

DOI: 0.20535/kpissn.2024.1-4.314408

УДК 544.77.022.84 + 616-06

Л.О. Керносенко^{1*}, Ю.М. Самченко¹, Н.О. Пасмурцева¹, О.О. Соловійова¹, С.М. Дибкова¹,
В.О. Шляховенко², І.І. Ганусевич², О.А. Самойленко², П.В. Воротицький¹, І.І. Волобаєв¹

¹Інститут біологічної хімії імені Ф.Д. Овчаренка НАН України, м. Київ, Україна

²Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології
імені Р.Є. Кавецького НАН України, м. Київ, Україна

*відповідальний автор: kernosenko@ukr.net

ГІБРИДНІ ГІДРОГЕЛІ ДЛЯ ДІАГНОСТИКИ ТА ЛІКУВАННЯ ОНКОЛОГІЧНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ

Проблематика. Використання полімерних композитів та гідрогелів, наповнених функціоналізованими наночастинками (зокрема кислотно-модифікованого лапоніту та золота) уможлиблює їх застосування для заповнення післяопераційних порожнин, насамперед після резекції пухлин, та дозволяє підвищувати ефективність ранньої діагностики онкологічних захворювань.

Мета дослідження. Розробка методів синтезу кислотно-активованого лапоніту, дослідження його основних фізико-хімічних властивостей, методів його інкорпорування до термочутливих гідрогелів; вивчення можливості використання гібридних матеріалів на основі термочутливих гідрогелів та наночастинок золота в онкохірургії.

Методика реалізації. Синтезовані матеріали охарактеризовані методами лазерної кореляційної спектроскопії, ІЧ- та УФ-спектроскопії, рентгеноструктурного аналізу, зимографії тощо.

Результати дослідження. Синтезовані гібридні полімерні системи на основі термочутливих гідрогелів з наночастинками золота можуть використовуватися для заповнення післяопераційних порожнин з одночасним адресним вивільненням інкорпорованого бактеріостатика Альбуциду. Система додецилсульфат натрія—поліакриламідний гель з інкорпорованими наночастинками кислотно-модифікованого лапоніту продемонструвала високу ефективність під час електрофоретичного розділення білків плазми периферичної крові для ранньої діагностики колоректального раку.

Висновки. Кислотна модифікація лапоніту може бути покладена в основу створення нанорозмірних терапевтичних та діагностичних систем. Синтезовані гібридні полімерні матеріали на основі термочутливих гідрогелів з наночастинками золота можуть використовуватися для заповнення післяопераційних порожнин з одночасним адресним вивільненням інкорпорованого бактеріостатичного препарату Альбуциду.

Ключові слова: термочутливі гідрогелі; кислотно-модифікований лапоніт; електрофоретичне розділення білків; наночастинки золота; Альбуцид.

Вступ

Останнім часом інтенсивно розвиваються інноваційні наномедичні підходи до раннього виявлення і персоналізованого лікування раку. Використання інтелектуальних біоматеріалів на основі функціоналізованих наночастинок дозволяє поєднати адресну доставку ліків з їх пролонгованим вивільненням та біодоступністю [1, 2]. Крім того, результати проведених останніми роками досліджень свідчать, що інтелектуальні біоматеріали з пролонгованим ви-

вільненням значно покращують ефективність хіміотерапії і результати лікування онкохворих [3]. В якості таких інтелектуальних біоматеріалів широко використовуються полімерні композити і гідрогелі, наповнені функціоналізованими наночастинками [4, 5]. Просторово зшиті гідрогелі можуть поглинати й утримувати велику кількість води та водних розчинів (зокрема, лікарських препаратів), їх наповнення функціоналізованими наночастинками дозволяє створювати біосумісні та недорогі гібридні біоматеріали з широким спектром застосувань

Пропозиція для цитування цієї статті: Л.О. Керносенко, Ю.М. Самченко, Н.О. Пасмурцева, О.О. Соловійова, С.М. Дибкова, В.О. Шляховенко², І.І. Ганусевич, О.А. Самойленко, П.В. Воротицький, І.І. Волобаєв, “Гібридні гідрогелі для діагностики та лікування онкологічних захворювань”, *Наукові вісті КНУ*, № 1–4, с. 81–88, 2024. doi: 10.20535/kpissn.2024.1-4.314408

Offer a citation for this article: L.O. Kernosenko, Y.M. Samchenko, N.O. Pasmurtseva, O.O. Soloviova, S.M. Dybkova, V.O. Shlyakhovenko, I.I. Hanusevych, O.A. Samoilenko, P.V. Vorotytskyi, I.I. Volobaiev “Hybrid hydrogels for diagnostics and treatment of cancer”, *KPI Science News*, no. 1–4, pp. 81–88, 2024. doi: 10.20535/kpissn.2024.1-4.314408

у різних галузях медицини та фармації. Використання інтелектуальних біоматеріалів на основі функціоналізованих наночастинок, що характеризуються високою біосумісністю, пористістю, сорбційною здатністю, хімічною і термічною стійкістю, дозволяє поєднувати адресну доставку ліків та їх пролонговане вивільнення, зокрема, під час хіміотерапії, та підвищувати ефективність ранньої діагностики онкологічних захворювань. В якості таких інтелектуальних біоматеріалів широко використовуються полімерні композити і гідрогелі, наповнені функціоналізованими наночастинами, зокрема наночастинами лапоніту (Lap®) – синтетичного глинистого мінералу з унікальною анізотропною структурою (диски з діаметром близько 25 нм і завтовшки 1 нм). Він є відносно недорогим і вже має численні технологічні, фармацевтичні та косметичні застосування [6, 7]. Модифікація Lap®, насамперед кислотна активація, надає йому широкий спектр додаткових функціональних властивостей [8], які дозволяють забезпечити адресне транспортування ліків та їх кероване вивільнення, що особливо важливо під час лікування раку, де тривалість впливу ліків на пухлинні клітини має вирішальне значення. Функціональні гідрогелі з інкорпорованими наночастинами лапоніту та його модифікацій є надзвичайно перспективними під час діагностики онкологічних захворювань [9], зокрема колоректального раку (КРР). Відомо, що електрофореграми білків різних біологічних рідин людини (плазма периферичної крові, сеча, спинномозкова рідина та ін.) дозволяють лікарям та біохімікам отримати значну діагностичну інформацію [10]. Результати електрофоретичного поділу ферментів (зимограми) дозволяють вивчати зміни активності та ізоферментного спектра таких білків та дозволяє розділяти різні білки винятково на основі відмінностей у їх молекулярній масі [11, 12]. Для отримання зазначених зимограм широко застосовують метод Леммлі, або диск-електрофорез на основі SDS-PAGE, тобто поліакриламідного гелю (ПААГ) з додаванням додецилсульфата натрію (ДДС) [13]. Дослідження біомаркерів відіграє важливу роль у виявленні та лікуванні пацієнтів з онкологічними захворюваннями. Зауважимо, що плазма периферичної крові людини є найкращим джерелом зразків для ідентифікації біомаркерів [14]. Розділення білків плазми периферичної крові за допомогою електрофорезу є цінним діагностичним інструментом, а також способом моніторингу клінічного прогресу, а покращення поділу білків сприяє збільшенню

інформативності вказаного методу діагностики. Використання запропонованого методу особливо доцільне під час вивчення молекулярної гетерогенності ферментів, що може дати додаткові дані про перебіг та прогноз онкологічних захворювань. Положення ідентифікованих піків електрофоретичної міграції білків певною мірою залежить від концентрації реагентів, що застосовуються для отримання ПААГ, насамперед акриламід (АА) та N,N'-метиленабісакриламід (МБА), пористості гелів [15], а також інкорпорованих сорбентів, зокрема лапоніту та кислотно-активованого лапоніту. Вказане зумовлює актуальність цього дослідження.

Окрім того, гібридні полімерні матеріали на основі термочутливих функціональних гідрогелів з інкорпорованими наночастинами золота, видаються перспективними інноваційними матеріалами для ендопротезування та заповнення післяопераційних порожнин, насамперед після резекції пухлин [16–18].

Постановка задачі

Метою роботи є розробка методів синтезу кислотно-активованого aLap® (Lap) та дослідження основних фізико-хімічних властивостей суспензій aLap, а також методів їх інкорпорування до гідрогелів на основі АА з метою створення систем для діагностики онкологічних захворювань. Передбачається також дослідити можливість використання гібридних матеріалів на основі термочутливих гідрогелів, наночастинок золота та антимікробного препарату Альбуциду для заповнення та запобігання інфікування післяопераційних порожнин, насамперед після резекції пухлин.

Матеріали і методи

Реактиви для синтезу гідрогелів. N-ізопропілакриламід (НІПА; Merck, 97 %) перекристалізували з гексану і сушили у вакуумі, N,N'-метиленабісакриламід (МБА) (Merck, 98 %); персульфат амонію (ПСА, $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$, Sigma, 98 %); N,N,N',N'-тетраметилендіамін (ТЕМЕД) (Merck, 99 %) Як розчинник у всіх експериментах використовували бідистильовану воду.

У роботі використали сульфатил натрію (альбуцид) – 30 % водний розчин (ПАТ «Фармак», Україна), без додаткового очищення.

Для модифікування Lap® була використана кислотна активація в сірчаній кислоті. Попередньо Lap® диспергували у воді та перемішу-

вали за 60 °С протягом 30 хв. Потім повільно додавали водний розчин кислоти, реакційну суміш перемішували протягом 10 годин за кімнатної температури. Концентрацію аLар у кінцевому розчині фіксували на рівні 4 мас. %, а концентрацію сульфатної кислоти змінювали в межах від 0,5N до 16N. Далі отриманий кислотно-активований лапоніт (аLар) відмивали від залишків непрореагованої кислоти за допомогою промивання протягом трьох днів у дистильованій воді до рН 7,0 (з її багаторазовою заміною) та сушили за 50 °С.

Синтез гідрогелів на основі ПААГ та кислотнo-модифікованого Лапоніту: перемішували 3,75 г АА + 0,01 г ЛАП XLS + 0,075 г МБА + 20 мл суміші № 1 (10 г ТРИС + 0,25 г Трилон Б + 175 мл д. в. доводимо до рН 8,9 додаванням 50 %-ної H_3PO_4). Суміш перемішували на магнітній мішалці до повного розчинення сухих реагентів протягом 30 хв. Потім розчин диспергували протягом 7 хв (амплітуда 50 %, енергія 10 кДж), на УЗ-диспергаторі Bandelin Sonopuls UW 100 (Німеччина), барботували аргон протягом 2 хв, додавали суміш (0,5 г ПСА + 4,5 г H_2O) та суміш (0,5 г ТЕМЕД + 4,5 г H_2O) після чого швидко заливали суміш у спеціально виготовлений скляний шаблон зі спейсерами завтовшки 1 мм.

Синтез наночастинок золота. Сферичні наночастинок золота з середнім розміром 30 нм синтезували методом гідротермального синтезу: відновлення золотохлористоводневої кислоти ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) ($\geq 99,9$ % trace metals basis, Sigma-Aldrich) цитратом натрію за наявності карбонату калію проводили за температури 121 °С, тиску 1,04 атм протягом 15 хв. Вихідна концентрація $C_{\text{Au}} = 38,6$ мкг/мл за металом.

Синтез гідрогелів та інкорпорування наночастинок золота до їх складу. Гідрогелі на основі НІПА були синтезовані за допомогою радикальної полімеризації водного розчину мономеру за 10 °С і ковалентно-зшиті біфункціональним мономером МБА. Для ініціювання полімеризації використовували окисно-відновну систему на основі ПСА і ТЕМЕД. Синтез гідрогелів проводили таким чином. Барботували аргон через реакційну суміш (водний розчин суміші мономеру і зшиваючого агента) перед додаванням окислювально-відновлювальної системи. Після змішування компонентів композицію ретельно перемішували і переносили у форму, що складається з двох паралельних скляних пластин, розділених спейсерами завтовшки 1 мм і витримували протягом 1 години за кімнатної температури. Для інкорпорування наночастинок золота

розраховану кількість суспензії з концентрацією $C_{\text{Au}} = 38,6$ мкг/мл за металом додавали до гелеутворюючої композиції під час інтенсивного перемішування (перед перенесенням до скляних форм). Приблизно через чотири години гідрогелі виймали з форм і інтенсивно промивали дистильованою водою за кімнатної температури для видалення непрореагованих залишків. Воду міняли 2 рази на день, а процес відмивання контролювали за допомогою УФ-спектрометра (SPECORD M40, Carl Zeiss, Germany). Гелеві зразки у вигляді дисків вирізали з набухлих гідрогелевих плівок за допомогою пробійника ($d = 10$ мм) і висушували до постійної маси за 25 °С. Детальний склад синтезованих гідрогелів наведено в табл. 1.

Таблиця 1. Склад гідрогелів на основі НІПА

Компонент	Вміст, % мас. у зразку			
	1	2	3	4
НІПА	20,8	20,8	20,8	20,8
МБА	0,1	0,1	0,1	0,1
ПСА	0,5	0,5	0,5	0,5
ТЕМЕД	0,5	0,5	0,5	0,5
Дистильована вода	78,1	78,1	78,1	78,1
Наночастинок золота, мкг/г	–	4,02	8,04	12,06

Приготування фракції плазми. У дослідженні взяли участь донори та хворі на КРР, які перебували у відділенні пухлин печінки, підшлункової залози та онкоvasкулярної хірургії Національного інституту раку МОЗ України (м. Київ, Україна) у 2020–2022 роках. Зразки крові були отримані у первинних хворих на КРР перед початком лікування. Усі пацієнти дали інформовану згоду на участь у дослідженні та використання їх біологічних матеріалів у дослідницьких цілях. Дозвіл на проведення дослідження було отримано від Центральної комісії з біоетики МЗ України і локальної комісії з біоетики Національного інституту раку). Для визначення протеому плазми периферичної крові приблизно 6–9 мл її збирали в пробірку (VACUTEST KIMA, Італія), що містить 16,2 мг антикоагулянту (калієва сіль етилендіамінтетраацетата (K_2EDTA)). Досліджувані зразки крові (10 мкл) змішували зі 100 мкл охолодженого (4 °С) 0,14 М розчину хлориду натрію і поміщали у пробірки 1,5 мл («Еппендорф»). Суміш ретельно перемішували і центрифугували за 5000 об/хв протягом 5 хв. До супернатанту додавали 500 мкл охолодженого ацетону, після чого суміш поміщали у морозильну

камеру за $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ на 10 хв, потім центрифугували за 5000 г 5 хв. Отриманий осад розчиняли у 100 мкл 2 % ДДС, що містив 10 % гліцерину і 0,005 % бромфенолового синього. Проби прогрівали за $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ протягом 2 хв. Підготовлені таким чином проби вносили у лунки ПААГ.

ІЧ-аналіз проводили на Фур'є-спектрометрі Shimadzu IRAffinity-1S з використанням детектора порушеного повного внутрішнього відбиття Specac Quest ATR у діапазоні $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$, при накопиченні 25–40 сканувань, з роздільною здатністю 4 cm^{-1} й опрацьовували за допомогою програми обробки даних LabSolutions IR Ver. 2.26.

Рентгенограми високодисперсних кислотно-активованих суспензій лапоніту досліджували на рентгенівському дифрактометрі (ДРОН-УМ1) з двома щілинами Соллера із фільтруванням $\text{Co-K}\alpha$ -випромінюванням. Ідентифікацію мінерального складу об'єктів здійснювали відповідно до картотеки ASTM.

Для *вимірювання розміру наночастинок* та їх розподілу за розмірами використовувався метод динамічного світлорозсіювання (ДСР). Вимірювання проводили на дзета-сайзері типу NanoS (Malvern).

Рівноважний ступінь набухання гідрогелів у дистильованій воді, W , розраховували за формулою $W = (m_s - m_d)/m_d$, де m_s – маса набухлого гідрогелю в рівноважному стані після 24 годин набухання, а m_d – маса повністю висушеного ксерогелю після упарювання води. Зразки гідрогелю інкубували в термостаті TC-1/80 SPN та зважували з точністю до 10^{-4} г на аналітичних вагах AXIS (Польща). Дані подані як середнє значення \pm стандартне відхилення трьох–п'яти незалежних експериментів. Для статистичної обробки даних використовували ANOVA, достовірним вважали $p < 0,05$.

Введення Альбуциду та його вивільнення. Насичення гідрогелів Альбуцидом проводили таким чином. Наважку гідрогелю поміщали в розчин Альбуциду з концентрацією 30 % і витримували для насичення протягом 24 годин за температури $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, після чого поміщали в 10 мл дистильованої води. Через певні проміжки часу гідрогель видаляли, розчинник аналізували спектрометрично за допомогою УФ-спектрометра (SPECORD M40, Carl Zeiss, Germany), вимірюючи оптичну густину сигналу Альбуциду за 260 нм. Гідрогель знову поміщали в 10 мл дистильованої води і витримували протягом певного періоду часу. Цю процедуру повторювали протягом усього експерименту.

Електрофорез проводили в 15 % ПААГ з використанням вертикальної електрофоретичної буферної системи SDS-PAGE з розміщенням гелю між двома скляними пластинами (45475 мм, з товщиною спейсерів 1 мм і гребінцем з 8 зубцями). Отримані зразки плазми периферичної крові донорів та хворих на КРР для завантаження на гель розчиняли в 0,4 М Трис-НСІ (рН 6,8) буфері, що містив гліцерин (5 %), ДДС (0,1 %) і бромфеноловий синій (0,001 %). Використовувався електродний буфер (водна суміш гліцерину (1,4 %), Трис (0,46 М) і ДДС (0,1 %)). Прикладена напруга становила 100 В. Типовий час розділення становив приблизно 3,5 години. Гель фіксували за допомогою водного фіксуючого розчину (40 % етанол, 10 % оцтова кислота) протягом 16 годин. Для візуалізації білків, розділених за допомогою ДДС–ПААГ, застосовували забарвлювання гелів протягом 60 хв у розчині 0,1 % Coomassie Brilliant Blue R-250 [19]. Нарешті, гель знебарвлювали у фіксуючому розчині протягом 90 хв.

Результати та їх обговорення

Механізм кислотної активації полягає у проникненні протонів у глибину лапонітних шарів з подальшою атакою структурних гідроксильних груп. Модифікація структури Lap® дозволяє тонко регулювати різноманітні властивості лапонітних дисків, такі як їх дисперсність, поверхневий заряд, колоїдну стабільність і спорідненість до біомолекул (рис. 1).

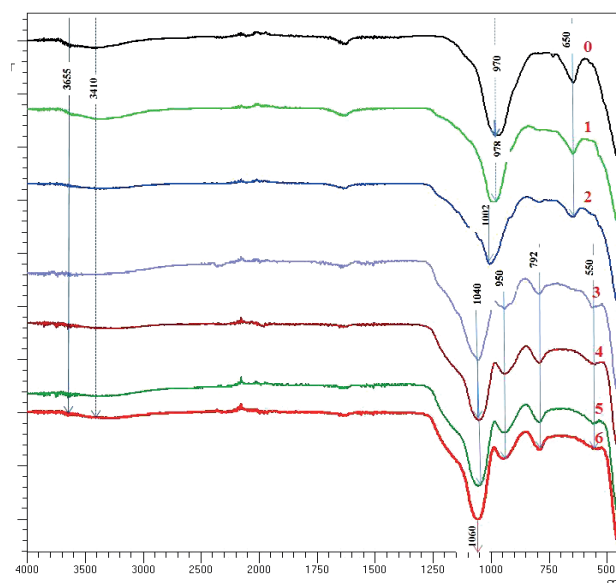


Рис. 1. ІЧ-спектри зразків: 0 – Lap®; 1 – aLap (0,5N) H_2SO_4 ; 2 – aLap (1N) H_2SO_4 ; 3 – aLap (2N) H_2SO_4 ; 4 – aLap (4N) H_2SO_4 ; 5 – aLap (8N) H_2SO_4 ; 6 – aLap (16N) H_2SO_4

Водночас надмірна кислотна активація може також призвести до руйнування кристалічної структури Lap® та утворення аморфних фаз кремнезему $nSiO_2 \times mH_2O$. Вказані процеси було проаналізовано з використанням методів ІЧ-спектроскопії та рентгено-структурного аналізу. Як видно з ІЧ-спектрів зразків нативного та кислотного-активованого лапоніту (рис. 1), цей процес являє собою кислотну активацію зі збереженням структури лапоніту під час обробки сульфатною кислотою з концентрацією від 0,5N до 2N, причому механізм вказаного процесу зумовлений накопиченням негативного заряду на наночастинках Lap® за рахунок вимивання компенсуючих позитивно заряджених катіонів лужноземельних металів. Проаналізуємо спочатку незруйновану структуру Lap® та aLap. Низькоінтенсивні смуги близько 1630 cm^{-1} зумовлені сорбованою водою, смуги $950\text{--}1000\text{ cm}^{-1}$ відповідають асиметричним валентним коливанням $-Si-OH-$ та $-Si-O-Si-$, а смуга за приблизно 650 cm^{-1} відповідає деформаційним коливанням Mg_3OH , причому інтенсивність цієї смуги зменшується по мірі зростання інтенсивності кислотної активації (у разі збільшення концентрації сульфатної кислоти від 0,5N до 2N). Смуга з інтенсивним максимумом за $1045\text{--}1055\text{ cm}^{-1}$ для зразків aLap, отриманих під час оброблення сульфатною кислотою з концентрацією від 2N та вище, можна пояснити позаплощинними (перпендикулярними до шарів глинистого мінералу) валентними коливаннями $-Si-O-$. У разі зростання концентрації кислоти, що використовувалася для кислотної активації нативного лапоніту, спостерігається суттєве вилугування активних компонентів лапоніту, на що вказує поява смуги близько 790 cm^{-1} , зумовленої симетричними валентними коливання-

ми $-Si-O-Si-$ аморфного кремнезему в деструктурованому лапоніті [20].

Отримані спектральні дані корелюють з результатами рентгено-структурного аналізу, згідно з якими кислотна активація у разі великих концентрацій кислоти призводить до появи широкого піку за 23° , характерного для аморфного кремнезему (рис. 2a).

Аналіз розмірів наночастинок виявив підвищену агрегацію частинок aLap у водних суспензіях. Середній розмір нативного Lap® становить близько 20 нм, що відповідає орієнтовно усередненим розмірам дисків Lap діаметром приблизно 25 нм і завтовшки приблизно 1 нм. Навіть для найменшого ступеня кислотної активації середній розмір частинок збільшується приблизно на порядок (рис. 2б).

На основі електрофоретичної системи (ПААГ-ДДС), зокрема з інкорпорованими наночастинками Лапоніту та кислотного-модифікованого Лапоніту, було проведено розділення білків плазми периферичної крові донорів та хворих на КРР (рис. 3).

Отримані результати продемонстрували відмінність протеому плазми периферичної крові донора та хворих на КРР з метастазами та без метастазів. У процесі диск-електрофорезу білки плазми периферичної крові поділяються на фракції – альбуміни та глобуліни (альфа-1-глобуліни, альфа-2-глобуліни, бета-глобуліни та гама-глобуліни). Як видно з електрофореграм (рис. 3), найкращий поділ глобулінової фракції у донора відбувся в гелі з кЛап. В електрофореграмі з кЛап у донора фракція глобулінів містить 4 білки порівняно з електрофореграмою без кЛап, де фракція глобулінів містить тільки 2 білки. У хворих на КРР глобулінова фракція не проявлялася.

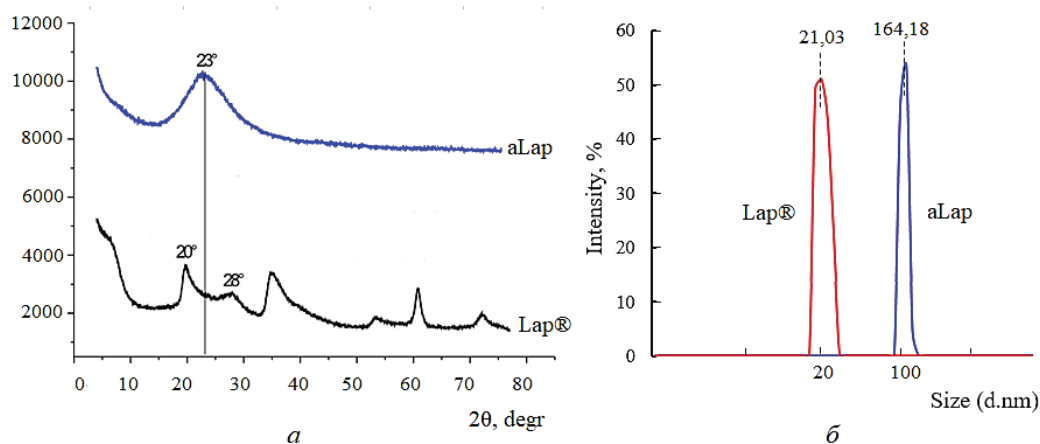


Рис. 2. Дифрактограми (а) та розподіл за розміром наночастинок (б) вихідного Lap® та модифікованого aLap

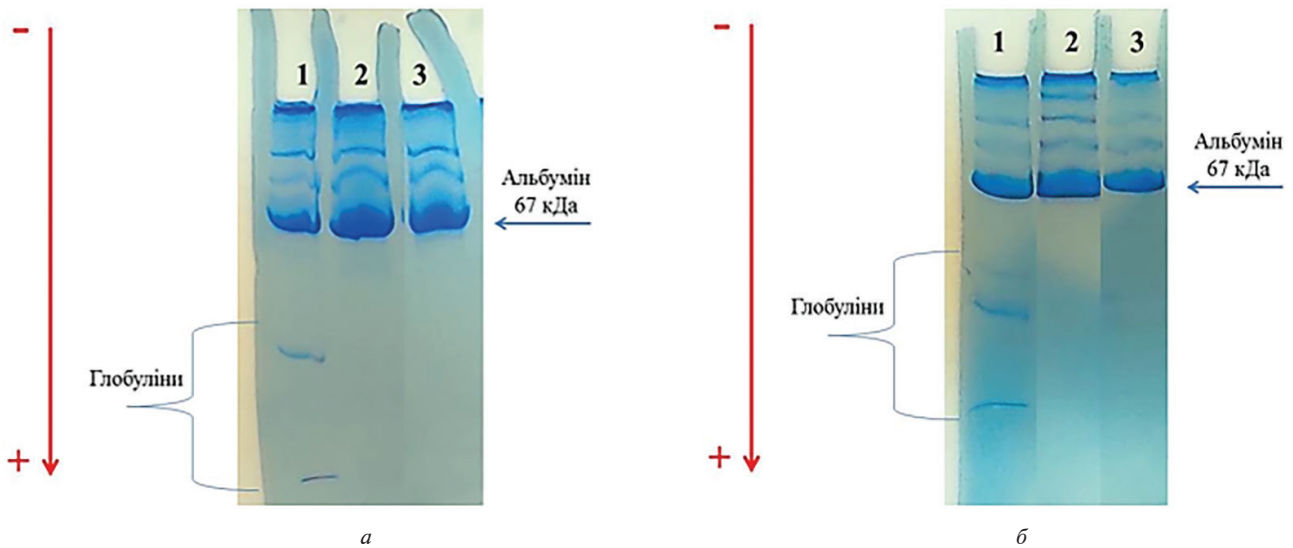


Рис. 3. 1-D електрофорез білків плазми периферичної крові донора (1-й трек) та хворих на КРР без метастазів (2-й трек) та з метастазами (3-й трек) у 15 % ПААГ без застосування лапоніту (*a*) та із застосуванням наночастинок кислотно-активованого лапоніту – 2N H₂SO₄ (*b*); (вертикальна стрілка показує напрямок електрофоретичної міграції – від катоду до аноду)

Наразі розглянемо фізико-хімічні властивості гібридних полімерних систем на основі термочутливих гідрогелів з інкорпорованими наночастинками золота. Температурна залежність набухання гідрогелів на основі НІПА відзначається переходом з набухлого до сколапсованого стану під час нагрівання вище температури нижньої критичної температури розчинення (НКТР)), що складає для НІПА близько 32 °С. Максимальний ступінь набухання спостерігався

за низьких температур (10–15 °С) з подальшим різким зменшенням нижче НКТР. Вказаний ефект істотно впливає на дифузійні властивості синтезованих гідрогелів та на можливість контролю за вивільненням лікарських сполук з них. Зауважимо, що суттєвих відмінностей, зумовлених інкорпоруванням наночастинок золота, не спостерігалось (рис. 4*a*).

Проаналізуємо дифузію Альбуміну із синтезованих нанокомпозитів. Зі зростанням вмісту

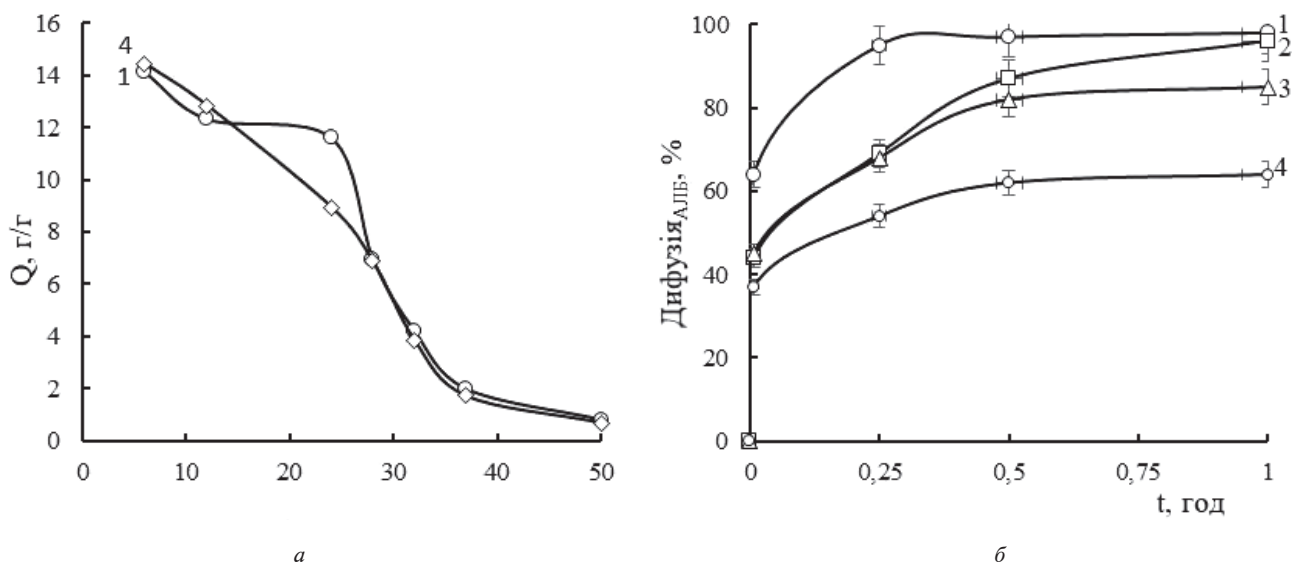


Рис. 4. Температурна залежність ступеня набухання гідрогелів (*a*) та кінетика вивільнення Альбуміну з гідрогелів на основі НІПА (*b*) з різним вмістом наночастинок золота (мкг/г): 1 – C_{Au} = 0; 2 – C_{Au} = 4,02; 3 – C_{Au} = 8,04; 4 – C_{Au} = 12,06)

наночастинок золота у гідрогелях вивільнення Альбуциду суттєво уповільнюється (рис. 4б), що може пояснюватися взаємодією золота з наявними у молекулі лікарського препарату аміногрупами, а саме з неподіленою електронною парою атома азоту на 2s-рівні [21]. Зазначимо високу швидкість вивільнення альбуциду з усіх синтезованих гідрогелів – протягом перших 15 хв. вивільнилася більша частина сорбованого препарату (залежно від складу – від 55 % до 95 %). Однак, враховуючи механізм дії зазначеного антимікробного бактеріостатичного засобу, його активне вивільнення на початковому етапі є бажаним, оскільки призводить до дезінфекції операційного поля та запобігає його вторинному інфікуванню. Зауважимо, що отримані результати корелюють з продемонстрованим раніше антимікробним ефектом розроблених гібридних гідрогелів [22].

Висновки

Кислотна модифікація лапоніту може бути покладена в основу подальшого створення су-

часних нанорозмірних діагностичних систем, насамперед для ранньої діагностики онкологічних захворювань. Так, система ПААГ–ДДС продемонструвала високу ефективність під час електрофоретичного розділення білків плазми периферичної крові донорів та хворих на КРР, особливо у випадку інкорпорування до електрофоретичної системи кислотно-модифікованого лапоніту.

Показано, що синтезовані гібридні полімерні системи на основі термочутливих гідрогелів з інкорпорованими наночастинками золота, на думку авторів, можуть використовуватися для заповнення післяопераційних порожнин, зокрема після резекції пухлин, і знезараження операційного поля внаслідок адресного вивільнення інкорпорованого бактеріостатичного препарату Альбуциду.

Автори висловлюють подяку Національному фонду досліджень України за фінансову підтримку, надану за проектами: № 2022.01/0039 та № 2021.01/0178, а також ТОВ «Троліт».

References

- [1] J. Basso, A. Miranda, S. Nunes, T. Cova, J. Sousa, C. Vitorino and A. Pais “Hydrogel-Based Drug Delivery Nanosystems for the Treatment of Brain Tumors”, *Gels*, vol. 4 (3), 2018. doi: 10.3390/gels4030062.
- [2] O. Goncharuk, Yu. Samchenko, D. Sternik, L. Kernosenko, T. Poltoratska, N. Pasmurtseva, M. Abramov, E. Pakhlov and A. Derylo-Marczewska, “Thermosensitive hydrogel nanocomposites with magnetic laponite”, *Appl Nanosci*, vol. 10 (12), 2020, 4559 p. doi: 10.1007/s13204-020.
- [3] R.V. Kalaydina, K. Bajwa, B. Qorri, A. Decarlo and M. R Szewczuk, “Recent advances in “smart” delivery systems for extended drug release in cancer therapy” *Dove Medical Press – Open Access Publisher of Medical research*, vol. 2018:13, 2018, pp. 4727–4745. doi: 10.2147/IJN.S168053.
- [4] S. Kalia, “Polymeric Hydrogels as Smart Biomaterials Springer”, Series on Polymer and Composite Materials (SSPCM), Springer, 2016. doi: 10.1007/978-3-319-25322-0.
- [5] T. Raj Singh, G. Laverty and R. Donnelly “Hydrogels: Design, Synthesis and Application in Drug Delivery and Regenerative Medicine”, CRC Press, Taylor and Francis Group, LLC, 2017, 352 p. doi: 10.1201/9781315152226.
- [6] A. Das, R. Uppaluri and Ch. Das, “Feasibility of poly-vinyl alcohol/starch/glycerol/citric acid composite films for wound dressing applications”, *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 131, 2019, pp. 998–1007. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.03.160.
- [7] O. Samoylenko, O. Korotych, M. Manilo et al., “Biomedical Applications of Laponite®-based Nanomaterials and Formulations: Soft Matter Systems for Biomedical” Chapter 15. Applications, Edited by L. Bulavin, N. Lebovka. Springer Proceedings in Physics, Cham, 2021. doi: 10.1007/978-3-030-80924-9_15.
- [8] N. Lebovka, O. Goncharuk, V. Klepko, V. Mykhailyk, Yu. Samchenko, L. Kernosenko, N. Pasmurtseva, T. Poltoratska, O. Siryk, O. Solovieva and M. Tatochenko, “Cross-Linked Hydrogels Based on PolyNIPAAm and Acid-Activated Laponite RD: Swelling and Tunable Thermosensitivity”, *Langmuir*, 2022, vol. 38 (18), pp. 5708–5716. doi: 10.1021/acs.langmuir.2c00310.
- [9] M. Sepantafar, R. Maheronnaghsh, H. Mohammadi, S. Rajabi-Zeleti, N. Annabi, N. Aghdami and H. Baharvand, “Stem cells and injectable hydrogels: synergistic therapeutics in myocardial repair”, *Biotechnol. Adv.*, vol. 34, 2016, pp. 362–379. doi: 10.3390/membranes7040056.
- [10] A. Wuethrich, J. P. Quirino, “A decade of microchip electrophoresis for clinical diagnostics – a review of 2008–2017”, *Analytica chimica acta* vol. 1045, pp. 42–66. doi: 10.1016/j.aca.2018.08.009.
- [11] T. Aoki, “A comprehensive review of our current understanding of red blood cell (RBC) glycoproteins”, *Membranes*, vol. 7 (4), 2017, pp. 56. <https://doi.org/10.3390/membranes7040056>.

- [12] U. K. Laemmli, “Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4”, *Nature*, vol. 227(5259), 1970 pp. 680–685. doi: 10.1038/227680a0.
- [13] <https://en.wikipedia.org/wiki/SDS-PAGE>.
- [14] G. Shu, W. Zhu, Y.Z. Jiang, X. W. Li, et al. “Persistent luminescence immune hydrogel for photodynamic-immunotherapy of tumors *in vivo*”, *Adv. Funct. Mater.*, vol. 31 (36), 2021, 2104472 p. doi:10.1002/adfm.202104472.
- [15] B. Abel, C. Luch, et al “Effect of immunology biomarkers associated with hip fracture and fracture risk in older adults”, *Immunity & Ageing*, vol. 20, 2023, pp. 1–11. <https://doi.org/10.1186/s12979-023-00379-z>.
- [16] A.P. Maletskyi, Y.M. Samchenko, V.V. Vit, N. M. Bigun and L.O. Kernosenko, “The nature of the reaction of the soft tissues of the orbit, auricle and bone structures to the implantation of a hybrid gel in the experiment”, *Archive of Ophthalmology (Ukraine)*, vol. 6, 2 (11), 2018, pp. 20–27.
- [17] Yu.M. Samchenko, A.P. Maletskyi, N.M. Bigun, G.A. Dolynskyy, L.O. Kernosenko, N. O. Pasmurtseva, T. P. Poltoratska and I. Ie. “Mamyshev, Dynamics of depositing and diffusion of drugs (chlorhexidine, 5-fluorouracil and doxorubicin) in hydrogel implants with different hydrogel crosslinking densities”, *Journal of Ophthalmology (Ukraine)*, vol. 3 (494), 2020, pp. 53–60.
- [18] A. Maletskyi, Yu. Samchenko and N. Bigun, “Improving the Antitumor Effect of Doxorubicin in the Treatment of Eyeball and Orbital Tumors”, *In Advances in Precision Medicine Oncology*, edited by H. Arnouk, B. Hassan, London: IntechOpen, 2021. 10.5772/intechopen.95080.
- [19] Ju. Brunelle, R. Green, “Coomassie blue staining”, *In Methods in enzymology*, Elsevier, vol. 541, 2014, pp. 161–167. doi: 10.1016/B978-0-12-420119-4.00013-6.
- [20] J.A. Santana Costa and C.M. “Paranhos Systematic Evaluation of Amorphous Silica Production from Rice Husk Ashes”, *J. Cleaner Prod.*, vol. 192, 2018, pp. 688–697. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.05.028>.
- [21] Y. Lyu, L. M. Becerril, M. Vanzan, S. Corni, et al, “The Interaction of Amines with Gold Nanoparticles”, *Adv Mater*, Online Version of Record before inclusion in an issue, Mar 23, 2023. doi: 10.1002/adma.202211624.
- [22] Yu. M. Samchenko, S. M. Dybkova, A. P. Maletskyi, L. O. Kernosenko, T. G. Gruzina, et al., “Antimicrobial effects of hydrogel implants incorporating gold nanoparticles and albucide and developed for reconstructive surgery in the orbit and periorbital area” *Journal of Ophthalmology*, vol. 5 (514), 2023, pp. 27–33.

L.O. Kernosenko, Y.M. Samchenko, N.O. Pasmurtseva, O.O. Soloviova, S.M. Dybkova, V.O. Shlyakhovenko, I.I. Hanusevych, O.A. Samoilenko, P.V. Vorotytskyi, I.I. Volobaiev

HYBRID HYDROGELS FOR DIAGNOSTICS AND TREATMENT OF CANCER

Background. Application of polymer composites and hydrogels filled with functionalized nanoparticles (in particular, acid-modified laponite and gold) allows their use for filling postoperative cavities, especially after tumour resection, and enhances the effectiveness of early cancer diagnosis.

Objective. The purpose of the paper is to develop methods for the synthesis of acid-activated laponite, study its basic physicochemical properties, methods of its incorporation into thermosensitive hydrogels; studying the possibility of using hybrid materials based on thermosensitive hydrogels and gold nanoparticles in oncological surgery.

Methods. The synthesized materials were characterized using laser correlation spectroscopy, IR and UV spectroscopy, X-ray diffraction analysis, zymography, etc.

Results. Synthesized hybrid polymer systems based on thermosensitive hydrogels with gold nanoparticles can be used to fill postoperative cavities with simultaneous targeted release of the incorporated Albucid as a bacteriostatic. The sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel system with incorporated nanoparticles of acid-modified laponite demonstrated high efficiency in the electrophoretic separation of peripheral blood plasma proteins for the early diagnosis of colorectal cancer.

Conclusions. Acid modification of laponite can serve as a basis for the development of nanoscale therapeutic and diagnostic systems. Synthesized hybrid polymeric materials based on thermosensitive hydrogels and gold nanoparticles can be used to fill postoperative cavities with a simultaneous targeted release of the incorporated bacteriostatic drug Albucid.

Keywords: thermosensitive hydrogels; acid-modified laponite; electrophoretic separation of proteins; gold nanoparticles; Albucid.

Рекомендована Радою
хіміко технологічного факультету
КПІ ім. Ігоря Сікорського

Надійшла до редакції
22 листопада 2023 року

Прийнята до публікації
15 травня 2024 року