

**PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DE UM MEDICAMENTO TERANÓSTICO
NANOESTRUTURADO CONSISTINDO DE NANOPARTÍCULAS SOLOPLUS®
COM O FÁRMACO FOTOATIVO HIPERICINA E O QUIMIOTERÁPICO
CISPLATINA NANOENCAPSULADOS ALMEJANDO A FOTOQUIMIOTERAPIA/
QUIMIOTERAPIA COMBINADA ANTICÂNCER CERVICAL**

Isabelle Martins Teixeira (PIBIC/CNPq/UEM), Jeibson Joaquim dos Santos, Thais Lazzarotto Braga (Co-orientadora), Wilker Caetano (Orientador). E-mail: wcaetano@uem.br

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

Química/Físico-Químico.

Palavras-chaves: Fármaco Fotoativo; Hipericina; Quimioterápico.

RESUMO

O câncer cervical é o quarto tipo de câncer mais incidente em mulheres no mundo, apresentando também elevadas taxas de mortalidade. Nesse cenário, terapias combinadas têm se mostrado estratégias relevantes, pois permitem atingir múltiplos alvos biológicos. A terapia fotodinâmica (TFD) destaca-se por sua seletividade e redução de efeitos colaterais sistêmicos e, quando associada à quimioterapia, pode potencializar a eficácia antitumoral. Este trabalho teve como objetivo investigar propriedades físico-químicas da hipericina (fármaco fotoativo), tanto em solução homogênea quanto em sistemas nanoestruturados, além de avaliar o encapsulamento desses compostos em nanopartículas poliméricas formadas pelo copolímero Soluplus®. Inicialmente, foram preparadas soluções estoque dos fármacos em diferentes solventes e determinadas suas absorvidades molares (ϵ) por espectrofotometria de absorção molecular (UV-Vis), a partir de curvas de calibração. Em seguida, foram obtidas isotermas de associação para cálculo de constantes de ligação (K_b) e parâmetros termodinâmicos. Por fim, determinou-se a eficiência de encapsulamento (EE%) da hipericina em nanopartículas Soluplus®. Os resultados indicaram que o Soluplus® é um sistema promissor para a incorporação da hipericina. Essa molécula, preparada em solução estoque ($1,05 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$), apresentou forte interação com o copolímero, com constante de ligação (K_b) de $2,72 \times 10^5 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$. Um valor de eficiência de encapsulamento de 94,3% foi estimado, evidenciando elevada afinidade entre hipericina/Soluplus®. Esses resultados sugerem alto potencial terapêutico da formulação para aplicações em terapia combinada contra o câncer cervical.

INTRODUÇÃO

O câncer cervical é a quarta causa de morte por câncer em mulheres e está fortemente associado à infecção persistente por HPV. Os tratamentos convencionais (quimioterapia, radioterapia e cirurgia) têm apresentado eficácia limitada e efeitos colaterais significativos. A terapia fotodinâmica (TFD) surge como alternativa

minimamente invasiva, usando fármacos fotoativos que, ao serem excitados por luz, geram espécies reativas de oxigênio capazes de destruir células tumorais. A hipericina, derivada de *Hypericum perforatum*, é um fotoativo promissor, mas sua baixa solubilidade em água dificulta o uso clínico (DAMKE *et al.*, 2020). O excipiente Soloplus® é um copolímero anfifílico capaz de formar nanopartículas que aumentam a solubilidade de compostos hidrofóbicos (ATTIA *et al.*, 2023). Então, dessa forma o trabalho tem como o objetivo gerar um medicamento contendo o fármaco fotoquimioterápico hipericina objetivando a terapia combinada anticâncer cervical.

MATERIAIS E MÉTODOS

Materiais

Soloplus® (Sol) (BASF, Ludwigshafen am Rhein, Alemanha), doado por BASF, Brasil/ Prof. Dr. Marcos Bruschi, Departamento de Farmácia-Universidade Estadual de Maringá; Cloridrato de doxorubicina, Sigma-Aldrich; Hipericina, Chongqing Chemdad Co., Ltd, China; Etanol (99,8%), Synth; Espectrofotômetro da Varian modelo Cary-50; Espectrofluorímetro da Varian modelo Cary Eclipse; Sonicador (Cristófoli Equipamentos de Biossegurança LTDA).

Métodos

1. Preparação da solução estoque de hipericina.

Para a preparação da solução estoque foram pesados 5,3 mg de hipericina, utilizando uma balança analítica. A massa pesada foi transferida para um balão volumétrico de 10 mL e seu volume completado com etanol (99,8%) até o menisco, e então homogeneizada. Em seguida, foi calculada a concentração dessa solução utilizando os seguintes cálculos:

$$n = \frac{m}{MM} \quad \text{(Equação 1)}$$

$$C = \frac{n}{V} \quad \text{(Equação 2)}$$

2. Estudo da interação da hipericina com as nanopartículas de Soloplus®.

Em uma cubeta de quartzo (caminho óptico de 1,0 cm) contendo 2,0 mL de água deionizada (Milli-Q), adicionou-se 50,0 µL da solução estoque de hipericina. A concentração final foi determinada segundo a Equação 3. Posteriormente, registraram-se espectros de emissão de fluorescência no espectrofluorímetro Varian Cary Eclipse, mediante a titulação com alíquotas sucessivas (5,0–175,0 µL) de Soloplus® ($5,0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$). Os sinais obtidos foram corrigidos pelo fator de diluição (Equação 5) e correlacionados às concentrações de Soloplus®. A partir desses dados, construiu-se a isoterma de associação hipericina/Soloplus®, considerando o comprimento de onda correspondente a banda de máxima emissão.

$$C_2 = \frac{C_1 \cdot V_1}{V_2} \quad \text{(Equação 3)}$$

Os pontos experimentais dessa isoterma foram ajustados para obter o valor da constante termodinâmica de ligação (K_b) do fármaco fotoativo as nanopartículas, utilizando a Equação 4 (CAETANO; TABAK, 1999).

$$F = F_f + \frac{(F_0 - F_f)}{\left(\frac{1}{K_b[S] - CMC}\right)^N + 1} \quad \text{(Equação 4)}$$

3. Determinação da Eficiência de Encapsulamento (EE%) da hipericina nas nanopartículas de Soloplus®:

A eficiência de encapsulamento foi calculado pela seguinte equação:

$$EE\% = \frac{[C]_{(medida)}}{[C]_{(teórica)}} \times 100 \quad \text{(Equação 5)}$$

Os valores da $[C]_{(medida)}$ fora obtida através das absorbâncias oriundas dos espectros de absorbância molecular dos formulados e tratados pela Lei de Lambert-Beer Equação 6.

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c \quad \text{(Equação 6)}$$

O coeficiente de absorvidade molar (ϵ) da hipericina em etanol utilizado para o cálculo da concentração de hipericina na cubeta após a diluição foi de $4 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ no comprimento de onda $\lambda = 598 \text{ nm}$ (esse valor já consta na literatura).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

1. Preparação da solução estoque de hipericina.

A quantidade de mols e a concentração da solução estoque de hipericina preparadas no Item 1. foram calculadas a partir da massa molar da hipericina (504,44 g/mol), utilizando as Equações 1 e 2.

$$n = \frac{m}{MM} = \frac{5,30 \times 10^{-3} \text{ g}}{504,44 \text{ g/mol}} = 1,05 \times 10^{-5} \text{ mol}$$
$$C = \frac{n}{V} = \frac{1,05 \times 10^{-5} \text{ mol}}{0,01 \text{ L}} = 1,05 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$$

2. Estudo da interação da hipericina com as nanopartículas de Soloplus®.

Após obter a concentração $2,63 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ utilizando a equação 3 e então, foram obtidas isotermas de associação dos fármacos de nanopartículas de Soloplus® e foi determinado a constante de ligação (K_b) termodinâmica que foi de $2,72 \times 10^5 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$, através da análise o ajuste dos pontos experimentais utilizando a equação 4.

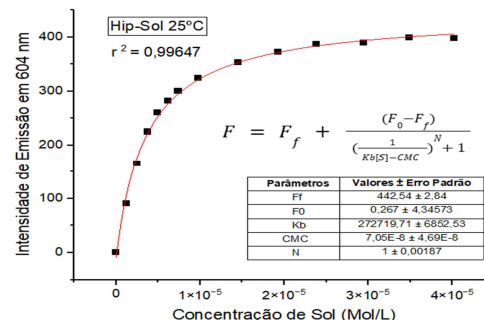
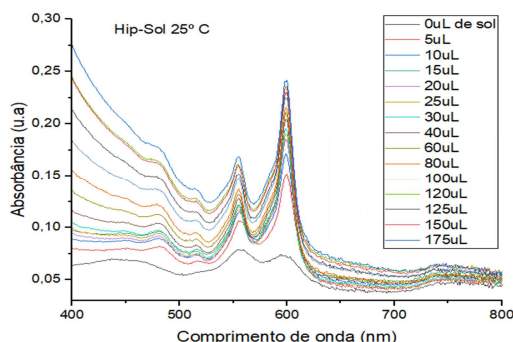


Figura A e B: (A) Valores de Absorbância (corrigidas) nos comprimentos de onda entre 400 nm a 800nm, obtidos através da técnica de UV-Vis, após a adição de diferentes volumes da solução de Soluplus® ($5,0 \times 10^{-4} \text{ mol. L}^{-1}$) em uma solução de hipericina ($1,05 \times 10^{-3} \text{ mol. L}^{-1}$). (B) A isoterma de associação construída com os valores de absorbância (corrigidos) na banda de comprimento de onda de 598 nm, em função da concentração de Soluplus® com o ajuste da curva realizada através da Equação 4, com os valores e os respectivos erros dos parâmetros da equação.

3. Determinação da Eficiência de Encapsulamento (EE%) da hipericina nas nanopartículas de Soluplus®:

Realizando o cálculo, pode-se observar que a eficiência de encapsulamento da hipericina em Soluplus® foi de 94,3%, sendo bastante satisfatória e demonstrando que essas substâncias têm grande afinidade uma com a outra no medicamento.

CONCLUSÃO

Foi observado com o estudo uma alta interação com a hipericina/Soluplus® e uma elevada eficiência de encapsulamento no sistema, apresentando seu $(K_b) = 2,72 \times 10^5 \text{ L.mol}^{-1}$ obtido usando o espectrofotômetro. Então, por terem uma alta afinidade pode-se dizer que apresentam um alto potencial para a terapia combinada no câncer cervical.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador Wilker Caetano pela orientação durante o projeto, bem como ao PIBIC/CNPq e à Universidade Estadual de Maringá, CAPES e CNPq pelo fomento e suporte institucional.

REFERÊNCIAS

DAMKE, G. M. Z. F. *et al.* Selective photodynamic effects on cervical cancer cells provided by P123 Pluronic®-based nanoparticles modulating hypericin delivery. *Life Sciences*, v. 255, p. 117858, 2020.

ATTIA, M. S., *et al.* Soluplus® as a solubilizing excipient poorly water-soluble drugs: recent advances in formulation strategies and pharmaceutical product features. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, V. 84. 2023.

CAETANO, W., TABAK, M. 1999. - Interaction of Chlorpromazine and Trifluoperazine with Ionic Micelles: Electronic Absorption Spectroscopy Studies. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 55: 2513–28.