

NANOTECNOLOGIA EM MEDICINA: ASPECTOS FUNDAMENTAIS E PRINCIPAIS PREOCUPAÇÕES

Juliana Cancino, Valéria S. Marangoni e Valtencir Zucolotto*

Instituto de Física de São Carlos[#], Universidade de São Paulo, 13560-970 São Carlos – SP, Brasil

Recebido em 01/08/2013; aceito em 12/11/2013; publicado na web em 20/02/2014

Revisão

NANOTECHNOLOGY IN MEDICINE: CONCEPTS AND CONCERNS. The recent advances in the development of nanomaterials have opened new and exciting opportunities for their applications in medicine. These applications include molecular imaging, drug-delivery, and photothermal therapy. Despite the progress in medicinal applications of nanomaterials, several key problems remain unaddressed. Recent advances in this area include the enhancement of sensitivity in early diagnosis and therapy, in addition to investigations into the possible toxicity of nanomaterials. However, since little is known about the toxicity of nanomaterials, the regulation of these materials is a slow and complex process. This paper reviews the current scenario in the applications of nanomaterials in medicine as well as the main concerns and regulatory questions.

Keywords: nanomedicine; nanotechnology; regulation.

INTRODUÇÃO

A nanomedicina surgiu como uma nova ferramenta para alavancar os avanços das aplicações de nanomateriais na medicina tradicional. Com isso, inúmeras aplicações de nanomateriais para diagnóstico e tratamento têm sido descritas na literatura desde seu surgimento.¹⁻³ A entrega de medicamentos foi uma das primeiras áreas a crescer neste cenário, e uma das que mais se desenvolveu ao longo dos anos.⁴⁻⁶ Consequentemente, a ideia de aliar diagnóstico e entrega do ativo para o tratamento pontual tem avançado.⁷⁻¹¹ Atualmente, muitos pesquisadores da área dizem que a nanomedicina pode ser um refinamento da medicina molecular, integrando inovações em genômica e proteômica para uma medicina ainda mais personalizada, isto é, estudando caso a caso, do diagnóstico precoce até o tratamento pontual, minimizando os riscos para o organismo do paciente.

A utilização de nanomateriais em medicina faz com que as instrumentações e metodologias tradicionais de análise sejam melhoradas a cada nova descoberta.¹² Por isso, a utilização de técnicas de diagnóstico baseadas em nanopartículas oferece uma alta sensibilidade, como no caso do diagnóstico de cânceres em estágios iniciais.^{1,13} Por exemplo, se uma nanopartícula for suficientemente seletiva na marcação de uma célula cancerígena e esta for diagnosticada por imagem ou outra técnica analítica altamente sensível, aumentará as chances do paciente ter a cura completa da doença sem atingir os outros níveis da doença, como a metástase.

Materiais nanoestruturados podem ser acumulados em tumores sólidos por um mecanismo passivo fazendo uso do aumento da retenção e permeabilidade em tumores, conhecido como EPR (do inglês *enhanced permeability and retention effect*).¹⁴⁻¹⁶ Em outras palavras, a permeabilidade vascular aumentada que alimenta o tumor e garante seu rápido crescimento pode ser utilizada para acumular moléculas. No entanto, esse efeito é observado apenas em macromoléculas (acima de 45 kDa), que apresentam um tempo de circulação prolongado.¹⁴ Por isso, moléculas conjugadas com nanomateriais podem ser acumuladas mais eficientemente em tumores.

Em meados da década de 1990 o *Food and Drug Administration* (FDA) o órgão governamental dos Estados Unidos responsável pelo controle de novos produtos no mercado americano, aprovou uma

formulação lipossomal de doxorrubicina, a Doxil[®], pois na época o novo fármaco nanoencapsulado demonstrou que a cardiotoxicidade diminuiu em comparação com a doxorrubicina livre para o tratamento de câncer nos ovários. Outro exemplo é o fármaco Abraxane[®], uma nanopartícula contendo albumina, e paclitaxel, indicado para o tratamento de diversos cânceres, também aprovado pela FDA em 2005.¹⁷

A possibilidade de incorporação de vários tipos de moléculas na superfície de uma única nanopartícula permite a adição de propriedades adicionais ao nanomaterial. Assim, o acúmulo de nanomateriais em tecidos tumorais também pode ser realizado por meio da funcionalização de sua superfície com biomoléculas como proteínas,¹⁸ peptídeos,¹⁹ aptâmeros²⁰ e anticorpos específicos,²¹ que reconheçam especificamente células ou tecidos de interesse.

Outra linha de pesquisa que tem avançado é a do desenvolvimento de nanopartículas com radiomarcagem para aplicações em imagens e radioterapia.²² Estudos mostram a eficiência na combinação de terapias fotodinâmicas para o tratamento de cânceres na região do pescoço e cabeça. Nesse caso, o fármaco é nanoencapsulado para proteger o ativo de desestabilizações no plasma, além de minimizar a absorção não específica em órgãos saudáveis e impedir o acúmulo do medicamento nos rins, enquanto permite a liberação do ativo dentro do tumor, mostrando-se uma estratégia muito promissora.²³ Os efeitos de nanopartículas sobre o sistema de coagulação estão sendo estudados para evitar que os componentes dos sistemas de coagulação como o fluxo de sangue, fatores de coagulação ou plaquetas interajam especificamente com o nanomaterial, isto é, as nanopartículas podem ser manipuladas para não afetar os processos coagulantes e manter assim a homeostase.⁹

Apesar dos avanços no diagnóstico e tratamento por meio de nanomateriais muito deve ser investigado. Isso inclui a melhoria na sensibilidade do diagnóstico precoce, isto é no nível celular e/ou intracelular, bem como os tipos de tratamento e a toxicidade reduzida dos nanomateriais, abordagens fundamentais para o desenvolvimento e aumento do impacto da nanomedicina no futuro. Os desafios sempre existem, juntamente com oportunidades. A nanomedicina pode representar um grande aliado no desenvolvimento de sistemas eficientes de diagnóstico e tratamento, porém as preocupações sobre a segurança e fabricação não devem ser ignoradas. Por exemplo, as propriedades de cada lote de fármaco ou medicamento nanofabricado precisam ser verificadas, assim como os métodos de controle de qualidade.¹⁷ Mais detalhes sobre regulamentações serão apresentados ao longo do texto.

*e-mail: zuco@ifsc.usp.br

[#]Grupo de Nanomedicina e Nanotoxicologia

NANOMATERIAIS PARA DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO

O rápido avanço da nanomedicina está intimamente relacionado com algumas propriedades dos nanomateriais as quais permitem aplicações em diagnósticos e terapias.^{2,24} Para o desenvolvimento de nanomateriais com alta especificidade, sejam quais forem as aplicações, características como estabilidade, dispersão de tamanho, morfologia, carga superficial e toxicidade devem ser bem definidas para que os resultados desejados sejam alcançados.²⁵ Por exemplo, os agentes terapêuticos podem ser encapsulados, ligados covalentemente ou adsorvidos sobre os nanomateriais,²⁴ dando origem aos chamados materiais teranósticos (que servem para terapia e diagnóstico ao mesmo tempo). Essas abordagens podem facilmente resolver questões de solubilidade e biodispersão de muitos ativos. Nesse cenário, métodos cada vez mais eficientes tem sido desenvolvidos para a produção de nanomateriais com elevado controle dos seus parâmetros físico-químicos.²⁶ Os tópicos a seguir listam as principais propriedades dos nanomateriais que os diferenciam entre aplicáveis em diagnóstico e/ou terapia em medicina.

Nanomateriais metálicos

Nanomateriais metálicos apresentam propriedades óticas, eletrônicas e catalíticas diferenciadas decorrentes de sua estruturação na escala nanométrica.²⁷ Algumas destas propriedades advêm da interação com o campo eletromagnético, que, em frequências específicas, podem induzir uma oscilação ressonante e coerente dos elétrons livres na superfície destas nanoestruturas.²⁷⁻²⁹ Esta oscilação é conhecida como ressonância plasmônica de superfície (SPR, do inglês *Surface Plasmon Resonant*).^{28,29}

Especificamente, nanomateriais a base de ouro têm sido os mais amplamente estudados devido à elevada estabilidade e eficiente absorção da luz.^{29,30} Nanopartículas de ouro com diâmetro entre 4 e 50 nm possuem comprimentos de onda de SPR entre 510 e 530 nm.³¹ Estas nanopartículas têm sido amplamente exploradas para diversas aplicações em medicina como em biossensores, diagnóstico de doenças e veículo para entrega de moléculas dentro das células.³²

A absorção SPR de nanomateriais metálicos pode ser seguida de uma rápida conversão da luz absorvida em calor. Esta propriedade pode ser utilizada para eliminar seletivamente células cancerígenas em um conceito chamado fototerapia.²⁹ No entanto, para aplicação fototérmica *in vivo* é necessária a utilização de uma radiação com maiores comprimentos de onda que facilite a penetração nos tecidos, aproximadamente de 650 a 900 nm, região em que hemoglobina e água possuem seu menor coeficiente de absorção.³³ Assim, a banda de SPR das nanopartículas deve ser em uma região do infravermelho próximo.

Nanomateriais de ouro têm sido alternativas interessantes para aplicações em fototerapia devido à dependência das suas propriedades físico-químicas com seu tamanho e forma.^{29,30} Em outras palavras, a modificação da forma do material de nanopartículas para *nanorods*, ou seja, nanomateriais na forma de bastões, pode deslocar o comprimento de onda de absorção do visível para o infravermelho.^{30,34} A banda de absorção de nanopartículas também pode ser obtida em uma região do infravermelho por meio do recobrimento de partículas de sílica (*core*) com uma camada de ouro, formando estruturas do tipo *core-shell*.³⁵

Nanomateriais possuem algumas vantagens sobre os agentes de contraste fototérmicos convencionais. Uma delas consiste no fato de que suas propriedades podem ser facilmente ajustadas na síntese, controlando-se fatores como tamanho e forma. Além disso, devido a sua escala de tamanho, nanomateriais também podem ser utilizados para aplicações em *drug delivery* e terapia gênica.³⁴

Nanopartículas magnéticas

Nanopartículas magnéticas podem ser formadas por diferentes tipos de ferritas cúbicas que apresentam a expressão geral $M^{2+}Fe_2O_4$, na qual M^{2+} é um metal que pode ser Mg, Co, Zn, Fe (Fe_3O_4 – magnetita), ou então maghemita ($\gamma-Fe_2O_3$).^{27,36} Na medicina, estes materiais têm se mostrado altamente eficientes para atuação em sistemas de *drug-delivery*,^{37,38} como agentes de contraste em imagens de ressonância magnética^{39,40} e na terapêutica do câncer por hipertermia magnética.⁴¹ Neste último caso, nanopartículas magnéticas absorvem a energia de um campo magnético oscilante, convertendo-a em calor.⁴²

Recentemente, gerações avançadas de nanomateriais multicomponentes e que demonstrem capacidades diversificadas para serem exploradas simultaneamente em aplicações múltiplas têm se mostrado relevantes no desenvolvimento de materiais para aplicações em medicina.⁴³ Exemplos incluem sistemas do tipo *core-shell* permitindo a obtenção de sistemas multifuncionais e ampliando suas possibilidades de aplicações. Neste caso, as nanopartículas magnéticas, principalmente de Fe_3O_4 , podem ser encapsuladas em sílica ou metais nobres.^{44,45} Por exemplo, nanopartículas *core-shell* de $Fe_3O_4@Au$, cujo núcleo de Fe_3O_4 é recoberto com uma camada de Au, combinam propriedades óticas e magnéticas bem definidas em um único sistema. Além disso, o recobrimento das nanopartículas magnéticas protege o *core* de Fe_3O_4 contra oxidação, sem reduzir significativamente suas propriedades magnéticas.^{46,47}

Nanomateriais de carbono

Nanomateriais de carbono com ligações sp^2 possuem propriedades mecânicas, eletrônicas, óticas e químicas únicas e têm se mostrado interessantes para muitas aplicações.⁷ Entre eles, os nanotubos de carbono (nanoestruturas 1D de carbono na forma de um tubo) e os grafenos (folhas de carbono 2D) são os que mais têm chamado atenção e estudos recentes têm mostrado o elevado potencial destes materiais para aplicações em medicina.^{7,48,49} Eles têm sido amplamente investigados para aplicações em biossensores, engenharia de tecidos, *drug-delivery*, imageamento molecular, entre outros. Além disso, nanotubos de carbono e grafenos possuem forte absorção ótica na região do infravermelho próximo, tornando-os materiais promissores para utilização em fototerapia.^{7,48,50}

Nanotubos de carbono tem sido amplamente utilizados como plataformas na fabricação de biossensores para detectar biomoléculas.⁵¹ Além disso, estudos têm mostrado que a funcionalização deste material permite sua atuação como moléculas carreadoras de medicamentos para aplicações em *drug delivery* e tem sido empregado com sucesso no tratamento de câncer.⁵² Por exemplo, nanotubos de carbono funcionalizados com polietileno glicol e conjugados com o quimioterápico paclitaxel proporcionaram maior eficácia na supressão do crescimento do câncer de mama.⁵³ Isto se deve, principalmente, ao maior acúmulo do quimioterápico na região do câncer quando conjugado com os nanotubos.

Recentemente, um número crescente de trabalhos tem explorado o potencial do grafeno para aplicações biomédicas.⁵⁴ Por possuir uma estrutura similar as dos nanotubos de carbono, grafenos também podem ser utilizados como carreadores de medicamentos⁵⁵ e no tratamento contra o câncer.⁵⁰ Por exemplo, óxido de grafeno reduzido tem se mostrado um excelente agente fototérmico, permitindo a eliminação eficiente de tumores em experimentos *in vivo*.⁵⁶ Em outro estudo, óxido de grafeno funcionalizado com polietilenoimina (PEI) foi conjugado com RNA de interferência e com o antitumoral doxorubicina. Esta entrega simultânea permitiu um aumento significativo da eficiência na quimioterapia.⁵⁷

Grafeno também tem sido conjugado com componentes de

imageamento e terapêuticos, formando materiais teranósticos.⁵⁴ Um estudo recente mostra a funcionalização de óxido de grafeno com nanopartículas de óxido de ferro e o polímero polietileno glicol (PEG) para adicionar propriedades magnéticas e melhorar a biocompatibilidade, respectivamente.⁵⁸

Pontos quânticos

Mais conhecidos como *quantum dots* (Qdots), os pontos quânticos são nanopartículas semicondutoras luminescentes amplamente utilizadas em imageamento molecular e sistemas de entrega de medicamentos.^{59,60} Apesar das propriedades físico-químicas de interesse dos Qdots, estudos mostram que os pontos quânticos podem ser tóxicos, uma vez que liberam substâncias químicas tóxicas como o cádmio e selênio, além da geração de espécies de oxigênio reativas em excesso. Entretanto, algumas pesquisas evidenciam que se os pontos quânticos forem devidamente recobertos com biomoléculas ou polímeros biocompatíveis os efeitos tóxicos podem ser minimizados.^{59,60}

Apesar de pequenos, entre 2 a 10 nm, e da compatibilidade com vários métodos e moléculas para recobrimento, a principal vantagem dos pontos quânticos como sistemas de imageamento e entrega de medicamento advém das suas propriedades ópticas. Os Qdots apresentam características distintas quando comparados aos corantes orgânicos convencionais e às proteínas fluorescentes, como emissão de luz ajustável, resistência contra a fotodegradação e excitação simultânea de cores múltiplas de fluorescência.⁶¹ A identificação de populações de Qdots aplicados como múltiplos sistemas carreadores em um único sistema modelo é facilitada devido aos picos de emissão serem estreitos e bem distintos. Este fato facilita os estudos de biodistribuição e farmacocinética em sistemas *in vivo*. Com todas essas vantagens os Qdots são considerados excelentes nanomateriais para o imageamento e diagnóstico por imagem (especialmente por microscopia de fluorescência) e entrega controlada de medicamentos. Porém todas essas vantagens foram confirmadas apenas em células e em pequenos animais, e estudos toxicológicos devem ser realizados antes da entrada desses sistemas na clínica médica.

CARACTERÍSTICAS FUNDAMENTAIS E PRINCIPAIS PREOCUPAÇÕES DA APLICAÇÃO DE NANOMATERIAIS EM MEDICINA

Para uma aplicação com alta sensibilidade e seletividade em sistemas diagnóstico e terapêutico, os nanomateriais devem estar combinados com biomoléculas ainda mais específicas, por exemplo, sistemas antígeno/anticorpo, enzima/substrato, receptores ou proteínas de membrana, sequências de DNA, RNA ou aptâmeros, cofatores, enfim, uma variedade de biomoléculas como descrito anteriormente.^{24,62} Além desses fatores um importante parâmetro que deve ser levado em consideração quando um sistema diagnóstico e/ou terapêutico é desenvolvido é a biodisponibilidade no meio biológico. Apesar da funcionalização de nanomateriais com moléculas específicas, a biodispersidade e disponibilidade de nanomateriais em sistemas biológicos ainda são reduzidas. Com isso, um novo termo foi estabelecido para se referir a esses materiais, os chamados nano-objetos e seus agregados e aglomerados, do inglês, *nano-objects their agglomerates and aggregates* (NOAA) sem alterar totalmente suas dimensões na nanoescala, podendo ou não possuir as mesmas características de um nanomaterial totalmente disperso.⁶³ Se ainda é complicado e difícil prever as reações adversas ao sistema biológico com o nanomaterial disperso, como será então com esses NOAAs?

Devido às suas dimensões reduzidas, as nanopartículas podem penetrar em diversas regiões do organismo de um indivíduo que participa da fabricação, manipulação ou mesmo do uso destas como

diagnósticas ou terapia em nanomedicina, isto é, por meio da absorção/adsorção desses nanomateriais no uso como creme para pele, via oral, ou por inalação.⁴ Porém, essa entrada no sistema biológico depende de diversos fatores como composição química da superfície, propriedades físico-químicas, tamanho e forma, capacidade de agregação ou aglomeração, ou mesmo a funcionalização com biomoléculas específicas.^{26,64}

Outro fator importante são as doses: até que ponto as doses administradas não demonstram efeitos tóxicos, ou quanto tempo esse nanomaterial fica disponível dentro do organismo até ser completamente eliminado, e como será essa eliminação?^{65,66} Como os nanomateriais possuem diferentes tamanhos e funcionalizações, cada um poderá apresentar um mecanismo diferente de entrada na célula. Um estudo realizado com nanopartículas esféricas de poliestireno com dimensões de 20 nm sugere que essas entram nas células através da membrana em uma passagem direta sem a necessidade de mecanismos de transporte específicos, seguido da distribuição por todo o citoplasma e ligando-se a várias bioestruturas do citoesqueleto.⁶⁷ Compreender os mecanismos de entrada e saída das células, assim como assegurar a estabilidade das nanopartículas, principalmente as propriedades de superfície, será fundamental para garantir a segurança e melhor aproveitamento de suas funções.

NANOTOXICIDADE

Apesar dos avanços da nanomedicina em sistemas diagnósticos e terapêuticos, o potencial efeito na saúde humana devido à exposição prolongada ainda não foi estabelecido. A limitada quantidade de informações acerca dos efeitos tóxicos desses nanomateriais faz com que a nanomedicina enfrente várias questões regulatórias em um processo complexo e dispendioso, mas necessário, independentemente do nanomaterial ou aplicação. Uma das principais preocupações diz respeito a como as nanopartículas conseguem penetrar em membranas células mais facilmente, quando comparado a diversas outras moléculas ou fármacos.^{64,68,69} Será que essa maior facilidade pode ser alguma indicação de efeito tóxico? Essas dúvidas são o combustível dos estudos em nanotoxicologia, isto é, responder o maior número de questões sobre como é a interação entre nanomateriais e sistemas biológicos, e quais são as limitações e mecanismos associados a essa exposição em curto, médio e longo prazo.

Para isso, metodologias analíticas e biológicas clássicas estão sendo adaptadas para investigações toxicológicas entre nanomateriais e sistemas biológicos.^{66,70-72} Dentre elas estão a citometria de fluxo, proliferação celular, fragmentação do DNA, ciclo celular, histologia, biodisponibilidade e biodispersão. As análises *in vitro* e *in vivo* são as mais utilizadas, porém as informações hoje disponíveis ainda são contraditórias e pouco precisas. Para auxiliar a busca de resultados nessa área, outras ferramentas têm sido propostas como modelos,⁶⁴ simulações computacionais ou instrumentações no nível atômico e/ou molecular.⁷³

Estudo *in vitro* com diferentes linhagens de células e nanomateriais têm sido reportados. Dentre eles os nanotubos de carbono isolados ou combinados com outros materiais. A toxicidade de nanotubos de carbono conjugados à dendrímeros (moléculas orgânicas altamente ramificadas e utilizadas em sistemas de entrega de medicamentos) foi avaliada em linhagem de célula progenitora C2C12 e os resultados mostraram que os nanotubos isolados são menos tóxicos do que os mesmos combinados a dendrímeros.⁷⁴ Alguns estudos com linhagens como macrófagos (RAW 264.7), epiteliais (A549 e H460) e monócitos (THP-1) indicam que a toxicidade de nanotubos de carbono está ligada às propriedades físico-químicas, estrutura, tamanho, agregados e aglomerados, mas principalmente à contaminação com metais ligados ao processo de produção.^{75,76}

Devido a biodisponibilidades e demora na liberação de comitês de ética, a contribuição de resultados e informações sobre a toxicidade de nanomateriais por meio de estudos *in vivo* ainda é pequena.⁷⁷ A maioria dos estudos *in vivo* publicados indica que os nanomateriais alteram a sobrevivência do animal exposto à pesquisa.⁷⁸ Por exemplo, estudos relatam que a injeção intravenosa de nanopartículas de ouro revestidas com polietilenoglicol, com tamanho médio de 13 nm, induziu a inflamação aguda e apoptose do fígado, além do grande acúmulo no mesmo órgão e no baço. Outros mostram a bioacumulação no fígado, baço e rins de nanopartículas de ouro estabilizadas com citrato (tamanho médio de 12.5 nm) após a injeção intraperitoneal em ratos após oito dias de administração contínua, nas concentrações entre 40, 200 e 400 µg/kg/dia.⁷⁹

Por outro lado, estudos demonstram que certos ensaios de citotoxicidade não são apropriados para avaliar a toxicidade de nanopartículas. Por exemplo, estudos indicam que nanopartículas de cobre e prata podem interferir nos ensaios com lactato desidrogenase (LDH) pela inativação da própria enzima LDH.⁸⁰ Nesse contexto, o maior desafio é validar os ensaios *in vitro* e *in vivo* que se mostraram eficientes até o momento, para o conhecimento correto da toxicidade de nanomateriais e os possíveis danos à saúde.

Existem, contudo, novas problemáticas em comparar ensaios *in vivo* e *in vitro*, por exemplo, as diferenças de concentrações e doses administradas para os ensaios.⁸¹ Doses muito altas em ensaios *in vitro* não condizem com as doses administradas em ensaios *in vivo*, sem contar o tempo de exposição ou a utilização dos meios de cultura em ensaios *in vitro*, tornando as nanopartículas com propriedades físico-químicas diferentes das administradas em ensaios *in vivo* devido à adsorção de alguns componentes do meio na superfície da nanopartícula.⁸² Parâmetros como a correlação *in vitro-in vivo* (do inglês: *in vitro-in vivo correlation - IVIVC*) tornam-se de fundamental importância.

Estudos de padronização e validação de nanopartículas dispersas em meios biológicos já estão sendo otimizados.⁸³ Como é o caso das nanopartículas de dióxido de titânio (TiO₂), disponíveis comercialmente porém estudos indicam níveis de toxicidade aguda e crônica com o uso desse nanomaterial. Nesse estudo foram avaliados parâmetros como tempo e potência de sonicação, distribuição do tamanho, pH, ponto isoeletrico, aglomeração em diversas condições. Os resultados mostraram que as nanopartículas mantiveram-se estáveis por pelo menos 48 h em condições normais de incubação.⁸³

Enfim, uma série de metodologias e detalhes experimentais deve ser levada em conta nos estudos de toxicidade de nanomateriais para uma posterior padronização e regulamentação, principalmente para os materiais que serão administrados como diagnóstico e tratamento em medicina.

REGULAMENTAÇÕES E PADRONIZAÇÕES VIGENTES

É evidente a eficiência dos nanomateriais para o diagnóstico e tratamento em nanomedicina. O problema atualmente é estimar quanto tempo será necessário para a padronização e regulamentação desses ativos. De acordo com Haynes, existem hoje nos Estados Unidos mais de 30 produtos classificados como nanoterapêuticos, já aprovados pela FDA, e mais de 100 produtos em fases II e III.⁸¹ Porém, a capacidade da FDA (e de inúmeras outras agências de regulação ao redor do mundo) em regular a segurança dos produtos que utilizam nanomateriais é muitas vezes limitada pela falta de informação, falta de recursos e falta de autoridade legal em certas áreas.¹⁷

A importância de regulamentar e padronizar o uso de nanomateriais atualmente é enorme. Um exemplo são as conferências para discussões sobre o assunto na Europa e nos Estados Unidos, nas quais pesquisadores e membros governamentais discutem como serão as

regulamentações e quais as legislações e normas serão necessárias para o avanço na área. Na Europa cada país se reúne para estudar as definições e padronizações necessárias, seguida de uma reunião para associar as ideias e os avanços de cada país, para assim padronizar e regular as normas do uso de nanomateriais na União Européia e no Reino Unido. Isso acontece também nos Estados Unidos, onde cada estado se reúne seguido de uma reunião geral com membros do governo, além dos especialistas da FDA.

A organização internacional de padronizações, ISO (do inglês *International Organization for Standardization*) já implantou algumas certificações e guias como ISO/TS 12901:2012 para o gerenciamento de riscos aplicados à engenharia de nanomateriais; ISO/TR 11360:2010 onde se encontra metodologias de classificação e categorização de nanomateriais, e ISO/TS 12025:2012 para a quantificação de NOAAs gerados por aerossóis e a mais atual, ISO/TS 16195:2013, que consiste em um guia com orientações para o desenvolvimento de ensaios de materiais em forma de pó seco que consistem de nano-objetos.⁸⁴ São guias e padronizações disponíveis para toda a comunidade industrial.

Apesar da existência de algumas padronizações, o tempo de comercialização estimada de sistemas nanoestruturados, principalmente os aplicados em medicina como diagnóstico e tratamento, é longo. A Figura 1 exemplifica as etapas e o tempo estimado de comercialização de produtos com características nano projetado pela agência americana de Projetos para Nanotecnologias Emergentes, PEN (do inglês *The Project on Emerging Nanotechnologies*), que é um setor dedicado a ajudar e a garantir que as nanotecnologias cheguem ao mercado com o mínimo de riscos e alta aceitação.⁸⁵



Figura 1. Tempo de comercialização estimada para sistemas de entrega de medicamentos nanoestruturados segundo inúmeros relatos na literatura

Do desenvolvimento à liberação de medicamentos, são no mínimo treze anos, sem levar em conta os estudos fundamentais e a produção em larga escala. Alguns exemplos de medicamentos nanoestruturados no mercado internacional estão descritos na Tabela 1, assim como as indicações e o status de aprovação.

Em 2010, a agência brasileira de desenvolvimento industrial disponibilizou um documento com uma ampla discussão sobre o mercado e a dimensão da nanotecnologia no Brasil, investimento, infraestrutura e uma visão sobre o marco regulatório, aspectos éticos e a aceitação pela sociedade.⁸⁶ De acordo com pesquisas realizadas pelo Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação (MCTI), as oportunidades de negócio em nanotecnologia estão mais direcionadas ao mercado de cosméticos, produtos provenientes da indústria química (catalisadores, tintas, revestimentos) e petroquímica, plásticos, borrachas e ligas metálicas. Em 2010 estavam listadas algumas empresas que atuavam no desenvolvimento de produtos nanoestruturados, como Embrapa, Bunge, Faber Castell, Nanox, Nanocore, Braskem, entre outras.⁸⁶ Porém, ainda hoje o Brasil não possui uma base de dados sobre o mercado dos produtos,

Tabela 1. Nanomedicamentos aprovados por um ou mais órgãos reguladores

Produto	Nanofabricação	Indicação	Status
<i>Doxil</i> [®]	Lipossoma de PEG com doxorubicina	Câncer dos ovários	Aprovado em 1995 pelo FDA nos EUA
<i>Myocet</i> [®]	Lipossoma com doxorubicina	Câncer de mama em metástase	Aprovado na Europa e Canadá
<i>DaunoXome</i> [®]	Lipossoma com daunorrubicina	Tratamento avançado de HIV associado a tumor do endotélio linfático	Aprovado nos EUA
<i>Rexin-G</i> [®]	Proteína marcada com lipídio e microRNA	Sarcoma, osteossarcoma, câncer de pâncreas e tumores sólidos	Aprovado nas Filipinas e em fase II/III nos EUA
<i>Resovist</i> [®]	Nanopartículas de óxido de ferro revestida com carboxidextran	Imageamento de lesões no fígado e baço	Aprovado em 2011 na Europa
<i>Feridex</i> [®]	Nanopartículas de óxido de ferro com dextran	Imageamento de lesões no fígado e baço	Aprovado em 1996 pela FDA nos EUA
<i>Endorem</i> [®]	Nanopartículas de óxido de ferro com dextran	Imageamento de lesões no fígado e baço	Aprovado na Europa

processos e serviços baseados em nanotecnologia, principalmente os aplicados à medicina.

O desenvolvimento de nanomateriais aplicados à medicina no Brasil ainda se concentra em universidades e grandes centros de pesquisa, reportados na forma de artigos nacionais e internacionais ou teses. Sem dúvida, o Brasil possui um significativo parque instrumental, com equipamentos de médio e grande porte, obtidos em grande parte por ações do MCTI e programas federais e estaduais. Entre 2000 e 2007, o governo brasileiro investiu, por meio de suas universidades e centros de pesquisa, R\$ 160 milhões na pesquisa da nanotecnologia, além dos investimentos do setor privado, totalizando cerca de R\$ 320 milhões. Esses valores ainda são modestos, quando comparados a países da Europa ou Estados Unidos, mas com certeza representaram um grande impacto ao desenvolvimento da Nanotecnologia no Brasil.⁸⁶

Apesar dos esforços e tentativas da inserção de produtos com nanotecnologia no mercado nacional, muito ainda deve ser feito. Esforços de normalização através do comitê ISO/TC 229 não bastam para assegurar a entrada de produtos contendo nanopartículas em suas composições, principalmente as aplicadas em diagnóstico e tratamento em medicina. Uma comissão brasileira participa dos fóruns organizados pela ISO, porém precisamos de recursos humanos (especialistas, analistas e técnicos) qualificados para analisar pedidos de liberação e padronizações, para que o processo de regulamentação no país não fique aquém daquele existente em países da Europa e Estados Unidos.

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

O avanço no desenvolvimento de nanomateriais aplicados a medicina cresceu muito ao longo dos anos. Muito se deve às melhorias dos protocolos, rotas de síntese, combinação com biomoléculas e principalmente às preocupações com os possíveis efeitos tóxicos que esses nanomateriais podem ter em contato com o sistema biológico. As formulações nanoestruturadas existentes ou não no mercado estão sendo aprimoradas, assim como as novas metodologias de análise. Porém ainda existe muito a se pesquisar e padronizar, principalmente no âmbito das análises toxicológicas para que novas regulamentações sejam implementadas. O Brasil possui atualmente grandes oportunidades para o desenvolvimento e comercialização de produtos nanoestruturados, seja aplicados à medicina humana, veterinária, ou mesmo para setores agroindustriais, farmacêuticos, químicos e cosméticos. A biodiversidade que o Brasil tem pode ser um grande aliado no desenvolvimento e na inovação de importantes nanomateriais. Mas para que toda essa

inovação e desenvolvimento nanotecnológico chegue ao mercado nacional e/ou internacional é necessária uma preocupação pontual no desenvolvimento de padronizações e regulações que possam ser associadas aos certificados e guias ISO já existentes, levando o mercado brasileiro a um novo cenário.

REFERÊNCIAS

- Blanco, E.; Hsiao, A.; Mann, A. P.; Landry, M. G.; Meric-Bernstam, F.; Ferrari, M.; *Cancer Science* **2011**, *102*, 1247.
- Caruso, F.; Hyeon, T.; Rotello, V. M.; *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 2537.
- Perinotto, A. C.; Caseli, L.; Hayasaka, C. O.; Riul, A.; Oliveira, O. N.; Zucolotto, V.; *Thin Solid Films* **2008**, *516*, 9002.
- Couvreux, P.; *Adv. Drug Delivery Rev.* **2012**, *in press*.
- Torchilin, V. P.; *Pharm. Res.* **2007**, *24*, 1.
- Farokhzad, O. C.; Langer, R.; *ACS Nano* **2009**, *3*, 16.
- Liu, Z.; Robinson, J. T.; Tabakman, S. M.; Yang, K.; Dai, H.; *Mater. Today* **2011**, *14*, 316.
- Menjoge, A. R.; Kannan, R. M.; Tomalia, D. A.; *Drug Discovery Today* **2010**, *15*, 171.
- Ilinskaya, A. N.; Dobrovol'skaia, M. A.; *Nanomedicine* **2013**, *8*, 773.
- McCarthy, J. R.; Weissleder, R.; *Adv. Drug Delivery Rev.* **2008**, *60*, 1241.
- Paszko, E.; Ehrhardt, C.; Senge, M. O.; Kelleher, D. P.; Reynolds, J. V.; *Photodiagn. Photodyn. Ther.* **2011**, *8*, 14.
- Kranz, C.; Eaton, D. C.; Mizaikoff, B.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2011**, *399*, 2309.
- Venditto, V. J.; Szoka, F. C.; *Adv. Drug Delivery Rev.* **2013**, *65*, 80.
- Maeda, H.; Fang, J.; Inutsuka, T.; Kitamoto, Y.; *Int. Immunopharmacol.* **2003**, *3*, 319.
- Maeda, H.; Bharate, G. Y.; Daruwalla, J.; *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2009**, *71*, 409.
- Brannon-Peppas, L.; Blanchette, J. O.; *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2004**, *56*, 1649.
- Wang, R.; Billone, P. S.; Mullett, W. M.; *J. Nanomater.* **2013**, ID 629681.
- Nghiem, T. H. L.; La, T. H.; Vu, X. H.; Chu, V. H.; Nguyen, T. H.; Le, Q. H.; Fort, E.; Do, Q. H.; Tran, H. N.; *Adv. Nat. Sci.: Nanosci. Nanotechnol.* **2010**, *1*, 025009.
- Oyelere, A. K.; Chen, P. C.; Huang, X. H.; El-Sayed, I. H.; El-Sayed, M. A.; *Bioconjugate Chem.* **2007**, *18*, 1490.
- Medley, C. D.; Bamrungsap, S.; Tan, W. H.; Smith, J. E.; *Anal. Chem.* **2011**, *83*, 727.
- Yang, L. L.; Mao, H.; Wang, Y. A.; Cao, Z. H.; Peng, X. H.; Wang, X. X.; Duan, H. W.; Ni, C. C.; Yuan, Q. G.; Adams, G.; Smith, M. Q.; Wood, W. C.; Gao, X. H.; Nie, S. M.; *Small* **2009**, *5*, 235.

22. Kong, L. G.; Mume, E.; Triani, G.; Smith, S. V.; *Langmuir* **2013**, *29*, 5609.
23. Master, A.; Malamas, A.; Solanki, R.; Clausen, D. M.; Eiseman, J. L.; Sen Gupta, A.; *Mol. Pharmaceutics* **2013**, *10*, 1988.
24. Chen, X.; Gambhhr, S. S.; Cheon, J.; *Acc. Chem. Res.* **2011**, *44*, 841.
25. Boulaiz, H.; Alvarez, P. J.; Ramirez, A.; Marchal, J. A.; Prados, J.; Rodriguez-Serrano, F.; Peran, M.; Melguizo, C.; Aranega, A.; *Int. J. Mol. Sci.* **2011**, *12*, 3303.
26. Rivera Gil, P.; Oberdorster, G.; Elder, A.; Puentes, V.; Parak, W. J.; *ACS Nano* **2010**, *4*, 5527.
27. Martins, M. A.; Trindade, T.; *Quim Nova* **2012**, *35*, 1434.
28. Bardhan, R.; Lal, S.; Joshi, A.; Halas, N. J.; *Acc. Chem. Res.* **2011**, *44*, 936.
29. Jain, P. K.; El-Sayed, I. H.; El-Sayed, M. A.; *Nano Today* **2007**, *2*, 18.
30. Anikeeva, P.; Deisseroth, K.; *ACS Nano* **2012**, *6*, 7548.
31. Haiss, W.; Thanh, N. T. K.; Aveyard, J.; Fernig, D. G.; *Anal. Chem.* **2007**, *79*, 4215.
32. Sperling, R. A.; Rivera gil, P.; Zhang, F.; Zanella, M.; Parak, W. J.; *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37*, 1896.
33. Weissleder, R.; *Nat. Biotechnol.* **2001**, *19*, 316.
34. Huang, X. H.; El-Sayed, I. H.; Qian, W.; El-Sayed, M. A.; *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 2115.
35. Oldenburg, S. J.; Averitt, R. D.; Westcott, S. L.; Halas, N. J.; *Chem. Phys. Lett.* **1998**, *288*, 243.
36. Sun, S. H.; Zeng, H.; Robinson, D. B.; Raoux, S.; Rice, P. M.; Wang, S. X.; Li, G. X.; *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 273.
37. Chertok, B.; Moffat, B. A.; David, A. E.; Yu, F. Q.; Bergemann, C.; Ross, B. D.; Yang, V. C.; *Biomaterials* **2008**, *29*, 487.
38. Sun, C.; Lee, J. S. H.; Zhang, M. Q.; *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2008**, *60*, 1252.
39. Andreas, K.; Georgieva, R.; Ladwig, M.; Mueller, S.; Notter, M.; Sittlinger, M.; Ringe, J.; *Biomaterials* **2012**, *33*, 4515.
40. Lim, E. K.; Huh, Y. M.; Yang, J.; Lee, K.; Suh, J. S.; Haam, S.; *Adv. Mater.* **2011**, *23*, 2436.
41. Fortin, J. P.; Wilhelm, C.; Servais, J.; Menager, C.; Bacri, J. C.; Gazeau, F.; *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 2628.
42. Laurent, S.; Forge, D.; Port, M.; Roch, A.; Robic, C.; Elst, L. V.; Muller, R. N.; *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 2064.
43. Kim, J.; Piao, Y.; Hyeon, T.; *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 372.
44. Wang, L. Y.; Luo, J.; Maye, M. M.; Fan, Q.; Qiang, R. D.; Engelhard, M. H.; Wang, C. M.; Lin, Y. H.; Zhong, C. J.; *J. Mater. Chem.* **2005**, *15*, 1821.
45. Salgueirino-Maceira, V.; Correa-Duarte, M. A.; Farle, M.; Lopez-Quintela, A.; Sieradzki, K.; Diaz, R.; *Chem. Mat.* **2006**, *18*, 2701.
46. Ban, Z. H.; Barnakov, Y. A.; Golub, V. O.; O'Connor, C. J.; *J. Mater. Chem.* **2005**, *15*, 4660.
47. Zhang, H.; Sun, Y.; Wang, J.; Zhang, J.; Zhang, H. Q.; Zhou, H.; Song, D. Q.; *Biosens. Bioelectron.* **2012**, *34*, 137.
48. Liang, F.; Chen, B.; *Curr. Med. Chem.* **2010**, *17*, 10.
49. Siqueira, J. R.; Werner, C. F.; Backer, M.; Poghosian, A.; Zucolotto, V.; Oliveira, O. N.; Schoning, M. J.; *J. Phys. Chem. C* **2009**, *113*, 14765.
50. Shi, S. X.; Yang, K.; Hong, H.; Valdovinos, H. F.; Nayak, T. R.; Zhang, Y.; Theuer, C. P.; Barnhart, T. E.; Liu, Z.; Cai, W. B.; *Biomaterials* **2013**, *34*, 3002.
51. Kim, S. N.; Rusling, J. F.; Papadimitrakopoulos, F.; *Adv. Mater.* **2007**, *19*, 3214.
52. Kam, N. W. S.; O'Connell, M.; Wisdom, J. A.; Dai, H. J.; *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2005**, *102*, 11600.
53. Liu, Z.; Chen, K.; Davis, C.; Sherlock, S.; Cao, Q. Z.; Chen, X. Y.; Dai, H. J.; *Cancer Res.* **2008**, *68*, 6652.
54. Yang, K.; Feng, L. Z.; Shi, X. Z.; Liu, Z.; *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 530.
55. Sun, X. M.; Liu, Z.; Welsher, K.; Robinson, J. T.; Goodwin, A.; Zaric, S.; Dai, H. J.; *Nano Res.* **2008**, *1*, 203.
56. Yang, K.; Wan, J. M.; Zhang, S.; Tian, B.; Zhang, Y. J.; Liu, Z.; *Biomaterials* **2012**, *33*, 2206.
57. Zhang, L. M.; Lu, Z. X.; Zhao, Q. H.; Huang, J.; Shen, H.; Zhang, Z. J.; *Small* **2011**, *7*, 460.
58. Yang, K.; Hu, L. L.; Ma, X. X.; Ye, S. Q.; Cheng, L.; Shi, X. Z.; Li, C. H.; Li, Y. G.; Liu, Z.; *Adv. Mater.* **2012**, *24*, 1868.
59. Probst, C. E.; Zrazhevskiy, P.; Bagalkot, V.; Gao, X. H.; *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2013**, *65*, 703.
60. Jin, Y. D.; Gao, X. H.; *Nat. Nanotechnol.* **2009**, *4*, 571.
61. Qi, L. F.; Gao, X. H.; *Expert Opin. Drug Delivery* **2008**, *5*, 263.
62. Zhang, L.; Gu, F. X.; Chan, J. M.; Wang, A. Z.; Langer, R. S.; Farokhzad, O. C.; *Clin. Pharmacol. Ther.* **2008**, *83*, 761.
63. Kim, S. C.; Chen, D. R.; Qi, C. L.; Gelein, R. M.; Finkelstein, J. N.; Elder, A.; Bentley, K.; Oberdorster, G.; Pui, D. Y. H.; *Nanotoxicology* **2010**, *4*, 42.
64. Cancino, J.; Nobre, T. M.; Oliveira, O. N., Jr.; Machado, S. A. S.; Zucolotto, V.; *Nanotoxicology* **2013**, *7*, 61.
65. Donaldson, K.; Schinwald, A.; Murphy, F.; Cho, W. S.; Duffin, R.; Tran, L.; Poland, C.; *Acc. of Chem. Res.* **2013**, *46*, 723.
66. Oberdorster, G.; *Environ. Health Perspect.* **2012**, *120*, A13.
67. Edetsberger, M.; Gaubitzer, E.; Valic, E.; Waigmann, E.; Kohler, G.; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2005**, *332*, 109.
68. Wahrheit, D. B.; *Toxicol. Sci.* **2008**, *101*, 183.
69. Dukhin, A. S.; Ulberg, Z. R.; Karamushka, V. I.; Gruzina, T. G.; *Adv. Colloid Interface Sci.* **2010**, *159*, 60.
70. Oberdorster, G.; *J. Intern. Med.* **2010**, *267*, 89.
71. Stone, V.; Johnston, H.; Schins, R. P. F.; *Crit. Rev. Toxicol.* **2009**, *39*, 613.
72. Paschoalino, M. P.; Marcone, G. P. S.; Jardim, W. F.; *Quim. Nova* **2010**, *33*, 421.
73. Aberg, C.; Kim, J. A.; Salvati, A.; Dawson, K. A.; *EPL* **2013**, *101*.
74. Cancino, J.; Paino, I. M. M.; Micocci, K. C.; Selistre-de-Araujo, H. S.; Zucolotto, V.; *Toxicol. Lett.* **2013**, *219*, 18.
75. Monteiro-Riviere, N. A.; Nemanich, R. J.; Inman, A. O.; Wang, Y. Y. Y.; Riviere, J. E.; *Toxicol. Lett.* **2005**, *155*, 377.
76. Liu, Y.; Zhao, Y. L.; Sun, B. Y.; Chen, C. Y.; *Acc. Chem. Res.* **2013**, *46*, 702.
77. Fischer, H. C.; Chan, W. C. W.; *Curr. Opin. Biotechnol.* **2007**, *18*, 565.
78. Johnston, H. J.; Hutchison, G.; Christensen, F. M.; Peters, S.; Hankin, S.; Stone, V.; *Crit. Rev. Toxicol.* **2010**, *40*, 328.
79. Li, Y. F.; Chen, C. Y.; *Small* **2011**, *7*, 2965.
80. Han, X. L.; Gelein, R.; Corson, N.; Wade-Mercer, P.; Jiang, J. K.; Biswas, P.; Finkelstein, J. N.; Elder, A.; Oberdorster, G.; *Toxicology* **2011**, *287*, 99.
81. Maurer-Jones, M. A.; Haynes, C. L.; *The Journal of Law, Medicine & Ethics* **2012**, *40*, 795.
82. Han, X.; Corson, N.; Wade-Mercer, P.; Gelein, R.; Jiang, J.; Sahu, M.; Biswas, P.; Finkelstein, J. N.; Elder, A.; Oberdoerster, G.; *Toxicology* **2012**, *297*, 1.
83. Taurozzi, J. S.; Hackley, V. A.; Wiesner, M. R.; *Nanotoxicology* **2013**, *7*, 389.
84. <http://www.iso.org/iso/home.htm>, acessada em Julho 2013.
85. <http://www.nanotechproject.org/>, acessada em Julho 2013.
86. Agência Brasileira de Desenvolvimento Industrial; *Panorama Nanotecnologia*, ABDI: Brasília, 2010.