



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

Amanda Mueller Vianna dos Santos

Dispositivo de Nanocelulose Bacteriana para Liberação de Camptotecina
Encapsulada em Nanopartículas de Policaprolactona

Florianópolis

2026

Amanda Mueller Vianna dos Santos

Dispositivo de Nanocelulose Bacteriana para Liberação de Camptotecina
Encapsulada em Nanopartículas de Policaprolactona

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestra em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Pedro Henrique Hermes de Araújo, Dr.

Coorientadora: Tamara Agner Miguez, Dr.(a);
Karina Cesca, Dr.(a).

Florianópolis

2026

Ficha catalográfica gerada por meio de sistema automatizado gerenciado pela BU/UFSC. Dados inseridos pelo próprio autor.

Mueller Vianna dos Santos, Amanda

Dispositivo de Nanocelulose Bacteriana para Liberação de Camptotecina Encapsulada em Nanopartículas de Policaprolactona / Amanda Mueller Vianna dos Santos ; orientador, Pedro Henrique Hermes de Araújo, coorientadora, Tamara Agner, coorientadora, Karina Cesca, 2026.

103 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Florianópolis, 2026.

Inclui referências.

1. Engenharia Química. 2. Dispositivo de liberação controlada. 3. Encapsulação de quimioterápicos. 4. Camptotecina. 5. Glioma. I. de Araújo, Pedro Henrique Hermes. II. Agner, Tamara . III. Cesca, Karina IV. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. V. Título.

Amanda Mueller Vianna dos Santos

Dispositivo de Nanocelulose Bacteriana para Liberação de Camptotecina Encapsulada em
Nanopartículas de Policaprolactona

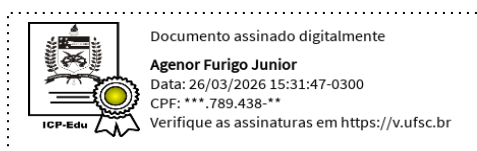
O presente trabalho em nível de Mestrado foi avaliado e aprovado, em 19 de março de
2026, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Pedro Henrique Hermes de Araújo, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina | PósENQ

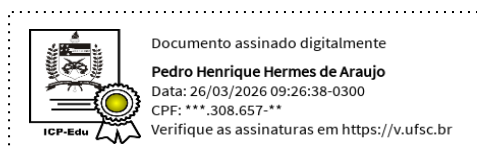
Prof. Luiz Fernando Belchior Ribeiro, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Araranguá | PPGES

Prof. Odinei Hess Gonçalves, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Blumenau | PGETEX

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado
adequado para obtenção do título de Mestra em Engenharia Química.



Coordenação do Programa de Pós-Graduação



Prof. Pedro Henrique Hermes de Araújo, Dr.
Orientador

Florianópolis, 2026

AGRADECIMENTOS

À Deus e toda a Espiritualidade que me guia e conduz. Por todas as portas abertas e por ter colocado tantas pessoas maravilhosas em meu caminho.

À toda minha família pelo apoio, incentivo e amor de sempre. Meus pais de sangue, Paloma e Flávio, e os de criação, coração e alma, Vó Regina, Daniel e Roberta. Meu irmão Francisco, que por anos foi o meu maior sonho e hoje é a realidade mais pura e linda que existe. Minha tia Georgia, que sempre foi um pouco mãe, e meu tio Erwin, que sempre foi um pouco irmão.

Ao meu orientador Prof. Pedro Henrique Hermes de Araújo por ter confiado no meu potencial e me incentivado a cada passo. Por todas as oportunidades e ensinamentos, desde a época da monitoria. Por toda a dedicação e contribuição para o desenvolvimento deste trabalho.

À minha coorientadora Dra. Tamara Agner, a quem devo tantos ensinamentos de laboratório, profissionais e de vida. Por ter sido professora, coorientadora e amiga em todos os momentos (altos e baixos, antes e durante) dessa jornada. Por todo o tempo investido (de manhã, tarde, noite e madrugada) nesse trabalho. Por sempre ter encontrado um jeito para me ajudar à cada obstáculo.

À minha coorientadora Dra. Karina Cesca pelo apoio na elaboração conceitual do trabalho e pelo convite para trabalhar com nanocelulose. Por todos os ensinamentos desde à época da iniciação científica. Pela confiança no meu trabalho.

À Profa. Claudia Sayer, que apesar de não receber o título formal de coorientadora, desempenhou o papel com maestria. Por todas as contribuições para com este trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da UFSC pela oportunidade e a todos os Professores que, de alguma forma, fizeram parte da minha formação e sempre me incentivaram.

Ao corpo técnico dos laboratórios parceiros. Ao Leandro e à Fernanda da Central de Análise por sempre estarem dispostos a ajudar. À Elis do LCME por ter feito muito com pouco.

Aos colegas de laboratório do LCP e do LiEB pelo companheirismo e ajuda prestada. Pela compreensão e flexibilidade.

Às minhas amigas, que de longe e de perto, me incentivaram e me apoiaram. Por toda a compreensão, principalmente durante a etapa final.

À Jana, que fez eu me apaixonar pela química. Por ter sido uma professora fantástica e minha primeira inspiração na Engenharia Química.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudo.

A todos aqueles que estiveram comigo durante essa jornada e me ajudaram a chegar aqui.

RESUMO

No tratamento de gliomas – neoplasia primária do parênquima cerebral caracterizada por sua elevada agressividade – a administração oral ou intravenosa de quimioterápicos requer uma elevada dose sistêmica devido à presença da barreira hematoencefálica. Dessa forma, a entrega intracraniana desses compostos, após a remoção cirúrgica do tumor, por meio de dispositivos de liberação controlada (DDS) surge como uma alternativa promissora para reduzir a dose sistêmica e aumentar a eficiência do tratamento. Nesse contexto, a camptotecina (CPT), um fármaco com potente ação antitumoral, destaca-se por atuar como inibidor da topoisomerase I. Entretanto, sua molécula pode sofrer hidrólise em meio fisiológico, assumindo uma forma inativa; assim, a sua encapsulação constitui uma estratégia importante para preservar sua atividade, aumentar a biodisponibilidade e prolongar o tempo de retenção no organismo. Além do fármaco, para o desenvolvimento desses dispositivos é necessário selecionar uma matriz biocompatível que permita a sua liberação controlada. Portanto, o objetivo desse trabalho foi de desenvolver um dispositivo à base de esferas nanocelulose bacteriana para a liberação controlada de CPT encapsulada em nanopartículas (NPs) de policaprolactona. As NPs foram obtidas por meio da técnica de miniemulsificação-evaporação de solvente e apresentaram diâmetro médio de partícula de 200 ± 4 nm e uma eficiência de encapsulação de $99 \pm 1\%$. Pela liberação *in vitro* do fármaco em meio e do DDS, determinou-se que as NPs perdem apenas 10% da sua carga por difusão, indicando que o fármaco permanece retido nas NPs por mais de 7 dias. Ainda, o DDS apresentou uma liberação de $73 \pm 4\%$ das NPs em 12 dias, indicando que o dispositivo desenvolvido foi bem-sucedido ao proporcionar a liberação do fármaco nanoencapsulado de forma controlada e prolongada.

Palavras-chave: Dispositivo de liberação controlada; Encapsulação de quimioterápicos; Camptotecina; Glioma.

ABSTRACT

In the treatment of gliomas – primary neoplasms of the brain parenchyma characterized by their high aggressiveness – the oral or intravenous administration of chemotherapeutic drugs require high systemic doses due to the blood-brain barrier. Therefore, the intracranial delivery of these agents, inside the post-operative cavity, through drug delivery systems (DDS) emerges as a promising alternative to reduce systemic dosage and improve treatment efficiency. In this context, camptothecin (CPT), a drug with potent antitumor activity, stands out as a topoisomerase I inhibitor. However, this molecule can undergo hydrolysis in physiological conditions, converting into an inactive form. Thus, its encapsulation represents an important strategy to preserve its activity, increase bioavailability and prolong its circulation time. In addition to the drug, the development of these devices requires the selection of a biocompatible matrix capable of a controlled release of the drug. Therefore, the aim of this study was to develop a device based on bacterial nanocellulose spheres for the sustained release of CPT encapsulated in polycaprolactone nanoparticles (NPs). The NPs developed through the miniemulsification-solvent evaporation technique presented an average particle diameter of 200 ± 4 nm and an encapsulation efficiency of $99 \pm 1\%$. From the *in vitro* drug release study in medium and from the DDS, it was determined that the NPs only lose 10% of their loading by diffusion, indicating that the drug remains retained within the NPs for more than 7 days. Furthermore, the DDS showed a release of $73 \pm 4\%$ of the loaded NPs over 12 days, indicating that the developed device was successful in providing controlled and prolonged release of the nanoencapsulated chemotherapeutic drug.

Keywords: Sustained drug delivery system; Chemotherapeutic drug encapsulation; Camptothecin; Glioma.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura polimérica do Poliferprosan 20	20
Figura 2 - Estrutura química da camptotecina	24
Figura 3 - Reação de hidrólise da camptotecina com grupo lactona (A) à sua forma inativa com grupo carboxilato (B).....	25
Figura 4 - Estruturas moleculares do (A) irinotecano e (B) topotecano	26
Figura 5 - Estrutura da camptotecina sódica	27
Figura 6 - Reação de polimerização por abertura de anel para obtenção de PCL	34
Figura 7 - Fotos dos hidrogéis de nanocelulose obtidos em formato de (A) casulo, (B) asterisco floculado, (C) esferas, (D) tubulares, (E) esferas multicompartimentadas e (F) ocas	36
Figura 8 - Foto do dispositivo de liberação controlada (látex polimérico incorporado às BNCS)	47
Figura 9 - Influência do tempo de dispersão no diâmetro de gota (Dg) e PDI	50
Figura 10 - Micrografias de TEM das NP-B com escala de (A) 200 nm e (B) 1 μ m	54
Figura 11 - Espectro de FTIR das nanopartículas de PCL e seus componentes (A) do comprimento de onda 4.000 a 550 cm^{-1} e (B) de 2.000 e 550 cm^{-1}	55
Figura 12 - Gráficos de espectro de DRX das NPs de PCL e do PCL.....	56
Figura 13 - Gráfico da curva da primeira rampa de aquecimento da análise de DSC das NPs de PCL e do PCL	58
Figura 14 - Perfil de liberação <i>in vitro</i> da camptotecina encapsulada em NPs de PCL	62
Figura 15 - Ajuste linear dos dados de liberação <i>in vitro</i> da camptotecina no Modelo de Higuchi.....	63
Figura 16 - Fotos das BNCS produzidas com (A) 3 dias e (B) 6 dias de cultivo	65
Figura 17 - Micrografia de MEV das BNCS com (A) 75x (B) 10.000x e (C) 60.000x de ampliação	66

Figura 18 - Fotos dos DDSs com látex de Coumarim 6 em (A) 15 min e (B) 24 h de liberação em água	68
Figura 19 - Perfil de liberação do fármaco livre da BNCS	69
Figura 20 - Ajuste linear dos dados de liberação do fármaco livre da BNCS no Modelo de Higuchi.....	70
Figura 21 - DDS com NPs após 24 h em meio de liberação com concentração de SDS (A) 5% e (B) 0,5%	71
Figura 22 - Imagens do DDS em diferentes meios de liberação em 24, 96 e 168 h com renovação do meio a cada 24 h	73
Figura 23 - Perfil de liberação das NPs do DDS em PBS (n=3)	76

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tamanho de partícula e massa do sistema durante a evaporação do solvente	52
Tabela 2 – Valores médios de Dg, Dp, PDI e EE dos látex produzidos (n>4)	53
Tabela 3 - Leitura de absorbância da camptotecina em solução de SDS 5% para determinação da estabilidade do fármaco.....	61
Tabela 4 - Liberação do fármaco encapsulado do DDS em meio de liberação de SDS 0,5%.....	72
Tabela 5 - Valores de Dp e PDI obtidos nas leituras de DLS durante a liberação das NPs do DDS	102

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CPT	Camptotecina
PCL	Policaprolactona
NP	Nanopartículas
BNCS	Esfera de Nanocelulose Bacteriana (<i>bacterial nanocellulose sphere</i>)
FDA	Agência Federal do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos EUA (<i>Food and Drug Administration</i>)
PLA	Poli(ácido láctico)
PLGA	Poli(ácido láctico-co-glicólico)
PBS	Poli(butileno succinato)
BBB	Barreira hematoencefálica (<i>blood-brain barrier</i>)
TMZ	Temozolomida
DDS	Dispositivo de liberação controlada (<i>drug delivery system</i>)
PEG	Polietilenoglicol
PEG-DMA	Polietilenoglicol dimetacrilato
PTX	Paclitaxel
MMP	metaloproteinases da matriz
PBS	Solução salina tamponada com fosfato
PDL	Pentadecalactona
DOX	Doxorrubicina
HCPT	Hidroxicamptotecina
TP	Polifenóis extraídos do chá verde (<i>tea polyphenols</i>)
EE	Eficiência de encapsulação
PDI	Índice de Dispersão
ROP	Polimerização por abertura de anel (<i>ring-opening polymerization</i>)
SDS	Dodecil Sulfato de Sódio

NP-B	Nanopartículas de PCL sem fármaco/"branco"
NP-CPT	Nanopartículas de PCL com fármaco (CPT) encapsulado
DCM	Diclorometano
DLS	Espalhamento Dinâmico de Luz (<i>Dynamic Light Scattering</i>)
TEM	Microscopia Eletrônica de Transmissão
DSC	Calorimetria Diferencial de Varredura
FTIR	Espectroscopia Infravermelho com Transformada de Fourier
DRX	Difração de Raios X
BOD	Estufa bacteriológica
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
PHB	Polihidroxibutirato
MD	Maltodextrina

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	15
1.1	OBJETIVOS	17
1.1.1	OBJETIVO GERAL	17
1.1.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1	DISPOSITIVOS DE LIBERAÇÃO LOCAL PARA GLIOMAS	18
2.2	CAMPTOTECINA	24
2.3	TÉCNICA DE MINIEMULSIFICAÇÃO-EVAPORAÇÃO DE SOLVENTE PARA ENCAPSULAÇÃO DE COMPOSTOS HIDROFÓBICOS	30
2.4	ESFERAS DE NANOCELULOSE BACTERIANA	34
3.	MATERIAIS E MÉTODOS	39
3.1	MATERIAIS	39
3.2	MÉTODOS	39
3.2.1	NANOENCAPSULAÇÃO DA CAMPTOTECINA	39
3.2.1.1	<i>Eficiência de Encapsulação</i>	<i>40</i>
3.2.1.2	<i>Liberação in vitro do fármaco das NPs</i>	<i>41</i>
3.2.1.3	<i>Estabilidade do fármaco em solução de SDS</i>	<i>42</i>
3.2.1.4	<i>Caracterização</i>	<i>42</i>
3.2.1.4.1	Tamanho médio de partículas (Dp)	43
3.2.1.4.2	Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM)	43
3.2.1.4.3	Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)	43
3.2.1.4.4	Espectroscopia Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	44
3.2.1.4.5	Difração de Raios X (DRX)	44
3.2.2	DISPOSITIVO DE LIBERAÇÃO LOCAL (DDS)	44
3.2.2.1	<i>Estrutura - esferas de nanocelulose bacteriana (BNCS)</i>	<i>44</i>
3.2.2.1.1	Espessura de fibra e porosidade	45
3.2.2.1.2	Teor de umidade	46
3.2.2.1.3	Difusão do fármaco livre nas BNCS	46
3.2.2.2	<i>Liberação do DDS</i>	<i>47</i>
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
4.1	NANOENCAPSULAÇÃO DA CAMPOTECINA	50

4.1.1	Liberação <i>in vitro</i> do fármaco das NPs	59
4.2	DISPOSITIVO DE LIBERAÇÃO LOCAL (DDS).....	65
4.2.1	Esferas de nanocelulose bacteriana.....	65
4.2.2	Liberação do fármaco nanoencapsulado do DDS	71
4.2.3	Liberação das NPs do DDS	72
5.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	78
5.1	CONCLUSÃO.....	78
5.2	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	79
	REFERÊNCIAS.....	80
	ANEXO I – VARREDURAS DE ABSORBÂNCIA EM UV-VIS PELO COMPRIMENTO DE ONDA.....	96
	ANEXO II – CURVAS DE CALIBRAÇÃO DE ABSORBÂNCIA (UV-VIS).....	97
	ANEXO III – PERFIL COMPLETO DA ANÁLISE DE DSC	98
	ANEXO IV – CARACTERIZAÇÃO POR DLS DAS NANOPARTÍCULAS LIBERADAS DO DDS SOB DIFERENTES CONDIÇÕES DE MEIO	102

1. INTRODUÇÃO

Globalmente, cerca de 0,6 a 5 pessoas em cada 100.000 são diagnosticadas anualmente com gliomas, representando 50% de todos os tumores cerebrais malignos (Grech et al., 2020; Ostrom et al., 2022). Gliomas são conhecidos por sua agressividade e rápida invasão de tecidos adjacentes, com uma taxa de sobrevivência menor que 5% após 5 anos do diagnóstico (Tamimi; Juweid, 2017). Durante o tratamento, usualmente opta-se pela intervenção cirúrgica, no entanto, a completa remoção das células tumorais é considerada muito difícil na grande maioria dos casos (De La Garza-Ramos et al., 2016; Gulati et al., 2011). Além disso, a barreira hematoencefálica se torna um desafio na administração oral ou intravenosa de quimioterápicos, de forma que são necessárias elevadas doses sistêmicas para alcançar o efeito antitumoral desejado (Wu et al., 2023).

A fim de contornar a seletividade dessa barreira, a entrega local dos quimioterápicos se tornou uma estratégia promissora. O *wafer* Gliadel® foi o primeiro dispositivo biodegradável desenvolvido para preenchimento da cavidade pós-cirúrgica e entrega local do quimioterápico carmustina, e o único a ser aprovado pelo FDA (Valtonen et al., 1997; Westphal et al., 2006). O dispositivo apresentou algumas limitações práticas – como baixa distância difusional, rápida degradação e curto tempo de retenção – mas sua proposta inovadora incentivou diversas outras pesquisas para o desenvolvimento de dispositivos similares (Fourniols et al., 2015; Huang et al., 2016; Wang et al., 2022; Zhao et al., 2018; Zhu et al., 2021).

Entretanto, o tratamento desses tumores também pode ser dificultado pela resistência destes a alguns quimioterápicos usuais (Fruehauf et al., 2006). Assim, a investigação do uso de outras drogas, além da sua entrega local, se torna um importante eixo a ser explorado. No contexto de fármacos com mecanismos de atuação diferentes daqueles usualmente utilizados no tratamento de gliomas (como a carmustina e a temozolomida), a camptotecina tem recebido destaque pela inibição da topoisomerase I. Esse fármaco é um alcaloide natural com potente atividade antitumoral contra leucemia (Wall et al., 1966), câncer de mama (Wu et al., 2018), câncer de fígado (Li et al., 2018), câncer de cólon (Jia et al., 2025; Ma et al., 2018) e

gliomas (Weingart et al., 1995). Porém, devido à sua hidrofobicidade e instabilidade em meio fisiológico, a sua encapsulação é a alternativa mais eficiente para aumentar a sua biodisponibilidade e estabilidade (Liu et al., 2009; Weingart et al., 1995).

Diversas são as técnicas de nanoencapsulação disponíveis, porém não só a técnica como o material encapsulante podem influenciar diretamente fatores como estabilidade, biodisponibilidade, tempo de retenção e eficiência do tratamento. Tendo em vista a instabilidade da camptotecina em meios alcalinos e a temperaturas elevadas (Ziomkowska et al., 2006), condições mais brandas – como as utilizadas durante a miniemulsificação-evaporação de solvente – são comumente empregadas na encapsulação desse fármaco em nanopartículas (NPs) poliméricas (Liu et al., 2009; Saucier-Sawyer et al., 2015).

Além de favorável à estabilidade do fármaco, a técnica de miniemulsificação-evaporação de solvente apresenta elevadas eficiências de encapsulação e partículas de diâmetro tipicamente entre 200 e 300 nm (Elzayat et al., 2021; Jenjob et al., 2019; Soppimath et al., 2001), o que possibilita a internalização pelas células e a difusão mais controlada das NPs. Assim, partindo de polímeros pré-sintetizados para a matriz polimérica, apesar da variabilidade encontrada na literatura, a policaprolactona recebe destaque para aplicações de longo prazo. Devido à sua elevada cristalinidade e hidrofobicidade, NPs desse polímero podem levar meses ou até anos para sua completa degradação no meio extracelular, mantendo o fármaco aprisionado e estável em sua estrutura e proporcionando uma barreira física contra a sua liberação precoce (Bhadran et al., 2023; Kumari; Yadav; Yadav, 2010; Saranya; Radha, 2014).

Para o preenchimento da cavidade pós cirúrgica e entrega local de quimioterápicos, os hidrogéis são os materiais mais investigados. Porém, apesar de sua versatilidade, biocompatibilidade e extensa aplicação na área biomédica (Hu; Catchmark; Vogler, 2013; Lee et al., 2014; Svensson et al., 2005), hidrogéis de nanocelulose bacteriana ainda são escassamente investigados para essa aplicação. Com isso posto, o presente trabalho teve como objetivo desenvolver um disposto à base de nanocelulose bacteriana para entrega local de camptotecina encapsulada em nanopartículas de policaprolactona para preenchimento de cavidade pós cirúrgica no tratamento de gliomas.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver um dispositivo para liberação local e controlada à base de esferas de nanocelulose bacteriana utilizando o quimioterápico camptotecina encapsulado em nanopartículas de policaprolactona como princípio ativo para aplicação no tratamento de gliomas.

1.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ❖ Adaptar a metodologia e produzir nanopartículas de policaprolactona pela técnica de miniemulsificação-evaporação de solvente e caracterizar estas partículas;
- ❖ Encapsular o fármaco camptotecina e quantificar eficiência de encapsulação e liberação *in vitro* e caracterizar as nanopartículas contendo fármaco;
- ❖ Adaptar metodologia e produzir esferas de nanocelulose bacteriana utilizando a cepa *G. hansenii*, e caracterizar as esferas produzidas quanto a morfologia e difusão interna;
- ❖ Produzir o dispositivo de liberação controlada introduzindo as nanopartículas de policaprolactona nas esferas de nanocelulose bacteriana e quantificar a liberação do fármaco e das nanopartículas destas esferas.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo será apresentada a revisão bibliográfica realizada a respeito dos principais tópicos que cercam o tema deste trabalho. De forma geral, será apresentado o estado da arte sobre dispositivos de liberação local controlada para gliomas e suas principais características. Posteriormente serão discutidos os aspectos gerais do fármaco escolhido, a camptotecina, e os principais desafios para a sua aplicação. Em seguida será apresentada a técnica de encapsulação de fármacos hidrofóbicos miniemulsificação-evaporação do solvente e, por fim, o mecanismo de formação e características de esferas de nanocelulose bacteriana.

2.1 DISPOSITIVOS DE LIBERAÇÃO LOCAL PARA GLIOMAS

O termo glioma se refere a um tumor cerebral encontrado nas células gliais – células não neuronais do sistema nervoso, porém essenciais para sustentação, isolamento, nutrição e proteção dos neurônios (Machado, 2000) – que pode ser subclassificado em: astrocitoma, oligoastrocinoma, oligodendroglioma e glioblastoma (Brasil, 2020). Desses tumores, geralmente de alta agressividade e elevada mortalidade, destacam-se os glioblastomas, os quais representaram mais de 50% dos tumores cerebrais malignos diagnosticados em um estudo nos Estados Unidos (Ostrom et al., 2022).

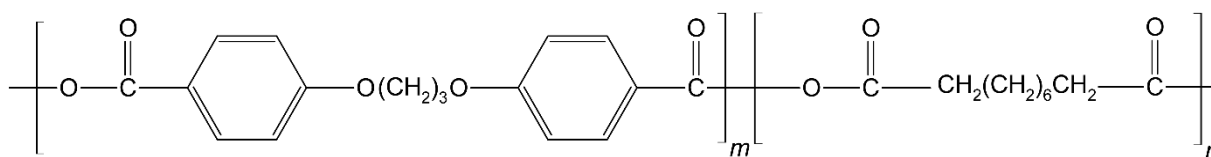
Após o diagnóstico apropriado do glioma, o tratamento recomendado consiste na máxima remoção cirúrgica seguida de rádio e quimioterapia (Alexander; Cloughesy, 2017). Apesar da intervenção cirúrgica ser a via mais segura e eficaz (De La Garza-Ramos et al., 2016), devido à agressividade desses tumores e à rápida invasão de tecidos adjacentes, a remoção completa das células tumorais não é possível na maioria dos pacientes (Gulati et al., 2011). Concomitantemente, após a cirurgia de remoção do tumor, existe um período recomendado de no mínimo três semanas em que o paciente deve ficar sem a administração de quimio ou radioterapia para evitar complicações com o pós-cirúrgico – uma janela em que as células tumorais residuais apresentam uma elevada taxa de crescimento (Lin; Hong; Lin, 2025).

Além disso, o cérebro conta com a barreira hematoencefálica (*blood-brain barrier* – BBB) – uma membrana semipermeável altamente seletiva entre a corrente sanguínea e o interstício cerebral (Wu et al., 2023) – que, apesar de indispensável para a sobrevivência humana, fornece um grande impeditivo para a administração de quimioterápicos (Abbott et al., 2010).

Apesar de algumas drogas como a temozolomida (TMZ) serem capazes de permearem a BBB com maior facilidade e apresentarem resultados promissores em ensaios clínicos (Stupp et al., 2005), a dose necessária para os efeitos antitumorais desejados deve ser rigorosamente regulada devido à toxicidade sistêmica apresentada por drogas administradas por via oral ou intravenosa (Vera et al., 2004). Assim, para contornar a seletividade da BBB e manter baixas concentrações sistêmicas, muito se utiliza de medicamentos encapsulados – em micelas, nanopartículas ou lipossomas, que podem ou não conter sinalizadores para favorecer a seletividade da barreira – ou então a entrega local por meio de dispositivos de liberação controlada (*drug-delivery systems* – DDSs) (Zuberi et al., 2025). Dentre esses DDSs, para gliomas, destacam-se os dispositivos para entrega local que são implantados na cavidade pós-cirúrgica.

Dentre os DDS comercializados, para o tratamento de glioblastomas existe apenas o Gliadel®. O dispositivo, desenvolvido por Brem et al. (1991), foi aprovado pela agência federal do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos EUA (*Food and Drug Administration* - FDA) em 1996 e pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa em 2016. O Gliadel é um *wafer* de copolímero biodegradável (Poliferprosan 20, Figura 1) impregnado com carmustina, um quimioterápico indicado para o tratamento de gliomas. Nesse dispositivo, o fármaco é liberado na medida que o *wafer* é degradado devido à umidade inerente do local do implante, a cavidade pós-cirúrgica, que promove a hidrólise das ligações anidrido.

Figura 1 - Estrutura polimérica do Poliferprosan 20



Razão m:n = 20:80, copolímero aleatório

Fonte: Adaptado de FDA (2018)

A aplicação de carmustina por via intravenosa, a qual foi aplicada por muitos anos, pode levar à elevada toxicidade sistêmica (Lillehei et al., 2018). Assim, além de contornar a BBB, o dispositivo Gliadel também permitiu a obtenção de resultados promissores com uma dose única de 61,6 mg de carmustina (FDA, 2018), representando uma redução significativa comparado aos 80 mg/m²/dia – aproximadamente 138 mg/dia considerando a superfície de área corporal padrão de 1,73 m² (Heaf, 2007) – por 3 dias a cada oito semanas que a administração por via intravenosa empregava (Deutsch et al., 1989).

Westphal et al. (2006) conduziram um estudo clínico com duração de 3 a 4 anos com 240 pacientes com glioma maligno de alto-grau. Ao final, foi constatada uma sobrevida 5 vezes maior nos pacientes implantados com os *wafers* quando comparado àqueles que receberam o tratamento placebo. Apesar de outros ensaios clínicos também apresentarem resultados promissores (Brem et al., 1995; Valtanen et al., 1997; Westphal et al., 2003), também foram reportados casos de hipertensão craniana, infecção e vazamento de líquido cefalorraquidiano relacionados ao implante do dispositivo. Além disso, outros estudos também apontam pequena distância difusional do fármaco, baixa concentração local e rápida degradação do dispositivo (Tseng; Chen; Liu, 2021; Yen et al., 2016), de forma que julgaram sua eficiência negligenciável em alguns casos.

Apesar dos seus desafios práticos, o Gliadel – ainda utilizado como coadjuvante terapêutico – foi o primeiro dispositivo biodegradável desenvolvido para o preenchimento da cavidade pós-cirúrgica e entrega local de quimioterápicos e o único a ser aprovado pelo FDA. Esse pioneiro dispositivo abriu uma grande e importante linha de pesquisa, fomentando estudos atuais para o desenvolvimento

desses dispositivos. Nesse escopo, Huang et al. (2016) propuseram uma malha eletrofiada de policaprolactona (PCL) – dopada com TMZ e proteína NGF (*Nerve Growth Factor* - Fator de Crescimento Nervoso) para recuperação neuronal – recoberta com hidrogel de alginato de sódio. O dispositivo apresentou uma liberação controlada e sustentada por 30 dias e os resultados *in vitro* apontaram para uma inibição da proliferação de células e favorecimento da diferenciação de células neuronais.

Por sua vez, Fourniols et al. (2015) desenvolveram um hidrogel de polietilenoglicol dimetacrilato (PEG-DMA) fotopolimerizável *in situ* para liberação controlada de TMZ. Apesar de um pequeno aquecimento causado pela irradiação de luz durante o processo, esse foi considerado irrelevante devido à rapidez da reação de fotopolimerização. O fármaco, solubilizado na matriz do hidrogel, apresentou uma rápida liberação (45% em 24 h), que posteriormente se manteve sustentada em 20% na primeira semana até alcançar um platô em 70%. A escolha pelo hidrogel à base de PEG-DMA se deu para evitar infiltração celular no dispositivo, a qual foi confirmada com estudos de imagem. Para comprovação de sua eficácia *in vivo*, o polímero foi reticulado *ex situ* – devido a dificuldades técnicas na fotopolimerização *in situ* por infiltração de líquido após a incisão – e implantado sobre o tumor. Os resultados mostraram que o dispositivo foi capaz de reduzir drasticamente o tamanho dos tumores, chegando a desaparecer em dois dos murinos estudados. Constatou-se também um aumento na taxa de apoptose das células neuronais.

Do mesmo grupo de pesquisa, Zhao et al. (2018) também propuseram um hidrogel fotopolimerizável de PEG-DMA para a entrega de paclitaxel (PTX) – um fármaco hidrofóbico com resultados antitumorais promissores, porém com aplicações restritas para o tratamento de gliomas devido à sua baixíssima permeabilidade à BBB (Chang et al., 2001). Pela sua hidrofobicidade, este composto foi nanoencapsulado em poliácido láctico-co-glicólico (PLGA) e estas partículas dispersas no hidrogel. Esse dispositivo por sua vez apresentou uma liberação de 11% nas primeiras 8 h, seguido de uma liberação sustentada de 29% por uma semana. Comparado ao estudo anterior, a redução do *burst release* do fármaco foi atrelada à resistência à difusão do fármaco imposta pela nanopartícula de PLGA. Ensaios *in vivo* novamente apontaram

para resultados promissores, com 50% dos ratos estudados ultrapassando o tempo de vida médio de 150 dias após a implantação; um aumento considerável comparado ao tempo de vida médio de 52 dias do grupo sem tratamento.

Também utilizando TMZ como princípio ativo, Zhu et al. (2021) desenvolveram um hidrogel de poli(sulfeto de propileno) (PPS60) e monoestearato de triglicerol. A mistura lipídica-polimérica foi capaz de se “automontar” a 50 °C, processo em que o quimioterápico foi encapsulado na camada polimérica. O dispositivo desenvolvido foi projetado para ser responsivo a estímulos externos: sua camada lipídica responsiva à metaloproteinases da matriz (MMP) – enzimas envolvidas na remodelação da matriz extracelular e usualmente superexpressadas em tumores (Egeblad; Werb, 2002); enquanto sua camada polimérica, às espécies reativas de oxigênio – as quais estão intimamente relacionadas ao estresse oxidativo observado em células tumorais (Valko et al., 2007). O quimioterápico é liberado das NPs à medida que os grupos tio-éter do polímero são oxidados na presença dos radicais livres formando grupos sulfona (mais hidrofílicos), porém, para que ocorra esse contato, é necessário promover a desagregação da camada lipídica – a mais externa. Assim, o dispositivo apresentou taxas de liberação diferentes em diferentes meios, como PBS e solução contendo MMP. Em testes realizados com líquido cefalorraquidiano (extraído após a cirurgia de remoção de glioma e rico em MMP) observou-se uma liberação controlada de 89,3% em 15 dias, sendo esse o melhor resultado obtido. Nos ensaios *in vivo*, o hidrogel foi capaz de aumentar a sobrevida média dos camundongos de 28,5 para 50,5 dias e resultados de imagem permitiram determinar que a resposta aos estímulos auxiliou na indução à apoptose das células tumorais.

Outro dispositivo com PTX encapsulado foi proposto por Wang et al. (2022). Nesse estudo, os autores utilizaram um copolímero de bloco triplo de PLGA₁₇₅₀-PEG₁₅₀₀-PLGA₁₇₅₀, e um conjugado do quimioterápico foi encapsulado em nanopartículas de PEG autoestruturadas funcionalizadas com o peptídeo Pep-1 – utilizadas como sinalizadores para o receptor IL-13R α 2, usualmente superexpressado em gliomas (Wang et al., 2014). O dispositivo também contou com nanopartículas de um adjuvante imunológico manitolado CpG, para ativação do sistema imune nato e auxílio na recuperação da imunossupressão relacionada ao câncer. O hidrogel

formulado apresentou capacidade de ser termorreticulado quando em contato com o corpo humano, a 37 °C, podendo então ser aplicado em sua forma líquida na cavidade pós-cirúrgica e rapidamente assumir sua forma reticulada. O dispositivo não apresentou o efeito de *burst release* observado em outros trabalhos e liberou 77% das nanopartículas a uma taxa constante ao longo de 12 dias. Os resultados *in vivo* confirmaram a capacidade quimio e imunoterápica do dispositivo, com o grupo de ratos que recebeu o implante tendo seu tempo de sobrevida médio aumentado de 13,5 para 50 dias.

Mais recentemente, Lin; Hong; Lin (2025) desenvolveram um hidrogel de amilopectina e gelatina, reticulado com éter diglicidílico de 1,4-butanodiol, para a entrega local de compostos de platina. O dispositivo contou com dois princípios ativos à base de platina: microesferas de CaCO_3 com íons cálcio parcialmente substituídos por íons platina, $\text{CaCO}_3\text{:Pt}$; e carboplatina dispersa na matriz. A liberação se deu em duas etapas distintas. Durante os 5 primeiros dias, o dispositivo apresentou uma rápida liberação da carboplatina, a qual serviu para promover a morte das células tumorais não removidas durante a cirurgia. De forma prolongada, o sistema libera as micropartículas de $\text{CaCO}_3\text{:Pt}$ que, devido à sua sensibilidade ao pH, liberam a platina apenas em pH ácido. Devido ao metabolismo acelerado das células tumorais, as micropartículas são endocitadas com mais frequência por essas e, ao chegarem ao lisossoma – organelas de pH ácido responsáveis pela digestão de partículas endocitadas – as micropartículas liberam a platina, que causa danos ao DNA da célula tumoral. Resultados *in vivo* comprovaram o efeito sinérgico dos compostos e ainda foi possível constatar que o dispositivo proporcionou uma sensibilização à radioterapia, de forma que foi possível diminuir sua dose para aliviar os efeitos colaterais.

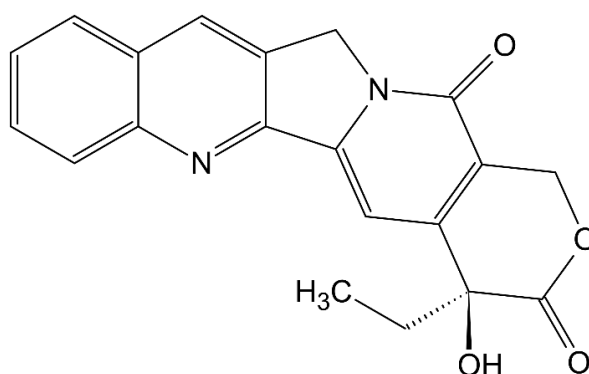
Apesar dos resultados positivos obtidos em ensaios *in vivo*; o conhecimento da dificuldade da administração de quimioterápicos devido à BBB; e a agressividade desses tumores, a falta de estudos clínicos evidenciam a lacuna para tratamentos pós-cirúrgicos para pacientes com esse diagnóstico. Além disso, devido à resistência a algumas drogas que gliomas apresentam (Fruehauf et al., 2006), a busca por quimioterápicos com mecanismos diferentes é constante. Ao passo que tanto a carmustina como a TMZ atuam com mecanismos similares no DNA (Verbeek et al.,

2008; Zhang; F.G. Stevens; D. Bradshaw, 2012) e o PTX nos microtúbulos (Weaver, 2014), drogas como a camptotecina atuam na enzima topoisomerase I (Lown; Hsiao-Hsiung Chen, 1980), mostrando-se como uma alternativa atrativa para os tumores resistentes às drogas utilizadas nos trabalhos apresentados nessa seção.

2.2 CAMPTOTECINA

A camptotecina (CPT), um alcaloide extraído da árvore *Camptotheca acuminata* originária do norte do Vietnã ao sul da China, foi inicialmente extraída e isolada por Wall et al. (1966) com promissora atuação antitumoral para leucemia. Após a caracterização da estrutura, os autores associaram, em parte, a atividade biológica dessa molécula à lactona presente em sua estrutura (Figura 2) a qual apresenta elevada reatividade.

Figura 2 - Estrutura química da camptotecina



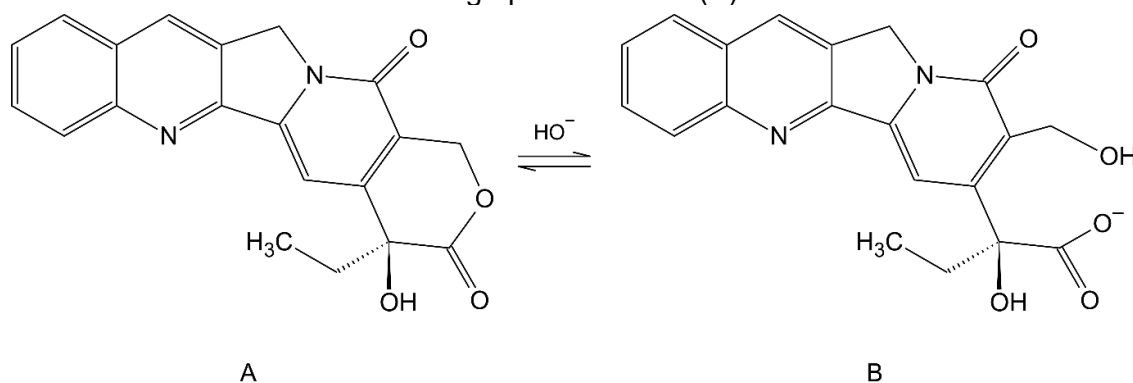
Fonte: Elaborado pelos autores.

Em estudos posteriores, a camptotecina se mostrou eficaz no combate à leucemia em murinos resistentes a diversas drogas, como a carmustina, levantando a hipótese de que a CPT teria um mecanismo de atuação antitumoral diferente dos fármacos conhecidos (Gallo; Whang-Peng; Adamson, 1971). Esse mesmo estudo foi capaz de correlacionar a camptotecina a um impedimento na replicação correta do DNA, porém o mecanismo propriamente dito foi apenas elucidado posteriormente. Hsiang et al. (1985) conduziram um extenso estudo e concluíram que a camptotecina atua sob a topoisomerase I, de maneira a impedir que a enzima religue a dupla fita de

DNA após seu corte durante a etapa de replicação do DNA, evitando a progressão do crescimento celular – tais descobertas também foram encontradas por outros estudos (Lown; Hsiao-Hsiung Chen, 1980; Zhang et al., 1986).

Em contrapartida, é também devido à elevada reatividade da lactona que essa molécula pode passar por um processo de hidrólise (Figura 3) no qual ocorre a abertura do anel gerando um grupo carboxilato, principalmente em meios básicos (Ziomkowska et al., 2006). Apesar do processo de hidrólise ser reversível, em sua forma de carboxilato a camptotecina se liga irreversivelmente à albumina do soro presente no sangue humano (Kohn; Pommier, 2000), de forma que em 2 h, a concentração da sua forma lactona pode cair a 5% no sangue humano (Stefan, 2002).

Figura 3 - Reação de hidrólise da camptotecina com grupo lactona (A) à sua forma inativa com grupo carboxilato (B)



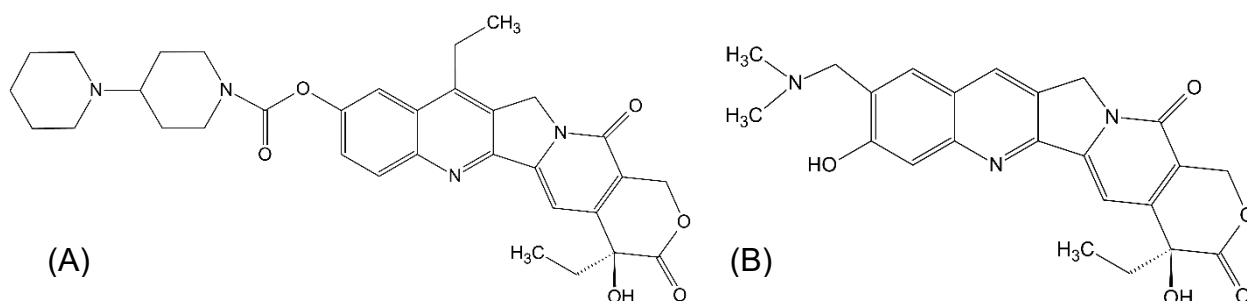
Fonte: Adaptado de Ziomkowska et al. (2006)

Entretanto, após os promissores resultados obtidos com a camptotecina, muitos estudos focaram em procurar análogos à sua estrutura com propriedades biológicas similares e maior estabilidade (Beisler, 1971; Hansen; Kamata; Meyers, 1973; Shamma; Novak, 1969); contudo, a obtenção e estabilização da lactona ativa presente nessa estrutura mostrou-se um desafio.

Dos análogos propostos, destacam-se o irinotecano (Figura 4A) e o topotecano (Figura 4B), ambos análogos semissintéticos hidrossolúveis da camptotecina com interessante atividade antitumoral devido à inibição da topoisomerase I, sendo administrados preferencialmente por via intravenosa – ou, no caso do topotecano, também por via oral (Kawato et al., 1991; Kingsbury et al., 1991;

Kunimoto et al., 1987; Potmesil, 1994). Estudos indicam que, embora ainda possam sofrer abertura do anel dependendo do pH, as substituições estruturais presentes nesses análogos conferem maior estabilidade e atividade antitumoral (Rothenberg, 1997; Wang et al., 2023). O irinotecano recebeu aprovação da FDA em 1996 para o tratamento de câncer colorretal metastático; e o topotecano foi aprovado em 1996 para o câncer de ovário, em 1998 para o câncer pulmonar de pequenas células e, em 2007, para a formulação oral.

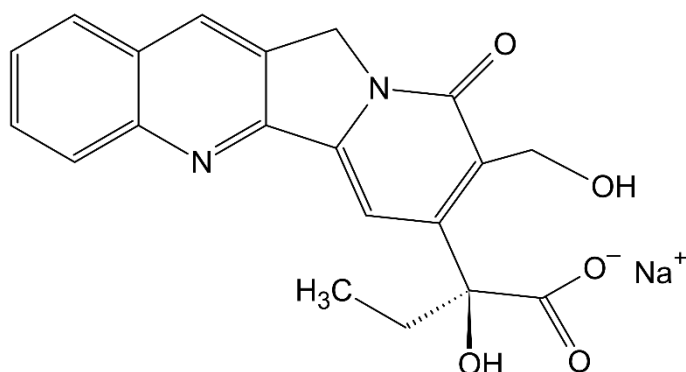
Figura 4 - Estruturas moleculares do (A) irinotecano e (B) topotecano



Fonte: Elaborado pelos autores.

Além da sua instabilidade em meio básico, a camptotecina apresenta baixa solubilidade em água, de forma que muitos dos análogos propostos procuraram estruturas com maior polaridade. Apesar de Brem et al. (1995) ter mostrado que o sal de sódio da camptotecina (Figura 5) é capaz de retornar à sua forma original com a lactona – e estudos *in vitro* terem apresentados resultados promissores em células de linfoma (Drewinko; Freireich; Gottlieb, 1974) – ensaios clínicos não foram capazes de comprovar a sua eficácia no tratamento de câncer gastrointestinal (Moertel et al., 1972) ou melanoma (Gottlieb; Luce, 1972). Estudos posteriores relacionam essa baixa atividade antitumoral observada nos ensaios clínicos à ligação irreversível dessa molécula com proteínas do sangue (Weingart et al., 1995).

Figura 5 - Estrutura da camptotecina sódica



Fonte: Elaborado pelos autores.

Apesar das tentativas de obtenção de análogos e até mesmo outras modificações em sua estrutura, como com grupos sulfonados (Monasterolo et al., 2012), ensaios *in vitro* e *in vivo* não obtiveram resultados interessantes quando ministrando o quimioterápico em sua forma livre. Em contrapartida, Weingart et al. (1995) foram o primeiro grupo a propor a encapsulação da camptotecina sódica para entrega local do quimioterápico em ratos com gliosarcoma. O estudo utilizou um copolímero de etileno-acetato de vinila (Elvax™ 40P, DuPont) para produzir cilindros sólidos impregnados com o quimioterápico. Resultados *in vivo* mostraram que o dispositivo foi capaz de manter 59% do grupo que recebeu o tratamento vivo por mais de 120 dias, enquanto nenhum dos ratos do grupo controle sobreviveu esse tempo. Os autores ainda ressaltaram a afinidade da camptotecina com as proteínas presentes no sangue e, conseqüentemente, sua dificuldade em permear a BBB. Assim, o estudo traz a encapsulação desse fármaco e sua entrega local como a solução para contornar a seletividade da BBB; reduzir a dose sistêmica; e preservar a molécula em sua forma ativa.

Posteriormente a esse estudo, a camptotecina foi encapsulada em outros polímeros e por diversas técnicas para o tratamento de gliomas. Liu et al. (2009) sintetizaram um copolímero de pentadecalactona (PDL) e succinato de butila, em diferentes proporções, e encapsularam o fármaco em nanopartículas por meio da técnica de emulsificação-evaporação de solvente. O diâmetro das partículas obtidas

variou de 100 a 300 nm, assim como a eficiência de encapsulação, a qual apresentou valores > 85% em todas as formulações testadas. Na liberação *in vitro*, observou-se um *burst release* de 20 a 30% nas primeiras 24 h, porém, posteriormente, essa se manteve sustentada por 40 dias, com uma desaceleração após 25 dias até valores próximos de 100%. Ensaios *in vitro* com a linhagem celular de glioma 9L mostraram um efeito acumulativo da camptotecina. As NPs apresentaram um IC₅₀ – a dose necessária para reduzir o metabolismo celular a 50% – de 165 nM na formulação com 50% de PDL para 24 h e de 19,8 nM para 72 h. Essa redução fica ainda mais drástica quando comparada ao IC₅₀ de 728 nM do fármaco livre em 24 h e 482 nM em 72 h, ressaltando mais uma vez a vantagem da encapsulação.

Martins et al. (2013) produziram nanopartículas lipídicas sólidas de palmitato de metila empregando polissorbato 60 e 80 como surfactante. Em todas as formulações testadas, os tamanhos de partícula obtidos foram menores que 200 nm e a eficiência de encapsulação do fármaco, maior que 94%. Apesar do estudo propor a aplicação por via intravenosa, estudos *in vivo* e de farmacocinética mostraram um baixo acúmulo do fármaco em órgãos periféricos e não foram detectados nenhum dos efeitos colaterais normais. Ao mesmo passo, após apenas 1 h da injeção, já era possível detectar concentrações bem maiores do fármaco no tecido cerebral – tendência essa que foi mantida por 24 h. Assim, o estudo comprovou que a encapsulação do quimioterápico aumentou a sua biodisponibilidade e seu tempo de retenção, assim como foi capaz de permear a BBB e apresentar uma entrega direcionada ao cérebro.

Por sua vez, Saucier-Sawyer et al. (2015) propuseram encapsular CPT em NPs de poli(ácido láctico) (PLA) e poliglicerol hiperramificado modificados com adenosina para entrega direcionada às células tumorais de glioma. As nanopartículas foram produzidas pela técnica emulsificação-evaporação de solvente e foram obtidos tamanhos de partículas de 131 ± 54 nm e uma eficiência de encapsulação de 58% na formulação que empregou a modificação com adenosina. A formulação apresentou um *burst release* nas horas iniciais, seguido de uma taxa controlada e sustentada por mais de 300 h. Apesar dos resultados *in vitro* terem sido positivos contra células de glioma, estudos *in vivo* mostraram que apenas 0,8% da dose injetada por via

intravenosa foi capaz de permear a BBB e não foram detectados efeitos antitumorais. Os autores afirmam que os resultados estão de acordo com a literatura, a qual aponta uma permeabilidade média à BBB de 0,5% de fármacos ministrados por via intravenosa ou oral, destacando ainda mais a importância da entrega local.

Assim, no escopo de dispositivos de liberação local para gliomas, a camptotecina foi encapsulada em microesferas de PLGA por Ozeki et al. (2012) para o desenvolvimento de um DDS a base de PEG e poli-N-isopropilacrilamida. A gelatina termossensível formulada apresentou a capacidade de se autorreticular à temperatura corporal, com uma liberação controlada de 72,5% em 28 dias. O dispositivo dopado com 30 µg do fármaco foi capaz de prolongar o tempo de vida médio dos ratos de 18 para 26 dias.

Também no escopo de dispositivos de liberação local, porém com enfoque em outros tipos de câncer, Jia et al. (2025) propuseram um hidrogel para tratamento de câncer de cólon à base de ácido γ - poliglutâmico reticulado com dendrímeros de terceira geração – macromoléculas altamente ramificadas, tornando-as excelentes para a encapsulação de drogas hidrofóbicas (Grayson; Fréchet, 2001). O dispositivo propôs a entrega da camptotecina, encapsulada nos dendrímeros, e de doxorrubicina (DOX) – um fármaco hidrofílico amplamente utilizado no tratamento de diversos tipos de câncer (Tacar; Sriamornsak; Dass, 2013) – dispersa na matriz do hidrogel. Os resultados *in vivo* apontaram para uma atuação sinérgica positiva entre a CPT e a DOX. Com o mesmo enfoque, Ma et al. (2018) desenvolveram uma malha eletrofiada de PLGA para entrega local de CPT para câncer de cólon. A malha apresentou uma liberação sustentada à taxa constante (30% em 50 dias), sem efeito de *burst release*, e reduziu a atividade metabólica a 80% em estudos *in vitro*.

De forma análoga, Wu et al. (2018) desenvolveram um hidrogel termorreticulável utilizando um copolímero de tribloco de poli-D-lactídeo (PDLLA) e PEG para liberação de CPT encapsulada em nanopartículas de sílica mesoporosa para o preenchimento de cavidade pós-cirúrgica no tratamento de câncer de mama. O dispositivo apresentou uma liberação sustentada de 60% em 15 dias e diminuiu a taxa de recorrência do tumor de 100% para 44% do grupo controle comparado ao grupo que recebeu o dispositivo com uma dose de CPT de 2 mg/kg.

Para o tratamento local de câncer de fígado, Li et al. (2018) propuseram uma malha eletrofiada para implante subcutâneo de PEG-PLGA para liberação de hidroxycamptotecina (HCPT) – um derivado da CPT – e polifenóis extraídos do chá verde (*tea polyphenols* – TP) – para redução dos níveis de espécies reativas de oxigênio, os quais estão relacionados à invasão de tecidos adjacentes e formação de metástases (Ishikawa et al., 2008). O dispositivo apresentou um *burst release* de HCPT nos primeiros dias (>60% em 4 dias) e posteriormente alcançou valores próximos de 90% em 19 dias. Resultados *in vivo* comprovaram o efeito sinérgico esperado entre HCPT e TP, com reduções significativas no tamanho dos tumores e inibição da formação de metástase.

Entretanto, apesar dos resultados com os DDS para a entrega local da CPT para o tratamento de outros tipos de tumores terem sido promissores, o desenvolvimento desses dispositivos para o tratamento de gliomas é escasso. Além disso, dentre os trabalhos citados, a insolubilidade em água da camptotecina é um tópico recorrente. Assim, a escolha da técnica de encapsulação tem uma forte influência sob os resultados obtidos. O estudo comparativo conduzido por Yokoyama et al. (2004), utilizando um copolímero de bloco de polietilenoglicol-poliaspartato, mostrou que a eficiência de encapsulação (EE) da CPT pela técnica de emulsificação-evaporação de solvente é muito maior quando comparada ao método de diálise e à emulsão. Altos valores de EE também foram encontrados em outros estudos que optaram por essa técnica ao utilizar a camptotecina (Liu et al., 2009; Saucier-Sawyer et al., 2015; Xiao et al., 2015).

2.3 TÉCNICA DE MINIEMULSIFICAÇÃO-EVAPORAÇÃO DE SOLVENTE PARA ENCAPSULAÇÃO DE COMPOSTOS HIDROFÓBICOS

Fármacos hidrofóbicos, como a camptotecina, constituem uma importante classe de terapêuticos, porém, devido à sua baixa solubilidade em meio aquoso, rápida eliminação e, muitas vezes, instabilidade química, suas aplicações clínicas são limitadas. Assim, a incorporação desses compostos em nanopartículas poliméricas surge como uma promissora estratégia para o aumento do tempo de residência no

organismo, da solubilidade aparente e da estabilidade; além de poder proporcionar uma entrega controlada e direcionada (Soppimath et al., 2001).

As nanopartículas poliméricas podem ser obtidas a partir de polímeros pré-sintetizados ou pela polimerização *in situ* de monômeros. As técnicas que utilizam polímeros pré-sintetizados requerem o uso de solventes orgânicos para a sua solubilização; portanto, garantir a completa remoção destes após a obtenção das NPs é imprescindível para evitar problemas toxicológicos provenientes de possíveis resíduos. Já nas técnicas de polimerização *in situ*, é fundamental a conversão completa dos monômeros, uma vez que, na maioria dos casos, estes são tóxicos. A polimerização em miniemulsão, destaca-se pela obtenção de látex com alto teor de sólidos, meio aquoso como fase contínua, e a encapsulação *in situ* de compostos hidrofóbicos (Asua, 2002). Entretanto, além da possível presença de monômeros residuais no látex, a maioria dos iniciadores utilizados nessas reações requerem ativação térmica ou fotoquímica, o que limita a encapsulação de moléculas sensíveis a essas condições.

Dentre as técnicas que utilizam polímeros pré-sintetizados, a nanoprecipitação é amplamente empregada pela farmacologia. Nesse método, utiliza-se de solventes orgânicos miscíveis em água, como a acetona, para promover a precipitação espontânea do polímero (Anton; Benoit; Saulnier, 2008). Esse processo, no entanto, embora operacionalmente simples e energeticamente favorável, pode resultar em menor teor de sólidos, NPs de menor tamanho – na faixa de 50 a 200 nm, valores de EE na faixa de 60 a 70% para compostos hidrofóbicos e maior tendência à coalescência (Kuddushi et al., 2025; Lepeltier; Bourgaux; Couvreur, 2014).

De forma análoga, a técnica de miniemulsificação-evaporação de solvente também é comumente utilizada na encapsulação de fármacos hidrofóbicos. Além dos estudos anteriormente citados que utilizaram esta técnica para nanoencapsular camptotecina, a miniemulsificação-evaporação de solvente já foi empregada para encapsular peptídeos – como a insulina – (Krauland; Guggi; Bernkop-Schnürch, 2006), fármaco antiviral (Joshy et al., 2018), fármaco para tratamento de hipertensão (Gao et al., 2011), e os mais variados agentes antitumorais como doxorrubicina

(Jaimes-Aguirre et al., 2017), cloridrato de gencitabina (Gandhi et al., 2015), paclitaxel (Jin et al., 2009) e temozolomida (Jain et al., 2011).

Apesar de utilizar solventes orgânicos e depender do fornecimento de altas tensões de cisalhamento – como na ultrassonicação – o método se mostra extremamente versátil uma vez que parte de polímeros previamente sintetizados e purificados (Elzayat et al., 2021). Além disso, esse método é caracterizado por elevados valores de EE – comumente acima de 80% – e tamanhos de partícula levemente maiores quando comparado à nanoprecipitação, em torno 200 a 300 nm (Ezhilarasi et al., 2013; Jenjob et al., 2019). No contexto de dispositivos de liberação controlada à base de hidrogéis, maiores tamanhos de partícula ajudam a manter a liberação sustentada das NPs por períodos mais longos.

Nesta técnica, o polímero é inicialmente solubilizado em um solvente orgânico – comumente diclorometano ou clorofórmio – e essa fase orgânica é então dispersa em uma fase aquosa com auxílio de um surfactante e elevadas tensões de cisalhamento para a obtenção da miniemulsão. Por fim, a formação das NPs sólidas se dá com a evaporação do solvente e precipitação do polímero (Rosca; Watari; Uo, 2004). Staff et al. (2013) conduziram um extenso estudo para explicar o mecanismo de formação das partículas na técnica de miniemulsificação-evaporação de solvente. Apesar de estudos anteriores terem relacionado essa técnica a uma maior coalescência de gotas durante a remoção do solvente (Rao; Geckeler, 2011) os autores propuseram um mecanismo onde a coalescência é considerada irrelevante. De acordo com o mecanismo proposto, o diâmetro de partícula (D_p) e o índice de dispersão (PDI) são determinados pela eficiência da etapa de dispersão das gotas; e valores de PDI mais altos são atribuídos à natureza do processo. Dessa forma, as nanopartículas obtidas por essa técnica dependem, principalmente, da energia fornecida durante a dispersão, da natureza e quantidade de surfactante utilizado, e do processo de evaporação.

Para a dispersão da fase orgânica, usualmente utiliza-se de dispersores de ultrassom ou homogeneizadores de alta pressão. O tamanho das gotas formadas – que na miniemulsão varia entre 50 e 500 nm – está diretamente relacionado à energia

fornecida. Porém, um excesso de energia pode se tornar indesejável ao provocar a coalescência das gotas devido ao choque intenso entre estas (Asua, 2002).

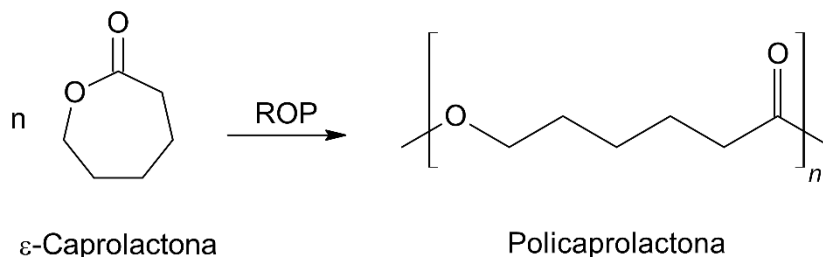
Por sua vez, os surfactantes também têm influência no diâmetro de gota, porém estão principalmente relacionados à estabilidade do sistema. Os surfactantes atuam na interface das gotas, podendo promover repulsão eletrostática (iônicos) ou impedimento estérico (não-iônicos) entre as gotas e evitando assim a coalescência. Apesar do impedimento estérico não ser considerado tão eficiente quanto a repulsão eletrostática, proporções apropriadas entre o surfactante e a fase orgânica podem resultar em látex cineticamente estáveis e com partículas de tamanhos nanométricos (Antonietti; Landfester, 2002). Por sua natureza zwitteriônica, biocompatibilidade e origem natural, como da soja, a lecitina vem sendo frequentemente utilizada como surfactante na produção de NPs poliméricas, especialmente para a encapsulação de fármacos (Chan et al., 2009; Leimann et al., 2015; Wohlfart et al., 2011). Devido à sua natureza anfifílica, a lecitina – composta de 65 a 75% de fosfolipídios – é capaz de formar uma camada na superfície das gotas, estabilizando emulsões de forma eficiente (Tabaniag et al., 2023).

Além disso, a temperatura pode afetar a taxa de evaporação do solvente, influenciando a viscosidade e a solubilidade do sistema, que, por sua vez, podem favorecer fenômenos como o *Ostwald ripening* e até mesmo alterar a estrutura cristalina das NPs (Staff et al., 2013).

A versatilidade dessa técnica também reside na escolha do polímero utilizado. Ao passo que muitos trabalhos optam por PLA, PLGA ou PBS, como apresentados na seção anterior, nanopartículas de policaprolactona recebem destaque em aplicações da nanomedicina. Quando comparado ao PLA e PLGA, o PCL apresenta uma biodegradação muito mais lenta, podendo levar de meses a anos, devido à sua elevada cristalinidade; isso o torna um interessante carreador de fármacos para liberações prolongadas (Kumari; Yadav; Yadav, 2010; Saranya; Radha, 2014). Aprovações do FDA para o uso do PCL em áreas biomédicas datam desde 1970 e ele já foi explorado para a nanoencapsulação de camptotecina (Çirpanlı et al., 2011), temozolomida (Peng et al., 2018), paclitaxel (Xin et al., 2011), doxorrubicina (Shuai et al., 2004) e diversos outros compostos com atividade antitumoral (Kumari, Avnesh;

Yadav; Yadav, 2010) e com aplicações farmacológicas no geral (Ramanujam et al., 2018).

Figura 6 - Reação de polimerização por abertura de anel para obtenção de PCL



Fonte: Adaptado de Bhadran et al., (2023)

O PCL é um poliéster semicristalino, biocompatível e biodegradável (Bhadran et al., 2023) que pode ser obtido a partir da polimerização por abertura de anel (*ring-opening polymerization – ROP*) da ϵ -caprolactona (Figura 6). Das vantagens da técnica ROP, destaca-se o controle preciso das extremidades das cadeias do polímero, o que facilita a sua funcionalização pós-polimerização, utilizando PEG por exemplo, para aumentar a biodisponibilidade e proporcionar uma entrega direcionada às células tumorais (Bhadran et al., 2023; Kim et al., 2025). Assim, para a obtenção de NPs de PCL, é possível utilizar PCL pré-sintetizado e técnicas como a miniemulsificação-evaporação de solvente.

2.4 ESFERAS DE NANOCELULOSE BACTERIANA

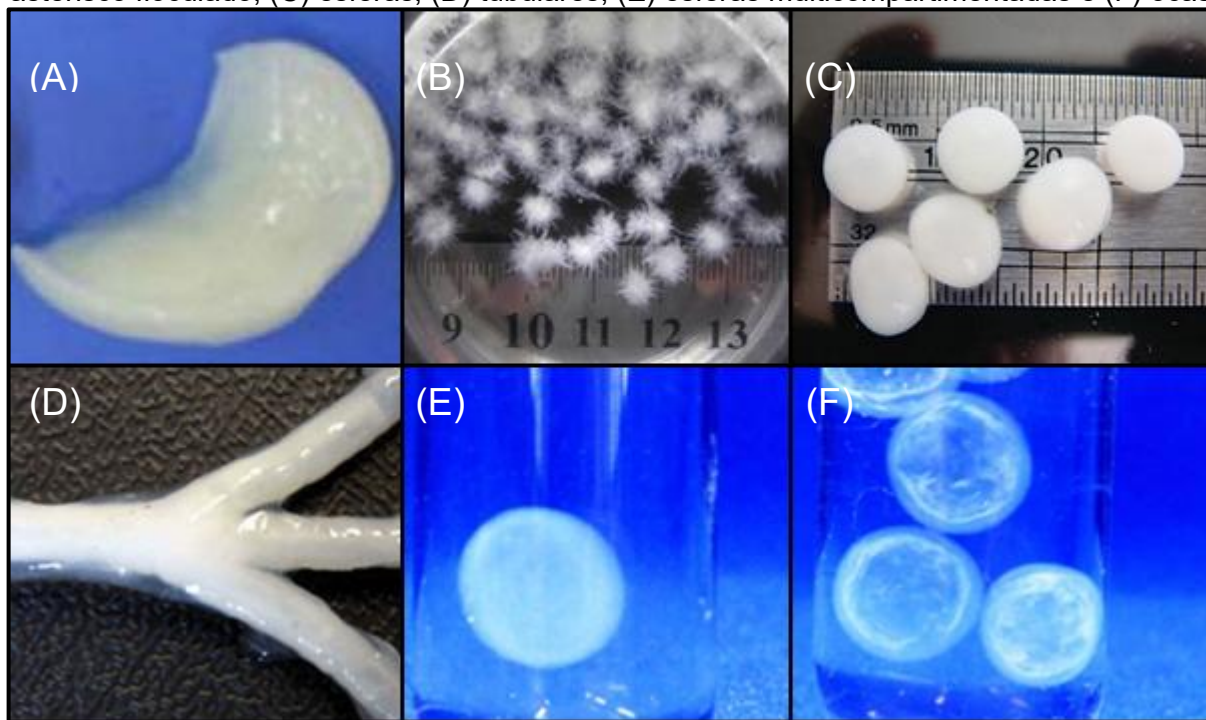
A nanocelulose bacteriana foi descoberta acidentalmente por Brown (1886) ao constatar a formação de uma estrutura gelatinosa durante uma fermentação de vinagre. O autor conseguiu isolar a cepa produtora, a qual nomeou como *Bacterium xylinum*, e inicialmente relacionou a formação da celulose com o consumo da dextrose. A capacidade de cultivar celulose como um material de alto desempenho – com controle da massa molar e macroestrutura – em laboratório logo se tornou de interesse da comunidade científica (Klemm et al., 2005). Estudos posteriores foram capazes de detectar os genes relacionados à formação da celulose e identificar outras bactérias com essa capacidade (Nobles; Brown, 2007).

O mecanismo de formação da nanocelulose começou a ser elucidado por Hestrin; Schramm (1954), que demonstraram – de modo similar ao observado em células vegetais – a existência de um mecanismo metabólico capaz de transformar glicose, na presença de oxigênio, em celulose. O estudo evidenciou a presença do polímero exclusivamente no meio extracelular, contudo, foi apenas Glaser (1958) quem, ao obter celulose a partir de extratos celulares livres de bactérias, associou sua formação à ação de um complexo enzimático. Assim, descobriu-se que a celulose é sintetizada por um complexo – que foi posteriormente denominado como celulose-sintase – associado à membrana plasmática, que promove simultaneamente sua polimerização e extrusão para o meio extracelular (Nobles; Brown, 2007).

As fibras de nanocelulose, de forma geral, são caracterizadas como de elevada cristalinidade (Hsieh et al., 2008), porém a sua formação pode ser fortemente influenciada pela cepa de cultivo (Jonas; Farah, 1998), fonte de carbono (Masaoka; Ohe; Sakota, 1993) e nitrogênio (Mohammadkazemi; Azin; Ashori, 2015) e demais condições de cultivo como pH, temperatura e oxigênio (Lee et al., 2014). Entretanto, foi apenas no estudo conduzido por Watanabe et al. (1998) que as diferenças entre as condições de cultivo estático e não estático foram analisadas. No estudo comparativo, a celulose obtida em condições não estáticas apresentou um menor grau de polimerização e cristalinidade. Posteriormente, Krystynowicz et al. (2002) atribuíram essa redução na cristalinidade à atuação de forças externas durante a agitação, que afetam o processo de cristalização das fibras. Em contrapartida, o estudo também atribuiu à celulose obtida em condições agitadas uma maior retenção de umidade.

Assim, a fermentação para a produção de nanocelulose bacteriana em cultivo não estático começou a se tornar uma técnica à parte, com condições de cultivos e otimizações diferenciadas. Além disso, ao passo que o cultivo estático permite a obtenção de uma membrana entre a interface do líquido de cultura e o ar, a fermentação agitada permite a obtenção de hidrogéis com formato de casulo (Recouvreux et al., 2011), “asterisco floculado” (Bi et al., 2014), esférico (Hu; Catchmark, 2010), tubulares (Bodin et al., 2007) ou de esferas ocas ou multicompartimentadas (Fucina et al., 2022) (Figura 7).

Figura 7 - Fotos dos hidrogéis de nanocelulose obtidos em formato de (A) casulo, (B) asterisco floclado, (C) esferas, (D) tubulares, (E) esferas multicompartimentadas e (F) ocas



Fonte: Adaptado de Bi et al. 2014; Bodin et al. 2007; Fucina et al. 2022; Hu; Catchmark 2010; e Recouvreux et al. 2011

Assim, para a obtenção das esferas de nanocelulose bacteriana (*bacterial nanocellulose spheres* – BNCS) parâmetros como a composição e volume do meio, temperatura, cepa, velocidade de rotação, concentração bacteriana, e tempo de cultivo podem influenciar a esfericidade, o diâmetro e a aparência das esferas produzidas (Brandes et al., 2018; Hu; Catchmark, 2010).

Após a otimização de cultivo conduzida por Diaz-Ramirez et al. (2021), os autores estabeleceram como condições ideais a concentração de 5% (m/v) de resíduo do bagaço da uva como meio de cultivo, com 0,5% (m/v) de extrato de levedura como fonte de nitrogênio e 5,8 g/L de açúcares (glicose e frutose) como fonte de carbono; e obtiveram esferas de nanocelulose com diâmetro de fibra de $63,8 \pm 8,2$ nm quando utilizadas agitações de 130 rpm. Quando comparada à membrana produzida em condições estáticas, as esferas apresentaram uma capacidade de retenção de umidade 60% maior. Enquanto a maioria dos estudos focam na otimização do cultivo das esferas, suas aplicações são diversas, com destaque na área ambiental, industrial e biomédica. No estudo realizado por Diaz-Ramirez et al. (2021), por exemplo, foi

proposta uma aplicação agroindustrial, onde as esferas atuam como carreadores de fertilizante e na retenção de umidade do solo. Os resultados mostraram-se promissores, com a esfera sendo capaz de reter até 375% do seu peso seco em ureia, a qual foi rapidamente liberada quando em contato com a água.

Além disso, BNCS também foram propostas como suporte para cianobactérias utilizadas na biorremediação de metais tóxicos. No trabalho conduzido por Xiao, Jianxun et al. (2022), as esferas – obtidas em co-cultura com as cianobactérias – apresentaram uma estrutura mesoporosa, com diâmetro de poro de 30 a 120 nm, e uma capacidade de absorção máxima de cobre no valor de 156 mg/g.

Na área biomédica, Lazarini et al. (2022) propuseram o uso das esferas de celulose como sistema para liberação controlada de rifampicina – um antibiótico sintético muito utilizado no tratamento de tuberculose, pneumonia e outras infecções bacterianas. Os autores impregnaram o antibiótico nas esferas de forma física, mantendo-as submersas em uma solução aquosa de rifampicina por 24 h e posteriormente secando-as a 35 °C. Para avaliar a atividade antimicrobiana, empregaram o método de difusão em disco, e o método da Célula de difusão de Franz foi utilizado para o perfil de liberação. Os resultados apontaram que a fonte de carbono interferiu na porosidade e disposição das fibras de celulose, o que, por sua vez, afetou a liberação. Porém, todas as esferas apresentaram formação de halo à medida que a esfera absorve umidade e os cristais de fármaco são solubilizados, mostrando-se como um promissor DDS.

Também em aplicações biomédicas, Hu; Catchmark; Vogler (2013) propuseram a obtenção das esferas como *scaffolds* para implantes ortopédicos. Foram cultivadas células de osteoblasto humano na superfície das esferas, as quais se mostraram com um suporte biocompatível, permitindo adesão e viabilidade celular. Ainda na área biomédica, Fucina et al. (2022) utilizaram esferas ocas, ou multicompartimentadas, como um modelo *in vitro* para estudo de células de melanoma. No estudo, as células foram injetadas no centro das esferas, de forma que a microestrutura interna das BNCS permitiu uma melhor comunicação célula-célula ao mimetizar o microambiente tumoral, se mostrando como uma plataforma promissora para o estudo do comportamento de células *in vitro*.

Assim, as esferas de nanocelulose bacteriana, compostas por uma estrutura de nanofibras biocompatíveis, se mostram como dispositivos interessantes para aplicações biomédicas. As interações das fibras com a água por meio de ligações de hidrogênio conferem às BNCSs propriedades de hidrogel de elevado interesse para essa área, tanto quanto para *scaffolds* ou como DDSs (Hu; Catchmark; Vogler, 2013; Svensson et al., 2005). Porém, em uma busca recente utilizando as palavras chaves ("*bacterial cellulose*" OR "*bacterial nanocellulose*") AND (*spherical* OR *spheres* OR *balls*) AND *glioma* na plataforma Scopus, não foram encontrados trabalhos que investiguem o uso dessas esferas como DDS para entrega local de fármacos para gliomas.

Dessa forma, apesar da carência de trabalhos que combinem essas palavras chaves, os resultados promissores encontrados da aplicação dessas estruturas na área biomédica, indicam seu elevado potencial. Assim, a abordagem proposta neste trabalho – de encapsular a camptotecina em nanopartículas poliméricas de policaprolactona e utilizar as BNCS como dispositivos para liberação intracraniana controlada dessas NPs com aplicações futuras no tratamento de gliomas – evidencia o caráter inovador desta pesquisa.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 MATERIAIS

O polímero utilizado, a policaprolactona (PCL) de massa molar $M_n = 80.000$ g/mol, foi adquirido da Sigma-Aldrich, assim como o fármaco camptotecina (> 90% HPLC) e o Coumarin 6 (> 99%). Lecitina de soja (Alfa Aesar) foi utilizada como surfactante e diclorometano (Qhemis, P.A.) como solvente na produção das nanopartículas poliméricas. Para o meio de liberação *in vitro*, utilizou-se de uma solução aquosa de dodecil sulfato de sódio (SDS, Vetec ultrapuro).

Na produção das esferas de nanocelulose bacteriana, utilizou-se a cepa *Gluconacetobacter hansenii* ATCC 23769, adquirida da “Coleção de Cultura Tropical (CCT)” (Fundação André Tosello, Brasil). Para manutenção e produção da celulose, os reagentes utilizados nos meios de cultivo foram: fosfato de sódio dibásico, fosfato de potássico monobásico, cloreto de cálcio dihidratado e sulfato de magnésio heptahidratado adquiridos da Neon; cloreto de amônio e hidróxido de sódio obtidos da Vetec; e glicose, manitol, extrato de levedura e peptona comprados da Sigma-Aldrich.

Todos os materiais e reagentes foram utilizados conforme recebidos, sem purificação prévia.

3.2 MÉTODOS

3.2.1 NANOENCAPSULAÇÃO DA CAMPTOTECINA

Para a encapsulação da camptotecina nas nanopartículas de policaprolactona (NP-CPT), utilizou-se da técnica de miniemulsificação-evaporação de solvente, com algumas modificações no método proposto por Leimann et al. (2015). Resumidamente, a fase óleo da miniemulsão foi obtida solubilizando 0,3 g de PCL e 0,175 g de lecitina com 4 mg do fármaco em 10 g de diclorometano (DCM) sob agitação magnética de 500 rpm por 20 min. Em testes preliminares, determinou-se a solubilidade do fármaco em DCM em 0,5 mg/mL, assim, optou-se por 4 mg devido à possível evaporação do solvente durante o processo de dispersão na produção das

NPs. A fase aquosa, que consistiu em 24 g de água deionizada, foi adicionada à fase óleo e a emulsão grosseira foi obtida submetendo essa mistura a uma agitação magnética de 1250 rpm por 60 min. Para a formação da miniemulsão, a emulsão grosseira foi rapidamente levada a um dispersor de ultrassom (Sonics VC 505 500 W, Vibra Cell) com uma ponteira de ½" e dispersada a uma amplitude de 70% por 2 a 6 min com pulsos de 30 s *on* e 10 s *off*, em banho de gelo para minimizar a evaporação do solvente. Após a dispersão, a completa evaporação do diclorometano foi conduzida por no mínimo 6 h, até a massa do sistema alcançar 19 g, em banho a 37 °C sem agitação.

A mesma metodologia proposta, porém, sem a adição da camptotecina, foi também utilizada para a obtenção de um látex "branco" (NP-B). Esse látex sem o fármaco foi utilizado, inicialmente, para o aperfeiçoamento da metodologia de obtenção das NPs e, posteriormente, para fins comparativos durante as caracterizações.

3.2.1.1 *Eficiência de Encapsulação*

Para quantificar a eficiência de encapsulação (EE) da camptotecina nas nanopartículas, utilizou-se de filtros para centrífuga Amicon® (Sigma-Aldrich), com tamanho de poro de MWCO 100 KDa. Conforme recomendações do fabricante, 0,5 g do látex produzido – após a completa evaporação do solvente – foram centrifugados nos tubos por 30 min a 10.000 rpm. O líquido filtrado foi então diluído em uma solução aquosa de SDS 5% (m/m) – devido à baixa solubilidade do fármaco em água e à maior sensibilidade em espectrofotometria UV-Vis – e a camptotecina não encapsulada foi quantificada com o auxílio de um espectrofotômetro UV-Vis (U-1900, Hitachi) em uma cubeta de quartzo.

Por meio de uma varredura previamente realizada (Anexo I – Figura A1) optou-se por utilizar o comprimento de onda de 368 nm para todas as leituras de absorbância em UV-Vis para o fármaco. A absorbância lida foi convertida em concentração (µg/mL) por meio de uma curva de calibração obtida para o fármaco em solução de SDS 5% (m/m) sob o comprimento de onda especificado (Anexo II – Figura

A3). O mesmo procedimento foi repetido para o látex branco, sem fármaco, para descontar quaisquer leituras de absorvância que não sejam provenientes da camptotecina.

A Equação 1 abaixo expõe a forma utilizada para o cálculo indireto da EE.

$$EE(\%) = \frac{\frac{m_E}{V_F} - C_{CC}}{\frac{m_E}{V_F}} \times 100 \quad (1)$$

Onde m_E corresponde à massa experimental real do fármaco na alíquota de látex filtrado (μg); V_F , ao volume final do filtrado diluído em SDS 5% para leitura de absorvância (mL); e C_{CC} , à concentração calculada pela curva de calibração ($\mu\text{g/mL}$).

3.2.1.2 ***Liberação in vitro do fármaco das NPs***

Os ensaios de liberação foram realizados com algumas modificações da metodologia proposta por Fogolari (2017). Após estudos preliminares, a concentração do meio de liberação, foi estabelecida em 0,5% (m/m) de SDS em solução aquosa. Assim, alíquotas de 2,25 mL do látex foram diluídas em 12,75 mL da solução aquosa de SDS 0,5% (m/m) em frascos – de vidro e com tampa – que foram mantidos sob agitação magnética branda a 37 °C.

Em janelas de tempo pré-determinadas, alíquotas de 0,5 mL foram filtradas com auxílio de um Amicon®, seguindo a mesma metodologia proposta na seção 3.2.1.1 (30 min a 10.000 rpm). O volume filtrado foi novamente diluído em solução de SDS 5% para leitura em espectrofotômetro UV-Vis e a absorvância foi transformada em concentração ($\mu\text{g/mL}$) por intermédio da curva de calibração. Novamente o procedimento foi repetido com o látex branco, em cada janela de tempo pré-determinada, e a absorvância lida foi descontada do valor obtido para o meio de liberação com o fármaco encapsulado.

Similarmente à Equação 1, o cálculo da liberação se deu pela Equação 2 a seguir.

$$L_t(\%) = \frac{\frac{m_{Et}}{V_F} - C_{CC}}{\frac{m_{Et}}{V_F}} \times 100 \quad (2)$$

Onde L_t corresponde à liberação calculada para determinado tempo t ; m_{Et} , à massa experimental real do fármaco na alíquota de determinado tempo t de látex filtrado (μg); V_F , ao volume final do filtrado diluído em SDS 5% (m/m) para leitura de absorbância (mL); e C_{CC} , à concentração calculada pela curva de calibração ($\mu\text{g/mL}$).

A estabilidade das nanopartículas também foi acompanhada durante os ensaios de liberação pela técnica de Espalhamento Dinâmico de Luz (*Dynamic Light Scattering* – DLS), conforme descrito na seção 3.2.1.4.1 (diluição 1:10 em água deionizada).

3.2.1.3 Estabilidade do fármaco em solução de SDS

A estabilidade do fármaco em solução aquosa de SDS 5% (m/m), utilizada como extrapolação da concentração do meio de liberação, foi acompanhada por absorbância em espectrofotômetro UV-Vis (Ziomkowska et al., 2006) sob comprimento de onda 368 nm, em cubeta de quartzo. Foram analisadas 3 condições diferentes, todas em frasco de vidro com tampa: (i) a 37 °C, em estufa, protegido da luz; e (ii) em temperatura ambiente protegido da luz e (iii) não protegido da luz.

3.2.1.4 Caracterização

Exceto para as análises de tamanho médio de partícula e TEM – as quais utilizaram alíquotas do látex que, após sua produção, foram armazenados sob refrigeração de 4 °C – para DSC, FTIR e DRX, o látex foi seco a 37 °C até massa constante. Quando pertinente, as análises da lecitina e camptotecina foram conduzidas utilizando esses materiais conforme recebidos; e para o PCL, 0,3 g foram dissolvidos em 10 g de DCM e a amostra foi seca a 37 °C até massa constante, para recriar as condições de evaporação do solvente da produção de NPs.

3.2.1.4.1 *Tamanho médio de partículas (Dp)*

O diâmetro médio, em intensidade, e o índice de dispersão (PDI) das gotas (antes da evaporação do solvente) e das partículas do látex produzidos foram analisados por DLS com o auxílio do equipamento Zetasizer Nano-S (Malvern Instruments). Previamente à análise, a amostra foi diluída para uma proporção aproximada de 1:10 com água deionizada e utilizou-se uma cubeta de vidro para a leitura.

3.2.1.4.2 *Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM)*

O tamanho das partículas e a sua morfologia foram analisados por TEM no equipamento JEM-1400 TEM 120 kV (Jeol). Para a análise, o látex foi diluído para 0,01% de teor de sólidos e uma única gota foi pingada em um grid de cobre recoberto de carbono. As amostras foram secas em temperatura ambiente antes da análise. Imagens foram capturadas de diferentes regiões do grid para garantir a representatividade da análise.

3.2.1.4.3 *Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)*

Para a análise das propriedades térmicas das NPs produzidas, e a possível interação do fármaco e surfactante com o polímero, empregou-se a técnica de DSC utilizando um calorímetro diferencial de varredura modelo DSC 6000 AS (Perkin Elmer). As amostras foram submetidas a uma primeira rampa de aquecimento de 0 a 230 °C, com uma taxa de aquecimento de 10 °C/min, tendo sido mantido a 230 °C por 3 min. As amostras foram então resfriadas, sob mesma taxa, até -30 °C, e então submetidas a uma segunda rampa de aquecimento, agora até 250 °C.

A cristalinidade (X_c) das amostras foi determinada utilizando os dados extraídos da primeira rampa de aquecimento e utilizando a Equação 3, conforme proposto por Lyu; Lee; Han (2019).

$$X_c(\%) = \frac{\Delta H_m}{\Delta H_m^o} \times 100 \quad (3)$$

Onde ΔH_m representa a entalpia de fusão obtida durante a análise (J/g) e ΔH_m^o a entalpia de fusão do PCL 100% cristalino (136,1 J/g).

3.2.1.4.4 *Espectroscopia Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)*

Para detectar possíveis interações entre os compostos presentes nas formulações, os picos característicos das ligações químicas desses materiais foram obtidos por meio da técnica de FTIR, no equipamento Spectrum Two FT-IR Spectrometer (Perkin Elmer). As amostras foram analisadas por refletância total atenuada (ATR) com ponteira de cristal de diamante, com varreduras na faixa de 4000 a 550 1/cm e resolução de 1 1/cm.

3.2.1.4.5 *Difração de Raios X (DRX)*

O domínio cristalino das NPs obtidas foi analisado por DRX, no equipamento MiniFlex600 DRX (Rigaku). As amostras, foram analisadas no intervalo de 5 a 90° com um passo de 0,05° em uma velocidade de varredura de 10°/min.

3.2.2 **DISPOSITIVO DE LIBERAÇÃO LOCAL (DDS)**

O dispositivo de liberação local aqui proposto tem como estrutura uma esfera de nanocelulose bacteriana, que posteriormente foi injetada com o látex formulado.

3.2.2.1 ***Estrutura - esferas de nanocelulose bacteriana (BNCS)***

A produção das esferas de nanocelulose bacteriana (*bacterial nanocellulose spheres* – BNCS) seguiu a metodologia previamente proposta por Fucina et al. (2022). Em suma, 1 mL das cepas de *G. hansenii*, armazenadas no ultrafreezer (Glacier Ultralow Temperature Freezer) a -80 °C, foram reativadas em 9 mL de meio de

manutenção e deixadas em estufa bacteriológica – BOD (Nova Ética) a 26 °C por 7 dias. O meio de manutenção, conhecido como meio manitol, possui composição de: 25 g/L de manitol; 5 g/L de extrato de levedura e 3 g/L de peptona. O meio manitol teve seu pH corrigido para 6,5 e foi autoclavado por 15 min a 121 °C antes do uso.

Decorrido o tempo, uma alíquota de 5 mL dessa solução de reativação foi repassada para 45 mL de meio manitol, e novamente mantido na BOD por 7 dias. Essa solução foi denominada de pré-inóculo. Para a produção do inóculo, 30 mL da solução de pré-inóculo foram passados para um frasco Schott de 500 mL e seu volume foi completado para 300 mL com meio manitol. O inóculo foi novamente incubado por 7 dias na BOD.

Para a produção das esferas, utilizou-se frascos Erlenmeyer de 125 mL, e o crescimento foi conduzido sob condições não-estáticas, em shaker de incubação com agitação orbital (Shaker Incubator, Tecnal) por 3 e 6 dias a 26 °C, com rotação de 102 rpm. Cada frasco recebeu 50 mL de uma solução de 10% do inóculo em meio de produção, conhecido como meio mínimo e com composição de: 4,64 g/L de fosfato de sódico dibásico; 2,4 g/L de fosfato de potássico monobásico; 0,19 g/L de sulfato de magnésio heptahidratado; 0,03 g/L de cloreto de cálcio dihidratado; 0,40 g/L de cloreto de amônio e 4,5 g/L de glicose. O meio novamente teve seu pH corrigido para 6,5 e esterilizado em autoclave antes do uso.

Para a purificação das esferas, imediatamente após o fim da produção, as BNCS foram submersas em solução de NaOH 0,1 M e deixadas por 24 h. Decorrido o tempo, as esferas foram sucessivamente lavadas com água deionizada até atingir pH 7. Posteriormente, as esferas foram autoclavadas a 121 °C por 15 min e mantidas sob refrigeração a 4 °C até serem utilizadas.

3.2.2.1.1 *Espessura de fibra e porosidade*

As fibras de celulose que compõe a estrutura das esferas e a porosidade foram determinadas por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV). Para preservação da estrutura, previamente à análise, as esferas foram secas pela técnica de ponto crítico (Zimmermann et al., 2016). Para utilizar essa técnica, as esferas foram

submersas por 30 min em soluções de etanol com graduações crescentes de 10 a 100%. Após o banho na solução de álcool 100%, o qual foi repetido duas vezes, as amostras foram secas em câmara de secagem por ponto crítico (EM CPD 030, Leica) utilizando CO₂. Foram realizadas 12 injeções de gás a 4 °C e 50 bar, para garantir a remoção completa do etanol. Posteriormente, as esferas foram cortadas com lâmina de bisturi, fixadas ao *stub* com fita de carbono e recobertas em ouro (EM SCD500, Leica). As amostras foram observadas sob um feixe de 10 kV do microscópio (Vega, Tescan) com magnificações de 25x a 50.000x. O tratamento das imagens foi feito com auxílio do software ImageJ.

3.2.2.1.2 *Teor de umidade*

Para a determinação do teor de umidade das BNCS, três amostras foram inicialmente pesadas e, após a remoção do excesso de água superficial com uma gaze, foram postas sobre um papel filtro (previamente pesado e seco) para secagem em estufa de convecção forçada a 60 °C. Acompanhou-se a massa do sistema (esfera + papel) até que se fosse constatada constante. Posteriormente, o filme de celulose foi separado do papel e pesado em microbalança analítica (CPA2P, Sartorius). O teor de umidade foi determinado descontando o peso do filme seco da massa inicial da esfera. Toda a perda de massa foi atribuída à evaporação da água.

3.2.2.1.3 *Difusão do fármaco livre nas BNCS*

A resistência à difusão imposta pela trama de fibras internas da BCNS foi avaliada por absorvância em espectrofotômetro UV-Vis. Com uma seringa de agulha de calibre 30G (0,3 mm), injetou-se 100 µL de uma solução aquosa de SDS 5% com concentração conhecida de camptotecina no centro da esfera. Após a injeção, a difusão do fármaco foi conduzida em 4 mL de uma solução aquosa de SDS 5% em frasco com tampa dentro de estufa a 37 °C. Em intervalos de tempo pré-determinados, uma alíquota do meio foi retirada para leitura de absorvância em espectrofotômetro UV-Vis com uma cubeta de quartzo. Após a leitura, a alíquota foi retornada ao frasco.

O ensaio foi conduzido em triplicata e a concentração do meio foi novamente calculada a partir da absorbância, por meio da curva de calibração previamente apresentada. O cálculo da concentração foi feito utilizando a Equação 4.

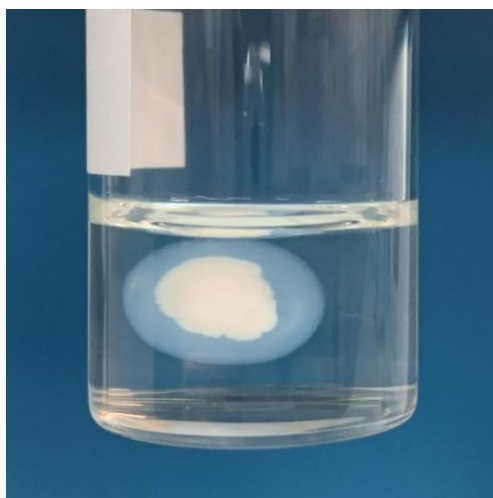
$$LE_t(\%) = \frac{C_{CC}}{\frac{m_{EFI}}{(m_E \times \omega) + V_{SDS}}} \times 100 \quad (4)$$

Onde LE_t corresponde à liberação na esfera para determinado tempo t ; C_{CC} , à concentração calculada pela curva de calibração ($\mu\text{g/mL}$); e m_{EFI} , à massa experimental real de fármaco injetado na esfera (μg); m_E , à massa da esfera (μg); ω , ao teor de umidade da esfera ($\text{mL}/\mu\text{g}$); e V_{SDS} , ao volume de solução SDS utilizado (mL).

3.2.2.2 Liberação do DDS

O DDS (Figura 8) foi então obtido com a injeção de 100 μL dos látex poliméricos obtidos – com uma agulha calibre 30G (0,3 mm) – no centro das esferas de nanocelulose bacteriana. Cada BCNS produzida apresentou, quando entumecida, um volume médio de 300 μL , de forma que o látex passou a compor $\frac{1}{3}$ desse volume.

Figura 8 - Foto do dispositivo de liberação controlada (látex polimérico incorporado às BNCS)



Fonte: Elaborado pelos autores.

A liberação do fármaco encapsulado foi conduzida conforme apresentado na seção 3.2.2.1.3 com apenas algumas modificações. A alíquota, antes de ser analisada em UV-Vis, foi centrifugada por 20 min a 13.400 rpm para a separação de possíveis NPs livres presentes no meio de liberação (aquelas que saíram das esferas) as quais poderiam interferir na leitura. Mantendo a concentração da liberação *in vitro* das NPs, optou-se por conduzir a liberação com solução aquosa de SDS com concentração de 0,5% (m/m).

Todos os ensaios foram realizados com, no mínimo, 3 esferas por látex produzido. Como branco para as leituras de absorbância, foi utilizada uma alíquota do meio de liberação de BNCS injetada com látex polimérico sem fármaco. A concentração de fármaco liberado foi novamente calculada por absorbância e a liberação foi calculada utilizando a Equação 4 apresentada anteriormente.

Para acompanhar a liberação na esfera de forma visual, uma nova formulação de NPs foi realizada substituindo a mesma quantidade de CPT por Coumarin 6 – um corante fluorescente sintético. Devido à sua coloração vibrante, a difusão pode ser acompanhada de forma visual. Adicionalmente, para avaliar a influência do meio de liberação, usou-se – além da solução de SDS 0,5% – solução de SDS 5%, água deionizada e solução salina tamponada com fosfato (PBS 25 mM, pH = 7).

Para quantificar a liberação das NPs do interior das BNCSs, substituiu-se o meio de liberação (SDS 0,5%) por PBS – a fim de usar um meio isotônico ao fisiológico, porém onde o Coumarin (hidrofóbico) possua baixa solubilidade. A cada 24 h, o meio de liberação foi renovado e duas alíquotas foram separadas, uma para a determinação da concentração (mg/mL) de látex vazado e a outra para leitura de DLS, para verificação da presença de NPs. A concentração das NPs foi calculada por absorbância utilizando uma curva de calibração das NPs em PBS (Anexo II – Figura A4). O comprimento de onda utilizado (445 nm) foi determinado por uma varredura (Anexo I – Figura A2), e a leitura foi realizada utilizando uma cubeta de quartzo. A leitura de DLS seguiu a metodologia descrita na seção 3.2.1.4.1 (diluída com água deionizada para 1:10).

O cálculo foi realizado conforme a equação 5 a seguir.

$$LA_{NP,t}(\%) = \frac{\sum C_{CC,t} \times V_{SDS,t}}{M_{\text{látex},i}} \times 100 \quad (5)$$

Onde $LA_{NP,t}$ corresponde à liberação acumulada de NPs em determinado tempo t ; $C_{CC,t}$, à concentração calculada pela curva de calibração (mg/mL) em determinado t ; $V_{PBS,t}$, ao volume de solução PBS utilizado (mL) como meio de liberação no tempo t ; e $M_{\text{látex},i}$ ao volume de látex inicialmente injetado na esfera (mg).

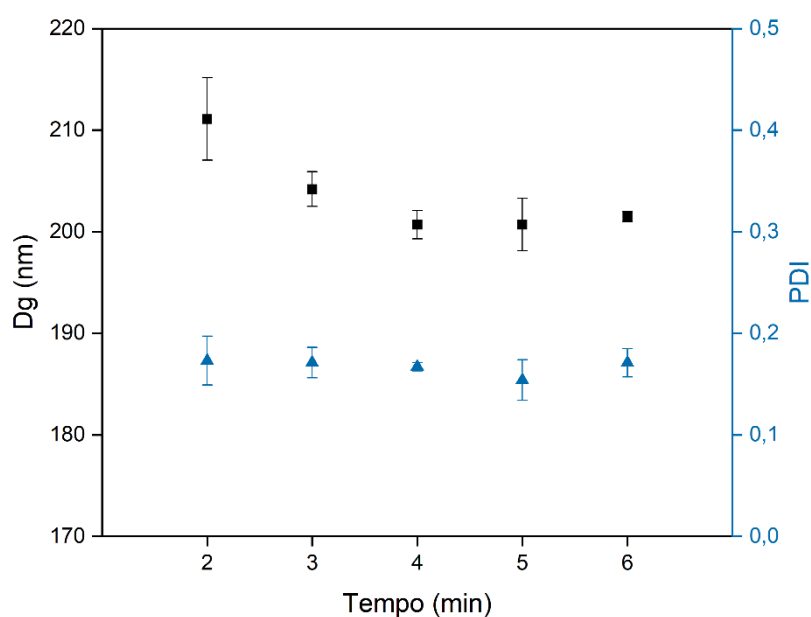
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 NANOENCAPSULAÇÃO DA CAMPOTECINA

O início do estudo se deu com a investigação da influência do tempo de dispersão do sistema (na ponteira de ultrassom) no tamanho de partícula. A análise foi realizada por DLS e os experimentos foram conduzidos utilizando a formulação NP-B (sem fármaco). O estudo que serviu de base para a formulação (Leimann et al., 2015) – com a mesma proporção de fase orgânica e aquosa – utilizou um dispersor ultrassônico de 120 W e, com uma ponteira de 1/8", aplicou o ultrassom com uma amplitude de 100% por 3 min. No estudo, os autores obtiveram diâmetro de partícula (Dp) de 218 nm com um índice de dispersão (PDI) de 0,1.

Tendo em vista as diferenças de equipamento e tamanho de ponteira utilizadas nesse trabalho (dispersor de 500 W com uma ponteira de 1/2"), testou-se uma amplitude de 70% e um intervalo de tempo 2 a 6 min, com amostragem a cada 1 min. Os resultados de diâmetro de gota (Dg) e PDI obtidos estão expostos no gráfico da Figura 9 abaixo.

Figura 9 - Influência do tempo de dispersão no diâmetro de gota (Dg) e PDI



Fonte: Elaborado pelos autores.

A análise do gráfico permite observar que em 2 min, um tempo menor que aquele proposto pelo trabalho referência, foram obtidas gotas de tamanho próximo, com D_g de 211 ± 4 nm. Aumentando o tempo para 4 min, foi possível alcançar um D_g de 201 ± 3 nm, sendo esse o menor tamanho obtido na faixa de tempo avaliada. Em tempos maiores, o tamanho médio permaneceu praticamente constante. Apesar de não ter sido observado no sistema proposto com as condições de dispersão avaliadas, um excesso de energia fornecido ao sistema poderia levar à coalescência das gotas devido à elevada tensão de cisalhamento e choque entre estas (Asua, 2002).

Também do gráfico anterior, observam-se valores de PDI menores que 0,2 para todos os tempos avaliados, indicando um sistema monodisperso e estável (Antonietti; Landfester, 2002). Assim, prezando pelo tamanho e eficiência energética, determinou-se que o tempo de dispersão na ponteira utilizada para as formulações nas condições adaptadas seria de 4 min.

Outro fator avaliado e de importância, não apenas para a estabilidade do sistema como para sua futura aplicação biomédica, foi o tempo de evaporação do solvente. Tendo em vista que a temperatura também afeta a estabilidade da camptotecina (Ziomkowska et al., 2006), optou-se por conduzir a evaporação a 37°C , evitando expor o fármaco a temperaturas maiores àquela do corpo humano.

Durante a evaporação, acompanhou-se o tamanho de partícula e a massa do sistema a fim de otimizar o tempo necessário para essa etapa. Desconsiderando a evaporação da água, o sistema, após a evaporação completa do diclorometano, passa a ser composto por água (24 g); PCL (0,3 g); e lecitina (0,175 g), totalizando 24,48 g. A Tabela 1 a seguir apresenta os valores de diâmetro de partícula (D_p), PDI e a massa do sistema obtidos durante essa etapa do processo.

Tabela 1 - Tamanho de partícula e massa do sistema durante a evaporação do solvente

Tempo (h)	Dp (nm)	PDI	Massa (g)
0	184 ± 28,1	0,12 ± 0,01	28,11
4	200 ± 26,0	0,18 ± 0,01	25,96
5	200 ± 25,1	0,19 ± 0,01	25,08
6	198 ± 24,5	0,17 ± 0,02	24,49

Fonte: Elaborado pelos autores.

Pelo acompanhamento da massa do sistema, constatou-se que o tempo mínimo de evaporação deve ser de 6 h, período em que o sistema atinge uma massa equivalente àquela com a completa remoção do solvente (24,48 g). Entretanto, tendo em vista que a presença de solvente residual nas NPs, é tóxico e pode levar à instabilidade das partículas (Dikpati et al., 2020) – e que durante o processo de evaporação ocorre perda de água, mesmo que em menor quantidade – a evaporação foi conduzida por um período maior (12 h), isto é, até que a massa do sistema alcançasse 19 g.

Apesar da possível coalescência das gotas durante a evaporação do solvente (Rao; Geckeler, 2011) as nanopartículas apresentaram Dp e PDI estáveis durante o processo. A manutenção desses valores está de acordo com o mecanismo apresentado por Staff et al. (2013), que propõe que ambos os parâmetros são definidos durante o processo de dispersão das gotas e posteriormente mantidos durante a remoção do solvente.

Assim sendo, o tempo de dispersão na ponteira de 4 min e a massa final de 19 g após evaporação do solvente foram padronizados e utilizados em todas as miniemulsões realizadas nesse trabalho. Na Tabela 2 a seguir apresentam-se os valores médios obtidos de diâmetro de gota (antes da remoção do solvente, Dg) e de partícula (depois da remoção do solvente, Dp), seus respectivos PDIs, e de eficiência de encapsulação (EE) entre todos os experimentos realizados, que, para todas as formulações, foram mais de 4 ($n > 4$).

Tabela 2 – Valores médios de Dg, Dp, PDI e EE dos látex produzidos (n>4)

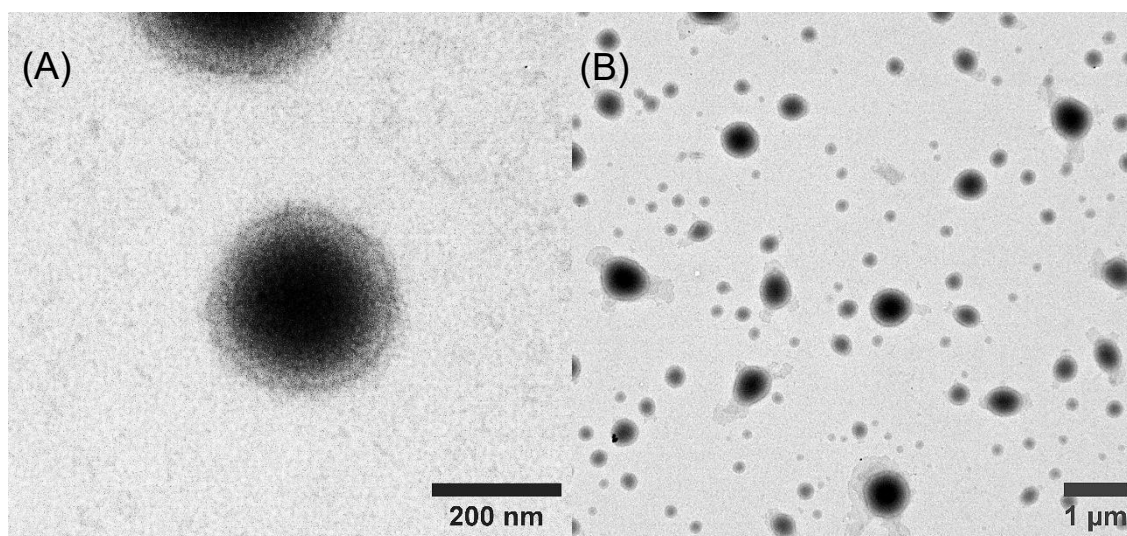
NP	Dg (nm)	PDI (Dg)	Dp (nm)	PDI (Dp)	EE (%)
NP-B	194 ± 4	0,14 ± 0,01	197 ± 2	0,15 ± 0,01	-
NP-CPT	197 ± 3	0,16 ± 0,01	200 ± 4	0,18 ± 0,02	98,6 ± 0,5
<i>Estabilidade após 20 dias sob refrigeração de 4 °C</i>					
NP-B	-	-	199 ± 2	0,17 ± 0,03	-
NP-CPT	-	-	196 ± 2	0,19 ± 0,01	98,8 ± 0,4

Fonte: Elaborado pelos autores.

Novamente os valores de Dp não possuem diferença significativa comparados aos valores de Dg, o que confirma a estabilidade do sistema após a evaporação do solvente. O mesmo pode ser dito dos valores de PDI, os quais permaneceram na faixa de um sistema monodisperso. Além disso, a presença do fármaco não afetou de forma significativa os valores de Dg, Dp e seus respectivos PDIs. Tendo em vista que a carga de fármaco encapsulado, o *loading*, não ultrapassou 1% (m/m), não era de se esperar que sua presença fosse interferir de forma significativa. Adicionalmente, os desvios padrões obtidos apontam para uma elevada reprodutibilidade nas condições experimentais propostas.

O látex também se mostrou estável após 20 dias armazenado sob refrigeração de 4 °C. Entretanto, amostras que foram congeladas apresentaram separação de fase após o seu descongelamento, indicando que a formação de cristais de gelo interfere na estabilidade do sistema. Esse fenômeno é reportado na literatura para outras formulações de NPs de PCL (Choi et al., 2004; Saez et al., 2000), assim como em outras miniemulsões estabilizadas com lecitina (Donsì; Wang; Huang, 2011). Para evitar este fenômeno, o uso de crioprotetores como trealose ou glicose surge como uma interessante alternativa nos casos em que há a necessidade de congelamento do látex e posterior ressuspensão.

Figura 10 - Micrografias de TEM das NP-B com escala de (A) 200 nm e (B) 1 μ m



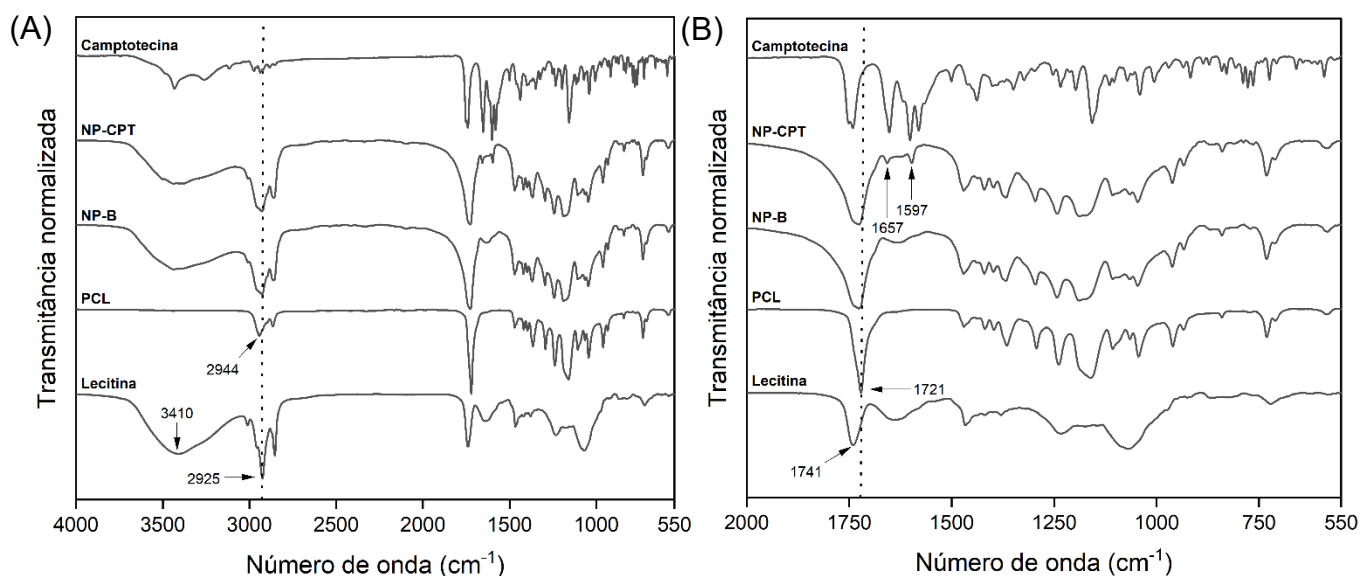
Fonte: Elaborado pelos autores.

Para observar a morfologia das NPs, os látex foram analisados por TEM (Figura 10). As micrografias obtidas permitiram confirmar morfologia esférica, com diâmetro médio de 200 nm e dispersão de tamanho moderada, sendo condizente com os resultados obtidos por DLS. As NPs apresentaram um halo de baixa densidade eletrônica em sua borda, possivelmente devido ao revestimento superficial da lecitina usada como surfactante em uma proporção mássica elevada. A integridade das nanopartículas individualizadas e a ausência de sinais claros de coalescência apontam para a estabilidade do sistema produzido, conforme constatado anteriormente.

Quanto à EE obtida, observou-se valores maiores a 98% em todas as miniemulsões produzidas, resultando em um valor médio de $99 \pm 1\%$. Devido à elevada hidrofobicidade da camptotecina e a preferência do surfactante utilizado – a lecitina – pela fase orgânica, altos valores de EE eram esperados. Leimann et al. (2015) ao encapsularem progesterona, também de elevada hidrofobicidade, obtiveram uma EE de 99,5%. Além disso, outros estudos que empregaram a técnica de miniemulsificação-evaporação de solvente para encapsular camptotecina em nanopartículas poliméricas também obtiveram elevados valores de EE ($> 85\%$) (Liu et al., 2009; Saucier-Sawyer et al., 2015; Xiao, Bo et al., 2015).

Visando aplicações biomédicas, é fundamental garantir a estabilidade da encapsulação para evitar a liberação durante o armazenamento. Isso assegura que o fármaco chegue nas células na concentração desejada, uma vez que, se liberado antes da administração, pode vir a perder sua atividade. Assim, a EE foi reavaliada após o armazenamento do látex sob refrigeração por 20 dias. O elevado valor encontrado, $98,8 \pm 0,4\%$, é um indicativo da estabilidade do sistema, de forma que o fármaco permanece eficientemente encapsulado nas NPs com o passar do tempo pelo período avaliado.

Figura 11 - Espectro de FTIR das nanopartículas de PCL e seus componentes (A) do comprimento de onda 4.000 a 550 cm^{-1} e (B) de 2.000 e 550 cm^{-1}



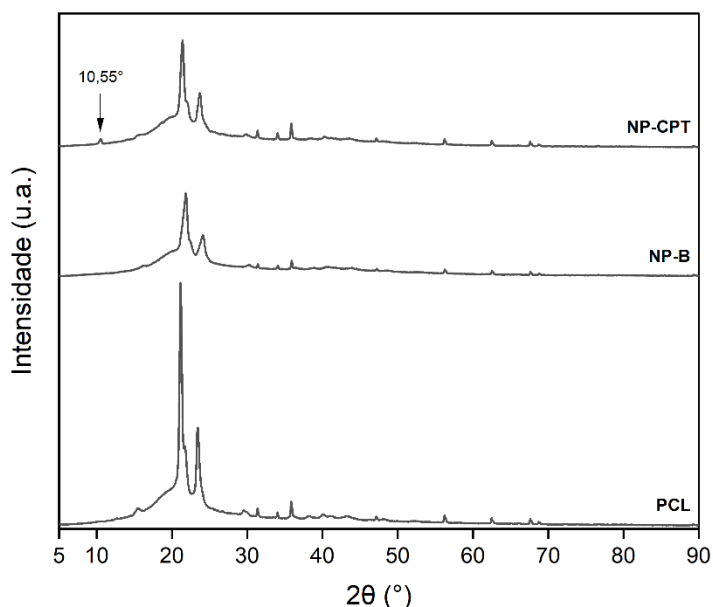
Fonte: Elaborado pelos autores.

Pela análise de FTIR (Figura 11), nota-se a presença de bandas com picos em 2944 e 2925 cm^{-1} no PCL e lecitina, respectivamente, correspondentes ao estiramento das ligações $-\text{CH}_2$ presentes em ambos (Dankar et al., 2018; Elzein et al., 2004). De forma análoga, a presença de grupos $\text{C}=\text{O}$, também comum às duas, é indicada pelas bandas com picos em 1721 e 1741 cm^{-1} (Deshkar et al., 2025; Matson et al., 2019). Ainda, Taamallah et al. (2025) associaram a banda em 1740 cm^{-1} ao domínio amorfo, enquanto a banda com pico bem definido em 1720 cm^{-1} foi atribuída ao domínio cristalino. Dessa forma, a presença desses grupos em sobreposição nos

espectros das formulações NP-B e NP-CPT, sem deslocamentos, aponta para uma possível mistura puramente física entre os componentes, sem indícios de interação química entre a lecitina e o PCL, conforme esperado.

Por sua vez, no espectro da formulação NP-CPT, observou-se a presença de bandas com picos em 1657 e 1597 cm^{-1} , os quais não são encontrados no espectro das NP-B. Esses picos podem ser atribuídos à presença da camptotecina nas NPs, sendo relacionados, respectivamente, à presença do grupo amida cíclica e aos anéis aromáticos (estiramento das ligações $\text{C}=\text{C}$ do anel) do fármaco (Kumari, Priyanka; Meena, 2021; Wall et al., 1966). Os picos, quando comparados ao espectro da CPT – originalmente em 1652 e 1602 cm^{-1} – apresentam pequenos deslocamentos (5 cm^{-1}), apontando para uma possível interação química entre o fármaco e os componentes das NPs. Essa interação entre o fármaco e a matriz polimérica é usualmente constatada na literatura e pode ser relacionada a uma eficiente encapsulação do fármaco (Kumari, Priyanka; Meena, 2021; Swaminathan et al., 2010).

Figura 12 - Gráficos de espectro de DRX das NPs de PCL e do PCL



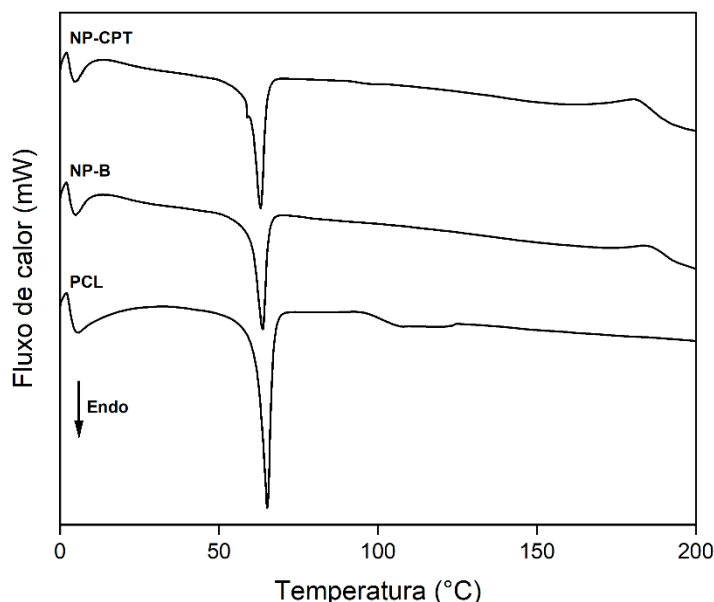
Fonte: Elaborado pelos autores.

No difratograma de DRX (Figura 12) observam-se picos cristalinos bem definidos em ambas as NPs produzidas, com perfis muito similares ao do polímero em

sua forma de filme. Esses picos bem definidos encontrados em 21,15 e 23,4° são comumente reportados na literatura a respeito do PCL (Amna et al., 2013; Deshkar et al., 2025). Entretanto, apesar de não ter sido observado deslocamento dos picos, nota-se uma considerável redução em suas intensidades. Na formulação, a lecitina representa 37% (m/m) do teor de sólidos das NPs, de forma que sua natureza amorfa não interferiu no plano de refração dos raios-X, apenas na sua intensidade. Esse comportamento também foi observado por Taamallah et al. (2025) que, utilizando polihidroxibutirato (PHB), conduziram um estudo comparativo quanto à influência de plastificantes como PEG, glicerol, fosfato de potássio e lecitina em filmes de PHB. De forma análoga, o estudo reportou uma redução da intensidade dos picos característicos do PHB com a adição dos plastificantes, porém mantendo seus valores e perfil.

Além disso, destaca-se, do difratograma obtido para a NP-CPT, um pequeno pico em 10,55°, possivelmente relacionado à camptotecina – uma vez que essa apresenta elevada cristalinidade (Amna et al., 2013; Wall et al., 1966). A baixa intensidade do pico está relacionada ao baixo *loading* do fármaco e a ausência de deslocamento nos picos previamente observados indica que não houve interação do fármaco com a matriz.

Figura 13 - Gráfico da curva da primeira rampa de aquecimento da análise de DSC das NPs de PCL e do PCL



Fonte: Elaborado pelos autores.

Por sua vez, a análise de DSC (Figura 13) permitiu observar um comportamento térmico diferente entre as NPs e o polímero em sua forma isolada. Experimentalmente, a temperatura de fusão (*melting temperature* – T_m) do PCL foi determinada em 61,6 °C, a qual não apresentou diferença significativa quando comparada à T_m de 60,2 e 59,4 °C encontradas para a NP-B e NP-CPT, respectivamente. De forma similar, malhas eletrofiadas de PCL com lecitina em proporções de 30, 40 e 50% (m/m) não apresentaram diferenças significativas na T_m para as diferentes proporções de lecitina e o valor médio foi determinado em 53,7 °C (Matson et al., 2019).

Por outro lado, quanto à cristalinidade (X_c), a presença da lecitina implicou em maiores efeitos do que o observado na T_m , corroborando com o comportamento observado no DRX. A integral dos picos calculadas na primeira rampa de aquecimento resultou em valores de entalpia de fusão de 87,04 J/g para o PCL e 49,78 e 53,23 J/g para NP-B e NP-CPT, respectivamente. Assim, X_c foi determinada em 64, 37 e 39% para o PCL, NP-B e NP-CPT. De forma comparativa, a presença da lecitina levou à uma diminuição de 43 e 39% da cristalinidade, respectivamente. Tendo em vista a

natureza plastificante da lecitina (Taamallah et al., 2025; Vieira et al., 2011; Wohlfart et al., 2011) e a sua elevada proporção mássica na formulação utilizada, a variação observada na cristalinidade está relacionada à introdução da lecitina entre as cadeias poliméricas, o que aumenta a mobilidade molecular e dificulta o empacotamento ordenado necessário para a formação das regiões cristalinas (Flory, 1953). A pequena diferença (2%) constatada entre as formulações NP-B e NP-CPT não foi considerada significativa, sendo atribuída à variabilidade experimental.

Efeitos similares foram novamente observados por Taamallah et al. (2025). Utilizando 20% em massa dos plastificantes, na análise térmica dos filmes obtidos, a lecitina se destacou com o maior efeito plastificante, levando a uma redução de 50% da cristalinidade quando comparado ao PHB isolado. Os autores também relataram uma redução de 9 °C na temperatura de cristalização (T_c). Esse efeito foi ainda mais pronunciado na formulação utilizada neste trabalho, tendo diminuído de 32,05 °C (PCL) para 18,18 °C na NP-B (Anexo III – Figuras A5 e A6). Para a NP-CPT, esse valor diminuiu ainda para 9,68 °C, porém a entalpia de cristalização calculada foi muito próxima da determinada para NP-B, de forma que essa diferença não foi julgada significativa (Anexo III – Figura A7).

Apesar de alguns trabalhos relatarem o efeito plastificante relacionado à camptotecina (Amna et al., 2013) ou até a formação de uma nova estrutura cristalina (Swaminathan et al., 2010); sua presença, conforme esperado, não pareceu interferir na formulação proposta, tendo em vista o menor *loading* utilizado quando comparado a esses estudos. Ao passo que as análises de FTIR e DRX comprovam a sua presença, não foram constatadas diferenças significativas entre as análises conduzidas para a NP-B e NP-CPT, de forma que a presença do fármaco não comprometeu ou afetou a integridade da formulação.

4.1.1 Liberação *in vitro* do fármaco das NPs

Os ensaios de liberação *in vitro* foram conduzidos para avaliar a resistência imposta pela matriz poliméricas das NPs à difusão do fármaco. Para isso, e tendo em vista a elevada hidrofobicidade do fármaco, optou-se por empregar uma solução

aquosa de SDS como meio de liberação. A presença das micelas na solução cria uma situação de tanque diluído, de forma a aumentar a solubilidade de compostos hidrofóbicos devido à sua natureza anfifílica. O uso de soluções com surfactantes como meio de liberação é uma prática comum ao trabalhar com compostos hidrofóbicos (Chawla; Amiji, 2002; Çırpanlı et al., 2011; Nalluri et al., 2015).

Dessa forma, em um primeiro momento, foram conduzidos estudos preliminares para avaliação da estabilidade do fármaco na presença do surfactante escolhido (SDS) e determinação da concentração do meio. No estudo conduzido por Ziomkowska et al. (2006), os autores avaliaram a desativação da camptotecina (da sua forma lactona ao carboxilato) por meio de técnicas de fluorescência e absorbância, avaliando o efeito da temperatura e pH. A taxa de desativação se mostrou dependente de pequenas variações na temperatura – sendo mais acelerada a 37 °C do que a 23 °C – e ao pH, sofrendo hidrólise preferencialmente em meio básico. Entretanto, os autores ressaltam a praticidade e confiabilidade dos resultados obtidos por fluorescência e absorbância, se mostrando como técnicas promissoras no estudo da camptotecina.

Por sua vez, Hao et al. (2022) investigaram a desativação da camptotecina em água salgada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (*High Performance Liquid Chromatography* – HPLC), analisando, principalmente, a influência da incidência da luz. Nos resultados obtidos, a fotólise se mostrou 100x mais rápida que a hidrólise nas condições avaliadas. Apesar do diferente meio analisado (ambiente marinho simulado) os autores discutem a presença de um grupo cromóforo (anel planar tetracíclico A-D) na camptotecina que absorve luz e que pode estar relacionado à rápida fotodegradação observada. Assim, optou-se por avaliar a estabilidade do fármaco em relação à presença de luz e à temperatura nas condições em que estaria exposto durante esse trabalho.

Tabela 3 - Leitura de absorvância da camptotecina em solução de SDS 5% para determinação da estabilidade do fármaco

Tempo (h)	Abs (37 °C)	Abs (T_{amb})	
		Sem luz	Com luz
0	1,15	1,15	1,15
1	1,15	1,15	1,15
2	1,14	1,14	1,14
3	1,15	1,15	1,15
24	1,15	1,15	1,15
48	1,15	1,15	1,15
72	1,15	1,15	1,15
96	1,16	1,15	1,15
120	1,16	1,15	1,15
144	1,16	1,15	1,15
168	1,16	1,15	1,15

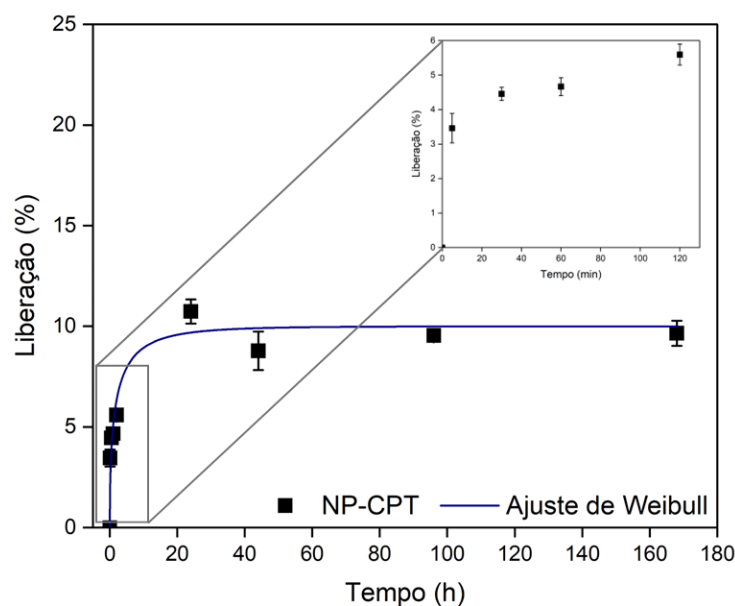
Fonte: Elaborado pelos autores.

Pela Tabela 3 observa-se que, nos estudos conduzidos no presente trabalho, utilizando-se a técnica de absorvância, não houve variações significativas ao longo de 7 dias, independentemente de temperatura ou incidência de luz. Devido à presença de picos de absorção similares em sua forma lactona e carboxilato (Ziomkowska et al., 2006), essa técnica não seria suficiente para identificar a forma presente; entretanto, tendo em vista que o objetivo é quantificar o fármaco, a técnica se mostrou adequada.

Para a determinação da concentração do meio de liberação, iniciou-se com valores de concentração de SDS de 5% (m/m), conforme a metodologia utilizada por Fogolari (2017) na liberação de progesterona encapsulada em nanopartículas de polimetilmetacrilato (PMMA). Nessa concentração, no entanto, o látex não apresentou estabilidade, e após 24 h foi possível observar a formação de aglomerados no meio. Em 72 h o meio se tornou translúcido, com sedimentos no fundo do frasco e, após 96 h análises por DLS não detectaram NPs em meio. Resultados similares foram encontrados por Yang et al. (2015), que constataram que, na presença de SDS em concentrações muito acima da concentração micelar crítica – CMC (0,24% m/m) o sistema de nanopartículas apresentava rápida floculação e sedimentação devido às forças de depleção micelar. O mesmo efeito não foi observado para concentrações próximas da CMC. Assim, a concentração inicial de 5% (m/m) foi reduzida para 0,5%

(m/m) – a qual ainda representa o dobro da CMC e também é encontrada na literatura como meio de liberação para compostos hidrofóbicos (Chawla; Amiji, 2002). Esta nova concentração se mostrou adequada, sem interferir na estabilidade do sistema.

Figura 14 - Perfil de liberação *in vitro* da camptotecina encapsulada em NPs de PCL



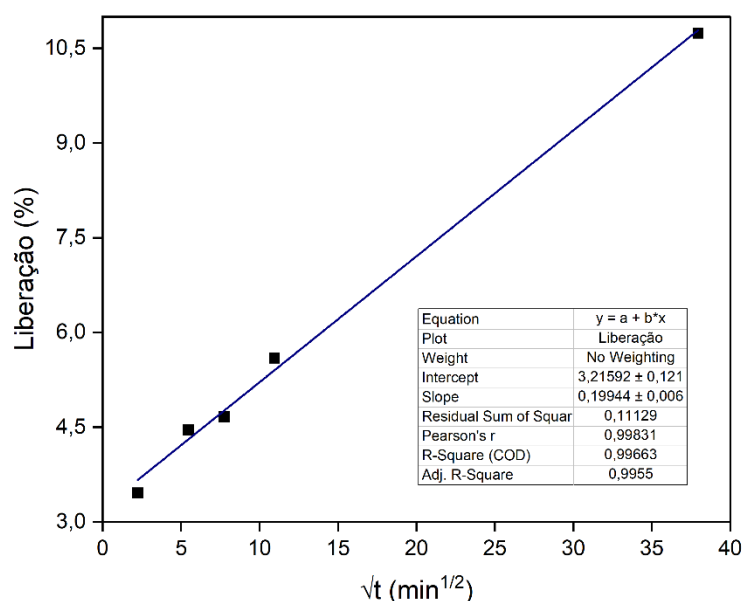
Fonte: Elaborado pelos autores.

O perfil de liberação do fármaco (Figura 14) aponta uma rápida liberação de 3% em apenas 5 min, seguido de um aumento gradual até um platô em 10% com 24h. Após 7 dias a concentração se manteve constante em 10%, de forma que a liberação desta fração do fármaco ocorreu apenas nas primeiras 24 h. O *burst release* observado pode estar associado à imediata liberação do fármaco aderido à superfície das NPs. Já a baixa quantidade liberada (10%) pode estar associada à uma forte interação entre o fármaco e o polímero. A elevada cristalinidade do polímero e a hidrofobicidade de ambos exercem um papel importante na cinética de liberação (Boyuklieva; Hristozova; Pilicheva, 2023; Çirpanlı et al., 2011).

Dos modelos cinéticos de liberação de fármacos, aquele proposto por Higuchi (1961) rapidamente se tornou um dos mais utilizados tendo em vista sua simplicidade. O modelo descreve a liberação de um fármaco a partir de uma matriz sólida como um processo controlado predominantemente por difusão, no qual a quantidade liberada

(M_t) é proporcional à raiz quadrada do tempo (t), $M_t = k\sqrt{t}$. Na equação, k é conhecida como a constante de Higuchi e corresponde ao coeficiente angular da reta. Essa constante está relacionada com a taxa de liberação do fármaco, sendo diretamente proporcional à velocidade de difusão.

Figura 15 - Ajuste linear dos dados de liberação *in vitro* da camptotecina no Modelo de Higuchi



Fonte: Elaborado pelos autores.

Assim, aplicando o modelo para avaliar a cinética de liberação nas primeiras 24 h, obtêm-se um valor de $R^2 = 0,997$, indicando um excelente ajuste do modelo (Figura 15). Assim, pode-se dizer que a liberação do fármaco é predominantemente determinada pela difusão, ou seja, pelo gradiente de concentração entre a matriz polimérica e o meio de liberação. O ajuste, entretanto, obteve uma equação com coeficiente linear diferente de zero, característico de sistemas com *burst release*, conforme observado em 5 min (Costa; Sousa Lobo, 2001).

Resultados similares foram encontrados por Palaniappan et al. (2015) que, ao produzirem nanocarreadores à base de PCL para Coumarin, usando proporções variadas de maltodextrina (MD) – um açúcar de elevada hidrofiliicidade usado como estabilizante e para a proteção do composto encapsulado – observaram um *burst*

release de 20% em todas as formulações. Entretanto, na ausência de MD, a liberação aumentou para apenas 25% em 7 dias, enquanto na formulação com a maior proporção de MD, esse valor chegou a 80%. O *burst release* foi associado à liberação do Coumarin que estava aderido à superfície das partículas; e os autores atribuíram a diferença observada na liberação com e sem MD ao fármaco eficientemente encapsulado no interior das partículas que – por serem de PCL e apresentarem elevada cristalinidade e hidrofobicidade – levariam semanas ou até meses para se decomporem no meio extracelular e liberar o fármaco retido em seu interior.

Referente à internalização das nanopartículas, tamanhos submicrométricos, preferencialmente de 50 a 200 nm, favorecem a endocitose e, tendo em vista a baixa taxa de degradação do PCL devido à sua cristalinidade e hidrofobicidade, seu uso é ideal para aplicações prolongadas. Dessa forma, o polímero atua como uma barreira física contra a degradação prematura e liberação precoce do fármaco no meio extracelular – fenômenos frequentes em matrizes de PLA ou PLGA. Assim, a nanopartícula garante que o composto encapsulado seja preservado até a internalização celular. Após a endocitose, a hidrólise das NPs é favorecida no ambiente ácido do lisossoma e pela atuação de enzimas como a esterase; liberando o fármaco diretamente no interior das células (Sabourian et al., 2020; Sánchez; Mejía; Orozco, 2020; Sisson; Ekinici; Lendlein, 2013)

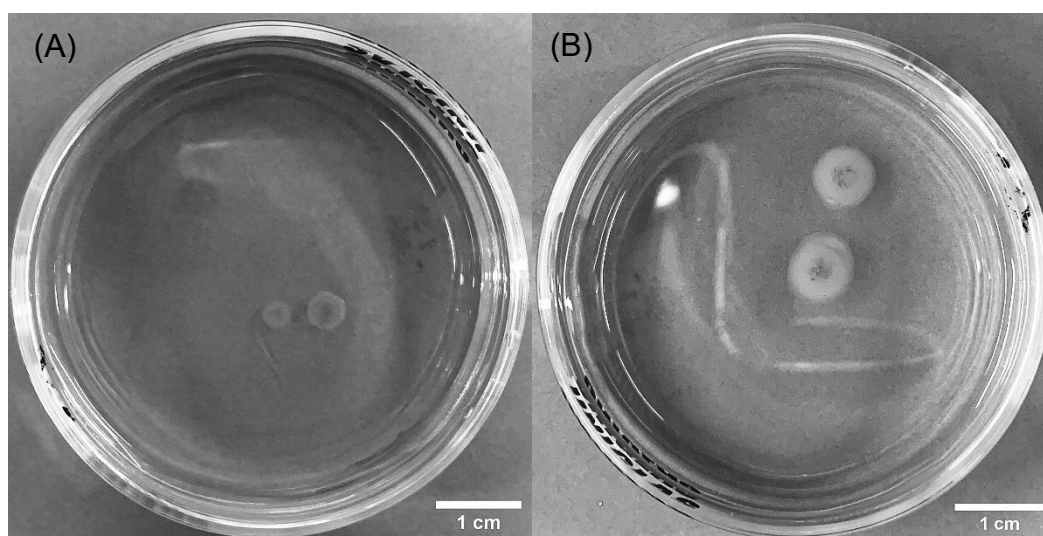
Assim, levando em consideração a instabilidade do fármaco no meio fisiológico (Ziomkowska et al., 2006) e que, para a camptotecina, é de interesse mantê-la encapsulada (de forma a manter a sua forma ativa) até a sua direta entrega às células tumorais por endocitose da nanopartícula (Weingart et al., 1995); é possível dizer que as NPs de PCL exercem o seu papel de manter o fármaco aprisionado, permitindo que ele futuramente seja entregue às células tumorais com apenas uma baixa perda do *loading* devido à difusão do fármaco impregnado em sua superfície.

4.2 DISPOSITIVO DE LIBERAÇÃO LOCAL (DDS)

4.2.1 Esferas de nanocelulose bacteriana

Partindo da metodologia proposta por Fucina et al. (2022) para a produção de esferas de nanocelulose bacteriana, ensaios preliminares produziram esferas de diâmetro menor do que o esperado. Os autores reportaram esferas com diâmetros de 6 a 10 mm, entretanto – mantendo-se todos os parâmetros experimentais como gênero da bactéria produtora, pH, temperatura, composição do meio, método de produção do inóculo, concentração celular e condições de agitação idênticos aos originalmente utilizados pelos autores – para os mesmos 3 dias de cultivo, obtiveram-se esferas com diâmetro de 3 a 5 mm (Figura 16A). Esferas de diâmetro similar aos reportados no estudo foram obtidas com 6 dias de cultivo (Figura 16B).

Figura 16 - Fotos das BNCS produzidas com (A) 3 dias e (B) 6 dias de cultivo



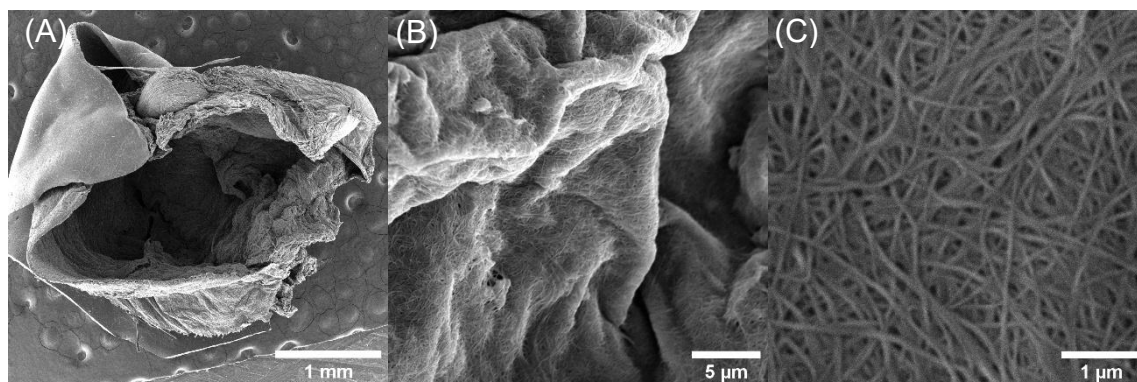
Fonte: Elaborado pelos autores.

Desconsiderando a influência de erros experimentais inerentes devido ao controle de agitação e temperatura entre os shakers utilizados; os diferentes tamanhos obtidos podem estar relacionados à passagem, ou subcultivo, da bactéria utilizada. A passagem é uma importante técnica de manutenção microbiana que consiste na passagem de uma alíquota da cultura para um meio fresco. Essa técnica

é essencial para manter a cepa viável e ativa uma vez que, ao renovar os nutrientes, ocorre uma padronização do estado fisiológico das bactérias, o que ajuda a garantir a estabilidade e reprodutibilidade experimental (Willey; Sandman; Wood, 2020). Entretanto, ela também está relacionada à produtividade da cepa, de forma que diferentes passagens de uma mesma bactéria podem apresentar diferentes produções de celulose sob as mesmas condições (Wood et al., 2022).

De forma similar, as BNCSs produzidas por Diaz-Ramirez et al. (2021), com cultivo de 7 dias e sob uma rotação de 130 rpm, apresentaram diâmetro de 8 mm; enquanto Hu; Catchmark (2010) produziram esferas de 10 mm com rotações de 150 rpm e cultivo de 5 a 6 dias. Esses resultados indicam a fácil manipulação dos tamanhos das esferas produzidas, de forma que, a depender da aplicação, diferentes tamanhos podem ser obtidos com apenas a variação do tempo de cultivo. Para padronização dos ensaios e melhor manipulação das esferas, optou-se por trabalhar com as esferas de diâmetro médio de 8 mm (6 dias de cultivo).

Figura 17 - Micrografia de MEV das BNCS com (A) 75x (B) 10.000x e (C) 60.000x de ampliação



Fonte: Elaborado pelos autores.

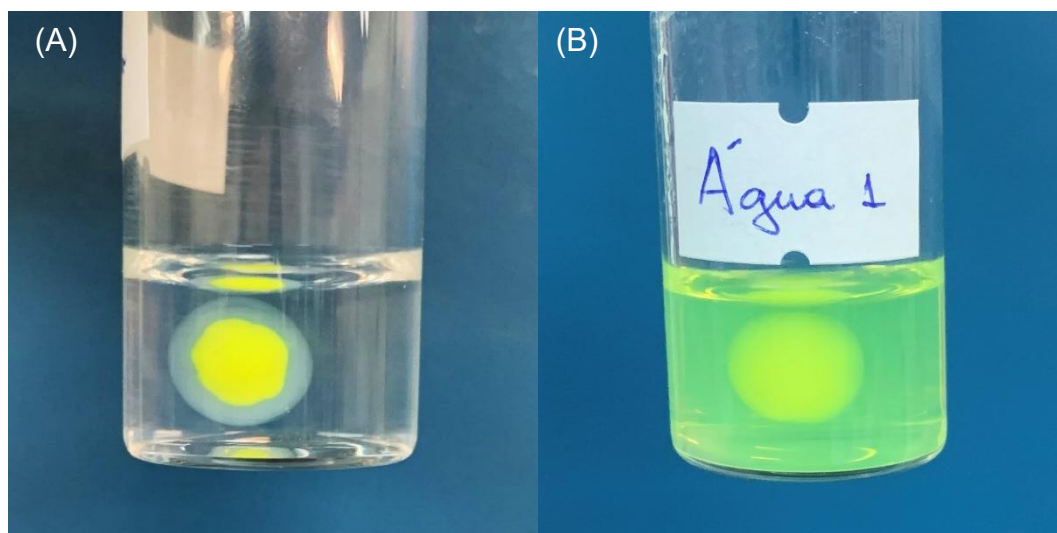
Na Figura 17A apresenta-se o corte transversal da esfera seca sob condições supercríticas, a qual permitiu a manutenção de sua estrutura 3D. Na Figura 17B é possível visualizar a sua superfície externa sob uma ampliação de 10.000x, onde é possível observar a disposição aleatória das fibras. A rugosidade observada é inerente da secagem e manipulação da amostra, quando entumecida, esta apresenta superfície lisa.

As nanofibras, de diâmetro médio determinado em 65 ± 14 nm – devido à aleatoriedade do seu processo de formação – se encontram desordenadas, dando origem a uma superfície porosa irregular. Da secção analisada (Figura 17C) foi possível determinar um diâmetro de poro médio de 33 ± 54 nm. No entanto, a estrutura das BNCS apresenta elevada irregularidade – como destacado pelo alto desvio padrão – de forma que esse valor pode variar de forma significativa.

Na literatura, são reportados valores de diâmetro de fibra de 25 até 100 nm (Lee et al., 2014) e elevada porosidade (Diaz-Ramirez et al., 2021; Lazarini et al., 2022; Mohite; Patil, 2014). Quanto à porosidade, no estudo de Fucina et al. (2022) foram encontraram poros com área na faixa de 52 nm^2 ; enquanto Xiao, Jianxun et al. (2022) reportaram que a maioria dos poros nas BNCS produzidas no estudo possuíam diâmetros de 30 nm, com presença de poros maiores, até 120 nm.

Após a produção das BNCSs, estas foram injetadas com látex de Coumarin 6 – um corante hidrofóbico fluorescente – para facilitar a visualização das NPs e o possível escape destas das esferas. Dessa forma, durante a liberação do DDS, foi observado um aumento da turbidez do meio de liberação (água) após 24 h de liberação (Figura 18B) em comparação com tempos mais curtos (Figura 18A), o que indica o escape das NPs do DDS. A presença dessas no meio foi confirmada por meio de leituras de DLS. Assim, pode-se assumir a presença de poros de diâmetro maiores no DDS, que possibilitaram a saída das NPs (197 ± 1 nm), destacando a elevada irregularidade da trama de nanofibras de celulose.

Figura 18 - Fotos dos DDSs com látex de Coumarim 6 em (A) 15 min e (B) 24 h de liberação em água



Fonte: Elaborado pelos autores.

Relacionado à elevada porosidade dessas estruturas, o teor de umidade das BNCS foi calculado em $99,7 \pm 0,1\%$. A elevada retenção de umidade é uma característica reportada em diversos estudos (Diaz-Ramirez et al., 2021; Lee et al., 2014; Mohite; Patil, 2014); de forma que Svensson et al. (2005) também encontraram valores de umidade de 99% e R. Rebelo et al. (2018) obtiveram valores de 98%. As nanofibras de celulose apresentam diversos grupos hidroxila, o que as torna extremamente hidrofílicas e permite essa elevada retenção de água em sua estrutura (Mohite; Patil, 2014).

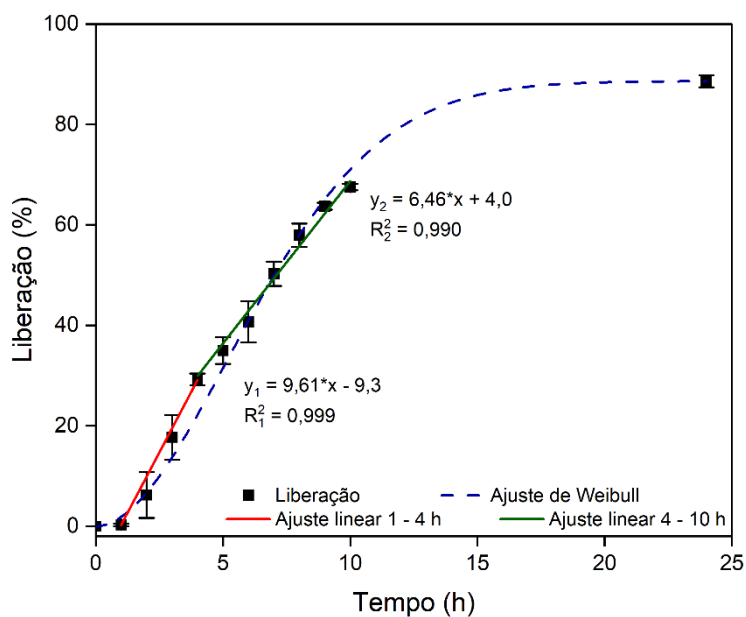
Para efeitos comparativos, a difusão do fármaco livre injetado no centro da esfera também foi avaliada. Para simulação visual deste efeito, foi utilizado um corante alimentício azul (QR Code 1). O perfil de liberação do fármaco livre da BNCS observado (Figura 19) permitiu constatar que, em menos de 24 h, a resistência à difusão imposta pela esfera é desprezível.



QR Code 1

É possível constatar também que no intervalo 1 a 4 h ocorre uma liberação ligeiramente mais rápida, seguido de uma liberação à taxa constante, conforme constatado pelos ajustes lineares aplicados para os trechos de 1 a 4 h e de 4 a 10 h.

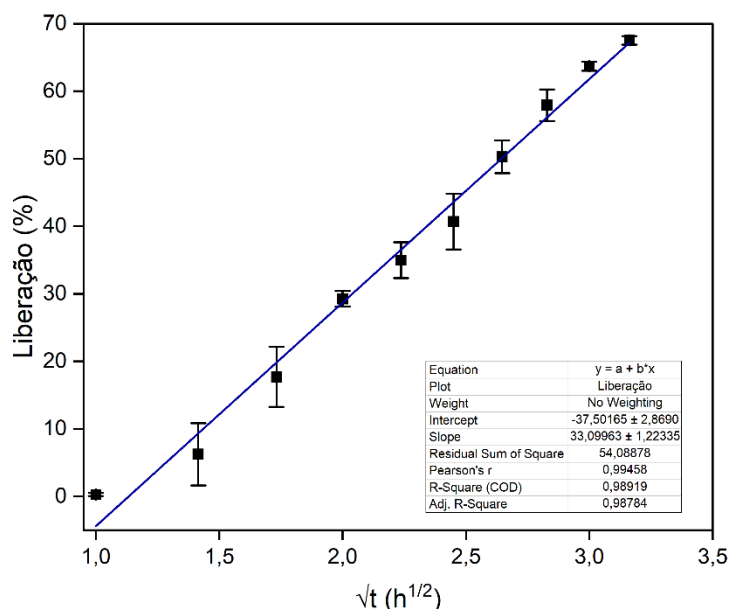
Figura 19 - Perfil de liberação do fármaco livre da BNCS



Fonte: Elaborado pelos autores.

Novamente aplicando o Modelo de Higuchi para as primeiras 10 h, o sistema apresenta um excelente ajuste ($R^2 = 0,989$, Figura 20), indicando que a liberação do fármaco segue um perfil de difusão Fickiana e que a malha interna das nanofibras impõe uma resistência à difusão muito baixa, conforme esperado pela elevada porosidade das BNCSs.

Figura 20 - Ajuste linear dos dados de liberação do fármaco livre da BNCS no Modelo de Higuchi



Fonte: Elaborado pelos autores.

A baixa resistência à difusão também foi reportada por outros estudos que avaliaram a liberação de compostos apenas fisicamente incorporados às BNCSs. Diaz-Ramirez et al. (2021) – os quais utilizaram as esferas de celulose para liberação de ureia no solo – obtiveram uma liberação de 100% da ureia em apenas 30 min. Já para a entrega de extrato de *Vaccinium meridionale swartz* (mirtilo andino) utilizado no tratamento preventivo de câncer colorretal, Osorio et al. (2024) obtiveram uma liberação de $93,09 \pm 4,94\%$ em 2 h do extrato disperso nas BNCSs. Entretanto, posteriormente os autores aplicaram um recobrimento com Eudragit S100® (copolímero comercial de ácido metacrílico e acrílico) sobre as esferas e observaram uma redução em 60% da liberação do extrato no mesmo tempo (2 h).

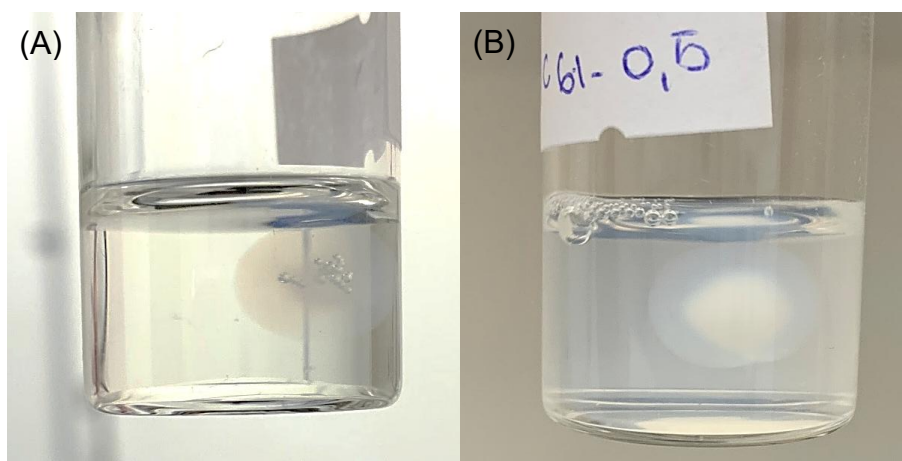
Além do recobrimento, outras técnicas já foram exploradas para aumentar a resistência à difusão e prolongar a difusão de compostos da BNCSs. Lazarini et al. (2022) propuseram o uso das esferas para entrega de rifampicina – cristalizando o antibiótico sobre as nanofibras de celulose – e obtiveram uma liberação sustentada de valores próximos de 100% em 96 h. Comparado com a liberação de 100% em 30 min e de 93% em 2 h observada nos artigos citados anteriormente, observa-se que a

cristalização do composto promoveu uma liberação prolongada nas BNCSSs. Ou seja, apesar da rápida liberação usualmente observada, se desejado, a resistência à difusão pode ser aumentada de forma a se obter liberações mais prolongadas.

4.2.2 Liberação do fármaco nanoencapsulado do DDS

De forma análoga aos ensaios de liberação *in vitro*, os ensaios de liberação do DDS para o fármaco nanoencapsulado iniciaram utilizando uma solução aquosa de SDS 5% (m/m). No entanto, foi visualizada uma perda de estabilidade das NPs dentro das esferas em apenas 12 h. O fenômeno observado foi novamente atrelado às forças de depleção micelar devido à alta concentração de SDS no sistema. Dessa forma, os ensaios foram então conduzidos empregando uma solução com concentração de SDS 0,5% (m/m).

Figura 21 - DDS com NPs após 24 h em meio de liberação com concentração de SDS (A) 5% e (B) 0,5%



Fonte: Elaborado pelos autores.

Diferentemente do que foi observado durante a liberação utilizando a solução mais concentrada de sal (Figura 21A), em solução de SDS 0,5% (m/m) – por não interferir na estabilidade do sistema – foi possível observar turbidez no meio de liberação, característico da presença de NPs livres (Figura 21B). Assim, tornou-se necessária a separação, via centrifugação, das NPs presentes na alíquota do meio de

liberação utilizada para quantificar a liberação do fármaco. Os resultados de liberação média calculados estão expostos na Tabela 4 a seguir.

Tabela 4 - Liberação do fármaco encapsulado do DDS em meio de liberação de SDS 0,5%

Tempo (dia)	Liberação Média (%)		
1	10	±	3
2	13	±	4
3	12	±	2
4	10	±	3
5*	11	±	3
6*	10	±	3
7*	10	±	3

*Liberação acumulada após troca do meio de liberação no dia 4

Fonte: Elaborado pelos autores.

Apesar da variabilidade experimental ressaltada pelos desvios padrões – novamente relacionado à irregularidade das BNCSs – observa-se que a tendência da liberação seguiu os mesmos 10% observados para a liberação *in vitro*. Dessa forma, é possível dizer que as esferas não interagem com as NPs e apenas servem como um reservatório, conforme proposto e esperado.

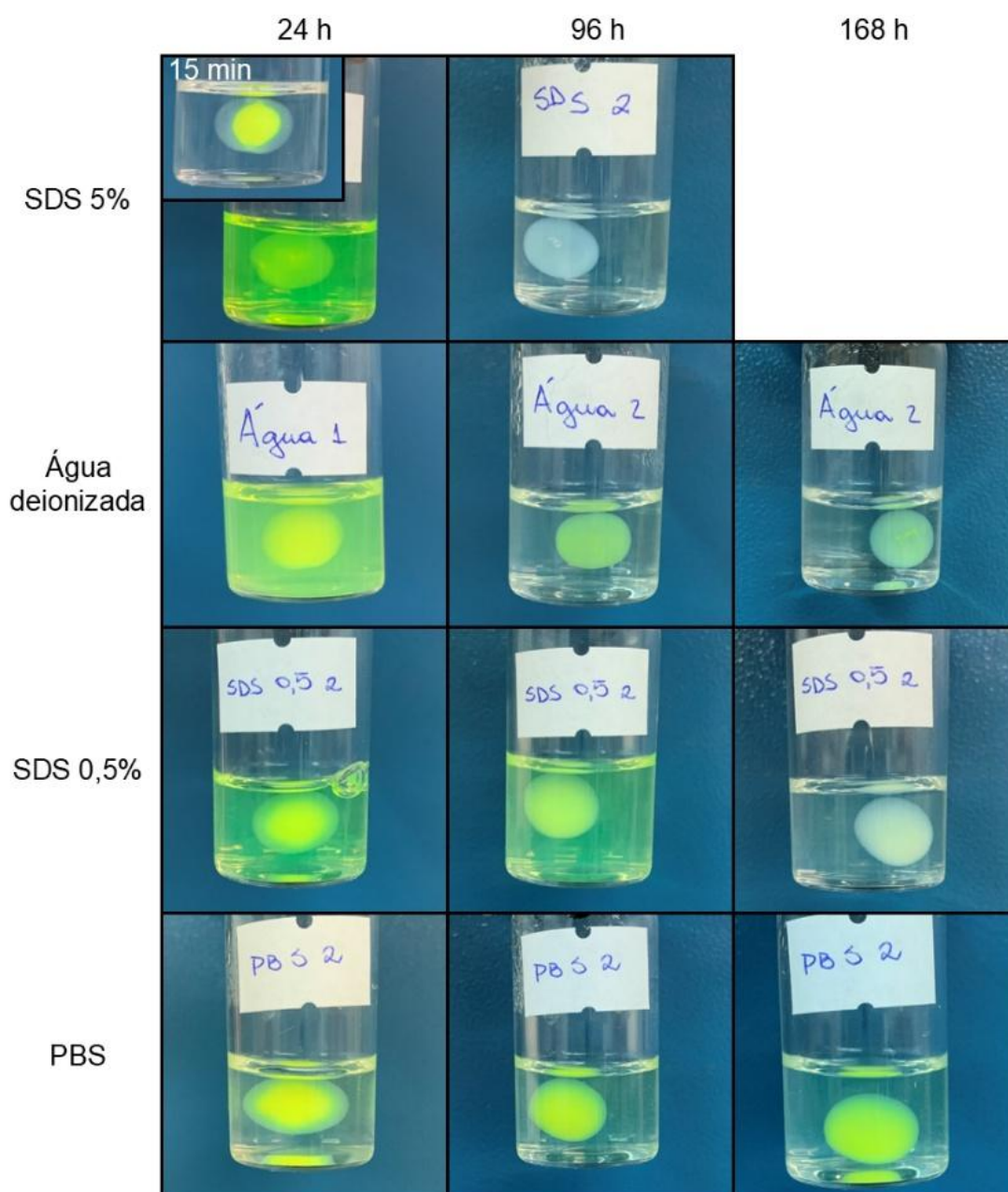
Para garantir que a liberação não está relacionada a uma saturação do meio de liberação, após 4 dias o meio foi renovado. Porém, conforme observado pelos valores de liberação nos dias 5, 6 e 7, não foi constatada variação significativa, de forma que a hipótese de saturação do meio foi descartada. Assim, novamente observou-se uma baixa liberação do fármaco, no entanto, conforme já exposto, essa baixa liberação do fármaco é desejada para que, quando ocorra a liberação das NPs do DDS, essas cheguem às células tumorais com o máximo *loading* possível.

4.2.3 Liberação das NPs do DDS

Após constatar a influência do meio na liberação das NPs do DDS durante os ensaios de liberação do fármaco (Figura 21), decidiu-se avaliar essa influência na

liberação das NPs utilizando água, solução de PBS e SDS 5 e 0,5%, com renovação do meio a cada 24 h. Todas as leituras de DLS realizadas ao longo destes experimentos encontram-se no Anexo IV – Tabela 5. As imagens capturadas durante o ensaio se encontram na Figura 22 a seguir.

Figura 22 - Imagens do DDS em diferentes meios de liberação em 24, 96 e 168 h com renovação do meio a cada 24 h



Fonte: Elaborado pelos autores.

Para fins comparativos, o *inset* presente na primeira linha e coluna da Figura 22 é uma imagem do DDS com látex de Coumarin 6 após 15 min da sua injeção.

Novamente iniciando com a solução de SDS 5%, em apenas 24 h constatou-se um nítido tingimento esverdeado do sistema, entretanto não foi observada turbidez do meio (isto é, o meio apresenta-se tingido, porém translucido), a qual é característica da presença de NPs. Leituras de DLS do meio confirmaram a hipótese de ausência de NPs no meio. Após 96h, a BNCS não apresentou mais resquícios do corante. Assim, tendo em vista a ausência de NPs detectadas no meio – indicativo de perda de estabilidade do sistema – e a completa solubilização do composto encapsulado, essa estratégia foi descartada para uso na liberação das NPs.

Em seguida, água deionizada foi considerada como meio de liberação. Tendo em vista a hidrofobicidade do Coumarin, esse meio seria ideal para quantificar apenas a liberação das nanopartículas, sem interferência do composto solubilizado. Visualmente, com 24 h foi possível observar turbidez do meio, indicativo da presença de NPs. Em 96 h o meio de liberação apresentou uma coloração apenas ligeiramente esverdeada e foi possível observar uma redução na intensidade do corante na esfera. No entanto, essa ainda apresentava aparência opaca (indicando a presença de NPs ainda dentro da esfera) e leituras de DLS confirmaram a presença de NPs no meio. Após 7 dias (168 h) de liberação, entretanto, apesar de tingida, a esfera voltou ao seu estado translúcida e não foi possível detectar NPs em meio por DLS. Assim, apesar da baixa afinidade com o Coumarin, observou-se uma rápida liberação das NPs. Tendo em vista a baixíssima pressão osmótica da água deionizada – e que o mesmo não é observado em condições fisiológicas – esse meio também foi desconsiderado.

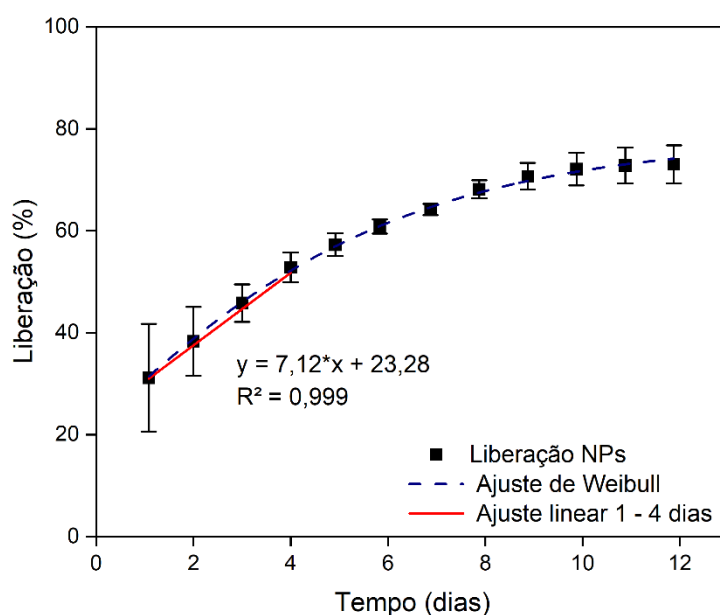
Dessa forma – procurando por meios que fossem isotônicos ao fisiológico – investigou-se o uso da solução de SDS 0,5% e de PBS (25 mM). Iniciando pela solução de SDS 0,5%, observou-se que a liberação das NPs foi muito mais sustentada que anteriormente observado. Apesar de, visualmente, ser possível observar uma coloração mais vibrante após 24 h que em 96 h, a diferença foi muito menos drástica que a observada quando utilizando água como meio de liberação. Assim, é possível constatar que o SDS em solução impôs a maior resistência à difusão das NPs desejada.

Entretanto, para a quantificação da liberação das nanopartículas, esse meio não se mostrou a melhor opção. Leituras de DLS apontam que embora o dispositivo tenha permanecido liberando NPs por mais de 10 dias; após 7 dias observou-se uma mudança de coloração do látex dentro do DDS, indicando o esgotamento do Coumarin 6. Assim, tendo em vista que a quantificação da liberação das NPs foi realizada por absorvância e que, em SDS 0,5% o Coumarin 6 apresentou solubilidade, optou-se por também não empregar esse meio para a liberação.

Por fim avaliou-se o uso de PBS como meio de liberação para as NPs. Visualmente, novamente foi possível constatar uma liberação muito mais sustentada quando comparada à água e, além disso, uma redução significativa do tingimento do meio; conforme esperado pela repulsão eletrostática imposta pelos sais e pela menor solubilidade do Coumarin 6, respectivamente.

Quanto à liberação das NPs, foi possível constatar, por DLS, a presença destas no meio pela mesma duração que a obtida em SDS 0,5% (mais de 10 dias). Desta forma, o PBS foi considerado o meio de liberação mais adequado por, simultaneamente, impor resistência à difusão – conforme seria esperado em meio fisiológico – e pela baixa solubilidade do composto encapsulado. Assim, os experimentos de liberação das NPs contendo camptotecina foram conduzidos utilizando PBS como meio de liberação.

Figura 23 - Perfil de liberação das NPs do DDS em PBS (n=3)



Fonte: Elaborado pelos autores.

Pelo perfil obtido (Figura 23), foi possível constatar uma liberação controlada de $73 \pm 4\%$ das NPs por 12 dias. Além disso, a taxa se mostrou sustentada após o efeito *burst* de 30% em 24 h. O perfil apresentou uma taxa constante até o dia 4, quando então passou a apresentar uma desaceleração gradual até o dia 9. Posteriormente, foi alcançado um platô em 73% com 12 dias. Novamente observa-se um maior desvio padrão durante os primeiros dias – associado à irregularidade das BNCSs – entretanto, a tendência de liberação final é comum à todas as esferas utilizadas (n=3).

Apesar da liberação em DDSs usualmente ser quantificada quanto ao fármaco na literatura (Jia et al., 2025; Zhao et al., 2018), resultados de liberação sustentada de partículas também são encontrados em alguns trabalhos, principalmente naqueles com enfoque na entrega local. O hidrogel de Lin; Hong; Lin (2025) para liberação intracranial de quimioterápicos de platina apresentou uma degradação – e consequente liberação gradual dos cristais de $\text{CaCO}_3\text{:Pt}$ – por mais de 3 semanas. Já no hidrogel de Wang, Xiaoqi et al. (2022) – também para tratamento local de gliomas – os autores quantificaram a liberação das nanopartículas em 77% em 12 dias e confirmaram, por TEM e DLS, a preservação das NPs após a sua liberação, de forma

que constataram que os compostos permaneceram eficientemente encapsulados até a sua internalização celular.

No tratamento de glioma, após a remoção cirúrgica do tumor e durante a janela de tempo de 3 semanas em que se é recomendado a ausência de quimio ou radioterapia para evitar complicações cirúrgicas – porém também uma janela em que as células tumorais não removidas podem apresentar elevada taxa de multiplicação – é imprescindível uma liberação controlada do fármaco que, no caso da camptotecina, preferivelmente deve estar encapsulado e preservado em sua forma ativa. Dessa forma, os resultados obtidos de liberação prolongada e controlada das nanopartículas de PCL do DDS de nanocelulose bacteriana aqui proposto apontam para promissoras futuras aplicações no tratamento local de gliomas.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

5.1 CONCLUSÕES

A técnica de miniemulsificação-evaporação de solvente utilizada para encapsular o quimioterápico camptotecina em nanopartículas de policaprolactona se mostrou adequada, como uma eficiência de encapsulação superior a 98%. Análises de DLS e TEM confirmaram a obtenção de sistemas cineticamente estáveis por pelo menos 20 dias, monodispersos, e compostos por nanopartículas esféricas com diâmetros médios de partícula de 200 nm. Resultados de FTIR apontaram uma interação entre o fármaco e a matriz polimérica, a qual pode estar relacionada à eficiente encapsulação. Paralelamente, as análises de DRX e DSC constataram que a presença da camptotecina não alterou as propriedades físico-químicas do sistema, sendo que esta última técnica evidenciou também a ação plastificante da lecitina de soja utilizada como surfactante. Durante a liberação *in vitro* do fármaco, observou-se uma liberação máxima de 10% – conforme esperado pela cristalinidade e hidrofobicidade da matriz polimérica. Tendo em vista a instabilidade do fármaco em meio fisiológico, este valor relativamente pequeno foi considerado positivo, pois garante uma carga terapêutica elevada nas NPs quando internalizadas pelas células tumorais. As esferas de nanocelulose bacteriana produzidas apresentaram porosidade elevada e irregular, com um teor de umidade de 99,7% e uma resistência à difusão do fármaco livre desprezível após 24 h. O DDS produzido apresentou na liberação *in vitro* os mesmos 10% do fármaco encapsulado, e uma liberação de 73% das NPs em 12 dias. Conclui-se então que, apesar da pequena perda do *loading* decorrente da liberação do fármaco impregnado na superfície das NPs, o DDS exerceu o seu papel de liberação controlada e prolongada de NPs – onde o fármaco permanece eficientemente encapsulado – para internalização pelas células tumorais durante sua futura aplicação proposta em tratamento local de gliomas.

5.2 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Para estudos futuros, apesar da biocompatibilidade extensivamente relatada na literatura do PCL e da celulose, e do conhecido efeito quimioterápico da camptotecina, principalmente quando encapsulada, são propostos estudos *in vitro* para a avaliação da combinação desses elementos proposta nesse trabalho para que, futuramente, ele possa ser considerado para ensaios de atividade quimioterápica *in vivo*. Além disso, a capacidade de modulação da difusividade das BNCS – de forma a obter uma liberação ainda mais sustentada e prolongada das NPs – como utilizando agentes espessantes, poderá ser avaliada. Apesar de ainda não explorado em esferas e para a aplicação proposta, alguns estudos obtiveram interessantes resultados com hidrogéis a base de membrana de celulose com alginato reticulado sob as fibras (Shahriari-Khalaji et al., 2020; Suratago et al., 2015) e existem boas hipóteses quanto ao seu uso em áreas biomédicas (Rana et al., 2024). O alginato aumenta a viscosidade do meio, de forma a impor uma barreira física à liberação das NPs, possivelmente estendendo o tempo de vida útil do dispositivo.

REFERÊNCIAS

ABBOTT, N. Joan *et al.* Structure and function of the blood–brain barrier. **Neurobiology of Disease**, v. 37, n. 1, p. 13–25, jan. 2010.

ALEXANDER, Brian M.; CLOUGHESY, Timothy F. Adult Glioblastoma. **Journal of Clinical Oncology**, v. 35, n. 21, p. 2402–2409, 20 jul. 2017.

AMNA, Touseef *et al.* Camptothecin loaded poly(ϵ -caprolactone)nanofibers via one-step electrospinning and their cytotoxicity impact. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 431, p. 1–8, ago. 2013.

ANTON, Nicolas; BENOIT, Jean-Pierre; SAULNIER, Patrick. Design and production of nanoparticles formulated from nano-emulsion templates—A review. **Journal of Controlled Release**, v. 128, n. 3, p. 185–199, jun. 2008.

ANTONIETTI, M.; LANDFESTER, K. Polyreactions in miniemulsions. **Progress in Polymer Science**, v. 27, n. 4, p. 689–757, maio 2002.

ASUA, José M. Miniemulsion polymerization. **Progress in Polymer Science**, v. 27, n. 7, p. 1283–1346, set. 2002.

BEISLER, J. A. Potential antitumor agents. 1. Analogs of camptothecin. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 14, n. 11, p. 1116–1118, 1 nov. 1971.

BHADRAN, Abhi *et al.* Recent Advances in Polycaprolactones for Anticancer Drug Delivery. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 7, p. 1977, 19 jul. 2023.

BI, J. C. *et al.* Morphology and structure characterization of bacterial celluloses produced by different strains in agitated culture. **Journal of Applied Microbiology**, v. 117, n. 5, p. 1305–1311, nov. 2014.

BODIN, Aase *et al.* Influence of cultivation conditions on mechanical and morphological properties of bacterial cellulose tubes. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 97, n. 2, p. 425–434, 29 jun. 2007.

BOYUKLIEVA, Radka; HRISTOZOVA, Asya; PILICHEVA, Bissera. Synthesis and Characterization of PCL-Idebenone Nanoparticles for Potential Nose-to-Brain Delivery. **Biomedicines**, v. 11, n. 5, p. 1491, 22 maio 2023.

BRANDES, Ricardo *et al.* Influence of the Processing Parameters on the Characteristics of Spherical Bacterial Cellulose. **Fibers and Polymers**, v. 19, n. 2, p. 297–306, 1 fev. 2018.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Portaria Conjunta SCTIE/SAES/MS nº 7, de 13 de abril de 2020**. Brasília, DF: [S.n.]. Disponível em: <https://www.gov.br/conitec/pt-br/midias/protocolos/resumidos/20201218_pcdt_resumido_tumo_cerebral_no_adulto_final.pdf>. Acesso em: 2 fev. 2026.

BREM, H. *et al.* Placebo-controlled trial of safety and efficacy of intraoperative controlled delivery by biodegradable polymers of chemotherapy for recurrent gliomas. **The Lancet**, v. 345, n. 8956, p. 1008–1012, abr. 1995.

BREM, Henry *et al.* Interstitial chemotherapy with drug polymer implants for the treatment of recurrent gliomas. **Journal of Neurosurgery**, v. 74, n. 3, p. 441–446, mar. 1991.

BROWN, Adrian J. XLIII.—On an acetic ferment which forms cellulose. **J. Chem. Soc., Trans.**, v. 49, n. 0, p. 432–439, 1886.

CARLI, Larissa N.; CRESPO, Janaina S.; MAULER, Raquel S. PHBV nanocomposites based on organomodified montmorillonite and halloysite: The effect of clay type on the morphology and thermal and mechanical properties. **Composites Part A: Applied Science and Manufacturing**, v. 42, n. 11, p. 1601–1608, nov. 2011.

CHAN, Juliana M. *et al.* PLGA–lecithin–PEG core–shell nanoparticles for controlled drug delivery. **Biomaterials**, v. 30, n. 8, p. 1627–1634, mar. 2009.

CHANG, Susan M. *et al.* A Phase II study of paclitaxel in patients with recurrent malignant glioma using different doses depending upon the concomitant use of anticonvulsants. **Cancer**, v. 91, n. 2, p. 417–422, 15 jan. 2001.

CHAWLA, Jugminder S.; AMIJI, Mansoor M. Biodegradable poly(ε-caprolactone) nanoparticles for tumor-targeted delivery of tamoxifen. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 249, n. 1–2, p. 127–138, dez. 2002.

CHOI, M. J. *et al.* Effect of Freeze-Drying Process Conditions on the Stability of Nanoparticles. **Drying Technology**, v. 22, n. 1–2, p. 335–346, 31 dez. 2004.

ÇIRPANLI, Yasemin *et al.* Antitumoral activity of camptothecin-loaded nanoparticles in 9L rat glioma model. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 403, n. 1–2, p. 201–206, jan. 2011.

COSTA, Paulo; SOUSA LOBO, José Manuel. Modeling and comparison of dissolution profiles. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 13, n. 2, p. 123–133, maio 2001.

DANKAR, Iman *et al.* Characterization of food additive-potato starch complexes by FTIR and X-ray diffraction. **Food Chemistry**, v. 260, p. 7–12, set. 2018.

DE LA GARZA-RAMOS, Rafael *et al.* Surgical complications following malignant brain tumor surgery: An analysis of 2002–2011 data. **Clinical Neurology and Neurosurgery**, v. 140, p. 6–10, jan. 2016.

DEFIEUW, G.; GROENINCKX, G.; REYNAERS, H. Miscibility and morphology of binary polymer blends of polycaprolactone with solution-chlorinated polyethylenes. **Polymer**, v. 30, n. 4, p. 595–603, abr. 1989.

DESHKAR, Sanjeevani *et al.* Posaconazole loaded Lipid Polymer Hybrid Nanoparticles: Design and Development for Vaginal Drug Delivery. **Journal of Pharmaceutical Innovation**, v. 20, n. 1, p. 4, 22 fev. 2025.

DEUTSCH, Melvin *et al.* Results of a randomized trial comparing BCNU plus radiotherapy, streptozotocin plus radiotherapy, BCNU plus hyperfractionated radiotherapy, and BCNU following misonidazole plus radiotherapy in the postoperative treatment of malignant glioma. **International Journal of Radiation Oncology*Biological*Physics**, v. 16, n. 6, p. 1389–1396, jun. 1989.

DIAZ-RAMIREZ, Julen *et al.* Superabsorbent bacterial cellulose spheres biosynthesized from winery by-products as natural carriers for fertilizers. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 191, p. 1212–1220, nov. 2021.

DIKPATI, Amrita *et al.* Residual Solvents in Nanomedicine and Lipid-Based Drug Delivery Systems: a Case Study to Better Understand Processes. **Pharmaceutical Research**, v. 37, n. 8, p. 149, 17 ago. 2020.

DONSÌ, Francesco; WANG, Yuwen; HUANG, Qingrong. Freeze–thaw stability of lecithin and modified starch-based nanoemulsions. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 5, p. 1327–1336, jul. 2011.

DREWINKO, B.; FREIREICH, E. J.; GOTTLIEB, J. A. Lethal activity of camptothecin sodium on human lymphoma cells. **Cancer research**, v. 34, n. 4, p. 747–50, abr. 1974.

EGBLAD, Mikala; WERB, Zena. New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression. **Nature Reviews Cancer**, v. 2, n. 3, p. 161–174, mar. 2002.

ELZAYAT, Asmaa *et al.* Nanoemulsions for synthesis of biomedical nanocarriers. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 203, p. 111764, jul. 2021.

ELZEIN, Tamara *et al.* FTIR study of polycaprolactone chain organization at interfaces. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 273, n. 2, p. 381–387, maio 2004.

EZHILARASI, P. N. *et al.* Nanoencapsulation Techniques for Food Bioactive Components: A Review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, n. 3, p. 628–647, 12 mar. 2013.

FDA. **Gliadel Prescribing Information**. Disponível em: <https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2018/020637s029lbl.pdf>. Acesso em: 8 fev. 2026.

FLORY, Paul J. **Principles of Polymer Chemistry**. 1ª ed. Ithaca: Cornell University Press, 1953.

FOGOLARI, Odinei. **SISTEMAS NANOESTRUTURADOS PARA LIBERAÇÃO DE PROGESTERONA: NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS, MICROEMULSÃO E NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS SÓLIDAS**. Tese de Doutorado—Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2017.

FOURNIOLS, Thibaut *et al.* Temozolomide-loaded photopolymerizable PEG-DMA-based hydrogel for the treatment of glioblastoma. **Journal of Controlled Release**, v. 210, p. 95–104, jul. 2015.

FRUEHAUF, John P. *et al.* In vitro Drug Response and Molecular Markers Associated with Drug Resistance in Malignant Gliomas. **Clinical Cancer Research**, v. 12, n. 15, p. 4523–4532, 1 ago. 2006.

FUCINA, Giovana *et al.* Melanoma growth in non-chemically modified translucent bacterial nanocellulose hollow and compartmentalized spheres. **Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects**, v. 1866, n. 9, 1 set. 2022.

GALLO, Robert C.; WHANG-PENG, Jacqueline; ADAMSON, Richard H. Studies on the Antitumor Activity, Mechanism of Action, and Cell Cycle Effects of Camptothecin. **JNCI: Journal of the National Cancer Institute**, abr. 1971.

GANDHI, Manit *et al.* Inhalable liposomal dry powder of gemcitabine-HCl: Formulation, in vitro characterization and in vivo studies. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 496, n. 2, p. 886–895, dez. 2015.

GAO, Fang *et al.* Nanoemulsion improves the oral absorption of candesartan cilexetil in rats: Performance and mechanism. **Journal of Controlled Release**, v. 149, n. 2, p. 168–174, jan. 2011.

GLASER, Luis. The Synthesis Of Cellulose In Cell-Free Extracts Of *Acetobacter Xylinum*. **Journal of Biological Chemistry**, v. 232, n. 2, p. 627–636, jun. 1958.

GOTTLIEB, J. A.; LUCE, J. K. Treatment of malignant melanoma with camptothecin (NSC-100880). **Cancer chemotherapy reports**, v. 56, n. 1, p. 103–5, fev. 1972.

GRAYSON, Scott M.; FRÉCHET, Jean M. J. Convergent Dendrons and Dendrimers: from Synthesis to Applications. **Chemical Reviews**, v. 101, n. 12, p. 3819–3868, 1 dez. 2001.

GRECH, Neil *et al.* Rising Incidence of Glioblastoma Multiforme in a Well-Defined Population. **Cureus**, 19 maio 2020.

GULATI, Sasha *et al.* The Risk of Getting Worse: Surgically Acquired Deficits, Perioperative Complications, and Functional Outcomes After Primary Resection of Glioblastoma. **World Neurosurgery**, v. 76, n. 6, p. 572–579, dez. 2011.

HANSEN, John F.; KAMATA, Kazuyuki; MEYERS, A. I. Synthetic studies leading to DE-ring analogs of camptothecin. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v. 10, n. 5, p. 711–714, 11 out. 1973.

HAO, Huanhuan *et al.* The degradation and environmental risk of camptothecin, a promising marine antifoulant. **Science of The Total Environment**, v. 821, p. 153384, maio 2022.

HEAF, James G. The origin of the 1.73 m² body surface area normalization: problems and implications. **Clinical Physiology and Functional Imaging**, v. 27, n. 3, p. 135–137, 21 maio 2007.

HESTRIN, S.; SCHRAMM, M. Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum* . 2. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose. **Biochemical Journal**, v. 58, n. 2, p. 345–352, 1 out. 1954.

HIGUCHI, Takeru. Rate of Release of Medicaments from Ointment Bases Containing Drugs in Suspension. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 50, n. 10, p. 874–875, out. 1961.

HSIANG, Y. H. *et al.* Camptothecin induces protein-linked DNA breaks via mammalian DNA topoisomerase I. **Journal of Biological Chemistry**, v. 260, n. 27, p. 14873–14878, nov. 1985.

HSIEH, Y. C. *et al.* An estimation of the Young's modulus of bacterial cellulose filaments. **Cellulose**, v. 15, n. 4, p. 507–513, 21 ago. 2008.

HU, Yang; CATCHMARK, Jeffrey M. Formation and Characterization of Spherelike Bacterial Cellulose Particles Produced by *Acetobacter xylinum* JCM 9730 Strain. **Biomacromolecules**, v. 11, n. 7, p. 1727–1734, 12 jul. 2010.

HU, Yang; CATCHMARK, Jeffrey M.; VOGLER, Erwin A. Factors Impacting the Formation of Sphere-Like Bacterial Cellulose Particles and Their Biocompatibility for Human Osteoblast Growth. **Biomacromolecules**, v. 14, n. 10, p. 3444–3452, 14 out. 2013.

HUANG, Daoxiang *et al.* A Potential Nanofiber Membrane Device for Filling Surgical Residual Cavity to Prevent Glioma Recurrence and Improve Local Neural Tissue Reconstruction. **PLOS ONE**, v. 11, n. 8, p. e0161435, 22 ago. 2016.

ISHIKAWA, Kaori *et al.* ROS-Generating Mitochondrial DNA Mutations Can Regulate Tumor Cell Metastasis. **Science**, v. 320, n. 5876, p. 661–664, 2 maio 2008.

JAIMES-AGUIRRE, Laura *et al.* Biodegradable poly(D,L-lactide-co-glycolide)/poly(L- γ -glutamic acid) nanoparticles conjugated to folic acid for targeted delivery of doxorubicin. **Materials Science and Engineering: C**, v. 76, p. 743–751, jul. 2017.

JAIN, Aviral *et al.* Transferrin-appended PEGylated nanoparticles for temozolomide delivery to brain: *in vitro* characterisation. **Journal of Microencapsulation**, v. 28, n. 1, p. 21–28, 20 fev. 2011.

JENJOB, Ratchapol *et al.* Emulsion Techniques for the Production of Pharmacological Nanoparticles. **Macromolecular Bioscience**, v. 19, n. 6, 24 jun. 2019.

JIA, Xiaoqing *et al.* Dual-Drug Loaded γ -Polyglutamic Acid Hydrogel with Hydrophilic Doxorubicin and Hydrophobic Camptothecin for Enhanced Tumor Therapy. **Chemistry – An Asian Journal**, v. 20, n. 18, 8 set. 2025.

JIN, Cheng *et al.* Cytotoxicity of Paclitaxel Incorporated in PLGA Nanoparticles on Hypoxic Human Tumor Cells. **Pharmaceutical Research**, v. 26, n. 7, p. 1776–1784, 21 jul. 2009.

JONAS, Rainer; FARAH, Luiz F. Production and application of microbial cellulose. **Polymer Degradation and Stability**, v. 59, n. 1–3, p. 101–106, jan. 1998.

JOSHY, K. S. *et al.* Poly (vinyl pyrrolidone)-lipid based hybrid nanoparticles for anti viral drug delivery. **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 210, p. 82–89, jan. 2018.

KAWATO, Yasuyoshi *et al.* Antitumor activity of a camptothecin derivative, CPT-11, against human tumor xenografts in nude mice. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, v. 28, n. 3, p. 192–198, 1991.

KIM, Yeongbeom *et al.* Advances in PCL, PLA, and PLGA-Based Technologies for Anticancer Drug Delivery. **Pharmaceutics**, v. 17, n. 10, p. 1354, 20 out. 2025.

KINGSBURY, William D. *et al.* Synthesis of water-soluble (aminoalkyl)camptothecin analogs: inhibition of topoisomerase I and antitumor activity. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 34, n. 1, p. 98–107, 1 jan. 1991.

KLEMM, Dieter *et al.* Cellulose: Fascinating Biopolymer and Sustainable Raw Material. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 44, n. 22, p. 3358–3393, 30 maio 2005.

KOHN, Kurt W.; POMMIER, Yves. Molecular and Biological Determinants of the Cytotoxic Actions of Camptothecins: Perspective for the Development of New Topoisomerase I Inhibitors. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 922, n. 1, p. 11–26, 25 dez. 2000.

KRAULAND, Alexander H.; GUGGI, Davide; BERNKOP-SCHNÜRCH, Andreas. Thiolated chitosan microparticles: A vehicle for nasal peptide drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 307, n. 2, p. 270–277, jan. 2006.

KRYSTYNOWICZ, A. *et al.* Factors affecting the yield and properties of bacterial cellulose. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 29, n. 4, p. 189–195, 1 out. 2002.

KUDDUSHI, Muzammil *et al.* Recent advances in nanoprecipitation: from mechanistic insights to applications in nanomaterial synthesis. **Soft Matter**, v. 21, n. 15, p. 2759–2781, 2025.

KUMARI, Avnesh; YADAV, Sudesh Kumar; YADAV, Subhash C. Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 75, n. 1, p. 1–18, jan. 2010.

KUMARI, Priyanka; MEENA, Abha. Application of enzyme-mediated cellulose nanofibers from lemongrass waste for the controlled release of anticancer drugs. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, n. 34, p. 46343–46355, 25 set. 2021.

KUNIMOTO, T. *et al.* Antitumor activity of 7-ethyl-10-[4-(1-piperidino)-1-piperidino]carbonyloxy-camptothecin, a novel water-soluble derivative of camptothecin, against murine tumors. **Cancer research**, v. 47, n. 22, p. 5944–7, 15 nov. 1987.

LAZARINI, Silmara C. *et al.* Production of sphere-like bacterial cellulose in cultivation media with different carbon sources: a promising sustained release system of rifampicin. **Cellulose**, v. 29, n. 11, p. 6077–6092, 15 jul. 2022.

LEE, Koon-Yang *et al.* More Than Meets the Eye in Bacterial Cellulose: Biosynthesis, Bioprocessing, and Applications in Advanced Fiber Composites. **Macromolecular Bioscience**, v. 14, n. 1, p. 10–32, jan. 2014.

LEIMANN, Fernanda Vitória *et al.* Characterization of progesterone loaded biodegradable blend polymeric nanoparticles. **Ciencia Rural**, v. 45, n. 11, p. 2082–2088, 1 nov. 2015.

LEPELTIER, Elise; BOURGAUX, Claudie; COUVREUR, Patrick. Nanoprecipitation and the “Ouzo effect”: Application to drug delivery devices. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 71, p. 86–97, maio 2014.

LI, Jiannan *et al.* Locally Deployable Nanofiber Patch for Sequential Drug Delivery in Treatment of Primary and Advanced Orthotopic Hepatomas. **ACS Nano**, v. 12, n. 7, p. 6685–6699, 24 jul. 2018.

LILLEHEI, Kevin O. *et al.* Rationale and design of the 500-patient, 3-year, and prospective Vigilant Observation of Glioblastoma WAfer ImplanT registry. **CNS Oncology**, v. 7, n. 2, 30 abr. 2018.

LIN, Jason; HONG, Wei-Yang; LIN, Feng-Huei. Postoperatively injected gel with sequential delivery of platinum agents to synergize with radiotherapy for suppressing high-grade glioma relapse. **Chemical Engineering Journal**, v. 522, p. 167569, out. 2025.

LIU, Jie *et al.* Poly(ω -pentadecalactone-co-butylene-co-succinate) nanoparticles as biodegradable carriers for camptothecin delivery. **Biomaterials**, v. 30, n. 29, p. 5707–5719, out. 2009.

LOWN, J. William; HSIAO-HSIUNG CHEN. Studies on the effects of the antitumor agent camptothecin and derivatives on deoxyribonucleic acid. **Biochemical Pharmacology**, v. 29, n. 6, p. 905–915, mar. 1980.

LYU, Ji Sou; LEE, Jung-Soo; HAN, Jaejoon. Development of a biodegradable polycaprolactone film incorporated with an antimicrobial agent via an extrusion process. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 20236, 27 dez. 2019.

MA, Panpan *et al.* Knitted Silk Fibroin-Reinforced Bead-on-String Electrospun Fibers for Sustained Drug Delivery Against Colon Cancer. **Macromolecular Materials and Engineering**, v. 303, n. 5, 15 maio 2018.

MACHADO, Angelo B. M. Tecido Nervoso. *In*: **Neuroanatomia Funcional**. 2. ed. [S.l.]: Editora Atheneu, 2000. p. 17–33.

MARTINS, Susana M. *et al.* Brain targeting effect of camptothecin-loaded solid lipid nanoparticles in rat after intravenous administration. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 85, n. 3, p. 488–502, nov. 2013.

MASAOKA, Satoshi; OHE, Tatsuhiko; SAKOTA, Naokazu. Production of cellulose from glucose by *Acetobacter xylinum*. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, v. 75, n. 1, p. 18–22, jan. 1993.

MATSON, Toni *et al.* Electrospun PCL, gold nanoparticles, and soy lecithin composite material for tissue engineering applications. **Journal of Biomaterials Applications**, v. 33, n. 7, p. 979–988, 6 fev. 2019.

MOERTEL, C. G. *et al.* Phase II study of camptothecin (NSC-100880) in the treatment of advanced gastrointestinal cancer. **Cancer chemotherapy reports**, v. 56, n. 1, p. 95–101, fev. 1972.

MOHAMMADKAZEMI, Faranak; AZIN, Mehrdad; ASHORI, Alireza. Production of bacterial cellulose using different carbon sources and culture media. **Carbohydrate Polymers**, v. 117, p. 518–523, mar. 2015.

MOHITE, Bhavna V.; PATIL, Satish V. Physical, structural, mechanical and thermal characterization of bacterial cellulose by *G. hansenii* NCIM 2529. **Carbohydrate Polymers**, v. 106, p. 132–141, jun. 2014.

MONASTEROLO, Claudio *et al.* Sulfonates-PMMA nanoparticles conjugates: A versatile system for multimodal application. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 20, n. 22, p. 6640–6647, nov. 2012.

NALLURI, Buchi Naidu *et al.* Studies on Development of Controlled Release Matrix Tablets of Camptothecin-An Anticancer Drug. **Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research**, v. 49, n. 4s, p. s42–s50, 3 jul. 2015.

NOBLES, David R.; BROWN, R. Malcolm. Many Paths up the Mountain: Tracking the Evolution of Cellulose Biosynthesis. *In*: **Cellulose: Molecular and Structural Biology**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2007. p. 1–15.

OSORIO, M. *et al.* Bacterial nanocellulose spheres coated with meta acrylic copolymer: Vaccinium meridionale swartz extract delivery for colorectal cancer chemoprevention. **Food Hydrocolloids**, v. 147, p. 109310, fev. 2024.

OSTROM, Quinn T. *et al.* CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2015–2019. **Neuro-Oncology**, v. 24, n. Supplement_5, p. v1–v95, 5 out. 2022.

OZEKI, Tetsuya *et al.* Corrigendum to “Improvement of survival in C6 rat glioma model by a sustained drug release from localized PLGA microspheres in a thermoreversible hydrogel” [International Journal of Pharmaceutics 427 (2012) 299–304]. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 430, n. 1–2, p. 393, jul. 2012.

PALANIAPPAN, Ravi *et al.* Polycaprolactone/maltodextrin nanocarrier for intracellular drug delivery: formulation, uptake mechanism, internalization kinetics, and subcellular localization. **International Journal of Nanomedicine**, p. 4763, jul. 2015.

PENG, Yuan *et al.* Codelivery of temozolomide and siRNA with polymeric nanocarrier for effective glioma treatment. **International Journal of Nanomedicine**, v. Volume 13, p. 3467–3480, jun. 2018.

POTMESIL, M. Camptothecins: from bench research to hospital wards. **Cancer research**, v. 54, n. 6, p. 1431–9, 15 mar. 1994.

R. REBELO, Ana *et al.* Dehydration of bacterial cellulose and the water content effects on its viscoelastic and electrochemical properties. **Science and Technology of Advanced Materials**, v. 19, n. 1, p. 203–211, 31 dez. 2018.

RAMANUJAM, Ranjith *et al.* Biodegradable Polycaprolactone Nanoparticles Based Drug Delivery Systems: A Short Review. **Biosciences, Biotechnology Research Asia**, v. 15, n. 3, p. 679–685, 28 set. 2018.

RANA, Ashvinder K. *et al.* Cellulose-alginate hydrogels and their nanocomposites for water remediation and biomedical applications. **Environmental Research**, v. 243, p. 117889, fev. 2024.

RAO, J. Prasad; GECKELER, Kurt E. **Polymer nanoparticles: Preparation techniques and size-control parameters. Progress in Polymer Science (Oxford)** Elsevier Ltd, , 2011.

RECOUVREUX, Derce O. S. *et al.* Novel three-dimensional cocoon-like hydrogels for soft tissue regeneration. **Materials Science and Engineering: C**, v. 31, n. 2, p. 151–157, mar. 2011.

ROSCA, Iosif Daniel; WATARI, Fumio; UO, Motohiro. Microparticle formation and its mechanism in single and double emulsion solvent evaporation. **Journal of Controlled Release**, v. 99, n. 2, p. 271–280, set. 2004.

ROTHENBERG, M. L. Topoisomerase I inhibitors: Review and update. **Annals of Oncology**, v. 8, n. 9, p. 837–855, ago. 1997.

SABOURIAN, Parinaz *et al.* Effect of Physico-Chemical Properties of Nanoparticles on Their Intracellular Uptake. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 21, p. 8019, 28 out. 2020.

SAEZ, A. *et al.* Freeze-drying of polycaprolactone and poly(d,l -lactic-glycolic) nanoparticles induce minor particle size changes affecting the oral pharmacokinetics of loaded drugs. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 50, n. 3, p. 379–387, nov. 2000.

SÁNCHEZ, Arturo; MEJÍA, Susana P.; OROZCO, Jahir. Recent Advances in Polymeric Nanoparticle-Encapsulated Drugs against Intracellular Infections. **Molecules**, v. 25, n. 16, p. 3760, 18 ago. 2020.

SARANYA, S.; RADHA, K. V. Review of Nanobiopolymers for Controlled Drug Delivery. **Polymer-Plastics Technology and Engineering**, v. 53, n. 15, p. 1636–1646, 30 out. 2014.

SAUCIER-SAWYER, Jennifer K. *et al.* Systemic delivery of blood–brain barrier-targeted polymeric nanoparticles enhances delivery to brain tissue. **Journal of Drug Targeting**, v. 23, n. 7–8, p. 736–749, 14 set. 2015.

SHAHRIARI-KHALAJI, Mina *et al.* Bacterial Nanocellulose-Enhanced Alginate Double-Network Hydrogels Cross-Linked with Six Metal Cations for Antibacterial Wound Dressing. **Polymers**, v. 12, n. 11, p. 2683, 13 nov. 2020.

SHAMMA, M.; NOVAK, L. Synthetic approaches to camptothecin. **Tetrahedron**, v. 25, n. 11, p. 2275–2279, jan. 1969.

SHUAI, Xintao *et al.* Micellar carriers based on block copolymers of poly(ϵ -caprolactone) and poly(ethylene glycol) for doxorubicin delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 98, n. 3, p. 415–426, ago. 2004.

SISSON, Adam L.; EKINCI, Duygu; LENDLEIN, Andreas. The contemporary role of ϵ -caprolactone chemistry to create advanced polymer architectures. **Polymer**, v. 54, n. 17, p. 4333–4350, ago. 2013.

SOPPIMATH, Kumares S. *et al.* Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. **Journal of Controlled Release**, v. 70, n. 1–2, p. 1–20, jan. 2001.

STAFF, Roland H. *et al.* Particle Formation in the Emulsion-Solvent Evaporation Process. **Small**, v. 9, n. 20, p. 3514–3522, 25 out. 2013.

STEFAN, K. Camptothecins affinity to HSA and membranes determined by fluorescence anisotropy measurements. **Optica Applicata**, v. 32, n. 4, 2002.

STUPP, Roger *et al.* Radiotherapy plus Concomitant and Adjuvant Temozolomide for Glioblastoma. **New England Journal of Medicine**, v. 352, n. 10, p. 987–996, 10 mar. 2005.

SURATAGO, Theerawat *et al.* Development of bacterial cellulose/alginate nanocomposite membrane for separation of ethanol–water mixtures. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 32, p. 305–312, dez. 2015.

SVENSSON, A. *et al.* Bacterial cellulose as a potential scaffold for tissue engineering of cartilage. **Biomaterials**, v. 26, n. 4, p. 419–431, fev. 2005.

SWAMINATHAN, Shankar *et al.* Cyclodextrin-based nanospheres encapsulating camptothecin: Physicochemical characterization, stability and cytotoxicity. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 74, n. 2, p. 193–201, fev. 2010.

TAAMALLAH, Siwar *et al.* Comparative Effects of Various Plasticizers on the Physicochemical Characteristics of Polyhydroxybutyrate (PHB) Film for Food Packaging. **Polymers**, v. 17, n. 22, p. 3071, 20 nov. 2025.

TABANIAG, Jalliah Sharelle U. *et al.* Stabilization of oil/water emulsions using soybean lecithin as a biobased surfactant for enhanced oil recovery. **Journal of Engineering and Applied Science**, v. 70, n. 1, p. 154, 20 dez. 2023.

TACAR, Oktay; SRIAMORNSAK, Pornsak; DASS, Crispin R. Doxorubicin: an update on anticancer molecular action, toxicity and novel drug delivery systems. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 65, n. 2, p. 157–170, 1 fev. 2013.

TAMIMI, Ahmad Faleh; JUWEID, Malik. Epidemiology and Outcome of Glioblastoma. *In: Glioblastoma. [S.l.]*: Codon Publications, 2017. p. 143–153.

TSENG, Yuan-Yun; CHEN, Tai-Yuan; LIU, Shih-Jung. Role of Polymeric Local Drug Delivery in Multimodal Treatment of Malignant Glioma: A Review. **International Journal of Nanomedicine**, v. Volume 16, p. 4597–4614, jul. 2021.

VALKO, Marian *et al.* Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 39, n. 1, p. 44–84, 2007.

VALTONEN, Simo *et al.* Interstitial Chemotherapy with Carmustine-loaded Polymers for High-grade Gliomas: A Randomized Double-blind Study. **Neurosurgery**, v. 41, n. 1, p. 44–49, 1 jul. 1997.

VERA, K. *et al.* Dose-dense regimen of temozolomide given every other week in patients with primary central nervous system tumors. **Annals of Oncology**, v. 15, n. 1, p. 161–171, jan. 2004.

VERBEEK, B. *et al.* O6-Methylguanine-DNA methyltransferase inactivation and chemotherapy. **British Medical Bulletin**, v. 85, n. 1, p. 17–33, 1 fev. 2008.

VIEIRA, Melissa Gurgel Adeodato *et al.* Natural-based plasticizers and biopolymer films: A review. **European Polymer Journal**, v. 47, n. 3, p. 254–263, mar. 2011.

WALL, Monroe E. *et al.* Plant Antitumor Agents. I. The Isolation and Structure of Camptothecin, a Novel Alkaloidal Leukemia and Tumor Inhibitor from *Camptotheca acuminata*^{1,2}. **Journal of the American Chemical Society**, v. 88, n. 16, p. 3888–3890, 1 ago. 1966.

WANG, Baoyan *et al.* Nanoparticles functionalized with Pep-1 as potential glioma targeting delivery system via interleukin 13 receptor $\alpha 2$ -mediated endocytosis. **Biomaterials**, v. 35, n. 22, p. 5897–5907, jul. 2014.

WANG, Xianzhang *et al.* The recent developments of camptothecin and its derivatives as potential anti-tumor agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 260, p. 115710, nov. 2023.

WANG, Xiaoqi *et al.* In situ targeting nanoparticles-hydrogel hybrid system for combined chemo-immunotherapy of glioma. **Journal of Controlled Release**, v. 345, p. 786–797, maio 2022.

WATANABE, Kunihiro *et al.* Structural Features and Properties of Bacterial Cellulose Produced in Agitated Culture. **Cellulose**, v. 5, n. 3, p. 187–200, set. 1998.

WEAVER, Beth A. How Taxol/paclitaxel kills cancer cells. **Molecular Biology of the Cell**, v. 25, n. 18, p. 2677–2681, 15 set. 2014.

WEINGART, Jon D. *et al.* Local delivery of the topoisomerase I inhibitor camptothecin sodium prolongs survival in the rat intracranial 9L gliosarcoma model. **International Journal of Cancer**, v. 62, n. 5, p. 605–609, 1995.

WESTPHAL, M. *et al.* Gliadel® wafer in initial surgery for malignant glioma: long-term follow-up of a multicenter controlled trial. **Acta Neurochirurgica**, v. 148, n. 3, p. 269–275, 17 mar. 2006.

WESTPHAL, Manfred *et al.* A phase 3 trial of local chemotherapy with biodegradable carmustine (BCNU) wafers (Gliadel wafers) in patients with primary malignant glioma. **Neuro-Oncology**, v. 5, n. 2, p. 79–88, 1 abr. 2003.

WILLEY, Joanne; SANDMAN, Kathleen; WOOD, Dorothy. **Prescott's Microbiology**. 11 ed ed. New York: McGraw-Hill Education, 2020.

WOHLFART, Stefanie *et al.* Efficient Chemotherapy of Rat Glioblastoma Using Doxorubicin-Loaded PLGA Nanoparticles with Different Stabilizers. **PLoS ONE**, v. 6, n. 5, p. e19121, 6 maio 2011.

WOOD, Jane *et al.* Reproducibility of Bacterial Cellulose Nanofibers Over Sub-Cultured Generations for the Development of Novel Textiles. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 10, 25 abr. 2022.

WU, Di *et al.* The blood–brain barrier: Structure, regulation and drug delivery. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 8, n. 1, p. 217, 25 maio 2023.

WU, Jing *et al.* Camptothecin@HMSNs/thermosensitive hydrogel composite for applications in preventing local breast cancer recurrence. **Chinese Chemical Letters**, v. 29, n. 12, p. 1819–1823, dez. 2018.

XIAO, Bo *et al.* Co-delivery of camptothecin and curcumin by cationic polymeric nanoparticles for synergistic colon cancer combination chemotherapy. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 3, n. 39, p. 7724–7733, 2015.

XIAO, Jianxun *et al.* Fast-growing cyanobacteria bio-embedded into bacterial cellulose for toxic metal bioremediation. **Carbohydrate Polymers**, v. 295, p. 119881, nov. 2022.

XIN, Hongliang *et al.* Angiopep-conjugated poly(ethylene glycol)-co-poly(ϵ -caprolactone) nanoparticles as dual-targeting drug delivery system for brain glioma. **Biomaterials**, v. 32, n. 18, p. 4293–4305, jun. 2011.

YANG, Yung-Jih *et al.* Effect of sodium dodecylsulfate monomers and micelles on the stability of aqueous dispersions of titanium dioxide pigment nanoparticles against agglomeration and sedimentation. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 450, p. 434–445, jul. 2015.

YEN, S. Y. *et al.* Biodegradable interstitial release polymer loading a novel small molecule targeting Axl receptor tyrosine kinase and reducing brain tumour migration and invasion. **Oncogene**, v. 35, n. 17, p. 2156–2165, 10 abr. 2016.

YOKOYAMA, Masayuki *et al.* Polymer Design and Incorporation Methods for Polymeric Micelle Carrier System Containing Water-insoluble Anti-cancer Agent Camptothecin. **Journal of Drug Targeting**, v. 12, n. 6, p. 373–384, 3 jul. 2004.

ZHANG, Jihong; F.G. STEVENS, Malcolm; D. BRADSHAW, Tracey. Temozolomide: Mechanisms of Action, Repair and Resistance. **Current Molecular Pharmacology**, v. 5, n. 1, p. 102–114, 1 jan. 2012.

ZHANG, L. H. *et al.* Role for topoisomerases in the release of DNA into the detergent-soluble fraction of eukaryotic cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 83, n. 16, p. 5871–5874, ago. 1986.

ZHAO, Mengnan *et al.* Post-resection treatment of glioblastoma with an injectable nanomedicine-loaded photopolymerizable hydrogel induces long-term survival. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 548, n. 1, p. 522–529, set. 2018.

ZHU, Yufu *et al.* Multi-responsive nanofibers composite gel for local drug delivery to inhibit recurrence of glioma after operation. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 19, n. 1, p. 198, 3 dez. 2021.

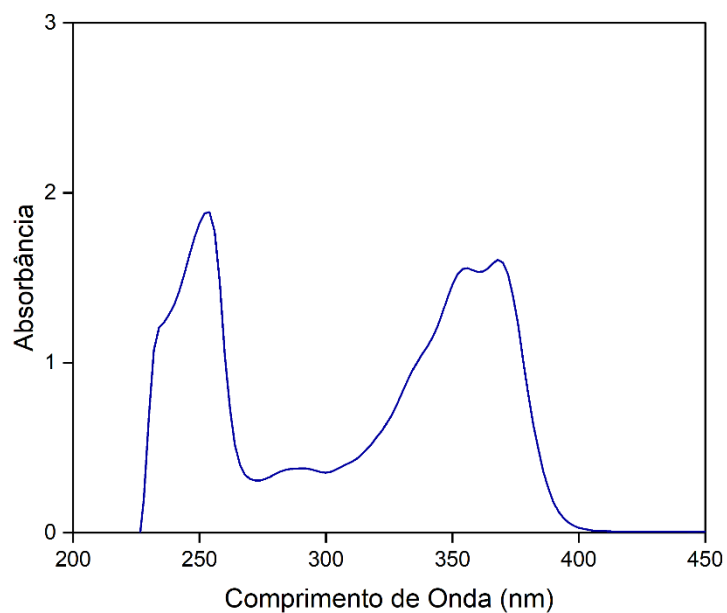
ZIMMERMANN, Matheus VG *et al.* Drying techniques applied to cellulose nanofibers. **Journal of Reinforced Plastics and Composites**, v. 35, n. 8, p. 682–697, 8 abr. 2016.

ZIOMKOWSKA, Blanka *et al.* Deactivation rate of camptothecin determined by factor analysis of steady-state fluorescence and absorption spectra. **Optica Applicata**, v. XXXVI, n. 1, p. 137–146, 2006.

ZUBERI, Aruba *et al.* Smart liposomal systems for brain cancer: Technological innovations in drug delivery. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 255, p. 114904, nov. 2025.

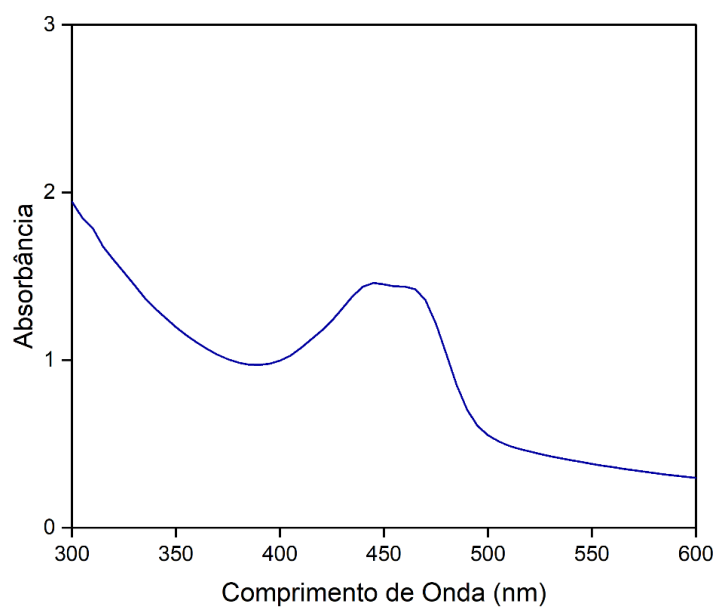
ANEXO I – VARREDURAS DE ABSORBÂNCIA EM UV-VIS PELO COMPRIMENTO DE ONDA

Figura A1 - Varredura da campototecina solubilizada em solução de SDS 5% (m/m)



Fonte: Elaborado pelos autores.

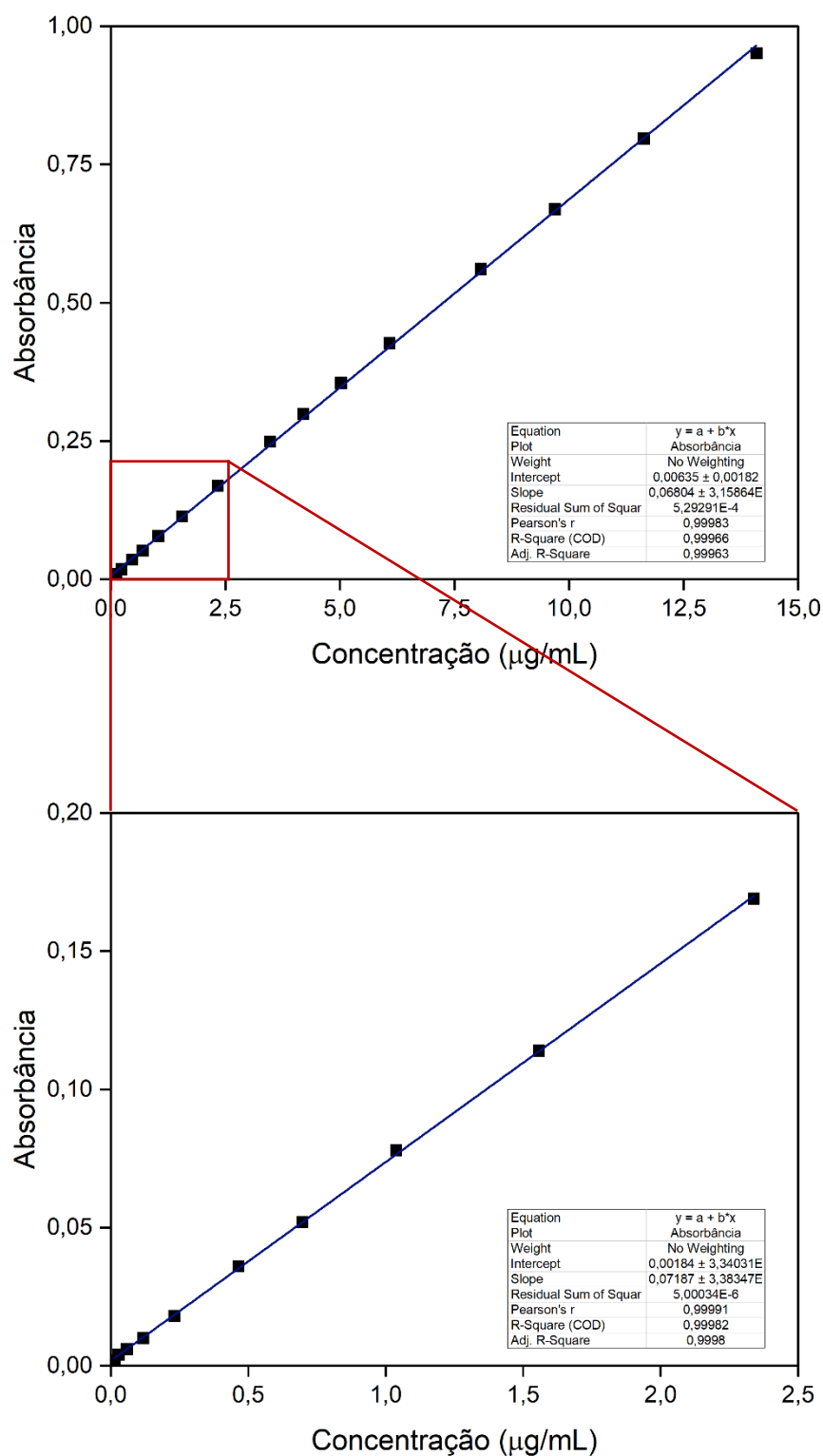
Figura A2 - Varredura das NPs com Courmarin 6 dispersas em PBS



Fonte: Elaborado pelos autores.

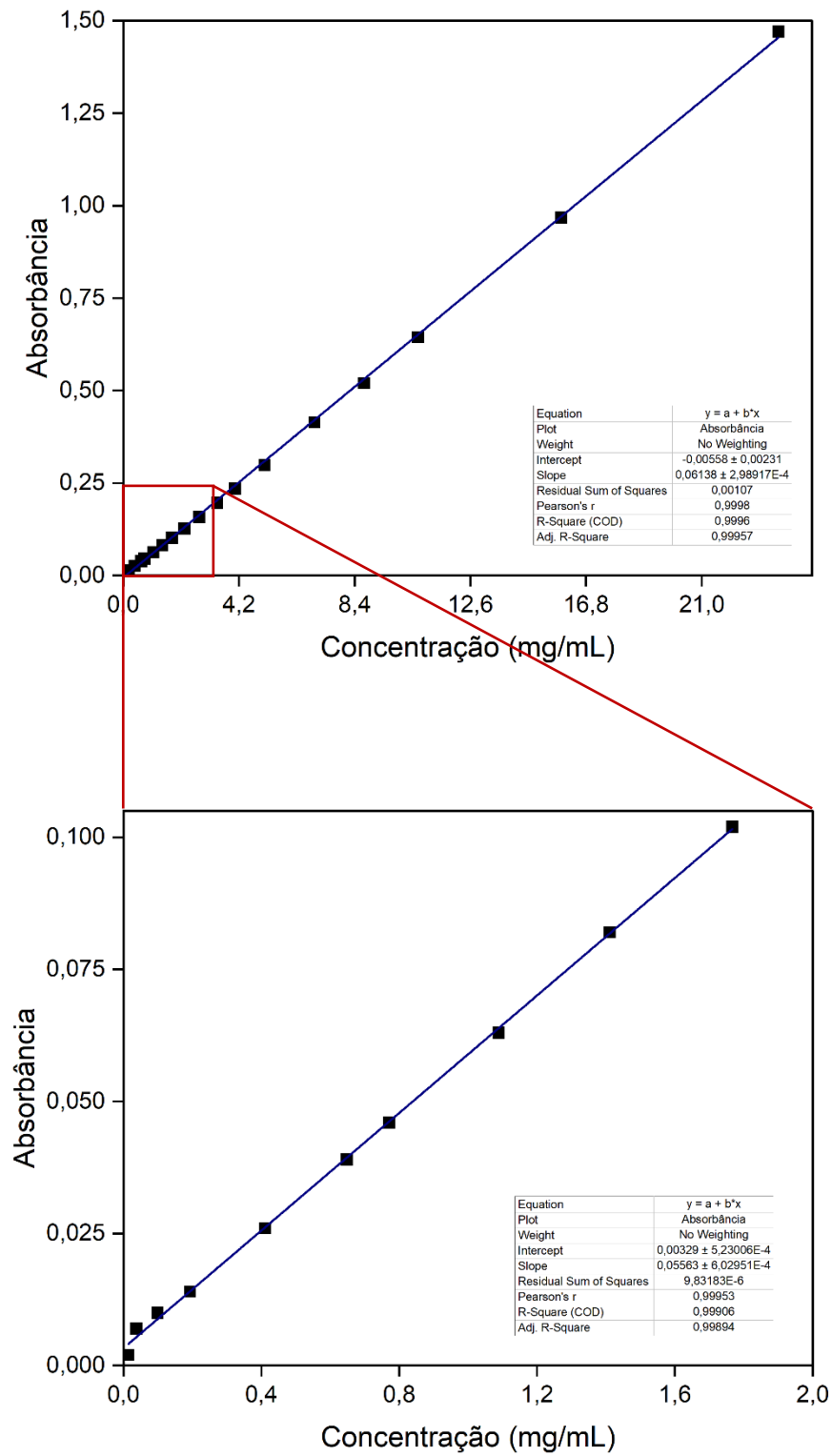
ANEXO II – CURVAS DE CALIBRAÇÃO DE ABSORBÂNCIA (UV-VIS)

Figura A3 – Curva obtida para a camptotecina solubilizada em solução de SDS 5% (m/m) obtida a 368 nm



Fonte: Elaborado pelos autores.

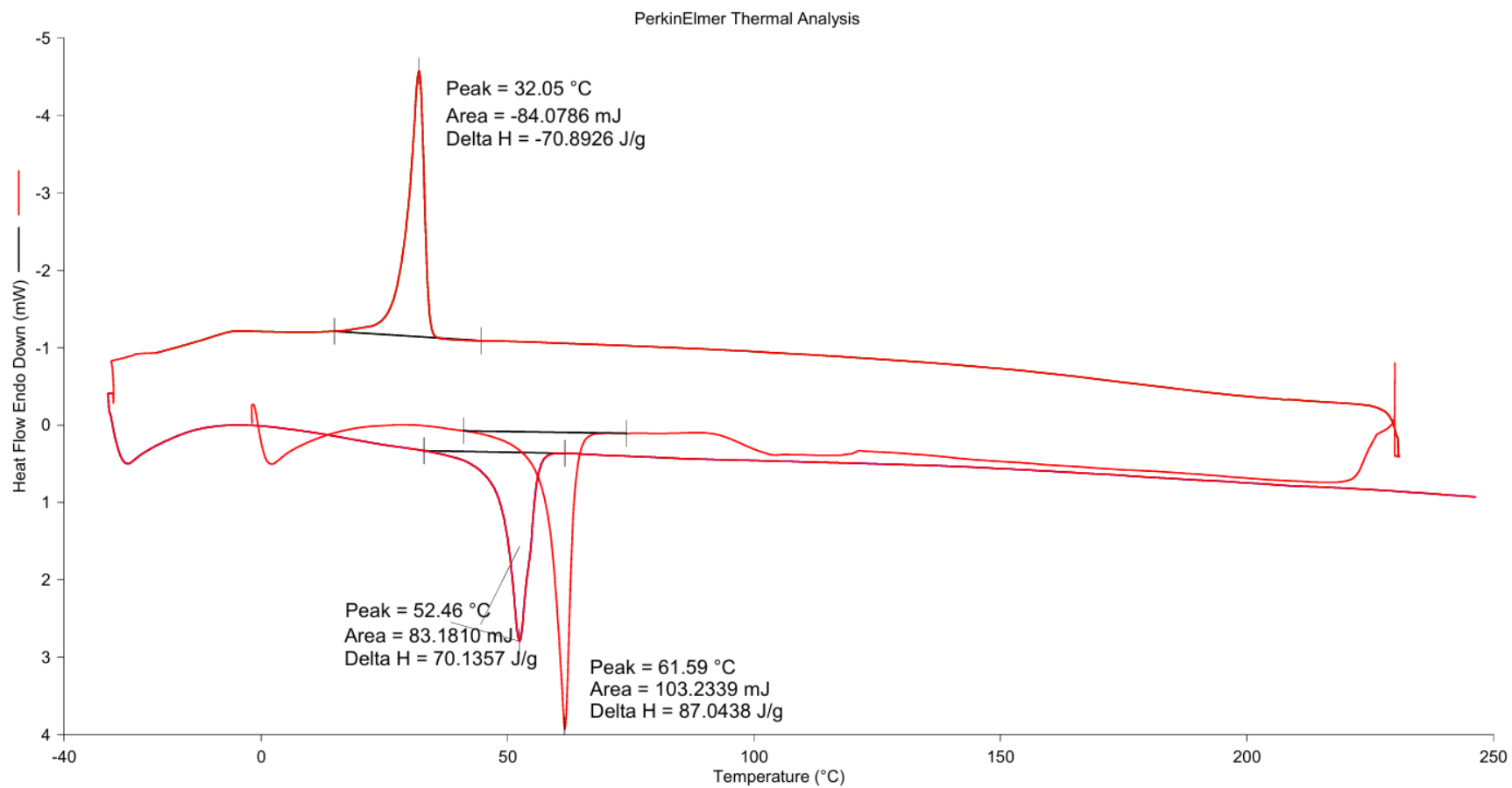
Figura A4 - Curva obtida para as NPs de Coumarin 6 dispersas em PBS obtida a 445 nm



Fonte: Elaborado pelos autores.

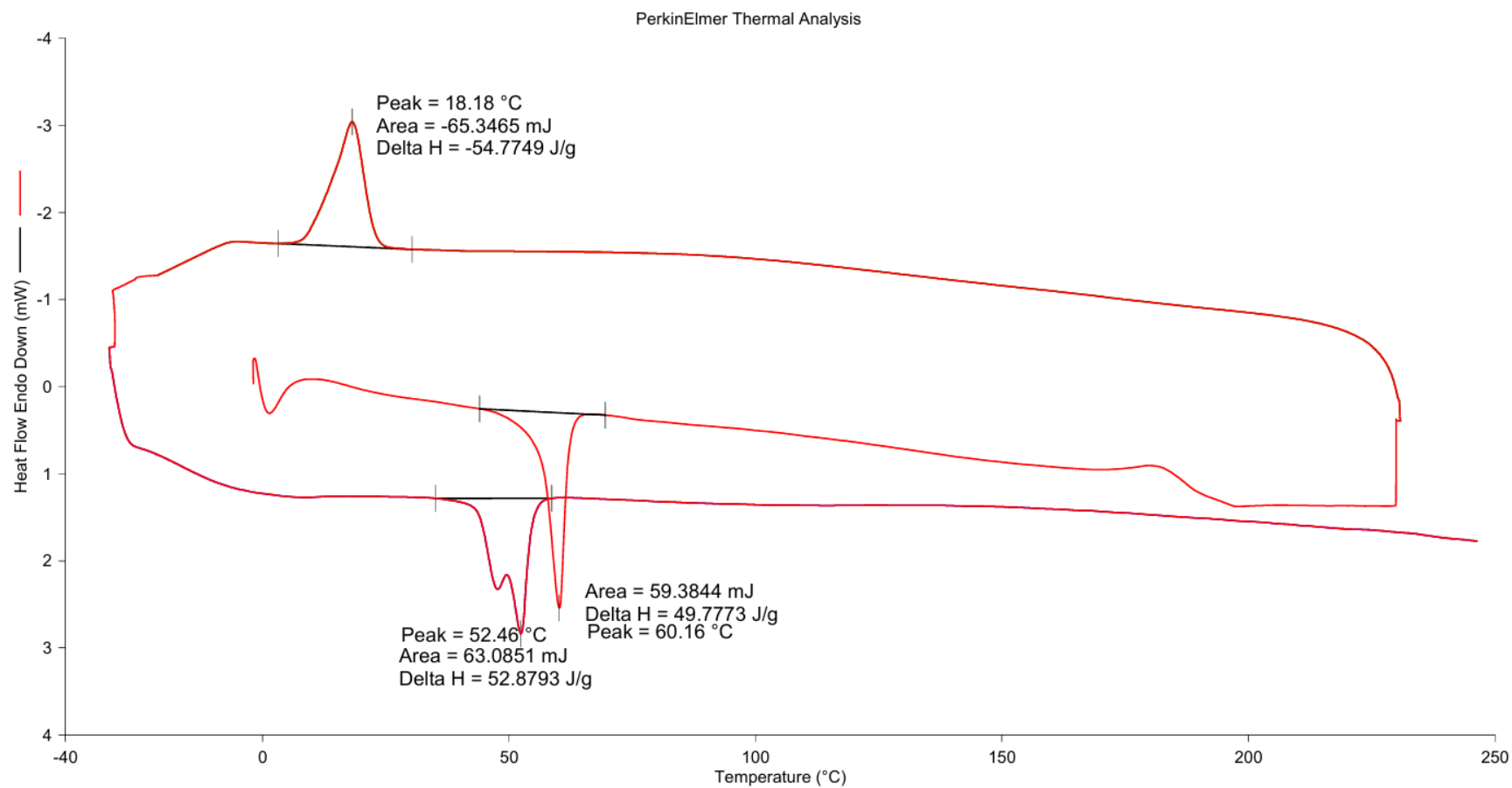
ANEXO III – PERFIL COMPLETO DA ANÁLISE DE DSC

Figura A5 - Perfil de DSC do PCL em sua forma isolada



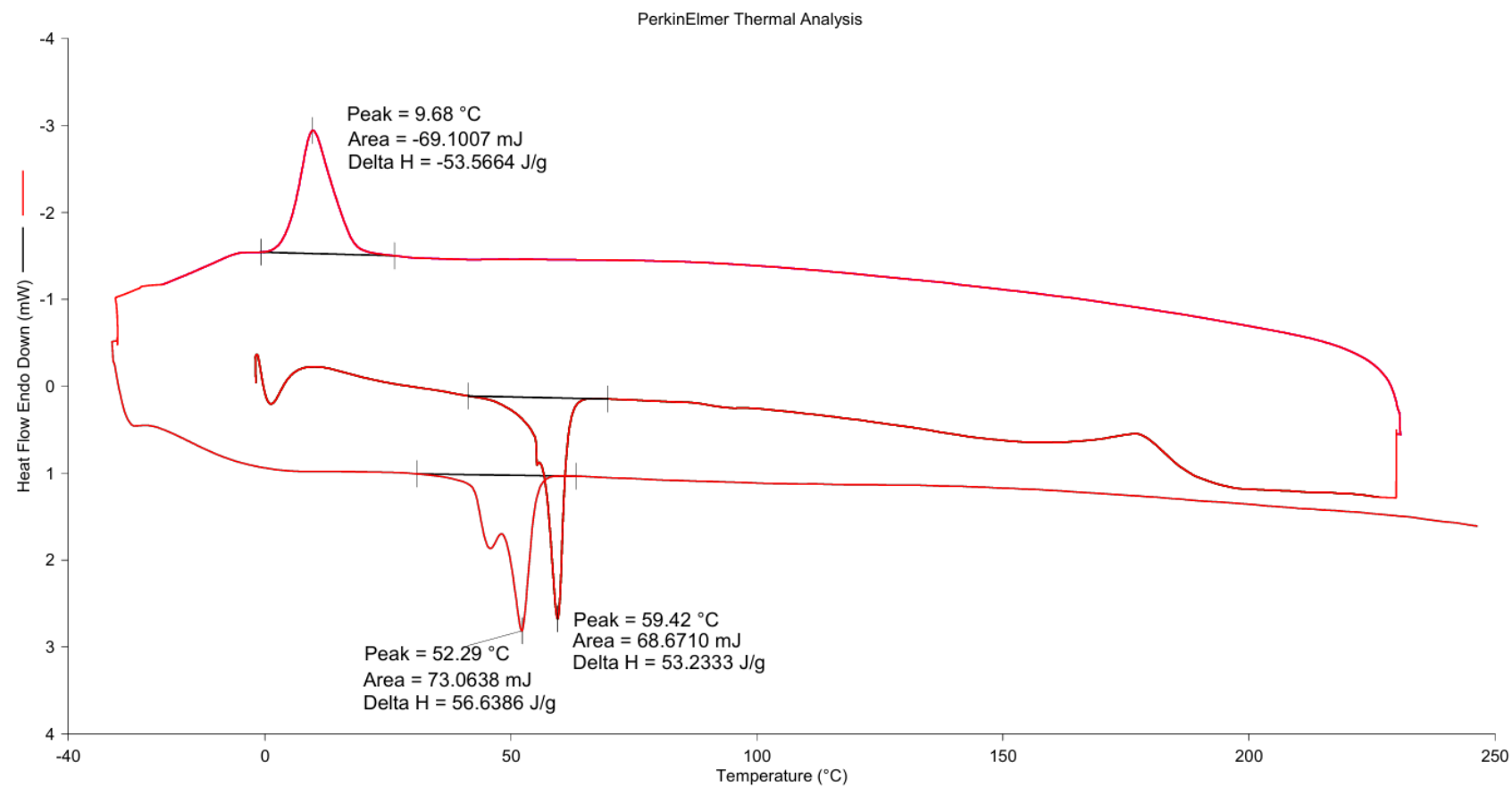
Fonte: Elaborado pelos autores.

Figura A6 - Perfil de DSC da NP-B (Nanopartículas de PCL sem fármaco)



Fonte: Elaborado pelos autores.

Figura A7 - Perfil de DSC da NP-CPT (Nanopartículas de PCL contendo camptotecina)



Fonte: Elaborado pelos autores.

ANEXO IV – CARACTERIZAÇÃO POR DLS DAS NANOPARTÍCULAS LIBERADAS DO DDS SOB DIFERENTES CONDIÇÕES DE MEIO

Tabela 5 - Valores de Dp e PDI obtidos nas leituras de DLS durante a liberação das NPs do DDS

Tempo (h)	SDS 5%		Água deionizada		SDS 0,5%		PBS	
	Dp	PDI	Dp	PDI	Dp	PDI	Dp	PDI
24	-----		-----		170 ± 1	0,21 ± 0,01	141 ± 3	0,37 ± 0,11
48	Sem critério de qualidade		182 ± 2	0,10 ± 0,00	148 ± 2	0,25 ± 0,03	118 ± 1	0,19 ± 0,02
72			189 ± 2	0,11 ± 0,01	139 ± 2	0,33 ± 0,04	134 ± 1	0,12 ± 0,02
96			203 ± 5	0,16 ± 0,02	127 ± 3	0,20 ± 0,02	145 ± 1	0,14 ± 0,02
120			209 ± 3	0,14 ± 0,04	138 ± 0	0,16 ± 0,00	151 ± 1	0,10 ± 0,01
144			234 ± 12	0,26 ± 0,06	150 ± 1	0,15 ± 0,01	153 ± 1	0,09 ± 0,03
168	Sem critério de qualidade		Sem critério de qualidade		149 ± 0	0,14 ± 0,02	155 ± 0	0,08 ± 0,02
192					175 ± 1	0,23 ± 0,01	158 ± 2	0,09 ± 0,01
216					155 ± 3	0,16 ± 0,02	162 ± 1	0,14 ± 0,05
240					152 ± 1	0,14 ± 0,03	234 ± 3	0,26 ± 0,02
264					152 ± 2	0,14 ± 0,02	174 ± 2	0,18 ± 0,03
288					159 ± 1	0,25 ± 0,03	178 ± 4	0,22 ± 0,02

Fonte: Elaborado pelos autores.