

Poloksamery funkcjonalizowane związkami reporterowymi jako systemy dostarczania leków ukierunkowanych na pierwotne nowotwory wątroby



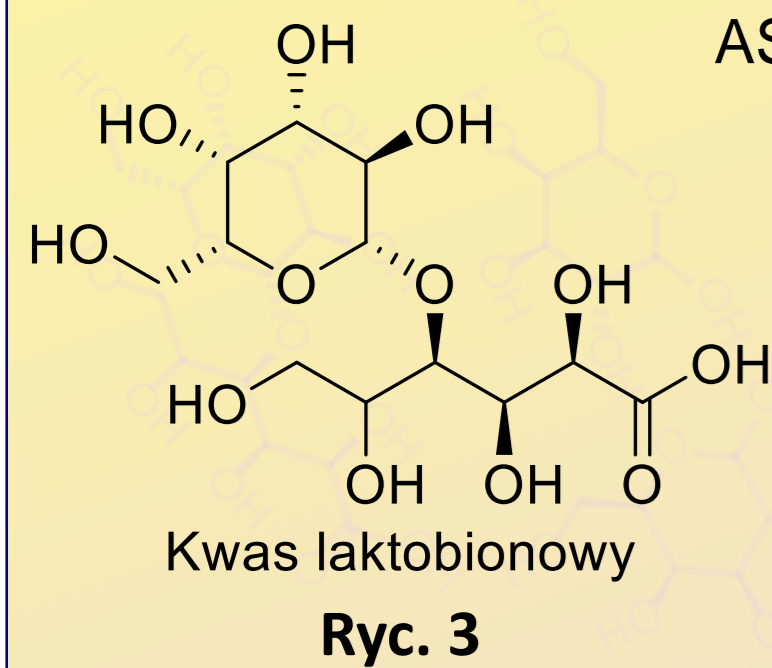
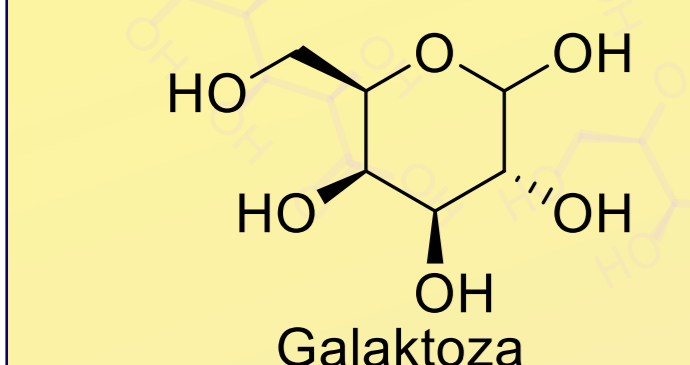
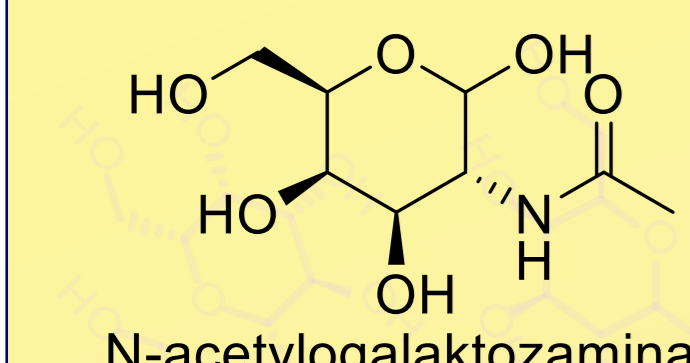
Piotr Szyk^{1,2,*}, Dariusz Młynarczyk¹, Tomasz Gośliński²

¹Katedra i Zakład Technologii Chemicznej Środków Leczniczych, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Rokietnicka 3, 60-806 Poznań, Polska

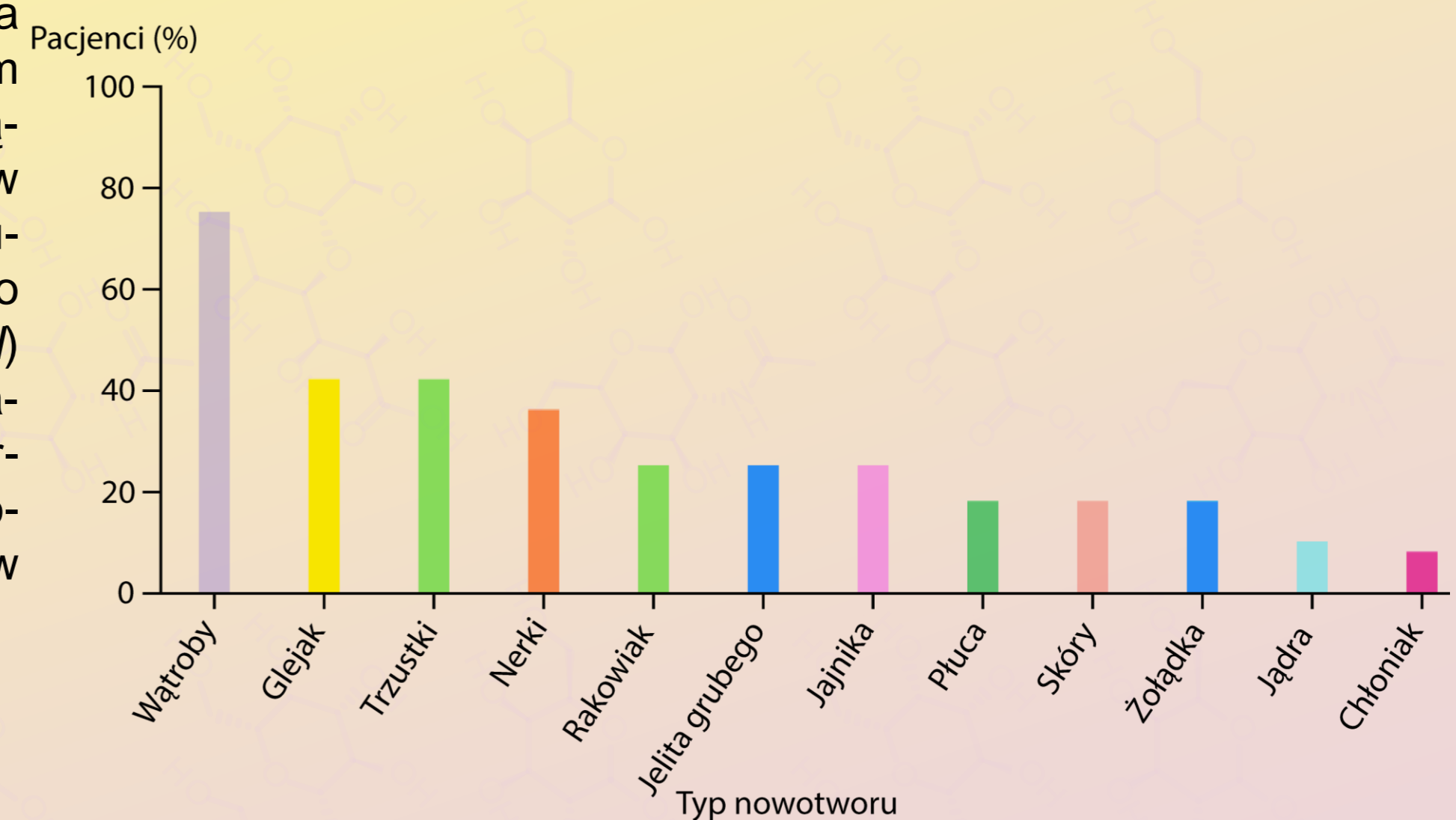
²Szkoła Doktorska Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Bukowska 70, 60-812 Poznań, Polska



Wstęp



Pierwotne nowotwory wątroby zajmują czwarte miejsce pod względem liczby zgonów na świecie przy wciąż rosnącej liczbie zachorowań [1]. Głównym wyzwaniem związanym z leczeniem tej choroby jest odporność wielolekowa komórek nowotworowych, przekładająca się na wznowy choroby i niską szansę całkowitego wyleczenia [2]. Jednym z kierunków poszukiwań bardziej efektywnych metod leczenia jest otrzymywanie polimerowych koniugatów z substancjami aktywnymi farmaceutycznie (API) o udowodnionej skuteczności. Tego typu połączenia stwarzają perspektywy: (I) zapewnienia ochrony API przed degradacją, (II) uwolnienia API w odpowiedzi na specyficzny czynnik biologiczny lub środowiskowy, (III) nakierowania na określone miejsce działania za sprawą ugrupowań lub związków reporterowych [3]. Jednym z takich materiałów może być poloksamer (**Ryc. 1**). Komórki nowotworowe wywodzące się z tkanek wątroby posiadają zauważalną nadekspresję receptorów ASGR1 (**Ryc. 2**), dla których jednym z ligandów jest galaktoza i jej pochodne (**Ryc. 3**) [4].

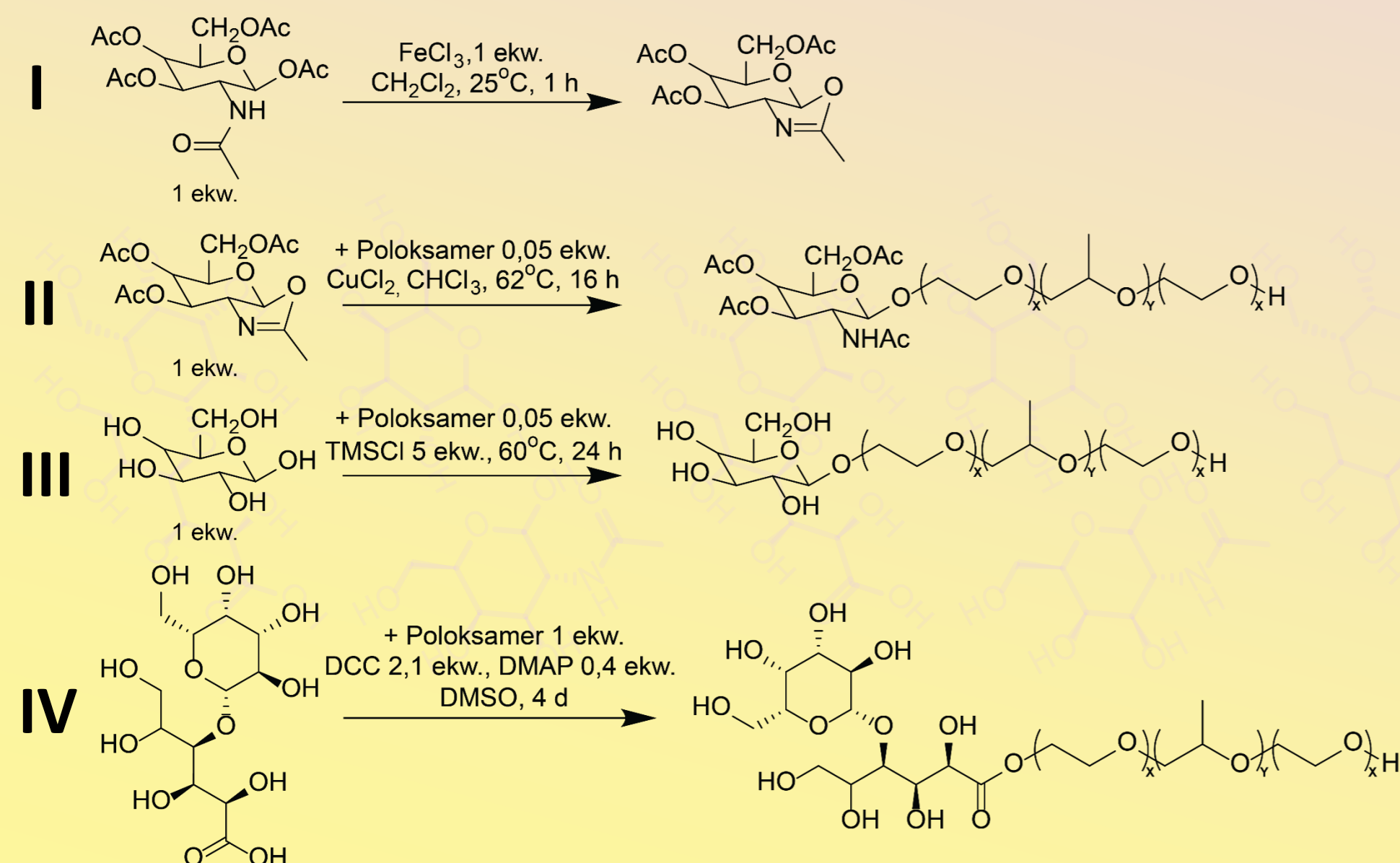


Ochrona API przed degradacją

Kontrolowane uwalnianie

Możliwość modyfikacji

Metodyka



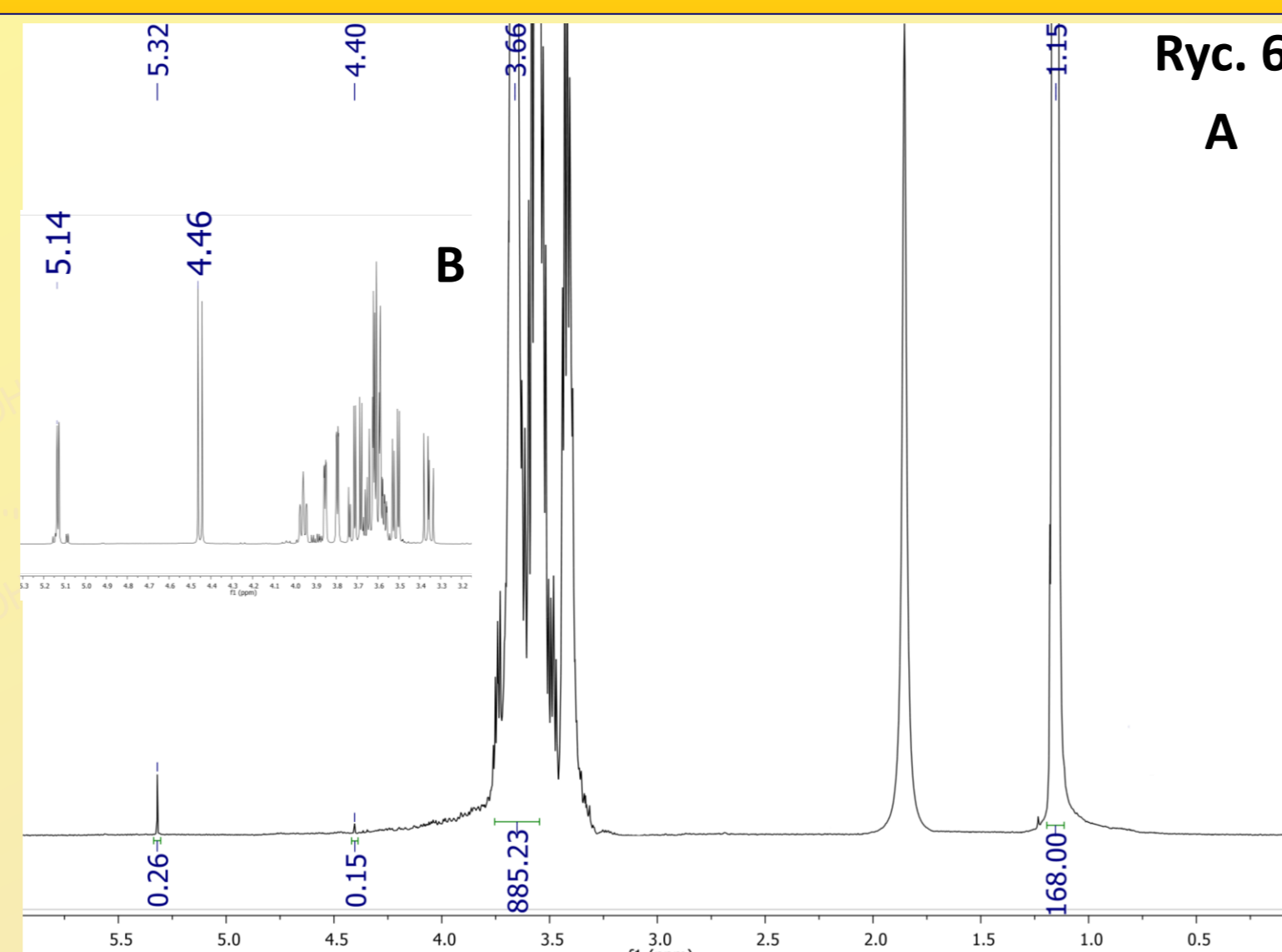
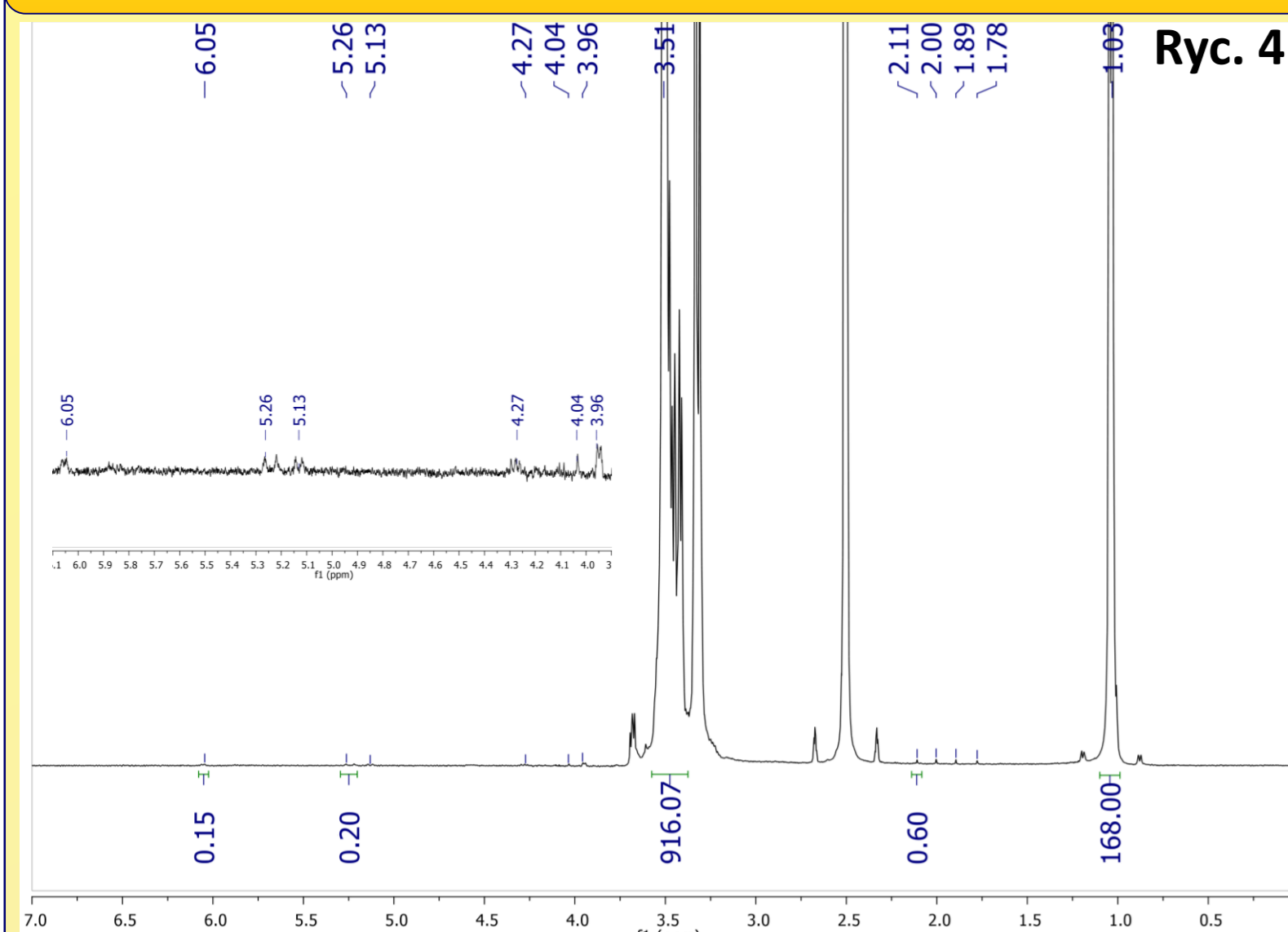
Produkt reakcji **I** został wyodrębniony na drodze ekstrakcji (dichlorometan:nasycony wodny roztwór NaHCO_3 (1:4, v/v)) i odparowania do suchej pozostałości. W kolejnym etapie pierścień oksazolinowy został otwarty nukleofilowo pod wpływem katalitycznej ilości chlorku miedzi(II), z jednoczesnym podłączeniem poloksameru **II**.

Produkty reakcji **II-IV** oczyszczono w jednakowy sposób, poddając mieszanina reakcyjną w pierwszej kolejności procesowi filtracji, a następnie do przesączu dodano roztworu heksan:octan etylu (7:3, v/v) do pojawienia się zmętnienia.

Uzyskane osady przemyto roztworem heksan:octan etylu (7:3, v/v), a suchą pozostałość wysuszone. Następnie osad rozpuszczono w toluenie i ponownie odwirowano, co pozwoliło na usunięcie zanieczyszczeń. Zebrano supernatant i odparowano. W przypadku polimerów o masach molowych wyższych od 4,5 kDa zastosowano filtrację z jednoczesnym wirowaniem (regenerowana celuloza, MWCO 3,5 kDa), rozpuszczając polimer w wodzie. Zebrano retentat i odparowano do suchej pozostałości.

Materiał scharakteryzowano stosując $^1\text{H NMR}$.

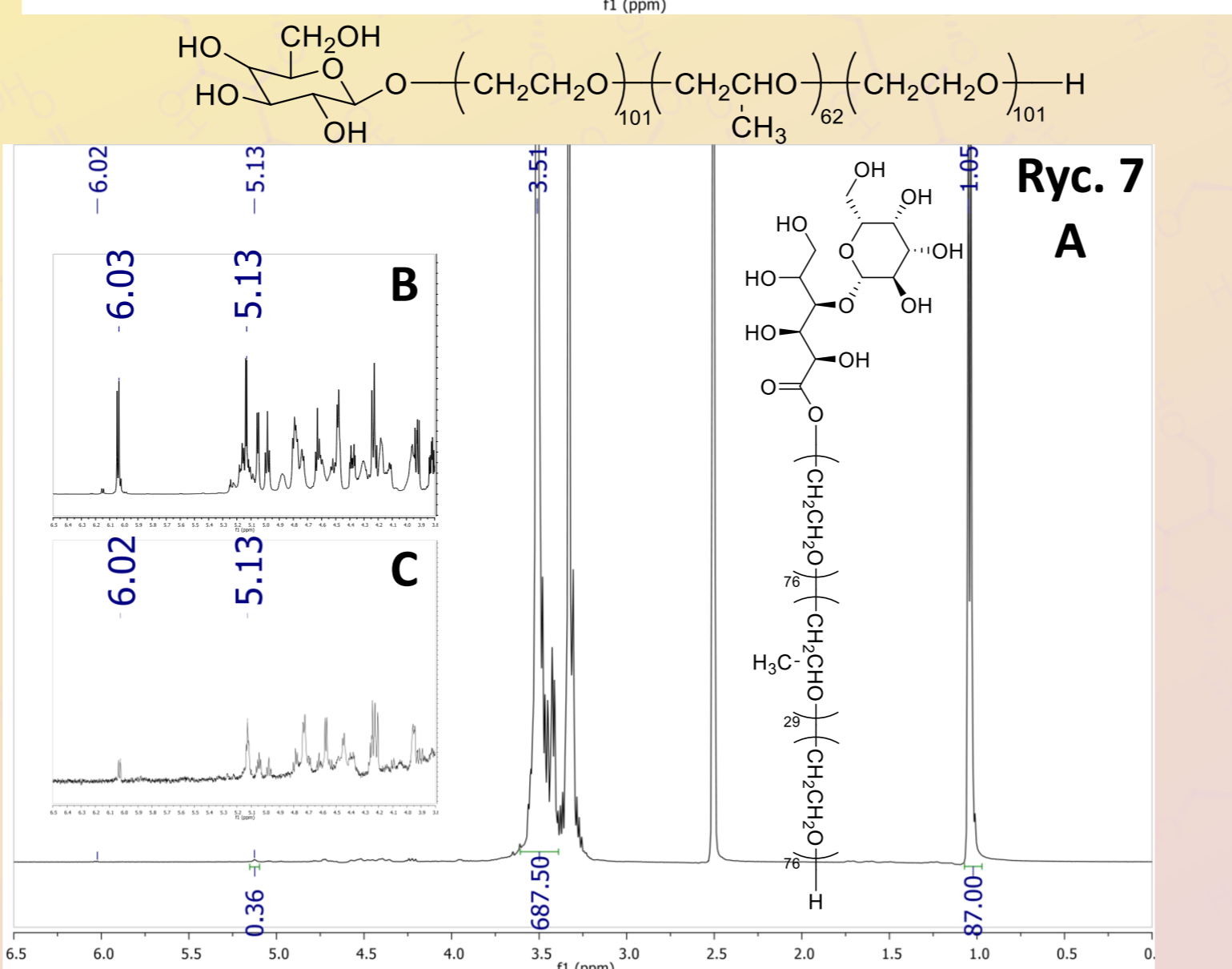
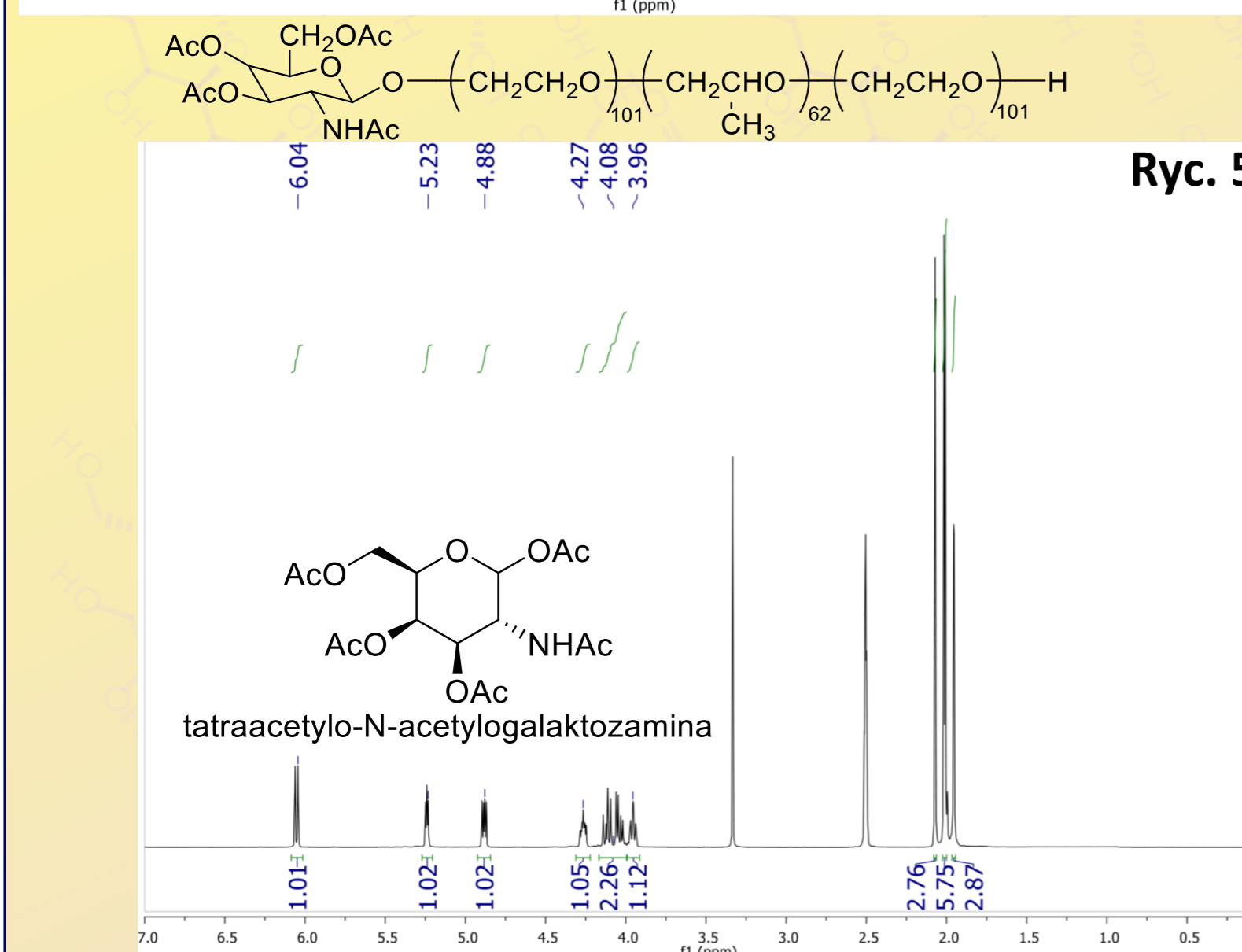
Wyniki i dyskusja



Widma NMR potwierdziły uzyskanie modyfikowanych poloksamerów. Sygnały od polimeru znajdują się około 3,5 ppm i 1,0 ppm. Wartości integracji zostały ustalone dla jednej cząsteczki polimeru. W reakcja polimeru z tetraacetylo-N-acetylgalaktosaminą (**II**) uzyskano produkt dla którego w widmie odnotowano pojawienie się charakterystycznego dubletu o przesunięciu 6,05 ppm, pięciu sygnałów w zakresie 5,26-3,96 ppm i czterech w okolicy 2,11-1,78 ppm (**Ryc. 4**). Brak piątego sygnału pochodzącego od ugrupowania acetylowego w tym zakresie oraz wartości integracji wskazujące na występowanie czterech grup metylowych (w porównaniu do widma peracetylowanego aminocukru (**Ryc. 5**)), wskazują na uzyskanie połączenia poloksamer - triacetylo-N-acetylgalaktosamina.

Na kowalencyjne połączenie galaktozy z poloksamerem wskazuje pojawienie się w widmie NMR dwóch sygnałów o przesunięciu 4,40 ppm i 5,32 ppm (**Ryc. 6, A**). Zmiana przesunięcia sygnału protonu podłączonego do węgla C1 galaktozy (**Ryc. 6, B**) z 5,14 ppm do 5,32 ppm świadczy o zmianie otoczenia chemicznego, a więc przyłączeniu polimeru. Pozostałe sygnały cukru z zakresu 3-4 ppm zostały zakryte przez szeroki sygnał pochodzący od ugrupowań typu metylenowego obecnych w polimerze.

Połączenie poloksameru z kwasem laktobionowym potwierdzono poprzez pojawienie się dwóch sygnałów o przesunięciach 6,03 ppm i 5,13 ppm (**Ryc. 7, A**) oraz charakterystycznym przebiegiem widma w zakresie 5,0-3,8 ppm (**Ryc 7, B – kwas laktobionowy i C – koniugat**). Integracja sygnałów wskazuje na stopień modyfikacji materiałów polimerowych mieszczący się w zakresie 20-40%.



Wnioski

- ✓ Uzyskano serię modyfikowanych galaktozą, kwasem laktobionowym i tetracetylo-N-acetylgalaktosaminą poloksamerów o masach molowych 1-13 kDa, co potwierdzono z użyciem widm NMR.
- ✓ Stopień modyfikacji został oszacowany na poziomie 20-40% i jest zależny od masy cząsteczkowej polimeru.
- ✓ Materiały zostaną użyte w dalszych badaniach prowadzących do otrzymania micel polimerowych z wybranymi API stosowanymi w leczeniu pierwotnych nowotworów wątroby.

Literatura

[1] Petrick et al. J. L. Curr Epidemiol Rep, 2019, 6, 104–111. [2] Liu C.-Y. et al. Cold Spring Harb Perspect Med., 2015, 5, a021535. [3] Szyk P. et al. Nanomaterials, 2023, 13, 2647. [4] Hooper J. K. IJMS, 2020, 21, 4818.