

PERFIL TOXICOLÓGICO IN VITRO DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS: INFLUÊNCIA DO TIPO DE POLÍMERO E DA COMPOSIÇÃO DA FORMULAÇÃO¹

Daniela Mathes², Letícia Bueno Macedo³, Daniele Rubert Nogueira-Librelotto⁴, Clarice Madalena Bueno Rolim⁵

¹ Trabalho de conclusão apresentado ao curso de Graduação em Farmácia da Universidade Federal de Santa Maria

² Aluna de Graduação em Farmácia da Universidade Federal de Santa Maria

³ Aluna do Programa de Pós- Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Santa Maria

⁴ Aluna do Programa de Pós- Doutorado da Universidade Federal de Santa Maria

⁵ Orientadora do Programa de Pós- Graduação da Universidade Federal de Santa Maria

Introdução: Nanotecnologia se trata de uma ciência em crescimento por permitir condições adaptáveis e direcionamento de terapias às formulações, consolidando-se como seguimento ativo para pesquisa e inovação. Nesse contexto, nanopartículas poliméricas têm apresentado potencial terapêutico significativo ao exibir carreadores coloidais, os quais se diferenciam pela disposição estrutural e composição em nanoesferas e nanocápsulas. Dessa forma, ao diferenciar polímeros e tensoativos, distinguem também estabilidade e propriedades biológicas. **Objetivos:** Preparar e caracterizar nanoformulações em formato de nanoesfera e nanocápsula baseadas em diferentes polímeros catiônicos e aniônicos, incluindo o poli (ácido láctico-co-ácido glicólico) (PLGA), poli-ε-crapolactona (PCL), Eudragit RL100 ou quitosana, bem como avaliar comparativamente as propriedades físico-químicas, estabilidade e perfil toxicológico *in vitro*. **Metodologia:** Nanopartículas poliméricas compostas pelos polímeros PLGA, PCL e Eudragit foram obtidas pelo método de nanoprecipitação, enquanto a formulação baseada em quitosana o método utilizado foi de gelificação iônica. A análise físico-química foi realizada em ZetaSizer, onde parâmetros como tamanho médio de partícula, índice de polidispersão (IPD) e potencial zeta (PZ) foram avaliados e, além disso, pH foi medido em potenciômetro previamente calibrado. Para o perfil de estabilidade, estes parâmetros foram analisados no tempo 0, logo após preparação, e também após 15 e 30 dias de armazenamento. Para avaliação do perfil toxicológico das formulações, empregaram-se métodos *in vitro* baseados em diferentes modelos celulares. Os ensaios de citotoxicidade foram realizados utilizando linhagem celular de fibroblastos murinos (3T3), através de determinação da viabilidade celular aplicando o ensaio MTT. A atividade hemolítica foi verificada através de ensaio de hemólise utilizando eritrócitos de voluntários humanos saudáveis com aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal

de Santa Maria sob número 95038618.0.0000.5346. Por fim, a interação com fluídos biológicos ricos em proteínas foi analisada *in vitro* utilizando teste de proteína corona.

Resultados: As nanopartículas evidenciaram tamanhos nanométricos adequados, visto que os resultados encontrados não ultrapassaram 300 nm, bem como PZ correspondente ao polímero utilizado, pH levemente ácido e IPD < 0,3 ao final do estudo de estabilidade das formulações. Como exceção, está a formulação baseada em Eudragit sem span, a qual apresentou variação de tamanho elevada, transparência incomum e sem presença de efeito tyndall. Além disso, as nanocápsulas de PCL sofreram alteração significativa de parâmetros como tamanho e IPD nos dias de análise. Nos estudos de citotoxicidade, as nanopartículas foram analisadas nas concentrações de 0,01%, 0,1%, 1,0%, 2,5% e 5,0% (v/v). As formulações com o polímero catiônico Eudragit apresentaram maior potencial citotóxico, sendo que a viabilidade celular diminuiu proporcionalmente ao aumento da concentração de nanopartícula no ensaio. Por outro lado, as nanoformulações compostas pelos polímeros aniônicos PCL e PLGA evidenciaram queda de viabilidade principalmente nas maiores concentrações testadas (2,5% e 5,0%), e essencialmente quando o tensoativo span 80 foi adicionado na matriz da nanopartícula. Ressalta-se a que as nanoesferas de PCL com span foram significativamente mais citotóxicas que as respectivas nanoesferas de PLGA ($p < 0,05$) na concentração de 5% (v/v). As nanopartículas de quitosana não evidenciaram efeitos citotóxicos nas concentrações testadas, o que pode ser atribuído especialmente à biocompatibilidade do polímero. Nos estudos de hemólise, capacidade hemolítica significativa foi demonstrada apenas pelas formulações compostas por Eudragit e, em maior proporção, na sua associação ao tensoativo span. Na avaliação do efeito proteína corona, evidenciou-se potencial de adsorção significativa de componentes biológicos apenas pelas nanoesferas baseadas em Eudragit, efeito esse comprovado pelo aumento do tamanho médio de partícula e IPD.

Conclusão: Os resultados demonstraram que as variações do tipo de polímero e da composição final da formulação resultaram em nanopartículas com parâmetros físico-químicos adequados durante os dias de análise de estabilidade, excetuando-se aquelas compostas por Eudragit sem span e as nanocápsulas de PCL. Somente as nanopartículas catiônicas compostas por Eudragit foram hemolíticas, sendo este efeito ainda mais pronunciado quando associado ao mecanismo hemolítico do tensoativo span 80. Os resultados dos ensaios de citotoxicidade evidenciaram uma ordem de biocompatibilidade dos polímeros testados, sendo quitosana > PLGA > PCL > Eudragit. Ainda, cabe destacar que a adição do tensoativo span 80 na composição da nanopartícula está diretamente relacionada a um aumento no potencial citotóxico.

Palavras-chave: Hemólise; Nanoformulações; Toxicidade.