



ЄФІМОВА

Світлана Леонідівна — член-кореспондент НАН України, завідувач відділу наноструктурних матеріалів ім. Ю.В. Малюкіна Інституту сцинтиляційних матеріалів НАН України

РОЗРОБЛЕННЯ ІННОВАЦІЙНИХ НАНОМАТЕРІАЛІВ ДЛЯ БІОМЕДИЧНИХ ЗАСТОСУВАНЬ

Стенограма доповіді на засіданні Президії НАН України 11 листопада 2021 року

У доповіді наведено найважливіші результати фундаментальних і прикладних досліджень та науково-технічних розробок відділу наноструктурних матеріалів ім. Ю.В. Малюкіна Інституту сцинтиляційних матеріалів НАН України зі створення нових багатофункціональних наноструктурованих матеріалів на основі люмінесцентних редокс-активних та сцинтиляційних нанокристалів, які є перспективними для застосування в біомедичній сфері та фармацевтиці. Показано, що наночастинки на основі оксидів рідкісноземельних елементів мають великий потенціал для використання в медичній практиці.

Шановний Анатолію Глібовичу!

Шановні колеги!

Для мене велика честь презентувати сьогодні на засіданні Президії НАН України нові результати робіт з розроблення інноваційних наноматеріалів для біомедичних застосувань. Ці дослідження було започатковано понад 20 років тому за ініціативою члена-кореспондента НАН України Юрія Вікторовича Малюкіна та за підтримки академіків НАН України Валентина Івановича Грищенка (Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України), Миколи Яковича Співака (Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України) та Володимира Петровича Семиноженка (НТК «Інститут монокристалів» НАН України). Вже тоді було зрозуміло, що лише за умови кооперації біологів, медиків, хіміків та фізиків можна досягти проривних результатів у цій галузі. Так в Інституті сцинтиляційних матеріалів НАН України було створено наш відділ наноструктурних матеріалів, який сьогодні названо ім'ям фундатора цього напрямку Ю.В. Малюкіна.

Сьогодні наноматеріали мають досить широкий спектр використання. Створено вже цілу низку наноматеріалів, перспективних для застосування у різних галузях, однак біомедична сфера, охорона здоров'я, харчова промисловість та сільське господарство належать, так би мовити, до першого кола інтересів.

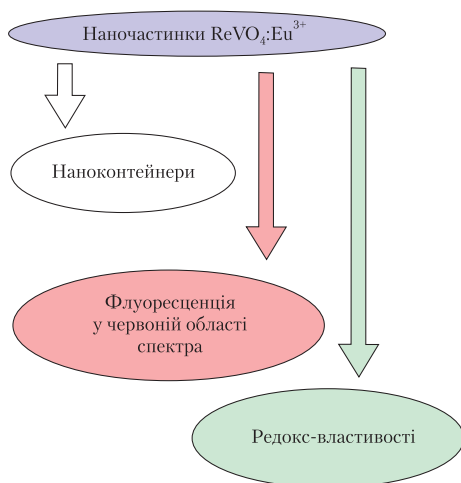


Рис. 1. Властивості наночастинок ортованадатів рідкісноземельних елементів, які зумовлюють можливість їх застосування як тераностичних агентів

У медичній сфері від самого початку наноматеріали різного складу переважно пропонуються для застосування як своєрідні наноконтейнери для доставки лікарських засобів у потрібне місце в організмі, що особливо актуально для лікування онкологічних захворювань. Крім того, наноматеріали часто використовують як діагностичні агенти.

Сьогодні у світі спостерігається дуже цікава тенденція до поєднання в одному лікарському засобі двох складових — з терапевтичною і діагностичною функціями. Цей тренд у медицині, пов'язаний здебільшого з використанням наноматеріалів, здобув назву *тераностика* («терапія» + «діагностика»).

Отже, як вважається, сучасний ефективний лікарський засіб має містити наноконтейнер для цілеспрямованої доставки лікарської речовини, власне лікарський компонент та діагностичний агент (наприклад, флуоресцентний зонд), який дозволяє візуалізувати накопичення лікарського засобу та дослідити ефективність лікування в цілому. Однак «найвищим пілотажем» при розробленні таких тераностичних агентів є застосування наноматеріалів, які здатні виконувати ці функції одночасно.

Мою доповідь присвячено саме таким наноматеріалам — наночастинкам ортованада-

тів рідкісноземельних елементів, які завдяки своїм властивостям можуть бути яскравим прикладом тераностичних агентів (рис. 1). По-перше, їх можна використовувати як наноконтейнери для доставки активного компонента в живу клітину. По-друге, завдяки допудванню іонами європію вони характеризуються яскравою червоною люмінесценцією, що дозволяє візуалізувати їх накопичення в окремих клітинах або тканинах. І по-третє, як було встановлено в наших дослідженнях, ці наночастинки мають редокс-властивості, тобто здатні брати участь у реакціях захоплення електрона, а отже, генерувати або знищувати активні форми кисню. Саме ці властивості дозволяють нам розглядати їх як терапевтичні агенти.

Тут варто пояснити, чому так важливі редокс-властивості цих наночастинок. Активні форми кисню (АФК) — це вільні кисневмісні радикали (супероксид аніон $\text{O}_2^{\bullet-}$, гідроксил радикал $\bullet\text{OH}$, перекис водню H_2O_2 , деякі органічні пероксиди та синглетний кисень). АФК у певних концентраціях відіграють дуже важливу роль у функціонуванні організму. Вони задіяні в таких процесах, як регулювання артеріального тиску, контроль імунної системи, виробництво енергії, сигнальні процеси, ріст клітин, синтез різних біологічних сполук тощо. Необхідний рівень АФК підтримується спеціальною антиоксидантною системою живої клітини, яка включає специфічні ферменти — каталазу, супероксиддисмутазу та ін.

Однак різні негативні фактори зовнішнього середовища, а також стресові стани призводять до підвищення концентрації АФК, з якою наша захисна система не може впоратися, що спричиняє пошкодження клітинних мембран, руйнування ДНК — ситуацію, відому як оксидативний стрес. Згідно з сучасними уявленнями, саме оксидативний стрес є причиною розвитку багатьох захворювань, зокрема діабету, онкологічних і серцево-судинних хвороб, а також старіння організму.

Розвиток досліджень зі з'ясування ролі активних форм кисню зумовив появу нового напрямку — АФК-регулюючої медицини. Цей термін з'явився зовсім недавно і означає застосу-

вання в медичній практиці лікарських засобів, здатних впливати на рівень АФК (анти- або прооксидантів). І в цьому сенсі редокс-активні наноматеріали видаються дуже перспективними.

У наших дослідженнях ми синтезуємо наночастинки ортованадатів рідкісноземельних елементів різного розміру — від кількох нанометрів до десятків і сотень нанометрів — у формі водних колоїдних розчинів, що дуже важливо для біомедичного застосування. Ці наночастинки мають кристалічну структуру і, як уже зазначалося вище, червону флуоресценцію внаслідок наявності в них іонів европію.

Результати робіт з вивчення структури нанокристалів ванадатів засвідчили наявність у кристалічній ґратці значної кількості іонів ванадію зі ступенями окиснення +4 і +3 (поряд зі стехіометричним ванадієм зі ступенем окиснення +5). Причому кількість іонів ванадію з більш низьким ступенем окиснення корелює з розміром нанокристала. Так, у маленьких нанокристалів (з лінійним розміром порядку 5 нм) понад 60 % іонів ванадію мають ступені окиснення +3 і +4 (рис. 2). Це пов'язано з тим, що в оксидних нанокристалах зі зменшенням їх розміру утворюються кисневі вакансії. Залишаючи кристалічну ґратку загалом нейтральною, кисень віддає 2 електрони сусіднім атомам, у нашому випадку — V^{5+} .

Наявність таких «зайвих» електронів вказує на потенційну здатність нанокристалів ортованадатів рідкісноземельних елементів брати участь у нейтралізації АФК, тобто на антиоксидантні властивості цих наночастинок, що й було нами детально вивчено на різних модельних та біологічних системах різного ступеня складності із застосуванням різних сенсорів АФК.

Дійсно, було встановлено, що нанокристали ортованадату гадоліній-ітрію проявляють ензимоподібні властивості. У водних розчинах ми спостерігали (рис. 3) пригнічення утворення супероксид-аніона (подібно до дії супероксиддисмутази) та прискорення розкладання пероксиду водню (подібно до дії каталази) [1].

Антиоксидантні властивості наночастинок ортованадату гадоліній-ітрію спостерігалися також при рентгенівському опроміненні вод-

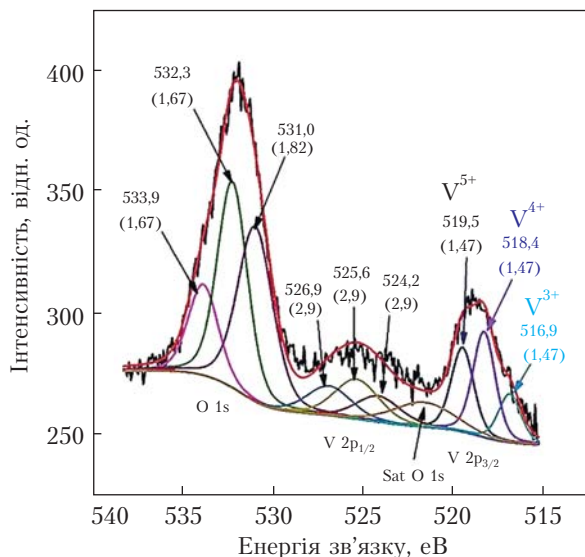


Рис. 2. Спектр наночастинок $GdYVO_4:Eu^{3+}$, отриманий методом рентгенівської фотоелектронної спектроскопії

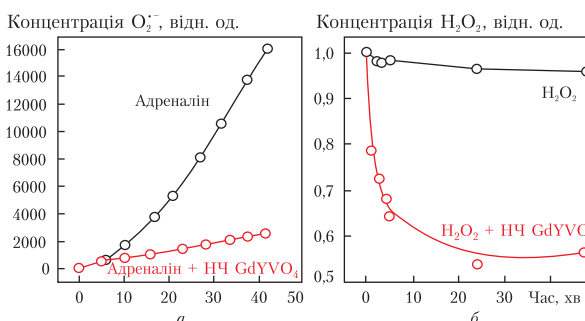


Рис. 3. Ензимоподібні властивості наночастинок $GdYVO_4:Eu^{3+}$. Динаміка утворення супероксид-аніона (а) та пероксиду водню (б) у водному розчині за відсутності та за присутності наночастинок

них розчинів, незважаючи на те, що наночастинки поглинають м'який рентген, який застосовувався в експерименті. У водних розчинах за присутності наночастинок спостерігається зменшення концентрації гідроксильних радикалів як основного продукту радіолізу води (рис. 4) [2], а отже, наночастинки $GdYVO_4:Eu^{3+}$ мають радіопротекторні властивості.

Дуже цікавим виявився той факт, що наночастинки ортованадатів мають не лише антиоксидантні, а й прооксидантні властивості, тобто можуть генерувати АФК [3]. Нанокрис-

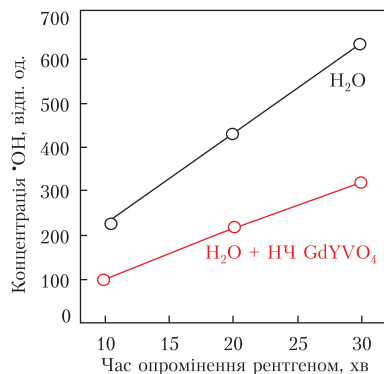


Рис. 4. Динаміка генерації гідроксильних радикалів у водних розчинах, що містять наночастинки $\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$, та у водних розчинах без них при рентгеновському опроміненні ($V = 30$ кВ, $I = 20$ мА)

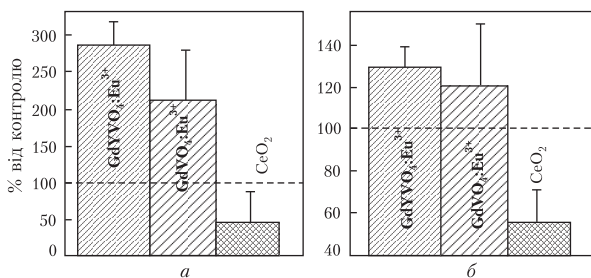


Рис. 5. Відносна ефективність окиснення ліпідів (а) та генерації •ОН-радикалів під дією УФ-опромінення (б) у водних розчинах, які містять наночастинки $\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$, $\text{GdVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ та CeO_2

тали належать до широкозонних напівпровідників, опромінення їх ультрафіолетом приводить до утворення електрон-діркових пар, які можуть мігрувати до поверхні наночастинки та взаємодіяти з адсорбованими на ній молекулами кисню і води з утворенням, відповідно, супероксид-аніона і гідроксил-радикала. Дані, наведені на рис. 5, свідчать про те, що присутність наночастинок ортованадатів гадоліній-ітрію і гадолінію прискорює окиснення ліпідів (модель клітинних мембран) та зумовлює генерацію гідроксильних радикалів під дією УФ-опромінення, на відміну від широковідомих наночастинок діоксиду церію, які в цих умовах зберігають свої антиоксидантні властивості.

Крім того, у наших дослідженнях було вперше встановлено ефект так званої темної ге-

нерації АФК. Показано, що при попередньому опроміненні УФ-світлом спостерігається запасання носіїв заряду на пастках — дефектах структури наночастинок. Після зняття опромінення, в темнових умовах, електрони та дірки поступово вивільнюються з пасток, мігрують до поверхні наночастинки, де взаємодіють з адсорбованими молекулами кисню та води. Ефект темної генерації спостерігався як для гідроксил-радикалів, так і для супероксид-аніона. Причому для •ОН-радикалів цей ефект тривав упродовж 4 днів після попереднього опромінення розчинів (рис. 6), а ефективність темної генерації була порівнянною з фотоіндукованою генерацією АФК, тобто такою, що спостерігається при опроміненні зразків [4].

Отже, наночастинки $\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ і $\text{GdVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ мають унікальні АФК-регулюючі властивості, якими ми можемо керувати за власним бажанням!

Тест з окисненням ліпідів (модельна система клітинних мембран як найперша мішень ураження АФК) підтвердив, що попереднє УФ-опромінення наночастинок перед введенням їх у систему значно прискорює окиснення ліпідів, тоді як наночастинки, які не були опромінені, є ефективними антиоксидантами, тобто захищають ліпіди від окиснення. Такий самий ефект спостерігали й в експерименті з оцінювання життєздатності клітин фібробластів миші при додаванні наночастинок обох типів [5].

Ще одним напрямом наших досліджень є створення композицій складу «сцинтиляційна наночастинка — органічна молекула-фотосенсибілізатор» для потреб фотодинамічної терапії. Цей медичний підхід оснований на застосуванні органічних молекул фотосенсибілізаторів, які при опроміненні світлом, як правило, в червоній ділянці спектра, генерують синглетний кисень — дуже реактивну форму АФК, яка ефективно руйнує клітини, зокрема пухлинні. Однак цей метод має суттєвий недолік — він призначений для лікування лише поверхневих пухлин, оскільки збуджувальне світло поглинається тканинами організму. Нещодавно було запропоновано використовувати у цьому підході сцинтиляційні наночастинки, які ефек-

тивно поглинають рентгенівське випромінювання та передають енергію збудження молекулам фотосенсибілізатора, які, в свою чергу, генерують синглетний кисень. Використання сцинтиляційних наночастинок дозволить лікувати глибоко розташовані пухлини та вирішити ще кілька проблем, таких як селективна доставка фотосенсибілізатора безпосередньо в пухлину, забезпечення синергетичного ефекту, ідентифікація накопичення наночастинок у пухлині за їх люмінесценцією.

Ми створили комплекс на основі сцинтиляційних наночастинок фториду лантану, допованого тербієм, та молекул фотосенсибілізатора бенгальського рожевого, який характеризується ефективним перенесенням енергії електронного збудження між наночастиною та органічною молекулою, а також, як наслідок, ефективною генерацією синглетного кисню при рентгенівському опроміненні. Крім того, наночастинок фториду лантану при рентгенівському опроміненні здатні генерувати і гідроксил-радикали, що дуже актуально для лікування злоякісних пухлин, які, як відомо, збіднені киснем (рис. 7) [6].

У рамках наших досліджень з розроблення та застосування наноматеріалів ми плідно співпрацюємо з Інститутом проблем кріобіології і кріомедицини НАН України; Інститутом медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва НАМН України; Інститутом проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України; Харківським національним медичним університетом; Інститутом біології Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна; Інститутом мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України; Інститутом експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України; Національним науковим центром «Інститут ґрунтознавства та агрохімії імені О.Н. Соколовського»; Національним науковим центром «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»; Інститутом тваринництва НААН України; кафедрою ветеринарної хірургії та репродуктології Державного біотехнологічного університету. Ми

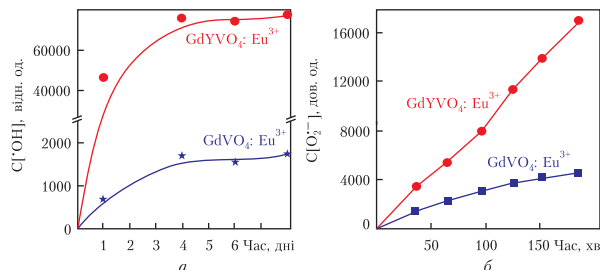


Рис. 6. Темнова генерація $\cdot\text{OH}$ (а) та $\text{O}_2^{\cdot-}$ (б) радикалів у водних розчинах, що містять наночастинок $\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ і $\text{GdVO}_4:\text{Eu}^{3+}$

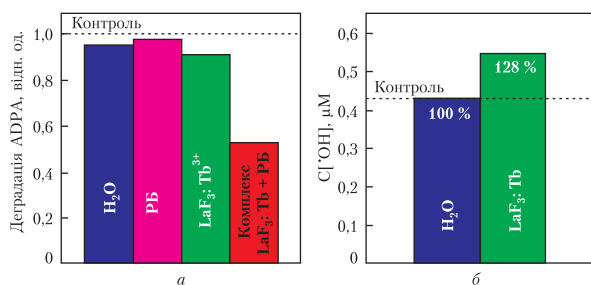


Рис. 7. Генерація синглетного кисню (а) комплексом $\text{LaF}_3:\text{Tb}^{3+}$ -РБ та його окремими компонентами і генерація $\cdot\text{OH}$ -радикалів (б) при рентгенівському опроміненні впродовж 20 хв

також виконували спільні наукові дослідження з фармацевтичною компанією «Фармак».

Я лише коротко розповім про найбільш цікаві з цих результатів.

Спільно з Інститутом проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України з використанням наночастинок ортованадатів гадолінію було розроблено мазь з репаративними властивостями. Показано, що при застосуванні цієї мазі загоєння ран у тварин з діабетом відбувалося ефективніше порівняно навіть з традиційним ранозагоювальним засобом вундехіл. Мазь виявилася також ефективною при лікуванні пролежнів у хворої, яка страждає на цукровий діабет 2-го типу.

Дуже цікаві експерименти було проведено спільно з біологами Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна. Аналізували вплив хронічного застосування водних розчинів ортованадатів гадолінію на старіючий організм щурів. Як уже зазначалося, з ві-



Рис. 8. Дільниця синтезу наночастинок біомедичного призначення

ком активність антиоксидантних ферментів знижується, що призводить до накопичення продуктів вільнорадикального окиснення. В експериментах було показано, що вживання з водою впродовж тривалого часу наночастинок $GdVO_4:Eu^{3+}$ привело до достовірного зменшення концентрації гідропероксидів ліпідів у печінці і крові старіючих щурів, а також до підвищення активності антиоксидантних ферментів практично до рівня молодих тварин. Крім того, вживання водного розчину наночастинок ортованадатів сприяло подовженню тривалості життя щурів. Так, медіана виживання контрольних щурів становила 900 днів, а у піддослідних тварин, які отримували з питною водою наночастинок $GdVO_4:Eu^{3+}$, — 1010 днів. Смерть останньої контрольної тварини було зафіксовано на 1130-й день після народження, а піддослідної — на 1160-й день [7].

Ми також використали так звану модель прискороного старіння, тобто застосували надмірне харчування тварин у ранньому віці, щоб з'ясувати здатність наночастинок ортованадатів гадолінію корегувати гормональні порушення, які розвиваються у зростаючому організмі в разі надмірного харчування. Встановлено, що застосування наночастинок $GdVO_4:Eu^{3+}$ збільшує виживаність експериментальних тварин на 32 %, а тривалість життя — на 25 % порівняно з групою прискороного старіння [8].

У співпраці з фармацевтичною компанією «Фармак» було розроблено методики отримання водорозчинних форм гідрофобних біологічно активних сполук, у тому числі лікарських засобів з використанням наночастинок з антиоксидантними властивостями. Ці методики компанія використала при створенні оригінальної «капсульованої» форми протизапального засобу для лікування печінки. Спільно з колегами з Австрії її було протестовано на 3D-моделі печінки і показано поліпшення протизапальних властивостей препарату [9].

Наведені результати було отримано при виконанні таких проєктів: «Створення наноматеріалів з керованою електро-, фото- та рентген-стимульованою активністю» (2016–2018); «Розробка багатофункціональних біосумісних наноконтейнерів і наноносіїв для доставки, діагностики і лікування» в межах цільової комплексної програми фундаментальних досліджень НАН України «Матеріали для медицини і медичної техніки та технології їх отримання і використання» (2017–2021); «Дослідження механізмів редокс-активності нанокристалів оксидів, що містять іони зі змінною валентністю ($MeVO_4$, $MeWO_4$, Sr_2CeO_4), та створення гібридних комплексів «нанокристал — органічна молекула» (2019–2021). Зараз ці роботи продовжуються в рамках проєкту «Розробка наноматеріалів з керованою редокс-активністю та люмінесцентними властивостями для біомедичних застосувань» (2020–2022), що здобув грант Національного фонду досліджень України за підсумками конкурсу «Підтримка досліджень провідних та молодих вчених».

За останні 5 років науковці відділу наноструктурних матеріалів ім. Ю.В. Малюкіна Інституту сцинтиляційних матеріалів НАН України опублікували за цією тематикою понад 50 наукових статей, більшість з яких — у міжнародних журналах з високим імпаکت-фактором, що належать до кuartилів Q1 і Q2; було захищено 2 докторські та 3 кандидатські дисертації; отримано 4 патенти України на винахід, 4 патенти України на корисну модель, подано 2 заявки на винахід.

Для масштабування методик синтезу наночастинок в Інституті сцинтиляційних матеріалів

лів НАН України було створено дільницю синтезу наночастинок біомедичного призначення (рис. 8).

На завершення хочу подякувати всім колегам, які брали участь у виконанні цих досліджень, а також вшанувати пам'ять Юрія Вікто-

ровича Малюкіна, який був ініціатором та засновником напрямку з розроблення і дослідження наноматеріалів біомедичного призначення.

Дякую за увагу!

За матеріалами засідання підготувала О.О. Мележик

REFERENCES

[СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ]

1. Maksimchuk P.O., Hubenko K.O., Seminko V.V., Karbivskii V.L., Tkachenko A.S., Onishchenko A.I., Prokopyuk V.Yu., Yefimova S.L. High antioxidant activity of gadolinium-yttrium orthovanadate nanoparticles in cell-free and biological milieu. *Nanotechnology*. 2021. **33**(5): 055701. DOI: <https://doi.org/10.1088/1361-6528/ac31e5>
2. Maksimchuk P.O., Yefimova S.L., Omielaieva V.V., Hubenko K.O., Klochkov V.K., Opolonin O.D., Malyukin Yu.V. X-ray Induced Hydroxyl Radical Generation by $\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ Nanoparticles in Aqueous Solution: Main Mechanisms. *Crystals*. 2020. **10**(5): 370. DOI: <https://doi.org/10.3390/cryst10050370>
3. Yefimova S.L., Maksimchuk P.O., Seminko V.V., Kavok N.S., Klochkov V.K., Hubenko K.A., Sorokin A.V., Kurilchenko I.Yu., Malyukin Yu.V. Janus-faced redox activity of $\text{LnVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ ($\text{Ln} = \text{Gd}, \text{Y}, \text{La}$) nanoparticles. *J. Phys. Chem. C*. 2019. **123**(24): 15323–15329. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.9b03040>
4. Maksimchuk P.O., Yefimova S.L., Hubenko K.O., Omielaieva V.V., Kavok N.S., Klochkov V.K., Sorokin A.V., Malyukin Yu.V. Dark Reactive Oxygen Species Generation in $\text{ReVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ ($\text{Re} = \text{Gd}, \text{Y}$) Nanoparticles in Aqueous Solutions. *J. Phys. Chem. C*. 2020. **124**(6): 3843–3850. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.9b10143>
5. Yefimova S.L., Maksimchuk P.O., Hubenko K.O., Omielaieva V.V., Kavok N.S., Klochkov V.K., Malyukin Yu.V., Semynozhenko V.P. Light-triggered redox activity of $\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ nanoparticles. *Spectrochimica Acta A*. 2020. **242**: 118741. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2020.118741>
6. Maksimchuk P.O., Hubenko K.O., Bepalova I.I., Sorokin A.V., Borovoy I.A., Yefimova S.L. $\text{LaF}_3:\text{Tb}^{3+}$ Bengal Rose nanocomplexes for X-ray activated ROS generation. *Journal of Molecular Liquids*. 2021. **330**(208): 115653. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.115653>
7. Nikitchenko Y.V., Klochkov V.K., Kavok N.S., Karpenko N.A., Yefimova S.L., Nikitchenko I.V., Bozhkov A.I. Correction to: Age-Related Effects of Orthovanadate Nanoparticles Involve Activation of GSH-Dependent Antioxidant System in Liver Mitochondria. *Biological Trace Element Research*. 2021. **199**(3): 1213. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12011-020-02225-5>
8. Nikitchenko Y.V., Klochkov V.K., Kavok N.S., Karpenko N.A., Sedyh O.O., Bozhkov A.I., Malyukin Y.V., Semynozhenko V.P. Orthovanadate nanoparticles delay the accelerated aging in rats via the prevention of oxidative disturbances. *Dopov. Nac. Akad. Nauk Ukr.* 2020. (7): 43–51. DOI: <https://doi.org/10.15407/dopovidi2020.07.043>
9. Eilenberger C., Selinger F., Rothbauer M., Lin Y., Limbeck A., Schädler B., Grillari J., Kavok N.S., Klochkov V.K., Malyukin Yu.V., Margitich V., Ertl P. Cytotoxicity, Retention, and Anti-inflammatory Effects of a CeO_2 Nanoparticle-Based Supramolecular Complex in a 3D Liver Cell Culture Model. *ACS Pharmacol. Transl. Sci.* 2021. **4**(1): 101–106. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsptsci.0c00170>

Svetlana L. Yefimova

Institute for Scintillation Materials of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine
 ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2092-1950>

DEVELOPMENT OF INNOVATIVE NANOMATERIALS FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS

Transcript of report at the meeting of the Presidium of NAS of Ukraine, November 11, 2021

The report presents the most important results of basic and applied research and scientific and technical developments of the Yu.V. Malyukin Department of Nanostructured Materials of the Institute of Scintillation Materials of the NAS of Ukraine to create new multifunctional nanostructured materials based on luminescent redox-active and scintillation nanocrystals, which are promising for use in the biomedical field and pharmacology. It is shown that nanoparticles based on oxides of rare earth elements have great potential for use in medical practice.

Keywords: inorganic nanoparticles, antioxidant, reactive oxygen species, theranostics.