

## DESENVOLVIMENTO DE UM FOTOSSENSIBILIZADOR MAGNÉTICO A PARTIR DA ASSOCIAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE FERRO E INDICADOR ÁCIDO-BASE

Maria E. R. Lira<sup>1</sup>; Maurício F. S. Filho<sup>2</sup>; Mariana P. Cabrera<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Departamento de Engenharia Biomédica, Centro de Tecnologia e Geociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife - PE, Brasil.*

<sup>2</sup>*Departamento de Química Fundamental, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal de Pernambuco, Recife - PE, Brasil.*

**Palavras-Chave:** Ferrofluido, Azul de Metileno, Nanomedicina.

### Introdução

De acordo com o Instituto Nacional do Câncer (INCA), estima-se cerca de 704 mil casos novos de câncer no Brasil para cada ano do triênio 2023-2025, sendo o tipo mais incidente, o câncer de pele do tipo não-melanoma, representando 31,3% do total de casos (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2023). A resistência de células tumorais à morte é um dos grandes desafios de terapias convencionais de tratamento para cânceres. Atualmente, buscam-se terapias que possam não apenas eliminar tumores primários, mas também que desencadeiam respostas imunes antitumorais sistêmicas (MACHADO, 2000). Nesse contexto, a terapia fotodinâmica (TFD) tem se revelado como uma estratégia com elevado potencial diante das terapias usuais, como quimioterapia e radioterapia, uma vez que ela é menos invasiva, causa menos efeitos colaterais e pode ser usada repetidas vezes sem danos significativos aos tecidos saudáveis (OLIVEIRA, 2024).

A TFD é uma técnica que tem por objetivo a destruição de um tecido. Ela se utiliza de três componentes principais: oxigênio, luz e um fotossensibilizador (FS). O processo se dá com a ativação do FS por um comprimento de onda específico, o qual absorve um fóton de energia passando a molécula do estado fundamental para o estado excitado, gerando o oxigênio singlete, como principal produto envolvido na morte celular, útil para tratar infecções bacterianas ou câncer (ISSA, 2010).

O azul de metileno (AM) é um corante orgânico da classe das fenotiazinas com comprimento de onda máximo de absorção em 660 nm. Este fármaco possui diversas aplicações na medicina, biologia, farmacologia e química. O AM é um FS amplamente utilizado na TFD uma vez que possui propriedades favoráveis e é de baixo custo. Este FS tem sido empregado no tratamento contra cepas de bactérias como *Staphylococcus aureus* (RODRIGUES, 2021) e contra células de adenocarcinoma do pulmão (LIM, 2013).

Com o intuito de desenvolver potenciais FS que auxiliem na TFD, os cientistas têm direcionado suas pesquisas no desenvolvimento de materiais avançados com características desejáveis e ajustáveis. O AM tem seu desempenho melhorado quando conjugado a nanopartículas como as SPIONs (do inglês *Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles*), uma vez que os nanomateriais são eficientes no aumento da estabilidade e no direcionamento ao tecido alvo, aumentando o acúmulo seletivo na região (SAMROT et al., 2021).

Portanto, o presente trabalho objetivou o desenvolvimento de um nanossistema híbrido a partir do SPIONs modificadas e conjugadas ao AM. O material resultante pode se apresentar como um promissor FS na TFD.

## Material e Métodos

A síntese das SPIONs foi baseada na metodologia descrita por Cabrera et al. (2017), o método de co-precipitação alcalina de sais ferro (II) e (III). Inicialmente, soluções aquosas de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  ( $4,0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) e de  $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  ( $2,7 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) foram misturadas e mantidas sob agitação magnética por alguns minutos. Posteriormente, hidróxido de amônio ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) foi adicionado à mistura. A solução resultante foi levada ao banho ultrassônico por 30 minutos a  $50^\circ\text{C}$ . Por fim, utilizou-se um super ímã de neodímio para fazer as lavagens com água ultrapura a fim de estabelecer pH neutro. O material resultante foi armazenado na geladeira até posterior uso.

O poli (4-estireno sulfonato de sódio) (PSSS) foi escolhido como agente funcionalizante das SPIONs, uma vez que polímeros podem usados para aumentar a estabilidade coloidal e a biodistribuição. No processo de modificação, as SPIONs e o PSSS foram postos em agitação por três horas, em água ultrapura, e a temperatura ambiente. A Tabela 1 mostra as variáveis que foram investigadas neste processo: o fator de diluição (1/10 - 1/30) das SPIONs e a concentração (m/v) do PSSS (0,5 – 1,5%). O material resultante (SPIONs-PSSS) foi lavado 3x com água ultrapura e armazenado na geladeira.

**Tabela 1.** Condições experimentais do processo de otimização da modificação das SPIONs com PSSS.

		Diluição das SPIONs		
		1/10	1/20	1/30
[PSSS]	0,5%	A <sub>1</sub>	A <sub>4</sub>	A <sub>7</sub>
	1,0%	A <sub>2</sub>	A <sub>5</sub>	A <sub>8</sub>
	1,5%	A <sub>3</sub>	A <sub>6</sub>	A <sub>9</sub>

Fonte: autoria própria, 2024.

A conjugação do AM no material SPIONs-PSSS foi de natureza eletrostática e baseou-se na mistura de 2 partes volumétricas das SPIONs-PSSS para 1 parte volumétrica do AM (Teste 1 – T<sub>1</sub>). Uma outra proporção investigada foi 4:1 de SPIONs-PSSS:AM (Teste 2 – T<sub>2</sub>). A concentração final do AM foi de  $45 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ . Os sistemas ficaram sob agitação magnética por 6 horas, foram separados magneticamente coletando-se os sobrenadantes e as lavagens de cada amostra para posterior análise de espectroscopia de absorção no UV-Vis. Com esses dados foi possível determinar, de forma indireta, a concentração de AM adsorvido no material magnético (SPIONs-PSSS).

Para a caracterização dos sistemas, foram realizadas as análises de potencial zeta, no Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) em equipamento Malvern Zetasizer Nano ZS Zen 3690 e Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), realizado na Central Analítica do Departamento de Química Fundamental da UFPE, em equipamento PERKIN ELMER modelo Spectrum 400, com preparação de amostras em pastilhas de KBr.

## Resultados e Discussão

A síntese das SPIONs ocorreu de forma satisfatória. As nanopartículas magnéticas apresentaram uma coloração escura, devido principalmente à predominância de magnetita, textura uniforme, boa estabilidade coloidal, excelente resposta magnética das SPIONs na presença de um ímã de neodímio e capacidade de re-dispersão após remoção do campo magnético externo.

Após a síntese dos sistemas SPIONs-PSSS, as amostras foram analisadas por potencial zeta com o intuito de avaliar a eficácia do processo de modificação de superfície. A Tabela 2 apresenta os valores de potencial zeta obtidos. O potencial zeta das SPIONs puras, sem qualquer modificação química, denominada como A<sub>0</sub>, assim como da amostra do PSSS, nomeada de A<sub>10</sub>, também são apresentados na Tabela 2.

**Tabela 2.** Potencial zeta das amostras de SPION-PSSS

Amostras	Potencial Zeta (mV)
A <sub>0</sub>	-23,00 <sup>a</sup>
A <sub>1</sub>	-49,30
A <sub>2</sub>	-51,37
A <sub>3</sub>	-40,63
A <sub>4</sub>	-49,97
A <sub>5</sub>	-46,17
A <sub>6</sub>	-43,03
A <sub>7</sub>	-49,87
A <sub>8</sub>	-39,70
A <sub>9</sub>	-33,37
A <sub>10</sub>	-47,10 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>: valor de potencial zeta para as SPIONs sozinhas, conforme Cabrera et al., 2017;

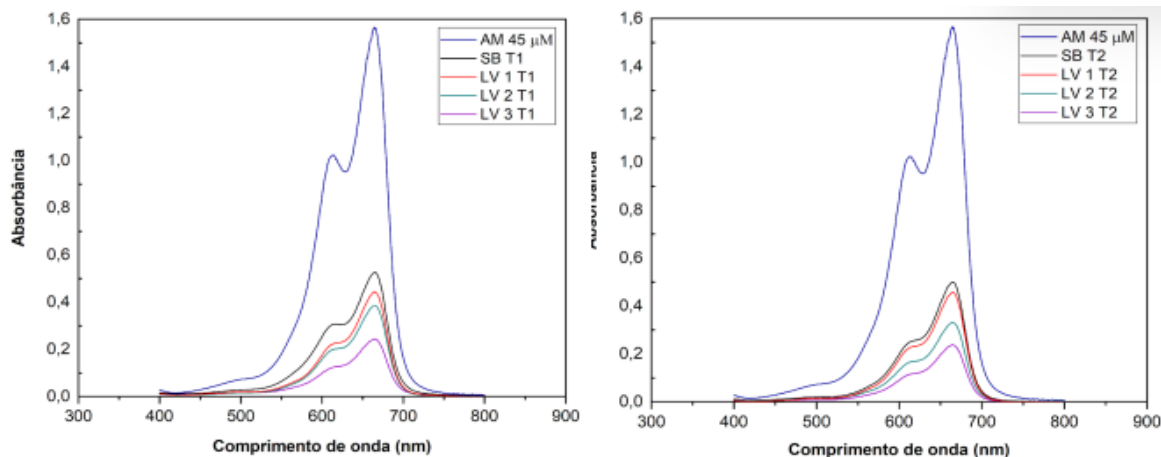
<sup>b</sup>: valor de potencial zeta para o PSSS, conforme SILVA, 2020.

Fonte: autoria própria, 2024.

A partir dos resultados obtidos é possível suportar que a modificação de superfície das SPIONs com o PSSS foi satisfatória, uma vez que o material resultante obteve um potencial zeta mais negativo quando comparado com o potencial das SPIONs puras, bem como se aproxima do potencial da amostra de PSSS. Dessa forma, ressalta-se que as condições experimentais do ensaio A5 foram as escolhidas para o processo de funcionalização das SPIONs com o PSSS.

O espectro de absorvância dos sistemas SPIONs-PSSS-AM está representado na Figura 1. É possível observar a presença de bandas em 615 nm e 660 nm, corroborando com as bandas de absorção do AM. Ressalta-se que a banda em 660 nm é característica do FS e encontra-se em maior intensidade. Tanto o sobrenadante (SB) quanto as lavagens (LV) das amostras foram recolhidas e analisadas no UV-Vis. Ainda, a Figura 1 mostra os espectros de absorvância das amostras T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub>. Observa-se que o perfil dos espectros é semelhante ao do AM, entretanto, possui valores de absorvância menores, o que suporta que a conjugação aconteceu de forma satisfatória.

**Figura 1.** Espectro de absorção dos sistemas SPIONs-PSSS-AM

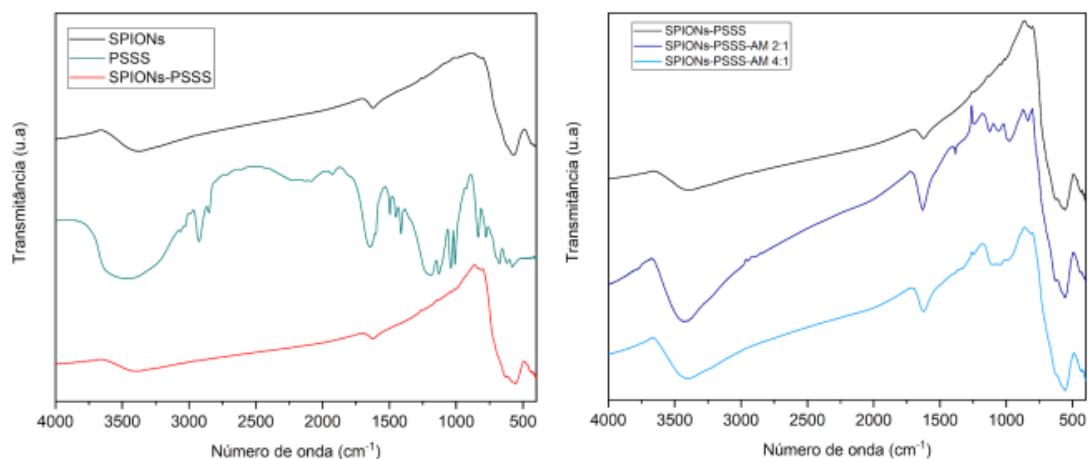


Fonte: autoria própria, 2024

A determinação da quantidade de AM adsorvido no material magnético (SPIONs-PSSS) foi calculada através de uma curva de calibração do AM ( $y=0,0272*x + 0,178$ ;  $R^2=0,991$ ). A partir dessas informações, foi possível estimar que aproximadamente 33% de AM foi adsorvido em T<sub>1</sub>. Já para o ensaio T<sub>2</sub>, aproximadamente 39% do FS foi adsorvido no material magnético. Portanto, considerando que ambos ensaios tiveram valores próximos de AM adsorvido no material SPIONs-PSSS, sugere-se que o T<sub>1</sub> seria o ensaio mais promissor por usar menor quantidade de materiais.

As amostras foram também caracterizadas por FTIR (Figura 2). O perfil de banda em  $3417\text{ cm}^{-1}$  diz respeito a ligação entre oxigênio e hidrogênio, enquanto o número de onda na faixa de  $1599\text{ cm}^{-1}$  pode ser atribuído à ligação entre hidrogênio e nitrogênio, os perfis próximos aos números de onda entre  $437\text{-}629\text{ cm}^{-1}$  correspondem à presença da ligação Fe-O (SANTOS, 2019). As bandas entre  $1142\text{-}1490\text{ cm}^{-1}$  podem ser atribuídas às duplas ligações entre carbonos (SU et al., 2018). Portanto, é possível suportar a presença de AM nas amostras analisadas.

**Figura 2.** Espectro de FTIR dos sistemas SPIONs-PSSS-AM



Fonte: autoria própria, 2024



## Conclusões

O presente trabalho conseguiu desenvolver uma metodologia de preparação de um nanossistema com boa estabilidade química e coloidal, assim como com propriedades magnéticas. O processo de conjugação por adsorção do AM no material SPIONs-PSSS mostrou-se eficiente. Porém, estudos futuros são necessários para aprimorar a eficiência da conjugação do FS na matriz magnética (SPIONs-PSSS). As técnicas de caracterização utilizadas permitiram suportar o sucesso nos processos de modificação de superfície das SPIONs, bem como da conjugação do AM. Desta forma, conclui-se que o nanomaterial desenvolvido apresenta características promissoras para aplicação na TFD.

## Referências

CABRERA, M. P. et al. Highly fluorescent and superparamagnetic nanosystem for biomedical applications. *Nanotechnology*, v. 28, n. 28, 23 jun. 2017.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. Estimativa 2023: Incidência de Câncer no Brasil. 2023. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/>

ISSA, Maria Cláudia Almeida; MANELA-AZULAY, Mônica. Terapia fotodinâmica: revisão da literatura e documentação iconográfica. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 85, p. 501-511, 2010.

LIM EJ, Oak CH, Heo J, Kim YH. Methylene blue-mediated photodynamic therapy enhances apoptosis in lung cancer cells. 2013 Aug; 30 (2):856–62.

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

OLIVEIRA, Rudson Antônio Ribeiro et al. Eficácia da terapia fotodinâmica no tratamento de lesões precursoras de câncer de pele. *Caderno Pedagógico*, v. 21, n. 8, p. e6974-e6974, 2024.

RODRIGUES, Cláudio H. et al. Silver nanoprisms as plasmonic enhancers applied in the photodynamic inactivation of *Staphylococcus aureus* isolated from bubaline mastitis. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, v. 34, p. 102315, 2021.

SAMROT, A. V. et al. Adsorption efficiency of chemically synthesized Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles (SPIONs) on crystal violet dye. *Current Research in Green and Sustainable Chemistry*, v. 4, 1 jan. 2021.

SILVA, S. B. M. Preparação de matriz magnética com potencial aplicação em terapia fotodinâmica. *Ufpe.br*, 8 dez. 2022.