



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Instituto de Biociências
Câmpus do Litoral Paulista



ANA LUIZA TONIOLO BOTASSO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA 8-HIDROXIQUINOLINA LIVRE E
NANOENCAPSULADA EM GLIOBLASTOMA (*IN VITRO*)**

**São Vicente - SP
2025**

ANA LUIZA TONIOLO BOTASSO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA 8-HIDROXIQUINOLINA LIVRE E
NANOENCAPSULADA EM GLIOBLASTOMA (*IN VITRO*)**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Campus do Litoral Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do Grau de bacharel em Ciências Biológicas, com habilitação em Gerenciamento Costeiro.

Orientador(a): Prof. Dr. Luiz Felipe Domingues Passero

**São Vicente - SP
2025**

B748a Botasso, Ana Luiza Toniolo
Avaliação da atividade da 8-hidroxiquinolina livre e nanoencapsulada em glioblastoma (in vitro) / Ana Luiza Toniolo Botasso. -- São Vicente, 2025
35 p. : il., tabs.

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, São Vicente
Orientador: Luiz Felipe Domingues Passero

1. Glioblastoma. 2. Nanotecnologia. 3. SNEDD. 4. 8-hidroxiquinolina. I. Título.

AGRADECIMENTOS

Sou muito grata aos meus pais, Angela e Edimilson, que me ensinaram à conquistar o meu espaço, sempre me guiando e me apoiando com muito amor e agradeço imensamente ao meu irmão Caio, que sempre se mostrou presente, vocês são minha razão. Agradeço todo o carinho e amor que sempre recebi dos meus tios e primos e que a distância nunca conseguiu diminuir.

Agradeço ao professor doutor Luiz Felipe Domingues Passero por ter me acolhido e orientado novamente, obrigada por toda a confiança depositada em mim e neste trabalho, além dos ensinamentos e conhecimento que me foram transmitidos com muita paciência e carinho.

Agradeço à Lucilly, minha grande amiga e companheira de trabalho, que me ajudou nos experimentos e na vida, obrigada por tudo dentro do laboratório e fora dele. Agradeço também ao Diogo, com quem pude aprender e trocar experiências que foram muito enriquecedoras.

Agradeço também à família que escolhi para dividir meus dias durante a graduação, minha república e os seus integrantes Ana Caroline, Gabriela, Matheus Araújo, Pietra e nosso agregado Matheus Vale. Obrigada por todo o amor e amizade durante esses 5 anos que vivemos juntos, sempre vou guardar nossas lembranças com muito carinho no meu coração.

Agradeço à minha turma XIX: Ana Carolina, Annick, Carlos, Diana, Eduardo, Gustavo, Laena, Sabrina e Thomas por me acompanharem nesses anos de graduação e por serem muito mais que apenas uma turma para mim.

Também agradeço aos amigos que conheci e me aproximei durante a graduação: Eduarda, Flávia Galera, Guilherme Nadaí, Luisa Speretta, Mariane Magno e Marisa.

Aos meus amigos de infância: Ana Luiza Oliveira, Maria Luiza Tassitano e Thiago Penteado que mesmo em caminhos muito diferentes, nunca nos desencontramos. Amo vocês.

Agradeço também ao Instituto de Biociências do Campus do Litoral Paulista e ao Instituto de Estudos Avançados do Mar da UNESP por fornecer a estrutura necessária para a minha graduação e segunda formação.

Por fim, agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pela concessão do projeto regular de pesquisa 2023/01641-1.

RESUMO

Os glioblastomas multiformes (GBM) são considerados o subtipo mais agressivo, invasivo e comum de tumor cerebral maligno primário, estando associado com uma alta taxa de mortalidade e um prognóstico desfavorável, além de um tratamento complexo. Nesse cenário, apesar de avanços relacionados à terapias contra glioblastoma, esses métodos ainda apresentam diversos efeitos colaterais e riscos ao bem-estar e qualidade de vida dos pacientes, salientando a necessidade de novas abordagens terapêuticas. Considerando essa necessidade, diversas técnicas vêm sendo estudadas como alternativas de métodos terapêuticos, como a nanoformulação, mais especificamente os sistemas de entrega de medicamentos, que vêm sendo desenvolvidas a fim de contornar as problemáticas apresentadas pelas terapias administradas atualmente. Assim, neste estudo, foi avaliada a atividade antitumoral *in vitro* do composto 8-hidroxiquinolina (8-HQ) administrado na nanoformulação *self-nanoemulsifying drug delivery systems* (SNEDD) e em sua forma livre, nas linhagens U87-MG de glioblastoma e L929 de fibroblastos. A citotoxicidade do medicamento em ambas as formas foi avaliada nas duas linhagens celulares e comparada com a citotoxicidade da temozolomida (TMZ), o quimioterápico padrão utilizado no tratamento de glioblastoma. A 8-HQ nanoencapsulada apresentou mais ativa contra as células cancerígenas, com uma CC_{50} de $522,11 \pm 13,63 \mu\text{M}$ a 24 horas e $67,37 \pm 0,8 \mu\text{M}$ a 72 horas, porém também apresentaram citotoxicidade significativa contra os fibroblastos, enquanto a 8-HQ livre não apresentou atividade antitumoral e se mostrou ser tóxica contra fibroblastos. Por sua vez, a TMZ apresentou atividade antitumoral com uma CC_{50} de $1447,69 \pm 19,85 \mu\text{M}$ a 24 horas e $1863,81 \pm 43,79 \mu\text{M}$ a 72 horas e apresentou citotoxicidade contra fibroblastos. Portanto, os resultados apresentados evidenciam o potencial da nanotecnologia no desenvolvimento de novos métodos terapêuticos contra glioblastomas, apesar da necessidade de mais estudos acerca da citotoxicidade demonstrada em fibroblastos.

Palavras-chave: Glioblastoma. Nanotecnologia. SNEDD. 8-hidroxiquinolina.

ABSTRACT

Glioblastomas multiforme (GBM) are considered the most aggressive, invasive, and common subtype of primary malignant brain tumor, and they are associated with high mortality rates and an unfavorable prognosis, as well as complex treatment. In this context, despite advances in therapies against glioblastoma, these methods still present various side effects and risks to patient well-being and quality of life, highlighting the need for new therapeutic approaches. Considering this need, several techniques have been investigated as alternative therapeutic methods, such as nanoformulation—more specifically drug delivery systems—which have been developed to overcome the issues presented by current therapies. Thus, in this study, the *in vitro* antitumor activity of the compound 8-hydroxyquinoline (8-HQ), administered in a self-nanoemulsifying drug delivery system (SNEDD) nanoformulation and in its free form, was evaluated in U87-MG glioblastoma and L929 fibroblast cell lines. The cytotoxicity of the drug in both forms was assessed in the two cell lines and compared with the cytotoxicity of temozolomide (TMZ), the standard chemotherapy drug used in the treatment of glioblastoma. Nanoencapsulated 8-HQ showed greater activity against cancer cells, with a CC_{50} of $522.11 \pm 13.63 \mu\text{M}$ at 24 hours and $67.37 \pm 0.8 \mu\text{M}$ at 72 hours, but it also exhibited significant cytotoxicity against fibroblasts, whereas free 8-HQ showed no antitumor activity and was toxic to fibroblasts. Meanwhile, TMZ demonstrated antitumor activity with a CC_{50} of $1447.69 \pm 19.85 \mu\text{M}$ at 24 hours and $1863.81 \pm 43.79 \mu\text{M}$ at 72 hours, and also showed cytotoxicity against fibroblasts. Therefore, the results presented highlight the potential of nanotechnology in the development of new therapeutic methods against glioblastomas, despite the need for further studies regarding the cytotoxicity observed in fibroblasts.

Keywords: Glioblastoma. Nanotechnology. SNEDD. 8-hydroxyquinoline.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Aspectos gerais do glioblastoma.....	1
1.2. Terapias.....	3
1.3. Nanoformulação.....	6
1.4. 8-hidroxiquinolina.....	9
2. OBJETIVOS.....	10
2.1. Objetivos gerais.....	10
2.2. Objetivos específicos.....	10
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	11
3.1. Obtenção da 8-hidroxiquinolina.....	11
3.2. Produção de SNEDDs contendo 8-HQ e caracterização física das nanoformulações.....	11
3.3. Linhagem celular.....	12
3.4. Análise da inibição do crescimento das células tumorais.....	12
3.5. Análises estatísticas.....	13
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	13
4.1. Caracterização física das SNEDDs contendo 8-HQ.....	13
4.2. Avaliação do efeito antitumoral de 8-HQ e SNEDD-8HQ em glioblastoma da linhagem U87-MG.....	16
4.3. Avaliação do efeito citotóxico de 8-HQ e SNEDD-8HQ em fibroblastos da linhagem L929.....	19
5. CONCLUSÃO.....	23
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	24

1. INTRODUÇÃO

1.1. Aspectos gerais do glioblastoma

Apesar da definição de câncer, também chamados de tumores malignos, ser muito variável, a maioria delas se baseia na caracterização do câncer como uma doença de rápido crescimento e proliferação descontrolados de células transformadas, a partir de mutações genéticas, e adaptadas, através da seleção natural, que favorecem sua sobrevivência e disseminação para outras partes do corpo, facilitando o processo de metástase (BROWN et al., 2023; OLIVEIRA, 2020). O câncer é uma preocupação frequente e que recebe destaque há muitos anos na área da saúde e da medicina, já que é uma das principais causas de morte no mundo, sendo responsável por uma a cada seis mortes (16,8%) e por 100 milhões de mortes por ano (BRAY et al., 2024; BROWN et al., 2023), evidenciando sua gravidade e letalidade.

O processo de desenvolvimento do câncer é complexo e envolve a interação de diversos fatores genéticos, ambientais e de estilo de vida (OLIVEIRA, 2020; BRAY et al., 2024). No entanto, as alterações genéticas recebem mais importância, pois são a principal causa do desenvolvimento do câncer, resultando em uma proliferação desenfreada, metástase, além da heterogeneidade genética e resistência à morte celular programada, também chamada de apoptose, e que consistem nas principais características atribuídas aos tumores malignos e que acarretam na resistência à terapias (PADMA, 2015; LETAI 2017; HANAHAN & WEINBERG, 2011).

Uma das consequências mais preocupantes do crescimento e proliferação desmedidos das células tumorais é a metástase, que consiste na migração de células cancerígenas para tecidos e órgãos saudáveis e, posteriormente, na colonização desses locais e isso ocorre a partir de uma série de processos complexos denominados “cascata metastática” (PIACENTINI & MENEZES, 2012). Mais especificamente, esse processo se inicia quando células tumorais desagregam-se do tumor primário e deslocam-se, através dos sistemas circulatório e linfático, para outras partes do organismo, onde iniciam a colonização e, subsequentemente, se proliferam formando novos tumores nessas regiões (PIACENTINI & MENEZES, 2012; SAN JUAN et al, 2019).

Além disso, as alterações genéticas são fundamentais no que diz respeito à variedade de tipos e subtipos dessa doença, bem como as particularidades e desafios atribuídos à eles. À vista disso, os tipos de câncer de maior incidência no mundo são o câncer de pulmão (12,4%), câncer de mama (11,6%), colorretal (9,6%), próstata (7,3%) e estômago (4,9%), de acordo com o Observatório Global do Câncer (BRAY et al., 2024). Entretanto, existem outros tipos menos comuns que afetam diferentes órgãos e tecidos, porém que possuem grande relevância no cenário mundial, como o câncer cerebral, que apesar da baixa incidência, de 1,6%, apresenta uma alta taxa de mortalidade, sendo responsável por cerca de 3% das mortes decorrentes de câncer no mundo (BRAY et al., 2024) e no Brasil, em 2023, foram registrados, aproximadamente, 16 mil casos de câncer cerebral e cerca de 2 mil mortes, resultando em uma taxa de mortalidade de 13,86% (CELESTINO, 2024). Dessa forma, os tumores malignos cerebrais são considerados desafiadores devido à sua localização no sistema nervoso central (SNC) e à complexidade desse sistema e do tecido cerebral, por isso, esse tipo de câncer tem recebido destaque, se tornando uma preocupação mundial e nacional, apesar de sua baixa frequência.

Os cânceres cerebrais abrangem diversos subtipos e podem ser classificados em tumores primários e secundários, de acordo com sua origem. Os tumores secundários são provenientes da proliferação de células tumorais advindas de outros órgãos, por isso, estão associados à outros tipos de câncer e também são chamados de metástases cerebrais, já os tumores primários se originam diretamente no sistema nervoso central, como é o caso dos glioblastomas (TANDEL et al., 2019).

Nesse contexto, o glioblastoma multiforme (GBM) é considerado o subtipo mais agressivo, invasivo e comum de tumor cerebral maligno primário sendo responsável por, aproximadamente, 50% dos casos (KANDERI, MUNAKOMI & GUPTA, 2024) e é classificado como grau 4, pela Organização Mundial da Saúde, em uma classificação na qual os graus variam de 1 a 4, dependendo de diversos fatores, como morfologia, resposta ao tratamento, entre outros, sendo os tumores de grau 4 considerados os mais agressivos e invasivos (URBAŃSKA et al., 2014), além de estar associado à uma alta mortalidade e recorrência (AGOSTI et al., 2024). Ademais, mesmo com a aplicação das terapias, a média de sobrevida de pacientes diagnosticados com glioblastoma

multiforme é considerada baixa, sendo de aproximadamente 12 a 16 meses (GROCHANS et al., 2022; ANGOM, NAKKA & BHATTACHARYA, 2023).

Mais especificamente, os glioblastomas são caracterizados pelos elevados índices de atividade mitótica, proliferação microvascular e necrose, além da capacidade de infiltrar o tecido cerebral circundante (OBRADOR et al., 2024), o que dificulta o tratamento. Adicionalmente, outra característica importante dos glioblastomas é a resistência à métodos terapêuticos, devido à diversos fatores como capacidade de reparo de danos ao DNA, presença de transportadores de efluxo de medicamentos e resistência à apoptose (AGOSTI et al., 2024), além de estarem associados à variadas mutações genéticas e epigenéticas por exemplo em genes supressores de tumor, como TP53 e em genes relacionados ao ciclo e crescimento celular, como EGFR (KANDERI, MUNAKOMI & GUPTA, 2024), o que resulta em um prognóstico desfavorável e baixa média de sobrevida (AGOSTI et al., 2024).

A manifestação dos sintomas decorrentes dos glioblastomas é variada, pois depende da localização e tamanho do tumor, porém os mais comuns são dores de cabeça frequentes, dificuldade na fala, fraqueza, distúrbios visuais, perda de memória, convulsões e paralisia (KANDERI, MUNAKOMI & GUPTA, 2024), já o diagnóstico é feito através de diversas técnicas, sendo elas a ressonância magnética, tomografia computadorizada (TC) e biópsia (URBAŃSKA et al., 2014; GROCHANS et al., 2022; HANIF et al., 2017)

1.2. Terapias

Atualmente, as principais terapias utilizadas para tratar o glioblastoma são quimioterapia, radioterapia e cirurgia, sendo mais comumente administradas de maneira simultânea, porém mesmo com avanços, esses métodos ainda apresentam efeitos secundários e desvantagens aos pacientes submetidos à eles (MISRA, ACHARYA & SAHOO, 2010; OLIVEIRA, 2020). Além desses métodos terapêuticos, há também o chamado alívio sintomático, que é comumente empregado no início do tratamento e consiste em uma maneira de suporte e cuidado do bem estar do paciente, visando a atenuação dos sintomas e seus efeitos, através da administração de medicamentos, como corticóides (HANIF et al., 2017).

No que diz respeito à cirurgia, seu objetivo é a retirada da maior parte da massa tumoral, de maneira segura, visto que a remoção total, geralmente, não é possível ou recomendada (ALIFIERIS & TRAFALIS, 2015). Ainda assim, a remoção parcial do tumor é complexa devido, principalmente, à semelhança da massa tumoral e do tecido saudável circundante, além da natureza infiltrante das células do glioblastoma (ALIFIERIS & TRAFALIS, 2015; GROCHANS et al., 2022; OBRADOR et al., 2024). Nesse contexto, esse método terapêutico apresenta algumas limitações, como a probabilidade de danificar vias nervosas, o que pode gerar danos neurológicos, prejudicando o bem estar e qualidade de vida dos pacientes (GROCHANS et al., 2022; ANGOM, NAKKA & BHATTACHARYA, 2023), além da possibilidade de entrada de resíduos, ou até mesmo resquícios do próprio tumor, que pode resultar na progressão do câncer e outras infecções (YONG & LONER, 2011).

Com relação à radioterapia, seu principal objetivo é o controle local e a recorrência do tumor (DIECKMANN, 2010; KANDERI, MUNAKOMI & GUPTA, 2024). No entanto, essa abordagem terapêutica também apresenta desvantagens, como a necrose de tecidos saudáveis e danos cognitivos e no DNA, devido à radiação (HANIF et al., 2017; ANGOM, NAKKA & BHATTACHARYA, 2023), além de incontinência urinária e endocrinopatias (KANDERI, MUNAKOMI & GUPTA, 2024).

Quanto à quimioterapia, ocorre a administração de diversos agentes alquilantes, entre eles a temozolomida (TMZ), que é o quimioterápico padrão empregado na terapia de glioblastoma (GROCHANS et al., 2022), é administrada via oral e é comumente associada à radioterapia como alternativa de tratamento (HANIF et al., 2017).

O mecanismo de ação da temozolomida consiste, basicamente, na danificação do DNA através da metilação de algumas posições específicas, a partir de diversos processos complexos. Mais precisamente, a TMZ sofre hidrólise espontânea ao ser absorvida, devido ao pH fisiológico, gerando a molécula 5-(3-metil-1-triazen-1-il)imidazol-4-carboxamida (MTIC), a qual é considerada instável. Assim, a MTIC reage com a água para formar a 4-amino-5-imidazolcarboxamida (AIC) e o íon metildiazônio, o qual é capaz de causar danos ao DNA por meio da metilação em diversas posições, sendo elas a N7 da guanina, N3 da adenina e O6 da guanina. A metilação desta última posição,

a O6 da guanina, é a chave do funcionamento da TMZ, já que a reparação direta do DNA decorrente do processo de metilação resulta na apoptose das células tumorais, como demonstrado na figura 1. Nesse contexto, as células tumorais cerebrais possuem um pH mais alcalino com relação ao tecido saudável, o que facilita a ativação da TMZ, por isso, esse medicamento é o mais utilizado, não exclusivamente, na terapia desse tipo de câncer (ZHANG, STEVENS & BRADSHAW, 2012; THOMAS et al., 2017).

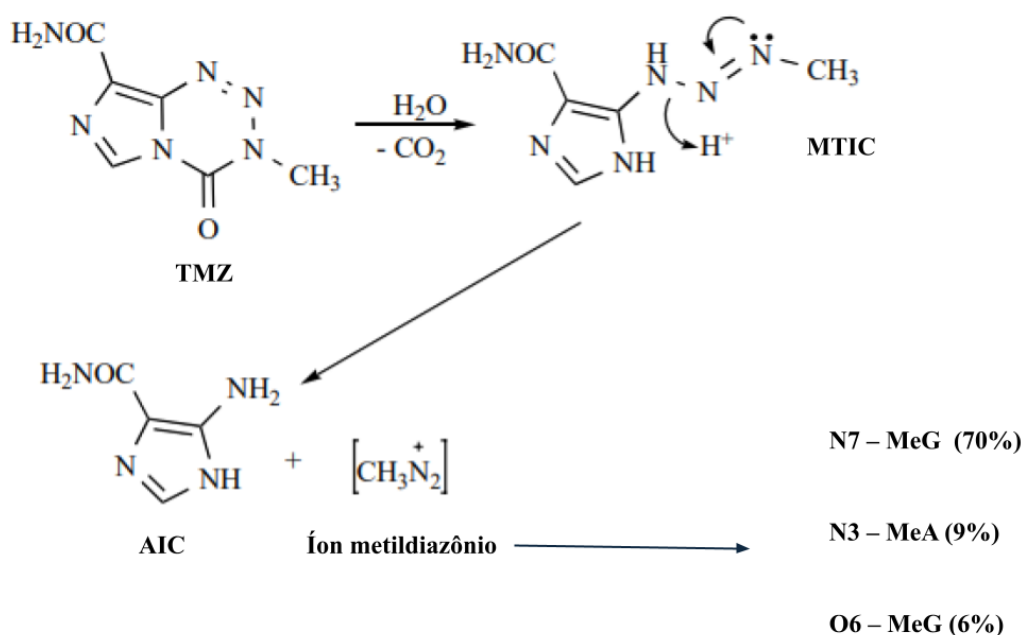


Figura 1 - Esquema representativo do mecanismo de ação da temozolomida (TMZ). O íon metildiazônio, formado a partir da hidrolização da TMZ, causa a metilação das posições N7 da guanina (N7 – MeG), N3 da adenina (N3 – MeA) e O6 da guanina (O6 – MeG) do DNA. A metilação da O6 da guanina é a etapa letal para as células tumorais e é através dela que ocorre a ação da TMZ. Adaptado de (ZHANG, STEVENS, & BRADSHAW, 2012).

Mesmo sendo um método terapêutico bem comum, a quimioterapia com a TMZ ainda possui obstáculos, como a dificuldade de penetração do medicamento devido à pela barreira hematoencefálica, o que reduz a eficácia da TMZ, visto que apenas 20% das moléculas conseguem ultrapassar a barreira e alcançar as células tumorais de maneira efetiva (OBRADOR et al., 2024). Além disso, a presença de proteínas reparadoras de DNA nas células tumorais, como a MGMT (O-6-metilguanina-DNA metiltransferase), reduz os efeitos de agentes alquilantes,

o que resulta na resistência das células cancerígenas à TMZ e, consequentemente, enfraquece a resposta ao quimioterápico (HANIF et al., 2017; AGOSTI et al., 2024).

Atualmente, a abordagem mais aceita e recomendada para tratar o glioblastoma é a aplicação conjunta dos métodos terapêuticos mais comuns, sendo eles a cirurgia, a radioterapia e a quimioterapia com TMZ, porém a média de sobrevida dos pacientes ainda é considerada baixa, variando de 12 a 16 meses, mesmo com a administração simultânea desses procedimentos (ANGOM, NAKKA & BHATTACHARYA, 2023). Além disso, a associação entre radioterapia e quimioterapia com TMZ causa uma variedade de efeitos colaterais, como mielossupressão, náuseas, vômitos, fadiga e aumento do risco de infecções oportunistas (STUPP, et al, 2005), além de redução dos níveis de leucócitos e plaquetas e aumento da hepatotoxicidade (KANDERI, MUNAKOMI & GUPTA, 2024).

Apesar dos avanços nos estudos e descobertas acerca do glioblastoma, a abordagem terapêutica permanece inalterada, além de sua complexidade e dificuldade devido à resistência, recorrência e localização do tumor (OBRADOR et al., 2024). Ademais, embora exista uma variedade de possíveis métodos terapêuticos a serem utilizados, essas intervenções ainda possuem desvantagens como efeitos colaterais, riscos à saúde dos pacientes e prognóstico desfavorável (HANIF et al., 2017).

Portanto, é evidente a necessidade de novas abordagens terapêuticas que visam contornar as dificuldades apresentadas pelas terapias utilizadas atualmente e, incluindo o aumento da sobrevida e do bem-estar dos pacientes. Assim, é essencial o desenvolvimento de pesquisas acerca de novas técnicas que podem ser utilizadas para aprimorar os métodos terapêuticos utilizados atualmente, como a nanotecnologia, além da caracterização de compostos alternativos, que podem ser potenciais possibilidades para produção de novos quimioterápicos e formulação de novas terapias contra glioblastomas.

1.3. Nanoformulação

O emprego da nanotecnologia é uma das alternativas para superar as restrições apresentadas pelas terapias aplicadas atualmente que vem recebendo

destaque na área da saúde e da medicina. A nanotecnologia consiste na criação e manipulação de materiais em nanoescala a fim de criar produtos com novas propriedades (MISRA, ACHARYA & SAHOO, 2010), a qual pode ser utilizada para o desenvolvimento de estruturas e compostos estáveis e de maior potencial biológico a fim de melhorar a eficácia de medicamentos (SOUZA, 2019).

Desse modo, a nanotecnologia relacionada ao câncer é um campo emergente de pesquisas interdisciplinares, abrangendo áreas da biologia, química, engenharia e medicina, e que tem demonstrado capacidade de aumentar a detecção, precisão do diagnóstico e dos métodos terapêuticos relacionados à diversos tipos de câncer (PRAJAPATI & BHATTACHARYA, 2023), a partir do desenvolvimento de nanocompostos biocompatíveis para administração de medicamentos. Por isso, esse ramo da medicina vem se tornando uma estratégia alternativa terapêutica que visa solucionar os problemas associados às terapias convencionais e que já é utilizada atualmente, como por exemplo a administração do medicamento Abraxane®, que consiste no composto paclitaxel ligado a albumina usado no tratamento de câncer de mama (MISRA, ACHARYA & SAHOO, 2010).

Nesse contexto, diversas técnicas têm sido estudadas para o desenvolvimento de novas alternativas de liberação controlada de medicamentos a fim de aumentar a ação de agentes no tratamento de algumas doenças (SOUZA, 2019), como as formulações à base de lipídios, sendo alguns exemplos os lipossomas, nanocápsulas, dentrímeros, nano e microemulsões e formulações usando sistema autoemulsificante, como tipos de nanocarreadores para encapsulamento de ativos (GURSOY; BENITA, 2004).

Os lipossomas foram descobertos em 1960 e desde então são utilizados como um dos principais sistemas de entrega de medicamentos, sendo um dos sistemas mais antigos. Nesse cenário, esse tipo de nanoformulação consiste em bicamadas lipídicas concêntricas que encapsulam um compartimento aquoso, por isso, possuem a capacidade de aprisionar agentes hidrofílicos e lipofílicos, e são consideradas ideais para um sistema de entrega de medicamentos, devido sua similaridade morfológica com as membranas celulares e essa capacidade de incorporar diversas substâncias, além da sua biocompatibilidade e biodegradabilidade (BOZZUTO & MOLINARI, 2015).

Mais recentemente, o emprego de nanocarreadores na terapia contra o câncer tem sido comum e cada vez mais estudado. Nessa situação, uma das características desses nanosistemas é a capacidade de contornar os mecanismos de resistência a fármacos, devido a capacidade das nanopartículas de ultrapassar a barreira hematoencefálica (MISRA, ACHARYA & SAHOO, 2010; HYE, 2016; OBRADOR et al., 2024), além de depositar uma elevada concentração de medicamentos diretamente no interior das células cancerígenas, aumentando a efetividade dos quimioterápicos e, simultaneamente, reduzindo a toxicidade desses fármacos nas células não tumorais e tecidos saudáveis, devido ao aumento da absorção dos medicamentos pelas células tumorais (ACHARYA; DILNAWAZ & SAHOO, 2009; PRAJAPATI & BHATTACHARYA, 2023).

Entre os nanocarreadores, existem os sistemas de liberação de medicamentos de autoemulsificação, que são formulações de misturas homogêneas de fármacos, lipídios, emulsificantes e co-solventes/co-emulsificantes (GURSOY; BENITA 2004).. Um dos exemplos desse tipo de sistema são os chamados de *self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDs)* ou em português sistema de entrega de fármacos autonanoemulsificantes, que consistem em misturas líquidas homogêneas anidras, compostas de óleos, fármacos e surfactantes (SHAHBA; MOHSIN & ALANAZI, 2012) e vem sendo cada vez mais estudados como alternativa de terapia para diversas doenças, incluindo o câncer.

Alguns trabalhos já demonstraram o aumento da eficácia de compostos quando administrados em SNEDD em vários tipos de linhagens tumorais (ATEEQ et al., 2023; EDITYANINGRUM et al., 2024) porém os estudos acerca da utilização de SNEDD em glioblastomas ainda são escassos. Ainda assim, a administração de compostos e fármacos em SNEDD pode ser uma alternativa para o tratamento de diversos tipos de câncer, incluindo os glioblastomas, já que alguns estudos demonstram que as nanoformulações podem maximizar a ação antitumoral de moléculas, em comparação com a atividade apresentada na forma livre.

Logo, considerando o desenvolvimento e avanço da nanotecnologia na área da saúde e a utilização de nanopartículas no tratamento de diversas doenças, inclusive o câncer (MISRA, ACHARYA & SAHOO, 2010; ATEEQ et al., 2023; EDITYANINGRUM et al., 2024), é possível afirmar que os nanosistemas de

entrega de fármacos podem ser uma potencial alternativa de terapia contra glioblastomas, a fim de contornar os problemas apresentados pelos métodos terapêuticos atuais.

1.4. 8-hidroxiquinolina

Nesse contexto, uma opção de composto que pode ser administrado em SNEDD é a 8-hidroxiquinolina, também chamada de clioquinol, a qual consiste em um composto lipofílico e aromático heterocíclico, com um anel fenol fundido a um anel de piridina (LIMA, 2024), como apresentado na figura 2, que pertence à classe das quinolinas, a qual recebe destaque por possuir uma ampla variedade de efeitos biológicos como propriedades antiproliferativas, antibacterianas, antivirais e antiparasitárias (SONG et al., 2015; FERREIRA et al., 2021). A partir disso, diversos derivados de quinolina passaram a ser isolados, dos quais se destaca a 8-hidroxiquinolina (8-HQ).

A 8-HQ foi sintetizada pela primeira vez em 1953 e despertou interesse de pesquisadores da área da medicina e da saúde nos últimos anos (LIMA, 2024), devido ao seu amplo espectro de aplicações e propriedades farmacológicas, como neuroproteção, ação antiviral, antimicrobiana, antiparasitária, antifúngica e antitumoral, com a capacidade de inibir a diferenciação e proliferação de diversas linhagens de células tumorais, como cânceres de mama, de fígado, ósseo e leucemia (SONG et al., 2015).

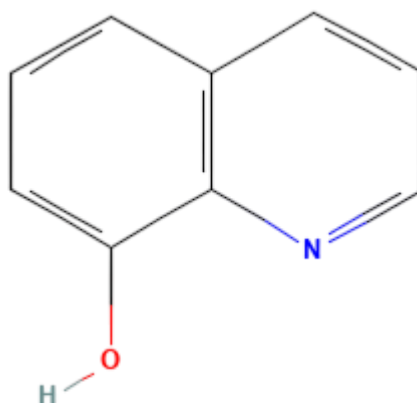


Figura 2 - Estrutura molecular do composto 8-hidroxiquinolina. Fonte: PubChem.

Como mencionado anteriormente, existem muitos estudos acerca dos efeitos antitumorais de compostos derivados da 8-hidroxiquinolina em linhagens de diferentes tipos e subtipos tumores, porém as pesquisas que avaliam a atividade antitumoral da 8-hidroxiquinolina em linhagens de glioblastoma, principalmente a linhagem U87-MG, ainda é escasso,

Portanto, considerando os riscos e efeitos secundários apresentados pelos métodos terapêuticos utilizados atualmente contra glioblastoma, sendo eles a cirurgia, radioterapia e quimioterapia, é de extrema importância e necessidade a pesquisa acerca de novas alternativas de terapias para esse tipo de câncer. Nesse contexto, a 8-hidroxiquinolina administrada em nanoformulação, mais especificamente em *SNEDD*, pode ser uma potencial possibilidade para produção de novos medicamentos a fim de tratar os glioblastomas e aumentar a sobrevida e a qualidade de vida dos pacientes.

Por tais razões, este trabalho tem como objetivo avaliar a ação antitumoral *in vitro*, do composto 8-HQ, em sua forma livre e nanoencapsulada, em linhagem tumoral de glioblastoma U87-MG e em linhagem celular de fibroblastos L929.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar a ação antitumoral *in vitro*, do composto 8-HQ, em sua forma livre e nanoencapsulada, em linhagem tumoral de glioblastoma U87-MG e em linhagem celular de fibroblastos L929.

2.2. Objetivos específicos

- Produzir e caracterizar fisicamente a nanoformulação contendo 8-HQ;
- Avaliar a ação citotóxica da 8-HQ livre e encapsulada em fibroblastos (L929);
- Avaliar a ação antitumoral da 8-HQ livre e encapsulada em linhagem em glioblastoma (U87-MG);

- Comparar a eficácia da 8-HQ livre e encapsulada com a da temozolomida (TMZ).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Obtenção da 8-hidroxiquinolina

A 8-HQ (pureza > 99%) foi obtida da Sigma-Aldrich (EUA), a qual foi solubilizada em dimetil sulfóxido (DMSO) para obter uma solução de 8-hidroxiquinolina a 100 mg/mL. Esta solução foi empregada nos experimentos celulares e será identificada como 8-HQ livre.

3.2. Produção de SNEDDs contendo 8-HQ e caracterização física das nanoformulações.

Os glicerídeos poliglicólicos capryol 90 (monocaprilato de propileno glicol), labrasol (L-polietilenoglicol-8-caprilato) e transcutool (éter monoetílico de dietilenoglicol) utilizados para a composição desse sistema de entrega, foram gentilmente cedidos por Gattefosse (Saint-Priest Cedex, França). Para produzir a nanoformulação vazia, foi produzida uma mistura de labrasol, capryol 90 e transcutool, com massas de 1,86g, 0,62g e 3,72g, respectivamente (SNEDD). Para produzir a nanoformulação contendo 8-HQ foi utilizada a mesma proporção de glicerídeos mais 0,62g de 8-HQ levando à produção de uma nanoformulação contendo 10% do composto bioativo. Essa mistura foi agitada magneticamente durante 12 horas, à temperatura ambiente permitindo a emulsificação da nanoformulação.

Os estudos de caracterização física permitiram avaliar o tamanho de partícula (Figura 3), índice de polidispersividade (Figura 3) e o potencial zeta (Figura 3) dessas nanoformulações. Tais dados foram obtidos em um Nano ZS Zetaizer (*Malvern Instruments, Worcestershire, UK*). Para realizar esta análise, amostras da SNEDD vazia e SNEDDS-8HQ foram diluídas com água milli-Q (1:200), homogeneizadas em vórtex e centrifugadas por 5 minutos a 10.000 RPM. As amostras foram analisadas adicionadas a cubetas à temperatura ambiente e acondicionadas no Nano ZS Zetaizer, tais amostras foram analisadas com um ângulo de incidência de luz fixo em 90°; permitindo avaliar o diâmetro

hidrodinâmico médio (Z-médio), o índice de polidispersão (PDI) e o potencial zeta (ZP). Os valores foram obtidos calculando-se a média de seis medições, realizadas em três amostras diferentes. Esses experimentos foram realizados na *Universidad Complutense de Madrid*, Espanha, em colaboração com a Prof^a. Dr^a. Dolores Serrano.

3.3. Linhagem celular

Para os experimentos, foi utilizada a linhagem tumoral U87-MG, isolada de casos humanos de glioblastoma gentilmente doados pela Dra. Roseli da Silva, do (Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), e como controle normal (células não tumorais), foram utilizados fibroblastos de linhagem L929 obtidos do NCTC.

A linhagem U87-MG foi cultivada e mantida em meio de cultura *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM), suplementado com 10% de soro fetal bovino inativado pelo calor a 56 °C por 7 minutos (Gibco - EUA), 1% de penicilina-estreptomicina e 3,7g/L de bicarbonato de sódio. Os fibroblastos L929 foram cultivados em meio de cultura MEM (Thermo Fisher), suplementado com 10% de soro fetal bovino e 1% de penicilina-estreptomicina. As células, tumorais e não tumorais, foram cultivadas em garrafas de cultura de 182 cm² e mantidas em estufa umidificada a 37 °C e 5% de CO₂, e foram utilizadas nos experimentos quando a confluência atingiu, aproximadamente, 90%.

3.4. Análise da inibição do crescimento das células tumorais

As linhagens celulares foram ajustadas a uma concentração de 2×10^5 células/mL em placas estéreis de 96 poços. A esses poços, foram adicionadas sete diferentes concentrações de 8-HQ livre e de SNEDD-8HQ, variando de 5,37 a 688,89 µM. SNEDD vazias também foram utilizadas como controle de reação, em um volume equivalente ao de SNEDD-8-HQ. A temozolomida (TMZ) foi incubada com as células em concentrações variando de 24,1 µM a 3090,39 µM em triplicata. Nos grupos controles, sem adição de fármaco, foi adicionada apenas meio de cultura (DMEM ou MEM a depender da linhagem utilizada). As células

foram incubadas por 24 e 72 horas com as amostras a 37 °C, em incubadora de CO₂ umidificada.

Após esses períodos, foram realizadas duas lavagens com tampão fosfato pH 7.4 (PBS) e a viabilidade celular foi avaliada utilizando resazurina 5% diluída em meio de cultura. Após 3 horas, aproximadamente, a fluorescência dos poços foi analisada em leitor de placas, utilizando o comprimento de onda de excitação em 544 nm e a de emissão em 590-10 nm.

Utilizando o software GraphPad Prism versão 9.0 para Windows, foram estimadas as concentrações dos compostos que matam 50% (CC₅₀) da população de células e comparadas com a CC₅₀ da TMZ.

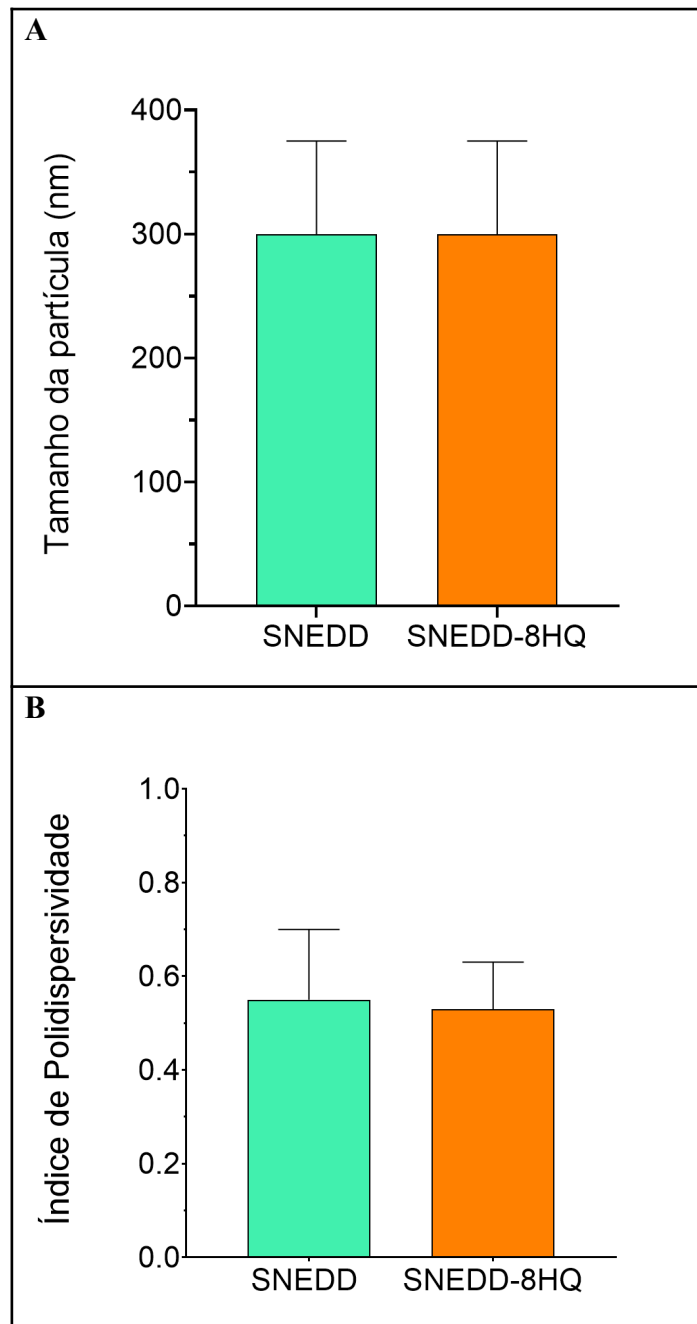
3.5. Análises estatísticas

Os experimentos utilizando a 8-HQ livre, a 8-HQ com a SNEDD e a temozolomida foram realizados em triplicata, enquanto os testes com a nanoformulação foram realizados em duplicata e os dados expressos como média $\pm$ desvio padrão. Foi feita a análise de variância (Teste-t) para determinar se havia diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras e os grupos controles utilizando o GraphPad Prism.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Caracterização física das SNEDDs contendo 8-HQ

Os estudos de caracterização física permitiram avaliar o tamanho de partícula (Figura 3), índice de polidispersividade (Figura 3) e o potencial zeta (Figura 3) dessas nanoformulações. Nesse caso, foi observado que o tamanho das partículas e o índice de polidispersividade foi similar nas nanoformulações produzidas (vazias ou contendo a 8-HQ). Por outro lado, as SNEDDs vazias apresentou potencial zeta significativamente maior em comparação à vazia.



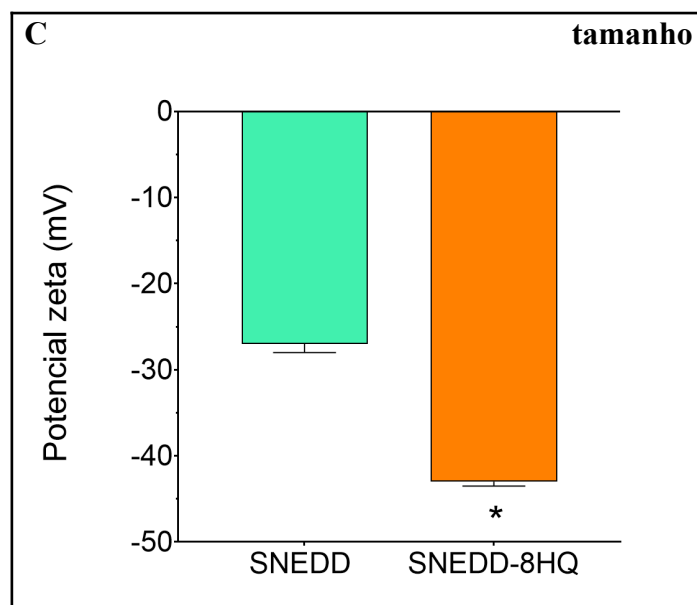


Figura 3 - O tamanho da partícula (A), Índice de Polidispersividade (B), Potencial zeta (C) foi analisado utilizando um Nano ZS Zetaizer. Foram realizados 3 experimentos independentes, e os resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão. * $p < 0,05$ indica diferença significativa.

A partir dos estudos de caracterização física, foi observado que os valores aproximados do tamanho da nanopartícula foi de 300 nm, enquanto o índice de polidispersividade foi de 0.55 e o potencial zeta foi de -43 mV para SNEDD-8HQ.

Nesse contexto, as nanopartículas apresentaram um sistema monodisperso, ou seja, apresentaram tamanhos muito semelhantes e uma distribuição homogênea, indicada pelo valor do índice de polidispersividade (0.55), que se manteve em um intervalo adequado entre 0 e 1 (BARBOSA et al., 2018). Além disso, o tamanho dessas partículas (300 nm) é considerado adequado para uso em terapias, pois partículas entre 100 e 500 nm tendem a permanecer mais tempo na circulação, o que permite a distribuição das nanoformulações através do organismo, fazendo com que elas atinjam o tecido alvo (MU & HOLM, 2018; JESUS et al. 2021). Com o valor do potencial zeta (-43 mV), que permaneceu em uma faixa ideal entre -25 e -50 mV, sugere-se que as partículas se mantêm dispersas, pois não tendem a se aglomerar devido à repulsão eletrostática por conta da estabilização estérica (ANDONOVA & PENEVA, 2017; BARBOSA et al., 2018). Assim, considerando os resultados acerca da caracterização física da

nanoformulação utilizada no presente estudo possibilitaram o uso de SNEDD *in vitro*.

4.2. Avaliação do efeito antitumoral de 8-HQ e SNEDD-8HQ em glioblastoma da linhagem U87-MG.

No que diz respeito aos testes com 8-HQ em sua forma livre, não foi observado um comportamento dose-resposta típico após 24 ou 72 horas de incubação (Figura 4A e 4B), ou seja, o composto em sua forma livre não eliminou 50% da população das células tumorais até a maior concentração utilizada neste trabalho. A 72h houve apenas uma atividade moderada, sendo que na maior concentração utilizada (688,89 μM) a viabilidade foi de 60% (Figura 4B).

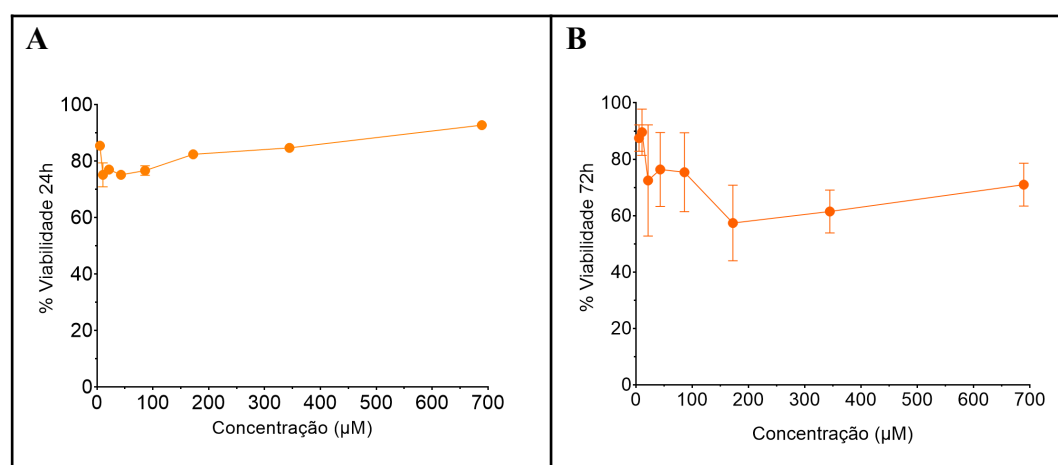


Figura 4 – Células U87-MG (2×10^5 células/mL) foram incubadas com diferentes concentrações de 8-HQ livre (5 a 689 μM) durante 24h (A) ou 72h (B). Após este período a viabilidade celular foi mensurada e curvas de viabilidade construídas. Os resultados foram expressos como a média e desvio padrão de ao menos três experimentos independentes, feitos em triplicata.

Nos testes de citotoxicidade utilizando a SNEDD-8HQ, observou-se um comportamento dose-resposta típico após 24 horas, conforme mostrado na figura 4A, eliminando 50% da população de células U87-MG com CC_{50} de $522,11 \pm 13,63$ μM (Tabela 1). Este comportamento foi potencializado a 72 horas de incubação (Figura 4B), com CC_{50} estimada de $67,37 \pm 0,8$ μM (Tabela 1).

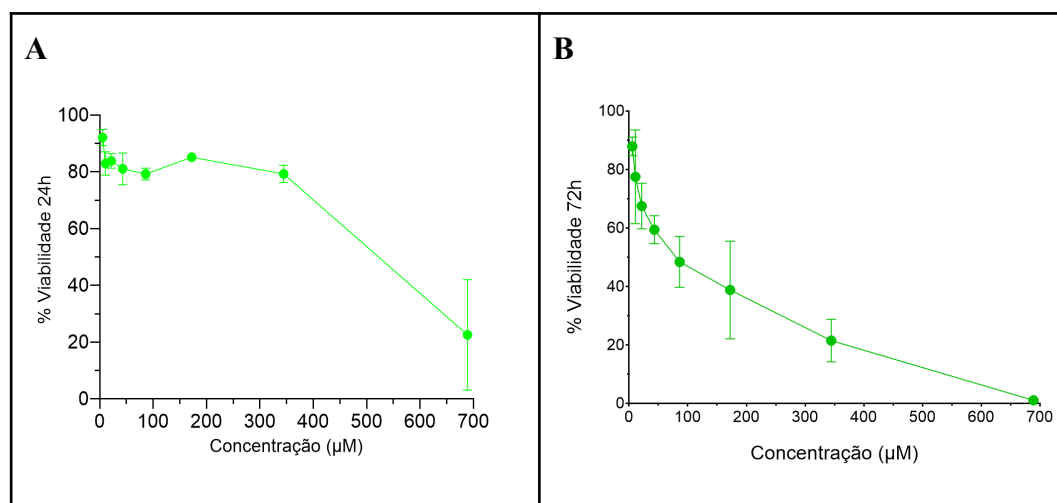


Figura 5 – Células U87-MG (2×10^5 células/mL) foram incubadas com diferentes concentrações de SNEDD-8HQ (5 a 689 μM) durante 24h (A) ou 72h (B). Após este período a viabilidade celular foi mensurada e curvas dose-resposta construídas. Os resultados foram expressos como a média e desvio padrão de ao menos três experimentos independentes, feitos em triplicata.

Relativamente aos testes utilizando o quimioterápico padrão (TMZ), observou-se também uma curva com comportamento dose-resposta típica, como mostrado na figura 6A, apresentando um CC_{50} de $1447,69 \pm 19,85 \mu\text{M}$, após 24 horas (Tabela 1). Após 72 horas, também foi observado um comportamento similar ao observado a 24h (Figura 6B), com uma CC_{50} estimada de $611,37 \pm 8,61 \mu\text{M}$.

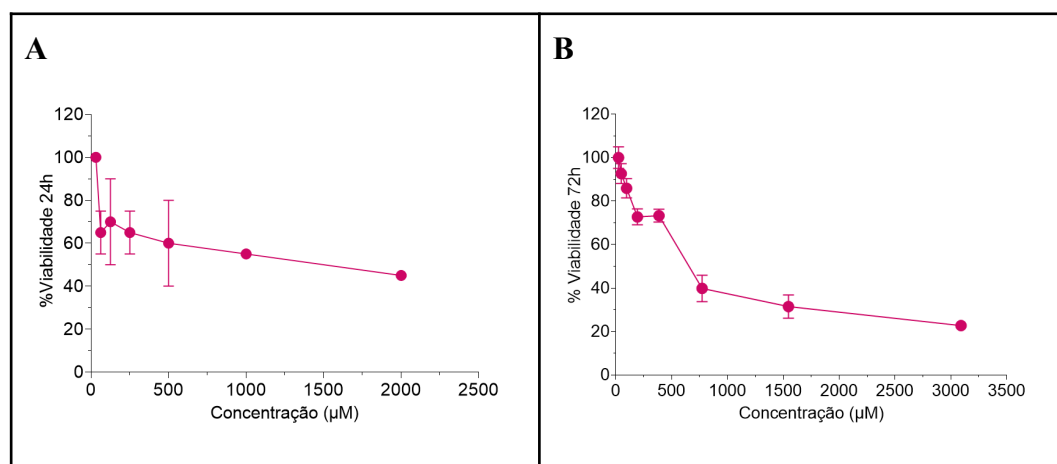


Figura 6 – Células U87-MG (2×10^5 células/mL) foram incubadas com diferentes concentrações de TMZ (24 a 3090 μ M) durante 24h (A) ou 72h (B). Após este período a viabilidade celular foi mensurada e curvas dose-resposta construídas. Os resultados foram expressos como a média e desvio padrão de ao menos três experimentos independentes, feitos em triplicata.

Tabela 1 - Valores da concentração citotóxica a 50% (CC₅₀) foram calculados para a linhagem U87-MG, incubada com os compostos e TMZ por 24 e 72 horas. A CC₅₀ foi estimada e expressa como a média $\pm$ erro padrão.

	CC ₅₀ (μ M)	
Amostras	24 horas	72 horas
8-HQ	N/A*	N/A*
SNEDD-8HQ	522,11 $\pm$ 13,63	67,37 $\pm$ 0,8
TMZ	1447,69 $\pm$ 19,85	611,37 $\pm$ 8,61
SNEDD	N/A*	N/A*

*N/A - não ativo.

Na literatura, os estudos acerca da atividade tumoral da 8-HQ são escassos, sendo mais utilizados seus compostos derivados. Nesse cenário, diversos estudos demonstraram ação antitumoral de derivados da 8-HQ, como o 5-nitroso-8-quinolinol que provocou a inibição da diferenciação e proliferação de células de câncer de mama (TIROSH et al., 2007). Além disso, outro estudo demonstrou que o derivado 8-hidroxi-2-quinolinacarbaldéido apresentou citotoxicidade significativa contra diversos tipos de células tumorais, como câncer de mama, ósseo, leucemia e de fígado (WEINREB et al., 2009). Ou seja, os dados da literatura sugerem que modificações estruturais na molécula são importantes para maximizar a ação antitumoral desta molécula, a qual apresentou ação moderada, visto que a 72h de incubação cerca de 30% da população de células foram eliminadas na maior concentração utilizada (688,89 μ M), sugerindo que, possivelmente, a atividade citotóxica seria alcançada utilizando maiores concentrações desse composto ou com alterações na estrutura molecular.

Por outro lado, nos testes utilizando a SNEDD-8HQ observou-se ação anti-tumoral significativa, sendo 2,6 e 27,7 vezes maior em comparação a ação do

TMZ a 24 e 72h, respectivamente. Nesse contexto, assim como os estudos relacionados à ação antitumoral do composto 8-HQ, as pesquisas que avaliam a sua atividade nanoencapsulada em glioblastoma também são raras, principalmente administradas em SNEDD. No entanto, alguns autores avaliaram o desempenho de outros compostos, quando administrados em SNEDD, em outras linhagens celulares, como o estudo de Ateeq e colaboradores (2023), que compararam a ação antitumoral do quimioterápico docetaxel em sua forma livre e administrada em SNEDD em células de câncer de mama e demonstraram que o medicamento nanoencapsulado apresentou maior inibição celular em comparação à molécula livre do fármaco. Além disso, outro estudo demonstrou que um composto derivado de uma chalcona administrado em SNEDD reduziu significativamente a viabilidade celular de maneira superior à da molécula livre em testes utilizando células de câncer de mama (EDITYANINGRUM et al., 2024). Ou seja, os dados apresentados suportam os dados aqui apresentados, demonstrando que as nanoformulações são ferramentas úteis para maximizar a atividade antitumoral de moléculas com ação moderada em sua forma livre.

Este é o primeiro trabalho na literatura que demonstra a ação potencializada da 8-HQ nanoencapsulada em glioblastoma.

4.3. Avaliação do efeito citotóxico de 8-HQ e SNEDD-8HQ em fibroblastos da linhagem L929.

No que diz respeito aos testes em fibroblastos utilizando 8-HQ em sua forma livre, foi observado um comportamento dose-resposta típico em ambos os períodos, com CC_{50} de $49,8 \pm 0,66 \mu M$ (Tabela 2) e uma CC_{50} de $44,22 \pm 1,3 \mu M$ (Tabela 2), após 24 horas (Figura 8A) e após 72 horas (Figura 8B), respectivamente.

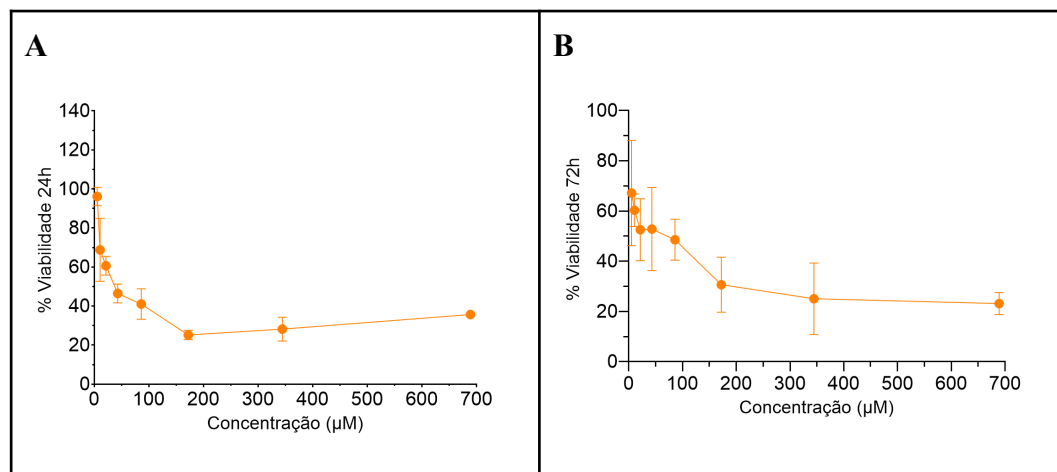


Figura 7 – Fibroblastos da linhagem L929 (2×10^5 células/mL) foram incubadas com diferentes concentrações de 8-hidroxiquinolina em sua forma livre (5 a 689 μM) durante 24h (A) ou 72h (B). Após este período a viabilidade celular foi mensurada e curvas dose-resposta construídas. Os resultados foram expressos como a média e desvio padrão de ao menos três experimentos independentes, feitos em triplicata.

Com relação aos testes com SNEDD-8HQ, após 24 horas, foi observado um comportamento dose-resposta típico (Figura 7A), com CC_{50} de $36,99 \pm 0,48$ μM (Tabela 2). Após 72 horas, esse comportamento foi potencializado (Figura 7B), mostrando uma CC_{50} de $23,35 \pm 0,25$ μM (Tabela 2).

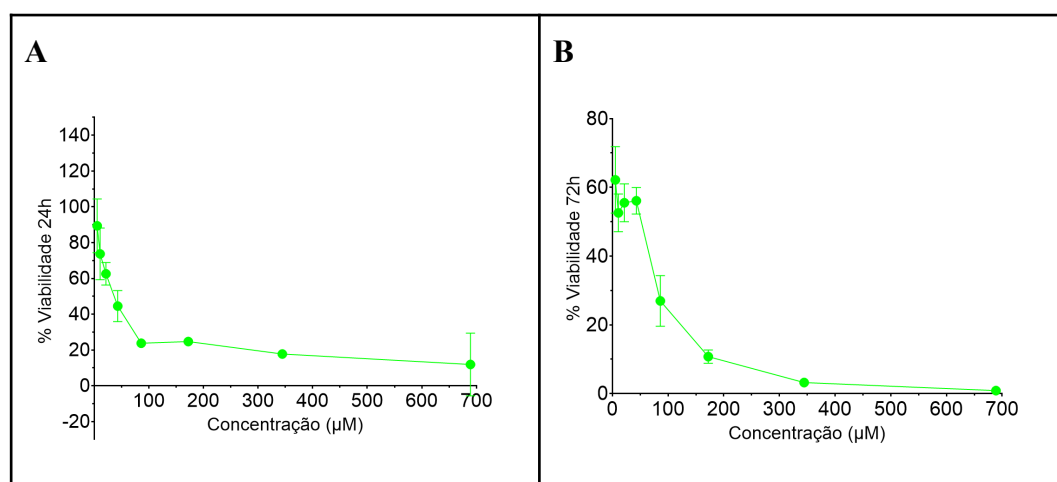


Figura 8 – Fibroblastos da linhagem L929 (2×10^5 células/mL) foram incubadas com diferentes concentrações de SNEDD-8HQ (5 a 689 μM) durante 24h (A) ou 72h (B). Após este período a viabilidade celular foi mensurada e curvas dose-resposta construídas. Os resultados foram expressos como a média e desvio padrão de ao menos três experimentos independentes, feitos em triplicata.

Os testes utilizando o quimioterápico temozolomida (TMZ), após 24 horas, apresentaram uma curva com comportamento dose-resposta típico (Figura 9A) e uma CC_{50} de $666,34 \pm 22,6 \mu\text{M}$ (Tabela 2). Após 72 horas (Figura 9B), houve uma estabilização da citotoxicidade, a qual variou de 60 a 72%.

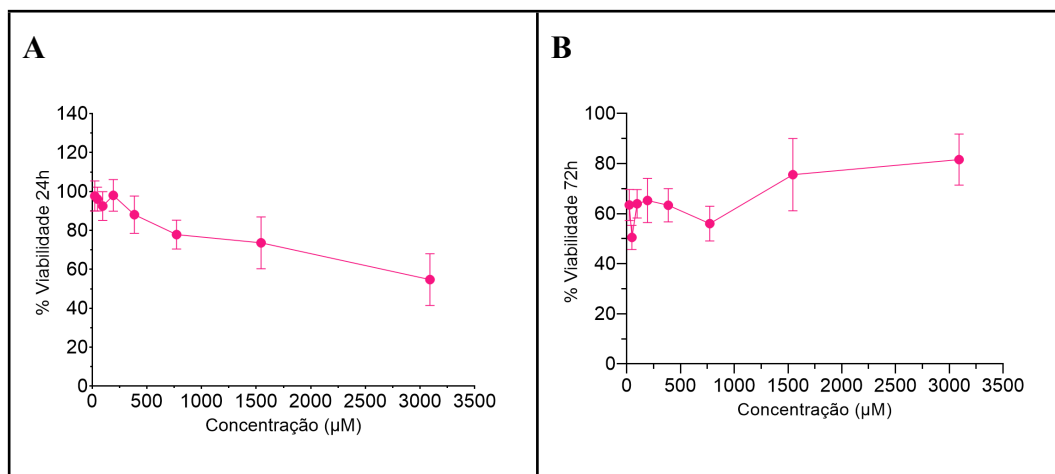


Figura 9 – Fibroblastos da linhagem L929 (2×10^5 células/mL) foram incubadas com diferentes concentrações de TMZ (24 a 3090 μM) durante 24h (A) ou 72h (B). Após este período a viabilidade celular foi mensurada e curvas dose-resposta construídas. Os resultados foram expressos como a média e desvio padrão de ao menos três experimentos independentes, feitos em triplicata.

A potencialização do efeito citotóxico da temozolomida em fibroblastos da linhagem L929 ao longo do tempo já foi demonstrada na literatura. Nesse contexto, Chernieski (2025) apresentou um aumento da atividade citotóxica da TMZ no período de 72 horas em fibroblastos com um concentração de 5×10^4 células/mL, enquanto o presente trabalho utilizou uma concentração de 2×10^5 células/mL e não demonstrou a potencialização do efeito da TMZ em fibroblastos a 72 horas, sugerindo que a concentração de células utilizada pode impactar a citotoxicidade do fármaco.

Tabela 2 - Valores da concentração citotóxica a 50% (CC_{50}) foram calculados para a linhagem L929, incubada com os compostos e TMZ por 24 e 72 horas. A CC_{50} foi estimada e expressa como a média $\pm$ erro padrão.

	CC ₅₀ (μM)	
Amostras	24 horas	72 horas
8-HQ	49,8 ± 0,66	44,22 ± 1,3
SNEDD-8HQ	36,99 ± 0,48	23,35 ± 0,25
TMZ	666,34 ± 22,6	N/A
SNEDD	N/A*	N/A*

* N/A – não ativo.

Em fibroblastos observou-se que a 8HQ livre eliminou 50% da população celular com CC₅₀ de 49,8 ± 0,66 e 44,22 ± 1,3 μM a 24 e 72h, respectivamente. Recentemente foi observado que macrófagos murinos, uma célula de origem não tumoral, também apresentou citotoxicidade a esta molécula, contudo, tais células foram mais resistentes em comparação aos fibroblastos, pois foi necessário adicionar em cultura cerca de 250 μM para alterar a viabilidade destas células a 50%, ou seja, macrófagos foram 5 vezes mais resistentes à ação da 8HQ em comparação à fibroblastos (LIMA et al., 2023). Além disso, um estudo de Chanmol e colaboradores (2022) também demonstrou citotoxicidade da 8-HQ livre em monócitos da linhagem THP-1 em uma concentração superior ao dos fibroblastos, sugerindo que de fato, macrófagos são mais resistente que os fibroblastos, assim como no estudo realizado por Lima e colaboradores (2023). Assim, considerando os estudos citados, é possível concluir que a 8-HQ livre apresenta citotoxicidade em outras linhagens celulares não tumorais mais resistentes que os fibroblastos, o que sugere que esse composto possui potencial para causar citotoxicidade, também, nos fibroblastos, assim como foi demonstrado no presente estudo.

Ademais, de maneira similar ao observado para as células U87-MG, a SNEDD-8HQ potencializou o efeito citotóxico a 24 horas e 72 horas para os fibroblastos. Essa citotoxicidade significativa em fibroblastos, que se apresentou maior quando comparada com os testes utilizando as células U87-MG, pode ter ocorrido devido ao fato de as células tumorais apresentarem uma hiperativação de diversos meios de resistência à morte celular, como a ação de proteínas reparadoras de DNA, como a MGMT (O-6-metilguanina-DNA metiltransferase), a qual é essencial na reparação de danos causados ao DNA, resultando na

resistência à medicamentos e à apoptose (HANIF, F. et al; AGOSTI et al., 2024). Além da MGMT, o miR-21, ou microRNA, também age nas células tumorais e desempenha funções essenciais na regulação celular, o que aumenta o crescimento tumoral e torna essas células mais resistentes à apoptose. Além disso, existe a superexpressão de outros processos químicos, como a via PI3K/AKT, que consiste em uma cascata de sinalização relacionada ao crescimento e proliferação celular e está associada, também, à resistência a apoptose nas células cancerígenas (AGOSTI et al., 2024).

Assim, a atuação dessas moléculas e de diversos processos químicos que favorecem a resistência à medicamentos e apoptose nas células tumorais, podem ter contribuído para uma menor citotoxicidade da SNEDD-8HQ na linhagem U87-MG, quando comparada com a citotoxicidade em fibroblastos, os quais não apresentam a atividade excessiva desses mecanismos de resistência como ocorre em células cancerígenas e, possivelmente por isso, a SNEDD-8HQ apresentou maior citotoxicidade nessa linhagem celular não tumoral.

Comparativamente à TMZ, após 24 e 72 horas, foi observado que 8-HQ livre e SNEDD-8HQ foram mais tóxicas aos fibroblastos, sugerindo que esse composto atua de maneira diferente a depender da linhagem celular utilizada (LIMA et al., 2023; CHANMOL, SIRIYASATIEN & INTAKHAN, 2022).

5. CONCLUSÃO

Os dados obtidos permitem concluir que foi possível produzir uma nanoformulação estável, com tamanhos de partículas adequados e uniformes, permitindo sua penetração em células e tecidos, além de se mostrarem dispersas. Ademais, o composto 8-hidroxiquinolina não apresentou atividade antitumoral em glioblastoma da linhagem U87-MG, enquanto a nanoformulação SNEDD-8HQ apresentou atividade antitumoral significativa e se mostrou mais eficaz em comparação ao fármaco temozolomida, utilizado na quimioterapia de glioblastomas. Com relação aos testes utilizando fibroblastos, observou-se que tanto 8-HQ quanto a SNEDD-8HQ foram tóxicas às células, com CC_{50} superior ao da temozolomida. Portanto, embora a SNEDD-8HQ tenha apresentado eficácia superior ao TMZ nas células tumorais, os dados apresentados mostram toxicidade

significativa desses compostos às células normais, sugerindo que adequações nesta formulação são necessárias.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHARYA, S., DILNAWAZ, F. & SAHOO, S. Targeted epidermal growth factor receptor nanoparticle bioconjugates for breast cancer therapy. *Biomaterials*, v. 30, p. 5737-5750. 2009.

AGOSTI, E. et al. Glioma Stem Cells as Promoter of Glioma Progression: A Systematic Review of Molecular Pathways and Targeted Therapies. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 25, p. 7979. 2024.

ALIFIERIS, C. & TRAFALIS, D. T. Glioblastoma multiforme: Pathogenesis and treatment. *Pharmacology & Therapeutics*, v. 152, n. 63-82. ago. 2015.

ANDONOVA, V. & PENEVA, P. Characterization Methods for Solid Lipid Nanoparticles (SLN) and Nanostructured Lipid Carriers (NLC). *Current Pharmaceutical Design*, v. 23, p. 6630-6642. 2017.

ANGOM, R. S., NAKKA, N. M. & BHATTACHARYA, S. Advances in Glioblastoma Therapy: An Update on Current Approaches. *Brain Sciences*, v. 13, p. 1536. 2023.

ATEEQ, M. et al. Self-nanoemulsifying drug delivery system (SNEDDS) of docetaxel and carvacrol synergizes the anticancer activity and enables safer toxicity profile: optimization, and in-vitro, ex-vivo and in-vivo pharmacokinetic evaluation. *Drug Delivery and Translational Research*, v. 13, p. 2614-2638. 2023.

BARBOSA, R. et al. Electron Paramagnetic Resonance and Small-Angle X-ray Scattering Characterization of Solid Lipid Nanoparticles and Nanostructured Lipid Carriers for Dibucaine Encapsulation. *Langmuir*, v. 34, p. 13296-13304. 2018.

BOZZUTO, G. & MOLINARI, A. Liposomes as nanomedical devices. *International Journal of Nanomedicine*, v. 10, p. 975-999. 2015.

BRAY, F. et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *A Cancer Journal for Clinicians*, v.74, n.229-263. abr. 2024.

BROWN, J. S. et al. Updating the Definition of Cancer. *American Association for Cancer Research*, v. 21(11), n. 1142-1147. nov. 2023.

CELESTINO, M. J. et al. Neoplasia Maligna do Encéfalo: Perfil Epidemiológico no Brasil em 2023. Revista Científica Multidisciplinar, v. 5, n. 10. out. 2024.

CHERNIESKI, D. Avaliação da Atividade Antitumoral *in vitro* de compostos purificados da alga vermelha *Laurencia aldingensis* em glioblastoma. 2025.

CHANMOL, W., SIRIYASATIEN, P. & INTAKHAN, N. *In vitro* anti-*Leishmania* activity of 8-hydroxyquinoline and its synergistic effect with amphotericin B deoxycholate against *Leishmania martiniquensis*. PeerJ, v. 10. 2022.

DIECKMANN, K. U. Radiotherapy of glioblastoma. Memo. 2010.

DING, W. et al. Anticancer Activity of the Antibiotic Clioquinol. Cancer Research, v. 65, p. 3389-3395. 2005.

EDITYANINGRUM, C. et al. Development of self-nanoemulsifying drug delivery system of 1-(2,5-dihydroxy phenyl)-3-pyridine-2-yl-propenone to enhance pro-apoptotic activities in MCF-7 breast cancer cells. Journal of Applied Pharmaceutical Science, v. 14, p. 200-206. 2024.

FERREIRA, D. et al. Recentes avanços na funcionalização seletiva de quinolinas. Química Nova, v. 44, p. 599-615. 2021.

GROCHANS, S. et al. Epidemiology of Glioblastoma Multiforme-Literature Review. Cancers, v. 14, p. 1410-2412. 2022.

GURSOY, R. N. & BENITA, S. Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS) for improved oral delivery of lipophilic drugs. Biomedicine & Pharmacotherapy, v. 58, p. 173-182. 2004.

HANAHAN, D. & WEINBERG, R. A. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. A Cell Press Journal, v. 144, p. 646-674. 2011.

HANIF, F. et al. Glioblastoma Multiforme: A Review of its Epidemiology and Pathogenesis through Clinical Presentation and Treatment. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, v.18, p.3-9. 2017.

HYE, T. Apolipoprotein-mediated transport of nanoemulsion to target brain tumor and brain metastases. Texas Tech University Health Sciences Center. 2016.

JESUS, J. et al. Preclinical Assessment of Ursolic Acid Loaded into Nanostructured Lipid Carriers in Experimental Visceral Leishmaniasis. Pharmaceutics, v. 13, p. 908-928. 2021.

KANDERI, T., MUNAKOMI, S. & GUPTA, V. Glioblastoma Multiforme. StatPearls Publishing. 2024.

LETAI, A. Apoptosis and Cancer. Annual Review of Cancer Biology, v. 1, p.275-294. 2017.

LIMA, S. Tratamento tópico da leishmaniose cutânea experimental com 8-hidroxiquinolina. Universidade de São Paulo. 2024.

LIMA, S. et al. High Selectivity of 8-Hydroxyquinoline on *Leishmania* (*Leishmania*) and *Leishmania* (*Viannia*) Species Correlates with a Potent Therapeutic Activity In Vivo. Pharmaceuticals, v. 16, p. 707. 2023.

MISRA, R., ACHARYA, S. & SAHOO, S. Cancer nanotechnology: application of nanotechnology in cancer therapy. Drug Discovery Today, v. 15, p. 842-850. 2010.

MU, H. & HOLM, R. Solid lipid nanocarriers in drug delivery: characterization and design. Expert Opinion on Drug Delivery, v. 15, p. 771-785. 2018.

OBRADOR, E. et al. Glioblastoma Therapy: Past, Present and Future. International Journal of Molecular Science, v. 25, p.2529. 2024.

OLIVEIRA, A. Novos candidatos a protótipos de fármacos e metalofármacos antimicrobianos e antineoplásicos biorredutíveis à base de hidrazonas e tiossemicarbazonas funcionalizadas com nitroimidazol e nitrobenzeno. Universidade Federal de Minas Gerais. 2020.

PADMA, V. V. An overview of targeted cancer therapy. BioMedicine, v. 5, p.1-6. 2015.

PIACENTINI, A. & MENEZES, H. Recentes aspectos sobre a biologia do Câncer e das Metástases. Revista Saúde e Pesquisa, v. 5, p. 593-604. 2012.

PRAJAPATI, B. & BHATTACHARYA, S. Editorial: Biomedical nanotechnology in cancer diagnosis and treatment. Frontiers in Nanotechnology, v. 5. 2023.

SAN JUAN, B. P. et al. The Complexities of Metastasis. Cancers, v. 11, p. 1575. 2019.

SHAHBA, A., MOHSIN, K. & ALANAZI, F. Novel Self-Nanoemulsifying Drug Delivery Systems (SNEDDS) for Oral Delivery of Cinnarizine: Design, Optimization, and *In-Vitro* Assessment. Springer Nature Link, v. 13, p. 967-977. 2012.

SONG, Y. et al. 8-Hydroxyquinoline: a privileged structure with a broad-ranging pharmacological potential. Medicinal Chemistry Community, v. 6, p. 61-74. 2015.

SOUZA, A. Avaliação da eficácia *in vitro* ou *in vivo* da butenafina livre ou nanoencapsulada contra *L. (L.) infantum* e *L. (L.) amazonensis*. Universidade de São Paulo. 2019.

STUPP, R. M. D. et al. Radiotherapy plus Concomitant and Adjuvant Temozolomide for Glioblastoma. *The New England Journal of Medicine*, v. 352. 2005.

TANDEL, G. S. et al. A Review on a Deep Learning Perspective in Brain Cancer Classification. *Cancers*, v. 11, p. 111. 2019.

THOMAS, A. et al. Temozolomide in the Era of Precision Medicine. *Cancer Research*, v. 77, p. 823-826. 2017.

TIROSH, Y. et al. Therapeutic targets and potential of the novel brain-permeable multifunctional iron chelator-monoamine oxidase inhibitor drug, M-30, for the treatment of Alzheimer's disease, *J. Neurochem.*, v. 100, p. 490-502. 2007.

URBAŃSKA, K. et al. Glioblastoma multiforme - An overview. *Contemporary Oncology*, v. 18, p. 307-312. 2014.

WEINREB, O. et al. Multifunctional neuroprotective derivatives of rasagiline as anti-Alzheimer's disease drugs. *Neurotherapeutics*, v. 6, p. 163-174. 2009.

YONG, R. L. & LONSER, R. R. Surgery for glioblastoma multiforme: striking a balance. *World Neurosurg*, v. 76. 2011.

ZHANG, J., STEVENS, M. F. G. & BRADSHAW, T. D. Temozolomide: Mechanisms of Action, Repair and Resistance. *Current Molecular Pharmacology*, v. 5, p. 102-114. 2012.

PARECER FINAL DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Discente: ANA LUIZA TONIOLO BOTASSO

Título: "Avaliação da atividade da 8-hidroxiquinolina livre ou nanoencapsulada em glioblastoma (in vitro)"

Orientador: Prof. Dr. Luiz Felipe Domingues Passero

Curso/Habilitação: Bacharelado em Ciências Biológicas/Gerenciamento Costeiro

COMISSÃO EXAMINADORA	CONCEITO
Prof. Dr. Luiz Felipe Domingues Passero	<i>aprovada</i>
MSC. Diogo Chernieski	APROVADO

PARECER:

A aluna apresentou o seu trabalho de maneira clara, objetiva e satisfatória. Respondeu os questionamentos da banca com domínio do tema.

CONCEITO FINAL:

A Comissão Examinadora abaixo assinada conclui que o discente **Ana Luiza Toniolo Botasso** obteve o seguinte conceito:

☒ APROVADO

☐ REPROVADO

São Vicente, 08 de dezembro de 2025.

Luiz Felipe D. Passero
Prof. Dr. Luiz Felipe Domingues Passero

Diogo Chernieski
MSC. Diogo Chernieski