



© С.В. Валуева^{1,2}, А.В. Панченко¹, П.Ю. Морозова^{1,2}, А.Л. Семенов¹,
А.Б. Данилова¹, И.Г. Попович¹, С.С. Круглов¹

Оценка возможности применения гибридных трехкомпонентных наносистем на основе наночастиц селена, графт-сополимеров и Радахлорина для направленной доставки в опухоль

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация

²Филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова национального исследовательского центра «Курчатовский институт» – Институт высокомолекулярных соединений, Санкт-Петербург, Российская Федерация

© Svetlana V. Valueva^{1,2}, Andrey V. Panchenko¹, Polina Yu. Morozova^{1,2}, Alexander L. Semenov¹,
Anna B. Danilova¹, Irina G. Popovich¹, Stepan S. Kruglov¹

Evaluation of the Potential of Hybrid Tri-Component Nanosystems Based on Selenium Nanoparticles, Graft Copolymers and Radachlorin for Targeted Tumor Delivery

¹N.N. Petrov National Medicine Research Center of Oncology, St. Petersburg, the Russian Federation

²Branch of Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute» — Institute of Macromolecular Compounds, St. Petersburg, the Russian Federation

Введение. В качестве перспективных наноструктурированных материалов для адресной доставки лекарственных веществ рассматриваются сополимеры с полиимидной или целлюлозной основной цепью и боковыми цепями полиметакриловой кислоты. В работе проведена оценка *in vitro* и *in vivo* накопления в опухоли гибридных трехкомпонентных наносистем на основе наночастиц селена, графт-сополимеров с полиимидной (ГТН-1) или целлюлозной (ГТН-3) основной цепью и боковыми цепями полиметакриловой кислоты, и фотосенсибилизатора Радахлорина.

Материалы и методы. Накопление и локализация ГТН-1 и ГТН-3 в опухолевых клетках оценены методом флуоресцентной конфокальной микроскопии в культуре клеток мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря человека через 24 ч. инкубации и у мышей линии BALB/c с внутривенно перевитой опухолью Эрлиха методом флуоресцентной визуализации системой Fluor i In Vivo через 1, 2, 3, 4, 6 и 24 ч. после внутривенного введения исследуемых веществ. С помощью программы ImageJ оценивали контраст флуоресцентного сигнала опухоль/тело.

Результаты. Анализ конфокальных изображений продемонстрировал накопление обеих наносистем в цитоплазме злокачественных клеток, которое было сопоставимо с накоплением Радахлорина. В опухоли Эрлиха у мышей интенсивность флуоресценции наносистем и Радахлорина была выше, чем в окружающей ткани спустя 6 и 24 ч. после внутривенного введения. Контраст флуоресценции опухоль/ткань увеличивался после введения, достигнув пиковых значений 1,4 для Радахлорина, спустя 4 ч., 1,5 для ГТН-1 через 4–6 ч. и 1,4 через 6–24 ч. после введения ГТН-3. Увеличение времени достижения пикового значения контраста опухоль/ткань связано с изменением фармако-

Introduction. Copolymers with a polyimide or cellulose backbone and polymethacrylic acid side chains are considered as promising nanostructured materials for targeted drug delivery. In the study *in vitro* and *in vivo* accumulation in tumors was assessed for hybrid tri-component nanosystems based on selenium nanoparticles, graft copolymers with a polyimide (HTN-1) or cellulose (HTN-3) backbone and side chains of polymethacrylic acid, and the photosensitizer Radachlorin.

Materials and Methods. The accumulation and localization of HTN-1 and HTN-3 in tumor cells was assessed by fluorescence confocal microscopy in human muscle non-invasive bladder cancer cell line after 24 h incubation. The *in vivo* study was performed in BALB/c mice with intradermally inoculated Ehrlich tumors. Evaluation was performed using the Fluor i In Vivo fluorescence imaging system at 1, 2, 3, 4, 6 and 24 hours after intravenous administration of the test compounds. The tumor/body fluorescence signal contrast was assessed using the ImageJ software.

Results. Confocal image analysis revealed the accumulation of both nanosystems in the cytoplasm of malignant cells, which was comparable to the accumulation of Radachlorin. In the Ehrlich tumor in mice, the fluorescence intensity of the nanosystems and Radachlorin was higher than in the surrounding tissue 6 and 24 hours after intravenous administration. Tumor/tissue fluorescence contrast increased after administration with peak values of 1.4 at 4 hours for Radachlorin, 1.5 at 4-6 hours for HTN-1 and 1.4 at 6-24 hours for HTN-3. The increase in time to peak tumor/tissue contrast is due to the change in pharmacokinetic properties when Radachlorin is incorporated into the nanosystems.

кинетических свойств при включении Радахлорина в наносистемы.

Выводы. Гибридные трехкомпонентные наносистемы с полиимидной или целлюлозной основными цепями эффективно накапливаются в опухолевых клетках, обеспечивают замедление выведения из опухоли, что определяет перспективность разработки на их основе препаратов направленной доставки для лечения и диагностики онкологических заболеваний.

Ключевые слова: гибридные трехкомпонентные наносистемы; наночастицы селена; Радахлорин; фотодинамическая терапия; флуоресцентная диагностика; опухоль; мышь

Для цитирования: Валуева С.В., Панченко А.В., Морозова П.Ю., Семенов А.Л., Данилова А.Б., Попович И.Г., Круглов С.С. Оценка возможности применения гибридных трехкомпонентных наносистем на основе наночастиц селена, графт-сополимеров и Радахлорина для направленной доставки в опухоль. *Вопросы онкологии*. 2024; 70(6): 1068-1076. -DOI: 10.37469/0507-3758-2024-70-6-1068-1076

✉ Контакты: Круглов Степан Сергеевич, oncokss@gmail.com

Введение

Последние десятилетия большое внимание и усилия направлены на разработку наноструктурированных материалов для адресной доставки лекарственных веществ [1, 2, 3]. Контролируемая доставка лекарственного вещества, определенно, имеет большую важность для лечения онкологических заболеваний. Это связано с тем, что в химиотерапии большинство препаратов, используемых в клинической практике, обладают неспецифичностью их распределения в организме после приема и низкой специфичностью действия в отношении опухолевых клеток, повреждая и нормальные [4]. Включение лекарственного вещества в наноструктурированную форму создает принципиальную возможность обеспечить селективную доставку к опухолевым клеткам, увеличить количество доставляемого препарата, что может повысить эффективность лечения или уменьшить риск возникновения нежелательных побочных явлений. Адресность доставки реализуется, благодаря введению молекулы, обеспечивающей специфическое взаимодействие с опухолевыми клетками (антитела, пептиды, поли/олигосахариды, гормоны и др.) [1] или пассивного механизма повышенной проницаемости и удержания (enhanced permeability and retention — EPR), связанного с особенностями опухолевого ангиогенеза [5]. Первый противоопухолевый нанопрепарат Doxil®, разрешенный к применению в 1995 г., представлял собой липосомальную форму доxorубина с пассивным механизмом накопления в опухоли [6]. Немаловажное значение имеет и возможность введения не одного, а сочетания нескольких соединений, одно из которых обеспечивает диагностическую функцию, а другое — лечебную. Кроме того, возможно введение веществ, которые под воз-

Conclusion. Hybrid tri-component nanosystems with polyimide or cellulose backbones accumulate efficiently in tumor cells and slow down clearance from the tumor. Therefore, the development of targeted drugs based on them appears to be a perspective for the treatment and diagnosis of oncological diseases.

Keywords: hybrid tri-component nanosystems; selenium nanoparticles; Radachlorin; photodynamic therapy; fluorescence diagnostics; tumor; mouse

For Citation: Svetlana V. Valueva, Andrey V. Panchenko, Polina Yu. Morozova, Alexander L. Semenov, Anna B. Danilova, Irina G. Popovich, Stepan S. Kruglov. Evaluation of the potential of hybrid tri-component nanosystems based on selenium nanoparticles, graft copolymers and Radachlorin for targeted tumor delivery. *Voprosy Onkologii = Problems in Oncology*. 2024; 70(6): 1068-1076. (In Rus). -DOI: 10.37469/0507-3758-2024-70-6-1068-1076

действием внешнего стимула вызывают высвобождение лекарственного препарата уже после аккумуляции в опухоли.

Разработано большое число различных наноструктурированных материалов для адресной доставки: наноконъюгаты, нанокапсулы (липосомы, мицеллы), наночастицы (нанокристаллы, металлические наночастицы) и др. Описание многообразия и свойств наноразмерных носителей для лекарственных препаратов выходит за рамки данной статьи и представлено в литературе [5, 7, 8]. Наночастицы прежде всего предназначены не для перорального, а для системного введения для обеспечения транспорта к органам-мишеням, длительной циркуляции в кровеносном русле или создания депо в мышечной ткани с постепенным поступлением в кровь самих наночастиц или доставляемого препарата. Наночастицы первого поколения при внутривенном введении быстро удалялись из кровяного русла путем их захвата ретикулоэндотелиальной системой, преимущественное накопление происходило в печени, селезенке, клетках костного мозга. Дальнейшие направления были связаны с созданием наночастиц, способных избежать захвата ретикулоэндотелиальной системой.

Вышесказанное хорошо иллюстрирует многочисленные попытки создания нанопрепаратов на основе платины с использованием липосом, циклодекстринов, углеродных нанотрубок, полимерных или металлических наночастиц и др. [9], в т. ч. путем создания комбинированных нанопрепаратов с лекарственными веществами, оказывающими синергетическое противоопухолевое действие [10]. Цисплатин — традиционное лекарственное средство, используемое в химиотерапии новообразований на протяжении десятилетий, и сохраняющее свое значение.

Успехи в разработке наносистем позволяют рассматривать даже высокоактивные яды в качестве потенциальных терапевтических противоопухолевых средств [11].

В последнее время наносистемы, созданные на основе полимерных носителей, вызывают возрастающий интерес в фармакологии. При циркуляции таких носителей содержащиеся в них лекарственные вещества защищены от инактивации, а их действие пролонгируется. Например, сополимер полимолочной кислоты и полигликолевой кислоты, благодаря своей универсальности в модификациях полимерной цепи широко изучается в различных областях исследований наносистем, таких как доставка генов (нуклеиновых кислот), пептидов, белков. Он обладает высокой биосовместимостью, обеспечивает длительное и целенаправленное высвобождение, улучшая биодоступность и защиту инкапсулированных биофармацевтических препаратов от ферментативной деградации [12]. Амфифильные сополимеры альфа-аминокислот разрабатываются для внутриклеточной доставки мРНК/ДНК [13].

В качестве перспективных рассматриваются сополимеры с полиимидной или целлюлозной основной цепью и боковыми цепями полиметакриловой кислоты [14, 15].

В данной работе проведена оценка возможности доставки гибридных трехкомпонентных наносистем (ГТН) на основе наночастиц селена, графт-сополимеров с полиимидной или целлюлозной основной цепью и боковыми цепями полиметакриловой кислоты, и фотосенсибилизатора Радахлорина (РХ) в опухоль *in vitro* и *in vivo*. Выбор селена обусловлен перспективностью его применения в тераностике злокачественных новообразований [16].

Выбор РХ обусловлен тем, что он является средством, применяемым для флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии злокачественных опухолей, что позволяет визуализировать накопление ГТН в опухолевых клетках как *in vitro*, так и *in vivo*.

Материалы и методы

Препараты и вещества. В работе использовали две модификации гибридных тройных наносистем (ГТН) на основе РХ, наночастиц селена (Se^0) и полимерных носителей, в качестве которых использовались амфифильные молекулярные щетки с полиимидной (ГТН-1) и целлюлозной основной цепью (ГТН-3). ГТН получены путем двухстадийного синтеза: первый этап — стабилизация наночастиц селена и полимерных носителей, второй этап — введение молекул РХ (ООО «Рада-Фарма», Россия).

Методом УФ-спектроскопии (спектрофотометр Shimadzu UV-1900, Япония) было показано формирование ГТН (Se^0 /полимерный носитель/РХ). При формировании ГТН, по-видимому, имеет место механизм стерической стабилизации наночастиц селена макромолекулами полимерных носителей преимущественно за счет гидрофобных взаимодействий наночастиц с метильными группами полимерных носителей, с последующим встраиванием наночастиц селена по типу металл-порфириновых комплексов внутрь порфиринового кольца РХ [15].

Методом атомно-силовой микроскопии (АСМ) (микроскоп Nanotop NT-206, ОДО «Микротест-машины», Беларусь) в изученных ГТН были обнаружены дискретные наноструктуры сферической формы диаметром $D_{АСМ} = 80-150$ нм (рис. 1). В табл. 1 представлены размеры $D_{АСМ}$ для ГТН-1 и ГТН-3 и расчетные математические параметры отклонений профиля R_a и R_q .

В экспериментах использовали РХ в виде готовой лекарственной формы (раствор 3,5 мг/мл). При введении РХ в состав ГТН его конечная расчетная концентрация в них составила 1 мг/мл.

Оценка накопления в опухолевых клетках *in vitro*. Изучение накопления и локализации в опухолевых клетках проводили методом флуоресцентной конфокальной микроскопии (Olympus FV3000, Япония). Клетки мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря человека 587 ВiCan TVV, 12-ый пассаж (патент RU 2742244 от 04.02.2021) культивировали в питательной среде DMEM/F12 (80 %) с эмбриональной телячьей сывороткой (20 %) и антибиотиками (пенициллин 100 ед/мл, стрептомицин 100 мкг/мл при 37 °С, 5 % CO_2 и 100 % влажности (все реагенты производства ООО «Биолот», Россия). В чашки Петри для конфокальной микроскопии (Ibidi, США) рассеивали по 75 000 клеток. Через 48 ч. при получении монослоя заменяли полную питательную среду на питательную среду, содержащую 20 мкг/мл по РХ исследуемых веществ (ГТН-1, ГТН-3, РХ, исходные растворы разбавляли питательной средой) и без них, инкубировали 24 ч. Далее клетки отмывали от исследуемых веществ, ядра клеток окрашивали Hoechst 33342 (Sigma Aldrich, США) в течение 10 мин., отмывали от красителя и визуализировали. Далее проводили фиксацию клеток 3,7 % забуференным формальдегидом в течение 5 мин. и повторно визуализировали.

Оценка накопления в опухоли *in vivo*. Исследование проведено на 10 мышах самках и самцах (по 5 животных) линии BALB/c средним весом $22,7 \pm 0,5$ г самки и $25,3 \pm 2,0$ самцы (филиал ФГБУН НЦБМТ ФМБА России — питомник

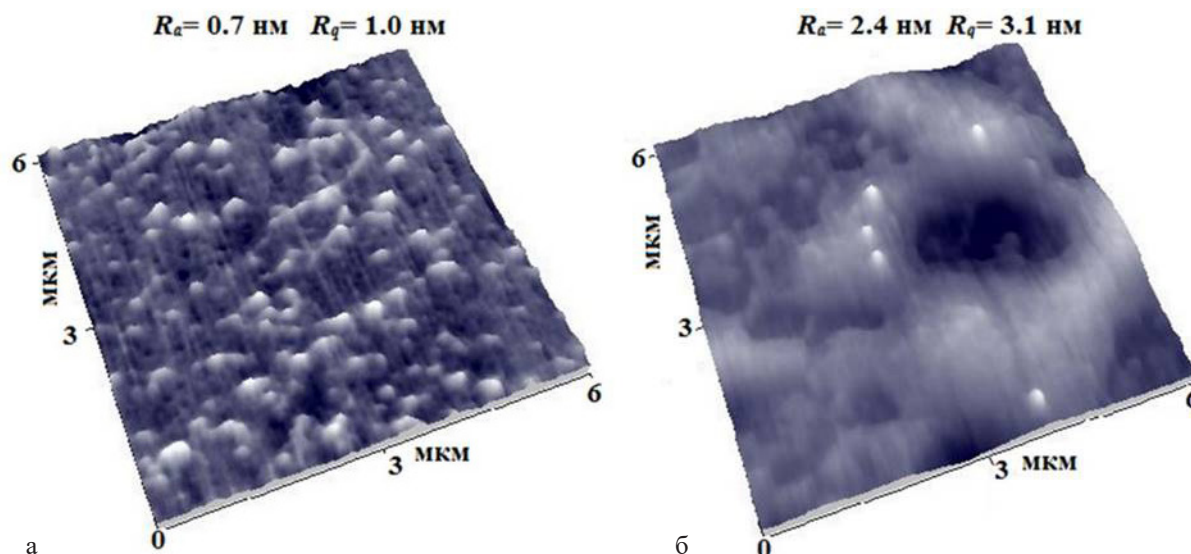


Рис. 1. 3D-изображения поверхности тонких пленок, полученных из водных растворов ГТН-1 (а) и ГТН-3 (б), методом АСМ
 Fig. 1. 3D images of the surface of thin films obtained from aqueous solutions of HTN-1 (a) and HTN-3 (b) by AFM

Таблица 1. Размеры сферических наноструктур $D_{АСМ}$ и расчетные математические параметры отклонений профиля R_a и R_q , определенные методом АСМ для пленок, полученных на слюде из водных растворов ГТН

Table 1. Dimensions of spherical nanostructures $D_{АСМ}$ and calculated parameters of R_a and R_q profile deviations determined by AFM for films obtained on mica from aqueous solutions of hybrid tri-component nanosystems (HTN)

<i>m</i>	$D_{АСМ}$, нм	R_a , нм	R_q , нм
ГТН-1	80–150	0,7	1,0
ГТН-3	150	2,4	3,1

лабораторных животных «Столбовая», Россия). Животных содержали в пластиковых клетках (тип II, Tecniplast, Италия) во внутреннем помещении со стандартизированными условиями (12:12 часовой режим искусственного освещения, приточно-вытяжная вентиляция, температура воздуха 20–25 °С). Мыши получали комбинированный корм для содержания лабораторных грызунов (ООО «Лабораторкорм», Россия) и питьевую воду *ad libitum*. Все манипуляции с животными осуществлялись в соответствии с этическими принципами, установленными Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и прочих научных целях (Страсбург, 1986 г.). Исследование было одобрено Локальным этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (протокол № 12 от 30.05.2024).

Моделирование опухолевого процесса. В исследовании использовали модель внутрикожно перевитой опухоли Эрлиха по методике, описанной ранее [17]. За день до перевивки у мышей депилировали участок кожи кремом для депиляции, что облегчало контроль введения опухолевых клеток и последующую визуализацию зоны перевивки. Из 10 мышей (5 самцов и 5 самок)



Рис. 2. Фотография мыши самца BALB/c с перевитой внутрикожно опухолью Эрлиха на правом бедре, шерсть депилирована

Fig. 2. Image of a male BALB/c mouse with an intradermally inoculated Ehrlich tumor on the right thigh, the fur was depilated

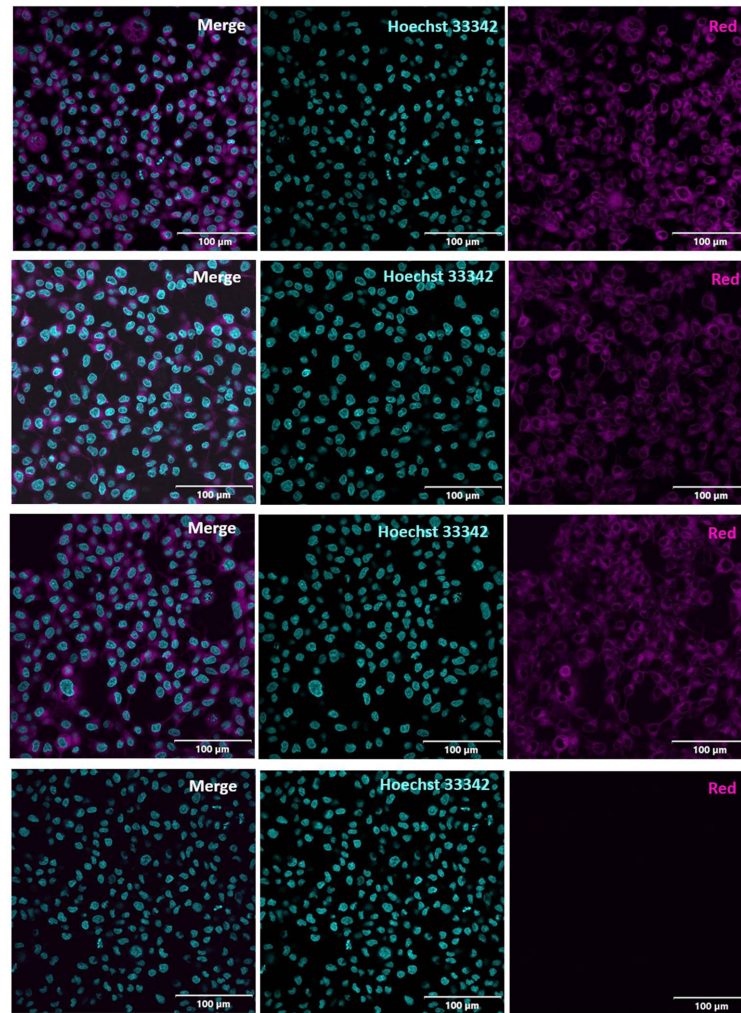


Рис. 3. Флуоресцентные фотографии микропрепаратов клеток рака мочевого пузыря РМП #587 BICan TVV после 24 ч. инкубации с веществами. Верхний ряд — инкубация с РХ. Второй ряд — инкубация с ГТН-1. Третий ряд — инкубация с ГТН-3. Нижний ряд — отрицательный контроль. Слева направо: совмещенное изображение, окраска Hoechst 33342, флуоресценция РХ, ГТН-1 и ГТН-3 соответственно

Fig. 3. Fluorescence images of micropreparations of bladder cancer cells RMP #587 BICan TVV after 24 hours of incubation with substances. Top row shows incubation with Radachlorin. The second row shows incubation with HTN-1. The third row is incubation with HTN-3. Bottom row is negative control. From left to right: merged image, Hoechst 33342 staining, and fluorescence of Radachlorin, HTN-1 and HTN-3, respectively

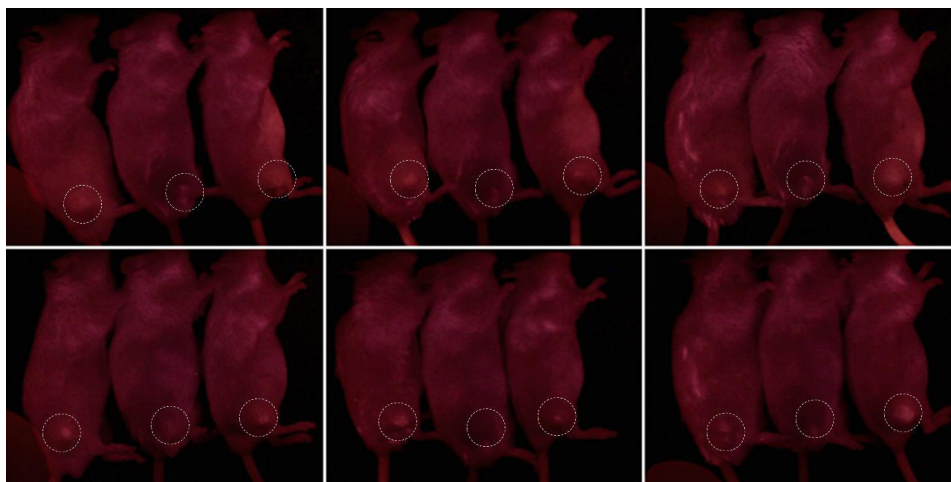


Рис. 4. Флуоресцентные изображения мышей с опухолью через 6 (верхний ряд) и 24 ч. (нижний ряд) после введения веществ. На каждом изображении по три мыши, слева — самец, посередине — контроль без введения веществ, справа — самка. Прерывистая окружность обозначает зону опухоли. В левом столбце введение РХ, в центральном столбце — ГТН-1, в правом столбце — ГТН-3

Fig. 4. Fluorescence images of tumor-bearing mice after 6 (top row) and 24 (bottom row) hours since administration of the substances. There are three mice in each image, the male on the left, the female on the right, and the control mouse in the middle, which has not received any substance. The dashed circle indicates the tumor area. The left column corresponds to Radachlorin, the middle column corresponds to HTN-1 and the right column corresponds to HTN-3

были отобраны 7 животных, удовлетворявших критерию наибольшего линейного размера опухоли 10 мм ± 10 % (рис. 2), и сформированы четыре группы животных (табл. 2). Исходные вещества разводили стерильным физиологическим раствором NaCl и вводили в объеме 5 мл на 1000 г массы тела в хвостовую вену с помощью инсулинового шприца с размером иглы 26G. За мышами вели непрерывное наблюдение в течение 6 ч. после введения, через 12 и 24 ч. В эксперименте были взяты оба пола животных для визуальной оценки гендерной зависимости и получения усредненных данных о распределении наносистем.

Для визуализации накопления нанопрепаратов животных фиксировали под газовым наркозом изофлураном с помощью аппарата Ugo Basile Gas Anesthesia machine (Италия). Для регистрации флуоресценции использовали систему флуоресцентной визуализации Fluor i In Vivo (Южная Корея) с возможностью подключения аппарата газового наркоза. Использовали канал «Red» Excitation Light с длиной волны возбуждения 620 нм, возбуждающий коротковолновый фильтр 675 нм и эмиссионный длинноволновый фильтр 725 нм. Изображения фиксировали через 1, 2, 3, 4, 6 и 24 ч. после введения исследуемых веществ. Полученные цифровые изображения анализировали в программе ImageJ (National Institute of Health, Bethesda, MD, США). Контрастность оценивали, выделяя область опухоли и область нормальной ткани рядом с опухолью одинаковой площади.

Эвтаназию всех животных провели сразу по окончании регистрации данных последней временной точки (24 ч.) методом ингаляции CO₂.

Результаты

Для определения накопления и локализации ГТН-1 и ГТН-3 в опухолевых клетках провели эксперимент на клетках рака мочевого пузыря человека. Анализ конфокальных изображений продемонстрировал, что исследуемые наносистемы накапливаются в цитоплазме злокачественных клеток, при этом интенсивность процесса сопоставима с накоплением РХ (рис. 3). Как видно на изображениях в совмещенном режиме РХ, ГТН-1 и ГТН-3 вместе с Hoechst 33342 окрашивают все клетки препарата. На изображениях только с РХ, ГТН-1 и ГТН-3 флуоресцентный сигнал визуализируется только в цитоплазме клеток. В контрольной группе флуоресцентного сигнала цитоплазмы клеток не видно, что указывает на накопление изученных наносистем в цитоплазме опухолевых клеток.

Далее проводили оценку накопления наносистем в карциноме Эрлиха у мышей (рис. 4).

По данным клинического осмотра, во время проведения эксперимента у животных отклонений общего состояния и поведения не наблюдали. Визуальных отличий в накоплении наносистем и РХ у животных разного пола не наблюдали. Однако вопрос установления количественных гендерных различий в параметрах распределения и накопления требует дополнительного изучения на большем числе наблюдений. Тем не менее

Таблица 2. Распределение животных по группам
Table 2. Assignment of animals to study groups

Название группы	Вещество и доза	Количество, пол
«Контроль»	без введения	1 самец
«Радахлорин»	РХ, 5 мг/кг	1 самец и 1 самка
«ГТН-1»	ГТН-1, 5 мг/кг (по РХ)	1 самец и 1 самка
«ГТН-3»	ГТН-3, 5 мг/кг (по РХ)	1 самец и 1 самка

Таблица 3. Контраст флуоресцентного сигнала опухоль/тело при флуоресцентной визуализации после внутривенного введения РХ, ГТН-1 и ГТН-3

Table 3. Tumor/body contrast of fluorescence signal after intravenous administration of Radachlorin, HTN-1 and HTN-3

Время, ч	Контраст, РХ	Контраст, ГТН-1	Контраст, ГТН-3
1	1,2	1,2	1,1
2	1,2	1,3	1,1
3	1,3	1,4	1,2
4	1,4	1,5	1,2
6	1,3	1,5	1,4
24	1,3	1,3	1,4

показано накопление у животных обоего пола. В табл. 3 приведены усредненные для животных обоего пола значения контраста флуоресценции опухоли по отношению к нормальной окружающей ткани через разное время после введения.

Интенсивность флуоресценции опухоли была визуально выше, чем в окружающей ткани на всех сроках оценки после внутривенного введения исследуемых веществ. Максимальные значения интенсивности флуоресценции были зарегистрированы как в опухоли, так и в нормальной ткани уже к первому часу после введения, в дальнейшем интенсивность флуоресценции снижалась.

Контраст увеличивается со временем после введения, достигая максимума для РХ на 4 ч., 4–6 ч. для ГТН-1 и 6–24 ч. для ГТН-3. Время максимальной контрастности РХ соответствует ранее полученному нами [17]. Увеличение времени достижения пика контраста при введении ГТН-1 и ГТН-3, связано с изменением фармакокинетических свойств РХ при включении в наноструктуры.

Обсуждение

В экспериментах *in vitro* мы продемонстрировали накопление ГТН-1 и ГТН-3 в цитоплазме клеток рака мочевого пузыря. Выбор клеточной линии был продиктован возможностями применения фотодинамической терапии для лечения этого вида злокачественного новообразования. В опыте *in vivo* подтверждено накопление ГТН в опухоли путем регистрации флуоресценции РХ в их составе. Это свидетельствует о том, что пассивный механизм доставки (EPR) для ГТН реализуется. Поскольку накопление в опухоли не уступало РХ, это свидетельствует в пользу того, что ГТН не захватывается клетками ретикуло-эндотелиальной системы или захватывается минимально. А с учетом размера 80–150 нм можно предположить и замедленное выведение почками. Известно, что размер является критичным для реализации EPR. Считается, что диапазон размера наночастиц в 40–400 нм подходит для обеспечения длительной циркуляции и усиленного накопления с уменьшением выведения [18].

Время сохранения максимальной контрастности при введении ГТН было большим, чем при введении РХ. Более длительное сохранение контраста при введении наноструктурированных форм РХ связано с замедленным выведением из опухоли, поскольку уже к первому часу после введения всех веществ был достигнут максимум интенсивности флуоресценции с последующим снижением. ГТН-1 и ГТН-3 сходным образом накапливались в опухоли, т. е. потенциально обе наносистемы могут быть использованы для про-

тивоопухолевой терапии, однако ГТН-1 проявляет ярко выраженные гидрофильные свойства, что может быть преимуществом. Полученные результаты сопоставимы с опубликованными в отношении графт-сополимеров целлюлозы и полиметакриловой кислоты с включением порфиразина в отношении хорошей контрастности опухоли к нормальным тканям. Авторы этого исследования также показали, что подобные комплексы эффективны при проведении фотодинамической терапией у мышей Balb/c с карциномой толстого кишечника СТ-26 [19].

Полученные данные подтверждают возможность введения флуоресцентных маркеров в наносистемы для эффективного исследования биораспределения и накопления в опухоли при введении, наряду с ними других противоопухолевых веществ в состав ГТН. Использование многокомпонентных систем с включением нескольких соединений согласуется с литературными данными. Так, графт-сополимерные системы позволяют одновременно включать методом рН-зависимой конъюгации различные противоопухолевые соединения, включая гидрофобные, и направлять их в опухоль [20]. При этом молекулярные щетки с полиимидной основой обладают хорошей биосовместимостью *in vitro* и *in vivo*, а также низкой токсичностью [21].

Дальнейшие направления исследования таких систем должны включать оценку проникновения через гематоэнцефалический барьер и противоопухолевую эффективность. Токсикологическая оценка не менее важна, в связи с изменением физико-химических свойств и биологических эффектов веществ при переходе в наноразмерный диапазон, как следствие эффективность и токсичность таких нанопрепаратов также отличаются [2].

Использование наночастиц на основе селена перспективно для дополнительного увеличения противоопухолевой эффективности изученных ГТН. Неорганические соединения селена оказывают противоопухолевое действие различными механизмами. Наночастицы селена также обладают противоопухолевыми свойствами. Показано, что наночастицы селена могут эффективно активировать антигенпрезентирующие клетки, стимулировать клеточный иммунитет, оказывать регуляторное воздействие на врожденный и регуляторный иммунитет, оказывая противоопухолевое действие [16]. Дальнейшая оценка противоопухолевых и токсикологических характеристик ГТН, исследованных в данной работе, представляется перспективной.

Выводы

Изученные ГТН с полиимидной или целлюлозной основными цепями накапливаются в

опухолевых клетках *in vitro*, а при введении *in vivo* поступают в опухоль, не захватываясь ретикуло-эндотелиальной системой, и обеспечивают замедленное выведение из опухоли. Наличие селена в составе может обеспечивать дополнительные противоопухолевые свойства. Это определяет перспективность разработки ГТН для лечения и диагностики онкологических заболеваний, в т. ч. методом фотодинамической терапии.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Соблюдение правил биоэтики

Этические принципы обращения с лабораторными животными соблюдались в соответствии с требованиями документа «Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях. СЕД 123». Протокол исследования был рассмотрен и одобрен локальным этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (протокол № 12 от 30.05.2024).

Compliance with the rules of bioethics

The ethical principles for the treatment of laboratory animals were followed in accordance with the requirements of the document European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental or Other Scientific Purposes. ETS 123. The research protocol was reviewed and approved by the local Ethics Committee of the NMRC of Oncology named after N.N. Petrov of the MoH of Russia (Protocol No. 12 dated 30.05.2024).

Финансирование

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 24-25-00413 «Разработка новых селенсодержащих противоопухолевых препаратов для фотодинамической терапии».

Financing

The work was supported by the Russian Science Foundation grant No. 24-25-00413 «Development of new selenium-containing anticancer drugs for photodynamic therapy».

Участие авторов

Авторы декларируют соответствие своего авторства международным критериям ICMJE.

Валуева С.В. — идея исследования, критический пересмотр рукописи, окончательное одобрение статьи;

Панченко А.В. — анализ и интерпретация данных, написание черновика рукописи, окончательное одобрение статьи;

Морозова П.Ю., Семенов А.Л., Данилова А.Б., Круглов С.С. — проведение экспериментов, сбор и первичная обработка материала, статистический анализ и интерпретация данных, подготовка иллюстраций;

Попович И.Г. — методология исследования, критический пересмотр рукописи, окончательное одобрение статьи.

Authors' contributions

The authors declare that their authorship is in accordance with the international ICMJE criteria.

Valueva S.V. — conceived the study, critically revised the manuscript, and approved the final version of the article;

Panchenko A.V. — analysed and interpreted the data, drafted the manuscript, and approved the final version of the article;

Morozova P.Yu., Semenov A.L., Danilova A.B., Kруглов S.S. — performed experiments, collected and processed data, performed statistical analysis and interpretation of data, prepared figures;

Popovich I.G. — developed the research methodology, critically revised the manuscript, and approved the final version of the article.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Алексеев К.В., Аляутдин Р.Н., Бlynская Е.В., Квинх Б.Т. Наноразмерные системы доставки лекарственных веществ. *Вестник новых медицинских технологий*. 2009; 16(2): 17-20.-EDN: LAMWDB.-URL: https://elibrary.ru/download/elibrary_13092100_85689980.pdf. [Alexeev K.V., Alyautdin R.N., Blynskaya E.V., Kvinkh B.T. The nano-dimensional systems of transportation of medicinal preparations. *Newsletter of New Medical Technologies*. 2009; 16(2): 17-20.-EDN: LAMWDB.-URL: https://elibrary.ru/download/elibrary_13092100_85689980.pdf. (In Rus)].
2. Bovina E.M., Romanov B.K., Kazakov A.S., et al. Nanoscale therapeutic system: safety assessment features. *Safety and Risk of Pharmacotherapy*. 2019; 7(3): 127-38.-DOI: <https://doi.org/10.30895/2312-7821-2019-7-3-127-138>.
3. Kuznetsova O.V., Kolotilina N.K., Dolgonosov A.M., et al. A de novo nanoplatform for the delivery of metal-based drugs studied with high-resolution ICP-MS. *Talanta*. 2023; 253: 124035.-DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2022.124035>.
4. van den Boogaard W.M.C., Komninos D.S.J., Vermeij W.P. Chemotherapy side-effects: not all DNA damage is equal. *Cancers*. 2022; 14(3): 627.-DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers14030627>.
5. Awad N.S., Salkho N.M., Abuwatfa W.H., et al. Tumor vasculature vs tumor cell targeting: Understanding the latest trends in using functional nanoparticles for cancer treatment. *OpenNano*. 2023; 11: 100136.-DOI: <https://doi.org/10.1016/j.onano.2023.100136>.
6. Barenholz Y (Chezy). Doxil® — The first FDA-approved nano-drug: Lessons learned. *JCR*. 2012; 160(2): 117-34.-DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2012.03.020>.
7. Постнов В.Н., Наумышева Е.Б., Королев Д.В., Галагудза М.М. Наноразмерные носители для доставки лекарственных препаратов. *Биотехносфера*. 2013; (6): 16-27.-EDN: SEOONV.-URL: https://elibrary.ru/download/elibrary_21594856_13139016.pdf. [Postnov W.N., Naumysheva Ye.B., Koroljov D.W., Galagudza M.M. Nano-sized carriers for drug delivery applications. *Biotechnosfera*. 2013; (6): 16-27.-EDN: SEOONV.-URL: https://elibrary.ru/download/elibrary_21594856_13139016.pdf. (In Rus)].
8. Абаева Л.Ф., Шумский В.И., Петрицкая Е.Н., et al. Наночастицы и нанотехнологии в медицине сегодня и завтра. *Альманах клинической медицины*. 2010; (22): 10-6. [Abaeva L.F., Shumsky V.I., Petritskaya E.N., et al. Nanoparticles and nanotechnologies today and beyond. *Almanac of Clinical Medicine*. 2010; (22): 10-6. (In Rus)].
9. Solovyev N.D., Fedoros E.I., Drobyshev E.J., et al. Anticancer activity and tissue distribution of platinum (II) complex with lignin-derived polymer of benzene-poly-carboxylic acids. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2017; 43: 72-9.-DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2016.11.009>.
10. Yang C.X., Xing L., Chang X., et al. Synergistic platinum(II) prodrug nanoparticles for enhanced breast cancer therapy. *Molecular Pharmaceutics*. 2020; 17(4): 1300-1309.-DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.9b01318>.

11. Chary P.S., Shaikh S., Rajana N., et al. Unlocking nature's arsenal: Nanotechnology for targeted delivery of venom toxins in cancer therapy. *Biomaterials Advances*. 2024; 162: 213903.-DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bioadv.2024.213903>.
12. Сурья Н., Бхаттачарья С. PLGA — перспективный полимер для доставки лекарственных средств. *Фармация и фармакология*. 2021; 9(5): 334-345.-DOI: <https://doi.org/10.19163/2307-9266-2021-9-5-334-345>.-URL: <https://www.pharmpharm.ru/jour/article/view/933/754>. [Surya N., Bhattacharyya S. PLGA — The smart polymer for drug delivery. *Pharmacy & Pharmacology*. 2021; 9(5): 334-345.-DOI: <https://doi.org/10.19163/2307-9266-2021-9-5-334-345>.-URL: <https://www.pharmpharm.ru/jour/article/view/933/754>. (In Rus)].
13. Osipova O., Zakharova N., Pyankov I., et al. Amphiphilic pH-sensitive polypeptides for siRNA delivery. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2022; 69: 103135.-DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2022.103135>.
14. Valueva S.V., Krasnopeeva E.L., Borovikova L.N., et al. Triple nanosystems based on amphiphilic molecular brushes, selenium nanoparticles and photosensitizer: synthesis, spectral and morphological characteristics. *Nanobiotechnology Reports*. 2024; 18(2): 108-115.-DOI: <https://doi.org/10.1134/S2635167623601250>.
15. Валуева С.В., Морозова П.Ю., Данилова А.Б. Гибридные трехкомпонентные наносистемы (ГТН) на основе наночастиц селена, Радахлорина и полимерных носителей – графт-сополимеров: синтез, спектральные характеристики и исследование локализации ГТН в опухолевых клетках рака мочевого пузыря человека 587 блан tvv. *Тенденции развития науки и образования*. 2024; 109(14): 223-230.-DOI: <https://doi.org/10.18411/trnio-05-2024-771>. [Valueva S.V., Morozova P.Yu., Danilova A.B. Hybrid three-component nanosystems (HTNs) based on selenium nanoparticles, Radachlorine and polymer carriers – graft copolymers: synthesis, spectral characteristics and studies of the localization of HTNs in tumor cells of human bladder cancer 587 блан tvv. *Trends in the Development of Science and Education* 2024; 109(14): 223-230.-DOI: <https://doi.org/10.18411/trnio-05-2024-771>. (In Rus)].
16. Liu S., Wei W., Wang J., Chen T. Theranostic applications of selenium nanomedicines against lung cancer. *J Nanobiotechnol*. 2023; 15: 120.-DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15010120>.
17. Круглов С.С., Гельфонд М.Л., Тындык М.Л., et al. Методические аспекты проведения фотодинамической терапии солидной карциномы Эрлиха у мышей линии BALB/C с различной локализацией опухоли. *Сибирский онкологический журнал*. 2020; 19(6):82-92.-DOI: <https://doi.org/10.21294/1814-4861-2020-19-6-82-92>.-EDN: OSAHR.-URL: https://elibrary.ru/download/elibrary_44489275_70722482.pdf. [Kruglov S.S., Gelfond M.L., Tyndyk M.L., et al. Methodological aspects of photodynamic therapy of Ehrlich solid carcinoma in BALB/C mouse strain with various tumor localization. *Siberian Journal of Oncology*. 2020; 19(6): 82-92.-DOI: <https://doi.org/10.21294/1814-4861-2020-19-6-82-92>.-EDN: OSAHR.-URL: https://elibrary.ru/download/elibrary_44489275_70722482.pdf. (In Rus)].
18. Subhan M.A., Yalamarty S.S.K., Filipczak N., et al. Recent advances in tumor targeting via EPR effect for cancer treatment. *Journal of Personalized Medicine*. 2021; 11(6): 571.-DOI: <https://doi.org/10.3390/jpm11060571>.
19. Krasnopeeva E.L., Melenevskaya E.Y., Klapshina L.G., et al. Poly(methacrylic acid)-cellulose brushes as anticancer porphyrine carrier. *Nanomaterials* (Basel, Switzerland). 2021; 11(8): 1997.-DOI: <https://doi.org/10.3390/nano11081997>.
20. Bláhová M., Randárová E., Konefal R., et al. Graft copolymers with tunable amphiphilicity tailored for efficient dual drug delivery via encapsulation and pH-sensitive drug conjugation. *Polymer Chemistry*. 2020; 11(27): 4438-53.-DOI: <https://doi.org/10.1039/D0PY00609B>.
21. Kashina A.V., Meleshko T.K., Bogorad N.N., et al. Molecular brushes with a polyimide backbone and poly(ϵ -caprolactone) side chains by the combination of ATRP, ROP, and CuAAC. *Polymers*. 2021; 13(19): 3312.-DOI: <https://doi.org/10.3390/polym13193312>.

Поступила в редакцию / Received / 17.07.2024

Прошла рецензирование / Reviewed / 27.08.2024

Принята к печати / Accepted for publication / 29.08.2024

Сведения об авторах / Author's information / ORCID

Светлана Валерьевна Валуева / Valueva V. Svetlana / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9446-4233>, SPIN: 2515-4840, Researcher ID (WOS): I-3412-2017, Scopus Author ID: 6701533779.

Андрей Владимирович Панченко / Andrey V. Panchenko / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5346-7646>, SPIN: 4741-1855, Researcher ID (WOS): B-7345-2016, Scopus Author ID: 51964396400.

Полина Юрьевна Морозова / Polina Yu. Morozova / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3068-7838>, SPIN: 4718-1531, Researcher ID (WOS): G-6074-2015.

Александр Леонидович Семенов / Alexander L. Semenov / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5190-0629>, SPIN: 4301-8679, Researcher ID (WOS): S-1484-2016, Scopus Author ID: 16307589600.

Анна Борисовна Данилова / Anna B. Danilova / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4796-0386>, SPIN: 9387-8328, Researcher ID (WOS): H-7828-2014, Scopus Author ID: 7005563064.

Ирина Григорьевна Попович / Irina G. Popovich / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9937-025X>, SPIN: 2061-7558, Researcher ID (WOS): O-8275-2015, Scopus Author ID: 7006436774.

Степан Сергеевич Круглов / Stepan S. Kruglov / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1214-4637>, SPIN: 6856-4572, Researcher ID (WOS): AAE-7628-2020 Scopus Author ID: 57214099322.

