

NANOPARTÍCULAS DE OURO E ERITROSINA B INCORPORADAS EM MICELAS POLIMÉRICAS DE PLURONIC® ALMEJANDO A TERAPIA COMBINADA DO CÂNCER

Luana Marques Bussolo (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Thais Lazzarotto Braga, Camila Fabiano de Freitas (coorientadora) e Wilker Caetano (Orientador).
E-mail: ra123982@uem.br

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

Ciências exatas e da terra – Química

Palavras-chave: Terapia Fotodinâmica, Fototerapia, Nanopartícula de Ouro.

RESUMO

O aumento dos casos de câncer com resistência aos tratamentos convencionais é um dos grandes problemas de saúde. Com o intuito de contornar esse cenário, a combinação entre as Terapias Fotodinâmica (TFD) empregando-se um fotossensibilizador(FS), Eritrosina B (ERI), e a Terapia Fototérmica (TFT) utilizando-se as nanopartículas de ouro (AuNPs), como uma promissora estratégia. Assim, nesse estudo foram analisadas as propriedades físicas, químicas e fotofísicas das nanoestruturas obtidas a partir da incorporação dos ativos em micelas obtidas a partir dos copolímeros tribloco P-123 e F-127. Também foram empregadas técnicas como espectroscopia de absorção eletrônica, emissão de fluorescência e espalhamento de luz dinâmico (DLS) para avaliar as características das amostras. Os ensaios confirmaram a presença das AuNPs nas amostras, o estudo de supressão de fluorescência permitiu estimar a localização da ERI na corona hidrofílica da micela. As análises em DLS permitiram determinar o diâmetro médio para amostras com F-127 e P-123. Além disso, estudos de estabilidade perante a variação da temperatura utilizando-se o LED verde (530 nm) foram realizados e apontaram uma pequena variação de temperatura (3 a 4°C) para todas as amostras. Ademais, análises de microscopia eletrônica de Transmissão mostraram as estruturas micelares e das AuNPs (256 ± 64) nas amostras. Com isso, as análises dos diversos resultados culminaram na determinação da eficiência de quais soluções são mais propícias para a Terapia Combinada do Anticâncer, que conta com as terapias fotodinâmica e fototérmica e as soluções com concentração de 2% mostraram melhor desempenho.

INTRODUÇÃO

O incentivo a avanços tecnológicos trazem novas modalidades clínicas como as Terapias Fotodinâmica (TFD) e a Terapia Fototérmica (TFT) que são caracterizadas pela sua seletividade na morte celular (ROBERTSON, Claudine A. *et al.*). A Terapia Fotodinâmica (TFD) conta com uma fonte de luz emitindo

comprimentos de onda específicos capaz de fotoativar um fotossensibilizador (FS) através de radiação e o uso do oxigênio molecular ($^3\text{O}_2$) presente nos tecidos. A combinação destes três componentes garante a eficácia da terapia na morte celular por apoptose ou necrose (ROBERTSON, Claudine A. *et al.*). O FS usado no presente projeto foi a Eritrosina B (ERI) que faz parte da classe dos xantenos. A ERI apresenta pureza química, estabilidade física e química e rápida eliminação do corpo, além de ser um composto de fácil obtenção em caso de aplicação industrial, mostrando ser um ótimo FS para aplicar na TFD (ROBERTSON, Claudine A. *et al.*).

A Terapia Fototérmica (TFT) conta com aplicação de agentes fototérmicos que agem na destruição de neoplasias celulares por meio da conversão da energia luminosa em calor (MACHADO, Antônio Eduardo da Hora.), a seletividade deste tipo de tratamento se dá pela vasculatura irregular da estrutura tumoral. A elevação da temperatura dos alvos biológicos ou em cerca de 40 à 44 °C, acarreta em mudanças na elasticidade, no fluxo sanguíneo, na síntese proteica e na dissociação ou inatividade das células tumorais de minutos, até horas ou dias. (MACHADO, Antônio Eduardo da Hora.). Visando a aplicação da TFT, as nanopartículas de ouro (AuNPs) foram empregadas como agentes fototérmicos por possuírem propriedades ópticas sintonizáveis nas regiões do infravermelho (ABADEER, Nardine S. *et al.*). Para estabilizar todo o sistema através da formação de micelas poliméricas nanoestruturadas, foram utilizados copolímeros tribloco do tipo ABA, com nome comercial de Pluronic®, especificamente o P-123 e o F-127. Suas características para a entrega de fármacos dependem das suas estruturas químicas caracterizadas por um bloco hidrofílico que é quimicamente ligado a um bloco hidrofóbico interno (ADAMS, Monica L. *et al.*). Além disso, os copolímeros desse tipo são capazes de reduzir o Au^{+3} atuando na formação das AuNPs, como comprovado na literatura, dispensando agentes redutores tóxicos para aplicação em humanos (Braga, 2023). Com a composição copolímero/AuNPs/ ERI, visou-se a obtenção de uma Terapia Combinada do Anticâncer, associando-se a atividade fotodinâmica da ERI com a atividade fototérmica característica das AuNPs

MATERIAIS E MÉTODOS

Para a síntese das nanopartículas de ouro (AuNPs) utilizou-se de uma metodologia proposta na literatura (Braga, 2023) onde os Plurônicos® P-123 e F-127 (Sigma Aldrich) em diferentes porcentagens (0,5 e 1,0 e 2,0% m/V) e o sal de ouro (AuCl_3 : $6,6 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} , Sigma Aldrich) foram dissolubilizados em etanol (Synth), em seguida o balão foi levado ao rotaevaporador para a retirada do solvente, seguido de um descanso *overnight* no dessecador. Posteriormente, foi adicionada a solução tampão PBS (pH = 7,4) (KCl ; Na_2HPO_4 , KH_2PO_4) ao balão e o mesmo foi deixado no banho de homogeneização pelo período de 4 horas à uma temperatura de 60°C. Por fim, a amostra foi caracterizada por diversas técnicas.

Para a incorporação da ERI na nanoestrutura foram empregadas duas metodologias: adição ativa e passiva. Na adição ativa, após a solubilização em etanol ocorre a adição da ERI (ERI 10 $\mu\text{mol/L}$ – Sigma Aldrich – DMSO). Já na adição passiva, a ERI foi adicionada no momento da inserção da solução tampão

PBS. Após a síntese, as formulações passaram por um processo de obtenção dos espectros de absorção eletrônica no primeiro dia, para avaliar a presença das AuNPs nas formulações, e durante o período de 30 dias a fim de determinar sua estabilidade com o tempo. Também foi realizada a caracterização do tamanho, índice de polidispersão e potencial zeta das partículas. Realizou-se também a análise da morfologia por Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM), estudos de supressão de Fluorescência e análises da estabilidade térmica com relação à variação da temperatura das amostras utilizando-se um LED verde (530 nm) nos compostos. Por fim, foram realizadas as medidas cinéticas para a determinação do rendimento quântico do oxigênio singleto empregando-se a sonda de ABDA (50 μ L) .

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos em sua maioria são referentes aos estudos feitos com formulações contendo 2% dos polímeros, Figura 1, uma vez que mostraram uma banda de absorbância bem definida e intensa quando comparada as outras amostras previamente analisadas. A estabilidade temporal das amostras mostrou-se de aproximadamente 15 dias. As maiores bandas de absorbância foram obtidas para as amostras de F-127 e de modo geral ambos os grupos de amostras mostraram comprimento de onda máximo entre 530-540 nm.

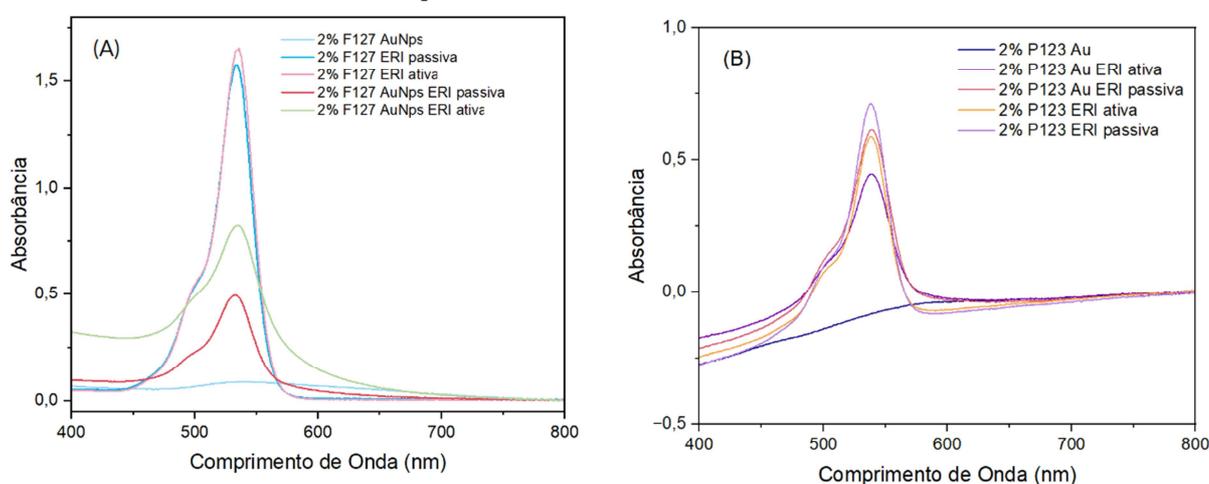


Figura 1: Espectro de absorbância dos sistemas nanoestruturados de (A) F-127 e (B) P-123

O diâmetro das AuNPs também mostrou valores variados com relação aos elementos presentes nas soluções e aos métodos de síntese empregados. O potencial zeta manteve-se neutro para a maioria das amostras com média $-6,07 \pm 7,93$ mV.cm³ para amostras com P-123 e $-5,58 \pm 2,74$ mV.cm³ para amostras com F-127. O índice de polidispersidade se manteve com um maior grau de homogeneidade para os sistemas contendo o polímero P-123 (0,277) do que para as amostras contendo o F-127 (0,402), definindo assim um bom grau de uniformidade do tamanho das AuNPs. As análises térmicas mostraram que as amostras mantiveram suas características ao serem submetidas ao aumento e a diminuição da

temperatura de 25 a 50°C. Ao incidir a luz verde do LED nas amostras e analisar a variação da temperatura por determinado período de tempo, o aumento da temperatura ficou em torno dos 3°C, não indicando alta influência dos LEDs nas amostras, o que poderia ser melhorado com o aumento da potência do LED, fato que ainda está sob investigação. Além disso, os resultados obtidos através do TEM, observam-se estruturas esféricas bem definidas com diâmetro de 256 ± 64 nm e inclusive a formação das micelas poliméricas ao redor dos núcleos. Já o estudo de supressão de fluorescência mostrou um decaimento na intensidade de emissão da ERI com o aumento da concentração de iodeto, indicando a localização da ERI na corona hidrofílica micelar.

CONCLUSÕES

O desenvolvimento das formas distintas garantiu uma estabilidade satisfatória para as formulações, com a adequada formação das micelas poliméricas e AuNPs, bem como a incorporação da ERI. Além do mais, as amostras apresentaram boa estabilidade cinética e térmica, se mostrando propícias para aplicações na Terapia Combinada Anticâncer. Acrescenta-se ainda que os compostos utilizados nas formulações são de caráter biodegradável e biocompatível e são elementos de fácil obtenção para futuras aplicações biológicas..

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos voltados à CNPq pelo apoio financeiro à ciência e ao desenvolvimento tecnológico.

REFERÊNCIAS

ROBERTSON, Claudine A.; EVANS, D. Hawkins; ABRAHAMSE, Heidi. Photodynamic therapy (PDT): a short review on cellular mechanisms and cancer research applications for PDT. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 96, n. 1, p. 1-8, 2009.

MACHADO, Antonio Eduardo da Hora. Terapia fotodinâmica: princípios, potencial de aplicação e perspectivas. *Química Nova*, v. 23, p. 237-243, 2000.s

ABADEER, Nardine S.; MURPHY, Catherine J. Recent progress in cancer thermal therapy using gold nanoparticles. *The Journal of Physical Chemistry C*, v. 120, n. 9, p. 4691-4716, 2016.

ADAMS, Monica L.; LAVASANIFAR, Afsaneh; KWON, Glen S. Amphiphilic block copolymers for drug delivery. *Journal of pharmaceutical sciences*, v. 92, n. 7, p. 1343-1355, 2003.

32º Encontro Anual de Iniciação Científica
12º Encontro Anual de Iniciação Científica Júnior



23 e 24 de Novembro de 2023

BRAGA, Thais Lazzarotto et al. Pluronic® P-123 as a reductant and stabilizing agent for gold nanoparticles (AuNPs) combined with methylene blue for photodynamic and photothermal therapy. *Journal of Molecular Liquids*, v. 383, p. 122111, 2023.