

NANOENCAPSULAMENTO DO FÁRMACO FOTOQUIMIOTERÁPICO HIPERICINA E DO QUIMIOTERÁPICO CISPLATINA EM NANOPARTÍCULAS COPOLIMÉRICAS COLOIDAIS ALMEJANDO A TERAPIA COMBINADA ANTICÂNCER

Tauane Helena de Souza (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Ana Carolina Vieira de Oliveira (Coorientadora), Wilker Caetano (Orientador).
ra116836@uem.br

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Exatas, Maringá, PR

Química, Físico-Química

Palavras-chave: Nanopartículas copoliméricas; Fotoquimioterapia; Quimioterapia.

RESUMO

No presente projeto foram realizadas caracterizações físico-químicas iniciais para posterior obtenção de um sistema nanoestruturado capaz de encapsular os fármacos Hipericina e Cisplatina em nanopartículas copoliméricas do Pluronic® P-123. Para tal, inicialmente foi realizada a preparação e caracterização de micelas copoliméricas de Pluronic® P-123 em PBS, com e sem a Hipericina. Realizou-se a determinação do Coeficiente de Absortividade Molar (ϵ) da Cisplatina em PBS. Por fim, foi determinada a interação dos fármacos com as micelas de P-123. Quanto as micelas copoliméricas de P-123, os resultados de análises de DLS e Potencial Zeta demonstraram tamanho e carga superficial adequados para as nanopartículas, e análises de UV-VIS e emissão de fluorescência indicaram a manutenção do caráter espectroscópico monomérico da Hipericina em P-123. Além disso, por meio de análises de UV-Vis, determinou-se o Coeficiente de Absortividade Molar (ϵ) da Cisplatina em PBS para dois comprimentos de onda. Por fim, o elevado valor da constante de ligação (K_b) encontrado para o sistema P-123/Hipericina, indica sua afinidade com o copolímero, enquanto que, para o sistema P-123/Cisplatina observou-se uma diminuição na absorbância da Cisplatina, indicando a redução de sua solubilidade no meio estudado. Ao se considerar a Terapia Combinada, a baixa solubilidade da Cisplatina pode ser compensada por seu efeito sinérgico com a Hip (maior eficácia e reduzidos efeitos colaterais).

INTRODUÇÃO

Embora a medicina esteja em constante avanço, atualmente, o câncer de colo de útero continua sendo um desafio significativo na área da saúde feminina, uma vez que, milhares de mulheres em todo o mundo são diagnosticadas com essa condição a cada ano.^[1] A abordagem terapêutica convencional, que inclui cirurgia, radioterapia e quimioterapia.^[2] Dentro da classe dos quimioterápicos, a Cisplatina é amplamente

usada para o tratamento de diferentes tipos de cânceres, mas, possui baixa solubilidade em água e causa efeitos adversos, como danos nefrotóxicos, neurotóxicos, distúrbios gastrointestinais, hemorragia, e etc.^[3]

Nesse sentido, terapias alternativas vem sendo desenvolvidas, e entre elas, encontra-se a Terapia Fotodinâmica (TFD),^[2] que envolve a administração de um agente fotossensibilizador e a subsequente irradiação do tecido alvo com luz de comprimento de onda específico.^[3] Esse processo desencadeia uma série de reações fotoquímicas que resultam na geração de espécies reativas de oxigênio capazes de danificar seletivamente as células tumorais, levando à sua destruição.^[2]

A vantagem fundamental dessa abordagem reside na sua seletividade, que minimiza os danos às células sadias circundantes, diminuindo assim os efeitos adversos comuns às terapias tradicionais.^[2] Na classe de FS, a Hipericina (Hip) vem se destacando por suas propriedades como alta absorção da região do visível e alto rendimento de oxigênio singleto, entretanto, seu uso torna-se limitado devido ao seu caráter hidrofóbico, que causa agregação da mesma quando em solução aquosa.^[4]

A fim de solucionar o problema da alta hidrofobicidade desses fármacos, têm-se feito uso da nanotecnologia na produção de nanomateriais carreadores de medicamentos. Estes nanomateriais são conhecidos como *Sistemas Drug-Delivery* (DDS), pois possuem a capacidade de transportar e liberar o fármaco por tempo prolongado, com mínimos efeitos colaterais. Uma classe de nanomateriais utilizada como carreador de fármacos hidrofóbicos são os Pluronic®, copolímeros de caráter anfifílico constituídos de blocos hidrofílicos de poli (óxido de etileno) (PEO) e blocos hidrofóbicos de poli (óxido de propileno) (PPO), dispostos em uma cadeia PEO-PPO-PEO. Acima de sua temperatura e concentração micelar crítica (TCM e CMC, respectivamente), estes copolímeros se auto organizam em micelas copoliméricas de núcleo hidrofóbico e estrutura externa hidrofílica. Dessa forma, é possível incorporar os fármacos lipossolúveis no núcleo hidrofóbico (PPO) protegendo-os da inativação biológica, enquanto a superfície hidrofílica (PEO) pode interagir com meios aquosos e/ou fluidos biológicos.^[5]

Portanto, o presente trabalho teve como objetivo o estudo das micelas copoliméricas de P-123 contendo os fármacos Hip e Cisplatina, de modo a se combinar o efeito quimioterápico da Cisplatina com o efeito fototerapêutico da Hip, levando à atuação do tratamento por dois mecanismos de morte celular distintos (Terapia Combinada), o que implica em uma maior potencialidade para destruir células neoplásicas, e reduzidos efeitos colaterais quando comparado ao fármaco administrado isoladamente.

MATERIAIS E MÉTODOS

Materiais

O Pluronic® P-123 e a Cisplatina foram adquiridos da Sigma-Aldrich. O etanol (EtOH) foi adquirido da Synth, e o tampão fosfato (PBS) foi adquirido do Laboratório de Citologia Clínica e ISTs (LabCito). O fármaco Hip ou 4,5,7,4',5',7'-hexahidroxi-2,2'-dimetilnaftodiantrona ($504,44 \text{ g mol}^{-1}$) usado neste projeto foi sintetizado e purificado

(98,0 %) no grupo de pesquisa Núcleo de Pesquisa em Sistemas Fotodinâmicos (NUPESF).

Métodos

Foi preparada a solução estoque de Hip em etanol, e na sequência foi realizada a preparação das nanopartículas copoliméricas pelo método de dispersão sólida. Tais nanopartículas tiveram suas propriedades avaliadas por Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS) e Potencial Zeta, para determinar as propriedades de tamanho polidispersividade e carga superficial das nanopartículas e, Absorção Eletrônica na região do UV-Vis e Emissão de Fluorescência para determinar as propriedades espectroscópicas da Hip. Além disso, foi preparada uma solução estoque de Cisplatina em PBS, a qual foi utilizada para determinação do Coeficiente de Absortividade Molar (ϵ) da Cisplatina em PBS, por meio de análises de Absorção Eletrônica na região do UV-Vis. Ao final, foi realizada a determinação da constante de ligação (K_b) fármaco/P123 para Cisplatina e Hip separadamente (a 25°C), a fim de ser determinada a interação dos fármacos com as micelas copoliméricas de P-123.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente, uma solução estoque de Hip em EtOH foi preparada e padronizada por Absorção Eletrônica na Região do UV-Vis. Considerando o ϵ da Hip em $\lambda=591$ nm como $41.500 \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1} \text{ L}^{-1}$, obteve-se uma solução estoque com concentração de $1,69 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. Após preparação das micelas copoliméricas, foram efetuados estudos espectrofotométricos de absorbância eletrônica e emissão de fluorescência das micelas copoliméricas de P-123 carregadas com Hip, resultando em picos característicos da Hip em sua forma monomérica, solúvel na parte hidrofóbica da micela. As nanopartículas copoliméricas de P-123 com e sem Hip tiveram suas propriedades de tamanho de partícula, índice de polidispersividade e potencial de superfície avaliadas, tendo sido obtidos resultados satisfatórios de tamanho, homogeneidade e carga superficial.

Adicionalmente, foi feita uma solução estoque de Cisplatina em PBS, analisando, a qual foi utilizada para a obtenção do Coeficiente de Absortividade Molar (ϵ). Após coleta dos espectros, foi obtida curva de calibração, resultando em ϵ de 1363,31, para a Cisplatina em PBS no $\lambda=233$ nm. Ademais, foi obtida a curva de calibração para o $\lambda=297$ nm, o qual forneceu um ϵ de 283,95, para a Cisplatina em PBS.

Por fim, foi determinada a interação dos fármacos com as micelas de P-123, por meio de estudos de sucessivas adições de copolímeros à Hip e Cisplatina. Para Hip foi observado um aumento da absorbância da Hip com aumento do copolímero no meio. Por meio da isoterma de ligação obtida por ajuste teórico, determinou-se a constante de ligação (K_b) para P-123/Hip de $105 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ indicando uma forte interação entre a Hip e o micro ambiente micelar. Para o sistema Hip/Cisplatina foi observada uma redução da absorbância com a adição de copolímero, indicando que há uma diminuição da solubilidade do fármaco no meio. Destaca-se que, embora tenha sido observada uma indicação de redução na solubilidade da Cisplatina em micelas copoliméricas, a utilização deste fármaco de modo combinado à Hip (em P-

123) pode implicar em maior eficácia do tratamento (efeito sinérgico), resultando na necessidade de menores quantidades de fármaco e consequentemente, reduzindo a toxicidade da Cisplatina, especialmente quando comparada a toxicidade advinda de sua administração livre.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste projeto demonstraram o potencial de incorporação dos fármacos Hip e Cisplatina nas micelas copoliméricas de P-123. As propriedades físico-químicas das nanopartículas se mostraram promissoras. A investigação de demais propriedades, bem como a incorporação de Hip e Cisplatina em P-123 serão realizadas no projeto seguinte.

AGRADECIMENTOS

Agradecimento ao CNPq, CAPES, Fundação Araucária/SETI-UGF/PR pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- [1] SUNG H.; Ferlay J.; Siegel R. L.; Laversanne M.; Soerjomataram I.; Jemal A.; Bray, F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN. Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. **CA: A Cancer J Clin.** 2021, 71(3):209–49. Acesso em: 16 agosto 2023.
- [2] – SIMPLICIO, F.I.; MAIONCHI, F.; HIOKA, N. Terapia fotodinâmica: aspectos farmacológicos, aplicações e avanços recentes no desenvolvimento de medicamentos. Química Nova, v. 25, n. **Quím. Nova**, 2022 25(5), p 801-807, set 2002. Acesso em: 17 agosto 2023.
- [3] – UTAMA, K., KHAMTO, N.; MEEPOWPAN, P.; AOBCHAY, P.; KANTAPAN, J.; SRINGARM, K.; ROYTRAKUL, S.; SANGTHONG, P. Effects of 2',4'-Dihydroxy-6'-methoxy-3',5'-dimethylchalcone from Syzygium nervosum Seeds on Antiproliferative, DNA Damage, Cell Cycle Arrest, and Apoptosis in Human Cervical Cancer Cell Lines. **Molecules.** 2022, 27(4): 1154. Acesso em: 17 agosto 2023.
- [4] – KUBIN, A.; LOEW, H. G.; BURNER, U.; JESSNER, G.; KOLBABEK, H.; WIERRANI, F. How to make hypericin water-soluble. **Pharmazie.** 2008, 63(4):263–9. Acesso em: 18 agosto 2023.
- [5] – DAMKE, G. M. Z. F.; DAMKE, E.; BONFIM-MENDONÇA P, S.; RATTI, B. A., DE MEIRELLES, L. E. F.; DA SILVA, V. R. S.; GONÇALVES, R. S.; CÉSAR, G. B., SILVA, S. O.; CAETANO, W.; HUOKA, N.; SOUZA, R. P.; CONSOLARO, M .E. L. Selective photodynamic effects on cervical cancer cells provided by P123 Pluronic®-based nanoparticles modulating hypericin delivery. **Life Sci.** 2020, 15; 255:117858. Acesso em: 18 agosto 2023.