

# Otrzymywanie i charakterystyka liposomów z pochodnymi kurkuminy o aktywności przeciwnowotworowej ukierunkowanej na nowotwory pęcherza moczowego

Paweł Bakun<sup>1,4\*</sup>, Paulina Kobyłka<sup>2,4</sup>, Joanna Kuźmińska<sup>3,4</sup>, Dariusz T. Młynarczyk<sup>1</sup>, Małgorzata Kucińska<sup>2</sup>, Anna Jelińska<sup>3</sup>, Marek Murias<sup>2</sup>, Tomasz Gośliński<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra i Zakład Technologii Chemicznej Środków Leczniczych, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Rokietnica 3, 60-806 Poznań, Polska

<sup>2</sup>Katedra i Zakład Toksykologii, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Rokietnica 3, 60-806 Poznań, Polska

<sup>3</sup>Katedra i Zakład Chemii Farmaceutycznej, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Rokietnica 3, 60-806 Poznań, Polska

<sup>4</sup>Szkoła Doktorska, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Bukowska 70, 60-812 Poznań, Polska

\*Autor korespondujący e-mail: pawel.bakun@student.ump.edu.pl



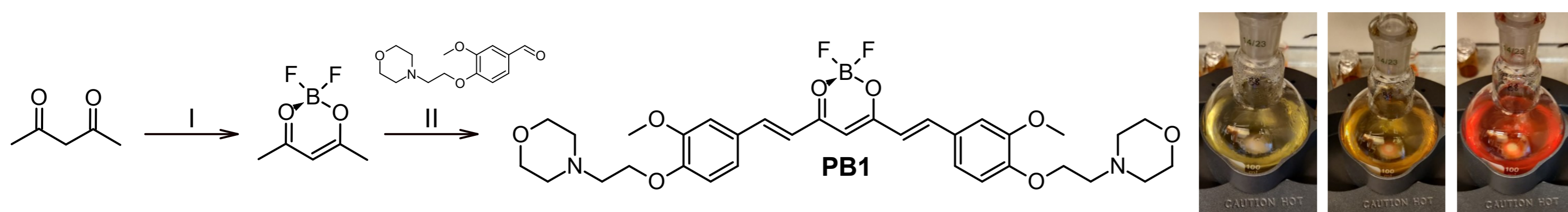
## Wstęp

Blisko 200 000 zgonów rocznie na świecie jest wywołanych przez nowotwory pęcherza moczowego, co stanowi ponad 2% wszystkich zgonów powodowanych przez choroby nowotworowe [1]. W świetle tych danych, celem jest poszukiwanie nowych substancji aktywnych farmaceutycznie o potencjalnym zastosowaniu w terapii tego typu nowotworów. Kurkumina to związek pochodzenia naturalnego posiadający wiele interesujących aktywności biologicznych, takich jak działanie przeciwzapalne, przeciwtleniające, przeciwdrobnoustrojowe, przeciwnowotworowe, hepatoprotekcyjne, przeciwzakrzepowe, kardioprotekcyjne, przeciwartretyczne oraz przeciwcukrzycowe. Niestety niska biodostępność wynikająca ze słabej rozpuszczalności i stabilności chemicznej utrudnia zastosowanie kurkuminy jako leku [2].

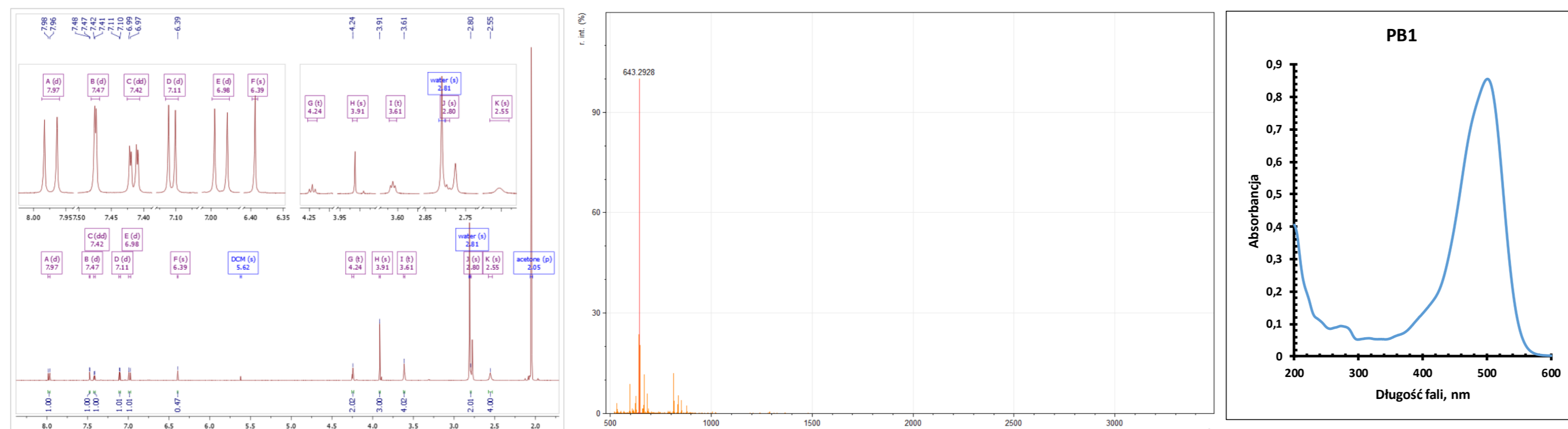
## Materiały i metody

Mając na celu poprawę właściwości fizykochemicznych i aktywności biologicznej kurkuminy względem komórek nowotworowych pęcherza moczowego, przeprowadzono syntezę serii nowych kurkuminoidów [3]. Uzyskane pochodne zostały scharakteryzowane metodami NMR, HRMS i UV-Vis. W celu określenia cytotoksyczności związków, wykonano testy *in vitro* na prokariotycznych (*Aliivibrio fischeri*) i eukariotycznych (MRC-5, SCABER, 5637) liniach komórkowych. Najaktywniejszy związek **PB1** został poddany enkapsulacji w liposomach przygotowanych metodą cienkiego filmu lipidowego z wykorzystaniem następujących lipidów: DPPC (1,2-dipalmitoilo-*sn*-glicero-3-fosfatydylocholina); DOPC (1,2-dioleilo-*sn*-glicero-fosfocholina); DOTAP (chlorek N-[1-(2,3-dioleiloksy)propylo]-N,N,N-trimetyloamoniowy) [4], które następnie poddano ekstruzji celem ujednoczenia rozmiaru. Nanoformulacje liposomalne scharakteryzowano poprzez określenie rozmiaru, polidispersyjności, potencjału zeta i efektywności enkapsulacji.

## Wyniki i dyskusja



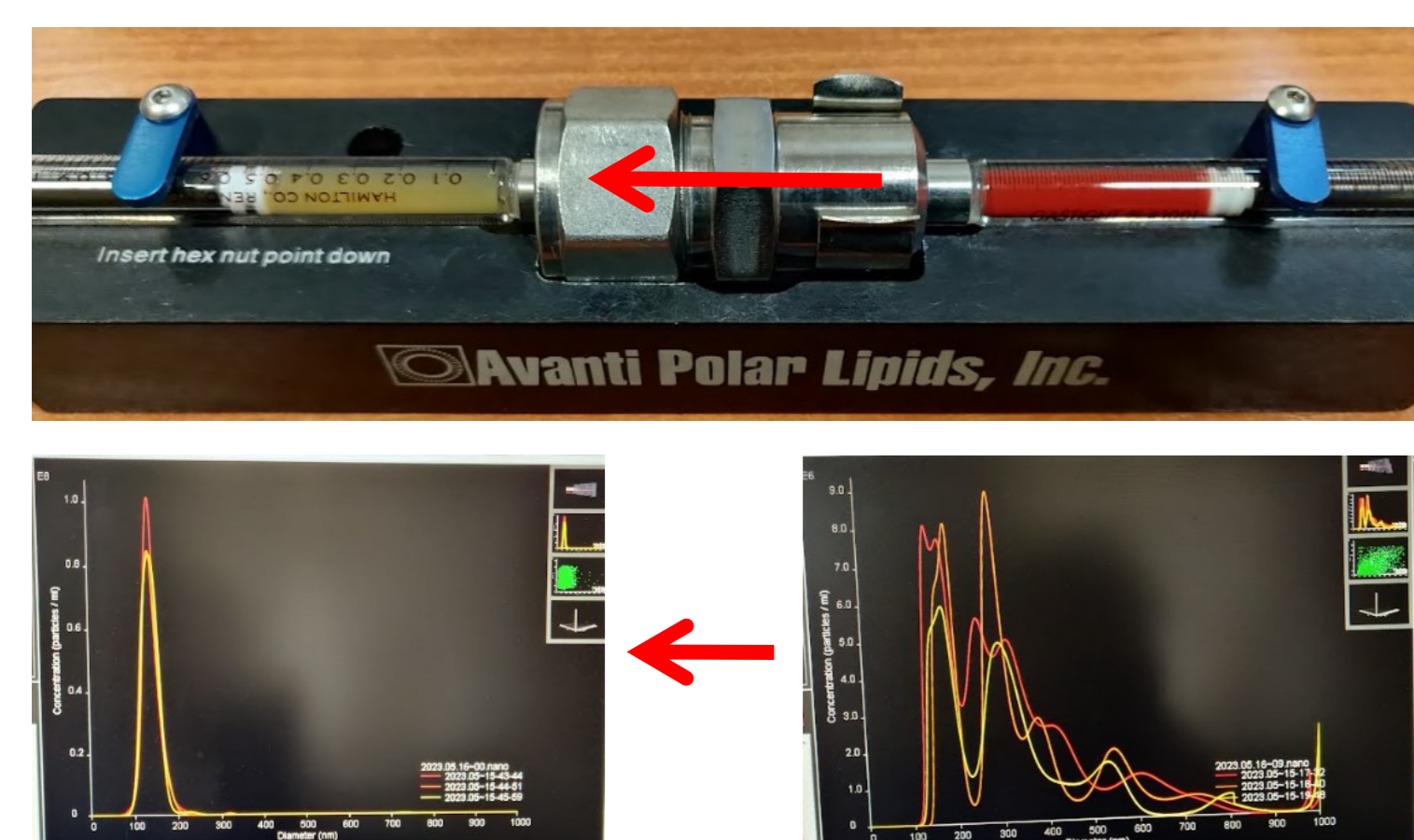
Graficzne przedstawienie ścieżki syntetycznej prowadzącej do uzyskania związku **PB1** użytego w dalszych badaniach (po lewej). Warunki reakcji: (I)  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $40^\circ\text{C}$ , 24h; (II) pochodna waniliny, toluen, boran tributylu, *N*-butyloamina,  $70^\circ\text{C}$ , 24h [3]. Zdjęcia obrazujące przebieg reakcji II (po prawej).



Wyniki analizy NMR związku **PB1** (po lewej), spektrometrii mas MALDI-TOF (w środku), oraz spektrometrii UV-Vis (po prawej).

Związek	$\text{IC}_{50}$ [ $\mu\text{M}$ ]			
	5637		MRC-5	
	24 h	48 h	24 h	48 h
<b>PB1</b>	$1,2 \pm 0,4$	$1,0 \pm 0,4$	$8,7 \pm 0,9$	$6,7 \pm 2,7$
kurkumina	$18,0 \pm 6,7$	$11,3 \pm 2,5$	$38,7 \pm 3,4$	$25,8 \pm 1,6$

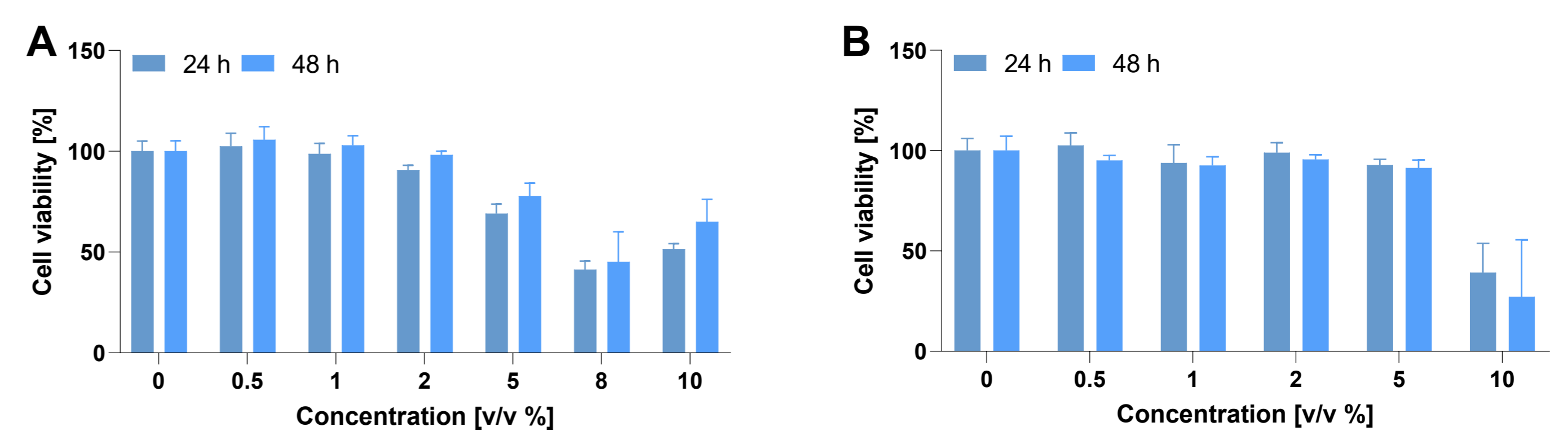
Wartości współczynnika  $\text{IC}_{50}$  związku **PB1** i kurkuminy w odniesieniu do linii komórkowej nowotworu pęcherza moczowego (5637) oraz linii normalnej fibroblastów płucnych (MRC-5), wyznaczone w teście cytotoksyczności MTT.



Zdjęcie przedstawiające ekstruder Avanti Lipids użyty do ujednoczenia rozmiaru liposomów przygotowanych metodą cienkiego filmu lipidowego (górną) oraz wykresy prezentujące rozkład wielkości uzyskanych liposomów (dół, technika NTA, Malvern NanoSight).

## Wnioski

- ▶ Otrzymano liposomy zawierające nową pochodną kurkuminy **PB1**
- ▶ Rozkład wielkości liposomów można uznać za jednorodny
- ▶ Efektywność enkapsulacji związku **PB1** jest wysoka (70%)
- ▶ Dodatek DOTAP powoduje dodatni ładunek błony liposomalnej
- ▶ Liposomy DOPC:DOTAP **PB1** wykazują działanie biologiczne porównywalne do związku wolnego

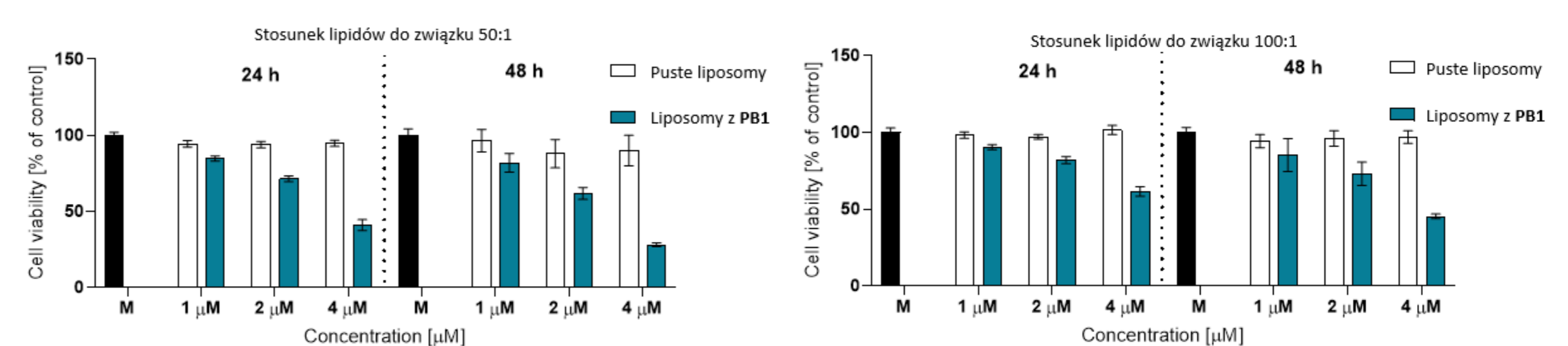


Cytotoksyczność formułacji liposomalnych DOPC (A) oraz DPPC (B) wobec linii komórek nowotworu pęcherza moczowego 5637.

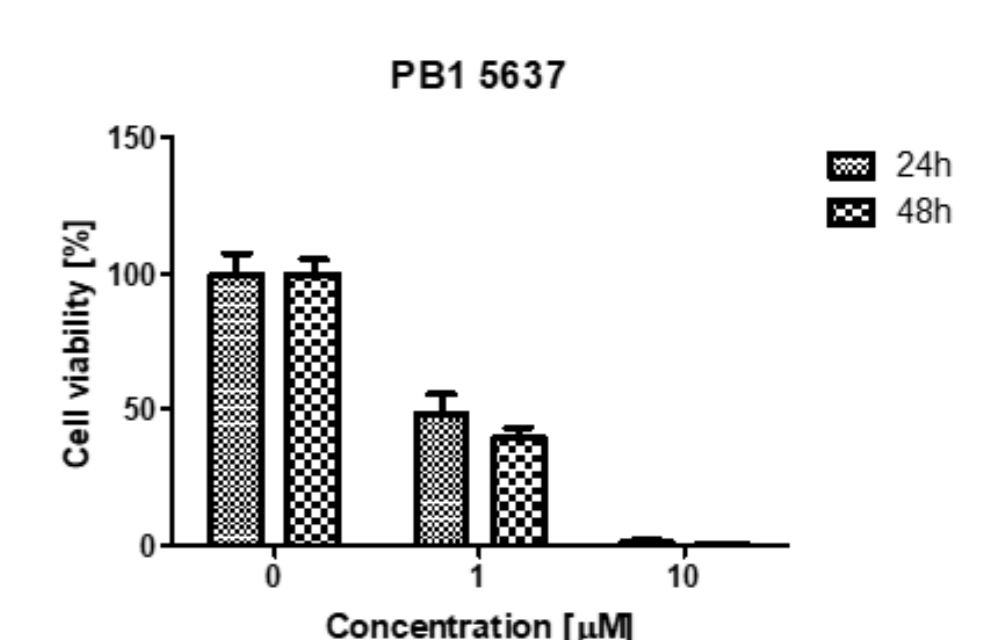
Do dalszych badań wykorzystywano liposomy oparte na DOPC w dawce nie przekraczającej 2% v/v.

Nazwa	EE%	Rozmiar [nm]	PDI	Zeta [mV]
DOPC:DOTAP: <b>PB1</b> 8:2:0,1 (100:1)	70	108	0,14	38
DOPC:DOTAP: <b>PB1</b> 8:2:0,2 (50:1)	70	142	0,35	53
DOPC:DOTAP 8:2	0	116	0,12	40

- ▶ Rozmiar liposomów określono na ok. 100 nm. Liposomy zawierające więcej związku **PB1** mają większy rozmiar
- ▶ Polidispersyjność liposomów wzrasta ze wzrostem zawartości substancji czynnej
- ▶ Dodatek DOTAP sprawia, że powstałe liposomy charakteryzują się dodatnim ładunkiem powierzchniowym o wartości ok. 40-50 mV



- ▶ Otrzymane nanoformulacje liposomalne zawierające kurkuminoid **PB1** wykazują działanie przeciwnowotworowe porównywalne do związku nie poddanego enkapsulacji
- ▶ Aktywność biologiczna wykazywana przez nanoformulacje zawierające **PB1** jest większa po 48h inkubacji niż po 24h inkubacji



## Źródła bibliograficzne

- [1] Bray F. et al. *CA. Cancer. J. Clin.* **2018**, 68(6), 394–424, <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
- [2] Anand P. et al. *Mol. Pharmaceutics.* **2007**, 4(6), 807–18, <https://doi.org/10.1021/mp700113r>
- [3] Bakun et al. *Med. Chem. Res.* **2024**, 33, 944–963, <https://doi.org/10.1007/s00044-024-03233-z>
- [4] Piskorz et al. *J. Inorg. Biochem.* **2018**, 184, 34–41, <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2018.04.010>