

## Nanostructured Lipid Carrier Co-Delivering Autophagy Inhibition siRNA and Adriamycin for Synergetic Therapy of Osteosarcoma

MORIGELE <sup>1</sup> # \*, Daorina BAO <sup>2</sup> #, Chao YUN <sup>1</sup>, Yimin BAO <sup>1</sup> & Yuewen WANG <sup>1</sup>

<sup>1</sup> The Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University,  
Orthopedics, Inner Mongolia, Hohhot, 010059, China

<sup>2</sup> The Second Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University,  
Orthopedics, Inner Mongolia, Hohhot, 010050, China

**SUMMARY.** The multidrug resistance (MDR) is a widely observed phenotype that contributed to the major obstacle of impairing the outcome of cancer chemotherapy. With the aim to reverse MDR in breast cancer cell line, the autophagy related 7 (ATG7) siRNA capable of the downregulating of cellular autophagy level was loaded into a cationic nanostructured lipid carrier (NLC) with adriamycin (Adr) to construct a platform (NLC/siR-A) for effective chemotherapy of breast cancer. Our results revealed that NLC/siR-A was well dispersed nanoparticles with satisfy protection to siRNA. In addition, NLC/siR-A also exerted sufficient drug release of both cargos under acidic environment with high stability and biocompatibility at physiological environment. Furthermore, NLC/siR-A showed preferable transfection profile to Lipofectamine 2000. The downregulated autophagy level in MG-63/Adr cells resulted in reverse of MDR and accumulated Adr retention in cells. The *in vitro* cytotoxicity using both cells on flat surfaces and multicellular tumor spheroid (MCTS) model confirmed that NLC/siR-A showed much elevated anticancer performance than NLC/Adr or NLC/siRNA, which suggested the synergistic effect between anti-autophagy and chemotherapy.

**RESUMEN.** La resistencia a múltiples fármacos (MDR) es un fenotipo ampliamente observado que contribuyó al obstáculo principal de perjudicar el resultado de la quimioterapia contra el cáncer. Con el objetivo de revertir la MDR en la línea celular de cáncer de mama, el ARNip 7 (ATG7) relacionado con la autofagia capaz de regular negativamente el nivel de autofagia celular se cargó en un portador lipídico (NLC) catiónico nanoestructurado con adriamicina (Adr) para construir una plataforma (NLC/siR-A) para la quimioterapia eficaz del cáncer de mama. Nuestros resultados revelaron que NLC/siR-A era nanopartículas bien dispersas con protección satisfactoria para siRNA. Además, NLC/siR-A también ejerció suficiente liberación de fármaco de ambas cargas en un entorno ácido con alta estabilidad y biocompatibilidad en el entorno fisiológico. Además, NLC/siR-A mostró un perfil de transfección preferible a lipofectamine 2000. El nivel de autofagia regulado a la baja en las células MG-63/Adr dio como resultado el reverso de MDR y la retención acumulada de Adr en las células. La citotoxicidad *in vitro* usando ambas células en superficies planas y el modelo de esferoide tumoral multicelular (MCTS) confirmó que NLC/siR-A mostró un rendimiento anticancerígeno muy elevado que NLC/Adr o NLC/siRNA, lo que sugirió el efecto sinérgico entre anti-autofagia y quimioterapia.

**KEY WORDS:** autophagy, breast cancer, cocktail therapy, multidrug resistance, nanostructured lipid carrier.

# These authors contributed equally to this work.

\* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: morigele85@163.com