

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ТЕХНОЛОГІЙ ТА
ДИЗАЙНУ

Факультет хімічних та біофармацевтичних технологій
(повне найменування інституту, назва факультету)

Кафедра промислової фармації
(повна назва випускової кафедри)

РЕФЕРАТ

до дипломної магістерської роботи

на тему

«Модифікування нанотрубок як носія активних фармацевтичних
інгредієнтів фототерапії раку»

Виконав: студент групи МгЗХФ-19

спеціальності

266 "Фармація"

(шифр і назва спеціальності)

Білостенна А.Р.

(прізвище та ініціали)

Керівник Бричка С.Я.

(прізвище та ініціали)

Рецензент Сімейко К.

(прізвище та ініціали)

Київ – 20__

Фототерапія привертає все більшу увагу, включаючи використання наноносіїв з високою здатністю завантажувати ліки та ефективність доставки для цільової терапії. Ми використали природні нанотрубки галлоїзиту, щоб побудувати біоміметичну платформу наноносіїв для конкретної цільової доставки фототерапевтичних засобів. ГНТ були модифіковані полі(натрій-стиренсульфонатом) для підвищення біосумісності і надалі функціоналізували пустоти, 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 мембранних наноносіїв.

Актуальність теми.

Нанотрубки галлоїзиту недорогі, біосумісні, нетоксичні і абсолютно доступні. ГНТ можуть значно збільшити час вивільнення АФІ у водному середовищі. 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 двошарове (1:1) алюмосилікат, що виявляє ряд морфологій, серед яких: переважаюча форма - порожниста трубчаста структура. Розмір нанотрубок ГНТ варіюється від 0,2 до 1 мкм в довжину і від 15 до 100 нм в внутрішній діаметр, залежно від депозиту. Можна використовувати нанотрубки ГНТ інкапсулювати низькомолекулярні препарати для їх подальшої доставки та контрольованого вивільнення. Мінерал демонструє високий рівень біосумісності та дуже низька 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 протеїни, 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.

Імобілізація декількох різних білків всередині ГНТ була описаний зовсім недавно в літературі. Показано альбумін бичачої сироватки, α -лактальбумін та β -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 іммобілізовані білки, піддані підвищеній температурі, зберігалися 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.

ГНТ є біосумісним і тому підходить 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 бути кращим. Одним з найбільш цікавих застосувань ГНТ може бути 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 активний агент та нанотрубки ГНТ здаються для цього призначення.

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 є основною складовою частиною кісткової тканини, тоді як ЛФФ є одним із ключові білки, що беруть участь у реконструкції кістки. Поки що там були різні спроби ввести ЛФФ в риштування, але їх результати, хоча й позитивні, були не повністю задовільними.

Мета роботи:

Мета роботи – це створення активних фізіологічних інградієнтів для біомедичного застосування.

Завдання роботи:

- одержання функціоналізованих ферментом галлоїзитних нанотрубок
- фізико-хімічне дослідження наноматеріалів
- встановлення ферментативних властивостей наноматеріалу активного фізіологічного інградієнту.

Методи дослідження:

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

засвідчували електронною мікроскопією, термічну поведінку встановлювали методом дериватографії, ультрафіолетову спектроскопію для визначення кількісного вмісту молекул.

За даними Фармакопеї США 32, британ Pharmacopeia BP 2009 & 2012 (том I та II) та європейський Pharmacopeia PhEur 6.3 (монографія 0503) & 7.0 Том 2, каолін є описується як природний гідратований силікат алюмінію, порошкоподібний та звільнений з піщаних частинок шляхом елюювання. Британська фармакопея розділила фармацевтичні сорти - легкі, легкі природні та важкі каоліни. Вони вважали, що легкий каолін містить відповідний диспергуючий агент, тоді як легкий каолін (натуральний) не містить диспергуючого агента.

Для того, щоб забезпечити придатність мінеральних речовин каоліну як фармацевтичних продуктів, вони повинні відповідати деяким вимогам, зазначеним у основні фармакопеї (європейська, британська, американська та японська) щодо їх мінералогії, кольору, органічних домішок, величині адсорбції, потужність набухання, речовини, розчинні у мінеральних кислотах, втрати на займання, хімічний склад (особливо хлориди, сульфати, залізо, кальцій та важкі метали) та мікробне забруднення. Довідники з фармацевтичні допоміжні речовини посилається на інші технічні властивості, якими повинні володіти каоліни, включаючи розмір частинок розподіл, виражений як середній розмір, динамічна в'язкість, білизна, кислотність або лужність, показник заломлення, рівноважний вміст води та питома вага.

Модернізація каоліну коштує дорого і технічно контролюється мінеральний склад (багатство каолініту або галлоїзиту та типи та кількості глинистої та неглинистої фаз). Таким чином, вибір процес збагачення повинен бути безпосередньо пов'язаний з фізичними та хімічними відмінностями, що існують серед виявлених видів мінералів, тобто розмір частинок, питома вага та/або магнітна сприйнятливість. Зазвичай обробку каоліну краще проводити у вологому стані, де сирий каолін сильно подрібнюється для досягнення розміру, необхідного для частинки каоліну фармацевтичного класу. Каолінова кашка готує механічне притуплення 35–70% каоліно-водної суспензії для частинок дезагрегація з хімічним диспергатором (наприклад, гексаметафосфат натрію, силікат натрію, тетранатрію поліфосфат та поліакрилат натрію, 0,75%) залежно від сухого каоліну, доданого для збереження флокуляції частинок та запобігання їх агломерації через збільшення негативного заряду на мінеральних поверхнях, а отже, збільшення відштовхування частинок. рН доводять до діапазону від 6,5 до 7,0 з використанням 0,25% карбонату натрію для індукції негативного заряду на обох краї та грані частинок каолініту. Потім суспензія піддаються процесам десорбції та знерукування для видалення шляхом просіювання зерна піску, присутні зазвичай у первинному каоліні, та піщисті частинки мінеральних домішок (> 44 мкм), які поширені в осадових каолінах, зокрема кварці, слюді, польових шпатах і титані оксидні мінерали (наприклад, анатаз, брукіт, рутил, ільменіт, гетит, гематит та магнетит). Крім того, більш грубі частинки каолініту розміром з мул необхідно повторно подрібнити та відновити .

Другий розділ присвячено опису технологій та методик синтезу матеріалів, методів дослідження одержаних зразків та встановленню властивостей.

Для опису матеріалів обрали комплекс фізико-хімічних методів рентгенофлуоресцентна для елементного хімічного аналізу, електронна мікроскопія для визначення розмірів та морфології, дериватографія для встановлення термохімічних властивостей, ультрафіолетова спектроскопія для встановлення вмісту гентаміцину.

Терапія ракових клітин залежить від відповідного фотосенсибілізатора та ефективного конкретного носія. Фотосенсибілізатор повинен активуватися інфрачервоним світлом, яке може проникати всередину біологічні тканини, а носій повинен бути нетоксичним і біосумісним. У цій роботі розроблено та випробувано наноносій ICG (i) синтез ГНТ-ICG наноносія, (ii) тестування ефективності наноносія/фотосенсибілізатора *in vitro*, (iii) тестування на токсичність та біосумісність наноносія/фотосенсибілізатора та (iv) тестування на фотодинамічний та фототермічний вплив наноносія/фотосенсибілізатора на ракові клітини мишей.

Отриманні результати : Наукова новизна та практичне значення отриманих результатів. Запропоновано застосовувати наноматеріали як активний фізіологічний інградієнт. Встановлено ферментативну дію наноматеріалу, що збільшує накопичення кісткової маси. Наноматеріали є комерційно доступними, що відкриває перспективи до їх застосування в промислових масштабах

Висновки:

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 новий біосумісний нанокапсули, трубки ГНТ мають переваги у складах таблеток, місцевих косметичних мазях, антибактеріальних спреї та біоплатформи. Можливість здійснювати вибірккову клітинну інтерналізацію і продемонстровано ініційоване вивільнення лікарських засобів, що дає змогу приймати ГНТ для стратегій протипухлинного лікування. ГНТ стабільні як колоїдна дисперсія, що є перспективною особливістю у композиціях на основі субмікронних частинок, стабільних протягом місяців. ГНТ покращили механічну міцність та адгезію кісткових цементів.

Цей глинистий наноматеріал доступний у тоннах за низькою вартістю, і його можна легко обробити після водної, зелена технологія; це найбезпечніша з глин і є нетоксичним до дуже високої концентрації 5 мг/мл, як доведено з різними культурами клітин та моделями тварин, від мікрочервів до поросят. Внутрішньовенне введення немає рекомендується для прийому ГНТ-препаратів, оскільки він не легко піддається біологічному розкладанню. Обмежені можливості навантаження ліками та відсутність досліджень на людях є недоліками фармацевтичних рецептур ГНТ. Ми думаю, що найближчим часом ГНТ будуть застосовуватися в актуальних косметичних складах, мазях для шкіри, тваринах лікування, протимікробні спреї та традиційні пероральні препарати.

Природні ГНТ відповідного розміру були модифіковані PSS для покращення його біосумісності. ГНТ з покриттям використовували як наноносій фотосенсибілізатору індоціанін зелений у просвіті трубки.

В наноматеріалі було виявлено, що наноносій асоціюється з мембранами GUV, ймовірно, за допомогою ефекту Пікерінга та ефективно руйнувати мембрани при випромінюванні ІЧ світла. Відбувалося 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 мишачого раку молочної залози. Лікарський засіб націлений на мембрану демонстрували 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.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

- [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. *IJPFR* 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.
- [12] Otto, C.C., Haydel, S.E., 2013. Microbicidal clays: composition, activity, mechanism of action, and therapeutic applications. In: Méndez-Vilas, A. (Ed.), *Microbial Pathogens and Strategies for Combating Them: Science, Technology and Education.* Formatex Research Center, Badajoz, Spain, pp. 1169–1180.