

## Abstract

---

**Project Code : MRG5480077**

**Project Title : Co-delivery of anticancer drug and NF- $\kappa$ B inhibitor : A novel strategy to improve chemotherapeutic effect for cancer treatment**

**Investigator : Dr.Montree Jaturanpinyo Faculty of Pharmacy, Mahidol University**

**E-mail Address : montree.jat@mahidol.ac.th**

**Project Period : June 15, 2011 – June 14, 2013**

NF- $\kappa$ B is a key signaling pathway in human cancer. Combining a NF- $\kappa$ B inhibitor and an anticancer drug is an attractive approach for cancer treatment. However, separating the administration of the anticancer drug and NF- $\kappa$ B inhibitor is uncontrollable in terms of drug distribution and quantity towards the specific site of action. Therefore, co-delivery of these compounds in a particulate carrier system constructed with the identical composition would overcome this obstruction. This study thus aimed to develop liposomes for co-delivery of doxorubicin (DOX) and BAY11-7085 (BAY), an NF- $\kappa$ B inhibitor. Their physicochemical characteristics were investigated in terms of entrapment efficiency, size, zeta potential, and stability. Liposomes entrapping BAY were prepared with various lipid compositions and drug-to-lipid ratios by using either the thin film (TF) or reverse phase evaporation (REV) method, and subsequently reduced in size by extrusion through a 200 nm membrane. The results demonstrated that the entrapment efficiency of BAY in liposomes prepared by TF was higher than those prepared by REV. Inclusion of cholesterol, reduction of drug-to-lipid ratio, and saturation of lipid chains were found to decrease drug entrapment. The highest entrapment at 60% was achieved in liposomes prepared by TF and constructed with SPC (Phospholipon 90G) at the drug-to-lipid ratio of 1:20. The obtained liposomes were neutral with diameters of 170 nm. This formulation was further loaded with DOX using the pH gradient technique, yielding ultimate co-entrapment efficiency for DOX and BAY at 90% and 40%, respectively. Subsequently, the evaluation of the cytotoxic effect in cancer cell lines, including SK-Hep-1, HepG2 and A549, of the developed formulation was carried out by using an MTT assay. The results revealed that BAY exhibited the strongest inhibitory effect on the cell viability of SK-Hep-1 due to its high level of basal NF- $\kappa$ B. The combination of the two compounds was found to enhance the cytotoxic effect toward SK-Hep-1. Liposomal formulations entrapping BAY or DOX either administered alone or in a co-delivery manner exhibited similar tendency to free drugs with comparable or more improved efficacy. Consequently, the most potent cytotoxic effect was observed in SK-Hep-1 cells treated with liposomes co-delivering BAY and DOX. In conclusion, these results clearly demonstrate that liposomes co-entrapping BAY and DOX can be successfully prepared. The treatment of model cancer cells with liposomes co-delivering BAY and DOX suggests the feasibility to use them as a novel approach to improve the chemotherapeutic effect.

**Keywords:** NF- $\kappa$ B inhibitor, BAY 11-7085, Doxorubicin, Liposome, Co-delivery

## บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : MRG5480077

ชื่อโครงการ : การนำส่งยาต้านมะเร็งร่วมกับสารยับยั้ง NF-KB แนวทางใหม่เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการรักษามะเร็งด้วยเคมีบำบัด

ชื่อนักวิจัย : ดร.มนตรี จาตุรันต์ภิญโญ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

อีเมล : montree.jat@mahidol.ac.th

ระยะเวลาโครงการ : 15 มิถุนายน 2554 – 14 มิถุนายน 2556

NF-KB เป็นกลไกสำคัญเกี่ยวกับเกิดมะเร็งในมนุษย์ ดังนั้นการใช้สารยับยั้ง NF-KB ร่วมกับยาต้านมะเร็งชนิดอื่นๆ จึงเป็นแนวทางการรักษามะเร็งที่น่าสนใจ อย่างไรก็ตามการบริหารยาต้านมะเร็งแยกกับสารยับยั้ง NF-KB นั้น ควบคุมได้ยากทั้งในเรื่องของการกระจายยาในร่างกายที่แตกต่างกัน และปริมาณของยาแต่ละชนิดที่ไปสู่บริเวณเป้าหมายที่ต้องการรักษา การบริหารยาร่วมกันในระบบอนุภาคที่ใช้เป็นตัวพาในการนำส่งยาน่าจะเป็นทางออกในการเอาชนะอุปสรรคเหล่านี้ได้ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ในการพัฒนาไลโปโซมในการนำส่ง doxorubicin (DOX) ร่วมกับ BAY11-7085 (BAY) ซึ่งเป็นสารยับยั้ง NF-KB ลักษณะทางกายภาพและเคมีของไลโปโซมถูกตรวจสอบในด้านประสิทธิภาพในการกักเก็บยา, ขนาดอนุภาค, ศักย์ซีตา และความคงตัวของอนุภาค ไลโปโซมที่เก็บกัก BAY ถูกเตรียมขึ้นโดยศึกษาถึงหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้องทั้งส่วนประกอบของไขมันที่ใช้ สัดส่วนของปริมาณยาต่อไขมัน โดยใช้วิธีการเตรียมคือ thin film (TF) หรือ reverse phase evaporation (REV) และลดขนาดด้วย extrusion ผ่านแผ่นกรองขนาด 200 นาโนเมตร จากผลการทดลองพบว่าการเตรียมไลโปโซมด้วยวิธี TF มีประสิทธิภาพในการกักเก็บ BAY ในไลโปโซมมากกว่าวิธี REV ตำรับที่ใช้โคเลสเตอรอลเป็นส่วนประกอบ การลดสัดส่วนปริมาณยาต่อไขมัน และการใช้ไขมันอิ่มตัวเป็นส่วนประกอบในการเตรียมล้วนเป็นปัจจัยลดประสิทธิภาพการกักเก็บยาในไลโปโซม จากการเตรียมไลโปโซมด้วยไขมันไม่อิ่มตัว SPC (Phospholipon 90G) ที่สัดส่วนยาต่อไขมัน 1:20 ด้วยวิธี TF ให้ไลโปโซมที่มีประสิทธิภาพการกักเก็บยาสูงสุดคือ 60% ไลโปโซมที่ได้เป็นกลาง มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 170 นาโนเมตร เมื่อนำตำรับนี้มาใช้ในการเก็บกัก DOX ด้วยวิธี pH gradient พบว่าระดับยาทั้งสองชนิดที่สามารถเก็บกักรวมกันได้ของ DOX และ BAY คือ 90% และ 40% ตามลำดับ จากนั้นไลโปโซมที่เตรียมได้ถูกนำมาศึกษาถึงความเข้ากันได้กับเซลล์มะเร็ง 3 ชนิด คือ SK-Hep-1, HepG2 และ A549 ด้วยวิธี MTT พบว่า BAY มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งการรอดชีวิตของ SK-Hep-1 เนื่องจากลักษณะของ SK-Hep-1 ที่มีระดับ NF-KB พื้นฐานสูง การให้ยาร่วมกันพบว่าเสริมประสิทธิภาพความเป็นพิษต่อเซลล์ SK-Hep-1 ไลโปโซมเก็บกัก BAY และ DOX ทั้งในรูปแบบเดี่ยว และแบบบริหารยาร่วมกันทั้งสองชนิดให้ผลการยับยั้งเซลล์มะเร็งที่มีแนวโน้มเหมือนกับการบริหารยาที่ไม่ได้ถูกเก็บกักในไลโปโซม ด้วยประสิทธิภาพที่เท่าเทียมหรือมากกว่า โดยการบริหารไลโปโซมที่เก็บกัก BAY และ DOX ร่วมกันมีความเป็นพิษต่อเซลล์ SK-Hep-1 มากที่สุด ผลที่ได้จากการศึกษานี้แสดงให้เห็นได้ชัดเจนว่า การเก็บกัก BAY และ DOX ร่วมกันในไลโปโซม สามารถเตรียมขึ้นได้ และการรักษาเซลล์มะเร็งด้วยการบริหารไลโปโซมที่เก็บกัก BAY ร่วมกับไลโปโซมที่เก็บกัก DOX มีความเป็นไปได้ที่จะใช้เป็นแนวทางใหม่ในการเพิ่มประสิทธิภาพให้แก่การรักษาด้วยเคมีบำบัด

คำหลัก: สารยับยั้ง NF-KB, BAY 11-7085, Doxorubicin, ไลโปโซม, การนำส่งร่วม