

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:
BIOQUÍMICA

Amanda de Fraga Dias

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTITUMORAL DO BOZEPINIB LIVRE OU EM
NANOCÁPSULAS EM ENSAIOS PRÉ-CLÍNICOS DE GLIOBLASTOMA**

Porto Alegre

2021

Amanda de Fraga Dias

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTITUMORAL DO BOZEPINIB LIVRE OU EM
NANOCÁPSULAS EM ENSAIOS PRÉ-CLÍNICOS DE GLIOBLASTOMA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do título de mestre(a) em Bioquímica.

Orientador(a): Prof. Dr. Fabrício Figueiró

Porto Alegre

2021

CIP - Catalogação na Publicação

de Fraga Dias, Amanda
Avaliação do potencial antitumoral do bozepinib
livre ou em nanocápsulas em ensaios pré-clínicos de
glioblastoma / Amanda de Fraga Dias. -- 2021.
104 f.
Orientador: Fabrício Figueiró.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da
Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências
Biológicas: Bioquímica, Porto Alegre, BR-RS, 2021.

1. Glioblastoma. 2. Bozepinib. 3. Nanocápsulas de
núcleo lipídico. 4. Sistema Purinérgico. 5.
Administração intranasal. I. Figueiró, Fabrício,
orient. II. Título.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por me conceder saúde e sabedoria para seguir sempre em frente com os meus objetivos mesmo nos momentos em que pensei em desistir.

Aos meus pais, Juarez e Rosimeri, agradeço pelo apoio e incentivo em todos os momentos da minha vida. Por acreditarem em mim, e não medirem esforços para que eu pudesse concretizar os meus sonhos. Sem vocês, nada seria possível!

À Nina, minha gatinha, que sempre esteve ao meu lado nos momentos bons ou ruins e, que me mostrou o que é o amor sincero. No fim das contas, não fui eu que te salvei e sim você que me salvou!

À minha família, que compreenderam a minha ausência enquanto eu me dedicava à realização deste trabalho e nunca duvidaram que eu poderia alcançar todos os meus objetivos. Obrigada pela força!

Ao meu orientador Fabrício Figueiró, agradeço pela oportunidade de realizar este bellissimo trabalho. Obrigada pela confiança e por me atender com paciência todas as vezes que mandei mensagem pelo celular precisando de ajuda, com dúvidas ou com ideias novas. Muito obrigada por ter me incentivado a seguir no caminho da pós-graduação!

À professora Ana Battastini, que me aceitou no laboratório a seis anos atrás e por ter acreditado no meu potencial de uma forma que eu não acreditava ser capaz de corresponder. Você sempre foi e será um grande exemplo para mim. Obrigada por tudo!

À Franciele e a Danieli, obrigada por embarcarem nesse projeto e por me ajudarem com a preparação das nanocápsulas.

A todos do Laboratório 22. Eu tive a oportunidade de conviver com muitas pessoas ao longo desses seis anos de iniciação científica e mestrado e, nomear cada um seria impossível, então quero agradecer igualmente a todos que compartilharam comigo o mesmo entusiasmo e paixão pela pesquisa.

Ao Departamento de Bioquímica e ao PPG de ciências biológicas: Bioquímica, bem como a UFRGS, por ter me proporcionado a estrutura necessária para a realização deste trabalho.

À CAPES, FAPERGS e especialmente ao CNPq, agradeço pelo apoio financeiro.

E por fim, quem não mencionei, mas que participaram direta ou indiretamente do desenvolvimento deste trabalho, saibam que meu coração será sempre grato.

“There is no chance, no destiny, no fate, that can circumvent, or hinder or control the firm resolve of a determined soul.”

Ella Wheeler Wilcox

SUMÁRIO

PARTE I	7
RESUMO	8
ABSTRACT	9
LISTA DE ABREVIATURAS	10
1. INTRODUÇÃO	12
1.1. GLIOBLASTOMA	12
1.2. RESISTÊNCIA TUMORAL	13
1.3. PAPEL DA ADENOSINA NA RESISTÊNCIA TUMORAL	14
1.4. BOZEPINIB	15
1.5. NANOCÁPSULAS	16
2. OBJETIVOS	18
2.1. OBJETIVO GERAL	18
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
PARTE II	19
3. RESULTADOS	20
3.1. CAPÍTULO I	20
3.2. CAPÍTULO II	34
PARTE III	75
4. DISCUSSÃO	76
5. CONCLUSÕES	86
6. PERSPECTIVAS	87
7. REFERÊNCIAS	88
ANEXO A: Carta de aprovação do CEUA	103
ANEXO B: Colaborações (Artigos publicados durante o mestrado)	104

PARTE I

RESUMO

O Glioblastoma (GBM) é o mais comum e agressivo tumor cerebral que acomete adultos e, apesar dos avanços em seu diagnóstico e tratamento, não houve aumento significativo na sobrevida dos pacientes. O bozepinib (BZP) é um novo composto com atividade anticâncer que vem sendo estudado por suas promissoras atividades farmacológicas, principalmente sua potente e seletiva atividade antitumoral e antimetastática *in vitro* e *in vivo* em câncer de mama, cólon e melanoma. Nesse contexto, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito citotóxico do BZP em linhagens de GBM, bem como elucidar seu papel frente a vias de proliferação, resistência e morte celular. Além disso desenvolvemos e caracterizamos nanocápsulas de núcleo lipídico carregadas com BZP e revestidas com quitosana (BZP-LNC⁺) a fim de melhorar as características físico-químicas desse composto com o objetivo de avaliar sua atividade *in vivo*. No primeiro *set* de experimentos, o BZP apresentou atividade citotóxicas em células GBM (C6 e U138) com baixos valores de IC₅₀ quando comparado a células não tumorais (MRC-5). Identificamos que o tratamento com este composto induz morte celular por apoptose dependente de caspase, com formação de autofagossomos, ativação da via NF-κB, sem qualquer alteração significativa na progressão do ciclo celular e na via Akt. Além disso, o BZP foi capaz de modular o sistema purinérgico, aumentando a expressão e a atividade da enzima CD39, enquanto exibiu atividade inibitória da enzima CD73 *in silico* e *in vitro*, reduzindo a hidrólise de AMP e a formação de adenosina. Além disso, a exposição durante 24h com BZP foi capaz de selecionar células CD133⁺/NF-κB resistentes e em apenas dois ciclos de tratamento, todas as células foram eliminadas. A seguir, desenvolvemos e validamos com sucesso um método analítico sensível para quantificar BZP-LNC⁺ e, as formulações apresentaram características físico-químicas com tamanhos de partícula adequadas, estreita distribuição de tamanho, carga superficial positiva e, alta eficiência de encapsulação. BZP-LNC⁺ apresentou citotoxicidade contra células GBM após 72h de tratamento, com valores de IC₅₀ de aproximadamente 0,4 μM, induzindo morte celular por apoptose. Além disso, o tratamento combinado entre BZP-LNC⁺ e TMZ mostrou um efeito citotóxico sinérgico em células GBM, potencializando a indução de apoptose mesmo com concentrações reduzidas de ambas as drogas testadas. O co-tratamento com TMZ + BZP-LNC⁺ reduziu o crescimento do glioma *in vivo* em cerca de 81% quando comparado ao grupo controle. Em conjunto, concluímos que o BZP-LNC⁺ é um interessante candidato para o tratamento do GBM, encorajando mais estudos sobre o potencial terapêutico, a fim de melhor compreendermos o seu mecanismo de ação *in vivo*.

ABSTRACT

Glioblastoma (GBM) is the most common and aggressive brain tumor affecting adults, and despite advances in its diagnosis and treatment, there has been no significant increase in patient survival. Bozepinib (BZP) is a new compound with anticancer activity that has been studied for its promising pharmacological activities, especially its potent and selective antitumor and antimetastatic activity *in vitro* and *in vivo* against breast, colon and melanoma cancer. In this context, this study aimed to evaluate the cytotoxic effect of BZP in GBM cells, as well as to elucidate its role in proliferation, resistance and cell death pathways. In addition, we developed and characterized lipid-core nanocapsules loaded with BZP and coated with chitosan (BZP-LNC⁺) to improve the physical-chemical characteristics of this compound in order to evaluate its GBM activity *in vivo*. In the first set of experiments, BZP showed cytotoxic activity in GBM cells (C6 and U138) with low IC₅₀ values when compared to non-tumor cells (MRC-5). We identified that BZP treatment induces cell death by apoptosis caspase-dependent, with autophagosomes formation, NF-κB activation, without any significant alteration in the cell cycle progression and in the Akt pathway. In addition, BZP was able to modulate the purinergic system, increasing the expression and activity of the CD39 enzyme, while exhibiting inhibitory activity of the CD73 enzyme *in silico* and *in vitro*, reducing AMP hydrolysis and adenosine formation. Furthermore, exposure for 24h with BZP was able to select CD133⁺/NF-κB resistant cells and, in only two treatment cycles, all cells were eliminated. Next, we successfully developed and validated a sensitive analytical method to quantify BZP-LNC⁺ and, the formulations showed physicochemical characteristics with adequate particle sizes, narrow size distribution, positive zeta potential, and high encapsulation efficiency. BZP-LNC⁺ exhibited cytotoxicity against GBM cells after 72 h of treatment, with IC₅₀ values of approximately 0.4 μM, inducing cell death by apoptosis. In addition, the combined treatment between BZP-LNC⁺ and TMZ showed a synergistic cytotoxic effect in GBM cells, potentiating the induction of apoptosis even with reduced concentrations of both drugs tested. Co-treatment with TMZ + BZP-LNC⁺ reduced glioma growth *in vivo* by about 81% when compared to control group. Together, we conclude that BZP-LNC⁺ is an interesting candidate for GBM treatment, encouraging further studies on the therapeutic potential to better understand its mechanism of action *in vivo*.

LISTA DE ABREVIACOES

ADO	Adenosina
ADP	Adenosina difosfato
ADPR	ADP-ribose
Akt	<i>Protein kinase B</i>
ALDH	<i>Aldehyde dehydrogenase</i>
ATP	Adenosina trifosfato
AVO	Organelas vesiculares cidas
BHE	Barreira hematoenceflica
BZP	Bozepinib
CBTRUS	<i>Central brain tumor registry of the United States</i>
CD133	<i>Prominin-1</i>
CD203a	PC-1
CD38	<i>ADP-ribosyl cyclase/cyclic ADP-ribose hydrolase</i>
CD39	E-NTPDase1
CD73	Ecto-5'-nucleotidase
CI	<i>Combination index</i>
CSCs	Clulas-tronco tumorais
DMSO	Dimetilsulfxido
DRI	<i>Dose-reduction index</i>
EGFR	<i>Endothelial growth factor receptor</i>
EPR	Efeito de permeabilidade e reteno aumentado
ERK	<i>Extracellular signal-regulated kinase</i>
FACS	<i>Fluorescence-activated cell sorting</i>

FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
GBM	Glioblastoma
HER2	<i>Human epidermal growth factor receptor 2</i>
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
IC50	<i>Half maximal inhibitory concentration</i>
IDH1 e 2	Isocitrato desidrogenase-1 e 2
JNK	<i>c-Jun NH(2)-terminal kinase</i>
LNCs	Nanocápsulas de núcleo lipídico
LOH	<i>Loss of heterozygosity</i>
MM-GB/SA	<i>Molecular mechanics generalized Born surface area</i>
NAD ⁺	<i>Nicotinamide adenine dinucleotide</i>
NF-KB	<i>Nuclear factor-κB</i>
NPs	Nanopartículas
OMS	Organização Mundial da Saúde
PKR	<i>RNA-dependent protein kinase</i>
PTEN	<i>Phosphatase and tensin homolog</i>
RMT	Transporte mediado por receptor
SI	<i>Selectivity index</i>
SNC	Sistema nervoso central
SOX-2	<i>Sex determining region Y-box 2</i>
TERT	<i>Telomerase reverse transcriptase</i>
TMZ	Temozolamida
TPSA	<i>Topological polar surface area</i>
VEGF	<i>Vascular endothelial growth factor</i>

1. INTRODUÇÃO

1.1. GLIOBLASTOMA

O glioblastoma (GBM) é o tumor maligno mais comum e agressivo do sistema nervoso central (SNC) (Hanif *et al.*, 2017; Lukas *et al.*, 2019; Rajaratnam *et al.*, 2020). De acordo com estudos realizados pelo CBTRUS (*Central brain tumor registry of the United States*), o GBM é responsável por 48,3% dos tumores cerebrais malignos primários e 57,3% de todos os gliomas, com uma taxa de incidência de 3,22/100.000 habitantes nos Estados Unidos (Ostrom *et al.*, 2019). Com relação a incidência global, há um aumento crescente no surgimento de novos casos de GBM em países da América do Sul, Europa Oriental, Europa Meridional e Oceania com uma taxa de incidência de 0,59-5/100.000 habitantes (Lee *et al.*, 2010; Dobes *et al.*, 2011; Miranda-Filho *et al.*, 2017; Philips *et al.*, 2018; Korja *et al.*, 2019; Grech *et al.*, 2020). As razões para este aumento ainda não foram totalmente esclarecidas, porém acredita-se que tanto fatores ambientais quanto fatores intrínsecos ao paciente podem influenciar o desenvolvimento do GBM (Lukas *et al.*, 2019). Até o momento, a exposição a altas doses de radiação ionizante é o único fator de risco confirmado, principalmente pacientes que foram submetidos a radioterapia como tratamento para leucemia, infecções fúngicas no couro cabeludo ou cânceres cerebrais anteriores têm um risco elevado de desenvolver o GBM (Davis, 2016; Hanif *et al.*, 2017; Tan *et al.*, 2020). Outros fatores como envelhecimento, alterações cromossômicas e síndromes genéticas, como a neurofibromatose 1 e 2, esclerose tuberosa e síndrome de von Li-Fraumeni, também são contribuintes para o aumento da incidência desse tumor cerebral maligno (Urbańska *et al.*, 2014; Smetana *et al.*, 2016; Hanif *et al.*, 2017; Lukas *et al.*, 2019; Grech *et al.*, 2020).

Apesar dos avanços no estudo da patogênese do GBM, a sua origem celular e o seu mecanismo fisiopatológico ainda permanecem incertos. Devido as suas semelhanças com células da glia, supõe-se que este tumor possa originar-se a partir de células como os astrócitos, células progenitoras de oligodendrócitos e/ou células-tronco neurais (Shao e Liu, 2018; Lukas *et al.*, 2019). Histologicamente, o GBM é caracterizado por apresentar atipia nuclear e polimorfismo celular, alta capacidade mitótica e proliferativa, crescimento difuso e infiltrativo e presença de áreas de necrose, resultando na atribuição do grau IV, o mais alto na classificação de tumores cerebrais pela Organização Mundial da Saúde (OMS) (Urbańska *et al.*, 2014; Davis, 2016; Tirosch e Suvà, 2020; Vollmann-Zwerenz *et al.*, 2020). Além disso, alterações moleculares e genéticas também têm sido utilizadas para a caracterização dos GBMs, como a

alteração da expressão do gene *TP53* e da sua proteína correspondente p53, mutação das enzimas isocitrato desidrogenase-1 e 2 (IDH1 e IDH2), deleção de p16 e perda de heterozigosidade (LOH) do cromossomo 10q, mutação ou perda do gene *PTEN*, *TERT* e amplificação do gene *EGFR* (Lukas *et al.*, 2019; Nibali *et al.*, 2020). Embora a caracterização molecular aliada às características fenotípicas melhore a predição prognóstica e o direcionamento terapêutico mais adequado, a maioria dos pacientes recebem tratamentos idênticos, contribuindo para o prognóstico desanimador e letal do GBM (Taylor *et al.*, 2019).

O tratamento padrão-ouro para este tumor consiste em uma abordagem multimodal com ressecção cirúrgica seguida por radioterapia concomitante com quimioterapia (Davis, 2016; Bahadur *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2019). O principal quimioterápico utilizado é a Temozolomida (TMZ), uma imidazotetrazinona alquilante do DNA, cuja atividade antitumoral foi descoberta em 1987 (Stevens *et al.*, 1987), e tem sido amplamente utilizada como um agente quimioterápico de primeira linha para o tratamento de pacientes com GBM desde a aprovação de sua eficácia em 2005 pela FDA (Stupp *et al.*, 2005). O protocolo consiste na administração por via oral de TMZ (75 mg/m² por dia) como um adjuvante à radioterapia (60 Gy em 30 frações) durante 42 dias. Após a TMZ é administrada isoladamente (150 a 200 mg/m²) uma vez ao dia durante 5 dias, seguido por 23 dias sem tratamento, por 6 a 12 meses (Lee, 2016; Braun e Ahluwalia, 2017; Tan *et al.*, 2020). Embora a radioterapia e a quimioterapia tenham contribuído para prolongar a sobrevida dos pacientes, o GBM permanece ainda incurável e apenas 6% dos pacientes sobrevivem cinco anos após o diagnóstico (Zhu *et al.*, 2017; Ostrom *et al.*, 2019).

1.2. RESISTÊNCIA TUMORAL

A resistência tumoral desenvolvida pela maioria dos tumores, assim como pelo GBM, é um processo complexo e ainda não está totalmente compreendida, mas sabe-se que é responsável por 90% das falhas no tratamento (Haar *et al.*, 2015; Mansoori *et al.*, 2017). Estudos demonstram que essa resistência pode estar associada a mutações genéticas nas células tumorais, resposta imune deficiente, favorecendo o ambiente pró-tumoral, desenvolvimento de mecanismos de inativação e resistência a múltiplos fármacos, inibição da morte celular por supressão da apoptose, alta formação de adenosina pela ecto-5'-nucleotidase (CD73) e alterações tanto na expressão quanto na atividade das enzimas do sistema purinérgico, presença de uma subpopulação com características de células estaminais, conhecidas como células-tronco tumorais (CSCs), que são responsáveis pela auto-renovação, tumorigênese, recorrência

e resistência tumoral (Huang *et al.*, 2010; Sayour *et al.*, 2015; Figueiró *et al.*, 2016; Uribe *et al.*, 2017; Osuka e van Meir, 2017; Gimple *et al.*, 2019).

Em 2003, Singh e colaboradores isolaram uma população de CSCs de tumores cerebrais humanos de diferentes fenótipos que possuíam uma capacidade marcante de proliferação, autorrenovação e diferenciação (Singh *et al.*, 2003). Inicialmente apenas uma pequena fração celular carregando o antígeno característico de células-tronco CD133 foi capaz de dar origem a novos tumores que eram fenocópias do tumor original do paciente em cérebros de ratos imunodeficientes (Singh *et al.*, 2004). Inversamente, uma grande fração celular CD133⁻ enxertadas não foram capazes de iniciar tumores nesse mesmo modelo (Singh *et al.*, 2004). Posteriormente, em outro estudo, células CD133⁺ isoladas por *Fluorescence-activated cell sorting* (FACS) foram capazes de gerar tumoresferas com expressão gênica de marcadores associados a precursores neurais, como a Nestina e, estas células foram associadas a tumores recorrentes e mostraram-se mais resistentes a terapia que células CD133⁻ (Liu *et al.*, 2006). Além dos marcadores supracitados, atualmente são utilizados para identificar CSCs marcadores de superfície celular, como CD44, CD34, CD24, EpCAM, marcadores intracelulares, como ALDH, Nanog, Sox2 e Oct-3/4 e/ou fatores de transcrição, como *OLIG2* (Kim *et al.*, 2016; Walcher *et al.*, 2020).

1.3. PAPEL DA ADENOSINA NA RESISTÊNCIA TUMORAL

A adenosina (ADO) é um nucleosídeo de purina que atua como mediador intracelular e extracelular de múltiplos processos biológicos (Layland *et al.*, 2014; Ferreti *et al.*, 2018) e, no GBM, a ADO desempenha um importante papel no microambiente tumoral como mediador imunossupressivo e/ou imunomodulador (Allard *et al.*, 2019; Azambuja *et al.*, 2019; Feng *et al.*, 2020) promovendo a proliferação, angiogênese e resistência tumoral (Ceruti e Abbracchio, 2020; Giuliani *et al.*, 2021; Jin *et al.*, 2021).

Nos últimos anos, duas diferentes vias de produção de ADO extracelular foram caracterizadas, a via canônica e a não canônica (Ferreti *et al.*, 2018; Sek *et al.*, 2018). Na via canônica, o ATP extracelular é hidrolisado para ADP e subsequente convertido em AMP pela enzima CD39 (E-NTPDase1) e, finalmente a enzima CD73 hidrolisa o AMP em ADO (Ledur *et al.*, 2012; Braganhol *et al.*, 2013; Whiteside, 2017; Ceruti e Abbracchio, 2020). Por outro lado, na via não canônica, o NAD⁺ (*nicotinamide adenine dinucleotide*) é convertido em ADPR (ADP-ribose) por meio da ação da enzima CD38 (*ADP-ribosyl cyclase/cyclic ADP-ribose*

hydrolase). O ADPR é então convertido em AMP pela CD203a (PC-1), que é subsequentemente hidrolisado a ADO pela CD73 (Ferreti *et al.*, 2018; Horenstein *et al.*, 2019). É possível notar que ambas as vias convergem para a enzima CD73, representando assim um elo comum para formação de ADO e um interessante alvo terapêutico para doenças autoimunes, inflamatórias e para o câncer, principalmente o GBM (Ferreti *et al.*, 2018; Goswami *et al.*, 2019; Azambuja *et al.*, 2020; Jin *et al.*, 2021).

1.4. BOZEPINIB

O Bozepinib (BZP) [[(*RS*)-2,6-dicloro-9-[1(*p*-nitrobenzenossulfonil)-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepin-3il]-9*H*-purina] é um potente composto antitumoral, cuja estrutura química consiste em um anel de 7 membros benzo-fundido e uma porção purina (López-Cara *et al.*, 2011; Marchal *et al.*, 2013; Ramírez *et al.*, 2014; Campos *et al.*, 2020). Estudos demonstram que o BZP induz morte celular por apoptose ao modular a proteína quinase PKR, que mostrou ser seu alvo biológico em células de câncer de mama, cólon e melanoma (Marchal *et al.*, 2013). Além disso, o BZP também foi capaz de atuar em importantes vias do câncer, inibindo especificamente HER2, Akt, JNK, ERKs e VEGF juntamente com atividades antiangiogênicas e antimigratórias (Ramírez *et al.*, 2014).

Adicionalmente, análises de *microarray* revelaram que o tratamento com o BZP regulou negativamente a expressão de genes envolvidos na tumorigênese do câncer de mama (*BRCA1*, *DKK1*, *CLAUDIN1*), progressão tumoral (*NOTCH3*, *MAML2*, *VIMENTIN*), resistência a múltiplas drogas (*VTRNA1-1*), reparação do DNA (*BRCA1*) e metástase (*VIMENTIN*, *BRMSIL*), enquanto promoveu a superexpressão de genes envolvidos na inibição da angiogênese (*CXCL10*), apoptose (*CASP4*), repressor de metástases (*BRMSIL*), entre outros (Ramírez *et al.*, 2014).

Além disso, o tratamento com BZP mostrou uma atividade citotóxica seletiva contra CSCs eliminando subpopulações ALDH⁺ em uma faixa micromolar e dose-dependente (Ramírez *et al.*, 2014). Interessantemente, esse composto revelou um efeito inibitório em proteínas envolvidas no fenótipo de células-tronco, como SOX-2, c-MYC e β-CATENINA, enquanto promoveu mudanças significativas na expressão de *GLI-3*, um gene alvo repressor da transcrição da via de sinalização *Hedgehog*, reduzindo a proliferação de células tumorais e induzindo morte celular por apoptose em CSCs de cólon (Ramírez *et al.*, 2014). Acredita-se então que essas modificações na expressão de genes associado a indução de GLI-3 pelo BZP

poderia ser um dos mecanismos pelos quais esse composto exerce sua atividade antitumoral nas CSCs (Ramírez *et al.*, 2014).

Finalmente, o BZP mostrou eficácia antitumoral e antimetastática *in vivo* em camundongos imunodeficientes xenotransplantados com câncer de mama, sem apresentar toxicidade detectável no fígado, rins ou danos sistêmicos (Ramírez *et al.*, 2014). Com base nesses achados, o BZP torna-se um candidato interessante para avaliação contra o GBM, uma vez que, como já citado acima, esse composto demonstrou um potente efeito antitumoral e seletivo contra CSCs, além de ser eficaz contra alguns mecanismos de resistência.

1.5. NANOPARTÍCULAS

A nanotecnologia tem recebido intensa atenção nos últimos anos e tornou-se uma ferramenta importante no desenvolvimento farmacêutico, principalmente devido suas propriedades físico-químicas únicas que revolucionam o mercado de produção de medicamentos com resultados mais potentes e menos tóxicos (Bamrungsap *et al.*, 2012; Verma *et al.*, 2017; Aghebati-Maleki *et al.*, 2020). As nanopartículas (NPs) são uma ampla classe de estruturas caracteristicamente esféricas, com diâmetro inferior a 1000 nm (Kothamasu *et al.*, 2012; Verma *et al.*, 2017; Yin e Zhong, 2020). Estudos recentes mostram que o tamanho ideal para uso terapêutico das NPs é entre 100-500 nm, tornando-as mais favoráveis para cruzar as barreiras biológicas, evitar a rápida depuração e prolongar sua meia-vida plasmática, aumentando assim a eficácia do tratamento e diminuindo a toxicidade sistêmica (Gaumet *et al.*, 2008; Blanco *et al.*, 2015; Deng *et al.*, 2020).

Dentre as várias NPs, as nanocápsulas de núcleo lipídico (LNCs) são um tipo muito especial de nanocápsulas formadas por uma estrutura núcleo-casca, onde o núcleo é um organogel composto por monoestearato de sorbitano disperso em triglicerídeo cáprico/caprílico, envolto por um polímero e estabilizada por micelas de polissorbato 80 (Jäger *et al.*, 2009; Venturini *et al.*, 2011; Thamrook *et al.*, 2020). Dependendo dos materiais escolhidos e das propriedades físico-químicas do fármaco utilizado, vários métodos podem ser empregados para a preparação das LNCs, permitindo assim controlar as características de liberação do fármaco, bem como aumentar a capacidade de carga desses sistemas (Kothamasu *et al.*, 2012; Frank *et al.*, 2015; Yin e Zhong, 2020). Além disso, as LNCs podem ter inúmeras características benéficas, como: aumento da estabilidade do fármaco devido a proteção contra fotodegradação e/ou degradação química, tempo de circulação sanguínea prolongado, direcionamento ao local

alvo e liberação controlada, permeabilidade capilar às barreiras biológicas, como por exemplo a barreira hematoencefálica (BHE), além de aumento da eficácia e diminuição de efeitos adversos (Poletto *et al.*, 2012; Maeda *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2014; Pourgholi *et al.*, 2016).

A fim de potencializar a estabilidade, bem como suas propriedades biológicas, pode-se ainda modificar a superfície externa das LNCs com moléculas dotadas de características específicas, tais como a quitosana. A quitosana é um polissacarídeo de origem natural, obtida a partir da desacetilação parcial da quitina, esta produzida a partir de exoesqueletos de crustáceos ou paredes celulares dos fungos (Brück *et al.*, 2011; Smith *et al.*, 2014). A quitosana é considerada um material biocompatível, não tóxico e não alergênico, com propriedades adesivas e absorptivas às mucosas (Bernkop-Schnurch e Dunnhaupt, 2012; Smith *et al.*, 2014; Naskar *et al.*, 2019). A utilização de NPs revestidas com quitosana para administração intranasal, tem sido fortemente investigada para o tratamento de doenças do SNC, como Alzheimer, epilepsia, esquizofrenia e GBM (Baltzley *et al.*, 2014; Elnaggar *et al.*, 2015; van Woensel *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2017; Colombo *et al.*, 2018; Bruinsmann *et al.*, 2019; Musumeci *et al.*, 2019; Rukmangathen *et al.*, 2019; Yousfan *et al.*, 2020; Wilson *et al.*, 2021; Zammer *et al.*, 2021) e, tem demonstrado vantagens significativas em comparação com as vias de administração convencionais (oral e parentérica) (Li *et al.*, 2018; Bruinsmann *et al.*, 2019).

A administração intranasal é uma estratégia promissora para contornar a presença da BHE, impermeável para a maioria das moléculas, fornecendo os fármacos diretamente ao cérebro ao longo dos nervos olfativos e do nervo trigêmeo, que estão em contato direto com o SNC através do bulbo olfativo e do tronco cerebral, respectivamente (Samaridou e Alonso, 2018; Bruinsmann *et al.*, 2019; Upadhaya *et al.*, 2020). Além disso, a entrega nasal de fármacos apresenta outras vantagens, como facilidade de administração, não invasividade, boa aceitabilidade do paciente, rápido início de ação, superfície de absorção relativamente grande e permeável, redução da atividade enzimática e do metabolismo hepático da primeira passagem (Upadhaya *et al.*, 2020).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar o papel do BZP livre ou em LNCs revestidas com quitosana na progressão do GBM.

2.2. Objetivos Específicos

2.2.1. CAPÍTULO I

1. Avaliar a citotoxicidade do BZP em linhagens de GBM e em linhagem não tumoral;
2. Investigar a progressão do ciclo celular, indução de autofagia e o mecanismo de morte celular (apoptose/necrose) pelo tratamento com BZP;
3. Avaliar papel do BZP em vias de proliferação e resistência celular;
4. Avaliar a modulação do sistema purinérgico *in silico* e, *in vitro* por meio da atividade e expressão das enzimas CD39 e CD73 após tratamento com BZP.

2.2.2. CAPÍTULO II

1. Preparar e caracterizar LNCs revestidas com quitosana e carregadas com BZP (BZP-LNC⁺);
2. Avaliar a citotoxicidade de BZP-LNC⁺ em linhagens de GBM;
3. Avaliar o efeito da combinação entre os tratamentos BZP-LNC⁺ e TMZ;
4. Avaliar a progressão tumoral após o tratamento com BZP-LNC⁺ sozinho e do co-tratamento TMZ+BZP-LNC⁺ em modelo de GBM *in vivo*.

PARTE II

3. RESULTADOS

Os resultados estão descritos em dois capítulos, os quais correspondem a dois artigos de pesquisa originais.

3.1. CAPÍTULO I

New insights into cytotoxic mechanisms of bozepinib against glioblastoma

Amanda de Fraga Dias, Juliete Nathali Scholl, Cesar Eduardo Jacintho Moritz, Luciano Porto Kagami, Gustavo Machado das Neves, Vera Lúcia Eifler-Lima, Olga Cruz-López, Ana Conejo-García, Jean Sévigny, Ana Maria Oliveira Battastini, Joaquin María Campos, Fabrício Figueiró

Periódico: **European Journal of Pharmaceutical Science**

Status: **Aceito**

3.2. CAPITULO II

Development and characterization of bozepinib-loaded nanocapsules for nose-to-brain delivery: preclinical evaluation in glioblastoma

Amanda de Fraga Dias, Danieli Rosane Dallemole, Franciele Aline Bruinsmann, Luiz Fernando Lopes Silva, Olga Cruz-López, Ana Conejo-García, Ana Maria Oliveira Battastini, Joaquín María Campos, Silvia Stanisçuaski Guterres, Adriana Raffin Pohlmann, Fabrício Figueiró.

Periódico: **Nanomedicine**

Status: **Manuscrito a ser submetido à publicação**

PARTE III

7. REFERÊNCIAS

- Adamiak, M., Bujko, K., Brzezniakiewicz-Janus, K., Kucia, M., Ratajczak, J., Ratajczak, M.Z. (2019) The inhibition of CD39 and CD73 cell surface ectonucleotidases by small molecular inhibitors enhances the mobilization of bone marrow residing stem cells by decreasing the extracellular level of adenosine. *Stem Cell Rev. Rep.* 15 (6), 892-899.
- Aghebati-Maleki, A., Dolati, S., Ahmadi, M., Baghbanzhadeh, A., Asadi, M., Fotouhi, A., Yousefi, M., Aghebati-Maleki, L. (2020) Nanoparticles and cancer therapy: Perspectives for application of nanoparticles in the treatment of cancers. *J. Cell. Physiol.* 235 (3), 1962-1972.
- Allard, D., Chrobak, P., Allard, B., Messaoudi, N., Stagg, J. (2019) Targeting the CD73-adenosine axis in immuno-oncology. *Immunol. Lett.* 205, 31-39.
- Andrade, P., de Fraga Dias, A., Figueiró, F., Torres, F.C., Kawano, D.F., Battastini, A.M.O., Carvalho, I., Silva, C.H.T.P., Campos, J.M. (2020) 1,2,3-Triazole tethered 2-mercaptobenzimidazole derivatives: design, synthesis and molecular assessment toward C6 glioma cell line. *Future Med. Chem.* 12 (8), 689-708
- Antonioli, L., Novitskiy, S.V., Sachsenmeier, K.F., Fornai, M., Blandizzi, C., Haskó, G., (2017) Switching off CD73: a way to boost the activity of conventional and targeted antineoplastic therapies. *Drug Discov Today.* 22 (11), 1686-1696.
- Azambuja, J.H., Gelsleichter, N.E., Beckenkamp, L.R., Iser, I.C., Fernandes, M.C., Figueiró, F., Battastini, A.M.O., Schol, J.N., de Oliveira, F.H., Spanevell, R.M., Sévigny, J., Wink, M.R., Stefani M.A., Teixeira, H.F., Braganhol, E. (2018). CD73 downregulation decreases in vitro and in vivo glioblastoma growth. *Mol. Neurobiol.* 56 (5), 3260-3279.
- Azambuja, J.H., Ludwig, N., Braganhol, E., Whiteside, T.L. (2019) Inhibition of the adenosinergic pathway in cancer rejuvenates innate and adaptive immunity. *Int. J. Mol. Sci.* 20 (22), 5698-5721.
- Azambuja, J.H., Schuh, R.S., Michels, L.R., Gelsleichter, N.E., Beckenkamp, L.R., Lenz, G.S., de Oliveira, F.H., Wink, M.R., Stefani, M.A., Battastini, A.M.O., Teixeira, H.F., Braganhol, E. (2020). CD73 as a target to improve temozolomide chemotherapy effect in glioblastoma preclinical model. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 85 (6), 1177-1182.

- Bahadur, S., Pardhi, D.M., Rautio, J., Rosenholm, J.M., Pathak, K. (2020) Intranasal nanoemulsions for direct nose-to-brain delivery of actives for CNS disorders. *Pharmaceutics*. 12 (12), 1230-1257.
- Bahadur, S., Sahu, A.K., Baghel, P., Saha, S. (2019) Current promising treatment strategy for glioblastoma multiform: a review. *Oncol. Rev.* 13 (2), 417-428.
- Baltzley, S., Mohammad, A., Malkawi, A.H., Al-Ghananeem, A.M. (2014) Intranasal drug delivery of olanzapine-loaded chitosan nanoparticles. *AAPS PharmSciTech*. 15 (6), 1598-1602.
- Bamrungsap, S, Zhao, Z., Chen, T., Wang, L., Li, C., Fu, T., Tan, W. (2012) Nanotechnology in therapeutics: a focus on nanoparticles as a drug delivery system. *Nanomedicine (Lond)* 7 (8), 1253-1271.
- Bernkop-Schnurch, A., Dunnhaupt, S. (2012) Chitosan-based drug delivery systems. *Eur J. Pharm. Biopharm.* 81 (3), 463-469.
- Bézivin, C., Tomasi, F., Lohézie-Le, D., Boustie, J. (2003) Cytotoxic activity of some lichen extracts on murine and human cancer cell lines. *Phytomedicine* 10 (6-7), 499-503.
- Blanco, E., Shen, H., Ferrari, M. (2015) Principles of nanoparticle design for overcoming biological barriers to drug delivery. *Nat. Biotechnol.* 33 (9), 941-951.
- Bourganis, V., Kammona, O., Alexopoulos, A., Kiparissides, C. (2018) Recent advances in carrier mediated nose-to-brain delivery of pharmaceuticals. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 128, 337-362.
- Braganhol, E., Tamajusuku, A.S., Bernardi, A., Wink, M.R., Battastini, A.M. (2007) Ecto-5'-nucleotidase/CD73 inhibition by quercetin in the human U138MG glioma cell line. *Biochim. Biophys. Acta.* 1770 (9), 1352-1359.
- Braganhol, E., Wink, M.R., Lenz, G., Battastini, A.M.O. (2013) Purinergic signaling in glioma progression. *Adv. Exp. Med. Biol.* 986, 81-102.
- Braganhol, E., Zamin, L.L., Canedo, A.D., Horn, F., Tamajusuku, A.S.K., Wink, M.R., Salbego, C., Battastini, A.M.O. (2006) Antiproliferative effect of quercetin in the human U138MG glioma cell line. *Anticancer Drugs* 17(6), 663-671.

- Braun, K., Ahluwalia, M.S. (2017) Treatment of glioblastoma in older adults. *Curr. Oncol. Rep.* 19 (12), 81-88.
- Brück, W.M., Slater, J.W., Carney, B.F. (2011) Chitin and chitosan from marine organisms. in: kim s.-k, ed. chitin, chitosan, oligosaccharides and their derivatives. CRC Press 1, 11-23.
- Bruinsmann, F.A., Vaz, G.R., Alves, A.C.S., Aguirre, T., Pohlmann, A.R., Guterres, S.S., Sonvico, F. (2019) Nasal drug delivery of anticancer drugs for the treatment of glioblastoma: preclinical and clinical trials. *Molecules* 24 (23), 4312-4344.
- Campos, J.M., Conejo-García, A., Cruz-López, O. Chapter - Bozepinib: a promising selective derivative targeting breast cancer stem cells. *IntechOpen* 1, 1-16.
- Cappellari, A.R., Pillat, M.M., Souza, H.D.N., Dietrich, F., Oliveira, F.H., Figueiró, F., Abujamra, A.L., Roesler, R., Lecka, J., Sévigny, J., Battastini, A.M.O., Ulrich, H. (2015) Ecto-5'-nucleotidase overexpression reduces tumor growth in a xenograph medulloblastoma model. *PLoS One* 10 (10), 1-18.
- Cappellari, A.R., Vasques, G.J., Bavaresco, L., Braganhol, E., Battastini, A.M. (2012) Involvement of ecto-5'-nucleotidase/CD73 in U138MG glioma cell adhesion. *Mol Cell Biochem.* 359 (1-2), 315-322.
- Casettari, L., Illum, L. (2014) Chitosan in nasal delivery systems for therapeutic drugs. *J Control Release* 190, 189-200.
- Ceruti, S., Abbracchio, M.P. (2020) Adenosine signaling in glioma cells. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1202, 13-33.
- Chacko, B.J., Palanisamy, S., Gowrishankar, N.L., Honeypriya, J., Sumathy, A. (2018) Effect of surfactant coating on brain targeting polymeric nanoparticles. *Indian J. Pharm. Sci.* 80, 215-222.
- Chothiphirat, A., Nittayaboon, K., Kanokwiroon, K., Srisawat, T., Navakanitworakul, R., (2019) Anticancer potential of fruit extracts from vatica diospyroides symington type ss and their effect on program cell death of cervical cancer cell lines. *Sci. World J.* 2019, 5491904-541913.
- Chou, T.C. (2006) Theoretical basis, experimental design, and computerized simulation of synergism and antagonism in drug combination studies. *Pharmacol. Rev.* 58 (3), 621-681.

- Chou, T.C. (2010) Drug combination studies and their synergy quantification using the Chou-Talalay method. *Cancer Res.* 70 (2), 440-446.
- Chou, T.C., Motzer, R.J., Tong, Y., Bosl, G.J. (1994) Computerized quantitation of synergism and antagonism of taxol, topotecan, and cisplatin against human teratocarcinoma cell growth: a rational approach to clinical protocol design. *J. Natl. Cancer Inst.* 86 (20), 1517-1524.
- Colombo, M., Figueiró, F., Dias, A.F., Teixeira, H.F., Battastini, A.M.O., Koester, L.S. (2018) Kaempferol-loaded mucoadhesive nanoemulsion for intranasal administration reduces glioma growth in vitro. *Int. J. Pharm.* 543 (1-2), 214-223.
- Davis, M.E. (2016) Glioblastoma: overview of disease and treatment. *Clin. J. Oncol. Nurs.* 20 (5), 2-8.
- Deng, S. Gigliobianco, M.R., Censi, R., Di Martino, P. (2020) Polymeric nanocapsules as nanotechnological alternative for drug delivery system: current status, challenges and opportunities. *Nanomaterials (Basel)* 10(5), 847-857.
- Djupesland, P.G, Messina, J.C., Mahmoud, R.A. (2014) The nasal approach to delivering treatment for brain diseases: an anatomic, physiologic, and delivery technology overview. *Ther. Deliv.* 5 (6), 709-33.
- Dobes, M., Shadbolt, B., Khurana, V.G., Jain, S., Smith, S.F., Smee, R., Dexter, M., Cook, R. (2011) A multicenter study of primary brain tumor incidence in Australia (2000-2008). *Neuro Oncol.* 13 (7), 783-790.
- Elnaggar, Y.S.R., Etman, S.M., Abdelmonsif, D.A., Abdallah, O.Y. (2015) Intranasal piperine-loaded chitosan nanoparticles as brain-targeted therapy in alzheimer's disease: optimization, biological efficacy, and potential toxicity. *J. Pharm. Sci.* 104 (10), 3544-3556.
- Erdő, F., Bors, L.A., Farkas, D., Bajza, Á., Gizurarson, S. (2018) Evaluation of intranasal delivery route of drug administration for brain targeting. *Brain Res. Bull.* 143, 155-170.
- Feng, L.L., Cai, Y.Q., Zhu, M.C., Xing, L.J., Wang, X. (2020) The yin and yang functions of extracellular ATP and adenosine in tumor immunity. *Cancer Cell. Int.* 20, 110-121.

- Ferretti, E., Horenstein, A.L., Canzonetta, C., Costa, F., Morandi, F. (2019) Canonical and non-canonical adenosinergic pathways. *Immunol. Lett.* 205, 25-30.
- Figueiró, F., Oliveira, C.P., Bergamin, L.S., Rockenbach, L., Mendes, F.B., Jandrey, E.H.F., Moritz, C.E.J., Pettenuzzo, L.F., Sévigny, J., Guterres, S.S., Pohlmann, A.R., Battastini, A.M.O. (2016) Methotrexate up-regulates ecto-5'-nucleotidase/CD73 and reduces the frequency of T lymphocytes in the glioblastoma microenvironment. *Purinergic Signalling.* 12 (2), 303-312.
- Frank, L.A., Contri, R.V., Beck, R.C.R., Pohlmann, A.R., Guterres, S.S. (2015). Improving drug biological effects by encapsulation into polymeric nanocapsules. *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotechnol.* 7 (5), 623-639.
- Gänger, S., Schindowski, K. (2018) Tailoring Formulations for Intranasal Nose-to-Brain Delivery: A Review on Architecture, Physico-Chemical Characteristics and Mucociliary Clearance of the Nasal Olfactory Mucosa. *Pharmaceutics.* 10 (3), 116-144.
- Gao, M., Shen, X. & Mao, S. (2020) Factors influencing drug deposition in the nasal cavity upon delivery via nasal sprays. *J. Pharm. Investig.* 50, 251-259.
- Gaumet, M., Vargas, A., Gurny, R., Delie, F. (2008) Nanoparticles for drug delivery: The need for precision in reporting particle size parameters. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 69 (1), 1-9.
- Geraghty, N.J., Watson, D., Sluyter, R. (2019) Pharmacological blockade of the CD39/CD73 pathway but not adenosine receptors augments disease in a humanized mouse model of graft-versus-host disease. *Immunol. Cell. Biol.* 97 (6), 597-610.
- Ghosh, D., Nandi, S., Bhattacharjee, S. (2018) Combination therapy to checkmate Glioblastoma: clinical challenges and advances. *Clin. Transl. Med.* 7 (1), 33-45.
- Gimple, R.C., Bhargava, S., Dixit, D., Rich, J.N. (2019) Glioblastoma stem cells: lessons from the tumor hierarchy in a lethal cancer. *Genes Dev.* 33 (11-12), 591-609.
- Giuliani, P., Carluccio, M., Ciccarelli, R. (2021) Role of purinome, a complex signaling system, in glioblastoma aggressiveness. *Front. Pharmacol.* 12, 632-622.
- Goswami, S., Walle, T., Cornish, A.E., Basu, S., Anandhan, S., Fernandez, I., Vence, L., Blando, J., Zhao, H., Yadav, S.S., Ott, M., Kong, L.Y., Heimberger, A.B., Groot, J., Sepesi, B., Overman, M., Kopetz, S., Allison, J.P., Pe'er, D., Sharma, P. (2020) Immune

profiling of human tumors identifies CD73 as a combinatorial target in glioblastoma. *Nat. Med.* 26 (1), 39-46.

Grech, N., Dalli, T., Mizzi, S., Meilak, L., Calleja, N., Zrinzo, A. (2020) Rising incidence of glioblastoma multiforme in a well-defined population. *Cureus.* 12 (5), 8195-8204.

Guideline, ICH Harmonized Tripartite (2005). Validation of analytical procedures: text and methodology. Q2 (R1) 1. Available from: <[http://www.ich.org/fileadmin/Public Web Site/ICH Products/Guidelines/Quality/Q2 R1/Step4/Q2R1 Guideline.pdf](http://www.ich.org/fileadmin/Public%20Web%20Site/ICH%20Products/Guidelines/Quality/Q2%20R1/Step4/Q2R1%20Guideline.pdf)>.

Haar, C.P., Hebbar, P., Wallace, G.C., Das, A., Vandergrift, W.A., Smith, J.A., Giglio, P., Patel, S.J., Ray, S.K., Banik, N.L. (2012) Drug resistance in glioblastoma: a mini review. *Neurochem. Res.* 37 (6), 1192-1200.

Hanif, F., Muzaffar, K., Perveen, K., Malhi, S.M., Simjee, S.U. (2017) Glioblastoma multiforme: a review of its epidemiology and pathogenesis through clinical presentation and treatment. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 18 (1), 3-9.

Horenstein, A.L., Bracci, C., Morandi, F., Malavasi, F. (2019) CD38 in adenosinergic pathways and metabolic re-programming in human multiple myeloma cells: in-tandem insights from basic science to therapy. *Front. Immunol.* 10, 760-772.

Huang, Z., Cheng, L., Guryanova, O.A., Wu, Q., Bao, S. (2010) Cancer stem cells in glioblastoma-molecular signaling and therapeutic targeting. *Protein Cell.* 1 (7): 638-655.

Jäger, E., Venturini, C.G., Poletto, F.S., Colomé, L.M., Pohlmann, J.P.U., Bernardi, A., Battastini, A.M.O., Guterres, S.S., Pohlmann, A.R. (2009) Sustained release from lipid-core nanocapsules by varying the core viscosity and the particle surface area. *J. Biomed. Nanotechnol.* 5 (1), 130-140.

Jiang P, Mukthavaram R, Chao Y, Bharati, I.S., Fogal, V., Pastorino, S., Cong, X., Nomura, N., Gallagher, M., Abbasi, T., Vali, S., Pingle, S.C., Makale, M., Kesari, S. (2014) Novel anti-glioblastoma agents and therapeutic combinations identified from a collection of FDA approved drugs. *J. Transl. Med.* 12, 13-26.

Jin, K., Mao, C., Chen, L., Wang, L., Liu, Y., Yuan, J. (2021) Adenosinergic pathway: a hope in the immunotherapy of glioblastoma. *Cancers (Basel)* 13 (2), 229-250.

- Kaltschmidt, C., Banz-Jansen, C., Benhidjeb, T., Beshay, M., Förster, C., Greiner, J., Hamelmann, E., Jorch, N., Mertzlufft, F., Pfitzenmaier, J., Simon, M., Schulte am Esch, J., Vordemvenne, T., Wähnert, D., Weissinger, F., Wilkens, L., Kaltschmidt, B. (2019). A role for NF- κ B in organ specific cancer and cancer stem cells. *Cancers (Basel)*. 11 (5), 655-677.
- Kim, Y.S., Kaidina, A.M., Chiang, J.H., Yarygin, K.N., Lupatov, AY. (2016) Molecular markers of cancer stem cells verified in vivo. *Biomed. Khim*, 62 (3), 228-238.
- Klionsky, D.J., Abdalla, F.C., Abeliovich, H., Abraham, R.T., Acevedo-Arozena, A., Adeli, K., Agholme, L., Agnello, M., Agostinis, P., Aguirre-Ghiso, J.A., Ahn, H.J., et al, (2016) Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (3rd edition). *Autophagy* 12 (1), 1-222.
- Kocaturk, N.M., Akkoc, Y., Kig, C., Bayraktar, O., Gozuacik, D., Kutlu, O. (2019) Autophagy as a molecular target for cancer treatment. *Eur. J. Pharm. Sci.* 134, 116-137.
- Korja, M., Raj, R., Seppä, K., Luostarinen, T., Malila, N., Seppälä, M., Mäenpää, H., Pitkäniemi, J. (2019) Glioblastoma survival is improving despite increasing incidence rates: a nationwide study between 2000 and 2013 in Finland. *Neuro Oncol.* 21 (3), 370-379.
- Kothamasu, P., Kanumur, H., Ravur, N., Maddu, C., Parasuramrajam, R., Thangavel, S. (2012) Nanocapsules: the weapons for novel drug delivery systems. *Bioimpacts.* 2 (2), 71-81.
- Kreuter J, Shamenkov D, Petrov V, Ramge, P., Cychutek, K., Koch-Brandt, C., Alyautdin R. (2002) Apolipoprotein-mediated transport of nanoparticle-bound drugs across the blood-brain barrier. *J. Drug Target.* 10 (4), 317-325.
- Krishnan, J.K.S., Arun, P., Chembukave, B., Appu, AP., Vijayakumar, N., Moffett, J.R., Puthillathu, N., Namboodiri, A.M.A (2017) Effect of administration method, animal weight and age on the intranasal delivery of drugs to the brain. *J Neurosci Methods.* 286: 16-21.
- Layland, J., Carrick, D., Lee, M., Oldroyd, K., Berry, C. (2014) Adenosine: physiology, pharmacology, and clinical applications. *JACC Cardiovasc. Interv.* 7 (6), 581-591.

- Ledur, P.F., Villodre, E.S., Paulus, R., Cruz, L.A., Flores, D.G., Lenz, G. (2012) Extracellular ATP reduces tumor sphere growth and cancer stem cell population in glioblastoma cells. *Purinergic Signal*. 8 (1), 39-48.
- Lee, C.H., Jung, K.W., Yoo, H., Park, S., Lee, S.H. (2010) Epidemiology of primary brain and central nervous system tumors in Korea. *J Korean Neurosurg Soc*. 48 (2), 145-152.
- Lee, S.Y. (2016) Temozolomide resistance in glioblastoma multiforme. *Genes Dis*. 3 (3), 198-210.
- Lee, T.G., Kim, S.Y., Kim, H.R., Kim, H., Kim, C.H. (2020) Radiation induces autophagy via histone H4 lysine 20 trimethylation in non-small cell lung cancer cells. *Anticancer Res*. 40(5), 2537-2548.
- Levy, J.M.M., Towers, C.G., Thorburn, A. (2017) Targeting autophagy in cancer. *Nat Rev Cancer*. 17 (9), 528–542.
- Li, J., Cai, C., Li, J., Li, J., Li, J. Sun, T., Wang, L., Wu, H., Yu, G. (2018) Chitosan-Based Nanomaterials for Drug Delivery. *Molecules* 23 (10), 2661-2684.
- Liu, G., Yuan, X., Zeng, Z., Tunici, P., Ng, H., Abdulkadir, I.R., Lu, L., Irvin, D., Black, K.L., Yu, J.S. (2006) Analysis of gene expression and chemoresistance of CD133+ cancer stem cells in glioblastoma. *Mol. Cancer* 5, 67-74.
- Liu, S., Yang, S., Ho, P.C. (2017) Intranasal administration of carbamazepine-loaded carboxymethyl chitosan nanoparticles for drug delivery to the brain. *Asian J. Pharm. Sci*. 13 (1): 72-81.
- Liu, Y., Tang, Z.G., Lin, Y., Qu, X.G., Lv, W., Wang, G.B., Li, C.L. (2017) Effects of quercetin on proliferation and migration of human glioblastoma U251 cells. *Biomed Pharmacother* 92, 33-38.
- Lombardo, S.M., Schneider, M., Türel, A.E., Türel, N.G. (2020) Key for crossing the BBB with nanoparticles: the rational design. *Beilstein J. Nanotechnol*. 11, 866-883.
- López-Cara, L.C., Conejo-García, A., Marchal, J.A., Macchione, G., Cruz-López, O., Boulaiz, H., García, M.A., Rodríguez-Serrano, F., Ramírez, A., Cativiela, C., Jiménez, A.I., García-Ruiz, J.M., Choquesillo-Lazarte, D., Aránega, A., Campos, J.M. (2011) New (RS)-benzoxazepin-purines with antitumor activity: the chiral switch from (RS)-2,6-

Dichloro-9-[1-(p-nitrobenzenesulfonyl)-1,2,3,5-tetrahydro-4,1-benzoxazepin-3-yl]-9H-purine. *Eur. J. Med. Chem.* 46 (1), 249-258.

Lukas, R.V., Wainwright, D.A., Ladomersky, E., Sachdev, S., Sonabend, A.M., Stupp, R. (2019) Newly diagnosed glioblastoma: a review on clinical management. *Oncology* 33 (3), 91-100.

Luppi, B., Bigucci, F., Cerchiara, T., & Zecchi, V. (2010). Chitosan-based hydrogels for nasal drug delivery: from inserts to nanoparticles. *Expert Opin. Drug Deliv.* 7 (7), 811-828.

Maeda, H., Nakamura, H., Fang, J. (2013) The EPR effect for macromolecular drug delivery to solid tumors: Improvement of tumor uptake, lowering of systemic toxicity, and distinct tumor imaging in vivo. *Adv. Drug Deliv.* 65, 71-79.

Mahmoud, B.S., AlAmri, A.H., McConville, C. (2020) Polymeric Nanoparticles for the Treatment of Malignant Gliomas. *Cancers (Basel)*. 12 (1), 175-203.

Mansoori, B., Mohammadi, A., Davudian, S., Shirjang, S., Baradaran, B. (2017) The different mechanisms of cancer drug resistance: a brief review. *Adv. Pharm. Bull.* 7 (3), 339-348.

Marchal, J.A., Carrasco, E., Ramirez, A., Jiménez, G., Olmedo, C., Peran, M., Agil, A., Conejo-García, A., Cruz-López, O., Campos, J.M., García, M.A. (2013) Bozepinib, a novel small antitumor agent, induces PKR-mediated apoptosis and synergizes with IFN α triggering apoptosis, autophagy and senescence. *Drug Des. Devel. Ther.* 7, 1301-1313.

Miranda-Filho, A., Piñeros, M., Soerjomataram, I., Deltour, I., Bray, F. (2017) Cancers of the brain and CNS: global patterns and trends in incidence. *Neuro Oncol.* 19 (2), 270-280.

Mohammed, M.A., Syeda, J.T.M., Wasan, K.M., Wasan, E.K. (2017) An Overview of Chitosan Nanoparticles and Its Application in Non-Parenteral Drug Delivery. *Pharmaceutics*. 9(4), 53-79.

Muller, P.Y., Milton, M.N. (2012) The determination and interpretation of the therapeutic index in drug development. *Nature Reviews Drug Discovery* 11 (10), 751-761.

Musumeci, T., Bonaccorso, A., Puglisi, G. (2019) Epilepsy disease and nose-to-brain delivery of polymeric nanoparticles: an overview. *Pharmaceutics* 11 (3), 118-139.

- Naskar, S., Koutsu, K., Sharma, S. (2019) Chitosan-based nanoparticles as drug delivery systems: a review on two decades of research. *J. Drug Target* 27 (4), 379-393.
- Nibali, M.C., Gay, L.G., Sciortino, T., Rossi, M., Caroli, M., Bello, L., Riva, M. (2020) Surgery for glioblastoma in elderly patients. *Neurosurg. Clin. N. Am.* 32 (1), 137-148.
- Nowak, M., Brown, T.D., Graham, A., Helgeson, M.E., Mitragotri S. (2019) Size, shape, and flexibility influence nanoparticle transport across brain endothelium under flow. *Bioeng. Transl. Med.* 5 (2), 10153-10164.
- Ostrom, Q.T., Cioffi, G., Gittleman, H., Patil, N., Waite, K., Kruchko, C., Barnholtz-Sloan, J.S. (2019) CBTRUS statistical report: primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2012-2016. *Neuro Oncol.* 21 (5), 1-100.
- Osuka, S., van Meir, E.G. (2017) Overcoming therapeutic resistance in glioblastoma: the way forward. *J. Clin. Invest.* 127 (2), 415-426.
- Pardeshi, C.V., Belgamwar, V.S. (2013) Direct nose to brain drug delivery via integrated nerve pathways bypassing the blood-brain barrier: an excellent platform for brain targeting. *Expert Opin. Drug Deliv.* 10 (7), 957-972.
- Peña-Morán, O.A., Villarreal, M.L., Álvarez-Berber, L., Meneses-Acosta, A., Rodríguez-López, V. (2016). Cytotoxicity, post-treatment recovery, and selectivity analysis of naturally occurring podophyllotoxins from *bursera fagaroides* var. *fagaroides* on breast cancer cell lines. *Molecules* 21 (8), 1013-1028.
- Philips, A., Henshaw, D.L., Lamburn, G., O'Carroll, M.J. (2018) Brain tumours: rise in glioblastoma multiforme incidence in England 1995-2015 suggests an adverse environmental or lifestyle factor. *J. Environ. Public. Health* 2018, 1-10.
- Pires, P.C., Santos, A.O. (2018) Nanosystems in nose-to-brain drug delivery: A review of non-clinical brain targeting studies. *J. Control Release.* 270, 89-100.
- Pistrutto, G., Trisciuglio, D., Ceci, C., Garufi, A., D'Orazi, G. (2016) Apoptosis as anticancer mechanism: function and dysfunction of its modulators and targeted therapeutic strategies. *Aging (Albany NY)* 8(4), 603-619.
- Poillet-Perez, L., White, E. (2019) Role of tumor and host autophagy in cancer metabolism. *Genes Dev.* 33 (11-12), 610-619.

- Poletto, F.S., Fiel, L.A., Lopes, M.V., Schaab, G., Gomes, A.M.O., Guterres, S.S., Rossi-Bergmann, B., Pohlmann, A.R. (2012) Fluorescent-labeled poly(ϵ -caprolactone) lipid-core nanocapsules: synthesis, physicochemical properties and macrophage uptake. *J. Colloid Sci. Biotechnol.* 1, 89-98.
- Pourgholi, F., Hajivalili, M., Farhad, J.N., Kafil, H.S., Yousefi, M. (2016) Nanoparticles: novel vehicles in treatment of glioblastoma. *Biomed. Pharmacother.* 77, 98-107.
- Quispe, A., Zavala, C., Rojas, J., Posso, M., Vaisberg, A. (2006). Efecto citotóxico selectivo in vitro de murcin H (acetogenina de *Annona muricata*) en cultivos celulares de cáncer de pulmón. *Rev. Peru. Med. Exp. Salud Publica* 23 (4), 265-269.
- Rajaratnam, V., Islam, M.M., Yang, M., Slaby, R., Ramirez, H.M., Mirza, S.P. (2020) Glioblastoma: Pathogenesis and Current Status of Chemotherapy and Other Novel Treatments. *Cancers (Basel)* 12 (4), 937-965.
- Ramírez, A., Boulaiz, H., Morata-Tarifa, C., Perán, M., Jiménez, G., Picon-Ruiz, M., Agil, A., Cruz-López, O., Conejo-García, A., Campos, J.M., Sánchez, A., García, M.A., Marchal, J.A. (2014) HER2-signaling pathway, JNK and ERKs Kinases, and cancer stem-like cells are targets of Bozepinib. *Oncotarget* 5 (11), 3590-3606.
- Rinkenbaugh, A.L., Cogswell, P.C., Calamini, B., Dunn, D.E., Persson, A.I., Weiss, W.A., Lo, D.C., Baldwin, A.S. (2016). IKK/NF- κ B signaling contributes to glioblastoma stem cell maintenance. *Oncotarget.* 7 (43), 69173-69187.
- Rockenbach, L., Bavaresco, L., Fernandes, Farias, P., Cappellari, A.R., Barrios, C.H., Bueno Morrone, F., Oliveira Battastini, A.M. (2013) Alterations in the extracellular catabolism of nucleotides are involved in the antiproliferative effect of quercetin in human bladder cancer T24 cells. *Urol. Oncol.* 31(7), 1204-1211.
- Rukmangathen, R., Yallamalli, I.M., Yalavarthi, P.R. (2019) Formulation and biopharmaceutical evaluation of risperidone-loaded chitosan nanoparticles for intranasal delivery. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 45 (8), 1342-1350.
- Russo, M., Russo, G.L. (2018) Autophagy inducers in cancer. *Biochem Pharmacol.* 153, 51-61.

- Rustenhoven, J., Kipnis, J. (2019) Bypassing the blood-brain barrier. *Science* 366 (6472), 1448-1449.
- Samaridou, E., Alonso, M.J. (2018) Nose-to-brain peptide delivery - The potential of nanotechnology. *Bioorg. Med. Chem.* 26 (10), 2888-2905.
- Sayour, E.J., McLendon, P., McLendon, R., De Leon, G., Reynolds, R., Kresak, J., Sampson, J.H., Mitchell, D.A. (2015) Increased proportion of FoxP3⁺ regulatory T cells in tumor infiltrating lymphocytes is associated with tumor recurrence and reduced survival in patients with glioblastoma. *Cancer Immunol. Immunother.* 64 (4), 419-427.
- Sek, K., Mølck, C., Stewart, G.D., Kats, L., Darcy, P.K., Beavis, P.A. (2018) Targeting adenosine receptor signaling in cancer immunotherapy. *Int J Mol Sci.* 19 (12), 3837-3860.
- Shao, F., Liu, C. (2018) Revisit the candidacy of brain cell types as the cell(s) of origin for human high-grade glioma. *Front. Mol. Neurosci.* 11 (48), 1-10.
- Singh, S.K., Clarke, I.D., Terasaki, M., Bonn, V.E., Hawkins, C., Squire, J., Dirks, P.B. (2003) Identification of a cancer stem cell in human brain tumors. *Cancer Res.* 63 (18), 5821-5828.
- Singh, S.K., Hawkins, C., Clarke, I.D., Squire, J.A., Bayani, J., Hide, T., Henkelman, R.M., Cusimano, M.D., Dirks, P.B. (2004) Identification of human brain tumour initiating cells. *Nature* 432 (7015), 396-401.
- Smetana, K., Lacina, L., Szabo, P., Dvořánková, B., Brož, P., Šedo A. (2016) Ageing as an important risk factor for cancer. *Anticancer Res.* 36 (10), 5009-5017.
- Smith, A., Perelman, M., Hinchcliffe, M. (2014) Chitosan - A promising safe and immune-enhancing adjuvant for intranasal vaccines. *Hum Vaccin. Immunother.* 10 (3), 797-807.
- Stevens, M.F.G., Hickman, J.A., Langdon, S.P., Chubb, D., Vickers, L., Stone, R., Baig, G., Goddard, C., Gibson, N.W., Slack, J.A., Newton, C., Lunt, E., Fizames, C., Lavelle, F. (1987) Antitumor activity and pharmacokinetics in mice of 8-carbamoyl-3-methylimidazo[5,1-d]-1,2,3,5-tetrazin-4(3H)-one (CCRG 81045; M & B 39831), a novel drug with potential as an alternative to dacarbazine. *Cancer Res.* 47 (22), 5846-5852.
- Stupp, R., Mason, W.P., van den Bent, M.J., Weller, M., Fisher, B., Taphoorn, M.J.B., Belanger, K., Brandes, A.A., Marosi, C., Bogdahn, U., Curschmann, J., Janzer, R.C.,

- Ludwin, S.K., Gorlia, T., Allgeier, A., Lacombe, D., Cairncross, J.G., Eisenhauer, E., Mirimanoff, R.O. (2005) Radiotherapy plus concomitant and adjuvant Temozolomide for glioblastoma. *N. Engl. J. Med.* 352 (10), 987-996.
- Tan, A.C., Ashley, D.M., López, G.Y., Malinzak, M., Friedman, H.S., Khasraw, M. (2020) Management of glioblastoma: state of the art and future directions. *CA Cancer J. Clin.* 70 (4), 299-312.
- Tavana, E., Mollazadeh, H., Mohtashami, E., Modaresi, S. M. S., Hosseini, A., Sabri, H., Soltani, A., Javi, H., Afshari, A.R., Sahebkar, A. (2019). Quercetin: A promising phytochemical for the treatment of glioblastoma multiforme. *BioFactors.* 46(3), 356-366.
- Taylor, O.G., Brzozowski, J.S., Skelding, K.A. (2019) Glioblastoma multiforme: an overview of emerging therapeutic targets. *Front. Oncol.* 9, 963-974.
- Thamrook, S., Suchi, S.S., Savitha, S.K., Mathan, M. (2020) Applications of lipid core nanocapsules: novel drug delivery system. *J. Pharm. Sci. & Res.* 12 (8), 1040-1045.
- Tirosh, I., Suvà, M.L. (2020) Tackling the many facets of glioblastoma heterogeneity. *Cell Stem Cell* 26 (3), 303-304.
- Tsiampali, J., Neumann, S., Giesen, B., Koch, K., Maciaczyk, G., Janiak, C., Hänggi, D., Maciaczyk, J. (2020) Enzymatic Activity of CD73 Modulates Invasion of Gliomas via Epithelial–Mesenchymal Transition-Like Reprogramming. *Pharmaceuticals (Basel).*; 13(11), 378-394.
- Upadhaya, P.G., Pulakkat, S., Patravale, V.B. (2020) Nose-to-brain delivery: exploring newer domains for glioblastoma multiforme management. *Drug Deliv. Transl. Res.* 10(4), 1044-1056.
- Urbańska, K., Sokołowska, J., Szmidt, M., Sysa, P. (2014) Glioblastoma multiforme – an overview. *Contemp. Oncol.* 18 (5), 307-312.
- Uribe, D., Torres, A., Rocha, J.D., Niechi, I., Oyarzún, C., Sobrevia, L., Martín, R.S., Quezada, C. (2017) Multidrug resistance in glioblastoma stem-like cells: Role of the hypoxic microenvironment and adenosine signaling. *Mol. Aspects Med.* 55, 140-151.
- van Woensel, M., Wauthoz, N., Rosière, R., Mathieu, V., Kiss, R., Lefranc, F., Steelant, B., Dilissen, E., van Gool, S.W., Mathivet, T., Gerhardt, H., Amighi, K., Vleeschouwer, S.

Development of siRNA-loaded chitosan nanoparticles targeting Galectin-1 for the treatment of glioblastoma multiforme via intranasal administration. *J. Control Release* 227, 71-81.

Venturini, C.G., Jäger, E., Oliveira, C.P., Bernardi, A. Battastini, A.M.O., Guterres, S.S., Pohlmann, A.R. (2011) Formulation of lipid core nanocapsules. *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* 375, 200-208.

Verma, G., Rajagopalan, M.D., Valluru, R., Sridhar, K.A. (2017) Chapter 7 - Nanoparticles: a novel approach to target tumors. *Nano and Microscale Drug Delivery Systems: Design and Fabrication*, 113-119.

Vollmann-Zwerenz, A., Leidgens, V., Feliciello, G., Klein, C.A., Hau, P. (2020) Tumor cell invasion in glioblastoma. *Int. J. Mol. Sci.* 21 (6), 1932-1953.

Walcher, L., Kistenmacher, A.K., Suo, H., Kitte, R., Dluczek, S., Strau, A., Blandszun, A.R., Yevesa, T., Fricke, S., Kossatz-Boehlert, U. (2020) Cancer stem cells - origins and biomarkers: perspectives for targeted personalized therapies. *Front. Immunol.* 11, 1280-1313.

Wang, X., Huang, X., Yang, Z., Gallego-Perez, D., Ma, J., Zhao, X., Xie, J., Nakano, I., Lee, L.J. (2014) Targeted delivery of tumor suppressor microRNA-1 by transferrin-conjugated lipopolyplex nanoparticles to patient-derived glioblastoma stem cells. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 15, 839-846.

White, E., Karp, C., Strohecker, A.M., Guo, Y., Mathew, R., (2010) Role of autophagy in suppression of inflammation and cancer. *Curr Opin Cell Biol.* 22 (2), 212-217.

Whiteside, T.L. (2017) Targeting adenosine in cancer immunotherapy: a review of recent progress. *Expert Rev. Anticancer Ther.* 17 (6), 527-535.

Wilson, B., Nasralla, B., Alobaid, B.N.M., Geethab, K.M., Jenita, J.L. (2021) Chitosan nanoparticles to enhance nasal absorption and brain targeting of sitagliptin to treat Alzheimer's disease. *J. Drug. Deliv. Sci. Technol.* 61, 102176-102182.

Wink, M.R., Lenz, G., Braganhol, E., Tamajusuku, A.S.K., Schwartsmann, G., Sarkis, J.J.F., Battastini, A.M.O. (2003) Altered extracellular ATP, ADP and AMP catabolism in glioma cell lines. *Cancer Lett.* 198 (2), 211-218.

- Wong, R.S.Y. (2011) Apoptosis in cancer: from pathogenesis to treatment. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 30 (1), 87-101.
- Xu, X., Lai, Y., Hua, Z.C. (2019) Apoptosis and apoptotic body: disease message and therapeutic target potentials. *Biosci. Rep.* 8 (4), 603-619.
- Yang, K.L., Khoo, B.Y., Ong, M.T., Yoong, I.C.K., Sreeramanan, S. (2020) In vitro anti-breast cancer studies of LED red light therapy through autophagy. *Breast Cancer* 28 (1), 60-66.
- Yang, X. Pei, S., Wang, H., Jin, Y., Yu, F., Zhou, B., Zhang, H., Zhang, D., Lin, D. (2017) Tiamulin inhibits breast cancer growth and pulmonary metastasis by decreasing the activity of CD73. *BMC Cancer.* 17(1), 255-267.
- Yin, L. Zhong, Z. (2020) 1.3.8B – Nanoparticles. *Biomaterials Science* 4, 453-483.
- Yousfan, A., Rubio, N., Natouf, A.H., Daher, A., Al-Kafry, N., Vennerd, K., Kafa, H. (2020) Preparation and characterisation of PHT-loaded chitosan lecithin nanoparticles for intranasal drug delivery to the brain. *RSC Advances* 48 (10), 28992-28010.
- Zameer, S., Ali, J., Vohora, D., Najmi, A.K., Akhtar, M. (2021) Development, optimisation and evaluation of chitosan nanoparticles of alendronate against Alzheimer's disease in intracerebroventricular streptozotocin model for brain delivery. *J. Drug. Target.* 29 (2), 199-216.
- Zhang, H., Wang, R., Yu, Y., Liu, J., Luo, T., Fan, F. (2019) Glioblastoma treatment modalities besides surgery. *J. Cancer* 10 (20), 4793-4806.
- Zhang, N., Fu, J.N., Chou, T.C. (2016) Synergistic combination of microtubule targeting anticancer fludelsonone with cytoprotective panaxytriol derived from panax ginseng against MX-1 cells in vitro: experimental design and data analysis using the combination index method. *Am. J. Cancer Res.* 6(1), 97-104.
- Zhao, M., van Straten. D., Broekman, M.L.D., Pr at, V., Schiffelers, R.M. (2020) Nanocarrier-based drug combination therapy for glioblastoma. *Theranostics.* 10(3), 1355-1372.
- Zhu, P., Du, X.L., Lu, G., Zhu, J.J. (2017) Survival benefit of glioblastoma patients after FDA approval of temozolomide concomitant with radiation and bevacizumab: A population-based study. *Oncotarget* 8 (27), 44015-44031.

ANEXO A: Carta de aprovação do CEUA



U F R G S
UNIVERSIDADE FEDERAL
DO RIO GRANDE DO SUL

PRO-REITORIA DE PESQUISA
Comissão De Ética No Uso De Animais



CARTA DE APROVAÇÃO

Comissão De Ética No Uso De Animais analisou o projeto:

Número: 37393

Título: AVALIAÇÃO DO PAPEL DO BOZEPINIB EM NANOCÁPSULAS NA PROGRESSÃO E NA RESISTÊNCIA TUMORAL EM ENSAIOS PRÉ-CLÍNICOS DE GLIOBLASTOMA

Vigência: 01/06/2019 à 31/05/2022

Pesquisadores:

Equipe UFRGS:

Fabício Figueiró - coordenador desde 01/06/2019
ANA MARIA OLIVEIRA BATTASTINI - pesquisador desde 01/06/2019
Juliete Nathali Scholl - Aluno de Doutorado desde 01/06/2019
Amanda de Fraga Dias - Aluno de Mestrado desde 01/06/2019

Comissão De Ética No Uso De Animais aprovou o mesmo, em reunião realizada em 02/09/2019 - Sala 56 do prédio 11209-Salas de Aula do Campus Centro/UFRGS/R. Sarmento Leite, 425, em seus aspectos éticos e metodológicos, para a utilização de 166 ratos Wistar machos com 8 semanas, com 220-300 g provenientes do CREAL - UFRGS; de acordo com os preceitos das Diretrizes e Normas Nacionais e Internacionais, especialmente a Lei 11.794 de 08 de novembro de 2008, o Decreto 6899 de 15 de julho de 2009, e as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), que disciplinam a produção, manutenção e/ou utilização de animais do filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) em atividade de ensino ou pesquisa.

Porto Alegre, Sexta-Feira, 13 de Setembro de 2019

ALEXANDRE TAVARES DUARTE DE OLIVEIRA
Coordenador da comissão de ética

ANEXO B: Colaborações (Artigos publicados durante o mestrado)

Dias, A.F., Scholl, J.N., Moritz, C.E.J., Kagami, L.P., Neves, G.M., Eifler-Lima, V.L., Cruz-López, O., Conejo-García, A., Sévigny, J., Battastini, A.M.O., Campos, J.M., Figueiró, F. (2021) New insights into cytotoxic mechanisms of bozepinib against glioblastoma. *Eur. J. Pharm. Sci.* 162, 105823-105836.

Moritz, C.E.J., Boeno, F.P., Vieira, A.F., Munhoz, S.V., Scholl, J.N., **Dias, A.F.**, Pizzato, P.R., Figueiró, F., Battastini, A.M.O., Reischak-Oliveira, A. (2021) Acute moderate-intensity aerobic exercise promotes purinergic and inflammatory responses in sedentary, overweight and physically active subjects. *Exp. Physiol.* 106 (4), 1024-1037

Lopes, D.V., **Dias, A.F.**, Silva, L.F.L., Scholl, J.N., Sévigny, J., Battastini, A.M.O., Figueiró F. (2021) Influence of NSAIDs and methotrexate on CD73 expression and glioma cell growth. *Purinergic Signal*. Online ahead of print.

Andrade, P., **Dias, A.F.**, Figueiró, F., Torres, F.C., Kawano, D.F., Oliveira Battastini, A.M., Carvalho, I., da Silva, C.H.T.P., Campos, J.M. (2020) 1,2,3-Triazole tethered 2-mercaptobenzimidazole derivatives: design, synthesis and molecular assessment toward C6 glioma cell line. *Future Med. Chem.* 12 (8), 689-708.

Scholl, J.N., **Dias, A.F.**, Pizzato, P.R., Lopes, D.V., Moritz, C.E.J., Jandrey, E.H.F., Souto, G.D., Colombo, M., Rohden, F., Sévigny, J., Pohlmann, A.R., Guterres, S.S., Battastini, A.M.O., Figueiró, F. (2020) Characterization and antiproliferative activity of glioma-derived extracellular vesicles. *Nanomedicine (Lond)* 15 (10), 1001-1018.

Alves, A.C.S., Lavayen, V., Figueiró, F., Dallemole, D.R., **Dias, A.F.**, Cé, R., Battastini, A.M.O., Guterres, S.S., Pohlmann, A.R. (2020) Chitosan-Coated Lipid-Core Nanocapsules Functionalized with Gold-III and Bevacizumab Induced In Vitro Cytotoxicity against C6 Cell Line and In Vivo Potent Antiangiogenic Activity. *Pharm Res.* 37 (6), 91-118.

Federico, L.B., Silva, G.M., **Dias, A.F.**, Figueiró, F., Battastini, A.M.O., dos Santos, C.B.R., Costa, L.T., Rosa, J.M.C., da Silva, C.H.T.P. (2020) Identification of novel $\alpha\beta$ -tubulin modulators with antiproliferative activity directed to cancer therapy using ligand and structure-based virtual screening. *Int. J. Biol. Macromol.* 165, 3040-3050.

Ramos, V.M., Gasparotto, J., Figueiró, F. **Dias, A.F.**, Rostirolla, D., Somensi, N., da Rosa, H.T., Grun, L.K., Barbé-Tuana, F.M., Gelain, D.P., Moreira, J.C.F. (2019) Retinoic acid downregulates thiol antioxidant defences and homologous recombination while promotes A549 cells sensitization to cisplatin. *Cell. Signal.* 62, 109356-109367.