

УДК 577 : 541.124 : 544.77 : 544.723.2

НАНОРАЗМЕРНАЯ ПЛАТФОРМА НА ОСНОВЕ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ В ОНКОЛОГИИ

© 2024 г. А. В. Бычкова^{1*}, А. А. Маркова¹, М. Т. Нгуен¹,
М. А. Градова², М. Г. Горобец¹, М. В. Мотякин¹,
М. И. Абдуллина¹, А. В. Торопцева¹, В. А. Кузьмин¹

¹Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук, Москва, Россия

²Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семёнова
Российской академии наук, Москва, Россия

*E-mail: anna.v.bychkova@gmail.com

Поступила в редакцию 26.03.2024;
после доработки 24.04.2024;
принята в печать 20.05.2024

Синтезированы гибридные наносистемы на основе магнитных наночастиц оксидов железа (НЧОЖ) и человеческого сывороточного альбумина (ЧСА). Полученные наносистемы ЧСА@НЧОЖ были охарактеризованы по размеру и составу с помощью спектрофотометрии УФ-видимой области (в частности, с использованием метода Брэдфорда), динамического светорассеяния и электронного магнитного резонанса. Выполнено исследование темновой и фотоиндуцированной цитотоксичности данных систем с использованием метиленового синего как модельного фотосенсибилизатора. Проведенный анализ выживаемости культивируемых опухолевых клеток линии MCF-7 аденокарциномы молочной железы человека показал увеличение фотоиндуцированной цитотоксичности при возбуждении фотосенсибилизатора, накопленного клетками при доставке наносистемами, по сравнению со свободным фотосенсибилизатором в эквивалентных концентрациях. Обсуждается применение наносистем ЧСА@НЧОЖ в качестве перспективной платформы для направленной доставки фотосенсибилизатора в опухолевые клетки.

Ключевые слова: человеческий сывороточный альбумин, наночастицы оксидов железа, магнитные наночастицы, фотодинамическая терапия, гибридные наносистемы, метиленовый синий, клеточная линия MCF-7.

DOI: 10.31857/S0207401X24110134

1. ВВЕДЕНИЕ

Гибридные наносистемы на основе магнитных наночастиц (МНЧ), в том числе наночастиц оксидов железа и/или сывороточного альбумина, активно исследуются для целей современной терапии. Наночастицы с биосовместимыми функциональными покрытиями, в частности из сывороточного альбумина, синтезируются и исследуются для диагностики различных заболеваний, в первую очередь онкологических, а также в качестве платформ для доставки терапевтических веществ в клетки-мишени [1–16]. Магнитные наночастицы в составе наносистем влияют на контрастность при визуализации опухолей, могут аккумулироваться (в том числе за счет своих магнитных свойств) в целевой области и обеспечивают локальный нагрев под действием СВЧ, а

сывороточный альбумин способствует повышению биосовместимости и увеличению длительности нахождения нагруженных препаратом наносистем в организме для достижения достаточной дозы препарата в биологической мишени.

На рис. 1 представлено изменение числа публикаций по годам в базе PubMed с 1996 года по наночастицам оксидов железа, являющихся объектом нашего интереса, и/или сывороточному альбумину. Как видно из этого рисунка, несмотря на значительное количество исследований в области интересующих нас наночастиц (рис. 1, заштрихованные столбцы) и исследований, посвященных одновременно наночастицам и сывороточному альбумину (рис. 1, белые столбцы), количество работ, посвященных одновременно использованию наночастиц оксидов железа и

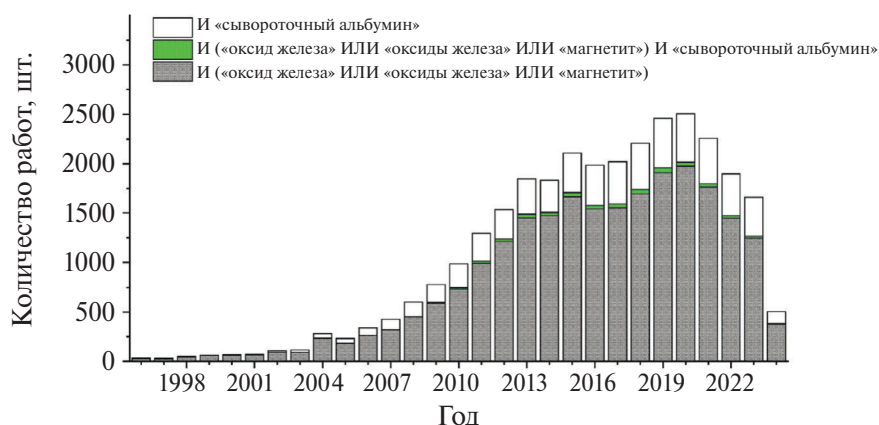


Рис. 1. Количество публикаций в базе данных PubMed по годам, по ключевому слову “наночастицы” (“nanoparticles”) и дополнительным ключевым словам, указанным на рисунке: “сывороточный альбумин” (“serum albumin”), “оксид железа” (“iron oxide”), “оксиды железа” (“iron oxides”), “магнетит” (“magnetite”).

сывороточного альбумина, относительно невелико. Стоит отметить, что такие исследования могут быть посвящены не только синтезу гибридных наносистем на основе МНЧ и альбумина, но и исследованию формирования белковой короны на наноразмерных материалах, в состав которой входит сывороточный альбумин как наиболее представленный белок плазмы крови [17–19].

В настоящее время интенсивно проводятся исследования, направленные на использование магнитных наночастиц в качестве средств доставки фотосенсибилизаторов (ФС) для фотодинамической терапии (ФДТ) [13, 20–23]. В большинстве случаев ФС ковалентно связывают с поверхностью доставляющих его наночастиц [24–27], тем самым обеспечивая высокую стабильность полученных гибридных наносистем. Однако в последнее время подходам к нековалентной функционализации МНЧ стали уделять большее внимание, поскольку нековалентное связывание позволяет гибко управлять процессом доставки фотосенсибилизатора к клеточным мишеням в соответствии с константами связывания с ними и с носителем, стабильностью наносистем при изменениях pH и температуры или других воздействиях окружающей среды. Используя специальные платформы доставки, можно доставить фотосенсибилизатор в большее количество клеточных компартментов, обеспечив более масштабные повреждения опухолевой клетки при ФДТ [28–33]. Так, некоторые гидрофобные и заряженные ФС эффективно связываются с альбумином [34–38], что позволяет использовать покрытые альбу-

мином МНЧ для иммобилизации ФС на их поверхности. В литературе описано увеличение эффективности доставки фотоактивной молекулы для тераностики в опухолевые клетки и ткани с помощью магнитных наночастиц и сывороточного альбумина за счет принципа направленной доставки красителей в клетку на примере как коммерчески доступного цианинового красителя IR-780 для фотовизуализации опухолевых клеток [39], так и новых синтезированных бактериохлоринов и фталоцианинов с последующей ФДТ [28, 40, 41]. Повышение эффективности доставки красителя с помощью таких систем по сравнению с его свободной формой зависит от выбора конкретного состава и технологии получения наноразмерной композиции. В настоящей работе в качестве модельной системы впервые описано применение для ФДТ *in vitro* иммобилизации известного катионного фотосенсибилизатора метиленового синего (МС) на поверхность покрытых альбумином магнитных наночастиц оксидов железа с отрицательным поверхностным зарядом.

Метиленовый синий является широко изученным и коммерчески доступным ФС с отличными фотохимическими и фотофизическими свойствами для фотодинамической терапии опухолевых клеток за счет высокой квантовой эффективности выхода синглетного кислорода и интенсивного поглощения света в красной области спектра, соответствующей наибольшей проницаемости биологических тканей [42]. В исследованиях *in vitro*, *in vivo* и в клинической практике МС проявлял себя как эффективный и безопасный ФС для ФДТ, вызывая селективную гибель опухоле-

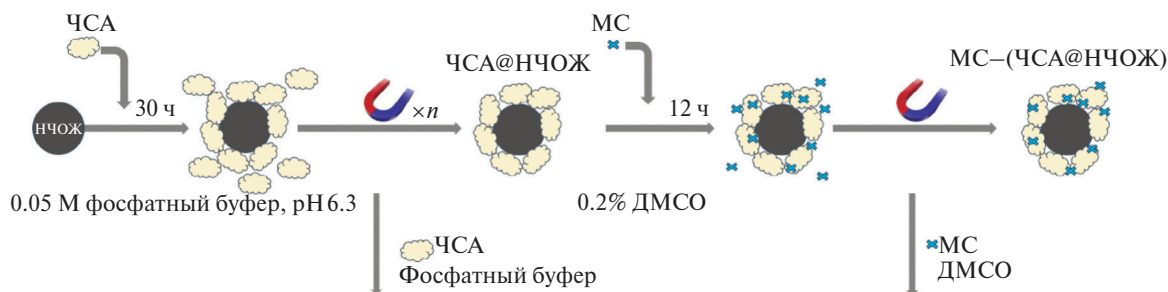


Рис. 2. Схематическое отображение стадий подготовки образцов гибридных наносистем MC-(ЧСА@НЧОЖ): получение наночастиц в альбуминовом покрытии и нековалентное связывание наночастиц с метиленовым синим.

вых, но не здоровых клеток [42, 43]. Метиленовый синий вводили в составе различных наносистем, включая частицы мезопористого диоксида кремния, покрытые бычьим сывороточным альбумином (БСА) [44], и наночастицы оксидов железа (НЧОЖ), покрытые оболочкой из диоксида кремния [45–47]. В зависимости от структуры и компонентов наносистем на основе НЧОЖ фотохимические свойства МС могут изменяться, приводя к усилению [47], ослаблению [45] или аналогичной способности к генерации синглетного кислорода [46]. Цели настоящей работы — синтез и определение свойств гибридной наносистемы на основе НЧОЖ, покрытых человеческим сывороточным альбумином (ЧСА) и функционализированных МС. На наш взгляд, отрицательный заряд молекул ЧСА и поверхности НЧОЖ должен способствовать нековалентному связыванию положительно заряженной молекулы МС с формированием фотоактивной гибридной наносистемы MC-(ЧСА@НЧОЖ), и такой подход может быть перспективен при разработке фотоактивных гибридных наноразмерных носителей в ФДТ.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Получение наносистемы ЧСА@НЧОЖ

Магнитные НЧОЖ были синтезированы методом соосаждения и электростатически стабилизированы 0.1 М фосфатно-цитратным буфером (0.05 М NaCl) с pH 4.3, как описано в предыдущих исследованиях [12,43]. Гидрозо́ль НЧОЖ хранили в герметично закрытой посуде. Для приготовления образцов гидрозо́ль НЧОЖ разбавляли в 20 раз в 0.05 М фосфатном буфере с pH 6.3 и инкубировали на магнитах Nd–Fe–B для удаления наиболее крупных частиц, после чего к НЧОЖ с концентрацией 0.4 мг/мл в буфере при перемешивании на приборе Vortex V-1 plus производства

компании Biosan (Latvia) добавляли водный раствор ЧСА (каталожный номер A1653, Sigma-Aldrich(USA)) в количестве 10 об.% до конечной концентрации 3 мг/мл и инкубировали смесь в течение 30 ч при температуре 25 °C на ротаторе Multi Bio RS-24 (Biosan, Latvia). После инкубации для отделения буфера и несвязавшегося с НЧОЖ белка использовали процедуру магнитной сепарации. Вода для инъекций с 5 мМ NaCl была использована в качестве дисперсионной среды для наночастиц ЧСА@НЧОЖ (рис. 2). Удаление избытка белка подтверждали и количество белка на поверхности НЧОЖ оценивали с применением метода Бредфорда, как было описано ранее [6]. Спектры в УФ- и видимой области регистрировали на планшетном спектрофотометре SPECTROstar Nano производства компании BMG (Germany) в 96-луночном планшете фирмы Greiner. Устойчивость покрытия из ЧСА на НЧОЖ подтверждали в соответствии с методикой, описанной ранее [6, 48, 49], с применением раствора иммуноглобулина G производства НПО “Микроген” (Россия). Данные о размере частиц в образцах на различных стадиях приготовления определяли с использованием динамического светорассеяния на оборудовании Zetasizer Nano-ZS производства компании Malvern (Great Britain) при температуре 25 °C. Метод электронного магнитного резонанса (ЭМР) был использован для оценки концентрации НЧОЖ в различных образцах в сравнении с эталоном с известной концентрацией МНЧ. Сигналы ЭМР образцов регистрировали на спектрометре EMX-8/2.7 X-диапазона производства компании Bruker (Germany). Математическую обработку спектров ЭМР проводили с применением программного обеспечения WINEPR и SimFonia фирмы Bruker (Germany).

Приготовление наносистемы МС–(ЧСА@НЧОЖ)

Метиленовый синий растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО) для приготовления раствора с концентрацией $5 \cdot 10^{-3}$ М. Затем 1 мкл этого раствора добавляли к 500 мкл коллоидного раствора ЧСА@НЧОЖ и смесь инкубировали при комнатной температуре в течение 12 ч. После этого дисперсии МС–(ЧСА@НЧОЖ) и контрольного образца (т.е. образца без МС) были получены методом магнитной сепарации частиц для удаления несвязанного МС и редиспергированием выделенных частиц в воде для инъекций (рис. 2).

Эффективность инкапсуляции (ЕЕ, %) и загрузочная способность (LC, %) полученных наночастиц рассчитывались по следующим формулам:

$$ЕЕ = [(A_{input} - A_{supernatant}) \div A_{input}] \cdot 100\%,$$

$$LC = ЕЕ \times (m_{input} \div m_{IONPs}),$$

где A_{input} — оптическая плотность МС во введенной концентрации, $A_{supernatant}$ — оптическая плотность МС в надосадочном растворе после магнитной сепарации (рис. 3), m_{input} — масса добавленного к наночастицам МС, m_{IONPs} — масса наночастиц оксидов железа. Оптическая плотность растворов МС была измерена при длине волны $\lambda = 660$ нм на спектрофотометре UV3101RS производства компании Shimadzu (Japan).

Культивируемые клеточные линии

Для экспериментов использована клеточная линия человека MCF-7 (аденокарцинома молочной железы), протестированная в American Type Culture Collection (USA). Клетки MCF-7 культивировали в среде DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium). В культуральную среду добавляли следующие компоненты до конечных концентраций: 5%-ной эмбриональной телячьей сыворотки, 2 мМ L-глутамина, 100 ЕД/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина (среды и добавки производства компании ПанЭко, Россия). Инкубацию проводили при 37 °С 5%-ной CO_2 в увлажненной атмосфере. В экспериментах использована культура в логарифмической фазе роста. Для профилактики микоплазменного заражения использовался препарат Мусокилл (GE, USA). Перед началом экспериментов проводили не менее трех пассажей на свободной от антимикоплазменного препарата среде.

Оптическая плотность

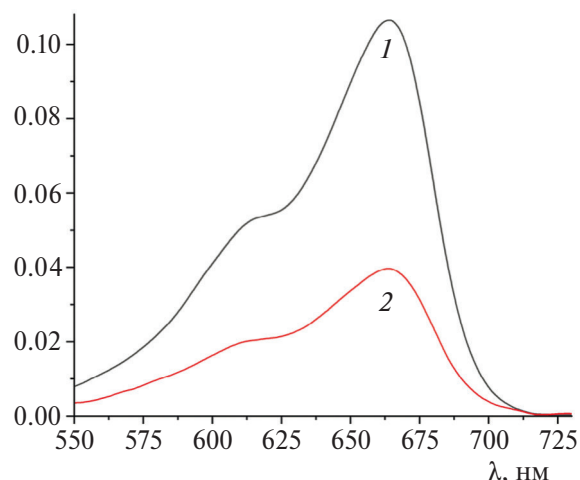


Рис. 3. Спектры поглощения метиленового синего в воде (1) и в надосадочном растворе после магнитной сепарации МС–(ЧСА@НЧОЖ) (2).

Исследование цитотоксичности синтезированных НЧОЖ

Клетки аденокарциномы молочной железы человека MCF-7 в 96-луночных планшетах марки Nunc (Denmark) в количестве 5000 клеток в 190 мкл клеточной среды были обработаны 20 мкл ЧСА@НЧОЖ и МС–(ЧСА@НЧОЖ) с конечной концентрацией МС $6 \cdot 10^{-7}$ М в течение 3 ч при 37 °С. В качестве контрольного раствора фотосенсибилизатора был использован водный раствор МС, добавленный в клеточную среду в эквивалентной концентрации. В конце инкубации клеточную среду убирали и заменяли на 200 мкл новой порции культуральной среды. Для исследования фотоиндуцированной цитотоксичности клетки были облучены лазером с $\lambda = 660$ нм (АФС Полироник, Москва, Россия) с плотностью мощности облучения 21 мВт/см² до конечной дозы облучения в 120 Дж/см² и инкубированы дополнительно в течение 24 ч при 37 °С.

Затем 20 мкл раствора МТТ с концентрацией 5 мг/мл, ПанЭко, Россия вносили в каждую лунку и инкубировали 1 ч при 37 °С. По окончании инкубации культуральную среду отбирали и добавляли 100 мкл ДМСО для солиubilизации формазана. Оптическую плотность растворов формазана измеряли при длине волны $\lambda = 540$ нм на микропланшетном спектрофотометре MultiscanFC (ThermoScientific, USA). Выживаемость клеток A рассчитывали как $A_{expt}/A_{control} \cdot 100\%$. Результаты приведены как среднеарифметическое значение

$\pm$ стандартное отклонение по трем независимым экспериментам.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Характеристика полученных гибридных наночастиц

Средние гидродинамические диаметры частиц, вносящих максимальный вклад в численные распределения частиц по размеру составляют $\sim (33 \pm 2)$ нм для НЧОЖ без покрытия и $\sim (52 \pm 5)$ нм для ЧСА@НЧОЖ. Толщина белкового покрытия на НЧОЖ, рассчитанная по средним гидродинамическим диаметрам частиц (при условии, что покрытие формируется на НЧОЖ, не вызывая их дополнительной агрегации), составляет ~ 10 нм (рис. 4).

Согласно оценке методами Бредфорда и ЭМР, в результате 30-часовой инкубации с поверхностью 1 мг НЧОЖ исходно связывается ~ 530 мкг ЧСА. Затем, в результате смены дисперсионной среды при неоднократном редиспергировании, происходит снижение детектируемого количества ЧСА до ~ 110 мкг на 1 мг НЧОЖ, что может объясняться частичной десорбцией ЧСА с поверхности НЧОЖ в процессе приготовления гибридных наносистем. Концентрация НЧОЖ в образце ЧСА@НЧОЖ составляла около 340 мкг/мл.

Исследование темновой и фотоиндуцированной цитотоксичности гибридных наносистем

Для исследования возможности гибридных наносистем доставлять ФС в клетки *in vitro* мы выбрали известный фотосенсибилизатор — метиленовый синий с высоким квантовым выходом синглетного кислорода ($\Phi_{\Delta} = 0.50$ в воде [50]). Катионная природа МС позволяет ввести его в покрытые альбумином наночастицы, обладающие отрицательным зарядом [51], поскольку большую роль в связывании (в частности, в случае МС и ЧСА) играют электростатические взаимодействия [52, 53]. Возможность введения метиленового синего в качестве модельного ФС также обусловлена его способностью связываться с ЧСА в сайтах I (субдомен IIA) и II (субдомен IIIA) [54, 55] с константой связывания $(4 \div 5) \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$ [52, 54, 55], что сопоставимо с константами связывания для перспективных классов гидрофобных ФС — бискарбоцианинов, BODIPY, фталоцианинов [34–36]. Реакцию связывания МС с гибридными

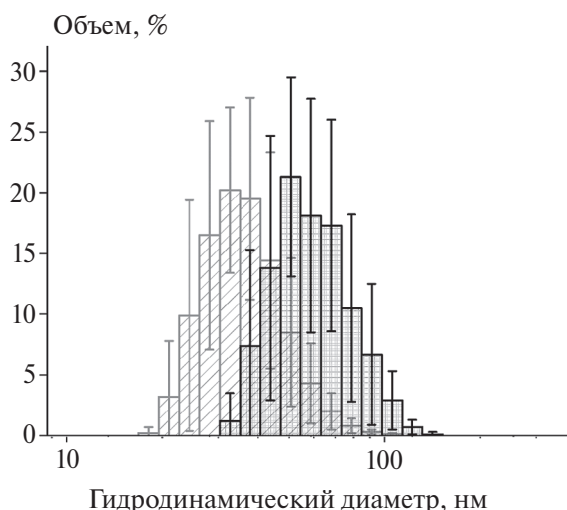


Рис. 4. Объемные распределения частиц по размеру, полученные методом динамического светорассеяния в контрольном образце НЧОЖ (слева) и опытном образце ЧСА@НЧОЖ (справа).

наночастицами ЧСА@НЧОЖ мы проводили по модифицированной методике [56] с использованием магнитной сепарации. Согласно расчетам синтезированные частицы содержали (5.8 ± 0.6) мкг МС на 1 мг НЧОЖ (ЕЕ составляет $(61.5 \pm 1.5)\%$, LC — $(0.58 \pm 0.06)\%$) или около 11 молекул МС на 1 молекулу ЧСА гибридной системы, что в 10 раз превышает известные из литературы данные по количеству сайтов связывания МС с ЧСА при комнатной температуре [52, 55]. Это может свидетельствовать о значительном вкладе электростатического взаимодействия в связывание МС с белковой оболочкой МНЧ.

Мы анализировали темновую и фотоиндуцированную цитотоксичность гибридных наночастиц с нековалентно связанным метиленовым синим после их накопления клетками линии MCF-7 в течение 3 ч с дальнейшей заменой клеточной среды и последующим фотовозбуждением остаточного внутриклеточного фотосенсибилизатора. По результатам МТТ-теста выявлено, что синтезированные наносистемы не обладают темновой цитотоксичностью на клетках MCF-7 (рис. 5). Наносистема МС–(ЧСА@НЧОЖ) и МС в равной степени повреждали клетки MCF-7, тем самым подтверждая возможность введения фотосенсибилизатора в гибридную наносистему для ФДТ. Было обнаружено увеличение фотоиндуцированной цитотоксичности при возбуждении фотосенсибилизатора, связанного с наносистемами, по сравнению со свободным фотосенсибилизатором.

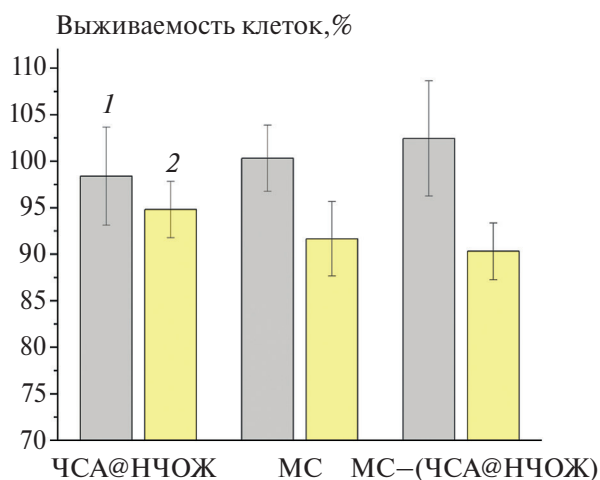


Рис. 5. Темновая (1) и фотоиндуцированная цитотоксичность (2) ЧСА@НЧОЖ, МС-(ЧСА@НЧОЖ) и МС на клетках MCF-7.

тором в эквивалентных концентрациях (см. рис. 5).

В клеточных экспериментах наносистема МС-(ЧСА@НЧОЖ) вызывала аналогичную свободному МС гибель опухолевых клеток при облучении лазером с $\lambda = 660$ нм. Последнее говорит о том, что фотосенсибилизатор эффективно поглощал свет при данной длине волны, так как связался с белковым покрытием и не находился в агрегированных формах, которые наблюдались при синтезе МНЧ без белкового покрытия [45, 46] и на спектре поглощения которых наблюдается существенный гипсохромный сдвиг. Таким образом, полученные результаты подтверждают возможность введения фотосенсибилизатора в гибридную наносистему ЧСА@НЧОЖ и использования ее в ФДТ.

4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предложена технология синтеза гибридных наносистем на основе магнитных наночастиц оксидов железа с альбуминовым покрытием для направленной доставки ФС к опухолевым клеткам. Состав гибридных наносистем был охарактеризован физико-химическими методами, такими как спектрофотометрия УФ-видимой области, динамическое светорассеяние, электронный магнитный резонанс. Показано, что использование белкового покрытия на магнитных наночастицах оксидов железа обеспечивает эффективное связывание молекул фотоактивного соединения с гибридными наночастицами. Пред-

ложенный подход прямого нековалентного связывания требует значительно меньше времени и реагентов по сравнению с ковалентной пришивкой флуорофоров на поверхность наночастиц, а мягкие условия реакции не позволяют молекулам ФС разрушаться под воздействием агрессивных реагентов. В эксперименте на опухолевых клетках линии MCF-7 показано, что за короткое время инкубации магнитные наночастицы способны доставить в клетки модельный фотосенсибилизатор, что ослабляет темновую цитотоксичность таких систем и дает возможность сохранить и несколько увеличить эффективность ФДТ по сравнению со свободным ФС. Полученные данные позволяют применить технологию нековалентного связывания подобных наносистем с другими фотосенсибилизаторами, обладающими сниженной биодоступностью, для более эффективной их доставки в клетки-мишени для реализации ФДТ и рассматривать синтезированные гибридные наносистемы в качестве перспективных наноразмерных платформ для фотодинамической терапии в онкологии.

Работа по синтезу гибридных наносистем и их физико-химическому анализу была проведена за счет гранта Российского Научного Фонда (РНФ) № 22-75-10150 (<https://rscf.ru/project/22-75-10150/>).

Определение размеров гибридных систем и регистрация спектров ЭМР, получение спектральных характеристик и анализ цитотоксичности *in vitro* были осуществлены с использованием оборудования ЦКП “Новые материалы и технологии” ИБХФ РАН (проекты №№ 122041400114-2, №122041300210-2, №122041300207-2).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Aires A., Ocampo S.M., Cabrera D. et al. // J. Mater. Chem. B. 2015. V. 3. № 30. P. 6239.
2. Thao L.Q., Byeon H.J., Lee C. et al. // Pharm. Res. 2016. V. 33. № 3. P. 615.
3. Nosrati H., Salehiabar M., Manjili H.K. et al. // Intern. J. Biol. Macromol. 2018. V. 108. P. 909.
4. Chubarov A.S. // Magnetochemistry. 2022. V. 8. № 2. P. 13.
5. Israel L.L., Galstyan A., Holler E. et al. // J. Control. Release. 2020. V. 320. P. 45.
6. Bychkova A.V., Yakunina M.N., Lopukhova M.V. et al. // Pharmaceutics. 2022. V. 14. № 12. P. 2771.
7. Vismara E., Bongio C., Coletti A. et al. // Molecules. 2017. V. 22. № 7. P. 1030.

8. *Estelrich J., Busquets M.* // Ibid. 2018. V. 23. № 7. P. 1567.
9. *Pominova D.V., Romanishkin I.D., Plotnikova E.A. et al.* // Biomed. Photonics. 2021. V. 10. № 4. P. 44.
10. *Baki A., Remmo A., Löwa N. et al.* // Intern. J. Mol. Sci. 2021. V. 22. № 12. P. 6235.
11. *Tao C., Zheng Q., An L. et al.* // Nanomaterials. 2019. Vol. 9. № 2. P. 170.
12. *Tzameret A., Ketter-Katz H., Edelshtain V. et al.* // J. Nanobiotechnol. 2019. V. 17. № 1. P. 3.
13. *Liang X., Chen M., Bhattarai P. et al.* // ACS Nano. 2021. V. 15. № 12. P. 20164.
14. *Sleep D.* // Expert Opin. Drug Deliv. 2015. V. 12. № 5. P. 793.
15. *Шуршина А.С., Галина А.Р., Кулиш Е.И.* // Хим. физика. 2022. Т. 41. № 4. С. 63; doi: 10.31857/S0207401X22040082
16. *Колыванова М.А., Климович М.А., Дементьева О.В. и др.* // Хим. физика. 2023. Т. 42. № 1. С. 64; doi: 10.31857/S0207401X23010065
17. *Li H., Wang Y., Tang Q. et al.* // Acta Biomater. 2021. V. 129. P. 57.
18. *Baimanov D., Wang J., Zhang J. et al.* // Nat. Commun. 2022. V. 13. № 1. P. 5389.
19. *Pederzoli F., Tosi G., Vandelli M.A. et al.* // Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotechnol. 2017. V. 9. № 6. P. 1.
20. *Seabra A.B.* // Metal Nanoparticles in Pharma. Cham: Springer International Publishing, 2017. P. 3.
21. *Naftuijman M., Revuri V., Nurunnabi M., et al.* // Chem. Commun. 2015. V. 51. № 26. P. 5687.
22. *Amirshaghagh A., Yan L., Miller J. et al.* // Sci. Rep. 2019. V. 9. № 1. P. 2613.
23. *Yao H., Zhou J.-Y.* // Front. Bioeng. Biotechnol. 2023. V. 11. P. 1248283.
24. *Henriques C.A., Pinto S.M.A., Pina J. et al.* // Dalt. Trans. 2016. V. 45. № 41. P. 16211.
25. *Thandu M., Rapozzi V., Xodo L. et al.* // Chempluschem. 2014. V. 79. № 1. P. 90.
26. *Nowostawska M., Corr S.A., Byrne S.J. et al.* // J. Nanobiotechnol. 2011. V. 9. № 1. P. 13.
27. *Mbakidi J.-P., Brégier F., Ouk T.-S. et al.* // Chempluschem. 2015. V. 80. № 9. P. 1416.
28. *Ostroverkhov P., Semkina A., Naumenko V. et al.* // Pharmaceutics. 2018. V. 10. № 4. P. 284.
29. *Suvorov N. V., Grin M.A., Popkov A.M. et al.* // Macroheterocycles. 2016. V. 9. № 2. P. 175.
30. *Ashkbar A., Rezaei F., Attari F. et al.* // Sci. Rep. 2020. V. 10. № 1. P. 21206.
31. *Deng Z., Qiao G., Ma L. et al.* // ACS Appl. Nano Mater. 2021. V. 4. № 12. P. 13523.
32. *Kwon N., Kim H., Li X. et al.* // Chem. Sci. 2021. V. 12. № 21. P. 7248.
33. *Климович М.А., Сажина Н.Н., Радченко А.Ш., и др.* // Хим. физика. 2021. Т. 40. № 2. P. 33; doi: 10.31857/S0207401X21020084
34. *Kostyukov A.A., Mestergazi M.G., Egorov A.E. et al.* // Dye. Pigment. 2023. V. 210. P. 111043.
35. *Бурцев И.Д., Егоров А.Е., Костюков А.А. и др.* // Хим. физика. 2022. Т. 41. № 2. С. 41; doi: 10.31857/S0207401X22020029
36. *Zaitsev A. V., Kononova E.G., Markova A.A. et al.* // Dye. Pigment. 2022. V. 207. P. 110711.
37. *Luo J., Miao Z., Huang X. et al.* // Front. Bioeng. Biotechnol. 2023. V. 11. P. 1132591.
38. *Татиколов А.С.* // Хим. физика. 2021. Т. 40. № 2. С. 11; doi: 10.31857/S0207401X21020163
39. *Capistrano G., Sousa-Junior A.A., Silva R.A. et al.* // ACS Biomater. Sci. Eng. 2020. V. 6. № 8. P. 4523.
40. *Ostroverkhov P. V., Semkina A.S., Naumenko V.A. et al.* // J. Colloid Interface Sci. 2019. V. 537. P. 132.
41. *Simioni A.R., Rodrigues M.M.A., Primo F.L., et al.* // J. Nanosci. Nanotechnol. 2011. V. 11. № 4. P. 3604.
42. *Tardivo J.P., Del Giglio A., de Oliveira C.S. et al.* // Photodiagnosis Photodyn. Ther. 2005. V. 2. № 3. P. 175.
43. *dos Santos A.F., Terra L.F., Wailemann R.A.M., et al.* // BMC Cancer. 2017. V. 17. № 1. P. 194.
44. *Zhang Y., Ye Z., He R., et al.* // Colloids Surf. B. 2023. V. 224. P. 113201.
45. *Tada D.B., Vono L.L.R., Duarte E.L. et al.* // Langmuir. 2007. Vol. 23. № 15. P. 8194.
46. *Toledo V.H., Yoshimura T.M., Pereira S.T., et al.* // J. Photochem. Photobiol., B. 2020. V. 209. P. 111956.
47. *Zhao X., Chen Z., Zhao H. et al.* // RSC Adv. 2014. V. 4. № 107. P. 62153.
48. *Bychkova A. V., Lopukhova M. V., Wasserman L.A., et al.* // Biochim. Biophys. Acta — Proteins Proteomics. 2020. V. 1868. № 1. P. 140300.
49. *Bychkova A. V., Lopukhova M. V., Wasserman L.A., et al.* // Int. J. Biol. Macromol. 2022. V. 194. P. 654.
50. *Usui Y.* // Chem. Lett. 1973. V. 2. № 7. P. 743.
51. *Najafi P., Kouchakzadeh H.* // Nanomedicine J. 2019. V. 6. № 1. P. 55.
52. *Hu Y.-J., Li W., Liu Y., et al.* // J. Pharm. Biomed. Anal. 2005. V. 39. № 3–4. P. 740.
53. *Поволоцкий А.В., Солдатова Д.А., Лукьянов Д.А., Соловьёва Е.В.* // Хим. физика. 2023. Т. 42. № 12. С. 70; doi: 10.31857/S0207401X23120087
54. *Alarcón E., Edwards A.M., Aspee A. et al.* // Photochem. Photobiol. Sci. 2010. V. 9. № 1. P. 93.
55. *He L.-L., Wang Y.-X., Wu X.-X. et al.* // Luminescence. 2015. V. 30. № 8. P. 1380.
56. *Hsu C.-W., Cheng N.-C., Liao M.-Y., et al.* // Nanomaterials. 2020. Vol. 10. № 7. P. 1351.

NANOSIZED PLATFORM BASED ON MAGNETIC NANOPARTICLES FOR PHOTODYNAMIC THERAPY IN ONCOLOGY

A. V. Bychkova^{1*}, A. A. Markova¹, M. T. Nguyen¹, M. A. Gradova², M. G. Gorobets¹,
M. V. Motyakin¹, M.I. Abdullina¹, A. V. Toroptseva¹, V. A. Kuzmin¹

¹ Emanuel Institute of Biochemical Physics Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

² Semenov Federal Research Center for Chemical Physics of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

*E-mail: anna.v.bychkova@gmail.com

Hybrid nanosystems based on iron oxide nanoparticles (IONPs) and human serum albumin (HSA) have been synthesized. Size and composition of HSA@IONPs nanosystems were characterized using UV/visible spectrophotometry (particularly, using the Bradford protein assay), dynamic light scattering and electron magnetic resonance. Methylene blue, as a model photosensitizer, was non-covalently bound to the nanosystems (5.8 µg per 1 mg of IONPs). The nanosystems were subjected to phototoxicity studies to confirm their suitability for photodynamic therapy, and the survival of cultured human breast adenocarcinoma MCF-7 tumor cells was analyzed. An increase in photoinduced cytotoxicity was observed when the photosensitizer was accumulated by cells upon delivery by the nanosystems, compared with a free photosensitizer at equivalent concentrations. HSA@IONPs are discussed as a promising platform for targeted delivery of a photosensitizer to tumor cells.

Keywords: human serum albumin, iron oxide nanoparticles, magnetic nanoparticles, photodynamic therapy, hybrid nanosystems, methylene blue, MCF-7.

REFERENCES

1. A. Aires, S.M. Ocampo, D. Cabrera, et al., J. Mater. Chem. B **3**, 6239 (2015).
<https://doi.org/10.1039/C5TB00833F>
2. L.Q. Thao, H.J. Byeon, C. Lee, et al., Pharm. Res. **33**, 615 (2016).
<https://doi.org/10.1007/s11095-015-1814-z>
3. H. Nosrati, M. Salehiabar, H.K. Manjili, et al., Int. J. Biol. Macromol. Elsevier B.V. **108**, 909 (2018).
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.10.180>
4. A.S. Chubarov, Magnetochemistry **8**, 13 (18 pages) (2022).
<https://doi.org/10.3390/magnetochemistry8020013>
5. L.L. Israel, A. Galstyan, E. Holler, et al., J. Control. Release **320**, 45 (2020).
<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.01.009>
6. A. V. Bychkova, M.N. Yakunina, M. V. Lopukhova, et al., Pharmaceutics **14**, 2771 (2022).
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14122771>
7. E. Vismara, C. Bongio, A. Coletti, et al., Molecules **22**, 1030 (2017).
<https://doi.org/10.3390/molecules22071030>
8. J. Estelrich, and M. Busquets, Molecules **23**, 1567 (2018).
<https://doi.org/10.3390/molecules23071567>
9. D.V. Pominova, I.D. Romanishkin, E.A. Plotnikova, et al., Biomed. Photonics **10**, 44 (2021).
<https://doi.org/10.24931/2413-9432-2021-10-4-44-58>
10. A. Baki, A. Remmo, N. Löwa, et al., Int. J. Mol. Sci. **22**, 6235 (2021).
<https://doi.org/10.3390/ijms22126235>
11. C. Tao, Q. Zheng, L. An, et al., Nanomaterials **9**, 170 (2019).
<https://doi.org/10.3390/nano9020170>
12. A. Tzameret, H. Ketter-Katz, V. Edelshtain, et al., J. Nanobiotechnology **17**, 3 (2019).
<https://doi.org/10.1186/s12951-018-0438-y>
13. X. Liang, M. Chen, P. Bhattarai, et al., ACS Nano **15**, 20164 (2021).
<https://doi.org/10.1021/acsnano.1c08108>
14. D. Sleep, Expert Opin. Drug Deliv. **12**, 793 (2015).
<https://doi.org/10.1517/17425247.2015.993313>
15. A.S. Shurshina, A.R. Galina, and E.I. Kulish, Russ. J. Phys. Chem. B **16**, 353 (2022).
<https://doi.org/10.1134/S1990793122020221>
16. M.A. Kolyvanova, M.A. Klimovich, O. V. Dement'eva, et al., Russ. J. Phys. Chem. B **17**, 206 (2023).
<https://doi.org/10.1134/S1990793123010062>
17. H. Li, Y. Wang, Q. Tang, et al., Acta Biomater. **129**, 57 (2021).
<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2021.05.019>
18. D. Baimanov, J. Wang, J. Zhang, et al., Nat. Commun. **13**, 5389 (2022).
<https://doi.org/10.1038/s41467-022-33044-y>
19. F. Pederzoli, G. Tosi, M.A. Vandelli, et al., Wiley Interdiscip. Rev. Nanomedicine Nanobiotechnology **9**, 1 (2017).
<https://doi.org/10.1002/wnan.1467>
20. A.B. Seabra, Metal Nanoparticles in Pharma Cham: Springer International Publishing 3 (2017).
https://doi.org/10.1007/978-3-319-63790-7_1
21. M. Nafujjaman, V. Revuri, M. Nurunnabi, et al., Chem. Commun. **51**, 5687 (2015).
<https://doi.org/10.1039/C4CC10444G>
22. A. Amirshaghghi, L. Yan, J. Miller, et al., Sci. Rep. **9**, 2613 (2019).
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-39036-1>

23. H. Yao, and J.-Y. Zhou, *Front. Bioeng. Biotechnol.* **11**, (2023).
<https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1248283>
24. C.A. Henriques, S.M.A. Pinto, J. Pina, et al., *Dalt. Trans.* **45**, 16211 (2016).
<https://doi.org/10.1039/C6DT02428A>
25. M. Thandu, V. Rapozzi, L. Xodo, et al., *Chempluschem* **79**, 90 (2014).
<https://doi.org/10.1002/cplu.201300276>
26. M. Nowostawska, S.A. Corr, S.J. Byrne, et al., *J. Nanobiotechnology* **9**, 13 (2011).
<https://doi.org/10.1186/1477-3155-9-13>
27. J.-P. Mbakidi, F. Brégier, T.-S. Ouk, et al., *Chempluschem* **80**, 1416 (2015).
<https://doi.org/10.1002/cplu.201500087>
28. P. Ostroverkhov, A. Semkina, V. Naumenko, et al., *Pharmaceutics* **10**, 284 (2018).
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10040284>
29. N. V. Suvorov, M.A. Grin, A.M. Popkov, et al., *Macroheterocycles* **9**, 175 (2016).
<https://doi.org/10.6060/mhc160645s>
30. A. Ashkbar, F. Rezaei, F. Attari, et al., *Sci. Rep.* **10**, 21206 (2020).
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-78241-1>
31. Z. Deng, G. Qiao, L. Ma, et al., *ACS Appl. Nano Mater.* **4**, 13523 (2021).
<https://doi.org/10.1021/acsanm.1c02929>
32. N. Kwon, H. Kim, X. Li, et al., *Chem. Sci.* **12**, 7248 (2021).
<https://doi.org/10.1039/D1SC01125A>
33. M.A. Klimovich, N.N. Sazhina, A.S. Radchenko, et al. **15**, 93 (2021).
<https://doi.org/10.1134/S1990793121010206>
34. A.A. Kostyukov, M.G. Mestergazi, A.E. Egorov, et al., *Dye. Pigment.* **210**, 111043 (2023).
<https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2022.111043>
35. I.D. Burtsev, A.E. Egorov, A.A. Kostyukov, et al., *Russ. J. Phys. Chem. B* **16**, 109 (2022).
<https://doi.org/10.1134/S1990793122010195>
36. A. V. Zaitsev, E.G. Kononova, A.A. Markova, et al., *Dye. Pigment.* **207**, 110711 (2022).
<https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2022.110711>
37. J. Luo, Z. Miao, X. Huang, et al., *Front. Bioeng. Biotechnol.* **11**, (2023).
<https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1132591>
38. A.S. Tatikolov, *Russ. J. Phys. Chem. B* **15**, 33 (2021).
<https://doi.org/10.1134/S1990793121010280>
39. G. Capistrano, A.A. Sousa-Junior, R.A. Silva, et al., *ACS Biomater. Sci. Eng.* **6**, 4523 (2020).
<https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.0c00164>
40. P. V Ostroverkhov, A.S. Semkina, V.A. Naumenko, et al., *J. Colloid Interface Sci. Elsevier Inc.* **537**, 132 (2019).
<https://doi.org/10.1016/j.jcis.2018.10.087>
41. A.R. Simioni, M.M.A. Rodrigues, F.L. Primo, et al., *J. Nanosci. Nanotechnol.* **11**, 3604 (2011).
<https://doi.org/10.1166/jnn.2011.3724>
42. J.P. Tardivo, A. Del Giglio, C.S. de Oliveira, et al., *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* **2**, 175 (2005).
[https://doi.org/10.1016/S1572-1000\(05\)00097-9](https://doi.org/10.1016/S1572-1000(05)00097-9)
43. A.F. dos Santos, L.F. Terra, R.A.M. Wailemann, et al., *BMC Cancer* **17**, 194 (2017).
<https://doi.org/10.1186/s12885-017-3179-7>
44. Y. Zhang, Z. Ye, R. He, et al., *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **224**, 113201 (2023).
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2023.113201>
45. D.B. Tada, L.L.R. Vono, E.L. Duarte, et al., *Langmuir* **23**, 8194 (2007).
<https://doi.org/10.1021/la700883y>
46. V.H. Toledo, T.M. Yoshimura, S.T. Pereira, et al., *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* **209**, 111956 (2020).
<https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2020.111956>
47. X. Zhao, Z. Chen, H. Zhao, et al., *RSC Adv.* **4**, 62153 (2014).
<https://doi.org/10.1039/C4RA10801A>
48. A. V. Bychkova, M. V. Lopukhova, L.A. Wasserman, et al., *Biochim. Biophys. Acta - Proteins Proteomics* **1868**, 140300 (2020).
<https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2019.140300>
49. A. V. Bychkova, M. V. Lopukhova, L.A. Wasserman, et al., *Int. J. Biol. Macromol. Elsevier B.V.* **194**, 654 (2022).
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.11.110>
50. Y. Usui, *Chem. Lett.* **2**, 743 (1973).
<https://doi.org/10.1246/cl.1973.743>
51. P. Najafi, and H. Kouchakzadeh, *Nanomedicine J.* **6**, 55 (2019).
<https://doi.org/10.22038/NMJ.2019.06.008>
52. Y.-J. Hu, W. Li, Y. Liu, et al., *J. Pharm. Biomed. Anal.* **39**, 740 (2005).
<https://doi.org/10.1016/j.jpba.2005.04.009>
53. A. V. Povolotskiy, D.A. Soldatova, D.A. Lukyanov, et al., *Russ. J. Phys. Chem. B* **17**, 1398 (2023).
54. E. Alarcón, A.M. Edwards, A. Aspee, et al., *Photochem. Photobiol. Sci.* **9**, 93 (2010).
<https://doi.org/10.1039/b9pp00091g>
55. L.-L. He, Y.-X. Wang, X.-X. Wu, et al., *Luminescence* **30**, 1380 (2015).
<https://doi.org/10.1002/bio.2910>
56. C.-W. Hsu, N.-C. Cheng, M.-Y. Liao, et al., *Nanomaterials* **10**, 1351 (2020).
<https://doi.org/10.3390/nano10071351>