

NANOPARTICULAS DE PLGA CARREGADAS COM CURCUMINA: EFICÁCIA NO TRATAMENTO DO CÂNCER DE MAMA EM MODELOS *IN VITRO*¹

PLGA NANOPARTICLES LOADED WITH CURCUMIN: EFFECTIVENESS IN BREAST CANCER TREATMENT IN VITRO MODELS¹

**Thatyana Cassol Poleze², Mariana Fernandes Ribeiro², Diulie Valente Souza²,
Ivana Zanella da Silva³, Aline Ferreira Ourique³ e Michele Rorato Sagrillo³**

RESUMO

O câncer é um dos tipos de doença mais incidentes no mundo, com números crescentes a cada ano. Dentre os mais comuns estão o câncer de próstata, pulmão, mama, cólon e reto com maior ocorrência no Brasil. Os tratamentos estabelecidos muitas vezes causam efeitos adversos indesejáveis aos pacientes, além disso, alguns agentes quimioterápicos possuem baixa seletividade celular podendo afetar células saudáveis. Pensando nisso, a busca por novas alternativas terapêuticas se faz de grande valia, dentre essas os produtos naturais, tem sido de grande interesse para minimizar os danos causados pelas terapias convencionais. Os benefícios da curcumina, polifenol proveniente da *Curcuma longa*, têm sido bastante discutidos em estudos relacionados ao tratamento de diversos tipos de cânceres. Porém, devido sua baixa solubilidade e fotosensibilidade, a biodisponibilidade da curcumina é limitada. O objetivo dessa revisão é descrever estudos recentes em que é utilizado nanopartículas de PLGA carregadas com curcumina como alternativa para verificar seus efeitos no tratamento do câncer de mama, utilizando modelo de estudo *in vitro*. A base de dados utilizada foi *Web of Science*, com trabalhos publicados ao longo dos anos, resultando em um total de 28 artigos, dos quais 12 se encaixaram nos critérios propostos. Diante dos resultados encontrados na literatura, é possível concluir que o uso de nanopartículas poliméricas utilizando PLGA tem demonstrado resultados eficientes nos ensaios *in vitro* com diversas linhagens celulares de câncer de mama gerando grande interesse para pesquisas futuras utilizando outros modelos experimentais.

Palavras-chave: Nanotecnologia, Neoplasia, Polifenóis.

ABSTRACT

*Cancer is one of the most prevalent types of disease in the world, with increasing numbers every year. Among the most common are prostate, lung, breast, colon and rectal cancer with the highest occurrence in Brazil. The established treatments often cause undesirable adverse effects to patients, in addition, some chemotherapeutic agents have low cell selectivity and can affect healthy cells. With this in mind, the search for new therapeutic alternatives is of great value, among these natural products, has been of great interest in minimizing the damage caused by conventional therapies. The benefits of curcumin, a polyphenol from *Curcuma longa*, have been widely discussed in studies related to the treatment of various types of cancer. However, due to its low solubility and photosensitivity, the bioavailability of curcumin is limited. The purpose of this review is to describe recent studies using PLGA nanoparticles loaded with curcumin as an alternative to verify its effects in the treatment of breast cancer, using an *in vitro* study model. The database used was *Web of Science*, with*

¹ Estudo realizado no Programa de Pós-Graduação em Nanociências.

² Mestrandas do Programa de Pós-Graduação em Nanociências - Universidade Franciscana, RS, Brasil. E-mails: diully_desouza@hotmail.com; marianah-fr@hotmail.com; thaty_poleze@hotmail.com

³ Professoras do Programa de Pós-Graduação em Nanociências - Universidade Franciscana, RS, Brasil. E-mails: ivanazanella@gmail.com; sagrillorm18@gmail.com

works published over the years, resulting in a total of 28 articles, of which 12 fit the proposed criteria. In view of the results found in the literature, it is possible to conclude that the use of polymeric nanoparticles using PLGA has demonstrated efficient results in vitro assays with several breast cancer cell lines generating great interest for future research using other experimental models.

Keywords: Nanotechnology, Neoplasia, Polyphenols.

INTRODUÇÃO

Segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA) estima-se que no Brasil no biênio 2018-2019 tenha a ocorrência de 600 mil novos casos de câncer a cada ano, sendo os mais incidentes o câncer de próstata, pulmão, mama, cólon e reto. O câncer de mama é um dos tipos que mais atingem as mulheres, podendo levar até a morte em diversos casos (ANANTHAKRISHNAN; BALCI; CROWE, 2012). Apesar da retirada da mama por cirurgia e tratamentos com quimioterapia e imunoterapia, as chances de retornar são altas. Há diversos medicamentos como taxol, doxorubicina, e metformina, têm sido usados na prática clínica. Por essas drogas serem altamente tóxicas, e para ter uma boa resposta, a dose muitas vezes é alta. Por isso se busca cada vez mais terapias alternativas, como compostos naturais (ANAND *et al.*, 2007). Diante disso, para driblar estes efeitos colaterais, a curcumina, um composto de ocorrência natural da cúrcuma com atividade anticâncer, tem sido amplamente estudado (SAMPATH *et al.*, 2020).

A curcumina é o principal polifenol biologicamente ativo extraído da cúrcuma, sendo muito utilizada na culinária desde os tempos antigos como conservante, aromatizante e corante natural não tóxico, substituindo corantes artificiais (GUL *et al.*, 2004). Além do seu uso culinário, ela é bastante explorada na medicina oriental com o intuito de cura para uma grande variedade de doenças (GOEL; KUNNUMAKKARA; AGGARWAL, 2008). A sua administração tem se mostrado segura para utilização humana por ter grande potencial terapêutico devido apresentar eficácia e uma variedade de atividades farmacológicas no combate a inúmeras patologias tanto em ensaios *in vitro* (GUPTA *et al.*, 2012). Porém, apesar dela ter sido descoberta como um poderoso agente anticâncer, a sua eficácia é limitada por ter baixa disponibilidade e solubilidade em meio aquoso, buscando assim formas de poder fazer o uso dela (SAMPATH *et al.*, 2020).

Diante disso, nos últimos anos a nanotecnologia tem sido empregada na medicina para diversos tratamentos, incluindo o câncer (SAHAY; ALAKHOVA; KABANOV, 2018). É o que se pode chamar como nanomedicina, que tem sua principal aplicação na oncologia, a qual ainda enfrenta diversos desafios quanto à falta de seletividade e toxicidade celular quando aplicada a terapia medicamentosa, por isso um tratamento personalizado tem sido a principal estratégia quando se emprega

a nanotecnologia (BATRA *et al.*, 2018). Com isso, as nanopartículas (NPs) com função de entrega de drogas têm sido compostas por polímeros biodegradáveis e biocompatíveis com base em materiais naturais ou até mesmo sintéticos. Estes polímeros sintéticos podem ser produzidos com grande grau de pureza, em comparação com produtos naturais (LAI *et al.*, 2014).

Dentre estes polímeros, o que é muito estudado é o poli (ácido lático-co-glicólico) ou mais comumente chamado de PLGA. É um poliéster termoplástico biocompatível sintético (PANDEY; JAIN; CHAKRABORTY, 2015). Ele pode desempenhar diversas funções e possui diversos benefícios, como por exemplo, necessita de um menor tempo para sua degradação completa, o que traz pequena probabilidade de reações adversas (MOTTA; DUEK, 2006).

Mediante a este contexto e a busca de terapias alternativas com substâncias bioativas nanoencapsuladas, o objetivo do presente trabalho é demonstrar através de estudos *in vitro* com linhagens de câncer de mama, a capacidade antiproliferativa da curcumina conjuntamente ao polímero PLGA, através de uma revisão de literatura.

MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo consiste em uma revisão literária, que possibilita uma investigação e análise ampla de estudos já publicados sobre o tema. A revisão foi dividida em etapas: a primeira etapa consistiu na identificação do tema, e seleção da questão para elaboração, a segunda etapa foi o estabelecimento dos critérios de inclusão e exclusão, a terceira etapa consistiu na seleção de artigos, e através da leitura destes, foram coletadas as principais informações e análise dos resultados encontrados. Essa escolha deu-se em consequência que há na literatura uma variedade de trabalhos que comprovam a eficácia das Nanopartículas de PLGA carregadas com curcumina para o tratamento *in vitro* do câncer de mama, mostrando ter bons resultados, como será apresentado logo a seguir.

A revisão da literatura científica foi realizada empregando a base de dados *Web of Science*, sem restrição de ano. Os descritores utilizados para o levantamento bibliográfico foram “nanoparticles PLGA curcumin breast cancer” sendo utilizado como restrições, somente artigos em inglês. Os critérios de exclusão para a seleção dos artigos para este estudo foram: partículas inorgânicas, estudos com associação a terapia fotodinâmica e radiológica, estudos *in vivo*, revisão de literatura e outros tipos de estudos que não fossem experimentais.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A busca nas bases de dados resultou em um total de 28 artigos, dos quais 12 se encaixaram nos critérios propostos acima e os resultados estão demonstrados na Tabela 1.

Tabela 1 - Estudos utilizando nanopartículas PLGA no tratamento de câncer em modelo *in vitro*.

Nanoformulação	Tipo de câncer	Linhagem celular	Autor
Nanopartículas de PLGA encapsuladas com Curcumina	Câncer de Mama e outros.	MDA-MB-231	Yallapu <i>et al.</i> , 2010
Nanopartículas de PLGA-PEG carregadas com curcumina	Câncer de mama	MCF-7	Mirakabad <i>et al.</i> , 2016
Nanopartículas de PLGA-PEG carregadas com curcumina	Câncer de mama	MCF-7	Jin <i>et al.</i> , 2017
Nanopartículas de PLGA-CTAB carregadas com curcumina	Câncer de mama	MDA-MB-231	Meena <i>et al.</i> , 2017
Nanopartículas de PLGA carregadas com curcumina e metformina	Câncer de mama	T47D	Farajzed <i>et al.</i> , 2018
Nanopartículas de PLGA carregadas com curcumina e doxorubicina	Câncer de mama	MCF-7	Yuan <i>et al.</i> , 2018
Nanopartículas de PLGA carregadas com curcumina	Mama e pulmão	MDA-MB231 e A549	Khan <i>et al.</i> , 2018
Nanopartículas de PLGA-PEG carregadas com curcumina e crisina	Câncer de mama	MDA-MB-231	Javan <i>et al.</i> , 2019
Nanopartículas de PLGA-PEG carregadas com curcumina e metotrexato	Adenocarcinoma de mama	SK-Br-3	Vakilinezhad <i>et al.</i> , 2019
Nanopartículas de PLGA - COM COBERTURA (Quitosana, Dextrana e PEG) acompanhadas de Curcumina	Câncer de mama	MCF-7	Sampath <i>et al.</i> , 2020
Nanopartículas de PLGA carregadas com curcumina e Paclitaxel	Câncer de mama	MCF-7	Xiong <i>et al.</i> , 2020
Nanopartículas de PLGA carregadas com curcumina para inibição de G1I1 e PI3K	Adenocarcinoma de mama	MCF-7	Borah <i>et al.</i> , 2020

O estudo de Sampath e colaboradores (2020) mostrou que a distribuição da curcumina carregada por nanopartículas modificados por superfície com PLGA é muito mais eficaz, do que a própria curcumina livre, na qual ela é capaz de atingir as células cancerígenas mais rapidamente do que a livre, podendo assim melhorar a terapêutica de forma mais eficaz. No mesmo estudo, também foram testados diferentes tipos de agentes de cobertura como quitosana, dextrana e PEG, mostrando uma boa eficiência de encapsulação, acima de 80% e através de diversos estudos *in vitro*, pode-se verificar a atividade antiproliferativa das células MCF-7.

Já Farajzaded e colaboradores (2018) encapsularam curcumina e metformina em nanopartículas de PLGA/PEG através do método de emulsão dupla, obtendo nanopartículas com tamanho médio de aproximadamente 170 nm. Os ativos foram liberados até o período de estudo de 120 horas onde foi observado que a metformina e a curcumina têm um padrão de liberação diferente, sendo a metformina liberada mais rápida que a curcumina, que foi sendo liberada lentamente até o final do estudo. Na avaliação do seu efeito anticancerígeno contra a linhagem celular de câncer de mama T47D a combinação de metformina e curcumina reduziu a viabilidade das células cancerígenas em comparação com os compostos livres. Os resultados da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em tempo real revelaram que curcumina e metformina e a combinação de ambas nas formas livre e encapsulada inibiram a expressão do gene *hTERT*. Sendo que as nanopartículas de Met-Cur-PLGA/PEG em relação à combinação livre podem diminuir ainda mais a expressão de *hTERT* em todas as concentrações.

Outro estudo de Jin e colaboradores (2017) foi demonstrado que os peptídeos GE11 direcionados ao fator de crescimento epidérmico (EGFR) conjugados com nanopartículas de PLGA podem ser usados para entregar de curcumina em células do câncer de mama. Essas nanopartículas de curcumina podem melhorar substancialmente a entrega dela para as células tumorais que expressam *EGFR*. Nele demonstrou que a entrega da curcumina na forma de nanopartículas modificadas por GE11 pode prolongar sua existência na circulação, aumentando sua capacidade de atacar e inibir a expressão de EGFR nas células tumorais e, finalmente, levar a uma redução na carga tumoral primária. Diferente, porém com mesmo intuito, Yuan e colaboradores (2018) desenvolveram uma nanopartícula sensível ao pH com um encapsulamento simultâneo ao de curcumina e doxorrubicina utilizando mPEG-PLGA-PGlu, a qual teve como objetivo de atingir simultaneamente as células de câncer de mama. Mostrando assim, que as nanopartículas puderam ser capazes de atingir alta eficiência de carga de fármaco para cada carga e assim conseguindo fazer apoptose nas células de câncer de mama.

Na pesquisa feita por Mirakabad e colaboradores (2016), estes produziram nanopartículas com PLGA-PEG carregadas com curcumina para o tratamento de câncer de mama utilizando a linhagem MCF-7. O PLGA-PEG foi utilizado com propósito de aumentar a solubilidade da curcumina em um ambiente aquoso de células cancerígenas o que foi promissor. Também pode-se observar que o tamanho das partículas foi em média 70-300 nm com eficiência de encapsulação do ativo de 84,5%. Além disso, a nanopartículas teve efeito inibidor na linhagem celular de câncer de mama sugerindo uma boa estratégia de tratamento. Logo após, Khan e colaboradores (2018) desenvolveram nanopartículas de PLGA carregadas com curcumina pelo método de evaporação de solvente para melhorar a solubilidade do composto em tratamentos nos canceres de mama e pulmão utilizando linhagem celular MDA-MB231 e A549, respectivamente. Como resultados indicaram que a curcumina pode efetivamente diminuir os níveis elevados de HIF-1 α e p65 nuclear (Rel A) em células de câncer de mama e pulmão sob um microambiente de tumor hipóxico quando liberado na forma nanoparticulada.

Por fim, e mais recentemente, no estudo de Borah e colaboradores (2020), preparou nanopartículas de PLGA GANT-61-curcumina, como uma estratégica para inibir as vias de sinalização Hh/Gli-EGFR em células de câncer de mama, mostrando que por ter um direcionamento específico, poderia ser usado como terapia de combinação com outros quimioterápicos. O estudo revelou que estas nanopartículas induziram efeitos citotóxicos nas MCF-7, seguida por morte celular, autofagia e apoptose, concluindo que as nanopartículas de dupla droga, portanto, podem fornecer uma nova perspectiva em ajudar as terapias de nanomedicina anticâncer existentes.

CONCLUSÕES

Pode-se concluir com a presente revisão de literatura que a curcumina é um potencial composto capaz de atuar como agente quimiopreventivo e quimioterápico, que demonstra inibição da proliferação

de diversas linhagens celulares de câncer de mama, atuando na apoptose como via de mecanismo de ação. Devido sua limitação quanto a biodisponibilidade à utilização de carreadores capazes de proteger contra a degradação desse composto tem sido bastante relatado. Com base nos resultados encontrados na literatura, o uso de nanocarreadores como as nanopartículas poliméricas utilizando PLGA tem demonstrado resultados promissores devido a sua capacidade de proteger, concentrar a curcumina de forma eficiente, associada ou não a outros quimioterápicos demonstra resultados satisfatórios nos ensaios *in vitro* com diferentes linhagens celulares de câncer de mama, o que gera grande interesse para pesquisas futuras utilizando outros modelos experimentais *in vitro* e *in vivo*.

REFERÊNCIAS

ANAND, P. *et al.* Bioavailability of curcumin: problems and promises. **Molecular pharmaceutics**, v. 4, n. 6, p. 807-818, 2007.

ANANTHAKRISHNAN, P.; BALCI, F. L.; CROWE, J. P. Optimizing surgical margins in breast conservation. **International journal of surgical oncology**, v. 2012, 2012.

BATRA, H. *et al.* Curcumin in combination with anti-cancer drugs: A nanomedicine review. **Pharmacological research**, 2018.

BORAH, A. *et al.* GANT61 and curcumin-loaded PLGA nanoparticles for GLI1 and PI3K/Akt-mediated inhibition in breast adenocarcinoma. **Nanotechnology**, v. 31, n. 18, p. 185102, 2020.

FARAJZADEH, R. *et al.* Nano-encapsulated metformin-curcumin in PLGA/PEG inhibits synergistically growth and hTERT gene expression in human breast cancer cells. **Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology**, v. 46, n. 5, p. 917-925, 2018.

GOEL, A.; KUNNUMAKKARA, A. B.; AGGARWAL, B. B. Curcumin as “Curecumin”: from kitchen to clinic. **Biochemical pharmacology**, v. 75, n. 4, p. 787-809, 2008.

GUL, N. *et al.* of Curcuma longa Against Urinary Tract Infection Isolates. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 7, n. 12, p. 2055-2060, 2004.

GUPTA, S. C. *et al.* Discovery of curcumin, a component of golden spice, and its miraculous biological activities. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 39, n. 3, p. 283-299, 2012.

Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA). Coordenação Geral de Ações Estratégicas. Coordenação de Educação ABC do câncer: abordagens básicas para o controle do câncer. 2. ed. rev. e atual. Rio de Janeiro: INCA; 2012.

JAVAN, N. *et al.* Synergistic Antiproliferative Effects of Co-nanoencapsulated Curcumin and Chrysin on MDA-MB-231 Breast Cancer Cells Through Upregulating miR-132 and miR-502c. **Nutrition and cancer**, v. 71, n. 7, p. 1201-1213, 2019.

JIN, H. *et al.* Nanopartículas de PLGA-PEG direcionadas a EGFR como um sistema de entrega de curcumina para terapia de câncer de mama. **Nanoscale**, v. 9, n. 42, pág. 16365-16374, 2017.

KHAN, M. N. *et al.* A nanoencapsulação polimérica de curcumina aumenta sua atividade anticancerígena em células cancerosas de mama (MDA-MB231) e de pulmão (A549) por meio da redução da expressão de HIF-1 α e p65 nuclear (REL A). **Current drug delivery**, v. 15, n. 2, pág. 286-295, 2018.

LAI, P. *et al.* Overview of the preparation of organic polymeric nanoparticles for drug delivery based on gelatine, chitosan, poly (d, l-lactide-co-glycolic acid) and polyalkylcyanoacrylate. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 118, p. 154-163, 2014.

MEENA, R. *et al.* PLGA-CTAB curcumin nanoparticles: Fabrication, characterization and molecular basis of anticancer activity in triple negative breast cancer cell lines (MDA-MB-231 cells). **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 94, p. 944-954, 2017.

MIRAKABAD, F. S. *et al.* A Comparison between the cytotoxic effects of pure curcumin and curcumin-loaded PLGA-PEG nanoparticles on the MCF-7 human breast cancer cell line. **Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology**, v. 44, n. 1, p. 423-430, 2016.

MOTTA, A. C.; DUEK, E. A. Síntese, caracterização e degradação” *in vitro*” do Poli (L-ácido láctico). **Polímeros**, v. 16, n. 1, p. 26-32, 2006.

PANDEY, A.; JAIN, D. S.; CHAKRABORTY, S. Poly Lactic-Co-Glycolic Acid (PLGA) copolymer and its pharmaceutical application. **Handb. Polym. Pharm. Technol**, v. 2, p. 151-172, 2015.

SAHAY, G.; ALAKHOVA, D.Y.; KABANOV A.V. Endocytosis of nanomedicines security. **Journal of food and drug analysis**, 2018.

SAMPATH, M. *et al.* The remarkable role of emulsifier and chitosan, dextran and PEG as capping agents in the enhanced delivery of curcumin by nanoparticles in breast cancer cells. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 162, p. 748-761, 2020.

VAKILINEZHAD, M. A. *et al.* Methotrexate and curcumin co-encapsulated PLGA nanoparticles as a potential breast cancer therapeutic system: In vitro and in vivo evaluation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 184, p. 110515, 2019.

XIE, X. *et al.* Erythrocyte Membrane Cloaked Curcumin-Loaded Nanoparticles for Enhanced Chemotherapy. **Pharmaceutics**, v. 11, n. 9, p. 429, 2019.

XIONG, K. *et al.* Co-delivery of paclitaxel and curcumin by biodegradable polymeric nanoparticles for breast cancer chemotherapy. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 589, p. 119875, 2020.

YALLAPU, M. M. *et al.* Fabrication of curcumina encapsulated PLGA nanoparticles for improved therapeutic effects in metastatic cancer cells. **Journal of colloid and interface Science**, v. 351, n. 1, p. 19-29, 2010.

YUAN, J. *et al.* Nanopartículas poliméricas sensíveis ao pH de mPEG-PLGA-PGlu com núcleo híbrido para encapsulação simultânea de curcumina e doxorrubicina para matar as células tumorais heterogêneas no câncer de mama. **Células artificiais, nanomedicina e biotecnologia**, v. 46, n. sup. 1, p. 302-313, 2018.