

SISTEMAS NANOESTRUTURADOS BIOFUNCIONAIS: ESTRATÉGIAS DE SÍNTESE, TECNOLOGIAS E APLICAÇÕES EM NANOMEDICINA.

Viviane Viana Silva

Universidade Federal do ABC. Centro de Ciências Naturais e Humanas, Campus Santo André. Avenida dos Estados, 5001, Bairro Santa Terezinha, 09210-580, Santo André, SP, Brasil. Email: viviane.viana@ufabc.edu.br

RESUMO

O desenvolvimento de sistemas nanoestruturados biofuncionais tem chamado atenção da comunidade científica, tendo em vista seu potencial para aplicações em Nanomedicina como substitutos celulares tridimensionais, sistemas inteligentes de liberação, diagnóstico e terapia. Esses sistemas podem ser desenvolvidos utilizando biomateriais funcionalizados capazes de mimetizar algumas funções, superfície, formas e até morfologia de moléculas envolvidas em processos bioquímicos necessários à manutenção de órgãos e tecidos biológicos, sem a necessidade de apresentarem similaridade da estrutura celular. Embora a construção de sistemas artificiais 'totalmente vivos' ainda esteja longe do objetivo desejado, avanços futuros provavelmente levarão a muitos benefícios e novas aplicações biomédicas de vanguarda. Este artigo apresenta uma visão geral dos recentes avanços no desenvolvimento de sistemas nanoestruturados biofuncionais, destacando algumas estratégias inovadoras de síntese e tecnologias visando diferentes aplicações no campo da Nanomedicina.

Palavras-chave: Sistemas nanoestruturados biofuncionais, aplicação biomédica, biomaterial, nanomedicina.

BIOFUNCTIONAL NANOSTRUCTURED SYSTEMS: SYNTHESIS STRATEGIES, TECHNOLOGIES AND BIOMEDICAL APPLICATIONS IN NANOMEDICINE.

ABSTRACT

Biofunctional nanostructured systems have attracted much attention since can have applications as replacement or supplement of deficient cells, drug delivery, medical imaging and therapy. They are engineered and non-restricted structural materials that mimic some functions, surface characteristics, shapes, and even morphology of biological cells. Mimicking surface characteristics provides an efficient way to emulate functions of template cellular systems. In addition, systems with unique and similar shape and mechanical properties to cells are also able to replicate some cellular functions. In recent literature, there are also several reports about constructing materials that replicate ultrafine morphological features of biological cells. Although constructing 'totally living' artificial cellular systems is still farfetched, the progress toward this ultimate goal will likely present many benefits and new biomedical applications. This article presents an overview on recent advances in the design of biofunctional nanostructured systems, highlighting synthesis strategies and their main biomedical applications in different Nanomedicine fields.

Key-words: Biofunctional nanostructured systems, biomedical application, biomaterial, nanomedicine.

INTRODUÇÃO

Pesquisas recentes vêm sendo direcionadas para o desenvolvimento de sistemas celulares artificiais que apresentem não só estruturas e propriedades semelhantes às células vivas dos tecidos biológicos, mas também sejam capazes de desempenhar funções básicas mais simples¹⁻³ como diferenciação, replicação e metabolização celular⁴. Entretanto, a síntese de células artificiais "vivas" ainda é uma meta desafiadora e árdua para as pesquisas nesse campo da ciência uma vez que os organismos vivos mais simples conhecidos apresentam um elevado

grau de complexidade, no que concerne aos mecanismos responsáveis para regular o processo de replicação celular e comunicação intercelular.

Por outro lado, metodologias para a síntese de sistemas celulares biofuncionais vêm sendo propostas com base na observação de sistemas biológicos, onde a estratégia *bottom-up* é adotada para a estruturação hierárquica de moléculas em organismos vivos⁵. A estratégia *bottom-up* (“de baixo para cima”) consiste basicamente na síntese de sistemas ou estruturas funcionais em que átomos e moléculas se agregam de maneira controlada a partir de reações químicas⁶. Princípios da estratégia *bottom-up*⁷ incluem autoagregação de nanopartículas, monocamadas ou membrana⁷, e formação de estruturas ou sistemas supramoleculares⁸.

Sistemas nanoestruturados biofuncionais podem ser sintetizados a partir da combinação de biomateriais sintéticos e biológicos, que por sua vez lhe conferem habilidade para mimetizar algumas funções, propriedades de superfície e características morfológicas inerentes às células vivas sem, no entanto, apresentar qualquer similaridade à estrutura biológica celular^{2,9,10}. A funcionalização da superfície de sistemas celulares sintéticos com receptores, antígenos e grupos funcionais ligantes presentes em membranas celulares possibilita não só a comunicação intercelular, mas também capacidade de mimetizar (imitar) as principais funções celulares¹¹⁻¹³. Além disso, similaridades estruturais e morfológicas aos tecidos biológicos vivos são determinantes à biomimetização das atividades celulares¹⁴⁻²² uma vez que conferem características das células naturais em materiais não vivos, com amplo potencial de aplicações biomédicas muito promissoras²³⁻²⁵.

Com base nesta perspectiva, este artigo tem como objetivo abordar os recentes avanços no desenvolvimento de sistemas nanoestruturados biofuncionais, destacando algumas estratégias inovadoras de síntese, tecnologias e principais aplicações em Nanomedicina.

ESTRATÉGIA *BOTTOM-UP* E OUTRAS TECNOLOGIAS DE VANGUARDA

O princípio da estratégia *bottom-up* está baseado em se produzir materiais, de natureza sintética e/ou biológica, a partir da auto-organização de átomos ou moléculas para formação de sistemas estruturados em escala nanométrica, por meio de reações químicas controladas²⁶⁻²⁸. Métodos baseados na estratégia *bottom-up*²⁹ tornam possível o desenvolvimento de sistemas nanoestruturados biofuncionais, cujas propriedades mimetizam (imitam) grande parte das propriedades e funções de células e tecidos biológicos. O processo de auto-organização atômica ou molecular geralmente é realizado em meios líquidos, onde as unidades de dimensão nanométrica se auto organizam por meio de interações físicas e químicas, analogamente aos fenômenos que ocorrem em meios fisiológicos.

Três tecnologias estão fundamentadas nos princípios da estratégia *bottom-up*: (a) síntese química³⁰⁻³²; (b) auto-organização de partículas (self-assembly)^{33,34}; e (c) montagem posicional³⁵.

A **síntese química** de nanopartículas deve ser feita em condições controladas (pH, temperatura, grau de pureza dos reagentes, etc.) de modo a resultar em sistemas com composição, propriedades e funcionalidade desejados. O processo ocorre por mudança de fase ou reação química, seguido de tratamento para retirada de subprodutos, separação e isolamento do produto final. A tendência das nanopartículas é de se aglomerarem e por isto, muitas vezes são obtidas em fase líquida, o que permite um melhor controle das propriedades de superfície. A habilidade de manuseio das nanopartículas é muito importante, porque antes de sua aglomeração, elas podem apresentar estruturas complexas e comportamentos bem distintos.

O método sol-gel³⁶ é uma das técnicas mais utilizada para a síntese de sistemas nanoparticulados (Figura 1). Este método é composto de duas etapas: hidrólise e condensação de alcóxidos e íons hidroxilatos metálicos (p.ex., TEOS) em solução aquosa. Esse processo constitui um importante meio de preparação de sistemas híbridos nanoestruturados, em que espécies orgânicas ou biológicas instáveis podem ser adicionadas³⁷. Em particular, biomoléculas ou células podem ser incorporadas às nanopartículas que, apresentando tamanhos e funcionalidade adequada, permitam a obtenção de dispositivos biomédicos para diferentes aplicações³⁸⁻⁴⁰. As principais vantagens da técnica sol-gel se devem à baixa temperatura de processamento, versatilidade e reologia flexível, permitindo fácil modelagem e incorporação de bioativos.

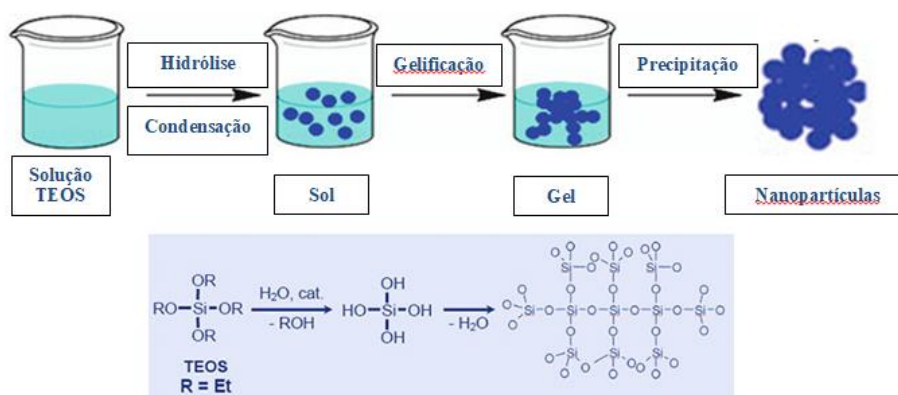


Figura 1 - Esquema ilustrativo do processo sol-gel para síntese de sistemas nanoestruturados. Adaptado. (<http://archiv.aktuelle-wochenschau.de/2007/woche47/woche47.html>).

Sistemas nanoestruturados ainda podem ser sintetizados por tecnologia de emulsificação múltipla⁴¹⁻⁴³, a partir de mistura, dispersão ou suspensão de duas ou mais fases imiscíveis (aquosa e orgânica ou oleosa) - uma como fase dispersa, na forma de gotas esféricas de tamanho nanométrico, e a outra como fase contínua, cuja estabilização ocorre por meio da ação de tensoativos ou surfactantes (Figura 2). A estabilidade da emulsão vai depender do tipo de tensoativo e biomaterial polimérico usado na síntese que, favorecendo a repulsão estérica entre as nanopartículas, minimiza a ocorrência de coalescência e separação das fases. Além disso, sistemas nanoemulsionados não são formados espontaneamente, sendo necessário o fornecimento de energia por meio de dispositivos mecânicos, ou a partir das propriedades químicas dos reagentes utilizados em sua síntese.

Esta estratégia de síntese permite a imobilização de um agente ativo (fármaco, proteína, célula, DNA, gen ou molécula bioativa), no interior ou superfície de nanopartículas poliméricas (nanoemulsão), na configuração de nanoesferas⁴⁴ (imobilização por dispersão na estrutura/superfície de uma matriz polimérica), ou de nanocápsulas^{44,45} (imobilização no interior/superfície de uma membrana polimérica ou barreira externa), visando o seu isolamento do meio fisiológico para manutenção de estabilidade estrutural e funcional⁴⁶. Além disso, esses sistemas ainda são capazes de imobilizar simultaneamente, vários tipos de agentes ativos e de reconhecimento celular por diferentes vias de administração e períodos de tempo prolongado, melhorando a eficácia terapêutica a partir de uma liberação progressiva e controlada, direcionamento a alvos específicos e redução de efeitos colaterais (em virtude de um menor número de doses)⁴⁷. A principal diferença entre esses dois tipos de nanopartículas está em suas

organizações estruturais e composições (Figura 3). Enquanto a nanoesfera consiste em matriz polimérica contendo o agente ativo (p.ex. fármaco) disperso uniformemente em sua estrutura ou superfície, a nanocápsula é constituída de uma camada ou membrana polimérica que envolve um núcleo interno composto do agente ativo.

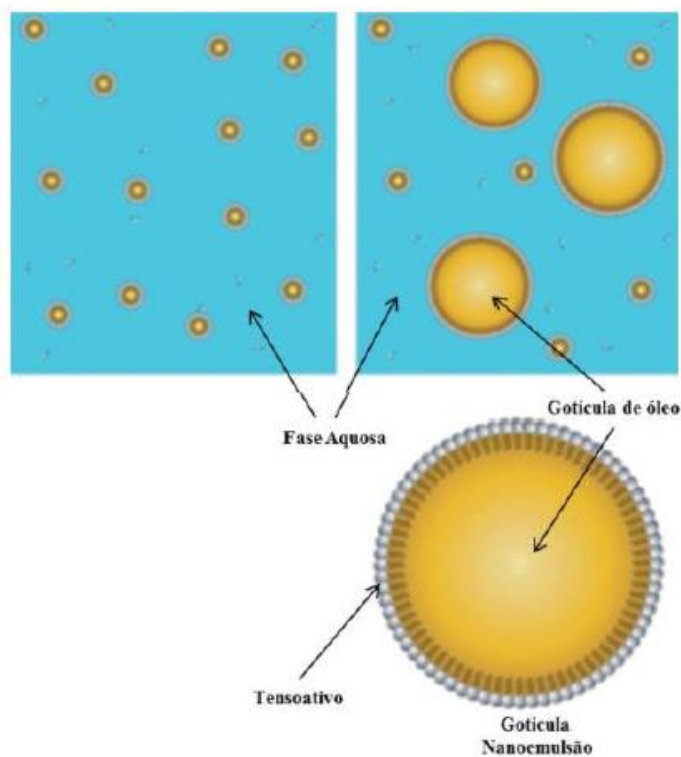


Figura 2 - Esquema ilustrativo de tecnologia por emulsificação múltipla para síntese de sistemas nanoestruturados. Adaptado⁴³.

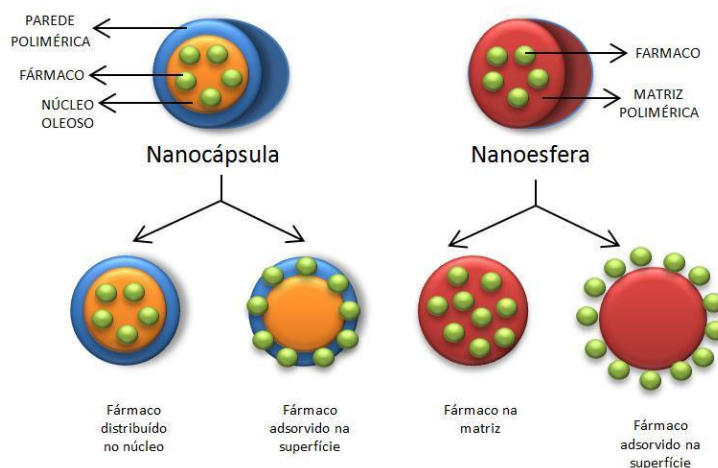


Figura 3 - Representação esquemática de imobilização de agente ativo (p. ex., fármaco) em estruturas de nanocápsulas e nanoesferas. Adaptado⁴⁸.

Diferentes métodos para o encapsulamento do agente ativo podem ser utilizados para sintetizar nanoesferas e nanocápsulas, incluindo a coacervação complexa ^{44,49}, a inclusão molecular ^{44,50-52} e a nanoprecipitação ⁴⁴.

A técnica de encapsulamento do agente ativo por coacervação complexa (Figura 4) consiste basicamente, na interação entre dois polímeros de cargas opostas (membrana ou camada de parede), onde um complexo entre esses polímeros é formado ao redor de gotículas ou partículas do agente ativo (núcleo), levando à formação de nanocápsulas ^{44,53}.

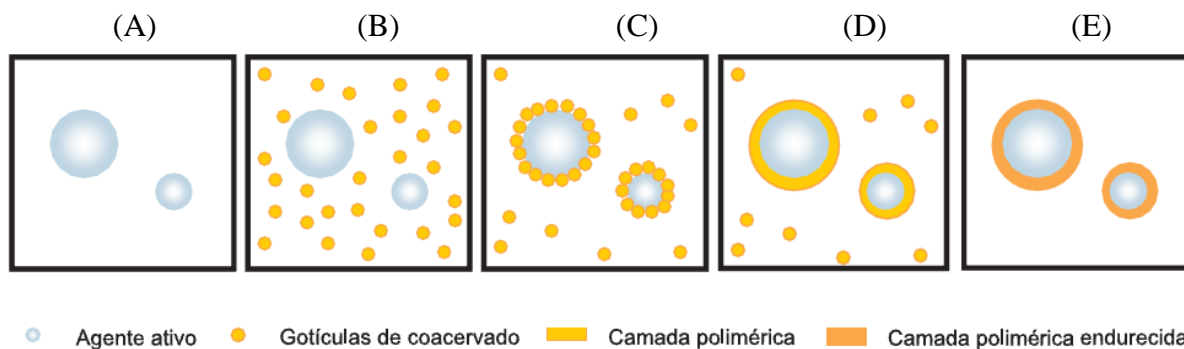


Figura 4 - Esquema representativo das etapas do processo nanoencapsulação por coacervação complexa. (A) Dispersão do agente ativo a ser encapsulado em uma solução contendo os polímeros de carga oposta. (B) Indução da coacervação para formação de gotículas de coacervado. (C) Deposição de gotículas de coacervado em torno do agente ativo. (D) Coalescência de gotículas de coacervado para formação da camada ou membrana polimérica. (E) Solidificação ou endurecimento da membrana polimérica para formação das nanocápsulas ⁵³.

O método por inclusão molecular, por sua vez, utiliza moléculas de ciclodextrinas (CD) como agentes encapsuladores ou hospedeiros (Figura 5a). A molécula resultante atua como uma nanocápsula molecular, com uma superfície externa polar e uma cavidade apolar, que a torna capaz de atuar como uma “molécula hospedeira”, formando complexos de inclusão (Figura 5 b) com uma grande variedade de “moléculas hóspedes” (agente ativo) de baixa polaridade ^{36,51}.

O processo de inclusão pode ser também utilizado para “hospedar” ou imobilizar entidades bioativas anfífilas em vesículas de lipossomas ^{52,54,55} (Figura 6) bem como em cubossomas, polímerossomas, niossomas e dendrímeros ^{54,57} (Figura 7) para aplicação como sistemas carreadores de liberação, em virtude de seu potencial para revestimento de fármacos e moléculas bioativas ⁵³.

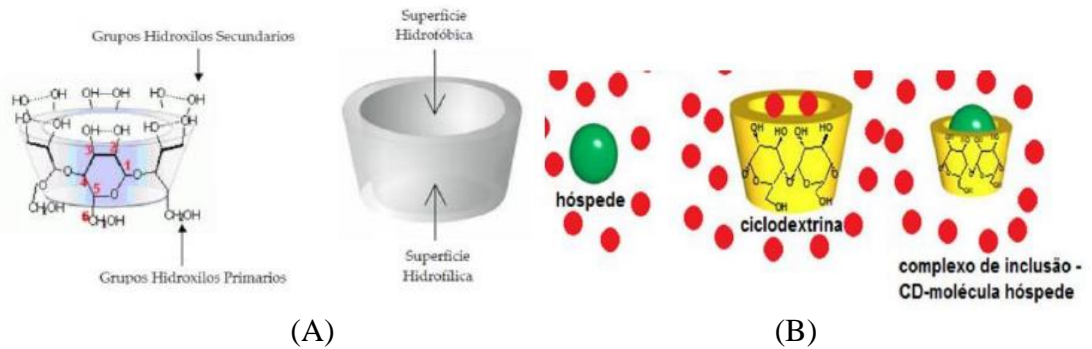


Figura 5 - (A) Estrutura da molécula da ciclodextrina (CD). (B) Inclusão molecular por conformação de complexo CD-molécula hospede (agente ativo). Adaptado^{50,51}.

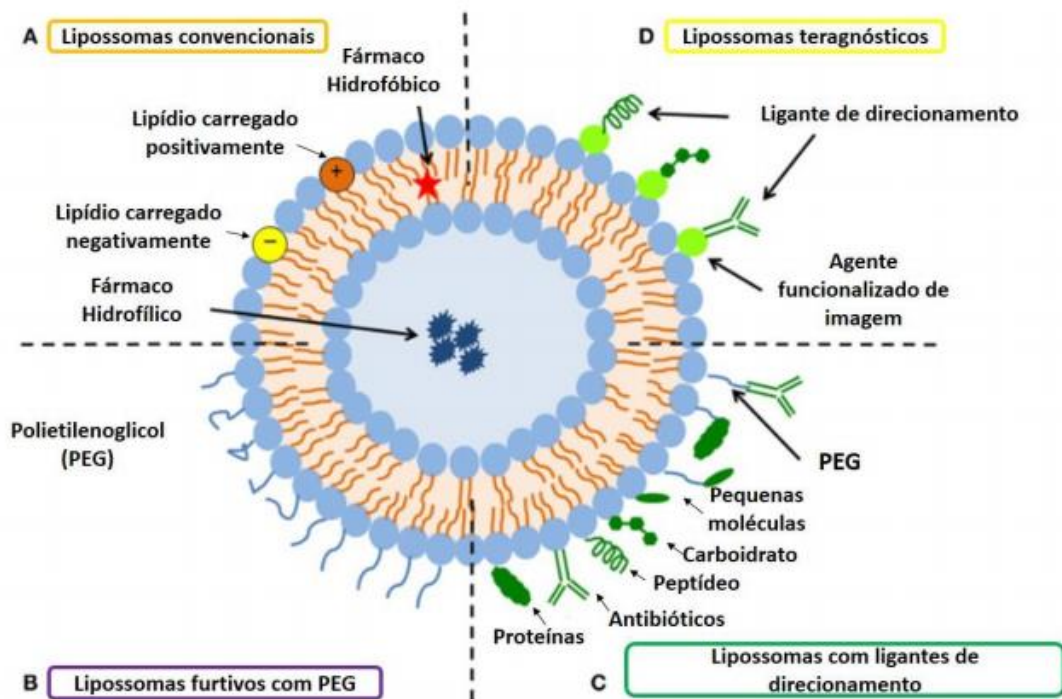


Figura 6 - Representação esquemática de diferentes tipos de lipossomas para aplicação como sistemas carreadores. (A) Lipossomas convencionais são compostos de bicamadas lipídicas constituídas por fosfolípidios neutros, catiônicos ou aniônicos e colesterol, que encapsulam núcleos aquosos. Ambas as bicamadas lipídicas e o espaço aquoso podem incorporar espécies hidrofílicas ou hidrofóbicas. (B) Lipossomas furtivos apresentam características e comportamentos lipossomais *in vivo* e podem ser modificados pela adição de um revestimento polimérico hidrofílico como o polietilenoglicol (PEG), para conferir à superfície lipossomal estabilidade estérica. (C) Lipossomas com ligantes de direcionamento podem ser usados para reconhecimento e direcionamento específico a partir do acoplamento de ligantes em sua superfície, ou ao final da cadeia de PEG. (D) Lipossomas teranósticos são constituídos de nanopartículas, moléculas de reconhecimento para direcionamento, imagem e terapia (fármaco). Adaptado⁵⁶.

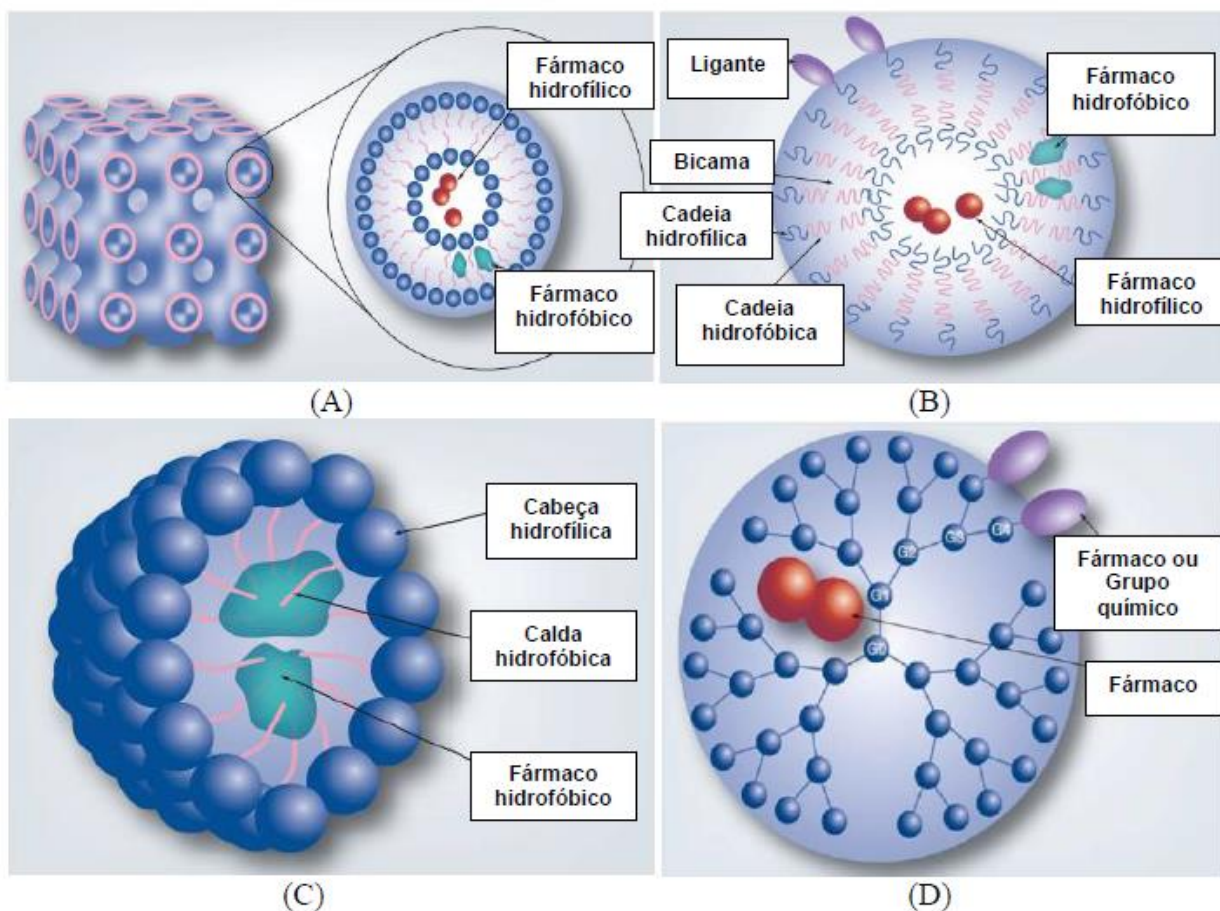


Figura 7 - Representação esquemática de diferentes tipos de nanossistemas carreadores sintetizados por tecnologia de inclusão molecular. (A) Cubossoma. (B) Polimerossoma. (C) Niossoma. (D) Dendrímero. Adaptado⁵⁷.

A tecnologia de síntese por nanoprecipitação está baseada no princípio do processo de emulsificação espontânea, em que uma fase interna orgânica, contendo o polímero e agente ativo, é misturada a uma fase externa aquosa com o tensoativo ou surfactante⁵⁸⁻⁶⁰. Esta tecnologia envolve a precipitação do polímero pré-formado dissolvido na fase orgânica, e a difusão do solvente orgânico na fase aquosa. A preparação de nanoesferas através deste método inicia-se pela dissolução do polímero, do tensoativo e do agente ativo (entidade química ou bioativa) no solvente orgânico, para a obtenção da fase orgânica. Esta fase é então vertida na fase aquosa para difusão do solvente orgânico, seguido de evaporação (do solvente orgânico), agregação da suspensão coloidal (sistema polímero-tensoativo) e formação de nanoesferas (Figura 8). A síntese de nanocápsulas (figura 9), por sua vez, consiste na adição de uma fase oleosa à fase orgânica que, será misturada à fase aquosa, para a formação de nanogotículas por processo de difusão. Após eliminação do solvente, o polímero é depositado na interface óleo-água para a formação do invólucro ou membrana da nanocápsula⁶⁰.

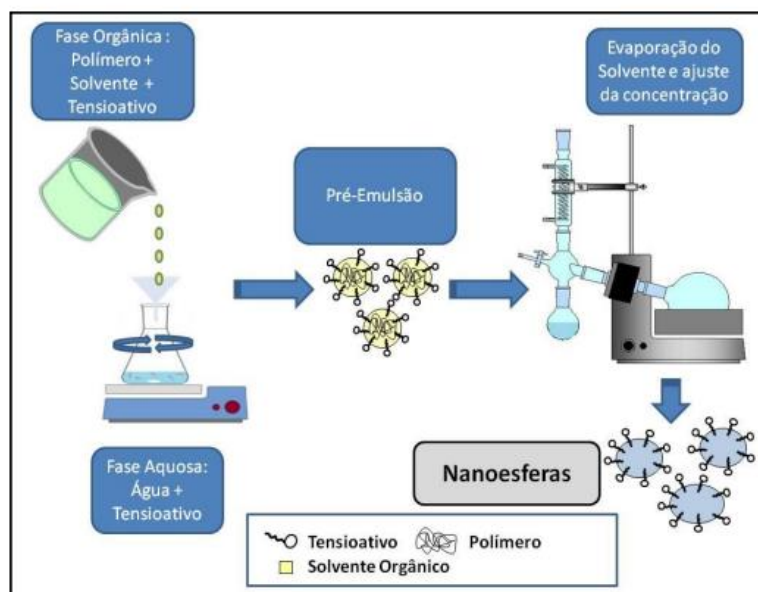


Figura 8 - Esquema ilustrativo da tecnologia de nanoprecipitação para síntese de nanoesferas⁵⁹.

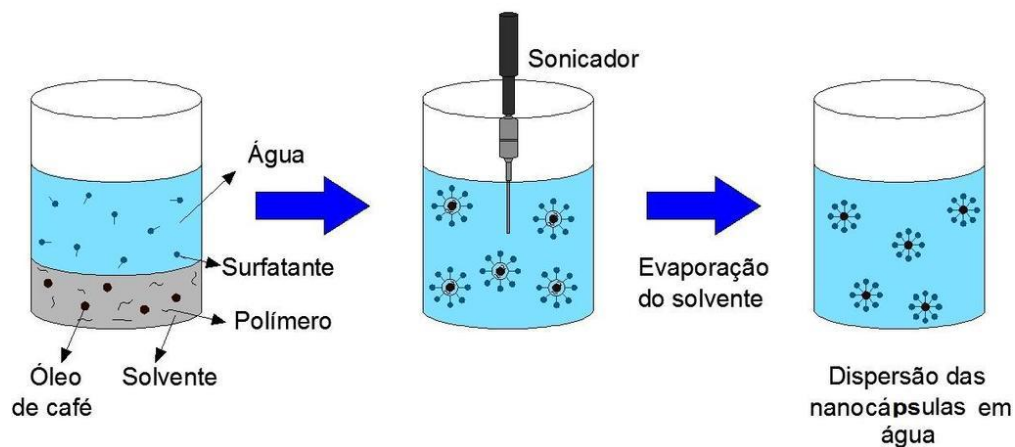


Figura 9 - Esquema ilustrativo da tecnologia de nanoprecipitação para síntese de nanocápsulas. Adaptado⁶⁰.

A técnica de **auto-organização de átomos ou moléculas** ^{33,34,61-64} é um processo relativamente novo, em que sistemas de baixa complexidade estrutural são obtidos sem a geração de subprodutos ou resíduos. Estratégias computacionais podem ser ainda utilizadas para a simulação de prováveis sistemas nanoestruturados energeticamente mais favoráveis. Além disso, campos elétricos ou magnéticos externos podem ser aplicados para acelerar o processo de auto-organização das partículas geradas. Este método pode ser aplicado para direcionar o processo de auto-organização de moléculas de DNA⁶² e de outras biomoléculas como peptídeos⁶³ (Figura 10) e proteínas⁶⁴. A molécula de DNA é a mais intensamente estudada com a finalidade de direcionar o alinhamento de nanopartículas graças às suas boas propriedades de

reconhecimento biomolecular como a interação de fitas de DNA com pares de bases complementares, bem como a deposição de biomoléculas em aglomerados e substratos com grupos funcionais tiol (-SH).

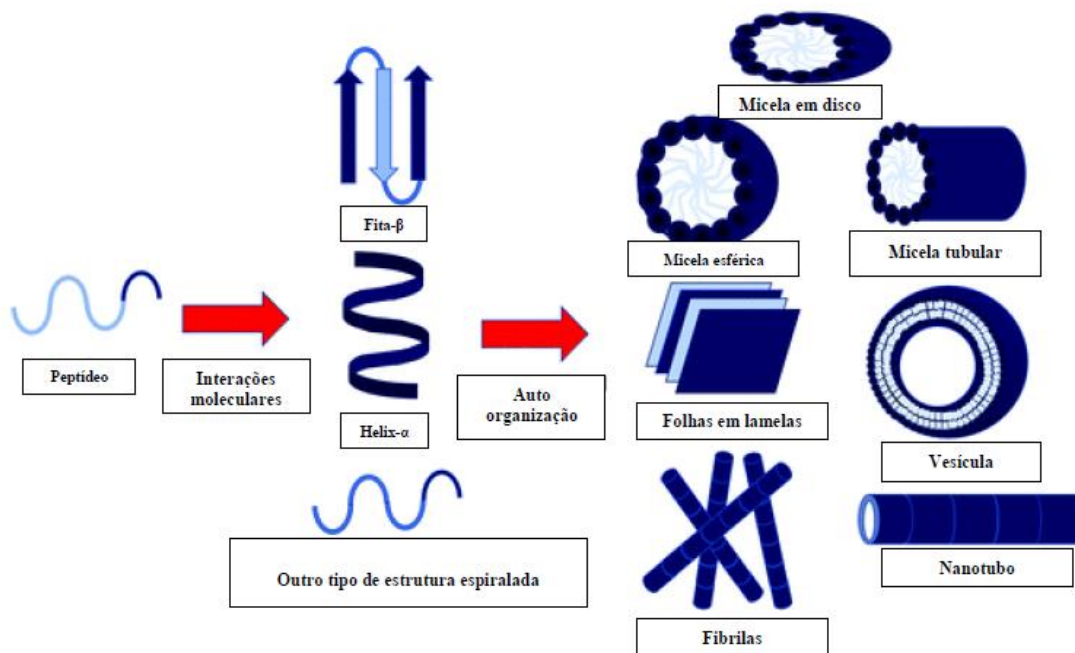


Figura 10 - Alguns modelos estruturais de peptídeos obtidos por estratégia de auto-organização. Adaptado⁶⁵.

A técnica conhecida como **montagem posicional** (Figura 11), consiste em se manipular e posicionar átomos, moléculas ou agregados de átomos utilizando microscópios de força atômica³⁵ ou pinças ópticas em espaço livre. Para isso, o microscópio gera uma imagem da superfície da amostra em estudo, que é varrida pelo sensor (cantilever) do equipamento em uma sucessão de linhas de varredura paralelas, de modo a registrar a interação do sensor com a superfície em função da posição. Entretanto, esta estratégia ainda vem sendo pouco utilizada como ferramenta de construção de sistemas nanoestruturados, tendo em vista sua limitação restrita apenas à aquisição de dados precisos a nível atômico.



Figura 11 - Esquema ilustrativo de manipulação de nanopartículas usando microscópio de força atômica. Adaptado⁶⁶.

Outra tecnologia de vanguarda para se desenvolver sistemas nanoestruturados biofuncionais consiste em se dobrar e moldar moléculas de DNA em estruturas 3D, semelhantes à arte japonesa de dobrar papel, Origami^{67,68}. Uma longa molécula de DNA é dobrada e “costurada” na forma desejada, usando sequências curtas de DNA sintético como reticulações para a elaboração de biomoléculas e sistemas híbridos (Figura 12).

Sistemas biofuncionais tridimensionais (arcabouços ou *scaffolds*) podem também ser criados a partir de tecnologias de bioimpressão (Figura 13) ou biofabricação⁶⁹, em que células vivas, biomoléculas^{70,71} ou agregados celulares podem ser organizados na estrutura 3D de biomateriais degradáveis, de forma automatizada. O *design* do *scaffold* do biomaterial é primeiramente projetado por técnicas computacionais (BioCAD ou Blueprint), cujo arquivo é então enviado para uma impressora 3D para deposição e empilhamento de finas monocamadas automontadas⁷². Além disso, características físico-químicas e estruturais, propriedades e comportamento biomimético do material escolhido serão parâmetros relevantes no que concerne aos aspectos bioquímicos (quimiocinas, fatores de crescimento, fatores de aderência, diferenciação e sinalização celular) e físicos (fluxo intersticial, propriedades mecânicas e estruturais da matriz extracelular), para garantia de integridade mecânica e estrutural além de ausência de resposta imunológica não desejada^{73,74}.

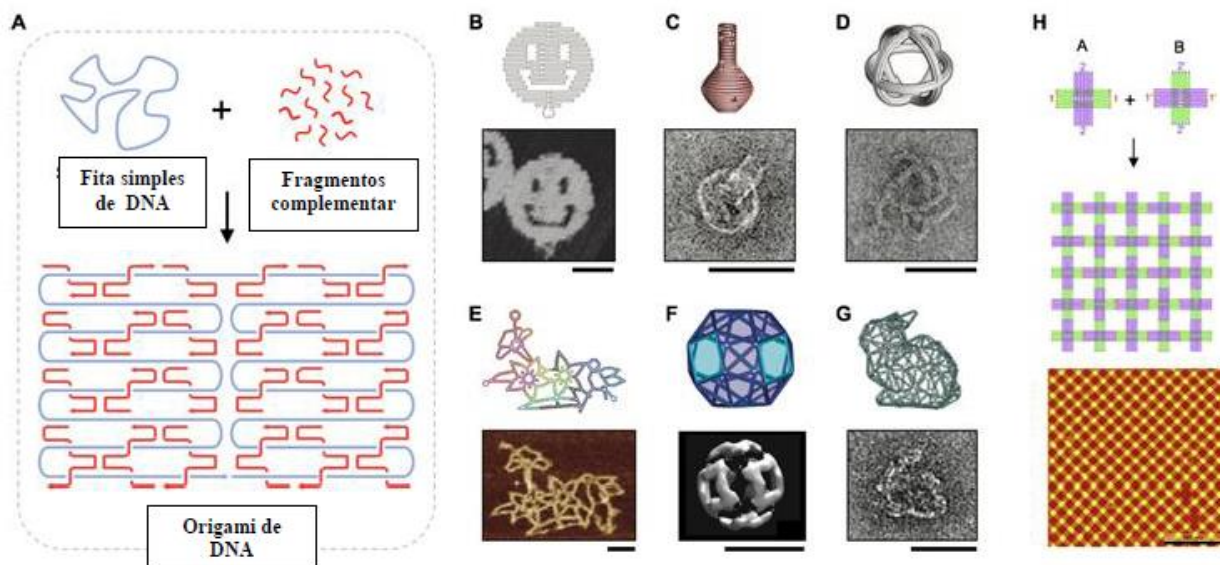


Figura 12 - A estrutura Origami é criada a partir de uma fita simples de DNA que é dobrada e presa por meio de pequenos fragmentos complementares (A). Alguns exemplos de estruturas Origami de DNA (B-H). Adaptado⁶⁸.

Tecnologia de bioimpressão

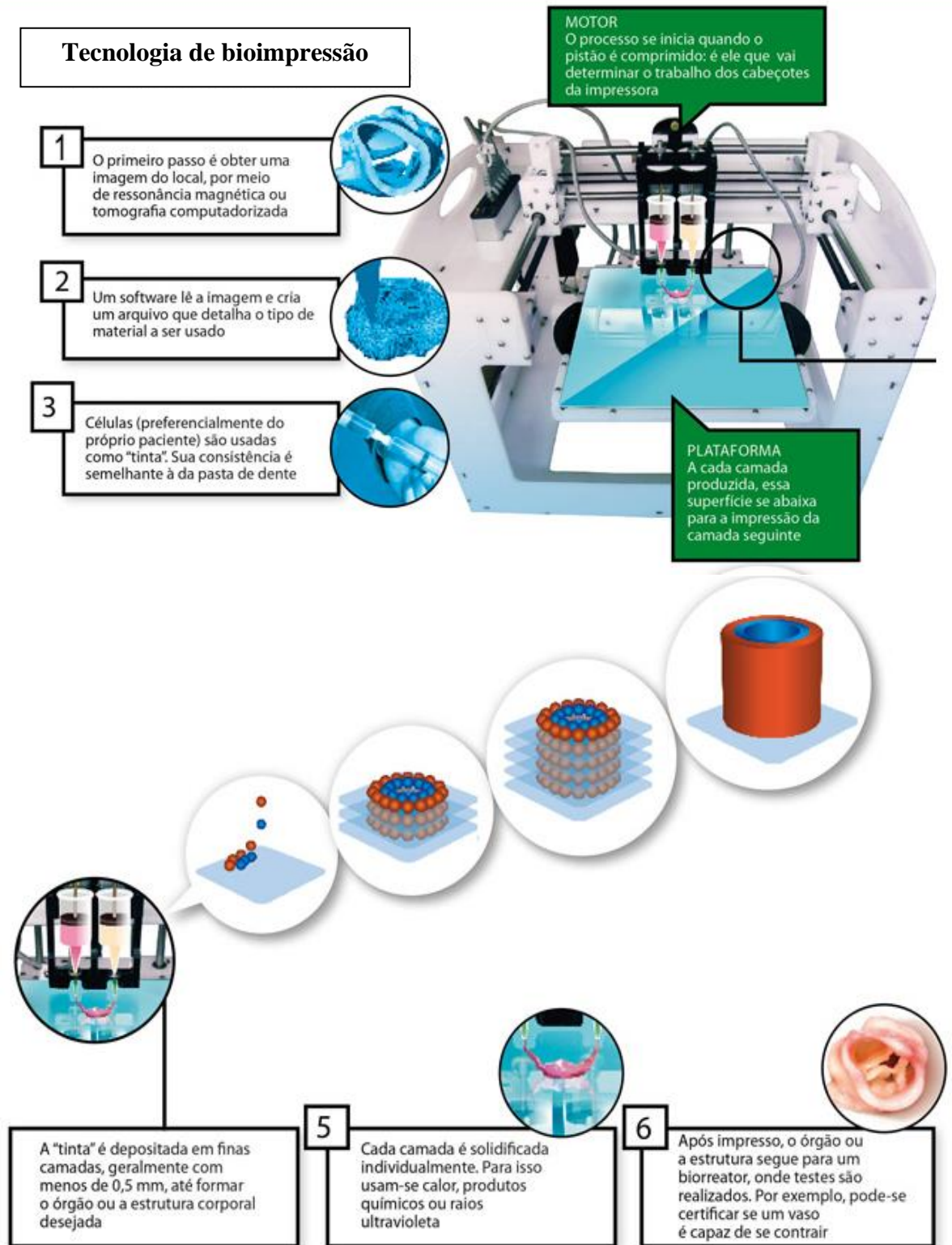


Figura 13 - Esquema ilustrativo das etapas de bioimpressão de órgãos artificiais.
(www.istoe.com.br/reportagens/148024_O+CORPO+FABRICADO)

BIOFUNCIONALIZAÇÃO: ESTRATÉGIAS PARA IMOBILIZAÇÃO DE BIOMOLÉCULAS EM SISTEMAS NANOESTRUTURADOS

Estratégias capazes de biofuncionalizar sistemas nanoestruturados é de importância crucial uma vez que, propriedades funcionais e especificidade da biomolécula (proteínas, polissacarídeos, aptâmeros, peptídeos e outras) imobilizada no interior ou superfície (Figura 14) do sistema, sejam preservadas para conferir o comportamento biomimético desejado.

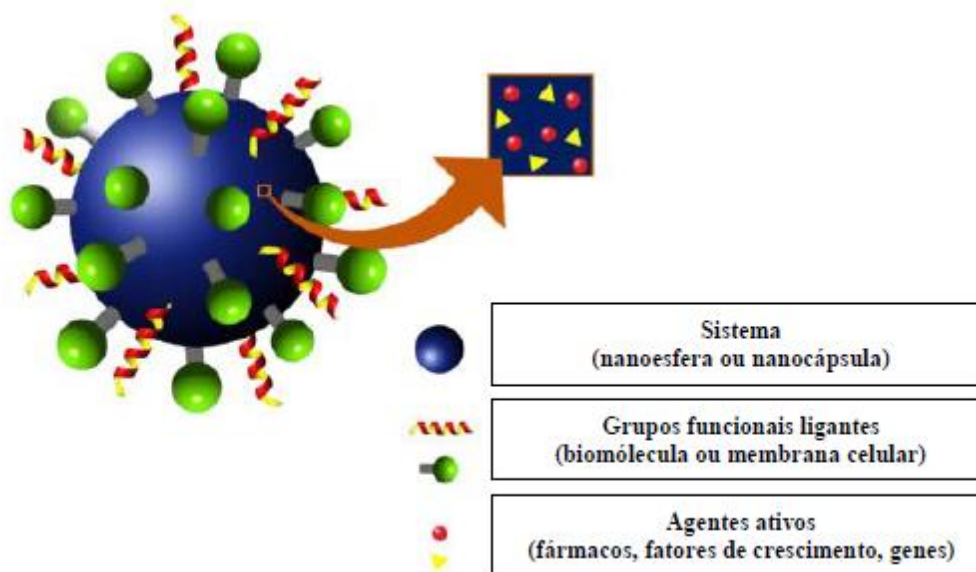


Figura 14 - Esquema ilustrativo de um sistema nanoestruturado biofuncionalizado. Adaptado⁷⁵.

Um sistema biofuncional deve apresentar reatividade química específica ou grupos químicos ligantes específicos (carbonilas, aminas, tióis e hidroxilas), que lhe confirmam uma estrutura superficial com propriedades físicas, químicas e biológicas diferenciadas, capaz de propiciar um comportamento que mimetize (imite) a função biológica desejada a partir do seu direcionamento e reconhecimento celular de sítios alvos para terapia e regeneração de tecidos, órgãos ou função perdida⁷⁶⁻⁷⁸.

O processo de biofuncionalização consiste basicamente na imobilização de grupos ligantes específicos durante a síntese ou preparo do sistema, ou posterior modificação química na sua superfície ou estrutura interna^{79,80}. A presença de grupos ligantes específicos na superfície do sistema permite a imobilização de biomoléculas por meio de interações, tanto de natureza física (forças Van der Waals, ligações ou pontes de hidrogênio, ou interações eletrostáticas) como de natureza química (ligações covalentes). Os receptores presentes na membrana celular, por sua vez, permitem a geração de estímulos biológicos por parte do meio fisiológico para o direcionamento do sistema ao sítio de tratamento e o reconhecimento das células^{81,82} (Figura 15).

Uma das tecnologias de imobilização mais utilizadas para sistemas nanoestruturados biofuncionais consiste na retenção física da biomolécula no interior ou superfície do sistema (nanoesfera ou nanocápsula), sem alteração de sua estrutura ou das interações entre os grupos funcionais da biomolécula e do biomaterial utilizado na síntese do sistema⁸³. Este tipo de

imobilização que pode ser realizado, sob a forma de encapsulamento ou adsorção física, vai depender das características e propriedades do sistema bem como do processo de imobilização da biomolécula (Figura 16).

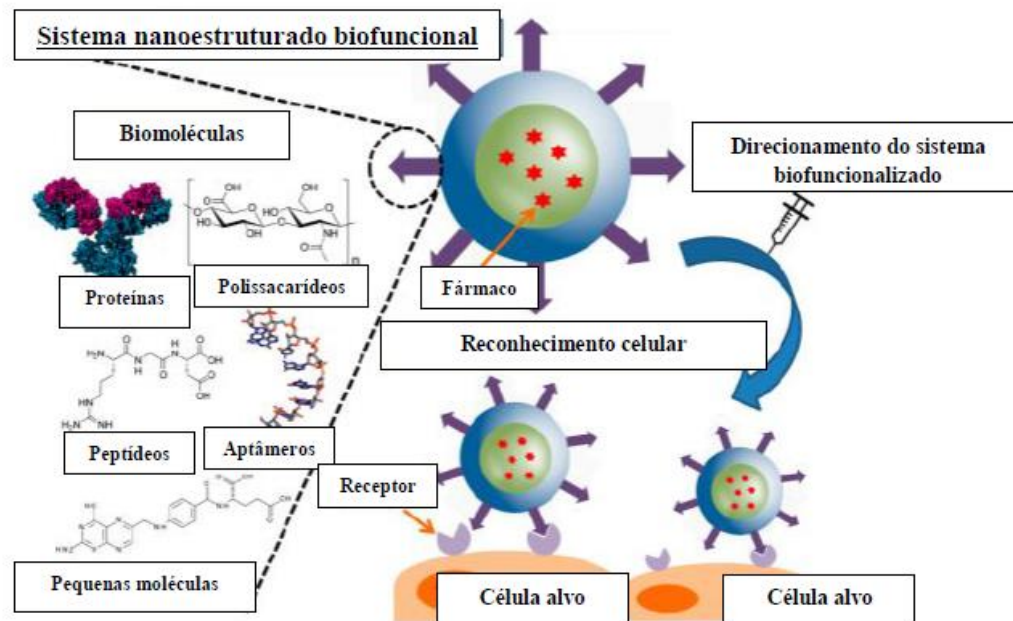


Figura 15 – Esquema ilustrativo do mecanismo de reconhecimento celular de um sistema nanoestruturado biofuncional às células alvo de um sítio terapêutico. Adaptado⁸².

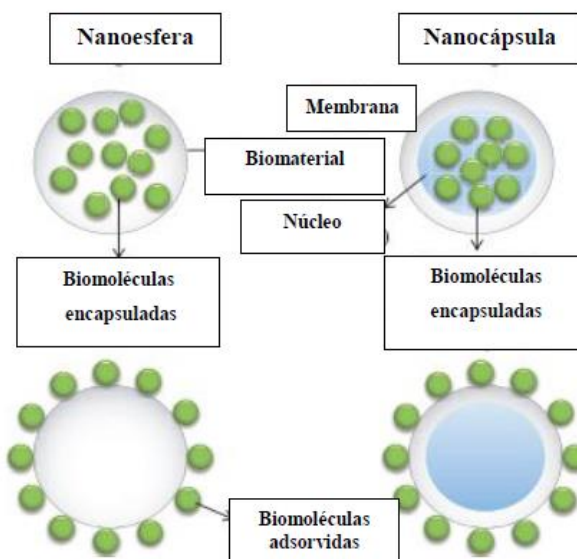


Figura 16 - Principais estratégias para biofuncionalização de sistemas nanoestruturados por encapsulamento e adsorção física. Adaptado⁸³.

Embora esta estratégia de imobilização seja simples, ela pode favorecer a dessorção da biomolécula da superfície do sistema em virtude de alterações de pH, temperatura e força iônica do meio fisiológico⁸⁴.

Por outro lado, o processo de imobilização pode ser realizado de forma mais eficiente a partir da formação de ligações covalentes entre os grupos funcionais do sistema e da biomolécula (Figura 17). As ligações covalentes são geralmente formadas pela interação entre resíduos de aminoácidos amina (-NH₂), hidroxila (-OH), carboxila (-COOH) ou sulfidril (-SH) da biomolécula, e os grupos químicos funcionais do biomaterial do sistema⁸⁵⁻⁸⁸. A adsorção química de grupos ligantes de elevada reatividade pode ser uma estratégia de funcionalização de superfícies uma vez que geram espécies intermediárias capazes de se ligar de forma orientada e específica à biomolécula⁸⁹, de modo a garantir o direcionamento e reconhecimento celular ao sítio de tratamento desejado (Figura 18).

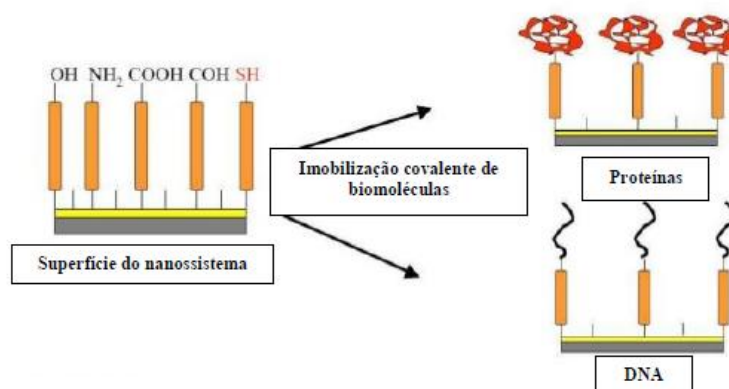


Figura 17 - Imobilização covalente de biomoléculas em superfície de nanossistemas. Adaptado (<https://www.biosyn.com/biomolecule-immobilization.aspx>).

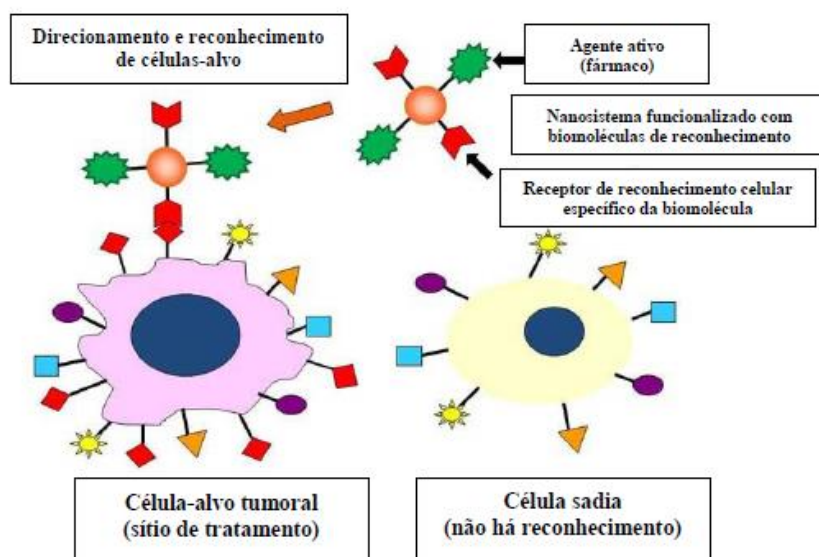


Figura 18 - Esquema ilustrativo de reconhecimento e ligação às células-alvo tumoral do sítio de tratamento por um sistema nanoestruturado biofuncional para liberação de fármaco. Adaptado (<https://www.colfarsfe.org.ar/newsfiles/noviembre2014/2-nanoterapias-oncologicas.pdf>).

NANOMEDICINA: TERAPIA, DIANÓSTICO E MEDICINA REGENERATIVA

A Nanomedicina pode ser definida como uma área de vanguarda contextualizada em segmentos das Ciências da Saúde que, utilizando-se de ferramentas e estratégias nanotecnologias torna possível o desenvolvimento de dispositivos biomédicos, em escala nanométrica, para aplicações clínicas em terapia, diagnóstico e medicina regenerativa. Uma vez que componentes presentes em meios e sistemas fisiológicos como moléculas bioativas, células, genes e outras entidades biológicas apresentam dimensão nanométrica, estudos e pesquisas vêm sendo direcionadas para a busca de tecnologias inovadoras menos invasivas, capazes de diagnosticar e tratar diferentes tipos de doenças de maneira mais precisa e eficaz⁹⁰⁻⁹³. Dentro desse contexto, sistemas nanoestruturados biofuncionais vêm sendo exaustivamente investigados tendo em vista sua habilidade para reconhecer, de modo específico os sítios alvos do organismo sujeitos ao tratamento terapêutico desejado. Atualmente já existem dispositivos desta natureza para aplicações em Nanomedicina aprovados por órgãos reguladores no mercado e outras formulações em testes clínicos^{94,95}. Além de nanoesferas, nanocápsulas, lipossomas, dendrímeros e outras nanoestruturas já discutidas, estudos e pesquisas relacionados à aplicabilidade clínica de outros tipos de nanodispositivos biomédicos de vanguarda estão disponibilizados na Literatura⁹⁶⁻⁹⁹, incluindo nanocristais¹⁰⁰ e pontos quânticos^{101,102}, nanorobôs¹⁰³, nanotubos de carbono^{104,105} e outros para diferentes aplicações em Nanomedicina¹⁰⁶⁻¹⁰⁸.

Nanocristais consistem de nanoestruturas semicondutoras que, apresentando propriedades de fluorescência muito superiores às dos fluoróforos tradicionais, são programados para produzir fluorescência específica ao reconhecer e se ligarem às células alvo de sítios de tratamento em tecidos ou órgãos¹⁰⁰. Além disso, podem ainda ser utilizados para auxiliar a administração localizada de fármacos e ao monitoramento de nanorobôs no organismo. Outros tipos de nanocristais, como aqueles de natureza magnética, são capazes de eliminar tumores a partir da morte das células cancerígenas por mecanismos térmicos¹⁰⁹.

Pontos quânticos (*quantum dots*), que são uma versão mais avançada de nanocristais semicondutores, são responsáveis pelo confinamento de elétrons, fazendo com que a sua energia seja quantizada, ou seja, só possa tomar um conjunto discreto de valores^{101,102}. Esses pontos também podem ser chamados de átomos artificiais, pois o processo de quantização de energia é igual ao dos átomos naturais. Entretanto, os níveis de energia desses nanocristais são determinados pelo tamanho e pela forma do cristal, e dependem do tipo de material semicondutor utilizado na sua síntese.

Nanomáquinas biológicas programadas ou **nanorobôs**¹⁰³ são projetados para exercer praticamente a mesma função de entidades biológicas como hemácias, proteínas, mitocôndrias, moléculas de ATP e DNA. Quando injetados no corpo humano, por via oral ou intravenosa, são capazes de identificar e destruir células cancerosas ou infectadas por microrganismos. Além disso, podem ainda regenerar tecidos e realizar diferentes tipos de terapias, além de funcionar como nano carreadores para transporte e liberação de medicamentos.

Nanotubos de carbono são filamentos ultrafinos de elevada resistência, compostos por átomos de carbono, que são usados na confecção de diferentes tipos de nanodispositivos. Embora as tecnologias de síntese, purificação e pós-processamento produzam nanotubos de diferentes estruturas físicas e propriedades^{104,105}, seu comportamento biocompatível ainda é questionável tendo em vista a necessidade de maior compreensão de efeitos nocivos sobre seu possível acúmulo na cadeia alimentar e alta persistência¹¹⁰.

Nanoimãs ou **nanopartículas magnéticas** são nanocarreadores de vanguarda com habilidade para reconhecimento celular, transporte de fármacos e ação somente sobre células tumorais do sítio de tratamento, sem no entanto, comprometer as demais células saudáveis. Seu princípio de funcionamento consiste na aplicação de um campo magnético exterior ao corpo, de modo que as nanopartículas magnéticas vibrem e dissipem calor necessário para diagnóstico, lise e morte das células tumorais alvo¹¹¹⁻¹¹³.

Nanoporos^{114,115} são definidos como orifícios de dimensão nanométrica, suportados de maneira sequencial em uma membrana, com a finalidade de detectar e monitorar moléculas de interesse biológico como proteínas^{116,117}, aminoácidos¹¹⁸ e DNA¹¹⁹ a partir da variação do potencial elétrico na membrana, que é alterado de acordo com a passagem da biomolécula. Apesar dessa tecnologia ainda ser emergente, ela pode vir a ser significativamente promissora para o desenvolvimento de sequenciadores comerciais ultrarápidos e de baixo custo.

Nanocarreadores de oxigênio são usados como um tipo de substituto artificial de glóbulos vermelhos^{120,121}. Eles são constituídos de um polimossomo sintético ou uma membrana artificial, que encapsula hemoglobina animal, humana ou recombinante purificada para liberação na corrente sanguínea. Além de minimizar a possibilidade de transmissão de doença, eliminam desvantagens associadas às transfusões de sangue alogênico e reações imunológicas. Membranas de lipídeos e proteínas presentes em glóbulos vermelhos podem também ser utilizadas para encapsular nanopartículas com o objetivo de evitar sua absorção por macrófagos e a depuração sistêmica.

Estratégias *bottom-up* de vanguarda vêm sendo amplamente propostas no sentido de impulsionar não só o desenvolvimento de sistemas biofuncionais mais inovadores, mas principalmente em superar desafios e barreiras que ainda são fatores limitantes à ampliação de possibilidades de atuação em diferentes campos de aplicações da Nanomedicina.

Dentre desse contexto, merece destaque o desenvolvimento de chips de órgãos e funções fisiológicas ou "*organs-on-chips*" (Figura 19). Esses sistemas são capazes de biomimetizar a arquitetura e funções de órgãos e tecidos, tornando-se assim uma alternativa inovadora para a experimentação animal clássica em testes de segurança e eficácia. Cada chip pode ser processado a partir de um biomaterial flexível e translúcido, com dimensões de um cartão de memória, cuja estrutura apresenta canais microfluídicos revestidos por células humanas vivas¹²²⁻¹²⁵. Essas características possibilitam ao dispositivo visualizar o funcionamento interno de órgãos e estudo da fisiologia humana em um contexto específico, além de proporcionar o desenvolvimento de modelos *in vitro* para doenças e a substituição de modelos animais em testes *in vivo*. Entretanto, o principal desafio ainda está em se conferir biofuncionalidade ao chip em termos de capacidade para mimetizar as propriedades de membranas celulares e gradientes de difusão. Para isso, um sistema denominado de "*human-on-a-chip*" já está sendo proposto como um modelo preliminar para a avaliação clínica da segurança e eficácia de novos fármacos e bioativos¹²⁶, além de proporcionar a criação de métodos mais aperfeiçoados para explorar diferentes vias de administração e efeitos colaterais de fármacos. Este dispositivo pode ainda ser projetado para utilizar células autólogas (de um paciente específico) na avaliação da resposta do paciente a um dado fármaco¹²⁷.

Outra estratégia em tendência consiste na criação de uma protocélula ou célula artificial (Figura 20) que apresente características, propriedades e funções básicas inerentes a uma célula viva tais como absorver energia, manter gradientes iônicos, conter macromoléculas, armazenar informações e ser capaz de sofrer mutações¹²⁸⁻¹³⁰. Estudos recentes abordam a criação de uma variante de uma célula artificial em que um genoma completamente sintético é introduzido em células hospedeiras livres de genoma. Embora não seja completamente artificial, uma vez que

componentes citoplasmáticos e de membrana da célula hospedeira são preservados, a célula modificada poderia se replicar a partir da expressão de um genoma sintético. Essa protocélula seria criada a partir da síntese de uma membrana lipídica, contendo em seu interior moléculas de DNA e RNA modificados geneticamente, e com habilidade para absorver energia química para o transporte ativo através da membrana.



Figura 19 - Esquema ilustrativo de um modelo "organs-on-chips". A. Desenho esquemático do modelo do dispositivo microfluídico TissUse 2-OC (www.tissuse.com/en/products/2-organ-chip/). B. Vista de um corte longitudinal do 2-OC mostrando os compartimentos de cultivo de equivalentes de intestino e fígado. C. Vista inferior do 2-OC com destaque para os canais microfluídicos que interconectam os compartimentos de cultivo tecidual. Adaptado¹²².

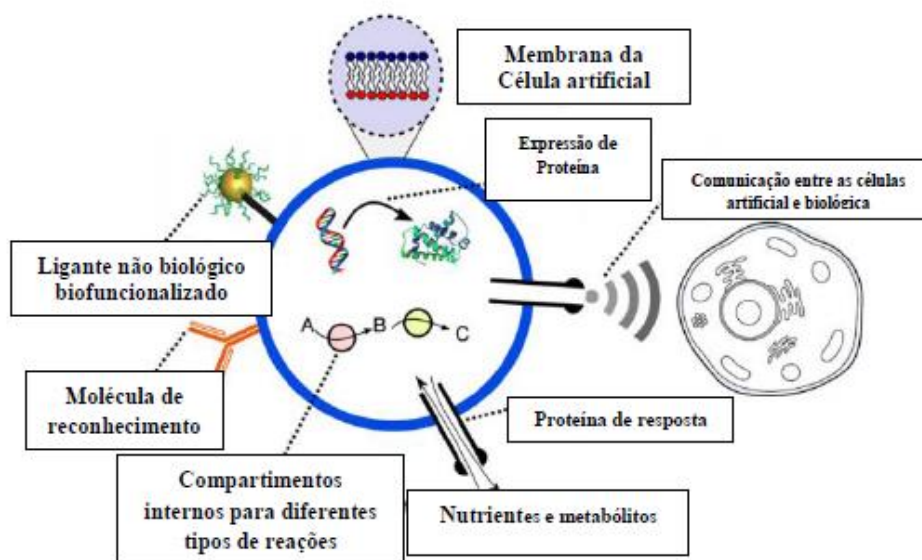


Figura 20 - Esquema ilustrativo de uma célula artificial e seus componentes básicos. Adaptado¹²⁸.

Outra tendência *bottom-up* que aponta para o futuro cenário de setores da Nanomedicina seria a criação de uma célula eletrônica artificial¹³¹ autônoma e geneticamente programável, sintetizada a partir de compostos de natureza orgânica e inorgânica, com habilidade para desempenhar funções celulares específicas via integração a sistemas de informação. Um conjunto de eletrodos seria acoplado a circuitos eletrônicos posicionados em um suporte fino bidimensional, com o objetivo de conferir-lhe funcionalidade química. A informação eletrônica local, que define os circuitos de computação e detecção de eletrodos, poderia servir como um genoma eletrônico capaz de complementar as sequências de informações específicas para proliferação genética e metabolismo de futuras células artificiais.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A Nanomedicina é uma área de vanguarda da Saúde que combina conteúdos e competências combinadas de Nanotecnologia e Medicina Tradicional. Sistemas nanoestruturados biofuncionais vêm sendo amplamente estudados e investigados como uma proposta sustentável para prevenção, diagnóstico e terapia de doenças de elevada especificidade e sensibilidade, embora as estratégias e ferramentas até o momento conhecidas ainda careçam de aprimoramento.

A tendência à miniaturização dos dispositivos biomédicos à escala nanométrica possibilita a construção de sistemas nanoestruturados biofuncionais com habilidade para mimetizar estrutura, propriedades e funções, bem como interagir com os componentes biológicos do organismo humano. Além disso, esses sistemas podem também ser projetados e otimizados para aplicações em sequenciamento de genes para terapia gênica e celular, contribuindo de maneira significativa para detecção e prevenção de diferentes tipos de doenças em estágio inicial.

Ponderações contrárias à aplicação de biomateriais em escala nanométrica devem também ser levadas em conta, uma vez que ainda não se tem total conhecimento de todos os seus riscos e impactos sobre a saúde humana e meio ambiente. Portanto, é de suma importância reflexões sobre as estratégias e ferramentas utilizadas em Nanomedicina que necessitem ainda de maiores aprofundamentos científicos, bem como de regulamentação pertinente à sua aplicação que garanta segurança e confiabilidade.

REFERÊNCIAS

1. Sato Y, Takinoue M. Creation of artificial cell-like structures promoted by microfluidics technologies. *Micromachines*. 2019; 10(4): 216. DOI:10.3390/mi10040216.
2. Salehi-Reyhani A, Ces O, Elani Y. Artificial cell mimics as simplified models for the study of cell biology. *Experimental Biology and Medicine*. 2017; 242(13): 1309-1317. DOI:10.1177/1535370217711441.
3. Elani Y. Construction of membrane-bound artificial cells using microfluidics: a new frontier in bottom-up synthetic biology. *Biochemical Society Transactions*. 2016; 44(3): 723-30. DOI:10.1042/BST20160052.
4. Ding Y, Wu F, Tan C. Synthetic biology: a bridge between artificial and natural cells. *Life*. 2014; 4(4): 1092-1116. DOI: 10.3390/life4041092.
5. Majumder S, Wubshet N, Liu AP. Encapsulation of complex solutions using droplet microfluidics towards the synthesis of artificial cells. *Journal of Micromechanics and Microengineering*. 2019; 29(8): 083001. DOI: 10.1088/1361-6439/ab2377.

6. Yabu H. Fabrication of nanostructured composite microspheres based on the self-assembly of polymers and functional nanomaterials. *Particle & Particle Systems Characterization*. 2019; 36(9):1900178. DOI: 10.1002/ppsc.201900178.
7. Supramaniam P, Ces O, Salehi-Reyhani A. Microfluidics for artificial life: techniques for bottom-up synthetic biology. *Micromachines*. 2019; 10(5): 299. DOI:10.3390/mi10050299.
8. Higashi T, Iohara D, Motoyama K et al. Supramolecular pharmaceutical sciences: a novel concept combining pharmaceutical sciences and supramolecular chemistry with a focus on cyclodextrin-based supermolecules. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*. 2018; 66(3): 207-216.
9. Xu C, Hu S, Chen X. Artificial cells: from basic science to applications. *Materials Today*. 2016; 19(9): 516-532. DOI: 10.1016/j.mattod.2016.02.020.
10. Chang TMS. ARTIFICIAL CELL evolves into nanomedicine, biotherapeutics, blood substitutes, drug delivery, enzyme/gene therapy, cancer therapy, cell/stem cell therapy, nanoparticles, liposomes, bioencapsulation, replicating synthetic cells, cell encapsulation/scaffold, biosorbent/immunosorbent haemoperfusion/plasmapheresis, regenerative medicine, encapsulated microbe, nanobiotechnology, nanotechnology. *Artificial cells, Nanomedicine, and Biotechnology*. 2019; 47(1): 997-1013. DOI: 10.1080/21691401.2019.1577885.
11. Noba K, Ishikawa M, Uyeda A et al. Bottom-up creation of an artificial cell covered with the adhesive bacterionanofiber protein AtaA. *Journal of The American Chemical Society*. 2019; 141(48): 19058-19066. DOI: 10.1021/jacs.9b09340
12. Gao S, Chen S, Lu Q. Cell-imprinted biomimetic interface for intelligent recognition and efficient capture of CTCs. *Biomaterials Science*. 2019; 7(10): 4027-4035. DOI:10.1039/C9BM01008D.
13. Han Y, Pan H, Li W et al. T cell membrane mimicking nanoparticles with bioorthogonal targeting and immune recognition for enhanced photothermal therapy. *Advanced Science*. 2019; 6(15):1900251. DOI:10.1002/advs.201900251.
14. Spinks GM. Advanced actuator materials powered by biomimetic helical fiber topologies. *Advanced Materials*. 2019; 1904093. DOI: 10.1002/adma.201904093.
15. Cherwin A, Namen S, Rapacz J et al. Design of a novel oxygen therapeutic using polymeric hydrogel microcapsules mimicking red blood cells. *Pharmaceutics*. 2019; 11(11): 583. DOI: 10.3390/pharmaceutics11110583.
16. Rhodes KR, Green JJ. Nanoscale artificial antigen presenting cells for cancer immunotherapy. *Molecular Immunology*. 2018; 98(SI):13-18. DOI: 10.1016/j.molimm.2018.02.016.
17. Meyer KC, Labriola NR, Darling EM et al. Shape-preserved transformation of biological cells into synthetic hydrogel microparticles. *Advanced Biosystems*. 2019; 3(4):1800285. DOI:10.1002/adbi.201800285.
18. Kong Y, Hanna MES, Zhuo D et al. Self-assembly of mesoscale artificial clathrin mimics. *ACS Nano*. 2017; 11(10): 9889-9897. DOI:10.1021/acsnano.7b03739.
19. Huang C, Yang G, Ha Q et al. multifunctional “smart” particles engineered from live immunocytes: toward capture and release of cancer cells. *Advanced Materials*. 2015; 27(2): 310-313. DOI: 10.1002/adma.201402213.
20. Dolmans MM, Amorim CA. Construction and use of artificial ovaries. *Reproduction*. 2019; 158(5): F15-F25. DOI: 10.1530/REP-18-0536.

21. Einfalt T, Garni M, Witzigmann D et al. Bioinspired molecular factories with architecture and in vivo functionalities as cell mimics. *Advanced Science*. 2020; 1901923. DOI: 10.1002/advs.201901923.
22. Deng Jiu, Wei W, Chen Z et al. Engineered liver-on-a-chip platform to mimic liver functions and its biomedical applications: a review. *Micromachines*. 2019; 10(10): 676. DOI:10.3390/mi10100676.
23. Wang Y, Wang J. Mixed hydrogel bead-based tumor spheroid formation and anticancer drug testing. *Analyst*. 2014; 139(10): 2449-2458. DOI: 10.1039/c4an00015c.
24. Luo J, Meng J, Gu Z et al. Topography-induced cell self-organization from simple to complex aggregates. *Small*. 2019; 15(15): 1900030. DOI: 10.1002/smll.201900030.
25. Zhang B, Montgomery M, Chamberlain MD et al. Biodegradable scaffold with built-in vasculature for organ-on-a-chip engineering and direct surgical anastomosis. *Natural Materials*. 2016; 15(6): 669-678. DOI: 10.1038/nmat4570.
26. Simmel FC. Synthetic organelles. *Emerging Topics in Life Sciences*. 2019; 3(5): 587-595. DOI: 10.1042/ETLS20190056.
27. Martín NY, Valer L, Mansy SS. Toward long-lasting artificial cells that better mimic natural living cells. *Emerging Topics in Life Sciences*. 2019; 3(5): 597-607. DOI: 10.1042/ETLS20190026.
28. Bayley H, Cazimoglu I, Hoskin CEG. Synthetic tissues. *Emerging Topics in Life Sciences*. 2019; 3(5): 615-622. DOI: 10.1042/ETLS20190120.
29. Śmigiel WM, Lefrançois P, Poolman B. Physicochemical considerations for bottom-up synthetic biology. *Emerging Topics in Life Sciences*. 2019; 3(5): 445-458. DOI: 10.1042/ETLS20190017.
30. Huang X, Li M, Green DC et al. (2013) Interfacial assembly of protein-polymer nanoconjugates into stimulus-responsive biomimetic protocells. *Nature Communications*. 2013; 4: 2239. DOI: 10.1038/ncomms3239.
31. Sun S, Li M, Dong F et al. Chemical signaling and functional activation in colloidosome-based protocells. *Small*. 2016; 12(): 1920-1927. DOI: 10.1002/smll.201600243.
32. Rideau E, Dimova R, Schwille Pet al. Liposomes and polymersomes: a comparative review towards cell mimicking. *Chemical Society Reviews*. 2018; 47(): 8572-8610. DOI: 10.1039/C8CS00162F.
33. Zhang X, Gong C, Akakuru OU et al. The design and biomedical applications of self-assembled two-dimensional organic biomaterials. *Chemical Society Reviews*. 2019; 48(23): 5564-5595. DOI: 10.1039/c8cs01003j.
34. Wang L, Wang J. Self-assembly of colloids based on microfluidics. *Nanoscale*. 2019; 11(36): 16708-16722. DOI: 10.1039/c9nr06817a.
35. Korayem MH, Farid AA, Hefzabad RN. Nonclassical dynamic modeling of nano/microparticles during nanomanipulation processes. *Beilstein Journal of Nanotechnology*. 2020; 11: 147-166. DOI: 10.3762/bjnano.11.13.
36. Rao BG, Mukherjee D, Reddy BM. Chapter 1: Novel approaches for preparation of nanoparticles. *Nanostructures for Novel Therapy Synthesis, Characterization and Applications Micro and Nano Technologies*. 2017; 1-36. DOI: 10.1016/B978-0-323-46142-9.00001-3.
37. Wang X, Ben Ahmed N, Alvarez GS et al. Sol-gel encapsulation of biomolecules and cells for medicinal applications. *Current Topics in Medicinal Chemistry*. 2015; 15(3): 223-244. DOI: 10.2174/1568026614666141229112734.

38. Singh P, Srivastava S, Singh SK. Nanosilica: recent progress in synthesis, functionalization, biocompatibility, and biomedical applications. *ACS Biomaterials Science & Engineering*. 2019; 5(10): 4882-4898. DOI: 10.1021/acsbiomaterials.9b00464.
39. Zheng K, Boccaccini AR. Sol-gel processing of bioactive glass nanoparticles: A review. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2017; 249: 363-373. DOI: 10.1016/j.cis.2017.03.008.
40. Concu R, Ornelas M, Azenha M. Molecularly imprinted sol-gel materials for medical applications. *Current Topics in Medicinal Chemistry*. 2015; 19(17): 1653-1668. DOI : 10.2174/1568026614666141229112246.
41. Pereira LJB, Garcia-Rojas EE. Emulsões múltiplas: formação e aplicação em microencapsulamento de componentes bioativos. *Ciência Rural*. 2015; 45(1): 155-162. DOI: /10.1590/0103-8478cr20140315.
42. Espitia PJP, Fuenmayor CA, Otoni CG. Nanoemulsions: synthesis, characterization, and application in bio-based active food packaging. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2019; 18(1): 264-285. DOI: 10.1111/1541-4337.12405.
43. McClements DJ. Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities. *Soft Matter*. 2012; 8(6): 1719-1729.
44. Ezhilarasi PN, Karthik P, Chhanwal N et al. Nanoencapsulation techniques for food bioactive components: a review. *Food and Bioprocess Technology*. 2013; 6(3): 628-647. DOI 10.1007/s11947-012-0944-0.
45. Iyisan B, Landfester K. Modular approach for the design of smart polymeric nanocapsules. *Macromolecular Rapid Communications*. 2019; 40(1):1800577. DOI: 10.1002/marc.201800577.
46. Steichen SD, Calderera-Moore M, Peppas NA. A review of current nanoparticle and targeting moieties for the delivery of cancer therapeutics. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2013; 48(3): 416-427. DOI: 10.1016/j.ejps.2012.12.006.
47. Samarasinghe RM, Kanwar RK, Kanwar JR. The role of nanomedicine in cell based therapeutics in cancer and inflammation. *International Journal of Molecular and Cellular Medicine*. 2012; 1(3): 133-144.
48. Schaffazick SR, Guterres SS. Physicochemical characterization and stability of the polymeric nanoparticle systems for drug administration. *Química Nova*. 2003; 26(5): 726-737.
49. Thaiane Silva TM, Rodrigues LZ, Codevilla CF et al. Coacervação complexa: uma técnica para a encapsulação de probióticos. *Ciência e Natura*. 2015; 37 (SE):49-55. DOI:10.5902/2179-460X19714.
50. Del Valle EMM. Cyclodextrins and their uses: a review. *Process Biochemistry*. 2004; 39(9):1033-1046. DOI:10.1016/S0032-9592(03)00258-9.
51. Manuel TC. Estudo das interações de complexos de inclusão flavonoide/ciclodextrina com modelos de membrana biológica por simulações de dinâmica molecular. (Dissertação de Mestrado). São Jose do Rio Preto. 2016. 75p.
52. Gharib R, Greige-Gerges H, Fourmentin S et al. Liposomes incorporating cyclodextrin-drug inclusion complexes: current state of knowledge. *Carbohydrate Polymers*. 2015; 129: 175-186. DOI: 10.1016/j.carbpol.2015.04.048.
53. Suave J, Dallagnol EC, Pezzin APT et al. Microencapsulação: inovação em diferentes áreas. *Revista Saúde e Ambiente / Health and Environment Journal*. 2006; 7(2): 12-20.

54. Miranda A, Figueiras ARR. Aplicações da nanotecnologia em doenças do foro neurológico: vantagens e desafios. *Boletim Informativo Geum*. 2014; 5(4):14-30.
55. Batista CM, Carvalho CMB, Magalhães NSS. Lipossomas e suas aplicações terapêuticas: estado da arte. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. 2007; 43(2): 167-179.
56. Sercombe L, Veerati T, Moheimani F et al. Advances and challenges of liposome assisted drug delivery. *Frontiers in Pharmacology*. 2015; 6: 286. DOI: 10.3389/fphar.2015.00286.
57. Bei D, Meng J, Youan BBC. Engineering nanomedicines for improved melanoma therapy: progress and promises. *Nanomedicine*. 2010; 5(9):1385-1399. DOI: 10.2217/nnm.10.117.
58. Rao J, Prasad G, K E. Polymer nanoparticles: Preparation techniques and size-control parameters. *Progress In Polymer Science*. 2011; 36(7):887-913. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2011.01.001.
59. Delgado JMF. Preparação e caracterização de nanotransportadores (nanocápsulas, nanoesferas, lipossomas e transportadores lipídicos nanoestruturados) sem substância ativa. (Dissertação de Mestrado). 2013. Instituto Politécnico de Bragança, São Paulo.
60. Leimann FV. Nanopartículas híbridas de polímero natural (PHBV)/polímero sintético. 2011. 133 f. (Tese de Doutorado). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.
61. Cui H, Webber MJ, Stupp SI. Self-assembly of peptide amphiphiles: from molecules to nanostructures to biomaterials. *Biopolymers*. 2010; 94(1): 1-18. DOI: 10.1002/bip.21328.
62. Carloni L-E, Bezzu CG, Bonifazi, D. Patterning porous networks through self-assembly of programmed biomacromolecules. *Chemistry European Journal*. 2019; 25:16179-16200. DOI: 10.1002/chem.201902576.
63. Chan KH, Tay JJJ. Advancement of peptide nanobiotechnology via emerging microfluidic technology. *Micromachines*. 2019; 10(10): 627. DOI: 10.3390/mi10100627.
64. Saric M, Scheibel T. Engineering of silk proteins for materials applications. *Current Opinion in Biotechnology*. 2019; 60: 213-220. DOI: 10.1016/j.copbio.2019.05.005.
65. Edwards-Gayle CJC, Hamley IA. Self-assembly of bioactive peptides, peptide conjugates, and peptide mimetic materials. *Organic & Biomolecular Chemistry*. 2017; 15:5867-5876. DOI: 10.1039/c7ob01092c.
66. Saraee MB, Korayem MH. Dynamic simulation and modeling of the motion modes produced during the 3D controlled manipulation of biological micro/nanoparticles based on the AFM. *Journal of Theoretical Biology*. 2015; 378: 65-78. DOI: 10.1016/j.jtbi.2015.04.021.
67. Erkelenz M, Bauer DM, Meyer R et al. A facile method for preparation of tailored scaffolds for DNA-Origami. *Small*. 2014; 10(1): 73-77. DOI: 10.1002/smll.201300701.
68. Xavier PL, Chandrasekaran AR. DNA-based construction at the nanoscale: emerging trends and applications. *Nanotechnology*. 2018; 29(6): 062001. DOI: 10.1088/1361-6528/aaa120.
69. Oliveira NA, Roballo KCS, Neto AFSL et al. Bioimpressão e produção de mini-órgãos com células tronco. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 2017; 37(9):1032-1039. DOI: 10.1590/S0100-736X2017000900020.
70. Wang J, Yu Y, Guo J et al. The construction and application of three-dimensional biomaterials. *Advanced Biosystems*. 2019; 1900238. DOI: 10.1002/adbi.201900238.
71. Irvine AS, Venkatraman SS. Bioprinting and differentiation of stem cells. *Molecules*. 2016; 21(9):1188. DOI:10.3390/molecules21091188.

72. Mutreja I, Woodfield TB, Sperling S et al. Positive and negative bioimprinted polymeric substrates: new platforms for cell culture. *Biofabrication*. 2015; 7(2): 025002. DOI: 10.1088/1758-5090/7/2/025002.
73. Iyisan B, Landfester K. Modular approach for the design of smart polymeric nanocapsules. *Macromolecular Rapid Communications*. 2019; 40(1):1800577. DOI: 10.1002/marc.201800577.
74. Lombardo D, Calandra P, Barreca D et al. Soft interaction in liposome nanocarriers for therapeutic drug delivery. *Nanomaterials*. 2016; 6(7):125. doi:10.3390/nano6070125.
75. Ramos IMFC. Nanopartículas poliméricas funcionalizadas para liberação de fármaco no sistema nervoso central. 2018. 217 f. (Tese de Doutorado). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.
76. Morgan CE, Wasserman MA, Kibbe MR. Targeted nanotherapies for the treatment of surgical diseases. *Annals of Surgery*. 2016; 263(5): 900-907. DOI: 10.1097/SLA.0000000000001605.
77. Jiang S, Win KY, Liu S et al. Surface-functionalized nanoparticles for biosensing and imaging-guided therapeutics. *Nanoscale*. 2013; 5(8): 3127-3148. DOI: 10.1039/c3nr34005h.
78. Holgado MA, Martin-Banderas L, Alvarez-Fuentes J et al. Drug targeting to cancer by nanoparticles surface functionalized with special biomolecules. *Current Medicinal Chemistry*. 2012; 19(19):3188-3195.
79. Molavipordanjani S, Hosseinimehr SJ. Strategies for conjugation of biomolecules to nanoparticles as tumor targeting agents. *Current Pharmaceutical Design*. 2019; 25(37): 3917-3926. DOI:10.2174/1381612825666190903154847.
80. Karimi F, O'Connor AJ, Qiao GG et al. Integrin clustering matters: a review of biomaterials functionalized with multivalent integrin-binding ligands to improve cell adhesion, migration, differentiation, angiogenesis, and biomedical device integration. *Advanced Healthcare Materials*. 2018;7(12): 1701324. DOI: 10.1002/adhm.201701324.
81. Rodda AE, Meagher L, Nisbet DR et al. Specific control of cell-material interactions: targeting cell receptors using ligand-functionalized polymer substrates. *Progress In Polymer Science*. 2014; 39(7): 1312-1347. DOI:10.1016/j.progpolymsci.2013.11.006
82. Yoo J, Park C, Yi G et al. Active targeting strategies using biological ligands for nanoparticle drug delivery systems. *Cancers*. 2019; 11(5): 640. DOI: 10.3390/cancers11050640.
83. Saallah S, Lenggoro IW. Nanoparticles carrying biological molecules: recent advances and applications. *Kona Powder and Particle Journal*. 2018; 35:89-111. DOI: 10.14356/kona.2018015.
84. Welsch N, Lu Y, Dzubiella J et al. Adsorption of proteins to functional polymeric nanoparticles. *Polymer*. 2013; 54(12): 2835-2849. DOI: 10.1016/j.polymer.2013.03.027.
85. Brito AMM, Belletti E, Menezes LR et al. Proteins and peptides at the interfaces of nanostructures. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. 2019; 91(4): e20181236. DOI: 10.1590/0001-3765201920181236.
86. Marco A. Nanomaterial bio-activation and macromolecules functionalization: The search for reliable protocols. *Protein Expression and Purification*. 2018; 147: 49-52. DOI: 10.1016/j.pep.2018.02.010.
87. Biju V. Chemical modifications and bioconjugate reactions of nanomaterials for sensing, imaging, drug delivery and therapy. *Chemical Society Reviews*. 2014; 43(3):744-764. DOI: 10.1039/c3cs60273g.

88. Putzbach W, Ronkainen NJ. Immobilization techniques in the fabrication of nanomaterial-based electrochemical biosensors: a review. *Sensors*. 2013; 13(4): 4811-4840. DOI: 10.3390/s130404811.
89. Makaraviciute Asta, Ramanaviciene A. Site-directed antibody immobilization techniques for immunosensors. *Biosensors & Bioelectronics*. 2013; 50: 460-471. DOI: 10.1016/j.bios.2013.06.060.
90. Ding J, Chen J, Gao L et al. Engineered nanomedicines with enhanced tumor penetration. *Nano Today*. 2019; 29: 100800. DOI: 10.1016/j.nantod.2019.100800.
91. Wu P-H, Opadele AE, Onodera Y et al. Targeting integrins in cancer nanomedicine: applications in cancer diagnosis and therapy. *Cancers*. 2019; 11(11): 1783. DOI: 10.3390/cancers11111783.
92. Lungu II, Grumezescu AM, Volceanov A et al. Nanobiomaterials used in cancer therapy: an up-to-date overview. *Molecules*. 2019; 24(19): 3547. DOI: 10.3390/molecules24193547.
93. Conte R, Calarco A, Peluso G. *International Journal of Nano Dimension*. 2018; 9(3): 209-214.
94. Anselmo AC, Mitragotri S. Nanoparticles in the clinic. *Bioengineering & Translational Medicine*. 2016; 1(1):10-29. DOI:10.1002/btm2.10003.
95. Anselmo AC, Mitragotri S. Nanoparticles in the clinic: an update. *Bioengineering & Translational Medicine*. 2019; 4(3):10143. DOI: 10.1002/btm2.10143.
96. Madamsetty VS, Mukherjee A, Mukherjee S. Recent trends of the bio-inspired nanoparticles in cancer theranostics. *Frontiers in Pharmacology*. 2019;10:1264. DOI: 10.3389/fphar.2019.01264.
97. Yang Z, Ma Y, Zhao H et al. Nanotechnology platforms for cancer immunotherapy. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*. 2020; 12(2): DOI: 10.1002/wnan.1590.
98. Feng X, Dixon H, Glen-Ravenhill H et al. Smart nanotechnologies to target tumor with deep penetration depth for efficient cancer treatment and imaging. *Advanced Therapeutics*. 2019; 2(10):1900093. DOI: 10.1002/adtp.201900093.
99. Tran S, DeGiovanni P-J, Piel B et al. Cancer nanomedicine: a review of recent success in drug delivery. *Clinical And Translational Medicine*. 2017; 6: 44. DOI: 10.1186/s40169-017-0175-0.
100. Fan M, Geng S, Liu Yang et al. Nanocrystal technology as a strategy to improve drug bioavailability and antitumor efficacy for the cancer treatment. *Current Pharmaceutical Design*. 2018; 24(21): 2416-2424. DOI: 10.2174/1381612824666180515154109.
101. Wu K, Su D, Liu J et al. Magnetic nanoparticles in nanomedicine: a review of recent advances. *Nanotechnology*. 2019; 30(50): 502003. DOI: 10.1088/1361-6528/ab4241.
102. Wagner AM, Knipe JM, Orive G et al. Quantum dots in biomedical applications. *Acta Biomaterialia*. 2019; 94: 44-63. DOI: 10.1016/j.actbio.2019.05.022.
103. Jia Y, Chuang Z; XiaoDong W et al. Development of micro- and nanorobotics: a review. *Science China-Technological Sciences*. 2019; 62(1): 1-20. DOI: 10.1007/s11431-018-9339-8.
104. Negri V, Pacheco-Torres J, Calle D et al. Carbon nanotubes in biomedicine. *Topics in Current Chemistry*. 2020; 378(1):15. DOI:10.1007/s41061-019-0278-8.
105. Simon J, Flahaut E, Golzio M. Overview of carbon nanotubes for biomedical applications. *Materials*. 2019; 12(4): 624. DOI:10.3390/ma12040624.

106. Fu L, Zhai J. Biomimetic stimuli-responsive nanochannels and their applications. *Electrophoresis*.2019; 40(16-17): 2058-2074. DOI 10.1002/elps.201800536.
107. Pierige F, Bigini N, Rossi L et al. Reengineering red blood cells for cellular therapeutics and diagnostics. *Wiley Interdisciplinary Reviews:Nanomedicine and Nanobiotechnology*.2017; 9(5): e1454. DOI: 10.1002/wnan.1454.
108. Qin Li, Jiang S, He H et al. Functional black phosphorus nanosheets for cancer therapy. *Journal of Controlled Release*. 2020; 318: 50-66. DOI: 10.1016/j.jconrel.2019.12.013.
109. Veintemillas-Verdaguer Sabino, Marciello M, del Puerto Morales M et al. Magnetic nanocrystals for biomedical applications. *Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials*. 2014; 60(3-4):80-86. DOI: 10.1016/j.pcrysgrow.2014.09.002.
110. Kartel MT, Ivanov LV, Kovalenko SN et al. Carbon nanotubes: biorisks and biodefence. *Biodefence: Advanced Materials and Methods for Health Protection. NATO Science for Peace and Security Series A: Chemistry and Biology*.2011; Chapter 2:11-22. DOI 10.1007/978-94-007-0217-2.
111. Ruffert C. Magnetic bead-magic bullet. *Micromachines*. 2016; 7(2): 21. DOI: 10.3390/mi7020021.
112. Wu K, Su D, Liu J et al. Magnetic nanoparticles in nanomedicine: a review of recent advances. *Nanotechnology*. 2019; 30(50): 502003. DOI: 10.1088/1361-6528/ab4241.
113. Nuzhina JV, Shtil AA, Prilepskii AY et al. Preclinical evaluation and clinical translation of magnetite-based nanomedicines. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2019; 54: 101282. DOI: 10.1016/j.jddst.2019.101282.
114. Eggenberger OM, Ying C, Mayer M. Surface coatings for solid-state nanopores. *Nanoscale*. 2019; 11(42): 19636-19657. DOI: 10.1039/c9nr05367k.
115. Zhang Q, Cheng Y, Cao P et al. Solid-state nanopores for ion and small molecule analysis. *Chinese Chemical Letters*. 2019; 30(9):1607-1617. DOI: 10.1016/j.ccllet.2019.06.011.
116. Acharya S, Edwards S, Schmidt J. Research highlights: nanopore protein detection and analysis. *Lab on a Chip*. 2015; 15(17): 3424-3427. DOI: 10.1039/c5lc90076j.
117. Waduge P, He R, Bandarkar P et al. Nanopore-based measurements of protein size, fluctuations, and conformational changes. *ACS Nano*. 2017; 11(6): 5706-5716. DOI: 10.1021/acsnano.7b01212.
118. Ali M, Nasir S, Ensinger W. Stereoselective detection of amino acids with protein-modified single asymmetric nanopores. *Electrochimica Acta*. 2016; 215: 231-237. DOI: 10.1016/j.electacta.2016.08.067.
119. Fyta M. Threading DNA through nanopores for biosensing applications. *Journal of Physics-Condensed Matter*. 2015; 27(27): 273101. DOI: 10.1088/0953-8984/27/27/273101.
120. Bialas C, Moser C, Sims CA. Artificial oxygen carriers and red blood cell substitutes: a historic overview and recent developments toward military and clinical relevance. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*. 2019; 87(1) : S48-S58. DOI: 10.1097/TA.0000000000002250.
121. Gupta AS. Bio-inspired nanomedicine strategies for artificial blood components. *Wiley Interdisciplinary Reviews - Nanomedicine And Nanobiotechnology*. 2017; 9(6): e1464. DOI: 10.1002/wnan.1464.
122. Marin TM, Pagani E. Sistemas microfisiológicos compostos por organoides humanos em dispositivos microfluídicos: avanços e desafios. *Vigilância Sanitaria em Debate - Sociedade Ciencia & Tecnologia*. 2018; 6(2): 74-91. DOI: 10.22239/2317-269x.01053.

123. Park DY, Lee J, Chung JJ et al. Integrating organs-on-chips: multiplexing, scaling, vascularization, and innervation. *Trends in Biotechnology*. 2020; 38(1): 99-112. DOI: 10.1016/j.tibtech.2019.06.006.
124. Miri AK, Mostafavi E, Khorsandi D et al. Bioprinters for organs-on-chips. *Biofabrication*. 2019; 11(4): 042002. DOI: 10.1088/1758-5090/ab2798.
125. Kratz SRA, Hoell G, Schuller P et al. Latest trends in biosensing for microphysiological organs-on-a-chip and body-on-a-chip systems. *Biosensors-Basel*. 2019; 9(3): 110. DOI: 10.3390/bios9030110.
126. Cui P, Wang S. Application of microfluidic chip technology in pharmaceutical analysis: a review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2019; 9(4): 238-247. DOI: 10.1016/j.jpha.2018.12.001.
127. Friese A, Ursu A, Hochheimer A et al. The convergence of stem cell technologies and phenotypic drug Discovery. *Cell Chemical Biology*. 2019; 26(8):1050-1066. DOI: 10.1016/j.chembiol.2019.05.007.
128. Elani Y. Construction of membrane-bound artificial cells using microfluidics: a new frontier in bottom-up synthetic biology. *Biochemical Society Transactions*. 2016; 44: 723-730. DOI:10.1042/BST20160052.
129. Aufinger L, Simmel FC. Establishing communication between artificial cells. *Chemistry-A European Journal*. 2019; 25(55): 12659-12670. DOI: 10.1002/chem.201901726.
130. Jeong S, Huong TN, Kim CH et al. Toward artificial cells: novel advances in energy conversion and cellular motility. *Advanced Functional Materials*. 2020; 30: 1907182. DOI: 10.1002/adfm.201907182.
131. Wagler PF, Tangen U, Maeke T et al. Field programmable chemistry: integrated chemical and electronic processing of informational molecules towards electronic chemical cells. *Biosystems*. 2012; 109(1): 2-17. DOI: 10.1016/j.biosystems.2012.01.005.