

Pracownia Elektrochemii

Laboratory of Biomolecular Structures

Prof. dr hab. Paweł Krysiński, dr Dorota Nieciecka

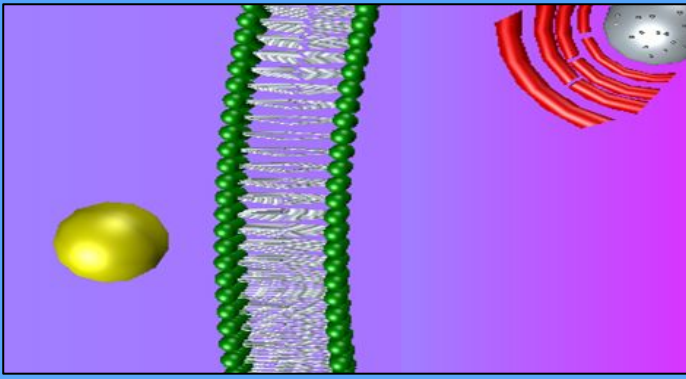
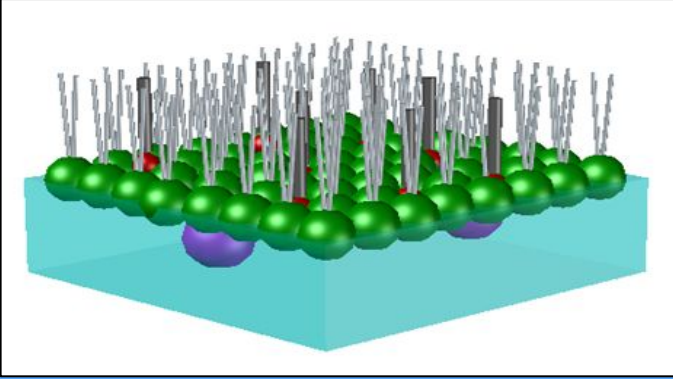
doktoranci: mgr Jan Taudul

studenci: Hanna Kaflik, inż. Emila Świątek, inż. Michał Czapczyński



Główne zainteresowania naukowe grupy:

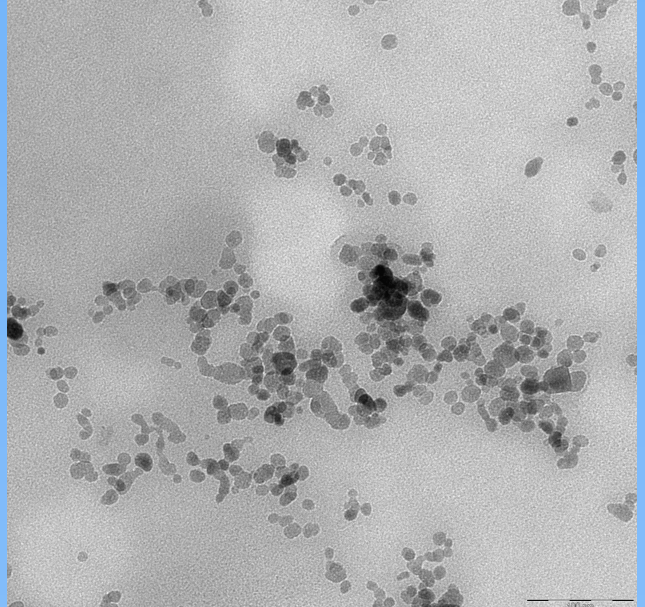
- ✓ Synteza nośników dla leków i związków pochodzenia roślinnego
- ✓ Otrzymywanie i charakterystyka membran biomimetycznych - analogów naturalnych błon komórkowych
- ✓ Badanie wpływu leków oraz ich nośników na sposób organizacji lipidów w membranach biomimetycznych



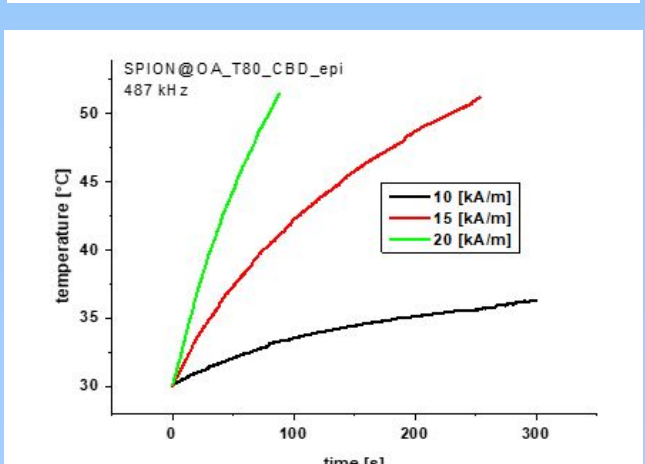
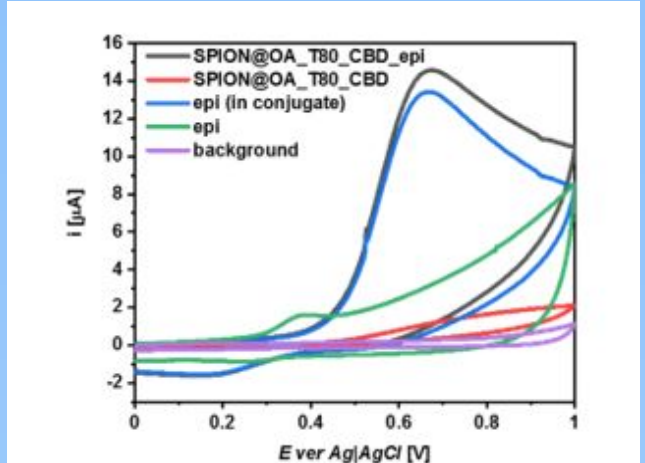
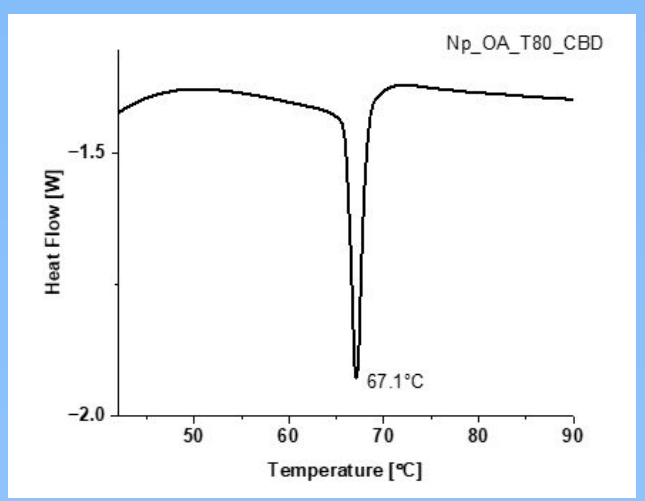
Synteza nośników dla kannabinoidów

Choroby nowotworowe charakteryzują się szybkim i niekontrolowanym wzrostem komórek w organizmie. Ze względu na ich duże zróżnicowanie ciągle poszukiwane są nowe, skuteczne metody leczenia o dobrze zdefiniowanej charakterystyce bezpieczeństwa. Nośniki leków od wielu lat stosowane są jako środki ograniczające negatywny wpływ leków w tym chemioterapeutyków na organizm żywe. W toku przeprowadzonych badań eksperymentalnych udowodniono, że pozwalają one nie tylko obniżyć ich toksyczność, ale również poprzez ich odpowiednią modyfikację umożliwiają dostarczanie leków w ściśle określone miejsce w organizmie. W ostatnich latach coraz większą uwagę zwraca się na farmaceutyczne zastosowanie składników konopi – kannabinoidów. Badania naukowe potwierdzają ich przeciwnowotworowe właściwości w tym: wywoływanie apoptozy komórek zmienionych chorobowo, zapobieganie podziałowi tych komórek i przerzutom, hamowanie rozwoju nowych naczyń krwionośnych w obrębie guza czy działania antyproliferacyjne. Duża hydrofobowość kannabinoidów utrudnia ich biodystrybucję w organizmie stąd konieczne jest zastosowanie nośnika dla tej klasy związków.

Koniugaty na bazie nanocząstek tlenku żelaza

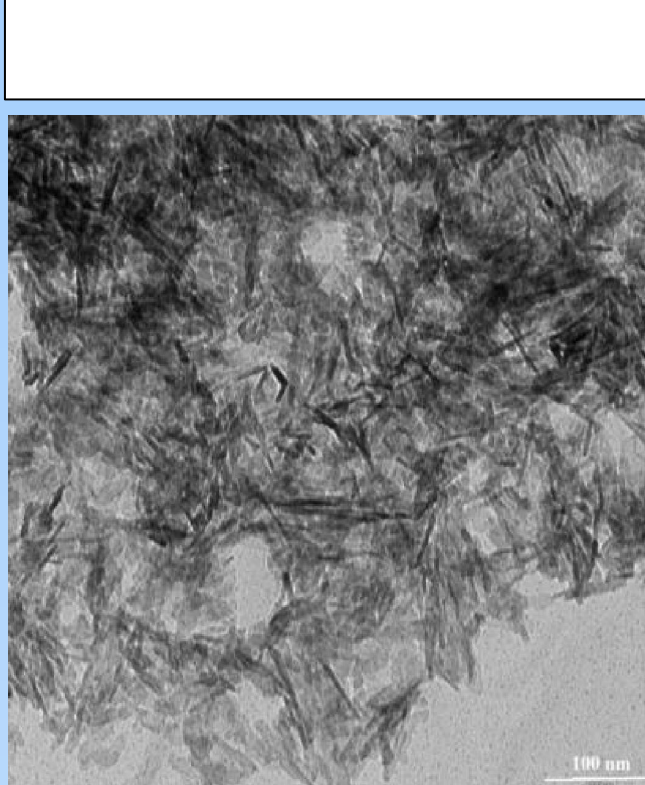


Nanocząstki tlenku żelaza ze względu na swoje właściwości superparamagnetyczne mogą być stosowane w terapiach celowanych. Ze względu na hydrofobowość kannabinoidu, powierzchnia SPIONów została zmodyfikowana, tworząc hydrofilowo-hydrofobową dwuwarstwą na powierzchni struktury. Jak widać na zdjęciach TEM, nanocząstki mają regularną morfologię. Możemy wnioskować, że organiczna warstwa podwójna jest w stanie uwięzić wewnątrz kilka małych nanocząsteczek. Koniugat został zmodyfikowany dwoma różnymi kannabinoidami (CBD i CBG) oraz lekiem epirubicyną. Otrzymane nośniki zostały przeanalizowane pod względem jakościowym oraz ilościowym. Udane przyłączenie się kannabinoidu potwierdzono przy pomocy techniki XPS oraz spektroskopii w podczerwieni.



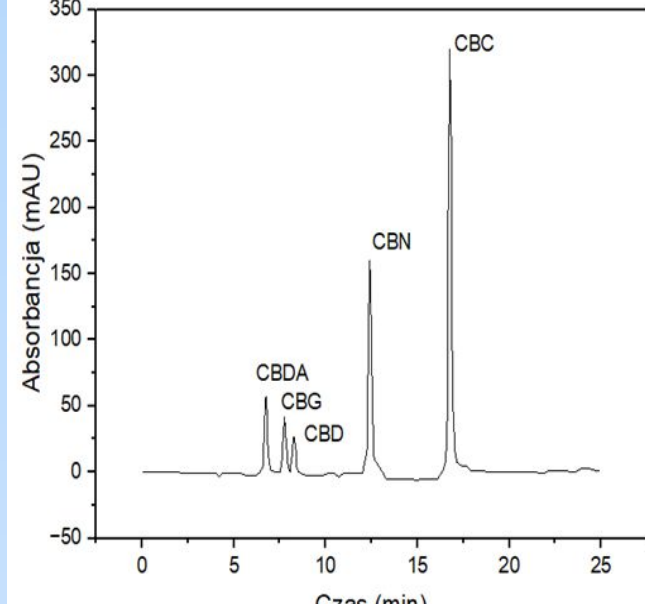
Do analizy ilościowej wykorzystano dwie techniki. Przy pomocy DSC wyznaczono ilość przyłączonego kannabinoidu do koniugatu. Na podstawie wartości entalpii czystych kannabinoidów i termogramów DSC dla koniugatów, zawartość CBD i CBG w nośnikach oszacowano ilości kannabinoidu w strukturach. Do wyznaczenia ilości epirubicyny w koniugacie wykorzystano technikę woltamperometrii cyklicznej.

Wyniki cytotoksyczności otrzymanych koniugatów wykazały przeciwnowotworowe właściwości nośników. Zwiększona cytotoksyczność obserwowana w przypadku leczenia skojarzonego podkreśla znaczenie tego podejścia, w którym kannabinoidy nie tylko zwiększają skuteczność epirubicyny, ale także potencjalnie zmniejszają ryzyko nawrotu nowotworu, oddziałując na wiele aspektów biologii komórek nowotworowych.



Koniugaty na bazie hydroksyapatytu

Jednym z przykładowych związków, który może zostać zastosowany jako nośnik dla kannabinoidów i leków jest hydroksyapatyt. Na zdjęciach SEM widać, że materiał ten występuje w postaci długich prętów o różnorodnej długości, szerokości oraz nieregularnym kształcie. HAP został zmodyfikowany dwoma rodzajami kannabinoidów (CBN i CBC) oraz lekiem mitoksantron. Szereg technik wykorzystanych do charakterystyki modyfikowanego nośnika umożliwił analizę ilościową oraz jakościową zaadsorbowanych substancji. Udany proces modyfikacji nośnika kannabinoidami potwierdziła między innymi różnicowa kalorymetria skaningowa. Na krzywej DSC (wykres po lewej stronie) obecny jest sygnał charakterystyczny dla kannabinoidu CBN związany z jego przejściem fazowym.



Do analizy ilościowej wykorzystano dwie techniki. Za pomocą spektroskopii UV-VIS możliwe było określenie ilości mitoksantronu zaadsorbowanego w nośniku, gdzie lek stanowił ok 5,5 % masowych. Oszacowanie zawartości kannabinoidów w strukturze hydroksyapatytu wykonano na podstawie czasów retencji z pomiaru wysokosprawną chromatografią cieczową. Analizując wyniki HPLC okazało się, że ilość CBN oraz CBC wynosi ok 14 %.

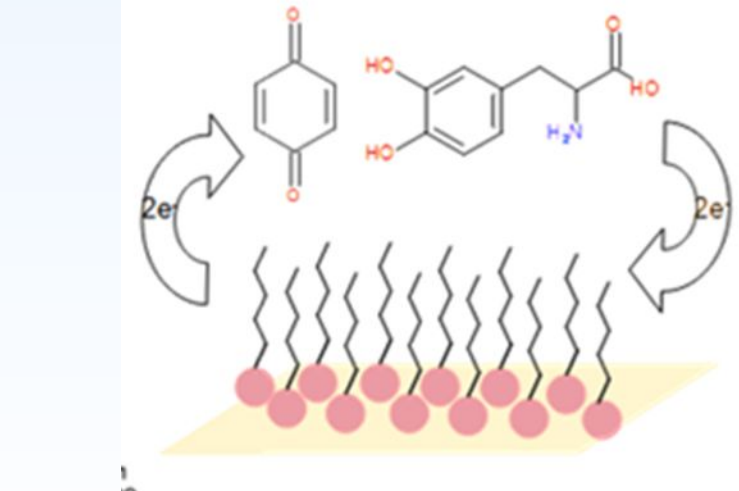
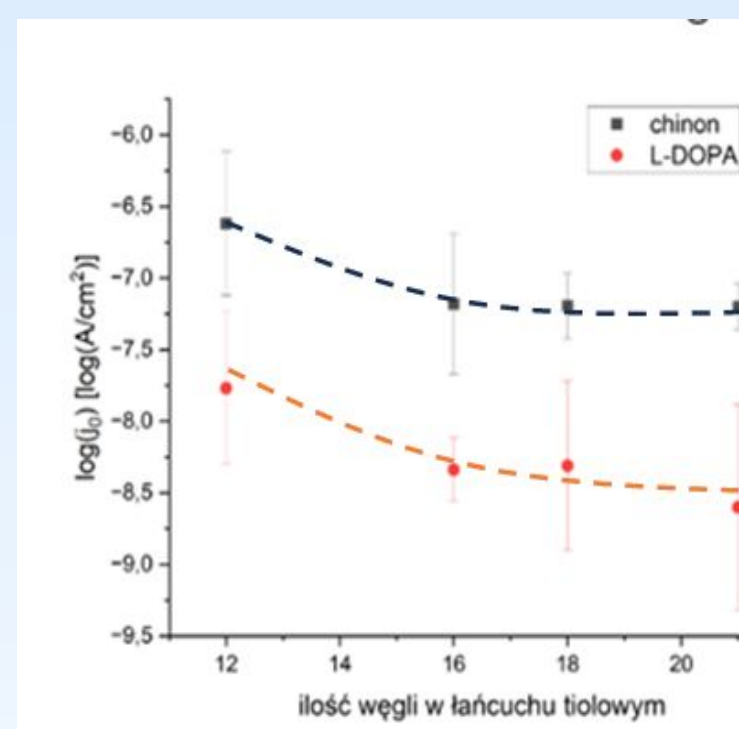
Analiza izoterm Langmuira oraz modułów ściśłości umożliwiła zbadanie wpływu koniugatu oraz jego składników na monowarstwę lipidową. Otrzymane izoterm wskazują na brak wpływu Hap na monowarstwę lipidową, niezależnie od zastosowanego stężenia. Jest to zjawisko korzystne, które wskazuje na możliwość zastosowania tego związku jako nośnika leku przeciwnowotworowego.

Badania przenikania modelowych neurotransmiterów przez błony biomimetyczne

W wyniku osadzenia na powierzchni elektrodowej cząsteczek tioli lub tiolipidów uzyskiwane są układy biomimetyczne o charakterze błon biologicznych. Różne depolaryzatory mogą ulegać w ich obrębie reakcjom redoks, które będą ograniczone poprzez szybkość przeniesienia elektronu. W wyniku badań możliwe jest skorelowanie własności cząsteczki neurotransmitera oraz monowarstwy osadzonej na elektrodzie, ze zdolnością cząsteczki do penetrowania układów biomimetycznych. Co więcej, zdolność ta systematycznie maleje wraz z wydłużaniem się długości łańcuchów węglodorowych tioli.

Publikacje

- Osiat M., Ha G., Vu V., Nguyen P., Nieciecka D., Pietrzyk-Thel P., Urbanek O., Olusegun S., Wilczewski S., Giersg M., Do H., Dinh T., One-pot synthesis of magnetic hydroxyapatite (SPION/HAP) for 5-fluorouracil delivery and magnetic hyperthermia, *Journal of Nanoparticle Research*, ISSN: 1388-0764, DOI: 10.1007/s11051-023-05916-x, Vol.26, No.7, pp.1-23, 2024
- Olusegun S., Souza Guilhermina de O., Sutula S., Osiat M., Krajewski M., Pekala M., Sobczak K., Felis E., Krysiński P., Methotrexate anti-cancer drug removal using Gd-doped Fe3O4: Adsorption mechanism, thermal desorption and reusability, *Groundwater for Sustainable Development*, ISSN: 2352-801X, DOI: 10.1016/j.gsd.2024.101103, Vol.25, pp.1-9, 2022
- Olusegun S.J., Rodrigues G.L.S., Tiwari S., Krajewski M., Mohalleem N.D.S., Sobczak K., Denton M., Krysiński P. Removal of doxorubicin hydrochloride and crystal violet from aqueous solutions using spray-dried niobium oxide coated with chitosan-activated carbon: Experimental and DFT calculations. *Int J Biol Macromol*. 2024 May;266(Pt 1):131158. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2024.131158. Epub 2024 Mar 27. PMID: 38552682.



dr hab. Maciej Mazur, prof. ucz., mgr inż. Karolina Głowacka

studentki/ci: Wiktoria Stępień, Urszula Kłopotowska, Magdalena Bogucka, Natalia Oplotna, Joanna Kopala, Kornelia Turek, Wiktoria Postek, Kamil Rusztyn, Zofia Bednarz, Dominika Kaczmarczyk, Gracjan Pietrasiak, Maria Sworzyńska, Olga Daczko, Dominik Grzywacz

scientific reports

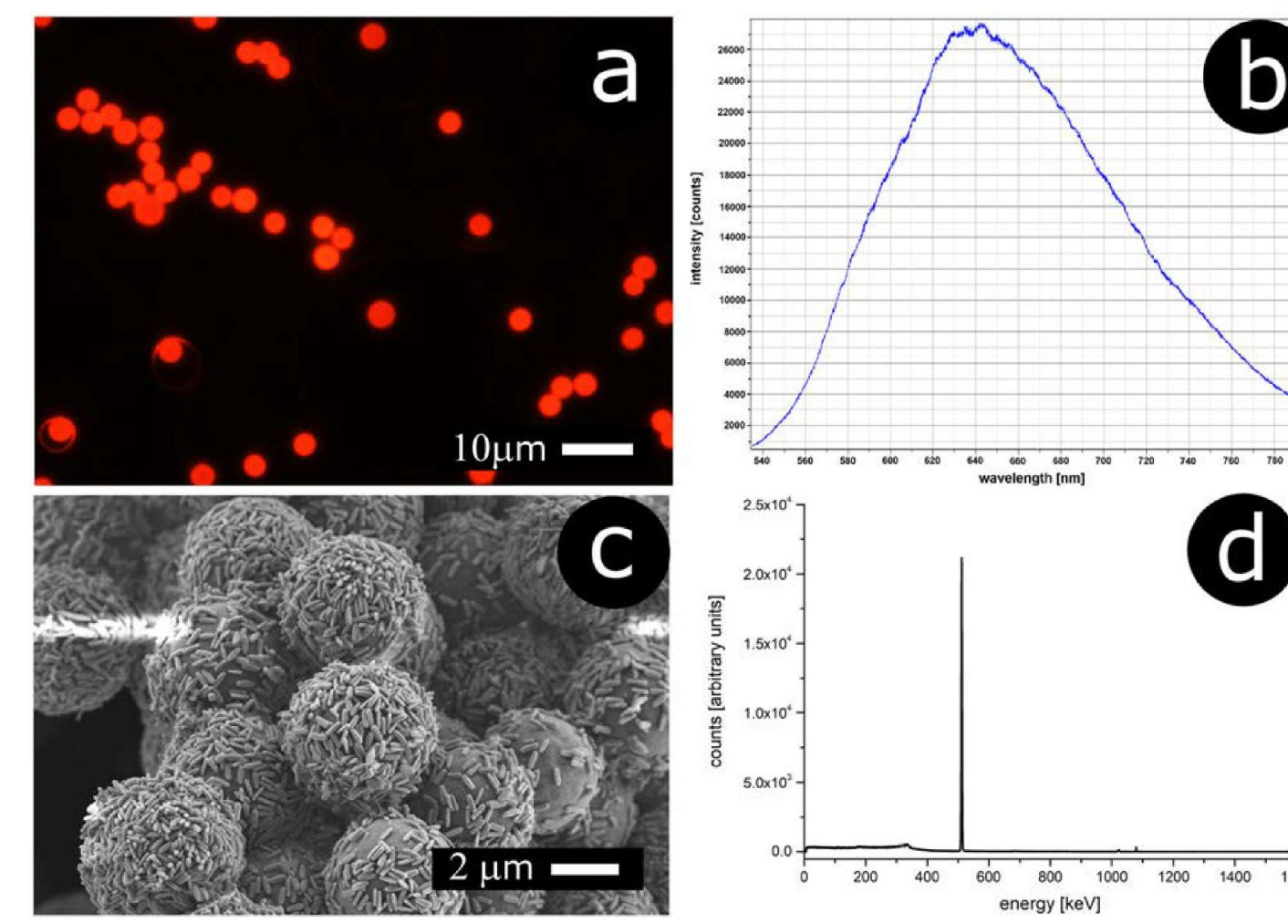
nature portfolio

Scientific Reports | (2024) 14:20822

Physicochemical characterization and potential cancer therapy applications of hydrogel beads loaded with doxorubicin and GaOOH nanoparticles

Aleksandra Zmuda¹, Weronika Kamińska², Marta Bartel¹, Karolina Głowacka¹, Maciej Chotkowski¹, Katarzyna Medyńska^{1,2}, Katarzyna Wiktorska² & Maciej Mazur^{1,4}

A new type of hybrid polymer particles capable of carrying the cytostatic drug doxorubicin and labeled with a gallium isotope were prepared. These microparticles consisted of a core and a hydrogel shell, which serves as the structural matrix. The shell can be employed to immobilize gallium oxide hydroxide (GaOOH) nanoparticles and the drug, resulting in hybrid beads with sizes of approximately 3.81 ± 0.09 µm. The microparticles exhibit the ability to incorporate a remarkably large amount of doxorubicin, approximately 0.96 mg per 1 mg of the polymeric carrier. Additionally, GaOOH nanoparticles can be deposited within the hydrogel layer at an amount of 0.64 mg per 1 mg of the carrier. These nanoparticles, resembling rice grains with an average size of 593 nm by 155 nm, are located on the surface of the polymer carrier. In vitro studies on breast and colon cancer cell lines revealed a pronounced cytotoxic effect of the hybrid polymer particles loaded with doxorubicin, indicating their potential for cancer therapies. Furthermore, investigations on doping the hybrid particles with the Ga-68 radioisotope demonstrated their potential application in positron emission tomography (PET) imaging. The proposed structures present a promising theranostic platform, where particles could be employed in anticancer therapies while monitoring their accumulation in the body using PET.



(a) Fluorescence microscopy image of hydrogel particles with incorporated doxorubicin (PSS/Dox). (b) Emission spectrum of an individual PSS/Dox particle (excitation 532 nm). (c) SEM image of PSS/GaOOH/Dox particles. (d) Gamma-ray spectrum of PSS-⁶⁸GaOOH/Dox particles.

scientific reports

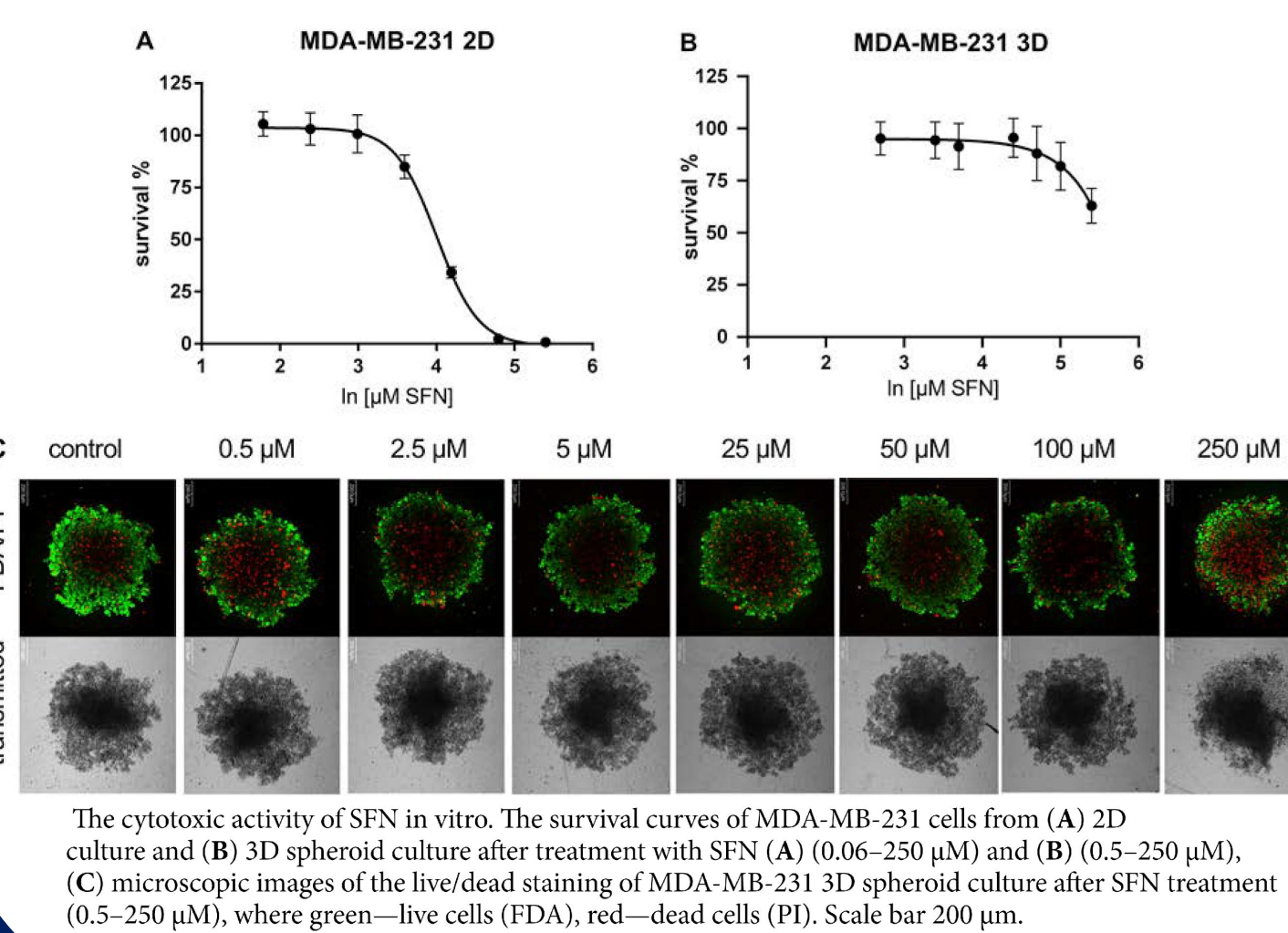
nature portfolio

Scientific Reports | (2024) 14:16016

Antitumor and antimetastatic effects of dietary sulforaphane in a triple-negative breast cancer models

A. Pogorzelska^{1,2}, M. Świątalska³, J. Wietrzyk⁴, M. Mazur⁵, M. Milczarek⁶, K. Medyńska⁶ & K. Wiktorska^{6,7}

Triple-negative breast cancer (TNBC) represents aggressive phenotype with limited treatment options due to the lack of drug targets. Natural compounds are extensively studied regarding their potential to alter the efficacy of cancer treatment. Among them, sulforaphane – an isothiocyanate of natural origin, was shown to be a homocytic compound, that may exert divergent effects: cytoprotective or cytotoxic depending on its concentrations. Thus, the aim of this study was to determine the effect of its low, dietary concentrations on the proliferation and migration of the TNBC cells in the in vivo and in vitro 2D and 3D model. Results of the in vivo experiment showed up to 31% tumor growth inhibition after sulforaphane treatment associated with lowered proliferating potential of cancer cells, reduced areas of necrosis, and changed immune cell type infiltration, showing less malignant type of tumor in contrast to the non-treated group. Also, the study revealed that sulforaphane decreased the number of lung metastases. The in vitro study confirmed that SFN inhibited cell migration, but only in cells derived from 3D spheroids, not from 2D in vitro cultures. The results show a specific role of sulforaphane in the case of cells released from the TNBC primary tumor and its environment.



scientific reports

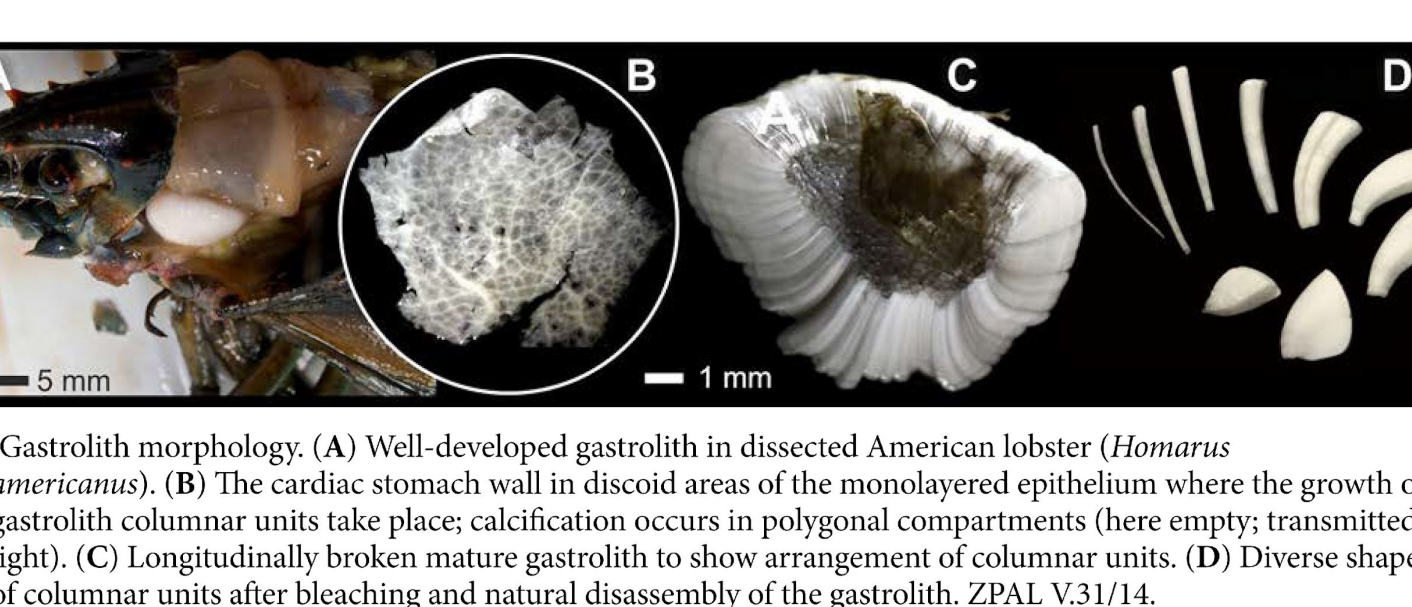
nature portfolio

Scientific Reports | (2024) 14:17304

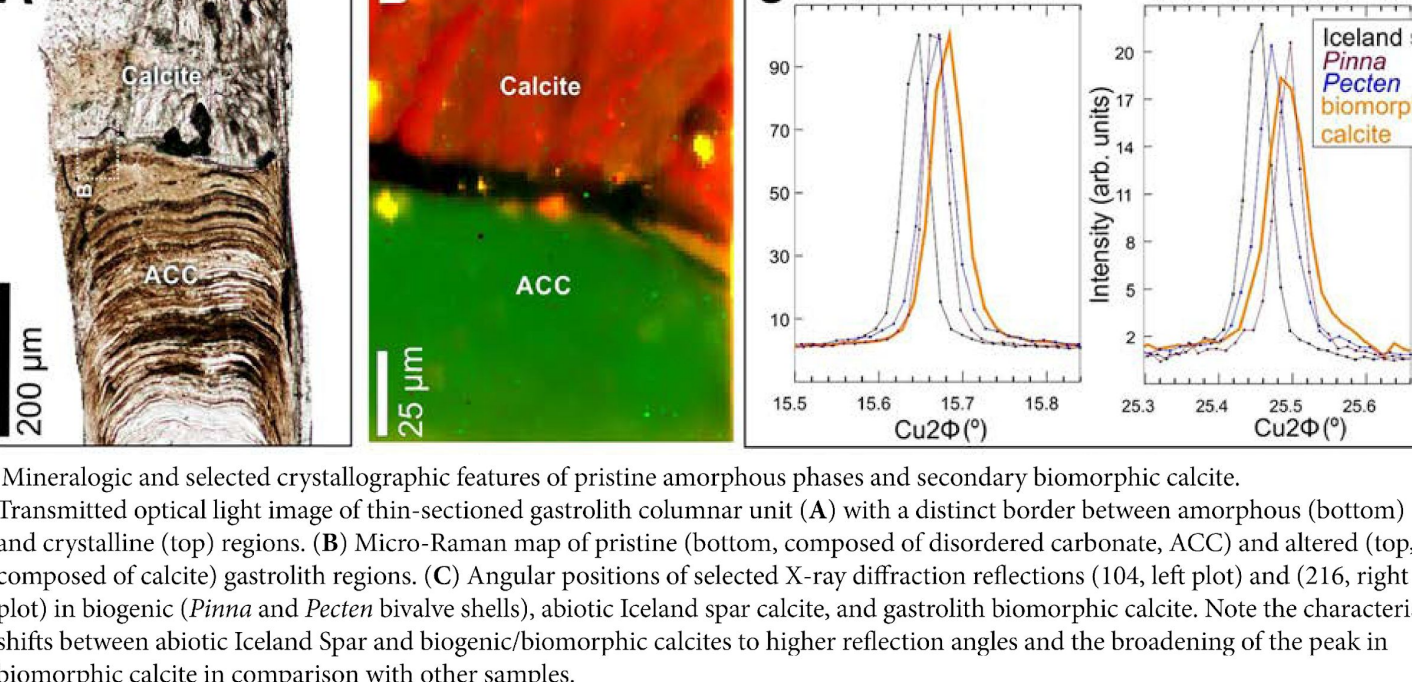
Post-mortem recrystallization of biogenic amorphous calcium carbonate guided by the inherited macromolecular framework

Jaroslav Stolarski^{1,2}, Ismael Coronado³, Marta Potocka³, Katarzyna Janiszewska¹, Maciej Mazur¹, Alain Baronnet⁴, Juncal A. Cruz⁵, Olivier Grauby⁶ & Anders Meibom^{6,7}

In contrast to abiotically formed carbonates, biogenic carbonates have been observed to be nanocomposite, organo-mineral structures, the basic build-blocks of which are particles of quasi-unit size (10–100 nm) organized into complex higher-order hierarchical structures, typically with highly controlled crystal-axis alignments. Some of these characteristics serve as criteria for inferring a biological origin and the state of preservation of fossil carbonate materials, and to determine whether the biomineralization process was biologically induced or controlled. Here we show that a calcium storage structure formed by the American lobster, a gastrolith initially consisting of amorphous calcium carbonate (ACC) and amorphous calcium phosphate (ACP), post-mortem can crystallize into (thus secondary) calcite with structural properties strongly influenced by the inherited organic matrix. This secondary calcite meets many structural criteria for biominerals (thus called the biomorphic calcite), but differs in trace element distributions (e.g., P and Mg). Such observations refine the capability to determine whether a fossil carbonate can be attributed to biogenic processes, with implications for the record of life on Earth and other terrestrial planets.



Gastrolith morphology: (A) Well-developed gastrolith in dissected American lobster (*Homarus americanus*). (B) The cardiac stomach wall in discolored areas of the monolayered epithelium where the growth of gastrolith columnar units take place; calcification occurs in polygonal compartments (here empty; transmitted light). (C) Longitudinally broken mature gastrolith to show arrangement of columnar units. (D) Diverse shapes of columnar units after bleaching and natural disassembly of the gastrolith. ZPAL V.3/1/14.



Eumelanin-Enhanced Photothermal Disinfection of Contact Lenses Using a Sustainable Marine Nanoplatform Engineered with Electrospun Nanofibers

Magdalena Bartolewska, Alicja Kosik-Kozioł, Zbigniew Korwek, Zuzanna Krysiak, Davis Montroni, Maciej Mazur, Giuseppe Falini, and Filippo Pierini^{*}

Adv. Healthcare Mater. 2024, 2402431



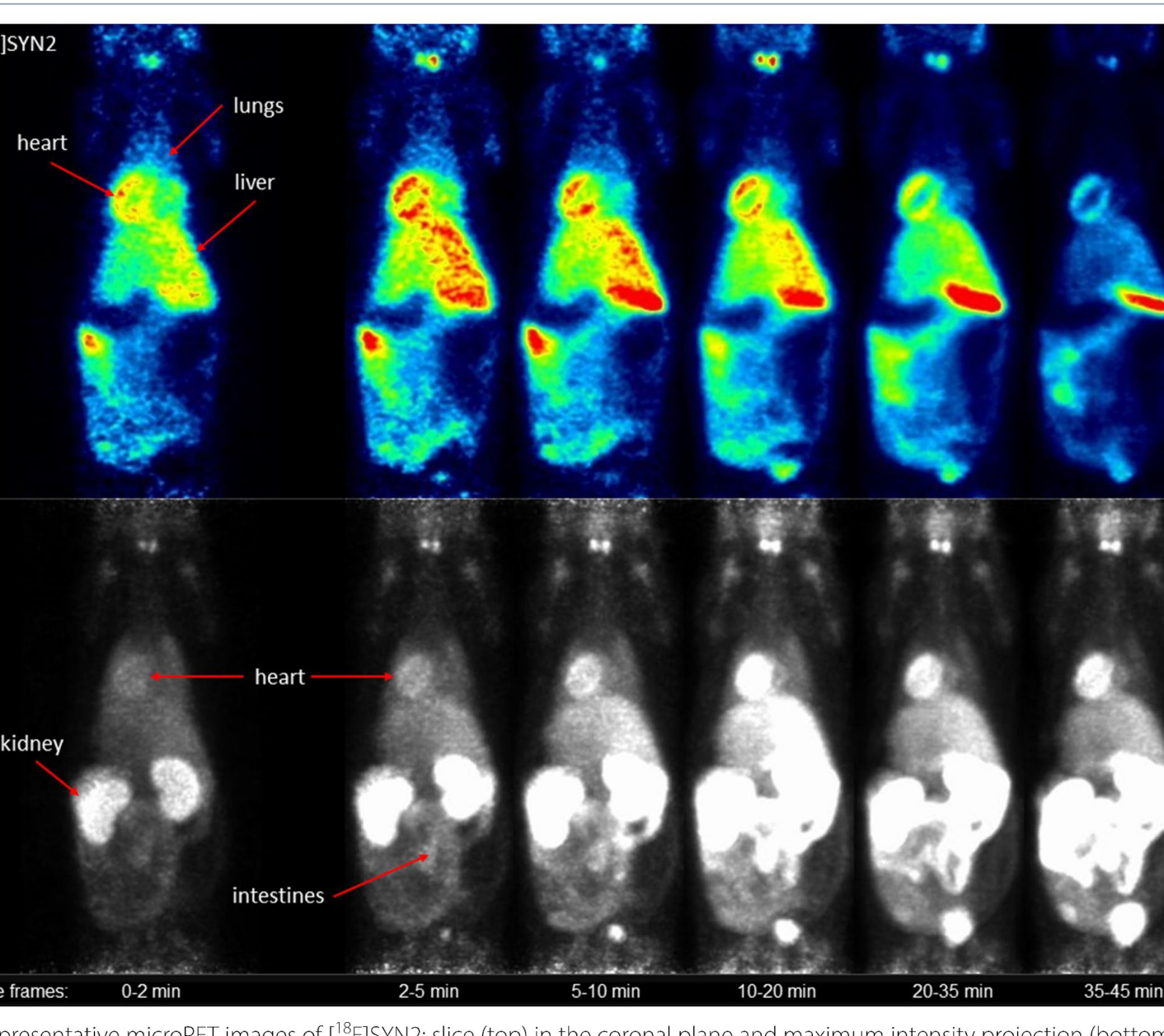
Bacterial keratitis (BK) is a severe eye infection commonly associated with *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), posing a significant risk to vision, especially among contact lens wearers. This research introduces a novel smart nanoplatform (deMS@cNF), developed from demineralized mussel shells (deMS) and reinforced with chitin (CT) nanofibrils, specifically designed for portable photothermal disinfection of contact lenses. The nanoplatform leverages the photothermal properties of eumelanin in mussel shells (MS), which, when activated by a simple blue flashlight, rapidly heats to temperatures up to 95 °C, effectively destroying bacterial contamination. In vitro tests demonstrate that the nanoplatform is biocompatible and non-toxic, making it suitable for medical applications. This study highlights an innovative approach to converting marine biowaste into a safe, effective, and low-cost portable method for disinfecting contact lenses, showcasing the potential of the deMS@cNF platform for broader antimicrobial applications.

EJNMMI Research (2024) 14:63

Preclinical evaluation of [¹⁸F]SYN1 and [¹⁸F]SYN2, novel radiotracers for PET myocardial perfusion imaging

Seweryn Krajewski¹, Łukasz Stećek², Karina Gotowicz^{1,2}, Urszula Karczmarska³, Joanna Tawpik⁴, Ewa Witkowska-Patena^{4,5}, Krzysztof Łyczko⁶, Maciej Mazur⁷, Przemysław Kozanecki¹, Joanna Włostowska¹, Juhani Knutti⁸, Mirosław Dziuk^{4,5}, Piotr Gąmulek³ and Cezary Kozanecki¹

Abstract Positron emission tomography (PET) is now an established diagnostic method for myocardial perfusion imaging (MPI) in coronary artery disease, which is the main cause of death globally. The available tracers show several limitations, therefore, the ¹⁸F-labelled tracer is in high demand nowadays. The preclinical studies on normal Wistar rats aimed to characterise two potential, novel radiotracers, [¹⁸F]SYN1 and [¹⁸F]SYN2, to evaluate which is a better candidate for PET MPI cardiac tracer. **Results** The dynamic microPET images showed rapid myocardial uptake for both tracers. However, the uptake was higher and also stable for [¹⁸F]SYN2, with an average standardized uptake value of 3.8. The biodistribution studies confirmed that [¹⁸F]SYN2 uptake in the cardiac muscle was high and stable (0.02%ID/g at 15 min and 2.79%ID/g at 6 h) compared to [¹⁸F]SYN1 (1.84%ID/g at 15 min and 0.23%ID/g at 6 h). The critical organs determined in dosimetry studies were the small intestine and the kidneys. The estimated effective dose for humans was 0.00714 mSv/Mbq for [¹⁸F]SYN1 and 0.0109 mSv/Mbq for [¹⁸F]SYN2. The tested dose level of 2 mg/kg was considered to be the No Observed Adverse Effect Level (NOAEL) for both candidates. The better results were achieved for [¹⁸F]SYN2, therefore, further preclinical studies were conducted only for this tracer. Radioligand binding assays showed significant responses in 3 from 68 assays: muscarinic acetylcholine M₂ and M₄ receptors and potassium channel HERG. The compound was mostly metabolised via an oxidative N-dealkylation, while the fluor substituent was not separated from the molecule. **Conclusion** [¹⁸F]SYN2 showed a favourable pharmacodynamic and pharmacokinetic profile, which enabled a clear visualization of the heart in microPET. The compound was well-tolerated in studies in normal rats with moderate radiation exposure. The results encourage further exploration of [¹⁸F]SYN2 in clinical studies. **Keywords** Cardiotracer, Dosimetry, Fluorine-18, PET MPI, Preclinical studies

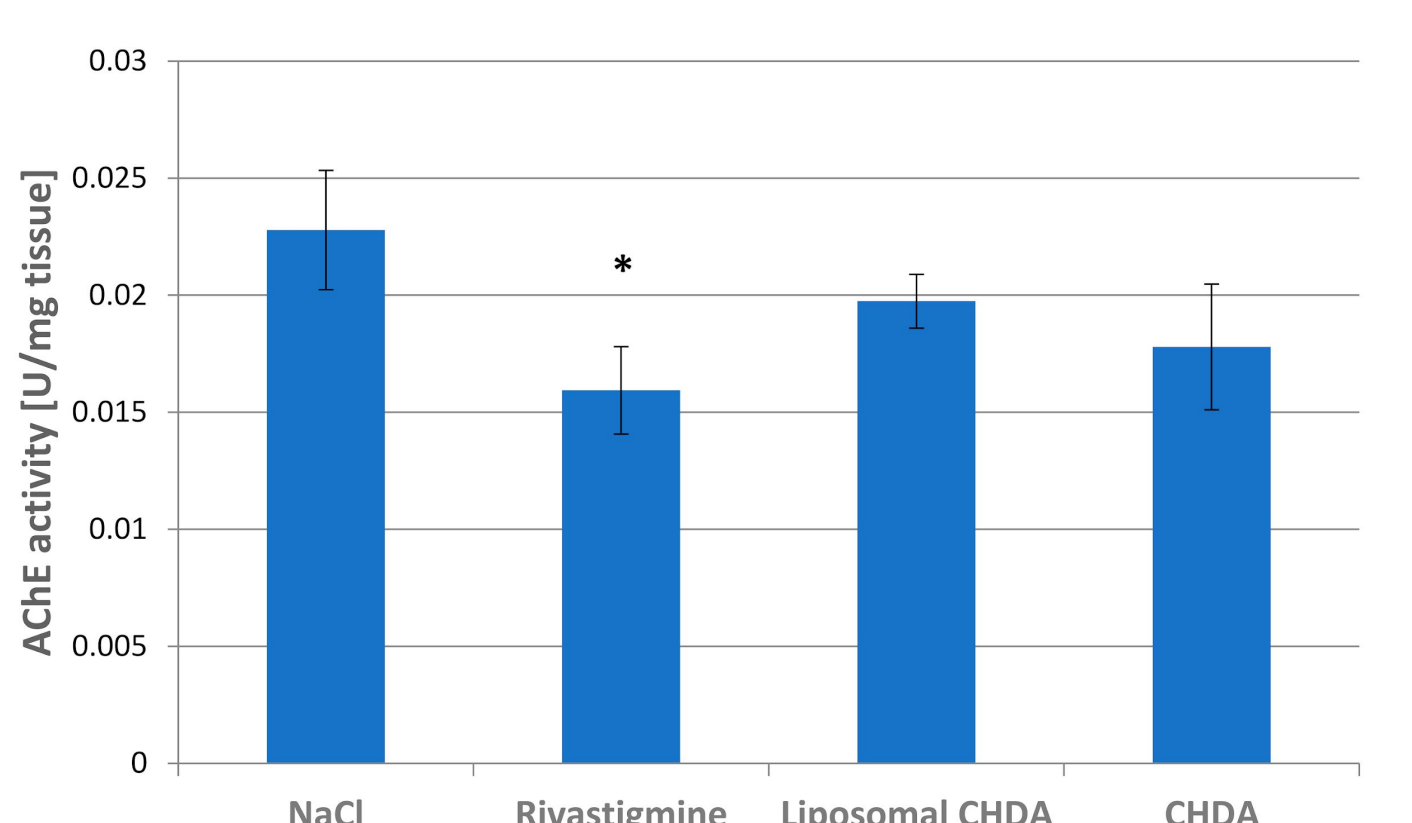


A Novel Tetrahydroacridine Derivative with Potent Acetylcholinesterase Inhibitory Properties and Dissociative Capability against Aβ42 Fibrils Confirmed by In Vitro Studies

Ilona Mojszys^{1,2}, Anna Zawadzka^{1,2}, Krysia Andrzejewska^{2,3}, Monika Lampolska², Zuzanna Bednarzowska^{2,3}, Mirosław Gancarz⁴, Zuzanna Gazdowa⁴, Maciej Mazur^{5,6} and Katarzyna Kaczmarek^{2,3,7}

Int. J. Mol. Sci. 2024, 25, 10072.

Abstract: Alzheimer's disease (AD) is one of the most common causes of dementia, accounting for more than 60% of all cases. It is a neurodegenerative disease in which symptoms such as a decline in memory, thinking, learning, and organizing skills develop gradually over many years and eventually become more severe. To date, there is no effective treatment for the cause of Alzheimer's disease, and the existing pharmacological options primarily help manage symptoms. Treatment is mainly based on acetylcholinesterase (AChE) inhibitors such as donepezil, rivastigmine, and galantamine, which exhibit numerous adverse cardiovascular and gastrointestinal effects due to excessive stimulation of peripheral cholinergic activity involving muscarinic receptors. Therefore, in addition to the obvious drugs that act on the cause of the disease, new drugs based on AChE inhibition that show the fewest side effects are needed. One potential drug could be a new compound under study, tetrahydroacridine derivative (CHDA), which showed significant potential to inhibit the AChE enzyme in previous in vitro studies. The present study shows that while having very potent AChE inhibitory properties, CHDA is a compound with low toxicity to nerve cell culture and living organisms. In addition, it exhibits dissociative activity against amyloid β fibrils, which is extremely important for applications in Alzheimer's disease therapy.



Acetylcholinesterase activity in the hippocampus of rats that received intraperitoneal injection of NaCl, rivastigmine, CHDA, and liposomal CHDA. Data are expressed in μmol min⁻¹ mg⁻¹ and presented as mean ± SD, *p < 0.05, n = 4 in each group.