânica, interna). A seguir, a fase orgânica foi gotejada na fase aquosa sob sonicação. Esta adição foi feita em um banho de gelo para evitar o superaquecimento da solução coloidal. Em seguida, 2,5 mL de solvente orgânico foram evaporados por rotavaporador, resultando em nanopartículas suspensas em água Milliq. As nanopartículas nanohíbridas com 0,25, 0,5 e 1 mL foram denominadas MAG1 (0,25), MAG1 (0,5) e MAG1 (1,0), respectivamente.

3.2.3 Síntese das nanopartículas com finasterida encapsulada

O método de nanoprecipitação usado para obter as amostras de nanopartículas baseadas em PLDLA-co-TMC foi descrito por Fessi (BARICHELLO et al., 1999). A fase aquosa ou externa (PEO-PPO-PEO (37,5 mg) e água destilada (7,5 mL)) e a fase orgânica ou interna (PLDLA-co-TMC (20 mg), acetona / metanol (2,2 mL / 0,3 mL) e finasterida 1,3 mg) foram preparados. Simultaneamente, 2,5 ml da fase orgânica foram vertidos em 7,5 ml da fase aquosa sob tratamento com ultra-som durante 10 minutos. A solução coloidal foi rotoevaporada para obter um volume total de 7,5 ml de nanopartículas suspensas em água.

3.2.4 Caracterização

3.2.4.1 Diâmetro hidrodinâmico e índice de polidispersão determinados por espalhamento dinâmico de luz (DLS)

O espalhamento dinâmico de luz foi obtido pelo aparelho Nanosizer Malvern[®] para determinar a distribuição do diâmetro hidrodinâmico médio e o índice de polidispersão (homogeneidade ou variância relativa dos diâmetros) nas amostras a 25 °C. Os índices de refração média e da viscosidade considerados para a água foram de 1,33 e 0,89 cP (ou 0,89 mPa.s), respectivamente.

A carga elétrica da nuvem na interface superficial das nanopartículas foi obtida pelo aparelho Nanosizer Malvern[®]. Foram utilizados os valores prévios dos parâmetros pH, índice de refração e diâmetro hidrodinâmico médio das nanopartículas híbridas para inclusão no software do equipamento.

3.2.4.2 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A análise de FTIR foi realizada com o espectrômetro Shimadzu. Nos ensaios foi identificado as bandas características dos materiais entre os comprimentos de onda de 400 e 4000 cm^{-1} . Para as análises, as amostras foram trituradas com KBr, prensadas em pastilhas e colocados no equipamento analítico.

3.2.4.3 Análise termogravimétrica (TGA)

As curvas TGA das nanopartículas foram obtidas com o analisador termogravimétrico Mettler Toledo. Foram determinadas as temperaturas de estabilidade do material de partida das fases intermediárias e dos compostos químicos obtidos. As condições experimentais utilizadas foram: taxa de aquecimento de 10 °C / min entre 25 °C e 600 °C; sob atmosfera dinâmica de nitrogênio com vazão de 80 mL / min e cadinho de alumina aberto.

3.2.4.4 Espectroscopia de absorção atômica (AAS)

A análise qualitativa e quantitativa das concentrações de óxido de ferro das nanopartículas foi obtida com o emprego do espectrômetro de absorção atômica Hitachi (Japão), modelo Z-8230.

3.2.4.5 Magnetômetro de amostra vibrante (VSM)

As curvas de magnetização foram obtidas com 100 mg de cada amostra em um magnetômetro vibratório com um ímã criogênico. A magnetização de saturação foi deduzida destes resultados de VSM. O equipamento usado foi o magnetômetro de amostra vibrante, marca LakeShore, modelo da série 7400.

3.2.4.6 Calorimetria de varredura diferencial (DSC)

As diferenças no fluxo de calor no interior da amostra e uma referência foram medidas em função da temperatura da amostra e submetidas ao controle de temperatura para análise com o emprego do calorímetro de varredura diferencial Shimadzu DSC 50.

Cerca de 3,0 mg da amostra foram usadas em um cadinho de alumina. Foi usado um fluxo de nitrogênio de 50 ml / min, com uma taxa de aquecimento de 10 °C / min e faixa de aquecimento entre as temperaturas de 30 a 500 °C.

3.2.4.7 Difração de raios-X (XRD)

As possíveis estruturas cristalinas das nanopartículas de polímero (componentes e misturas) foram avaliadas por difração de raio-X. Empregou-se o difratômetro de raio-X (Shimadzu – XRD - 7000), 40 kV, 30 mA, ângulo de difração 2θ entre 2 e 40°, radiação $\text{CuK}\alpha$ como fonte de raios X e comprimento de onda de 1,5418 Å.

3.2.4.8 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As morfologias das partículas foram caracterizadas com microscópio eletrônico de varredura de alta resolução com emissão de elétrons por um canhão de emissão de campo (MEV-FEG Modelo Quanta FEG 450 - FEI Company), WD 10,2 mm, 20.0 kV, detectores SE.

3.2.4.9 Eficiência de encapsulação da finasterida através do método por CLAE

Um sistema HPLC Waters Alliance foi utilizado com um modelo 2695, um detector UV-vis de absorvância dual λ 2487 Waters e um detector (Waters, USA) para a quantificação da finasterida. A separação cromatográfica foi obtida isocraticamente à temperatura ambiente com uma coluna Kromasil 100A C18 (4,6 × 150 mm; 5 μ m). A fase móvel consistiu de metanol e água na razão 70:30 (v/v) e foi realizada numa vazão de 1 mL.min⁻¹ (SEGALL et al., 2002). O eluente foi monitorizado durante 5 min a 240 nm com detector de UV para determinação de finasterida.

Uma solução padrão de finasterida foi preparada em metanol (200 μ g/ mL), posteriormente, seis diferentes diluições foram obtidas para a curva de linearidade (4, 20, 40, 80, 100, 200 μ g / mL). Após a análise de regressão linear, a equação 1 ($Y = 5400,5 X + 18831$; $R^2 = 0,99$) foi utilizada para a quantificação do fármaco no nanosistema.

A eficiência de encapsulação e a carga de fármaco foram calculadas de acordo com as equações 2 e 3, respectivamente (SOUZA et al., 2015; NASEF; GARDOUH; GHORAB, 2017b)(DE SOUZA et al., 2015; NASEF; GARDOUH; GHORAB, 2017a):

- Eficiência de encapsulamento (%) = (quantidade de finasterida determinada no nanosistema polimérico (mg)/ quantidade de finasterida teoricamente adicionada no nanosistema polimérico (mg) x 100 (equation 2)
- % carga da finasterida = (massa da finasterida no nanosistema (mg)/ massa do nanosistema liofilizado (mg)) x 100 (equation 3)

3.2.4.10 Ensaio de liberação acumulada da finasterida usando o método CLAE.

As nanopartículas de finasterida foram inseridas em tubos de falcão contendo 30 mL de tampão fosfato (pH 7,4). Os tubos foram incubados a 25 °C num frasco de vidro contendo uma solução de nipagina (ação antifúngica (“Farmacopéia Brasileira 5ª Edição - 2010 - Anvisa”,)) sob uma agitação constante de 50 rpm (DE ABREU et al., 2016). A cada tempo de amostragem foram coletados 30 mL do meio e adicionados 30 mL de solução fresca para manter o volume constante. A quantidade de finasterida liberada por difusão foi determinada pelo método de CLAE, como descrito anteriormente, e os resultados foram plotados em função do tempo (horas) (SEGALL et al., 2002; DE ABREU et al., 2016).

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 NANOSISTEMA DE ENTREGA ORAL CONTROLADA DE MEDICAMENTOS

4.1.1 FTIR

Através do espectro de absorção na região do infravermelho foi possível determinar as vibrações moleculares de ligações associadas ao terpolímero (PLDLA-co-TMC), PEO-PPO-PEO, finasterida, nanopartículas em branco e nanopartículas com finasterida. Mostra-se na FIG. 11 os resultados obtidos.

Nos espectros de FTIR mostrados na FIG.11a foram identificados os picos característicos do PEO-PPO-PEO em 1343 (O-H) e 1110 (C-O) cm^{-1} (VYAS et al., 2009; SARITHA; SHASTRI, 2010; FOUSTERIS et al., 2013).

A presença das bandas a 1753 cm^{-1} (C=O), 1450 cm^{-1} (CH₃), 1380 cm^{-1} (CH₂), 1266 e 1081 cm^{-1} (=CO), 1185 cm^{-1} (COC), a 792 cm^{-1} (CH), e a 753 cm^{-1} (-CH₂CH₂ de TMC), caracterizaram os espectros do poli (L-co-D, ácido láctico L-co-TMC) - FIG.11b (MOTTA; DUEK, 2007; MÁ S et al., 2014).

Os sinais de absorção (FIG.11c) das nanopartículas em branco foram atribuídos ao PLDLA-co-TMC e ao PEO-PPO-PEO. No entanto, houve uma superposição das bandas do tensoativo com o terpolímero. Este resultado torna difícil saber se houve deslocamento e desaparecimento de bandas. Deste modo, não há como sugerir ligações químicas na amostra nanopartícula em branco.

O encapsulamento da finasterida pelas nanopartículas de PEO-PPO-PEO-PLDLA-co-TMC foi confirmado pelos picos característicos do espectro a 1,668 cm^{-1} (-C=O) correspondentes aos grupos amida (-CONH₂), além do espectro característico do terpolímero e do tensoativo (FIG. 11d, 11i) (AHMED, 2016b). Portanto, este espectro confirma a presença do polímero as nanopartículas contendo finasterida.

A literatura identifica a composição da finasterida em grupos amida, cetona e alquila. No presente trabalho, o espectro da finasterida apresentou sinais característicos em 1,668 cm^{-1} (-C=O) e 1,598 cm^{-1} (-NH₂) correspondentes aos dois grupos de amida (-CONH₂). E os espectros 1.385 e 1.365 cm^{-1} correspondendo ao grupo terc-butila (-C(CH₃)₃), conforme FIG. 11e (ISLAM; ARNOLD; PADHYE, 2015; AHMED, 2016c).

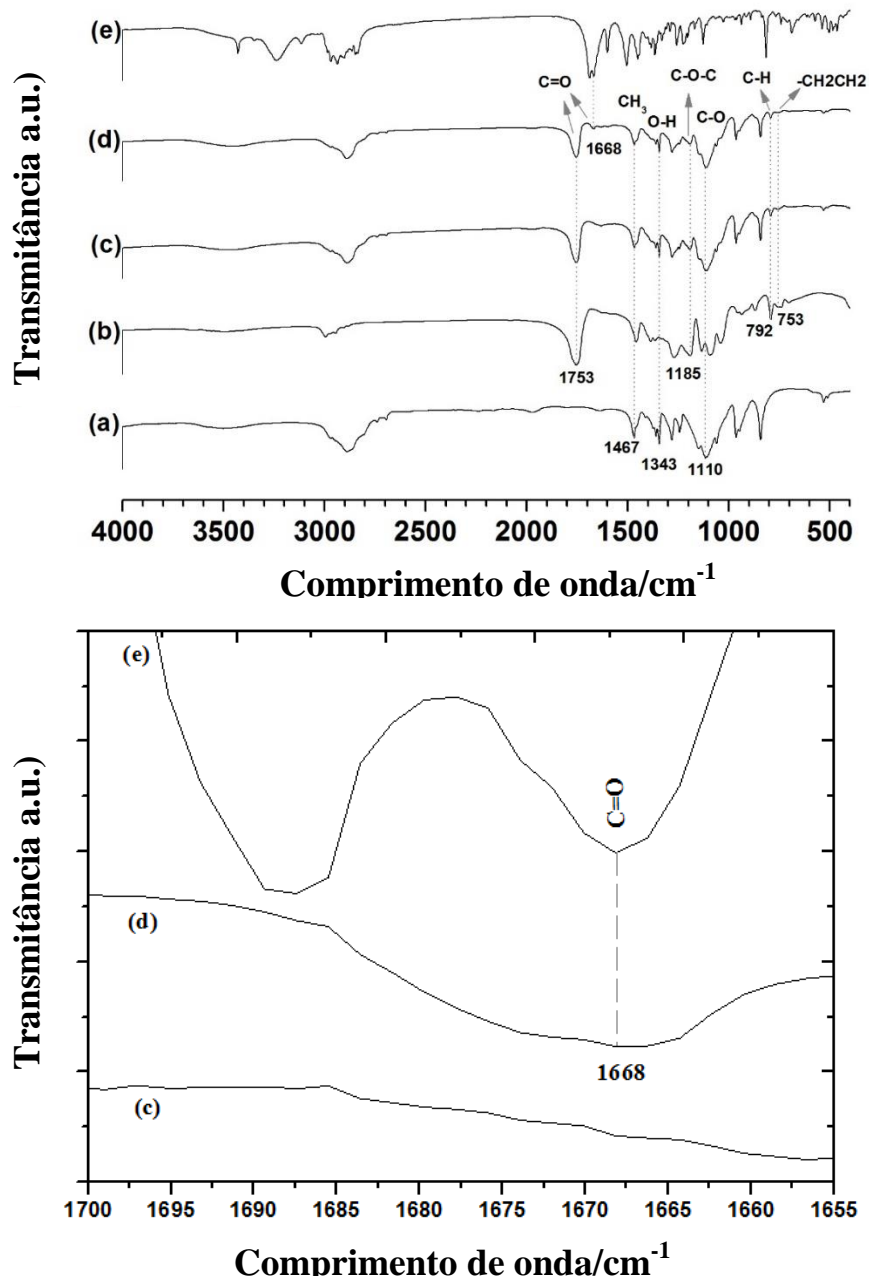


Figura 11. Espectro infravermelho das amostras: a) PEO-PPO-PEO, b) terpolímero (PLDLA-co-TMC), c) nanopartícula em branco, d) nanopartícula com finasterida, e) finasterida e I) correspondente sinal ampliado.

4.1.2 TGA

A análise termogravimétrica (FIG. 12) foi realizada para investigar as propriedades térmicas de PLDLA-co-TMC, de PEO-PPO-PEO; das nanopartículas em branco, e finasterida e das nanopartículas com finasterida.

Mostra-se na FIG. 12a os perfis típicos de degradação térmica para o terpolímero PLDLA-co-TMC, o qual tem uma região única de perda de peso em torno de 97,6 %, começando em cerca de 280 °C até 370 °C. Essa perda de massa de terpolímero está associada à degradação dos constituintes L / D, L-láctido-PLDLA (PDLA e PLLA) e carbonato de trimetileno-TMC (PEZZIN; ZAVAGLIA; DUEK, 2002; DE PAULA; MANO, 2012; MESSIAS et al., 2014b; MOTTA; DUEK, 2014; BAROUTI et al., 2016).

O PEO-PPO-PEO apresenta um único estágio de perda de peso (97,1 %) atribuído à decomposição térmica, iniciando em torno de 215 °C e continua até 415 °C (FIG. 12b). Os constituintes da degradação estão associados a copolímeros em blocos anfifílicos (unidades PEO, poli (óxido de etileno) e unidades PPO, poli (óxido de propileno)) (ALMEIDA et al., 2018).

Mostra-se na FIG. 12c os perfis típicos de degradação térmica das nanopartículas em branco. Pode-se observar a presença de duas regiões principais de perda de peso. Cada degrau indica a combustão de um novo componente nos copolímeros. As zonas de combustão de 204,7 °C até 314,0 °C e 314 °C até 409 °C (54,0 %) foram atribuídas às partes dos copolímeros PLDLA-co-TMC e PEO-PPO-PEO, respectivamente. Estes resultados confirmaram ainda mais a síntese bem-sucedida da nanopartícula em branco (FIG. 12c).

As curvas de TGA da finasterida apresentaram uma faixa de temperatura de 264,2 °C a 387,3 °C, que corresponde a perda de massa de 93,7% atribuída aos constituintes amida, cetona e grupo alquila (AHMED, 2016d).

As nanopartículas com finasterida apresentaram dois estágios de perda de peso. Inicialmente, ocorre a perda de peso gradual de 39,1% entre 187,7 e 296,8 °C, que pode ser atribuído ao terpolímero. A seguir, entre 296,8 a 403,6 °C ocorre nova perda de massa, a qual pode ser atribuído à decomposição de finasterida e PEO-PPO-PEO. A temperatura inicial de decomposição do tensoativo na nanopartícula em branco é de aproximadamente 320°C. Nas nanopartículas com finasterida, a temperatura decorrente a decomposição da PEO-PPO-PEO é menor e a perda de massa ocorre rapidamente. Esse comportamento pode ser devido ao enxerto de moléculas em uma cadeia polimérica que permite reduzir a estabilidade térmica com a incorporação de alguma junção fraca na estrutura do polímero ou mudanças no resíduo carbonado. Dados da literatura citam que os maiores resíduos estão associados com aumento dos rendimentos de enxerto (TUKULULA et al., 2015). Este resultado corrobora o resultado de FTIR

(FIG.11e), pois confirma o encapsulamento da finasterida pela nanopartícula e sua influência na cadeia polimérica constituinte da nanopartícula.

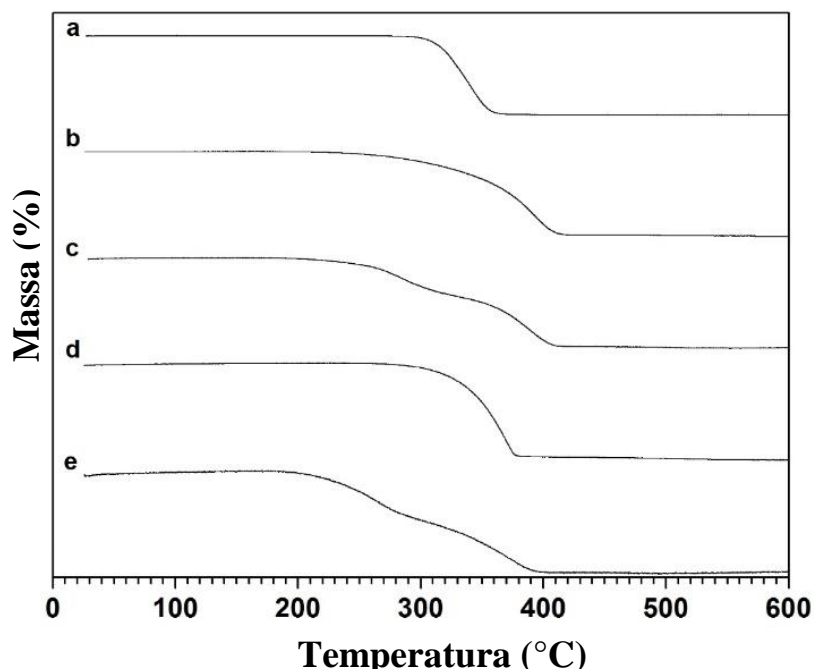


Figura 12. Curva de TGA das amostras: (a) polímero (PLDLA-co-TMC), (b) PEO-PPO-PEO, (c) partícula em branco, (d) finasterida e e) nanopartículas com finasterida.

4.1.3 DSC

As curvas obtidas dos termogramas obtidas pela análise por calorimetria de varredura diferencial de PLDLA-co-TMC, finasterida, PEO-PPO-PEO, nanopartículas em branco e nanopartículas com finasterida são mostradas na FIG.13.

As curvas de DSC do terpolímero apresentam um pico endotérmico a 50 ° C que corresponde à temperatura de transição vítrea (50 ° C) (FIG.13a). A maior flexibilidade da membrana de PLDLA-TMC devido à presença de unidades de TMC na cadeia polimérica, refletiu na diminuição em 50°C no valor de Tg apresentado pelo terpolímero, quando comparado ao PLDLA (de 58 ° C) estudado por Motta (MOTTA; DUEK, 2007).

O DSC foi realizado para explorar as mudanças físicas ocorridas no fármaco após o processamento para obter as nanopartículas. Mostra-se na FIG.13.b) que a finasterida tem um pico endotérmico acentuado a 258,9 ° C, indicando sua cristalinidade (FRELEK et al., 2014). O pico de fusão da finasterida não foi identificado no termograma DSC

das nanopartículas em branco e nas nanopartículas com finasterida. Este resultado indica a ausência do estado cristalino do fármaco no desenvolvimento do sistema de liberação (FIG's. 13b e 13e)). Ou seja, durante o processamento das nanopartículas, o polímero inibiu a recristalização do fármaco. Resultados semelhantes são citados na literatura (RICCI-JÚNIOR, 2011). A ausência deste pico nas partículas carregadas com finasterida sugere que o fármaco é molecularmente disperso em sua forma amorfa (PARHIZKAR et al., 2016). A FIG.13.b demonstra um sinal característico da perda de água próximo a 50°C.

Na análise dos resultados do PEO-PPO-PEO observou-se a presença do pico endotérmico único proeminente em torno de 54,6 °C, correspondendo ao seu ponto de fusão e cristalinidade (XIE et al., 2009). As nanopartículas em branco e as nanopartículas com finasterida exibiram o ponto de fusão do PEO-PPO-PEO com um pequeno deslocamento. Este deslocamento sugere uma interação entre o terpolímero e o PEO-PPO-PEO, no caso das partículas iniciais entre a finasterida e a nanopartícula em branco, conforme indicado pela literatura. Resultados semelhantes são encontrados na literatura (RICCI-JÚNIOR, 2011), o qual utilizam nanopartículas.

Os termogramas DSC das nanopartículas em branco sugerem que a diminuição na temperatura de fusão (53,3 °C) foi influenciada pela mistura física entre PLDLA-co-TMC e PEO-PPO-PEO. Este comportamento pode ser justificado pelas reações de enxerto ou conjugação em polímeros. Além disso, a presença de moléculas ligadas ao polímero poderia promover um leve movimento das cadeias poliméricas devido ao aumento do volume livre, que poderia ser refletido na Tg (ELSAYED; ABDELBARY; ELSHAFFEEY, 2014).

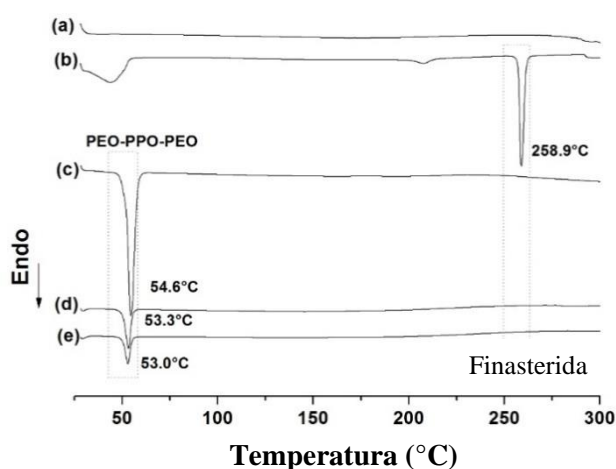


Figura 13. Perfis termogravimétricos de a) PLDLA-co-TMC, b) finasterida, c) PEO-PPO-PEO, d) nanopartículas brancas e e) nanopartículas com finasterida.

4.1.4 DLS

Mostra-se na TAB.1 as características das nanopartículas preparadas no presente trabalho.

O método de deslocamento do solvente produziu nanopartículas em branco (concentração de suspensão de $5,6 \pm 0,4$ mg / mL; massa recuperada de $41,8 \pm 2,8$ mg; rendimento de $71,1 \pm 3,0$) e nanopartículas carregadas com finasterida (concentração de suspensão de $4,3 \pm 0,05$ mg / mL; massa de recuperado de $32,4 \pm 0,4$ mg, rendimento de $55,1 \pm 0,6$), unimodal e dentro da faixa de diâmetro hidrodinâmico. Entre os maiores volumes das distribuições de tamanho, as nanopartículas brancas e as nanopartículas carregadas com finasterida apresentaram tamanho médio de nanopartículas de $210,5 \pm 1,4$ nm (21,0 % em volume; PDI $0,2 \pm 0,01$ - dispersão monodispersa) e $255,9 \pm 0,6$ nm (14,8 % em volume; PDI $0,1 \pm 0,01$ - dispersão monodispersa), respectivamente (TAB.1; FIG. 14).

O aumento na quantidade de fármacos e a alta massa molar do polímero podem aumentar os diâmetros hidrodinâmicos médios e a eficiência de encapsulamento das nanopartículas (GALINDO-RODRIGUEZ et al., 2004; KHAYATA et al., 2012; MILADI et al., 2016b). Este efeito pode ser atribuído ao aumento da viscosidade da fase orgânica que limita a sua dispersão à fase aquosa (AWOTWE-OTOO et al., 2012; KHAYATA et al., 2012). De modo geral, a adição da massa do fármaco no processo de obtenção das nanopartículas promove o aumento dos diâmetros hidrodinâmicos e, conseqüentemente, obtém-se a presença do fármaco encapsulado (SOUTO; SEVERINO; SANTANA, 2012).

Comparando as duas nanopartículas (TAB.1), as nanopartículas carregadas com finasterida apresentaram aumento no tamanho de 21,6 % em comparação com a nanopartícula em branco.

O índice de polidispersão das nanopartículas está associado ao diâmetro hidrodinâmico médio das nanopartículas, ao índice de refração do solvente, ao ângulo de medição do equipamento e à variação da distribuição (GAUMET et al., 2008b; DE ABREU et al., 2016). Dada a dispersão estreita do tamanho das nanopartículas (índice de polidispersão abaixo de 0,3), as nanopartículas em branco e as nanopartículas carregadas com finasterida apresentaram monodispersão (índice de polidispersividade abaixo de 0,2) (TAB.1) (GUI et al., 2010). A monodispersão sugere uma uniformidade

no diâmetro hidrodinâmico, o que indica a qualidade de processamento das nanopartículas para serem utilizadas em aplicações biomédicas de interesse.

Ambas as nanopartículas têm potenciais negativos que podem ser atribuídos aos grupos carboxila dos poliésteres (PLDLA-co-TMC) e os copolímeros de óxidos de etileno e propileno (PEO-PPO-PEO) (TAB.1) (SCHAFFAZICK et al., 2003). As nanopartículas com finasterida exibiram menor potencial zeta (maior em módulo) ($-19,0 \pm 6,0$; pH $5,3 \pm 0,17$) do que as nanopartículas brancas ($-17,0 \pm 4,0$; pH $5,5 \pm 0,11$) (TAB.1). Este resultado é atribuído à carga superficial de nanopartículas que podem sofrer adsorção seletiva de grupos hidroxila que compõem a estrutura da finasterida (PUBCHEM, ; USKOKOVIĆ, 2012). Além disso, sabe-se que a finasterida é ácida (ÁLVAREZ-LUEJE et al., 2008; KURT CÜCÜ; ARSLAN; KARADERI, 2016), tem solubilidade limitada em água e pode sofrer ionização a qual implica em diminuir o pH da solução coloidal e promover uma diminuição estreita do potencial zeta no sistema. Caso semelhante foi reportado na literatura (RICCI-JÚNIOR, 2011).

De acordo com Miladi (MILADI et al., 2016b), a massa molar não otimizada do polímero pode produzir baixo rendimento de nanopartículas devido à precipitação como agregados. Com base nos dados apresentados na TAB.1, os rendimentos experimentais de nanopartículas em branco e nanopartículas carregadas com finasterida demonstram $71,1 \pm 3,0\%$ e $55,1 \pm 0,6\%$, respectivamente. A finasterida reduziu ainda mais o rendimento das nanopartículas.

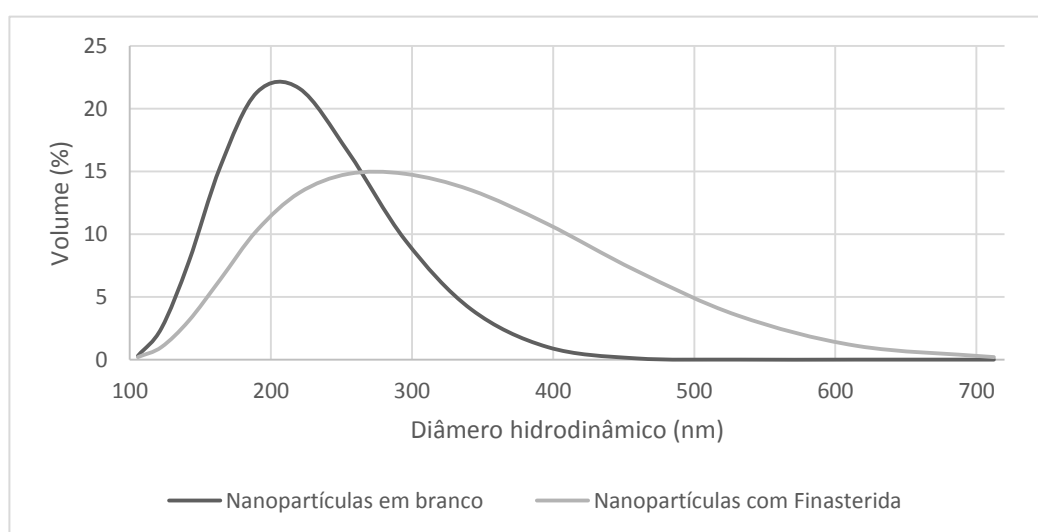


Figura 14. Distribuição do tamanho das nanopartículas em função do volume hidrodinâmico (%).

Tabela 1. Características das nanopartículas.

<i>F</i>	<i>Z-Av (nm)</i>	<i>PdI</i>	<i>ZP (mV)</i>	<i>pH (n=3)</i>	<i>Carga Fin (%)</i>	<i>EE (%)</i>	<i>R (%)</i>
NP Branca	210,5 ± 1.4	0.2±0,01	-17.0 ± 4.0	5.5±0.11	-	-	71.1±3.0
NP FIN	255.9 ± 0.6	0.1±0,01	-19.0 ± 6.0	5.3±0,17	3.9±0.04	96,2±0.0	55.1±0.6

* Formulações (F); tamanho médio Z (Z-Av); índice de polidispersividade (PdI); potencial zeta (ZP); eficiência de encapsulamento (EE); carga de finasterida (carga de fin); nanopartícula em branco ou vazia (NP Branca); nanopartícula com finasterida (NP FIN); rendimento (R). Média ± desvio padrão (n = 3).

4.1.5 MEV-FEG

Nas imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura (FIG.15) foi possível observar que as nanopartículas em branco e as nanopartículas carregadas com finasterida apresentam forma esférica e pequena monodispersão. Ambas as amostras não exibiram aglomeração de polímeros ou partículas. O tamanho observado das partículas no MEV-FEG foi equivalente aos medidos por DLS para as nanopartículas em branco. No entanto, é possível que as nanopartículas com finasterida tenham sido analisadas em uma faixa submicron devido a aleatoriedade da gota de suspensão analisada. A literatura atribui esta diferença a possibilidade de encolhimento da nanopartícula durante o preparo da amostra para a microscopia (HAN et al., 2016). Mesmo assim, é possível observar que o método de deslocamento de solvente produziu nanopartículas abaixo de 100 nm. É importante salientar também que as amostras analisadas no MEV-FEG foram liofilizadas e as analisadas por DLS estavam em ambiente hidrodinâmico.

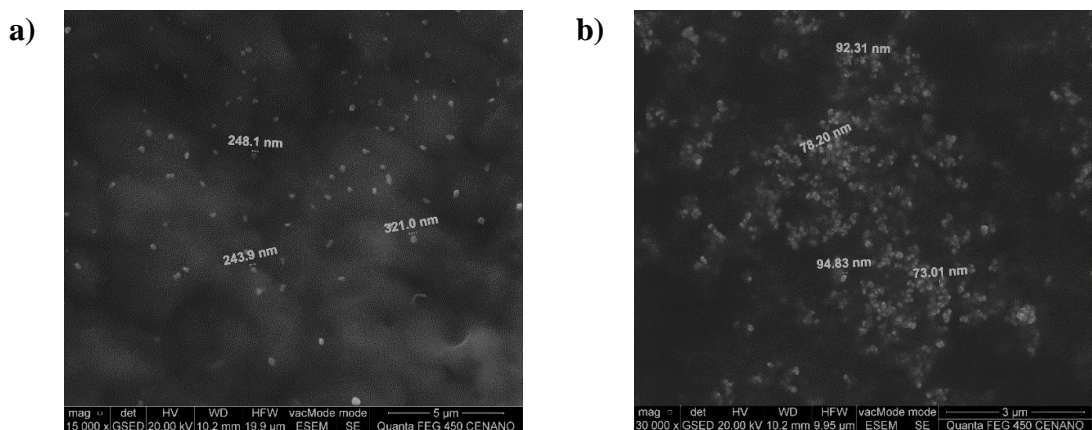


Figura 15. Micrografias das nanopartículas em branco a) e com finasterida b).

4.1.6 CLAE

Com base na equação 1 da curva de calibração (FIG.16) foi possível calcular as nanopartículas carregadas com finasterida (concentração de finasterida - 6,67 µg / mL). As partículas apresentaram carga da finasterida e eficiência de encapsulamento de $3,9 \pm 0,04 \%$ e $96,2 \pm 0,0 \%$, respectivamente (TAB.1).

O meio de carregamento de finasterida em relação à massa de nanopartículas recuperadas ($32,4 \pm 0,4$ mg), ou massa liofilizada, foi de $3,9 \%$ (1,25 mg) corresponde à finasterida. Enquanto a eficiência de encapsulamento significa que, considerando 1,3 mg da massa inicial teórica de finasterida, $96,1 \%$ (1,25 mg) foram encapsulados pela nanopartícula carregada com finasterida e $3,9 \%$ (0,05 mg) da finasterida permaneceram livres.

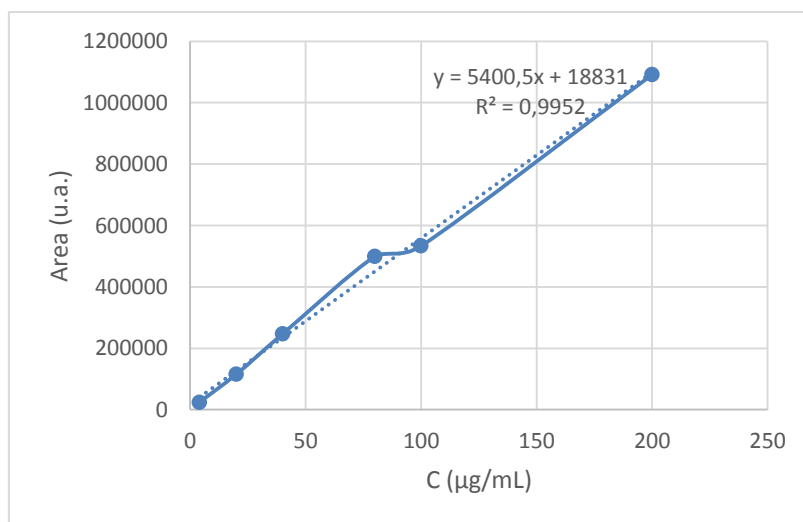


Figura 16. Curva de calibração da finasterida no método CLAE.

A taxa de liberação controlada do fármaco pela nanopartícula depende da solubilidade do fármaco, da adsorção superficial ou da droga acoplada, da difusão do fármaco, erosão ou degradação no nanocarreador, do mecanismo de erosão e difusão. Além destes parâmetros influenciam o diâmetro hidrodinâmico e método de obtenção das nanopartículas. A liberação rápida e / ou lenta do fármaco está associada à adsorção ao redor da superfície de partículas menores ou ao encapsulamento em partículas maiores, respectivamente (AGUILAR, 2012).

A ligação covalente entre o fármaco e a nanopartícula pode controlar o mecanismo de liberação pela difusão de fármaco-nanopartícula. No entanto, se houver apenas encapsulamento, haverá apenas a difusão do fármaco mediada pelos constituintes internos da nanopartícula (AGUILAR, 2012).

O perfil de liberação das nanopartículas carregadas com finasterida em solução salina tamponada com fosfato (PBS) pH 7,4 a 39 °C é apresentado na FIG.17. A quantidade de fármaco liberada foi determinada durante 24 horas. Estudo de liberação *in vitro* demonstrou que as nanopartículas carregadas de finasterida liberaram cerca de 50 % do fármaco nas primeiras 24 horas, ou seja, houve uma liberação controlada do fármaco neste período inicial. Após este intervalo de tempo, não foi observada uma continuação da liberação acumulada do fármaco. Este resultado é interessante visto que foi observada uma liberação crescente do fármaco durante 24 horas, período no qual as nanopartículas estariam circulando no organismo (PRESS, 2016).

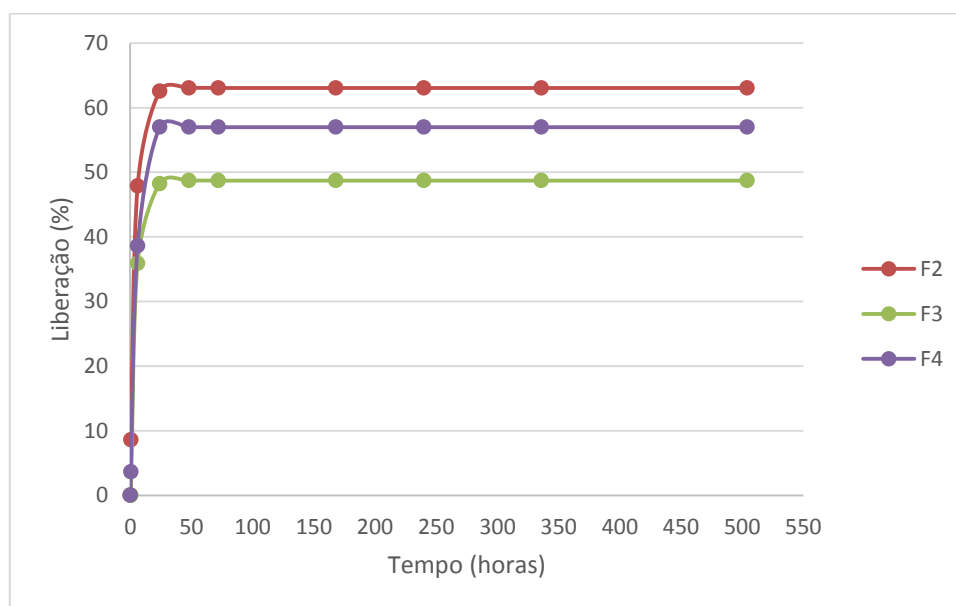


Figura 17. Percentual de liberação acumulada das nanopartículas carregadas com finasteridas (n=3).

4.2 NANOSISTEMAS HÍBRIDOS

4.2.1 FTIR

A composição das nanopartículas híbridas foi confirmada pelos resultados das vibrações moleculares dos espectros na região do infravermelho. Os espectros de infravermelho do polímero (PLDLA-co-TMC), PEO-PPO-PEO e nanopartículas em branco são mostrados na FIG.19. Os espectros de infravermelho das amostras MAG, MAG1, MAG1 (0,25), MAG1 (0,5) e MAG1 (1,0) são mostrados na FIG.19.

O espectro do polímero (PLDLA-co-TMC) (FIG.18a) apresentou bandas a 1753 cm^{-1} (C=O *stretching* no grupo éster), 1450 cm^{-1} (CH₃ *bending*), 1380 cm^{-1} (CH₂ *wagging*), 1266 e 1081 cm^{-1} (=C-O *stretching*), 1185 cm^{-1} (COC), a 792 cm^{-1} (C-H) e a 753 cm^{-1} (-CH₂CH₂- de TMC) (MOTTA; DUEK, 2007; MÁ S et al., 2014).

Os espectros de FTIR (FIG.18b) apresentaram os picos característicos do tensoativo em 1343 e 1110 cm^{-1} que são devido ao *stretching* dos grupos O-H e C-O, respectivamente (VYAS et al., 2009; SARITHA; SHASTRI, 2010; FOUSTERIS et al., 2013).

O espectro da nanopartícula em branco (FIG.18c) apresentou sinais de absorção atribuídos ao PLDLA-co-TMC e ao PEP-PPO-PEO. Isso sugere indicar a ausência de interação química entre o polímero e o PEP-PPO-PEO das nanopartículas.

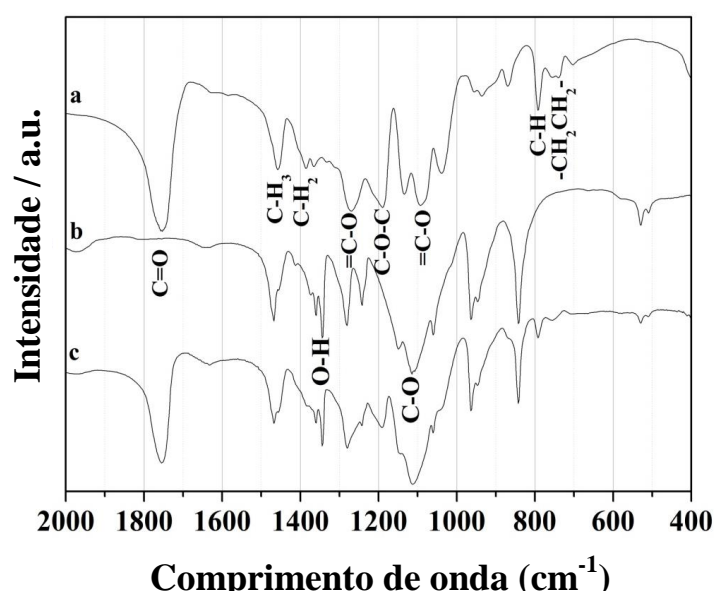


Figura 18. Espectro de infravermelho das amostras: a) PLDLA-co-TMC, b) PEO-PPO-PEO e c) nanopartícula em branco.

As amostras MAG e MAG1 (FIG's.19b, 19c) apresentaram uma banda de absorção a 581 cm^{-1} , associada às vibrações moleculares de stretching de Fe-O (PARK et al., 2011; HARJANTO et al., 2013). Nos espectros de infravermelho de MAG1, uma faixa de absorção a 977 cm^{-1} foi atribuída ao modo vibracional assimétrico (C-N) do TMAOH que é geralmente observado no domínio $900\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ (ANDRADE et al., 2012c).

Os espectros do FTIR das nanopartículas de híbridos [MAG1 (0,25), MAG1 (0,5) e MAG1 (1,0)] demonstraram que as bandas de Fe-O a 580 cm^{-1} alargaram e a intensidade da banda 977 cm^{-1} diminuiu (FIG's.19d,19e,19f). Estas amostras também apresentaram bandas características do terpolímero. Isto sugere a presença do terpolímero nas nanopartículas híbridas (KOMATSU et al., 2017), além de confirmar a utilidade do método de deslocamento de solvente no revestimento das nanopartículas magnéticas. Apesar disso, algumas bandas associadas à C-O da amostra de polímero (1116 cm^{-1} e 1280 cm^{-1}) são deslocadas nas amostras híbridas (1110 cm^{-1} e 1255 cm^{-1}). Portanto, é evidente que existe uma interação intermolecular entre os grupos doadores de prótons (-O e N) de MAG1 e os grupos de aceitação de prótons (C-O) nos polímeros (KOMATSU et al., 2017; NA 'ANMAN et al., 2017). Simultaneamente, sinais em 842 cm^{-1} (C-H), 792 cm^{-1} , and (C-H) 753 cm^{-1} (-CH₂CH₂-) associados ao polímero decresceram à medida que a quantidade de magnetita aumentou nas nanopartículas híbridas. Considerando que a MAG1 (1,0) possui a menor massa de revestimento e maior concentração de magnetita, a ausência do sinal pode ser um indicativo de que o número de ligações CH disponíveis no terpolímero foi reduzido para compensar a maior quantidade de ligações MAG1.

Através das características espectrais das nanopartículas híbridas, pode-se concluir que o terpolímero foi combinado com sucesso às nanopartículas magnéticas, criando híbridos funcionais da magnetita com o PLDLA-co-TMC.

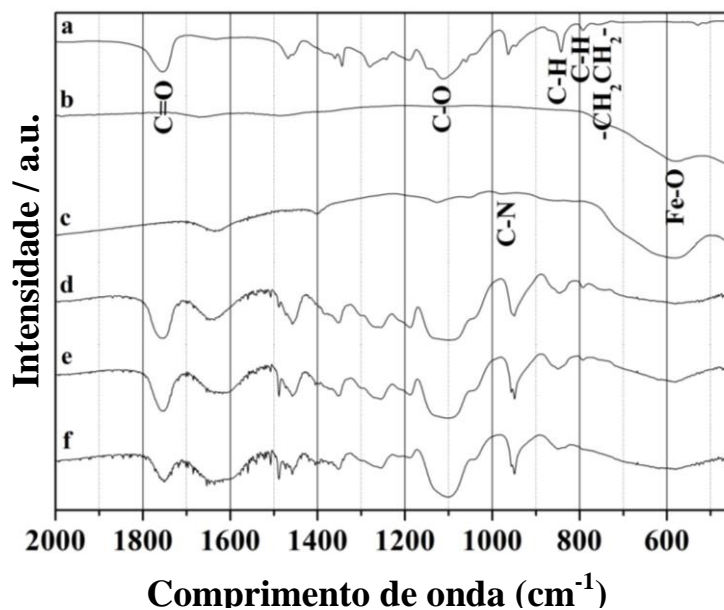


Figura 19. Espectro infravermelho das amostras: a) nanopartículas em branco, b) MAG, c) MAG1, d) MAG1 (0,25), e) MAG1 (0,5) e f) MAG1 (1,0).

4.2.2 DRX

Mostra-se na FIG.20 os padrão de difração de raios X (DRX) das nanopartículas de magnetita sintetizadas e nanopartículas incorporadas no PLDLA-co-TMC, MAG1 (0,25), MAG1 (0,5) e MAG1 (1,0).

Pode-se observar que as nanopartículas de magnetita sintetizadas possuem estrutura cristalina com a presença de picos pontiagudos em $2\theta = 30,0^\circ, 35,4^\circ, 43,0^\circ, 53,4^\circ, 56,9^\circ,$ and $62,5^\circ$, correspondentes à difração dos planos de cristal de magnetite de (220), (311), (400), (422), (511) e (440) (cartão ICDD # 19-0629). O padrão DRX do compósito de co-polímero com nano Fe_3O_4 encapsulado exhibe os mesmos picos de magnetita. Como esperado, as intensidades dos picos de reflexão nesses padrões de difração de raios X para a amostra MAG1 (0,25) são em geral menores do que para a amostra MAG1 (0,5), que por sua vez são menores que para a amostra MAG1 (1,0).

Levando em consideração a limitação da técnica de difração, não foi observado nenhum pico de reflexão nítido devido à outra fase cristalina que poderia ocorrer como impureza. Indicativo que os produtos finais eram puros o suficiente, desse ponto de vista, consistindo essencialmente em óxido de ferro magnético.

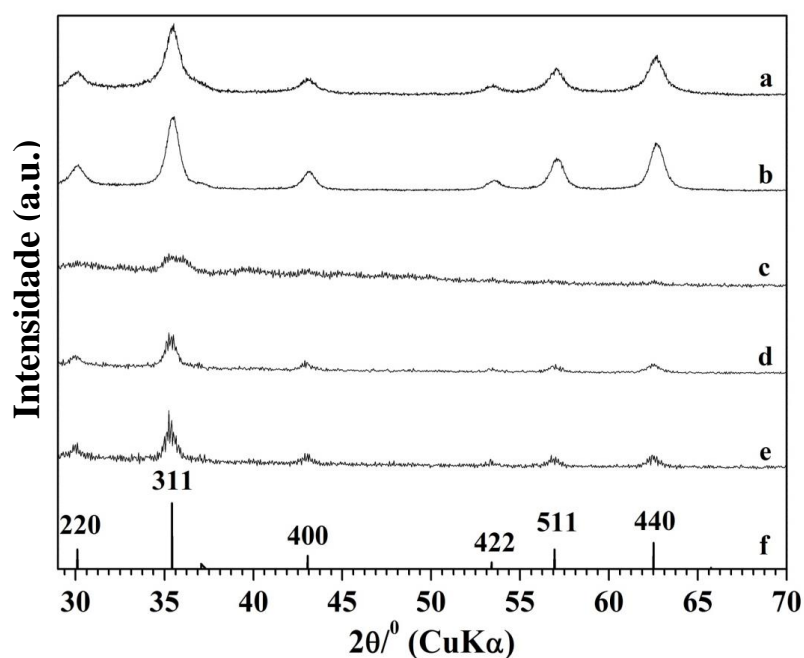


Figura 20. Padrões de difração de raios X das amostras: (a) MAG, (b) MAG1, (c) mag1 (0,25), (d) MAG1 (0,5), (e) MAG1 (1,0), e (f) magnetite (Arquivo ICDD No: 19-0629).

4.2.3 TGA

Mostra-se na FIG.21 os resultados das análises termogravimétricas (TGA) do polímero (PLDLA-co-TMC), PEO-PPO-PEO, nanopartícula em branco, MAG1, MAG1 (0,25), MAG1 (0,5) e MAG1 (1,0). A TGA do hidróxido de tetrametilamônio (TMAOH) não foi realizada porque já é conhecida na literatura (TANCZOS et al., 2003). A partir destes resultados, o teor da magnetite foi determinado. Os termogramas obtidos também são úteis na detecção de qualquer interação polímero-magnetite no interior da rede polimérica das nanopartículas.

A curva TG do polímero (FIG.21a) mostra que houve perda de massa (cerca de 97,6 %), começando em 280 °C e terminando em 370 °C. Esta é uma perda de massa característica do terpolímero, que está associada à degradação dos constituintes L / D, L-láctido - PLDLA (PDLLA e PLLA) e carbonato de trimetileno – TMC (PEZZIN; ZAVAGLIA; DUEK, 2002; DE PAULA; MANO, 2012; MESSIAS et al., 2014b; MOTTA; DUEK, 2014; BAROUTI et al., 2016).

Com base nas curvas térmicas para PEO-PPO-PEO (FIG. 21b) foi possível constatar uma perda de massa de 97,1 %, começando em cerca de 215 °C e continua até 415 °C. Os constituintes da degradação estão associados a copolímeros em blocos

anfílicos constituídos por unidades de PEO, poli (óxido de etileno), e unidades PPO, poli (óxido de propileno) (ALMEIDA et al., 2018).

Na FIG.21c mostra-se a análise termogravimétrica da nanopartícula em branco na qual há uma perda de massa de cerca de 39,0 % (entre 204,7 e 314 °C) e outra entre 314 e 409 °C (54,0 %). A primeira perda de massa pode estar associada ao PLDLA-co-TMC, enquanto a segunda pode ser atribuída ao PEO-PPO-PEO.

A curva TG da amostra MAG1 (FIG.21d) mostra uma perda de massa de cerca de 13,0 % atribuída à evaporação da água residual (entre 24 e 110 °C), e outra entre 150 a 220 °C (11,5 %). Sabe-se que o TMAOH perde a sua água de cristalização até cerca de 120 °C (TANCZOS et al., 2003). Sua principal degradação ocorre a 130 - 150 °C, que produz trimetilamina (TMA), metanol e dimetilamina (DMA). Uma segunda perda de peso ocorre cerca de 180 °C a 190 °C. Segundo a literatura (TANCZOS et al., 2003), nestas decomposições foram detectados TMA, DMA e dióxido de carbono. O dióxido de carbono é originário do carbonato de tetrametilamônio (TMAC). Os valores de temperatura encontrados na amostra MAG1 foram maiores que os encontrados na literatura para TMAOH. Isso pode sugerir uma ligação química entre magnetita e TMAOH. Como as principais perdas de massa da amostra MAG1 devem estar relacionadas a água e TMAOH, os resultados indicam que a amostra MAG1 contém cerca de 75 % em peso de magnetita.

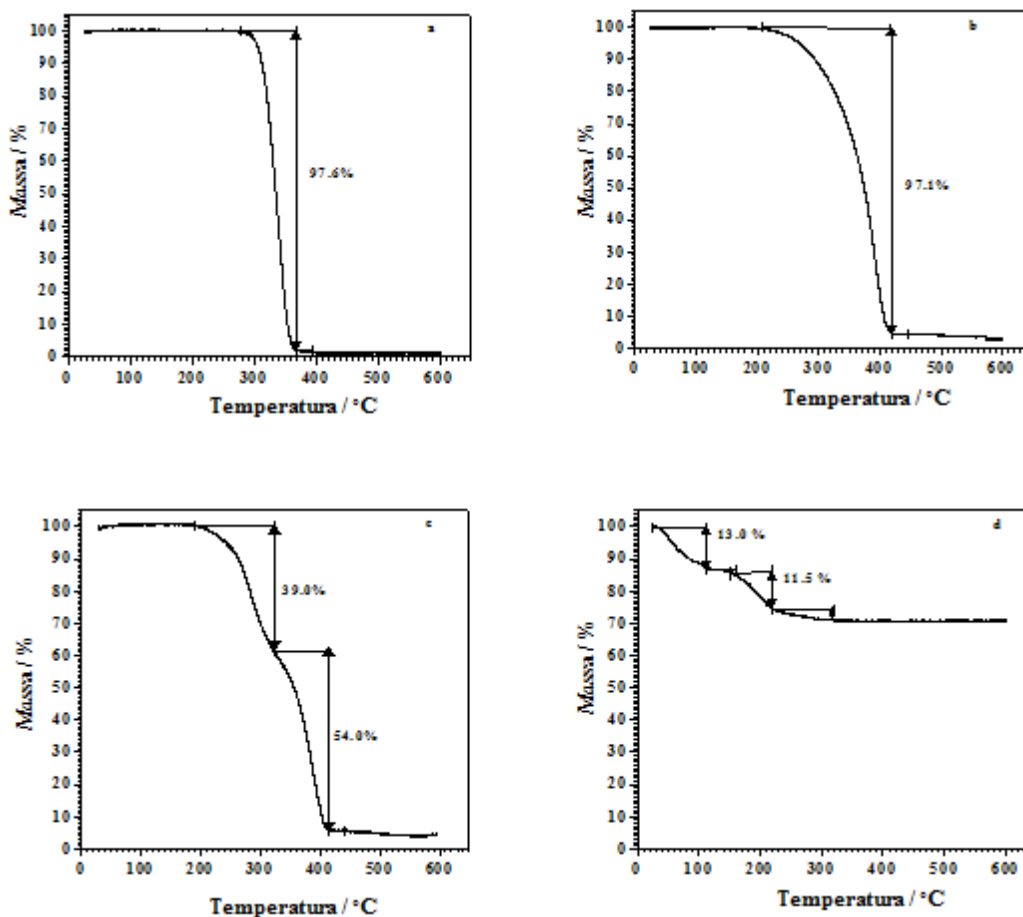
De acordo com as FIG.s 21e, 21f e 21g, as curvas térmicas das amostras MAG1 (0,25), MAG1 (0,5) e MAG1 (1,0) revelaram duas perdas de massa entre 160 e 420 °C. Uma primeira entre 160 e 260 °C está relacionada à TMAOH, e a segunda perda de massa, entre 260 e 420 °C relacionada ao polímero.

Da análise da curva TGA, podemos observar que as amostras MAG1 (0,25), MAG1 (0,5) e MAG1 (1,0) contém aproximadamente 7, 16 e 39 % de magnetita. Ou seja, a amostra MAG1 (1,0) contém aproximadamente 2,3 vezes a mais óxido de ferro do que a amostra MAG1 (0,5), que contém cerca de 2,4 vezes mais óxido de ferro do que a amostra MAG1 (0,25), correspondendo bem ao valor esperado. Comparado com a quantidade de magnetita adicionada, foi mostrado que a maior parte da magnetita foi absorvida no polímero.

Considerando que a primeira perda, até 260 °C seja devido ao TMAOH, as amostras híbridas deverão ter, aproximadamente 70,8, 55,6, e 44,7 % de polímero (amostras MAG1 (0,25), MAG1 (0,50), e MAG1 (1,0), respectivamente).

É interessante observar nessas amostras que, aparentemente, a perda de massa relacionada ao TMAOH, na amostra MAG1, que iniciou em cerca de 150 °C, se deslocou para 160 °C nas amostras híbridas. Já o pico do polímero, que iniciou sua degradação em 280 °C (FIG.21a), aparentemente se deslocou para 260 °C nas amostras híbridas. Esses deslocamentos podem indicar ligação química entre a magnetita e o TMAOH, e entre o polímero e a magnetita revestida por TMAOH.

Portanto, a caracterização da TGA permitiu confirma o revestimento de magnetita com polímero e indicou haver uma conexão entre o polímero e a magnetita. Além disso, permitiu estimar a composição relativa do terpolímero e da massa de óxido de ferro, avaliando a perda de massa pelo monitoramento de uma faixa de temperatura.



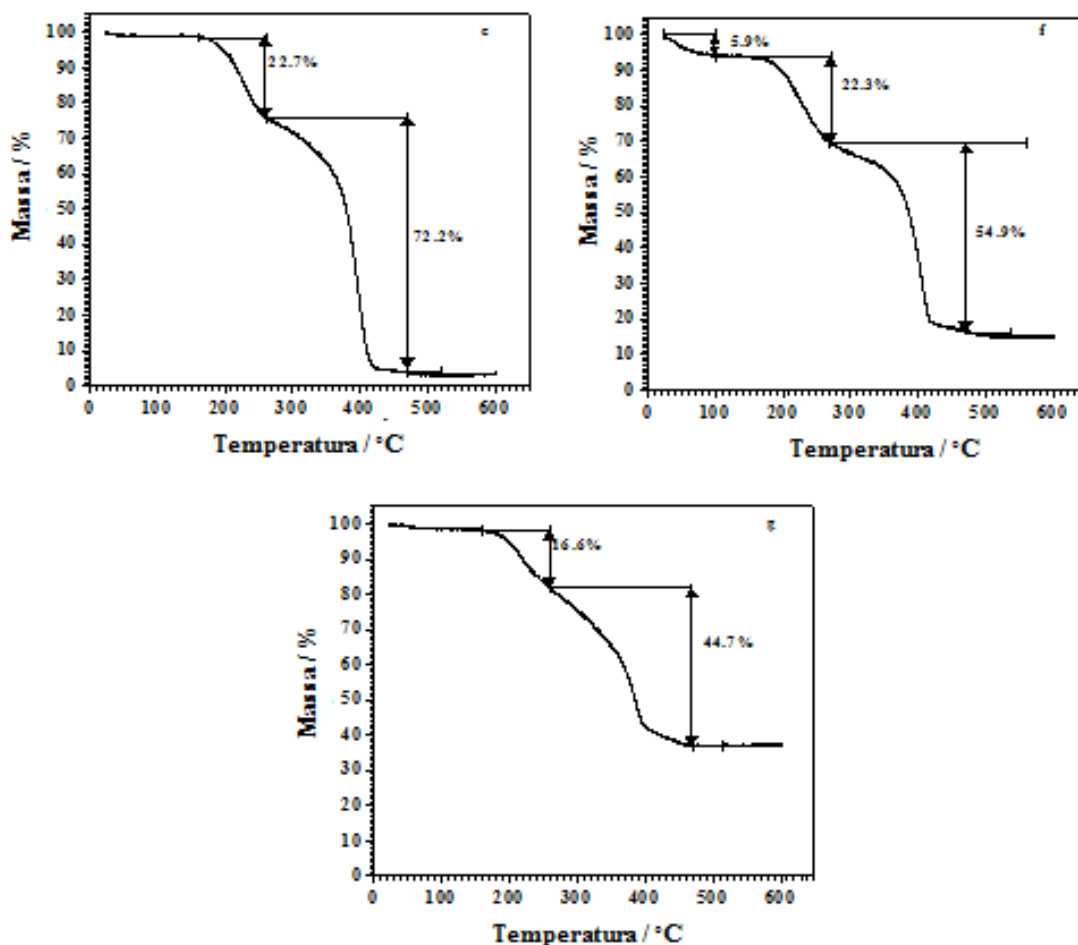


Figura 21. Curva de TGA (mg X °C) das amostras: (a) terpolímero (PLDLA-co-TMC), (b) copolímero em bloco (PEO-PPO-PEO), (c) partícula em branco, (d) mag1, (e) mag1 (0,25), (f) mag1 (0,5) e (g) mag1 (1,0).

4.2.4 DSC

Os termogramas de calorimetria de varredura diferencial das amostras são mostrados na FIG.22. As curvas obtidas do polímero aparentemente não mostram transformações. Aumentando os dados da curva próximo a 50 °C, podemos observar o pico endotérmico que corresponde à temperatura de transição vítrea (T_g) (50 °C) – FIG. 22a. A maior flexibilidade apresentada pela membrana de PLDLA-TMC, em função da presença das unidades de TMC na cadeia polimérica, se reflete na ligeira queda no valor de T_g apresentado pelo terpolímero, 50 °C, se comparado ao PLDLA (de 58 °C) estudado por Motta (MONTEIRO, 2007).

PEO-PPO-PEO (FIG.22b) mostrou o pico endotérmico único proeminente a aproximadamente 54,6 °C, correspondendo ao seu ponto de fusão e natureza cristalina

(XIE et al., 2009). As nanopartículas brancas e as nanopartículas híbridas também exibem o ponto de fusão do PEO-PPO-PEO com um pequeno deslocamento.

No caso das nanopartículas em branco, os termogramas de DSC sugerem que a alteração no comportamento de fusão foi influenciada pela incorporação de PLDLA-co-TMC em PEO-PPO-PEO, que evidenciou uma diminuição na temperatura de fusão (T_m) para 53,3 °C. Esta redução na temperatura de fusão também foi observada com uma proporção inversa ao teor de magnetita nas nanopartículas híbridas, ou seja, o aumento da magnetita / TMAOH (0,25mL→0,5mL→1,0mL) promoveu uma diminuição na temperatura (50.7°C→46.6°C→46.4°C), respectivamente. A mudança no comportamento de fusão do nanocompósito confirma a interação entre os grupos polares de copolímero e a unidade polar de partículas de magnetita (P; RAMESAN, 2014), como confirmado pelo FTIR e corroborado no TGA. Assim, nota-se que a incorporação de PLDLA-co-TMC em PEO-PPO-PEO e magnetita / TMAOH nas nanopartículas em branco sugerem ter aumentado a flexibilidade das nanopartículas em branco e nanopartículas híbridas, respectivamente. Sendo assim, este resultado promoveu a mobilidade da cadeia macromolecular do PEO-PPO-PEO.

O fato das seguintes amostras MAG1 (0,5) e MAG1 (1,0) apresentarem uma diferença de 50 % de fluidos magnéticos, hipoteticamente encapsulados, e por apresentarem similaridade nas temperaturas de fusão sugerem que as duas nanopartículas alcançaram volumes percentuais máximos e similares de encapsulamento de magnetita nas nanopartículas.

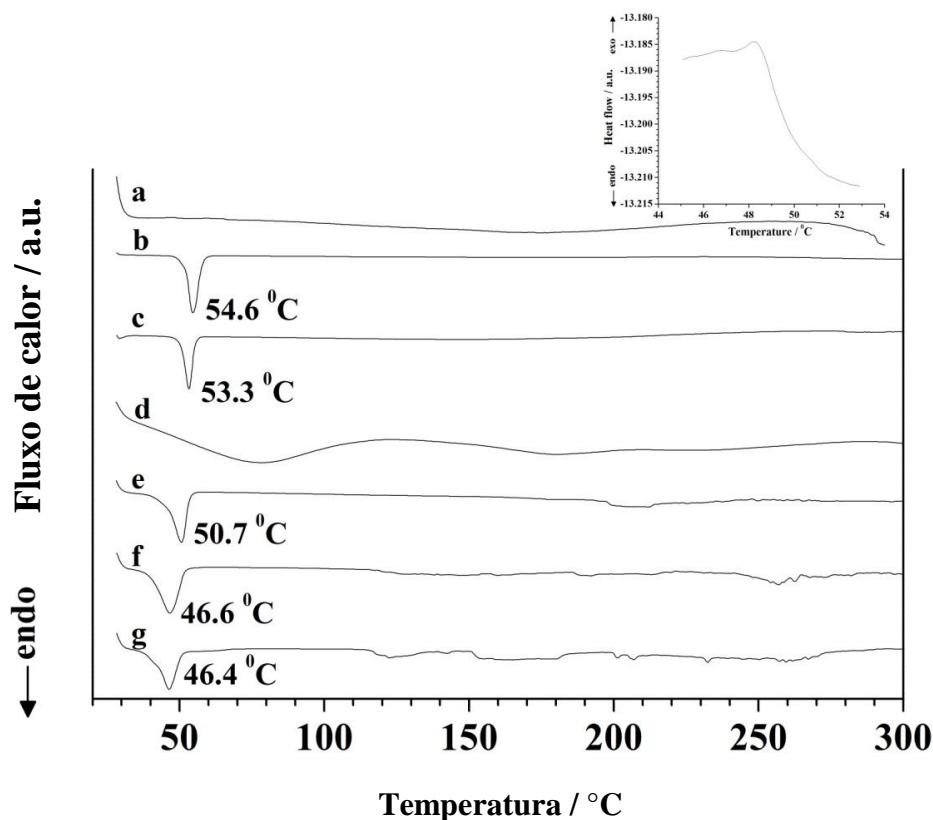


Figura 22. Curva DSC das amostras: (a) polímero (PLDLA-co-TMC), (b) PEO-PPP-PEO, (c) nanopartícula em branco, (d) MAG1, (e) MAG1 (0,25), (f) MAG1 (0,5) e (g) MAG1 (1,0).

4.2.5 AAS

A espectroscopia de absorção atômica (AAS) permitiu determinar a concentração de nanopartículas de óxido de ferro nas soluções coloidais. Assim, de acordo com a TAB.2, observou-se que a maior concentração de magnetita foi proveniente da suspensão da amostra MAG1 (1,0). Este resultado está de acordo com a análise térmica da FIG. 21g em que sugere uma maior massa residual de magnetita para esta amostra. A razão de óxido de ferro entre as amostras MAG1 (1) e MAG1 (0,5), de acordo com a absorção atômica, foi de aproximadamente 1,2 vezes, enquanto que uma relação entre as amostras MAG1 (0,5) e MAG1 (0,25) foi de aproximadamente 1,5 vezes. Esses valores são um pouco menores do que os observados pela análise térmica. No entanto, conforme o esperado, o teor de magnetita das nanopartículas híbridas aumentou significativamente com o aumento da razão de peso magnetita: polímero.

Tabela 2. Concentração de magnetita em nanopartículas híbridas.

	MAG1.(0,25 mL)	MAG1.(0,5 mL)	MAG1.(1,0 mL)
Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	94,2	139,1	167,3

4.2.6 DLS

A quantidade de nanopartículas de magnetita é um fator importante que pode afetar o diâmetro médio, o índice de polidispersão e o potencial zeta, mas há pouca informação disponível sobre seu efeito no tamanho e na morfologia das nanopartículas compostas. A fim de determinar a quantidade adequada de magnetita na preparação de nanopartículas híbridas, três diferentes formulações foram testadas.

As características (tamanho médio e distribuição de tamanho do polímero, índice de polidispersão (PdI), potencial zeta e conteúdo de magnetita) das amostras de nanopartícula em branco, nanopartículas híbridas e MAG1 são mostradas na TAB.3.

A distribuição de tamanho (TAB.3 e FIG.23) das amostras de nanopartículas em branco, MAG1, MAG1 (0,25) e MAG1 (0,5) foi monomodal, enquanto que a amostra MAG1 (1,0) foi bimodal. Observa-se que o diâmetro médio das partículas de diferentes amostras de nanohíbridas diminui com o aumento da quantidade de Fe_3O_4 . Esta é a mesma tendência relatada por Xie et al. (XIE et al., 2003). A diminuição do tamanho das partículas do polímero com o aumento na quantidade de Fe_3O_4 pode ser associado ao fato de que a quantidade de Fe_3O_4 tem proporcionalidade direta com o número de minigotas ou locais de nucleação. A intensidade acústica em misturas líquidas é aumentada com o aumento do número de partículas (TUZIUTI et al., 2004) e isso afetará o processo de fissão / fusão. Ou seja, o fenômeno de fissão, gerado a partir da ultra-sonicação, causa a diminuição do tamanho da minigota e tem maior efeito sobre o processo de fusão. Isso resultará em uma diminuição geral no tamanho da minigota.

O aumento no tamanho de partícula de MAG1 (1,0) provavelmente vem da ausência de condições otimizadas para a estabilização. O aumento na quantidade de Fe_3O_4 não só resulta em maior número de partículas, mas também faz com que as partículas se tornem maiores. Isso significa que mais partículas de Fe_3O_4 entrariam no monômero minigotas para causar esse aumento. Nota-se que o aumento na quantidade de Fe_3O_4 sem alterar a concentração do surfactante faz com que o tamanho da partícula

seja aumentado. Por outro lado, o aumento significativo da concentração de surfactante faz com que as gotículas se tornem menores a ponto de não permitir a fácil dispersão das partículas de Fe_3O_4 nas gotículas de monômero ou a ponto de expulsar as partículas previamente dispersas. Conclui-se que a variação no teor de magnetita deve ser fornecida com a mudança na formulação para ter sistemas nanohíbridos monodispersos. Nós apenas mudamos o conteúdo de magnetita, mantendo todos os componentes constantes. É claro que há um relatório sobre a variação do teor de magnetita em uma formulação constante (SHULAI LU, 2006). Estes resultados indicam que, com maiores cargas de Fe_3O_4 , a dificuldade de encapsulamento do Fe_3O_4 aumentou. A amostra apresenta maior tendência a agregar, levando à formação de grandes aglomerados de partículas.

O índice de polidispersão (PdI) mede a distribuição de tamanho da população das nanopartículas. Em uma escala de 0 a 1, um PdI menor que 0,1 pode estar associado a uma alta homogeneidade na população de partículas, enquanto altos valores de PdI sugerem uma ampla distribuição de tamanho ou até mesmo várias populações (GAUMET et al., 2008a). Os PDI's das nanopartículas em branco, MAG1, MAG1 (0,25) e MAG1 (0,5) foram inferiores a 0,2, o que explica o perfil de tamanho monodisperso homogêneo das nanopartículas preparadas (BRANDHONNEUR et al., 2018). A amostra MAG1 (1,0) apresentou um PdI maior que 0,5, o que mostra uma ampla faixa de distribuição de tamanho.

Os diâmetros médios obtidos por DLS podem ser maiores que os tamanhos determinados a partir das imagens TEM ou MEV para as amostras correspondentes. Isto é presumível porque o DLS fornece o diâmetro hidrodinâmico médio do núcleo de magnetita circundado pelas camadas orgânicas e de solvatação, enquanto TEM ou MEV fornece o diâmetro de nanopartículas magnéticas sozinho no estado seco (KAMRUZZAMAN SELIM et al., 2007; LI et al., 2008).

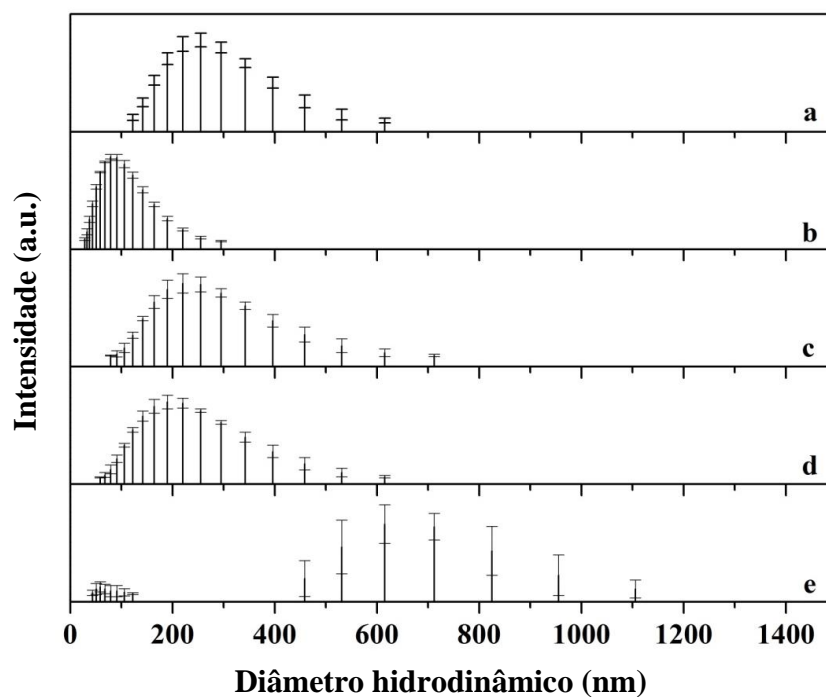


Figura 23. Distribuições do tamanho de partícula das amostras: a) blank nanoparticle, b) MAG1, c) MAG1 (0,25 ml), d) MAG1 (0,5 ml) e MAG1 (1,0 ml).

Tabela 3. Diâmetro médio de tamanho de partícula para diferentes amostras obtidas da análise DLS.

Formulações	Z-Av (nm)	PdI	Potencial zeta (mV)
Nanopartícula branca	242,7 ± 6,0	0,13	-17,59 ± 6,0
MAG1	78,0 ± 0,7	0,19	-22,0 ± 4,0
MAG1 (0,25mL)	236,6 ± 3,6	0,19	-14,0 ± 7,0
MAG1 (0,5 mL)	193,2 ± 5,3	0,22	-15,0 ± 6,0
MAG1 (1,0 mL)	767,7 ± 21,5	0,61	-10,0 ± 5,0

*Tamanho médio (Z-Av); índice de polidispersividade (PdI). Média ± desvio padrão (n = 3).

4.2.7 VSM

As curvas de magnetização vs. campo magnético a 300 K para os materiais sintetizados e para as nanopartículas híbridas são mostradas na FIG.24.

A presença do invólucro não-magnético é evidente pelo fato de que a magnetização de saturação (M_s) das nanopartículas híbridas é menor do que da amostra MAG. A magnetização de saturação está relacionada com a equação $M_s = \Psi m_s$. M_s está relacionada à fração volumétrica de nanopartículas de magnetita (Ψ) e ao momento de saturação do componente único (m_s) (WEI et al., 2015). Portanto, a magnetização de saturação depende da fração volumétrica das nanopartículas de Fe_3O_4 e da natureza das interações no interior da matriz polimérica.

A força coercitiva (ou coercividade) da amostra MAG foi de cerca de 5 Oe, mostrando que esta amostra não foi capaz de reter a magnetização quando o campo magnético externo foi removido. A remanência magnética dessa mesma amostra foi quase nula, e isso indicava que não houve quase nenhuma magnetização remanescente quando o campo magnético externo foi removido. Todos esses dados, força coercitiva e remanência magnética indicam que a amostra MAG exibiu superparamagnetismo, o que favorece sua redispersão após a remoção do campo magnético externo. Por obter um tamanho das partículas magnéticas em torno de 10 nm, cada partícula correspondia a um único domínio de cristal, exibindo apenas uma orientação do momento magnético. Isso explica por que a amostra magnética exibiu propriedades superparamagnéticas. As outras amostras são maiores, portanto não são superparamagnéticas.

É evidente a partir da TAB.4 e FIG.25 que a saturação do valor de magnetização e o valor remanescente aumentam com o conteúdo de Fe_3O_4 . Isto se deve à forte interação entre partículas dentro da matriz (JAYAKRISHNAN; RAMESAN, 2017).

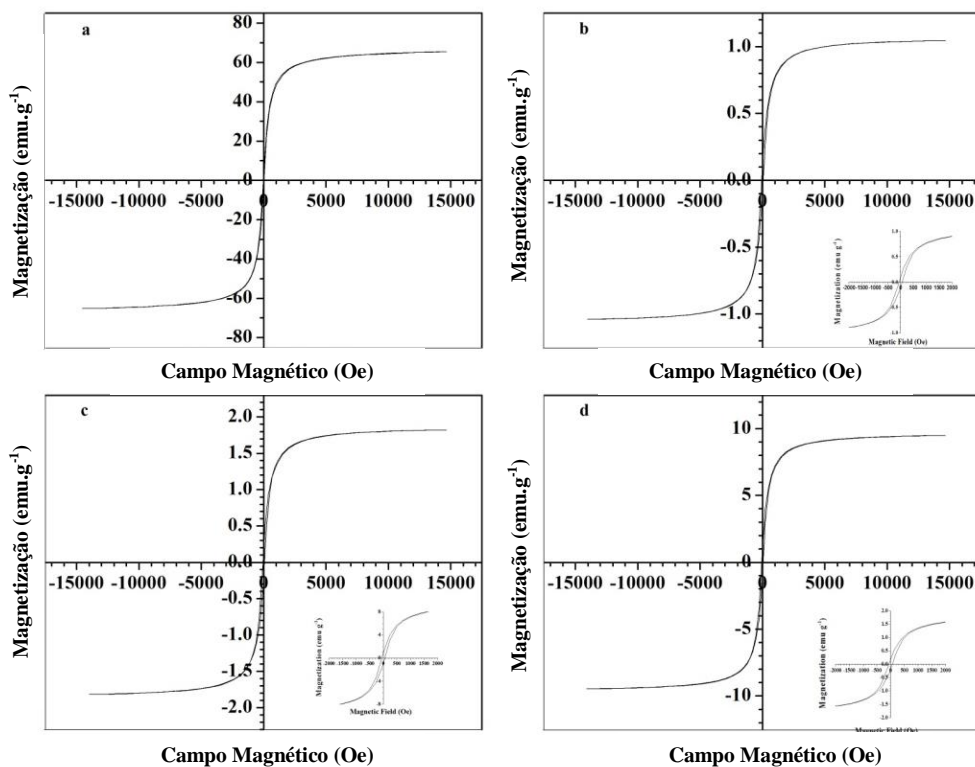


Figura 24. Loops de histerese de amostras: a) MAG, b) MAG1 (0,25), c) MAG1 (0,5), d) MAG1 (1,0). Inserção mostra ciclos de histerese da amostra mag.

Tabela 4. Parâmetros magnéticos dos nanocompósitos de magnetita e copolímero com diferentes teores de nanopartículas de magnetita.

Amostras	M_s	H_c (Oe)	M_r (emu g ⁻¹)
MAG1	67,0	5	0.01
MAG1(0,25)	1,0	58	0.10
MAG1 (0,5)	1.7	60	0.16
MAG1 (1,0)	9.0	60	0.90

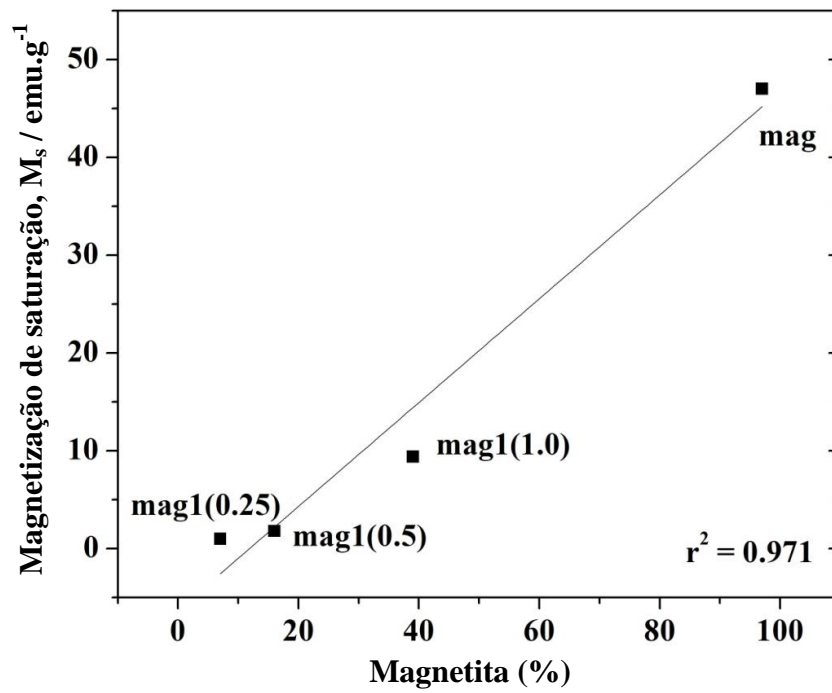


Figura 25. Relação entre magnetização e porcentagem de magnetita nas nanopartículas híbridas e na própria magnetita.

5 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos pode-se concluir que:

◆ Quanto ao nanossistema de entrega oral controlada de finasterida

Nosso grupo de pesquisa foi capaz de preparar nanopartículas à base de PLDLA-co-TMC com finasterida usando o método de deslocamento de solvente. A formulação do novo biomaterial mostrou: i) alta eficiência de encapsulação da finasterida, ii) perfil de liberação controlada em 24 horas, iii) tamanhos nanométricos, iv) formas esféricas, v) polidispersividade próxima, vi) carga superficial negativa, vii) unimodal distribuição de tamanho de partícula; e viii) aumento da estabilidade térmica na matriz polimérica PEO-PPO-PEO / PLDLA-co-TMC.

Os resultados demonstraram que as nanopartículas à base de PLDLA-co-TMC são sistemas potencialmente promissores para a liberação controlada de fármacos, particularmente por via oral. A literatura corrobora com a aplicação oral do novo nanossistema. Vários estudos indicam que tamanhos de nanopartículas entre 100 nm e 500 nm são viáveis em vias de administração oral.⁶² Reconhece-se, no entanto, que os ensaios in vivo serão capazes de delinear as propriedades biológicas inerentes às futuras práticas médicas do novo nanossistema.

◆ Quanto às nanopartículas híbridas

Novas nanopartículas híbridas (Fe_3O_4 / TMAOH/ PEO-PPO-PEO/ PLDLA-co-TMC) foram preparadas pela técnica do deslocamento de solvente.

Os estudos de FTIR e XRD revelaram arranjo estrutural ordenado e uniforme de nanopartículas no interior da matriz do copolímero.

A propriedade magnética estudada pelo magnetômetro de amostra vibrante (VSM) indicou que o eletromagnetismo dos sistemas nanohíbridos foi superparamagnético.

Os valores de magnetização de saturação (Ms) aumentaram com o aumento do conteúdo de Fe_3O_4 no nanocompósito.

Tanto a transição vítrea quanto a temperatura de fusão secundária dos nanocompósitos aumentaram com o aumento da concentração de nanopartículas e a temperatura de fusão primária diminuiu pela adição de nanopartículas.

Ao aumentar a quantidade de Fe_3O_4 ocorreu maior dificuldade do encapsulamento do Fe_3O_4 .

Os resultados obtidos no presente trabalho mostraram que os novos biomateriais desenvolvidos apresentam características adequadas para aplicações biomédicas.

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Entre as sugestões para a continuidade deste trabalho, é destacada a necessidade de estudo sobre a viabilidade das nanopartículas como biosensores multifuncionais e como biomarcadores de células-tronco para a medicina regenerativa.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUILAR, Z. **Nanomaterials for Medical Applications**. Elsevier, 2012.
- AHMED, O. A.; FAHMY, U. A.; AL-GHAMDI, A. S.; ALJAEID, B. M.; ALDAWSARI, H.; FAHMY, O.; SARHAN, H. A.; KHAIRUL ASRI, M. G. **Finasteride-Loaded Biodegradable Nanoparticles: Near-Infrared Quantification of Plasma and Prostate Levels**. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, v. 32, n. 6, p. 557–567, 2017.
- AHMED, T. A. **Preparation of finasteride capsules-loaded drug nanoparticles: Formulation, optimization, in vitro, and pharmacokinetic evaluation**. *International Journal of Nanomedicine*, v. 11, p. 515–527, 2016a.
- ALMEIDA, M.; MAGALHÃES, M.; VEIGA, F.; FIGUEIRAS, A. **Poloxamers, poloxamines and polymeric micelles: Definition, structure and therapeutic applications in cancer**. *Journal of Polymer Research*, v. 25, n. 1, 2018.
- ÁLVAREZ-LUEJE, A.; BRAIN-ISASI, S.; NÚÑEZ-VERGARA, L. J.; SQUELLA, J. A. **Voltammetric reduction of finasteride at mercury electrode and its determination in tablets**. *Talanta*, v. 75, n. 3, p. 691–696, 2008.
- ANDRADE, Â.; FABRIS, J.; DOMINGUES, R.; PEREIRA, M. **Current Status of Magnetite-Based Core@Shell Structures for Diagnosis and Therapy in Oncology Short running title: Biomedical Applications of Magnetite@Shell Structures**. *Current Pharmaceutical Design*, v. 21, n. 37, p. 5417–5433, 2015a.
- ANDRADE, A.; FERREIRA, R.; FABRIS, J.; DOMINGUES, R. **Coating Nanomagnetic Particles for Biomedical Applications**. *Biomedical Engineering Reza Fazel-Rezai, IntechOpen*, 2011.
- ANDRADE, Â. L.; CAVALCANTE, L. C. D.; FABRIS, J. D.; PEREIRA, M. C.; ARDISSON, J. D.; DOMINGUES, R. Z. **Preparation and Characterization of Fe₃O₄-Pt Nanoparticles**. *Hyperfine Interactions*, v. 238, n. 1, p. 53, 2017.
- ANDRADE, Â. L.; FABRIS, J. D.; ARDISSON, J. D.; VALENTE, M. A.; FERREIRA, J. M. F. **Effect of Tetramethylammonium Hydroxide on Nucleation, Surface Modification and Growth of Magnetic Nanoparticles**. *Journal of Nanomaterials*, v. 2012, p.1, 2012.
- ANDRADE, A. L.; FABRIS, J. D.; DOMINGUES, R. Z.; PEREIRA, M. C. **Current Status of Magnetite-Based Core@Shell Structures for Diagnosis and Therapy in Oncology Short Running Title: Biomedical Applications of**

- Magnetite@Shell Structures.** *Current Pharmaceutical Design*, v. 21, n. 37, p. 5417–5433, 2015b.
- ANDRADE, A. L.; FABRIS, J. D.; PEREIRA, M. C.; DOMINGUES, R. Z.; ARDISSON, J. D. **Preparation of Composite with Silica-Coated Nanoparticles of Iron Oxide Spinels for Applications Based on Magnetically Induced Hyperthermia.** *Hyperfine Interactions*, v. 218, n. 1–3, p. 71–82, 2013.
- ANDRADE, A. L.; SOUZA, D. M.; PEREIRA, M. C.; FABRIS, J. D.; DOMINGUES, R. Z. **Magnetic Properties of Nanoparticles Obtained by Different Chemical Routes.** *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, v. 9, n. 3, p. 2081–2087, 2009a.
- ANDRADE, A. L.; SOUZA, D. M.; PEREIRA, M. C.; FABRIS, J. D.; DOMINGUES, R. Z. **Synthesis and characterization of magnetic nanoparticles coated with silica through a sol-gel approach.** *Cerâmica*, v. 55, n. 336, p. 420–424, 2009b.
- ANDRADE, Â. L.; SOUZA, D. M.; PEREIRA, M. C.; FABRIS, J. D.; DOMINGUES, R. Z. **pH effect on the synthesis of magnetite nanoparticles by the chemical reduction-precipitation method.** *Química Nova*, v. 33, n. 3, p. 524–527, 2010.
- ANDRADE, Â. L.; VALENTE, M. A.; FERREIRA, J. M. F.; FABRIS, J. D. **Preparation of size-controlled nanoparticles of magnetite.** *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, v. 324, n. 10, p. 1753–1757, 2012d.
- AWOTWE-OTOO, D.; ZIDAN, A. S.; RAHMAN, Z.; HABIB, M. J. **Evaluation of Anticancer Drug-Loaded Nanoparticle Characteristics by Nondestructive Methodologies.** *AAPS PharmSciTech*, v. 13, n. 2, p. 611–622, 2012.
- BABIC, M.; HORÁK, D.; TRCHOVÁ, M.; JENDELOVÁ, P.; GLOGAROVÁ, K.; LESNÝ, P.; HERYNEK, V.; HÁJEK, M.; SYKOVÁ, E. **Poly(L-Lysine)-Modified Iron Oxide Nanoparticles for Stem Cell Labeling.** *Bioconjugate Chemistry*, v. 19, n. 3, p. 740–750, 2008a.
- BAE, K. H.; KIM, Y. B.; LEE, Y.; HWANG, J.; PARK, H.; PARK, T. G. **Bioinspired Synthesis and Characterization of Gadolinium-Labeled Magnetite Nanoparticles for Dual Contrast T1- and T2-Weighted Magnetic Resonance Imaging.** *Bioconjug Chem.* 21, 505-12, 2010a.
- BANIK, B. L.; FATTAHI, P.; BROWN, J. L. **Polymeric nanoparticles: The future of nanomedicine.** *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, v. 8, n. 2, p. 271–299, 2016.
- BARICHELLO, J. M.; MORISHITA, M.; TAKAYAMA, K.; NAGAI, T. **Encapsulation of Hydrophilic and Lipophilic Drugs in PLGA Nanoparticles by**

the Nanoprecipitation Method. Drug Development and Industrial Pharmacy, v. 25, n. 4, p. 471–476, 1999.

BAROUTI, G.; KHALIL, A.; ORIONE, C.; JARNOUEN, K.; CAMMAS-MARION, S.; LOYER, P.; GUILLAUME, S. M. **Poly(trimethylene carbonate)/Poly(malic acid) Amphiphilic Diblock Copolymers as Biocompatible Nanoparticles.** Chemistry - A European Journal, v. 22, n. 8, p. 2819–2830, 2016.

BARROW, M.; TAYLOR, A.; MURRAY, P.; ROSSEINSKY, M. J.; ADAMS, D. J. **Design considerations for the synthesis of polymer coated iron oxide nanoparticles for stem cell labelling and tracking using MRI.** Chem. Soc. Rev., v. 44, n. 19, p. 6733–6748, 2015.

BECK-BROICHSITTER, M.; RYTTING, E.; LEBHARDT, T.; WANG, X.; KISSEL, T. **Preparation of nanoparticles by solvent displacement for drug delivery: A shift in the “ ouzo region” upon drug loading.** European Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 41, n. 2, p. 244–253, 2010.

BELIANINA, I.; KOLOVSKAYA, O.; ZAMAY, S.; GARGAUN, A.; ZAMAY, T.; KICHKAILO, A. **Targeted magnetic nanotheranostics of cancer.** Molecules, v. 22, n. 6, p. 1–19, 2017a.

BELIANINA, I.; KOLOVSKAYA, O.; ZAMAY, S.; GARGAUN, A.; ZAMAY, T.; KICHKAILO, A. **Targeted Magnetic Nanotheranostics of Cancer.** Molecules (Basel, Switzerland), v. 22, n. 6, 2017b.

BODRATTI, A.; ALEXANDRIDIS, P. **Formulation of Poloxamers for Drug Delivery.** Journal of Functional Biomaterials, v. 9, n. 1, p. 11, 2018.

BRANDHONNEUR, N.; HATAHET, T.; AMELA-CORTES, M.; MOLARD, Y.; CORDIER, S.; DOLLO, G. **Molybdenum cluster loaded PLGA nanoparticles: An innovative theranostic approach for the treatment of ovarian cancer.** European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, v. 125, n. October 2017, p. 95–105, 2018.

CABRERA, A. R. E. **Processamento, Caracterização e Desempenho in vivo de Arcabouço Biorreorsorvível de PLDLA-co-TMC.** Unicamp, FEM, Tese, 2014.

CAMILO, R. L. **Síntese e caracterização de nanopartículas magnéticas de ferrita de cobalto recobertas por 3-aminopropiltriétoxissilano para uso como material híbrido em nanotecnologia.** USP, Tese, 2006.

CHEN, G.; ROY, I.; YANG, C.; PRASAD, P. N. **Nanochemistry and Nanomedicine for Nanoparticle-based Diagnostics and Therapy.** Chemical Reviews, v. 116, n. 5, p. 2826–2885, 2016.

- CRUCHO, C. I. C.; BARROS, M. T. **Polymeric nanoparticles: A study on the preparation variables and characterization methods.** *Materials Science and Engineering C*, v. 80, p. 771–784, 2017.
- DANIEL-DA-SILVA, A. L.; TRINDADE, T.; GOODFELLOW, B. J.; COSTA, B. F. O.; CORREIA, R. N.; GIL, A. M. **In Situ Synthesis of Magnetite Nanoparticles in Carrageenan Gels.** *Biomacromolecules*, v. 8, n. 8, p. 2350–2357, 2007.
- DAS, M.; BANDYOPADHYAY, D.; MISHRA, D.; DATIR, S.; DHAK, P.; JAIN, S.; MAITI, T. K.; BASAK, A.; PRAMANIK, P. **“Clickable”, trifunctional magnetite nanoparticles and their chemoselective biofunctionalization.** *Bioconjugate Chemistry*, v. 22, n. 6, p. 1181–1193, 2011.
- DE ABREU, L. C. L.; TODARO, V.; SATHLER, P. C.; DA SILVA, L. C. R. P.; DO CARMO, F. A.; COSTA, C. M.; TOMA, H. K.; CASTRO, H. C.; RODRIGUES, C. R.; DE SOUSA, V. P.; CABRAL, L. M. **Development and Characterization of Nisin Nanoparticles as Potential Alternative for the Recurrent Vaginal Candidiasis Treatment.** *AAPS PharmSciTech*, v. 17, n. 6, p. 1421–1427, 2016.
- DE PAULA, E. L.; MANO, V. **Preparação, caracterização e estudos de biodegradação de blendas à base de PDLLA e PVP.** *Química Nova*, v. 35, n. 6, p. 1084–1089, 2012.
- DE SOUZA, C. A. G.; SIQUEIRA, S. M. C.; DE AMORIM, A. F. V.; DE MORAIS, S. M.; GONÇALVES, T.; GOMES, R. N.; CUNHA, A. P.; RICARDO, N. M. P. S. **Encapsulação do ácido L-ascórbico no biopolímero natural galactomanana por spray-drying: Preparação, caracterização e atividade antioxidante.** *Química Nova*, v. 38, n. 7, p. 877–883, 2015.
- DELGADO, J. M. F. **Preparação e caracterização de nanotransportadores (nanocápsulas, nanoesferas, lipossomas e transportadores lipídicos nanoestruturados) sem substância ativa.** Instituto Politécnico de Bragança, p. 1–117, 2013.
- DI CORATO, R.; ESPINOSA, A.; LARTIGUE, L.; THARAUD, M.; CHAT, S.; PELLEGRINO, T.; MÉNAGER, C.; GAZEAU, F.; WILHELM, C. **Magnetic hyperthermia efficiency in the cellular environment for different nanoparticle designs.** *Biomaterials*, v. 35, n. 24, p. 6400–6411, 2014.
- DINARVAND, R.; SEPEHRI, N.; MANOOCHEHRI, S.; ROUHANI, H.; ATYABI, F. **Poly lactide-Co-Glycolide Nanoparticles for Controlled Delivery of Anticancer Agents.** *International Journal of Nanomedicine*, v. 6, p. 877–895, 2011.

- EL-SAY, K. M.; EL-SAWY, H. S. **Polymeric nanoparticles: Promising platform for drug delivery**. International Journal of Pharmaceutics, v. 528, n. 1–2, p. 675–691, 2017.
- ELSAYED, I.; ABDELBARY, A. A.; ELSHAFFEEY, A. H. **Nanosizing of a poorly soluble drug: Technique optimization, factorial analysis, and pharmacokinetic study in healthy human volunteers**. International Journal of Nanomedicine, v. 9, n. 1, p. 2943–2953, 2014.
- FAGIR, W.; HATHOUT, R. M.; SAMMOUR, O. A.; ELSHAFFEEY, A. H. **Self-microemulsifying systems of Finasteride with enhanced oral bioavailability: Multivariate statistical evaluation, characterization, spray-drying and in vivo studies in human volunteers**. Nanomedicine, v. 10, n. 22, p. 3373–3389, 2015.
- Farmacopéia Brasileira**, 5^a Ed., 2010, Anvisa. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/hotsite/cd_farmacopeia/index.htm>. Acesso em: 19 jun. 2018.
- FERREIRA, R. V. **Síntese e Caracterização de Nanopartículas Magnéticas Funcionalizadas com Núcleo Magnético de Magnetita**. UFMG, tese, 2009a.
- FOUSTERIS, E.; TARANTILI, P. A.; KARAVAS, E.; BIKIARIS, D. **Poly(vinyl pyrrolidone)-poloxamer-188 solid dispersions prepared by hot melt extrusion: Thermal properties and release behavior**. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, v. 113, n. 3, p. 1037–1047, 2013.
- FRANCISQUINI, E.; SCHOENMAKER, J.; SOUZA, J. A. **Nanopartículas Magnéticas e suas Aplicações**. p. 22, 2014.
- FRELEK, J.; GÓRECKI, M.; DZIEDZIC, A.; JABŁOŃSKA, E.; KAMIENSKI, B.; WOJCIESZCZYK, R. K.; LUBORADZKI, R.; SZCZEPEK, W. J. **Comprehensive spectroscopic characterization of finasteride polymorphic forms. Does the form X exist?** Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 104, n. 5, p. 1650–1657, 2014.
- GALINDO-RODRIGUEZ, S.; ALLE, E.; FESSI, H.; DOELKER, E. **Physicochemical Parameters Associated with Nanoparticle Formation in the Salting-out, Nanoprecipitation Methods**. Pharmaceutical Research, v. 21, n. 8, p. 1428–1439, 2004.
- GAUMET, M.; VARGAS, A.; GURNY, R.; DELIE, F. **Nanoparticles for drug delivery: The need for precision in reporting particle size parameters**. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, v. 69, n. 1, p. 1–9, 2008a.

- GREGOR, A.; FILOVÁ, E.; NOVÁK, M.; KRONEK, J.; CHLUP, H.; BUZGO, M.; BLAHNOVÁ, V.; LUKÁŠOVÁ, V.; BARTOŠ, M.; NEČAS, A.; HOŠEK, J. **Designing of PLA scaffolds for bone tissue replacement fabricated by ordinary commercial 3D printer**. *Journal of Biological Engineering*, v. 11, 2017.
- GUI, B.-S.; HUANG, Z.-J.; XU, X.-J.; LI, M.-R.; HE, J.-Y.; OUYANG, J.-M. **Measurement of Urine Crystallites and Its Influencing Factors by Nanoparticle Size Analyzer**. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, v. 10, n. 8, p. 5232–5241, 2010.
- HAN, M.; MA, L.; YU, X.; LI, Z.; GUO, Y.; WANG, X. **A nanoparticulate drug-delivery system for 20(S)-protopanaxadiol: formulation, characterization, increased oral bioavailability and anti-tumor efficacy**. *Drug Delivery*, v. 23, n. 7, p. 2410–2418, 2016.
- HARJANTO, D.; LEE, J.; KIM, J. M.; JAWORSKI, J. **Controlling and assessing the surface display of cell-binding domains on magnetite conjugated fluorescent liposomes**. *Langmuir*, v. 29, n. 25, p. 7949–7956, 2013.
- HICKEY, J. W.; SANTOS, J. L.; WILLIFORD, J. **Control of Polymeric Nanoparticle Size to Improve Therapeutic Delivery**. *J Control Release*, p. 536–547, 2016.
- ILLÉS, E.; TOMBÁ CZ, E.; SZEKERES, M.; TÓTH, I. Y.; SZABÓ, Á.; IVÁN, B. **Novel carboxylated PEG-coating on magnetite nanoparticles designed for biomedical applications**. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, v. 380, p. 132–139, 2015.
- ISLAM, S.; ARNOLD, L.; PADHYE, R. **Comparison and Characterisation of Regenerated Chitosan from 1-Butyl-3-methylimidazolium Chloride and Chitosan from Crab Shells**. *BioMed Research International*, v. 2015, p.1, 2015
- IZUMI, K.; LI, L.; CHANG, C. **Androgen receptor and immune inflammation in benign prostatic hyperplasia and prostate cancer**. *Clinical Investigation*, v. 4, n. 10, p. 935–950, 2014.
- JAYAKRISHNAN, P.; RAMESAN, M. T. **Studies on the effect of magnetite nanoparticles on magnetic, mechanical, thermal, temperature dependent electrical resistivity and DC conductivity modeling of poly (vinyl alcohol-co-acrylic acid)/Fe₃O₄ nanocomposites**. *Materials Chemistry and Physics*, v. 186, p. 513–522, 2017.
- JOHN-MICHAEL WILLIFORD, JOSE LUIS SANTOS, R. S. and H.-Q. M. **Shape Control in Engineering of Polymeric Nanoparticles for Therapeutic Delivery**. *Biomater Sci*, v. 4, n. 1, p. 139–148, 2014.

- KAMALY, N.; YAMEEN, B.; WU, J.; FAROKHZAD, O. C. **Degradable controlled-release polymers and polymeric nanoparticles: Mechanisms of controlling drug release.** Chemical Reviews, v. 116, n. 4, p. 2602–2663, 2016.
- KAMRUZZAMAN SELIM, K. M.; HA, Y. S.; KIM, S. J.; CHANG, Y.; KIM, T. J.; HO LEE, G.; KANG, I. K. **Surface modification of magnetite nanoparticles using lactobionic acid and their interaction with hepatocytes.** Biomaterials, v. 28, n. 4, p. 710–716, 2007.
- KEUM, C. G.; NOH, Y. W.; BAEK, J. S.; LIM, J. H.; HWANG, C. J.; NA, Y. G.; SHIN, S. C.; CHO, C. W. **Practical preparation procedures for docetaxel-loaded nanoparticles using polylactic acid-co-glycolic acid.** International journal of nanomedicine, v. 6, p. 2225–2234, 2011.
- KHALKHALI, M.; ROSTAMIZADEH, K.; SADIGHIAN, S.; KHOEINI, F.; NAGHIBI, M.; HAMIDI, M. **The impact of polymer coatings on magnetite nanoparticles performance as MRI contrast agents: A comparative study.** DARU, Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 23, n. 1, p. 1–12, 2015.
- KHAYATA, N.; ABDELWAHED, W.; CHEHNA, M. F.; CHARCOSSET, C.; FESSI, H. **Preparation of vitamin e loaded nanocapsules by the nanoprecipitation method: From laboratory scale to large scale using a membrane contactor.** International Journal of Pharmaceutics, v. 423, n. 2, p. 419–427, 2012.
- KOMATSU, D.; MISTURA, D. V.; MOTTA, A.; DOMINGUES, J. A.; HAUSEN, M. A.; DUEK, E. **Development of a membrane of poly (L-co-D,L lactic acid-co-trimethylene carbonate) with aloe vera: An alternative biomaterial designed to improve skin healing.** Journal of Biomaterials Applications, v. 0, n. 0, p. 088532821771985, 2017.
- KURT CÜCÜ, A.; ARSLAN, E.; KARADERI, S. **The Determination of The Stability Constant of Finasteride Complexes with Various Metals by Potentiometric and Spectrophotometric Methods.** Marmara Pharmaceutcal Journal, v. 20, n. 3, p. 408, 2016.
- LI, G. yin; HUANG, K. long; JIANG, Y. ren; DING, P.; YANG, D. liang. **Preparation and characterization of carboxyl functionalization of chitosan derivative magnetic nanoparticles.** Biochemical Engineering Journal, v. 40, n. 3, p. 408–414, 2008.
- LOPES, C. M.; LOBO, J. M. S.; COSTA, P. **Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos.** Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, v. 41, n. 2, p. 143–154, 2005.

- LUO, Y. Y.; XIONG, X. Y.; TIAN, Y.; LI, Z. L.; GONG, Y. C.; LI, Y. P. **A review of biodegradable polymeric systems for oral insulin delivery**. *Drug Delivery*, v. 23, n. 6, p. 1882–1891, 2016.
- MANADAS, R.; PINA, M. E.; VEIGA, F. **A dissolução in vitro na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada**. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 38, n. 4, 2002.
- MÁS, B. A.; CATTANI, S. M. de M.; RANGEL, R. de C. C.; RIBEIRO, G. de A.; CRUZ, N. C.; LEITE, F. de L.; NASCENTE, P. A. de P.; DUEK, E. A. de R. **Surface characterization and osteoblast-like Cells culture on collagen modified PLDLA scaffolds**. *Materials Research*, v. 17, n. 6, p. 1523–1534, 2014.
- MESSIAS, A. D.; MARTINS, K. F.; MOTTA, A. C.; DUEK, E. A. D. R. **Synthesis, characterization, and osteoblastic cell culture of poly(l-co-d,l-lactide-co-trimethylene carbonate) scaffolds**. *International Journal of Biomaterials*, v. 2014, 2014a.
- MILADI, K.; SFAR, S.; FESSI, H.; ELAISSARI, A. **Polymer Nanoparticles for Nanomedicines**. Springer International Publishing, 2016a.
- MONTEIRO, A. C. M. de M. **Síntese e caracterização de dispositivos de poli (L-co-D, L ácido láctico). Estudo da degradação in vitro e in vivo**. Unicamp, Tese, 2007.
- MORNET, S.; VASSEUR, S.; GRASSET, F.; DUGUET, E. **Magnetic nanoparticle design for medical diagnosis and therapy**. *Journal of Materials Chemistry*, v. 14, n. 14, p. 2161–2175, 2004a.
- MOTTA, A. C. & DUEK, E. A. R. **Síntese de terpolímero bioreabsorvível para aplicação médica**. INPI, 2011.
- MOTTA, A. C.; DUEK, E. A. de R. **Synthesis and characterization of a novel terpolymer based on L-lactide, D,L-lactide and trimethylene carbonate**. *Materials Research*, v. 17, n. 3, p. 619–626, 2014.
- MOTTA, A. C.; DUEK, E. A. R. **Síntese e caracterização do copolímero poli (L-co-D,L Ácido Láctico)**. *Polímeros*, v. 17, n. 2, p. 123–129, 2007.
- MUHEEM, A.; SHAKEEL, F.; JAHANGIR, M. A.; ANWAR, M.; MALLICK, N.; JAIN, G. K.; WARSI, M. H.; AHMAD, F. J. **A review on the strategies for oral delivery of proteins and peptides and their clinical perspectives**. *Saudi Pharmaceutical Journal*, v. 24, n. 4, p. 413–428, 2016.

- NA 'ANMAN, C. D.; SULE, Y. Z.; ACHI, P. I.; MUSA, H.; ALLAGH, S. T.; OFOKANSI, K. C. **Solid Dispersion As an Approach for Solubility and Dissolution Rate Enhancement of Lumefantrine**. *International Journal of Universal Pharmacy and Bio Sciences*, v. 6, n. 6, p. 1–15, 2017.
- NARAYANAN, S.; SATHY, B. N.; MONY, U.; KOYAKUTTY, M.; NAIR, S. V.; MENON, D. **Biocompatible magnetite/gold nanohybrid contrast agents via green chemistry for MRI and CT bioimaging**. *ACS Applied Materials and Interfaces*, v. 4, n. 1, p. 251–260, 2012.
- NASEF, A. M.; GARDOUH, A. R.; GHORAB, M. M. **Formulation and in-vitro evaluation of pantoprazole loaded pH-sensitive polymeric nanoparticles**. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 3, n. 2, p. 103–117, 2017a.
- NITTA, S. K.; NUMATA, K. **Biopolymer-based nanoparticles for drug/gene delivery and tissue engineering**. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 14, n. 1, p. 1629–1654, 2013.
- OLESOVSKY, C.; KAPOOR, A. **Evidence for the efficacy and safety of tadalafil and finasteride in combination for the treatment of lower urinary tract symptoms and erectile dysfunction in men with benign prostatic hyperplasia**. *Therapeutic Advances in Urology*, v. 8, n. 4, p. 257–271, 2016.
- OLIVEIRA, L. F. de. **Síntese de poli (ácido láctico-co-ácido glicólico) através de policondensação catalisada por resina de troca iônica contendo óxido de estanho como co-catalisador**. UFG, dissertação, 2008.
- P, J.; RAMESAN, M. T. **Synthesis, characterization and electrical properties of Fe₃O₄/poly(vinyl alcohol-co-acrylic acid) nanocomposites**. *AIP Conference Proceedings*, v. 1620, p.165-172, 2014.
- PAIVA, D. L.; ANDRADE, A. L.; PEREIRA, M. C.; FABRIS, J. D.; DOMINGUES, R. Z.; ALVARENGA, M. E. **Novel Protocol for the Solid-State Synthesis of Magnetite for Medical Practices**. *Hyperfine Interactions*, v. 232, n. 1–3, p. 19–27, 2015.
- PARHIZKAR, M.; REARDON, P. J. T.; KNOWLES, J. C.; BROWNING, R. J.; STRIDE, E.; BARBARA, P. R.; HARKER, A. H.; EDIRISINGHE, M. **Electrohydrodynamic encapsulation of cisplatin in poly (lactic-co-glycolic acid) nanoparticles for controlled drug delivery**. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, v. 12, n. 7, p. 1919–1929, 2016.

- PARK, J. W.; BAE, K. H.; KIM, C.; PARK, T. G. **Clustered magnetite nanocrystals cross-linked with PEI for efficient siRNA delivery**. *Biomacromolecules*, v. 12, n. 2, p. 457–465, 2011.
- PARSONS, J. K.; SCHENK, J. M.; ARNOLD, K. B.; MESSER, K.; TILL, C.; THOMPSON, I. M.; KRISTAL, A. R. **Finasteride reduces the risk of incident clinical benign prostatic hyperplasia**. *European Urology*, v. 62, n. 2, p. 234–241, 2012.
- PEPPAS, N. A.; BURES, P.; LEOBANDUNG, W.; ICHIKAWA, H. **Hydrogels in pharmaceutical formulations**. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 50, n. 1, p. 27–46, 2000.
- PEZZIN, A. P. T.; ZAVAGLIA, C. A. C.; DUEK, E. A. R. **Estudo da Degradação In Vitro de Blendas de Poli(p-dioxanona)/Poli(1-Ácido Láctico) (PPD/PLLA) Preparadas por Evaporação de Solvente**. *Polímeros*, v. 12, n. 4, p. 285–294, 2002.
- PEZZINI, B. R.; SILVA, M. A. S.; FERRAZ, H. G. **Formas farmacêuticas sólidas orais de liberação prolongada: sistemas monolíticos e multiparticulados**. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 43, n. 4, 2007.
- POHLMANN, A. R. et al. **Nanopartícula polimérica de finasterida e minoxidil, processo de sua preparação suspensão aquosa contendo a mesma, composição farmacêutica, e seu uso**. Patente BR102012022036-9 A2. UFRGS, 2012.
- POLYAK, B.; MEDVED, M.; LAZAREVA, N.; STEELE, L.; PATEL, T.; RAI, A.; ROTENBERG, M. Y.; WASKO, K.; KOHUT, A. R.; SENSENIG, R.; FRIEDMAN, G. **Magnetic Nanoparticle-Mediated Targeting of Cell Therapy Reduces In-Stent Stenosis in Injured Arteries**. *ACS Nano*, v. 10, n. 10, p. 9559–9569, 2016a.
- PRESS, D. **Effects of nanoparticle size on antitumor activity of 10-hydroxycamptothecin-conjugated gold nanoparticles: in vitro and in vivo studies**. *Int J Nanomedicine* 11, p. 929–940, 2016.
- PRIDGEN, E. M.; ALEXIS, F.; FAROKHZAD, O. C. **Polymeric nanoparticle drug delivery technologies for oral delivery applications**. *Expert Opinion on Drug Delivery*, v. 12, n. 9, p. 1459–1473, 2015.
- PUBCHEM. **Finasteride**. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/57363>>. Acesso em: 21 jun. 2018.
- PUPE, C. G.; DO CARMO, F. A.; DE SOUSA, V. P.; LOPES, M.; ABRAHIM-VIEIRA, B.; RIBEIRO, A. J.; VEIGA, F.; RODRIGUES, C. R.; PADULA, C.; SANTI, P.; CABRAL, L. M. **Development of a doxazosin and finasteride**

transdermal system for combination therapy of benign prostatic hyperplasia. Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 102, n. 11, p. 4057–4064, 2013.

RICCI-JÚNIOR, V. A. de M. E. **Encapsulation of naproxen in nanostructured system: structural characterization and in vitro release studies.** Quimica, v. 34, n. 6, p. 933–939, 2011.

ROQUE, L. V.; DIAS, I. S.; CRUZ, N.; REBELO, A.; ROBERTO, A.; RIJO, P.; REIS, C. P. **Design of Finasteride-Loaded Nanoparticles for Potential Treatment of Alopecia.** Skin Pharmacology and Physiology, v. 30, n. 4, p. 197–204, 2017.

SALAZAR, M. J. C. **Desenvolvimento de nanopartículas de quitosana-gelatina e quitosana-colágeno visando a liberação de fármacos.** USP, dissertação, 2015.

SANTANDER-ORTEGA, M. J.; CSABA, N.; ALONSO, M. J.; ORTEGA-VINUESA, J. L. **Stability and physicochemical characteristics of PLGA , PLGA : poloxamer and PLGA : poloxamine blend nanoparticles A comparative study.** Colloids Surf. A, v. 296, p. 132–140, 2007.

SANTOS, O.; LAURA, A.; SANTOS, A.; MARIA, O.; SANTOS, M.; LAURA, A.; SANTOS, A.; PEREIRA, G. R.; BONFILIO, R. **A Dissolution Test for Finasteride in Immediate- Release Capsules.** Dissolution Technologies, p.25, 2013.

SARITHA, A.; SHASTRI, N. **Preparation, Physico Chemical Characterization of Solid Dispersions of Tenoxicam with Poloxamer.** J Pharm Sci Technol 2, p. 308–311, 2010.

SATALKAR, P.; ELGER, B. S.; SHAW, D. M. **Defining Nano, Nanotechnology and Nanomedicine: Why Should It Matter?** Science and Engineering Ethics, v. 22, n. 5, p. 1255–1276, 2016.

SATHLER, P. C.; LOURENÇO, A. L.; RODRIGUES, C. R.; DA SILVA, L. C. R. P.; CABRAL, L. M.; JORDÃO, A. K.; CUNHA, A. C.; VIEIRA, M. C. B.; FERREIRA, V. F.; CARVALHO-PINTO, C. E.; KANG, H. C.; CASTRO, H. C. **In vitro and in vivo analysis of the antithrombotic and toxicological profile of new antiplatelets N-acylhydrazone derivatives and development of nanosystems: Determination of novel NAH derivatives antiplatelet and nanotechnological approach.** Thrombosis Research, v. 134, n. 2, p. 376–383, 2014.

SCHAFFAZICK, S. R.; GUTERRES, S. S.; DE LUCCA FREITAS, L.; POHLMANN, A. R. **Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos.** Quimica Nova, v. 26, n. 5, p. 726–737, 2003.

- SEGALL, A. I.; VITALE, M. F.; PEREZ, V. L.; PALACIOS, M. L.; PIZZORNO, M. T. **A Stability-Indicating Hplc Method to Determine Finasteride in a Tablet Formulation.** *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, v. 25, n. 20, p. 3167–3176, 1 dez. 2002.
- SHI, J.; KANTOFF, P. W.; WOOSTER, R.; FAROKHZAD, O. C. **Cancer nanomedicine: Progress, challenges and opportunities.** *Nature Reviews Cancer*, v. 17, n. 1, p. 20–37, 2017.
- SHRIVASTAVA, A.; GUPTA, V. **Various treatment options for benign prostatic hyperplasia: A current update.** *Journal of Mid-life Health*, v. 3, n. 1, p. 10, 2012.
- SHULAI LU, J. F. I. **Preparation and Characterization of Magnetic Polymeric Composite Particles by Miniemulsion Polymerization.** *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry*, v. 44, n. 13, p. 4187–4203, 2006.
- SOUTO, E. B.; SEVERINO, P.; SANTANA, M. H. A. **Preparação de nanopartículas poliméricas a partir de polímeros pré-formados: parte II.** *Polímeros*, v. 22, n. 1, p. 101–106, 2012.
- SOUZA, D. M.; ANDRADE, A. L.; FABRIS, J. D.; VALÉRIO, P.; GÓES, A. M.; LEITE, M. F.; DOMINGUES, R. Z. **Synthesis and in vitro evaluation of toxicity of silica-coated magnetite nanoparticles.** *Journal of Non-Crystalline Solids*, v. 354, n. 42–44, p. 4894–4897, 2008a.
- SOUZA, C. A. G. de; SIQUEIRA, S. M. C.; AMORIM, A. F. V. de; MORAIS, S. M. de; GONÇALVES, T.; GOMES, R. N.; CUNHA, A. P.; RICARDO, N. M. P. S. **Encapsulation of L-ascorbic acid within the natural biopolymer-galactomannan-using the spray-drying method: preparation, characterization, and evaluation of antioxidant activity.** *Quím. Nova* 38, 7, p. 877-883, 2015.
- TANCZOS, I.; POKOL, G.; BORSA, J.; TÓTH, T.; SCHMIDT, H. **The effect of tetramethylammonium hydroxide in comparison with the effect of sodium hydroxide on the slow pyrolysis of cellulose.** *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, v. 68–69, p. 173–185, 2003.
- TEBALDI, M. L.; ODA, C. M. R.; MONTEIRO, L. O. F.; DE BARROS, A. L. B.; SANTOS, C. J.; SOARES, D. C. F. **Biomedical nanoparticle carriers with combined thermal and magnetic response: Current preclinical investigations.** *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, v. 461, p. 116–127, 2018.
- TOGNOLO, A. C. T. **Funcionalização de nanopartículas superparamagnéticas com polímero termossensível para liberação controlada de fármaco e hipertermia magnética.** UNESP, dissertação, 2017.

- TOTH, K.; WENBY, R. B.; MEISELMAN, H. J. **Inhibition of polymer-induced red blood cell aggregation by poloxamer 188**. *Biorheology*, v. 37, n. 4, p. 301–12, 2000.
- TRISTÃO, J. C. **Materiais Nanoestruturados Magnéticos à Base de Ferro Recobertos por Carbono : Síntese , Caracterização e Aplicações**. UFMG, tese, 2010.
- TUKULULA, M.; HAYESHI, R.; FONTEH, P.; MEYER, D.; NDAMASE, A.; MADZIVA, M. T.; KHUMALO, V.; LUBUSCHAGNE, P.; NAICKER, B.; SWAI, H.; DUBE, A. **Curdlan-conjugated PLGA nanoparticles possess macrophage stimulant activity and drug delivery capabilities**. *Pharmaceutical Research*, v. 32, n. 8, p. 2713–2726, 2015.
- TUZIUTI, T.; YASUI, K.; IIDA, Y.; TAODA, H.; KODA, S. **Effect of particle addition on sonochemical reaction**. *Ultrasonics*, v. 42, n. 1–9, p. 597–601, 2004.
- USKOKOVIĆ, V. **Dynamic Light Scattering Based Microelectrophoresis: Main Prospects and Limitations**. *Journal of Dispersion Science and Technology*, v. 33, n. 12, p. 1762–1786, 1 dez. 2012.
- VENTURA, S.; OLIVER, V. L.; WHITE, C. W.; XIE, J. H.; HAYNES, J. M.; EXINTARIS, B. **Novel drug targets for the pharmacotherapy of benign prostatic hyperplasia (BPH)**. *British Journal of Pharmacology*, v. 163, n. 5, p. 891–907, 2011.
- VIEIRA, S.; VIAL, S.; REIS, R. L.; OLIVEIRA, J. M. **Nanoparticles for Bone Tissue Engineering**. *Biotechnology Progress*, v. 33, n. 3, p. 590–611, 2017.
- VYAS, V.; SANCHETI, P.; KAREKAR, P.; SHAH, M.; PORE, Y. **Physicochemical characterization of solid dispersion systems of tadalafil with poloxamer 407**. *Acta Pharmaceutica*, v. 59, n. 4, p. 453–461, 2009.
- WEI, Y.; CHEN, S.; LI, F.; LIU, K.; LIU, L. **Hybrids of silver nanowires and silica nanoparticles as morphology controlled conductive filler applied in flexible conductive nanocomposites**. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, v. 73, p. 195–203, 2015.
- WILLIFORD, J.-M.; SANTOS, J. L.; SHYAM, R.; MAO, H.-Q. **Shape Control in Engineering of Polymeric Nanoparticles for Therapeutic Delivery**. *Biomaterials Science*, v. 3, n. 7, p. 894–907, 2015.
- XIE, G.; ZHANG, Q.; LUO, Z.; WU, M.; LI, T. **Preparation and characterization of monodisperse magnetic poly(styrene butyl acrylate methacrylic acid) microspheres in the presence of a polar solvent**. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 87, n. 11, p. 1733–1738, 2003.

- XIE, Y.; LI, G.; YUAN, X.; CAI, Z.; RONG, R. **Preparation and in vitro evaluation of solid dispersions of total flavones of Hippophae rhamnoides L.** AAPS PharmSciTech, v. 10, n. 2, p. 631–640, 2009.
- YORDANOV, G.; SKROBANSKA, R.; PETKOVA, M. **Poly(butyl cyanoacrylate) nanoparticles stabilised with poloxamer 188: Particle size control and cytotoxic effects in cervical carcinoma (HeLa) cells.** Chemical Papers, v. 70, n. 3, p. 365–374, 2016.
- ZHANG, X.; NIU, H.; PAN, Y.; SHI, Y.; CAI, Y. **Chitosan-coated octadecyl-functionalized magnetite nanoparticles: preparation and application in extraction of trace pollutants from environmental water samples.** Anal Chem, v. 82, n. 6, p. 2363–2371, 2010.
- ZHOU, J.; GUO, D.; ZHANG, Y.; WU, W.; RAN, H.; WANG, Z. **Construction and evaluation of Fe₃O₄-based PLGA nanoparticles carrying rtPA used in the detection of thrombosis and in targeted thrombolysis.** ACS Applied Materials and Interfaces, v. 6, n. 8, p. 5566–5576, 2014.