



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Maria Beatriz Casimiro Bairrão

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Nanotubos de Carbono no Diagnóstico e Tratamento do Cancro” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação da Dra. Cláudia Garnacho e do Professor Doutor João Manuel Martins Leitão, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Junho de 2020

Maria Beatriz Casimiro Bairrão

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Nanotubos de Carbono no Diagnóstico e Tratamento do Cancro” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação da Dra. Cláudia Garnacho e do Professor Doutor João Manuel Martins Leitão, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Junho, 2020



1 2 9 0

UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Eu, Maria Beatriz Casimiro Bairrão, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2013170576, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Nanopartículas de Carbono no Diagnóstico e Tratamento do Cancro” apresentadas à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 4 de junho de 2020.

Maria Beatriz Casimiro Bairrão

(Maria Beatriz Casimiro Bairrão)

*“Para ser grande, sê inteiro: nada  
Teu exagera ou exclui.  
Sê todo em cada coisa. Põe quanto és  
No mínimo que fazes.  
Assim em cada lago a lua toda  
Brilha, porque alta vive.”*

**Ricardo Reis**

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus pais e irmã, pelo apoio, força, paciência, compreensão e motivação constantes ao longo de todo o meu percurso académico. Sem a vossa ajuda, não teria chegado até aqui.

Ao Rui, pela sua compreensão, carinho e ajuda incondicionais através de todos os meus altos e baixos. Por tudo o que viveste comigo e por tudo o que me ensinaste, obrigada.

A todos os meus amigos e restante família, pela sua presença, apoio e boa disposição em todos os momentos. Longe ou perto, sempre se fizeram presentes no meu coração.

À Paula, pela sua grande amizade e mentoria. Obrigada por seres a pessoa que és.

À Dra. Maria Fernanda Veríssimo de Oliveira, à Dra. Cláudia Garnacho, à Dra. Inês Alves e à restante equipa técnica da farmácia Sá da Bandeira, por me terem recebido tão bem e por tudo o que me ensinaram.

Ao Professor Doutor João Leitão pela sua disponibilidade e ajuda ao longo da elaboração desta monografia.

A Coimbra e à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, por tudo o que me ensinaram e por me proporcionarem os anos mais intensos da minha vida. Obrigada por reforçarem o significado da palavra “saúde”.

**A todos, um sincero obrigada!**

## II.IV.II - MEDICAMENTOS ESGOTADOS

### ÍNDICE

RESUMO .....	7
ABSTRACT .....	8
ÍNDICE DE ABREVIATURAS .....	9
PREÂMBULO .....	11

### CAPÍTULO I – RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA

I - INTRODUÇÃO .....	13
II -ANÁLISE SWOT .....	14
II.I - STRENGTHS – PONTOS FORTES	
II.I.I - LOCALIZAÇÃO E ACESSIBILIDADE DA FARMÁCIA .....	15
II.I.II - EQUIPA TÉCNICA .....	15
II.I.III - ACONSELHAMENTO DE EXCELÊNCIA .....	16
II.I.IV - PRESTAÇÃO DE SERVIÇOS FARMACÊUTICOS .....	16
II.I.V - PROGRAMA SIFARMA 2000® .....	17
II.I.VI - GESTÃO DE MEDICAMENTOS E PRODUTOS DE SAÚDE .....	18
II.I.VII - RECEÇÃO DE ENCOMENDAS, CONFIRMAÇÃO DE PREÇOS E PRAZOS DE VALIDADE .....	18
II.I.VIII - RECEITUÁRIO .....	19
II.I.IX - VALORMED .....	19
II.I.X - DIVERSIDADE DE TAREFAS REALIZADAS .....	20
II.II - WEAKNESSES – PONTOS FRACOS	
II.II.I - DIFICULDADE EM ASSOCIAR OS NOMES COMERCIAIS À DCI .....	20
II.II.II - MEDICAMENTOS MANIPULADOS .....	21
II.III - OPPORTUNITIES – OPORTUNIDADES	
II.III.I - DIVERSIDADE DE UTENTES .....	21
II.III.II - PRESCRIÇÃO POR DCI E RECEITAS ELETRÓNICAS .....	21
II.III.III - CARTÃO SAÚDE .....	22
II.III.IV - FORMAÇÃO CONTÍNUA .....	22
II.III.V - MEDICAMENTOS HOMEOPÁTICOS .....	23
II.IV - THREATS – AMEAÇAS	
II.IV.I - PREPARAÇÃO INSUFICIENTE NO MICF PARA A ATIVIDADE EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA .....	24
II.IV.II - A 98 ⇌ 5A 9B HC G 9G C H58 C G .....	25
II.IV.II= PARAFARMÁCIAS .....	25
II.IV.IJ - INSEGURANÇA E MEDO DE ERRAR .....	26

III - CASOS PRÁTICOS	
III.I - CASO 1 – TOSSE	26
III.II - CASO 2 – DISTÚRBIOS DO SONO	27
III.III - CASO 3 – HERPES LABIAL	27
III.IV - CASO 4 – INFEÇÕES URINÁRIAS	27
IV - CONSIDERAÇÕES FINAIS	28
<b>CAPÍTULO II – NANOTUBOS DE CARBONO NO DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DO CANCRO</b>	
I - CANCRO	30
II - NANOTECNOLOGIA	32
II.I - NANOMEDICINA	32
II.II - NANOPARTÍCULAS NA ONCOLOGIA	33
III - NANOPARTÍCULAS À BASE DE CARBONO	34
III.I - NANOTUBOS DE CARBONO	35
III.I.I - ESTRUTURA DOS NANOTUBOS DE CARBONO	35
III.II - APLICAÇÕES E PROPRIEDADES DOS CNT NO CANCRO	36
III.II.I - BIOSSENSORES	36
III.II.II - VEÍCULO DE AGENTES QUIMIOTERAPÊUTICOS	37
III.II.III - TERAPIA FOTO-TÉRMICA	38
III.II.IV - IMUNOTERAPIA	39
III.III - MÉTODOS DE SÍNTESE	39
III.IV - TOXICIDADE	41
III.V - FUNCIONALIZAÇÃO	42
III.V.I - POLIETILENOGLICOL	44
III.V.II - ÁCIDO FÓLICO	45
III.V.III - QUITOSANO	46
III.V.IV - APTÂMEROS	47
III.V.V - ANTICORPOS	47
III.V.VI - TRANSFERRINA	48
III.VI - INTERNALIZAÇÃO CELULAR	49
III.VII - CASOS EM ESTUDO	51
IV - PERSPETIVAS FUTURAS	53
BIBLIOGRAFIA	54
ANEXOS	61

## RESUMO

Milhões de pessoas vivem com cancro, sendo a segunda principal causa de morte a nível mundial. É um problema emergente que exerce muita pressão física, emocional e financeira nos indivíduos afetados, famílias, comunidades e sistemas de saúde. Deste modo, a investigação nesta área de intervenção é inquestionavelmente essencial. Na procura de alternativas na prevenção, deteção e tratamento, emerge o potencial da nanotecnologia aliada aos tratamentos tradicionais, tendo como objetivo a melhoria da qualidade de vida das pessoas afetadas, durante e após o tratamento. Os nanotubos de carbono (CNT), devido às suas propriedades únicas, constituem uma versátil e promissora alternativa aos métodos tradicionais de diagnóstico e tratamento no cancro e biomedicina. A sua excelente condutividade elétrica e térmica, alta biocompatibilidade, flexibilidade, resistência, nano-dimensão e elevada área de superfície fazem destes uma ferramenta com grande potencial, atuando como agentes de diagnóstico, como biossensores, na terapia foto-térmica, no transporte de fármacos e muito mais. Cada vez mais próximos das aplicações clínicas, é inegável que estes nanossistemas baseados nos CNT irão revolucionar num futuro próximo as novas terapêuticas instituídas em oncologia.

Este trabalho consiste, em primeiro lugar, no Relatório de Estágio Curricular em Farmácia Comunitária, realizado na Farmácia Sá da Bandeira em Santarém. Segue-se a monografia intitulada “Nanotubos de Carbono no Diagnóstico e Tratamento do Cancro”, que consiste numa pequena introdução ao cancro seguida da apresentação da nanotecnologia aplicada à medicina e farmacologia, focando-se nos nanotubos de carbono e nas respetivas aplicações em estudo.

**Palavras-chave:** Farmácia Comunitária; Cancro; Nanotecnologia; Nanotubos de Carbono; Diagnóstico; Tratamento.



## **ABSTRACT**

Millions of people live with cancer, being the second main cause of deaths worldwide. It's an emerging problem that physically, emotionally and financially affects the patients, their family, surrounding communities and healthcare systems, thus being so vital to invest in studies about this matter. While searching for alternatives of prevention, detection and treatment of cancer, nanotechnology's potential emerges, when applied side by side with other commonly used methods, providing a better quality of life for the patients, during and after treatment. Due to their unique properties, carbon nanotubes (CNT) have shown to be a versatile and promising alternative to traditional diagnosis and treatment methods used in cancer and in all biomedicine. Their excellent electrical and thermal conductivity, high biocompatibility, flexibility, resistance, nano-size and high surface area make them excellent tools used as diagnostic agents, biosensors, in photo-thermal therapy, drug delivery and a lot more. With clinical studies closer and closer, it's undeniable that these CNT based nanosystems will revolutionize all new oncology applied therapies in a closer future.

This assignment consists, firstly, of the Curricular Internship Report in Community Pharmacy, held at Sá da Bandeira Pharmacy, located in the city of Santarém. It's followed by the monograph entitled "Carbon Nanotubes in Cancer Diagnosis and Treatment", which consists of a short cancer introduction followed by the presentation of nanotechnology applied in medicine and pharmacology, focusing on carbon nanotubes and the respective applications under study.

**Keywords:** Community Pharmacy; Cancer; Nanotechnology; Carbon Nanotubes; Diagnosis; Treatment.

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

**BCL** – Linfoma das Células B2 (*B2-cell Lymphoma*)

**CHI** – Quitosano

**CMWCNT** – Nanotubos de Carbono de Parede Múltipla Carboxilado (*Carboxylated Multi-walled Carbon Nanotubes*)

**CNT** – Nanotubos de Carbono (*Carbon Nanotubes*)

**DAU** – Daunorrubicina

**DCI** – Denominação Comum Internacional

**DNA** – Ácido Desoxirribonucleico

**DOX** – Doxorrubicina

**DVQ** – Deposição de Vapor Químico

**EEL** – Espetroscopia de Perda de Energia de Eletrões (*Electron Energy Loss Spectroscopy*)

**EPR** – Efeito Melhorado de Permeabilidade e Retenção

**FA** – Ácido Fólico

**FFUC** – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

**FSB** – Farmácia Sá da Bandeira

**GSH** – Glutatião

**HA** – Ácido Hialurónico

**HDS** – Hospital Distrital de Santarém

**IL-12** – Interleucina-12

**IV** – Infravermelho

**MDA** – Malondialdeído

**MICF** – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

**MNP** – Nanopartículas Magnéticas

**MNSRM** – Medicamento Não Sujeito a Receita Médica

**MSRM** – Medicamento Sujeito a Receita Médica

**MWCNT** – Nanotubo de Carbono de Parede Múltipla (*Multi-walled Carbon Nanotube*)

**NGR** – Peptídeo Asn-Gly-Arg

**NIR** – Infravermelho Próximo

**NSCLC** – Células do Cancro do Pulmão Não-Pequenas (*Nonsmall-cell Lung Carcinoma*)

**PEG** – Polietilenoglicol  
**PEI** – Polietilenimina  
**PTX** – Paclitaxel  
**PVP** – Preço de Venda ao Público  
**RNA** – Ácido Ribonucleico  
**ROS** – Espécies Reativas de Oxigénio (*Reactive Oxygen Species*)  
**SCLC** – Células do Cancro do Pulmão Pequenas (*Small-cell Lung Carcinoma*)  
**SiRNA** – Ácido Ribonucleico Silenciador  
**SNS** – Sistema Nacional de Saúde  
**STEM** – Microscopia Eletrónica de Transmissão e Varrimento  
**SWCNT** – Nanotubo de Carbono de Parede Simples (*Single-walled Carbon Nanotube*)  
**TF** – Transferrina  
**TNF- $\alpha$**  – Fator de Necrose Tumoral - Alfa (*Tumor Necrosis Factor - Alpha*)  
**TWCNT** – Nanotubo de Carbono de Parede Tripla (*Triple-walled Carbon Nanotube*)  
**UC** – Unidade Curricular  
**UV** – Ultravioleta  
**VP-16** – Etoposido  
**WT1** – Proteína Tumoral de Wilms

## **PREÂMBULO**

O curso de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas é constituído por cinco anos de formação teórica e prática a tempo inteiro. Finda esta fase, para a conclusão do curso é necessária a realização obrigatória de um estágio com duração mínima de seis meses em farmácia comunitária e, opcionalmente, em outra área, como Farmácia Hospitalar. Em simultâneo, é necessária a elaboração de uma monografia, cujo tema se enquadre no Ato Farmacêutico. Uma vez concluídos, são apresentados à Universidade de Coimbra para prestação de provas públicas, no âmbito do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, sob a forma de documento único.

O presente documento é constituído por dois capítulos. O primeiro capítulo consta do Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária, onde é incluída uma análise SWOT e casos práticos observados durante a sua realização. No segundo capítulo encontramos a monografia intitulada “Nanotubos de Carbono no Diagnóstico e Tratamento do Cancro”.

## **CAPÍTULO I**

### **RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA**

## I - INTRODUÇÃO

Finalizados os quase cinco anos de formação teórica e prática do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF), na Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC), temos na nossa posse uma vasta extensão de conhecimentos, que se tornam fundamentais para uma profissão com atividade em áreas tão distintas, como é o caso dos Farmacêuticos. Estes conhecimentos não nos preparam na totalidade, sendo que é preciso contactar com a atividade em si para se aprender a aplicar todas as ferramentas que nos foram dadas ao longo do curso. Assim, o nosso processo de formação termina com o estágio curricular, inserido no quinto e último ano do MICF, no qual podemos aplicar na prática profissional os conhecimentos científicos e práticos adquiridos previamente.

O estágio curricular, em particular o estágio em Farmácia Comunitária, é uma etapa essencial na nossa formação enquanto profissionais de saúde, já que consta de um primeiro contacto com a vida profissional onde podemos enriquecer e consolidar o nosso leque de conhecimentos, onde podemos avaliar a nossa área de preferência e onde ganhamos, naturalmente, mais confiança e sentido de responsabilidade para a futura entrada no mercado de trabalho.

O farmacêutico, enquanto especialista do medicamento, é um dos profissionais de saúde que mais contacto estabelece com o utente, tendo um papel essencial no aconselhamento, prevenção, controlo e tratamento de problemas de saúde comuns à população em geral. Para que tal se realize eficientemente, é necessário, também, o desenvolvimento e aplicação da componente humana, sendo essencial a relação de proximidade e confiança com o utente. Na verdade, o farmacêutico, como agente de saúde pública, é o primeiro profissional de saúde a quem o utente recorre, dado o fácil e rápido acesso a um aconselhamento adequado, profissional e especializado, antes de recorrer a outros meios. É, também, o último, já que antes do início de qualquer tratamento, o farmacêutico desempenha um papel determinante para o sucesso do mesmo. Tendo estas considerações por base, a farmácia comunitária é um local de promoção da saúde pública e do bem-estar da sociedade em geral, sendo o Farmacêutico uma importante chave para que tal se realize da forma mais eficaz e humana possível.

O meu estágio em Farmácia Comunitária realizou-se na Farmácia Sá da Bandeira, em Santarém, sob a orientação da Dra. Cláudia Garnacho. Sem qualquer relação pessoal prévia com a equipa técnica, escolhi a farmácia em questão pela sua localização estratégica na muito frequentada Avenida do Brasil, pela potencial diversidade de utentes que recorreriam às instalações, pelo bom *feedback* de outras pessoas que a tinham frequentado e pelos longos

anos ao serviço da população de Santarém e arredores. O estágio teve a duração de aproximadamente cinco meses e meio, tendo início a 16 de setembro de 2019 e fim no dia 21 de fevereiro de 2020.

No presente relatório, irei descrever o meu estágio na Farmácia Sá da Bandeira sob a estrutura de uma análise *SWOT* (do inglês, *Strenghts*, *Weaknesses*, *Opportunities*, *Threats*), fazendo uma análise crítica sobre todas as funções desempenhadas, experiências e conhecimentos adquiridos, tal como a adequação do programa do MICF à realidade profissional em questão [1]. Por fim, apresentarei alguns casos práticos e a aplicação dos conhecimentos teóricos adquiridos durante o MICF.

## II - ANÁLISE SWOT

O presente relatório está estruturado sob uma análise *SWOT*, na qual os Pontos Fortes (*Strenghts*) e Pontos Fracos (*Weaknesses*) são os fatores internos ao estágio e as Oportunidades (*Opportunities*) e Ameaças (*Threats*) são os fatores externos. A **Tabela I** representa resumidamente os pontos-chave analisados.

**Tabela I** – Resumo da análise *SWOT*

<b>Pontos Fortes</b>	<b>Pontos Fracos</b>	
Localização e Acessibilidade da Farmácia Equipa Técnica Aconselhamento de Excelência Prestação de Serviços Farmacêuticos Programa Sifarma 2000® Gestão de Medicamentos e Produtos de Saúde Receção de Encomendas, Confirmação de Preços e Prazos de Validade Receituário ValorMed Diversidade de Tarefas Realizadas	Dificuldade em Associar Nomes Comerciais à DCI Medicamentos Manipulados	<b>Fatores Internos</b>
<b>Oportunidades</b>	<b>Ameaças</b>	
Diversidade de Utentes Prescrição por DCI e Receitas Eletrónicas Cartão Saúde Formação Contínua Medicamentos Homeopáticos	Preparação Insuficiente no MICF para a Atividade em Farmácia Comunitária Medicamentos Esgotados Parafarmácias Insegurança e Medo de Errar	<b>Fatores Externos</b>

## **II.I - STRENGTHS - PONTOS FORTES**

### **II.I.I - LOCALIZAÇÃO E ACESSIBILIDADE DA FARMÁCIA**

A Farmácia Sá da Bandeira (FSB) está localizada na Avenida do Brasil nº 38, em Santarém. Próxima da zona histórica da cidade, do Hospital Distrital de Santarém (HDS), do Centro Médico e de Reabilitação de Santarém, com a Clínica GreatCare, de medicina dentária, no mesmo edifício e localizada a menos de 20 metros da Rodoviária do Tejo, está estrategicamente posicionada para receber toda uma diversidade de utentes. Aliado a estes fatores, a FSB ainda dispõe de estacionamento privativo, essencial para os utentes que se deslocam de carro, dada a escassez de estacionamento livre nas proximidades. Considerei este fator muito importante e positivo no meu estágio, uma vez que me permitiu contactar com uma grande diversidade de utentes e realizar numerosos atendimentos pelo elevado movimento populacional nas vizinhanças.

### **II.I.II - EQUIPA TÉCNICA**

A equipa técnica da FSB é muito diversificada, estando cada membro bem presente da sua função. Tal aspeto permite uma eficiente organização de tarefas e gestão temporal, o que resulta, conseqüentemente, numa fluidez entre a equipa e obtenção de melhores resultados. Ainda assim, esta distribuição de funções não se torna limitante na FSB, uma vez que cada elemento possui capacidade para, a certo grau, desempenhar as tarefas de qualquer um dos colegas quando necessário, havendo uma distribuição uniforme da responsabilidade que requer a cooperação e sincronização constante com todo o grupo. Para além deste fator, toda a equipa técnica da FSB é dotada de profissionalismo, prestabilidade e simpatia, constituindo um ótimo exemplo no que toca à capacidade de criar uma sensação de confiança e bem-estar no utente desde que este entra na farmácia. O atendimento ao público é encarado como uma oportunidade, não só de realização de vendas, mas também da demonstração do valor do Ato Farmacêutico na promoção da saúde, através do aconselhamento de excelência, sempre adequado ao utente com que se depara.

Este fator foi particularmente positivo na minha experiência como estagiária. Aprendi bastante com cada um dos membros da equipa técnica da FSB, já que todos se encontraram sempre disponíveis e aptos a ajudar relativamente a qualquer questão que tivesse, não havendo distinção entre técnicos de farmácia e farmacêuticos, tivessem numerosos anos de experiência ou apenas um. Desde o início que fui integrada como elemento da equipa técnica



e, perante a minha inexperiência, sempre houve compreensão, calma, elucidação e, também, algum humor. Sempre com alguém por perto, fui perdendo a insegurança e receio de manifestar as minhas dúvidas e fui sempre esclarecida no momento. Tudo isto contribuiu bastante para a minha evolução como profissional, sem nunca desmotivar.

### **II.I.III - ACONSELHAMENTO DE EXCELÊNCIA**

Desde o início do meu estágio na FSB que reparei no gosto e valor dado ao aconselhamento personalizado, priorizando sempre o bem-estar do utente. Estes princípios foram-me inculcados de imediato, sendo o diálogo um elemento essencial durante todo o atendimento.

Apesar do farmacêutico ter um papel determinante ao longo de todo o ciclo de vida do medicamento, é no seu final, aquando da sua dispensa, que demonstra a sua mais-valia ao utente. Questionar este último relativamente aos seus problemas e incluindo sempre a observação do seu estado geral de saúde é essencial, ao mesmo tempo que se mantém a simpatia, educação e paciência, mesmo quando o utente insiste relativamente a determinadas questões e/ou se exalta. Interpretando a situação no seu conjunto, é então possível decifrar quais as necessidades e soluções adequadas. A possibilidade de realizar um aconselhamento personalizado ao utente é uma das bases do Ato Farmacêutico e são muito valorizados pelos utentes, podendo levar à sua fidelização.

Difícil de dominar, esta aptidão vai-se trabalhando gradualmente, de acordo com a prática e com as experiências com que o farmacêutico se depara. No meu caso, esta tarefa foi bastante desafiante, dada a minha inexperiência. Felizmente, sempre que surgia um caso novo com o qual ainda não me sentia segura ao realizar o aconselhamento mais adequado e completo, havia sempre disponibilidade, por parte de qualquer um dos membros da equipa técnica, para me ajudar. Tais situações foram imprescindíveis para a minha aprendizagem, uma vez que requerem mais do que a simples aplicação dos conhecimentos adquiridos durante o curso. Deparando-me constantemente com novas situações, fui ganhando mais segurança e confiança, tornando-me cada vez mais autónoma. No entanto, mesmo no final deste estágio continuei a recorrer à ajuda da equipa, concluindo que a atividade do farmacêutico comunitário consta de uma aprendizagem contínua.

### **II.I.IV - PRESTAÇÃO DE SERVIÇOS FARMACÊUTICOS**

A farmácia é cada vez menos um local apenas de dispensa de medicamentos, constituindo um local de prestação de cuidados de saúde. Como tal, a FSB não é exceção, tendo à disposição dos seus utentes uma grande variedade de serviços que visam a

promoção da saúde. São disponibilizadas consultas quinzenais de nutrição, rastreios auditivos e a administração de vacinas não incluídas no plano nacional de vacinação.

Realizam-se, também, medições de parâmetros bioquímicos como a glicémia e o colesterol total, medição da pressão arterial e pesagem. Através da realização destes serviços, percebi que a função do farmacêutico consiste não só na avaliação do estado de saúde do utente, como também no estabelecimento de diálogo e de uma relação de maior confiança para com o utente.

#### **II.I.V - PROGRAMA SIFARMA 2000®**

O *software* usado na Farmácia Sá da Bandeira é o Sifarma 2000®. Esta ferramenta de *software* informático é muito importante para o correto funcionamento da farmácia, sendo que toda a equipa depende deste para desempenhar as suas funções da forma mais eficiente.

Essencial no *back-office*, o Sifarma 2000® permite o acesso e gestão de informações detalhadas sobre os produtos farmacêuticos, como o seu *stock* mínimo e máximo, prazos de validade e preços. Permite também a criação, personalização e confirmação de encomendas, auxiliando no controlo das entradas e saídas dos produtos e, conseqüentemente, na otimização da gestão económica da farmácia. Outras funções de *back-office* que este programa sustenta são, também, a realização de devoluções de produtos e a gestão do receituário e respetiva faturação.

Ao nível do atendimento, este *software* tem, em particular, duas funcionalidades bastante importantes. Primeiro, o acompanhamento do histórico do utente, caso este esteja registado no sistema informático e, em segundo, o acesso a quase toda a informação pertinente relativamente aos produtos farmacêuticos, desde a posologia, contraindicações e interações medicamentosas. Aliada a estas funções, o Sifarma 2000® permite, também, a introdução de avisos pertinentes associados à ficha do utente e do medicamento, surgindo sob a forma *pop-up*. Achei esta função particularmente útil, pois alerta a equipa técnica sobre uma variedade de questões, como avisos relativamente a um utente específico e sugestões de *cross-selling* e *up-selling* de um determinado produto. Este conjunto de funcionalidades permite uma grande fluidez no ato da dispensa de produtos farmacêuticos, permitindo o foco no objetivo principal, que é a prestação do melhor aconselhamento possível ao utente.

Contudo, apesar de ser capaz de sustentar todas as necessidades da farmácia, este *software* encontra-se bastante desatualizado, ocorrendo numerosas falhas sistemáticas. Tal observa-se quando ocorrem falhas de eletricidade ou de conexão à internet, mesmo quando há um sistema UPS instalado, interferindo bastante no atendimento e, especialmente, no processamento de Receitas Eletrónicas.

O contacto com o Sifarma 2000<sup>®</sup> foi uma mais-valia para o desenvolvimento da autonomia e qualidade dos meus atendimentos e para a minha preparação para o futuro, sendo o sistema de *software* mais utilizado pelas farmácias em Portugal.

### **II.I.VI - GESTÃO DE MEDICAMENTOS E PRODUTOS DE SAÚDE**

Para assegurar a prosperidade de uma farmácia, uma inteligente gestão económica é essencial. Na FSB é realizado um controlo diário das encomendas, havendo sempre um conjunto de fatores a ter em consideração. A prioridade é procurar um equilíbrio entre o acesso aos produtos pelos utentes, satisfazendo as suas necessidades, e a viabilidade económica da farmácia. Analisando a média mensal de vendas, o tipo de produto que se trata e em que época do ano se enquadra, se veio esgotado em alguma encomenda prévia, entre outros, são aspetos constantemente avaliados. Produtos com menos rotatividade têm *stocks* baixos, enquanto que produtos que tenham muita procura, têm *stocks* mais elevados. O final do mês é o momento de reavaliação de todos produtos em espera, sendo analisados um a um, procedendo-se, à sua reposição na totalidade, quando justificável.

Aliada a esta minuciosa gestão de produtos farmacêuticos, a FSB encontra-se inserida no grupo de farmácias Addo Pharm, que permite o acesso a melhores condições comerciais ao adquirir certos produtos, mediante o cumprimento das condições por ele impostas. Perante estas circunstâncias, é possível a sincronização das encomendas feitas ao armazenista ou através do grupo, de acordo com as necessidades e melhores condições a nível económico para a farmácia.

Assim, considero extremamente pertinente a minha aprendizagem nesta área, sendo que ganhei uma noção muito abrangente do quão complexa e delicada é a gestão de uma Farmácia Comunitária nos dias de hoje, sendo que o Farmacêutico tem um papel que vai muito mais além do atendimento ao público.

### **II.I.VII - RECEÇÃO DE ENCOMENDAS, CONFIRMAÇÃO DE PREÇOS E PRAZOS DE VALIDADE**

Com o objetivo de evitar falhas, a FSB realiza confirmações minuciosas e periódicas dos *stocks*, preços e prazos de validade dos produtos existentes na farmácia.

No momento da receção das encomendas, é tida em conta a informação que consta na embalagem a que se está a dar entrada, sendo sempre confirmado o preço e o prazo de validade. Se o preço for diferente do anterior, a embalagem é marcada com um aviso, para que não ocorra o engano de ser introduzido o preço antigo durante o atendimento. Quanto aos prazos de validade, é sempre mantido na ficha do produto o prazo da embalagem mais

antiga, até que o stock atinja o zero, momento em que este valor é atualizado. Além deste cuidado constante, procede-se periodicamente ao lançamento de uma listagem onde constam os produtos próximos do final do prazo de validade, sendo confirmados um a um e retirados para devolução ao fornecedor. Assim, é possível uma boa gestão dos produtos farmacêuticos, enquanto se tem em mente a maior satisfação do utente e a viabilidade económica para a farmácia.

### **II.I.VIII - RECEITUÁRIO**

Atualmente existem em uso vários modelos de receita médica. Desde as tradicionais receitas médicas manuais às já muito comuns receitas médicas eletrónicas, o farmacêutico depara-se com diversas formalidades a concretizar mediante as mesmas.

Assim, dada a diversidade de modelos de receita médica e regimes de comparticipação, a confirmação do receituário é uma tarefa de extrema importância. Como estagiária, fui sempre estimulada a participar nesta tarefa. Desde a interpretação da escrita numa receita médica manual, a confirmação da presença de todos os elementos essenciais para validação, a confirmação dos planos de comparticipação e separação de lotes, a confirmação dos planos complementares e o fecho da faturação no final do mês, havia sempre uma oportunidade de aprendizagem durante o meu estágio, ao mesmo tempo que a atenção ao detalhe era testada.

Na FSB há o cuidado de ser o mais prestável possível para com o utente. Sempre que fosse detetado um erro de prescrição, o médico ou a unidade de saúde em questão eram contactados, tendo sempre como objetivo máximo o bem-estar do utente.

Tratou-se, assim, de um ponto muito positivo durante o meu estágio, já que me permitiu entender como funciona a gestão e organização do receituário, adquirir uma maior sensibilidade para a interpretação das receitas manuais e das exceções à prescrição por denominação comum internacional (DCI), aprender como proceder mediante qualquer erro de prescrição e ficar a conhecer melhor os organismos de comparticipação complementares ao Sistema Nacional de Saúde (SNS).

### **II.I.IX - VALORMED**

De forma a evitar a utilização incorreta dos medicamentos e a promover a proteção do meio ambiente e da saúde pública, a FSB colabora com a Valormed, uma sociedade sem fins lucrativos que se responsabiliza pela gestão de resíduos, embalagens vazias e medicamentos fora de uso [2].

Este programa constituiu um ponto positivo no meu estágio, uma vez que me permitiu, em casos pontuais, alertar para a importância do uso racional do medicamento e para a entrega na farmácia dos produtos farmacêuticos fora de uso. Foi bastante satisfatório observar a adesão e preocupação dos utentes para com esta causa.

### **II.I.X - DIVERSIDADE DE TAREFAS REALIZADAS**

Um dos aspetos mais positivos do meu estágio na FSB foi a grande diversidade de tarefas que aprendi a desempenhar, em diferentes graus. Desde a receção de encomendas e tudo o que esse processo envolve, a arrumação e organização dos produtos farmacêuticos segundo a regra “*first in, first out*”, a prestação de serviços farmacêuticos, o atendimento e aconselhamento ao utente, a realização de encomendas e de devoluções, a confirmação do receituário, a realização da faturação ao final de cada mês e o fecho de caixa, tornaram a minha formação na FSB muito completa e abrangente. Senti que a equipa técnica sempre teve em consideração a minha presença, contando comigo para todos os momentos de possível aprendizagem.

## **II.II - WEAKNESSES - PONTOS FRACOS**

### **II.II.I - DIFICULDADE EM ASSOCIAR OS NOMES COMERCIAIS À DCI**

Um dos maiores obstáculos durante o meu estágio, foi a dificuldade em associar os nomes comerciais dos medicamentos à respetiva DCI. Este deve-se, principalmente, ao foco na nomenclatura por princípio ativo e grupos farmacológicos na formação proporcionada pelo MICF.

Esta dificuldade refletiu-se, sobretudo, nos atendimentos ao público, já que muitos utentes se dirigiam à farmácia com uma receita, solicitando um determinado medicamento pelo seu nome comercial ou perguntando apenas quais os medicamentos que a receita incluía. Sabendo esclarecer qual a sua funcionalidade, por vezes conseguia contornar a situação, ajudando o utente a lembrar-se do medicamento em questão, mas, na maioria das vezes, tornou-se inevitável a inserção da receita na totalidade de modo a descobrir o nome dos medicamentos, resultando num processo demorado e inconveniente para o utente. Neste âmbito, outro obstáculo que se aditou foi a dificuldade em compreender e descobrir a que produto o utente se referia quando pronunciava incorretamente o respetivo nome. Por esta razão, dependi bastante da equipa e, sobretudo, do programa Sifarma 2000<sup>®</sup>, no início do estágio. Com a sua progressão, esta dificuldade foi ligeiramente superada devido ao contacto repetitivo com determinados medicamentos.

## **II.II.II - MEDICAMENTOS MANIPULADOS**

Os medicamentos manipulados são definidos como “qualquer fórmula magistral ou preparado oficial preparado e dispensado sob a responsabilidade de um farmacêutico”, segundo o Decreto-Lei nº 95/2004, de 22 de abril.

Com a evolução da Indústria Farmacêutica, a procura de medicamentos manipulados é cada vez menor, ao contrário do que sucedia há alguns anos. A aquisição das matérias-primas e a manutenção dos materiais necessários para a produção dos manipulados tornou-se, assim, inviável. Ainda que a FSB tenha o laboratório destinado à preparação de manipulados com todos os equipamentos e condições necessários, a sua raríssima utilização tornou o processo contraproducente para a farmácia, cessando este tipo de serviço farmacêutico.

Sendo uma atividade com a qual apenas tive contacto através das UC de Farmácia Galénica e Tecnologia Farmacêutica, considerava essencial a aplicação dos respetivos conhecimentos e aptidões adquiridos. Assim sendo, não tive a oportunidade de participar na preparação de qualquer tipo de manipulado na FSB, considerando-o o ponto mais fraco do meu estágio.

## **II.III - OPPORTUNITIES - OPORTUNIDADES**

### **II.III.I - DIVERSIDADE DE UTENTES**

Como referido anteriormente, a localização da FSB permitiu que usufrísse de numerosas oportunidades de atendimento durante o meu estágio. Mantive contacto com utentes de várias faixas etárias, condições socioeconómicas, estados fisiopatológicos e nacionalidades. Desde idosos polimedicados, estudantes, utentes vindos da urgência do HDS e de consultas de medicina dentária a utentes de várias nacionalidades e graus de literacia, deparei-me com um conjunto diverso de desafios a superar, fosse pela complexidade do atendimento, pela novidade que o problema apresentado constava e/ou pelas barreiras de linguagem presentes, constituindo uma mais-valia para o desenvolvimento de *soft skills* essenciais.

### **II.III.II - PRESCRIÇÃO POR DCI E RECEITAS ELETRÓNICAS**

A prescrição por DCI da substância ativa é uma medida de extrema importância, pois permite que o utente usufrua do direito de opção entre o medicamento de marca ou o

medicamento genérico similar, oferecendo não só a possibilidade de escolha como também a adequação dos custos da medicação à situação socioeconómica do utente.

O farmacêutico tem aqui uma oportunidade de destaque, esclarecendo e tranquilizando os utentes relativamente à semelhança entre os medicamentos genéricos e o medicamento de referência, com eficácia e segurança demonstradas, já que as diferenças discrepantes de preços são, muitas vezes, motivo de desconfiança. A prescrição por DCI possibilita não só que se desenvolva uma relação de confiança entre o farmacêutico e utente, como constitui uma oportunidade de demonstrar o conhecimento sobre as mais-valias associadas aos genéricos e um aumento da credibilidade, especialmente no meu caso, como estagiária, em relação aos utentes mais reservados.

### **II.III.III - CARTÃO SAÚDA**

O Cartão Saúde, aplicável em todas as Farmácias Portuguesas, é uma ferramenta que permite a oferta de mais vantagens aos utentes, podendo resultar na sua fidelização à farmácia.

Durante todo o meu estágio incentivei a utilização do Cartão Saúde por parte do utente, perguntando sempre pelo cartão, informando sobre os pontos existentes, e/ou se desejava realizar a adesão, apresentando todos os benefícios envolvidos. Muito frequentemente, o utente dirigia-se à farmácia à procura de determinado produto. Sabendo que o mesmo, ou um produto semelhante, se encontrava na lista de produtos com desconto, procedia à explicação ao utente das hipóteses, acabando este por usufruir das vantagens proporcionadas pelo cartão com bastante satisfação. O Cartão Saúde permite, também, que sejam debitados pontos sob a forma de Vales de Dinheiro, ou realizada a troca direta de pontos por serviços ou produtos da Revista Saúde. Todo este processo constituiu uma oportunidade para desenvolver uma relação de proximidade e confiança entre farmacêutico e utente, tendo sido possível, como estagiária, demonstrar a mais-valia que farmacêutico representa para o bem-estar e satisfação da comunidade [3].

### **II.III.IV - FORMAÇÃO CONTÍNUA**

Enquanto profissionais de saúde, é necessário investir na atualização de conhecimentos e formação contínua de forma a garantir a prestação de serviços com a melhor qualidade possível. No decorrer do meu estágio na FSB tive a oportunidade de usufruir de diversas formações disponibilizadas à farmácia por diversos laboratórios, como é representado na **Tabela 2**. Assim, foi possível conhecer uma grande variedade de produtos de saúde disponíveis na farmácia, ganhando noções mais concretas acerca das diferentes e novas

gamas de produtos apresentadas, das funções dos diferentes ingredientes utilizados nas formulações, da forma de utilização e da adequabilidade dos produtos. Desde a área da Suplementação à Dermocosmética, foi, então, possível consolidar e complementar muitos conhecimentos sobre produtos farmacêuticos e de bem-estar cedidos na farmácia, podendo aplicá-los com o fim de disponibilizar um aconselhamento mais eficiente e de qualidade ao utente.

**Tabela 2 –** Formações disponibilizadas e respetivos laboratórios.

<b>Formação</b>	<b>Laboratório</b>
Apresentação da gama	Uriage
Auto-teste de VIH	Mylan
Produtos Veterinários	Zoetis
Suplementos Alimentares	PhytoGold
Produtos Homeopáticos	Boiron
Apresentação da gama	MartiDerm
Produtos de Dietética	Forté Pharma
Suplementos de Magnésio	Ana Maria LaJusticia
Centrum e Polase	Pfizer
Apresentação da gama	Bioderma

Além das formações disponibilizadas à FSB pelos laboratórios referidos, foi possível frequentar uma formação disponibilizada pela Ordem dos Farmacêuticos sobre “Ostomias de Eliminação e seus Materiais”, no dia 10 de dezembro de 2019, em Santarém. Através desta formação, foi possível conhecer os diversos tipos de materiais adequados aos diferentes tipos de ostomias, tal como os produtos de cuidado, higiene e manutenção das mesmas, contribuindo grandemente para a minha preparação perante qualquer tipo de ajuda que um utente ostomizado possa necessitar.

### **II.III.V - MEDICAMENTOS HOMEOPÁTICOS**

Os Medicamentos Homeopáticos constituem uma realidade cada vez mais presente nas farmácias em Portugal, sendo que, para concretizar o melhor aconselhamento ao utente, é essencial conhecer os produtos e como estes funcionam.

Sendo um tema raramente abordado durante os cinco anos de MICF, dependi inicialmente da ajuda da equipa técnica e da formação facultada pelos laboratórios Boiron para compensar as falhas na minha formação sobre Homeopatia. Uma vez ultrapassado o



obstáculo do desconhecimento total sobre a área, tornou-se bastante intuitivo o aconselhamento ao utente perante estes novos produtos.

Constituindo uma estratégia de “*cross-selling*” ou como alternativa de maior segurança perante alguma dúvida relativamente aos sintomas apresentados, neste estágio apercebi-me da crescente importância dos Produtos Homeopáticos quando aliados às terapêuticas tradicionais, sendo muito bem aceites pelos utentes. Por esta razão, considero que estes produtos constituem uma oportunidade para as farmácias e, especialmente, para a inovação na formação de novos Farmacêuticos.

## **II.IV - THREATS - AMEAÇAS**

### **II.IV.I - PREPARAÇÃO INSUFICIENTE NO MICF PARA A ATIVIDADE EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA**

De modo a permitir a integração dos estudantes nas distintas saídas profissionais, o MICF tem um plano curricular bastante polivalente. Contudo, durante o meu estágio na farmácia, deparei-me com inúmeras dificuldades em várias áreas, tornando-me muito dependente da equipa técnica da farmácia.

Começando pelas áreas da Suplementação e da Dietética, muito solicitada na farmácia comunitária, dispus apenas de alguns conhecimentos vagos na área de Plantas Medicinais e Farmacognosia, sendo que inicialmente nunca me senti segura nem dotada dos conhecimentos adequados para fazer qualquer tipo de aconselhamento. Os Produtos de Uso Veterinário foram outra área onde a minha formação falhou bastante, sendo que, mesmo com a existência de uma unidade curricular (UC) obrigatória sobre a mesma, não há preparação suficiente para os casos concretos com que nos deparamos no dia-a-dia da Farmácia Comunitária. A Dermocosmética é outro exemplo semelhante ao anterior, sendo uma área em constante evolução e que a UC de Dermofarmácia e Cosmética não consegue acompanhar. Apesar de algumas aulas bastante úteis, especializadas em determinadas afeções da pele, seria pertinente a inclusão de mais casos práticos aplicáveis na Farmácia Comunitária e da formação sobre determinadas gamas de produtos especializados, como é o caso de produtos antienvhecimento, por exemplo. Por fim, outra área que tive bastante dificuldade em trabalhar, foram os Dispositivos Médicos. Na verdade, não adquiri preparação alguma nesta área, sendo que, para tal, o MICF oferece apenas uma UC opcional com vagas limitadas, não tendo havido possibilidade de a frequentar. Inicialmente, foi desencorajador sentir que a minha formação tinha falhado totalmente numa área tão essencial para o

Farmacêutico Comunitário, sendo de elevada importância o conhecimento dos dispositivos médicos para proporcionar o devido aconselhamento ao utente, assegurando a sua correta utilização e o sucesso do tratamento.

Estas falhas de formação ao longo dos cinco anos do MICF refletiram-se bastante durante este estágio, sentindo que fui demasiado dependente da equipa técnica em questões de elevada pertinência e que deveriam constar e pesar no respetivo programa curricular. Possuindo os conhecimentos base mais adequados, seria possível que um farmacêutico em início de carreira demonstrasse a sua importância e valor para o bem-estar da comunidade sem ter de depender totalmente do estágio, sendo inexequível a preparação e contacto com todas as situações possíveis durante o mesmo.

#### **II.IV.II - MEDICAMENTOS ESGOTADOS**

Uma das maiores ameaças com que me deparei durante o meu estágio foi a ocorrência constante de produtos farmacêuticos esgotados, constituindo um risco não só para a farmácia, mas sobretudo para os utentes. Apesar da FSB manter ótimas relações com os laboratórios e armazenistas, nem sempre era possível cobrir as necessidades dos utentes perante os medicamentos esgotados a nível nacional. Deste modo, deparámo-nos não só com o descontentamento dos utentes em geral, como também com a frustração e preocupação com casos em que os utentes não tinham alternativas de terapêutica possível.

Um exemplo sucedeu com o medicamento Victan<sup>®</sup> 2 mg, indicado em casos de perturbações da ansiedade como ansiolítico e sedativo. Sendo o princípio ativo o Loflazepato de Etilo, uma benzodiazepina, é um medicamento sujeito a receita médica (MSRM) sem qualquer similar [4]. Por esta razão, foi impossível ajudar muitos doentes com terapêutica sob regime contínuo com Victan<sup>®</sup>, vendo-se obrigados a procurar noutras farmácias que pudessem ainda ter em *stock*, ou a suspender a terapêutica.

#### **II.IV.III - PARAFARMÁCIAS**

O aparecimento de grandes cadeias de Parafarmácias, cada vez mais comuns pelo país fora, tornou muito mais fácil o acesso a certos produtos, como é o caso de medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM) e Dispositivos Médicos. Surgindo associadas a grandes superfícies comerciais, estes estabelecimentos estão aptos para a prática de preços de venda ao público (PVP) muito competitivos, tornando-se, por vezes, mais acessíveis em comparação com os preços praticados nas Farmácias. Estando providos de uma plataforma digital, não só é possível realizar compras *online*, como está facilitada a análise e comparação de preços praticados nos diferentes estabelecimentos.

Este problema não se resume apenas ao impacto económico negativo sentido nas Farmácias Portuguesas, mas sobretudo ao agravamento da prática da automedicação irresponsável após uma dispensa desprovida do aconselhamento adequado. Este aspeto constitui uma grande ameaça na FSB e nas farmácias em geral, sendo que a diferenciação pela qualidade do aconselhamento e atendimento prestados ao utente continua a não ser muito valorizada, perante a vantagem económica encontrada em muitas Parafarmácias.

#### **II.IV.IV - INSEGURANÇA E MEDO DE ERRAR**

A maior ameaça durante todo o período de estágio na FSB foi a insegurança nos meus conhecimentos e na sua aplicação prática. Apesar da vasta componente teórica disponibilizada pelo MICF, existem muitas lacunas na preparação para a sua aplicação em Farmácia Comunitária. Esta falha esteve na génese da minha insegurança, dado que a escassa abordagem de casos clínicos observáveis no dia-a-dia das farmácias resultou numa grande dificuldade de aplicação útil dos conhecimentos adquiridos durante o curso. A reduzida prática com casos reais e a escassa preparação em diversas áreas pertinentes na FC tornou o desenvolvimento de autoconfiança e autonomia muito difícil e lento, sendo acompanhados pelo medo de errar, dada a consciência de toda a responsabilidade que o Ato Farmacêutico envolve. Esta questão deveria ser tida em consideração durante o curso de MICF, sendo que, na minha opinião, a existência de apenas uma fase de estágio ao longo dos cinco anos de curso é insuficiente para a preparação mais completa e adequada, seja em que área for.

### **III - CASOS PRÁTICOS**

#### **III.I - CASO I – TOSSE**

Uma senhora na casa dos 60 anos dirige-se à farmácia, pedindo um xarope para a tosse. Após questionar a utente se se tratava de uma tosse seca e irritativa ou com expetoração e qual a altura do dia em que o sintoma se manifestava exacerbado, esta confirmou que se tratava de tosse produtiva, que se intensificava no período da manhã. Questionei a utente, finalmente, se sofria de Diabetes *Mellitus*, a qual me confirmou que sofria de Diabetes *Mellitus* tipo 2.

Não podendo recomendar qualquer medicamento com sacarose na sua composição, indiquei a utilização da solução oral Flumucil® 4%, constituída por acetilcisteína, um agente expetorante mucolítico, sob a posologia de 15 mL à noite, usando o copo de medição [5].

### **III.II - CASO 2 – DISTÚRBIOS DO SONO**

Uma senhora com cerca de 40 anos solicita algo para dormir, apresentando muita dificuldade em adormecer e a manter um sono contínuo por toda a noite. Após questionar a utente sobre a ocorrência de outros problemas de saúde e que medicação se encontrava a tomar, ela afirmou que apenas não conseguia dormir e que, por esse motivo, se sentia muito ansiosa e cansada.

Após interpretar o conjunto de fatores apresentados, concluí que se tratava de um ciclo vicioso, deixando-a cada vez mais ansiosa e agravando, assim, os problemas do sono. Comecei por aconselhar Dormidina® 25 mg, comprimidos de succinato de doxilamina, os quais a utente disse que já tinha experimentado, não tendo verificado qualquer efeito. Aconselhei, assim, Valdispert® Noite Total, constituído por 1 mg de melatonina, 50 mg de extrato de papoila da Califórnia e 50 mg de óleo essencial de lavanda. Sob a forma de cápsulas líquidas de libertação prolongada, aconselhei a toma de uma cápsula 30 minutos antes de deitar com um copo de água. Aconselhei, ainda, que a utente evitasse o uso de dispositivos eletrónicos como *smartphones*, televisões ou computadores no período antes de se deitar, já que a luz por eles emitida dificulta a indução do sono. Até à data não obtive qualquer *feedback*.

### **III.III - CASO 3 – HERPES LABIAL**

Jovem na casa dos 18 anos dirige-se à farmácia, apresentando o início de uma úlcera labial causada pelo vírus do *Herpes simplex*, pedindo um creme ou penso de tratamento, referindo que o problema é bastante recorrente. Aconselhei a aplicação de Zovirax® Duo, constituído por aciclovir e hidrocortisona, 5 vezes ao dia até um máximo de 5 dias [6]. Aliado a este tratamento, aconselhei a toma dos grânulos homeopáticos de Rhus Toxicodendron 9CH, sob a posologia de 5 grânulos de 15 em 15 minutos na primeira hora e, posteriormente, de 5 grânulos a cada duas ou três horas, de modo a acelerar o tratamento da erupção cutânea labial. Aconselhei o utente a usar os mesmos grânulos sob a mesma posologia em situações futuras.

### **III.IV - CASO 4 – INFEÇÕES URINÁRIAS**

Mulher com aproximadamente 30 anos dirige-se à farmácia com uma embalagem vazia de Fosfomicina Monuril® 3000 mg, pedindo outra embalagem, justificando que tem infeções urinárias muito frequentemente.

Procedi ao esclarecimento da utente, explicando os perigos do uso irresponsável de antibióticos, não lhe cedendo em circunstância alguma os mesmos sem que esta apresentasse prescrição médica. Sendo que a utente se manifestou recetiva a outras alternativas, aconselhei a toma de Urosens® Forte, constituído por arando vermelho americano, ácido ursólico e vitamina C, sob a posologia de 2 cápsulas por dia, até diminuição do desconforto. Aliado a este tratamento, indiquei o uso diário de um gel de higiene íntima com pH compatível com a mucosa vaginal, apresentando o produto Gyn-Phy da Uriage®. Por fim, aconselhei a ingestão de bastante água, ida à casa de banho após relações sexuais e reforcei a importância da higiene com os produtos adequados, prevenindo novas recidivas.

#### **IV - CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Concluído o estágio curricular em farmácia comunitária, consigo entender muito melhor a importância do farmacêutico para com a comunidade, representando não só um profissional de saúde dotado de um vasto leque de conhecimentos científicos, mas também um símbolo de confiança e afeto.

O dia-a-dia de um farmacêutico é rico em funções diversas e de elevada responsabilidade, para as quais são fundamentais muitos dos conhecimentos adquiridos durante o curso de Ciências Farmacêuticas. Apesar das lacunas de formação reconhecidas, foi possível preencher muitas destas pela oportunidade de contactar com uma grande diversidade de casos, sendo que na maioria destes apenas com a prática e observação aprendemos a atuar perante novos desafios, tratando-se de um processo de aprendizagem contínua.

Cada vez mais é necessário adotar novas estratégias para dignificar e diferenciar o valor do aconselhamento farmacêutico e na Farmácia Sá da Bandeira não me faltaram exemplos. Em retrospectiva, além da grande aprendizagem a nível técnico e científico, desenvolvi também um pensamento mais crítico, senso de responsabilidade e melhorei as minhas capacidades de comunicação, tratando-se de ferramentas essenciais não só para o meu futuro a nível profissional, como pessoal.

Finda a análise SWOT do meu estágio curricular em farmácia comunitária, quero agradecer a toda a equipa da Farmácia Sá da Bandeira por me terem recebido de forma tão calorosa e por tudo o que me ensinaram, tanto a nível académico, como pessoal, ético e social. Assim, acabo um caminho para começar um novo, e espero, no futuro, fazer justiça a todos os seus ensinamentos, elevando ao máximo a profissão farmacêutica e apostando sempre na sua evolução e adaptação.

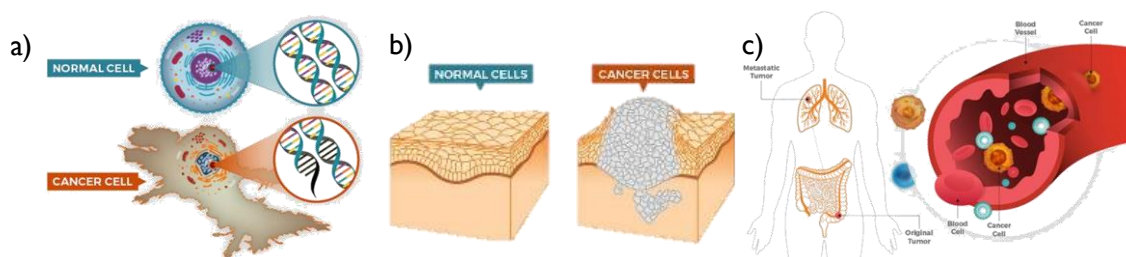
## **CAPÍTULO II**

### **NANOTUBOS DE CARBONO NO DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DO CANCRO**

## I - CANCRO

O cancro é a palavra que define um grupo de doenças caracterizadas pela proliferação rápida e desordenada de células danificadas. Por norma, as células crescem e dividem-se de forma ordenada formando um tecido e, por sua vez, órgãos específicos. Estas mesmas células envelhecem, morrem e são substituídas por novas células saudáveis, constituindo assim o seu ciclo de vida normal [7], [8]. Aquando do desenvolvimento de um cancro, este processo ordenado deixa de ocorrer, uma vez que as células cancerígenas possuem alterações genéticas denominadas oncogenes [Figura I a) e b)], que provocam a inativação dos genes supressores tumorais. Estando os genes supressores tumorais inibidos, ao contrário do que ocorre em células normais, não há a morte celular destas células defeituosas. Assim, as células ignoram os sinais de morte celular programada, o que resulta numa rápida divisão e acumulação das mesmas, formando massas irregulares denominadas tumores [9], [10].

Os tumores podem ser malignos ou benignos. Os primeiros são naturalmente mais graves, pois podem invadir e danificar tecidos circundantes, criando um “microambiente” altamente vascularizado que fornece uma maior concentração de oxigénio e nutrientes às células malignas [10]. Podem, ainda, difundir-se através da corrente sanguínea ou do sistema linfático, dando origem a tumores secundários noutros órgãos. A este processo em que as células cancerígenas podem separar-se do tumor original e espalhar-se através do sistema circulatório e linfático, alojando-se noutros tecidos e formando novos tumores, representado na Figura I c), dá-se o nome de metastização, característica do cancro [7].



**Figura I** – a) Alterações genéticas no DNA das células denominadas oncogenes; b) Proliferação descontrolada de células cancerígenas pelos tecidos circundantes, formando um tumor; c) Metastização [10].

A suscetibilidade de um indivíduo a este tipo de doenças varia, havendo um conjunto de fatores de risco característicos que aumentam a probabilidade da sua incidência. Estes fatores incluem, para os diferentes tipos de doenças cancerígenas, idade avançada, herança genética, tabagismo, excesso de peso, sobre-exposição a radiação UV e ionizante, dietas pobres, alcoolismo, sedentarismo, poluição atmosférica, exposição laboral a determinados

componentes nocivos e alguns vírus e bactérias [7], [9]. Muitos destes fatores podem ser controlados, devendo ser evitados sempre que possível de forma a reduzir o risco do aparecimento de cancro [11].

O cancro é considerado a segunda principal causa de morte a nível mundial, registando-se anualmente cerca de 18 milhões de novos casos, e tendo estado na origem de 9,6 milhões de mortes em 2018 [7], [8], [12]. Em Portugal, a sua incidência aumenta, em média, 3% por ano, com 50 000 novos casos em 2018, sendo o cancro colorretal o mais comum, seguido pelo cancro da mama e cancro da próstata. Estima-se que um quarto da população em Portugal corre o risco de desenvolver algum tipo de cancro até aos 75 anos, dos quais 10% poderão morrer desta doença. Aproximadamente 25% dos óbitos registados em Portugal, por ano, são causados por cancro [13].

Um dos problemas associados a esta doença é a sua deteção tardia, o que resulta numa taxa elevada de mortalidade. Dependendo do estado geral de saúde, da idade e do estágio da doença, o plano de tratamento pode variar, tendo como objetivo a cura ou, nos casos mais avançados, apenas o controlo da doença e respetivos sintomas. O tratamento pode incluir a terapêutica local, onde se recorre a cirurgia e/ou radioterapia, e sistémica, onde se recorre à quimioterapia, terapêutica hormonal e imunoterapia, onde o componente terapeuticamente ativo entra na corrente sanguínea alcançando as células e induzindo morte celular e/ou desacelerando o seu crescimento. Contudo, há que ter em consideração que, na generalidade, o tratamento do cancro é inespecífico. A medicação exerce efeitos citotóxicos não específicos nas células e tecidos saudáveis, surgindo, assim, sintomas secundários severos que reduzem drasticamente o estado de saúde física e psicológica do doente [7], [14].

Surge assim a necessidade de aperfeiçoar a eficiência do diagnóstico e tratamento do cancro, sendo estas duas das áreas mais investigadas a nível do diagnóstico e tratamento clínico. É neste campo que os estudos na área da nanotecnologia se revelam dotados de grande potencial, possibilitando um diagnóstico precoce e mais preciso e potenciando a eficiência do tratamento ao melhorar a vetorização dos fármacos anticancerígenos para as linhas celulares cancerosas malignas, permitindo assim a diminuição das doses administradas e resultando na melhoria da qualidade de vida do paciente [12], [14], [15].

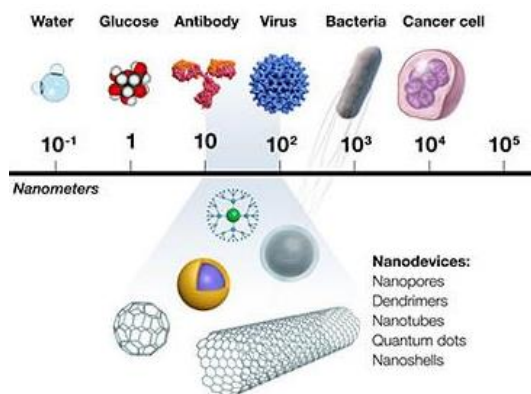


## II - NANOTECNOLOGIA

Albert Einstein numa dada altura afirmou, “Olha profundamente para a Natureza e um dia entenderás tudo melhor.” [16]. A nanotecnologia permitiu-nos isto, possibilitando a compreensão do funcionamento de mecanismos biológicos a nível molecular e, conseqüentemente, a descoberta de novas e melhores estratégias de diagnóstico e de tratamento [10]. Esta é a ciência que compreende e utiliza materiais, estruturas funcionalizadas, dispositivos e sistemas com dimensões na escala nanométrica, ou seja, com uma dimensão no máximo de 100 nanómetros [Figura 2]. Nos materiais com estas dimensões, emergem propriedades únicas a nível físico, químico e biológico, bastante diferentes das apresentadas pelos materiais na escala macroscópica. Aplicada em numerosas áreas como a eletrónica, química e biomedicina, a nanotecnologia é uma tecnologia dotada de um grande potencial e versatilidade [17].

### II.I - NANOMEDICINA

A nanomedicina é um ramo da nanotecnologia que se foca no desenvolvimento de estratégias de diagnóstico mais rápidas, terapêuticas e transporte de drogas (*drug delivery*) melhorados, bem como em técnicas de imagiologia avançadas e prevenção de várias condições clínicas com base em nanomateriais [15], [17], [18].



**Figura 2** – Representação da nanoescala em comparação com diferentes moléculas e organismos celulares [85].

Com a evolução da incidência, mortalidade e diminuição da resposta ao tratamento de doenças como o cancro, torna-se essencial a disponibilização de um diagnóstico mais preciso e de tratamentos mais eficientes, sem efeitos adversos. Os sérios efeitos citotóxicos não específicos dos agentes anticancerígenos em células saudáveis e o elevado custo destes procedimentos, levaram, assim, à intensificação do foco no possível uso da nanomedicina em

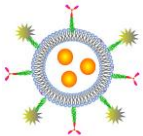
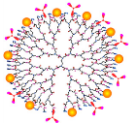
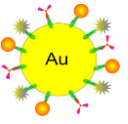
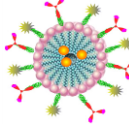




alternativas de diagnóstico e tratamento do cancro, onde os sistemas de transporte de drogas direcionados aos tumores (*tumor-targeted drug-delivery*) são vistos como balas mágicas na terapia oncológica [15], [17].

## II.II - NANOPARTÍCULAS NA ONCOLOGIA

Graças à nanotecnologia, existem numerosos nano materiais em uso clínico e também em diferentes fases de desenvolvimento, contribuindo para alguns avanços na medicina e cuidados de saúde. As células tumorais apresentam várias características, uma das quais a angiogénese sustentada, desenvolvendo um sistema vascular próprio em torno do tumor recém-formado. Estudos sobre esta vasculatura demonstram a presença de anomalias estruturais, tais como o aumento do diâmetro das porosidades dos vasos, impedindo, assim, um adequado transporte de fármacos, resultando em perdas significativas. Este fator, associado à pobre drenagem linfática do tumor, causa um diferencial de pressão intersticial entre o seu interior e a periferia, permitindo a acumulação espontânea de moléculas entre os 10 e 100 nm, durante um período de tempo superior, comparativamente aos fármacos livres. Este fenómeno denomina-se efeito melhorado de permeabilidade e retenção (EPR) e permite que os agentes anticancerígenos associados a nanopartículas tenham um período de retenção 10 vezes superior [15], [19].

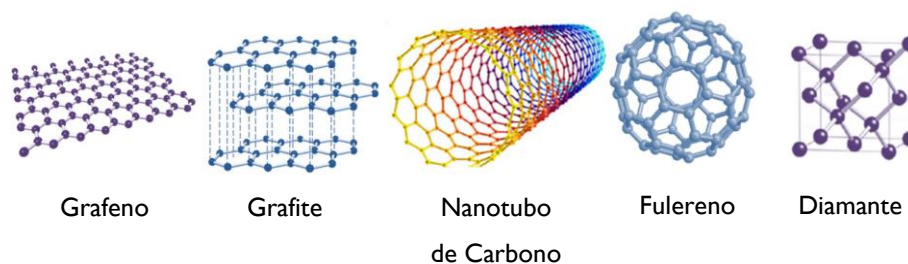
Lipossomas, dendrímeros, nanoemulsões, nanoesferas, nanotubos de carbono (CNT), quantum dots, entre outros, são exemplos de nano materiais usados para o transporte de fármacos por encapsulação, dissolução ou ligação à sua superfície. Estes também possibilitam a funcionalização da sua superfície com vários tipos de ligandos, como anticorpos, peptídeos, entre outros, permitindo a localização ativa de células alvo (*active targeting*), melhorando assim o processo de transporte de fármacos *in vivo* para um determinado sítio específico, (*site-specific drug-delivery*) nas células alvo, além de também fornecerem propriedades elétricas, magnéticas e fotossensíveis úteis para diagnóstico e terapia [15], [17]. Alguns exemplos de nanossistemas e respetivas aplicações são apresentados na **Tabela I**.

**Tabela I** – Exemplos de Nanomateriais utilizados para o Diagnóstico e Terapêutica Clínica [17], [86].

Lipossomas	Dendrímeros	Nanopartículas de Ouro	Micelas Poliméricas
Terapêutica anticancerígena do cancro do ovário e da mama com doxorubicina. <i>Doxil®</i>	Antiviral para prevenção de HIV, HBV e HPV; Microbiocida, no tratamento de BV. <i>VivaGel®</i>	Agente de diagnóstico. <i>Verigene®</i>	Terapêutica anticancerígena do cancro da mama, pulmão e do ovário <i>Genexol-PM®</i>
			
 Fármaco	 Ligando	 Agente de Fluorescência	 Linker

### III - NANOPARTÍCULAS À BASE DE CARBONO

O carbono é o 15º elemento mais abundante no planeta Terra, o 4º mais abundante no Universo e o 2º mais abundante em peso no corpo humano. A sua diversidade única e capacidade de formar diferentes polímeros, torna-o um dos elementos base para todas as formas de vida conhecidas. A partir dos alótropos de carbono naturais, a grafite e o diamante, tornou-se possível a descoberta de outros alótropos sintéticos, como o grafeno, nanotubos de carbono e fulerenos, representados na **Figura 3** [20], [21].



**Figura 3** – Representação dos diferentes alótropos de carbono [21].

Este elemento pode existir em diferentes dimensões, desde zero a três conformações dimensionais. O grafeno, de uma dimensão, pode ser enrolado para formar fulerenos, de zero dimensões, nanotubos, de uma, ou grafite, de três dimensões. Com base nas suas estruturas, os nanomateriais de carbono podem ser classificados em nanomateriais de carbono  $sp^2$ , com geometria planar, como os fulerenos, nanotubos e grafeno, ou  $sp^3$ , com geometria tetraédrica, como o diamante. Existem, ainda, os *carbon dots*, normalmente compostos por carbono amorfo e com dimensões no máximo dos 10 nm, que são

nanomateriais de carbono  $sp^2$  de zero dimensões [21]. Estas hibridizações do carbono permitem a fácil modificação da superfície destas nanopartículas.

Devido às suas pequenas dimensões, elevada área de superfície, fácil funcionalização, baixo custo de produção, propriedades fotoluminescentes melhoradas e boa condutividade térmica, os nanomateriais à base de carbono tornam-se cada vez mais atrativos e populares nas terapêuticas anticancerígenas, tendo diversas aplicações biomédicas tais como bioimagem, transporte de fármacos, como biossensores e aplicação simultânea no diagnóstico e tratamento clínico (aplicações teranósticas) [20].

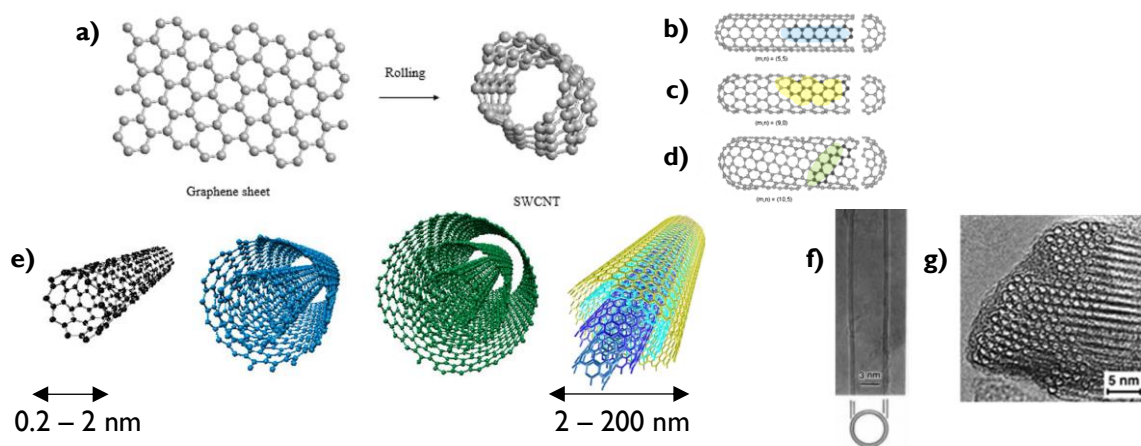
### **III.I - NANOTUBOS DE CARBONO**

Desde a sua descoberta por Iijima em 1991 [22], os CNT, têm levantado especial e crescente interesse devido às suas propriedades físicas e químicas únicas bem como características que permitem diversas aplicações biológicas [23], [24]. Inicialmente, os CNT eram maioritariamente utilizados no campo industrial, até ao início do século XXI, quando surgiram os primeiros relatos da sua utilização na bio-medicina. Comparados com outros nanomateriais, como os *quantum dots*, principalmente usados em bioimagem de células cancerígenas, os CNT são muito mais dinâmicos [23], [25]. A elevada área de superfície dos CNT proporciona múltiplos locais de fixação de diferentes moléculas, possibilitando a derivatização polivalente, o que permite não só controlar o grau e tipo de funcionalização *in vivo*, tal como o aumento da sua biocompatibilidade com o ambiente biológico. O seu interior “oco” confere uma enorme capacidade de ligação a fármacos (*drug loading*) e de transporte de outras moléculas, tais como proteínas e DNA/RNA. Além disso, graças à sua morfologia, os CNT são dotados de uma elevada transportabilidade através de fluidos, células e barreiras biológicas, como a barreira hematoencefálica. Possuem também uma ótima condutividade e anisotrópica, tornando-os ideais para integração nos tecidos nervoso e muscular, além de serem ultraleves e possuírem uma elevada resistência mecânica [25], [26]. Este conjunto único de propriedades dos CNT torna-os numa importantíssima ferramenta no tratamento do cancro, seja em diagnóstico, terapêutica, ou transporte e libertação de fármacos.

#### **III.I.I - ESTRUTURA DOS NANOTUBOS DE CARBONO**

Os CNT são nanoestruturas alotrópicas de carbono, cilíndricas e de interior vazio, com origem artificial a partir de folhas de grafeno enroladas cilíndricamente [23]. Este processo pode realizar-se de infinitas formas, resultando em diferentes diâmetros e estruturas, os quais são definidos pela disposição da rede de carbono relativamente ao eixo

do cilindro formado, denominada quiralidade. Os CNT apresentam dois principais tipos, com base no seu diâmetro, comprimento e estrutura: nanotubos de carbono de parede simples (SWCNT), e nanotubos de carbono de parede múltipla (MWCNT) [20], [23], [25]. Enquanto que os SWCNT se apresentam como uma única folha de grafeno enrolada num cilindro de diâmetro entre 0,2 e 2 nm, são mais longos e maleáveis (podendo chegar a alguns micrómetros de comprimento), os MWCNT apresentam-me como múltiplas destas folhas enroladas concêntricamente, de duas (DWCNT) três (TWCNT) ou mais folhas, podendo apresentar um diâmetro de 2 a 100 nm, possibilitando uma maior capacidade de “drug loading” [21], [25]. Estas diferenças são apresentadas na **Figura 4**.



**Figura 4 – Diferentes quiralidades dos CNT:** a) folha de grafeno enrolada cilíndricamente; b) conformação em cadeira; c) conformação em zig-zag; d) conformação quiral; e) SWCNT, DWCNT, TWCNT e MWCNT, respetivamente; f) DWCNT com 5,5 nm de diâmetro e g) conjunto de 100 SWCNT. Imagens de f) e g) obtidas por microscopia eletrónica [21], [24].

### III.II - APLICAÇÕES E PROPRIEDADES DOS CNT NO CANCRO

Os CNT possuem características únicas que os tornam viáveis para uma grande variedade de aplicações na biomedicina e que iremos referir a seguir.

#### III.II.I - Biossensores

A primeira e principal área de interesse investigacional da aplicação dos CNT é a sua utilização como biossensores, com elevado interesse na ciência e indústria [23]. A primeira publicação data de 2001, quando *Kirschner et al.* usaram CNT modificados para a deteção de proteínas específicas em tempo real [27]. Os anos seguintes caracterizaram-se pelo aumento exponencial de estudos na área.

Numa fase inicial do cancro, o diagnóstico precoce é essencial. No entanto, as técnicas de imagem tradicionalmente usadas, como os raios-X, tomografia computadorizada ou

ressonância magnética não são dotados de resolução suficiente, já que as neoplasias em estágios iniciais não apresentam alterações morfológicas aparentes. Surge, assim, a necessidade de identificação precoce de alterações ao nível molecular, utilizando os chamados marcadores tumorais. Estes podem ser detetados usando CNT funcionalizados, que, devido às suas características eletrónicas, mecânicas e térmicas, constituem uma potencial ferramenta para a deteção de alta sensibilidade de determinados biomarcadores do cancro [25].

Os CNT apresentam propriedades óticas intrínsecas únicas, como a fotoluminescência no infravermelho próximo (NIR) e forte dispersão ressonante de Raman, tornando-os excelentes candidatos para o diagnóstico de cancro como agentes de contraste ou por fluorescência com excitação no infravermelho (IV). Até aos dias de hoje várias classes de biossensores de CNT foram desenvolvidas, especialmente para a deteção de uma ampla variedade de biomarcadores característicos do cancro. Isto é conseguido através da conjugação com DNA, aptâmeros, anticorpos, peptídeos ou enzimas [28]. *Cai et al.* foram os primeiros a criar um biossensor à base de MWCNT funcionalizados com ácido carboxílico, com o propósito de detetar DNA. Comparado com sensores anteriores, os biossensores à base de CNT permitiram um aumento considerável da sensibilidade. Esta foi a primeira aplicação que demonstrou a capacidade dos CNT atuarem como biossensores eletroquímicos de DNA [29].

Num estudo levado a cabo por *Ozkan-Ariksoysal et al.*, foi demonstrada a versatilidade dos CNT, onde foram criados genossensores a partir de MWCNT complexados com DNA para deteção de *Escherichia coli*. Outro exemplo de um nanossistema híbrido baseado em CNT foi criado por *Chen et al.*, para a deteção rápida e ultrasensível de *Mycobacterium tuberculosis* [30], [31]. Nos dias de hoje, além do DNA, estes biossensores são extensivamente estudados para deteção da glucose, pesticidas, colesterol, espécies reativas de oxigénio (ROS), lactato, deteção precoce do cancro, tuberculose, malária, entre outros [26].

### **III.II.II - Veículo de Agentes Quimioterapêuticos**

A elevada área de superfície, grande capacidade de ligação aos fármacos e excelente aptidão para penetrar a membrana das células torna os CNT numa plataforma perfeita para a libertação de agentes farmacológicos e genéticos no interior das células. Nos últimos anos, o foco principal da sua utilização tem sido na terapêutica do cancro. Tradicionalmente, os agentes quimioterapêuticos utilizados no tratamento destas patologias causam toxicidade sistémica, possuem uma estreita janela terapêutica, apresentam resistências e baixa

penetração celular [32]. Neste contexto, os CNT apresentam uma oportunidade de transporte dos agentes quimioterapêuticos tradicionais já que, ao permitirem uma maior acumulação do fármaco no tecido desejado, possibilitam a diminuição da dose administrada ao mesmo tempo que se observa uma maior eficácia e uma diminuição dos efeitos tóxicos inerentes ao fármaco [33].

Como é de esperar, os estudos têm-se concentrado na conjugação dos CNT com os agentes quimioterapêuticos já tradicionalmente usados na clínica, tais como a doxorubicina (DOX), flutamida, cisplatina, metotrexato, paclitaxel (PTX), entre outros. Neste âmbito, a DOX é o principal candidato para conjugação com CNT. A sua toxicidade, tal como a de outros fármacos para o mesmo efeito, é bem conhecida. Assim, a diminuição da concentração de DOX livre sem que se sacrifique a sua eficácia é um tópico central entre os investigadores. Por exemplo, *Yan et al.* desenvolveram um sistema pH-responsivo para transporte de DOX até ao tumor usando MWCNT modificados com ácido fólico (FA). Este demonstrou não só uma maior capacidade de ligação aos fármacos e eficiência de encapsulação, como também uma melhor supressão do crescimento tumoral *in vivo* e diminuição de efeitos adversos [33]. Perante a dificuldade de administração de PTX devido à sua baixa hidrossolubilidade, *Lay et al.* produziram SWCNT e MWCNT conjugados com polietilenoglicol (PEG). Além da melhoria da capacidade de ligação do fármaco, verificou-se que a distribuição de PTX *in vitro* se manteve ao longo de 40 dias [25], [34].

### III.II.III - Terapia Foto-Térmica

Há muito aplicada no tratamento tumoral [35], a terapia foto-térmica é ainda considerada um dos melhores métodos de tratamento do cancro. Recentemente, alguns investigadores têm estudado a aplicação dos CNT nesta técnica. Os CNT são caracterizados por uma boa absorção de radiação do NIR gerando calor. Esta propriedade aliada ao comprimento dos nanotubos constitui um elemento vital na sua ação, definindo a sua capacidade de transmissão de calor e erosão celular [25], [36]. A terapia foto-térmica com CNT é não-invasiva, sendo que estes são injetados no tumor e, por radiação NIR, geram calor localmente, induzindo a morte das células tumorais, sem que sejam provocados danos nos tecidos saudáveis vizinhos. Para uma melhor eficiência no tratamento tumoral, a terapia foto-térmica à base de CNT pode ser combinada com quimioterapia [25], [37], [38], [39].

Para melhorar a seletividade do tratamento, os CNT são vetorizados através da conjugação com ligandos específicos. A transdução foto-térmica é então desempenhada pelos nanotubos instalados no tecido tumoral, conseguindo atingir temperaturas na ordem dos 50 à 70° C quando sujeitos a irradiação a laser de alta potência e densidade (3,5 – 35 W

/ cm<sup>2</sup>) por um longo período de tempo (3 a 4 minutos), sendo possível a destruição das células cancerígenas sem que as células saudáveis sofram qualquer tipo de dano colateral [40].

#### III.II.IV - Imunoterapia

A imunoterapia é uma forma de tratamento que recorre ao sistema imunitário do doente para combater várias patologias, como o cancro [12]. As vacinas de células tumorais (TCV) são uma das estratégias usadas pela imunoterapia, em que células cancerígenas inativadas ou células dendríticas associadas a peptídeos antigénicos tumorais são administradas, desencadeando uma resposta imune contra o tecido tumoral [25], [41]. No intuito de melhorar a eficácia do método, CNT oxidados podem ser acoplados a proteínas tumorais, através de uma ligação amida, atuando como veículos transportadores de antigénios. Estes possibilitam uma potente indução da resposta imune por parte do organismo, estimulando a produção de interleucinas 12 (IL-12) e fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). *Villa et al.* provaram o seu potencial na imunoterapia ao conjugar covalentemente SWCNT com a proteína tumoral Wilms (WT1). Este sistema de SWCNT-WT1 provou a indução de uma resposta humoral específica em estudos *in vivo*, enquanto que o peptídeo livre não induziu qualquer resposta significativa por parte do sistema imunitário dos ratos em estudo. Estes resultados sugerem que os CNT são uma potencial ferramenta para o desenvolvimento e melhoria dos sistemas de distribuição de agentes imuno-terapêuticos, aumentando a eficácia das TCV [42].

#### III.III - MÉTODOS DE SÍNTESE

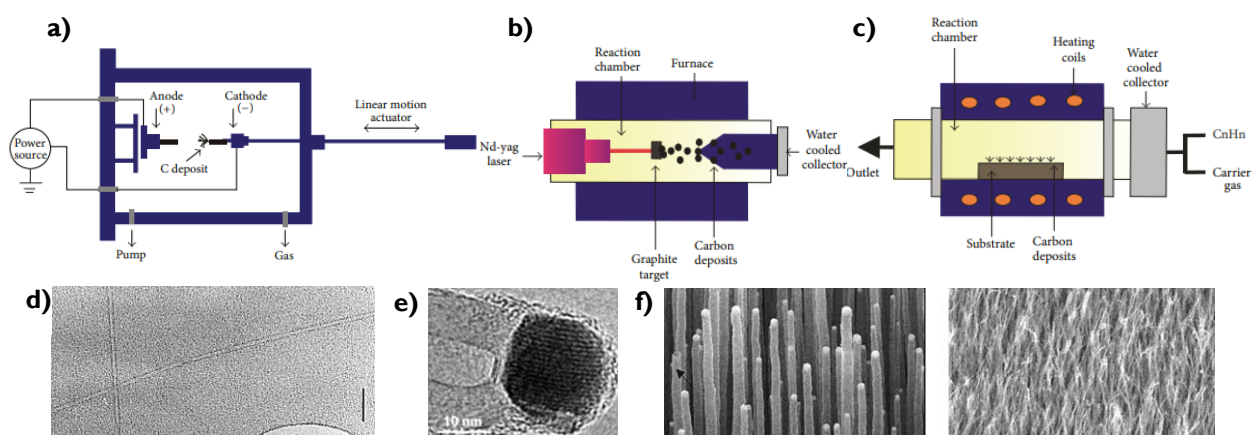
A síntese de CNT consiste na transformação de um substrato de carbono em nanotubos, normalmente em condições de alta temperatura e baixa pressão [43]. As técnicas mais conhecidas para a produção de CNT são o arco-elétrico, ablação a laser e deposição de vapor químico (DVQ) [23], [25], [44]. Os principais métodos de síntese utilizados na produção dos vários tipos de CNT apresentam-se na **Tabela 2**.



**Tabela 2** – Principais métodos de síntese dos CNT [22], [23], [43], [44].

<b>Método de Síntese</b>	<b>Detalhes</b>	<b>Vantagens</b>	<b>Desvantagens</b>
<b>Descarga de Arco-Elétrico de Carbono</b>	O método usado por Iijima em 1991, aquando a descoberta dos CNT. Descarga elétrica entre dois elétrodos de carbono, em câmara de vácuo com gás inerte (Ar ou He), a baixa pressão. As condições extremas transformam o gás em plasma, gerando temperaturas altas o suficiente para vaporizar o carbono. Uma vez estabilizado, dá-se a reorganização do C evaporado em nanotubos, na extremidade do eletrodo negativo.	O método mais prático e acessível. Permite a produção em larga escala.	Presença de muitos produtos secundários de síntese, requerendo uma purificação controlada.
<b>Ablação a Laser</b>	Pulso intenso de laser direcionado contra um substrato de C (grafite) associado a metais de transição (Ni e Co) em reator a altas temperaturas na presença de um gás inerte (He). Assim, forma-se uma nuvem de laser ( <i>laser plume</i> ) com carbono vaporizado, levando à montagem do carbono sob a forma de nanotubos nas superfícies mais frias do reator, por condensação.	Produção de CNT com grau de pureza na ordem dos 90%.	Baixo rendimento e elevados custos.
<b>Deposição de Vapor Químico</b>	Reator com mistura de hidrocarbonetos gasosos (etileno, metano ou acetileno) e um gás de processamento (amónia, nitrogénio ou hidrogénio), a temperaturas na ordem dos 900° C e a pressão atmosférica. Na presença de um catalisador (Fe), ocorre a dissociação dos hidrocarbonetos, levando à precipitação de C a partir do metal saturado, com formação dos nanotubos.	Método mais adequado para síntese controlada de nanotubos com propriedades predefinidas.	Elevadas variações de densidade nos MWCNT devido à insuficiente energia térmica relativa para concretizar o reaquecimento a alta temperatura ( <i>annealing</i> ).

A representação esquemática dos sistemas de síntese dos CNT são representados na **Figura 5**.



**Figura 5** – Sistema de produção de CNT via **a)** descarga de arco-elétrico de carbono; **b)** ablação a laser; **c)** DVQ; imagens de CNT produzidos por DVQ, obtidas por microscopia eletrónica de transmissão; **d)** SWCNT isolado, usando catalisador de  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ; **e)** MWCNT com extremidade ligada ao catalisador e **f)** MWCNT de diferentes diâmetros (20 a 200 nm) usando substrato de vidro revestido com partículas de níquel como catalisador [43], [44].

Concluída a sua síntese, os CNT podem encontrar-se associados a impurezas com origem metálica ou no carbono, exigindo, assim um processo de purificação. Este último poderá conduzir a alterações no seu comprimento e funcionalidade. Exemplos de métodos de purificação a considerar são a oxidação em fase gasosa ou líquida (método químico), filtração, centrifugação, *annealing* (métodos físicos) e purificação multi-faseada [43].

### III.IV - TOXICIDADE

Apesar do seu elevado potencial para o transporte de fármacos, material genético e outras moléculas, o uso dos CNT primitivos no setor da saúde é bastante restrito, pois apresentam baixa hidrossolubilidade e elevada citotoxicidade [25], [26].

Foram realizados vários estudos *in vivo*, para a toxicidade pulmonar após exposição a CNT. Nestes, foram administrados a ratos, por via intra-nasal, 50  $\mu\text{g}$  e 500  $\mu\text{g}$  de CNT, com avaliação dos fluidos de lavagem bronqueoalveolar após 24h. Verificou-se a toxicidade dos nanotubos, evidenciada pelo aumento da secreção total de proteínas pro-inflamatórias, como as citocinas [45]. Noutro estudo, foi provada a toxicidade aguda dos CNT no tecido pulmonar e cardíaco de ratos pela sua reduzida *clearance*. Este efeito foi observado devido à formação e acumulação de aglomerados de MWCNT carboxilados nestes órgãos, o que resultou numa resposta inflamatória exacerbada [46].

Por via intravenosa foram injetados SWCNT em ratos, com avaliação simultânea de determinados parâmetros bioquímicos. Observou-se uma acumulação, a longo-termo, nos tecidos biológicos, especialmente nos pulmões, bem como uma diminuição nos valores de

glutação (GSH) e um aumento de malondialdeído (MDA), sugerindo *stress* oxidativo gerado pelos SWCNT [47].

Uma maior tolerância por via subcutânea foi provada, uma vez que em estudos com duração de 3 meses, realizados em ratos, estes sobreviveram, apesar do aumento dos níveis de linfócitos T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>, que resultaram em edema, ao final da primeira semana [48], [49].

A exposição a MWCNT por via intraperitoneal também foi provada como tóxica, através de um estudo conduzido em ratos albinos, nos quais foram administradas diferentes doses ao longo de 7 dias. A toxicidade foi determinada avaliando marcadores enzimáticos hepáticos tais como a aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, fosfatase alcalina e proteína sérica total. Entre dosagens de 1,5 mg kg<sup>-1</sup>, 2 mg kg<sup>-1</sup> e 2,5 mg kg<sup>-1</sup>, foi demonstrado um aumento generalizado dos valores séricos de proteína total, sendo que os valores normais se encontram entre 3,5 a 8 g dL<sup>-1</sup> e os valores obtidos no final do estudo encontraram-se na ordem dos 11,4 g dL<sup>-1</sup> a 14,6 g dL<sup>-1</sup>. Este aumento significativo da proteína sérica total deveu-se à desidratação desencadeada pela exposição às nanopartículas. Foi também provada a toxicidade dose-dependente, tanto pelos valores dos parâmetros bioquímicos obtidos, como pela letalidade causada pelas doses mais altas em 3 dos 27 ratos albinos em estudo [49].

Apesar das repercussões negativas observadas, estas podem ser significativamente reduzidas através da funcionalização dos CNT com os materiais biocompatíveis adequados. Esta funcionalização, conduz à diminuição de interações entre os CNT e o organismo hospedeiro, melhorando, assim, a sua utilidade no campo da biomedicina [26].

### III.V - FUNCIONALIZAÇÃO

A biocompatibilidade dos CNT é uma das questões mais preocupantes no que toca às suas aplicações biomédicas. Contudo, a natureza reativa da superfície dos CNT permite a associação de moléculas bioativas e agentes químicos que auxiliam no aumento da biocompatibilidade e solubilidade destes nano transportadores. Esta grande reatividade deve-se à sua estrutura cilíndrica formada por uma rede de carbonos sp<sup>2</sup> aliada à elevada área de superfície dos CNT. Assim, a sua funcionalização é um passo crucial para que possam ser integrados nos sistemas biológicos e, eventualmente, utilizados para a vectorização de células cancerígenas e acumulação nas células tumorais. Esta funcionalização pode ser concretizada, principalmente, através de uma ligação covalente ou não-covalente [23], [25], [26].

A funcionalização não covalente envolve interações fracas, como as forças de *Van Der Waals*, interações  $\pi$ - $\pi$  e interações hidrofóbicas de grupos funcionais biocompatíveis com a superfície de grafeno do CNT. Este método permite preservar a estrutura aromática e o carácter eletrónico da estrutura dos nanotubos, através da adição de polímeros hidrofílicos, biopolímeros e surfactantes, às paredes dos CNT. Deste modo, é possível minimizar os danos causados nos nanotubos funcionalizados [25]. Dodecilsulfato de sódio e cloreto de benzalcónio são exemplos de tensoativos que, quando agregados não-covalentemente às paredes dos nanotubos, facilitam a sua dissolução em água. Polímeros anfílicos, apesar de não serem tão eficientes no aumento da hidrossolubilidade dos CNT, são preferíveis aos tensoativos moleculares, tendo em conta que reduzem a formação de micelas e sustentam uma interação de maior energia com o nanotubo em si [43], [50], [51]. Em contrapartida, as ligações não-covalentes são demasiado fracas, limitando-as apenas às moléculas com afinidade para as paredes dos CNT [25].

A funcionalização covalente consiste na oxidação dos nanotubos com ácidos fortes, como o ácido sulfúrico ou ácido nítrico e calor, destruindo a estrutura hexagonal da superfície de grafeno dos CNT e gerando regiões reativas. Formam-se grupos funcionais hidrofílicos substituíveis (carboxilo e hidroxilo) nos nanotubos, que facilitam as reações de derivatização, como a esterificação, amidação, cloração, bromação, hidrogenação ou reação de *Diels-Alder*. Por este método, é possível a associação covalente de determinados grupos funcionais através da adição de radicais, ciclopropanação nucleofílica e eletrófilos. Ao gerar grupos carboxílicos, este método resulta no aumento da hidrossolubilidade e biocompatibilidade dos CNT, devido à carga negativa adicionada [25]. De notar que, através deste tipo de funcionalização, é provocado um maior dano às paredes dos CNT devido às alterações na sua estrutura eletrónica, o que leva à modificação das suas propriedades originais [43], [50], [51].

Há que ter em consideração que as diferentes abordagens e metodologias utilizadas afetam intensamente a biocompatibilidade, toxicidade e características físicas finais dos CNT, influenciando diretamente a sua farmacocinética e bio-distribuição [23]. Alguns exemplos de moléculas usadas na funcionalização de CNT são o PEG, FA, quitosano (CHI), aptâmeros, anticorpos e transferrina (Tf).

### III.V.I - POLIETILENOGLICOL

O PEG é um polímero não biodegradável, sendo um dos componentes mais utilizados na funcionalização de várias nanopartículas. É associado aos CNT com o fim de aumentar a sua dispersibilidade, hidrossolubilidade e biodisponibilidade, diminuir a citotoxicidade e evitar a opsonização, tornando o sistema de transporte de fármacos menos detetável pelas células fagocíticas. Pode ser ligado tanto não-covalentemente como covalentemente ao nanossistema. No entanto, no último caso, apresenta, adicionalmente, um aumento do tempo de circulação, ao aumentar o carácter hidrofílico e diminuir a taxa de filtração glomerular [26].

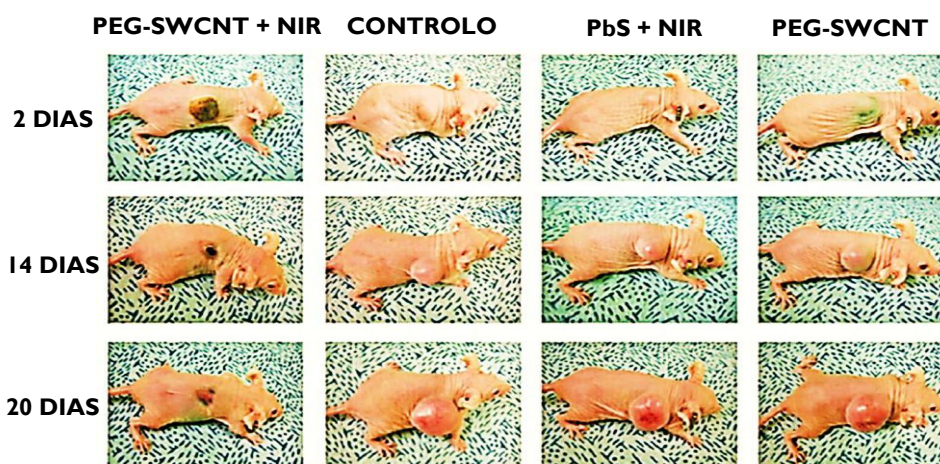
A sua utilidade é descrita em numerosos estudos. Numa investigação conduzida por *Zhao et al.*, foi comparada a toxicidade causada por nanotubos de carbono de parede múltipla carboxilados (CMWCNT), e por nanotubos de carbono de parede múltipla PEGilados (PEG-MWCNT), sendo que os primeiros apresentaram maior toxicidade. Por conseguinte, os PEG-MWCNT foram usados para distribuir DOX apresentando uma ligação ao fármaco de 0,55 mg/mg e libertando 57% da DOX em 24h, em pH ligeiramente ácido, mimetizando o micro-ambiente tumoral. Esta eficácia foi provada *in vitro*, sendo que o presente sistema apresentou uma maior eficiência relativamente à inibição das células HepG2, características do carcinoma do tecido hepático, em comparação com a DOX livre. Pode, assim, concluir-se que a PEGilação melhorou não só a biocompatibilidade do nanossistema, mas também a sua eficiência de transporte e libertação do fármaco [52].

Noutra abordagem, dirigida por *Kafil e Omid*, CNT PEGilados (PEG-CNT) associados a anticorpos e aptâmeros foram utilizados para alcançar células de cancro do pulmão. PEG-CNT foram carregados com etoposido (VP-16) agente anti-neoplásico inibidor da enzima topoisomerase II, e desoxinucleotídeo antissense de fósforotioato de linfoma das células B 2 (Bcl-2) para melhorar a sua eficácia citostática *in vitro*. Foi demonstrado um excelente perfil de libertação dos agentes anti-neoplásicos (tanto à pH 7.4 como 4.8), e atividade hemolítica desprezível (6,5%), quando aplicados em células de cancro do pulmão pequenas (SCLC) e células de cancro do pulmão não-pequenas (NSCLC). Foi, ainda, demonstrada uma maior eficácia do tratamento de NSCLC quimioterapia-resistentes com etoposido graças à interferência das Bcl-2, uma taxa de apoptose duas vezes superior nas SCLC e cinco vezes superior nas NSCLC (valores estimados por citometria de fluxo), bem como um aumento da produção de ROS [53].

Por fim, *Moon* testou a eficácia foto-térmica *in vitro* e *in vivo* de PEG-SWCNT com 50-300 nm de comprimento e 2-5 nm de diâmetro usando radiação NIR com absorção em

comprimentos de onda na ordem dos 780 a 2500 nm. Com base nos estudos *in vitro*, foram conduzidos testes *in vivo* em ratos pelados, injetados com células tumorais humanas do carcinoma epidermóide da boca, nos quais se demonstrou elevada supressão tumoral, como demonstrado na **Figura 6**. Através desta, podemos observar que os PEG-SWCNT aliados à irradiação com NIR provocam uma maior redução do volume do tumor formado, enquanto que os PEG-SWCNT não apresentaram efeito e os quantum-dots de PbS com NIR apresentaram eficácia muito reduzida [54].

Estes estudos levam à conclusão de que a funcionalização de diferentes CNT com PEG é vantajosa não só para uma maior eficácia de libertação e maior concentração do fármaco nos tecidos-alvo em comparação com o fármaco livre, como na redução da toxicidade dos CNT [55].



**Figura 6** – Comparação do efeito fototérmico por NIR dos PEG-SWCNT, quantum-dots de PbS e dos PEG-SWCNT [54].

### III.V.II - ÁCIDO FÓLICO

O FA, ou folato, também conhecido como vitamina B9, é um ácido pteroil-L-glutâmico hidrossolúvel com elevada afinidade para os recetores folato, super-expressos nas células cancerígenas. Atuam como um ligando de pequenas dimensões, facilmente disponível e de baixo custo. Os recetores folato são glicoproteínas conjugadas de glicosil-fosfatidilinositol de 38 kD com baixa expressão em células saudáveis, mas presentes em grande abundância nas células cancerígenas, aumentando as suas necessidades de consumo de folato. Nanopartículas conjugadas com folato através de uma interação covalente com o grupo COOH são, portanto, usadas especialmente para vectorização dos tecidos tumorais [56].

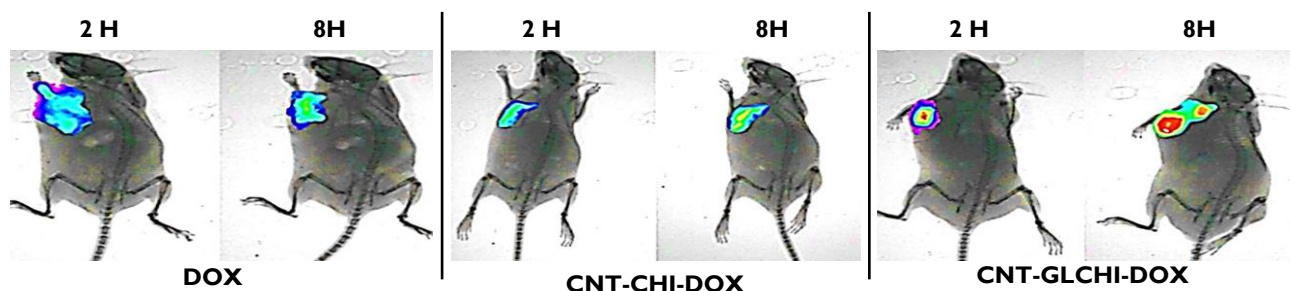
Num estudo realizado por *Shao et al.*, SWCNT conjugados com lípidos e folato, carregados com taxol (SWCNT-TAXOL-lipid-FA) foram testados. Aplicados *in vitro* em linhas celulares de cancro da mama MCF-7 após 48h de incubação, apresentaram

citotoxicidade na ordem dos  $78,5 \pm 2,1\%$  comparando com o fármaco livre, que apresentou valores na ordem dos  $25,1 \pm 0,0\%$ . Já em estudos *in vivo*, conduzidos em ratos atímicos (sujeitos a remoção prévia do timo, não produzindo células T) inoculados com tumores MCF-7, observou-se uma inibição tumoral na ordem dos  $9,0\%$  pelo taxol livre, enquanto que os SWCNT-TAXOL-lipid-FA apresentaram valores na ordem dos  $23,5\%$  [57].

### III.V.III - QUITOSANO

O CHI é um oligossacarídeo não-tóxico, biodegradável e biocompatível, constituído por N-acetil-D-glucosamina e b(1,4)-D-glucosamina, obtido através da desacetilação da quitina. A sua utilização permite um aumento da biocompatibilidade, degradabilidade, capacidade de encapsulação e ligação aos fármacos e da regulação da toxicidade relativa, já que o tempo de degradação pode ser alterado ao ajustar a razão entre o CHI e o tripolifosfato de sódio. O CHI é adicionado em torno dos CNT através de interações hidrofóbicas e eletrostáticas [58], [59].

Para provar as vantagens da sua utilização, *Qi et al.* desenvolveram uma nanoformulação tendo como alvo células de carcinoma hepático e acumulação tumoral utilizando CNT oxidados, envolvidos em CHI glicosilado e carregados com DOX (CNT-CHI-DOX). A libertação *in vitro* após 24h de incubação foi de 30% e 55% para a DOX livre e para o CNT-CHI-DOX, respetivamente. No estudo *in vivo*, foi demonstrada uma maior acumulação de fármaco no tumor nos casos onde se usaram CNT conjugados com CHI e ainda maior concentração no caso de CHI glicosilado, como representado na **Figura 7** [60].



**Figura 7** – CNT funcionalizados com CHI glicosilado, tendo como alvo células do carcinoma hepático [60].

### III.V.IV - APTÂMEROS

Aptâmeros são cadeias curtas artificiais de 20 a 80 oligonucleotídeos de variadas conformações, adaptadas de acordo com o alvo molecular desejado. Devido a esta funcionalidade, permitem uma ação de ligando nas células alvo, com elevada afinidade e seletividade, sendo usados como agentes de diagnóstico do cancro e em testes clínicos de fase II para o tratamento do carcinoma renal e leucemia mielóide, em associação com agentes terapêuticos específicos [61].

Num estudo *in vitro* conduzido por *Taghdishi et al.*, foi preparado um sistema de transporte de daunorrubicina (DAU) a células T da leucemia linfoblástica, MOLT-4, recorrendo a SWCNT conjugados com o aptâmero SGC8C. Este aptâmero é específico para um biomarcador proteico característico das células MOLT-4, a tirosina cinase-7, identificando estas células com elevada afinidade ( $K_d = 1 \text{ nM}$ ). Foi, então, estudada a viabilidade celular de várias linhas celulares, sendo que as amostras tratadas com SWCNT-DAU-SGC8C apresentaram uma diferença bastante significativa, contrastando os valores de internalização celular de  $38,1 \pm 5,4\%$  para  $93,9 \pm 3,4\%$ . Provou-se, assim, que o transporte e libertação do fármaco DAU é possível através da funcionalização de SWCNT com aptâmeros, potenciando a eficácia do agente farmacológico e a redução da sua toxicidade não específica. Através deste estudo *in vitro* foram obtidos resultados bastante promissores, revelando um grande potencial desta estratégia para aplicações *in vivo* no futuro das terapêuticas anticancerígenas [62].

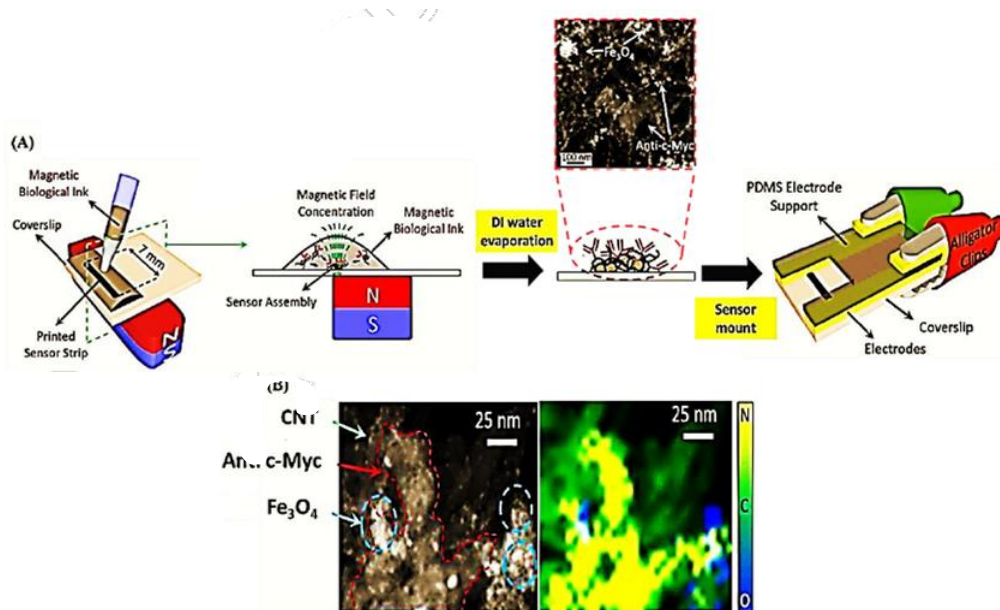
### III.V.V - ANTICORPOS

Os anticorpos são moléculas de proteínas primárias com elevada afinidade para determinados antígenos presentes na membrana das células. As células tumorais distinguem-se por vários fatores, um dos quais é a presença de antígenos específicos, os quais se ligam a estes anticorpos, exercendo o seu efeito de potencial alvo. A principal vantagem da aplicação de anticorpos é a existência de dois domínios de ligação ao antígeno, apresentando elevada especificidade para o antígeno em questão [63]. Assim, a funcionalização de CNT com anticorpos é uma potencial estratégia para criar novos biossensores mais acessíveis [64].

Para representar a sua utilidade como biossensores, *Fattah et al.* conduziram uma investigação utilizando CNT ligados a um corante e duplamente funcionalizados. Em primeiro lugar, os CNT foram modificados através da conjugação de nanopartículas magnéticas (MNP) seguida pela conjugação com anticorpos monoclonais anti-C-Myc, que têm especial afinidade



para a proteína Myc, super-expressa em células cancerígenas [65]. Quando adicionado, o corante auto-organiza-se mediante a aplicação de um campo magnético externo na faixa do sensor condutor, medindo assim a queda de corrente à medida que ocorre a interação com as amostras que contém o antigénio, como representado na **Figura 8**. Esta técnica provou-se sensível ao ponto de detetar amostras com concentrações pM de Myc em cerca de 60 segundos. Deste modo, foi descoberto um corante que requer menos de 5 minutos de preparação, apresenta estimativas semi-quantitativas na ordem dos pM e prova como este tipo de biossensores pode ser modificado de modo a detetar antigénios específicos [65].



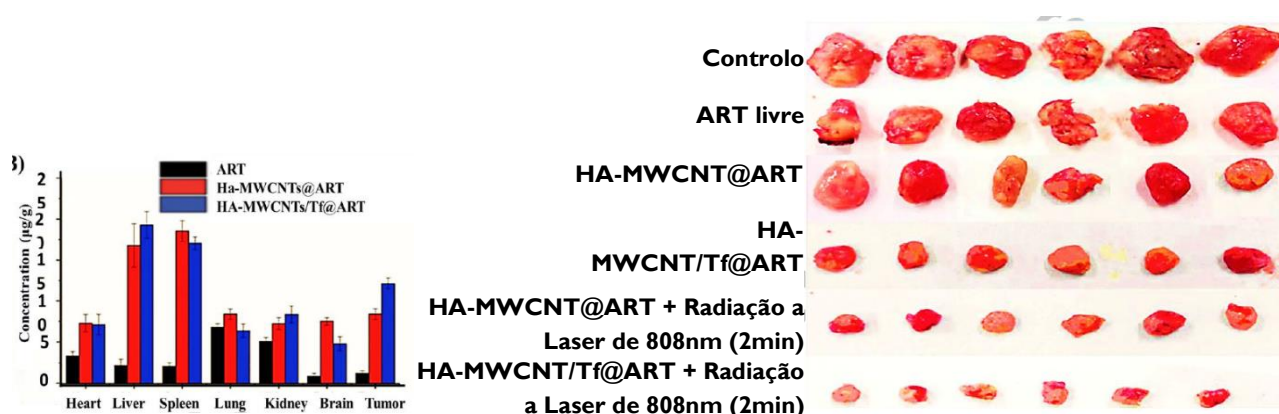
**Figura 8** – Biossensor de CNT duplamente funcionalizados com MNP e anticorpos monoclonais anti-C-Myc; a) Ilustração esquemática da preparação da faixa do sensor com os CNT funcionalizados; b) imagens obtidas por microscopia eletrónica de transmissão e varrimento (STEM) e espectroscopia de perda de energia de eletrões (EEL), respetivamente, onde é apresentada a presença dos elementos de C, N e O, sendo que a presença de N indica a imobilização dos anticorpos anti-C-Myc [65].

### III.V.VI - TRANSFERRINA

A Tf trata-se de uma glicoproteína constituída por cerca de 679 aminoácidos, usada na nanotecnologia como ligando de recetores alvo no cancro [66]. O seu principal papel a nível fisiológico é o transporte de ferro pelo organismo através da formação de complexos [67]. A elevada concentração de ferro é considerada um pré-requisito para as células cancerígenas, já que este desempenha um papel vital no seu crescimento e proliferação acelerados, sendo claramente observada a regulação positiva dos recetores Tf em diferentes tipos de cancro, tais como o cancro do cérebro, mama, pulmão, colorretal e próstata [68], [69]. Assim, o uso

da Tf como substrato primário para os recetores Tf apresenta um grande potencial no seu uso como ligando para a distribuição de agentes terapêuticos a diferentes tipos de células cancerígenas [70].

Zhang *et al.* conduziu um estudo relativo à utilização da Tf na funcionalização de CNT. Neste, MWCNT carregados com artemisina (ART) e funcionalizados com ácido hialurónico (HA) e Tf, foram testados com uma linha celular cancerígena do tipo S180 em ratos. Este complexo demonstrou maior atividade anti tumoral e maior bioacumulação, em comparação com a ART livre. O complexo HA-MWCNT/Tf@ART também apresentou maior redução de volume tumoral quando comparado com os restantes grupos teste, como é apresentado na **Figura 9**. Este efeito resultou não só da libertação vetorizada da ART nos tecidos alvo, como também do efeito foto térmico exercido pelos CNT após absorção de radiação NIR. Deste modo, prova-se o grande potencial que a elevada capacidade de ligação a fármacos e extensa área de superfície dos CNT, aliada à conjugação com ligandos de recetores alvo como a transferrina, apresentam nas terapêuticas anticancerígenas [71].



**Figura 9** – MWCNT carregados com ART e conjugados com HA e Tf para “targeting” tumoral; a) Biodistribuição de ART livre, HA-MWCNT@ART e HA-MWCNT/Tf@ART após 2 horas; b) Representação dos tumores excisados após injeção dos diferentes tratamentos em teste [71].

### III.VI - INTERNALIZAÇÃO CELULAR

A maior captação celular dos CNT, apesar de confirmado por numerosos estudos, está ainda longe de ser compreendido. *Per se*, os CNT não apresentam qualquer afinidade para com qualquer tipo de células. Para todos os nanossistemas serem internalizados, especialmente pelas células tumorais, têm de sofrer um processo de funcionalização específica. O que diferencia os SWCNT e MWCNT é a sua estrutura, que os torna especialmente aptos para uma fácil conjugação com ligandos específicos e para transportar e distribuir agentes terapêuticos [43]. Concluído este processo, os CNT possuem as

caraterísticas necessárias para ser internalizados pelas células através de três vias principais: via dependente de endocitose mediada por recetor, não-mediada por recetor e via independente de endocitose [72], [73].

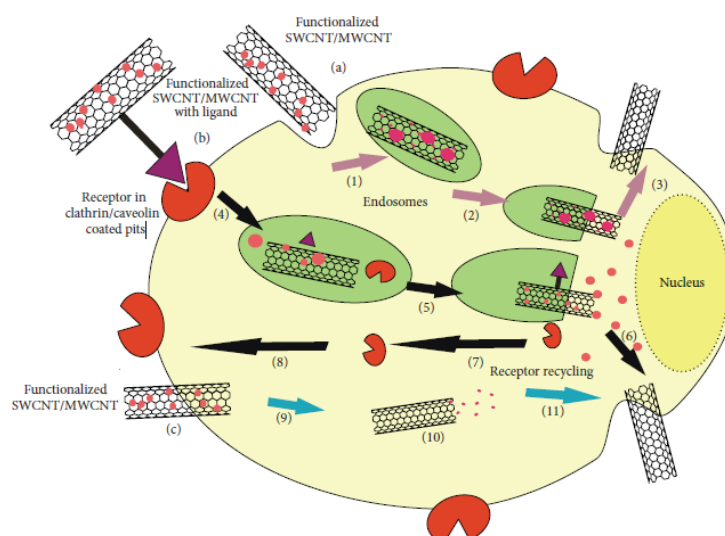
A via dependente de endocitose, ou ativa, consiste num processo dependente de energia onde ocorre a invaginação da membrana celular, envolvendo o complexo dos CNT, com a formação de uma vesícula lançada no citoplasma da célula [74]. No caso da endocitose mediada por recetor, o complexo CNT-fármaco-ligando adere ao recetor transmembranar complementar, entrando na célula como complexo recetor-ligando-fármaco-CNT no interior de uma vesícula revestida de clatrina, denominada endossoma. Após a internalização, a queda do valor de pH do meio provoca a dissociação do complexo. Enquanto os recetores livres são reciclados, os endossomas contendo os CNT-fármaco fundem com os lisossomas presentes no citoplasma da célula, libertando o fármaco na sua forma livre, pela ação de lisozimas [75]. Temos, como exemplo, a interação do folato com os seus recetores específicos, como referido anteriormente. No caso da endocitose não-mediada por recetor, uma pequena porção da membrana plasmática envolve os complexos CNT-fármaco, formando o endossoma, sendo um processo guiado não só pelas propriedades intrínsecas dos CNT e pelas propriedades das moléculas conjugadas. Por fim, o mesmo processo ocorre pela ação dos lisossomas, ocorrendo a libertação do fármaco, que se difunde pelo citoplasma e alcança o compartimento nuclear, induzindo a morte celular [50], [75].

A via independente de endocitose, ou passiva, ao contrário da anterior, consiste na translocação direta do CNT através da membrana plasmática sem consumo energético, atuando como uma “nano agulha”. Engloba processos como a difusão passiva, não causando qualquer tipo de danos na célula [74]. Contudo, este mecanismo de internalização dos CNT é ainda pouco compreendido. Alguns estudos, usando microscopia eletrónica, sugerem um mecanismo constituído por três passos: primeiro, a adesão dos CNT à superfície externa da membrana fosfolipídica; segundo, penetração com orientação perpendicular à membrana; terceiro, deslizamento através da bicamada lipídica. Consta de uma internalização espontânea mediada apenas pela membrana celular, pelas respetivas interações hidrofílicas e hidrofóbicas e pela diferença de potencial [50], [76].

Curiosamente, apesar do esforço dedicado à caracterização das vias de internalização dos CNT, não há relatos que sugiram a preferência entre o mecanismo de transporte passivo e a endocitose para aplicações na biomedicina. Apenas se sabe que este processo é altamente dependente do comprimento dos CNT, sendo que os nanotubos com

comprimento igual ou inferior a 1  $\mu\text{m}$  são muito mais facilmente internalizados pela célula, ocorrendo maioritariamente pela via independente de endocitose. No entanto, pode afirmar-se que ambas as vias suportam as capacidades versáteis dos CNT para atravessar membranas biológicas [50].

Após a passagem dos CNT através da membrana celular, estes podem acumular-se em vários compartimentos sub-celulares, tais como o citoplasma, endossomas, região peri nuclear, mitocôndria ou o núcleo, dependendo das suas características. Outros mecanismos de eliminação celular possíveis são a exocitose e a biodegradação por ação enzimática. A descrição deste processo é ainda insuficiente, mas crucial para a confirmação do potencial de bio eliminação dos CNT e para a diminuição da sua toxicidade [50].



**Figura 10** – Vias de internalização celular de CNT; a) Endocitose não-mediada por recetor: (1) a membrana envolve os CNT funcionalizados, (2) internalização dos CNT contendo o fármaco e (3) libertação do fármaco; b) Endocitose mediada por recetor: (4) a membrana envolve os conjugados CNT-recetor, formando um endossoma que é, então, internalizado, (5) libertação do fármaco e (6, 7, 8) regeneração do recetor; c) Via independente de endocitose: (9) penetração direta dos CNT carregados com o fármaco e (10) libertação do fármaco [43].

### III.VII - CASOS EM ESTUDO

Há muito tempo que as linhas celulares cancerígenas constituem um modelo biológico acessível e viável para a investigação do cancro e da eficácia dos agentes anticancerígenos. Em crescimento, os estudos em torno da utilização de CNT modificados ainda não se encontram na fase de ensaios clínicos, mas são já reconhecidos pelo seu potencial no tratamento e diagnóstico do cancro através de estudos *in vitro* e *in vivo* em animais, representando uma nova classe de veículos para a distribuição orientada de agentes quimio-terapêuticos e de agentes de diagnóstico. Alguns exemplos são apresentados na **Tabela 3** [77].

**Tabela 3 – Aplicações de CNT no Tratamento do Cancro em Estudo.**

<b>Tipo de Cancro</b>	<b>Funcionalização</b>	<b>Molécula Bioativa</b>	<b>Linhas Celulares</b>	<b>Resultados</b>
<b>Cérebro</b>	MWCNT + Ácido Poliacrílico + FA	DOX	Células humanas U87 de glioblastoma	Capacidade de dupla vectorização pelos MWCNT magnéticos, demonstrando maior citotoxicidade, em comparação com a DOX livre [78].
<b>Mama</b>	SWCNT + PEG	PTX	Células do cancro da mama murínicas 4T1	SWCNT-PTX permitiu uma maior eficácia na supressão do crescimento tumoral <i>in vivo</i> , sem causar efeitos tóxicos nos órgãos saudáveis [79].
	SWCNT + Anticorpos IgY anti-HER2 de galinha	-	Células SK-BR-3 HER-2-positivas e células MCF-7 HER-2-negativas	Sinal Raman proveniente das células SK-BR-3 tratadas com o complexo muito mais intenso do que das células controlo. Observação da destruição seletiva das células SK-BR-3 HER-2 positivas e não das células MCF-7 HER-2 negativas [80].
<b>Colorretal</b>	SWCNT + Fluoresceína + Albumina Bovina Sérica	DOX	Células do adenocarcinoma colorretal humano WiDr	O complexo triplamente funcionalizado permitiu uma eficiente libertação intracelular específica de DOX [81].
<b>Fígado</b>	SWCNT + CHI + FA	DOX	Células do carcinoma hepatocelular SMMC-7721	Os SWCNTs modificados com CHI e FA não só permitiram a morte celular das células cancerígenas, como apresentaram muito menos toxicidade em comparação com a DOX livre [82].
<b>Colo do Útero</b>	SWCNT + Alginato de Sódio + CHI	DOX	Células HeLa	A DOX libertada pelos CNT modificados apresentou danos no DNA das células, inibindo a sua proliferação [83].
<b>Próstata</b>	SWCNT + Polietilenimina (PEI) + Peptídeo Asn-Gly-Arg (NGR)	SiRNA	Células PC-3 do carcinoma humano da próstata	Através de hipertermia, o complexo SWCNT-PEI-SiRNA-NGR induziu a apoptose e supressão da proliferação das células PC-3, sem causar qualquer toxicidade [84].

#### **IV - PERSPETIVAS FUTURAS**

Recentemente, a nanotecnologia tem tido especial atenção e interesse por parte da biologia e medicina. No momento da descoberta dos CNT, há quase 30 anos, iniciou-se então uma nova era nestas áreas investigacionais, oferecendo um conjunto de propriedades incríveis, com aplicações eletroquímicas e em quase todo o campo da investigação biomédica.

Ainda que a sua funcionalização seja benéfica para o aumento da sua biocompatibilidade e diminuição da sua citotoxicidade, é necessária uma maior compreensão dos CNT a nível toxicológico e ao nível dos mecanismos de internalização e excreção nos sistemas biológicos, dada a sua natureza não biodegradável.

Os CNT proporcionam vantagens vitais em áreas como o diagnóstico e terapêutica do cancro, ultrapassando obstáculos comuns às técnicas tradicionais ainda hoje usadas. Desde a possibilidade de diagnóstico como biossensores, à distribuição vetorizada de agentes quimioterapêuticos e imunoterapêuticos, às propriedades foto-térmicas, à capacidade de maior retenção nos tecidos tumorais e de passagem de barreiras biológicas, maior segurança e biocompatibilidade, menor toxicidade e, ultimamente, menor custo, estes nanossistemas apresentam um potencial enorme para a terapia oncológica. Constituem uma possibilidade de revolucionar e substituir todos os sistemas convencionais de diagnóstico, deteção biomolecular e tratamento usados correntemente, uma vez esclarecidas as questões relativamente à sua segurança.

Todas estas abordagens em aplicações biomédicas sugerem que a introdução de CNT no *teranóstico* do cancro constitui a realidade de um futuro próximo, permitindo não só a deteção precoce da doença e um tratamento mais eficiente e seguro como, fundamentalmente, o aumento da qualidade de vida do paciente durante o tratamento e o aumento da taxa de sobrevivência a uma doença tão implacável como o cancro.

## BIBLIOGRAFIA

- [1] “SWOT Analysis - How to Develop a Strategy for Success,” [https://www.mindtools.com/pages/article/newTMC\\_05.htm](https://www.mindtools.com/pages/article/newTMC_05.htm). [Acedido em 20 fevereiro 2020].
- [2] “Valormed - Quem Somos,” Valormed, <http://www.valormed.pt/intro/home>. [Acedido em 20 fevereiro 2020].
- [3] “Cartão Saúde - Como Funciona,” <https://www.farmaciasportuguesas.pt/sauda/como-funciona>. [Acedido em 1 fevereiro 2020].
- [4] “Prontuário Terapêutico do Infarmed - Loflazepato de Etilo,” <http://m.infarmed.pt/prontuario/Indice.aspx?t=m&c=52&m=200>. [Acedido em 1 fevereiro 2020].
- [5] “Resumo das Características do Medicamento - Fluimucil 4% Solução Oral,” [http://app7.infarmed.pt/infomed/download\\_ficheiro.php?med\\_id=36370&tipo\\_doc=rcm](http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=36370&tipo_doc=rcm). [Acedido em 1 fevereiro 2020].
- [6] “Resumo das Características do Medicamento - Zovirax Duo Creme,” [http://app7.infarmed.pt/infomed/download\\_ficheiro.php?med\\_id=50924&tipo\\_doc=rcm](http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=50924&tipo_doc=rcm). [Acedido em 1 fevereiro 2020].
- [7] Liga Portuguesa Contra o Cancro, “O que é o Cancro,” <https://www.ligacontracancro.pt/o-que-e-o-cancro/>. [Acedido em 20 dezembro 2019].
- [8] Cancer Research UK, “What Is Cancer,”: <https://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/what-is-cancer>. [Acedido em 20 dezembro 2019].
- [9] World Health Organization, “Cancer,” [https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1). [Acedido em 20 dezembro 2019].
- [10] National Cancer Institute, “About Cancer,” <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>. [Acedido em 20 dezembro 2020].
- [11] World Health Organization, “Guide to Cancer Early Diagnosis,” 2017. [Online]. Available: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254500/9789241511940-eng.pdf;jsessionid=B623D761359224F34D94628653B1B380?sequence=1>. [Acedido em 20 dezembro 2019].
- [12] American Cancer Society, “Treatments and Side Effects,” <https://www.cancer.org/treatment/treatments-and-side-effects/treatment-types.html>. [Acedido em 20 dezembro 2019].
- [13] Agência para a Investigação do Cancro da Organização Mundial de Saúde, “Cancro: Os números que já são uma Realidade,” <https://observador.pt/2019/05/14/cancro-os-numeros-que-ja-sao-uma-realidade/>. [Acedido em 21 dezembro 2019].
- [14] Z. P. R. M. L. JOEL PARDO, - “Cancer Targeting and Drug Delivery Using Carbon-

Based Quantum Dots and Nanotubes,” 10 fevereiro 2018.

- [15] P. S. ALBERTINA ARIËN, - “History: Potential, Challenges, and Future Development in Nanopharmaceutical Research and Industry,” dezembro 2016.
- [16] A. O. A. K. M. V. D. V. JEAN CORNIER, - Pharmaceutical Nanotechnology: Innovation and Production, 2016.
- [17] K. K. JAIN, - The Handbook of Nanomedicine, 2008.
- [18] R. A. FREITAS, - “What is Nanomedicine?,” 23 novembro 2004.
- [19] S. RANGANATHAN, A. MADANMOHAN, G. KESAVAN, Y. BASKAR, R. KRISHNAMOORTHY, D. SANTOSHAM, S. PONRAJU, G. RAYALA E VENKATRAMAN., - Nanomedicine: Towards Development of Patient Friendly Drug-Delivery Systems for Oncological Applications, 2012.
- [20] R. SIBI, K. SARTAJ, C. RAMESH, K. K. KAVINDRA, A. K. MOHAMMAD, G. NEHA, R. B. C. D. JANNE E K. DHURUV, - “Specific Targeting Cancer Cells with Nanoparticles and Drug Delivery in Cancer Therapy,” 2019.
- [21] B. HOSNEDLOVA, M. KEPINSKA, C. FERNANDEZ, Q. PENG, B. RUTTKAY-NEDECKY, H. MILNEROWICZ E H. KIZEK, - “Carbon Nanomaterials for Targeted Cancer Therapy Drugs: A Critical Review,” 2019.
- [22] S. IJIMA, - “Helical Microtubes of Graphitic Carbon,” *Nature*, 1991.
- [23] T. SALIEV, - “The Advances in Biomedical Applications of Carbon Nanotubes,” 2019.
- [24] P. M. COSTA, M. BOURGOGNON, J. WANG E K. AL-JAMAL, - “Functionalised Carbon Nanotubes: From Intracellular Uptake and Cell-related Toxicity to Systemic Brain Delivery,” 2016.
- [25] Z. CHEN, A. ZHANG, X. WANG, Y. F. JING ZHU, H. YU E Z. YANG., - “The Advances of Carbon Nanotubes in Cancer Diagnostics and Therapeutics,” 2017.
- [26] MAHAJAN S, A. PATHARKAR, K. KUCHE, R. MAHESGWARI, P. DEB, K. KALIA E R. TEKADE, - “Functionalized Carbon Nanotubes as Emerging Delivery System for the Treatment of Cancer,” 2018.
- [27] A. PEREIRA, M. AGUIAR, A. KISNER, D. MACEDO E L. KUBOTA, - “Amperometric Biosensor for Lactate based on Lactate Dehydrogenase and Meldola Blue coimmobilized on Multi-Wall Carbon-Nanotube,” 2007.
- [28] S. MERUM, J. B. VELURU E R. SEERAM, - “Functionalized Carbon Nanotubes in Bio-World: Applications, Limitations and Future Directions,” 2017.
- [29] H. CAI, X. CAO, Y. JIANG, P. HE E Y. FANG, - “Carbon Nanotube-Enhanced Electrochemical DNA Biosensor for DNA Hybridization Detection,” 2003.
- [30] D. OZKAN-ARIKSOYSAL, Y. KAYRAN, F. YILMAZ, A. CIUCU, I. DAVID, V. DAVID, M. HOSGOR-LIMONCU E M. OZSOZ, - “DNA-Wrapped Multi-Walled Carbon



Nanotube modified Electrochemical Biosensor for the Detection of Escherichia coli from real samples,” 2017.

- [31] Y. CHEN, S. GUO, M. ZHAO, P. ZHANG, Z. XIN, J. TAO E L. BAI, “CHEN, Y.H.; GUO, S.L.; ZHAO, M.; ZHANG, P.; XIN, Z.L.; TAO, J.; BAI, L.J. - Amperometric DNA Biosensor for Mucobacterium tuberculosis Detection using Flower-like Carbon Nanotubes-Polyaniline Nanohybrid and Enzyme-Assisted Signal Amplification Strategy,” 2018.
- [32] S. CHOU, M. DRESSELHAUS, E. HUMPHREYS, S. CHUNG, J. VANDERSANDE, Y. CIANG, A. SWAN, M. UNLU E B. B. GOLDBERG, - “Raman Analysis of Carbon Nanotube Bundles or Bio-electronic Applications,” 2003.
- [33] Y. YAN, R. WANG, Y. HU, R. SUN, T. SONG, X. SHI E S. YIN, - “Stacking of Doxorubicin on Folic Acid-Targeted Multiwalled Carbon Nanotubes for In Vivo Chemotherapy of Tumors,” 2018.
- [34] C. L. LAY, H. Q. LIU, H. R. TAN E Y. LIU., - “Delivery of Paclitaxel by Physically Loading onto Poly(ethylene glycol) (PEG)-Graft Carbon Nanotubes for Potent Cancer Therapeutics,” *Nanotechnology*, vol. 21, 2010.
- [35] S. B. FIELD E N. M. BLEEHEN, - “Hyperthermia in the Treatment of Cancer,” *Cancer Treatment Reviews*, vol. 6, 1979.
- [36] S. V. TORTI, F. BYRNE, O. WHELAN, N. LEVI, B. UCER, M. SCHMID, F. M. TORTI, S. AKMAN, J. LIU, P. M. AJAYAN, O. NALAMASU E D. L. CARROLL, - “Thermal Ablation Therapeutics based on CNx Multi-Walled Nanotubes,” *Int. J. Nanomedicine*, 2007.
- [37] N. S. KAM, M.O’CONNELL, J. A.WISDOM E H.DAI., - “Carbon Nanotubes as Multifunctional Biological Transporters and Near Infrared Agents for Selective Cancer Cell Destruction,” 2005.
- [38] X. HUANG, I. H. EL-SAYED, W. QIAN E M. A. EL-SAYED, “Cancer Cell Imaging and Photothermal Therapy in the Nearinfrared Region by using Gold Nanorods,” *Journal of the American Chemical Society*, vol. 128, 2006.
- [39] A. M. GOBIN, M. H. LEE, N. J. HALAS, W. D. JAMES, R. A. DREZEK E J. L. WEST, “Near. Infrared Resonant Nanoshells for Combined Optical Imaging and Photothermal Cancer Therapy,” *Nano Letters*, vol. 7, 2007.
- [40] B. KANG, D. YU, Y. DAI, S. CHANG, D. CHEN E Y. DING, - “Cancer Cell Targeting and Photoacoustin Therapy using Carbon Nanotubes as "Bomb" Agents,” 2009.
- [41] J. MENG, J. DUAN, H. KONG, L. LI, C. WANG, S. XIE, S. CHEN, N. GU, H. XU E X. YANG, - “Carbon Nanotubes conjugated to Tumor Lysate Protein enhance the Efficacy of an Antitumor Immunotherapy,” *Small*, vol. 4, 2008.
- [42] C. VILLA, T. DAO, I. AHEARN, N. FEHRENBACHER, E. CASEY, D. REY, T. KORONTSVIT, V. ZAKHALEVA, C. BATT, M. PHILIPS E D. SCHEINBERG, - “Single-walled carbon nanotubes deliver peptide antigen into dendritic cells and enhance IgG

responses to tumor-associated antigens,” *ACS Nano*, vol. 5, 2011.

- [43] V. RASTOGI, P. YADAV, S. BHATTACHARYA, A. MISHRA, N. VERMA, A. VERMA E J. PANDIT, - “Carbon Nanotubes: An emerging Drug Carrier for Targeting Cancer Cells,” 2014.
- [44] A. VENKATARAMAN, E. AMADI, Y. CHEN E C. PAPADOPOULOS, - “Carbon Nanotube Assembly and Integration for Applications,” *Nanoscale Research Letters*, dezembro 2019.
- [45] P. SUKWONG, K. SOMKID, S. KONGSENG, D. PISSUWAN E K. YOOVATHAWORN, - “Respiratory Tract Toxicity of Titanium Dioxide Nanoparticles and Multi-Walled Carbon Nanotubes on Mice after Intranasal Exposure,” *Micro & Nano Letters*, vol. 11, 2016.
- [46] G. QU, Y. BAI, Y. ZHANG, Q. JIA, W. ZHANG E B. YAN, - “The effect of Multiwalled Carbon Nanotube Agglomeration on their Accumulation and Damage to Organz in Mice,” 2009.
- [47] S. T. YANG, X. WANG, G. JIA, Y. GU, T. WANG, H. NIE, C. GE E H. L. Y. WANG, “Long-term Accumulation and Low Toxicity of Single-Walled Carbon Nanotubes in Intravenously Exposed Mice,” *Toxicology Letters*, 2008.
- [48] K. KUCHE, R. MAHESHWARI, V. TAMBE, K. K. MAK, H. JOGI, N. RAVAL, M. PICHKA E TEKADE., “Carbon Nanotubes based Advanced Dermal Therapeutics: Current trends and Future Potential,” 2018.
- [49] N. RAWAT, SANDHYA, K. SUBAHARAN, M. EWARAMOORTHY E G. KAUL, “Comparative in vivo Toxicity assesement places Multiwalled Carbon Nanotubes at a Higher lever than Mesoporous Silica Nanoparticles,” 2017.
- [50] P. COSTA, M. BOURGOGNON, J. WANG E K. AL-JAMAL, - “Functionalised Carbon Nanotubes: From Intracellular Uptake and Cell Related Toxicity to Systemic Brain Delivery,” 2016.
- [51] D. MAITI I, X. TONG, X. MOU E K. YANG, - “Carbon-based Nanomaterials for Biomedical Applications: A Recent Study,” 2019.
- [52] X. ZHAO, K. TIAN, T. ZHOU, X. JIA, J. LI E P. LIU, - “PEGylated Multiwalled Carbon Nanotubes as Versatyle Vector for Tumor-Speciic Intracellular Triggered Release with Enhanced Anti-Cancer Efficiency: Optimization of lenght and PEGylation degree,” 2018.
- [53] V. KAFIL E Y. OMIDI, - “Cytotoxic impacts of linear and branched Polyethylenimine Nanostructures in A431 Cells,” 2011.
- [54] H. MOON, S. LEE E H. CHOI, - “In vivo Near-Infrared mediated Tumor Destruction by Photothermal Effect of Carbon Nanotubes,” 2009.
- [55] M. H. D. E. P. JAFARI, - “Synthesizing and Characterizing Functionalized Short Multiwall Carbon Nanotubes with Folate, Magnetite and Polyethylene Glycol as Multitargeted

Nanocarrier of Anti-cancer Drugs,” *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2016.

- [56] S. BANO, M. AFZAL, M. WARAICH, ALAMGIR E N. S. K., - “Paclitaxel loaded magnetic nanocomposites with folate modified chitosan/carboxymethyl surface; a vehicle for imaging and targeted drug delivery,” *International Journal of Pharmaceutics*, 2016.
- [57] W. SHAO, A. PAUL, B. ZHAO, C. LEE, L. RODES E S. PRAKASH, - “Carbon Nanotube Lipid Drug Approach for Targeted Delivery of a Chemotherapy Drug in a Human Breast Cancer Xenograft Animal Model,” 2013.
- [58] R. S. G. S. S. B. S. P. B. K. B. M. M. SINGH, - “Chitosan-folate decorated Carbon Nanotubes for site specific Lung Cancer Delivery,” 2017.
- [59] M. KHAN, M. ZAFARYAB, S. MEHDI, J. QUADRI E M. RIZVI, - “Characterization of Carboplatin Loaded Chitosan Nanoparticles for the Chemotherapy against Breast Cancer in vitro studies,” 2017.
- [60] X. QI, Y. RUI, Y. FAN, H. CHEN, N. MA E Z. WU, - “Galactosylated Chitosan-Grafted Multiwall Carbon Nanotubes for pH-dependent sustained release and Hepatic Tumor-Targeted Delivery of Doxorubicin in vivo,” 2015.
- [61] S. KHOEE E S. KHEZRIAN, - “Applications of Aptamers for the diagnosis and therapy of different disases,” *Nanostructures for Novel Therapy - Elsevier*, 2017.
- [62] S. TAGHDISI, P. LAVAEE, M. RAMEZANI E K. ABNOUS, - “Reversible targeting and Controlled Release Delivery of Daunorubicin to Cancer Cells by Aptamer-wrapped Carbon Nanotubes,” *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2011.
- [63] A. ABBAS, A. LICHTMAN E S. PILLAI, - *Cellular and Molecular Immunology*, Elsevier Health Sciences, 2014.
- [64] D. LI, C. WANG, G. SUN, S. SENAPATI E H. C. CHANG, - “A Shear-Enhanced CNT-Assembly Nanosensor Platform for Ultra-Sensitive and Selective Protein Detection,” 2017.
- [65] A. FATTAH, A. ABDALLA, S. MISHRIKI, E. MELECA, F. GENG, S. GHOSH E I. PURI, “Magnetic Printing of a Biosensor: Inexpensive Rapid Sensing To Detect Picomolar Amounts of Antigen with Antibody-Functionalized Carbon Nanotubes,” 2017.
- [66] K. DAS, A. MADHUSOODAN, B. MILI, A. KUMAR, A. SAXENA, K. KUMAR, M. SARKAR, P. SINGH, S. SRIVASTAVA E S. BAG, - “Functionalized Carbon Nanotubes as suitable scaffold materials for proliferation and differentiation of Canine Mesenchymal Stem Cells,” 2017.
- [67] K. GKOUVATSOS, G. PAPANIKOLAOU E K. PANTOPOULOS, - “Regulation od Iron Transport and rge role of Transferrin,” 2012.
- [68] A. CALZOLARI, I. OLIVIERO, S. DEAGLIO, G. MARIANI, M. BIFFONI, N. SPOSI, F. MALAVASI, C. PESCHLE E U. TESTA, - “Transferrin Receptor 2 in frequently expressed in Human Cancer Cell Lines,” 2007.

- [69] D. POOJA, H. KULHARI, L. TUNKI, S. CHINDE, M. KUNCHA, P. GROVER, S. RACHAMALLA E R. SISTLA, - “Nanomedicines for Targeted Delivery of Etoposide to Non-Small Cell Lung Cancer using Transferrin functionalized Nanoparticles,” 2015.
- [70] R. SINGH, G. SHARMA, S. SINGH, S. PATNE, B. PANDEY, B. KOCH E M. MUTHU, “Effects of Transferrin Conjugated Multi-Walled Carbon Nanotubes in Lung Cancer Delivery,” *Materials Science and Engineering*, 2016.
- [71] M. ZHANG, W. WANG, F. WU, P. YUAN, C. CHI E N. ZHOU, - “Magnetic and Fluorescent Carbon Nanotubes for Dual Modal Imaging and Photothermal and Chemotherapy of Cancer in Living Mice,” *Carbon 123*, 2017.
- [72] C. FISGER, A. E. RIDER, Z. J. HAN, S. KUMAR, I. LEVCHENKO E K. OSTRIKOV, “Applications and Nanotoxicity of Carbon Nanotubes and Graphene in Biomedicine,” *Journal of Nanomaterials*, vol. 2012, 2012.
- [73] K. KOSTARELOS, A. BIANCO E L. LACERDA, “Translocation Mechanisms of Chemically Functionalised Carbon Nanotubes across Plasma Membranes,” 2012.
- [74] Q. MU, D. L. BROUGHTON E B. YAN, - “Endosomal leakage and Nuclear Translocation of Multiwalled Carbon Nanotubes: Developing a Model for Cell Uptake,” *Nano Letters*, vol. 9, 2009.
- [75] B. ALBERTS, A. J. JEWIS, M. R. ROBERTS E P. WALTER, - “Transport into the Cell from the Plasma Membrane: Endocytosis,” em *Molecular Biology of the Cell*, New York, Garland Science, 2002.
- [76] P. A. TRAN, L. ZHANG E T. J. WEBSTER, - “Carbon Nanofibers and Carbon Nanotubes in Regenerative Medicine,” *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 61, 2009.
- [77] V. R. RAPHEY, T. K. HENNA, K. NIVITHA, P. MUFEEDHA, C. SABU E K. PRAMOD, “Advanced Biomedical Applications of Carbon Nanotubes,” 2019.
- [78] Y. J. LU, K. C. WEI, C. MA, S. Y. YANG E J. P. CHEN, - “Dual targeted delivery of Doxorubicin to cancer cells using Folate conjugated magnetic multi-walled Carbon Nanotubes,” *Colloids and Surfaces: Biointerfaces*, vol. 89, 2012.
- [79] Z. LIU, K. CHEN E C. DAVIS, - “Drug delivery with Carbon Nanotubes for in vivo Cancer Treatment,” *Cancer Research*, 2008.
- [80] Y. XIAO, X. GAO E O. TARATULA, - “Anti-HER2 IgY antibodyfunctionalized single-walled carbon nanotubes for detection and selective destruction of breast cancer cells,” 2009.
- [81] E. HEISTER, V. NEVES E C. TILMACIU, - “Triple functionalisation of Single-walled Carbon Nanotubes with Doxorubicin, a monoclonal antibody, and a fluorescent marker for Targeted Cancer Therapy,” 2009.
- [82] L. MENG, Z. JI E G. LIN, - “Targeted therapy of SMMC-772 Liver Cancer in vitro and in vivo with Carbon Nanotubes based drug delivery system,” *Journal of Colloid and Interface*

*Science*, 2012.

- [83] X. ZHANG, L. MENG, Z. FEI E P. J. DYSON, - “Targeted delivery and controlled release of Doxorubicin to Cancer Cells using modified Singlewall Carbon Nanotubes,” 2009.
- [84] L. WANG, J. SHI, H. ZHANG E E. AL, - “Synergistic Anticancer Effect of RNAi and Photothermal Therapy mediated by functionalized single-walled Carbon Nanotubes,” *Biomaterials*, 2013.
- [85] National Cancer Institute, “Cancer and Nanotechnology,” <https://www.cancer.gov/nano/cancer-nanotechnology>. [Acedido em 21 dezembro 2019].
- [86] A. MARKMAN, E. REKECHENETSKIY, J. HOLLER E LJUBIMOVA., - “Nanomedicine Therapeutic Approaches to Overcome Cancer Drug Resistance,” 2013.

ANEXOS

