

AVALIAÇÃO IN VITRO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL DE NANOPARTÍCULAS CONTENDO UM ORGANOSELENETO E DO SINERGISMO COM DOXORRUBICINA EM LINHAGEM CELULAR TUMORAL RESISTENTE¹

Letícia Bueno Macedo², Daniela Mathes³, Daniele Rubert Nogueira-Librelo⁴, Raquel Mello da Rosa⁵, Oscar Endrigo Dorneles Rodrigues⁶, Clarice Madalena Bueno Rolim⁷

¹ Pesquisa desenvolvida no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Santa Maria

² Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Santa Maria

³ Aluna do Curso de Graduação em Farmácia da Universidade Federal de Santa Maria

⁴ Pós-doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Santa Maria

⁵ Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Maria

⁶ Professor do Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal de Santa Maria

⁷ Professora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Santa Maria

Introdução: A quimioterapia é uma das abordagens terapêuticas mais comuns para o tratamento do câncer, essa tem como objetivo impedir o crescimento e propagação das células tumorais. No entanto, a maioria dos fármacos antitumorais atua de maneira inespecífica, causando diversos efeitos adversos. Uma alternativa que pode ser utilizada para aumentar a eficácia do tratamento do câncer é a terapia combinada, que consiste na associação de dois ou mais fármacos visando obter uma ação sinérgica ou aditiva. Através dessa estratégia é possível reduzir a toxicidade do tratamento, visto que possibilita atingir a ação desejada utilizando uma menor dosagem terapêutica de cada fármaco. Além disso, outra estratégia que pode ser utilizada a fim de melhorar a eficácia da terapia antitumoral é a associação de fármacos antitumorais à veículos nanoestruturados, uma vez que esses são capazes de se acumular no tecido tumoral devido as características de permeabilidade e retenção aumentadas que esse tecido possui. Além disso, sabendo que o tecido tumoral possui pH levemente acidificado quando comparado ao tecido normal, uma alternativa que pode tornar a terapia anticancerígena mais específica é a utilização de sistemas nanoestruturados pH-dependentes, já que esses podem ter maior potencial para liberar o fármaco no tecido tumoral. **Objetivos:** Preparar nanopartículas (NPs) de PLGA com o tensoativo pH-sensível 77 KL (N α ,N ϵ - dioctanoil lisina com contra-íon lítio) e contendo um composto derivado da zidovudina com potencial atividade antitumoral (5'-Seleno-(fenil)-3-(amino)-timidina, ACAT-Se), bem como caracterizá-las e avaliar sua atividade antitumoral *in vitro*. Além disso, verificar se as NPs desenvolvidas interagem de maneira sinérgica com o antitumoral doxorubicina (DOX). **Metodologia:** As NPs foram preparadas através do método de nanoprecipitação (NP-ACAT-Se) e foram caracterizadas

quanto a seu tamanho, índice de polidispersão (PDI), potencial zeta (PZ) e pH. A eficiência de encapsulação (EE) das NPs foi determinada através do dispositivo de centrifugação Amicon. A atividade antitumoral das NPs, bem como de sua associação com a DOX, foi avaliada em uma linhagem celular tumoral sensível (MCF-7, câncer de mama) e em uma linhagem resistente (NCI/ADR-Res, adenocarcinoma de ovário) utilizando o ensaio de viabilidade celular MTT. **Resultados:** As NPs apresentaram tamanho nanométrico ($118,92 \pm 11,37$ nm), PDI inferior a 0,2 ($0,129 \pm 0,04$) que indica a homogeneidade do sistema, PZ negativo característico da carga do polímero ($-4,28 \pm 0,70$), pH próximo ao fisiológico ($7,08 \pm 0,78$) e EE de $64,07 \pm 2,29$ %. Na linhagem celular MCF-7, as NP-ACAT-Se apresentaram maior atividade antiproliferativa quando comparado ao ACAT-Se livre, especialmente após 72h de tratamento. Por outro lado, as NP-ACAT-Se não apresentaram efeitos citotóxicos na linhagem celular resistente (60, 40, 20, 10, 5, 0,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de ACAT-Se); no entanto, cabe destacar que essa linhagem também não apresentou diminuição na viabilidade celular frente aos fármacos antitumorais metotrexato (50 $\mu\text{g}/\text{mL}$) e DOX (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) que foram utilizados como controle positivo no ensaio. Por fim, a atividade antiproliferativa do ACAT-Se livre e nanoencapsulado (60, 40, 20, 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) foi avaliada em combinação com o antitumoral DOX (0,05 $\mu\text{g}/\text{mL}$ nas MCF-7 e 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ nas NCI/ADR-Res). Nesse ensaio foi possível evidenciar que a atividade citotóxica das NPs junto a DOX foi maior que a atividade do ACAT-Se livre junto a DOX em ambas linhagens celulares. Além disso, o índice de combinação (CI) foi calculado através do software CompuSyn (ComboSyn, Inc.) a fim de verificar se a associação das NPs e do ACAT-Se livre à DOX resultou em sinergismo ($\text{CI} < 1$), ação aditiva ($\text{CI} = 1$) ou antagonismo ($\text{CI} > 1$). Os resultados obtidos indicam que a associação das NP-ACAT-Se à DOX foi sinérgica tanto na linhagem celular sensível, quanto na resistente, em todas as concentrações testadas. Enquanto que a combinação do ACAT-Se livre com DOX resultou em efeito aditivo ou antagonismo em ambas linhagens celulares. **Conclusões:** Os resultados obtidos indicam que as NPs apresentam características físico-químicas adequadas e aumentaram a atividade antiproliferativa do ACAT-Se na linhagem celular tumoral MCF-7. Além disso, as NPs apresentaram sinergismo quando associadas ao antitumoral DOX, sendo capazes de sensibilizar inclusive as células resistentes. Portanto, as NPs obtidas podem ser promissoras para utilização na terapia antineoplásica, como monoterapia e especialmente em associação com fármacos antitumorais consolidados.

Palavras-chave: Câncer; Nanopartículas poliméricas; Atividade antiproliferativa; pH-sensível; Efeito sinérgico

Agradecimentos: CAPES