



## **AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA DA HIPERICINA NANOESTRUTURADA EM CÉLULAS DE CÂNCER DE CÓLON INTESTINAL**

Thais Arnoni Pereira (PIC), Maiara Camotti Montanha (Mestranda), Andréa Diniz (Orientador), e-mail: [adinizbe@gmail.com](mailto:adinizbe@gmail.com)  
Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

**Área e subárea do conhecimento: Farmácia/Farmacognosia**

**Palavras-chave:** nanotecnologia, Caco-2, terapia fotodinâmica.

### **Resumo:**

O câncer de colorretal é uma das neoplasias mais frequentes na população adulta. A terapia medicamentosa para o câncer é restrita e agressiva. Dentro disso, a terapia fotodinâmica tem mostrado sucesso no tratamento de enfermidades e células proliferativas, sem provocar efeitos colaterais. Assim, a hipericina (HYP) tem sido muito estudada e explorada na terapia fotodinâmica devido as suas características. A HYP incorporada ao surfactante P-123 (HYP/P123) resultou em melhora de sua solubilidade. Este trabalho utilizou células Caco-2 para avaliar a eficácia da HYP/P123 na morte dessas células pela terapia fotodinâmica. Foram testadas distintas concentrações de HYP/P123, tempos de incubação das células com a formulação e tempos de iluminação com luz tipo LED. Os resultados mostraram que todos os fatores foram importantes para a morte celular. Mostrou ainda um efeito de interação entre os fatores. O resultado final mostrou um modelo capaz de explicar 88% dos dados e indica que tanto os fatores principais quanto suas interações são significativas para o resultado da terapia fotodinâmica utilizando HYP/P123.

### **Introdução**

O câncer colorretal é umas das neoplasias mais frequentes na população adulta, ainda que nos países ricos, a incidência esteja estabilizada, na América do Sul, ela tem aumentado (JEMAL *et al.*, 2010). Como a terapia medicamentosa para controle do câncer é restrita, as opções terapêuticas são agressivas e pode acometer outros órgãos devido ao uso sistêmico, o desenvolvimento de uma terapia menos invasiva é desejável.



**FUNDAÇÃO  
ARAUCÁRIA**

**CNPq**  
Conselho Nacional de Desenvolvimento  
Científico e Tecnológico



**PARANÁ**  
GOVERNO DO ESTADO  
Secretaria da Ciência, Tecnologia  
e Ensino Superior



Dentro desta perspectiva, a terapia fotodinâmica tem mostrado sucesso em diversos tipos de enfermidades com células proliferativas, podendo atingir alvos específicos sem provocar efeitos colaterais sistêmicos ou em tecidos saudáveis (SCHUITMAKER *et al.*, 1996). A terapia fotodinâmica (TFD) é um tratamento clínico que tem ganhado espaço nos últimos anos. Usa-se um composto fotossensibilizador (FS) que sob a ação de luz de determinado comprimento de onda na presença de oxigênio molecular ( $O_2$ ) gera oxigênio singlete ( $^1O_2$ ), responsável pela morte celular (CASTANO *et al.*, 2005).

A hipericina (naftodiantrona) tem sido bastante explorada na terapia fotodinâmica por apresentar altos valores de rendimento quântico de fluorescência e capacidade de gerar espécies reativas de oxigênio após ativação com luz. (JENDZELOVSKÝ *et al.*, 2009). A incorporação da hipericina em surfactante P-123 apresentou melhora na solubilidade em água e pode desempenhar melhor efeito fotodinâmico.

A linhagem celular Caco-2 tornou-se um modelo *in vitro* para prever a absorção do fármaco através do intestino humano. A H/P-123 apresenta um alto potencial para uso no tratamento de câncer de cólon e a aplicação da terapia fotodinâmica pode ser vantajosa, para combater a proliferação de bactérias e para inibir a proliferação das células tumorais.

Portanto, na presente proposta, o foco foi convergido sobre o efeito da H/P-123 preliminarmente sobre cultura de células intestinais, avaliando sua eficácia na morte dessas células.

## **Materiais e métodos**

### *1. Obtenção do formulado e cultivo das células*

Hipericina/P-123 (H/P-123) foi obtida de acordo com o artigo Montanha C.M *et al* (2005). As linhagens de células Caco-2 (ATCC HTB37), cedidas pela faculdade de Farmácia da Universidade de São Paulo de Ribeirão Preto, foram cultivadas de acordo com o artigo Montanha C.M *et al* (2005).

### *2. Ensaio de Citotoxicidade:*

Para o estudo de viabilidade celular, foi feito de acordo com o artigo Montanha C.M *et al* (2005), com concentrações de Hipericina/P-123 e Hipericina//DMSO na proporção de 1:2 de Hip de 1, 0,55 e 0,1  $\mu\text{mol/L}$  a 100  $\mu\text{mol/L}$  de polímero P-123. As placas foram incubadas e iluminadas com placas de LED em tempos diferentes.





## Resultados e Discussão

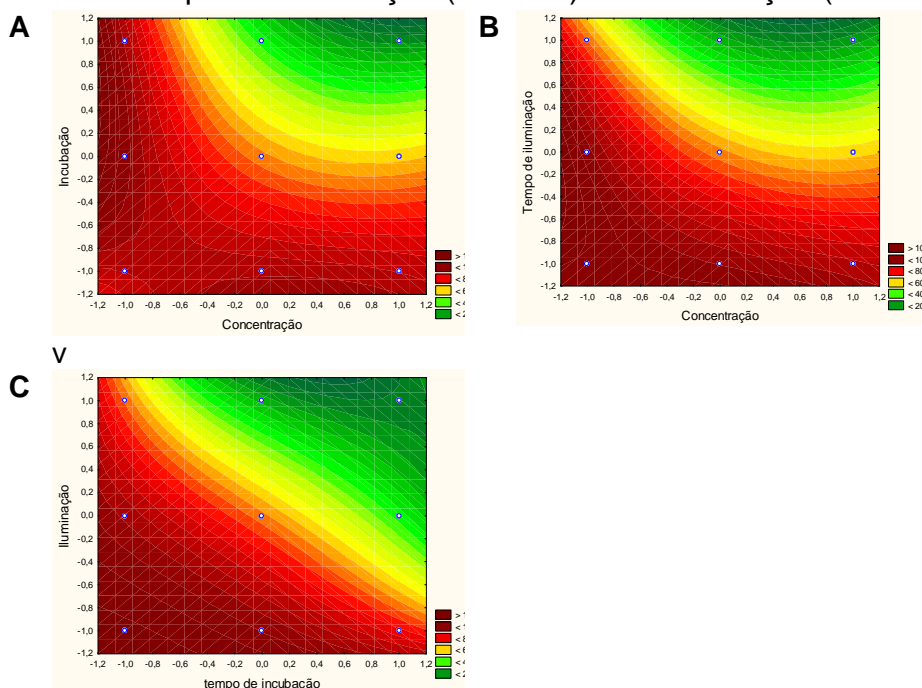
Os resultados foram analisados seguindo ANOVA para um delineamento experimental fatorial  $3^3$  e mostraram que todos os fatores testados (concentração da formulação, tempo de incubação anterior a iluminação e tempo de iluminação) foram significativos para a viabilidade celular. Os gráficos de contorno (Fig. 1) mostram os resultados.

O objetivo desse trabalho foi obter a menor viabilidade celular possível, garantindo uma terapia antitumoral efetiva. Sendo assim, observa-se que as maiores concentrações de HYP, associadas ao maior tempo de incubação e maiores tempo de incubação são capazes de obter melhores respostas em termos de morte celular. O modelo descrito pela análise foi:

$$V(\%) = 68,9 - 33,7 \cdot C - 8,0 \cdot C^2 - 31,8 \cdot In - 44,7 \cdot Ilu - 37,9 \cdot C \cdot In - 10,9 \cdot C^2 \cdot In - 17,9 \cdot C \cdot Ilu - 10,3 \cdot C^2 \cdot Ilu - 13,0 \cdot In \cdot Ilu - 8,0 \cdot In \cdot Ilu^2 - 11,2 \cdot In^2 \cdot Il$$

onde  $V(\%)$ =percentual de viabilidade celular;  $C$ =concentração de HYP;  $In$ =tempo de incubação;  $Ilu$ =tempo de iluminação.

O modelo acima é capaz de descrever 88% dos dados ( $R$ -ajustado 0,8825). Seguindo o modelo proposto, os parâmetros otimizados para a morte celular são a concentração intermediária de HYP ( $0,55 \mu\text{Mol/L}$ ) e os maiores tempos de incubação (120 min) e de iluminação (30 min).





**Figura 1.** Gráficos de superfície de contorno da viabilidade celular (%) em relação aos fatores estudados (concentração HYP, tempo de incubação e tempo de iluminação). **A-** Incubação x Concentração; **B-** Iluminação x Concentração; **C-** Iluminação x Incubação.

### Conclusões

A aplicação de HYP nanoestruturada na terapia fotodinâmica pode ser um potencial adjuvante de tratamento em câncer de cólon de intestino.

### Referências

Castano AP, Demidova TN, Hamblin MR. Mechanisms in photodynamic therapy: Part three—**Photosensitiser pharmacokinetics, biodistribution, tumour localization and modes of tumour destruction.** Photodiagn Photodyn Ther. 2005;2:91–106.

Jemal A, Center MM, DeSantis C, Ward EM. **Global Patterns of Cancer Incidence and Mortality Rates and Trends. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev** 2010 jan;19(8):1893-1907

Jendzelovský R, Mikes J, Koval' J, Soucek K, Procházková J, Kello M, Sacková V, Hofmanová J, Kozubík A, Fedorocko P. **Drug efflux**

**transporters, MRP1 and BCRP, affect the outcome of hypericin-mediated photodynamic therapy in HT-29 adenocarcinoma cells. Photochem. Photobiol. Sci.** 2009 dez;8(12):1716-1723.

Montanha C.M, Silva LL, Chavari M, Pangoni B.B.F, Cesar B.G, Sonchini R, Consolaro L.E, Caetano W, Diniz A, Kimura E. **Uma luz no final do tubo: Efeito Fotodinâmico da Hipericina formulada com micelas poliméricas biocompatíveis sobre células de Carcinoma de cólon e bactérias intestinais.** Dissertação – Programa de Pós Graduação em Farmácia, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2015.

Schuitmaker JJ, Baas P, van Leengoed HL, van der Meulen FW, Star WM, van Zandwijk N. **Photodynamic therapy: a promising new modality for the treatment of cancer.** J. Photochem. Photobiol. B, Biol. 1996 jun;34(1):3-12.

