

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS SAÚDE DE
PORTO ALEGRE UFCSPA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIAS

Estefany Carolina Ghisio

**Aplicação da nanotecnologia como
ferramenta de *drug delivery* no estudo de
terapias moleculares e farmacológicas para
do câncer de pele**

UFCSPA

Universidade Federal de Ciências da Saúde
de Porto Alegre

Porto Alegre
2022

Estefany Carolina Ghisio

**Aplicação da nanotecnologia como
ferramenta de *drug delivery* no estudo de
terapias moleculares e farmacológicas para
do câncer de pele**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biociências da Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre como requisito para a obtenção do grau de Mestre

Orientadora: Prof. Dra Márcia Rosângela Wink

Coorientadora: Dra Karina Paese

Porto Alegre
2022

FICHA CATALOGRÁFICA

Catálogo na Publicação

Ghisio, Estefany

Aplicação da nanotecnologia como ferramenta de drug delivery no estudo de terapias moleculares e farmacológicas para o câncer de pele / Estefany Ghisio. -- 2020.

81 p. : il., graf., tab. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) -- Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Programa de Pós-Graduação em BioCiências, 2020.

Orientador(a): Márcia Wink ; coorientador(a): Karina Paese.

1. Nanotecnologia. 2. Câncer de pele. 3. Drug delivery. I. Título.

INSTITUIÇÕES E FONTES FINANCIADORAS

Trabalho realizado no Laboratório de Biologia Celular, Laboratório 813 e Central Analítica da Universidade Federal de Ciências da Saúde de PortoAlegre (UFCSPA) e no Laboratório 405 da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Apoio financeiro de CAPES, PROCAD (158819); Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (Pronex 16/2551-0000473-0).

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre e Universidade Federal do Rio Grande do Sul pela oportunidade de realizar este trabalho.

Às professoras Márcia Wink, Karina Paese, Silvia Guterres, Adriana Pohlmann e Tanira Aguirre pelas incansáveis contribuições, pela disponibilidade, pela orientação, pelos ensinamentos e apoio impecável.

Aos meus pais por seu amor e apoio infinito em todos os momentos.

Aos meus amigos Caroline Rodrigues, Diâner Queiroz, Ana Zanella, Luiza Corral, Nicole Kovalski, Carolina Kalkmann, Otávio Soldatelli, Erika Petzhold e Camila Arbo por serem minha rede de apoio e carinho.

Ao meu amor e parceiro de todos os momentos Marcelo Martins.

Aos colegas do laboratório de biologia celular da UFCSPA e aos colegas do laboratório 405 da Faculdade de Farmácia da UFRGS por todo apoio e contribuição, em especial Iago Schultz, Jéssica Gonçalves, Laura Pozzobon, Carla Zanatelli, Lilitiana Naasani, Luiza Pretto, Samlai Vedovatto, Thaís Casagrande, Giselle Moraes, Alicce Reis, Ana Bertoni e Danielle Dallemole.

RESUMO

O câncer de pele é um dos tipos de câncer mais comuns e os tipos mais frequentes são o carcinoma escamoso, o carcinoma basocelular e o melanoma. Esta patologia ocorre através de um crescimento anormal das células da pele e se detectada precocemente pode ser tratada de forma eficaz. Apesar da melhora nos desfechos dos pacientes, aumentando as taxas de sobrevida global, os tratamentos apresentam algumas particularidades, como respostas diferenciadas em diferentes tipos de tumor e aquisição de resistência ao tratamento pelo paciente e alguns efeitos adversos. Dessa forma, a nanotecnologia se apresenta como uma alternativa visando o aprimoramento dos tratamentos antitumorais. Esta abordagem pode aumentar a biodisponibilidade das moléculas terapêuticas em alvos específicos reduzindo os efeitos adversos do tratamento resultando em uma maior eficácia terapêutica. O objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão na literatura acerca da utilização da nanotecnologia associada a diferentes terapias e aplicadas no câncer de pele. Além disso, esse trabalho teve como objetivo desenvolver uma nanopartícula polimérica de Eudragit® RS 100 com estabilidade eletrostática. Acerca da revisão de trabalhos que utilizaram a nanotecnologia como ferramenta de drug delivery para tratamento de câncer de pele, os resultados encontrados apresentaram resultados promissores de inibição da disseminação tumoral, redução de taxas de metástases e melhora na taxa de sobrevida global nos experimentos *in vivo*. Enquanto isso, no objetivo experimental dessa dissertação, obteve-se uma nanocápsula polimérica com resultados com características monomodais e homogêneas indicando um potencial veículo farmacológico promissor quando associado a novos agentes terapêuticos ou a dacarbazina, no entanto necessitando de mais testes para demonstrar seu potencial uso.

Palavras chave: Câncer de pele; melanoma; drug delivery; nanotecnologia; nanopartículas poliméricas;

ABSTRACT

Skin cancer is one of the most common types of cancer and the most common types are squamous cell carcinoma, basal cell carcinoma and melanoma. This pathology occurs through an abnormal growth of skin cells and if detected early it can be treated effectively. Despite the improvement in patient outcomes, increasing overall survival rates, the treatments have some particularities, such as differentiated responses in different types of tumor and acquisition of resistance to treatment by the patient and some adverse effects. In this way, nanotechnology presents itself as an alternative aimed at improving antitumor treatments. This approach can increase the bioavailability of therapeutic molecules on specific targets, reducing the adverse effects of treatment resulting in greater therapeutic efficacy. The objective of this work was to review the literature on the use of nanotechnology associated with different therapies and applied to skin cancer. Furthermore, this work aimed to develop a polymeric nanoparticle of Eudragit® RS 100 with electrostatic stability. Regarding the review of studies that used nanotechnology as a drug delivery tool for the treatment of skin cancer, the results found showed promising results in inhibiting tumor dissemination, reducing metastases rates and improving the overall survival rate in in vivo experiments. Meanwhile, in the experimental objective of this dissertation, a polymeric nanocapsule was obtained with results with monomodal and homogeneous characteristics indicating a promising potential pharmacological vehicle when associated with new therapeutic agents or dacarbazine, however requiring further tests to demonstrate its potential use. Key words: skin cancer; melanoma; drug delivery; nanotechnology; polymeric nanoparticles

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Demonstração das camadas da pele epiderme, derme e tecido subcutâneo e a localização das células escamosas e basais. Adaptado de Terese Winslow (2019)	12
Figura 2: Extensão vertical do tumor primário, segundo a classificação TNM, no qual em T1 a lesão possui menos de 0,5mm, em T2 até 2mm, em T3 até 2,5mm e T4 acometendo todas as camadas da pele atingindo 4mm. Fonte: NCCN (2011).....	13
Figura 3: Demonstração das camadas da pele epiderme e derme, da localização dos melanócitos (células produtoras do pigmento protetor melanina, localizadas na camada basal da epiderme). Fonte: Adaptado de Sociedade Americana de Câncer (2016).....	14
Figura 4: Avaliação da viabilidade celular da linhagem MRC5 perante ao tratamento com a nanoformulação sem polissorbato 80 (NC) de $2,6 \times 10^9$ a $2,08 \times 10^{10}$ partículas sem significância estatística. (N=3).....	30
Figura 5: Avaliação da viabilidade celular da linhagem células mesenquimas primária (MSC) perante e linhagem de queratinócitos (HaCaT) ao tratamento com a nanoformulação sem polissorbato 80 (NC) de $2,6 \times 10^9$ a $2,08 \times 10^{10}$ partículas sem significância estatística. (N=3).....	31
Figura 6: Validação do método analítico por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção no ultravioleta (CLAE-UV) de linearidade (A) e especificidade (B) para caracterização da presença do PBZ 1 na amostra(N=3).	33
Figura 7: Validação do método analítico por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção no ultravioleta (CLAE-UV) de linearidade para detecção da dacarbazina (N=3).....	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Caracterização das nanopartículas poliméricas associadas ao PBZ 1 (NC-PBZ-1).....	32
Tabela 2: Exatidão da formulação de dacarbazina associada a nanocápsulas poliméricas.....	34
Tabela 3: Precisão da formulação de dacarbazina associada a nanocápsulas poliméricas.....	34

SUMÁRIO

1 REFERENCIAL TEÓRICO	11
1.1 Câncer de pele não Melanoma.....	11
1.1.1 Diagnóstico.....	12
1.1.2 Estratégias Terapêuticas	13
1.2 Câncer de pele Melanoma.....	14
1.2.1 Estratégias Terapêuticas	15
1.3 Nanotecnologia aplicada aos distúrbios de pele.....	16
2 JUSTIFICATIVA	18
3 OBJETIVOS	19
3.1 Objetivo Geral.....	19
3.2 Objetivos Específicos	19
4 ARTIGO DE REVISÃO (MANUSCRITO EM PREPARO).....	20
5 ARTIGO DE DADOS (MANUSCRITO EM PREPARO).....	20
6 DISCUSSÃO E RESULTADOS PRELIMINARES	21
6.1 Elaboração das Nanocápsulas a partir da literatura	21
6.2 Nanopartículas Promissoras.....	21
6.3 Nanocápsulas poliméricas associadas a novos compostos Anti-Tumorais	21
6.4 Dacarbazina associada à Nanocápsulas Poliméricas.....	21
7 PERSPECTIVAS	22
8 CONCLUSÃO.....	23
REFERÊNCIAS	24
ANEXOS.....	28
Anexo I	28
Anexo II – Lattes do aluno	29
Anexo III – Artigo de revisão em preparo	30

1 REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 Câncer de pele não Melanoma

Conceitualmente, o câncer é um grupo de doenças onde se tem um crescimento descontrolado de algumas células anormais, que, caso não tenha um controle efetivo de sua propagação, pode acarretar à morte. O câncer de pele não melanoma, dentre os tipos de câncer, representa mais de um milhão (5,8%) de novos casos e 65 mil mortes (0,7%) no mundo (SUNG *et al.*, 2021). No Brasil, esse tipo de câncer representa uma parcela de cerca de 30% de todos os tumores identificados e segundo dados publicados, 176.930 novos casos e 2.616 mortes foram registradas em 2019 (FERLAY *et al.*, 2019). Dessa forma, apesar da maior incidência do câncer de pele não melanoma, há uma menor mortalidade devido ao seu alto potencial de cura, quando detectado e tratado precocemente.

O diagnóstico do câncer de pele é realizado através de análise histopatológica da lesão e pode ser subclassificado de acordo com características específicas. Os subtipos mais frequentes são o carcinoma basocelular e o carcinoma epidermóide, ambos originados de células basais ou escamosas da epiderme da pele. O câncer de pele basocelular é o mais incidente e com desenvolvimento lento, e majoritariamente, na face, cabeça e pescoço (MITCHELL TC, KARAKOUSIS G, 2020) (Figura 1).

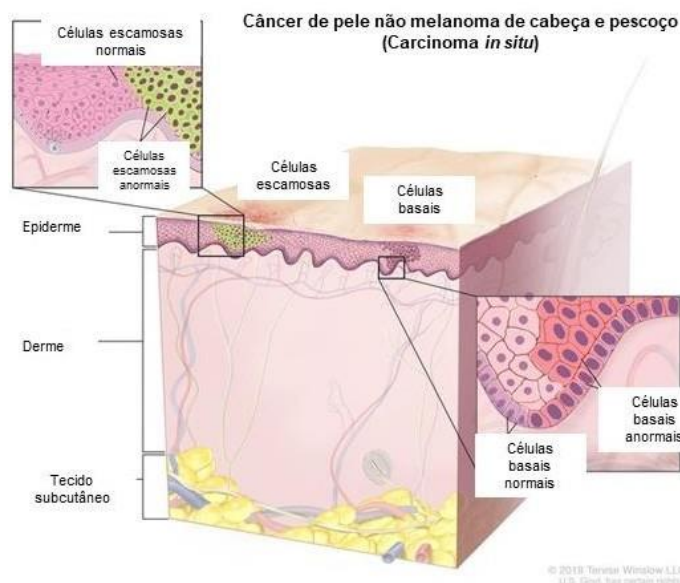


Figura 1: Demonstração das camadas da pele epiderme, derme e tecido subcutâneo e a localização das células escamosas e basais. Adaptado de Terese Winslow (2019)

1.1.1 Diagnóstico

Inicialmente, o médico responsável deve realizar a anamnese adequada examinando a superfície de pele de forma detalhada utilizando, para isto, as regras denominadas, “ABCDE”. Essa regra se baseia em: (A) Assimetria da lesão, (B) Bordas irregulares, (C) Coloração variável (vários tons de marrom, preto, cinza, branco, vermelho ou azul), (D) Diâmetro maior ou igual a 6 mm e (E) Evolução, na qual uma lesão que está mudando de forma, cor, tamanho ou o surgimento de novas lesões (KITTLER, 2021). Juntamente a essa análise, o histórico clínico completo do paciente é avaliado para observar outras lesões e fatores de risco que o indivíduo possa estar exposto. A lesão deve ser avaliada pela técnica de dermatoscopia. Esta técnica utiliza uma luz polarizada cruzada para evidenciar algumas características importantes no diagnóstico do câncer de pele, indispensáveis para que o dermatologista possa determinar se a lesão é passível de biópsia excisional (YOUNG et al., 2021). O diagnóstico definitivo é feito pela biópsia e análise histopatológica, pois são necessários para a confirmação a presença de atipias melanocíticas e desarranjo da arquitetura do tecido (ELMORE et al., 2017).

O estadiamento TNM, o T refere-se ao tamanho do tumor e disseminação, sendo que, no melanoma, os principais pontos avaliados são a espessura do tumor (medida de Breslow, quanto menor, melhor o prognóstico), o índice mitótico e a ulceração

(Figura 2). O N indica se há disseminação linfonodal ou metástase em trânsito e o M se existe metástase para outros órgãos (BRESLOW, 1970; DICKSON; GERSHENWALD, 2011).

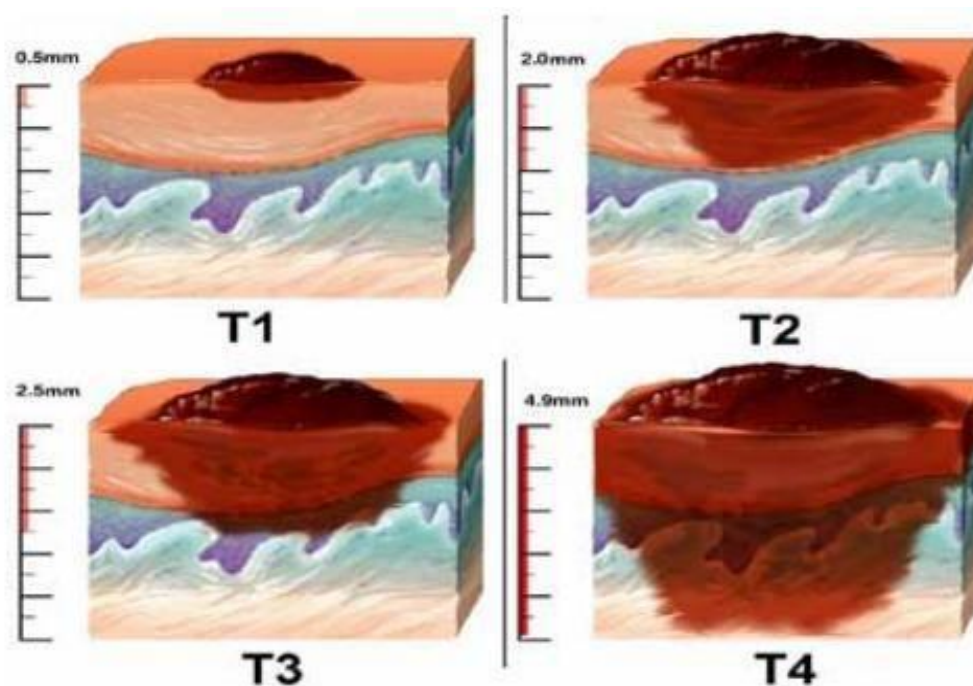


Figura 2: Extensão vertical do tumor primário, segundo a classificação TNM, no qual em T1 a lesão possui menos de 0,5mm, em T2 até 2mm, em T3 até 2,5mm e T4 acometendo todas as camadas da pele atingindo 4mm. Fonte: NCCN (2011).

1.1.2 Estratégias Terapêuticas

Após a realização do diagnóstico por um médico, a primeira linha de tratamento disponível para o câncer de pele não melanoma é a ressecção cirúrgica das lesões. A excisão cirúrgica proporciona um prognóstico favorável ao paciente, possuindo taxas de cura de aproximadamente 90%. Para os pacientes não elegíveis à excisão, deve-se considerar inicialmente o tratamento utilizando radioterapia (FANIA *et al.*, 2021).

Nos tumores provenientes de células escamosas, além da radioterapia, há a opção de quimioterapia com o uso de cisplatina com 5-fluoracil e carboplatina ou outros tratamentos atualmente avaliados em ensaios clínicos. Ainda, em certos casos, pode-se utilizar imunoterápicos inibidores de receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) como cetuximab. (COMBALIA; CARRERA, 2020; FANIA *et al.*, 2021).

Nos tumores provenientes de células basais, quando há a necessidade de

terapias sistêmicas as opções disponíveis incluem inibidores da via hedgehog de diferenciação celular como vismodegib, sonidegib para lesões que não são acessíveis para cirurgia ou radioterapia e cemiplomab (BASSET-SEGUIN; HERMS, 2020).

1.2 Câncer de pele Melanoma

O melanoma é responsável por apenas 3% dos cânceres de pele e é considerado um problema de saúde pública devido à sua alta mortalidade nos pacientes acometidos. Tal mortalidade é devido à alta taxa de formação de metástases nos pacientes e, principalmente, pela resistência às terapias atualmente disponíveis (INCA, 2020).

O câncer de pele melanoma tem origem nos melanócitos, células que produzem melanina, localizadas em meio às células basais da epiderme (Figura 3), e assim o tumor pode aparecer em qualquer parte da pele ou mucosas. Essa patologia tende a ser mais frequente em adultos caucasianos, principalmente devido à sua fotoproteção reduzida em decorrência da menor produção de melanina. Também, unindo o grau de fotoproteção dos indivíduos, o histórico de exposição prolongada e repetida aos raios ultravioleta e histórico, familiar ou pessoal, de câncer são fatores de risco para o aparecimento do melanoma (Brenner et al, 2008; Chao et al, 2017; Padovese et al, 2017).

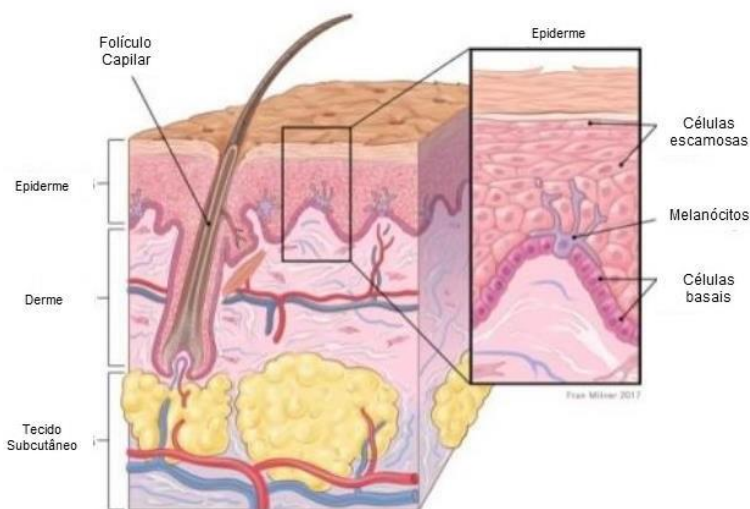


Figura 3: Demonstração das camadas da pele epiderme e derme, da localização dos melanócitos (células produtoras do pigmento protetor melanina, localizadas na camada basal da epiderme). Fonte: Adaptado de Sociedade Americana de Câncer (2016).

De acordo com o Instituto Nacional de Câncer, os dados para 2020 de novos casos de câncer de pele do tipo melanoma, no Brasil, ficaram em torno de 8.450 casos, sendo que 4.200 em homens e 4.250 em mulheres (Ministério da Saúde, 2020). Dentre o número de óbitos por causa do melanoma, foram de 1.978 em 2019, sendo 1.159 em homens (Atlas de Mortalidade por Câncer – SIM, 2019). Em 2016, 1.773 pessoas morreram no Brasil dessa doença, correspondendo a um índice de mortalidade de 0,66 em cada 100.000 habitantes (Ministério da Saúde do Brasil, 2018).

Em 2021, houve 101.280 novos casos de melanoma *in situ* e com probabilidade de se desenvolver para forma invasiva, principalmente em homens, com a probabilidade de 1 para cada 27, em relação às mulheres, com chances de 1 em 40 (SUNG *et al.*, 2021). Entre todos os tipos de câncer, o melanoma é o mais agressivo e possui o pior prognóstico, devido a altas taxas potencial de metástase e resistência dos tratamentos disponíveis, conseqüentemente tendo uma alta taxa de mortalidade (VANNI *et al.*, 2020).

1.2.1 Estratégias Terapêuticas

O tratamento para melanoma é definido após a confirmação histopatológica e o estadiamento patológico do tumor (SCHADENDORF, D., FISHER, D., GARBE, 2015). As opções terapêuticas podem ser a excisão cirúrgica, quimioterapia, radioterapia, terapia fotodinâmica (PDT), imunoterapia e terapia alvo. Para pacientes de estadiamento I-IIIb, a ressecção cirúrgica é o tratamento primário, na qual o tamanho da excisão varia de acordo com a classificação do tumor (DOMINGUES *et al.*, 2018). Já nas opções farmacológicas, ocorrem eventos adversos como toxicidade gastrointestinal e reações imunes, além de apresentarem eficiência reduzida em certos casos, o que pode acarretar resistência perante as terapias (PASQUALI *et al.*, 2018; VAN ZEIJL *et al.*, 2017).

A quimioterapia é uma opção para os casos mais avançados, como estadiamento IV, os quais a ressecção cirúrgica não é mais possível. Atualmente, a imunoterapia é o padrão ouro, ou primeira linha de tratamento utilizada para os casos metastáticos ou tumores irresssecáveis. Pembrolizumab e Nivolumab são estratégias de monoterapia que utilizam anti-PD1, inibidores da proteína PD-1, proteína na qual

reconhece as células tumorais. O anti-PD1 impede a interação entre o PD-1 da superfície do linfócito com o PD-L1 da superfície da célula tumoral.

A mutação BRAF V600E é encontrada em aproximadamente 60% dos pacientes com e para esses casos há também as combinações alvo de agentes inibidores de quinase como as combinações de Vemurafenib/coimetinib e Encorafenib/binimetinib e Debrafanib/trematinib (TATE *et al.*, 2019; VANNI *et al.*, 2020).

1.3 Nanotecnologia aplicada aos distúrbios de pele

Nas últimas décadas, o uso da nanotecnologia para tratamento e diagnóstico de doenças ganhou espaço em aplicações biomédicas (EL-SAYED; KAMEL, 2020). Uma das vantagens da conexão entre a nanotecnologia e as ciências biomédicas é o *drug delivery*, que tem como objetivo, o desenvolvimento de estratégias para maior eficácia de agentes terapêuticos, a melhoria da segurança e biodisponibilidade desses fármacos em alvos específicos e redução de efeitos adversos nos pacientes (COIT *et al.*, 2019; GHEIBI HAYAT; DARROUDI, 2019).

Os nanomateriais são elementos com dimensões de cerca de 1×10^{-9} metros, ou seja, são partículas muito pequenas, sendo classificadas devido a características específicas. As nanopartículas são partículas sintéticas, que apresentam diâmetro na escala nanométrica, produzidas com polímeros, lipídios e metais com características físico-químicas específicas. Como exemplos temos os lipossomas, as nanopartículas lipídicas sólidas, micelas, nanoesferas, nanocápsulas, entre outras estruturas utilizadas para o *drug delivery* (MARCATO; DURÁN, 2008; ZHU; LIAO, 2015).

Essas nanopartículas podem modificar as propriedades farmacocinéticas das substâncias carregadas em seu interior e, por consequência, podem aumentar o direcionamento do fármaco para as células tumorais de forma específica e eficiente (GOLDBERG, 2015). Na administração tópica cutânea, as nanopartículas possuem benefícios terapêuticos devido à facilidade de penetração nas barreiras da pele, assim a ação de agentes terapêuticos é facilitada, reduzindo efeitos adversos, devido a velocidade de liberação controlada e ao direcionamento dos agentes químicos (ASLAN *et al.*, 2013). Além disso, as nanopartículas promovem a permanência da formulação na pele por muitas horas e previnem a degradação dos fármacos encapsulados (ALEXIS *et al.*, 2008). Por isso, visando melhorar a eficácia terapêutica e aumentar a captação das nanopartículas pelas células, tem-se estudado a

associação de peptídeos, anticorpos e moléculas pequenas na superfície das nanopartículas ocasionando o direcionamento ativo dessas nanoestruturas para o tratamento de células específicas, uma estratégia conhecida no desenvolvimento de nanovacinas (GHEIBI HAYAT; DARROUDI, 2019; GU et al., 2007). As nanovacinas são uma nova geração de vacinas que utilizam nanopartículas (NPs) como carreadores e/ou adjuvantes, pois devido ao tamanho semelhante entre as NPs e os patógenos, o sistema imunológico pode ser bem estimulado, resultando em respostas imunes celulares e humorais desencadeadas (GHEIBI HAYAT; DARROUDI, 2019).

Atualmente, no entanto, são limitados os recursos terapêuticos que envolvam nanopartículas já aprovados pelas agências regulatórias. De forma mais recente no mundo, os avanços na nanotecnologia se apresentaram na forma de testes rápidos de diagnóstico e, talvez mais importante, em vacinas desenvolvidas rapidamente contra o SARS-CoV-2 (SALAMANCA- BUENTELLO; DAAR, 2021). Já se tratando de câncer, os primeiros medicamentos contra o câncer, baseados em nanotecnologia, são o Abraxane® (aprovado em 2005) com Paclitaxel e albumina associado indicado para tratamento de câncer de mama, pancreático e pulmão, e o Doxil® (aprovado em 2007) contendo doxorubicina para tratamento de câncer de ovário, câncer de mama, mieloma múltiplo e sarcoma de Kaposi (WICKI et al., 2015).

2 JUSTIFICATIVA

O câncer de pele possui alta incidência e dependendo do subtipo possui também uma alta mortalidade. Embora já existam novas terapias direcionadas a alvos e imunoterapia, muitos pacientes não respondem ou tornam-se resistentes a esses tratamentos, ou ainda há um nicho populacional muito grande que não se beneficia. Portanto, se houvesse uma alternativa que garantisse uma melhor eficácia, com menos efeitos adversos e uma terapia mais direcionada, especialmente para melanoma, mais pacientes poderiam ser beneficiados com o tratamento. Visando isto, esse trabalho buscou unir os benefícios que a nanotecnologia traz para o *delivery* de fármacos, bem como os efeitos que um fármaco já conhecido e utilizado proporciona, de forma a oportunizar uma alternativa mais eficiente e menos tóxica aos pacientes com melanoma. Como proposta, a nanopartícula polimérica desenvolvida no trabalho apresentou potencial zeta positivo, o que a tornará promissora para administração pela via tópica cutânea, devido a interação com as cargas residuais negativas presentes na superfície da pele e, conseqüente, aumento do tempo de permanência do fármaco na pele.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Revisar o uso de nanotecnologia para tratamento de câncer de pele, e desenvolver e caracterizar físico-quimicamente substâncias anti-tumorais em solução e nanoencapsulada para tratamento de melanoma.

3.2 Objetivos Específicos

- Realizar uma revisão sistemática e identificar as diferentes estratégias de uso da nanotecnologia em relação ao tratamento do câncer de pele;
- Desenvolver suspensões de nanocápsulas poliméricas de Eudragit® RS100, sem revestimento com polissorbato 80, contendo dacarbazina ou pirimidobenzimidazóis 1 e 4;
- Validar o método analítico por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção UV para a quantificação dos pirimidobenzimidazóis e dacarbazina nanoencapsulada e livre;
- Caracterizar físico-quimicamente as formulações quanto ao diâmetro médio, índice de polidispersão, potencial zeta, número de partículas por mL, pH, teor de fármaco, eficiência de encapsulação e morfologia.

4 ARTIGO DE REVISÃO (MANUSCRITO EM PREPARO)

Anexo III

5 ARTIGO DE DADOS (MANUSCRITO EM PREPARO)

6 DISCUSSÃO E RESULTADOS PRELIMINARES

6.1 Elaboração das Nanocápsulas a partir da literatura

6.2 Nanopartículas Promissoras

6.3 Nanocápsulas poliméricas associadas a novos compostos Anti-Tumorais

6.4 Dacarbazina associada à Nanocápsulas Poliméricas

7 PERSPECTIVAS

A formulação de nanocápsulas poliméricas propostas, tendo como material estruturante o Eudragit® RS 100 e sem o revestimento com polissorbato 80, demonstrou-se um veículo para *drug delivery* promissor, oferecendo características físico-químicas adequadas e estabilidade. Dessa forma, após os estudos iniciais com essa estrutura inovadora, temos como perspectiva finalizar a caracterização físico-química, validação do método analítico para quantificação da dacarbazina associada às nanocápsulas, realizar novas extrações de células primárias, como melanócitos, para avaliar a citotoxicidade das nanocápsulas poliméricas. Ademais, analisaremos a estabilidade da nanoformulação contendo o fármaco, realizaremos testes de lavabilidade, permeação cutânea e liberação *in vitro*.

8 CONCLUSÃO

Baseado na busca na literatura, foram encontrados resultados com diversas estratégias, utilizando diferentes vias e formas de administração, tecnologias e tipos de tratamentos. Assim, a estratégia de utilização da nanotecnologia para possíveis terapêuticas tem se mostrado um caminho promissor para melhorar a eficácia dos tratamentos para câncer de pele. No entanto, se tratando de estudos clínicos, ainda há uma quantidade muito pequena. Isso demonstra que os estudos, apesar de promissores, são muito iniciais e não chegaram em sua maioria na aplicabilidade e utilização do estudo em humanos.

Neste trabalho desenvolveu-se uma formulação nanotecnológica inovadora por meio da produção de nanocápsulas poliméricas de Eudragit® RS 100, sem revestimento com polissorbatato 80. A metodologia foi de produção adaptada e validada conforme recomendações internacionais, assim a partir da retirada do tensoativo da superfície das nanocápsulas, se obteve formulações com distribuição de diâmetro monomodal e homogêneo com mecanismo de estabilização física provavelmente associado a repulsão eletrostática como demonstrado no manuscrito de dados em preparo.

Novas hipóteses foram geradas com o objetivo de associar um fármaco a essa nanoestrutura e para produzir um novo veículo de administração. Foram testadas novas substâncias com potenciais antitumorais para melanoma como o PBZ 1 e o quimioterápico dacarbazina.

As nanocápsulas desenvolvidas possuem potencial para serem exploradas em uma série de associações, uma vez que apresentam propriedades físico-químicas interessantes e reprodutíveis. Dessa forma, fica visto mais uma vez a natureza versátil das nanopartículas e sua capacidade de ser reinventada, permitindo abordagens que sejam otimizadas a cada contexto clínico, gerando a cada nova descoberta, resultados de maior excelência.

REFERÊNCIAS

ALEXIS, Frank *et al.* Factors affecting the clearance and biodistribution of polymeric nanoparticles. **Molecular pharmaceutics**, [s. l.], v. 5, n. 4, p. 505–515, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/mp800051m>

ASLAN, Burcu *et al.* Nanotechnology in cancer therapy. **Journal of drug targeting**, [s. l.], v. 21, n. 10, p. 904–913, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.3109/1061186X.2013.837469>

BASSET-SEGUIN, Nicole; HERMS, Florian. Update in the Management of Basal Cell Carcinoma. **Acta dermato-venereologica**, Sweden, v. 100, n. 11, p. adv00140, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.2340/00015555-3495>

BAZAK, Remon *et al.* Cancer active targeting by nanoparticles: a comprehensive review of literature. **Journal of cancer research and clinical oncology**, [s. l.], v. 141, n. 5, p. 769–784, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00432-014-1767-3>

COIT, Daniel G *et al.* Cutaneous Melanoma, Version 2.2019, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. **Journal of the National Comprehensive Cancer Network J Natl Compr Canc Netw**, Huntington NY, USA, v. 17, n. 4, p. 367–402, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.6004/jnccn.2019.0018>

COMBALIA, Andrea; CARRERA, Cristina. Squamous Cell Carcinoma: An Update on Diagnosis and Treatment. **Dermatology practical & conceptual**, [s. l.], v. 10, n. 3, p. e2020066, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.5826/dpc.1003a66>

CONTRI, Renata V *et al.* Simultaneous control of capsaicinoids release from polymeric nanocapsules. **Journal of nanoscience and nanotechnology**, United States, v. 11, n. 3, p. 2398–2406, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1166/jnn.2011.3521>

CONTRI, Renata V *et al.* The use of nanoencapsulation to decrease human skin irritation caused by capsaicinoids. **International journal of nanomedicine**, [s. l.], v. 9, p. 951–962, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.2147/IJN.S56579>

DI PRIMA, Giulia; CONIGLIARO, Alice; DE CARO, Viviana. Mucoadhesive Polymeric Films to Enhance Barbaloin Penetration Into Buccal Mucosa: a Novel Approach to Chemoprevention. **AAPS PharmSciTech**, United States, v. 20, n. 1, p. 18, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1208/s12249-018-1202-1>

DOMINGUES, Beatriz *et al.* Melanoma treatment in review. **ImmunoTargets and therapy**, [s. l.], v. 7, p. 35–49, 2018. Disponível em:

<https://doi.org/10.2147/ITT.S134842>

EL-SAYED, Amr; KAMEL, Mohamed. Advances in nanomedical applications: diagnostic, therapeutic, immunization, and vaccine production. **Environmental Science and Pollution Research**, [s. l.], v. 27, n. 16, p. 19200–19213, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06459-2>

FANIA, Luca et al. Cutaneous Squamous Cell Carcinoma: From Pathophysiology to Novel Therapeutic Approaches. **Biomedicines**, [s. l.], v. 9, n. 2, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/biomedicines9020171>

FERLAY, J *et al.* Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. **International Journal of Cancer**, [s. l.], v.144, n. 8, p. 1941–1953, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ijc.31937>

FRANK, Luiza A *et al.* Chitosan gel containing polymeric nanocapsules: a new formulation for vaginal drug delivery. **International journal of nanomedicine**, [s. l.], v. 9, p. 3151–3161, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.2147/IJN.S62599>

GHEIBI HAYAT, Seyed Mohammad; DARROUDI, Majid. Nanovaccine: A novel approach in immunization. **Journal of cellular physiology**, United States, v. 234, n. 8, p. 12530–12536, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jcp.28120>

GOLDBERG, Michael S. Immunoengineering: how nanotechnology can enhance cancer immunotherapy. **Cell**, United States, v. 161, n. 2, p. 201–204, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.03.037>

GU, Frank X *et al.* Targeted nanoparticles for cancer therapy. **Nano Today**, [s. l.], v. 2, n. 3, p. 14–21, 2007. Disponível em: [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1748-0132\(07\)70083-X](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1748-0132(07)70083-X)

HAFEEZ, Abdul; KAZMI, Imran. Dacarbazine nanoparticle topical delivery system for the treatment of melanoma. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 16517, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-16878-1>

HOU, Xiaoyang *et al.* Core-shell type thermo-nanoparticles loaded with temozolomide combined with photothermal therapy in melanoma cells. **Oncol Rep**, Department of Dermatology, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou, Jiangsu 221002, P.R. China Department of Dermatology, The Affiliated Huai'an Hospital of Xuzhou Medical University, The Second People's Hospital of Huai'an, Huai'an, Jian, v. 42, n. 6, p. 2512–2520, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3892/or.2019.7329>

JOSHI, Meenakshi. ROLE OF EUDRAGIT IN TARGETED DRUG DELIVERY. *In:* , 2013. **Anais [...]**. [S. l.: s. n.], 2013.

KIM, Christina *et al.* Long-term survival in patients with metastatic melanoma treated with DTIC or temozolomide. **The oncologist**, [s. l.], v. 15, n. 7, p. 765—771, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2009-0237>

KITTLER, Harald. Evolution of the Clinical, Dermoscopic and Pathologic Diagnosis of Melanoma. **Dermatology practical & conceptual**, [s. l.], v. 11, n. Suppl1, p. e2021163S-21163S, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.5826/dpc.11S1a163>

LIU, Qianqian *et al.* Dacarbazine-Loaded Hollow Mesoporous Silica Nanoparticles Grafted with Folic Acid for Enhancing Antimetastatic Melanoma Response. *ACS applied materials & interfaces*, United States, v. 9, n. 26, p. 21673—21687, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acsami.7b05278> MARCATO, Priscyla D; DURÁN, Nelson. New aspects of nanopharmaceutical delivery systems. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, United States, v. 8, n. 5, p. 2216—2229, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1166/jnn.2008.274>

MITCHELL TC, KARAKOUSIS G, Schuchter L. *Abeloff's Clinical Oncology*. 6. ed. [S. l.]: Elsevier, 2020.

NIKAM, Vikrant K *et al.* Eudragit a versatile polymer: a review. *Pharmacologyonline*, [s. l.], v. 1, n. 5, p. 152—164, 2011.

PASQUALI, Sandro *et al.* Systemic treatments for metastatic cutaneous melanoma. **The Cochrane database of systematic reviews**, [s. l.], v. 2, n. 2, p. CD011123, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/14651858.CD011123.pub2>

QIN, Tang *et al.* Nanosuspension as an Efficient Carrier for Improved Ocular Permeation of Voriconazole. **Current pharmaceutical biotechnology**, Netherlands, v. 22, n. 2, p. 245—253, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/1389201021999200820154918>

SALAMANCA-BUENTELLO, Fabio; DAAR, Abdallah S. Nanotechnology, equity and global health. **Nature Nanotechnology**, [s. l.], v. 16, n. 4, p. 358—361, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41565-021-00899-z>

SCHADENDORF, D., FISHER, D., GARBE, C. *et al.* Melanoma. **Nature Reviews Disease Primers**, [s. l.], v. 1, n. 1, p. 15055, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.55>

SUNG, Hyuna *et al.* Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, [s. l.], v. n/a, n. n/a, 2021. Disponível em: <https://doi.org/https://doi.org/10.3322/caac.21660>

TATE, John G *et al.* COSMIC: the Catalogue Of Somatic Mutations In Cancer. **Nucleic acids research**, [s. l.], v. 47, n. D1, p. D941–D947, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/nar/gky1015>

VAN ZEIJL, M C T *et al.* (Neo)adjuvant systemic therapy for melanoma. **European journal of surgical oncology : the journal of the European Society of Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology**, England, v. 43, n. 3, p. 534–543, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2016.07.001>

VANNI, Irene *et al.* The Current State of Molecular Testing in the BRAF-Mutated Melanoma Landscape. **Frontiers in molecular biosciences**, [s. l.], v.7, p. 113, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmolb.2020.00113>

WICKI, Andreas *et al.* Nanomedicine in cancer therapy: challenges, opportunities, and clinical applications. **Journal of controlled release: official journal of the Controlled Release Society**, Netherlands, v. 200, p. 138–157, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.12.030>

ZANATTA, Nilo *et al.* Convergent synthesis and cruzain inhibitory activity of novel 2-(N'-benzylidenehydrazino)-4-trifluoromethyl-pyrimidines. **Bioorganic & medicinal chemistry**, England, v. 16, n. 24, p. 10236–10243, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2008.10.052>

ZHU, Yuanyuan; LIAO, Lianming. Applications of Nanoparticles for Anticancer Drug Delivery: A Review. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, [s. l.], v. 15, p. 4753–4773, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1166/jnn.2015>

ANEXOS

Anexo I

Normas da Revista

Seguindo as recomendações da coordenação do PPG - Biociências, optou-se por inserir apenas o link para as normas online da revista (Guia para Autores).

<https://www.elsevier.com/journals/advanced-drug-delivery-reviews/0169-409X/guide-for-authors>

Anexo II – Lattes do aluno

LATTES DO ALUNO



Estefany Carolina Ghisio

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/3795010885395346>

ID Lattes: 3795010885395346

Última atualização do currículo em 10/03/2022

Biomédica pela Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSA) habilitada em Farmacologia, Patologia Clínica (Análises Clínicas) e Biologia Molecular. Especialista em Análises Clínicas pela UFRGS e Mestrado em andamento no Programa de Pós Graduação em Biociências da UFCSA, atuando na linha de pesquisa de desenvolvimento de nanoformulações para aplicações farmacológicas em melanoma. Trabalhou como Assistente de Pesquisa e Coordenadora Não Cega no Escritório de Projetos e Parcerias Estratégicas do Centro de Pesquisa Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre em estudos clínicos de Infectologia e Pneumologia. Atualmente é Site Management Coordinator na IQVIA. (Texto informado pelo autor)

Identificação

Nome	Estefany Carolina Ghisio
Nome em citações bibliográficas	GHISIO, E. C.
Lattes ID	http://lattes.cnpq.br/3795010885395346

Endereço

Endereço Profissional	Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Laboratório de Biologia Celular. Rua Sarmento Leite Centro Histórico 90050170 - Porto Alegre, RS - Brasil Telefone: (51) 33039000
------------------------------	---

Formação acadêmica/titulação

2019	Mestrado em andamento em BIOCÊNCIAS (Conceito CAPES 4). Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, UFCSA, Brasil. Orientador: Márcia Rosângela Wink. Coorientador: Karina Paese.
2018 - 2020	Especialização em Análises Clínicas. (Carga Horária: 450h). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Brasil. Título: NANOTECHNOLOGY-BASED DRUG DELIVERY SYSTEMS ASSOCIATED WITH IMMUNOTHERAPY AS A STRATEGY TO TREAT SKIN MELANOMA.
2015 - 2018	Graduação em Biomedicina. Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, UFCSA, Brasil. Título: CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DE DUAS NOVAS NANOFORMULAÇÕES EM LINHAGEM DE FIBROBLASTO HUMANO (MRC5) E EM LINHAGEM DE MELANOMA HUMANO (SK-MEL-103). Orientador: Márcia Rosângela Wink.

Formação Complementar

2021 - 2021	Good Clinical Practice. (Carga horária: 6h). NIDA Clinical Trials, NIDA, Estados Unidos.
2021 - 2021	Planejamento Estratégico em Saúde. (Carga horária: 30h). Hospital Sírio-Libanês, SÍRIO-LIBANÊS, Brasil.
2021 - 2021	Elaborando um protocolo de ensaio clínico randomizado: considerações estatí. (Carga horária: 10h). Hospital Moinhos de Vento, HMV, Brasil.

Anexo III – Artigo de revisão em preparo