



NANOPARTÍCULAS HÍBRIDAS TERMOSENSÍVEIS COMO UM NOVO SISTEMA CARREADOR DE AGENTES TERAPÊUTICOS

Matheus V. Maia(PG)^{1*}, Daniel C. F. Soares (PQ)¹; Ashok Kakkar(PQ)²

* matheus.mvmaia@gmail.com

¹ Laboratório de Bioengenharia, Universidade Federal de Itajubá, Itabira, Minas Gerais- Brasil

² Department of Chemistry, McGill University, Montréal, Quebec -Canada

RESUMO

RESUMO Nanopartículas híbridas termossensíveis baseadas em conjugados de proteína e polímero têm se destacado como promissores sistemas carreadores de agentes terapêuticos, especialmente em terapias oncológicas. Neste estudo, foi desenvolvido um novo sistema híbrido composto por fibroína de seda (SF) funcionalizada com um agente de transferência de cadeia (CTA), seguido da polimerização do N-vinilcaprolactama (NVCL) via RAFT (polimerização radicalar controlada) na superfície da proteína. O sistema híbrido SF-PNVCL foi caracterizado por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e análise termogravimétrica (TGA), confirmando a formação do material híbrido e sua estabilidade térmica. Nanopartículas híbridas foram obtidas pelo método co-solvente e caracterizadas por espalhamento dinâmico de luz (DLS), potencial zeta e microscopia eletrônica de transmissão (MET). As nanopartículas apresentaram tamanho hidrodinâmico médio de menor que 200 nm, baixa polidispersividade. A curcumina foi utilizada como droga modelo, com eficiência de encapsulamento de cerca de 45,95%. Os estudos de liberação foram realizados em duas temperaturas (25 °C e 40 °C), demonstrando liberação maior a 40 °C, confirmando o comportamento termorresponsivo do sistema. Ensaios de viabilidade celular in vitro com a linhagem 4T1 (câncer de mama murino) revelaram citotoxicidade significativa, enquanto testes com células MRC-5 (fibroblastos pulmonares humanos) indicaram baixa toxicidade, evidenciando seletividade antitumoral. Esses resultados apontam o sistema híbrido SF-PNVCL como uma plataforma promissora para o desenvolvimento de nanocarreadores inteligentes e seletivos para aplicação em terapias direcionadas.

Palavras-chave Curcumina; Híbridos; Liberação controlada; Nanopartículas; Polimerização.

Introdução

A fibroína de seda (SF) é uma proteína amplamente estudada como biomaterial devido à sua biocompatibilidade, biodegradabilidade e capacidade de funcionalização. A combinação da SF com poli(N-vinilcaprolactama) (PNVCL), polímero com resposta térmica, permite a elaboração de sistemas para liberação controlada de fármacos [1-3]. Neste trabalho, foi desenvolvido um sistema híbrido SF-PNVCL, via polimerização RAFT iniciada após ativação da SF com CTA-PFP. Foram preparadas nanopartículas carregadas com curcumina e avaliadas quanto a liberação controlada e citotoxicidade seletiva.

Experimental

Síntese do CTA-PFP : O CTA (ácido 2-((etoxicarbonotioil)tioil)-2-metilpropanoico) foi ativado com pentafluorofenol (PFP) usando DIC e DMAP em meio anidro de diclorometano, sob atmosfera de nitrogênio.

Polimerização RAFT: A fibroína foi funcionalizada com CTA-PFP em tampão PBS (pH ~9) por 24 h a 25 °C. Após purificação, o NVCL foi polimerizado na presença do sistema redox TBHP/ácido ascórbico em meio aquoso sob N₂. O produto final foi purificado por diálise (3,5 kDa) e liofilizado.

Preparo das nanopartículas : A partir das amostras liofilizadas, nanopartículas foram formadas por evaporação de co-solvente, adicionando-se solução em PBS à acetona ou solução de curcumina (0,2 mg/mL).

Resultados e Discussão

A ativação do CTA foi confirmada por espectrometria de massas por electrospray (ESI-MS), com picos em m/z 396,996 e 191,019. A espectroscopia no infravermelho (FTIR) (Figura 1A) confirmou a presença dos grupos funcionais característicos do PNVCL enxertado na estrutura da proteína. A análise termogravimétrica (TGA) (Figura 1B) revelou múltiplas etapas de degradação térmica, compatíveis com a composição híbrida do material. As nanopartículas SF-PNVCL apresentaram morfologia esférica, tamanho médio de 179 nm (Figura 1C), índice de polidispersividade (PDI) de 0,191 e potencial zeta de -19,28 mV, indicando boa uniformidade e estabilidade coloidal. A microscopia eletrônica de transmissão (MET) (Figura 1D) confirmou a presença de partículas bem definidas, com distribuição de tamanho compatível com os dados de DLS. A eficiência de encapsulamento da curcumina foi de 45,95%. O perfil de liberação acumulada (Figura 2) demonstrou comportamento termorresponsivo: a liberação a 40 °C atingiu cerca de 65% em 72 horas, enquanto a 25 °C foi inferior a 35%. A análise por citometria de fluxo com células MRC-5 (Figura 3) demonstrou baixa toxicidade em ambos os tratamentos. À esquerda, observa-se o efeito das nanopartículas SF-PNVCL sem curcumina ("brancas"), enquanto à direita estão as células expostas às nanopartículas SF-PNVCL carregadas com curcumina. Em ambos os casos, a maior parte da população celular permaneceu viável, confirmando a biocompatibilidade do sistema.



As imagens de microscopia óptica com a linhagem 4T1 (Figura 4) revelam, na parte superior, as células tumorais antes do tratamento, apresentando morfologia preservada e aderência. Na parte inferior, após exposição ao sistema SF-PNVCL-Cur, nota-se perda de adesão, fragmentação e alterações morfológicas compatíveis com morte celular, evidenciando o efeito citotóxico seletivo do sistema sobre células tumorais.

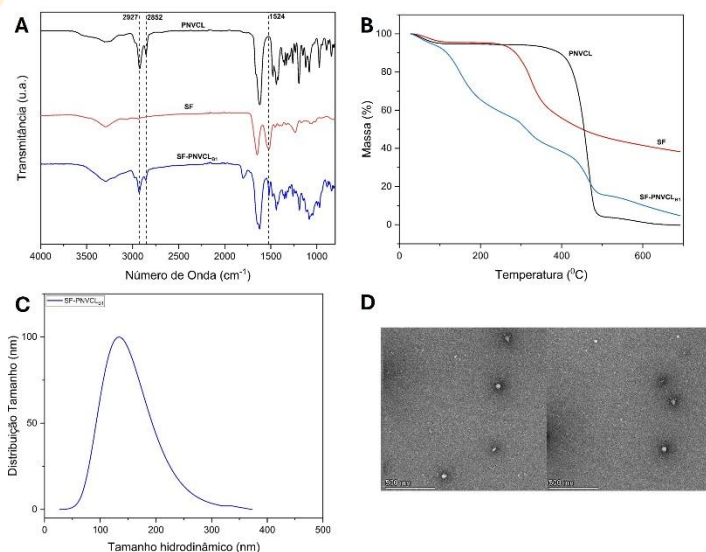


Figura 1. (A) Espectros de FTIR das amostras de fibroína (SF), PNVL e SF-PNVCL (B) Análise termogravimétrica (TGA) (C) Distribuição de tamanho hidrodinâmico das nanopartículas SF-PNVCL (D) Microscopia eletrônica de transmissão (MET) das nanopartículas

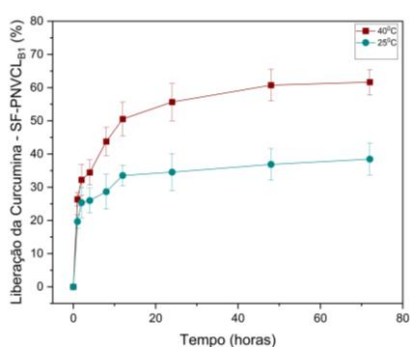


Figura 2. Porcentagem de liberação acumulada de curcumina em tampão PBS a 25 °C e 40 °C ao longo de 72 horas.

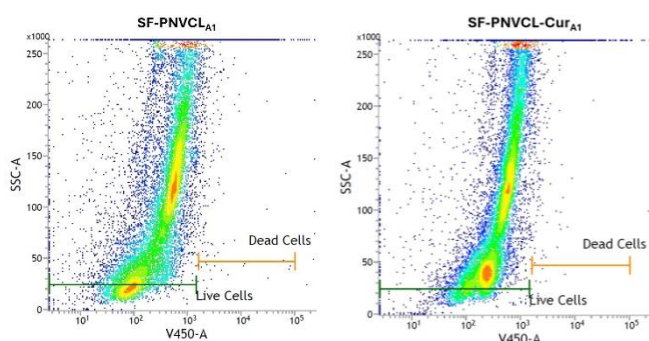


Figura 3. Análise de viabilidade celular em células MRC-5 por citometria de fluxo.

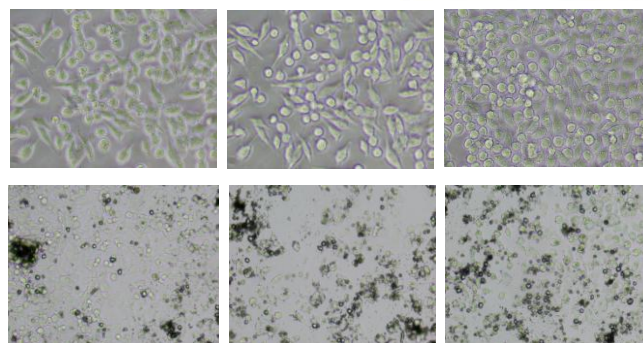


Figura 4. Imagens microscópicas de células 4T1 antes e após tratamento com SF-PNVCL-Cur.

Conclusões

O sistema híbrido SF-PNVCL desenvolvido neste estudo demonstrou características estruturais, físico-químicas e biológicas adequadas para aplicação como nanocarreador termorresponsivo de agentes terapêuticos. A polimerização controlada via RAFT permitiu a enxertia eficiente do polímero PNVL sobre a matriz de fibroína de seda, resultando em nanopartículas com morfologia esférica, tamanho médio uniforme e baixa polidispersividade.

A incorporação da curcumina como droga modelo foi realizada com boa eficiência de encapsulamento, e o sistema demonstrou perfil de liberação controlada e dependente da temperatura, com maior liberação a 40 °C — característica desejável para atuação seletiva em microambientes tumorais. A termorresponsividade associada à estrutura híbrida torna o sistema promissor para terapias localizadas, reduzindo potenciais efeitos adversos em tecidos saudáveis.

Do ponto de vista biológico, o sistema SF-PNVCL-Cur apresentou citotoxicidade seletiva contra células tumorais da linhagem 4T1, ao mesmo tempo em que manteve baixa toxicidade em células normais MRC-5. Esses resultados demonstram o potencial do sistema como nanocarreador inteligente.

Agradecimentos

Os autores agradecem à CAPES, à Universidade Federal de Itajubá (UNIFEI) e à McGill University-Canada pelo apoio técnico e científico concedido para o desenvolvimento deste trabalho.

Referências

- Maia, M.V.; Egito, E.S.T. do; Sapin-Minet, A.; Viana, D.B.; Kakkar, A.; Soares, D.C.F., *Molecules* **2025**, *30*, 328.
- Ferreira Soares, D.C.; Domingues, S.C.; Viana, D.B.; Tebaldi, M.L., *Biomed. Pharmacother.* **2020**, *131*, 110695.
- Gonzalez-Urias, A.; Licea-Claverie, A.; Sañudo-Barajas, J.A.; González-Ayón, M.A., *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 4722.