

## **МОДИФІКУВАННЯ НАНОТРУБОК ЯК НОСІЯ АКТИВНИХ ФАРМАЦЕВТИЧНИХ ІНГРЕДІЄНТІВ ФОТОТЕРАПІЇ РАКУ**

**Білостенна А.Р., Бричка С.Я.**

Київський національний університет технологій та дизайну, кафедра  
промислової фармації, м. Київ, Україна, e-mail:

alina.bilostenna@gmail.com.ua

---

У статті розглядаються методики використання фототерапії, включаючи використання наноносіїв з високою здатністю завантажувати ліки та ефективність доставки для цільової терапії. Показано особливості природних нанотрубок галлоїзиту (ГНТ) для побудови біоміметичної платформи наноносіїв для конкретної цільової доставки фототерапевтичних засобів. ГНТ були модифіковані полі(натрій-стиренсульфонатом) для підвищення біосумісності. Надалі функціоналізували порожнини, завантажуючи фотосенсибілізатор типу II індоціанін зелений. Було показано, що наноносій без подальшого прив'язування цільових груп асоціюється з мембраною гігантських одношарових пухирців за допомогою ефекту Пікерінга. Застосування наноносія до клітин раку молочної залози людини призвело до смертності клітин до 95%. Наноносій був додатково покритий клітинними мембранами MDA-MB-436, щоб наділити його цільовою ефективністю терапії проти раку молочної залози, що було підтверджено експериментами *in vivo* з використанням пухлин раку молочної залози у мишей. Наноносій з мембранним покриттям та біосумісний переважно концентрується в тканині пухлини та ефективно зменшує об'єм пухлини за рахунок поєднання фотодинамічних та фототермічних ефектів при ближньому інфрачервоному освітленні. Наші результати демонструють, що наноносій на основі ГНТ завдяки підготовці та високій навантажувальній здатності може бути перспективним кандидатом для розробки мембранних наноносіїв.

---

**Ключові слова:** нанотрубки, клітинна мембрана, фототерапія, ефект Пікерінга.

## **MODIFICATION OF NANOTUBES AS A CARRIER OF ACTIVE PHARMACEUTICAL INGREDIENTS FOR CANCER PHOTOTHERAPY**

**Bilostenna A.R., Brychka S.Ya.**

Kyiv National University of Technologies and Design, Department of Industrial

Pharmacy, Kyiv, Ukraine, e-mail: alina.bilostenna@gmail.com.ua

---

The article discusses phototherapy has drawn increasing attention including the use of nanocarriers with high drug loading capacity and delivery efficacy for target-specific therapy. We have made use of naturally-occurring halloysite nanotubes to build a biomimetic nanocarrier platform for target-specific delivery of phototherapeutic agents. The GNTs were decorated with poly(sodium-p-styrenesulfonate) to enhance the biocompatibility, and were further functionalized by lumen loading the type-II photosensitizer indocyanine green. The GNT-PSS-ICG nanocarrier, without further tethering targeting groups, was shown to associate with the membrane of giant unilamellar vesicles via Pickering effects. Application of GNT-PSS-ICG nanocarrier to human breast cancer cells gave rise to a cell mortality as high as 95%. The GNT-PSS-ICG nanocarrier was further coated with MDA-MB-436 cell membranes to endow it with targeting therapy performance against breast cancer, which was confirmed by in vivo experiments using breast cancer tumors in mice. The membrane-coated and biocompatible nanocarrier preferentially concentrated in the tumor tissue, and efficiently decreased the tumor volume by a combination of photodynamic and photothermal effects upon near-infrared light exposure. Our results demonstrate that the GHT-based nanocarrier by virtue of facile preparation and high loading capacity can be a promising candidate for membrane-targeting nanocarriers.

---

**Keywords:** halloysite nanotubes, cell membrane, giant unilamellar vesicle, phototherapy, pickering effect.

Нанотрубки галлоїзиту недорогі, біосумісні, нетоксичні і абсолютно доступні. ГНТ можуть значно збільшити час вивільнення АФІ у водне середовище. Результати показують, що АФІ може бути завантажений в просвіт ГНТ 5-20%.

Подальші дослідження в цій галузі повинні бути проведені для виявлення впливу параметрів навантаження на ефективність лікарських засобів.

ГНТ - мінерал, що належить до підгрупи каоліну, що має відносно багатий характер. Це двошаровий (1:1) алюмосилікат, що виявляє ряд морфологій, серед яких: переважаюча форма - порожниста трубчаста структура [1-3].

Розмір нанотрубок ГНТ варіюється від 0,2 до 1 мкм в довжину і від 15 до 100 нм - внутрішній діаметр, залежно від депозиту. Можна використовувати нанотрубки ГНТ для інкапсулювання

низькомолекулярних препаратів для їх подальшої доставки та контрольованого вивільнення. Мінерал демонструє високий рівень біосумісності та дуже низьку цитотоксичність *in vitro*, запропонований як компонент масивів. Зовсім недавно показано, що внаслідок відносно великого діаметра просвіту нанотрубки, також більші молекули, такі як білки, можуть бути захоплені ГНТ. Нанотрубки ГНТ можуть не тільки служити пристроєм для доставки протеїнів, але вони також можуть забезпечити їм необхідний захист проти несприятливих умов (підвищена температура, непридатний рН, протеолітичні ферменти). В якості додаткової переваги - протилежні заряди внутрішня ГНТ (позитивна) і зовнішня поверхня (негативна) дозволяють використовувати електростатичні взаємодії для підвищення ефективності та селективності захоплення білка [4, 5].

Імобілізація декількох різних білків всередині ГНТ була описана зовсім недавно в літературі. Показано, що альбумін бичачої сироватки,  $\alpha$ -лактальбумін та  $\beta$ -лактоглобулін, завантажений у ГНТ демонструють підвищену термостійкість. Автори також спостерігали зміни вторинної структури білків, захоплених всередину ГНТ нанотрубки. Вони також провели дослідження ферментативної активності на іммобілізованих ГНТ ферментах та виявили, що біокаталітична активність іммобілізованих білків, підданих підвищеній температурі, зберігалася довше. Було також показано, що ферменти, захоплені ГНТ показали підвищену активність поза оптимального діапазону рН. Однак, можливе застосування отриманих ферментів-ГНТ систем поки що не пропонувалося [6].

ГНТ є біосумісними і тому підходять для біомедичних застосувань. Через свою неорганічну природу та відсутність біологічного розкладу. Здається застосування ГНТ як компонента місцево застосовуваних ліків, ранозагоювальних матеріалів та тканинних інженерних каркасів може бути добрим рішенням. Одним з найбільш цікавих застосувань ГНТ може бути використання в регенерації кісток. Нанотрубки ГНТ покращують механічні

властивості матеріалів на основі гідрогелю та вводять додаткову мезопористість у риштування. Для підвищення ефективності кістки процес їх може бути біоактивним шляхом включення біологічно активного агента; нанотрубки ГНТ здаються для цього прийнятними [7-9].

Лужна фосфатаза (ЛФФ) застосовується в тканинній інженерії. Це є фермент, пов'язаний з мембраною клітин, який гідролізує неорганічний пірофосфат (інгібітор біомінералізації), даючи неорганічний фосфат, субстрат для утворення гідроксиапатиту. Гідроксиапатит – мінерал, який є основною складовою частиною кісткової тканини, тоді як ЛФФ є одним із ключових білків, що беруть участь у реконструкції кістки.

Мінерали каоліну проявляють фізичну, хімічну та фізико-хімічну характеристики, які роблять їх дуже корисними у багатьох різних застосуваннях. Через стійкість до нагрівання та хімічних речовин (температура плавлення при 1785 °C) та електричної непровідності, каолінит є основною сировиною під час виготовлення оригінальних пористих неглазурованих керамічних виробів (наприклад, цегли, гончарних виробів, свічок з фільтром для води або автомобільних каталізаторів) та непористих міцних глазурованих керамічних виробів (наприклад, білих виробів, білої плитки, електроізолюваного фарфору, вогнетривкого і напівпрозорого кісткового фарфору). Більш того, його білість, яскравість, висока відбивна здатність, хімічна інертність у відносно широкому діапазоні рН 4–9, відносно висока питома вага, м'якість, гідрофобність і висока дисперсність у воді є позитивними експлуатаційними характеристиками. Каолінит утворює суспензії з низькою в'язкістю і високим вмістом твердих речовин, які характеризуються дрібним розміром частинок, високою хімічною чистотою і низькою усадкою [10, 11].

Це важливі технічні властивості для використання каолініту в різних галузях промислового застосування, наприклад як текстильний наповнювач для поліпшення ваги та міцності корпусу тканини, наповнювач і матеріал для поверхневого покриття у паперовій промисловості та у виробництві

каучуку, як армуючий та жорсткий матеріал, що надає міцність, електричний опір, блиск і низьке водопоглинання в пластмасовій промисловості, суспендируючий засіб і білий пігмент як у воді, так і в олійних фарбах, основний хімічний компонент у виробництві білого цементу, носій та розподільувач інсектицидів та пестицидів, добрив, продуктів харчування добавки, суспендууючий засіб у друкарських фарбах, олівцях, осушувачі, при синтезі ультрамарину (тобто, прусський синій порошок, що використовується в живописі, корекції блоніingu жовтуватих плям при пранні білих полотен, в макіяжі (туші або тіні для повік, друку паперової бязі тощо), виготовленні синтетичного цеоліту, як джерело глинозему та діоксиду кремнію, каталізатор при переробці нафти та деякій органічній полімеризації, зневодненні, процесах гідролізу та ізомеризації, зневоднюючий агент у виробництві мила та миючих засобів, наповнювач у виробництві скловолокна, клеїв та герметиків, при виробництві білого бетону тощо.

**Мета:** дослідження модифікування нанотрубок активними фармацевтичними інгредієнтами для біомедичного застосування.

**Матеріал та методи дослідження:**

- одержання функціоналізованих ферментом галлоїзитних нанотрубок;
- фізико-хімічне дослідження наноматеріалів.

В роботі використано ряд сучасних експериментальних методів встановлення фізико-хімічних параметрів, які дозволили отримати результати з високим ступенем достовірності. Елементний аналіз здійснювали рентгенофлуоресцентним методом, морфологію матеріалів вивчали електронною мікроскопією, термічну поведінку встановлювали методом дериватографії, ультрафіолетову спектроскопію використовували для визначення кількісного вмісту молекул в наноматеріалі.

**Результати дослідження.**

Запропоновано застосовувати досліджені наноматеріали як потенційний активний фармацевтичних інгредієнт. Встановлено біологічну

дію наноматеріалу, що впливає на збільшення кісткової маси. Наноматеріали є комерційно доступними, що відкриває перспективи до їх застосування в промислових масштабах.

Нанотрубки ГНТ можуть бути функціоналізовані як на внутрішній, так і зовнішній поверхні, щоб забезпечити селективне внутрішнє/зовнішнє завантаження лікарського засобу з конкретним націлюванням та вивільненням лікарського засобу за часом. Як нові біосумісні нанокапсули, трубки ГНТ мають переваги у складах таблеток, місцевих косметичних мазях, антибактеріальних спреях та біоплатформах. Цей глинистий наноматеріал доступний у тоннах за низькою вартістю, і його можна легко обробити за зеленою технологією; це найбезпечніша з глин і є нетоксичною, як доведено з різними культурами клітин та моделями тварин, від мікрочервів до поросят. Внутрішньовенне введення не рекомендується для ГНТ-препаратів, оскільки вони важко піддаються біологічному розкладанню. Обмежені можливості навантаження ліками та відсутність досліджень на людях є недоліками фармацевтичних рецептур ГНТ.

Можливо здійснювати вибірку клітинну інтерналізацію, продемонстровано ініційоване вивільнення лікарських засобів, що дає змогу застосовувати ГНТ для стратегій протипухлинного лікування. ГНТ стабільні колоїдні дисперсії, що є перспективною особливістю у композиціях на основі субмікронних частинок, стабільних протягом місяців. ГНТ покращили механічну міцність та адгезію кісткових цементів.

Можливо, найближчим часом ГНТ будуть застосовуватися в актуальних косметичних складах, мазях для шкіри, тваринах лікування, протимікробних спреях та традиційних пероральних препаратах.

Природні ГНТ відповідного розміру були модифіковані PSS для покращення його біосумісності. ГНТ з покриттям використовували як наноносій фотосенсибілізатору індоціаніну зеленого у просвіті трубки. В наноматеріалі було виявлено, що наноносій асоціюється з мембранами GUV, ймовірно, за допомогою ефекту Пікерінга та має властивість

ефективно руйнувати мембрани клітин при випромінюванні ІЧ світла. При цьому відбувається прискорене окислення мембрани порівняно з вільним індоціаном зеленим як фотосенсибілізатором. Наноносій було застосовано до клітин раку молочної залози людини, було доведено СЕМ та флуоресцентною мікроскопією специфічне асоціювання з клітинними мембранами. Наноматеріал був додатково модифікований поверхневим покриттям клітинних мембран MDA-MB-436 для підвищення ефективності терапевтичної терапії проти кишачого раку молочної залози. Лікарський засіб, націлений на мембрану, демонстрував високоефективне порушення мембрани *in vitro* та чудовий *in vivo* фототерапевтичний ефект проти раку молочної залози у модельних мишей. Біоміметичний наноносій на основі ГНТ продемонстрував перспективи для мембранної цільової фототерапії. Для опису матеріалів обрали комплекс фізико-хімічних методів рентгенофлуоресцентного аналізу для елементного хімічного аналізу, електронної мікроскопії для визначення розмірів та морфології, дериватографії для встановлення термохімічних властивостей, ультрафіолетової спектроскопія для встановлення вмісту гентаміцину. Природні ГНТ відповідного розміру були модифіковані PSS для покращення його біосумісності і ГНТ з покриттям PSS використовували як наноносій розміщення фотосенсибілізатора ICG у просвіті трубки. У функціоналізованій ГНТ-PSS-ICG було виявлено, що наноносій асоціюється з мембранами GUV, ймовірно, за механізмом ефекту Пікерінга та може ефективно руйнувати мембрани при випромінюванні ІЧ світла (ефект, який був призначений для прискорене окислення мембрани щодо вільної ICG як фотосенсибілізатора). ГНТ-PSS-ICG наноносій було застосовано до клітин раку молочної залози людини. Доведено СЕМ та флуоресцентною мікроскопією специфічне асоціювання з клітинними мембранами. ГНТ-PSS-ICG наноносій був додатково модифікований поверхневим покриттям клітинних мембран MDA-MB-436 для підвищення ефективності терапевтичної терапії кишачого раку молочної залози. Наноносії ГНТ-PSS-

ICG, націлені на мембрану, демонструють високоефективне порушення мембрани *in vitro* та чудовий *in vivo* фототерапевтичний ефект проти раку молочної залози у модельних мишей. Біоміметичний наноносій ICG на основі ГНТ, який є вигідним до завантаження лікарських засобів, продемонстрував перспективність для мембранної цільової фототерапії.

#### Список літератури.

1. Abdel-Khalek, N.A., Selim, K.A., Mohammed, S.E., El-Hendawy, H.H., Elbaz, R.M., 2014. Interaction between kaolinite and *Staphylococcus Gallinarum* bacteria. *J. Min. World Express* 3, 46–52.
2. Agrawal, R., Naveen, Y., 2011. Pharmaceutical processing –a review on wet granulation technology. *IJPF* 1 (1), 65–83.
3. Bonina, F.P., Giannossi, M.L., Medici, L., Puglia, C., Summa, V., Tateo, F., 2007. Adsorption of salicylic acid on bentonite and kaolin and release experiments. *Appl. Clay Sci.* 36 (1–3), 77–85.
4. Bonner, W.A., Flores, J., 1973. On the asymmetric adsorption of phenylalanine enantiomers by kaolin. *Curr. Mod. Biol.* 5, 103–113.
5. Zhai, H., Maibach, H.I., 2007. Protection from irritants. In: In: Schliemann, S., Elsner, P. (Eds.), 2007: *Skin Protection*. *Curr Probl Dermatol.* 34. Karger, Basel, pp. 47–57.
6. Morrison, K.D., Underwood, J.C., Metge, D.W., Eberl, D.D., Williams, L.B., 2014. Mineralogical variables that control the antibacterial effectiveness of a natural clay deposit. *Environ. Geochem. Health* 36, 613–631.
7. Morrison, K.D., Misra, R., Williams, L.B., 2016. Unearthing the antibacterial mechanism of medicinal clay: a geochemical approach to combating antibiotic resistance. *Sci. Rep.* 6, 19043.
8. Ravi, A.D., Saxena, S., Nagpal, D., 2015. A concise understanding of pharmaceutical excipients. *IJPPR Hum.* 3 (3), 122–136.

9. Rebelo, M., Viseras, C., López-Galindo, A., Rocha, F., da Silva, E.F., 2011. Rheological and thermal characterization of peloids made of selected Portuguese geological materials. *Appl. Clay Sci.* 52, 219–227.
10. Premjeet, S., Ajay, B., Sunil, K., Bhawana, K., Sahil, K., Divashish, R., Sudeep, B., 2012. Additives in topical dosage forms. *IJPCBS* 2 (1), 78–96.
11. Onyishi, V.I., Chime, S.A., Adibe, C.V., 2013. Formulation of pyridoxine hydrochloride sustained release capsules: effect of propylene glycol co-solvent on the in vitro release. *Afr. J. Pharm. Pharmacol.* 7 (15), 809–815.