



СПОСОБНОСТЬ ПРИРОДНОГО ХИМИОПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО АГЕНТА КУРКУМИНА ФУНКЦИОНИРОВАТЬ КАК ЭФФЕКТИВНЫЙ УФ-ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОР

А. И. ПОТАПОВИЧ¹⁾, Т. Г. ШУТОВА²⁾, Т. В. КОСТЮК¹⁾, В. А. КОСТЮК¹⁾

¹⁾Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

²⁾Институт химии новых материалов НАН Беларуси, ул. Ф. Скорины, 36, 220141, г. Минск, Беларусь

Некоторые полифенолы и алкалоиды растительного происхождения способны действовать как эффективные фотосенсибилизаторы УФ-излучения. Данный феномен может усилить как их лечебные, так и побочные эффекты. Поскольку информация о способности куркуминоидов функционировать в качестве УФ-фотосенсибилизаторов отсутствует, было исследовано влияние УФ-излучения на цитотоксическое действие куркумина, а также его наноструктурированных форм в отношении кератиноцитов линии HaCaT и раковых клеток MDA-MB-231. Полученные результаты свидетельствуют, что куркумин является эффективным фотосенсибилизатором, который под воздействием УФ-излучения диапазонов А и В может инициировать фотохимические реакции, ведущие к образованию химически активных интермедиатов, нарушению целостности мембран и гибели клеток. При включении куркумина в наноструктуры на основе гидрохлорида полиаллиламина /сульфата полистирола и сульфата хитозана /декстрана сохраняется его способность функционировать в качестве УФ-фотосенсибилизатора.

Ключевые слова: УФ-излучение; куркумин; фотосенсибилизатор; наноструктуры; HaCaT; MDA-MB-231.

Образец цитирования:

Потапович АИ, Шутова ТГ, Костюк ТВ, Костюк ВА. Способность природного химиопрофилактического агента куркумина функционировать как эффективный УФ-фотосенсибилизатор. *Журнал Белорусского государственного университета. Биология.* 2021;3:28–37.
<https://doi.org/10.33581/2521-1722-2021-3-28-37>

For citation:

Potapovich AI, Shutava TG, Kostyuk TV, Kostyuk VA. The ability of the natural chemoprophylactic agent curcumin to function as an effective UV photosensitizer. *Journal of the Belarusian State University. Biology.* 2021;3:28–37. Russian.
<https://doi.org/10.33581/2521-1722-2021-3-28-37>

Авторы:

Алла Ивановна Потапович – кандидат биологических наук; ведущий научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории физиологии кафедры физиологии человека и животных биологического факультета.

Татьяна Геннадьевна Шутова – кандидат химических наук; ведущий научный сотрудник лаборатории биополимерных капсулированных структур отдела физикохимии тонкопленочных материалов.

Татьяна Владимировна Костюк – младший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории физиологии кафедры физиологии человека и животных биологического факультета.

Владимир Андреевич Костюк – доктор химических наук, доцент; заведующий научно-исследовательской лабораторией физиологии кафедры физиологии человека и животных биологического факультета.

Authors:

Alla I. Potapovich, PhD (biology); leading researcher at the laboratory of physiology, department of human and animal physiology, faculty of biology.
pot-alla@rambler.ru

Tatsiana G. Shutava, PhD (chemistry); leading researcher at the laboratory of biopolymer encapsulated structures, department of physical chemistry of thin-film materials.
shutova@ichnm.basnet.by

Tatyana V. Kostyuk, junior researcher at the laboratory of physiology, department of human and animal physiology, faculty of biology.
1011@tut.by

Vladimir A. Kostyuk, doctor of science (chemistry), docent; head of the laboratory of physiology, department of human and animal physiology, faculty of biology.
kostyuk@bsu.by





THE ABILITY OF THE NATURAL CHEMOPROPHYLLACTIC AGENT CURCUMIN TO FUNCTION AS AN EFFECTIVE UV PHOTSENSITISER

A. I. POTAPOVICH^a, T. G. SHUTAVA^b, T. V. KOSTYUK^a, V. A. KOSTYUK^a

^aBelarusian State University, 4 Niezaliežnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus

^bInstitute of Chemistry of New Materials, National Academy of Sciences of Belarus,
36 F. Skaryny Street, Minsk 220141, Belarus

Corresponding author: V. A. Kostyuk (kostyuk@bsu.by)

It is known that some plant polyphenols and alkaloids can act as effective photosensitisers of UV radiation. This phenomenon can enhance both therapeutic and side effects. Since there is no information regarding curcuminoids on their ability to function as UV photosensitisers, this work investigated the effect of UV radiation on the cytotoxic effect of curcumin, as well as its nanostructured forms, against keratinocytes of the HaCaT line and cancer cells MDA-MB-231. The results obtained indicate that curcumin is an effective photosensitiser capable of initiating photochemical reactions under the influence of UV radiation of the A and B range, which lead to the formation of chemically active intermediates, disruption of membrane integrity and cell death. When curcumin is incorporated into nanostructures based on polyallylamine hydrochloride / polystyrene sulfate and chitosan / dextran sulfate, its ability to function as a UV photosensitiser is retained.

Keywords: UV radiation; curcumin; photosensitiser; nanostructures; HaCaT; MDA-MB-231.

Введение

Куркумин – желтый полифенольный пигмент из корневища *Curcuma longa* L. (куркума) – веками использовался в кулинарии как пищевой краситель. В настоящее время он выступает ингредиентом пищевых добавок, применяется в косметике, употребляется в качестве ароматизатора для продуктов питания, таких как напитки со вкусом куркумы, в Южной и Юго-Восточной Азии, а также красителя для приправы карри, горчицы, сливочного масла и сыров [1]. Основным компонентом коммерческой куркумы является диферулоилметан, или куркумин I (систематическое наименование – 1,7-бис(4-гидрокси-3-метоксифенил)-1,6-гептадиен-3,5-дион (ИЮПАК)). Его доля достигает 77 % от всех куркуминоидов куркумы, около 17 % приходится на деметоксикуркумин, или куркумин II, и примерно 3 % – на бисдеметоксикуркумин, или куркумин III. При этом общее содержание куркуминоидов в порошке коммерческой куркумы составляет только 2–5 % [1; 2]. Диферулоилметан (химическая формула – C₂₁H₂₀O₆) представляет собой кристаллы желто-оранжевого цвета, его молекулярная масса равна 368,39 г/моль, температура плавления – 183 °С. В нейтральных и кислых растворах преобладает кетоформа диферулоилметана, тогда как в твердом состоянии и в щелочном растворе – более стабильная енольная форма [3].

На протяжении нескольких тысячелетий куркумин является компонентом лекарственных средств, широко используемых в восточной (аюрведа и атхарведа) и китайской медицине [1]. Это обстоятельство обусловило значительный интерес исследователей, работающих в различных областях медицины, фармакологии и молекулярной биологии, к куркуминоидам как потенциальным лекарственным средствам профилактики и терапии различных заболеваний. Химиопрофилактика рака давно признана важной лечебной стратегией [4], и использование куркумина зарекомендовало себя как многообещающий способ борьбы с опухолями [5; 6]. Эффективность и безопасность куркумина в качестве дополнительной терапии показаны в рандомизированных контролируемых клинических испытаниях при язвенном колите [7; 8] и воспалительном заболевании кишечника [9].

Фармакологическую активность куркумина связывают с его способностью модулировать различные внутриклеточные сигнальные пути, оказывая противовоспалительное, противоопухолевое, антиоксидантное, иммуномодулирующее и противовирусное действие [10–12]. Один из механизмов противовоспалительного действия куркумина, которое считается наиболее важным, заключается в ингибировании внутриклеточной передачи сигналов посредством ядерного фактора NF-κB, тем самым подавляется экспрессия мРНК провоспалительных цитокинов IL-1, IL-6 и TNF в клетках, участвующих в развитии воспаления [1; 12].

Несмотря на убедительные экспериментальные доказательства высокой фармакологической активности *in vitro* и *ex vivo*, существуют и обоснованные сомнения в перспективах фармакологического использования куркуминоидов. Согласно обзору результатов 120 исследований, проведенных к 2017 г., куркумин не был успешным ни в одном клиническом испытании, это привело авторов к выводу, что он является нестабильным, реактивным, небiodоступным соединением и, следовательно, неперспективен для терапевтического использования [13]. В число факторов, ограничивающих биоактивность



куркумина и его аналогов, входят химическая нестабильность, нерастворимость в воде, отсутствие сильной и селективной целевой активности, низкая биодоступность, ограниченное тканевое распределение [13]. Также следует отметить, что крайне мало куркумина всасывается из желудочно-кишечного тракта, большая же часть соединения выводится с калом в неизменном виде [14]. Но если куркумин попадает в плазму в достаточных количествах, существует высокий риск его токсичности, поскольку в процессе биотрансформации он взаимодействует с белком специфических калиевых каналов сердца, кодируемым геном *hERG*, цитохромами P450s и глутатион-S-трансферазами, что увеличивает вероятность побочных эффектов [13].

Известно, что некоторые растительные полифенолы и алкалоиды, способные подавлять процесс канцерогенеза, в частности пиперин [15] и силимарин [16], могут действовать как эффективные фотосенсибилизаторы УФ-излучения. Данный феномен может усилить как лечебные, так и побочные эффекты химиопрофилактических агентов. Поскольку отсутствует информация о способности куркуминоидов функционировать в качестве УФ-фотосенсибилизаторов, в настоящей работе было исследовано влияние УФ-излучения на цитотоксическое действие куркумина, а также его наноструктурированных форм в отношении кератиноцитов линии HaCaT и раковых клеток MDA-MB-231. Учитывая, что и опухолевые ткани, и эпидермис кожи обычно находятся в условиях низкого снабжения кислородом, эффекты свободного и наноструктурированного куркумина в сочетании с УФ-излучением оценивались в нормальных и аноксических условиях.

Материалы и методы исследования

Реактивы и среды. Куркумин, трипсин, соли, растворители, изотонический фосфатный буфер (ИФБ) (рН 7,4), диметилсульфоксид (ДМСО) были приобретены у фирмы *Sigma-Aldrich* (Италия), реактив PrestoBlue™ Reagent – у компании *Invitrogen* (США). В работе использовали ростовую среду ДМЕМ фирмы *Lonza* (Бельгия), эмбриональную бычью сыворотку (ЭБС) фирмы *Capricorn Scientific* (Германия). Анаэробный индикатор приобретен у компании *Thermo Scientific* (Германия), система для анаэробной инкубации AnaeroGen Compact – у фирмы *Oxoid* (Великобритания).

Клеточные культуры. В качестве объекта исследования использовали культивируемые кератиноциты человека линии HaCaT, подарок доктора Н. Е. Фузенига (*Deutsches Krebsforschungszentrum*, Гейдельберг, Германия), и клетки линии аденокарциномы молочной железы человека MDA-MB-231 (карцинома протока груди). Клетки растили в полной среде ДМЕМ с добавлением 10 % ЭБС, 2 ммоль/л L-глутамина и антибиотиков (100 МЕ/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина) при стандартных условиях (37 °С; 5 % CO₂).

Наноструктурированный куркумин. Наноструктуры (РАН/PPS)₄ на основе гидрохлорида полиаллиламина /сульфата полистирола и наноструктуры (Hit/DS)₄ на основе сульфата хитозана /декстрана со средним размером (1,1 ± 0,3) мкм формировали путем послойной сборки в водных растворах. Полученные наноструктуры обладали хорошей диспергируемостью микрокристаллов куркумина. Оба типа наноструктур, содержащих 10 мг/мл куркумина, растворялись в 0,9 % NaCl.

Общая схема проведения экспериментов *in vitro*. Эксперименты проводили в 96- и 24-луночных планшетах. Для посева в 96-луночные планшеты в лунку вносили 100 мкл клеточной суспензии (0,7 · 10⁴ клеток на лунку) в полной среде ДМЕМ, для посева в 24-луночные – 1 мл клеточной суспензии (5,0 · 10⁴ клеток на лунку). Клетки растили в планшетах до конфлюэнтности 80 %, непосредственно перед УФ-облучением полную среду в лунках заменяли на ИФБ, содержащий исследуемые вещества. В качестве источника УФ-излучения использовали облучатель ультрафиолетовый ОУФк-05 (Россия), обеспечивающий в эффективном спектральном диапазоне (280–400 нм) интенсивность облучения на расстоянии 0,1 м не менее 25 Вт/м² при соотношении УФА и УФВ, равном 2 : 1. После облучения ИФБ заменяли на среду ДМЕМ, не содержащую ЭБС, и культивировали клетки в течение 24 ч при стандартных условиях (37 °С; 5 % CO₂).

Для создания аноксии использовали систему для анаэробной инкубации AnaeroGen Compact, позволяющую снизить содержание кислорода до уровня менее 1 % за 30 мин при уровне диоксида углерода от 8 до 14 %. Для визуального подтверждения анаэробных условий применяли кислородный анаэробный индикатор, который помещали на планшет с клетками.

Определение жизнеспособности клеток. Жизнеспособность клеток определяли в 96-луночных планшетах, используя реактив PrestoBlue™ Reagent, который разводили в культуральной среде (1 : 9) и добавляли к клеткам в количестве 100 мкл на лунку. На каждом планшете для определения базового уровня флуоресценции оставляли лунки с культуральной средой без клеток. Флуоресценцию измеряли после инкубации в течение 1,5 ч при 37 °С, применяя фильтр λ_{ex} = (560 ± 25) нм, λ_{em} = (590 ± 10) нм, на спектрофлуориметре Cary Eclipse (Австралия).



Оценка повреждения клеточных мембран. Повреждение клеточных мембран оценивали по выходу цитоплазматического фермента лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в 24-луночных планшетах. Активность ЛДГ в культуральной среде и лизатах, полученных путем добавления к адгезированным клеткам 1 % раствора тритона X-100 в ИФБ и последующего 30-минутного встряхивания на мини-шейкере PSU-2T Biosan (Латвия), определяли спектрофотометрически, по изменению оптической плотности при 340 нм.

Статистическая обработка результатов. Обработка полученных результатов выполнена с использованием стандартной компьютерной программы *Excel*. Статистические данные представлены в виде $M \pm SD$, где M – среднее арифметическое; SD – стандартное отклонение. Количество измерений варьировало от 8 до 16. Для оценки разницы между экспериментальными группами применяли t -критерий Стьюдента, достоверными считались значения $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Влияние свободного и наноструктурированного куркумина на жизнеспособность раковых клеток MDA-MB-231 и кератиноцитов HaCaT. Влияние куркумина на жизнеспособность клеток MDA-MB-231 и HaCaT было исследовано в диапазоне концентраций 20–80 мкмоль/л (PrestoBlue™ Reagent). Установлено, что куркумин проявляет заметное цитотоксическое действие в отношении клеток MDA-MB-231 и HaCaT в концентрации 40 мкмоль/л и выше (табл. 1).

Таблица 1

Влияние куркумина на количество жизнеспособных клеток MDA-MB-231 и HaCaT (в процентах к контролю) через 24 ч после воздействия

Table 1

Effect of curcumin on the number of viable cells MDA-MB-231 and HaCaT (as a percentage of control) after 24 h of exposure

Клеточная линия	Контроль	Куркумин, мкмоль/л		
		20	40	80
MDA-MB-231	100 ± 5	97 ± 5	83 ± 4*	56 ± 7**
HaCaT	100 ± 6	98 ± 9	80 ± 5*	74 ± 3*

Примечание. * – $p \leq 0,05$, ** – $p \leq 0,001$ по сравнению с контролем.

Цитотоксическое действие наноструктурированного куркумина (PAH/PPS)₄ и (Hit/DS)₄ исследовалось в диапазоне концентраций 10–100 мкмоль/л (по куркумину). Установлено, что при всех использованных концентрациях наноструктурированный куркумин не оказывал влияния на количество жизнеспособных клеток MDA-MB-231 и HaCaT через 24 ч инкубации (результаты не приведены).

Совместное действие УФ-излучения и куркумина в отношении раковых клеток MDA-MB-231 и кератиноцитов HaCaT в условиях нормоксии и аноксии. В данной серии экспериментов была исследована жизнеспособность клеток MDA-MB-231 и HaCaT через 24 ч после воздействия УФ-излучения (6 Дж/см²) без куркумина и совместно с ним. При этом количество жизнеспособных клеток MDA-MB-231 оценивали как флуоресцентным методом с использованием PrestoBlue™ Reagent, так и спектрофотометрическим методом, основанным на определении выхода из поврежденных клеток цитоплазматического фермента ЛДГ. Установлено, что воздействие УФ-излучения в отсутствие куркумина через 24 ч инкубации в условиях и нормоксии, и аноксии приводит к достоверному снижению количества жизнеспособных клеток MDA-MB-231, могущих метаболизировать резазурин (PrestoBlue™ Reagent) в высокофлуоресцентное соединение красного цвета (табл. 2).

Однако снижение способности клеток метаболизировать резазурин не сопровождалось выраженным нарушением целостности клеточных мембран, ведущим к выходу цитоплазматических ферментов (в частности, выход ЛДГ был менее 10 %) (табл. 3). В том случае, когда воздействие УФ-излучения происходит в присутствии куркумина в диапазоне концентраций 1–5 мкмоль/л, через 24 ч инкубации в условиях нормоксии и аноксии отмечается достоверное дозозависимое снижение количества жизнеспособных клеток MDA-MB-231, определяемых как методом с использованием PrestoBlue™ Reagent, так и по выходу ЛДГ. Практически полное повреждение клеток (более чем на 90 %) наблюдается при концентрации куркумина 2,5 мкмоль/л (см. табл. 3).

При исследовании воздействия УФ-излучения (6 Дж/см²) на клетки HaCaT установлено, что количество жизнеспособных клеток через 24 ч достоверно снижается только в случае инкубации при аноксии (табл. 4). Воздействие УФ-излучения в присутствии куркумина через 24 ч инкубации в условиях нормоксии и аноксии приводит к достоверному дозозависимому снижению количества жизнеспособных клеток. Практически полное повреждение клеток (более чем на 90 %) наблюдается при концентрации куркумина 10 мкмоль/л (см. табл. 4).



Таблица 2

Оценка совместного цитотоксического действия куркумина и УФ-излучения в отношении клеток MDA-MB-231 (в процентах к контролю) через 24 ч после воздействия (метод с использованием PrestoBlue™ Reagent)

Table 2

Estimation of the combined cytotoxic effect of curcumin and UV radiation on MDA-MB-231 cells (as a percentage of control) after 24 h of exposure (method with PrestoBlue™ Reagent)

Условия эксперимента	Контроль	УФ (6 Дж/см ²)	УФ + куркумин, мкмоль/л		
			1,0	2,5	5,0
Нормоксия	100 ± 20	73 ± 14*	45 ± 12**	16 ± 7**	0 ± 1**
Аноксия	100 ± 15	69 ± 14*	36 ± 10**	17 ± 8**	0 ± 2**

Примечание. * – $p \leq 0,05$ по сравнению с контролем; ** – $p \leq 0,00001$ по сравнению с УФ-излучением в отсутствие куркумина.

Таблица 3

Оценка совместного цитотоксического действия куркумина и УФ-излучения в отношении клеток MDA-MB-231 (в процентах к контролю) через 24 ч после воздействия (по выходу ЛДГ из клеток)

Table 3

Estimation of the combined cytotoxic effect of curcumin and UV radiation on MDA-MB-231 cells (as a percentage of control) after 24 h of exposure (based on the release of LDH from cells)

Условия эксперимента	Контроль	УФ (6 Дж/см ²)	УФ + куркумин, мкмоль/л		
			1,0	2,5	5,0
Нормоксия	100 ± 2	92 ± 2*	53 ± 6**	9 ± 7***	0 ± 5***
Аноксия	100 ± 3	93 ± 1*	35 ± 5**	0 ± 2***	4 ± 1***

Примечание. * – $p \leq 0,05$ по сравнению с контролем; ** – $p \leq 0,001$, *** – $p \leq 0,00001$ по сравнению с УФ-излучением в отсутствие куркумина.

Таблица 4

Оценка совместного цитотоксического действия куркумина и УФ-излучения в отношении клеток HaCaT (в процентах к контролю) через 24 ч после воздействия (метод с использованием PrestoBlue™ Reagent)

Table 4

Estimation of the combined cytotoxic effect of curcumin and UV radiation on HaCaT cells (as a percentage of control) after 24 h of exposure (method with PrestoBlue™ Reagent)

Условия эксперимента	Контроль	УФ (6 Дж/см ²)	УФ + куркумин, мкмоль/л		
			2,5	5,0	10,0
Нормоксия	100 ± 19	98 ± 15	54 ± 20***	19 ± 15***	1 ± 3***
Аноксия	100 ± 12	82 ± 12*	54 ± 11**	19 ± 9***	4 ± 2***

Примечание. * – $p \leq 0,05$ по сравнению с контролем; ** – $p \leq 0,001$, *** – $p \leq 0,00001$ по сравнению с УФ-излучением в отсутствие куркумина.

Совместное действие УФ-излучения и наноструктурированного куркумина в отношении кератиноцитов HaCaT в нормальных и аноксических условиях. В данной серии экспериментов была исследована жизнеспособность клеток HaCaT через 24 ч после воздействия УФ-излучения (6 Дж/см²) совместно с куркумином, заключенным в наноструктурах Кур-(ПАН/PPS)₄ и Кур-(Hit/DS)₄. Наноструктуры куркумина добавляли в культуральную среду в диапазоне концентраций 5–20 мкмоль/л (по куркумину). Установлено, что при содержании в культуральной среде 10 мкмоль/л структурированного куркумина количество жизнеспособных клеток через 24 ч инкубации как при нормоксии, так и при аноксии снижается менее чем на 30 % в сравнении с клетками, подвергшимися воздействию только УФ-излучения, а при содержании 20 мкмоль/л структурированного куркумина – на 60–65 % (табл. 5 и 6).



Таблица 5

Оценка совместного цитотоксического действия Кур-(ПАН/PPS)₄ и УФ-излучения в отношении клеток HaCaT (в процентах к контролю) через 24 ч после воздействия (метод с использованием PrestoBlue™ Reagent)

Table 5

Estimation of the combined cytotoxic effect of Cur-(PAN/PPS)₄ and UV radiation on HaCaT cells (as a percentage of control) after 24 h of exposure (method with PrestoBlue™ Reagent)

Условия эксперимента	Контроль	УФ (6 Дж/см ²)	УФ + Кур-(ПАН/PPS) ₄ , мкмоль/л (по куркумину)		
			5	10	20
Нормоксия	100 ± 19	98 ± 15	90 ± 12	72 ± 13**	41 ± 9***
Аноксия	100 ± 12	82 ± 12*	74 ± 13	70 ± 19**	36 ± 14***

Примечание. * – $p \leq 0,05$ по сравнению с контролем; ** – $p \leq 0,05$, *** – $p \leq 0,00001$ по сравнению с УФ-излучением в отсутствие структурированного куркумина.

Таблица 6

Оценка совместного цитотоксического действия Кур-(Hit/DS)₄ и УФ-излучения в отношении клеток HaCaT (в процентах к контролю) через 24 ч после воздействия (метод с использованием PrestoBlue™ Reagent)

Table 6

Estimation of the combined cytotoxic effect of Cur-(Hit/DS)₄ and UV radiation on HaCaT cells (as a percentage of control) after 24 h of exposure (method with PrestoBlue™ Reagent)

Условия эксперимента	Контроль	УФ (6 Дж/см ²)	УФ + Кур-(Hit/DS) ₄ , мкмоль/л (по куркумину)		
			5	10	20
Нормоксия	100 ± 19	98 ± 15	90 ± 12	70 ± 11**	35 ± 7***
Аноксия	100 ± 12	82 ± 12*	72 ± 16	62 ± 9**	33 ± 11***

Примечание. * – $p \leq 0,05$ по сравнению с контролем; ** – $p \leq 0,05$, *** – $p \leq 0,00001$ по сравнению с УФ-излучением в отсутствие структурированного куркумина.

Совместное действие УФ-излучения и наноструктурированного куркумина в отношении раковых клеток MDA-MB-231 в нормальных и аноксических условиях. В данной серии экспериментов была исследована жизнеспособность клеток MDA-MB-231 через 24 ч после воздействия УФ-излучения (6 Дж/см²) совместно с куркумином, заключенным в наноструктурах Кур-(ПАН/PPS)₄ и Кур-(Hit/DS)₄. Наноструктуры куркумина добавляли в культуральную среду в диапазоне концентраций 2,5–20,0 мкмоль/л (по куркумину). Установлено, что при содержании в среде 20 мкмоль/л структурированного куркумина количество жизнеспособных клеток через 24 ч инкубации при нормоксии снижается на 45–50 % в сравнении с клетками, подвергшимися воздействию только УФ-излучения (табл. 7 и 8). При содержании 10 мкмоль/л структурированного куркумина достоверного снижения количества жизнеспособных клеток не выявлено. В случае аноксии небольшое (10–12 %), но достоверное снижение количества жизнеспособных клеток через 24 ч инкубации в сравнении с клетками, подвергшимися воздействию только УФ-излучения, выявлено при содержании структурированного куркумина 10 мкмоль/л (см. табл. 7 и 8).

Приведенные выше результаты свидетельствуют, что куркумин может действовать как УФ-фотосенсибилизатор. Его молекулы, поглощая УФ-излучение диапазонов А и В, способны переходить в возбужденное состояние, инициировать фотохимические реакции, которые ведут к образованию активных форм кислорода и других химически активных интермедиатов [17; 18] и, как следствие, подавлению метаболизма, нарушению целостности мембран и гибели клеток при их темновой инкубации. При этом под воздействием УФ-излучения происходит дозозависимое разрушение хромофоров молекулы куркумина (см. рисунок).



Таблица 7

Оценка совместного цитотоксического действия Кур-(РАН/PPS)₄ и УФ-излучения в отношении клеток MDA-MB-231 (в процентах к контролю) через 24 ч после воздействия (метод с использованием PrestoBlue™ Reagent)

Table 7

Estimation of the combined cytotoxic effect of Cur-(РАН/PPS)₄ and UV radiation on MDA-MB-231 cells (as a percentage of control) after 24 h of exposure (method with PrestoBlue™ Reagent)

Условия эксперимента	Контроль	УФ (6 Дж/см ²)	УФ + Кур-(РАН/PPS) ₄ , мкмоль/л (по куркумину)			
			2,5	5,0	10,0	20,0
Нормоксия	100 ± 19	73 ± 14*	83 ± 10	89 ± 9	70 ± 7	26 ± 5***
Аноксия	100 ± 12	69 ± 14*	70 ± 8	64 ± 10	57 ± 13**	31 ± 5***

Примечание. * – $p \leq 0,05$ по сравнению с контролем; ** – $p \leq 0,001$, *** – $p \leq 0,00001$ по сравнению с УФ-излучением в отсутствие структурированного куркумина.

Таблица 8

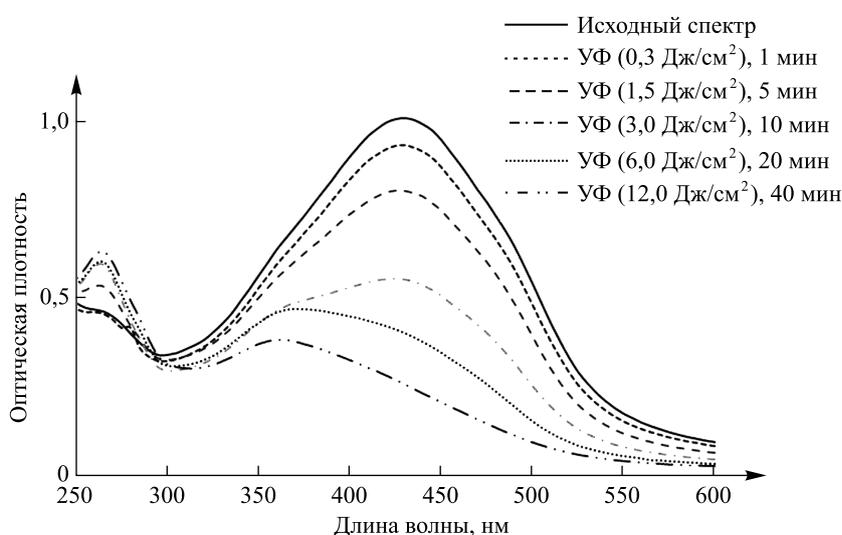
Оценка совместного цитотоксического действия Кур-(Hit/DS)₄ и УФ-излучения в отношении клеток MDA-MB-231 (в процентах к контролю) через 24 ч после воздействия (метод с использованием PrestoBlue™ Reagent)

Table 8

Estimation of the combined cytotoxic effect of Cur-(Hit/DS)₄ and UV radiation on MDA-MB-231 cells (as a percentage of control) after 24 h of exposure (method with PrestoBlue™ Reagent)

Условия эксперимента	Контроль	УФ (6 Дж/см ²)	УФ + Кур-(Hit/DS) ₄ , мкмоль/л (по куркумину)			
			2,5	5,0	10,0	20,0
Нормоксия	100 ± 19	73 ± 14*	92 ± 15	84 ± 7	73 ± 7	17 ± 4***
Аноксия	100 ± 12	69 ± 14*	84 ± 16	75 ± 7	60 ± 12**	22 ± 6***

Примечание. * – $p \leq 0,05$ по сравнению с контролем; ** – $p \leq 0,05$, *** – $p \leq 0,0001$ по сравнению с УФ-излучением в отсутствие структурированного куркумина.



Изменения в спектре поглощения куркумина (50 мкмоль/л) в УФ и видимой области после воздействия различных доз УФ-излучения
Changes in the absorption spectrum of curcumin (50 μmol/L) in the UV and visible region after exposure to various doses of UV radiation



Сравнив данные, приведенные в табл. 2 и 4, можно сделать вывод, что культура раковых клеток MDA-MB-231 более чувствительна к фотодинамическому действию куркумина, чем кератиноциты линии HaCaT. Следует отметить, что уровень кислорода в среде инкубации не оказывал существенного влияния на темновые процессы. Гибель клеток наступала как при их инкубации в нормальных аэробных условиях, так и при аноксии. Способность куркумина вовлекаться под действием УФ-излучения в фотохимические процессы может иметь не только положительные, но и отрицательные последствия при использовании его как средства дополнительной терапии. Известно, что УФ-излучение проникает в кожу в зависимости от длины волны. Кроме того, на глубину проникновения УФ-излучения влияют толщина эпидермиса и его рогового слоя, тип кожи (содержание меланина). Так, УФА с большей длиной волны проникает глубоко в дерму. Напротив, УФВ почти полностью поглощается эпидермисом и сравнительно мало достигает дермы, а УФС практически весь поглощается роговым слоем [19; 20]. К примеру, если на поверхность кожи воздействуют УФА (365 нм), УФВ (313 нм) и УФС (254 нм) в одинаковой дозе 100 кДж/м^2 , то окажется, что на глубине 30 мкм дозы УФА, УФВ и УФС будут 50; 33 и 5 кДж/м^2 , а на глубине 70 мкм – 19,0; 9,5 и менее $1,0 \text{ кДж/м}^2$ соответственно. Несмотря на то что куркумин обладает низкой биодоступностью [13; 14], существует возможность его накопления в коже, а следовательно, и вероятность усиления под влиянием солнечного света (или другого источника УФ-излучения) его цитотоксического действия в отношении как нормальных кератиноцитов, фибробластов и меланоцитов, так и опухолевых клеток, например клеток меланомы. Теоретически позитивный терапевтический эффект куркумина как УФ-фотосенсибилизатора может достигаться только в случае его избирательного накопления в опухолевых клетках. Биодоступность и избирательность куркумина могут быть увеличены при использовании наноструктурированных форм, что делает их создание и изучение возможности терапевтического использования весьма актуальной задачей [21]. Полисахариды (хитозан, альгиновая кислота, карбоксиметилцеллюлоза, пектин, декстрана сульфат) широко применяются при создании наноконтейнеров для фармакологически активных субстанций [22]. Как свидетельствуют полученные результаты, при включении куркумина в наноструктуры на основе гидрохлорида полиаллиламина / сульфата полистирола и сульфата хитозана / декстрана сохраняется его способность функционировать в качестве УФ-фотосенсибилизатора и инициировать под действием УФ-излучения процессы, ведущие к гибели клеток при их последующей темновой инкубации. Этот феномен может быть обусловлен как действием свободного куркумина, высвобождающегося при захвате наноструктур клетками, так и способностью куркумина функционировать как УФ-фотосенсибилизатор в составе наноструктур.

Заключение

Таким образом, можно сделать вывод, что наряду со способностью модулировать различные внутриклеточные сигнальные пути, оказывая противовоспалительное, противоопухолевое, антиоксидантное, иммуномодулирующее и противовирусное действие, свободный и наноструктурированный куркумин проявляет свойства эффективного фотосенсибилизатора, который под воздействием УФ-излучения диапазонов А и В может инициировать фотохимические реакции, ведущие к образованию химически активных интермедиатов, подавлению метаболизма, нарушению целостности мембран и гибели клеток.

Библиографические ссылки

1. Sharifi-Rad J, Rayess YE, Rizk AA, Sadaka C, Zgheib R, Zam W, et al. Turmeric and its major compound curcumin on health: bioactive effects and safety profiles for food, pharmaceutical, biotechnological and medicinal applications. *Frontiers in Pharmacology*. 2020;11:01021. DOI: 10.3389/fphar.2020.01021.
2. Buckingham J, editor. *Dictionary of natural products on DVD*. London: Chapman & Hall/CRC; 2018. 480 p.
3. Anand P, Kunnumakkara AB, Newman RA, Aggarwal BB. Bioavailability of curcumin: problems and promises. *Molecular Pharmacology*. 2007;4(6):807–818. DOI: 10.1021/mp700113r.
4. Landis-Piwowar KR, Iyer NR. Cancer chemoprevention: current state of the art. *Cancer Growth and Metastasis*. 2014;7:19–25. DOI: 10.4137/CGM.S11288.
5. Tomeh MA, Hadianamrei R, Zhao X. A review of curcumin and its derivatives as anticancer agents. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(5):1033. DOI: 10.3390/ijms20051033.
6. Gupta SC, Prasad S, Kim JH, Patchva S, Webb LJ, Priyadarsini IK, et al. Multitargeting by curcumin as revealed by molecular interaction studies. *Natural Product Reports*. 2011;28(12):1937–1955. DOI: 10.1039/C1NP00051A.
7. Coelho MR, Romi MD, Ferreira DMTP, Zaltman C, Soares-Mota M. The use of curcumin as a complementary therapy in ulcerative colitis: a systematic review of randomized controlled clinical trials. *Nutrients*. 2020;12(8):2296. DOI: 10.3390/nu12082296.
8. Baliga MS, Joseph N, Venkataranganna MV, Saxena A, Ponemone V, Fayad R. Curcumin, an active component of turmeric in the prevention and treatment of ulcerative colitis: preclinical and clinical observations. *Food & Function*. 2012;3(11):1109–1117. DOI: 10.1039/C2FO30097D.



9. Yang Z, Liu W, Zhou X, Zhu X, Suo F, Yao S. The effectiveness and safety of curcumin as a complementary therapy in inflammatory bowel disease: a protocol of systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2020;99(43):e22916. DOI: 10.1097/MD.00000000000022916.
10. Gupta SC, Patchva S, Koh W, Aggarwal BB. Discovery of curcumin, a component of golden spice, and its miraculous biological activities. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 2012;39(3):283–299. DOI: 10.1111/j.1440-1681.2011.05648.x.
11. Moghadamtousi SZ, Kadir HA, Hassandarvish P, Tajik H, Abubakar S, Zandi K. A review on antibacterial, antiviral, and antifungal activity of curcumin. *BioMed Research International*. 2014;2014:186864. DOI: 10.1155/2014/186864.
12. Šudomová M, Hassan STS. Nutraceutical curcumin with promising protection against herpesvirus infections and their associated inflammation: mechanisms and pathways. *Microorganisms*. 2021;9(2):292. DOI: 10.3390/microorganisms9020292.
13. Nelson KM, Dahlin JL, Bisson J, Graham J, Pauli GF, Walters MA. The essential medicinal chemistry of curcumin. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2017;60(5):1620–1637. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.6b00975.
14. Metzler M, Pfeiffer E, Schulz SI, Dempe JS. Curcumin uptake and metabolism. *BioFactors*. 2013;39(1):14–20. DOI: 10.1002/biof.1042.
15. Rather RA, Bhagat M. Cancer chemoprevention and piperine: molecular mechanisms and therapeutic opportunities. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2018;6:10. DOI: 10.3389/fcell.2018.00010.
16. Fidrus E, Ujhelyi Z, Fehér P, Hegedűs C, Janka EA, Paragh G, et al. Silymarin: friend or foe of UV exposed keratinocytes? *Molecules*. 2019;24(9):1652. DOI: 10.3390/molecules24091652.
17. Красновский АА. Фотодинамическая регуляция биологических процессов. Первичные механизмы. В: Рубин АБ, редактор. *Проблемы регуляции в биологических системах. Биофизические аспекты*. Ижевск: Регулярная и хаотическая динамика; 2006. с. 223–254. Совместное издание с Институтом компьютерных исследований.
18. Chatterjee S. Oxidative stress, inflammation, and disease. In: Dziubla T, Butterfield DA, editors. *Oxidative stress and biomaterials*. New York: Academic Press; 2016. p. 35–58.
19. Bruls WAG, Slaper H, Van Der Leun JC, Berrens L. Transmission of human epidermis and stratum corneum as a function of thickness in the ultraviolet and visible wavelengths. *Photochemistry and Photobiology*. 1984;40(4):485–494. DOI: 10.1111/j.1751-1097.1984.tb04622.x.
20. D’Orazio J, Jarrett S, Amaro-Ortiz A, Scott T. UV radiation and the skin. *International Journal of Molecular Sciences*. 2013;14(6):12222–12248. DOI: 10.3390/ijms140612222.
21. Masoodi M, Mahdiabadi MA, Mokhtare M, Agah S, Kashani AHF, Rezadoost AM, et al. The efficacy of curcuminoids in improvement of ulcerative colitis symptoms and patients’ self-reported well-being: a randomized double-blind controlled trial. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2018;119(11):9552–9559. DOI: 10.1002/jcb.27273.
22. Шутова ТГ. Нано- и микроконтейнеры на основе биополимеров и биологически активных соединений. *Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия химических наук*. 2013;4:51–61.

References

1. Sharifi-Rad J, Rayess YE, Rizk AA, Sadaka C, Zgheib R, Zam W, et al. Turmeric and its major compound curcumin on health: bioactive effects and safety profiles for food, pharmaceutical, biotechnological and medicinal applications. *Frontiers in Pharmacology*. 2020;11:01021. DOI: 10.3389/fphar.2020.01021.
2. Buckingham J, editor. *Dictionary of natural products on DVD*. London: Chapman & Hall/CRC; 2018. 480 p.
3. Anand P, Kunnumakkara AB, Newman RA, Aggarwal BB. Bioavailability of curcumin: problems and promises. *Molecular Pharmacology*. 2007;4(6):807–818. DOI: 10.1021/mp700113r.
4. Landis-Piowar KR, Iyer NR. Cancer chemoprevention: current state of the art. *Cancer Growth and Metastasis*. 2014;7:19–25. DOI: 10.4137/CGM.S11288.
5. Tomeh MA, Hadianamrei R, Zhao X. A review of curcumin and its derivatives as anticancer agents. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(5):1033. DOI: 10.3390/ijms20051033.
6. Gupta SC, Prasad S, Kim JH, Patchva S, Webb LJ, Priyadarsini IK, et al. Multitargeting by curcumin as revealed by molecular interaction studies. *Natural Product Reports*. 2011;28(12):1937–1955. DOI: 10.1039/C1NP00051A.
7. Coelho MR, Romi MD, Ferreira DMTP, Zaltman C, Soares-Mota M. The use of curcumin as a complementary therapy in ulcerative colitis: a systematic review of randomized controlled clinical trials. *Nutrients*. 2020;12(8):2296. DOI: 10.3390/nu12082296.
8. Baliga MS, Joseph N, Venkataranganna MV, Saxena A, Ponemone V, Fayad R. Curcumin, an active component of turmeric in the prevention and treatment of ulcerative colitis: preclinical and clinical observations. *Food & Function*. 2012;3(11):1109–1117. DOI: 10.1039/C2FO30097D.
9. Yang Z, Liu W, Zhou X, Zhu X, Suo F, Yao S. The effectiveness and safety of curcumin as a complementary therapy in inflammatory bowel disease: a protocol of systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2020;99(43):e22916. DOI: 10.1097/MD.00000000000022916.
10. Gupta SC, Patchva S, Koh W, Aggarwal BB. Discovery of curcumin, a component of golden spice, and its miraculous biological activities. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 2012;39(3):283–299. DOI: 10.1111/j.1440-1681.2011.05648.x.
11. Moghadamtousi SZ, Kadir HA, Hassandarvish P, Tajik H, Abubakar S, Zandi K. A review on antibacterial, antiviral, and antifungal activity of curcumin. *BioMed Research International*. 2014;2014:186864. DOI: 10.1155/2014/186864.
12. Šudomová M, Hassan STS. Nutraceutical curcumin with promising protection against herpesvirus infections and their associated inflammation: mechanisms and pathways. *Microorganisms*. 2021;9(2):292. DOI: 10.3390/microorganisms9020292.
13. Nelson KM, Dahlin JL, Bisson J, Graham J, Pauli GF, Walters MA. The essential medicinal chemistry of curcumin. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2017;60(5):1620–1637. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.6b00975.
14. Metzler M, Pfeiffer E, Schulz SI, Dempe JS. Curcumin uptake and metabolism. *BioFactors*. 2013;39(1):14–20. DOI: 10.1002/biof.1042.
15. Rather RA, Bhagat M. Cancer chemoprevention and piperine: molecular mechanisms and therapeutic opportunities. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2018;6:10. DOI: 10.3389/fcell.2018.00010.
16. Fidrus E, Ujhelyi Z, Fehér P, Hegedűs C, Janka EA, Paragh G, et al. Silymarin: friend or foe of UV exposed keratinocytes? *Molecules*. 2019;24(9):1652. DOI: 10.3390/molecules24091652.



17. Krasnovskii AA. [Photodynamic regulation of biological processes. Primary mechanisms]. In: Rubin AB, editor. *Problemy regulatsii v biologicheskikh sistemakh. Biofizicheskie aspekty* [Problems of regulation in biological systems. Biophysical aspects]. Izhevsk: Regular and Chaotic Dynamics; 2006. p. 223–254. Co-published by the Institute of Computer Science. Russian.
18. Chatterjee S. Oxidative stress, inflammation, and disease. In: Dziubla T, Butterfield DA, editors. *Oxidative stress and biomaterials*. New York: Academic Press; 2016. p. 35–58.
19. Bruls WAG, Slaper H, Van Der Leun JC, Berrens L. Transmission of human epidermis and stratum corneum as a function of thickness in the ultraviolet and visible wavelengths. *Photochemistry and Photobiology*. 1984;40(4):485–494. DOI: 10.1111/j.1751-1097.1984.tb04622.x.
20. D’Orazio J, Jarrett S, Amaro-Ortiz A, Scott T. UV radiation and the skin. *International Journal of Molecular Sciences*. 2013; 14(6):12222–12248. DOI: 10.3390/ijms140612222.
21. Masoodi M, Mahdiabadi MA, Mokhtare M, Agah S, Kashani AHF, Rezadoost AM, et al. The efficacy of curcuminoids in improvement of ulcerative colitis symptoms and patients’ self-reported well-being: a randomized double-blind controlled trial. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2018;119(11):9552–9559. DOI: 10.1002/jcb.27273.
22. Shutava TG. Nano- and microcontainers from biopolymers and biologically active compounds. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical Series*. 2013;4:51–61. Russian.

Получена 22.06.2021 / исправлена 22.07.2021 / принята 06.08.2021.
Received 22.06.2021 / revised 22.07.2021 / accepted 06.08.2021.