

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ НЕОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ ИМЕНИ А.В. НИКОЛАЕВА
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
МИНОБРНАУКИ РОССИИ

На правах рукописи

НОВИКОВА Евгения Дмитриевна

**МАТЕРИАЛЫ НА ОСНОВЕ ДИОКСИДА КРЕМНИЯ, НАНОЧАСТИЦ
ЗОЛОТА И ОКТАЭДРИЧЕСКИХ КЛАСТЕРНЫХ КОМПЛЕКСОВ МОЛИБДЕНА**

1.4.1. Неорганическая химия

Диссертация на соискание учёной степени
кандидата химических наук

Научный руководитель
доктор химических наук
Шестопалов Михаил Александрович

Новосибирск – 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	6
ВВЕДЕНИЕ	9
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	15
1.1 Фототермическая терапия	15
1.1.1 Углеродные наноматериалы	16
1.1.1.1 Углеродные нанотрубки	17
1.1.1.2 Оксид графена	19
1.1.2 Материалы на основе соединений переходных металлов	21
1.1.2.1 Дисульфиды переходных металлов	21
1.1.2.2 Оксиды молибдена и вольфрама	22
1.1.2.3 Оксиды железа	24
1.1.2.4 Медь-содержащие материалы	25
1.1.3 Материалы на основе наночастиц благородных металлов	26
1.1.3.1 Наночастицы серебра	29
1.1.3.2 Наночастицы золота	31
1.1.3.2.1 Сферические наночастицы золота	31
1.1.3.2.2 Золотые наноклетки	34
1.1.3.2.3 Золотые наностержни	35
1.1.3.2.4 Золотые нанозвёзды	37
1.1.3.2.5 Сравнение различных типов наночастиц золота	38
1.2. Фотодинамическая терапия	39
1.2.1 Фталоцианины металлов	41
1.2.2 Материалы на основе органических фотосенсибилизаторов и нано-МОКП	43
1.2.3 Координационные соединения переходных металлов	46
1.2.3.1 Комплексы Ru(II) и Os(II)	47
1.2.3.2 Комплексы Ir(III)	50
1.2.3.3 Комплексы Pt(II)	51
1.2.3.4 Полиядерные комплексы	52
1.2.4 Октаэдрические кластерные комплексы Mo, W и Re	54
1.3. Комбинация фототермической и фотодинамической терапий	56
1.3.1 Металл-усиленная генерация синглетного кислорода	58
1.3.2 Способы связывания наночастиц и фотосенсибилизаторов	62
1.4 Заключение	64
ГЛАВА 2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	66

2.1 Исходные реагенты и измерительные приборы	66
2.2 Получение материалов на основе сферических наночастиц золота	66
2.2.1 Синтез сферических наночастиц золота (GNPs).....	66
2.2.2 Стабилизация GNPs с помощью ПЭГ	66
2.2.3 Получение GNP@SiO ₂ @1-SiO ₂ с разной толщиной слоя диоксида кремния	67
2.2.4 Получение GNP@SiO ₂ @1 ^x -SiO ₂ с разным содержанием комплекса 1 и GNP@SiO ₂ @2-SiO ₂	67
2.2.5 Получение SiO ₂ @n-SiO ₂	67
2.2.6 Методы характеристики и изучения свойств	67
2.2.6.1 Оценка эффективности генерации синглетного кислорода.....	67
2.2.6.2 Проведение фототермических измерений	68
2.3 Получение материалов на основе наностержней золота	68
2.3.1 Синтез наностержней золота с различными AR (AR-GNRs).....	68
2.3.2 Стабилизация AR-GNRs с помощью полистиролсульфоната натрия (ПСС)69	
2.3.3 Получение AR-GNR@SiO ₂ @1-SiO ₂ с разной толщиной слоя диоксида кремния	69
2.3.4 Получение AR-GNR@SiO ₂ @n ^x -SiO ₂ с разным содержанием комплекса 1 и AR-GNR@SiO ₂ @2-SiO ₂	69
2.3.5 Методы характеристики и изучения свойств	69
2.3.5.1 Оценка эффективности генерации синглетного кислорода.....	69
2.3.5.2 Проведение фототермических измерений	70
2.4 Получение материалов на основе SiO ₂ и нанокристаллов C7b	70
2.4.1 Синтез {Mo ₆ I ₈ }@SiO ₂	70
2.4.2 Модификация поверхности {Mo ₆ I ₈ }@SiO ₂ эпоксидными группами (эпокси-{Mo ₆ I ₈ }@SiO ₂).....	70
2.4.3 Конъюгация эпокси-{Mo ₆ I ₈ }@SiO ₂ с нанокристаллами C7b	70
2.4.4 Методы характеристики и изучения свойств	71
2.4.4.1 Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия (КЛСМ)	71
2.5 Получение мезопористых материалов на основе наностержней золота с AR = 4,0	71
2.5.1 Получение 4.0-GNR@mSiO ₂ @n-SiO ₂	71
2.5.2 Включение в 4.0-GNR@mSiO ₂ @2-SiO ₂ и 4.0-GNR@SiO ₂ @2-SiO ₂ цисплатина71	
2.5.3 Модификация поверхности наночастиц 4.0-GNR@mSiO ₂ @2-SiO ₂ @cis и 4.0-GNR@mSiO ₂ @2-SiO ₂ эпоксидными группами	72
2.5.4 Конъюгация эпокси-4.0-GNR@mSiO ₂ @2-SiO ₂ @cis и эпокси-4.0-GNR@mSiO ₂ @2-SiO ₂ с нанокристаллами C7b.....	72

2.5.5 Методы характеристики и изучения свойств	72
2.5.5.1 Оценка эффективности генерации синглетного кислорода	72
2.5.5.2 Проведение фототермических измерений	72
2.5.5.3 Исследование кинетики включения цисплатина	72
2.5.5.4 Исследование кинетики высвобождения цисплатина	72
2.2.5.5 Дот-блот анализ	73
2.2.5.6 Твердофазный иммуноферментный анализ (ТФ-ИФА).....	73
2.2.5.7 Оценка цитотоксичности материалов, МТТ-тест	74
2.2.5.8 Оценка проникновения частиц в клетки	74
2.2.5.9 Оценка фотоиндуцированной цитотоксичности	74
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	76
3.1 Материалы на основе сферических наночастиц золота	77
3.1.1 Получение и характеристика материалов.....	77
3.1.2 Оптимизация толщины слоя диоксида кремния	78
3.1.3 Оптимизация содержания кластерного комплекса в материалах	81
3.1.4 Влияние терминальных лигандов кластера n на оптические свойства $GNP@SiO_2@n-SiO_2$	84
3.1.5 Оценка эффективности генерации синглетного кислорода	86
3.1.6 Фототермические свойства материалов.....	87
3.2 Материалы на основе наностержней золота с различным осевым соотношением	89
3.2.1 Получение и характеристика материалов.....	89
3.2.2 Оптимизация толщины слоя диоксида кремния	90
3.2.3 Оптимизация содержания кластерного комплекса в материалах	92
3.2.4 Люминесцентные свойства материалов.....	93
3.2.5 Оценка эффективности генерации синглетного кислорода	95
3.2.6 Предположительный механизм металл-усиленной люминесценции/генерации синглетного кислорода.....	98
3.2.7 Фототермические свойства материалов.....	100
3.3 Материалы на основе SiO_2 и наночастиц $C7b$	101
3.3.1 Получение и характеристика материалов.....	101
3.3.2. Оценка селективности конъюгатов $\{Mo_6I_8\}@SiO_2-C7b$	104
3.4 Мезопористые материалы на основе наностержней золота с $AR = 4,0$.....	105
3.4.1 Получение и характеристика материалов.....	105
3.4.2 Оценка эффективности генерации синглетного кислорода	108

3.4.3 Фототермические свойства материалов.....	109
3.4.4 Исследование кинетики включения и высвобождения цисплатина.....	109
3.4.5 Получение и характеристика конъюгатов с нанокристаллами C7b	113
3.4.6 Оценка цитотоксичности материалов, МТТ-тест.....	117
3.4.7 Клеточное проникновение.....	119
3.4.8 Оценка фотоиндуцированной цитотоксичности.....	120
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	122
ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ	123
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	124
БЛАГОДАРНОСТИ.....	150
ПРИЛОЖЕНИЕ.....	151

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ФТТ – фототермическая терапия

EPR-эффект (*enhanced permeability and retention effect*) – эффект повышенной проницаемости и удержания

ИК – инфракрасное излучение

УФ – ультрафиолетовое излучение

in vivo – биологические эксперименты, проводящиеся на живом организме

in vitro – биологические эксперименты, проводящиеся на культуре живых клеток

УНТ – углеродные нанотрубки

ОУНТ – одностенные углеродные нанотрубки

МУНТ – многостенные углеродные нанотрубки

ГО – оксид графена

ПЭГ – полиэтиленгликоль

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

PSMA – поли(стеарилметакрилат)

ППР – поверхностный плазмонный резонанс

AR (*aspect ratio*) – осевое соотношение

ПЭМ – просвечивающая электронная микроскопия

ЦТАБ – цетилтриметиламмоний бромид

NLS (*nuclear localization signal*) – последовательность ядерной локализации

EGFR (*epidermal growth factor receptor*) – рецептор эпидермального фактора роста

СВТ – 2-цианобензотиазол

ПВП – поливинилпирролидон

ПАВ – поверхностно-активное вещество

ФДТ – фотодинамическая терапия

ФС – фотосенсибилизатор

АФК – активные формы кислорода

ISC (*intersystem crossing*) – интеркомбинационная конверсия

PI (*phototoxicity index*) – индекс фототоксичности

BODIPY – 4,4-дифторо-4-боро-3а,4а-диаза-*s*-индацен

МОКП – металл-органические координационные полимеры

BPDE – 1,2-бис(2-метил-5-(пиридин-4-ил)тиофен-3-ил)циклопент-1-ен

НЧ – наночастицы

MC (*metal-centered*) – переходы, центрированные на металле

IL (*intraligand*) – внутрелигандные переходы

MLCT (*metal-to-ligand charge transfer*) – перенос заряда от металла к лиганду

LMCT (*ligand-to-metal charge transfer*) – перенос заряда от лиганда к металлу

LL (*ligand-to-ligand charge transfer*) – перенос заряда между лигандами

dqpy – 2,6-ди(хиолин-2-ил)пиридин

acac – ацетилацетон

НСМО – низшая свободная молекулярная орбиталь

ВЗМО – высшая занятая молекулярная орбиталь

tpy – 2,2':6',2''-терпиридин

bpy – 2,2'-бипиридин

biq – 2,2'-бихинолин

ЭСП – электронный спектр поглощения

dmb – 4,4'-диметил-2,2'-бипиридин

phen – 1,10-фенантролин

EF (*enhancement factor*) – фактор усиления генерации синглетного кислорода

EEF (*emission enhancement factor*) – фактор усиления люминесценции

FDTD (*finite difference time domain*) – метод конечных разностей во временной области

ТТА – триплет-триплетная аннигиляция

ТЭОС – тетраэтилортосиликат

DHN – 1,5-дигидроксинафталин

АЭС-ИСП – атомно-эмиссионная спектроскопия с индуктивно-связанной плазмой

ДСР – метод динамического светорассеяния

ПСС – полистиролсульфонат натрия

МТТ – 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолийбромид

ДМСО – диметилсульфоксид

БСА – бычий сывороточный альбумин

ФСБ – фосфатный солевой буфер

ФСБ-Т – фосфатный солевой буфер с добавлением Tween 20

ВСР – 5-бром-4-хлор-3-индолил фосфат

NTB – нитросиний тетразол

ТФ-ИФА – твердофазный иммуноферментный анализ

ТСБ – ТРИС-солевой буфер

ТМБ – 3,3',5,5'-тетраметилбензидин

КЛСМ – конфокальная лазерная сканирующая микроскопия

ФБР – фосфатный буферный раствор

GNP (*gold nanoparticles*) – сферические наночастицы золота

GNR (*gold nanorods*) – наностержни золота

GPTMS – (3-глицидилоксипропил)триметоксисилан

cis – цисплатин

PDI (*polydispersity index*) – индекс полидисперсности

FITC – флуоресцеин-5-изотиоцианат

DOX – доксорубицин

HP – гематопорфирин дигидрохлорид

R6G – родамин 6G

RB – бенгальский розовый

ZnPc –фталоцианин цинка

AlC₄Pc – тетра-4-карбоксифталоцианин алюминия

ICG – индоцианин зеленый

5-FU – 5-фторурацил

AlPcS₄ – тетрасульфокислота фталоцианина алюминия

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы

Основная проблема, связанная с лечением онкологических заболеваний, – это способность опухолевых клеток вырабатывать устойчивость к химиотерапевтическим лекарственным препаратам, в результате чего в процессе терапии элиминируются не все клетки опухоли, что может приводить к рецидивам заболевания. Вторая серьезная проблема, характерная как для химио-, так и для лучевой терапии – это низкая специфичность, из-за которой зачастую повреждаются не только опухолевые, но и здоровые клетки.

Многообещающей альтернативой традиционным методам лечения выступают подходы, основанные на взаимодействии фотоактивного вещества со светом с определенной длиной волны, например, фототермическая и фотодинамическая терапия. В частности, в фотодинамической терапии (ФДТ) используются вещества, способные при возбуждении светом генерировать активные формы кислорода, разрушающие клеточные мембраны и органеллы, а в фототермической терапии (ФТТ) – наноматериалы, которые преобразовывают поглощенный свет в тепло, что приводит к гибели раковых клеток от перегрева. В отсутствие светового воздействия активные вещества, как правило, не обладают заметной токсичностью, однако, под облучением они способны вызывать локальные повреждения опухолевых клеток. В настоящее время методы фототермической и фотодинамической терапии, как правило, применяются по отдельности, поскольку активные вещества этих методов абсолютно разные по своей природе, однако, в литературе все чаще встречаются исследования, направленные на объединение нескольких фотоактивных компонентов в одном материале.

В данной работе были использованы материалы, которые объединили в себе наночастицы золота разного размера и формы для ФТТ и октаэдрические кластерные комплексы молибдена для ФДТ. Включение данных компонентов в наночастицы мезопористого диоксида кремния позволяет дополнительно сорбировать в поры цитостатический препарат и модифицировать поверхность антителами для адресной доставки наноплатформы к опухолевым клеткам. Таким образом, при доставке в клетку и последующем возбуждении светом с нужной длиной волны может быть достигнут синергетический (фотодинамический, фототермический и химиотерапевтический) эффект и, соответственно, более высокая эффективность лечения.

Степень разработанности темы исследования

Сами по себе и наночастицы золота, и октаэдрические кластерные комплексы молибдена являются давно известными и хорошо изученными классами соединений – первые их представители были синтезированы еще в середине XIX века – однако, только в последние два десятилетия, в связи с бурным развитием нанотехнологий в целом и наномедицины в частности, фокус

внимания ученых стал смещаться с физико-химических свойств на возможное применение этих соединений. Так первая значительная работа, посвященная использованию наночастиц золота в фототермической терапии раковых опухолей, была опубликована только в 2003 году, а потенциал октаэдрических металлокластерных комплексов для фотодинамической терапии продемонстрирован в 2016 году. В последующие годы интерес к этим соединениям только возрастал – в частности ученые выяснили, что комбинация наночастиц золота с фотосенсибилизаторами способна приводить к взаимному усилению оптических свойств обоих компонентов. Однако до 2021 года, несмотря на рост числа публикаций, посвященных фотодинамической терапии с использованием октаэдрических кластерных комплексов молибдена, их применяли только в индивидуальном виде, а не в комбинации с другими фотоактивными веществами.

Таким образом, разработка комбинированных систем, включающих в себя октаэдрические кластерные комплексы молибдена в качестве фотосенсибилизаторов и наночастицы золота в качестве агентов для фототермической терапии, интересна как с фундаментальной, так и с практической точки зрения. При этом большой интерес представляет анализ факторов, влияющих на усиление оптических свойств обоих компонентов – в частности, расстояния металл-фотосенсибилизатор, размера и формы наночастиц, состава и количества фотосенсибилизатора и т.д. Знание этих закономерностей позволит получать материалы, демонстрирующие синергетический эффект от нескольких видов противораковой терапии и, как следствие, обеспечивать более эффективное лечение.

Цель работы заключается в получении материалов на основе диоксида кремния, наночастиц золота различного размера и формы и октаэдрических кластерных комплексов молибдена, и изучение возможности их применения для комбинированной терапии раковых опухолей. В рамках достижения данной цели решались следующие **задачи**:

- получение материалов на основе сферических и стержнеобразных наночастиц золота, покрытых слоем диоксида кремния, допированного кластерными комплексами молибдена с ядром $\{Mo_6I_8\}^{4+}$;
- характеристика полученных материалов набором физико-химических методов анализа (просвечивающая электронная микроскопия, электронная спектроскопия, атомно-эмиссионная спектроскопия с индуктивно-связанной плазмой и др.);
- изучение люминесцентных свойств полученных материалов;
- оценка эффективности материалов в качестве фотосенсибилизаторов в процессе генерации синглетного кислорода;

- анализ факторов, влияющих на оптические свойства материалов – в частности, расстояния металл-фотосенсибилизатор, размера и формы наночастиц, состава и количества фотосенсибилизатора и т.д., и выбор оптимальных параметров синтеза;
- модификация материалов антителами для адресной доставки в раковые клетки и включение в них цитостатического препарата;
- изучение биологических свойств комбинированной системы, таких как темновая и фотоиндуцированная цитотоксичности, а также клеточное поглощение.

Научная новизна работы

Новизна диссертационной работы обусловлена тем, что в результате ее выполнения разработаны методики получения новых фотоактивных материалов на основе наночастиц золота, диоксида кремния и октаэдрических кластерных комплексов молибдена, проведена их характеристика, а также исследована возможность биомедицинского применения.

При изучении зависимости люминесцентных и фотосенсибилизационных свойств материалов от толщины слоя диоксида кремния, количества и типа кластерного комплекса и осевого соотношения (AR) наночастиц золота показано, что с увеличением осевого соотношения плазмонных наночастиц наблюдается усиление люминесцентных и фотодинамических свойств комбинированных материалов. В результате исследования удалось получить материал, демонстрирующий значительную металл-усиленную люминесценцию/генерацию синглетного кислорода.

Данный материал на основе наностержней золота с наибольшим из исследованных осевых соотношений ($AR = 4,0$) был взят за основу для получения мезопористых наночастиц, которые за счет увеличения площади поверхности и количества допированного кластерного комплекса показали увеличение эффективности фотосенсибилизации процесса генерации синглетного кислорода в сравнении с непористыми частицами.

Для придания материалам дополнительных химиотерапевтических свойств в их поры включался цитостатический препарат цисплатин. Было проведено исследование кинетики его включения и высвобождения при различных условиях и на основании этого сделан вывод о потенциальной способности системы к селективной активации вблизи или внутри раковых клеток.

Для обеспечения адресности доставки наночастиц была проведена модификация наноантителами C7b к рецептору HER2/neu, который гиперэкспрессируют некоторые виды опухолевых клеток. Было показано, что в процессе модификации активность наноантител незначительно снижалась, однако, оставалась достаточной для использования их в биологических системах.

В ходе биологических экспериментов было установлено, что мезопористые наночастицы, содержащие в своих порах цисплатин и модифицированные наноантителами C7b, обладают

высокой селективностью по отношению к раковым клеткам, характеризующимся повышенной экспрессией рецептора HER2/neu. Также была продемонстрирована заметная темновая и фотоиндуцированная токсичность материалов в концентрациях, ниже ранее описанных в литературе.

Теоретическая и практическая значимость работы

Разработка методик синтеза комбинированных материалов на основе наночастиц золота, диоксида кремния и октаэдрических кластерных комплексов молибдена является важным вкладом в фундаментальные знания в области химии биоактивных неорганических соединений и материалов. Впервые было показано, что октаэдрические кластерные комплексы молибдена могут выступать в качестве компонентов материалов для комбинированной терапии раковых опухолей. Полученные результаты могут быть использованы для направленной разработки материалов, демонстрирующих усиленные люминесцентные и фотосенсибилизационные свойства, а также наносистем, предназначенных для комбинированной терапии раковых опухолей.

Методология и методы диссертационного исследования

Методология исследования включает в себя этапы получения материалов на основе кластерных комплексов молибдена $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}\text{L}_6]$ ($\text{L} = \text{NO}_3^-$ и OTs^-) и наночастиц золота различного размера и формы. Все материалы были получены покрытием наночастиц золота слоем диоксида кремния в присутствии кластерных комплексов молибдена. Характеризация полученных материалов проводилась на современном оборудовании при использовании общепризнанных методов, таких как электронная спектроскопия, атомно-эмиссионная спектроскопия с индуктивно-связанной плазмой (АЭС-ИСП), люминесцентный анализ. Размер и морфология материалов были изучены методами просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) и динамического светорассеяния (ДСР).

При проведении биологических исследований использовались раковые клетки линий MCF-7, BT-474, SKBR3 (клетки рака молочной железы) и Her-2 (клетки рака гортани). Цитотоксичность материалов изучалась с использованием МТТ-теста (МТТ – 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолийбромид). Визуализацию клеток проводили с использованием конфокальной лазерной сканирующей микроскопии (КЛСМ). Проникновение частиц в клетки исследовали методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой (АЭС-ИСП). Для определения фотоиндуцированной цитотоксичности использовалась лампа с длиной волны $\lambda \geq 400$ нм, а жизнеспособность клеток после облучения определяли методом МТТ.

В ходе работы контроль достоверности результатов выполнялся проведением перекрестных анализов. Достоверность оценки цитотоксического эффекта материалов подтверждена четырьмя сходящимися данными.

Положения, выносимые на защиту

- методы получения материалов на основе сферических и стержнеобразных наночастиц золота, покрытых слоем диоксида кремния, допированного кластерными комплексами молибдена с ядром $\{Mo_6I_8\}^{4+}$;
- результаты исследования состава и морфологии полученных материалов;
- результаты изучения люминесцентных свойств и эффективности фотосенсибилизации процесса генерации синглетного кислорода полученными материалами, а также влияние их состава и морфологии на эти характеристики;
- результаты исследования кинетики включения и высвобождения цитостатического препарата, сорбированного в поры мезопористых материалов;
- методы модификации полученных материалов наноантителами C7b, исследование селективности полученных конъюгатов по отношению к рецептору HER2/neu;
- результаты изучения биологических свойств на перевиваемых клеточных культурах, такие как цитотоксичность, клеточное поглощение, люминесцентная визуализация внутри клетки, фотоиндуцированная цитотоксичность.

Личный вклад автора

Автор принимал участие в постановке цели и задач исследования, анализе литературных данных по теме диссертации, выполнении экспериментальных исследований и обработке полученных данных, обсуждении результатов работы и формулировке выводов. Диссертантом были лично выполнены синтезы всех указанных в экспериментальной части соединений и материалов, проведены микроскопические исследования и исследования фотофизических характеристик образцов, а также обработка данных, полученных на клеточных культурах. Подготовка статей и тезисов докладов осуществлялась совместно с научным руководителем и соавторами работ.

Апробация работы

Основные результаты работы доложены и обсуждены на конференциях российского и международного уровней: XXI Менделеевский съезд по общей и прикладной химии (Санкт-Петербург, Россия, 2019), V Школа-конференция молодых учёных «Неорганические соединения и функциональные материалы» ICFM-2019 (Новосибирск, Россия, 2019), XVII Международная конференция «Спектроскопия координационных соединений» (Туапсе, Россия, 2020), Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2022» (Москва, Россия, 2022).

Публикации

По теме диссертационной работы опубликовано 3 статьи в международных журналах, которые входят в перечень индексируемых в международной системе научного цитирования Web of Science. В материалах всероссийских и зарубежных конференций опубликованы тезисы 4 докладов.

Степень достоверности результатов исследований

Достоверность представленных результатов основывается на высоком методическом уровне проведения работы, согласованности экспериментальных и литературных данных. О признании информативности и значимости основных результатов работы мировым научным сообществом также говорит их опубликование в рецензируемых журналах высокого уровня и высокая оценка на российских и международных конференциях.

Соответствие специальности 1.4.1 – неорганическая химия

Диссертационная работа соответствует п. 1. «Фундаментальные основы получения объектов исследования неорганической химии и материалов на их основе» и п. 5. «Взаимосвязь между составом, строением и свойствами неорганических соединений. Неорганические наноструктурированные материалы» паспорта специальности 1.4.1 – неорганическая химия.

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 162 страницах, основной текст работы содержит 71 рисунок и 10 таблиц. Работа состоит из введения, литературного обзора, экспериментальной части, описания полученных результатов и их обсуждения, основных результатов и выводов, списка цитируемой литературы (281 наименование) и приложений на 12 страницах, в которых приведены дополнительные данные по диссертационной работе.

Диссертационная работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт неорганической химии им. А.В. Николаева Сибирского отделения Российской академии наук (ИНХ СО РАН) в соответствии с Программой фундаментальных научных исследований ИНХ СО РАН по приоритетному направлению V.44. «Фундаментальные основы химии», программа ФНИ СО РАН V.44.4. «Развитие научных основ направленного синтеза новых неорганических и координационных соединений и функциональных материалов на их основе», номер гос. регистрации: 0300-2014-0010. Кроме того, работа была выполнена в рамках проекта РНФ (18-75-10060).

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Фототермическая терапия

Фототермическая терапия (ФТТ) – это один из альтернативных методов лечения злокачественных опухолей, основанный на воздействии высоких температур (гипертермии), что приводит к гибели раковых клеток (при температурах выше 45°C) или повышению их чувствительности к другим терапевтическим методам (при температурах 40-45°C). При традиционной гипертермии повышение температуры достигается путем внешнего воздействия, например, с помощью термальной ванны, микроволнового излучения или радиоволн. При этом возникает температурный градиент, который уменьшается с удалением от внешнего источника тепла. Таким образом, несмотря на определенные преимущества ФТТ над другими альтернативными методами, ввиду неспецифического воздействия, его использование приводит к нежелательным побочным эффектам в виде повреждения здоровых тканей.

Это побудило исследователей сосредоточить свое внимание на разработке более эффективных подходов к фототермической терапии, в частности тех, которые способны вызывать локализованное (то есть, ограниченное размерами опухоли) повышение температуры. Преодолеть ограничения, налагаемые традиционной гипертермией, удалось при помощи наноматериалов, обладающих способностью преобразовывать поглощенную энергию в тепло. Благодаря своему размеру, они способны накапливаться в опухоли за счет так называемого **EPR**-эффекта (enhanced permeability and retention effect) – эффекта повышенной проницаемости и удержания, характерного для сосудов опухоли [1], и обеспечивать локализованное термическое разрушение раковых клеток, сводящее к минимуму ущерб для здоровых тканей. Это позволило разработать несколько подходов к селективной гипертермии, которые можно классифицировать по типу внешнего воздействия, используемого для активации наночастиц. В литературе выделяют фотоиндуцированную, магнитную и ультразвуковую гипертермию.

В данном обзоре будет рассматриваться только фотоиндуцированная активация наночастиц. Как в литературе, так и в клинической практике наиболее универсальным и доступным методом такой активации, позволяющим сравнивать фототермическую активность различных типов материалов, является воздействие лазерного излучения. Как правило, в фототермической терапии используется ближнее инфракрасное (ИК) излучение с длиной волны 750-1200 нм, что связано с достаточно глубоким проникновением в ткани: так для популярного в литературе и клинической практике 808-нм лазера глубина проникновения достигает 3,4 см при мощности 1 Вт/см² [2]. Данный эффект обусловлен тем, что длины волн ИК излучения лежат в так называемом окне прозрачности биологических тканей – области спектра (650-950 и 1000-1350 нм), в которой

большинство компонентов клеток (гемоглобин, вода, липиды, меланин и т.д.) обладают минимальным поглощением и рассеянием.

Для того чтобы материал мог использоваться в качестве агента для фототермической терапии, он должен обладать высокой эффективностью поглощения и низкой способностью к люминесценции – в таком случае будет достигаться наибольшая эффективность преобразования света в тепло. Кроме того, локализованное повышение температуры наблюдается только в том случае, когда время лазерного облучения превышает время релаксации наночастиц – при более кратковременном облучении испускаемое тепло ограничится только наночастицей и не будет диффундировать в окружающую среду.

Количественно эффективность фототермической конверсии материала можно оценить двумя способами: по повышению температуры раствора или опухолевой ткани (в случае *in vivo* экспериментов) или по коэффициенту фототермической конверсии. Первый способ более прост и состоит в нахождении разницы температур коллоидного раствора наночастиц (или опухолевой ткани) до и после облучения. Во втором случае необходим расчет коэффициента фототермической конверсии (η) по следующей формуле [3]:

$$\eta = \frac{(c_w m_w + c_n m_n) \Delta T}{IA \Delta t},$$

где c_w и c_n – удельные теплоемкости воды и наночастиц, m_w и m_n – их массы, ΔT – повышение температуры раствора в интервале времени Δt , A – площадь освещенного участка жидкости, а I – интенсивность лазерного излучения.

Для малых концентраций частиц, когда выполняется условие $\frac{c_n m_n}{c_w m_w} \sim 0$, формулу можно упростить до

$$\eta \sim \frac{c_w m_w}{IA} \times \frac{\Delta T}{\Delta t}.$$

Коэффициент фототермической конверсии и разница температур раствора до и после облучения прямо пропорциональны друг другу, поэтому для оценки эффективности фототермической конверсии может использоваться любой из этих параметров.

В данном разделе будут рассмотрены самые распространенные неорганические наноматериалы, которые могут выступать агентами для фототермической терапии раковых опухолей. Особое внимание будет уделено факторам, влияющим на эффективность фототермической конверсии различных типов материалов.

1.1.1 Углеродные наноматериалы

Фототермический эффект углеродных наноматериалов, таких как углеродные нанотрубки (УНТ), графен и оксид графена (ГО), основан на их способности поглощать свет с длиной волны, соответствующей энергии запрещенной зоны, образуя при этом электрон-дырочные пары. Далее

электроны возвращаются в низкоэнергетическое состояние с испусканием энергии в виде фотонов (излучательный переход) или фононов (безызлучательный переход) (рис. 1). Фонон представляет собой квант колебательного движения атомов кристаллической решетки, таким образом, фототермический эффект углеродных материалов, в первую очередь, основан на их фононной проводимости [4].

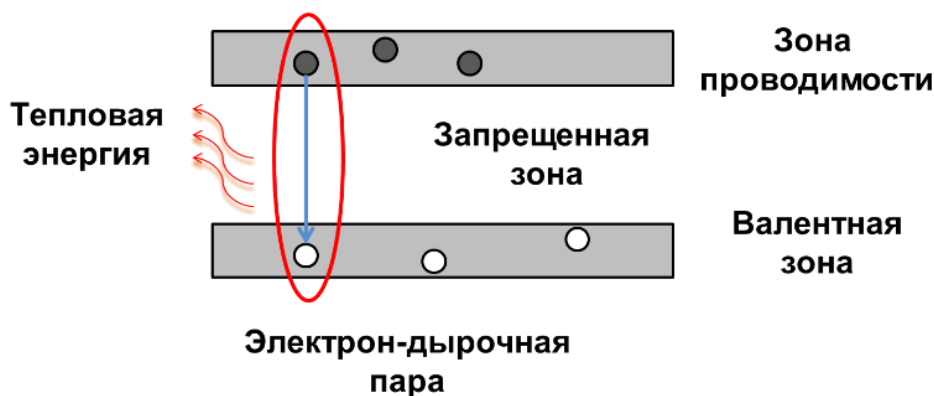


Рис. 1. Механизм генерации тепловой энергии в углеродных наноматериалах

1.1.1.1 Углеродные нанотрубки

С момента своего открытия в 1991-м году [5] углеродные нанотрубки были и остаются наиболее изученным наноуглеродным материалом для применения в фототермической терапии раковых опухолей.

Углеродные нанотрубки представляют собой цилиндрические полые трубки с открытыми или закрытыми концами, которые образованы одним (одностенные УНТ – **ОУНТ**) или несколькими (многостенные УНТ – **МУНТ**) графеновыми листами. Подобно графену, атомы углерода в нанотрубках имеют sp^2 -гибридизацию, что приводит к образованию сети сопряженных π -связей. Сопряженная π -система способствует делокализации электронов и, как следствие, превосходной тепло- и электропроводности УНТ.

Однако УНТ имеют ряд особенностей, из-за которых их фототермическая активность может значительно снижаться [6]. Во-первых, несмотря на тщательный контроль условий синтеза, УНТ всегда имеют дефекты, которые уменьшают длину свободного пробега фононов. Во-вторых, наряду с дефектами, УНТ всегда оказываются загрязнены другими аллотропными модификациями углерода, остатками катализаторов и т.д. Для эффективной передачи тепловой энергии эти примеси необходимо удалять, однако, очень часто их удаление негативно сказывается на структуре нанотрубок. Кроме того, важно учитывать, связаны ли УНТ в пучки, поскольку взаимодействие УНТ-УНТ на порядок снижает теплопроводность в сравнении с изолированными нанотрубками [7]. Длина отдельных нанотрубок также играет важную роль в процессе распространения тепла – как правило, теплопроводность увеличивается с увеличением длины УНТ до длины

свободного пробега фононов, которая составляет около 500 нм для МУНТ и еще больше для ОУНТ [8]. Кроме того, пучки чаще всего состоят из нанотрубок различной хиральности, каждая из которых имеет индивидуальную зонную структуру. Полидисперсность УНТ негативно влияет на их теплопроводность из-за увеличения термического сопротивления на границах контакта двух тел (сопротивления Капицы) [9].

По электронным свойствам одностенные УНТ подразделяются на металлические и полупроводниковые в зависимости от их хиральности (металлическими является треть от общего количества нанотрубок), причем для биомедицинских целей, как правило, используется их смесь. Однако в работе *Murakami и др.* [10] все же было проведено сравнение фототермических свойств металлических и полупроводниковых ОУНТ. Поскольку ширина запрещенной зоны металлических ОУНТ меньше, чем полупроводниковых, они демонстрируют большую эффективность фототермической конверсии. После облучения 808-нм лазером ($0,5 \text{ В/см}^2$, 10 мин) температура суспензии металлических ОУНТ оказалась выше, чем температура суспензии полупроводниковых ОУНТ на $0,5^\circ\text{C}$.

Электронные спектры поглощения одностенных УНТ представляют собой суперпозицию нескольких спектров, возникающую из-за различной хиральности УНТ, в то время как для многостенных УНТ характерен более простой вид спектра (рис. 2).

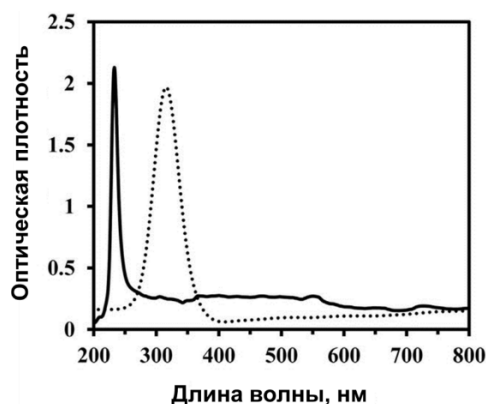


Рис. 2. Электронные спектры поглощения суспензий ОУНТ (сплошная линия) и МУНТ (пунктирная линия) в этаноле

В работе *Burke и др.* [11] было показано, что многостенные УНТ способны генерировать больше тепла, чем одностенные. Так после 30 сек облучения 1064-нм лазером (3 Вт/см^2) температура $0,1 \text{ мг/мл}$ раствора МУНТ повысилась на 28°C , а температура раствора ОУНТ в той же концентрации – всего на 4°C . Такое заметное различие связано с тем, что МУНТ способны поглощать значительно больше фотонов ИК-излучения по сравнению с ОУНТ, поскольку содержат больше электронов и металлических нанотрубок в пересчете на одну наночастицу. Эта работа также интересна тем, что в ней был впервые продемонстрирован *in vivo* противоопухолевый

эффект углеродных нанотрубок. Авторы напрямую вводили суспензию УНТ мышам с опухолью почек и облучали пораженную область 1064-нм лазером. При этом было продемонстрировано, что при использовании низкой мощности лазера (3 Вт/см^2) и очень короткого времени облучения (30 сек, однократно) у 80% мышей наблюдалось полное исчезновение опухоли с ремиссией дольше 3,5 месяцев.

Поскольку чистые углеродные нанотрубки имеют гидрофобную природу, они нерастворимы в большинстве органических растворителей, а в водных растворах демонстрируют повышенную склонность к агрегации. Таким образом, дальнейшее использование УНТ в качестве агентов для фототермической терапии связано с попытками повысить их растворимость и придать им специфичность к определенным видам раковых клеток. Это достигается путем конъюгации УНТ с биосовместимыми полимерами, такими как полиэтиленгликоль (ПЭГ) [12, 13] и его производные [14], а также с ДНК [15], белками [16] и малыми молекулами [17, 18] для обеспечения адресности полученных конъюгатов. Так, например, в работе *Zhang и др.* [19] исследовались многостенные УНТ, модифицированные ПЭГ и пентапептидом CREKA (Cys-Arg-Glu-Lys-Ala), обладающим специфичностью к комплексу фибрина-фибронектина в раковых опухолях. Через 24 часа после внутривенного введения суспензии УНТ (4 мг/кг) мышам с привитой раковой опухолью A549 (клетки аденокарциномы легкого человека), опухоль облучали 808-нм лазером ($3,5 \text{ Вт/см}^2$, 1 мин). При этом наблюдалось повышение температуры до 55°C . Кроме того, авторы отмечали, что после четырех циклов облучения наблюдалось практически полное исчезновение привитой опухоли без каких-либо заметных побочных эффектов.

Еще одной интересной особенностью углеродных нанотрубок является их способность преобразовывать в тепло не только ИК-излучение, но и радиоволны, которые способны обеспечить значительно большую глубину проникновения в ткани. *Gannon и др.* [20] проводили термическую абляцию раковых клеток с помощью радиочастотных полей (13,56 МГц). ОУНТ функционализировали с помощью сополимера фенилена и этинилена, который связывался с нанотрубками посредством π - π -стекинга между фенильными группами полимера и поверхностью ОУНТ. Эта модификация не приводила к существенным изменениям электронной структуры нанотрубок. Авторы показали, что под действием радиочастотного излучения суспензия полимер-стабилизированных ОУНТ (50 мг/л) нагревалась со скоростью $1,6^\circ\text{C/с}$, а суспензия немодифицированных нанотрубок – со скоростью $0,9^\circ\text{C/с}$, таким образом, вклад полимера в общую эффективность нагрева составил $\sim 42\%$.

1.1.1.2 Оксид графена

Наряду с углеродными нанотрубками, широкое применение в фототермической терапии раковых опухолей нашли оксид графена и восстановленный оксид графена [21-23]. Оксид графена представляет собой монослой графита с различными кислородсодержащими функциональными

группами, такими как гидроксильные, карбоксильные и эпоксидные. Обработкой оксида графена восстанавливающими агентами (гидразин гидратом, аскорбиновой кислотой, глюкозой и т.д.) можно получить восстановленный оксид графена, при этом происходит удаление большинства кислородсодержащих групп, восстанавливается ароматичность и, как следствие, возрастает интенсивность поглощения в ближней ИК-области (в 3-4 раза по сравнению с оксидом графена) (рис. 3) [24]. В своей работе *Yang и др.* [22] показали, что под облучением 808-нм лазером (1 В/см², 5 мин) материалы на основе восстановленного оксида графена вызывают повышение температуры вплоть до 58°C, а материалы на основе оксида графена – до 44°C.

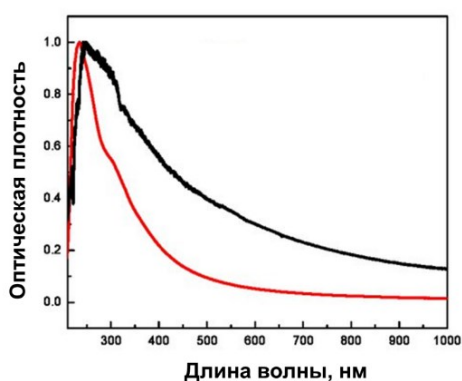


Рис. 3. Электронные спектры поглощения оксида графена (красный) и восстановленного оксида графена (черный) [25]

Однако материалы на основе восстановленного оксида графена имеют ряд существенных недостатков. При восстановлении они склонны к агрегации, что сильно усложняет процесс выделения. Кроме того, зачастую они требуют дополнительных стадий очистки от восстанавливающих агентов, некоторые из которых проявляют высокую токсичность. Поэтому, несмотря на меньшую эффективность фототермической конверсии, оксид графена до сих пор широко используется в фототермической терапии.

Поскольку по своим оптическим свойствам оксид графена имеет много общего с УНТ, результаты его применения в ФТТ хорошо коррелируют с аналогичными результатами для УНТ. Так, например, *Yang и др.* [21] показали 100%-ную выживаемость и полное исчезновение карциномы молочной железы у мышей, которым вводили ПЭГ-модифицированный нанографен (20 мг/кг) и облучали опухоль 808-нм лазером (2 Вт/см²). При этом содержание наночастиц оксида графена в опухоли через 24 часа после введения оказалось значительно выше, чем содержание УНТ в той же исходной концентрации. Авторы предположили, что двумерный характер графеновых наночастиц более предпочтителен для реализации EPR-эффекта, чем и объясняется их более длительное удерживание.

Еще одной примечательной работой в данной области является работа *Meng и др.* [26], где исследовались конъюгаты восстановленного оксида графена с поли(3-гексилтиофеном). Авторы показали, что конъюгация значительно усиливает фототермическую активность материалов: после облучения 532-нм лазером ($0,78 \text{ В/см}^2$, 10 мин) температура суспензии конъюгатов стала на $12,5^\circ\text{C}$ выше, чем суспензии восстановленного оксида графена. В данном случае механизм усиления фототермического эффекта можно объяснить последовательностью трех физических процессов: поглощением света полимером, фотоиндуцированным переносом энергии или электронов от полимера к восстановленному оксиду графена и безызлучательной релаксацией системы.

1.1.2 Материалы на основе соединений переходных металлов

1.1.2.1 Дисульфиды переходных металлов

Дисульфиды переходных металлов (Mo и W) имеют слоистую структуру, в которой атомы металла находятся между двумя слоями атомов серы, причем каждый атом металла окружен шестью атомами серы. По структуре и электронным свойствам эти соединения сходны с графеном, что позволяет предположить, что они также способны проявлять фототермическую активность [27]. Одними из первых это предположение подтвердили *Chou и др.* [28], показав, что при облучении 800-нм лазером эффективность фототермической конверсии для химически расслоенных наноллистов MoS_2 в 7,8 раз выше, чем для оксида графена, в 2,1 раз выше, чем для наностержней золота, поглощающих в ИК-области, и сравнима с эффективностью для восстановленного оксида графена.

Среди всего разнообразия наноструктур дисульфидов переходных металлов (наноллисты, наноконусы, «наночерви» и т.д.), именно наноллисты демонстрируют наибольшую эффективность фототермической конверсии из-за высокой удельной площади поверхности и, как следствие, способности поглощать большее количество фотонов при одинаковой концентрации наночастиц [29]. Однако дальнейшие исследования в этой области сильно тормозила общепринятая стратегия синтеза наноллистов «сверху – вниз», заключающаяся в химическом или механическом расщеплении объемных материалов. Эта стратегия, во-первых, очень трудоемка, а во-вторых, не позволяет воспроизводить морфологию и толщину наноллистов. Проблема была решена *Wang и др.* [30], которые в 2015-м году предложили универсальную стратегию синтеза ПЭГ-модифицированных наночастиц MoS_2 «снизу – вверх». Эта стратегия представляла собой простой сольватермальный синтез с использованием водного раствора ПЭГ-400 и позволяла получать материалы с желаемыми структурными характеристиками. Для изучения цитотоксического действия *in vitro* наночастицы ПЭГ- MoS_2 инкубировали с клетками карциномы молочной железы мыши и облучали 808-нм лазером, что показало их дозозависимую токсичность. Вдохновленные этим результатом, авторы также оценили эффективность *in vivo* терапевтического действия ПЭГ- MoS_2

на мышах с привитой раковой опухолью 4Т1 (клетки рака молочной железы). После облучения лазером опухоль значительно уменьшилась, и в течение минимум 40 дней не наблюдалось каких-либо заметных побочных эффектов. В дальнейшем эта стратегия синтеза была апробирована еще в ряде работ и практически полностью вытеснила применяемую ранее стратегию «сверху – вниз» [31-34].

Также нельзя не отметить еще один интересный подход к синтезу наночастиц дисульфидов переходных металлов, позволяющий, с одной стороны, избежать сложного процесса расщепления, а с другой, сохранить фототермическую активность материалов. Этот подход был реализован в работе *Li и др.* [35], где в качестве стабилизирующего агента использовался регенерированный фиброин шелка. В результате самосборки белков шелка на поверхности хлопьев MoS_2 образовывались наночастицы, что, во-первых, повышало стабильность полученных материалов, а во-вторых, при соотношении фиброин: $\text{MoS}_2 = 0,1:1$ по массе приводило к усилению фототермического эффекта на клетках линии HeLa (клетки рака шейки матки) в сравнении с исходной дисперсией MoS_2 . Дальнейшее увеличение количества фибрина в образцах отрицательно сказывалось на их фототермических свойствах, вероятно, из-за того, что наночастицы блокировали попадание ИК-излучения на поверхность материалов.

По сравнению с дисульфидом молибдена, изоструктурный ему дисульфид вольфрама достаточно малоизучен, несмотря на несколько большую эффективность фототермической конверсии [29]. Это связано с тем, что полученные сольватермальным методом наночастицы WS_2 часто содержат примеси одномерных наноструктур и производных WO_x , которые отрицательно сказываются на воспроизводимости результатов. Однако в литературе все же представлено некоторое количество работ, посвященных исследованию фототермических свойств WS_2 [36, 37] и перспективам их применения в качестве агентов для ФТТ.

1.1.2.2 Оксиды молибдена и вольфрама

Одной из отличительных особенностей оксидов молибдена и вольфрама является их богатая стехиометрия, включающая в себя как MoO_3/WO_3 , так и кислород-дефицитные $\text{MoO}_{3-x}/\text{WO}_{3-x}$ и даже полуметаллический MoO_2 . В качестве агентов для фототермической терапии наиболее перспективны именно нестехиометрические кислород-дефицитные оксиды, которые из-за наличия кислородных вакансий хорошо поглощают как в видимой, так и в ближней ИК-области [38, 39]. Их популярность обусловлена, прежде всего, тем, что данные оксиды могут одновременно проявлять фототермические, фотодинамические и фотоакустические свойства, что делает их очень перспективными агентами для синергетической терапии раковых опухолей [40-43]. Более подробно данная тема будет раскрыта в следующих главах, здесь же мы остановимся только на их фототермическом действии.

В химии соединений данного типа важным, пусть и недостаточно изученным, является вопрос зависимости фототермических свойств от стехиометрического состава. Для молибдена фактически единственной работой на эту тему является статья *Pandey и др.* [39], где авторы исследовали эффективность различных форм кислород-дефицитных нанопластинок оксида молибдена в фототермической терапии солидных раковых опухолей. Нанопластины голубовато-зеленого триоксида молибдена $\alpha\text{-MoO}_3$ (BG) были получены с помощью стандартной стратегии синтеза наноматериалов «сверху – вниз» (механическое расщепление с последующей ультразвуковой обработкой). В свою очередь, темно-синие (B) и оливково-зеленые (G) нанопластины $\alpha\text{-MoO}_{3-x}$ получали из BG $\alpha\text{-MoO}_3$ облучением ксеноновой лампой (600-900 Вт, 200-1500 нм) в течение 3 и 5 часов соответственно. Согласно данным рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии, форма BG содержала только молибден в степени окисления +6, а в формах B и G наблюдались сигналы Mo^{+5} и Mo^{+4} соответственно. Повышение температуры для BG, B и G после облучения 808-нм лазером составило 50, 65 и 52°C соответственно, а эффективность фототермической конверсии – 29, 44 и 42%. Далее материалы были протестированы *in vitro* на клетках линии A549 и *in vivo* на мышах с аналогичной раковой опухолью, причем в обоих случаях образец B демонстрировал наибольшую противоопухолевую активность.

В свою очередь, фототермические свойства нестехиометрических кислород-дефицитных оксидов вольфрама были изучены в работе *Chala и др.* [44]. В качестве объекта исследования авторы использовали оксиды состава WO_3 , $\text{WO}_{2.8}$ и $\text{WO}_{2.73}$, стабилизированные полиуретаном (содержание WO_{3-x} составляло 7% по массе). Повышение температуры для материалов на основе WO_3 , $\text{WO}_{2.8}$, $\text{WO}_{2.73}$ и чистого полиуретана после облучения ИК-лампой мощностью 150 В в течение 300 сек составило 76, 87, 97 и 45°C соответственно. Как видно из полученных данных, фототермические свойства материалов значительно улучшаются с уменьшением содержания кислорода в оксиде. Уменьшение содержания кислорода приводит к появлению в кристаллической структуре материала свободных электронов и, как следствие, к повышенному поглощению в ИК-области.

Нельзя не упомянуть и работы, посвященные исследованию фототермических свойств наночастиц диоксида молибдена MoO_2 [45, 46]. Например, в работе *Zhan и др.* [46] эти наночастицы сравнивались с рядом агентов для фототермической терапии: наночастицами WS_2 , нанокристаллами Cu_9S_5 и WO_{3-x} . Оказалось, что эффективность фототермической конверсии для MoO_2 составляет 61%, что приблизительно в два раза выше, чем для остальных веществ ($\text{WS}_2 = 33\%$, $\text{Cu}_9\text{S}_5 = 26\%$, $\text{WO}_{3-x} = 28\%$). Исследования на клетках линии HepG2 (клетки рака печени), инкубированных с наночастицами диоксида молибдена, показали, что облучение 808-нм лазером в течение 5 минут приводит к гибели 67% раковых клеток.

1.1.2.3 Оксиды железа

Наноматериалы на основе оксида железа Fe_3O_4 при действии на них внешнего магнитного поля способны вызывать значительную гипертермию раковых опухолей, однако, лишь в последние годы ученые обратили внимание, что подобный эффект достигается и под действием ближнего ИК-излучения [47-49]. Поскольку большинство агентов для фототермической терапии активируются именно лазерным излучением, для корректного сравнения наночастицы Fe_3O_4 также будут рассматриваться только с этой точки зрения, хотя нельзя не отдать должное огромному числу работ, посвященных магнитной гипертермии [50-53].

Фототермические свойства наночастиц Fe_3O_4 , впрочем, как и всех наноматериалов, в значительной степени зависят от их структурных и размерных характеристик. Так в работе *Shen и др.* [54] авторы сравнивали наночастицы Fe_3O_4 диаметром 15 нм и кластеры наночастиц размером порядка 225 нм и выяснили, что кластеры в пять раз более эффективно уничтожают раковые клетки. Процент гибели клеток линии A549 после 180 секунд облучения 808-нм лазером составил 72,8% в случае кластеров и 14,5% в случае наночастиц Fe_3O_4 . Еще одной интересной работой по данной теме является работа *Guo и др.* [55], где авторы синтезировали четыре типа наночастиц Fe_3O_4 диаметром 60, 120, 200 и 310 нм. В качестве опухолевой модели были использованы мультিকлеточные опухолевые сфероиды – 3D агрегаты клеток, имитирующие первичные, лишенные сосудов злокачественные опухоли с микрометастазами. Анализ данной модели показал, что частицы диаметром 60 нм демонстрируют наилучшее проникновение и распределение внутри опухоли и, следовательно, наибольшую клеточную гибель. С другой стороны, наночастицы больших размеров лучше накапливаются в опухоли и более эффективно ингибируют ее дальнейший рост.

Однако, несмотря на значительную эффективность наночастиц Fe_3O_4 , у них есть и ряд недостатков, главным из которых является высокая плотность свободных электронов. В связи с этим наночастицы Fe_3O_4 требуют больших энергий возбуждения, чем наночастицы других металлов, и, следовательно, возрастает необходимость их адресной доставки в опухоль. Для достижения этой цели было разработано несколько интересных подходов, помимо традиционной конъюгации с гиалуроновой кислотой и другими агентами для адресной доставки молекул в опухоль [56].

В работе *Zhou и др.* [57] было предложено использовать неодимовый магнит для адресной доставки ПЭГилированных наночастиц $\text{Fe}@\text{Fe}_3\text{O}_4$ в привитую HeLa опухоль, причем с использованием магнита температура опухоли после облучения оказалась в два раза выше, чем без него. *Jung и др.* [58] создали систему адресной доставки наночастиц, основанную на особой чувствительности митохондрий к температурным колебаниям. Авторы синтезировали наночастицы Fe_3O_4 , модифицированные кумарином, содержащим и не содержащим катион трифенилфосфония (рис. 4). Поскольку трифенилфосфоний обладает высокой специфичностью к митохондриям, модифицированные им частицы были локализованы именно там, в то время как частицы без

трифенилфосфония обнаруживались, в основном, в эндоплазматическом ретикулуме. После облучения 704-нм лазером клеточная гибель, как и ожидалось, оказалась выше для частиц с трифенилфосфонием (89,9% против 42,6%). И, наконец, последний подход, на котором хотелось бы остановиться, был реализован в работе *Ren и др.* [59]. Авторы использовали везикулы на основе эритроцитов, в которые включались наночастицы Fe_3O_4 , при этом увеличивалось время нахождения частиц в кровотоке и адресность их доставки. Уменьшение размера привитой опухоли MCF-7 (клетки рака молочной железы) после облучения 808-нм лазером составило 21,4% для немодифицированных наночастиц и 94,2% для конъюгатов. Эти исследования продолжили в своей работе *Rao и др.* [60], заменив эритроциты на тромбоциты. Результаты оказались практически идентичными: разница в изменении размера опухоли составила порядка 3%.

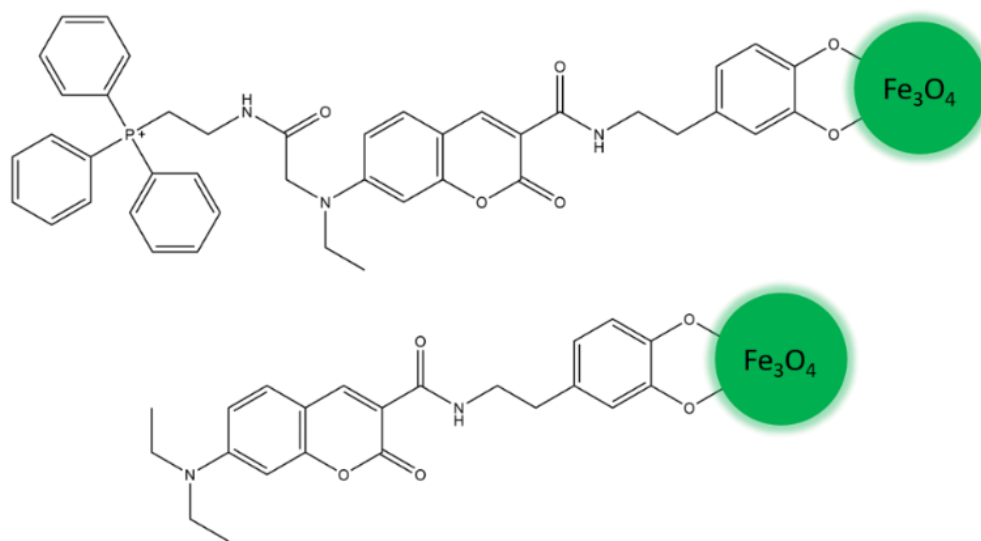


Рис. 4. Наночастицы Fe_3O_4 , модифицированные кумарином, содержащим (сверху) и не содержащим (снизу) катион трифенилфосфония

1.1.2.4 Медь-содержащие материалы

Среди медь-содержащих материалов наиболее широкое применение в фототермической терапии нашли сульфид меди CuS и медь-дефицитные соединения Cu_{2-x}S [61-67]. В отличие от наночастиц золота и углеродных нанотрубок, которые способны поглощать в видимой и ИК-области, благодаря поверхностному плазмонному резонансу, поглощение наночастиц CuS базируется на d-d переходах в ионах Cu^{2+} и, как следствие, на него не оказывают влияние компоненты окружающей среды.

Однако у этих частиц есть и существенный недостаток, а именно – низкая эффективность фототермической конверсии [61, 62]. Так, например, в работах *Li и др.* и *Zhou и др.* было показано, что при использовании наночастиц CuS размером ~ 3 нм как агентов для фототермической терапии, мощность 808-нм лазера, необходимая для заметной гибели раковых клеток, достигает 16 и 24 Вт/см² соответственно. Это примерно в 48 и 72 раза выше, чем допустимый предел (0,33

Вт/см²) воздействия лазера такой мощности на кожу человека. В связи с этим появился целый ряд работ, посвященных поиску такой формы, размера и элементного состава наночастиц CuS, которые бы позволили повысить эффективность их фототермической конверсии. В работе *Tian и др.* [63] исследовались кристаллические пластинки Cu₉S₅, для возбуждения которых использовался 980-нм лазер мощностью 0,51 В/см². *Mou и др.* [64] остановили свой выбор на ультрананоразмерных частицах Cu_{2-x}S, которые также облучались 980-нм лазером с несколько большей мощностью – 1,51 В/см². Наконец, в работе *Feng и др.* [65] мощность 980-нм лазера для возбуждения гексагональных пластинок CuS составила 4 Вт/см². Во всех упомянутых работах гибель раковых клеток составляла более 50%.

Помимо сульфидов, перспективными агентами для фототермической терапии раковых опухолей являются наночастицы металлической меди, которые способны поглощать свет в диапазоне 550-600 нм, однако, для того чтобы использовать эти частицы в биологических системах, необходимо сместить максимум их поглощения в ближнюю ИК-область. Один из способов решения данной проблемы – покрытие наночастиц меди слоем Cu₂O, который смещает максимум поглощения в красную область спектра, благодаря высокому показателю преломления (~ 2,7). В работе *Tai и др.* [68] наночастицы меди диаметром 18 нм покрывались оболочкой Cu₂O толщиной 15 нм и стабилизировались поли(стеарилметакрилатом) (PSMA), при этом максимум поглощения смещался с 588 на 660 нм. Исследование полученной системы *in vitro* показало, что после облучения светодиодом с длиной волны 660 нм гибло от 50 (концентрация Cu@Cu₂O@PSMA – 20 мд) до 90% (концентрация Cu@Cu₂O@PSMA – 50 мд) клеток линии HeLa.

1.1.3 Материалы на основе наночастиц благородных металлов

Благодаря широкому сечению поглощения, фотостабильности и устойчивости к фотообесцвечиванию, наночастицы благородных металлов являются перспективными агентами для фототермической терапии раковых опухолей [69]. Поглощение света с определенной длиной волны вызывает на поверхности этих частиц коллективные колебания электронов проводимости, осциллирующих в резонансе со световой волной. Такие связанные колебания электромагнитного поля и электронов проводимости, распространяющиеся вдоль границы раздела металл-диэлектрик, называют поверхностными плазмонами, а само явление – поверхностным плазмонным резонансом (ППР). ППР способен генерировать тепло, поскольку возбужденные электроны переводят часть своей энергии в фононы – колебания атомов в кристаллической решетке (рис. 5) [70].

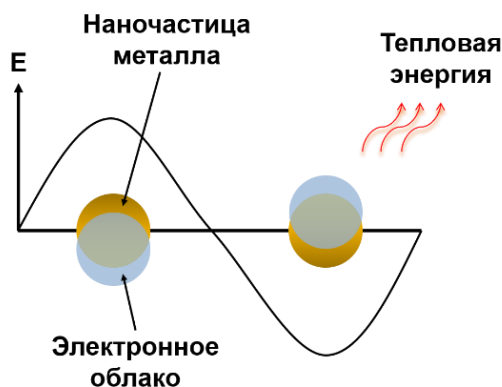


Рис. 5. Механизм генерации тепловой энергии в наночастицах металлов

Многие металлы, такие как золото, серебро, никель, алюминий, литий, платина и палладий, обладают ярко-выраженным ППР, интенсивность которого прямо пропорциональна добротности – параметру колебательной системы, который определяет ширину резонанса (рис. 6) [71].

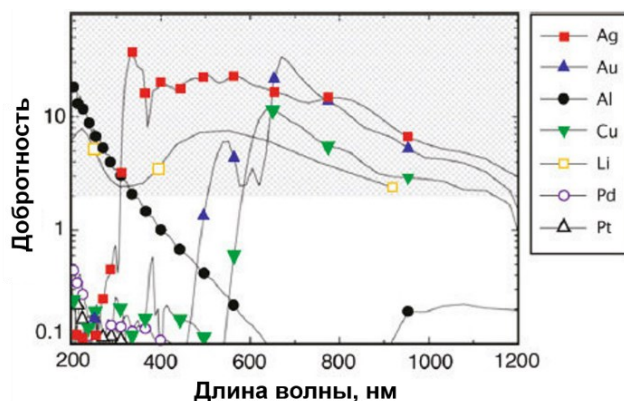


Рис. 6. Добротность поверхностного плазмонного резонанса на границе раздела металл-воздух.

Большая добротность говорит о более ярко выраженном плазмонном резонансе [72]

Основываясь на добротности металлов в ближней ИК-области, можно сделать вывод, что для фототермической терапии наиболее перспективны литий, медь, серебро и золото, однако, для биомедицинского применения одних плазмонных свойств недостаточно. Из-за высокой реакционной способности лития и нестабильности и токсичности меди, эти металлы в медицине используют редко [73]. Серебро также не лишено недостатков: несмотря на превосходную тепло- и электропроводность, его наночастицы довольно токсичны, поскольку выделяют ионы Ag^+ [74], однако, стоит отметить, что эту проблему до известной степени решает пассивация поверхности [75]. Таким образом, наиболее перспективными для биомедицинского применения являются биоинертные наночастицы золота [76-78].

Золотые и серебряные наночастицы маленького размера – «зародыши» – имеют ярко выраженный сигнал ППР на 520 нм в случае золота и в диапазоне 390-420 нм в случае серебра, однако, его можно легко сместить в ближнюю ИК-область. Это можно сделать двумя способами: во-

первых, увеличив размер частиц (рис. 7), а во-вторых, повысив их анизотропию, например, превратив сферические наночастицы в стержни [79].

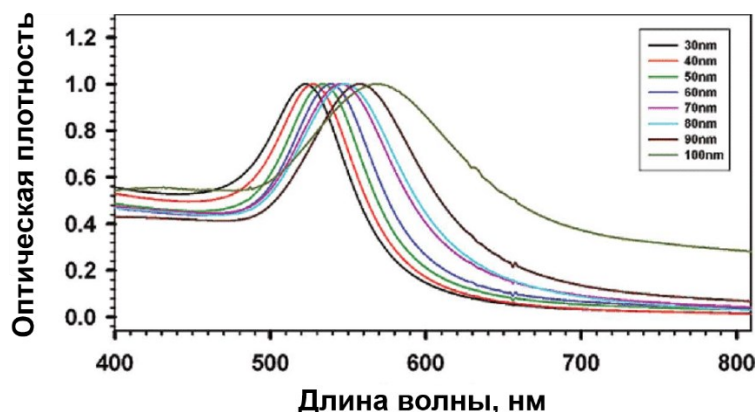


Рис. 7. Электронные спектры поглощения коллоидных растворов сферических наночастиц золота разного диаметра [80]

Наностержни золота имеют два сигнала ППП – продольный и поперечный, отвечающие за колебания электронов проводимости вдоль длинной и короткой оси стержня соответственно. Изменяя отношение длины стержня к его ширине (осевое соотношение/aspect ratio, **AR**), можно сдвигать максимум ППП в длинноволновую область (рис. 8).

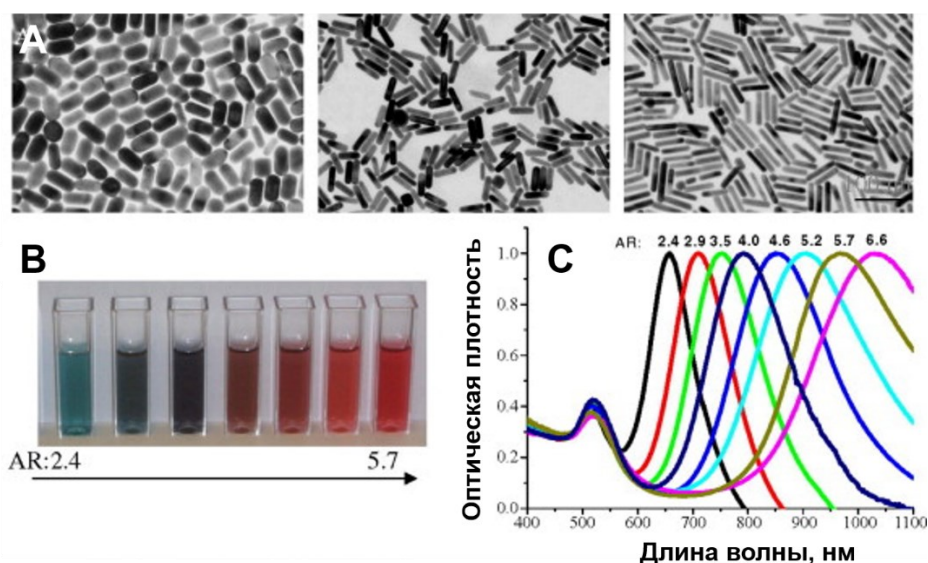


Рис. 8. А: ПЭМ-изображения наностержней золота с различным AR; В: изменение цвета коллоидных растворов наностержней золота с различным AR; С: электронные спектры поглощения коллоидных растворов наностержней золота с различным AR [79]

Альтернативный пример наночастиц с ярко выраженным ППП – это золотые наноболочки. Их синтезируют путем осаждения тонкого (5-20 нм) слоя золота на поверхность наночастиц диоксида кремния [81]. Положение максимума поглощения таких частиц зависит от отношения

толщины оболочки к диаметру ядра. И хотя наноболочки с твердым ядром по-прежнему находят применение в ФТТ, более перспективным на данный момент является использование полых наноболочек или наноклеток. Получают наноклетки путем осаждения слоя золота на поверхность другого металла (чаще всего серебра) с последующим вытравливанием темплата [82]. С уменьшением толщины металлической оболочки максимум поглощения наночастиц смещается в длинноволновую область (рис. 9).

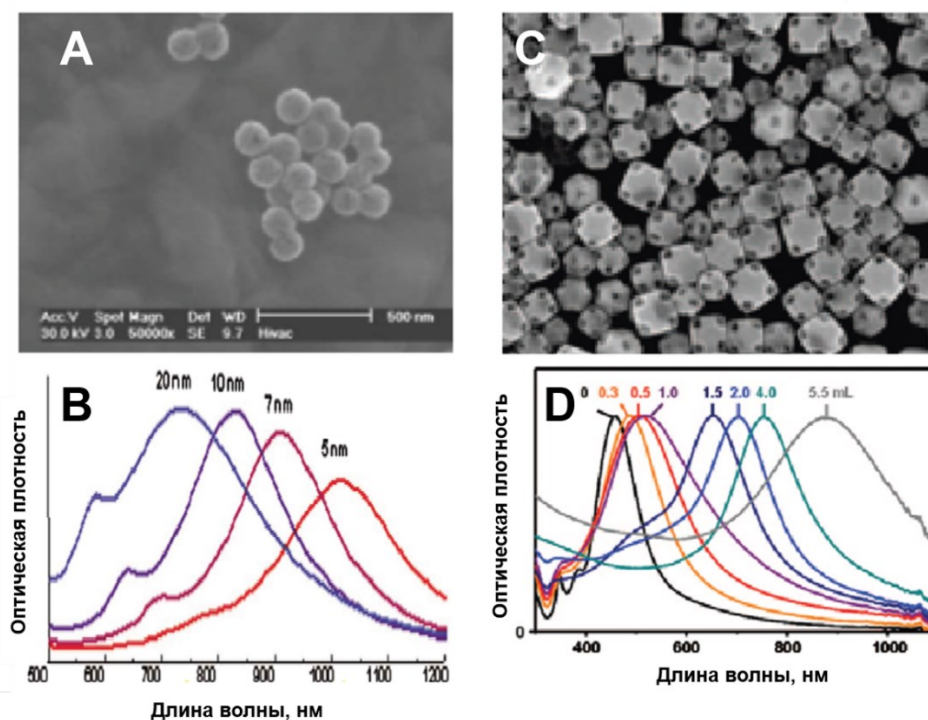


Рис. 9. А: ПЭМ-изображение золотых наноболочек; В: электронные спектры поглощения коллоидных растворов золотых наноболочек разной толщины; С: ПЭМ-изображение золотых наноклеток; D: электронные спектры поглощения коллоидных растворов золотых наноклеток с разной толщиной стенки [79]

Сложность синтеза тонких золотых наноболочек заключается в сохранении их целостности: стабильные, пригодные для дальнейших исследований частицы получаются с довольно низкими выходами. Еще одним методом регулирования положения ППР для этих объектов является легирование другими металлами (Ag-Au [83], Ag-Pt [84], Ag-Pd [85]) или синтез биметаллических частиц типа ядро-оболочка (Ag-Au [86], Au-Ag [87], Ag-Pt [88], Pt-Pd [89]).

1.1.3.1 Наночастицы серебра

Несмотря на высокую токсичность, материалы на основе серебра традиционно использовались в медицине в качестве антибактериальных агентов, в частности – как средство для лечения ожогов [90], однако, с появлением антибиотиков интерес к ним резко упал. Лишь в последние

двадцать лет наночастицы серебра снова привлекли внимание ученых как потенциальные агенты для фототермической терапии раковых опухолей.

В работе *Vosa и др.* [91] авторы сравнивали противораковую активность треугольных наночастиц серебра, стабилизированных хитозаном, и ПЭГилированных наностержней золота. При этом выяснилось, что фотоиндуцированная токсичность наночастиц серебра по отношению к раковым клеткам линии NCI-H460 (клетки немелкоклеточного рака легких) более чем в 4 раза превышала токсичность наностержней золота, а их концентрация, напротив, была в 18 раз ниже (0,39 и 7,21 мкг/мл соответственно). Авторы объясняли это, во-первых, большей интенсивностью поглощения наночастиц серебра, а во-вторых, различием в поверхностном заряде частиц. Положительный заряд хитозан-модифицированных наночастиц серебра (+39 мВ), с одной стороны, препятствовал их агрегации, а с другой, облегчал проникновение в клетку, в отличие от наностержней золота, чей дзета-потенциал оказался близок к нулю.

В подавляющем большинстве работ, посвященных наночастицам серебра, они используются в сочетании с другими агентами для фототермической терапии, например, УНТ [92], Fe₃O₄ [93] и наиболее часто – с наночастицами золота [94-98]. Золото обладает меньшей токсичностью, чем серебро, что повышает биосовместимость таких материалов, серебро же, в свою очередь, увеличивает интенсивность поглощения и эффективность фототермической конверсии. Остановимся подробнее на наиболее интересных работах по данной тематике.

В работе *Wang и др.* [94] авторы синтезировали довольно сложную комбинированную систему, состоящую из золото-серебряных наностержней, родамина 6G для биовизуализации и гибридного белка рVIII, обладающего специфичностью к раковым клеткам линии SW620 (клетки рака толстой кишки). Золото-серебряные наностержни были получены из смеси солей в растворе и демонстрировали два интенсивных абсорбционных сигнала на 401 и 803 нм. Стоит отметить, что по сравнению с золотыми наностержнями такие гетерометаллические частицы менее дороги, поскольку состоят, в основном, из серебра. Модельные эксперименты *in vitro* подтвердили эффективность данной системы: в частности, для заметной гибели инкубированных с наночастицами раковых клеток требуется облучение 808-нм лазером в течение 4 минут, в то время как при использовании треугольных наночастиц серебра в той же концентрации необходимо около 10 минут. Также авторы сравнили фотоиндуцированную токсичность наночастиц на клетках линий НЕК293Т (клетки почки эмбриона человека), HepG2 и SW620. После 30 минут облучения процент живых клеток линии SW620 оказался в 2,5 раза меньше, чем клеток двух других линий, что подтверждало специфичность полученной системы.

В работе *Ye и др.* [98] авторы изучали влияние морфологии комбинированных наночастиц типа ядро-оболочка на их фототермические свойства. Наночастицы были получены путем

покрытия наностержней золота оболочкой из серебра и последующей реакции с HAuCl_4 для образования на поверхности золото-серебряного сплава (рис. 10). В зависимости от количества нитрата серебра оболочка могла иметь как стержнеобразную, так и сферическую форму. Авторы показали, что эффективность нагрева сферических наночастиц $\text{Au}@\text{Ag}/\text{Au}$ под 980-нм лазером в 2,2 раза выше, чем стержнеобразных, и в 5,7 раз выше, чем ЦТАБ-стабилизированных наностержней золота (ЦТАБ – цетилтриметиламмоний бромид). Кроме того, использование непрерывного лазера способно еще больше увеличивать их фототермический эффект за счет интенсивного поглощения в диапазоне 400-1100 нм.

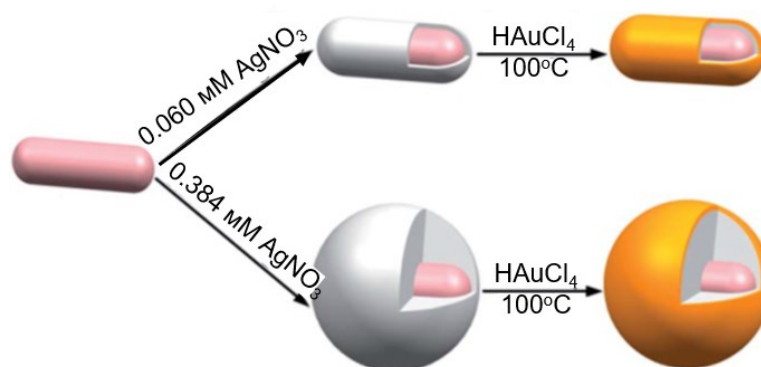


Рис 10. Схема получения сферических и стержнеобразных наночастиц $\text{Au}@\text{Ag}/\text{Au}$

1.1.3.2 Наночастицы золота

1.1.3.2.1 Сферические наночастицы золота

Среди всего многообразия золотых наноструктур сферические наночастицы золота выделяются простотой синтеза и поверхностной модификации. Самым распространенным методом синтеза таких частиц является цитратный метод, заключающийся в восстановлении золотохлористоводородной кислоты цитратом натрия, который служит одновременно восстановителем и стабилизирующим агентом [99]. Путем варьирования концентрации цитрата натрия можно получать частицы размером от 5 до нескольких сотен нанометров. Цитрат-стабилизированные наносферы отличаются высокой стабильностью и могут ковалентно и нековалентно связываться с различными молекулами, такими как полимеры [100], ДНК [101], белки [102] и антитела [103].

Однако наносферы золота обладают и существенным недостатком, затрудняющим их применение в биомедицинских целях: они неспособны поглощать в ближней ИК-области, полосы их поглощения лежат в диапазоне 500-600 нм. Тем не менее, в ряде статей продемонстрировано успешное использование сферических наночастиц золота в терапии поверхностных опухолей под действием лазеров видимого диапазона [104-108]. Так, например, в работе *Pitsillides и др.* [104] была продемонстрирована способность 30 нм наносфер золота разрушать Т-лимфоциты под действием коротких лазерных импульсов ($\lambda = 565$ нм, 20 нс). Авторы также показали, что

клеточная гибель является следствием кавитации – образования микропузырьков, способствующих повреждению клеточной мембраны.

Также хотелось бы упомянуть фундаментальную работу *Huang и др.* [109], в которой исследовалось влияние типа внутриклеточной локализации наносфер золота и режима их облучения на эффективность ФТТ. Наночастицы золота диаметром 30 нм с максимумом поглощения на 530 нм модифицировались RGD-пептидом (Arg-Gly-Asp) для локализации в цитоплазме или последовательностью ядерной локализации (nuclear localization signal, NLS) для локализации в ядре, а затем облучались непрерывным (25 В/см^2 , 5 мин) и импульсным (0,3-0,8 мДж, 6-7 нс) лазерами с длиной волны 532 нм. Оказалось, что в случае непрерывного лазера минимальная энергия, необходимая для клеточной гибели, составила 60 и 210 Дж для частиц, локализованных в цитоплазме и ядре соответственно, а в случае импульсного лазера – 0,8 и 0,3 мДж. Как видно из полученных данных, импульсный лазер более эффективен при локализации наночастиц в ядре, поскольку там они более агрегированы и, как следствие, более интенсивно поглощают свет.

Однако наносферы золота способны возбуждаться и под действием ИК-излучения [110-112]. Это связано с нелинейными оптическими свойствами агрегатов наночастиц золота. Два фотона ближней ИК-области с частотой ω при взаимодействии с наносферами превращаются в фотон с частотой 2ω и длиной волны, близкой к максимуму поглощения наночастиц (~550 нм). Таким образом, благодаря генерации второй гармоники, наносферы золота могут успешно применяться в ФТТ. Впервые фототермический эффект конъюгатов наносфер золота с антителами к рецептору эпидермального фактора роста (epidermal growth factor receptor, **EGFR**) был описан в работе *Huang и др.* [110]. Под действием 800-нм лазера раковые клетки линии HSC3 (клетки рака полости рта) разрушались, причем необходимая для этого энергия была в 20 раз ниже, чем в отсутствие золотых наносфер (1,1 и 22,2 мВ соответственно). Зависимость числа мертвых клеток от мощности лазера имела квадратичный характер, что подтверждало гипотезу о двухфотонном характере поглощения.

В более поздних работах было показано, что для применения в ФТТ больше подходят не сами наносферы золота, а их производные: крупные агрегаты, состоящие из отдельных частиц (нанокластеры), и наночастицы, состоящие из диэлектрического ядра, покрытого металлической оболочкой, представляющей собой агрегаты наночастиц золота (нанооболочки) [113-121]. Максимум ППП таких объектов смещается из видимой в ближнюю ИК-область, что связано с синхронизацией плазмонных колебаний частиц, расположенных в непосредственной близости друг от друга [122]. Далее будет рассмотрено несколько наиболее интересных работ, посвященных применению нанооболочек и нанокластеров золота в ФТТ.

Очень изящный способ инициирования конденсации наносфер золота в нанокластеры был продемонстрирован в работе *Chen и др.* [113]. 5 нм наночастицы золота модифицировались полипептидом Ac-Arg-Val-Arg-Arg-Cys(StBu)-Lys-CBT (CBT – 2-цианобензотиазол). Этот полипептид интересен тем, что содержит последовательность основных аминокислот Arg-X-Lys/Arg-Arg, которая расщепляется под действием фурина – фермента, гиперэкспрессирующегося некоторыми видами раковых клеток. После проникновения наночастиц в клетку содержащийся в ней глутатион восстанавливает дисульфидную связь фрагмента Cys-StBu до SH-группы, а фурин удаляет последовательность основных аминокислот. Последующая конденсация цистеина и бензотиазола приводит к образованию димерной структуры и индуцирует агрегацию наночастиц вблизи аппарата Гольджи, где и накапливается фурин (рис. 11). При этом максимум поглощения наночастиц уширяется и смещается в красную область с 520 на 705-900 нм.

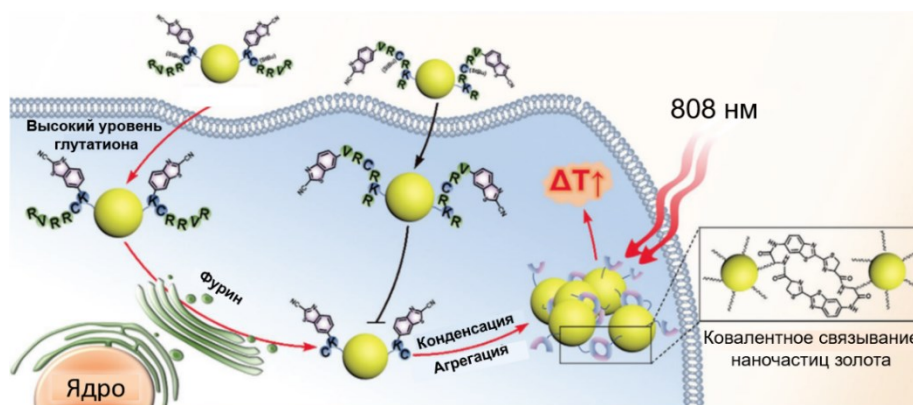


Рис 11. Схематическая иллюстрация внутриклеточной фурин-регулируемой агрегации наночастиц золота в золотые нанокластеры

Эффективность таких нанокластеров в сравнении с наночастицами золота, не модифицированными таргетным полипептидом, была продемонстрирована на мышах с привитой раковой опухолью MDA-MB-468 (клетки рака молочной железы). При облучении 808-нм лазером агрегаты наночастиц нагревали опухоль до 44,9°C, что приводило к практически полному ее исчезновению, в то время как терапевтический эффект отдельных частиц оказался намного ниже.

Еще один способ образования нанокластеров золота был описан в работе *Park и др.* [115] и заключался во включении 4 нм наносфер золота в наночастицы альбумина размером 100-150 нм, что приводило к их агрегации. Варьируя количество альбумина, авторы получили нанокластеры трех размеров: 882, 88 и 34 нм, а для флуоресцентной визуализации дополнительно модифицировали полученные частицы красителем Cyanine 5.5. Наночастицы, содержащие 882 нм нанокластеры золота, не подходили для биологических исследований, поскольку массивное золотое ядро практически полностью тушило люминесценцию красителя, однако, два других образца демонстрировали высокую интенсивность флуоресценции. При облучении 808-нм лазером

нанокластеры золота размером 88 нм нагревались до 70°C, в то время как нанокластеры меньшего размера – всего до 40°C. Такая значительная разница связана с тем, что нанокластеры большего размера поглощают на длине волны 808 нм примерно в 3 раза интенсивнее, чем небольшие нанокластеры. Гипертермический эффект наночастиц, содержащих 88 нм нанокластеры золота, был подтвержден *in vivo* на мышах с привитой раковой опухолью НСТ116 (клетки рака толстой кишки). После облучения объем опухоли уменьшился со 150 до 17,8 мм³.

В работе *Xuan и др.* [116] описан способ «маскировки» пористых наноболочек золота, содержащих флуоресцентный краситель Cyanine 7, с целью увеличить время их нахождения в кровотоке. Для этого наноболочки толщиной 12 нм включались в везикулы макрофагов, которые не только способствовали длительному нахождению в кровотоке, но и в два раза повышали накопление в опухоли за счет поверхностных белков макрофагов. Исследования *in vivo* на мышах с привитой раковой опухолью 4Т1 показали, что после облучения 808-нм лазером опухоль полностью исчезла и не проявлялась на протяжении как минимум 25 дней после терапии. Стоит отметить, что макрофаги также очень эффективны для доставки золотых наноболочек в опухоли головного мозга, поскольку способны проникать через гематоэнцефалический барьер между кровеносной и центральной нервной системой [119].

1.1.3.2.2 Золотые наноклетки

Золотые наноклетки представляют собой полые пористые кубические наночастицы золота размером от 10 нм. Их синтез осуществляется путем гальванического замещения атомов серебра на темплатах из серебряных нанокубов. Редокс-потенциал пары $\text{AuCl}_4^-/\text{Au}$ (0,99 В) выше, чем редокс-потенциал пары AgCl/Ag (0,22 В). Следовательно, серебряные нанокубы могут окисляться согласно уравнению: $3\text{Ag(тв.)} + \text{HAuCl}_4(\text{р-р}) \rightarrow \text{Au(тв.)} + 3\text{AgCl(тв.)} + \text{HCl(р-р)}$. Выделяющееся в ходе реакции золото осаждается на поверхности нанокуба, а расположенное внутри серебро окисляется с образованием полой структуры [123]. Стоит отметить, что в большинстве работ, посвященных биомедицинскому применению золотых нанокубов, в их внутреннюю полость включается противоопухолевый препарат (чаще всего, доксорубин), обеспечивающий синергетический эффект от двух видов противораковой терапии: фототермической и химиотерапии. В данном разделе такие работы рассматриваться не будут.

Максимум поглощения золотых наноклеток зависит от толщины металлической стенки и лежит в диапазоне от 400 до 1000 нм. Помимо длины волны поглощаемого света, для фототермической терапии важна площадь поперечного сечения поглощения, которая, например, для золотых наноклеток размером 30 нм и толщиной стенки – 5 нм составляет $20 \times 10^{-15} \text{ м}^2$, что в 5-10 раз ниже, чем для большинства органических красителей [124]. Однако частицы, размер которых превышает 45 нм, имеют слишком большую площадь поперечного сечения и, как следствие,

более эффективно рассеивают, а не поглощают падающее излучение. Таким образом, для фототермической терапии лучше всего подходят частицы, размер которых не превышает 45 нм.

Как уже отмечалось ранее, в литературе представлено довольно ограниченное количество работ, посвященных исключительно фототермической терапии с использованием золотых наноклеток [96, 125]. Здесь мы подробно остановимся только на одном исследовании, выполненном *Piao и др.* [126], в котором авторы разработали интересную систему адресной доставки золотых наноклеток в опухоли. Они модифицировали наночастицы ацилсульфонамидным лигандом, который при физиологических значениях $\text{pH} = 7,2 - 7,4$ представляет собой цвиттер-ион, а в слабокислой среде при $\text{pH} = 6,0 - 6,8$ переходит в катионную форму, которая характеризуется меньшим временем циркуляции в крови. Раковые клетки характеризуются более низким значением pH , чем здоровые ткани, поэтому золотые наноклетки накапливаются в опухоли (рис. 12). В отличие от золотых наноклеток, модифицированных поливинилпирролидоном (ПВП), разработанная система при облучении 850-нм лазером полностью уничтожала раковую опухоль и сдерживала ее рост на протяжении, как минимум, 35 дней.

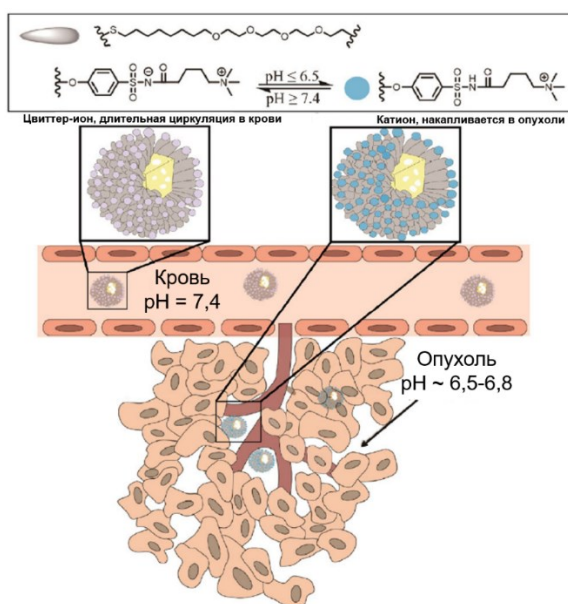


Рис. 12. Схематическая иллюстрация адресной доставки золотых наноклеток в опухоль посредством модификации pH -чувствительным ацилсульфонамидным лигандом

1.1.3.2.3 Золотые наностержни

Первые упоминания о фототермической терапии с участием наностержней золота относятся к 2006-му году, когда были опубликованы работы *El-Sayed и др.* [108] и *Huang и др.* [127]. Уникальная форма этих частиц обуславливает наличие у них двух полос плазмонного резонанса: более слабой – в видимой области спектра (поперечный плазмонный резонанс, вызванный колебаниями электронов вдоль короткой оси стержня) и более интенсивной – в ИК-области

(продольный плазмонный резонанс, вызванный колебаниями электронов вдоль длинной оси стержня) [128].

Положение максимума продольного плазмонного резонанса зависит от осевого соотношения стержней (aspect ratio, AR), и наиболее подходящими для фототермической терапии являются частицы с $AR = 3 - 6,6$ [79]. В работе *Mackey и др.* [129] исследовались наностержни золота трех различных размеров (длина \times ширина: 38×11 , 28×8 и 17×5 нм). Полученные результаты доказывают, что, несмотря на близкие значения AR (3,4 – 3,5), максимумы продольного плазмонного резонанса этих частиц не идентичны и составляют 740, 770 и 755 нм соответственно. Это различие обуславливает повышенную эффективность фототермической конверсии наностержней размером 28×8 нм под облучением лазером с длиной волны 808 нм ($5,8 \text{ В/см}^2$, 2 мин) – она оказалась в 2,05 и 1,4 раза выше, чем для наностержней размером 38×11 и 17×5 нм соответственно. Кроме того, авторы показали повышенную токсичность наностержней золота размером 28×8 нм по отношению к клеткам линии HSC3. После облучения процент выживших клеток составил 100, 17 и 29% для наностержней размером 38×11 , 28×8 и 17×5 нм соответственно.

Еще одним важным параметром, от которого зависит эффективность фототермической терапии, является размер наностержней золота. Наиболее эффективными являются наночастицы малого размера с диаметром менее 12 нм [130]. Это связано с легкостью их проникновения в клетки: чтобы обволочь частицу небольшого размера и инициировать ее проникновение в клетку, требуется меньшее количество рецепторов, чем для частиц большого диаметра. В работе *Wang и др.* [131] описан интересный подход к синтезу дендример-стабилизированных наностержней малого размера (порядка 10 нм в длину, $AR = 1 - 4$) путем диализа сферических наночастиц золота в фосфатном буферном растворе (рН = 5). Для установления механизма изменения формы частиц они были подвергнуты диализу в буферных растворах с рН от 4 до 11. Поскольку дендримеры, которыми стабилизированы наночастицы, содержат большое количество первичных и третичных аминогрупп, при низких значениях рН они могут протонироваться, тем самым обнажая наночастицы. В отсутствие стабилизации наночастицы слипаются и переходят в наностержни. Для использования таких объектов в биологических системах наностержни предварительно обрабатывали глицидолом, чтобы удалить с поверхности первичные аминогруппы и тем самым повысить их биосовместимость. После облучения 808-нм лазером ($3,6 \text{ В/см}^2$, 5 мин) выживаемость раковых клеток линии РС-9 (клетки рака легкого человека), инкубированных с глицидол-модифицированными наностержнями золота, составила менее 5%.

В литературе представлено большое количество работ, посвященных успешному применению наностержней золота для фототермической терапии различных раковых опухолей [132-134]. Отдельного упоминания заслуживают комбинации этих частиц с другими фототермическими

агентами, например, производными графена [135-137]. Описано как покрытие наностержней золота тонким слоем восстановленного оксида графена [135, 136], так и нанесение на листы оксида графена наностержней золота [137]. Во всех описанных случаях наблюдался синергетический эффект: так в работе *Lim и др.* [136] было показано, что для наностержней золота, покрытых слоем восстановленного оксида графена, температура коллоидного раствора после облучения оказалась в 2,9 раз выше, чем в случае ЦТАБ-стабилизированных наностержней. Также примечательно, что при покрытии восстановленным оксидом графена наночастиц диоксида кремния никакого фототермического эффекта не наблюдалось, что говорит о том, что увеличение эффективности фототермической конверсии происходит именно из-за взаимодействия восстановленного оксида графена с поверхностными плазмонами наностержней золота.

1.1.3.2.4 Золотые нанозвёзды

Помимо наночастиц простой формы, таких как наносферы, наностержни и нанокубы, внимание ученых привлекают и наночастицы более сложной формы, в частности, золотые нанозвёзды, отличительной чертой которых является наличие нескольких острых выступающих лучей вокруг сферического ядра. Их получают типичным для наночастиц восстановлением ионов золота в присутствии различных формообразующих агентов (ЦТАБ, додецилсульфата натрия, ПВП, полиаллилдиметиламмоний хлорида, желатина и т.д.). Для золотых нанозвёзд характерна слабо выраженная монодисперсность, однако, в некоторых случаях на электронных спектрах поглощения можно наблюдать и отдельные сигналы, чаще всего локализующиеся в диапазоне 650-900 нм.

Максимум поглощения золотых нанозвёзд зависит от размера ядра, а также длины, ширины и количества лучей. Увеличение этих параметров смещает максимум полосы плазмонного резонанса в ИК-область. *Espinosa и др.* [138] синтезировали золотые нанозвёзды диаметром 25, 55, 85, 120 и 150 нм и обнаружили, что 25 нм частицы имеют два максимума поглощения на 550 и 700 нм, а частицы диаметром 55, 85, 120 и 150 нм – один максимум поглощения на 790, 800, 900 и 950 нм соответственно. Кроме того, авторы показали, что под облучением 808-нм лазером (1 Вт/см², 10 мин) частицы диаметром 25, 85 и 150 нм способны вызвать повышение температуры коллоидного раствора на 18, 45 и 36°C соответственно. К интересным работам в данном направлении можно отнести также работу *Hou и др.* [139], в которой исследовались микросферы из альгината кальция с заключенными внутри золотыми нанозвёздами. Синтез таких частиц осуществлялся следующим образом: к эмульсии жидкого парафина с небольшим количеством неионогенного ПАВ Span 80, наночастицами хлорида кальция и витамином С по каплям добавляли раствор, содержащий альгинат натрия и HАuCl₄. При этом образовывались микросферы альгината кальция, внутри которых ионы Au³⁺ восстанавливались до Au⁰. Диаметр получившихся нанозвёзд составлял от 60 до 80 нм. Увеличение количества HАuCl₄ приводило к уширению полосы поглощения, а также – к увеличению температуры коллоидных растворов после облучения с 23 до

41°C. Микросферы альгината кальция, не содержащие наночастиц золота, после облучения повышали температуру коллоидного раствора лишь на 11°C.

Как известно, подавляющее большинство агентов для фототермической терапии подходят только для применения в первом биологическом окне (650-950 нм), однако, золотые нанозвезды с более чем десятью лучами, могут применяться и во втором биологическом окне (1000-1700 нм). Такие нанозвезды были описаны в работе *Song u др.* [140]. Синтез их осуществлялся стандартным зародышевым методом с использованием HAuCl_4 , аскорбиновой кислоты и (1-гексадецил)три-метиламмоний хлорида. Полученные наночастицы демонстрировали два максимума поглощения на 785 и 1064 нм. Как и ожидалось, золотые нанозвезды проявили значительную фототермическую активность под облучением как 785-нм, так и 1064-нм лазером: в первом случае коллоидный раствор наностержней нагрелся на 16,4°C, а во втором – на 14,7°C. Эффективность фототермической конверсии составила 34,5 и 13% соответственно.

1.1.3.2.5 Сравнение различных типов наночастиц золота

В заключение данного раздела хотелось бы остановиться на сравнении фототермических свойств различных типов наночастиц золота. Наиболее подробным исследованием, посвященным этой теме, является недавняя работа *Pakravan u др.* [141]. В ней авторы синтезировали семь типов наночастиц золота: наносферы, наностержни, наноклетки, нанозвезды, полые наночастицы Au-Ag, а также наноболочки с ядром из SiO_2 и Fe_3O_4 . Все образцы облучались 808-нм лазером (0,7 В/см²) в течение 10 мин. Наибольшую эффективность фототермической конверсии продемонстрировали золотые нанозвезды (после 10 минут облучения температура раствора достигла 53°C). Им несколько уступают полые наночастицы Au-Ag (52°C), наностержни (50°C), наноклетки (49°C) и наноболочки $\text{SiO}_2@Au$ (48°C) и $\text{Fe}_3\text{O}_4@Au$ (47°C). Наносферы золота в этих условиях нагрелись до 38°C. Как можно заметить, анизотропные частицы являются более перспективными фототермическими агентами, чем наносферы и наноболочки. В первую очередь, это связано с легкостью проникновения электрического поля внутрь частиц, вследствие чего весь их объем участвует в нагреве коллоидного раствора. Кроме того, повышение температуры напрямую зависит от положения максимума ППП: чем ближе он к длине волны лазера, тем выше эффективность фототермической конверсии плазмонных наночастиц.

Кроме того, в литературе присутствует довольно большое количество исследований, где сравниваются два или три типа наночастиц золота [142-144]. В качестве примера можно привести работу *Pattani u др.* [142], где было показано, что под облучением 808-нм лазером (2 В/см²) золотые наностержни в два раза эффективней преобразуют свет в тепло, чем золотые наноболочки с ядром из диоксида кремния. Еще одним примером может служить работа *Wang u др.* [143], посвященная сравнению фототермической активности трех золотых наноструктур – наногексапедов, наностержней и наноклеток. Увеличение температуры коллоидных растворов после

облучения 808-нм лазером ($0,8 \text{ В/см}^2$) составило 23, 24 и 25°C для наностержней, наногексапедов и наноклеток соответственно.

1.2. Фотодинамическая терапия

Фотодинамическая терапия (ФДТ) основана на способности некоторых молекулярных соединений и наноструктур (фотосенсибилизаторов – **ФС**) фотосенсибилизировать процесс генерации активных форм кислорода (**АФК**) под действием света с определенной длиной волны.

Необходимым условием существования такого процесса является наличие у возбужденной молекулы двух систем уровней: синглетного (S_n) и триплетного (T_n). Разрешенные электронные переходы осуществляются между основным (S_0) и возбужденным синглетными состояниями, однако, запрещенные синглет-триплетные переходы также возможны. Для обозначения таких переходов используется термин «интеркомбинационная конверсия» (intersystem crossing, **ISC**) вероятность которой повышается при сближении синглетных и триплетных энергетических уровней, а также при наличии в структуре фотосенсибилизатора атомов тяжелых элементов. Дальнейший процесс генерации АФК может осуществляться по двум механизмам. Механизм I типа заключается в фотоиндуцированном переносе электрона на близлежащие молекулы. Результатом данного процесса является появление промежуточных радикалов, вступающих в химическое взаимодействие с кислородом тканей с образованием супероксидных анион-радикалов ($\text{O}_2^{\cdot-}$), пероксида водорода и гидроксильных радикалов ($\cdot\text{OH}$). В процессе реализации механизма II типа кислород тканей поглощает энергию возбужденного ФС с образованием синглетного кислорода ($^1\text{O}_2$) (рис. 13). Большинство ФС вступают в фотохимические реакции II типа, т.е. ФДТ с их использованием является кислородозависимой, однако, некоторые ФС могут функционировать и в гипоксических условиях.

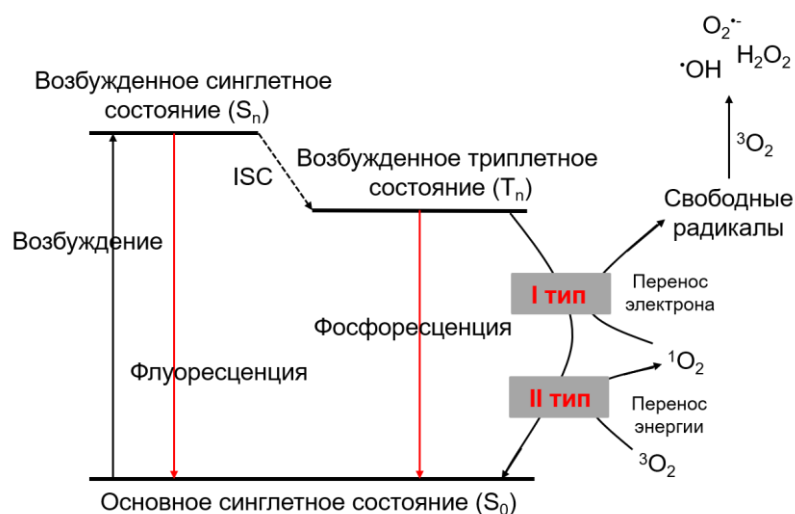
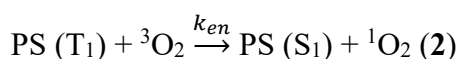
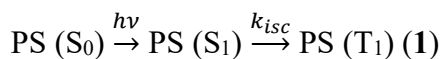
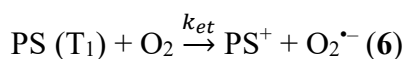
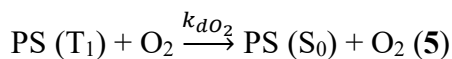
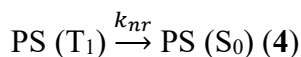
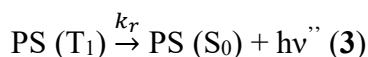


Рис 13. Схематичное изображение электронных состояний ФС и механизмов образования активных форм кислорода

Основным параметром, определяющим эффективность ФС, является квантовый выход синглетного кислорода (Φ_{Δ}), т.е. количество молекул синглетного кислорода, образующихся в результате поглощения одной молекулой ФС одного кванта света. Как уже было сказано выше, в фотохимических реакциях II типа синглетный кислород образуется в результате непосредственного взаимодействия ФС с триплетным кислородом:



С реакциями (1) и (2) конкурируют мономолекулярные излучательные и безызлучательные процессы, а также физическая дезактивация молекулярным кислородом или электронным переносом:



Исходя из уравнений (1)-(6), квантовый выход синглетного кислорода Φ_{Δ} может быть определен как [145]

$$\Phi_{\Delta} = \Phi_T \varphi_{en} = \Phi_T \frac{k_{en}[\text{O}_2]}{k_r + k_{nr} + k_q[\text{O}_2]},$$

где Φ_T – квантовый выход триплетного состояния; φ_{en} – эффективность передачи энергии; k_{en} – константа скорости передачи энергии; k_q – суммарная константа скорости тушения триплетного состояния ФС (T_1) посредством O_2 ($k_{en} + k_{dO_2} + k_{et}$).

Для измерения квантового выхода синглетного кислорода используются различные методы, такие как прямое измерение люминесценции при релаксации ${}^1\text{O}_2$ в основное состояние ($\lambda_{em} = 1270$ нм), калориметрические методы, а также количественный анализ реакций фотоокисления по поглощению или флуоресценции зондовой молекулы (кислородной ловушки). Для самых эффективных ФС квантовый выход синглетного кислорода составляет более 0,5. Кроме того, для успешного применения в ФДТ фотосенсибилизатор должен обладать высоким индексом фототоксичности ($\text{PI} = \text{IC}_{50}$ в темноте / IC_{50} на свету; IC_{50} – концентрация полумаксимального ингибирования).

Большинство официально разрешенных для клинического применения ФС являются производными порфиринов. Молекула порфирина представляет собой макроцикл, образованный четырьмя пиррольными гетероциклами, соединенными по α -положениям четырьмя метиновыми

группами. Из-за высокой степени сопряжения порфирины хорошо поглощают видимый свет, демонстрируют высокий квантовый выход АФК и разнообразную химию. К их недостаткам можно отнести склонность к фотообесцвечиванию, низкое поглощение в ближней ИК-области и низкую селективность по отношению к опухолевым клеткам. Коммерческие препараты на основе гемато-порфирина (фотофрин (США), фотогем (Россия) и фотосан (Германия)) относятся к ФС первого поколения и в настоящее время широко используются в ФДТ.

Вышеупомянутые недостатки порфиринов могут быть устранены посредством модификации их структуры. Так, например, насыщение одной или двух двойных связей в молекуле порфирина сдвигает максимум поглощения в длинноволновую область, т.е. в сторону окна прозрачности биологических тканей. Такие соединения (хлорины и бактериохлорины), наряду с фталоцианинами, относятся к ФС второго поколения, однако, несмотря на то что они могут успешно применяться для терапии различных видов рака, синтез подобных ФС весьма сложен. Таким образом, в настоящее время интерес ученых сосредоточен на разработке более синтетически доступных непорфириновых ФС. К ним относятся как органические (например, 4,4-дифторо-4-боро-3а,4а-диаза-*s*-индацен – **BODIPY**), так и неорганические соединения – в частности, комплексы переходных металлов, о которых и пойдет речь в данном обзоре.

Как и во многих других случаях, развитие нанотехнологий открыло новые перспективы для развития ФДТ. ФС третьего поколения представляют собой конъюгаты оптически активных молекул с различными наноструктурами – наночастицами металлов, мицеллами и везикулами, а ФС четвертого поколения – пористые материалы на основе диоксида кремния или металл-органических координационных полимеров (МОКП). Такие наноструктуры имеют ряд преимуществ в сравнении с молекулярными соединениями – они стабильны в водных растворах, могут быть модифицированы различными агентами для адресной доставки в опухоль, а также позволяют осуществлять контролируемое высвобождение ФС вблизи или внутри раковых клеток.

Несмотря на огромное разнообразие видов ФС, в данном разделе будут рассмотрены только комплексы переходных металлов, материалы на их основе, а также ряд ФС четвертого поколения на основе наноразмерных МОКП. Особое внимание будет уделено соответствию данных соединений критериям «идеального» фотосенсибилизатора, включающим низкую темновую токсичность, высокий квантовый выход синглетного кислорода, наличие интенсивного максимума поглощения в области 660-900 нм и т.д.

1.2.1 Фталоцианины металлов

Фталоцианины представляют собой ароматические гетероциклические соединения, состоящие из четырех изоиндольных колец, связанных между собой через sp^2 -гибридизованные атомы азота. Эти соединения структурно родственны порфиринам и также содержат 18 π -электронов в

сопряженной системе. Они имеют высокий коэффициент экстинкции ($\epsilon > 10^5 \text{ M}^{-1} \times \text{см}^{-1}$) и, в отличие от порфиринов, способны поглощать свет в красном и ближнем инфракрасном диапазоне. Кроме того, фталоцианины, координированные с диамагнитными ионами с завершенной электронной оболочкой (Zn^{2+} , Al^{3+} , Si^{4+}), демонстрируют высокий квантовый выход триплетного состояния и, как следствие, синглетного кислорода. Благодаря этим свойствам, некоторые комплексы фталоцианинов уже находятся на стадии клинических испытаний, а их дальнейшие исследования сосредоточены, в основном, на повышении селективности по отношению к раковым клеткам.

Одним из критериев идеального фотосенсибилизатора является способность к селективной активации вблизи или внутри раковых клеток в сочетании с инертностью при циркуляции в кровотоке. Инертность ФС достигается, в основном, за счет ковалентного связывания с тушителями или за счет самотушения при достаточно плотной организации молекул (например, на полимерном носителе). При этом взаимодействие с тушителями должно подавляться вблизи или внутри раковых клеток (например, под действием гипоксической опухолевой среды, низких значений pH, глутатиона, специфических онкомаркеров и т.д.). Далее будет приведено несколько примеров подобных систем.

В работе *Ke и др.* [146] рассматривались димеры фталоцианина цинка, связанные через pH-чувствительный кетальный фрагмент. Фталоцианин цинка представляет собой плоскую сопряженную систему, склонную к π - π -стекингу, за счет чего и происходит тушение возбужденных состояний. При попадании в опухолевую среду (pH = 5,0 - 6,5) кетальный фрагмент расщепляется, приводя к образованию отдельных молекул ФС и активации его люминесцентных и фотодинамических свойств. Несколько иной подход был реализован в работе *Li и др.* [147], где тушение возбужденных состояний фталоцианина цинка достигалось за счет его самосборки в наночастицы. Для этого ФС был модифицирован гибким гидрофильным фрагментом триэтиленгликоля и биотином. Бiotин в данном случае выполняет сразу две функции: повышает специфичность наночастиц к опухолевым клеткам и увеличивает их стабильность. Последнее, вероятно, связано с амфифильной природой фрагмента триэтиленгликоль-биотин, за счет чего повышается количество внутри- и межмолекулярных взаимодействий и, как следствие, образуются более стабильные наноструктуры. Последующее связывание биотина со специфическими опухолевыми рецепторами приводит к частичному распаду наночастиц и высвобождению молекул ФС.

В отличие от плоского фталоцианина цинка, фталоцианин кремния имеет стерически затрудненную структуру за счет наличия аксиальных лигандов и, как следствие, не способен к образованию димеров. В данном случае тушение возбужденных состояний может достигаться за счет ковалентного связывания с другими молекулами. Так в работе *Lau и др.* [148] рассматривались

конъюгаты фталоцианина кремния и ферроценилхалкона, связанных через дисульфидный мостик, который легко расщеплялся под действием восстановителей. Фотоиндуцированный перенос электронов между ФС и ферроценовым фрагментом приводил к снижению интенсивности эмиссии и квантового выхода синглетного кислорода, однако, после расщепления дисульфидной связи под действием модельного восстановителя дитиотреитола квантовый выход синглетного кислорода повышался почти вдвое.

Помимо ковалентного связывания с тушителем, инертность ФС при циркуляции в кровотоке может достигаться за счет образования комплексов типа «гость-хозяин». В общем виде эту стратегию можно описать следующим образом: ФС включается в полость молекулы-хозяина (при этом его фотоактивность снижается или полностью исчезает), затем по достижении опухолевой среды возникает конкуренция за включение в полость между ФС и опухолевыми маркерами, приводящая к высвобождению ФС и восстановлению его фотоактивности. Для успешной реализации такого подхода необходим тщательный подбор молекулы-хозяина, обладающей специфичностью к определенному онкомаркеру и практически не взаимодействующей с основными компонентами крови. Такая супрамолекулярная система была описана, например, в работе *Gao и др.* [149], где гостем выступал сульфонат-модифицированный фталоцианин алюминия, хозяином – гуанидин-модифицированный каликс[5]арен пентадодециловый эфир, а конкурирующим онкомаркером – аденозинтрифосфат, концентрация которого в опухолевых клетках примерно в 10^5 раз выше, чем в нормальных.

1.2.2 Материалы на основе органических фотосенсибилизаторов и нано-МОКП

Наноразмерные металл-органические координационные полимеры (нано-МОКП) представляют большой интерес в качестве агентов для доставки ФС к раковым клеткам. По сравнению с чисто органическими и неорганическими наноносителями, нано-МОКП обладают рядом преимуществ: высокой пористостью, структурным разнообразием и биоразлагаемостью, которая снижает их системную токсичность [150].

Особенности строения нано-МОКП позволяют загружать ФС несколькими способами: конъюгацией к поверхности МОКП [151], включением в каналы [152-154] и введением непосредственно в металл-органическую решетку [155-157]. У каждого из этих методов есть свои преимущества и недостатки. Наиболее простым в исполнении является включение ФС в каналы нано-МОКП, однако, при этом может наблюдаться преждевременное высвобождение в здоровых тканях. Постсинтетическая модификация МОКП путем связывания ФС с органическими линкерами или металлоцентрами, как правило, является более надежной, однако, необходимо соблюдать баланс между высокой загрузкой ФС и его способностью к высвобождению. Но самым уникальным свойством нано-МОКП является возможность включения молекул ФС непосредственно в металл-органическую решетку, чаще всего в качестве органических линкеров. При этом

эффективность ФДТ значительно повышается, поскольку, благодаря высокой пористости МОКП, кислород способен диффундировать к ФС, не требуя его высвобождения из металл-органического каркаса. Кроме того, этот подход предотвращает агрегацию и самотушение, к которым склонны многие ФС.

Однако стоит отметить, что в некоторых случаях тушение может открывать возможности для проявления других интересных свойств ФС. В работе *Chen и др.* [151] была описана стратегия постсинтетической модификации нано-МОКП $UiO-68-NH_2$ протопорфирином IX. Свойства комбинированного материала напрямую зависели от количества конъюгированного ФС, которое варьировалось от 4,3 до 29,1%. Максимальная эффективность ФДТ достигалась при 18%-ной загрузке ФС и составляла 77%, однако, при больших нагрузках эффективность снижалась из-за π -стекинга между молекулами протопорфирина, приводящего к возникновению фототермического эффекта нано-МОКП. При 29,1%-ной загрузке ФС эффективность фототермической конверсии составила 22%, что сравнимо с коммерчески доступными золотыми наноболочками (13%) и наностержнями (21%). Эффективность генерации синглетного кислорода при этом снижалась до 30%.

Еще одним преимуществом внедрения органических ФС в нано-МОКП является сближение уровней S_1 и T_1 при взаимодействии ФС с ионами металлов в составе МОКП. При этом увеличивается скорость интеркомбинационной конверсии, время жизни триплетного состояния и, как следствие, эффективность генерации синглетного кислорода [158-160]. Такой эффект известен в литературе под названием «эффект тяжелого атома» [161, 162]. Также стоит отметить, что количество тяжелых атомов в комбинированных материалах можно еще больше повысить путем модификации исходного ФС бромом или иодом [155].

Как и для всех фотосенсибилизаторов, для материалов на основе нано-МОКП очень важно обеспечить контролируемую генерацию синглетного кислорода вблизи опухолевых клеток. Далее будет рассмотрено несколько подходов к решению этой задачи. *Park и др.* [163] внедрили в структуру порфиринового нано-МОКП молекулы **VPDTE** (1,2-бис(2-метил-5-(пиридин-4-ил)тиофен-3-ил)циклопент-1-ен), способные к обратимому светоиндуцированному переходу из «открытой» формы в «закрытую» (рис. 14). При облучении полученного материала светом с $\lambda > 450$ нм, VPDTE переходит из «закрытой» формы в «открытую», при этом становится возможным перенос энергии с возбужденного ФС на 3O_2 и генерация 1O_2 . Однако при облучении светом с $\lambda = 365$ нм, происходит обратный переход VPDTE в более низкоэнергетическую «закрытую» форму, которая тушит возбужденные состояния ФС, тем самым блокируя процесс генерации синглетного кислорода. Таким образом, VPDTE позволяет контролировать эффективность ФДТ с помощью коротковолнового видимого и УФ-излучения.

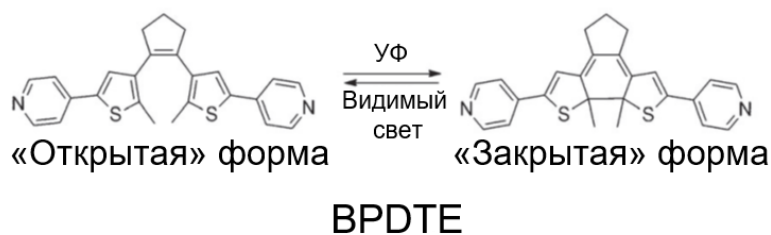


Рис 14. Фотоизомеризация BPDTE под УФ- и видимым светом

Помимо молекулярных переключателей, нано-МОКП могут быть модифицированы апконверсионными наночастицами, которые позволяют активировать ФС под действием более предпочтительного для ФДТ ближнего ИК-излучения. Примером такого подхода может служить работа *Li и др.* [164], в которой были описаны асимметричные гетеродимеры порфиринового нано-МОКП и допированных апконверсионными **НЧ** на основе лантанидов ($\text{NaGdF}_4:\text{Yb,Er}$ @ NaGdF_4). Спектр люминесценции апконверсионных наночастиц имеет три сигнала на 522, 541 и 654 нм ($\lambda_{\text{возб.}} = 980$ нм), которые перекрываются с полосами поглощения порфирина в широком диапазоне длин волн. Такое перекрывание в сочетании с пространственной близостью двух компонентов способствует эффективному переносу энергии на ФС, что подтверждается тушением люминесценции Er^{3+} и присутствием в растворе синглетного кислорода. Помимо света с определенной длиной волны, повышенную эффективность ФДТ вблизи раковых клеток могут обеспечивать компоненты опухолевой среды. Например, в работе *Hu и др.* [154] была описана активация высвобождения модельного ФС из нано-МОКП MIL-100 (Fe) под действием пероксида водорода, концентрация которого в раковых клетках значительно выше, чем в нормальных. Внутри нано-МОКП ФС пространственно изолирован от кислорода и потому не проявляет фотодинамической активности, присутствие же пероксида водорода запускает сразу два важных процесса. Во-первых, нано-МОКП разрушается, высвобождая ФС и давая ему возможность взаимодействовать с $^3\text{O}_2$, а во-вторых, Fe^{3+} в составе MIL-100 катализирует реакцию разложения пероксида водорода: $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$, позволяя решить одну из основных проблем ФДТ: недостаток кислорода в раковых клетках.

Разложение пероксида водорода не обязательно должно сопровождаться разрушением нано-МОКП. Например, в работе *Zhang и др.* [156] было описано покрытие порфиринового нано-МОКП наночастицами диоксида марганца, способными окислять H_2O_2 согласно следующему уравнению: $\text{MnO}_2 + 2\text{H}^+ + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Mn}^{2+} + \text{O}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$. В кислой опухолевой среде ($\text{pH} = 5,5 - 6,5$) выход синглетного кислорода оказался в 3 раза выше, чем в нормальных клетках ($\text{pH} = 7,4$), что позволило минимизировать повреждения здоровых тканей. Для аналогичной цели *Zhang и др.* [157] использовали нанозимы – наночастицы, имитирующие природные ферменты. В частности,

наночастицы Pt диаметром ~ 2 нм способны имитировать действие каталазы – фермента, разлагающего пероксид водорода на молекулярный кислород и воду. Такие наночастицы были равномерно нанесены на поверхность порфиринового нано-МОКП PCN-224, повышая эффективность генерации синглетного кислорода в опухолевых клетках в 2,5 раза по сравнению с немодифицированным нано-МОКП.

1.2.3 Координационные соединения переходных металлов

В отличие от органических фотосенсибилизаторов, которые способны проявлять фотодинамический эффект, в основном, за счет $\pi\pi^*$ электронных переходов, координационные соединения переходных металлов имеют гораздо больше возбужденных состояний (рис. 15).

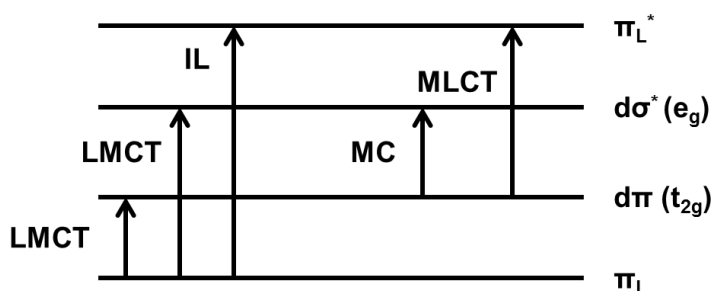


Рис. 15. Электронные переходы координационных соединений переходных металлов

Эти состояния могут быть замкнуты внутри атома металла (metal-centered, **MC**), внутри лиганда (intraligand, **IL**) или же включать в себя перенос электронов с металлического центра на π^* -орбитали лиганда (metal-to-ligand charge transfer, **MLCT**) и с π -системы лиганда на орбитали центрального атома (ligand-to-metal charge transfer, **LMCT**). Каждое из описанных состояний имеет свою мультиплетность (обычно синглет или триплет). В комплексах переходных металлов триплетные состояния легко доступны (в сравнении с органическими соединениями) из-за сильного спин-орбитального взаимодействия, обусловленного присутствием тяжелого центрального атома. Более того, смешивание синглетного и триплетного состояний за счет спин-орбитального взаимодействия снимает запрет на переход между уровнями различной мультиплетности, то есть переход $T_1 \rightarrow S_0$ становится разрешенным, что приводит к возможности получения высокого квантового выхода фосфоресценции и синглетного кислорода.

Помимо эффекта тяжелого атома, координационные соединения переходных металлов характеризуются большими значениями k_{isc} ($4,17 \times 10^{13}$ и $7,87 \times 10^7 \text{ c}^{-1}$ для $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ [165] и протопорфирина IX [166] соответственно), что увеличивает Стоксов сдвиг и препятствует концентрационному тушению в растворе. Кроме того, для них не наблюдается характерного для органических фотосенсибилизаторов фотообесцвечивания.

Среди координационных соединений переходных металлов наиболее изученными являются комплексы Ru(II), Ir(III), Pt(II) и Os(II). Именно о них и пойдет речь в данном разделе.

1.2.3.1 Комплексы Ru(II) и Os(II)

Подавляющее большинство исследований, посвященных использованию координационных соединений Ru(II) в фотодинамической терапии, относится к комплексам с полипиридиновыми лигандами (2,2'-бипиридин, 1,10-фенантролин и их производные). Для простейшего соединения такого типа $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ время жизни триплетного состояния составляет 0,58 мкс, а квантовый выход синглетного кислорода – 0,22 (все измерения выполнены в D₂O) [167]. Наличие долгоживущего триплетного состояния, яркая красная люминесценция и высокий квантовый выход ¹O₂ обусловили неослабевающий интерес к такого рода соединениям: по данным на 2021-й год уже три комплекса Ru(II) находятся на стадии клинических испытаний.

Путем варьирования заместителей в структуре органического лиганда были получены комплексы с более интенсивным поглощением в видимой области, долгоживущим триплетным состоянием и, как следствие, большим квантовым выходом синглетного кислорода. Для увеличения интенсивности поглощения комплексы Ru(II) конъюгировали с хромофором, выполняющим роль антенны, при этом необходимо, чтобы состояние ¹IL лежало выше ¹MLCT. Этому критерию соответствуют производные пирена [168], кумарина [169] и нафталимида [170], которые повышают абсорбционные свойства комплексов Ru(II). Напротив, BODIPY снижает заселенность состояния ¹MLCT из-за наличия более низколежащего состояния ¹IL [171]. Помимо более интенсивного поглощения в видимой области, комплексы с фрагментами органических флуорофоров, как правило, демонстрируют более длительное время жизни триплетного состояния.

Как и большинство органических ФС, комплексные соединения Ru(II) обладают низким поглощением в видимой и ближней ИК-области, что препятствует их использованию в ФДТ. В литературе представлено три основных подхода к решению этой проблемы. Первый подход основан на удлинении π-системы лиганда, способствующем батохромному сдвигу максимума поглощения [172-174]. В работе *Karges и др.* [172] исследовались производные комплекса $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$, модифицированные винилдиметиламиногруппами. Спектр поглощения таких комплексов демонстрировал батохромный сдвиг на 65 нм в сравнении с $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$, кроме того, на нем наблюдался длинноволновой «хвост», попадающий в область первого биологического окна. Вторым подходом является одновременная координация к металлоцентру объемного стерически затрудненного лиганда и лабильного монодентатного лиганда [175]. В таких системах низколежащие энергетические состояния MLCT стабилизируются за счет расширения сопряженной системы и/или добавления объемных лигандов, приводящих к искажению псевдооктаэдрического окружения иона металла. Недостатком данного подхода является фотодиссоциация возбужденных комплексов Ru(II), приводящая к появлению токсичных продуктов распада. Несмотря на это, было синтезировано несколько комплексов Ru(II), способных поглощать в видимой и ближней ИК-области, в частности – $[\text{Ru}(\text{dqpy})(\text{acac})(\text{CH}_3\text{CN})]^+$ (**dqpy** – 2,6-ди(хинолин-2-ил)пиридин, **acac**

– ацетилацетон), спектр поглощения которого содержит широкое «плечо» в диапазоне 650-800 нм. Такой значительный сдвиг в красную область объясняется низколежащей НСМО лиганда $dqru$ и повышением энергии ВЗМО из-за наличия в структуре комплекса π -донорного ацетилацетонатного лиганда.

Помимо вышеописанных подходов, красное и ближнее ИК-излучение можно использовать для двухфотонного возбуждения комплексов. Количественной характеристикой способности к двухфотонному возбуждению является сечение двухфотонного поглощения (σ_2), измеряющееся в единицах Гепперт-Майер или ГМ ($1 \text{ ГМ} = 10^{-54} \text{ см}^4 \times \text{с} \times \text{фотон}^{-1}$). Для большинства коммерческих тетрапиррольных фотосенсибилизаторов σ_2 составляет ~ 10 ГМ, однако, для координационных соединений переходных металлов эти значения могут быть на 1-2 порядка выше. *Liu и др.* [176] синтезировали полипиридилный комплекс Ru(II), модифицированный трифенилфосфиновой группой, обеспечивающей селективное накопление в митохондриях. Это соединение продемонстрировало высокий квантовый выход 1O_2 (0,81), $\sigma_2 = 198$ ГМ и степень накопления в митохондриях $\sim 88\%$. В более поздней работе *Karges и др.* [177] была описана серия комплексов Ru(II), где в качестве лигандов выступали производные (E,E')-4,4'-бисстирил-2,2'-бипиридина. Для этих комплексов были зарегистрированы беспрецедентно высокие значения σ_2 вплоть до 6800 ГМ.

По сравнению с хорошо изученными трис-бидентатными комплексами Ru(II) с симметрией D_3 или C_2 , ахиральные бис-тридентатные комплексы до сих пор остаются недостаточно исследованной областью – в основном, из-за низкого квантового выхода 1O_2 и короткоживущих триплетных состояний. Малые времена жизни возбужденных состояний $[Ru(tpy)_2]^{2+}$ (**tpy** – 2,2':6',2''-терпиридин) и подобных ему комплексов объясняются слабым полем лигандов вследствие искажения октаэдрического окружения иона металла. С другой стороны, ахиральность таких комплексов исключает возможность появления изомеров, способных по-разному взаимодействовать с хиральными биологическими объектами. Одним из успешных подходов к синтезу фототоксичных бис-тридентатных комплексов рутения (II) является замена tpy на N-гетероциклические карбены [178]. Эти соединения являются сильными σ -донорами, вследствие чего они могут дестабилизировать состояние 3MC и, напротив, стабилизировать состояние 3MLCT . Еще одним немаловажным плюсом N-гетероциклических карбенов является их электронейтральность. Другие сильные σ -доноры, например, циклометаллированные лиганды, обладают отрицательным зарядом, тем самым снижая общий заряд и гидрофильность комплексов. В работе *Ryan и др.* [178] было показано, что времена жизни возбужденного состояния для бис-тридентатных комплексов Ru(II) с N-гетероциклическими карбенами оказались в 425-2116 раз выше, чем для $[Ru(tpy)_2]^{2+}$. Кроме того, эти комплексы, в отличие от $[Ru(tpy)_2]^{2+}$, проявляли микромолярную фотоиндуцированную токсичность по отношению к клеткам линии HL-60 (клетки рака крови).

Говоря о комплексных соединениях переходных металлов, нельзя не упомянуть, что они могут выступать перспективными агентами для кислород-независимой ФДТ I типа. Поскольку ФДТ I типа предполагает образование радикальных частиц, идеальный ФС I типа должен обладать сильными электронодонорными свойствами. Для этой цели прекрасно подходят циклометаллированные комплексы рутения (II) – соединения, содержащие пятичленный металлоцикл с ковалентной связью между атомами рутения и углерода. *Lv и др.* [179] синтезировали циклометаллированный комплекс Ru(II), модифицированный кумарином, и показали его высокую фотоиндуцированную токсичность как в гипоксических, так и в нормоксических условиях. Важно отметить, что немодифицированный аналог такого комплекса не проявлял активности в условиях недостатка кислорода – таким образом, присутствие кумарина способствовало реализации ФДТ I типа, сопровождающейся генерацией гидроксильных радикалов.

Поскольку Ru и Os являются электронными аналогами, было бы логично ожидать, что они будут одинаково интересны для исследователей. Однако на данный момент существует крайне небольшое количество работ, посвященных фотодинамическим свойствам комплексов Os(II) – вероятно, из-за меньших времен жизни их триплетных состояний в сравнении с комплексами Ru(II). Несмотря на это, комплексы осмия (II) обладают двумя важными особенностями: способностью поглощать свет в широком диапазоне длин волн (200-1000 нм) и значительной активностью в гипоксических условиях. В работе *Lazic и др.* [180] исследовались комплексы Os(II) с двумя различными дииминовыми лигандами: 2,2'-бипиридином (**bpy**) и 2,2'-бихинолином (**bhq**). Благодаря такому выбору лигандов, в ЭСП комплексов наблюдалось несколько полос переноса заряда: полоса на 550 нм соответствовала переносу заряда с Os(II) на bpy, а протяженный «хвост» на 650-900 нм – переносу заряда с Os(II) на bhq. Несмотря на низкий индекс фототоксичности ($PI < 10$) комплексы были протестированы на мышах с опухолью толстой кишки. Оказалось, что облучение светом с длиной волны 625 нм (266 Дж/см^2) в присутствии фотосенсибилизатора приводило к полному элиминированию опухоли у большинства животных. Что касается использования комплексов Os(II) в гипоксических условиях, то здесь в качестве примера можно привести работу *Roque и др.* [181]. Авторы данной статьи синтезировали серию комплексов Os(II) с бипиридином/4,4'-диметил-2,2'-бипиридином (**dmb**) и имидазо[4,5-f][1,10]фенантролином, модифицированным цепочкой тиофеновых звеньев (от 0 до 4 штук) (рис. 16). Наиболее долгоживущие триплетные состояния ${}^3\text{IL}/{}^3\text{LL}$ (ligand-to-ligand charge transfer) наблюдались для комплексов с 4-мя тиофеновыми звеньями. Их времена жизни составили 0,98 и 3,6 мкс для dmb и bpy соответственно, причем для bpy оказалось характерно как более долгоживущее триплетное состояние, так и большая фототоксичность. В нормоксических условиях комплексы проявляли наномолярную фотоиндуцированную токсичность, а в гипоксических – субмикромольную, причем индекс

фототоксичности для комплекса с bpy (PI = 76) оказался максимальным из известных на данный момент в гипоксических условиях.

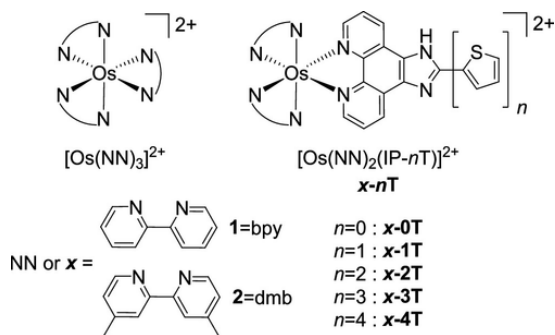


Рис 16. Молекулярная структура комплексов Os(II)

1.2.3.2 Комплексы Ir(III)

Если для Ru(II) наиболее широкое применение в ФДТ нашли трис-бидентатные комплексы с полипиридиновыми лигандами, соединения Ir(III), проявляющие фотодинамическую активность, представляют собой, в основном, циклометаллированные комплексы вида $[\text{Ir}(\text{C}^{\wedge}\text{N})_2(\text{N}^{\wedge}\text{N})]^+$, где $\text{C}^{\wedge}\text{N}$ и $\text{N}^{\wedge}\text{N}$ – ароматические бидентатные лиганды. Преимуществом таких комплексов в сравнении с рутениевыми аналогами является химическая инертность в сочетании с широким диапазоном испускаемых длин волн, который обусловлен большим числом возбужденных электронных состояний. К сожалению, низкая гидрофильность комплексов Ir(III) сильно ограничивает их применение в биологических системах.

Как и для комплексов Ru(II), для комплексов Ir(III) характерно увеличение времени жизни триплетного состояния за счет присоединения хромофоров и/или расширения π -системы. Так в работе *Jin и др.* [182] для циклометаллированного комплекса Ir(III) с фрагментом пирена впервые был описан механизм передачи энергии типа «пинг-понг» (рис. 17). Данный процесс представлял собой перенос энергии с синглетного на триплетный уровень пирена через иридиевый центр, при этом время жизни триплетного состояния модифицированного комплекса оказалось в 230 раз выше, чем для комплекса без пиренового фрагмента (15 и 0,65 мкс соответственно). Конъюгация с органическим хромофором также увеличивала квантовый выход синглетного кислорода с 0,26 до 0,98 (все измерения проводились в метаноле).

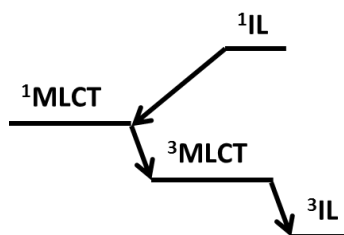


Рис. 17. Механизм передачи энергии типа «пинг-понг» в циклометаллированных комплексах Ir(III) с фрагментом пирена

В качестве примера увеличения времени жизни триплетного состояния за счет расширения π -системы можно привести работу *Sun и др.* [183], где при конденсации к циклометаллированному комплексу Ir(III) дополнительного фенильного фрагмента $^3\tau$ увеличивалось с 0,75 до 33 мкс. Проблемой такого подхода является снижение гидрофильности комплексов, однако, ее можно решить путем повышения их заряда. Так, например, в работе *Wang и др.* [184] был синтезирован ряд комплексов Ir(III) с общей формулой $[\text{Ir}(\text{phen})_2(\text{R-phen})]^{3+}$ (**phen** – 1,10-фенантролин, R – ароматический фрагмент), которые сочетали в себе наличие долгоживущих триплетных состояний ($^3\tau \sim 33$ мкс) и превосходную водорастворимость.

Полосы поглощения комплексов Ir(III), как правило, лежат в ультрафиолетовой области с очень малоинтенсивными «хвостами» в видимом диапазоне. Поскольку активация фотосенсибилизаторов УФ-излучением снижает эффективность ФДТ и приводит к фоторазрушению биологических тканей, необходимо искать способы смещения полос поглощения комплексов в видимую или ближнюю ИК-область. Это достигается путем конъюгации комплексов Ir(III) с органическими хромофорами: кумарином [185], родамином [186], BODIPY [38, 187] и т.д. Интересно, что для таких комплексов имеет место флуоресцентный резонансный перенос энергии с флуорофора на иридиевый центр. В работе *Jiang и др.* [38] были описаны полупроводниковые полимерные наночастицы, модифицированные производными BODIPY и комплексами Ir(III): в данной системе BODIPY выступал в роли донора энергии и увеличивал светопоглощающую способность НЧ, а комплексы Ir(III) – в роли акцепторов и эффективных фотосенсибилизаторов, обеспечивая квантовый выход синглетного кислорода вплоть до 0,96.

1.2.3.3 Комплексы Pt(II)

Наибольшую известность комплексы платины получили в качестве агентов для химиотерапии, однако, существует ряд исследований, описывающих фотодинамическую активность данного типа соединений. В классической ФДТ I и II типа комплексы платины, как правило, малоэффективны – в отличие от менее распространенной ФДТ III типа, которую также называют фотоактивируемой химиотерапией. В данном случае клеточная гибель наступает вследствие прямого взаимодействия возбужденного ФС или продуктов его фотоиндуцированной трансформации с биомолекулами, что приводит к кислород-независимой гибели раковых клеток. На данный момент опубликовано большое количество работ, посвященных фотохимическому переходу нетоксичных октаэдрических комплексов Pt(IV) в цитотоксичные плоскоквадратные комплексы Pt(II), проявляющие цисплатиноподобную активность [188-190]. Однако поскольку данный механизм относится, скорее, к химиотерапии, нежели к классической ФДТ, более подробно он рассматриваться не будет.

К немногочисленным примерам соединений Pt(II), для которых исследован *in vitro* фотодинамический эффект, относятся комплексы на основе 5,10,15,20-тетра(4-пиридил)порфирина [191,

192]. В таких комплексах каждый атом азота пиридинового цикла координирован к иону Pt(II), таким образом, на одну молекулу порфирина приходится четыре атома платины. Исследование на цисплатин-резистентной клеточной линии рака яичников A2780 показало, что при облучении светом с длиной волны 420 нм значения PI для таких комплексов могут превышать 5000, что в совокупности с фоторасщеплением ДНК делает их крайне многообещающими агентами для ФДТ. Помимо порфириновых комплексов, достаточно высокие значения PI демонстрируют комплексы с салицилальбином (PI > 160 на цисплатин-резистентной клеточной линии рака легкого A549R) [193]. Однако стоит отметить, что большинство комплексов платины проявляет значительную темную токсичность, что и препятствует их использованию в биологических системах. Так, например, для циклометаллированного комплекса Pt(II) с 2,6-дипиридо-4-метилбензолом PI достигает всего лишь 8, несмотря на высокий квантовый выход $^1\text{O}_2 \sim 0,7$ [194].

1.2.3.4 Полиядерные комплексы

С точки зрения ФДТ полиядерные комплексы металлов имеют ряд преимуществ перед своими моноядерными аналогами: они способны к двухфотонному поглощению в красной и ближней ИК-областях, могут переключаться между ФДТ I и II типа и в некоторых случаях даже обладают специфичностью по отношению к раковым клеткам. Большинство исследований в данной области сосредоточено на полиядерных комплексах с разными металлическими центрами, поскольку эти комплексы сочетают в себе свойства отдельных металлов и могут использоваться как мультимодальные агенты для фотодинамической терапии.

Способность комплексов Cu(II) вступать в фентоноподобную реакцию $\text{Cu}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Cu}^+ + \text{OH}^- + \text{OH}^*$ побудила *Conti и др.* [195] синтезировать биметаллический комплекс Ru(II)-Cu(II), подходящий для проведения ФДТ в гипоксических условиях. Авторы показали, что наличие медного центра приводит к увеличению квантового выхода $^1\text{O}_2$ с 0,29 до 0,38. Несмотря на то, что механизм фотоактивации комплекса нуждается в дальнейшем изучении, очевидно, что присутствие Cu(II) и световое излучение оказывают синергетический эффект на процесс генерации активных форм кислорода. Помимо увеличения квантового выхода синглетного кислорода, взаимодействие двух и более металлоцентров способно обеспечивать селективную активацию ФС вблизи опухолевых клеток. Так, например, возбужденное состояние биядерного комплекса Ru(II), в котором металлоцентры связаны между собой через 4,4''-азобис(2,2'-бипиридин), очень быстро тушится за счет вращения вокруг азогруппы [196]. При попадании в раковую клетку содержащий там глутатион восстанавливает азогруппу $-\text{N}=\text{N}-$ до гидразогруппы $-\text{NH}-\text{NH}-$, тем самым возвращая комплексу способность фотосенсибилизировать процесс генерации синглетного кислорода.

В некоторых случаях объединение в одном комплексе разных металлов приводит к усилению поглощения в красной и ближней ИК-области за счет двухфотонного поглощения. Лучше всего

для этого подходят симметричные полиметаллические комплексы с протяженной сопряженной системой. В работе *Zhou и др.* [197] был синтезирован циклический комплекс Ru(II)-Pt(II) с сечением двухфотонного поглощения $\sigma_2 = 1371$ ГМ и $\Phi_\Delta = 0,88$, а еще через год тот же коллектив авторов показал, что увеличение протяженности сопряженной системы повышает σ_2 до 5468 ГМ [198] (рис. 18).

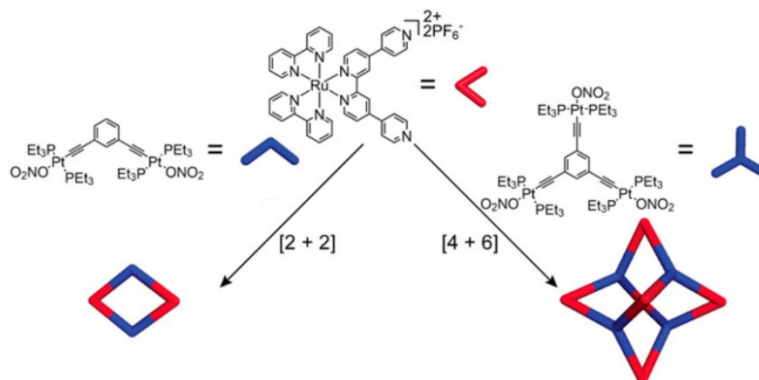


Рис. 18. Молекулярные структуры комплексов Ru(II)-Pt(II), способных к двухфотонному поглощению

Еще одним интересным примером взаимодействия металлических центров может служить комплекс Ru(II)-Co(III), описанный в работе *Holbrook и др.* [199]. Селективное фотовозбуждение Ru(II) светом с длиной волны 455 нм увеличивало скорость диссоциативного обмена аксиальных лигандов у атома кобальта, при этом имидазол в аксиальном положении замещался на гистидиновые остатки белка α -тромбина, увеличивая скорость его ингибирования (рис. 19). Авторы предположили, что в основе данного процесса лежит внутримолекулярный перенос электрона от Ru(II)* к Co(III), таким образом, комплекс показал себя эффективным агентом для ФДТ III типа.

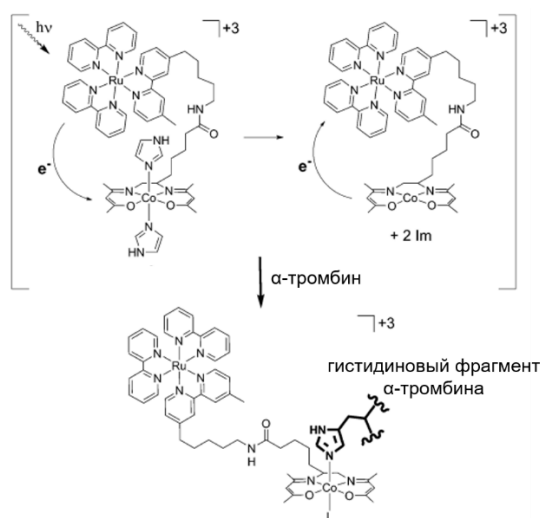


Рис. 19. Фотоиндуцированный перенос электрона в комплексе Ru(II)-Co(III)

1.2.4 Октаэдрические кластерные комплексы Mo, W и Re

Относительно новым классом перспективных фотосенсибилизаторов для ФДТ II типа являются октаэдрические кластерные комплексы состава $[\{M_6X_8\}L_6]^n$ ($M = Mo, W, X = Cl, Br, I; M = Re, X = S, Se, Te; L =$ органический или неорганический лиганд). В отличие от органических ФС, кластерные комплексы не подвержены концентрационному тушению за счет π - π стекинга, способны возбуждаться под действием видимого света и даже в твердом состоянии демонстрируют высокий квантовый выход синглетного кислорода.

Интересно, что, несмотря на сходное строение, для галогенидных кластерных комплексов молибдена и вольфрама $[\{M_6X_8\}Y_6]^{2-}$ ($M = Mo, W; X, Y = Cl, Br, I$) механизм тушения кислородом несколько отличается. В работе *Jackson и др.* [200] была детально изучена кинетика взаимодействия ионов $[\{M_6X_8\}Y_6]^{2-}$ с кислородом и предложено два возможных пути протекания данной реакции: перенос энергии возбужденного состояния $[\{M_6X_8\}Y_6]^{2-*} + O_2 \rightarrow [\{M_6X_8\}Y_6]^{2-} + {}^1O_2$ и перенос электрона $[\{M_6X_8\}Y_6]^{2-*} + O_2 \rightarrow [\{M_6X_8\}Y_6]^{-} + O_2^{-} \rightarrow [\{M_6X_8\}Y_6]^{2-} + {}^1O_2$. Константы скорости тушения k_q для всех комплексов оказались очень близки ($\sim 8,1 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \times \text{c}^{-1}$), за исключением $[\{W_6I_8\}Y_6]^{2-}$, для которых k_q составила $2,1 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \times \text{c}^{-1}$. Авторы объясняли повышенную скорость тушения возбужденных состояний $[\{W_6I_8\}Y_6]^{2-*}$ значительным вкладом процессов переноса электрона, поскольку, согласно данным потенциометрии, пара $\{W_6I_8\}^{4+}/\{W_6I_8\}^{5+}$ имеет более низкий окислительно-восстановительный потенциал, чем остальные кластерные ядра. Все кластерные комплексы демонстрировали высокий квантовый выход 1O_2 от 0,65 для $[\{W_6I_8\}Br_6]^{2-}$ до 0,96 для $[\{W_6Br_8\}Br_6]^{2-}$.

В более поздней работе *Vorotnikova и др.* [201] также исследовалась зависимость природы внутренних лигандов на способность кластерных комплексов $(Bu_4N)_2[\{Mo_6X_8\}(NO_3)_6]$ ($X = Cl, Br, I$) фотосенсибилизировать процесс генерации синглетного кислорода. Эксперименты с ловушкой на синглетный кислород (2,3-дифенил-*пара*-диоксеном) показали, что при облучении светом с $\lambda > 400$ нм в течение 3-х часов конверсия ловушки увеличивается в ряду Cl-Br-I с 0,04 до 0,16. Аналогичная закономерность наблюдалась для кластерных комплексов молибдена с анионами сульфокислот $(Bu_4N)_2[\{Mo_6X_8\}L_6]$ ($X = Cl, Br, I; L = OTs^{-}, PhSO_3^{-}$) [202].

Несмотря на высокие квантовые выходы синглетного кислорода, на данный момент в литературе представлено крайне мало примеров успешного использования кластерных комплексов для ФДТ в их молекулярной форме (т.е. без наноносителей). Причина заключается в их низкой гидролитической устойчивости. Например, галогенидные кластерные комплексы молибдена $\{Mo_6X_8\}^{4+}$ ($X = Cl, Br, I$) в водных растворах при физиологических pH переходят в аква-гидро-сокомплексы состава $[Mo_6X_x(OH)_y(H_2O)_z]^n$ [203], которые осаждаются в виде микроразмерных агрегатов, не проявляющих люминесцентных и фотодинамических свойств. Кроме того, гидрофильные отрицательно заряженные кластерные комплексы практически не проникают через

клеточную мембрану. Например, комплексы $\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{N}_3)_6]$ и $\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{NCS})_6]$ с $\Phi_\Delta = 0,75$ и $0,63$ соответственно проявляли умеренную темновую токсичность, однако, из-за плохого проникновения в клетки не показывали заметной фототоксичности [204].

Однако в последние годы появились сообщения о кластерных комплексах, которые можно применять в ФДТ в молекулярном виде [205-208]. Первыми были описаны халькогенидные комплексы рения с цианид-ионами $\text{Na}_4[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{CN})_6]$ ($\text{Q} = \text{S}, \text{Se}$) [205], которые проявляли микромолярную токсичность (> 100 мкМ) по отношению к клеточной линии рака гортани Нер-2 при облучении светом с $\lambda > 400$ нм. Двумя годами позже были синтезированы комплексы с ядром $\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}^{4+}$ и апикальными фосфинатными лигандами с объемными арильными заместителями: $\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{OPhPh})_6]$ и $\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{OPhPh}_2)_6]$ [206]. Эти соединения демонстрировали превосходную стабильность в водных растворах, обусловленную, во-первых, повышенной прочностью связи Мо-О и, во-вторых, объемными заместителями у атома фосфора, защищающими связь Р-О от гидролиза, а также заметный фототоксический эффект под действием 460 нм излучения. Далее последовало сообщение о положительно заряженных кластерных комплексах, которые по аналогии с другими катионными ФС, локализовались в митохондриях и вызывали их фотоиндуцированное повреждение. В 2019-м году *Kirakci u др.* [208] синтезировали катионный кластерный комплекс $[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{OSOC}_4\text{H}_8\text{PPh}_3)_6]\text{Br}_4$, фотоиндуцированная токсичность которого оказалась на три порядка выше, чем у описанных выше комплексов рения ($\text{IC}_{50} = 100 \pm 20$ нМ).

Для решения проблемы низкой гидролитической стабильности кластерных комплексов, их включают в биосовместимые матрицы, такие как сополимер молочной и гликолевой кислот (PLGA) [209], SiO_2 [210], полистирол [211] и т.д. В серии работ *Vorotnikov u др.* [210, 212, 213] было показано, что фотоактивные материалы, полученные допированием нано- (~ 50 нм) и микропоразмерных (500 нм) частиц диоксида кремния кластерными ядрами $\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}^{4+}$, стабильны в воде, обладают низкой темновой токсичностью и хорошо проникают в клетки. Кроме того, размер частиц оказывает заметное влияние на их фотоиндуцированную токсичность: чем меньше частицы, тем более эффективно они фотосенсибилизируют процесс генерации синглетного кислорода.

Параллельно вышеописанным работам, группа *Kirakci u др.* [211, 214, 215] получила ряд кластерных комплексов молибдена и вольфрама, способных возбуждаться под действием рентгеновского излучения. Разработка подобных фотосенсибилизаторов представляет большой интерес, поскольку рентгеновские лучи имеют практически неограниченную глубину проникновения в ткани и могут использоваться в терапии труднодоступных для светового воздействия новообразований. Предполагаемый механизм взаимодействия кластерных комплексов с рентгеновским

излучением был изложен в работе [211] на примере комплекса $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{OOC}\text{C}_{10}\text{H}_{15})_6]$ ($\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{COO}^-$ - анион адамантан-1-карбоновой кислоты).

Взаимодействие рентгеновских фотонов ($E < 100$ кэВ) с кластерным комплексом приводит к появлению свободных электронов и дырок - в основном, во внутренней оболочке тяжелых атомов (Mo и I). Заполнение этих электронных вакансий сопряжено с такими процессами, как рентгенофлуоресценция, испускание оже-электронов, термическая релаксация и т.д. Последующая рекомбинация ионизированного комплекса со свободными электронами приводит к образованию возбужденных синглетных и триплетных состояний, которые релаксируют в основное состояние через фосфоресценцию и/или образование синглетного кислорода (рис. 20). Стоит отметить, что только часть поглощенной энергии рентгеновских фотонов концентрируется в месте первичного взаимодействия, т.е. в ядре $\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}^{4+}$: первичные фотоэлектроны и вторичные частицы (оже-электроны и т.д.) распространяются на расстояния, превышающие размер кластерного ядра, ионизируя или возбуждая соседние комплексы.

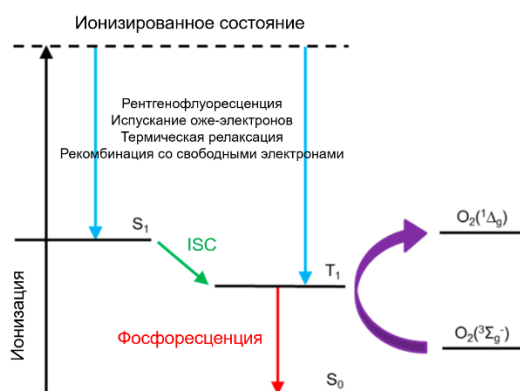


Рис. 20. Схематическая иллюстрация рентген-индуцированной люминесценции и генерации синглетного кислорода

Наконец, в 2021-м году были опубликованы две работы, доказывающие способность кластерных комплексов молибдена и вольфрама поглощать свет в красном и ближнем ИК-диапазоне за счет двухфотонного поглощения [216, 217]. Пока авторам не удалось добиться впечатляющих результатов: σ_2 для комплекса $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{W}_6\text{I}_8\}\text{I}_6]$ составило $\sim 3,5$ ГМ [217], а для $\text{Cs}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{OCOC}_2\text{F}_5)_6]$ в матрице полидиметилсилоксана – 0,8 ГМ [216]. Однако важно отметить, что, во-первых, наибольшие значения σ_2 наблюдались в диапазоне 780-820 нм, который лучше всего подходит для ФДТ, и, во-вторых, дальнейшее варьирование терминальных лигандов сможет значительно улучшить свойства кластерных комплексов и сделать их пригодными для ФДТ.

1.3. Комбинация фототермической и фотодинамической терапий

Как фототермическая, так и фотодинамическая терапия сами по себе являются эффективными неинвазивными методами лечения онкологических заболеваний – в двух предыдущих главах

можно найти множество примеров успешного использования их как *in vitro*, так и *in vivo*. Однако давно известно, что комбинированная противораковая терапия, сочетающая в себе два или более метода, способна демонстрировать синергетический эффект, уничтожая раковые клетки более эффективно и с меньшим вредом для организма. Справедливо это и для комбинации фототермической и фотодинамической терапии.

Синергетический эффект ФТТ и ФДТ обусловлен сочетанием нескольких факторов. Повышение температуры опухолевой среды способствует лучшему высвобождению ФС и за счет усиления кровотока увеличивает концентрацию кислорода в раковых клетках, что является критически важным для эффективной ФДТ. В свою очередь, АФК разрушают белки теплового шока, которые помогают раковым клеткам бороться с термическими повреждениями, тем самым повышая их чувствительность к ФТТ.

Поскольку спектры поглощения ФС и агентов для фототермической терапии, как правило, не совпадают (первые поглощают в видимой области, а вторые – в ближнем ИК-диапазоне), для успешной активации комбинированной системы необходимо использовать два различных источника света [218-221]. В целом, такой подход показывает неплохие результаты, однако, сильно усложняет лечение и увеличивает его продолжительность. Таким образом, более перспективной представляется разработка систем, способных к активации только одним источником света [222-225]. Однако для реализации такого подхода, как правило, требуется высокая мощность лазерного излучения ($\geq 1 \text{ Вт/см}^2$) и длительное время воздействия (5-10 мин), что может вызвать серьезные повреждения кожи и нанести вред здоровым тканям. Для решения этой проблемы *Younis и др.* [225] предложили использовать гибридный материал, представляющий собой нанолисты MoS_2 с нанесенными на них наностержнями золота и молекулами фотосенсибилизирующего красителя индоцианина зеленого. Благодаря необычайно высокой площади поверхности нанолистов MoS_2 , авторам удалось достичь 58%-ной загрузки ФС, а сочетание двух агентов для фототермической терапии даже при низкой мощности лазера ($0,2 \text{ В/см}^2$) способствовало повышению температуры коллоидного раствора до $57,2^\circ\text{C}$. Исследования, проведенные на мышах с привитой раковой опухолью HeLa, показали, что для полного исчезновения опухоли по истечении 14 дней достаточно однократного облучения 808-нм лазером ($0,2 \text{ В/см}^2$) в течение 5 минут.

В большинстве комбинированных материалов фотодинамический и фототермический эффект обеспечивается разными компонентами, однако, существует ряд наноструктур, способных как фотосенсибилизировать процесс генерации АФК, так и преобразовывать поглощенный свет в тепло [40, 226-228]. К интересным примерам можно отнести наночастицы кислород-дефицитного оксида молибдена MoO_{3-x} , стабилизированные полиэтиленгликолем [226]. В спектре поглощения этих частиц присутствует широкая полоса, захватывающая как первое, так и второе

биологическое окно (700-1200 нм), причем было показано, что генерация $^1\text{O}_2$ наблюдается только при облучении 1064-нм лазером и совсем не наблюдается при облучении 808-нм лазером. Для объяснения этого факта авторы выдвинули предположение, что генерация синглетного кислорода происходит вследствие термоэлектронной эмиссии с поверхности нагретого наноматериала. В таком случае эффективность генерации $^1\text{O}_2$ должна определяться эффективностью фототермической конверсии: при облучении 1064-нм лазером она выше, чем при облучении 808-нм лазером (мощность обоих лазеров одинакова и равна 1 В/см^2). Фотоиндуцированная токсичность частиц, как и ожидалось, зависела от длины волны излучения: процент гибели клеток линии HeLa после 10 минут облучения составил 87% в случае 1064-нм лазера и 62% в случае 808-нм лазера.

1.3.1 Металл-усиленная генерация синглетного кислорода

Поскольку наночастицы благородных металлов являются одними из самых перспективных и хорошо исследованных агентов для фототермической терапии, в литературе представлено огромное количество работ, посвященных их конъюгатам с различными фотосенсибилизаторами. Уникальной особенностью таких материалов является то, что, находясь на определенном расстоянии от ФС, плазмонные наночастицы способны усиливать его фотосенсибилизационную активность. Этот феномен носит название металл-усиленная генерация синглетного кислорода (согласно другим источникам – плазмон-усиленная генерация синглетного кислорода).

Попытки объяснить природу этого явления предпринимались, начиная с 2007-го года, когда оно было впервые упомянуто в работе *Zhang и др.* [229]. С тех пор был проведен ряд исследований, в ходе которых было установлено, что степень взаимодействия ФС с плазмонной НЧ зависит от многих факторов, в частности, от формы НЧ [230], ее размера [231], природы металла [232], расстояния металл-фотосенсибилизатор [233], а также степени перекрытия полос поглощения ФС и НЧ [234]. Прежде чем рассматривать каждый фактор в отдельности, остановимся на некоторых общих аспектах, характерных для данных исследований.

Во всех вышеупомянутых работах использовалась модельная система, состоящая из плазмонной наночастицы и фотосенсибилизатора – чаще всего бенгальского розового, поскольку он обладает высоким квантовым выходом $^1\text{O}_2$ ($\Phi_\Delta = 0,75$) и полосой поглощения с максимумом на 550 нм, перекрывающейся с полосами ППП большинства наночастиц металлов. Пространственное разделение компонентов достигалось с помощью слоя диоксида кремния определенной толщины, с которым ковалентно связывались молекулы ФС. В качестве образца сравнения использовались аналогичные наночастицы, не содержащие металлического ядра.

Стандартным методом оценки эффективности генерации $^1\text{O}_2$ является анализ кинетики затухания его фосфоресценции на длине волны 1270 нм. Этот процесс описывается уравнением

$$S(t) = S_0 \frac{\tau_\Delta}{\tau_\Delta - \tau_T} \left(\exp\left(-\frac{t}{\tau_\Delta}\right) - \exp\left(-\frac{t}{\tau_T}\right) \right),$$

где $S(t)$ – интенсивность сигнала в момент времени t , τ_{Δ} – время жизни $^1\text{O}_2$, а τ_T – время жизни триплетного состояния ФС. Для бенгальского розового величины τ_{Δ} и τ_T не зависят от конъюгации с наночастицами и составляют 52 и 1,7 мкс соответственно (98% D_2O).

В качестве параметра, позволяющего сравнивать фотосенсибилизационные свойства образцов, содержащих и не содержащих плазмонные наночастицы, авторы статей [230-234] предложили фактор усиления генерации синглетного кислорода (**EF** – enhancement factor):

$$EF = \frac{S_0^{NP}}{S_0^{Ref}},$$

где S_0^{NP} и S_0^{Ref} – интенсивности флуоресценции синглетного кислорода для образцов, содержащих и не содержащих плазмонные наночастицы, в момент времени $t = 0$.

В работе *Macia и др.* [230] исследовалась зависимость EF от формы плазмонной наночастицы, в частности сравнивались материалы, содержащие серебряные нанокубы со стороной 44 нм и серебряные наносферы диаметром 67 нм. Как оказалось, нанокубы повышали эффективность генерации $^1\text{O}_2$ несколько лучше, чем наносферы – EF для них составил $12,2 \pm 0,5$, а для наносфер – $10,3 \pm 0,3$. Это объясняется тем, что для анизотропных наночастиц характерно неоднородное распределение электрического поля вблизи поверхности. На выступающих вершинах образуются так называемые «горячие точки», рядом с которыми напряженность электрического поля гораздо выше, чем в остальных областях. Согласно модели распространения электромагнитных волн в среде, полученной методом **FDTD** (метод конечных разностей во временной области, finite difference time domain), усиление электромагнитного поля вблизи нанокубов должно быть примерно в 1,2 раза больше, чем вблизи наносфер, что хорошо согласуется с экспериментальными данными. Таким образом, анизотропные наночастицы лучше подходят для металл-усиленной генерации синглетного кислорода, чем частицы правильной сферической формы.

Однако для объяснения зависимости EF от природы металла и размера НЧ недостаточно учитывать влияние одного только ближнего поля – необходимо принимать во внимание и эффекты, возникающие в дальнем поле, т.е. плазмонное рассеяние. Вследствие переизлучения повышается вероятность захвата фотона молекулами ФС и, как следствие, количество синглетного кислорода, которое он продуцирует. Для количественной оценки эффективности рассеяния используется квантовый выход рассеяния

$$\varphi_s = \frac{C_s}{C_E},$$

где C_s – энергия света, переизлученного в дальнее поле в результате рассеяния, а C_E – полная экстинкция света в образце.

Группой *Macia и др.* было опубликовано две статьи, анализирующие сравнительный вклад эффектов ближнего и дальнего поля в металл-усиленную генерацию синглетного кислорода.

Поскольку наиболее ярко выраженными плазмонными свойствами обладают наночастицы серебра и золота, в работе [232] сравнивались материалы, содержащие 55-нм наносферы серебра, золота и золото-серебряного сплава с соотношением компонентов 1:1. EF для них составил 7,5, 3,5 и 4,0 соответственно. Вклад ближнего поля оценивался по усилению электрического поля вблизи поверхности НЧ ($|E|/|E_0|$) на длине волны максимального поглощения бенгальского розового (550 нм) и уменьшался в ряду Au (3,00) > AuAg (2,97) > Ag (2,86). Этот результат вполне закономерен, поскольку максимумы поглощения наночастиц находятся на разном удалении от детектируемой длины волны: для Au $\lambda_{\text{ППР}} = 537$ нм, для AuAg – 469 нм, а для Ag – 426 нм. Поскольку усиление электрического поля для всех частиц оказалось почти одинаковым, металл-усиленная генерация синглетного кислорода не могла быть обусловлена только эффектами ближнего поля. Это потребовало дальнейшего анализа эффектов дальнего поля. Квантовый выход рассеяния для материалов, содержащих серебряные, золотые и золото-серебряные НЧ, составил 0,77, 0,18 и 0,23 соответственно, что в целом воспроизводит тенденцию изменения EF. Кроме того, для всех материалов была определена эффективность рассеяния (Q_{sca}), показывающая, насколько далеко за пределами своего физического размера НЧ может взаимодействовать со светом. Оказалось, что на длине волны 550 нм сильнее всего поглощают и рассеивают наночастицы серебра ($Q_{\text{sca}} = 2,49$), а эффективность рассеяния наночастиц золота и золото-серебряного сплава близка и составляет 1,01 и 0,70 соответственно.

Логичным продолжением этой работы стала статья [231], где анализировались материалы, содержащие наносферы золота диаметром 20, 55 и 120 нм. Согласно полученным данным, значения EF оказались прямо пропорциональны размеру частиц и составили 1,6, 3,1 и 6,1 для частиц диаметром 20, 55 и 120 нм соответственно. Наибольшее усиление электрического поля на 550 нм наблюдалось для 55-нм частиц ($|E|/|E_0| = 5,8$), поскольку их максимум поглощения находился ближе всего к детектируемой длине волны, а наибольший квантовый выход рассеяния – для 120-нм частиц ($\varphi_s = 0,65$). Однако авторы пошли дальше, решив оценить относительный вклад, который эффекты ближнего и дальнего поля вносят в усиление генерации синглетного кислорода. Оценка была проведена с помощью модели множественной линейной регрессии согласно уравнению

$$EF = \beta_1 \frac{|E|^2}{|E_0|^2} + \beta_2 \varphi_s,$$

где $\frac{|E|^2}{|E_0|^2}$ – интенсивность электромагнитного поля, прямо пропорциональная количеству поглощенного ФС излучения. Коэффициенты β_1 и β_2 составили $0,22 \pm 0,05$ и $0,07 \pm 0,01$ соответственно. Таким образом, для частиц разных размеров влияние ближнего поля на металл-

усиленную генерацию синглетного кислорода оказалось \sim в 3 раза более значимым, чем влияние дальнего поля.

Помимо размера, формы и природы составляющего наночастицу металла, на металл-усиленную генерацию синглетного кислорода влияет расстояние между НЧ и молекулами ФС. Для подбора оптимального расстояния металл-ФС *Planas* и др. [233] синтезировали наночастицы серебра диаметром 67 нм, покрытые слоем диоксида кремния толщиной 5-100 нм с конъюгированным к нему бенгальским розовым. С увеличением толщины слоя SiO₂ EF увеличивался, достигая максимума на 10 нм, а затем постепенно снижался вплоть до 1. Таким образом, наибольшее усиление генерации синглетного кислорода достигается, когда расстояние между НЧ и ФС близко к 10 нм.

Для исследования влияния природы ФС на металл-усиленную генерацию синглетного кислорода использовалась несколько другая модельная система, представляющая собой наночастицы серебра диаметром 15 нм, покрытые слоем мезопористого диоксида кремния толщиной 17 нм, в поры которого был загружен фотосенсибилизатор [234]. В качестве модельных ФС выступали шесть органических и неорганических соединений: гематопорфирин IX, мезопорфирин IX, мезо-тетра(4-карбоксифенил) порфин и его комплекс с Cu(II), Ru(bpy)₃²⁺ и бенгальский розовый. EF вычислялся по формуле

$$EF = \frac{I_h - I_p - I_{Ag}}{I_p},$$

где I_h , I_p и I_{Ag} – интенсивность эмиссии синглетного кислорода в присутствии гибридных наночастиц, чистого фотосенсибилизатора и наночастиц серебра соответственно и варьировался от 1,4 (бенгальский розовый) до 3192,5 (мезо-тетра(4-карбоксифенил) порфин). К сожалению, авторы не предложили объяснения такой значительной разнице, однако, они детально проанализировали факторы, влияющие на усиление генерации синглетного кислорода в присутствии плазмонной НЧ. Интенсивность фосфоресценции синглетного кислорода можно представить как [235]

$$I = \gamma_{ex} \Phi_{ISC} P_T^{O_2} S_{\Delta} \Phi_p \varepsilon_{coll},$$

где γ_{ex} – скорость возбуждения, Φ_{ISC} – эффективность интеркомбинационной конверсии ФС, $P_T^{O_2}$ – доля триплетных состояний ФС, прореагировавших с кислородом, S_{Δ} – доля взаимодействий между ФС и ³O₂, приводящих к образованию ¹O₂, Φ_p – квантовый выход фосфоресценции синглетного кислорода, ε_{coll} – эффективность светосбора. Присутствие плазмонной частицы оказывает влияние только на три параметра: γ_{ex} , Φ_{ISC} и S_{Δ} . ε_{coll} зависит только от условий эксперимента; Φ_p для гибридной системы и чистого ФС одинаков ввиду отсутствия перекрытия между полосами ППР наночастиц серебра (403 нм) и фосфоресценции ¹O₂ (1270 нм). $P_T^{O_2}$ для гибридной системы выше, чем для чистого ФС, однако, важно отметить, что он повышается не из-за

присутствия плазмонной НЧ, а из-за того, что ФС реагирует с $^3\text{O}_2$ в порах диоксида кремния, малый объем которых увеличивает вероятность столкновения молекул. В свою очередь, скорость возбуждения γ_{ex} повышается, благодаря эффектам ближнего поля, а эффективность интеркомбинационной конверсии Φ_{ISC} и S_{Δ} – благодаря эффекту тяжелого атома. И то, и другое обусловлено присутствием наночастицы серебра. Остановимся подробнее на влиянии атомов серебра, составляющих НЧ, на S_{Δ} . Взаимодействие ФС и $^3\text{O}_2$ представляет собой процесс триплет-триплетной аннигиляции (ТТА), в ходе которой с вероятностями $1/9$, $3/9$ и $5/9$ образуются молекулы в синглетном, триплетном и квинтетном состояниях соответственно. К синглетному кислороду приводит только синглетное состояние, однако, интеркомбинационные переходы между состояниями разной мультиплетности повышают вероятность образования $^1\text{O}_2$. В свою очередь, наличие тяжелого атома повышает вероятность таких переходов и, как следствие, доли взаимодействий между ФС и $^3\text{O}_2$, приводящих к образованию $^1\text{O}_2$.

1.3.2 Способы связывания наночастиц и фотосенсибилизаторов

Пространственное разделение молекул ФС и плазмонных наночастиц может достигаться двумя путями: использованием достаточно длинного линкера, с помощью которого происходит ковалентное связывание фотосенсибилизатора с поверхностью наночастиц [236-240], или покрытием наночастиц слоем полимера определенной толщины, допированного или конъюгированного с фотосенсибилизатором [241-246].

Ковалентное связывание ФС с поверхностью наночастиц золота достигается главным образом за счет образования связи Au—S, однако, далеко не все ФС имеют в своем составе SH-группу. Эту проблему решают посредством модификации ФС или НЧ гетерофункциональными органическими соединениями, в состав которых входит –SH-группа (для связывания с НЧ золота), а также гидроксильная, карбоксильная или аминогруппа (для связывания с молекулами ФС). В качестве таких соединений могут выступать тиомочевина [236], 6-меркаптогексан-1-ол [237], цистеин [238], липоевая кислота [239], глутатион [240] и т.д. Однако этот способ конъюгации имеет два существенных недостатка: во-первых, из-за гидрофобной природы большинства органических ФС полученные наночастицы требуют дополнительной стабилизации гидрофильными полимерами, а во-вторых, расстояния между ФС и наночастицей может быть недостаточно для проявления металл-усиленной генерации синглетного кислорода. Этот вопрос подробно рассматривался в работе [247] на примере наносфер золота, модифицированных фталоцианинами цинка с различной длиной углеродного фрагмента, соединяющего SH-группу и макроцикл. В качестве стабилизирующего агента использовался полиэтиленгликоль. Как упоминалось выше, наибольшее усиление генерации синглетного кислорода достигается, когда расстояние между НЧ и ФС близко к 10 нм, однако, эксперименты с ловушкой на синглетный кислород показали, что

уменьшение длины линкера с 11 до 3 атомов углерода приводит к почти двукратному увеличению степени конверсии ловушки. Этот факт объясняется разной ориентацией молекул ФС относительно наночастиц золота. Из литературы известно, что при параллельной ориентации диполь металла нейтрализует диполь фотосенсибилизатора, а при перпендикулярной, напротив, способен максимально усиливать люминесценцию и генерацию синглетного кислорода [248]. Ориентация ФС зависит от угла между линкером и поверхностью плазмонной НЧ. Чтобы обеспечить максимальное количество межмолекулярных взаимодействий, цепи из 11 атомов углерода принимают параллельную ориентацию относительно наносферы золота, однако, цепи из 3 атомов углерода слишком короткие, поэтому для них более предпочтительна перпендикулярная ориентация.

Помимо серы, наночастицы золота способны образовывать связи с азотом. Энергия этой связи на 41 ккал/моль ниже, однако, взаимодействие ФС с поверхностью наночастиц за счет образования связи Au—N все же возможно, хотя такие частицы и требуют дополнительной стабилизации полимером. В работе [249] были синтезированы наносферы золота, стабилизированные полиэтиленгликолем и ковалентно связанные с аминогруппой аксиального лиганда фталоцианина кремния. Помимо стабилизации, молекулы ПЭГ обеспечивали более прочное закрепление ФС на поверхности НЧ посредством ван-дер-ваальсовых взаимодействий. Таким образом, ФС попадал в своеобразную «ловушку», из которой высвобождался вблизи опухолевых клеток за счет сродства гидрофобной молекулы фталоцианина к липидному бислою клеточной мембраны.

Как уже было сказано выше, непосредственное связывание наночастиц с ФС имеет ряд существенных недостатков, поэтому в большинстве работ по данной тематике наночастицы и ФС разделяет слой полимера определенной толщины. Для прочного связывания с НЧ лучше всего подходят полимеры, содержащие SH-группу, например, тиолированный полиэтиленгликоль [250, 251] или полиэтиленимин [252], однако, чаще всего они используются не для непосредственного связывания с ФС, а для повышения сродства наночастицы к диоксиду кремния. Покрытие наночастиц слоем SiO₂ осуществляется посредством щелочного гидролиза тетраэтилортосиликата (ТЭОС), причем толщина слоя легко регулируется количеством добавленного ТЭОС. Таким образом, становится возможным помещать ФС на оптимальном расстоянии от НЧ. Для ковалентного связывания молекул ФС с диоксидом кремния последний, как правило, модифицируют аминогруппами, которые затем образуют амидную связь с карбоксильными группами ФС [241-244].

В присутствии темплата, состоящего из мицеллярных стержней (например, ЦТАБ), плазмонные наночастицы покрываются слоем мезопористого диоксида кремния с диаметром пор 2-50 нм. Мезопористый SiO₂ имеет ряд преимуществ в сравнении с непористым. Во-первых, за счет сильно развитой поверхности мезопористые НЧ адсорбируют больше ФС, чем непористые. Во-

вторых, как уже было сказано выше, частота столкновений ФС с триплетным кислородом повышается, когда обе молекулы находятся в ограниченном объеме поры. В-третьих, наличие пор открывает возможности для создания систем, сочетающих в себе фототермическую, фотодинамическую и химиотерапевтическую активность, поскольку наряду с ФС в поры мезопористого SiO₂ может включаться цитостатический препарат [245, 246]. Чтобы обеспечить оптимальное расстояние между НЧ и ФС, слой мезопористого SiO₂ с ФС отделяют от металлического ядра слоем непористого SiO₂ [244].

В заключение данного раздела хотелось бы остановиться на альтернативных методах связывания наночастиц с молекулами ФС. *Yan и др.* [253] разработали систему на основе наностержней золота и хлорина Е6. Наностержни были модифицированы анионным полимером полистиролсульфонатом натрия, а фотосенсибилизатор – полиэтиленимином, при этом фрагменты не связывались напрямую, а закреплялись на нетканом материале. Из-за похожего способа применения авторы назвали полученный материал «гипсом». Его эффективность была проверена на мышах с привитой раковой опухолью А-431 (клетки эпидермоидной карциномы). Облучение 808-нм и 660-нм лазерами для активации ФТТ и ФДТ соответственно привело к полному исчезновению опухоли на 16-й день после лечения. Дополнительным плюсом такого «гипса» является полная неинвазивность, однако, из-за способа нанесения он подходит только для лечения поверхностных опухолей. *Jin и др.* [254] разработали гидрогель на основе водорастворимого анионного полисахарида геллановой камеди и Ca²⁺, в котором диспергировались наностержни золота и фотосенсибилизатор метиленовый синий. Полученный материал продемонстрировал превосходный синергетический эффект ФТТ и ФДТ под облучением 808-нм и 660-нм лазерами. Температура его гелеобразования равна 38,5°C, что превышает температуру кожных покровов человека и делает полученный материал идеальным для инъекций.

1.4 Заключение

В заключение стоит отметить, что существует гораздо больше перспективных агентов для фототермической и фотодинамической терапии, чем представлено в данном обзоре, и с каждым годом их количество только увеличивается. Одновременно с разработкой новых соединений и материалов ведутся работы по совершенствованию уже имеющихся, при этом основной упор делается на создание комбинированных систем, сочетающих в себе преимущества двух и более видов противораковой терапии.

Ни наночастицы золота, ни кластерные комплексы молибдена не являются новыми соединениями: к настоящему моменту в литературе представлено огромное количество исследований, посвященных их физико-химическим свойствам и применению в биомедицинских целях. Однако, как неоднократно показывалось ранее, объединение двух компонентов в один материал может привести к значительному улучшению уже имеющихся свойств, а нередко – и к появлению

новых, что открывает перед учеными практически неограниченные перспективы для дальнейших исследований. Таким образом, разработка материалов на основе наночастиц золота и кластерных комплексов молибдена является актуальной и перспективной, исходя из чего вытекают цели и задачи данной работы, описанные в главе "*Введение*".

ГЛАВА 2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

2.1 Исходные реагенты и измерительные приборы

$(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{Mo}_6\text{X}_8\}\text{L}_6]$ или **n** ($\text{L} = \text{NO}_3^-$ (**1**), OTs^- (**2**)) были получены по методикам, описанным в [255] и [202]. Все неупомянутые реактивы относятся к классу чда и выше и приобретены в Sigma Aldrich либо в Alfa Aesar.

Электронные спектры поглощения (ЭСП) коллоидных растворов наночастиц в соответствующем растворителе записывали при комнатной температуре на спектрофотометре Cary 60 (Agilent, США). Измерение эмиссии коллоидных растворов проводили с помощью спектрофлуориметра Cary Eclipse (Agilent, США) на длине волны возбуждения 365 нм. Размер частиц и морфологию материалов изучали посредством просвечивающего электронного микроскопа Libra 120 (Zeiss, Германия) с ускоряющим напряжением 60 кВ. Измерение размера частиц в растворе проводили при помощи анализатора ZetaSizer Nano-ZS (Malvern Instruments, Великобритания).

Содержание золота, молибдена и платины определяли на спектрометре высокого разрешения iCAP-6500 (Thermo Scientific, США) с распылительной камерой циклонного типа и небулайзером SeaSpray. Перед проведением элементного анализа образцы наночастиц кипятили в смеси HNO_3 и HCl (1:3 по объему) до полного растворения проб.

2.2 Получение материалов на основе сферических наночастиц золота

2.2.1 Синтез сферических наночастиц золота (GNPs)

Сферические наночастицы золота диаметром ~ 100 нм были синтезированы трехстадийным зародышевым методом, описанным в статье [256]. Раствор зародышевых наночастиц золота готовили стандартным методом цитратного восстановления. К 50 мл кипящего раствора $2,5 \times 10^{-4}$ М HAuCl_4 при перемешивании добавляли 2 мл раствора, содержащего 20 мг цитрата натрия и 1 мг лимонной кислоты. Раствор кипятили в течение 5 минут, а затем охлаждали до комнатной температуры. Для первой стадии роста частиц из зародышевого раствора отбирали аликвоту объемом 3 мл, разбавляли дистиллированной водой до 20 мл и, непрерывно перемешивая, по каплям добавляли 10 мл 1×10^{-3} М раствора HAuCl_4 и 10 мл раствора восстановителя, содержащего 0,5 мг аскорбиновой кислоты и 0,25 мг цитрата натрия. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин. Для второй стадии роста частиц к 22,5 мл раствора добавляли 10 мл раствора HAuCl_4 и 10 мл раствора восстановителя.

2.2.2 Стабилизация GNPs с помощью ПЭГ

К свежеприготовленному коллоидному раствору наночастиц золота добавляли 10 мл 10% водного раствора ПЭГ-6000 и интенсивно перемешивали в течение 30 мин. Далее реакционную смесь центрифугировали (10 мин, 16000 об/мин), промывали двумя циклами обработки ультразвуком/центрифугированием и редиспергировали в 1 мл дистиллированной воды.

2.2.3 Получение $\text{GNP@SiO}_2@1\text{-SiO}_2$ с разной толщиной слоя диоксида кремния

Покрытие ПЭГ-модифицированных наносфер золота слоем диоксида кремния разной толщины осуществлялось модифицированным методом Штобера. Для формирования внутреннего слоя SiO_2 к смеси 1 мл коллоидного раствора наночастиц, 7 мл ацетона и 0,2 мл 25% водного раствора аммиака добавляли 5, 15 или 25 мкл ТЭОС и перемешивали при комнатной температуре в течение 24 часов. Покрытие вторым слоем SiO_2 , содержащим кластерный комплекс, осуществлялось аналогично. К коллоидному раствору наночастиц добавляли 4 мл раствора ацетона, содержащего 4 мг кластерного комплекса **1** и 5 мкл ТЭОС, и перемешивали еще 24 часа. Далее реакционную смесь центрифугировали (10 мин, 16000 об/мин), промывали несколькими циклами обработки ультразвуком/центрифугированием: 2 раза ацетоном и 2 раза водой и редиспергировали в 5 мл дистиллированной воды.

2.2.4 Получение $\text{GNP@SiO}_2@1^x\text{-SiO}_2$ с разным содержанием комплекса **1** и $\text{GNP@SiO}_2@2\text{-SiO}_2$

Общая методика синтеза $\text{GNP@SiO}_2@n^x\text{-SiO}_2$, где $n = 1$ или **2**, а x – загрузка n в граммах на 1 г SiO_2 равная 1,5, 2,3, 3, 4,5 и 7,5 для кластера **1** и 3 для кластера **2**, совпадала с описанной в п. 2.2.3. Для формирования внутреннего слоя SiO_2 к коллоидному раствору наночастиц добавляли 15 мкл ТЭОС. Количество комплекса **1**, необходимого для формирования внешнего слоя SiO_2 , составляло 2, 3, 4, 6 или 10 мг, а количество комплекса **2** – 4 мг.

2.2.5 Получение $\text{SiO}_2@n\text{-SiO}_2$

Синтез наночастиц диоксида кремния диаметром ~ 100 нм осуществлялся модифицированным микроэмульсионным методом, описанным в статье [257]. Смесь 8,3 мл ПАВ Triton X-100, 8 мл этанола, 37,5 мл циклогексана, 2 мл воды и 0,5 мл 25% водного раствора аммиака интенсивно перемешивали в течение 30 минут. После формирования гомогенной микроэмульсии в раствор добавляли 0,5 мл ТЭОС и перемешивали при комнатной температуре в течение 24 часов. По истечении указанного времени в реакционную смесь добавляли 50 мл этанола для дестабилизации микроэмульсии, центрифугировали (10 мин, 16000 об/мин), осадок отделяли и промывали несколькими циклами обработки ультразвуком/центрифугированием: 3 раза этанолом, 3 раза водой и 1 раз ацетоном, а затем сушили на воздухе. Покрытие наночастиц слоем кластер-содержащего диоксида кремния осуществлялось аналогично п. 2.2.3.

2.2.6 Методы характеристики и изучения свойств

2.2.6.1 Оценка эффективности генерации синглетного кислорода

Эффективность генерации синглетного кислорода оценивалась с использованием хорошо известной в литературе «ловушки» на синглетный кислород 1,5-дигидроксиафталина (**DHN**) [258]. Перед началом эксперимента образцы $\text{GNP@SiO}_2@n\text{-SiO}_2$ и $\text{SiO}_2@n\text{-SiO}_2$ анализировали методом АЭС-ИСП с целью определения концентрации молибдена, а затем разбавляли таким

образом, чтобы содержание молибдена в каждом из них составило 120 мкг/мл. Типичный эксперимент заключался в следующем: $\text{GNP@SiO}_2@\text{n-SiO}_2$ или $\text{SiO}_2@\text{n-SiO}_2$ добавляли в кварцевый реактор с 30 мл 2×10^{-4} М раствора DHN в ацетонитриле и перемешивали полученную дисперсию в течение 5 минут. Затем реактор облучали светодиодом Hamamatsu Photonics с длиной волны 365 ± 5 нм в течение 12 минут. Аликвоты объемом 3 мл отбирали через равные промежутки времени, центрифугировали, а затем для супернатантов записывали электронные спектры поглощения.

2.2.6.2 Проведение фототермических измерений

Перед началом эксперимента образцы GNP@SiO_2 или $\text{GNP@SiO}_2@\text{n-SiO}_2$ анализировали методом АЭС-ИСП с целью определения концентрации золота, а затем разбавляли таким образом, чтобы содержание золота в каждом из них составило 400 мкг/мл. Для проведения фототермических измерений 3 мл коллоидного раствора GNP@SiO_2 или $\text{GNP@SiO}_2@\text{n-SiO}_2$ помещали в открытую кварцевую кювету и облучали титан-сапфировым перестраиваемым импульсным лазером (MULTUS MPAPOP-1000K, Avesta Ltd., Россия) в течение 8 минут. Облучение проводилось на длинах волн 800 и 400 нм, соответствующих основной и второй гармонике. Во всех проведенных экспериментах ширина импульса составляла 60 фс, частота следования импульсов – 1 кГц, а подаваемая на образцы мощность – 600 мВт. Температуру образцов контролировали термопарой ANSI Type K (хромель-алюмель), подключенной к откалиброванному терморегулятору (Termodat-13E1, Control Systems Co. Ltd., Россия), размещенному вне лазерного луча. Разницу между начальной и конечной температурой регистрировали через равные промежутки времени.

2.3 Получение материалов на основе наностержней золота

2.3.1 Синтез наностержней золота с различными AR (AR-GNRs)

Наностержни золота были синтезированы зародышевым методом, описанным в статье [259]. Для получения зародышевых наночастиц золота к 10 мл 0,1 М раствора ЦТАБ добавляли 0,25 мл 0,01 М раствора HAuCl_4 и 0,8 мл свежеприготовленного раствора 0,01 М NaBH_4 в ледяной воде, а затем интенсивно перемешивали в течение 2 минут, при этом цвет раствора менялся с ярко-желтого на коричневый. Полученный зародышевый раствор 2 часа выдерживали при комнатной температуре, прежде чем использовать его для дальнейших экспериментов. Ростовой раствор был приготовлен путем последовательного прибавления к 40 мл 0,1 М раствора ЦТАБ 2 мл 0,01 М раствора HAuCl_4 , 0,3, 0,5 или 0,8 мл 0,01 М раствора AgNO_3 , 0,8 мл 1 М раствора HCl и 0,32 мл 0,1 М раствора аскорбиновой кислоты. Реакционную смесь перемешивали до полного обесцвечивания, а затем немедленно прибавляли 96 мкл зародышевого раствора и выдерживали, не перемешивая, в течение 12 ч.

2.3.2 Стабилизация AR-GNRs с помощью полистиролсульфоната натрия (ПСС)

Коллоид ЦТАБ-стабилизированных наностержней золота отделяли центрифугированием (10 мин, 16000 об/мин), а затем разбавляли дистиллированной водой до 20 мл. Далее к водной фазе добавляли хлороформ (10 мл) и энергично встряхивали до получения однородной эмульсии. Водную и органическую фазу разделяли центрифугированием (4 мин, 3000 об/мин), затем водную фазу, в которой содержались наночастицы, отделяли, приливали к ней 30 мл водного раствора ПСС (10 мг/мл) и перемешивали в течение 1 часа. Далее реакционную смесь центрифугировали (10 мин, 16000 об/мин), промывали двумя циклами обработки ультразвуком/центрифугированием водой и редиспергировали в 2 мл дистиллированной воды.

2.3.3 Получение AR-GNR@SiO₂@1-SiO₂ с разной толщиной слоя диоксида кремния

Покрытие ПСС-модифицированных наностержней золота слоем диоксида кремния разной толщины осуществлялось модифицированным методом Штобера. 2 мл коллоидного раствора наночастиц смешивали с 14 мл этанола, 0,2 мл 25% водного раствора аммиака и определенным объемом 20% раствора ТЭОС в этаноле (для 1,5-GNRs он составлял 15, 30 или 50 мкл; для 2,5-GNRs – 25, 50 или 75 мкл, а для 4,0-GNRs – 50, 100 или 150 мкл). После 24 часов перемешивания к коллоидному раствору наностержней добавляли 0,8 мл раствора ацетона, содержащего 0,8 мг кластерного комплекса **1** и 2 мкл ТЭОС, и перемешивали еще 24 часа. Далее реакционную смесь центрифугировали (10 мин, 16000 об/мин), промывали несколькими циклами обработки ультразвуком/центрифугированием: 2 раза ацетоном и 2 раза водой, сушили на воздухе и редиспергировали в 5 мл дистиллированной воды.

2.3.4 Получение AR-GNR@SiO₂@n^x-SiO₂ с разным содержанием комплекса **1** и AR-GNR@SiO₂@2-SiO₂

Общая методика синтеза AR-GNR@SiO₂@n^x-SiO₂, где x = 1,5, 2,3 или 3 для кластера **1** и 3 для кластера **2**, совпадала с описанной в п. 2.3.3. Для формирования внутреннего слоя SiO₂ к коллоидному раствору 1,5-GNRs добавляли 30 мкл 20% раствора ТЭОС в этаноле, к раствору 2,5-GNRs – 50 мкл, а к раствору 4,0-GNRs – 100 мкл. Количество комплекса **1**, необходимого для формирования внешнего слоя SiO₂, составляло 0,8, 1,2 или 1,6 мг на 10 мкл 20%-ного раствора ТЭОС в этаноле, а количество комплекса **2** – 1,6 мг.

2.3.5 Методы характеристики и изучения свойств

2.3.5.1 Оценка эффективности генерации синглетного кислорода

Эксперимент проводили аналогично приведенному в п. 2.2.6.1. Анализировали образцы AR-GNR@SiO₂@n-SiO₂, GNP@SiO₂@n-SiO₂ и SiO₂@n-SiO₂. Концентрация молибдена во всех образцах составляла 36 мкг/мл.

2.3.5.2 Проведение фототермических измерений

Эксперимент проводили аналогично приведенному в п. 2.2.6.2. Анализировали образцы 4.0-GNR@SiO₂ и 4.0-GNR@SiO₂@n-SiO₂. Концентрация золота во всех образцах составляла 340 мкг/мл.

2.4 Получение материалов на основе SiO₂ и нанокристаллов С7b

2.4.1 Синтез {Mo₆I₈}@SiO₂

Наночастицы {Mo₆I₈}@SiO₂ были получены микроэмульсионным методом в соответствии со статьей [212]. 17 мг комплекса **1** растворяли в 2,5 мл этанола, к которому затем приливали 2,5 мл дистиллированной воды. Одновременно с этим в отдельной колбе готовили смесь 47 мл гептана и 15 мл ПАВ Brij L4, к которой затем прибавляли 1,6 мл водно-этанольного раствора **1** и 1,3 мл 25% водного раствора аммиака. Для обеспечения гомогенности микроэмульсии полученную смесь перемешивали в течение 30 минут, затем прибавляли 2 мл ТЭОС и перемешивали еще 72 часа. По истечении этого времени желтоватый коллоидный раствор центрифугировали (10 мин, 7000 об/мин), промывали несколькими циклами обработки ультразвуком/центрифугированием: 3 раза этанолом, 3 раза водой и 1 раз ацетоном и сушили на воздухе при 60°C.

2.4.2 Модификация поверхности {Mo₆I₈}@SiO₂ эпоксидными группами (эпокси-{Mo₆I₈}@SiO₂)

50 мг порошка {Mo₆I₈}@SiO₂ диспергировали в 2,5 мл гексана посредством обработки ультразвуком в течение 30 минут. Затем к дисперсии добавляли 7,5 мкл триэтиламина и 50 мкл (3-глицидилоксипропил)триметоксисилана и перемешивали при 55°C в течение 3,5 часов. Далее наночастицы эпокси-{Mo₆I₈}@SiO₂ отделяли центрифугированием (10 мин, 7000 об/мин), промывали несколькими циклами обработки ультразвуком/центрифугированием: 5 раз гексаном и 1 раз ацетоном и сушили на воздухе.

2.4.3 Конъюгация эпокси-{Mo₆I₈}@SiO₂ с нанокристаллами С7b

10 мг эпокси-{Mo₆I₈}@SiO₂ дважды промывали 5 мл 0,1 М NaCl и ресуспендировали в 1 мл буфера для проведения конъюгации, содержащего карбонат и гидрокарбонат натрия в концентрациях 5,8 и 3,8 мг/мл соответственно (pH = 10). Далее к дисперсии приливали 1 мл раствора С7b (6,7 мг/мл) и перемешивали в течение 24 часов. Полученные дисперсии центрифугировали (10 мин, 7000 об/мин), осадки промывали 5 мл 0,1 М NaCl, ресуспендировали в 2 мл раствора для связывания свободных антител, содержащего 5 мг глицина и 1,4 мкл ПАВ Triton X-100, и осторожно перемешивали в течение 30 минут. Наночастицы {Mo₆I₈}@SiO₂-С7b отделяли центрифугированием (10 мин, 7000 об/мин), промывали 5 мл 0,1 М NaCl и ресуспендировали в 1 мл фосфатного буферного раствора, содержащего 0,46 мкл ПАВ Triton X-100 (pH = 7,4).

2.4.4 Методы характеристики и изучения свойств

2.4.4.1 Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия (КЛСМ)

Клетки Нер-2 или SKBR3 высевали на покровные стекла (1×10^5 клеток/стекло) и инкубировали в течение ночи при 37°C в атмосфере 5% CO_2 . Затем культуральную среду заменяли свежей средой, содержащей 0,1 мг/мл $\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}@\text{SiO}_2\text{-C7b}$ и инкубировали клетки в течение 24 часов. Клетки, инкубированные в отсутствие исследованных соединений, использовали в качестве контроля. Далее клетки дважды промывали фосфатным буферным раствором (ФБР), фиксировали в 4% параформальдегиде и визуализировали с использованием конфокального микроскопа Zeiss LSM 510 (Carl Zeiss Inc., Jena, Германия), снабженного лазерным диодом (405 нм) для флуоресценции и с $100\times$ масляным иммерсионным объективом. Изображения были получены и проанализированы с помощью программного обеспечения ZEN 2009.

2.5 Получение мезопористых материалов на основе наностержней золота с $\text{AR} = 4,0$

2.5.1 Получение 4.0-GNR@mSiO₂@n-SiO₂

Покрытие 4.0-GNRs мезопористым диоксидом кремния осуществлялось методом травления с предварительной защитой поверхности [260]. На первом этапе ПСС-модифицированные наностержни золота покрывали слоем непористого диоксида кремния по методике, описанной в п. 2.3.4. Коллоид 4.0-GNR@SiO₂ отделяли центрифугированием (10 мин, 16000 об/мин), а затем разбавляли дистиллированной водой до 10 мл. К полученному раствору прибавляли 168 мг поливинилпирролидона (ПВП) и перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов. По истечении этого времени к раствору добавляли 6 мл раствора гидроксида натрия (1,2 мг/мл) и перемешивали еще 30 минут. Далее реакционную смесь центрифугировали (10 мин, 16000 об/мин), промывали двумя циклами обработки ультразвуком/центрифугированием и редиспергировали в 2 мл дистиллированной воды. Дальнейшее формирование внешнего слоя SiO₂, содержащего кластерный комплекс, осуществлялось по методике, описанной в п. 2.3.4.

2.5.2 Включение в 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂ и 4.0-GNR@SiO₂@2-SiO₂ цисплатина

Перед проведением пропитки 5 мг цисплатина растворяли в 10 мл дистиллированной воды и выдерживали в темноте в течение 6 часов. Затем к полученному раствору добавляли коллоид 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂ или 4.0-GNR@SiO₂@2-SiO₂ и перемешивали в темноте в течение 168 часов. Далее реакционную смесь центрифугировали (10 мин, 16000 об/мин), промывали двумя циклами обработки ультразвуком/центрифугированием и редиспергировали в 2 мл дистиллированной воды.

2.5.3 Модификация поверхности наночастиц 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂@cis и 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂ эпоксидными группами

2 мл коллоидного раствора 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂@cis или 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂ смешивали с 20 мл ацетона, центрифугировали (10 мин, 16000 об/мин), дважды промывали ацетоном (20 мл) до полного удаления следов воды. Далее порошок диспергировали в смеси 7 мл гексана и 1 мл ацетона, добавляли 0,1 мл триэтиламина, 100 мкл (3-глицидилоксипропил)триметоксисилана и перемешивали при 55°C в течение 3,5 часов. Далее наночастицы отделяли центрифугированием (5 мин, 6000 об/мин) и промывали несколькими циклами обработки ультразвуком/центрифугированием: 2 раза этанолом и 2 раза водой.

2.5.4 Конъюгация эпокси-4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂@cis и эпокси-4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂ с наноантителами C7b

Эксперимент проводили аналогично приведенному в п. 2.4.3. Объем необходимого для проведения конъюгации раствора C7b составлял 1 или 2 мл (2 мг/мл).

2.5.5 Методы характеристики и изучения свойств

2.5.5.1 Оценка эффективности генерации синглетного кислорода

Эксперимент проводили аналогично приведенному в п. 2.2.6.1. Анализировали образцы 4.0-GNR@mSiO₂@n-SiO₂ и 4.0-GNR@SiO₂@n-SiO₂. Концентрация золота во всех образцах составляла 190 мкг/мл.

2.5.5.2 Проведение фототермических измерений

Эксперимент проводили аналогично приведенному в п. 2.2.6.2. Анализировали образцы 4.0-GNR@mSiO₂ и 4.0-GNR@mSiO₂@n-SiO₂. Концентрация золота во всех образцах составляла 190 мкг/мл.

2.5.5.3 Исследование кинетики включения цисплатина

Включение цисплатина в 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂ и 4.0-GNR@SiO₂@2-SiO₂ проводилось аналогично описанному в п. 2.5.2. Через равные промежутки времени из реакционной смеси отбирали аликвоты объемом 1 мл, центрифугировали, а затем полученные супернатанты анализировали методом АЭС-ИСП.

2.5.5.4 Исследование кинетики высвобождения цисплатина

К 10 мл фосфатного буферного раствора с pH = 5,0, 6,0 или 7,0 или питательной среды DMEM/F-12 (1:1) с L-глутамином (Sigma-Aldrich) прибавляли 2 мл коллоидного раствора 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂@cis и перемешивали в темноте в течение 48 часов. Для фосфатного буферного раствора с pH = 5,0 эксперимент проводили при комнатной температуре (25°C) и при 37°C. Через равные промежутки времени из реакционной смеси отбирали аликвоты

объемом 1 мл, центрифугировали, а затем полученные супернатанты анализировали методом АЭС-ИСП.

2.2.5.5 Дот-блот анализ

На нитроцеллюлозную мембрану (Hybond-C Extra, Великобритания) капельно наносили растворы конъюгатов 4.0-GNR@SiO₂@2-SiO₂-C7b(2), 4.0-GNR@SiO₂@2-SiO₂-C7b(4), C7b и рекомбинантного белка HER2/neu и высушивали при комнатной температуре в течение 15 минут. Далее мембрану переносили в смоченный водой держатель. Поверхность мембраны во избежание неспецифического связывания блокировали 1% раствором бычьего сывороточного альбумина (БСА) в ФСБ (фосфатный солевой буфер, 137 мМ NaCl, 2,7 мМ KCl, 10 мМ Na₂HPO₄, 1,74 мМ KH₂PO₄; pH = 7,4) с 0,1% Tween 20 (ФСБ-Т). После трехкратной промывки мембраны ФСБ-Т, ее погружали в растворы конъюгатов 4.0-GNR@SiO₂@2-SiO₂-C7b(2) или 4.0-GNR@SiO₂@2-SiO₂-C7b(4) в разведении 1/10, инкубировали в течение 10 мин при комнатной температуре, затем трехкратно промывали ФСБ-Т. Далее отмытую мембрану погружали в раствор мышинных антител, специфичных против His-tag (Sigma-Aldrich, США) в рабочем разведении 1/3000 в 1%-ном растворе БСА в ФСБ-Т и инкубировали при комнатной температуре в течение 10 минут. После трехкратной промывки мембраны ФСБ-Т, ее погружали в раствор козьих анти-мышинных антител, меченных щелочной фосфатазой, в рабочем разведении 1/3000 (Bio-Rad, США). В качестве субстрата для щелочной фосфатазы использовали раствор 5-бром-4-хлор-3-индолил фосфата (BCIP) и нитросиний тетразол (NTB) в водном растворе (Invitrogen, США). Инкубацию проводили в течение 5 минут. Ферментативную реакцию останавливали промывкой дистиллированной водой.

2.2.5.6 Твердофазный иммуноферментный анализ (ТФ-ИФА)

Для проведения ТФ-ИФА использовали высокосорбционные стриповые 96-луночные полистироловые планшеты Nunc (Termoscientific, США). Сенсбилизацию ячеек проводили рекомбинантным белком HER2/neu (25 нг/лунка) в ФСБ и инкубировали в течение 18 ч при +4°C. После трехкратной промывки ФСБ с 0,5% Tween 20 в лунки добавляли по 150 мкл блокирующего 1% р-ра казеина с ФСБ-Т и инкубировали в течение 1 часа при 37°C. Далее в три лунки добавляли конъюгат 4.0-GNR@SiO₂@2-SiO₂-C7b(4) в блокирующем буферном растворе (100 мкл/лунка). Титрование проводили с разведения 1/100 (что соответствует 20 мкг/лунка) с 10-ти кратным шагом. В качестве контроля использовался очищенный препарат моноантител C7b (2 мкг/лунка). После инкубации при 37°C в течение 1 часа лунки трехкратно промывали ФСБ-Т, затем добавляли раствор мышинных антител, специфичных против His-tag (Sigma-Aldrich, США) в рабочем разведении 1/3000 в блокирующем буфере и инкубировали при 37°C в течение 1 часа. После трехкратной отмытки лунок с ФСБ-Т в них добавляли козы анти-мышинные антитела, меченные пероксидазой хрена, в рабочем разведении 1/3000 (Bio-Rad, США) и инкубировали при 37°C в течение 1 часа. После трехкратной отмытки лунок с ФСБ-Т в них добавляли по 50 мкл жидкого

субстрата на основе **ТМБ** (3,3',5,5'-тетраметилбензидин), разведенного в буфере, содержащем H_2O_2 для окисления субстрата. Проявление иммунной реакции наноантител с рекомбинантным антигеном HER2/neu и ферментативной реакции субстрата с H_2O_2 проводили в течение 15 минут при комнатной температуре в защищенном от света месте. Ферментативную реакцию блокировали добавлением 50 мкл 1 М HCl в каждую лунку и измеряли оптическую плотность субстратно-индикаторной смеси на спектрофотометре «Uniscan» (Labsystems, Финляндия) на длине волны 450 нм.

2.2.5.7 Оценка цитотоксичности материалов, МТТ-тест

Клетки линий MCF-7 и BT-474 высевали в 96-луночные планшеты с концентрацией 5×10^3 клеток/лунка, а затем инкубировали в течение 24 ч в атмосфере 5% CO_2 при 37°C. Затем клетки обрабатывали средой, содержащей 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂, 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂@cis или 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂@cis-C7b(4) в диапазоне концентраций 0,15-77 мкг_{Au}/мл, или наноантитела C7b в диапазоне концентраций 0,49-250 мкг/мл и инкубировали в течение 72 часов при тех же условиях. Затем в каждую лунку добавляли 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолийбромид (МТТ) до конечной концентрации 250 мг/мл и инкубировали в течение 4 часов. Образованный формазан затем растворяли в ДМСО (100 мл). Оптическую плотность измеряли с помощью фотометра Multiskan FC (Thermo Scientific, США) на длине волны 620 нм. Эксперимент повторяли три раза в разные дни.

2.2.5.8 Оценка проникновения частиц в клетки

Клетки линий MCF-7 и BT-474 высевали в 96-луночные планшеты с концентрацией 5×10^3 клеток/лунка, а затем инкубировали в течение 24 ч в атмосфере 5% CO_2 при 37°C. Затем клетки обрабатывали средой, содержащей 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂@cis или 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂@cis-C7b(4) (1,2 мкг_{Au}/мл), инкубировали в течение 0,5 или 1 ч при тех же условиях и определяли содержание золота методом АЭС-ИСП.

2.2.5.9 Оценка фотоиндуцированной цитотоксичности

Клетки линий MCF-7 и BT-474 высевали в 96-луночные планшеты с плотностью 5×10^3 клеток/лунка и культивировали в течение 24 часов. Затем питательную среду заменяли свежей средой, содержащей 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂, 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂@cis или 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂@cis-C7b(4) (1,2 мкг_{Au}/мл), инкубировали в течение 24 ч, а затем облучали лампой белого света L8253 (400-800 нм, 220 мВ/см²), установленной на расстоянии 20 см от образцов, в течение 30 мин. Клетки, культивируемые в среде без материалов, служили отрицательным контролем. Затем в каждую лунку добавляли 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолийбромид (МТТ) до конечной концентрации 250 мг/мл и инкубировали в течение 4 часов. Образованный формазан затем растворяли в ДМСО (100 мл). Оптическую плотность измеряли с

помощью фотометра Multiskan FC (Thermo Scientific, США) на длине волны 620 нм. Эксперимент повторяли три раза в разные дни.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Приведенный обзор литературы наглядно демонстрирует перспективность исследования наноразмерных систем, сочетающих в себе преимущества двух и более видов противораковой терапии. Особый интерес вызывает тот факт, что объединение нескольких компонентов в один материал способно приводить к значительному улучшению их свойств – ярким примером является металл-усиленная генерация синглетного кислорода, возникающая при связывании плазмонных НЧ с молекулами фотосенсибилизаторов [229-235].

Одним из относительно новых классов фотосенсибилизаторов являются октаэдрические кластерные комплексы молибдена. В отличие от коммерчески доступных органических ФС, они практически не подвержены концентрационному тушению, способны возбуждаться под действием видимого света, а также демонстрируют высокий квантовый выход синглетного кислорода, причем как в растворе, так и в твердом состоянии [200, 202, 204, 206]. Материалы на основе кластерных комплексов молибдена, включенных в матрицы органической и неорганической природы, уже показали себя как перспективные агенты для ФДТ, о чем свидетельствуют результаты, описанные в главе. 1.2.4. Однако, несмотря на неуклонный рост количества публикаций по данному направлению, к моменту написания диссертационной работы в литературе полностью отсутствовали упоминания о кластер-содержащих материалах для комбинированной терапии раковых опухолей. Отсутствие подобных исследований и побудило начать разработку данного направления.

Диссертационная работа посвящена получению и изучению комбинированных материалов, представляющих собой плазмонные наночастицы золота различного размера и формы, покрытые слоем диоксида кремния, допированного кластерными комплексами молибдена с ядром $\{Mo_6I_8\}^{4+}$. В качестве исходных кластерных комплексов были выбраны $(Bu_4N)_2[\{Mo_6I_8\}L_6]$ или **n** ($L = NO_3^-$ (**1**) и OTs^- (**2**)). Эти соединения обладают ярко-выраженными люминесцентными свойствами, а также, как было показано ранее, способны прочно связываться с диоксидом кремния путем замещения лабильных внешних лигандов [212, 213].

В рамках работы можно выделить три типа материалов. Самые простые – на основе сферических наночастиц золота – были использованы в качестве модели для оптимизации методики синтеза [261]. Далее оптимизированная методика была перенесена на материалы на основе наностержней золота с различным осевым соотношением, из которых был выбран материал с наилучшими люминесцентными и фотодинамическими свойствами [262]. Наконец, уже на основе этого материала были получены мезопористые наночастицы, допированные цитостатическим препаратом цисплатином и модифицированные наноантителами C7b, с целью дальнейшей их

апробации в биологических системах. Кроме того, конъюгация наночастиц C7b была предварительно опробована на модельной системе, не содержащей наночастиц золота [263].

Перейдем к более подробному рассмотрению материалов каждого типа.

3.1 Материалы на основе сферических наночастиц золота

3.1.1 Получение и характеристика материалов

Изучение материалов данного типа описано в работе [261]. Для исследования были выбраны сферические наночастицы золота (GNPs – gold nanoparticles) диаметром ~ 100 нм, поскольку их полоса поглощения, лежащая в диапазоне 560-600 нм [264], частично перекрывается с полосой эмиссии кластерных комплексов ($\lambda_{эм} \sim 700$ нм, полная ширина на половине высоты ~ 200 нм).

Схема получения комбинированных материалов $GNP@SiO_2@n-SiO_2$ представлена на рисунке 21.

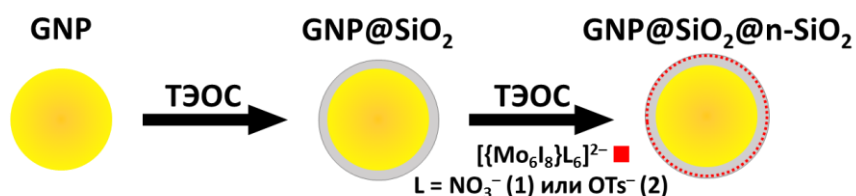


Рис. 21. Схема получения материалов $GNP@SiO_2@n-SiO_2$

Сферические наночастицы золота были получены трехстадийным зародышевым методом, предложенным в статье [256]. Контроль размера и морфологии частиц на всех стадиях синтеза осуществлялся методом просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) (рис. 22).

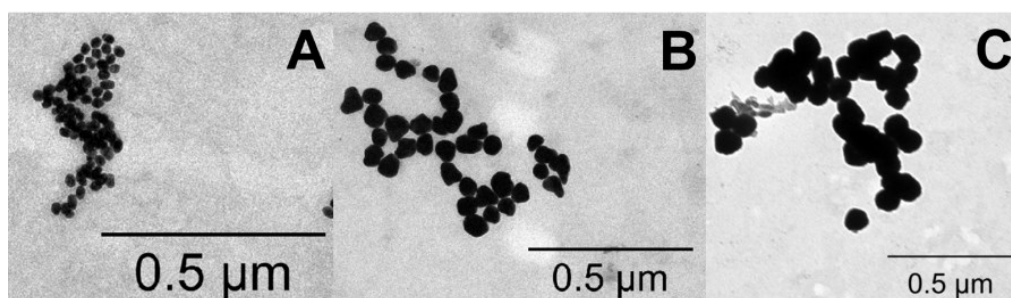


Рис. 22. ПЭМ-изображения наночастиц золота, полученных на разных стадиях синтеза:

А – зародыши; В – первая стадия роста; С – вторая стадия роста

Согласно полученным данным, финальный размер частиц составил 107 ± 7 нм, а максимум поглощения приходился на 580 нм, обеспечивая значительное перекрытие полос поглощения GNPs и эмиссии наночастиц SiO_2 , допированных кластерными комплексами 1 и 2 (рис. 23). Наночастицы золота большего диаметра получить не удалось из-за их высокой склонности к агрегированию.

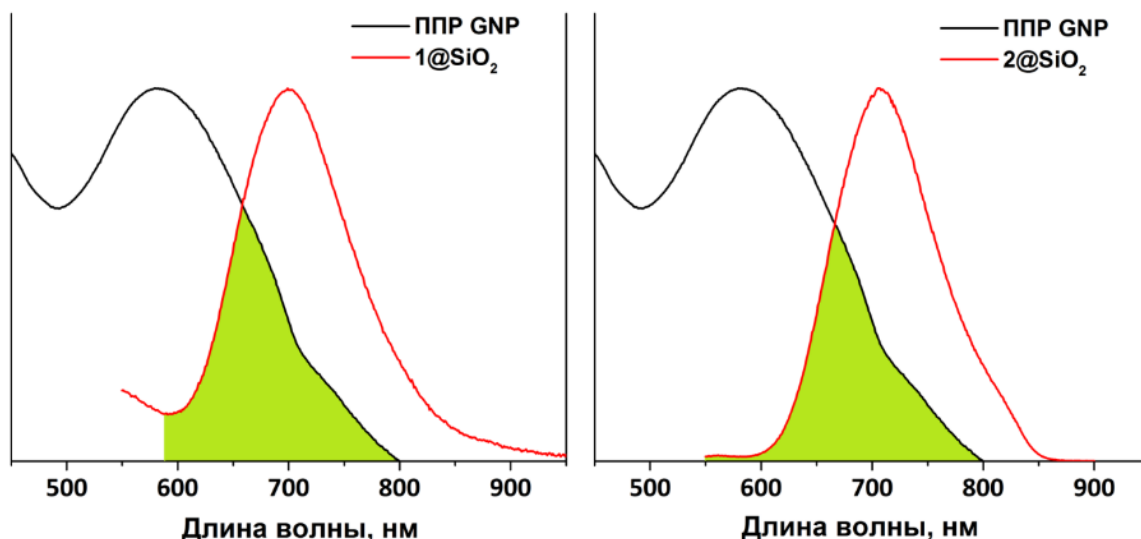


Рис. 23. Перекрывание (выделено зеленым) нормированной полосы ППР GNP и полос эмиссии наночастиц SiO_2 , допированных **1** (слева) и **2** (справа)

Далее наночастицы золота были покрыты слоем диоксида кремния, а затем тонким слоем диоксида кремния, допированного комплексом **1** или **2**. Такое двухслойное покрытие было выбрано по двум причинам. Во-первых, внутренний слой SiO_2 обеспечивает пространственное разделение наночастиц золота и молекул фотосенсибилизатора, тем самым препятствуя безызлучательному переносу энергии и тушению триплетных состояний. Во-вторых, количество молекул кластерного комплекса, способных фотосенсибилизировать процесс генерации синглетного кислорода, ограничено диффузией триплетного кислорода через слой диоксида кремния и относительно коротким временем жизни синглетного кислорода. Таким образом, наличие ФС во внутреннем слое SiO_2 не оказывает влияния на фотодинамические свойства полученных материалов.

Покрытие наночастиц золота слоем SiO_2 осуществлялось модифицированным методом Штобера (т.е. аммиачным гидролизом ТЭОС). В отличие от классического метода, где в качестве реакционной среды выступает этанол, для обеспечения лучшей растворимости и гидролитической устойчивости кластерных комплексов предпочтительнее использовать ацетон. Толщина внутреннего слоя SiO_2 увеличивалась прямо пропорционально количеству добавленного в реакционную смесь ТЭОС. Покрытие GNP@SiO_2 внешним фотоактивным слоем кластер-содержащего диоксида кремния осуществлялось аналогично: гидролизом ТЭОС в присутствии различных количеств кластерного комплекса (1,5–7,5 мг на 1 мг SiO_2).

3.1.2 Оптимизация толщины слоя диоксида кремния

Как известно из литературных данных, для усиления люминесцентных и фотодинамических свойств ФС необходимо, чтобы он находился в непосредственной близости от НЧ, поскольку усиление электрического поля экспоненциально затухает с удалением от поверхности металла.

С другой стороны, если ФС находится слишком близко к НЧ, его триплетные состояния могут тушиться посредством безызлучательного переноса энергии и/или заряда на металл [265]. Таким образом, для получения комбинированных материалов с наилучшими оптическими свойствами необходимо определить, на каком расстоянии от НЧ будет наблюдаться наибольшее усиление интенсивности люминесценции ФС.

Для оптимизации толщины слоя диоксида кремния использовалось фиксированное количество кластера **1** (3 мг на 1 мг SiO₂). Варьируя количество ТЭОС в реакционной смеси, мы получили частицы с суммарной толщиной внутреннего и внешнего слоя SiO₂ равной 9 ± 2 , 21 ± 2 и 44 ± 3 нм (согласно данным просвечивающей электронной микроскопии, рис. 24). Как видно из ПЭМ-изображений, все наночастицы золота оказались равномерно покрыты слоем SiO₂. Кроме того, в материалах присутствовало некоторое количество наночастиц диоксида кремния, не содержащих металлического ядра, что, вероятно, связано с быстрым щелочным гидролизом ТЭОС. Далее полученные материалы будут обозначаться как GNP@SiO₂@1-SiO₂ (9), GNP@SiO₂@1-SiO₂ (21) и GNP@SiO₂@1-SiO₂ (44).

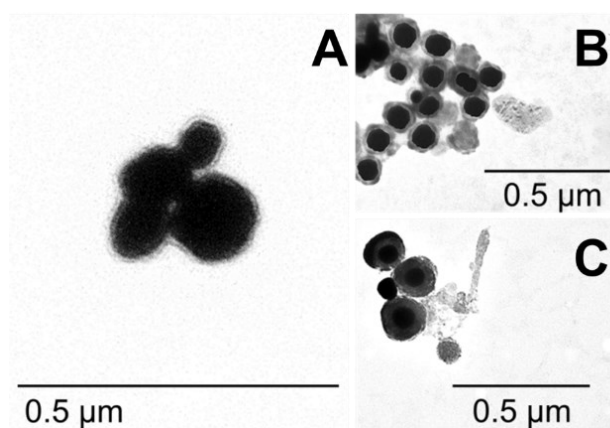


Рис. 24. ПЭМ-изображения GNP@SiO₂@1-SiO₂ с разной толщиной слоя диоксида кремния:

А – 9 нм; В – 21 нм; С – 44 нм

Электронные спектры поглощения коллоидных растворов наночастиц в дистиллированной воде показали, что с увеличением толщины слоя SiO₂ наблюдается bathochromный сдвиг максимума ППП, связанный с уменьшением диэлектрической проницаемости среды (рис. 25).

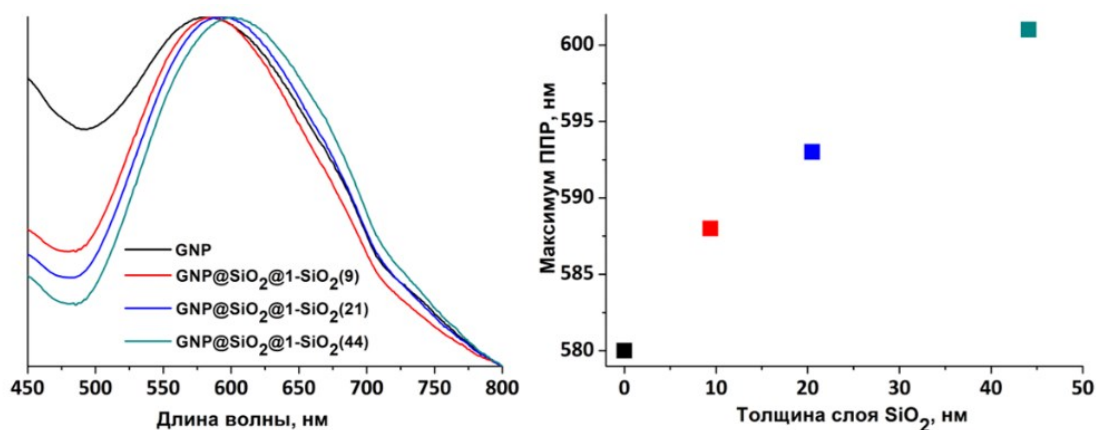


Рис. 25. Нормированные ЭСП $\text{GNP@SiO}_2@1\text{-SiO}_2$ с разной толщиной слоя диоксида кремния (слева) и зависимость положения максимума ППР $\text{GNP@SiO}_2@1\text{-SiO}_2$ от толщины слоя диоксида кремния (справа)

Для оценки влияния наночастиц золота на люминесцентные свойства комбинированных материалов в качестве образца сравнения использовались частицы чистого SiO_2 того же размера (122 ± 13 нм) с тем же содержанием комплекса **1** (3 мг на 1 мг SiO_2), обозначенные как $\text{SiO}_2@1\text{-SiO}_2$ (рис. 26).

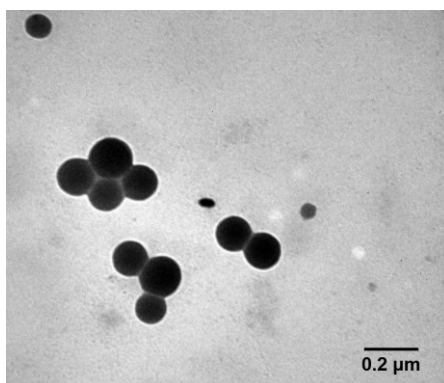


Рис. 26. ПЭМ-изображение $\text{SiO}_2@1\text{-SiO}_2$

Кроме того, для подтверждения необходимости пространственного разделения НЧ золота и молекул ФС мы синтезировали наночастицы без внутреннего слоя диоксида кремния – GNP@1-SiO_2 . Из-за сильного тушения люминесценции комплекса кислородом и молекулами воды сравнение квантовых выходов образцов не представлялось возможным, поскольку они оказались $<0,1\%$, поэтому сравнение люминесцентных свойств комбинированных материалов проводили на основе интенсивности их эмиссии. Предварительно свежеприготовленные образцы анализировали методом АЭС-ИСП и разбавляли до достижения одинаковой концентрации молибдена во всех коллоидных растворах ($24 \text{ мкг}_{\text{Mo}}/\text{мл}$). Спектры эмиссии образцов представлены на рис. 27.

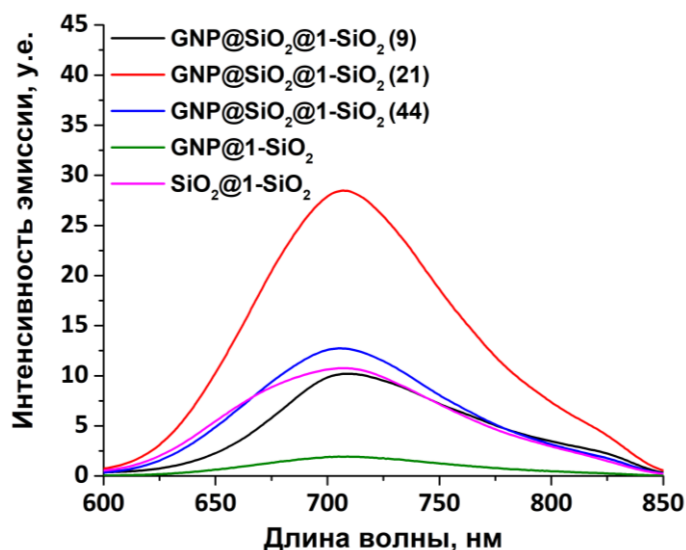


Рис. 27. Спектры люминесценции $\text{GNP@SiO}_2@1\text{-SiO}_2$ с разной толщиной слоя диоксида кремния и $\text{SiO}_2@1\text{-SiO}_2$

На представленных спектрах материалов можно наблюдать полосу эмиссии, характерную для кластерных комплексов ($\lambda_{\text{эм}} = 706\text{-}709$ нм), причем ее положение практически одинаково для всех частиц, а интенсивность, напротив, сильно зависит от присутствия НЧ золота и толщины слоя диоксида кремния. Как и ожидалось, интенсивность эмиссии для наночастиц без внутреннего слоя SiO_2 оказалась значительно ниже, чем для остальных образцов, что объясняется описанным в литературе безызлучательным переносом энергии с возбужденных молекул ФС на наночастицу золота [265]. Для образцов $\text{GNP@SiO}_2@1\text{-SiO}_2$ (9) и $\text{GNP@SiO}_2@1\text{-SiO}_2$ (44) интенсивность эмиссии оказалась аналогичной $\text{SiO}_2@1\text{-SiO}_2$, однако, в случае $\text{GNP@SiO}_2@1\text{-SiO}_2$ (21) наблюдалось увеличение интенсивности в 2,2 раза в сравнении с наночастицами, не содержащими золотого ядра. Важно отметить, что полученные результаты согласуются с литературными данными, согласно которым с увеличением расстояния между наночастицей золота и молекулами ФС наблюдается сначала повышение интенсивности эмиссии, а затем ее постепенное снижение [266]. Поскольку наибольшее металл-индуцированное усиление люминесценции кластерного комплекса наблюдалось для образца $\text{GNP@SiO}_2@1\text{-SiO}_2$ (21), во всех дальнейших экспериментах будут использоваться материалы с толщиной слоя диоксида кремния 21 нм, и эта цифра в названии образца будет опускаться.

3.1.3 Оптимизация содержания кластерного комплекса в материалах

Для определения оптимального содержания кластерного комплекса мы проанализировали серию образцов $\text{GNP@SiO}_2@1^x\text{-SiO}_2$, где $x = 1,5, 2,3, 3, 4,5$ и $7,5$ мг **1** на 1 мг SiO_2 . Важно отметить, что x относится не к реальному содержанию кластера в образцах, а только к его добавленному в ходе синтеза количеству. Точное содержание кластерных ядер $\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}^{4+}$ было определено

методом АЭС-ИСП. На основании полученных данных был построен график зависимости количества кластерных ядер $\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}^{4+}$, приходящихся на одну наночастицу золота, от x (рис. 28). Аналогично были построены теоретические кривые содержания кластерных ядер в полученных образцах при условии, что 100% HAuCl_4 ушло на формирование наночастиц золота и 100% комплекса **1** включилось во внешний слой диоксида кремния. Можно заметить, что содержание кластерных ядер, приходящихся на одну наночастицу золота, оказалось ниже теоретического. Это несоответствие является результатом потерь наночастиц в процессе выделения и очистки, а также включения кластерного комплекса в наночастицы диоксида кремния, не содержащие металлического ядра.

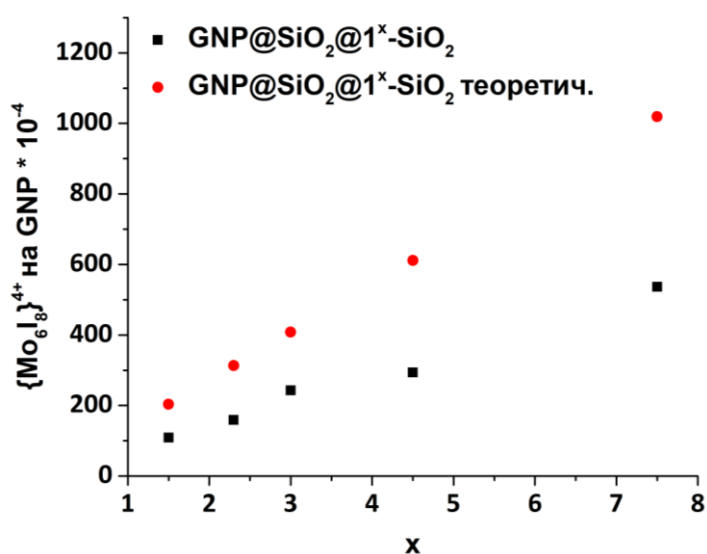


Рис. 28. Зависимость рассчитанного и реального содержания кластерных ядер $\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}^{4+}$, приходящихся на одну наночастицу золота, от x (где $x = 1,5, 2,3, 3, 4,5$ и $7,5$) для $\text{GNP@SiO}_2@1^x\text{-SiO}_2$

Спектры эмиссии образцов $\text{GNP@SiO}_2@1^x\text{-SiO}_2$ демонстрируют общую тенденцию к повышению интенсивности эмиссии с увеличением количества кластерного комплекса (рис. 29), причем эта тенденция особенно выражена для $x = 1,5 - 3$, а в диапазоне $x = 3 - 7,5$ интенсивность эмиссии практически выходит на плато.

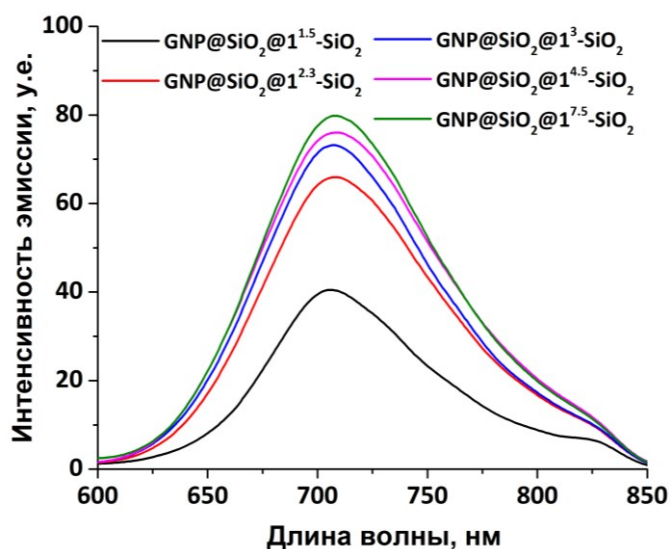


Рис. 29. Спектры люминесценции $\text{GNP@SiO}_2@1^x\text{-SiO}_2$ с разным содержанием кластерного комплекса

Анализируя электронные спектры поглощения образцов, можно заметить, что полоса ППР сохраняется вплоть до $x = 4,5$, а при $x = 7,5$ эта полоса практически полностью исчезает (рис. 30). Данное явление можно объяснить агрегацией наночастиц в процессе покрытия внешним слоем диоксида кремния. Кроме того, увеличение количества кластерного комплекса приводит к bathochromному сдвигу полосы ППР: максимумы поглощения наночастиц наблюдались на 587, 585, 593 и 601 нм для $x = 1,5, 2,3, 3$ и $4,5$ соответственно. Этот сдвиг может быть связан как с изменением диэлектрической проницаемости диоксида кремния в процессе включения кластерного комплекса, так и с частичной агрегацией наночастиц.

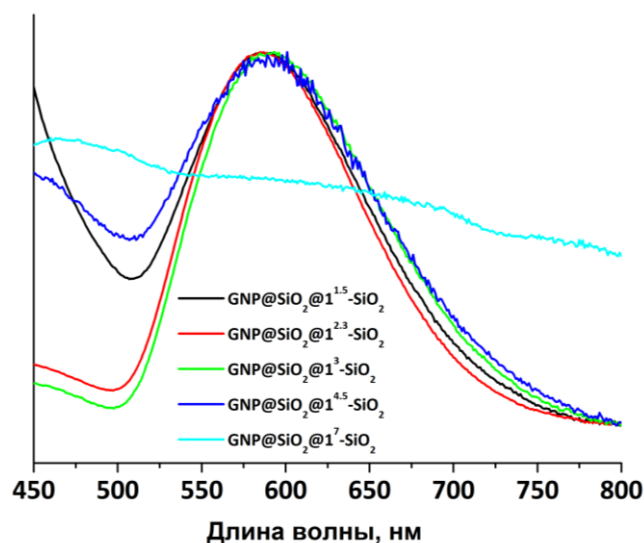


Рис. 30. Нормированные ЭСП $\text{GNP@SiO}_2@1^x\text{-SiO}_2$ с разным содержанием кластерного комплекса

ПЭМ-изображения $\text{GNP@SiO}_2@1^x\text{-SiO}_2$ подтвердили агрегацию наночастиц в образцах, содержащих большое количество кластерного комплекса (рис. 31). Вплоть до $x = 3$ образовывались дискретные сферические наночастицы правильной формы. Однако уже при $x = 4,5$, несмотря на сохранение полосы ППП, на ПЭМ-изображениях были обнаружены частицы размером 600-800 нм, содержащие более одного металлического ядра, а при $x = 7,5$ образовывались еще более крупные частицы размером порядка 2 мкм.

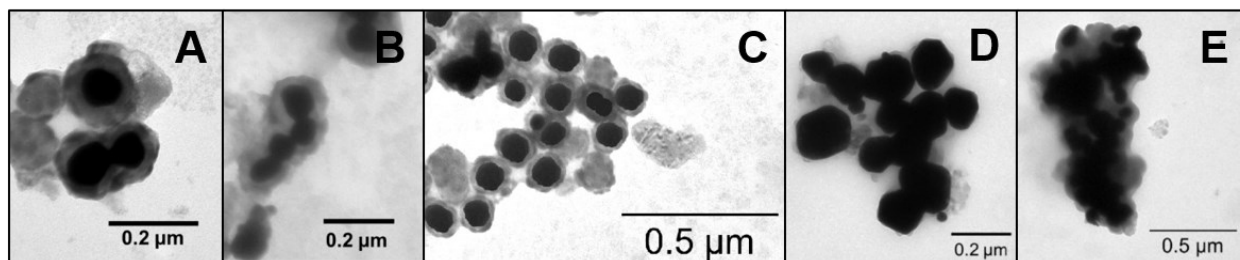


Рис. 31. ПЭМ-изображения $\text{GNP@SiO}_2@1^x\text{-SiO}_2$ с разным содержанием кластерного комплекса:

A – $x = 1,5$; B – $x = 2,3$; C – $x = 3$; D – $x = 4,5$; E – $x = 7,5$

Поскольку наилучшие люминесцентные свойства с сохранением сферической формы частиц и интенсивной полосы ППП наблюдались для образца $\text{GNP@SiO}_2@1^3\text{-SiO}_2$, в дальнейших экспериментах будут использоваться материалы с $x = 3$ мг **n** на 1 мг SiO_2 , и эта цифра в названии образца будет опускаться.

3.1.4 Влияние терминальных лигандов кластера **n** на оптические свойства $\text{GNP@SiO}_2@n\text{-SiO}_2$

Для изучения влияния терминальных лигандов на оптические свойства материалов оптимизированные параметры синтеза, описанные в п. 3.1.2 и 3.1.3, были перенесены на частицы, полученные с использованием $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{OTs})_6]$ (**2**) в качестве источника кластерных ядер $\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}^{4+}$. Изображения, полученные с помощью ПЭМ, показали, что размер и морфология $\text{GNP@SiO}_2@2\text{-SiO}_2$ аналогичны $\text{GNP@SiO}_2@1\text{-SiO}_2$ (рис. 32). Количество кластерных ядер $\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}^{4+}$, приходящихся на одну наночастицу золота, также практически не зависело от природы исходного кластерного комплекса: по данным АЭС-ИСП для $\text{GNP@SiO}_2@1\text{-SiO}_2$ оно составило $(2,4 \pm 1,0) \times 10^6$, а для $\text{GNP@SiO}_2@2\text{-SiO}_2$ – $(2,9 \pm 0,8) \times 10^6$.

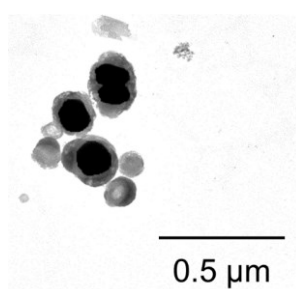


Рис. 32. ПЭМ-изображение $\text{GNP@SiO}_2@2\text{-SiO}_2$

Максимумы полос ППП $\text{GNP@SiO}_2@1\text{-SiO}_2$ и $\text{GNP@SiO}_2@2\text{-SiO}_2$ оказались почти идентичны: 588 и 586 нм соответственно (рис. 33). Ввиду низкой концентрации кластерных комплексов в наночастицах, характерные для них полосы поглощения в диапазоне 300-500 нм на ЭСП не наблюдались. Тем не менее, оптическая плотность коллоидных растворов наночастиц $\text{GNP@SiO}_2@n\text{-SiO}_2$ с одинаковой концентрацией молибдена (120 $\mu\text{г}_{\text{Mo}}/\text{мл}$) на длине волны 365 нм (длина волны возбуждающего излучения) оказалась примерно одинакова, что позволило напрямую сравнивать их спектры люминесценции.

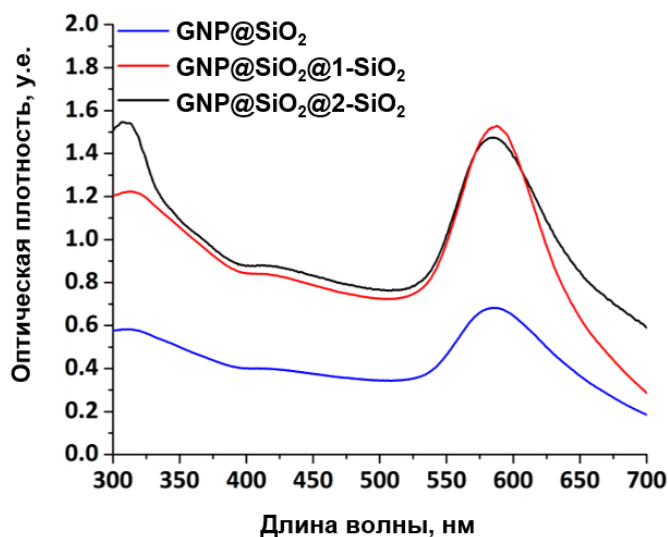


Рис. 33. ЭСП GNP@SiO_2 и $\text{GNP@SiO}_2@n\text{-SiO}_2$

Профиль и интенсивность эмиссии $\text{GNP@SiO}_2@n\text{-SiO}_2$ с одинаковым содержанием молибдена (24 $\mu\text{г}_{\text{Mo}}/\text{мл}$) оказались практически идентичны, (рис. 34), что позволяет предположить, что химическое окружение кластерных ядер $\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}^{4+}$, которыми допированы наночастицы, не зависит от природы лабильных терминальных лигандов, которые в процессе синтеза замещаются на гидроксо- или силанольные группы [212].

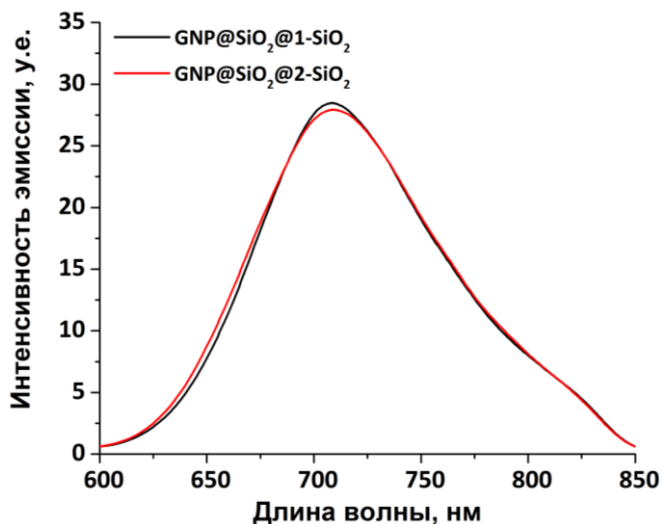


Рис. 34. Спектры люминесценции $\text{GNP@SiO}_2@n\text{-SiO}_2$

Сравнение профилей эмиссии $\text{GNP@SiO}_2@n\text{-SiO}_2$ и $\text{SiO}_2@n\text{-SiO}_2$ показало, что полная ширина на половине высоты для образцов, содержащих плазмонные наночастицы, оказалась на 13 нм для $n=1$ и 4 нм для $n=2$ меньше, чем для кластер-содержащих наночастиц SiO_2 (рис. 35). Мы предполагаем, что сужение спектров на длинах волн <700 нм связано с частичным переносом энергии с возбужденного кластерного комплекса на наночастицы золота, имеющие в этой области полосу ППП.

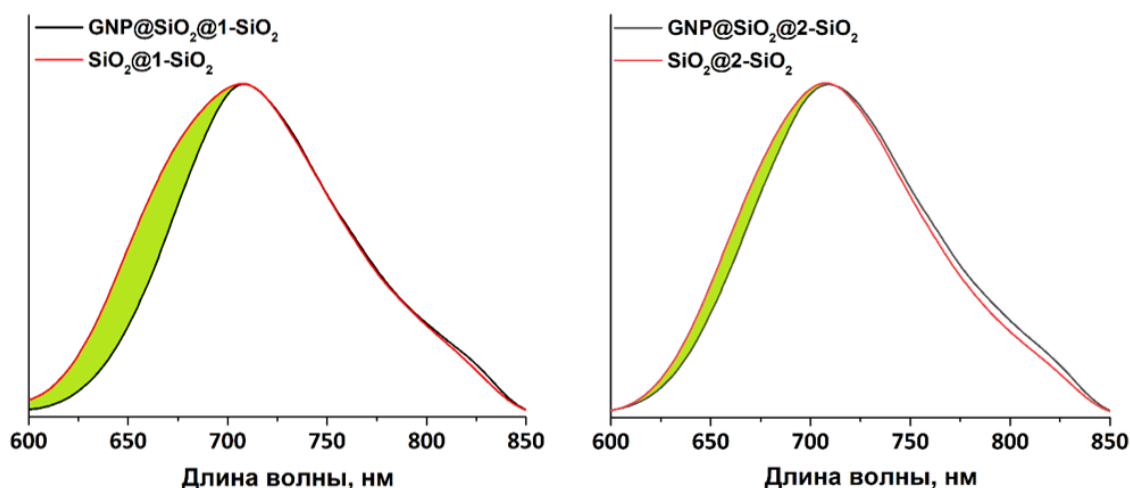


Рис. 35. Сравнение нормированных спектров эмиссии $\text{GNP@SiO}_2@n\text{-SiO}_2$ и $\text{SiO}_2@n\text{-SiO}_2$, $n = 1$ (слева) и 2 (справа)

3.1.5 Оценка эффективности генерации синглетного кислорода

Для количественной оценки фотосенсибилизационных свойств $\text{GNP@SiO}_2@n\text{-SiO}_2$ использовалась хорошо известная в литературе «ловушка» на синглетный кислород 1,5-дигидрокси-нафталин (DHN), которая способна селективно окисляться $^1\text{O}_2$ с образованием юглона (рис. П1). В качестве образца сравнения выступали частицы $\text{SiO}_2@n\text{-SiO}_2$, относительно которых рассчитывалось усиление генерации синглетного кислорода, обусловленное присутствием плазмонной НЧ. Предварительно свежеприготовленные образцы анализировали методом АЭС-ИСП, разбавляли до достижения одинаковой концентрации молибдена во всех коллоидных растворах ($120 \text{ мкг}_{\text{Mo}}/\text{мл}$) и облучали монохроматическим излучением ($\lambda = 365 \pm 5 \text{ нм}$). Через равные промежутки времени из раствора отбирали аликвоты, которые затем анализировали методом электронной спектроскопии. Эффективность генерации синглетного кислорода отслеживали по изменению интенсивности поглощения DHN на длине волны 298 нм. Зависимость интенсивности поглощения «ловушки» в присутствии $\text{GNP@SiO}_2@n\text{-SiO}_2$ и $\text{SiO}_2@n\text{-SiO}_2$ от времени облучения, а также кинетический анализ этих данных приведены на рис. П2-П3 и в табл. 1.

Наблюдаемая константа скорости конверсии DHN ($k_{\text{набл.}}$) в присутствии $\text{GNP@SiO}_2@n\text{-SiO}_2$ и $\text{SiO}_2@n\text{-SiO}_2$ при облучении светом с длиной волны 365 нм

Образец	$k_{\text{набл.}} \times 10^2, \text{ мин}^{-1}$
$\text{GNP@SiO}_2@1\text{-SiO}_2$	1,03
$\text{GNP@SiO}_2@2\text{-SiO}_2$	1,69
$\text{SiO}_2@1\text{-SiO}_2$	0,71
$\text{SiO}_2@2\text{-SiO}_2$	0,72

Согласно данным из таблицы, эффективность генерации синглетного кислорода в присутствии исследованных материалов зависит как от наличия наночастиц золота, так и от природы исходного кластерного комплекса. Так $\text{GNP@SiO}_2@2\text{-SiO}_2$ фотосенсибилизировал процесс генерации $^1\text{O}_2$ в 1,6 раз более эффективно, чем $\text{GNP@SiO}_2@1\text{-SiO}_2$. Кроме того, наблюдаемая константа скорости конверсии «ловушки» в присутствии $\text{SiO}_2@n\text{-SiO}_2$ оказалась в 1,5 при $n = 1$ и в 2,4 при $n = 2$ раза ниже, чем для соответствующих образцов $\text{GNP@SiO}_2@n\text{-SiO}_2$. Таким образом, можно заключить, что присутствие в структуре материала наночастиц золота приводит не только к металл-усиленной люминесценции, но и к металл-усиленной генерации синглетного кислорода, причем природа терминальных лигандов исходного кластерного комплекса оказывает влияние на фотосенсибилизационные свойства системы, но не на интенсивность эмиссии кластера.

3.1.6 Фототермические свойства материалов

Как было показано в главе 1.3.2, наночастицы золота, а также материалы на их основе являются одними из самых распространенных агентов для фототермической терапии раковых опухолей. Эффективность фототермической конверсии $\text{GNP@SiO}_2@n\text{-SiO}_2$ и GNP@SiO_2 оценивали с использованием фемтосекундного ультрафиолетового лазера с длиной волны 400 нм. В качестве отрицательного контроля использовали бидистиллированную воду. Как видно на графике зависимости изменения температуры коллоидного раствора от времени облучения, все образцы способны преобразовывать поглощенный свет в тепло (рис. 36). Важно отметить, что длина волны лазерного излучения не совпадает с максимумом полосы ППП наночастиц золота, однако, хорошо соответствует длине волны возбуждения комплексов **1** и **2**, таким образом, заметную разницу в скорости нагрева и максимальной температуре коллоидных растворов частиц, содержащих и не содержащих фотосенсибилизатор, можно объяснить передачей энергии между кластерным ядром и наночастицей. Действительно образец $\text{GNP@SiO}_2@1\text{-SiO}_2$, показавший

наибольшую эффективность фототермической конверсии ($\Delta T = 9,6^\circ\text{C}$), также демонстрировал большее сужение спектра люминесценции на длинах волн <700 нм (см. рис. 35).

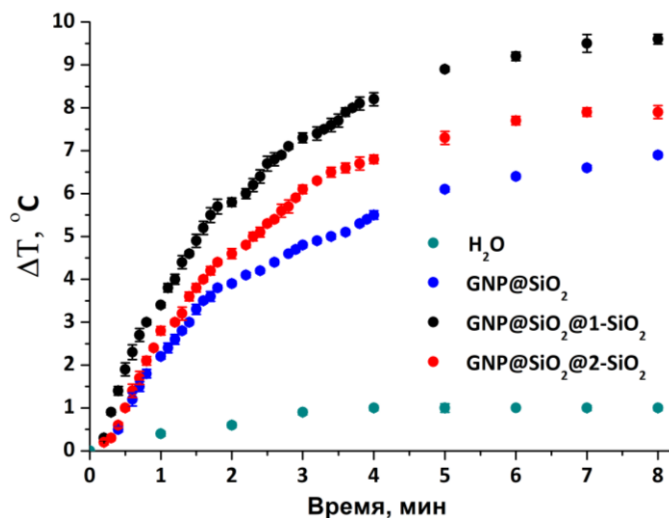


Рис. 36. Зависимость изменения температуры коллоидного раствора от времени облучения 400-нм фемтосекундным ультрафиолетовым лазером

Совсем недавно в работе [216] была впервые продемонстрирована способность кластерных комплексов молибдена поглощать свет в красном и ближнем ИК-диапазоне за счет двухфотонного поглощения. Поскольку длинноволновое ИК-излучение способно глубоко проникать в ткани и, как следствие, является более предпочтительным для биомедицинских применений, мы решили оценить фототермический эффект материалов, используя в качестве источника излучения фемтосекундный инфракрасный лазер с длиной волны 800 нм (рис. 37). Как и в предыдущем эксперименте, повышение температуры коллоидного раствора $\text{GNP@SiO}_2@1\text{-SiO}_2$ оказалось максимальным в исследованной серии образцов ($\Delta T = 8,9^\circ\text{C}$).

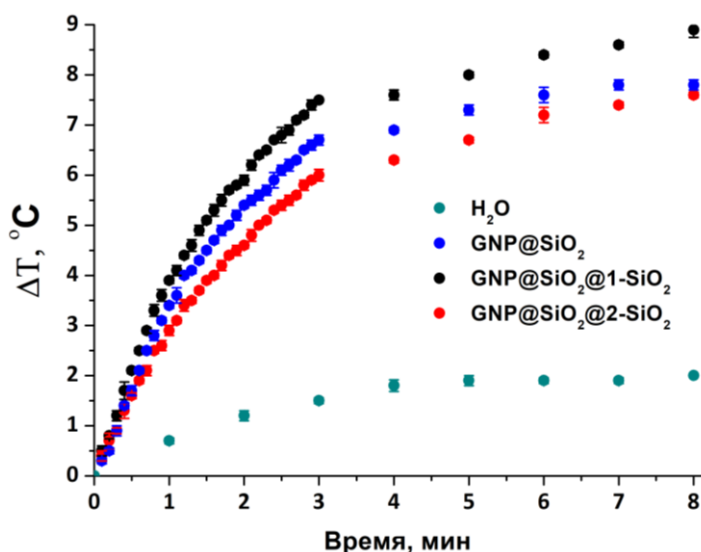


Рис. 37. Зависимость изменения температуры коллоидных растворов материалов от времени облучения 800-нм фемтосекундным инфракрасным лазером

3.2 Материалы на основе наностержней золота с различным осевым соотношением

3.2.1 Получение и характеристика материалов

Изучение материалов данного типа описано в работе [262]. В отличие от сферических наночастиц золота, которые способны поглощать свет в достаточно узком диапазоне $\sim 520\text{-}620$ нм, поглощение наностержней золота варьируется в гораздо более широком диапазоне, включающем как видимую, так и ближнюю ИК-область ($\sim 650\text{-}1100$ нм). Данная особенность представляет большой интерес, поскольку в литературе встречаются упоминания о влиянии степени перекрытия полос поглощения наночастиц и эмиссии флуорофора на люминесцентные и фотодинамические свойства материалов на их основе [267]. Однако, стоит отметить, что эта тема в литературе освещена очень незначительно, а все имеющиеся статьи посвящены только органическим флуорофорам.

Для исследования были выбраны три типа наностержней золота с $AR = 1,5, 2,5$ и $4,0$ (AR-GNRs), которые синтезировались двухстадийным зародышевым методом, описанным в работе [259]. На рис. 38 и П4 показано перекрытие нормированных полос эмиссии $\text{SiO}_2@n\text{-SiO}_2$ и полос ППП AR-GNRs. Видно, что продольная полоса ППП 1,5-GNR перекрывается с высокоэнергетической частью спектра $\text{SiO}_2@n\text{-SiO}_2$; 4,0-GNR – с низкоэнергетической, а 2,5-GNR – практически со всем спектром эмиссии.

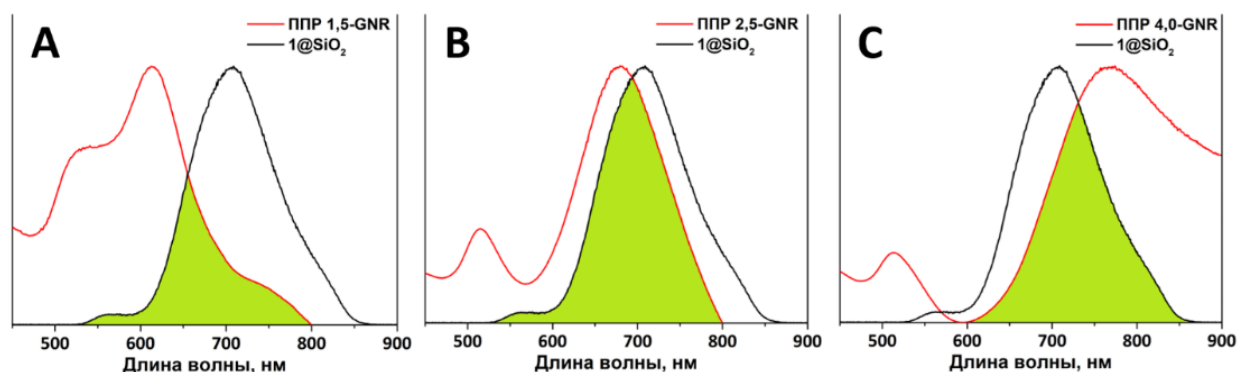


Рис. 38. Перекрытие (выделено зеленым) нормированной полосы ППП AR-GNR и полос эмиссии наночастиц SiO_2 , допированных **1**: А – $AR = 1,5$; В – $AR = 2,5$; С – $AR = 4,0$

Методика покрытия сферических наночастиц золота слоем диоксида кремния, допированного фотосенсибилизатором, была подробно описана в п. 3.1.1 и успешно использована для синтеза материалов, содержащих наностержни золота с различным AR. На рис. 39 представлен общий план эксперимента.

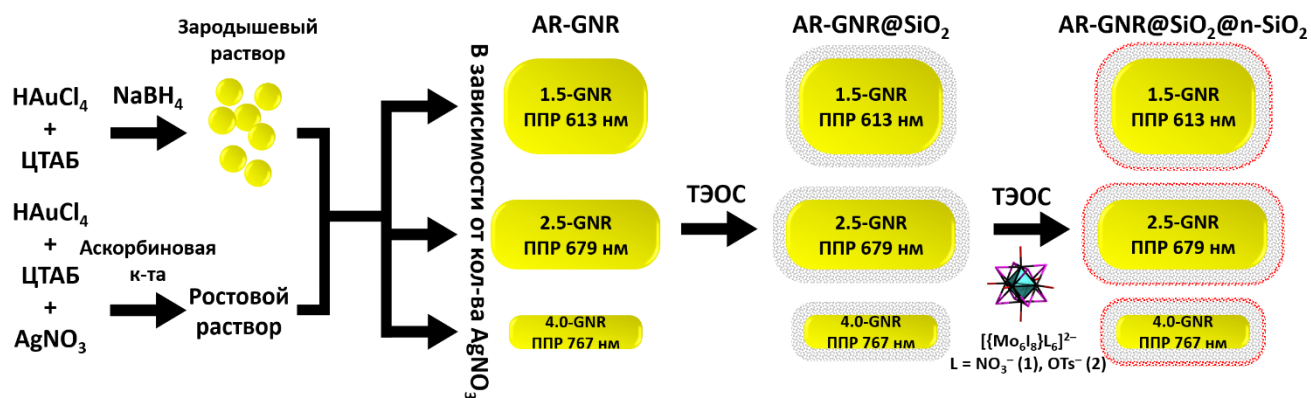


Рис. 39. Схема получения конъюгатов AR-GNR@SiO₂@n-SiO₂

3.2.2 Оптимизация толщины слоя диоксида кремния

Толщина слоя диоксида кремния, обеспечивающая максимальное усиление люминесцентных и фотодинамических свойств, определялась аналогично описанному в п. 3.1.2. Все модельные эксперименты проводились для образцов, допированных комплексом **1** (1,5 мг на 1 мг SiO₂). Варьируя количество ТЭОС в реакционной смеси, мы получили частицы с различной толщиной слоя диоксида кремния, размерные характеристики и ПЭМ-изображения которых приведены в таблице 2 и на рис. 40-42.

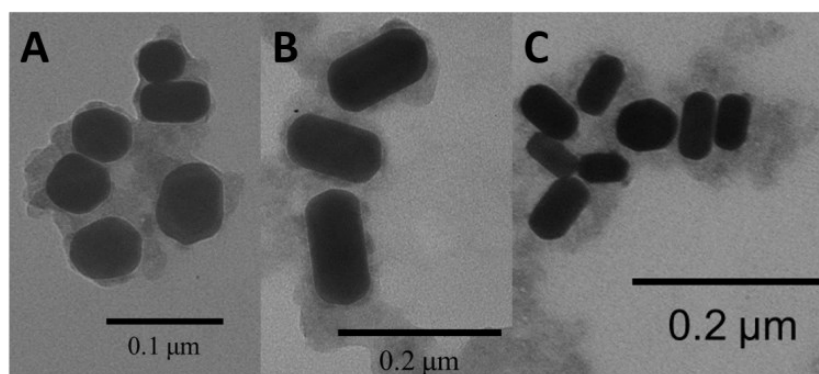


Рис. 40. ПЭМ-изображения 1,5-GNR@SiO₂@1-SiO₂ с разной толщиной слоя диоксида кремния:

А – 5 нм; В – 7 нм; С – 20 нм

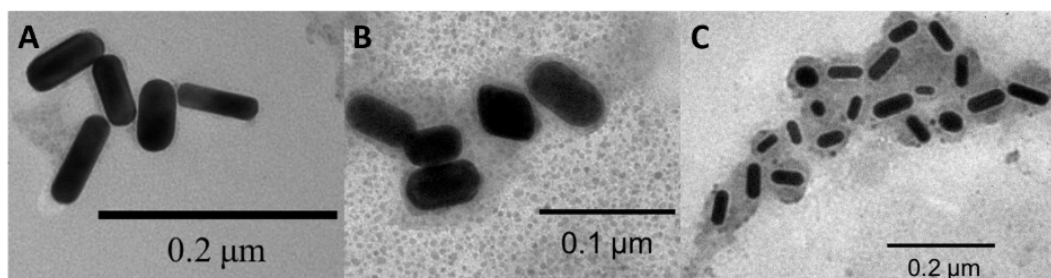


Рис. 41. ПЭМ-изображения 2,5-GNR@SiO₂@1-SiO₂ с разной толщиной слоя диоксида кремния:

А – 5 нм; В – 8 нм; С – 19 нм

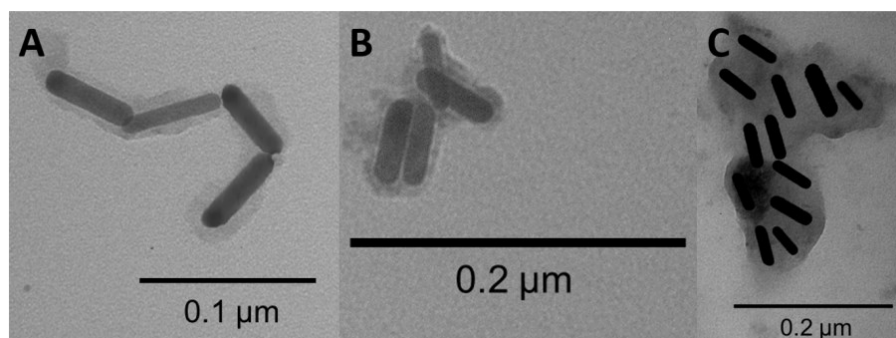


Рис. 42. ПЭМ-изображения 4,0-GNR@SiO₂@1-SiO₂ с разной толщиной слоя диоксида кремния:
А – 6 нм; В – 10 нм; С – 17 нм

Как видно из ПЭМ-изображений, ни в одном образце не было обнаружено агрегатов наностержней золота, однако, стоит отметить, что в большинстве случаев небольшие агрегаты образовывали уже покрытые слоем диоксида кремния наночастицы. Такие агрегаты описаны в литературе [243] и их образование никак не влияет на фотофизические и плазмонные свойства комбинированных материалов, поскольку сами наночастицы золота и расстояние между ними и ФС остаются неизменными. Дополнительно монодисперсность частиц подтверждалась методом динамического рассеяния света. В таблице 2 приведены гидродинамические радиусы частиц AR-GNR@SiO₂@1-SiO₂ с различной толщиной слоя диоксида кремния, а также индекс полидисперсности (**PDI** – polydispersity index), который во всех случаях не превышал 0,1.

Таблица 2

Размерные характеристики образцов AR-GNR@SiO₂@1-SiO₂, определенные с помощью ПЭМ

Образец	Длина GNR, нм	Ширина GNR, нм	AR GNR, нм	Толщина слоя SiO ₂ , нм	Гидродинамический радиус, нм	PDI
1,5-GNR	56 ± 5	37 ± 6	1,5	5 ± 1	25,8	0,05
				7 ± 1	29,6	0,05
				20 ± 4	33,5	0,04
2,5-GNR	66 ± 5	27 ± 3	2,5	5 ± 1	18,5	0,06
				8 ± 1	28,4	0,06
				19 ± 2	30,2	0,09
4,0-GNR	52 ± 3	13 ± 1	4,0	6 ± 1	34,7	0,1
				10 ± 1	35,0	0,1
				17 ± 2	22,3	0,1

Электронные спектры поглощения коллоидных растворов наночастиц в дистиллированной воде демонстрируют характерный батохромный сдвиг максимума продольной полосы ППР с увеличением толщины слоя диоксида кремния, при этом поперечная полоса ППР практически не смещается (рис. П5-П7).

Влияние расстояния между НЧ золота и молекулами ФС на люминесцентные свойства комбинированных материалов оценивали на основе интенсивности их эмиссии. Как можно видеть из рисунков П8-П10, на спектрах эмиссии всех образцов наблюдается широкая полоса, характерная для кластеров и кластер-содержащих материалов, форма и положение которой сильно зависит от AR наностержней золота в составе материала. В свою очередь, интенсивность эмиссии зависит от толщины слоя диоксида кремния между НЧ и ФС. Для образцов с толщиной оболочки 5-6 и 17-20 нм максимальная интенсивность эмиссии оказалась примерно одинакова, а для образцов с толщиной оболочки 7-10 нм наблюдалось значительное усиление люминесцентных свойств. Таким образом, во всех дальнейших экспериментах будут использоваться материалы с толщиной слоя диоксида кремния 7-10 нм, и эта цифра в названии образца будет опускаться.

3.2.3 Оптимизация содержания кластерного комплекса в материалах

Оптимальное содержание кластерного комплекса в материалах определялось аналогично описанному в п. 3.1.3. Ранее для материалов, содержащих сферические наночастицы золота, было показано, что полоса ППР сохраняется вплоть до количества добавленного кластерного комплекса равного 3 мг на 1 мг SiO₂, а при дальнейшем его увеличении образуются агрегаты частиц размером до нескольких мкм. Исходя из этих данных, мы синтезировали серию образцов AR-GNR@SiO₂@1^x-SiO₂, где x = 1,5, 2,3 и 3 мг **1** на 1 мг SiO₂.

Сравнение ЭСП материалов с различным количеством кластерного комплекса показало, что для всех образцов максимумы полос продольного и поперечного ППР практически не зависят от x (рис. П11-П13). Спектры эмиссии коллоидных растворов материалов демонстрировали общую тенденцию к увеличению интенсивности люминесценции с увеличением загрузки кластерного комплекса (рис. П14-П16). Таким образом, наилучшие люминесцентные свойства наблюдались для образцов AR-GNR@SiO₂@1³-SiO₂. В дальнейших экспериментах будут использоваться материалы с x = 3 мг **1** на 1 мг SiO₂, и эта цифра в названии образца будет опускаться.

Стоит отметить, что, как и в случае GNP@SiO₂@n-SiO₂, при замене комплекса **1** на комплекс **2** количество кластерных ядер {Mo₆I₈}⁴⁺, приходящихся на одну наночастицу золота, существенно не менялось (данные АЭС-ИСП приведены в таблице 3).

Количество кластерных ядер $\{Mo_6I_8\}^{4+}$, приходящихся на одну наночастицу золота в AR-GNR@SiO₂@n-SiO₂

Образец	$\{Mo_6I_8\}^{4+}$ на AR-GNR $\times 10^{-4}$	
	n = 1	n = 2
1,5-GNR@SiO ₂ @n-SiO ₂	39,1 ± 7,5	35,4 ± 2,8
2,5-GNR@SiO ₂ @n-SiO ₂	29,8 ± 5,3	32,7 ± 6,9
4,0-GNR@SiO ₂ @n-SiO ₂	7,4 ± 1,2	7,5 ± 1,0

3.2.4 Люминесцентные свойства материалов

Люминесцентные свойства были исследованы для серии образцов AR-GNR@SiO₂@n-SiO₂, а также для описанных ранее GNP@SiO₂@n-SiO₂ (AR = 1) и SiO₂@n-SiO₂. Сравнение профилей эмиссии GNP@SiO₂@1-SiO₂ и AR-GNR@SiO₂@1-SiO₂ с профилем эмиссии наночастиц диоксида кремния, не содержащих золотого ядра, SiO₂@1-SiO₂ представлено на рис. 43. Образцы GNP@SiO₂@1-SiO₂ и 1,5-GNR@SiO₂@1-SiO₂ демонстрируют одинаковую тенденцию к небольшому сужению спектров на длинах волн <700 нм без каких-либо изменений формы спектра. В свою очередь, профиль эмиссии образцов 2,5-GNR@SiO₂@1-SiO₂ и особенно 4,0-GNR@SiO₂@1-SiO₂ существенно отличается от профиля эмиссии SiO₂@1-SiO₂. В случае 2,5-GNR@SiO₂@1-SiO₂ наблюдается увеличение полной ширины на половине высоты на 33 нм и гипсохромный сдвиг максимума эмиссии с 709 на 690 нм. Профиль эмиссии 4,0-GNR@SiO₂@1-SiO₂ сочетает в себе уменьшение полной ширины на половине высоты на 22 нм и еще более заметный гипсохромный сдвиг максимума эмиссии с 709 на 668 нм. Аналогичные закономерности наблюдались для образцов, содержащих кластер **2** (рис. П17), что свидетельствует о незначительном влиянии внешнего лигандного окружения ФС на люминесцентные свойства комбинированных материалов. Ранее мы предположили, что сужение спектров люминесценции образцов GNP@SiO₂@n-SiO₂ в сравнении с SiO₂@n-SiO₂ связано с частичным переносом энергии с возбужденного ФС на плазмонную НЧ (см п. 3.1.4). Полученные данные подтверждают это предположение, поскольку максимумы спектров люминесценции смещаются в противоположную сторону от области перекрытия полос ППР и эмиссии материалов.

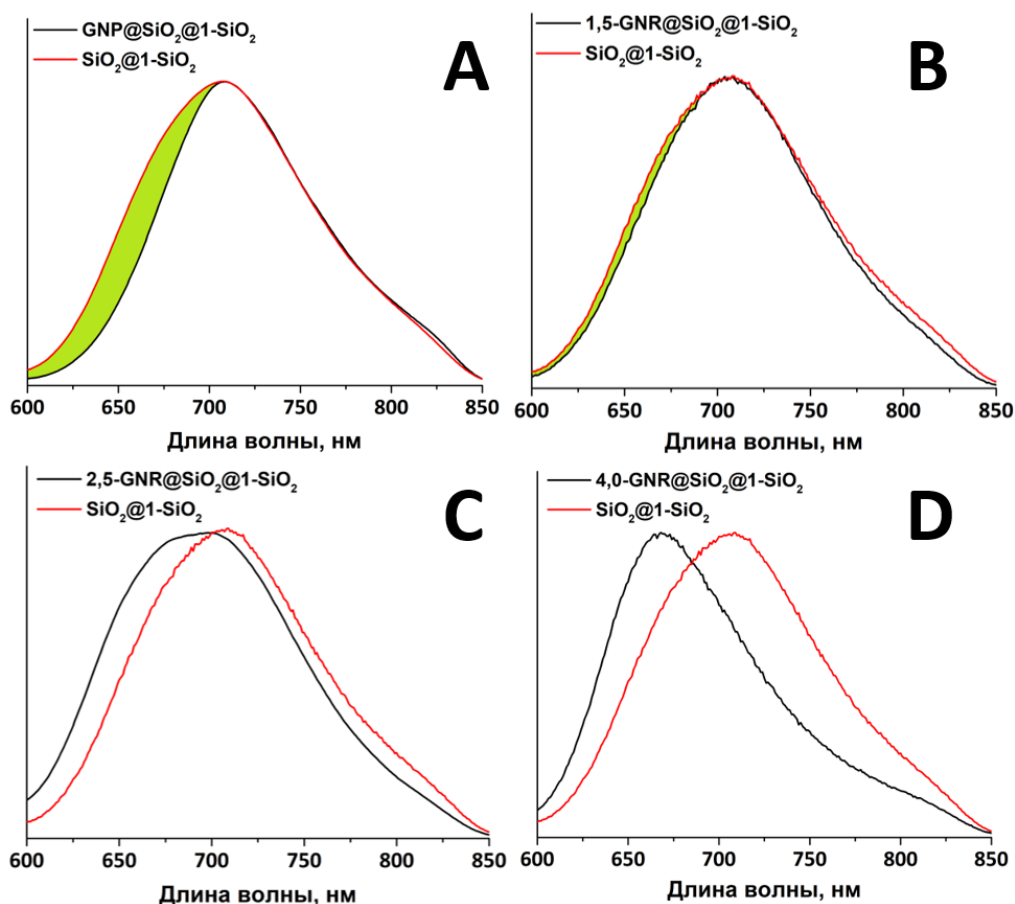


Рис. 43. Сравнение нормированных спектров эмиссии $\text{GNP}@SiO_2@1-SiO_2$ (A) и $\text{AR-GNR}@SiO_2@1-SiO_2$ с профилем эмиссии наночастиц диоксида кремния, не содержащих золотого ядра, $SiO_2@1-SiO_2$: B – AR = 1,5; C – AR = 2,5; D – AR = 4,0

Для определения фактора усиления люминесценции в присутствии плазмонных НЧ мы сравнивали абсолютные интенсивности излучения $\text{AR-GNR}@SiO_2@n-SiO_2$, $\text{GNP}@SiO_2@n-SiO_2$ и $SiO_2@n-SiO_2$. Предварительно свежеприготовленные образцы анализировали методом АЭС-ИСП и разбавляли до достижения одинаковой концентрации молибдена во всех коллоидных растворах (36 $\mu\text{g}_M/\text{мл}$). Спектры эмиссии образцов представлены на рис. 44. Поскольку максимум эмиссии материалов менялся в зависимости от типа наночастиц золота, фактор усиления люминесценции (EEF – emission enhancement factor) рассчитывался как отношение максимальной интенсивности излучения $\text{AR-GNR}@SiO_2@n-SiO_2/\text{GNP}@SiO_2@n-SiO_2$ и $SiO_2@n-SiO_2$. Согласно данным таблицы 4, с увеличением AR наночастиц золота наблюдалось увеличение EEF вплоть до 6,7 для $4,0\text{-GNR}@SiO_2@n-SiO_2$, причем EEF практически не зависел от природы терминальных лигандов исходного кластерного комплекса.

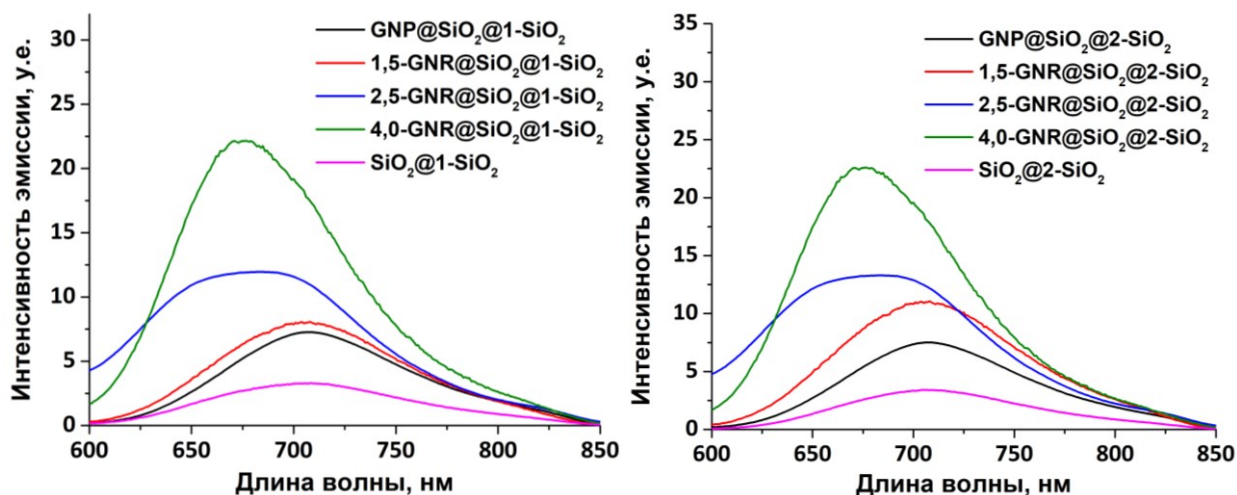


Рис. 44. Спектры люминесценции $\text{GNP@SiO}_2@n\text{-SiO}_2$, $\text{AR-GNR@SiO}_2@n\text{-SiO}_2$ и $\text{SiO}_2@n\text{-SiO}_2$, $n = 1$ (слева) и 2 (справа)

Таблица 4

Фактор усиления люминесценции $\text{GNP@SiO}_2@n\text{-SiO}_2/\text{AR-GNR@SiO}_2@n\text{-SiO}_2$ относительно $\text{SiO}_2@n\text{-SiO}_2$

Образец	Фактор усиления люминесценции	
	$n = 1$	$n = 2$
$\text{SiO}_2@n\text{-SiO}_2$	–	–
$\text{GNP@SiO}_2@n\text{-SiO}_2$	2,2	2,2
$1,5\text{-GNR@SiO}_2@n\text{-SiO}_2$	2,5	3,2
$2,5\text{-GNR@SiO}_2@n\text{-SiO}_2$	3,6	3,8
$4,0\text{-GNR@SiO}_2@n\text{-SiO}_2$	6,7	6,7

3.2.5 Оценка эффективности генерации синглетного кислорода

Для количественного определения синглетного кислорода использовалась методика, описанная в п. 3.1.5. Предварительно свежеприготовленные образцы анализировали методом АЭС-ИСП, разбавляли до достижения одинаковой концентрации молибдена во всех коллоидных растворах ($36 \text{ мкг}_{\text{Mo}}/\text{мл}$) и облучали монохроматическим излучением ($\lambda = 365 \pm 5 \text{ нм}$) в присутствии DHN. Стоит отметить, что ранее для оценки эффективности генерации синглетного кислорода использовалась более высокая концентрация частиц ($120 \text{ мкг}_{\text{Mo}}/\text{мл}$), однако, поскольку материалы на основе наностержней золота обладают более ярко выраженными фотодинамическими свойствами, чем материалы на основе наносфер золота, полная конверсия «ловушки» при такой концентрации частиц наступала в первые пять минут облучения. Для получения данных о

кинетике реакции этого времени оказалось недостаточно, поэтому было принято решение снизить концентрацию до 36 мкг_{Mo}/мл.

Зависимость интенсивности поглощения «ловушки» в присутствии AR-GNR@SiO₂@n-SiO₂, GNP@SiO₂@n-SiO₂ и SiO₂@n-SiO₂ от времени облучения, а также кинетический анализ этих данных приведены на рис. П18-П22 и в табл. 5. Фактор усиления генерации синглетного кислорода (EF – enhancement factor) рассчитывался как отношение наблюдаемой константы скорости конверсии «ловушки» в присутствии AR-GNR@SiO₂@n-SiO₂/GNP@SiO₂@n-SiO₂ и SiO₂@n-SiO₂. Полученные значения также суммированы в таблице 5. Способность материалов фотосенсибилизировать процесс генерации синглетного кислорода возрастала с увеличением AR наночастиц золота (аналогичная закономерность наблюдалась и для люминесцентных свойств материалов). Хотя $k_{\text{набл}}$ для материалов, допированных комплексом **2**, оказалась несколько выше, чем для материалов, допированных комплексом **1**, EF для образцов с одинаковыми наночастицами золота практически не отличались, причем максимальный EF = 13 наблюдался для 4,0-GNR@SiO₂@1-SiO₂.

Таблица 5

Наблюдаемая константа скорости конверсии DHN ($k_{\text{набл.}}$) и фактор усиления генерации синглетного кислорода в присутствии GNP@SiO₂@n-SiO₂/AR-GNR@SiO₂@n-SiO₂ относительно SiO₂@n-SiO₂

Образец	$k_{\text{набл.}} \times 10^2, \text{ мин}^{-1}$		Фактор усиления генерации синглетного кислорода	
	n = 1	n = 2	n = 1	n = 2
SiO ₂ @n-SiO ₂	0,30	0,37	–	–
GNP@SiO ₂ @n-SiO ₂	0,43	0,83	1,5	2,2
1,5-GNR@SiO ₂ @n-SiO ₂	1,21	1,52	4,0	4,1
2,5-GNR@SiO ₂ @n-SiO ₂	2,24	2,48	7,5	6,7
4,0-GNR@SiO ₂ @n-SiO ₂	3,89	4,47	13,0	12,0

В заключение стоит отметить, что в сравнении с аналогичными системами (сферическими или стержнеобразными наночастицами золота, покрытыми слоем диоксидом кремния с люминофором) кластер-содержащие материалы показали сопоставимые или превышающие факторы усиления оптических свойств. Факторы усиления люминесценции/генерации синглетного кислорода для описанных в литературе систем вида GNP/GNR@SiO₂@ФС представлены в таблице 6.

Факторы усиления люминесценции/генерации синглетного кислорода для описанных в литературе систем вида GNP/GNR@SiO₂@ФС

Описание комбинированной системы	Фактор усиления люминесценции	Фактор усиления генерации синглетного кислорода	Ссылка на статью
GNP@SiO ₂ @FITC d (GNP) = 70 нм; Толщина слоя SiO ₂ = 12 нм	2,03	–	[268]
GNR@mSiO ₂ @DOX/HP/R6G Длина GNR = 54,0 ± 5,0 нм Ширина GNR = 13,0 ± 1,5 нм AR = 4,2 ± 0,5 Толщина слоя mSiO ₂ = 20,2 ± 2,5 нм	1,2 – R6G 2,9 – DOX 3,8 – HP	–	[269]
GNP@SiO ₂ @RB d (GNP) = 100 ± 7 нм Толщина слоя SiO ₂ = 10 нм	5,5	–	[270]
GNP@SiO ₂ @RB d (GNP) = 121,3 ± 3,8 нм Толщина слоя SiO ₂ = 9,9 ± 0,6 нм	–	6,1	[231]
GNR@mSiO ₂ @HP Длина GNR = 44 ± 8 нм Ширина GNR = 11 ± 2 нм AR = 4 Толщина слоя mSiO ₂ = 30 ± 7 нм	–	1,2	[271]
GNR@SiO ₂ @ZnPc Длина GNR = 51 ± 2 нм Ширина GNR = 15 ± 3 нм AR = 3,4 Толщина слоя SiO ₂ = 15 ± 2 нм	–	1,3	[272]
GNR@SiO ₂ @AlC ₄ Pc Длина GNR = 46,8 ± 3,2 нм Ширина GNR = 19,4 ± 1,1 нм AR = 2,4 Толщина слоя SiO ₂ = 10,6 нм	7	2,1	[242]

3.2.6 Предположительный механизм металл-усиленной люминесценции/генерации синглетного кислорода

В главе 1.3.1 были суммированы наиболее важные исследования, касающиеся механизма металл-усиленной люминесценции/генерации синглетного кислорода, однако, стоит отметить два момента, отличающих нашу систему от ранее описанных в литературе. Во-первых, кластерные комплексы молибдена обладают как высокой интенсивностью люминесценции, так и способностью в значительной степени фотосенсибилизировать процесс генерации синглетного кислорода, что позволяет сравнивать факторы усиления обоих процессов и рассматривать, как влияет присутствие наночастицы золота на каждый из них. Изучив имеющуюся литературу, нам удалось обнаружить только одну работу, помимо выполненных в соавторстве с диссертантом, где бы анализировались оба процесса в одной системе [242]. Во-вторых, в отличие от органических ФС, кластерные комплексы поглощают излучение в диапазоне, который не перекрывается или очень слабо перекрывается с диапазоном поглощения НЧ золота. Следовательно, механизм металл-усиленной люминесценции/генерации синглетного кислорода в данном случае может несколько отличаться от общепринятого. Исходя из имеющихся экспериментальных и литературных данных, мы предложили механизм усиления люминесценции/генерации синглетного кислорода кластерными комплексами молибдена в присутствии плазмонных НЧ золота с различными AR.

Процесс люминесценции ФС в отсутствие НЧ золота описывается хорошо известной в литературе диаграммой Яблонского (рис. 45). Важно отметить, что для октаэдрических кластерных комплексов преобладающим механизмом диссипации энергии является фосфоресценция.

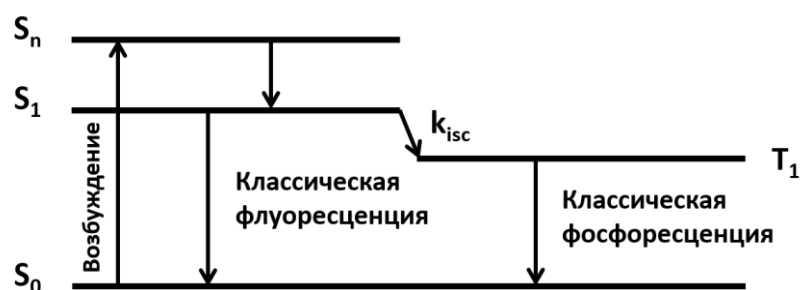


Рис. 45. Диаграмма Яблонского, иллюстрирующая процессы флуоресценции и фосфоресценции

Интенсивность эмиссии определяется эффективностью возбуждения люминофора и его квантовым выходом. На эффективность возбуждения оказывает влияние природа люминофора, а именно – его оптическая плотность. Квантовый выход (Φ_0) определяется скоростями излучательного (Γ) и безызлучательного (k_{nr}) распадов. В случае фотосенсибилизаторов, таких как кластерные комплексы молибдена, на квантовый выход также влияет скорость образования синглетного кислорода $k_q[{}^3O_2]$, где k_q – скорость тушения возбужденного состояния молекулярным

кислородом, а $[^3O_2]$ – концентрация триплетного кислорода. Таким образом, квантовый выход фосфоресценции октаэдрического кластерного комплекса можно выразить следующим уравнением:

$$\Phi_0 = \frac{\Gamma}{\Gamma + k_{nr} + k_q[^3O_2]}$$

Из-за перекрытия полос поглощения НЧ золота и эмиссии кластерных комплексов, фотоны, испускаемые возбужденными молекулами кластера, частично поглощаются наночастицами, вызывая появление ППР, что приводит к локальному усилению электрического поля вблизи поверхности металла. Согласно литературным данным, люминесценцию кластера в присутствии плазмонной НЧ можно описать следующим уравнением:

$$\frac{\gamma_{em}}{\gamma_{em}^0} = \frac{\gamma_{exc}}{\gamma_{exc}^0} \times \frac{\Phi}{\Phi_0},$$

где γ_{em} и γ_{em}^0 – скорости люминесценции в присутствии и отсутствии металлической НЧ соответственно; γ_{exc} и γ_{exc}^0 – скорости возбуждения в присутствии и отсутствии металлической НЧ соответственно; Φ и Φ_0 – квантовые выходы фосфоресценции в присутствии и отсутствии металлической НЧ соответственно. γ_{exc} пропорциональна $|E \times p|$, где E – напряженность локального электрического поля, а p – дипольный момент перехода. Φ можно дополнительно выразить как

$$\Phi = \frac{\Gamma + \Gamma_m}{\Gamma + \Gamma_m + k_m + k_{nr} + k_q[^3O_2]}$$

где Γ_m и k_m – добавочные скорости излучательного и безызлучательного распада возбужденного состояния в присутствии металлической НЧ.

Таким образом, плазмонные НЧ могут влиять на люминесценцию октаэдрических кластеров тремя различными способами (рис. 46).

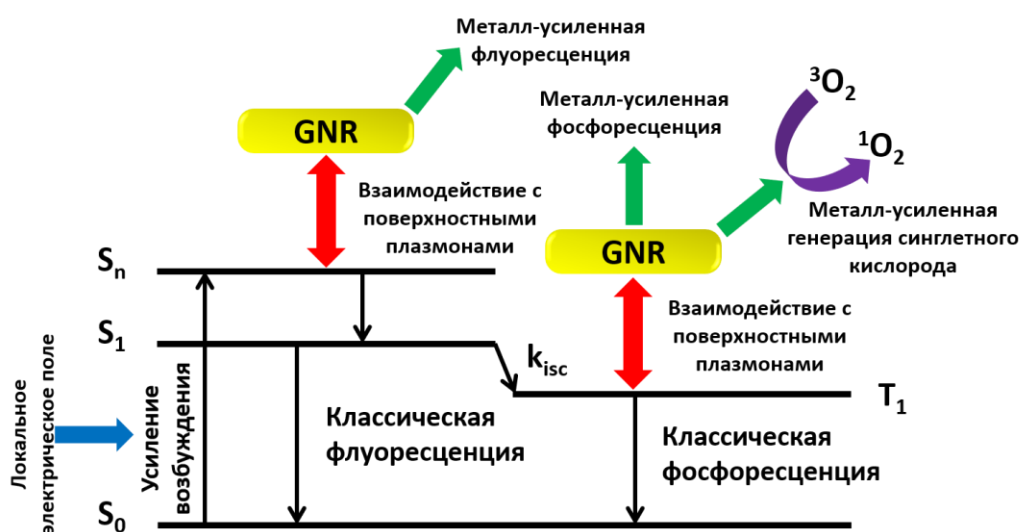


Рис. 46. Модифицированная диаграмма Яблонского, иллюстрирующая процессы фосфоресценции и генерации синглетного кислорода в присутствии плазмонных НЧ

Во-первых, локальное электрическое поле вблизи поверхности металла увеличивает скорость возбуждения (γ_{exc}) и приводит к повышению его эффективности [273]. Во-вторых, взаимодействие испускаемых квантов света с поверхностными плазмонами вызывает увеличение скорости излучательного распада (Γ_m), что приводит к увеличению квантового выхода флуоресценции. В-третьих, безызлучательный перенос энергии от люминофора к металлической наноструктуре приводит к возрастанию скорости безызлучательного распада (k_m) и, соответственно, тушению люминесценции. Все три эффекта уменьшаются с увеличением расстояния между НЧ и молекулами ФС [274, 275]. Согласно ранее проведенным исследованиям, безызлучательный перенос энергии преобладает вблизи поверхности металла и уменьшается пропорционально d^{-3} , где d – расстояние НЧ-ФС, в то время как напряженность локального электрического поля спадает по экспоненте. Таким образом, интенсивность эмиссии пропорциональна $\frac{\exp(-d)}{d^{-3}}$. Следовательно, существует оптимальное расстояние между кластерными ядрами и НЧ золота, на котором интенсивность эмиссии максимальна. Экспериментальное определение этого расстояния описано в п. 3.1.2 и 3.2.2.

В свою очередь, согласно литературным данным, металл-усиленная генерация синглетного кислорода обусловлена повышением выхода триплетного состояния ФС [229, 276]. Принимая во внимание вышеописанные факторы, можно предположить, что локальное электрическое поле, увеличивая эффективность возбуждения, приводит к появлению большего количества возбужденных триплетных состояний за единицу времени. Взаимодействие с поверхностными плазмонами должно приводить к усилению эмиссии в отсутствие молекулярного кислорода, но поскольку наряду с флуоресценцией кластеры обладают фотосенсибилизирующими свойствами, их эмиссия эффективно тушится кислородом, продуцируя большее количество АФК. Неравнозначность факторов усиления люминесценции и генерации синглетного кислорода в нашей системе может свидетельствовать о предпочтительном тушении люминесценции молекулярным кислородом в сравнении с испусканием фотона. Для кластерных комплексов это подтверждается высокими квантовыми выходами синглетного кислорода и практически полным отсутствием флуоресценции в насыщенной кислородом атмосфере. Согласно литературным данным, усиление электрического поля вблизи поверхности наностержней золота прямо пропорционально их AR [277] – как следствие, наностержни золота с AR = 4,0 способствуют наибольшему усилению эффективности возбуждения кластерных комплексов, чем и объясняются высокие факторы усиления люминесценции/генерации синглетного кислорода.

3.2.7 Фототермические свойства материалов

Для оценки эффективности фототермической конверсии были выбраны материалы, показавшие наилучшие люминесцентные и фотодинамические свойства, а именно 4,0-GNR@SiO₂@n-

SiO₂. В качестве источника облучения использовался фемтосекундный ИК-лазер ($\lambda = 800$ нм, 600 мВт). Образец, не содержащий ФС – 4,0-GNR@SiO₂ и бидистиллированная вода выступали в качестве положительного и отрицательного контроля соответственно. Важно отметить, что длина волны лазера идеально соответствует максимуму полосы ППП 4,0-GNR.

На рис. 47 приведен график зависимости изменения температуры коллоидных растворов от времени облучения. Очевидно, что все образцы способны эффективно преобразовывать свет в тепло, причем максимальное повышение температуры составило 17,5°C. Как и ожидалось, материалы на основе наностержней золота с AR = 4,0 показали большую эффективность в процессах фототермической конверсии, чем материалы на основе наносфер золота, для которых максимальное повышение температуры раствора составило 8,9°C. Данный результат обусловлен тем, что, в отличие от наносфер золота, наностержни с AR = 4,0 способны поглощать 800-нм излучение. Как видно из полученных данных, ни присутствие в системе кластерного комплекса, ни его исходный состав не оказывают значительного влияния на фототермические свойства материалов, однако, повышения температуры вполне достаточно, чтобы использовать их в качестве агентов для фототермической терапии.

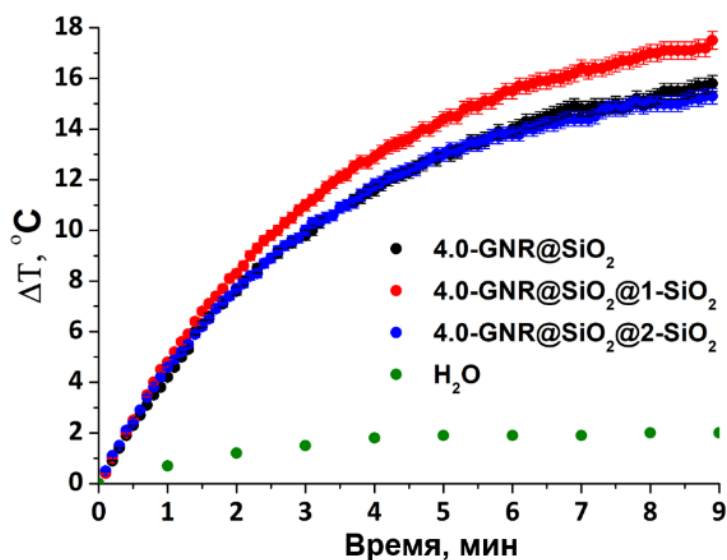


Рис. 47. Зависимость изменения температуры коллоидных растворов материалов от времени облучения 800-нм фемтосекундным инфракрасным лазером

3.3 Материалы на основе SiO₂ и нанопartikel C7b

3.3.1 Получение и характеристика материалов

Адресная доставка лекарственных препаратов в злокачественные клетки является одной из важнейших составляющих успешной противораковой терапии. Она позволяет снизить дозу препарата, необходимую для лечения, и, как следствие, минимизировать количество побочных реакций. Одним из способов обеспечения адресной доставки является конъюгация наночастиц

с антителами к специфическим онкомаркерам, например, к рецептору эпидермального фактора роста человека (рецептору HER2/neu), который гиперэкспрессируют некоторые виды опухолевых клеток: SKBR-3 и BT-474 (клетки рака молочной железы), HepG2 (клетки рака печени) и т.д.

Прежде, чем проводить модификацию золотосодержащих материалов антителами к HER2/neu, мы решили отработать методику конъюгации на модельной системе – наночастицах диоксида кремния, допированных кластерными ядрами $\{Mo_6I_8\}^{4+}$. Изучение материалов данного типа описано в работе [263]. Наночастицы $\{Mo_6I_8\}@SiO_2$ были синтезированы по известной методике [212] посредством щелочного гидролиза тетраэтилортосиликата с добавлением в реакционную смесь $(Bu_4N)_2[\{Mo_6I_8\}(NO_3)_6]$ как источника кластера Mo_6 . ПЭМ-изображения наночастиц диаметром 50 нм представлены на рис. 48. По данным АЭС-ИСП, количество кластерных ядер $\{Mo_6I_8\}^{4+}$ составило $3,0 \pm 0,3$ мг на 1 г SiO_2 , однако, несмотря на низкое содержание кластерного комплекса, наночастицы проявляли заметную кластер-центрированную фосфоресценцию.

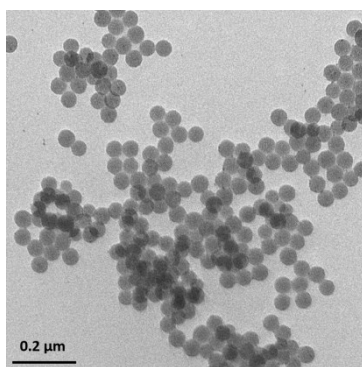


Рис. 48. ПЭМ-изображение $\{Mo_6I_8\}@SiO_2$

Для конъюгации наночастиц с антителами была проведена двухстадийная модификация, схема которой представлена на рис. 49. На первом этапе поверхность наночастиц функционализировали эпоксидными группами посредством гидролиза (3-глицидилоксипропил)триметоксисилана (GPTMS). Затем по известным биологическим протоколам эпокси- $\{Mo_6I_8\}@SiO_2$ конъюгировали с наноантителами C7b, способными к специфическому взаимодействию с белком HER2/neu. В сравнении с обычными двуцепочечными антителами, наноантитела обладают несколькими преимуществами. Во-первых, они имеют более высокое сродство к антигену, значительно повышая эффективность доставки, во-вторых, для наноантител характерна более высокая стабильность при различных pH, что имеет решающее значение для их эффективной работы при низком pH опухолевой ткани. Кроме того, этот тип антител обладает огромной термостабильностью: они сохраняют до 80% удельной активности после одной недели при 37°C.

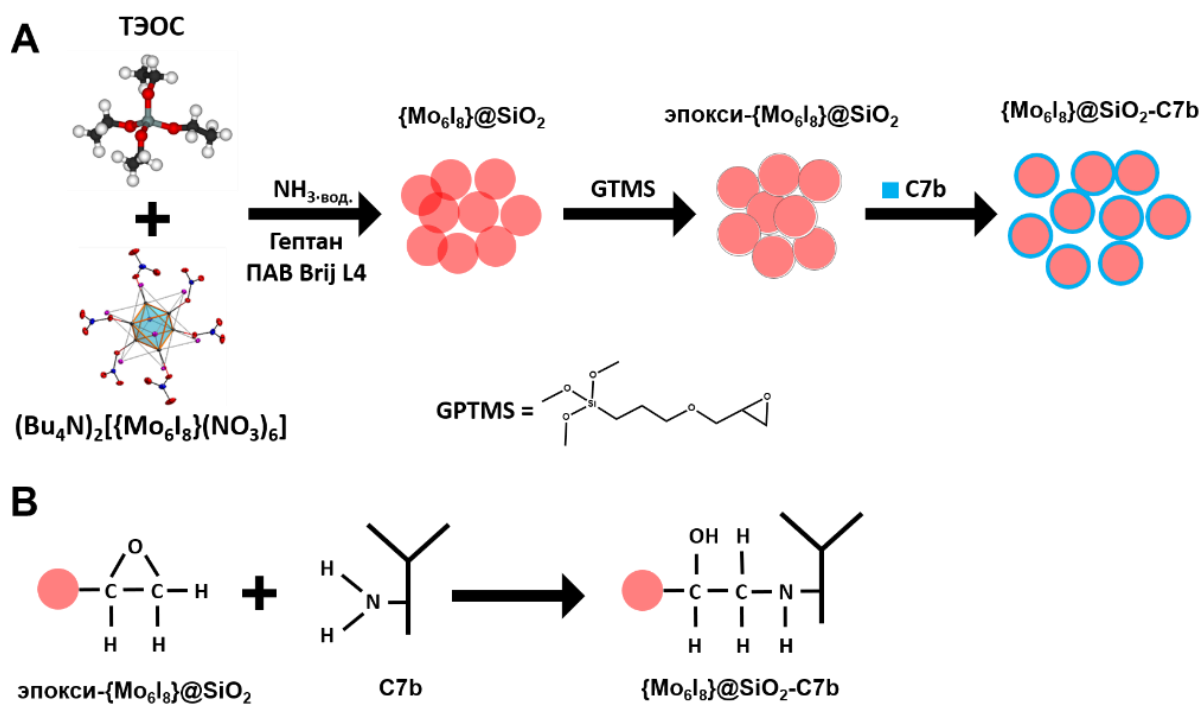


Рис. 49. А – схема получения конъюгата $\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}@SiO_2\text{-C7b}$; В – схема взаимодействия эпокси- $\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}@SiO_2$ со свободной аминогруппой C7b

Для обеспечения нужной пространственной ориентации нанокристаллов относительно поверхности наносфер диоксида кремния, необходимо, чтобы в процессе конъюгации они образовывали монослой. Количество антител, обеспечивающее монослойное насыщение поверхности носителя, вычислялось по формуле:

$$S = \frac{6C}{\rho D},$$

где S – количество белка (мг) на 1 г частиц, C – «емкость» поверхности частиц для данного типа белка ($\text{мг}/\text{м}^2$), ρ – плотность вещества, к которому осуществлялась конъюгация ($\text{г}/\text{см}^3$), D – диаметр частицы (мкм). Для эпокси- $\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}@SiO_2$ плотность составляет $\sim 2,3 \text{ г}/\text{см}^3$ (согласно литературным данным), а диаметр – $0,05 \text{ мкм}$ (согласно ПЭМ-изображениям наночастиц). Параметр C зависит от размера и молекулярной массы белка и может быть оценен, исходя из известных значений «емкости» поверхности для бычьего сывороточного альбумина ($\text{MW} = 65 \text{ кДа}$, $C \sim 3 \text{ мг}/\text{м}^2$) и бычьего IgG ($\text{MW} = 150 \text{ кДа}$, $C \sim 2,5 \text{ мг}/\text{м}^2$). Для нанокристаллов C7b, масса которых равна 17 кДа , параметр C можно принять равным $3,3 \text{ мг}/\text{м}^2$. Тогда количество нанокристаллов C7b, необходимых для монослойного насыщения поверхности эпокси- $\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}@SiO_2$, составляет 170 мг на 1 г частиц. Однако, поскольку часть антител в процессе конъюгации теряет свою активность, было решено использовать двукратный избыток C7b равный 350 мг на 1 г частиц.

По данным спектров люминесценции водных дисперсий исходных наночастиц $\{Mo_6I_8\}@SiO_2$, эпокси- $\{Mo_6I_8\}@SiO_2$ и конъюгатов $\{Mo_6I_8\}@SiO_2-C7b$, можно заключить, что модификация поверхности не оказывает существенного влияния на профиль эмиссии кластерного комплекса (рис. 50), однако, приводит к более, чем трехкратному снижению интенсивности – вероятно, за счет возникновения новых путей безызлучательного распада возбужденного состояния. Важно обратить внимание, что модификация эпоксидными группами и конъюгация с наноантителами влияет на фотофизические характеристики только поверхностных кластерных ядер, а не тех, что находятся в объеме наночастицы.

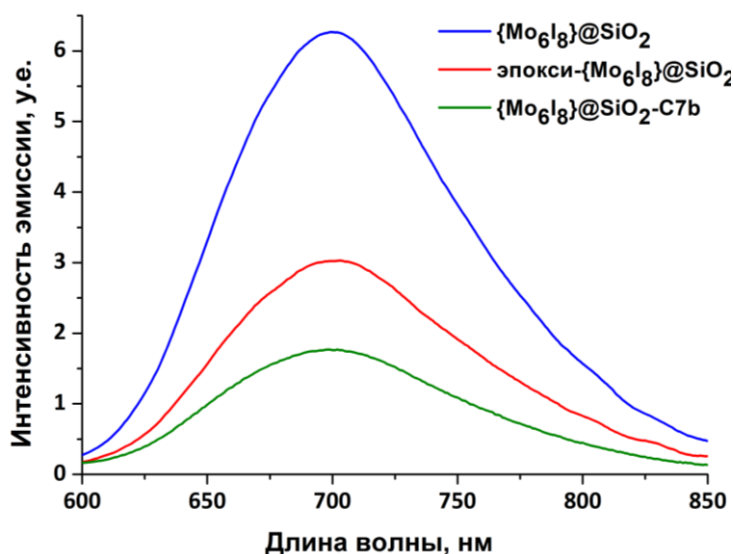


Рис. 50. Спектры люминесценции $\{Mo_6I_8\}@SiO_2$, эпокси- $\{Mo_6I_8\}@SiO_2$ и $\{Mo_6I_8\}@SiO_2-C7b$

3.3.2. Оценка селективности конъюгатов $\{Mo_6I_8\}@SiO_2-C7b$

Селективность конъюгатов $\{Mo_6I_8\}@SiO_2-C7b$ оценивалась по отношению к двум клеточным линиям: SKBR3 – клетки рака молочной железы, характеризующиеся повышенной экспрессией рецептора HER2/neu, и Her-2 – клетки рака гортани с низкой экспрессией рецептора HER2/neu. Оценка проникновения и внутриклеточного распределения конъюгатов осуществлялась методом конфокальной лазерной сканирующей микроскопии (КЛСМ) (рис. 51). На полученных изображениях видно, что после 5 минут инкубации в клетках линии SKBR3 наблюдается яркая красная люминесценция в околядерном пространстве, в то время как в клетках линии Her-2 такой люминесценции обнаружено не было, что говорит о различных скоростях проникновения наночастиц в клетки. Таким образом, *in vitro* эксперименты подтверждают специфическое сродство $\{Mo_6I_8\}@SiO_2-C7b$ к рецептору HER2/neu.

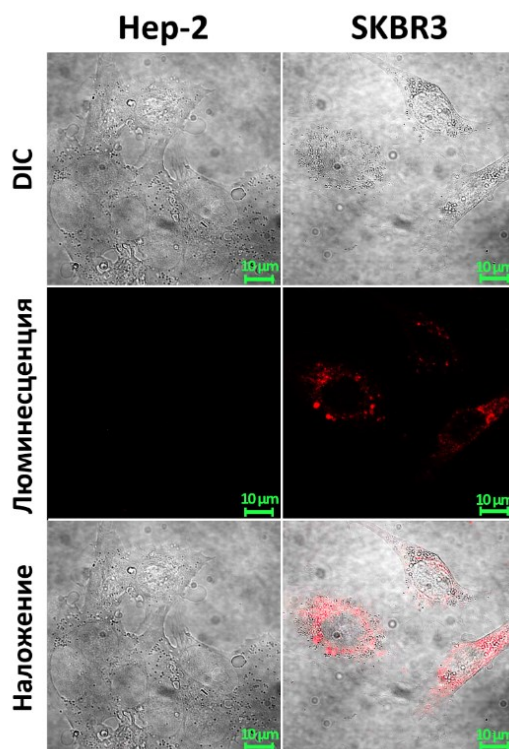


Рис. 51. Изображения клеток линии Hep-2 и SKBR3 после инкубации с $\{Mo_6I_8\}@SiO_2-C7b$, полученные с помощью метода КЛСМ (DIC – Differential interference contrast)

3.4 Мезопористые материалы на основе наностержней золота с $AR = 4,0$

3.4.1 Получение и характеристика материалов

В предыдущих главах были подробно изучены материалы на основе сферических и стержнеобразных наночастиц золота и показано, что с увеличением AR плазмонных наночастиц наблюдается усиление люминесцентных и фотодинамических свойств комбинированных материалов. Мы использовали наиболее хорошо показавшую себя систему $4,0-GNR@SiO_2@m-SiO_2$ как основу для получения мезопористых материалов. Интерес к таким материалам обусловлен, прежде всего, тем, что в их поры можно включать различные цитостатические препараты, тем самым придавая им дополнительные химиотерапевтические свойства. Таким образом, становится возможным достигнуть синергетического эффекта не от двух, а от трех видов противораковой терапии: ФДТ, ФТТ и химиотерапии.

Наночастицы золота, покрытые слоем мезопористого диоксида кремния ($4,0-GNR@mSiO_2$), были синтезированы методом травления с предварительной защитой поверхности, описанным в работе [260]. Этот метод заключается в получении наностержней золота, покрытых слоем непористого диоксида кремния, и защиты их поверхности поливинилпирролидоном (ПВП) с последующим травлением гидроксидом натрия в течение 30 минут. Далее полученные частицы

покрывались тонким слоем диоксида кремния, допированного комплексом **1** или **2**. Схема получения мезопористых материалов представлена на рис. 52.

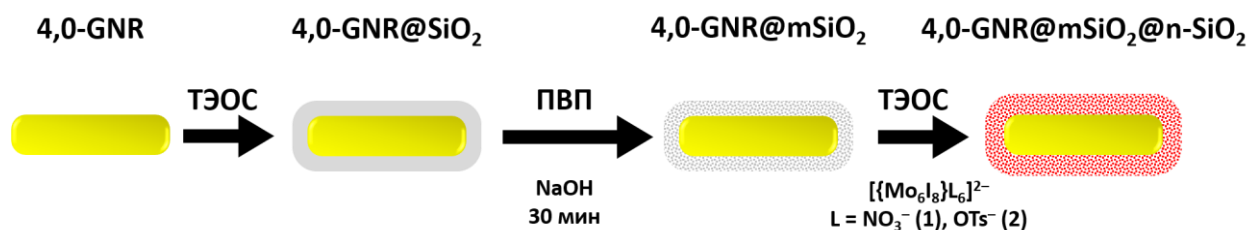


Рис. 52. Схема получения материалов 4,0-GNR@mSiO₂@n-SiO₂

ПЭМ-изображения наночастиц 4,0-GNR@mSiO₂@n-SiO₂ представлены на рис. 53. Видно, что после травления слой диоксида кремния утрачивает свою однородность, в нем появляются более светлые и более темные участки. Для материалов, полученных путем травления, образование регулярных пор представляется крайне маловероятным, что и подтверждается данными эксперимента. Толщина слоя диоксида кремния для мезопористых материалов оказалась несколько ниже, чем для непористых (10 ± 1 и 8 ± 1 нм соответственно). Это незначительное отклонение может быть связано как с погрешностью измерения, так и с уменьшением толщины оболочки вследствие травления.

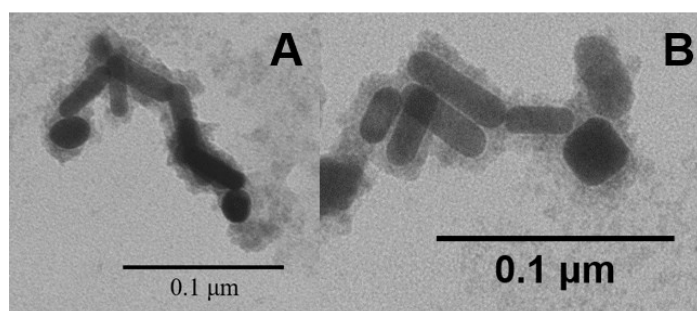


Рис. 53. ПЭМ-изображения 4,0-GNR@mSiO₂@n-SiO₂: А – n = 1; В – n = 2

На ЭСП частиц, записанных до и после травления, видно, что продольная полоса ППР смещается на 4 нм в коротковолновую область из-за увеличения диэлектрической проницаемости среды (для непористого SiO₂ она составляет $\sim 3,6$, а для мезопористого – на 20-50 % меньше), что является еще одним косвенным подтверждением образования пор (рис. 54).

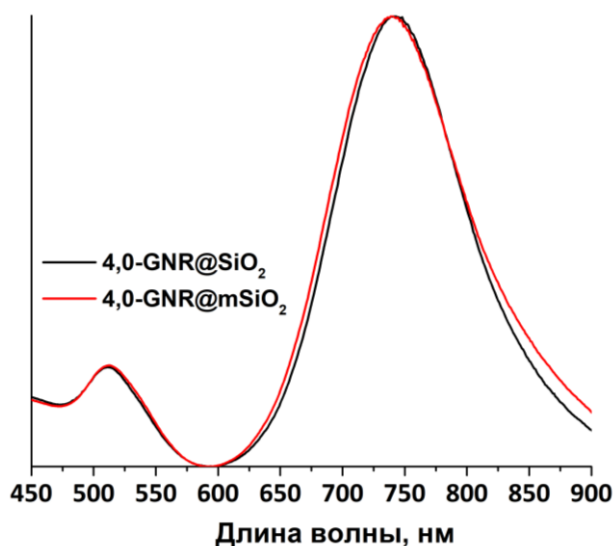


Рис. 54. Нормированные ЭСП 4,0-GNR@SiO₂ и 4,0-GNR@mSiO₂

Для сравнения интенсивности эмиссии коллоидных растворов 4,0-GNR@mSiO₂@n-SiO₂ и 4,0-GNR@SiO₂@n-SiO₂ свежеприготовленные образцы предварительно анализировали методом АЭС-ИСП и разбавляли до достижения одинаковой концентрации золота (340 мкг_{Au}/мл). Таким образом, во всех образцах содержалось одинаковое количество наночастиц золота. Интенсивность люминесценции 4,0-GNR@mSiO₂@n-SiO₂ оказалась в 3 раза выше, чем для их непористых аналогов, при этом форма спектров практически не отличалась (рис. 55).

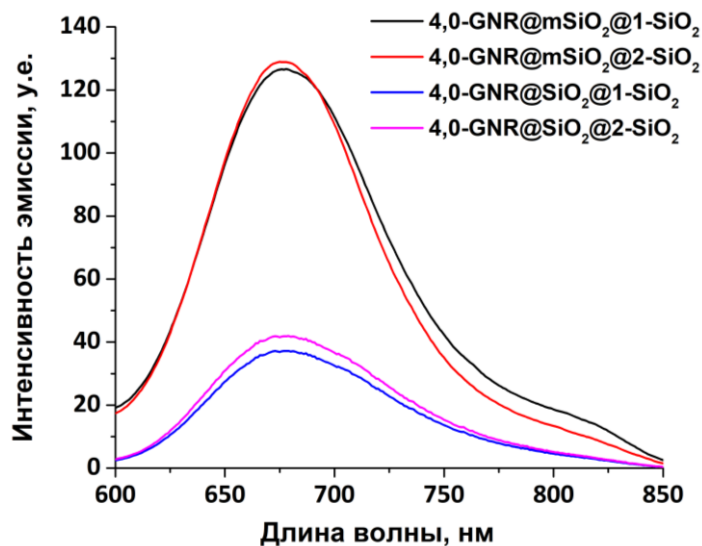


Рис. 55. Спектры люминесценции 4,0-GNR@mSiO₂@n-SiO₂ и 4,0-GNR@SiO₂@n-SiO₂

Для объяснения разницы в люминесцентных свойствах непористых и мезопористых материалов мы определили количество кластерных ядер $\{Mo_6I_8\}^{4+}$, приходящихся на одну наночастицу золота, методом АЭС-ИСП (данные представлены в таблице 7). Оказалось, что в мезопористые материалы включается примерно в 3 раза больше кластерного комплекса, чем в непористые, что является еще одним доказательством успешного травления оболочки из диоксида кремния. Как

и в случае непористых материалов, количество кластерных ядер $\{Mo_6I_8\}^{4+}$, приходящихся на одну наночастицу золота, не зависело от природы терминальных лигандов кластера **n**. Таким образом, повышение интенсивности эмиссии образцов 4,0-GNR@mSiO₂@n-SiO₂ в сравнении с 4,0-GNR@SiO₂@n-SiO₂ связано, прежде всего, с увеличением количества кластерного комплекса в материалах.

Таблица 7

Количество кластерных ядер $\{Mo_6I_8\}^{4+}$, приходящихся на одну наночастицу золота в 4,0-GNR@mSiO₂@n-SiO₂ и 4,0-GNR@SiO₂@n-SiO₂

Образец	$\{Mo_6I_8\}^{4+}$ на 4,0-GNR $\times 10^{-4}$	
	n = 1	n = 2
4,0-GNR@mSiO ₂ @n-SiO ₂	22,1 ± 6,3	21,7 ± 3,5
4,0-GNR@SiO ₂ @n-SiO ₂	7,4 ± 1,2	7,5 ± 1,0

3.4.2 Оценка эффективности генерации синглетного кислорода

Для количественного определения синглетного кислорода использовалась методика, описанная в п. 3.1.5. Предварительно свежеприготовленные образцы анализировали методом АЭС-ИСП, разбавляли до достижения одинаковой концентрации золота во всех коллоидных растворах (340 мкг_{Au}/мл) и облучали монохроматическим излучением ($\lambda = 365 \pm 5$ нм) в присутствии DHN.

Зависимость интенсивности поглощения «ловушки» в присутствии 4,0-GNR@mSiO₂@n-SiO₂ и 4,0-GNR@SiO₂@n-SiO₂ от времени облучения, а также кинетический анализ этих данных приведены на рис. П23-П24 и в табл. 8. Из полученных данных видно, что наблюдаемая константа скорости реакции разложения DHN в присутствии мезопористых материалов увеличилась в 1,5 раз при **n = 1** и в 1,9 раз при **n = 2** по сравнению с соответствующими непористыми материалами. Таким образом, еще одним преимуществом мезопористых материалов оказалась большая эффективность в процессах генерации синглетного кислорода.

Таблица 8

Наблюдаемая константа скорости конверсии DHN ($k_{\text{набл.}}$) в присутствии 4,0-GNR@mSiO₂@n-SiO₂ и 4,0-GNR@SiO₂@n-SiO₂ при облучении светом с длиной волны 365 нм

Образец	$k_{\text{набл.}} \times 10^2, \text{ мин}^{-1}$
4,0-GNR@mSiO ₂ @1-SiO ₂	1,84
4,0-GNR@mSiO ₂ @2-SiO ₂	2,48
4,0-GNR@SiO ₂ @1-SiO ₂	1,17
4,0-GNR@SiO ₂ @2-SiO ₂	1,28

3.4.3 Фототермические свойства материалов

Фототермические свойства коллоидных растворов 4,0-GNR@mSiO₂@n-SiO₂ были исследованы под действием фемтосекундного ИК-лазера ($\lambda = 800$ нм, 600 мВт). Образец, не содержащий ФС – 4,0-GNR@mSiO₂ и бидистиллированная вода выступали в качестве положительного и отрицательного контроля соответственно.

На рис. 56 представлен график зависимости изменения температуры коллоидных растворов от времени облучения. Из полученных данных видно, что для образцов 4,0-GNR@mSiO₂@1-SiO₂ и 4,0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂ эффективность фототермической конверсии оказалась почти идентичной – после пяти минут облучения их коллоидные растворы нагрелись на 7,4°C. Однако, в отличие от непористых материалов, для которых включение кластерного комплекса не оказывало влияния на фототермические свойства комбинированной системы, мезопористые материалы 4,0-GNR@mSiO₂@n-SiO₂ демонстрировали большую эффективность нагрева, чем 4,0-GNR@mSiO₂. Возможно, такое различие связано с тем, что в мезопористые материалы включается большее количество кластерного комплекса, чем в непористые, в связи с чем он оказывает более заметное влияние на свойства комбинированной системы.

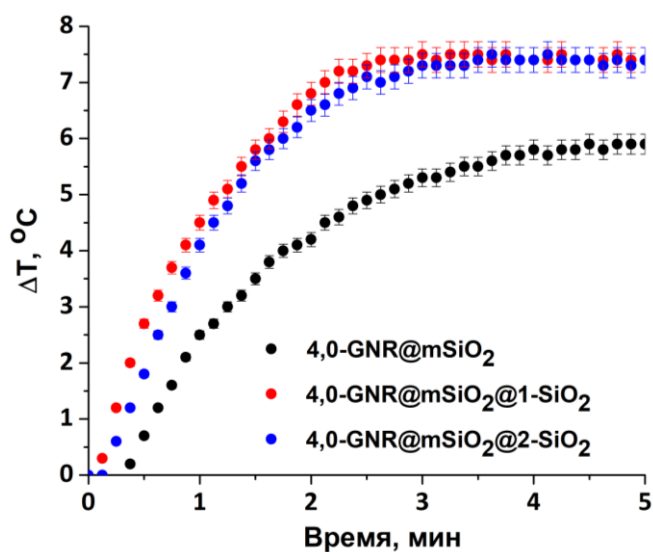


Рис. 56. Зависимость изменения температуры коллоидных растворов материалов от времени облучения 800-нм фемтосекундным инфракрасным лазером

3.4.4 Исследование кинетики включения и высвобождения цисплатина

Комбинированные системы, проявляющие одновременно фототермическую, фотодинамическую и химиотерапевтическую противоопухолевую активность, хорошо описаны в литературе [245, 246, 278-280]. В качестве цитостатических препаратов в таких исследованиях чаще всего фигурируют доксорубин или цисплатин и его производные. Оба этих препарата обладают генотоксическим действием, образуя сильные ковалентные связи с ДНК и препятствуя ее точной репликации. Однако стоит отметить, что материалы, представляющие собой наночастицы золота,

покрытые слоем диоксида кремния, в большинстве случаев модифицируются доксорубицином, а не цисплатином и его производными. По причине недостаточной изученности взаимодействия цисплатина с мезопористым диоксидом кремния, в нашей работе в качестве противоопухолевого препарата был выбран именно он. Все дальнейшие эксперименты проводились на материалах, продемонстрировавших наилучшие люминесцентные, фотодинамические и фототермические свойства – т.е. 4,0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂.

Согласно литературным данным, в водных растворах наиболее реакционноспособной формой цисплатина является продукт первой стадии его гидролиза [Pt(NH₃)₂Cl(H₂O)]⁺ [281], поэтому перед проведением сорбции цисплатин выдерживали в дистиллированной воде в течение 6 часов (0,5 мг_{cis}/мл). Далее к водному раствору гидролизованного цисплатина приливали коллоидный раствор 4,0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂ и перемешивали в течение 5 дней. Полученные материалы обозначались как 4,0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂@cis. В процессе проведения сорбции форма и дисперсность частиц не изменялись, о чем свидетельствуют данные просвечивающей электронной микроскопии (рис. 57).

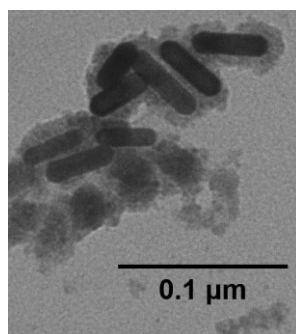


Рис. 57. ПЭМ-изображение 4,0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂@cis

Поскольку взаимодействие цисплатина с диоксидом кремния может осуществляться путем образования ковалентных связей между ОН-группами SiO₂ и молекулой воды, на которую замещается один из атомов хлора в cis, мы предположили, что цисплатин способен связываться и с непористыми материалами. Для подтверждения этой гипотезы мы проанализировали зависимость доли сорбированного cis от времени проведения сорбции для 4,0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂ и 4,0-GNR@SiO₂@2-SiO₂. Поскольку цисплатин практически не поглощает в видимой и ультрафиолетовой области, а также не обладает выраженными люминесцентными свойствами, оценка количества сорбированного препарата осуществлялась методом АЭС-ИСП. Так было обнаружено, что по истечении 5 дней в мезопористые наночастицы включается в 3,5 раза больше цитостатического препарата, чем в непористые (рис. 58).

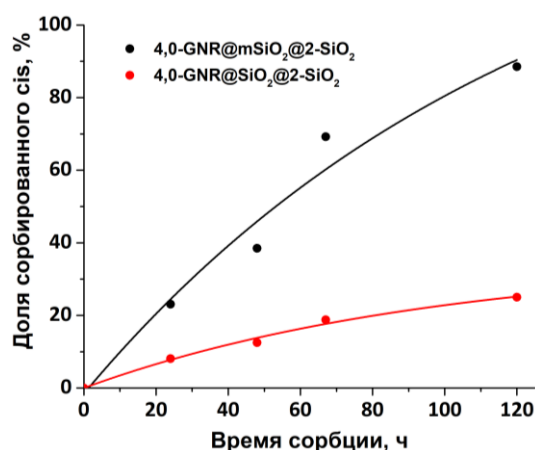


Рис. 58. Зависимость доли сорбированного цисплатина от времени проведения сорбции для 4,0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂ и 4,0-GNR@SiO₂@2-SiO₂

Исследование кинетики высвобождения цисплатина мы начали с проведения экспериментов в дистиллированной воде. Максимальное время выдержки наночастиц 4,0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂@cis во всех экспериментах составляло 48 часов, а температура, при которой выдерживались частицы (если не указано отдельно) – 25°C. По данным АЭС-ИСП по истечении 48 часов в дистиллированной воде не было обнаружено следов платины, что свидетельствует о достаточно прочном связывании цитостатического препарата.

Поскольку опухолевые клетки характеризуются более низким значением pH, чем здоровые ткани, мы решили исследовать зависимость скорости высвобождения цисплатина от pH. В качестве среды были выбраны фосфатные буферные растворы с pH = 5,0, 6,0 и 7,0. Кинетический анализ зависимости доли десорбированного цисплатина от времени выдержки, а также константа скорости высвобождения при различных значениях pH представлены на рис. 59 и в табл. 9. Как и ожидалось, при снижении pH наблюдалось увеличение константы скорости высвобождения цисплатина, вероятнее всего, связанное с кислотным гидролизом ковалентных связей Si-O-Pt. Таким образом, было показано, что наша система обладает потенциальной способностью к селективной активации вблизи или внутри раковых клеток.

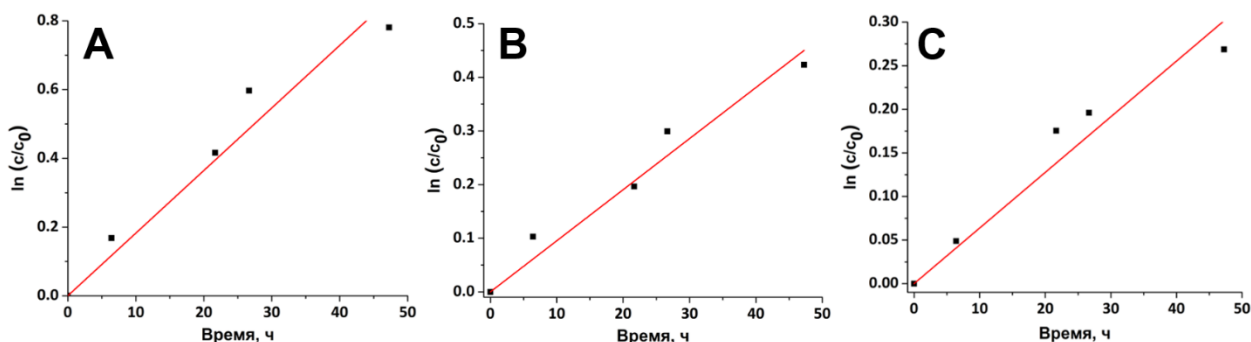


Рис. 59. Линейная аппроксимация, описывающая зависимость $\ln\left(\frac{c}{c_0}\right)$ от времени проведения десорбции в фосфатном буферном растворе при различных значениях pH: А – pH = 5,0; В – pH = 6,0; С – pH = 7,0

Константа скорости высвобождения цисплатина из 4,0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂@cis при различных значениях pH

pH	$k \times 10^2, \text{ч}^{-1}$
5,0	1,82
6,0	0,95
7,0	0,64

Далее мы исследовали зависимость концентрации свободного цисплатина от температуры, проведя эксперимент в фосфатном буферном растворе (pH = 5,0) при 37°C (рис. 60). Как и ожидалось, повышение температуры способствовало ускорению высвобождения цитостатического препарата. Более подробный анализ отрезка кинетической кривой в диапазоне 0-6 часов показал, что константа скорости высвобождения цисплатина из 4,0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂@cis выросла с $1,82 \times 10^{-2} \text{ч}^{-1}$ до $3,09 \times 10^{-1} \text{ч}^{-1}$.

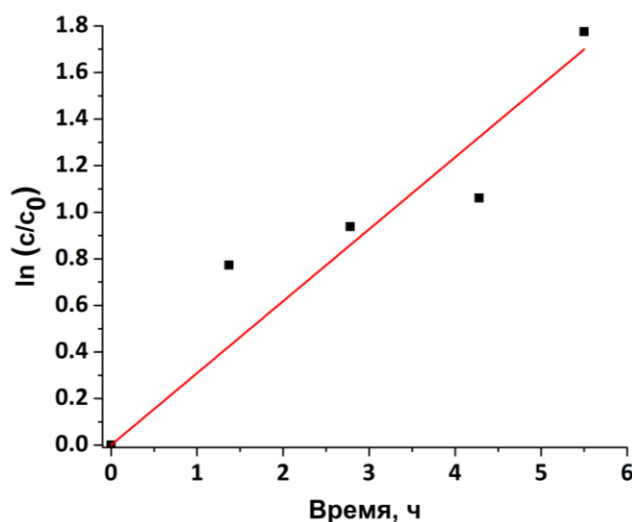


Рис. 60. Линейная аппроксимация, описывающая зависимость $\ln\left(\frac{c}{c_0}\right)$ от времени проведения десорбции в фосфатном буферном растворе (pH = 5,0) при 37°C

Заключительным этапом наших экспериментов стало исследование кинетики высвобождения цисплатина в питательной среде (pH = 7,0 – 7,6), содержащей неорганические соли, аминокислоты, витамины и прочие вещества, входящие в состав биологических жидкостей. Десорбция проводилась при температуре 25°C. Линейная аппроксимация, описывающая зависимость $\ln\left(\frac{c}{c_0}\right)$ от времени проведения десорбции, представлена на рис. 61. Константа скорости высвобождения цисплатина в питательной среде оказалась равной $1,11 \times 10^{-1} \text{ч}^{-1}$ и в 17 раз превысила аналогичную константу для фосфатного буферного раствора с pH = 7,0.

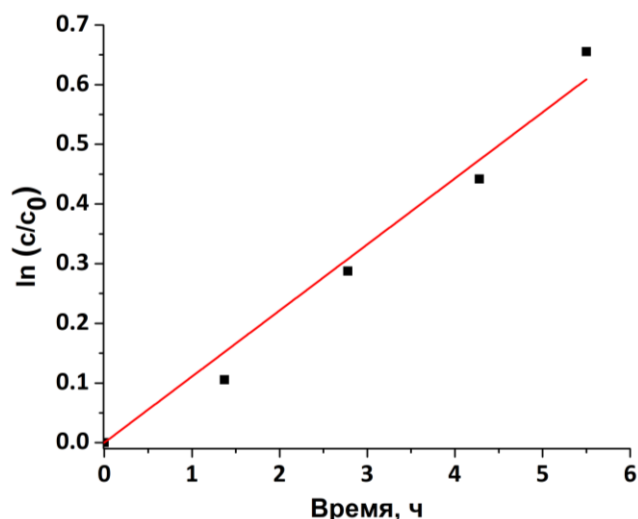


Рис. 61. Линейная аппроксимация, описывающая зависимость $\ln \left(\frac{c}{c_0}\right)$ от времени проведения десорбции в питательной среде (pH = 7,0 – 7,6)

3.4.5 Получение и характеристика конъюгатов с наноконъюгатами C7b

Ранее в *главе 3.3* мы изучили модельную систему $\{Mo_6I_8\}@SiO_2$ -C7b, предназначенную для адресной доставки фотосенсибилизатора в раковые клетки, отличающиеся повышенной экспрессией рецептора HER2/neu. Далее мы перенесли методику конъюгации наноконъюгатов на золотосодержащие материалы 4.0-GNR@mSiO₂@n-SiO₂. Схема конъюгации представлена на рис. 62.

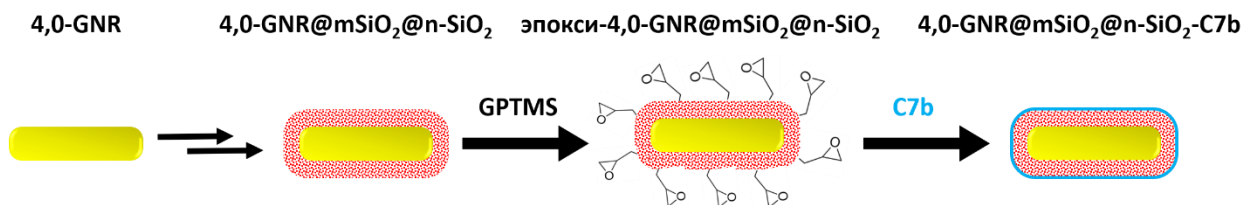


Рис. 62. Схема получения конъюгатов 4.0-GNR@mSiO₂@n-SiO₂-C7b

Методика конъюгации не претерпела существенных изменений за исключением стадии модификации 4.0-GNR@mSiO₂@n-SiO₂ эпоксидными группами посредством щелочного гидролиза (3-глицидилоксипропил)триметоксисилана (GPTMS). Для $\{Mo_6I_8\}@SiO_2$ эта реакция проводилась в гексане, однако, из-за высокой гидрофильности и склонности золотосодержащих материалов к агрегации, в данном случае реакция проводилась в смеси гексана и ацетона в объемном соотношении 7 к 1. Ацетон был выбран в качестве гидрофильной добавки, поскольку в его присутствии не происходит раскрытия эпоксидного кольца.

Количество антител, необходимых для конъюгации, вычислялось аналогично описанному в *п. 3.3.1* по формуле:

$$S = \frac{6C}{\rho D}$$

Важно заметить, что для $4,0\text{-GNR@mSiO}_2@2\text{-SiO}_2$ данная формула является приближенной, поскольку она описывает сферические, а не стержнеобразные частицы, однако, даже в этом случае она может быть использована для оценки необходимого количества антител. Если принять за диаметр наночастиц их длину равную $0,072\ \mu\text{м}$ (согласно ПЭМ-изображениям), то количество nanoантител $C7b$, необходимых для монослойного насыщения поверхности, составляет $\sim 100\ \text{мг}$ на $1\ \text{г}$ частиц. С учетом потери активности в процессе конъюгации, мы использовали двух- и четырехкратный избыток антител в сравнении с их теоретически рассчитанным количеством – т.е. 200 и $400\ \text{мг}$ на $1\ \text{г}$ частиц. Приняв массу частиц примерно равной массе составляющего их золота, мы приготовили для исследования образцы, содержащие 2 и $4\ \text{мг}$ nanoантител. В обоих случаях, несмотря на длительное нахождение в буферных растворах с $\text{pH} = 7\text{-}13$, наночастицы сохраняли свою форму, что подтверждается ЭСП (рис. 63) и ПЭМ-изображениями конъюгатов (рис. 64).

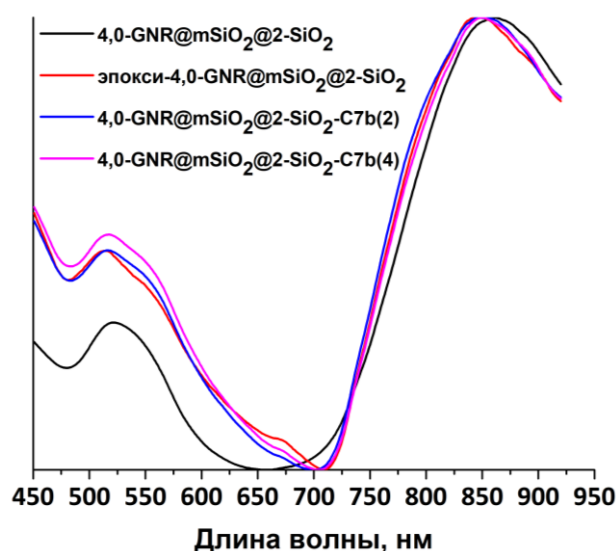


Рис. 63. Нормированные ЭСП $4,0\text{-GNR@mSiO}_2@2\text{-SiO}_2$ и их конъюгатов с nanoантителами $C7b$

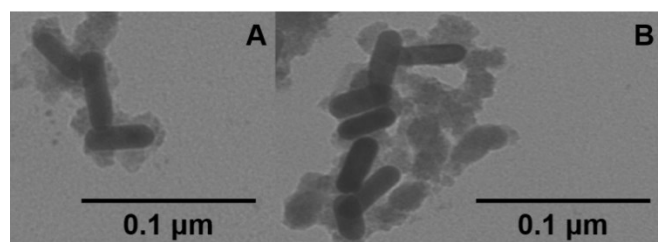


Рис. 64. ПЭМ-изображения конъюгатов $4,0\text{-GNR@mSiO}_2@2\text{-SiO}_2$ с антителами $C7b$:

А – $4,0\text{-GNR@mSiO}_2@2\text{-SiO}_2\text{-C7b}(2)$; В – $4,0\text{-GNR@mSiO}_2@2\text{-SiO}_2\text{-C7b}(4)$

Качественная оценка активности полученных конъюгатов, которые в дальнейшем будут обозначаться как $4,0\text{-GNR@mSiO}_2@2\text{-SiO}_2\text{-C7b}(2)$ и $4,0\text{-GNR@mSiO}_2@2\text{-SiO}_2\text{-C7b}(4)$, проводилась методом дот-блот (рис. 65). Дорожки из нитроцеллюлозной бумаги, на которые наносились

исследуемые образцы (сверху вниз: 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂-C7b(4); 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂-C7b(2); C7b и HER2/neu) погружали в растворы полученных конъюгатов (дорожку слева – в раствор 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂-C7b(4); дорожку справа – в раствор 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂-C7b(2)), обрабатывали антителами, мечеными щелочной фосфатазой, для обнаружения специфического взаимодействия антиген-антитело и окрашивали. Сигнал на рис. 65.8 свидетельствует о наличии избирательного взаимодействия 4.0-GNR@mSiO₂@n-SiO₂-C7b(4) с целевым рецептором HER2/neu. Важно отметить, что данный метод детекции не выявил аналогичного взаимодействия для 4.0-GNR@mSiO₂@n-SiO₂-C7b(2) (рис. 65.4), что может быть связано с незначительным количеством антител на поверхности наночастиц.

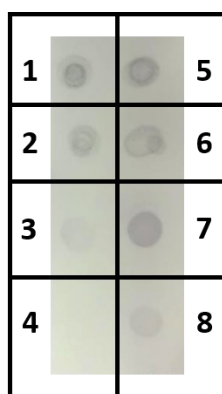


Рис. 65. Качественная оценка активности конъюгатов C7b с 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂ методом дот-блот. 1, 5 – 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂-C7b(4); 2, 6 – 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂-C7b(2); 3, 7 – C7b; 4, 8 - HER2/neu. Дорожка слева погружалась в раствор 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂-C7b(4); дорожка справа – в раствор 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂-C7b(2)

Поскольку в процессе конъюгации часть антител может оставаться в растворе, не связываясь с поверхностью наночастиц, для корректного сравнения активности свободного и конъюгированного C7b было необходимо определить точное количество антител на поверхности наночастиц. Это было сделано посредством иммуноферментного анализа (ИФА) промывных растворов, собранных в процессе обработки конъюгатов. Для образца 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂-C7b(2) количество антител в промывном растворе оказалось близким к их начальному количеству, что свидетельствует о недостаточно эффективной конъюгации и подтверждает результаты, полученные методом дот-блот, в то время как для образца 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂-C7b(4) в промывном растворе обнаружилось ~2 мг антител, что соответствует 50%-ному связыванию C7b. Причиной неполного связывания антител с наночастицами может являться как частичное раскрытие эпоксидных колец в процессе синтеза, так и приближенная оценка количества необходимого C7b. Учитывая полученные результаты, дальнейшие исследования было решено проводить лишь для образца 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂-C7b(4).

Количественное определение активности 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂-C7b(4) осуществлялось методом твердофазного иммуоферментного анализа (ТФ-ИФА) (рис. 66). Для эксперимента использовали коллоидный раствор конъюгата, содержащий 2 мкг конъюгированных антител C7b, и аналогичное количество свободных антител. Полученные данные свидетельствуют о наличии специфического сродства конъюгата к рецептору HER2/neu, несмотря на 20% снижение активности в сравнении со свободными антителами C7b. Это подтверждает сохранение структуры антител после конъюгации, снижение же аффинности можно объяснить неправильной ориентацией антител на поверхности частиц и, как следствие, снижением эффективности взаимодействия активного центра антитела с рецептором.

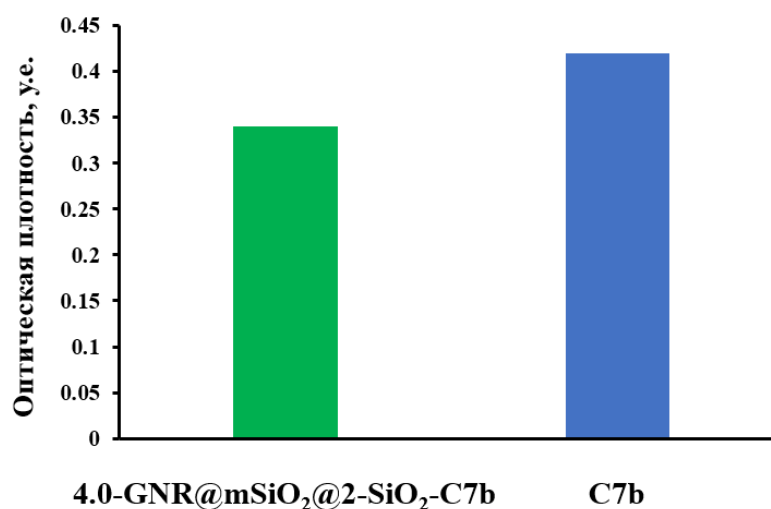


Рис. 66. Количественное определение активности C7b и конъюгата 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂-C7b(4) методом ИФА

Помимо сравнения активности свободных и связанных антител, мы исследовали зависимость аффинности конъюгатов к рецептору HER2/neu от их концентрации (т.е. от количества конъюгированных антител C7b) (рис. 67). Полученные данные свидетельствуют о сохранении активности 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂-C7b(4), по крайней мере, до разведения 1/10000. Таким образом, полученные конъюгаты могут обеспечивать селективность по отношению к раковым клеткам даже в низких концентрациях, необходимых для проведения биологических экспериментов.

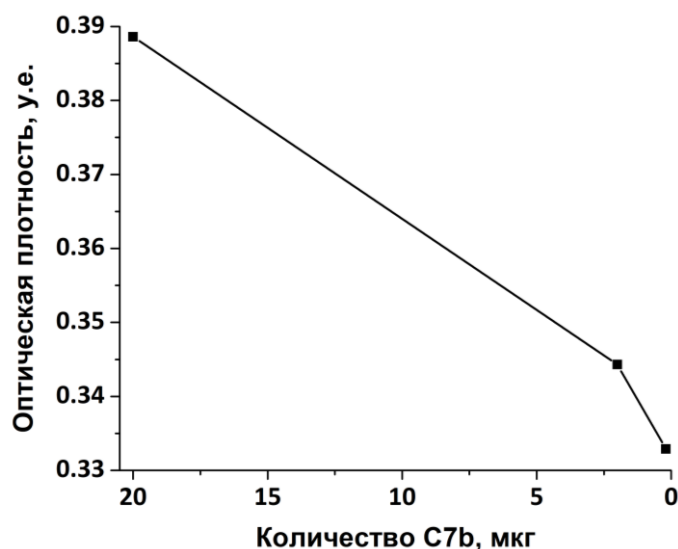


Рис. 67. Зависимость активности конъюгата 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂-C7b(4) от количества конъюгированного C7b

3.4.6 Оценка цитотоксичности материалов, МТТ-тест

Для проведения биологических исследований, описанных в этой и последующих частях, мы выбрали комбинированную систему, сочетающую в себе наностержни золота с AR = 4,0, мезопористый диоксид кремния, допированный кластерными ядрами {Mo₆I₈}⁴⁺, противоопухолевый препарат цисплатин, а также nanoantitela C7b. Полученный материал обозначался как 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂@cis-C7b(4) (методика синтеза описана в п. 2.5.1 – 2.5.4). В качестве образцов сравнения выступали наночастицы 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂ и 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂@cis.

Оценка цитотоксичности образцов 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂, 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂@cis и 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂@cis-C7b(4) проводилась с помощью стандартного МТТ-теста, основанного на восстановлении желтого МТТ-реагента в нерастворимый пурпурный формазан под действием ферментов живых клеток. Исследование проводилось на двух клеточных линиях: MCF-7 (клетки рака молочной железы, экспрессируют небольшое количество рецепторов HER2/neu) и BT-474 (клетки рака молочной железы, гиперэкспрессируют рецепторы HER2/neu). Результаты представлены на рис. 68. Как видно из полученных данных, образцы 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂ и 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂@cis характеризуются низкой токсичностью в диапазоне концентраций 0,15-9,63 мкг_{Au}/мл, в то время как образец 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂@cis-C7b(4) гораздо более токсичен. Такое заметное различие, вероятно, связано с модификацией поверхности nanoantitelami C7b, которые повышают количество наночастиц, проникших внутрь клеток. Однако стоит отметить, что токсичность образца 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂@cis-C7b(4) одинакова для обеих клеточных линий. Это объясняется тем, что клетки линии MCF-7 также экспрессируют некоторое количество рецепторов HER2/neu, которые за длительное

время инкубации (72 часа) успевают продемонстрировать специфическое сродство к наноанти-телам C7b. Сравнивая образцы 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂ и 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂@cis, можно заметить, что в концентрациях выше 9,63 мкг_{Au}/мл наночастицы, содержащие цисплатин, демонстрируют несколько большую токсичность, которая, вероятно, объясняется высвобождением сорбированного в порах цитостатического препарата.

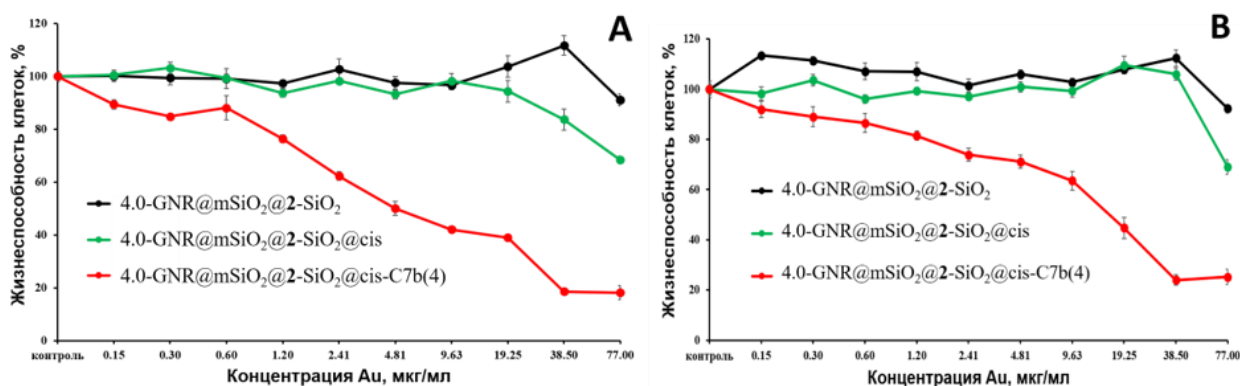


Рис. 68. Влияние 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂, 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂@cis и 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂@cis-C7b(4) на жизнеспособность клеток линии MCF-7 (A) и BT-474 (B)

Чтобы убедиться, что высокая токсичность образца 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂@cis-C7b(4) обусловлена не токсичностью самих наноантител C7b, мы провели дополнительное исследование цитотоксичности свободных антител в диапазоне концентраций, соответствующих их концентрациям в конъюгате 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂@cis-C7b(4). Данные МТТ-теста представлены на рис. 69.

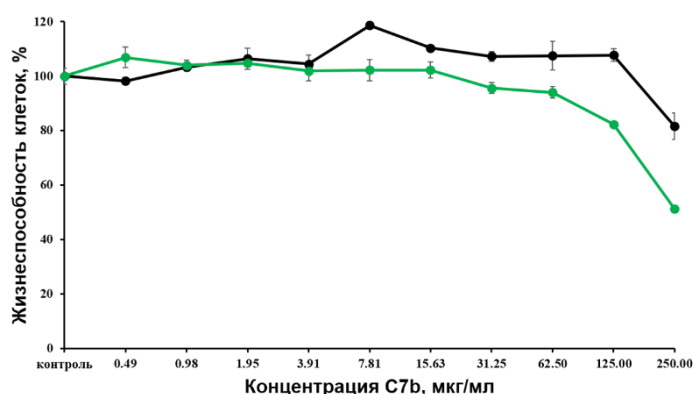


Рис. 69. Влияние наноантител C7b на жизнеспособность клеток линии MCF-7 (зеленый) и BT-474 (черный)

Как видно на графике, в концентрациях ниже 125 мкг/мл, что соответствует 38,5 мкг_{Au}/мл, свободные наноантитела C7b практически нетоксичны. Таким образом, данные МТТ-теста подтверждают ранее высказанное предположение о том, что увеличение токсичности образца 4.0-

GNR@mSiO₂@2-SiO₂@cis-C7b(4) обусловлено повышением количества наночастиц, проникших внутрь клеток.

3.4.7 Клеточное проникновение

Селективность образцов 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂@cis и 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂@cis-C7b(4) по отношению к рецепторам HER2/neu оценивалась методом АЭС-ИСП. Для эксперимента была выбрана нетоксичная концентрация 1,2 мкг_{Au}/мл. Инкубация клеток линии MCF-7 и BT-474 с исследуемыми наночастицами проводилась в течение 30 и 60 минут. На основании данных, представленных на рис. 70, можно сделать следующие выводы.

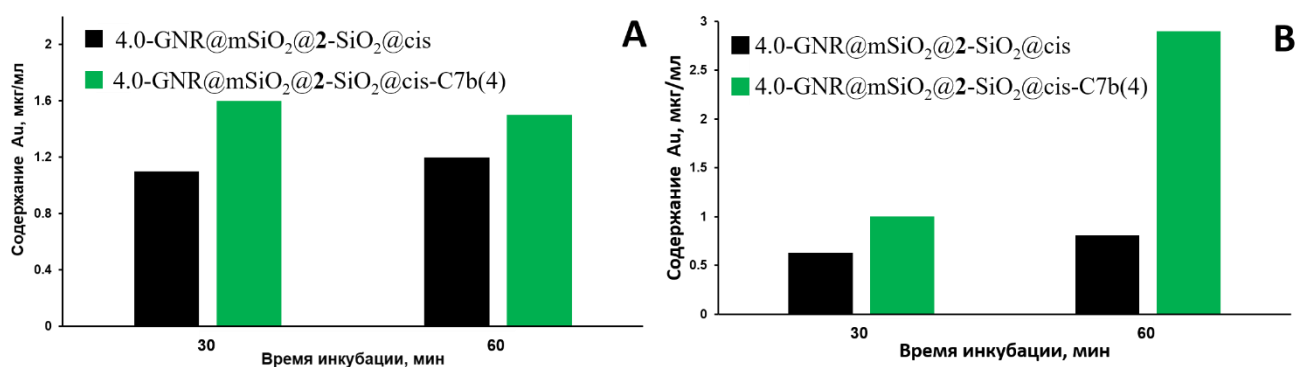


Рис. 70. Содержание золота в клетках линии MCF-7 (A) и BT-474 (B)

Во-первых, модификация наноантителами C7b увеличивает скорость проникновения наночастиц в клетки, причем для клеток линии BT-474, отличающихся повышенной экспрессией рецепторов HER2/neu, этот эффект более заметен, чем для клеток линии MCF-7, экспрессирующих небольшое количество рецепторов HER2/neu. Так, после 60 минут инкубации содержание золота в клетках, инкубированных с НЧ 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂@cis-C7b(4), оказалось в 3,5 и 1,25 раз выше, чем в клетках, инкубированных с НЧ 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂@cis, для клеточных линий BT-474 и MCF-7, соответственно.

Во-вторых, можно заметить, что для клеточной линии MCF-7 разница в содержании золота после 30 и 60 минут инкубации составляет менее 10% вне зависимости от присутствия антител. Для клеток линии BT-474 картина несколько иная. Для наночастиц 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂@cis содержание золота также почти не меняется, однако, для наночастиц 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂@cis-C7b(4) повышение времени инкубации с 30 до 60 минут приводит к увеличению содержания золота в 3 раза. Такое значительное увеличение скорости проникновения наночастиц в клетку приводит к тому, что за 60 минут в клетках линии BT-474 накапливается в 2 раза больше наночастиц, чем в клетках линии MCF-7.

Таким образом, эксперименты подтверждают специфическое сродство наночастиц, модифицированных наноантителами C7b, к рецептору HER2/neu, что в дальнейшем может

способствовать их селективной доставке в раковые клетки и, как следствие, снижению повреждений здоровых тканей.

3.4.8 Оценка фотоиндуцированной цитотоксичности

Как было показано в п. 3.4.2 – 3.4.3, под действием видимого и ультрафиолетового излучения кластер-содержащие комбинированные материалы способны генерировать синглетный кислород, а также повышать температуру окружающей среды вследствие возбуждения поверхностных плазмонов наностержней золота. Таким образом, завершающим этапом наших исследований стала оценка фотоиндуцированной токсичности образцов (рис. 71). Для проведения эксперимента клетки линии MCF-7 и BT-474 инкубировали с соединениями 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂, 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂@cis и 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂@cis-C7b(4) в нетоксичной концентрации 1,2 мкг_{Аu}/мл, облучали светом с $\lambda \geq 400$ нм и оценивали цитотоксичность образцов методом МТТ-теста. Важно отметить, что использованный в эксперименте белый свет, во-первых, частично захватывает первое биологическое окно, в котором поглощение большинства компонентов клеток минимально, во-вторых, глубоко проникает внутрь тканей, а в-третьих, возбуждает как кластерные комплексы молибдена, так и наностержни золота.

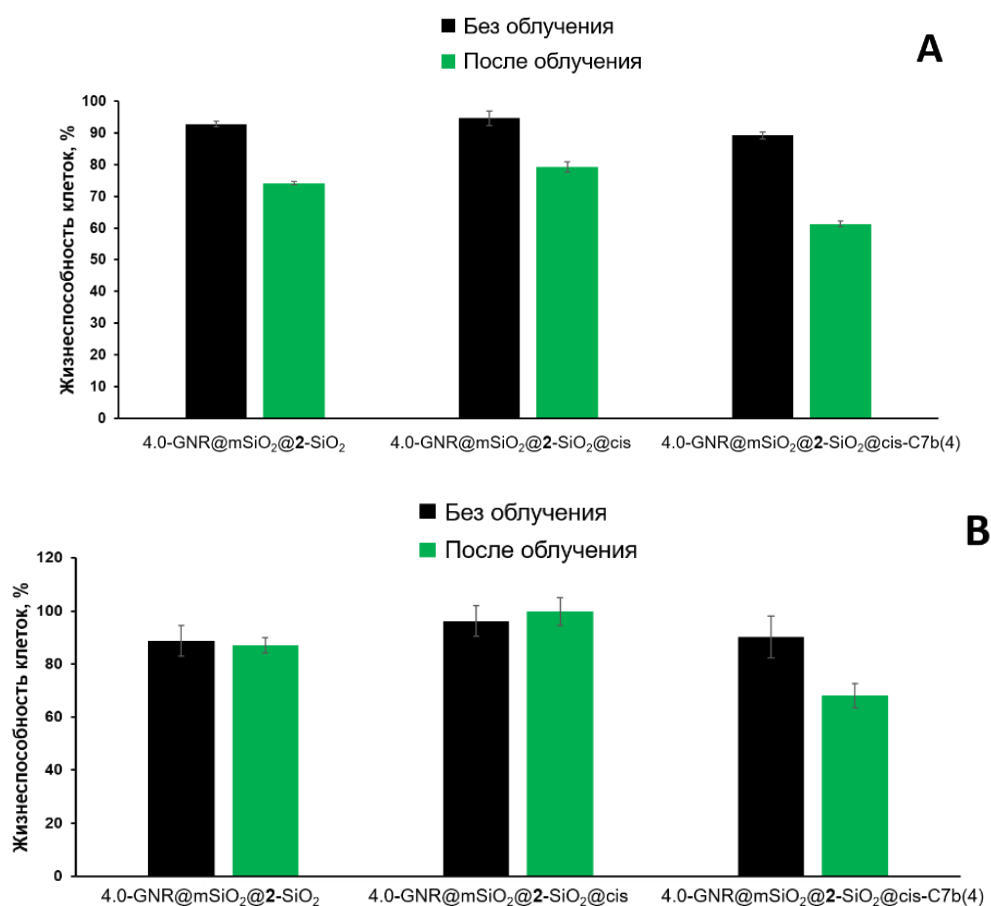


Рис. 71. Жизнеспособность клеток линии MCF-7 (А) и BT-474 (В), инкубированных с 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂, 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂@cis и 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂@cis-C7b(4), после облучения светом с длиной волны $\lambda \geq 400$ нм

Было показано, что наибольшую токсичность продемонстрировал образец 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂@cis-C7b(4): в случае клеток линии BT-474 после облучения наблюдалась гибель $32 \pm 4,6\%$ клеток, а в случае клеток линии MCF-7 – $39 \pm 0,9\%$. Клетки линии MCF-7 в целом продемонстрировали большую чувствительность к исследованным материалам. После облучения клеток линии MCF-7, инкубированных с образцами 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂ и 4.0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂@cis, количество погибших клеток составило $26 \pm 0,5\%$ и $21 \pm 1,6\%$ соответственно, в то время как в клетках линии BT-474, инкубированных с теми же образцами, мертвых клеток обнаружено не было.

Отдельно стоит отметить, что если сравнивать полученные результаты с ранее описанными в литературе для подобных систем, можно заметить, что в нашей работе клеточная гибель порядка 30-40% достигалась с использованием заметно более низкой концентрации наночастиц (таблица 10).

Таблица 10

Концентрация наночастиц, приводящая к гибели 30-40% раковых клеток, для описанных в литературе систем вида GNR@SiO₂@ФС@цитостатический препарат

Описание комбинированной системы	Клеточная линия	Концентрация наночастиц, мкг _{Au} /мл	Ссылка на статью
GNR@mSiO ₂ @ICG@DOX	HeLa	7,82	[246]
GNR@SiO ₂ @ICG@5-FU	A375	20	[278]
GNR@mSiO ₂ @AlPcS ₄ @Pt(IV)	HepG2	30	[245]

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В рамках настоящей работы была получена серия фотоактивных материалов, представляющих собой наночастицы золота различного размера и формы, покрытые слоем диоксида кремния, допированного кластерными ядрами $\{Mo_6I_8\}^{4+}$. Все полученные материалы были охарактеризованы набором физико-химических методов анализа. В ходе исследования было показано, что форма наночастиц золота, а именно их осевое соотношение, оказывает решающее влияние на эффективность металл-усиленной люминесценции/генерации синглетного кислорода и может служить эффективным инструментом для усиления оптических свойств октаэдрических кластерных комплексов молибдена. Стоит отметить, что приведенные в литературе факторы усиления люминесценции/генерации синглетного кислорода для других материалов подобного типа оказались либо сопоставимы, либо ниже тех, что были продемонстрированы в рамках данной работы.

Для мезопористых материалов была показана возможность дальнейшей модификации наноантителами для адресной доставки в раковые клетки и цитостатическим препаратом для придания им дополнительных химиотерапевтических свойств. Полученные комбинированные материалы демонстрировали высокую селективность по отношению к раковым клеткам, характеризующимся повышенной экспрессией рецептора HER2/neu, а также заметную темновую и фотоиндуцированную цитотоксичность в концентрациях, ниже ранее описанных в литературе.

Полученные данные о зависимости фотоиндуцированных свойств материалов от их состава и морфологии не только вносят существенный вклад в развитие неорганической химии и материаловедения, но и позволяют получать эффективные наносистемы, предназначенные для комбинированной терапии раковых опухолей.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

1. Разработаны методики и оптимизированы условия получения материалов, представляющих собой наночастицы золота различного размера и формы, покрытые слоем непористого или мезопористого диоксида кремния, допированного кластерными комплексами молибдена с ядром $\{Mo_6I_8\}^{4+}$.

2. Продемонстрировано, что с увеличением осевого соотношения плазмонных наночастиц наблюдается усиление люминесцентных и фотодинамических свойств комбинированных материалов. Для материалов на основе наностержней золота с отношением длины к ширине (AR) = 4,0 интенсивность люминесценции увеличивалась в 6,7 раз в сравнении с кластер-содержащими наночастицами SiO_2 без металлического ядра, а эффективность фотосенсибилизации процесса генерации синглетного кислорода – в 13 раз.

3. Показано, что за счет увеличения площади поверхности и количества допированного кластерного комплекса мезопористые материалы демонстрируют лучшие люминесцентные и фотодинамические характеристики в сравнении с непористыми. При переходе от непористых материалов к мезопористым интенсивность эмиссии увеличивается в 3 раза, а эффективность фотосенсибилизации процесса генерации синглетного кислорода – в 1,5-1,9 раз.

4. Для мезопористых материалов на основе наностержней золота с отношением длины к ширине (AR) = 4,0 исследована кинетика включения и высвобождения противоопухолевого препарата цисплатина. Показано, что высвобождение цисплатина носит pH-зависимый характер: при снижении pH наблюдается увеличение константы скорости высвобождения цисплатина.

5. Продемонстрировано, что модельная система, представляющая собой кластер-содержащие наночастицы диоксида кремния, может быть модифицирована наноантителами C7b к рецептору HER2/neu. Полученные конъюгаты демонстрируют высокую селективность по отношению к опухолевым клеткам, отличающимся повышенной экспрессией данного белка. Далее методика модификации была перенесена на мезопористые материалы. Показано, что в процессе модификации снижение активности антител составляет порядка 20%, при этом форма и размер наночастиц не искажаются.

6. Показано, что комбинированные материалы, модифицированные наноантителами C7b, демонстрируют высокую селективность по отношению к раковым клеткам, гиперэкспрессирующим рецептор HER2/neu. Исследованные наночастицы проявляют заметную фотоиндуцированную цитотоксичность в концентрациях ниже ранее описанных в литературе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Maeda H., Wu J., Sawa T., Matsumura Y., Hori K. Tumor vascular permeability and the EPR effect in macromolecular therapeutics: a review // *J Control Release*. – 2000. – Т. 65, № 1-2. – С. 271-84.
2. Hudson D. E., Hudson D. O., Wining J. M., Richardson B. D. Penetration of Laser Light at 808 and 980nm in Bovine Tissue Samples // *Photomedicine and Laser Surgery*. – 2013. – Т. 31, № 4. – С. 163-168.
3. Zhang H., Chen H. J., Du X. Z., Wen D. S. Photothermal conversion characteristics of gold nanoparticle dispersions // *Solar Energy*. – 2014. – Т. 100. – С. 141-147.
4. Xie Z. J., Duo Y. H., Lin Z. T., Fan T. J., Xing C. Y., Yu L., Wang R. H., Qiu M., Zhang Y. P., Zhao Y. H., Yan X. B., Zhang H. The Rise of 2D Photothermal Materials beyond Graphene for Clean Water Production // *Advanced Science*. – 2020. – Т. 7, № 5.
5. Iijima S. Helical Microtubules of Graphitic Carbon // *Nature*. – 1991. – Т. 354, № 6348. – С. 56-58.
6. Kumanek B., Janas D. Thermal conductivity of carbon nanotube networks: a review // *Journal of Materials Science*. – 2019. – Т. 54, № 10. – С. 7397-7427.
7. Hone J., Llaguno M. C., Biercuk M. J., Johnson A. T., Batlogg B., Benes Z., Fischer J. E. Thermal properties of carbon nanotubes and nanotube-based materials // *Applied Physics a-Materials Science & Processing*. – 2002. – Т. 74, № 3. – С. 339-343.
8. Han Z. D., Fina A. Thermal conductivity of carbon nanotubes and their polymer nanocomposites: A review // *Progress in Polymer Science*. – 2011. – Т. 36, № 7. – С. 914-944.
9. Alosious S., Kannam S. K., Sathian S. P., Todd B. D. Nanoconfinement Effects on the Kapitza Resistance at Water-CNT Interfaces // *Langmuir*. – 2021. – Т. 37, № 7. – С. 2355-2361.
10. Murakami T., Nakatsuji H., Inada M., Matoba Y., Umeyama T., Tsujimoto M., Isoda S., Hashida M., Imahori H. Photodynamic and Photothermal Effects of Semiconducting and Metallic-Enriched Single-Walled Carbon Nanotubes // *Journal of the American Chemical Society*. – 2012. – Т. 134, № 43. – С. 17862-17865.
11. Burke A., Ding X. F., Singh R., Kraft R. A., Levi-Polyachenko N., Rylander M. N., Szot C., Buchanan C., Whitney J., Fisher J., Hatcher H. C., D'Agostino R., Kock N. D., Ajayan P. M., Carroll D. L., Akman S., Torti F. M., Torti S. V. Long-term survival following a single treatment of kidney tumors with multiwalled carbon nanotubes and near-infrared radiation // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2009. – Т. 106, № 31. – С. 12897-12902.
12. Lin Z., Liu Y., Ma X. M., Hu S. Y., Zhang J. W., Wu Q., Ye W. B., Zhu S. Y., Yang D. H., Qu D. B., Jiang J. M. Photothermal ablation of bone metastasis of breast cancer using PEGylated multi-walled carbon nanotubes // *Scientific Reports*. – 2015. – Т. 5.

13. Sobhani Z., Behnam M. A., Emami F., Dehghanian A., Jamhiri I. Photothermal therapy of melanoma tumor using multiwalled carbon nanotubes // *International Journal of Nanomedicine*. – 2017. – T. 12. – C. 4509-4517.
14. Robinson J. T., Welsher K., Tabakman S. M., Sherlock S. P., Wang H. L., Luong R., Dai H. J. High Performance In Vivo Near-IR ($> 1 \mu\text{m}$) Imaging and Photothermal Cancer Therapy with Carbon Nanotubes // *Nano Research*. – 2010. – T. 3, № 11. – C. 779-793.
15. Ghosh S., Dutta S., Gomes E., Carroll D., D'Agostino R., Olson J., Guthold M., Gmeiner W. H. Increased Heating Efficiency and Selective Thermal Ablation of Malignant Tissue with DNA-Encased Multiwalled Carbon Nanotubes // *Acs Nano*. – 2009. – T. 3, № 9. – C. 2667-2673.
16. McKernan P., Virani N. A., Faria G. N. F., Karch C. G., Silvy R. P., Resasco D. E., Thompson L. F., Harrison R. G. Targeted Single-Walled Carbon Nanotubes for Photothermal Therapy Combined with Immune Checkpoint Inhibition for the Treatment of Metastatic Breast Cancer // *Nanoscale Research Letters*. – 2021. – T. 16, № 1.
17. Murali V. S., Wang R. H., Mikoryak C. A., Pantano P., Draper R. K. The impact of subcellular location on the near infrared-mediated thermal ablation of cells by targeted carbon nanotubes // *Nanotechnology*. – 2016. – T. 27, № 42.
18. Zhou F. F., Xing D., Ou Z. M., Wu B. Y., Resasco D. E., Chen W. R. Cancer photothermal therapy in the near-infrared region by using single-walled carbon nanotubes // *Journal of Biomedical Optics*. – 2009. – T. 14, № 2.
19. Zhang B., Wang H. F., Shen S., She X. J., Shi W., Chen J., Zhang Q. Z., Hu Y., Pang Z. Q., Jiang X. G. Fibrin-targeting peptide CREKA-conjugated multi-walled carbon nanotubes for self-amplified photothermal therapy of tumor // *Biomaterials*. – 2016. – T. 79. – C. 46-55.
20. Gannon C. J., Cherukuri P., Yakobson B. I., Cognet L., Kanzius J. S., Kittrell C., Weisman R. B., Pasquali M., Schmidt H. K., Smalley R. E., Curley S. A. Carbon nanotube-enhanced thermal destruction of cancer cells in a noninvasive radiofrequency field // *Cancer*. – 2007. – T. 110, № 12. – C. 2654-2665.
21. Yang K., Zhang S. A., Zhang G. X., Sun X. M., Lee S. T., Liu Z. A. Graphene in Mice: Ultrahigh In Vivo Tumor Uptake and Efficient Photothermal Therapy // *Nano Letters*. – 2010. – T. 10, № 9. – C. 3318-3323.
22. Yang K., Wan J. M., Zhang S., Tian B., Zhang Y. J., Liu Z. The influence of surface chemistry and size of nanoscale graphene oxide on photothermal therapy of cancer using ultra-low laser power // *Biomaterials*. – 2012. – T. 33, № 7. – C. 2206-2214.
23. Abdolahad M., Janmaleki M., Mohajezadeh S., Akhavan O., Abbasi S. Polyphenols attached graphene nanosheets for high efficiency NIR mediated photodestruction of cancer cells // *Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications*. – 2013. – T. 33, № 3. – C. 1498-1505.

24. de Melo-Diogo D., Lima-Sousa R., Alves C. G., Correia I. J. Graphene family nanomaterials for application in cancer combination photothermal therapy // *Biomaterials Science*. – 2019. – T. 7, № 9. – C. 3534-3551.
25. Bhattacharya S., Maiti R., Saha S., Das A. C., Mondal S., Ray S. K., Bhaktha S. B. N., Datta P. K. Infrared reduction, an efficient method to control the non-linear optical property of graphene oxide in femtosecond regime // *Nanophotonics* Vi. – 2016. – T. 9884.
26. Meng D. L., Yang S. J., Guo L., Li G. X., Ge J. C., Huang Y., Bielawski C. W., Geng J. X. The enhanced photothermal effect of graphene/conjugated polymer composites: photoinduced energy transfer and applications in photocontrolled switches // *Chemical Communications*. – 2014. – T. 50, № 92. – C. 14345-14348.
27. Shi Z. J., Zhang K., Zada S., Zhang C., Meng X. D., Yang Z., Dong H. F. Upconversion Nanoparticle-Induced Multimode Photodynamic Therapy Based on a Metal-Organic Framework/Titanium Dioxide Nanocomposite // *Acs Applied Materials & Interfaces*. – 2020. – T. 12, № 11. – C. 12600-12608.
28. Chou S. S., Kaehr B., Kim J., Foley B. M., De M., Hopkins P. E., Huang J., Brinker C. J., Dravid V. P. Chemically Exfoliated MoS₂ as Near-Infrared Photothermal Agents // *Angewandte Chemie-International Edition*. – 2013. – T. 52, № 15. – C. 4160-4164.
29. Yan H. T., Li J. H., Liu D. M., Jing X. N., Wang D. Q., Meng L. J. Controlled preparation of high quality WS₂ nanostructures by a microwave-assisted solvothermal method // *Crystengcomm*. – 2018. – T. 20, № 16. – C. 2324-2330.
30. Wang S. G., Li K., Chen Y., Chen H. R., Ma M., Feng J. W., Zhao Q. H., Shi J. L. Biocompatible PEGylated MoS₂ nanosheets: Controllable bottom-up synthesis and highly efficient photothermal regression of tumor // *Biomaterials*. – 2015. – T. 39. – C. 206-217.
31. Gao S., Zhou H. L., Cui S. M., Shen H. Bottom-up synthesis of MoS₂ nanospheres for photothermal treatment of tumors // *Photochemical & Photobiological Sciences*. – 2018. – T. 17, № 10. – C. 1337-1345.
32. Feng W., Chen L., Qin M., Zhou X. J., Zhang Q. Q., Miao Y. K., Qiu K. X., Zhang Y. Z., He C. L. Flower-like PEGylated MoS₂ nanoflakes for near-infrared photothermal cancer therapy // *Scientific Reports*. – 2015. – T. 5.
33. Ding L. N., Chang Y., Yang P. F., Gao W. H., Sun M. M., Bie Y. M., Yang L., Ma X. M., Guo Y. M. Facile synthesis of biocompatible L-cysteine-modified MoS₂ nanospheres with high photothermal conversion efficiency for photothermal therapy of tumor // *Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications*. – 2020. – T. 117.

34. Chen L., Feng Y. H., Zhou X. J., Zhang Q. Q., Nie W., Wang W. Z., Zhang Y. Z., He C. L. One-Pot Synthesis of MoS₂ Nanoflakes with Desirable Degradability for Photothermal Cancer Therapy // *Acs Applied Materials & Interfaces*. – 2017. – T. 9, № 20. – C. 17348-17359.
35. Li Z., Yang Y. H., Yao J. R., Shao Z. Z., Chen X. A facile fabrication of silk/MoS₂ hybrids for Photothermal therapy // *Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications*. – 2017. – T. 79. – C. 123-129.
36. Hatamie S., Shih P. J., Chen B. W., Wang I. J., Young T. H., Yao D. J. Synergic Effect of Novel WS₂ Carriers Holding Spherical Cobalt Ferrite @cubic Fe₃O₄ (WS₂/s-CoFe₂O₄@c-Fe₃O₄) Nanocomposites in Magnetic Resonance Imaging and Photothermal Therapy for Ocular Treatments and Investigation of Corneal Endothelial Cell Migration // *Nanomaterials*. – 2020. – T. 10, № 12.
37. Zhang C. F., Yong Y., Song L., Dong X. H., Zhang X., Liu X. F., Gu Z. J., Zhao Y. L., Hu Z. B. Multifunctional WS₂@Poly(ethylene imine) Nanoplatfoms for Imaging Guided Gene-Photothermal Synergistic Therapy of Cancer // *Advanced Healthcare Materials*. – 2016. – T. 5, № 21. – C. 2776-2787.
38. Jiang J. Y., Qian Y. Y., Xu Z. H., Lv Z., Tao P., Xie M. J., Liu S. J., Huang W., Zhao Q. Enhancing singlet oxygen generation in semiconducting polymer nanoparticles through fluorescence resonance energy transfer for tumor treatment // *Chemical Science*. – 2019. – T. 10, № 19. – C. 5085-5094.
39. Pandey S., Sharma K. H., Sharma A. K., Nerthigan Y., Hang D. R., Wu H. F. Comparative Photothermal Performance among Various Sub-Stoichiometric 2D Oxygen-Deficient Molybdenum Oxide Nanoflakes and InVivo Toxicity // *Chemistry-a European Journal*. – 2018. – T. 24, № 29. – C. 7417-7427.
40. Ding D. D., Guo W., Guo C. S., Sun J. Z., Zheng N. N., Wang F., Yan M., Liu S. Q. MoO_{3-x} quantum dots for photoacoustic imaging guided photothermal/photodynamic cancer treatment // *Nanoscale*. – 2017. – T. 9, № 5. – C. 2020-2029.
41. Song G., Hao J., Liang C., Liu T., Gao M., Cheng L., Hu J., Liu Z. Degradable Molybdenum Oxide Nanosheets with Rapid Clearance and Efficient Tumor Homing Capabilities as a Therapeutic Nanoplatfom // *Angew Chem Int Ed Engl*. – 2016. – T. 55, № 6. – C. 2122-6.
42. Odda A. H., Xu Y. C., Lin J., Wang G., Ullah N., Zeb A., Liang K., Wen L. P., Xu A. W. Plasmonic MoO_{3-x} nanoparticles incorporated in Prussian blue frameworks exhibit highly efficient dual photothermal/photodynamic therapy // *Journal of Materials Chemistry B*. – 2019. – T. 7, № 12. – C. 2032-2042.
43. Bao T., Yin W. Y., Zheng X. P., Zhang X., Yu J., Dong X. H., Yong Y., Gao F. P., Yan L., Gu Z. J., Zhao Y. L. One-pot synthesis of PEGylated plasmonic MoO_{3-x} hollow nanospheres for photoacoustic imaging guided chemo-photothermal combinational therapy of cancer // *Biomaterials*. – 2016. – T. 76. – C. 11-24.

44. Chala T. F., Wu C. M., Chou M. H., Gebeyehu M. B., Cheng K. B. Highly Efficient Near Infrared Photothermal Conversion Properties of Reduced Tungsten Oxide/Polyurethane Nanocomposites // *Nanomaterials*. – 2017. – T. 7, № 7.
45. Li B., Wang X., Wu X. Y., He G. J., Xu R. Y., Lu X. W., Wang F. R., Parkin I. P. Phase and morphological control of MoO_{3-x} nanostructures for efficient cancer theragnosis therapy // *Nanoscale*. – 2017. – T. 9, № 31. – C. 11012-11016.
46. Zhan Y., Liu Y. L., Zu H. R., Guo Y. X., Wu S. S., Yang H. Y., Liu Z. M., Lei B. F., Zhuang J. L., Zhang X. J., Huang D., Hu C. F. Phase-controlled synthesis of molybdenum oxide nanoparticles for surface enhanced Raman scattering and photothermal therapy // *Nanoscale*. – 2018. – T. 10, № 13. – C. 5997-6004.
47. Saeed M., Ren W. Z., Wu A. G. Therapeutic applications of iron oxide based nanoparticles in cancer: basic concepts and recent advances // *Biomaterials Science*. – 2018. – T. 6, № 4. – C. 708-725.
48. Shen S., Kong F. F., Guo X. M., Wu L., Shen H. J., Xie M., Wang X. S., Jin Y., Ge Y. R. CMCTS stabilized Fe₃O₄ particles with extremely low toxicity as highly efficient near-infrared photothermal agents for in vivo tumor ablation // *Nanoscale*. – 2013. – T. 5, № 17. – C. 8056-8066.
49. Chen H. W., Burnett J., Zhang F. X., Zhang J. M., Paholak H., Sun D. X. Highly crystallized iron oxide nanoparticles as effective and biodegradable mediators for photothermal cancer therapy // *Journal of Materials Chemistry B*. – 2014. – T. 2, № 7. – C. 757-765.
50. Yang Y. X., Huang M. W., Qian J. M., Gao D. Q., Liang X. L. Tunable Fe₃O₄ Nanorods for Enhanced Magnetic Hyperthermia Performance // *Scientific Reports*. – 2020. – T. 10, № 1.
51. Gawali S. L., Shelar S. B., Gupta J., Barick K. C., Hassan P. A. Immobilization of protein on Fe₃O₄ nanoparticles for magnetic hyperthermia application // *International Journal of Biological Macromolecules*. – 2021. – T. 166. – C. 851-860.
52. Niraula G., Coaquira J. A. H., Zoppellaro G., Villar B. M. G., Garcia F., Bakuzis A. F., Longo J. P. F., Rodrigues M. C., Muraca D., Ayesh A. I., Sinfionio F. S. M., de Menezes A. S., Goya G. F., Sharma S. K. Engineering Shape Anisotropy of Fe₃O₄-gamma-Fe₂O₃ Hollow Nanoparticles for Magnetic Hyperthermia // *Acs Applied Nano Materials*. – 2021. – T. 4, № 3. – C. 3148-3158.
53. Goncalves J., Nunes C., Ferreira L., Cruz M. M., Oliveira H., Bastos V., Mayoral A., Zhang Q., Ferreira P. Coating of Magnetite Nanoparticles with Fucoidan to Enhance Magnetic Hyperthermia Efficiency // *Nanomaterials*. – 2021. – T. 11, № 11.
54. Shen S., Wang S., Zheng R., Zhu X. Y., Jiang X. G., Fu D. L., Yang W. L. Magnetic nanoparticle clusters for photothermal therapy with near-infrared irradiation // *Biomaterials*. – 2015. – T. 39. – C. 67-74.

55. Guo X. M., Wu Z., Li W., Wang Z. H., Li Q. P., Kong F. F., Zhang H. B., Zhu X. L., Du Y. P. P., Jin Y., Du Y. Z., You J. Appropriate Size of Magnetic Nanoparticles for Various Bioapplications in Cancer Diagnostics and Therapy // *Acs Applied Materials & Interfaces*. – 2016. – T. 8, № 5. – C. 3092-3106.
56. Yang R. M., Fu C. P., Fang J. Z., Xu X. D., Wei X. H., Tang W. J., Jiang X. Q., Zhang L. M. Hyaluronan-modified superparamagnetic iron oxide nanoparticles for bimodal breast cancer imaging and photothermal therapy // *International Journal of Nanomedicine*. – 2017. – T. 12. – C. 197-206.
57. Zhou Z. G., Sun Y. A., Shen J. C., Wei J., Yu C., Kong B., Liu W., Yang H., Yang S. P., Wang W. Iron/iron oxide core/shell nanoparticles for magnetic targeting MRI and near-infrared photothermal therapy // *Biomaterials*. – 2014. – T. 35, № 26. – C. 7470-7478.
58. Jung H. S., Han J., Lee J. H., Lee J. H., Choi J. M., Kweon H. S., Han J. H., Kim J. H., Byun K. M., Jung J. H., Kang C., Kim J. S. Enhanced NIR Radiation-Triggered Hyperthermia by Mitochondrial Targeting // *Journal of the American Chemical Society*. – 2015. – T. 137, № 8. – C. 3017-3023.
59. Ren X. Q., Zheng R., Fang X. L., Wang X. F., Zhang X. Y., Yang W. L., Sha X. Y. Red blood cell membrane camouflaged magnetic nanoclusters for imaging-guided photothermal therapy // *Biomaterials*. – 2016. – T. 92. – C. 13-24.
60. Rao L., Bu L. L., Meng Q. F., Cai B., Deng W. W., Li A., Li K. Y., Guo S. S., Zhang W. F., Liu W., Sun Z. J., Zhao X. Z. Antitumor Platelet-Mimicking Magnetic Nanoparticles // *Advanced Functional Materials*. – 2017. – T. 27, № 9.
61. Li Y. B., Lu W., Huang Q. A., Huang M. A., Li C., Chen W. Copper sulfide nanoparticles for photothermal ablation of tumor cells // *Nanomedicine*. – 2010. – T. 5, № 8. – C. 1161-1171.
62. Zhou M., Song S. L., Zhang R., Huang M., Melancon M. P., Li C. A new chelator-free multifunctional [64Cu]CuS nanoparticle platform for simultaneous mu PET/CT imaging and radiotherapy // *Journal of Nuclear Medicine*. – 2011. – T. 52.
63. Tian Q. W., Jiang F. R., Zou R. J., Liu Q., Chen Z. G., Zhu M. F., Yang S. P., Wang J. L., Wang J. H., Hu J. Q. Hydrophilic Cu₉S₅ Nanocrystals: A Photothermal Agent with a 25.7% Heat Conversion Efficiency for Photothermal Ablation of Cancer Cells in Vivo // *Acs Nano*. – 2011. – T. 5, № 12. – C. 9761-9771.
64. Mou J., Li P., Liu C. B., Xu H. X., Song L., Wang J., Zhang K., Chen Y., Shi J. L., Chen H. R. Ultrasmall Cu₂-xS Nanodots for Highly Efficient Photoacoustic Imaging-Guided Photothermal Therapy // *Small*. – 2015. – T. 11, № 19. – C. 2275-2283.
65. Feng W., Nie W., Cheng Y. H., Zhou X. J., Chen L., Qiu K. X., Chen Z. G., Zhu M. F., He C. L. In vitro and in vivo toxicity studies of copper sulfide nanoplates for potential photothermal applications // *Nanomedicine-Nanotechnology Biology and Medicine*. – 2015. – T. 11, № 4. – C. 901-912.

66. Huang Y. Z., Lai Y. L., Shi S. G., Hao S. F., Wei J. P., Chen X. L. Copper Sulfide Nanoparticles with Phospholipid-PEG Coating for In Vivo Near-Infrared Photothermal Cancer Therapy // *Chemistry-an Asian Journal*. – 2015. – T. 10, № 2. – C. 370-376.
67. Huang H. B., Li K., Liu Q. Z., Zhao Y. L., Xu H. T., Wu W. J., Sun K. R., Ni J. M., Lin J. G. Dual-response CuS@MnO₂ nanoparticles with activatable CT/MR-enhanced in vivo imaging guided photothermal therapy // *Rsc Advances*. – 2019. – T. 9, № 5. – C. 2718-2730.
68. Tai Y. W., Chiu Y. C., Wu P. T., Yu J. S., Chin Y. C., Wu S. P., Chuang Y. C., Hsieh H. C., Lai P. S., Yu H. P., Liao M. Y. Degradable NIR-PTT Nanoagents with a Potential Cu@Cu₂O@Polymer Structure // *Acs Applied Materials & Interfaces*. – 2018. – T. 10, № 6. – C. 5161-5174.
69. Huang X. H., Jain P. K., El-Sayed I. H., El-Sayed M. A. Plasmonic photothermal therapy (PPTT) using gold nanoparticles // *Lasers in Medical Science*. – 2008. – T. 23, № 3. – C. 217-228.
70. Link S., El-Sayed M. A. Shape and size dependence of radiative, non-radiative and photothermal properties of gold nanocrystals // *International Reviews in Physical Chemistry*. – 2000. – T. 19, № 3. – C. 409-453.
71. Graham E. G., MACNEILL C. M., LEVI-POLYACHENKO N. H. Review of metal, carbon and polymer nanoparticles for infrared photothermal therapy // *Nano Life*. – 2013. – T. 3, № 03. – C. 1330002.
72. Principles of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy: and related plasmonic effects. / Le Ru E., Etchegoin P.: Elsevier, 2008.
73. Wang T., Long X. H., Cheng Y. Z., Liu Z. P., Yan S. H. The potential toxicity of copper nanoparticles and copper sulphate on juvenile *Epinephelus coioides* // *Aquatic Toxicology*. – 2014. – T. 152. – C. 96-104.
74. Stensberg M. C., Wei Q. S., McLamore E. S., Porterfield D. M., Wei A., Sepulveda M. S. Toxicological studies on silver nanoparticles: challenges and opportunities in assessment, monitoring and imaging // *Nanomedicine*. – 2011. – T. 6, № 5. – C. 879-898.
75. Fahmy H. M., Mosleh A. M., Abd Elghany A., Shams-Eldin E., Abu Serea E. S., Ali S. A., Shalan A. E. Coated silver nanoparticles: synthesis, cytotoxicity, and optical properties // *Rsc Advances*. – 2019. – T. 9, № 35. – C. 20118-20136.
76. Vines J. B., Yoon J. H., Ryu N. E., Lim D. J., Park H. Gold Nanoparticles for Photothermal Cancer Therapy // *Frontiers in Chemistry*. – 2019. – T. 7.
77. Yang W. J., Liang H. Z., Ma S. H., Wang D., Huang J. Gold nanoparticle based photothermal therapy: Development and application for effective cancer treatment // *Sustainable Materials and Technologies*. – 2019. – T. 22.

78. Hwang S., Nam J., Jung S., Song J., Doh H., Kim S. Gold nanoparticle-mediated photothermal therapy: current status and future perspective // *Nanomedicine*. – 2014. – T. 9, № 13. – C. 2003-2022.
79. Huang X., El-Sayed M. A. Gold nanoparticles: Optical properties and implementations in cancer diagnosis and photothermal therapy // *Journal of advanced research*. – 2010. – T. 1, № 1. – C. 13-28.
80. Xiong Y., Lu X. *Metallic Nanostructures* // Springer International Publishing. DOI. – 2015. – T. 10. – C. 978-3.
81. Wang Y. C., Rheume E., Lesage F., Kakkar A. Synthetic Methodologies to Gold Nanoshells: An Overview // *Molecules*. – 2018. – T. 23, № 11.
82. Rodriguez-Montelongo S. A., Gonzalez-Hernandez J., Macias A. H., Silva-Ramirez A. S., Castillo Martin del Campo C. G., Gutierrez-Hernandez J. M., Ruiz F., Gonzalez-Ortega O. Synthesis, characterization, and toxicity of hollow gold nanoshells // *Journal of Nanoparticle Research*. – 2018. – T. 20, № 11.
83. Shmarakov I., Mukha I., Vityuk N., Borschovetska V., Zhyschynska N., Grodzyuk G., Eremenko A. Antitumor Activity of Alloy and Core-Shell-Type Bimetallic AgAu Nanoparticles // *Nanoscale Research Letters*. – 2017. – T. 12.
84. Peng Z. M., Yang H. Ag-Pt alloy nanoparticles with the compositions in the miscibility gap // *Journal of Solid State Chemistry*. – 2008. – T. 181, № 7. – C. 1546-1551.
85. Chen J. Y., Wiley B., McLellan J., Xiong Y. J., Li Z. Y., Xia Y. N. Optical properties of Pd-Ag and Pt-Ag nanoboxes synthesized via galvanic replacement reactions // *Nano Letters*. – 2005. – T. 5, № 10. – C. 2058-2062.
86. Sanedrin R. G., Georganopoulou D. G., Park S., Mirkin C. A. Seed-mediated growth of bimetallic prisms // *Advanced Materials*. – 2005. – T. 17, № 8. – C. 1027-+.
87. Lu L., Burkey G., Halaciuga I., Goia D. V. Core-shell gold/silver nanoparticles: Synthesis and optical properties // *Journal of Colloid and Interface Science*. – 2013. – T. 392. – C. 90-95.
88. Chen L., Zhao W., Jiao W., He X., Wang J., Zhang Y. Characterization of Ag/Pt core-shell nanoparticles by UV-vis absorption, resonance light-scattering techniques // *Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. – 2007. – T. 68, № 3. – C. 484-490.
89. Long N. V., Hien T. D., Asaka T., Ohtaki M., Nogami M. Synthesis and characterization of Pt-Pd nanoparticles with core-shell morphology: Nucleation and overgrowth of the Pd shells on the as-prepared and defined Pt seeds // *Journal of Alloys and Compounds*. – 2011. – T. 509, № 29. – C. 7702-7709.
90. Bruna T., Maldonado-Bravo F., Jara P., Caro N. Silver Nanoparticles and Their Antibacterial Applications // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – T. 22, № 13.

91. Boca S. C., Potara M., Gabudean A. M., Juhem A., Baldeck P. L., Astilean S. Chitosan-coated triangular silver nanoparticles as a novel class of biocompatible, highly effective photothermal transducers for in vitro cancer cell therapy // *Cancer Letters*. – 2011. – T. 311, № 2. – C. 131-140.
92. Behnam M. A., Emami F., Sobhani Z., Koohi-Hosseinabadi O., Dehghanian A. R., Zebarjad S. M., Moghim M. H., Oryan A. Novel Combination of Silver Nanoparticles and Carbon Nanotubes for Plasmonic Photo Thermal Therapy in Melanoma Cancer Model // *Advanced Pharmaceutical Bulletin*. – 2018. – T. 8, № 1. – C. 49-55.
93. Liu B., Zhou J., Zhang B., Qu J. Synthesis of Ag@Fe₃O₄ Nanoparticles for Photothermal Treatment of Ovarian Cancer // *Journal of Nanomaterials*. – 2019. – T. 2019.
94. Wang F., Liu P., Sun L., Li C. C., Petrenko V. A., Liu A. H. Bio-mimetic Nanostructure Self-assembled from Au@Ag Heterogeneous Nanorods and Phage Fusion Proteins for Targeted Tumor Optical Detection and Photothermal Therapy // *Scientific Reports*. – 2014. – T. 4.
95. Huang Y. F., Sefah K., Bamrungsap S., Chang H. T., Tan W. Selective Photothermal Therapy for Mixed Cancer Cells Using Aptamer-Conjugated Nanorods // *Langmuir*. – 2008. – T. 24, № 20. – C. 11860-11865.
96. Au L., Zheng D. S., Zhou F., Li Z. Y., Li X. D., Xia Y. N. A quantitative study on the photothermal effect of immuno gold nanocages targeted to breast cancer cells // *Acs Nano*. – 2008. – T. 2, № 8. – C. 1645-1652.
97. Chen J. Y., Glaus C., Laforest R., Zhang Q., Yang M. X., Gidding M., Welch M. J., Xia Y. N. Gold Nanocages as Photothermal Transducers for Cancer Treatment // *Small*. – 2010. – T. 6, № 7. – C. 811-817.
98. Ye X. S., Shi H., He X. X., Wang K. M., Li D., Qiu P. C. Gold nanorod-seeded synthesis of Au@Ag/Au nanospheres with broad and intense near-infrared absorption for photothermal cancer therapy // *Journal of Materials Chemistry B*. – 2014. – T. 2, № 23. – C. 3667-3673.
99. Turkevich J., Stevenson P. C., Hillier J. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold // *Discussions of the Faraday Society*. – 1951. – T. 11. – C. 55-75.
100. Uehara N. Polymer-functionalized Gold Nanoparticles as Versatile Sensing Materials // *Analytical Sciences*. – 2010. – T. 26, № 12. – C. 1219-1228.
101. Liu B., Liu J. W. Methods for preparing DNA-functionalized gold nanoparticles, a key reagent of bioanalytical chemistry // *Analytical Methods*. – 2017. – T. 9, № 18. – C. 2633-2643.
102. Wangoo N., Suri C. R., Shekhawat G. Interaction of gold nanoparticles with protein: A spectroscopic study to monitor protein conformational changes // *Applied Physics Letters*. – 2008. – T. 92, № 13.

103. Jazayeri M. H., Amani H., Pourfatollah A. A., Pazoki-Toroudi H., Sedighimoghaddam B. Various methods of gold nanoparticles (GNPs) conjugation to antibodies // *Sensing and bio-sensing research*. – 2016. – T. 9. – C. 17-22.
104. Pitsillides C. M., Joe E. K., Wei X. B., Anderson R. R., Lin C. P. Selective cell targeting with light-absorbing microparticles and nanoparticles // *Biophysical Journal*. – 2003. – T. 84, № 6. – C. 4023-4032.
105. Zharov V. P., Galitovskaya E., Viegas M. Photothermal guidance for selective photothermolysis with nanoparticles // *Laser Interaction with Tissue and Cells Xv*. – 2004. – T. 5319. – C. 291-300.
106. Zharov V. P., Galitovskaya E. N., Johnson C., Kelly T. Synergistic enhancement of selective nanophotothermolysis with gold nanoclusters: Potential for cancer therapy (vol 37, pg 219, 2005) // *Lasers in Surgery and Medicine*. – 2005. – T. 37, № 4. – C. 329-329.
107. Zharov V. P., Kim J. W., Curiel D. T., Everts M. Self- assembling nanoclusters in living systems: application for integrated photothermal nanodiagnostics and nanotherapy // *Nanomedicine-Nanotechnology Biology and Medicine*. – 2005. – T. 1, № 4. – C. 326-345.
108. El-Sayed I. H., Huang X. H., El-Sayed M. A. Selective laser photo-thermal therapy of epithelial carcinoma using anti-EGFR antibody conjugated gold nanoparticles // *Cancer Letters*. – 2006. – T. 239, № 1. – C. 129-135.
109. Huang X. H., Kang B., Qian W., Mackey M. A., Chen P. C., Oyelere A. K., El-Sayed I. H., El-Sayed M. A. Comparative study of photothermolysis of cancer cells with nuclear-targeted or cytoplasm-targeted gold nanospheres: continuous wave or pulsed lasers // *Journal of Biomedical Optics*. – 2010. – T. 15, № 5.
110. Huang X., Qian W., El-Sayed I. H., El-Sayed M. A. The potential use of the enhanced nonlinear properties of gold nanospheres in photothermal cancer therapy // *Lasers in Surgery and Medicine*. – 2007. – T. 39, № 9. – C. 747-753.
111. Rengan A. K., Jagtap M., De A., Banerjee R., Srivastava R. Multifunctional gold coated thermo-sensitive liposomes for multimodal imaging and photothermal therapy of breast cancer cells // *Nanoscale*. – 2014. – T. 6, № 2. – C. 916-923.
112. Rengan A. K., Bukhari A. B., Pradhan A., Malhotra R., Banerjee R., Srivastava R., De A. In Vivo Analysis of Biodegradable Liposome Gold Nanoparticles as Efficient Agents for Photothermal Therapy of Cancer // *Nano Letters*. – 2015. – T. 15, № 2. – C. 842-848.
113. Chen J. H., Ma Y. C., Du W., Dai T. Y., Wang Y. F., Jiang W., Wan Y. F., Wang Y. C., Liang G. L., Wang G. F. Furin-Instructed Intracellular Gold Nanoparticle Aggregation for Tumor Photothermal Therapy // *Advanced Functional Materials*. – 2020. – T. 30, № 50.

114. Yang S. Y., Yao D. F., Wang Y. S., Yang W. T., Zhang B. B., Wang D. B. Enzyme-triggered self-assembly of gold nanoparticles for enhanced retention effects and photothermal therapy of prostate cancer // *Chemical Communications*. – 2018. – T. 54, № 70. – C. 9841-9844.
115. Park S., Kim H., Lim S. C., Lim K., Lee E. S., Oh K. T., Choi H. G., Youn Y. S. Gold nanocluster-loaded hybrid albumin nanoparticles with fluorescence-based optical visualization and photothermal conversion for tumor detection/ablation // *Journal of Controlled Release*. – 2019. – T. 304. – C. 7-18.
116. Xuan M. J., Shao J. X., Dai L. R., Li J. B., He Q. Macrophage Cell Membrane Camouflaged Au Nanoshells for in Vivo Prolonged Circulation Life and Enhanced Cancer Photothermal Therapy // *Acs Applied Materials & Interfaces*. – 2016. – T. 8, № 15. – C. 9610-9618.
117. Iodice C., Cervadoro A., Palange A. L., Key J., Aryal S., Ramirez M. R., Mattu C., Ciardelli G., O'Neill B. E., Decuzzi P. Enhancing photothermal cancer therapy by clustering gold nanoparticles into spherical polymeric nanoconstructs // *Optics and Lasers in Engineering*. – 2016. – T. 76. – C. 74-81.
118. Hirsch L. R., Stafford R. J., Bankson J. A., Sershen S. R., Rivera B., Price R. E., Hazle J. D., Halas N. J., West J. L. Nanoshell-mediated near-infrared thermal therapy of tumors under magnetic resonance guidance // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2003. – T. 100, № 23. – C. 13549-13554.
119. Madsen S. J., Baek S. K., Makkouk A. R., Krasieva T., Hirschberg H. Macrophages as Cell-Based Delivery Systems for Nanoshells in Photothermal Therapy // *Annals of Biomedical Engineering*. – 2012. – T. 40, № 2. – C. 507-515.
120. Bear A. S., Kennedy L. C., Young J. K., Perna S. K., Almeida J. P. M., Lin A. Y., Eckels P. C., Drezek R. A., Foster A. E. Elimination of Metastatic Melanoma Using Gold Nanoshell-Enabled Photothermal Therapy and Adoptive T Cell Transfer // *Plos One*. – 2013. – T. 8, № 7.
121. Kang S. H., Lee Y. K., Park I. S., Park I. K., Hong S. M., Kwon S. Y., Choi Y. H., Madsen S. J., Hirschberg H., Hong S. J. Biomimetic Gold Nanoshell-Loaded Macrophage for Photothermal Biomedicine // *Biomed Research International*. – 2020. – T. 2020.
122. Reinhard B. M., Siu M., Agarwal H., Alivisatos A. P., Liphardt J. Calibration of dynamic molecular rule based on plasmon coupling between gold nanoparticles // *Nano Letters*. – 2005. – T. 5, № 11. – C. 2246-2252.
123. Skrabalak S. E., Au L., Li X. D., Xia Y. N. Facile synthesis of Ag nanocubes and Au nanocages // *Nature Protocols*. – 2007. – T. 2, № 9. – C. 2182-2190.
124. Skrabalak S. E., Chen J. Y., Sun Y. G., Lu X. M., Au L., Cobley C. M., Xia Y. N. Gold Nanocages: Synthesis, Properties, and Applications // *Accounts of Chemical Research*. – 2008. – T. 41, № 12. – C. 1587-1595.

125. Huang S. N., Duan S. F., Wang J., Bao S. J., Qiu X. J., Li C. M., Liu Y., Yan L. J., Zhang Z. Z., Hu Y. R. Folic-Acid-Mediated Functionalized Gold Nanocages for Targeted Delivery of Anti-miR-181b in Combination of Gene Therapy and Photothermal Therapy against Hepatocellular Carcinoma // *Advanced Functional Materials*. – 2016. – T. 26, № 15. – C. 2532-2544.
126. Piao J. G., Gao F., Li Y. N., Yu L., Liu D., Tan Z. B., Xiong Y. J., Yang L. H., You Y. Z. pH-sensitive zwitterionic coating of gold nanocages improves tumor targeting and photothermal treatment efficacy // *Nano Research*. – 2018. – T. 11, № 6. – C. 3193-3204.
127. Huang X. H., El-Sayed I. H., Qian W., El-Sayed M. A. Cancer cell imaging and photothermal therapy in the near-infrared region by using gold nanorods // *Journal of the American Chemical Society*. – 2006. – T. 128, № 6. – C. 2115-2120.
128. Amendola V., Pilot R., Frasconi M., Marago O. M., Iati M. A. Surface plasmon resonance in gold nanoparticles: a review // *Journal of Physics-Condensed Matter*. – 2017. – T. 29, № 20.
129. Mackey M. A., Ali M. R. K., Austin L. A., Near R. D., El-Sayed M. A. The Most Effective Gold Nanorod Size for Plasmonic Photothermal Therapy: Theory and In Vitro Experiments // *Journal of Physical Chemistry B*. – 2014. – T. 118, № 5. – C. 1319-1326.
130. Morales-Dalmau J., Vilches C., de Miguel I., Sanz V., Quidant R. Optimum morphology of gold nanorods for light-induced hyperthermia // *Nanoscale*. – 2018. – T. 10, № 5. – C. 2632-2638.
131. Wang X. Y., Wang H. L., Wang Y. T., Yu X. T., Zhang S. J., Zhang Q., Cheng Y. Y. A Facile Strategy to Prepare Dendrimer-stabilized Gold Nanorods with Sub-10-nm Size for Efficient Photothermal Cancer Therapy // *Scientific Reports*. – 2016. – T. 6.
132. Liao S. N., Yue W., Cai S. N., Tang Q., Lu W. T., Huang L. X., Qi T. T., Liao J. F. Improvement of Gold Nanorods in Photothermal Therapy: Recent Progress and Perspective // *Frontiers in Pharmacology*. – 2021. – T. 12.
133. Khan N. U., Lin J., Younas M. R., Liu X. K., Shen L. M. Synthesis of gold nanorods and their performance in the field of cancer cell imaging and photothermal therapy // *Cancer Nanotechnology*. – 2021. – T. 12, № 1.
134. Zong Q. D., Dong N. J., Yang X. T., Ling G. X., Zhang P. Development of gold nanorods for cancer treatment // *Journal of Inorganic Biochemistry*. – 2021. – T. 220.
135. Turcheniuk K., Dumych T., Bilyy R., Turcheniuk V., Bouckaert J., Vovk V., Chopyak V., Zaitsev V., Mariot P., Prevarskaya N., Boukherroub R., Szunerits S. Plasmonic photothermal cancer therapy with gold nanorods/reduced graphene oxide core/shell nanocomposites // *Rsc Advances*. – 2016. – T. 6, № 2. – C. 1600-1610.

136. Lim D. K., Barhoumi A., Wylie R. G., Reznor G., Langer R. S., Kohane D. S. Enhanced Photothermal Effect of Plasmonic Nanoparticles Coated with Reduced Graphene Oxide // *Nano Letters*. – 2013. – T. 13, № 9. – C. 4075-4079.
137. Dembereldorj U., Choi S. Y., Ganbold E. O., Song N. W., Kim D., Choo J., Lee S. Y., Kim S., Joo S. W. Gold Nanorod-Assembled PEGylated Graphene-Oxide Nanocomposites for Photothermal Cancer Therapy // *Photochemistry and Photobiology*. – 2014. – T. 90, № 3. – C. 659-666.
138. Espinosa A., Silva A. K. A., Sanchez-Iglesias A., Grzelczak M., Pechoux C., Desboeufs K., Liz-Marzan L. M., Wilhelm C. Cancer Cell Internalization of Gold Nanostars Impacts Their Photothermal Efficiency In Vitro and In Vivo: Toward a Plasmonic Thermal Fingerprint in Tumoral Environment // *Advanced Healthcare Materials*. – 2016. – T. 5, № 9. – C. 1040-1048.
139. Hou F. L., Zhu Y. H., Zou Q., Zhang C., Wang H., Liao Y. G., Wang Q., Yang X. L., Yang Y. J. One-step preparation of multifunctional alginate microspheres loaded with in situ-formed gold nanostars as a photothermal agent // *Materials Chemistry Frontiers*. – 2019. – T. 3, № 10. – C. 2018-2024.
140. Song C. Y., Li F., Guo X. Y., Chen W. Q., Dong C., Zhang J. J., Zhang J. Y., Wang L. H. Gold nanostars for cancer cell-targeted SERS-imaging and NIR light-triggered plasmonic photothermal therapy (PPTT) in the first and second biological windows // *Journal of Materials Chemistry B*. – 2019. – T. 7, № 12. – C. 2001-2008.
141. Pakravan A., Salehi R., Mahkam M. Comparison study on the effect of gold nanoparticles shape in the forms of star, hallow, cage, rods, and Si -Au and Fe -Au core-shell on photothermal cancer treatment // *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. – 2021. – T. 33.
142. Pattani V. P., Tunnell J. W. Nanoparticle-mediated photothermal therapy: A comparative study of heating for different particle types // *Lasers in Surgery and Medicine*. – 2012. – T. 44, № 8. – C. 675-684.
143. Wang Y. C., Black K. C. L., Luehmann H., Li W. Y., Zhang Y., Cai X., Wan D. H., Liu S. Y., Li M., Kim P., Li Z. Y., Wang L. H. V., Liu Y. J., Xia Y. A. Comparison Study of Gold Nanohexapods, Nanorods, and Nanocages for Photothermal Cancer Treatment // *Acs Nano*. – 2013. – T. 7, № 3. – C. 2068-2077.
144. Mao W., Son Y. J., Yoo H. S. Gold nanospheres and nanorods for anti-cancer therapy: comparative studies of fabrication, surface-decoration, and anti-cancer treatments // *Nanoscale*. – 2020. – T. 12, № 28. – C. 14996-15020.
145. Clennan E. L. New mechanistic and synthetic aspects of singlet oxygen chemistry // *Tetrahedron*. – 2000. – T. 56, № 47. – C. 9151-9179.

146. Ke M. R., Ng D. K. P., Lo P. C. A pH-responsive fluorescent probe and photosensitizer based on a self-quenched phthalocyanine dimer // *Chemical Communications*. – 2012. – T. 48, № 72. – C. 9065-9067.
147. Li X., Kim C. Y., Lee S., Lee D., Chung H. M., Kim G., Heo S. H., Kim C., Hong K. S., Yoon J. Nanostructured Phthalocyanine Assemblies with Protein-Driven Switchable Photoactivities for Biophotonic Imaging and Therapy // *Journal of the American Chemical Society*. – 2017. – T. 139, № 31. – C. 10880-10886.
148. Lau J. T. F., Jiang X. J., Ng D. K. P., Lo P. C. A disulfide-linked conjugate of ferrocenyl chalcone and silicon(IV) phthalocyanine as an activatable photosensitizer // *Chemical Communications*. – 2013. – T. 49, № 39. – C. 4274-4276.
149. Gao J., Li J., Geng W. C., Chen F. Y., Duan X. C., Zheng Z., Ding D., Guo D. S. Biomarker Displacement Activation: A General Host-Guest Strategy for Targeted Phototheranostics in Vivo // *Journal of the American Chemical Society*. – 2018. – T. 140, № 14. – C. 4945-4953.
150. Singh N., Qutub S., Khashab N. M. Biocompatibility and biodegradability of metal organic frameworks for biomedical applications // *Journal of Materials Chemistry B*. – 2021. – T. 9, № 30. – C. 5925-5934.
151. Chen R., Chen W. C., Yan L., Tian S., Liu B., Chen X. F., Lee C. S., Zhang W. J. Harnessing combinational phototherapy via post-synthetic PpIX conjugation on nanoscale metal-organic frameworks // *Journal of Materials Chemistry B*. – 2019. – T. 7, № 31. – C. 4763-4770.
152. Kan J. L., Jiang Y., Xue A. Q., Yu Y. H., Wang Q. B., Zhou Y., Dong Y. B. Surface Decorated Porphyrinic Nanoscale Metal Organic Framework for Photodynamic Therapy // *Inorganic Chemistry*. – 2018. – T. 57, № 9. – C. 5420-5428.
153. Fu X. W., Yang Z. Y., Deng T., Chen J., Wen Y. L., Fu X. X., Zhou L., Zhu Z. J., Yu C. A natural polysaccharide mediated MOF-based Ce6 delivery system with improved biological properties for photodynamic therapy // *Journal of Materials Chemistry B*. – 2020. – T. 8, № 7. – C. 1481-1488.
154. Hu F., Mao D., Kenry, Wang Y. X., Wu W. B., Zhao D., Kong D. L., Liu B. Metal-Organic Framework as a Simple and General Inert Nanocarrier for Photosensitizers to Implement Activatable Photodynamic Therapy // *Advanced Functional Materials*. – 2018. – T. 28, № 19.
155. Zhou L. L., Guan Q., Li Y. A., Zhou Y., Xin Y. B., Dong Y. B. One-Pot Synthetic Approach toward Porphyrinatozinc and Heavy-Atom Involved Zr-NMOF and Its Application in Photodynamic Therapy // *Inorganic Chemistry*. – 2018. – T. 57, № 6. – C. 3169-3176.
156. Zhang D., Ye Z. J., Wei L., Luo H. B., Xiao L. H. Cell Membrane-Coated Porphyrin Metal-Organic Frameworks for Cancer Cell Targeting and O-2-Evolving Photodynamic Therapy // *Acs Applied Materials & Interfaces*. – 2019. – T. 11, № 43. – C. 39594-39602.

157. Zhang Y., Wang F. M., Liu C. Q., Wang Z. Z., Kang L. H., Huang Y. Y., Dong K., Ren J. S., Qu X. G. Nanozyme Decorated Metal-Organic Frameworks for Enhanced Photodynamic Therapy // *Acs Nano*. – 2018. – T. 12, № 1. – C. 651-661.
158. Lu K. D., He C. B., Lin W. B. Nanoscale Metal-Organic Framework for Highly Effective Photodynamic Therapy of Resistant Head and Neck Cancer // *Journal of the American Chemical Society*. – 2014. – T. 136, № 48. – C. 16712-16715.
159. Zhao Y. W., Kuang Y., Liu M., Wang J., Pei R. J. Synthesis of Metal-Organic Framework Nanosheets with High Relaxation Rate and Singlet Oxygen Yield // *Chemistry of Materials*. – 2018. – T. 30, № 21. – C. 7511-7520.
160. Zhang L., Lei J. P., Ma F. J., Ling P. H., Liu J. T., Ju H. X. A porphyrin photosensitized metal-organic framework for cancer cell apoptosis and caspase responsive theranostics // *Chemical Communications*. – 2015. – T. 51, № 54. – C. 10831-10834.
161. Solovyov K. N., Borisevich E. A. Intramolecular heavy-atom effect in the photophysics of organic molecules // *Physics-Uspekhi*. – 2005. – T. 48, № 3. – C. 231-253.
162. Gorman A., Killoran J., O'Shea C., Kenna T., Gallagher W. M., O'Shea D. F. In vitro demonstration of the heavy-atom effect for photodynamic therapy // *Journal of the American Chemical Society*. – 2004. – T. 126, № 34. – C. 10619-10631.
163. Park J., Feng D. W., Yuan S., Zhou H. C. Photochromic Metal-Organic Frameworks: Reversible Control of Singlet Oxygen Generation // *Angewandte Chemie-International Edition*. – 2015. – T. 54, № 2. – C. 430-+.
164. Li Y. F., Di Z. H., Gao J. H., Cheng P., Di C. Z., Zhang G., Liu B., Shi X. H., Sun L. D., Li L. L., Yan C. H. Heterodimers Made of Upconversion Nanoparticles and Metal-Organic Frameworks // *Journal of the American Chemical Society*. – 2017. – T. 139, № 39. – C. 13804-13810.
165. Kim J., Kang D. G., Kim S. K., Joo T. Role of coherent nuclear motion in the ultrafast intersystem crossing of ruthenium complexes // *Physical Chemistry Chemical Physics*. – 2020. – T. 22, № 44. – C. 25811-25818.
166. Gotardo F., Cocca L. H. Z., Acunha T. V., Longoni A., Toldo J., Goncalves P. F. B., Iglesias B. A., De Boni L. Investigating the intersystem crossing rate and triplet quantum yield of Protoporphyrin IX by means of pulse train fluorescence technique // *Chemical Physics Letters*. – 2017. – T. 674. – C. 48-57.
167. GarciaFresnadillo D., Georgiadou Y., Orellana G., Braun A. M., Oliveros E. Singlet-oxygen ((1)Delta(g)) production by ruthenium(II) complexes containing polyazaheterocyclic ligands in methanol and in water // *Helvetica Chimica Acta*. – 1996. – T. 79, № 4. – C. 1222-1238.

168. Simon J. A., Curry S. L., Schmehl R. H., Schatz T. R., Piotrowiak P., Jin X. Q., Thummel R. P. Intramolecular electronic energy transfer in ruthenium(II) diimine donor pyrene acceptor complexes linked by a single C-C bond // *Journal of the American Chemical Society*. – 1997. – T. 119, № 45. – C. 11012-11022.
169. Li M. J., Wong K. M. C., Yi C. Q., Yam V. W. New Ruthenium(II) Complexes Functionalized with Coumarin Derivatives: Synthesis, Energy-Transfer-Based Sensing of Esterase, Cytotoxicity, and Imaging Studies // *Chemistry-a European Journal*. – 2012. – T. 18, № 28. – C. 8724-8730.
170. Tyson D. S., Luman C. R., Zhou X. L., Castellano F. N. New Ru(II) chromophores with extended excited-state lifetimes // *Inorganic Chemistry*. – 2001. – T. 40, № 16. – C. 4063-4071.
171. Galletta M., Campagna S., Quesada M., Ulrich G., Ziessel R. The elusive phosphorescence of pyrromethene-BF₂ dyes revealed in new multicomponent species containing Ru(II)-terpyridine subunits // *Chemical Communications*. – 2005.10.1039/b507196h № 33. – C. 4222-4224.
172. Karges J., Blacque O., Goldner P., Chao H., Gasser G. Towards Long Wavelength Absorbing Photodynamic Therapy Photosensitizers via the Extension of a [Ru(bipy)(3)](2+) Core // *European Journal of Inorganic Chemistry*. – 2019. – T. 2019, № 32. – C. 3704-3712.
173. Karges J., Heinemann F., Jakubaszek M., Maschietto F., Subecz C., Dotou M., Vinck R., Blacque O., Tharaud M., Goud B., Zahinos E. V., Spingler B., Ciofini I., Gasser G. Rationally Designed Long-Wavelength Absorbing Ru(II) Polypyridyl Complexes as Photosensitizers for Photodynamic Therapy // *Journal of the American Chemical Society*. – 2020. – T. 142, № 14. – C. 6578-6587.
174. Wang L., Yin H. M., Javed M. A., Hetu M., Wang C. Z., Munro S., Zhu X. L., Kilina S., McFarland S. A., Sun W. F. pi-Expansive Heteroleptic Ruthenium(II) Complexes as Reverse Saturable Absorbers and Photosensitizers for Photodynamic Therapy // *Inorganic Chemistry*. – 2017. – T. 56, № 6. – C. 3245-3259.
175. Al-Afyouni M. H., Rohrabough T. N., Al-Afyouni K. F., Turro C. New Ru(II) photocages operative with near-IR light: new platform for drug delivery in the PDT window // *Chemical Science*. – 2018. – T. 9, № 32. – C. 6711-6720.
176. Liu J. P., Chen Y., Li G. Y., Zhang P. Y., Jin C. Z., Zeng L. L., Ji L. N., Chao H. Ruthenium(II) polypyridyl complexes as mitochondria-targeted two-photon photodynamic anticancer agents // *Biomaterials*. – 2015. – T. 56. – C. 140-153.
177. Karges J., Kuang S., Maschietto F., Blacque O., Ciofini I., Chao H., Gasser G. Rationally designed ruthenium complexes for 1-and 2-photon photodynamic therapy // *Nature Communications*. – 2020. – T. 11, № 1.

178. Ryan R. T., Stevens K. C., Calabro R., Parkin S., Mahmoud J., Kim D. Y., Heidary D. K., Glazer E. C., Selegue J. P. Bis-tridentate N-Heterocyclic Carbene Ru(II) Complexes are Promising New Agents for Photodynamic Therapy // *Inorganic Chemistry*. – 2020. – T. 59, № 13. – C. 8882-8892.
179. Lv Z., Wei H. J., Li Q., Su X. L., Liu S. J., Zhang K. Y., Lv W., Zhao Q., Li X. H., Huang W. Achieving efficient photodynamic therapy under both normoxia and hypoxia using cyclometalated Ru(II) photosensitizer through type I photochemical process // *Chemical Science*. – 2018. – T. 9, № 2. – C. 502-512.
180. Lazic S., Kaspler P., Shi G., Monro S., Sainuddin T., Forward S., Kasimova K., Hennigar R., Mandel A., McFarland S., Lilge L. Novel Osmium-based Coordination Complexes as Photosensitizers for Panchromatic Photodynamic Therapy // *Photochemistry and Photobiology*. – 2017. – T. 93, № 5. – C. 1248-1258.
181. Roque J. A., Barrett P. C., Cole H. D., Lifshits L. M., Bradner E., Shi G., von Dohlen D., Kim S., Russo N., Deep G., Cameron C. G., Alberto M. E., McFarland S. A. Os(II) Oligothieryl Complexes as a Hypoxia-Active Photosensitizer Class for Photodynamic Therapy // *Inorganic Chemistry*. – 2020. – T. 59, № 22. – C. 16341-16360.
182. Jin Z. H., Qi S., Guo X. S., Na T., Hou Y. J., Li C., Wang X. S., Zhou Q. X. Smart use of "ping-pong" energy transfer to improve the two-photon photodynamic activity of an Ir(III) complex // *Chemical Communications*. – 2020. – T. 56, № 19. – C. 2845-2848.
183. Sun Y. J., Joyce L. E., Dickson N. M., Turro C. Efficient DNA photocleavage by [Ru(bpy)₂(dppn)]²⁺ with visible light // *Chemical Communications*. – 2010. – T. 46, № 14. – C. 2426-2428.
184. Wang L., Monro S., Cui P., Yin H. M., Liu B. Q., Cameron C. G., Xu W., Hetu M., Fuller A., Kilina S., McFarland S. A., Sun W. F. Heteroleptic Ir(III)N₆ Complexes with Long-Lived Triplet Excited States and in Vitro Photobiological Activities // *Acs Applied Materials & Interfaces*. – 2019. – T. 11, № 4. – C. 3629-3644.
185. Sun J. F., Zhao J. Z., Guo H. M., Wu W. H. Visible-light harvesting iridium complexes as singlet oxygen sensitizers for photooxidation of 1,5-dihydroxynaphthalene // *Chemical Communications*. – 2012. – T. 48, № 35. – C. 4169-4171.
186. Liu C. J., Zhou L. H., Wei F. F., Li L., Zhao S. N., Gong P., Cai L. T., Wong K. M. C. Versatile Strategy To Generate a Rhodamine Triplet State as Mitochondria-Targeting Visible-Light Photosensitizers for Efficient Photodynamic Therapy // *Acs Applied Materials & Interfaces*. – 2019. – T. 11, № 9. – C. 8797-8806.
187. Palao E., Sola-Llano R., Tabero A., Manzano H., Agarrabeitia A. R., Villanueva A., Lopez-Arbeloa I., Martinez-Martinez V., Ortiz M. J. Acetylacetonate BODIPY-Biscyclometalated Iridium(III)

- Complexes: Effective Strategy towards Smarter Fluorescent Photosensitizer Agents // *Chemistry-a European Journal*. – 2017. – T. 23, № 42. – C. 10139-10147.
188. Johnstone T. C., Wilson J. J., Lippard S. J. Monofunctional and Higher-Valent Platinum Anticancer Agents // *Inorganic Chemistry*. – 2013. – T. 52, № 21. – C. 12234-12249.
189. Li X. J., Liu Y. H., Tian H. Q. Current Developments in Pt(IV) Prodrugs Conjugated with Bioactive Ligands // *Bioinorganic Chemistry and Applications*. – 2018. – T. 2018.
190. Pichler V., Goschl S., Schreiber-Brynzak E., Jakupec M. A., Galanski M., Keppler B. K. Influence of reducing agents on the cytotoxic activity of platinum(IV) complexes: induction of G(2)/M arrest, apoptosis and oxidative stress in A2780 and cisplatin resistant A2780cis cell lines // *Metallomics*. – 2015. – T. 7, № 7. – C. 1078-1090.
191. Naik A., Rubbiani R., Gasser G., Spingler B. Visible-Light-Induced Annihilation of Tumor Cells with Platinum-Porphyrin Conjugates // *Angewandte Chemie-International Edition*. – 2014. – T. 53, № 27. – C. 6938-6941.
192. Hu X. J., Ogawa K., Li S. Q. Z., Kiwada T., Odani A. A Platinum Functional Porphyrin Conjugate: An Excellent Cancer Killer for Photodynamic Therapy // *Bulletin of the Chemical Society of Japan*. – 2019. – T. 92, № 4. – C. 790-796.
193. Banerjee S., Capper M. S., Clarkson G. J., Huang H. Y., Sadler P. J. Dual-action platinum(II) Schiff base complexes: Photocytotoxicity and cellular imaging // *Polyhedron*. – 2019. – T. 172. – C. 157-166.
194. Doherty R. E., Sazanovich I. V., McKenzie L. K., Stasheuski A. S., Coyle R., Baggaley E., Bottomley S., Weinstein J. A., Bryant H. E. Photodynamic killing of cancer cells by a Platinum(II) complex with cyclometallating ligand // *Scientific Reports*. – 2016. – T. 6.
195. Conti L., Bencini A., Ferrante C., Gellini C., Paoli P., Parri M., Pietraperzia G., Valtancoli B., Giorgi C. Highly Charged Ruthenium(II) Polypyridyl Complexes as Effective Photosensitizer in Photodynamic Therapy // *Chemistry-a European Journal*. – 2019. – T. 25, № 45. – C. 10606-10615.
196. Zeng L. L., Kuang S., Li G. Y., Jin C. Z., Ji L. N., Chao H. A GSH-activatable ruthenium(II)-azo photosensitizer for two-photon photodynamic therapy // *Chemical Communications*. – 2017. – T. 53, № 12. – C. 1977-1980.
197. Zhou Z. X., Liu J. P., Rees T. W., Wang H., Li X. P., Chao H., Stang P. J. Heterometallic Ru-Pt metallacycle for two-photon photodynamic therapy // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2018. – T. 115, № 22. – C. 5664-5669.
198. Zhou Z. X., Liu J. P., Huang J. J., Rees T. W., Wang Y. L., Wang H., Li X. P., Chao H., Stang P. J. A self-assembled Ru-Pt metallacage as a lysosome-targeting photosensitizer for 2-photon photodynamic therapy // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2019. – T. 116, № 41. – C. 20296-20302.

199. Holbrook R. J., Weinberg D. J., Peterson M. D., Weiss E. A., Meade T. J. Light-Activated Protein Inhibition through Photoinduced Electron Transfer of a Ruthenium(II)-Cobalt(III) Bimetallic Complex // *Journal of the American Chemical Society*. – 2015. – T. 137, № 9. – C. 3379-3385.
200. Jackson J. A., Turro C., Newsham M. D., Nocera D. G. Oxygen Quenching of Electronically Excited Hexanuclear Molybdenum and Tungsten Halide Clusters // *Journal of Physical Chemistry*. – 1990. – T. 94, № 11. – C. 4500-4507.
201. Vorotnikova N. A., Efremova O. A., Tsygankova A. R., Brylev K. A., Edeleva M. V., Kurskaya O. G., Sutherland A. J., Shestopalov A. M., Mironov Y. V., Shestopalov M. A. Characterization and cytotoxicity studies of thiol-modified polystyrene microbeads doped with $[\{Mo_6X_8\}(NO_3)_6](2-)$ (X=Cl, Br, I) // *Polymers for Advanced Technologies*. – 2016. – T. 27, № 7. – C. 922-928.
202. Efremova O. A., Vorotnikov Y. A., Brylev K. A., Vorotnikova N. A., Novozhilov I. N., Kuratieva N. V., Edeleva M. V., Benoit D. M., Kitamura N., Mironov Y. V., Shestopalov M. A., Sutherland A. J. Octahedral molybdenum cluster complexes with aromatic sulfonate ligands // *Dalton Transactions*. – 2016. – T. 45, № 39. – C. 15427-15435.
203. Aubert T., Burel A., Esnault M. A., Cordier S., Grasset F., Cabello-Hurtado F. Root uptake and phytotoxicity of nanosized molybdenum octahedral clusters // *Journal of Hazardous Materials*. – 2012. – T. 219. – C. 111-118.
204. Kirakci K., Kubat P., Kucerakova M., Sicha V., Gbelcova H., Lovecka P., Grznarova P., Ruml T., Lang K. Water-soluble octahedral molybdenum cluster compounds $Na_2[Mo_6I_8(N-3)_6]$ and $Na_2[Mo_6I_8(NCS)_6]$: Syntheses, luminescence, and in vitro studies // *Inorganica Chimica Acta*. – 2016. – T. 441. – C. 42-49.
205. Solovieva A. O., Kirakci K., Ivanov A. A., Kubat P., Poznaogova T. N., Miroshnichenko S. M., Vorontsova E. V., Chechushkov A. V., Trifonova K. E., Fufaeva M. S., Kretov E. I., Mironov Y. V., Poveshchenko A. F., Lang K., Shestopalov M. A. Singlet Oxygen Production and Biological Activity of Hexanuclear Chalcocyanide Rhenium Cluster Complexes $[\{Re_6Q_8\}(CN)_6](4-)$ (Q = S, Se, Te) // *Inorganic Chemistry*. – 2017. – T. 56, № 21. – C. 13491-13499.
206. Kirakci K., Demel J., Hynek J., Zelenka J., Rumlova M., Ruml T., Lang K. Phosphinate Apical Ligands: A Route to a Water-Stable Octahedral Molybdenum Cluster Complex // *Inorganic Chemistry*. – 2019. – T. 58, № 24. – C. 16546-16552.
207. Kirakci K., Zelenka J., Krizova I., Ruml T., Lang K. Octahedral Molybdenum Cluster Complexes with Optimized Properties for Photodynamic Applications // *Inorganic Chemistry*. – 2020. – T. 59, № 13. – C. 9287-9293.

208. Kirakci K., Zelenka J., Rumlova M., Cvacka J., Ruml T., Lang K. Cationic octahedral molybdenum cluster complexes functionalized with mitochondria-targeting ligands: photodynamic anticancer and antibacterial activities // *Biomaterials Science*. – 2019. – T. 7, № 4. – C. 1386-1392.
209. Brandhonneur N., Hatahet T., Amela-Cortes M., Molard Y., Cordier S., Dollo G. Molybdenum cluster loaded PLGA nanoparticles: An innovative theranostic approach for the treatment of ovarian cancer // *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. – 2018. – T. 125. – C. 95-105.
210. Solovieva A. O., Vorotnikov Y. A., Trifonova K. E., Efremova O. A., Krasilnikova A. A., Brylev K. A., Vorontsova E. V., Avrorov P. A., Shestopalova L. V., Poveshchenko A. F., Mironov Y. V., Shestopalov M. A. Cellular internalisation, bioimaging and dark and photodynamic cytotoxicity of silica nanoparticles doped by {Mo₆I₈}⁽⁴⁺⁾ metal clusters // *Journal of Materials Chemistry B*. – 2016. – T. 4, № 28. – C. 4839-4846.
211. Kirakci K., Kubat P., Fejfarova K., Martincik J., Nikl M., Lang K. X-ray Inducible Luminescence and Singlet Oxygen Sensitization by an Octahedral Molybdenum Cluster Compound: A New Class of Nanoscintillators // *Inorganic Chemistry*. – 2016. – T. 55, № 2. – C. 803-809.
212. Vorotnikov Y. A., Efremova O. A., Vorotnikova N. A., Brylev K. A., Edeleva M. V., Tsygankova A. R., Smolentsev A. I., Kitamura N., Mironov Y. V., Shestopalov M. A. On the synthesis and characterisation of luminescent hybrid particles: Mo-6 metal cluster complex/SiO₂ // *Rsc Advances*. – 2016. – T. 6, № 49. – C. 43367-43375.
213. Vorotnikov Y. A., Pozmogova T. N., Solovieva A. O., Miroshnichenko S. M., Vorontsova E. V., Shestopalova L. V., Mironov Y. V., Shestopalov M. A., Efremova O. A. Luminescent silica mesoparticles for protein transduction // *Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications*. – 2019. – T. 96. – C. 530-538.
214. Kirakci K., Zelenka J., Rumlova M., Martincik J., Nikl M., Ruml T., Lang K. Octahedral molybdenum clusters as radiosensitizers for X-ray induced photodynamic therapy // *Journal of Materials Chemistry B*. – 2018. – T. 6, № 26. – C. 4301-4307.
215. Kirakci K., Pozmogova T. N., Protasevich A. Y., Vavilov G. D., Stass D. V., Shestopalov M. A., Lang K. A water-soluble octahedral molybdenum cluster complex as a potential agent for X-ray induced photodynamic therapy // *Biomaterials Science*. – 2021. – T. 9, № 8. – C. 2893-2902.
216. Khelifi S., Taupier G., Amela-Cortes M., Dumait N., Freslon S., Cordier S., Molard Y. Expanding the Toolbox of Octahedral Molybdenum Clusters and Nanocomposites Made Thereof: Evidence of Two-Photon Absorption Induced NIR Emission and Singlet Oxygen Production // *Inorganic Chemistry*. – 2021. – T. 60, № 8. – C. 5446-5451.

217. Molard Y., Taupier G., Paofai S., Cordier S. Evidencing ((n-C₄H₉)(4)N)(2)[W6I14] red-NIR emission and singlet oxygen generation by two photon absorption // *Chemical Communications*. – 2021. – T. 57, № 33. – C. 4003-4006.
218. Jang B., Park J. Y., Tung C. H., Kim I. H., Choi Y. Gold Nanorod-Photosensitizer Complex for Near-Infrared Fluorescence Imaging and Photodynamic/Photothermal Therapy In Vivo // *Acs Nano*. – 2011. – T. 5, № 2. – C. 1086-1094.
219. Tian B., Wang C., Zhang S., Feng L. Z., Liu Z. Photothermally Enhanced Photodynamic Therapy Delivered by Nano-Graphene Oxide // *Acs Nano*. – 2011. – T. 5, № 9. – C. 7000-7009.
220. Wang J., Zhu G. Z., You M. X., Song E. Q., Shukoor M. I., Zhang K. J., Altman M. B., Chen Y., Zhu Z., Huang C. Z., Tan W. H. Assembly of Aptamer Switch Probes and Photosensitizer on Gold Nanorods for Targeted Photothermal and Photodynamic Cancer Therapy // *Acs Nano*. – 2012. – T. 6, № 6. – C. 5070-5077.
221. Sozmen F., Kucukoflaz M., Ergul M., Inan Z. D. S. Nanoparticles with PDT and PTT synergistic properties working with dual NIR-light source simultaneously // *Rsc Advances*. – 2021. – T. 11, № 4. – C. 2383-2389.
222. Zhang M., Murakami T., Ajima K., Tsuchida K., Sandanayaka A. S. D., Ito O., Iijima S., Yudasaka M. Fabrication of ZnPc/protein nanohorns for double photodynamic and hyperthermic cancer phototherapy // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2008. – T. 105, № 39. – C. 14773-14778.
223. Gao L., Fei J. B., Zhao J., Li H., Cui Y., Li J. B. Hypocrellin-Loaded Gold Nanocages with High Two-Photon Efficiency for Photothermal/Photodynamic Cancer Therapy in Vitro // *Acs Nano*. – 2012. – T. 6, № 9. – C. 8030-8040.
224. Wang S. J., Huang P., Nie L. M., Xing R. J., Liu D. B., Wang Z., Lin J., Chen S. H., Niu G., Lu G. M., Chen X. Y. Single Continuous Wave Laser Induced Photodynamic/Plasmonic Photothermal Therapy Using Photosensitizer-Functionalized Gold Nanostars // *Advanced Materials*. – 2013. – T. 25, № 22. – C. 3055-3061.
225. Younis M. R., Wang C., An R. B., Wang S. J., Younis M. A., Li Z. Q., Wang Y., Ihsan A., Ye D. J., Xia X. H. Low Power Single Laser Activated Synergistic Cancer Phototherapy Using Photosensitizer Functionalized Dual Plasmonic Photothermal Nanoagents // *Acs Nano*. – 2019. – T. 13, № 2. – C. 2544-2557.
226. Yin W. Y., Bao T., Zhang X., Gao Q., Yu J., Dong X. H., Yan L., Gu Z. J., Zhao Y. L. Biodegradable MoO_x nanoparticles with efficient near-infrared photothermal and photodynamic synergetic cancer therapy at the second biological window // *Nanoscale*. – 2018. – T. 10, № 3. – C. 1517-1531.

227. Gao H., Liu R., Gao F. P., Wang Y. L., Jiang X. L., Gao X. Y. Plasmon-Mediated Generation of Reactive Oxygen Species from Near-Infrared Light Excited Gold Nanocages for Photodynamic Therapy in Vitro // *Acs Nano*. – 2014. – T. 8, № 7. – C. 7260-7271.
228. Kalluru P., Vankayala R., Chiang C. S., Hwang K. C. Nano-graphene oxide-mediated In vivo fluorescence imaging and bimodal photodynamic and photothermal destruction of tumors // *Biomaterials*. – 2016. – T. 95. – C. 1-10.
229. Zhang Y. X., Aslan K., Previte M. J. R., Geddes C. D. Metal-enhanced singlet oxygen generation: A consequence of plasmon enhanced triplet yields // *Journal of Fluorescence*. – 2007. – T. 17, № 4. – C. 345-349.
230. Macia N., Bresoli-Obach R., Nonell S., Heyne B. Hybrid Silver Nanocubes for Improved Plasmon-Enhanced Singlet Oxygen Production and Inactivation of Bacteria // *Journal of the American Chemical Society*. – 2019. – T. 141, № 1. – C. 684-692.
231. Macia N., Kabanov V., Heyne B. Rationalizing the Plasmonic Contributions to the Enhancement of Singlet Oxygen Production // *Journal of Physical Chemistry C*. – 2020. – T. 124, № 6. – C. 3768-3777.
232. Macia N., Kabanov V., Cote-Cyr M., Heyne B. Roles of Near and Far Fields in Plasmon-Enhanced Singlet Oxygen Production // *Journal of Physical Chemistry Letters*. – 2019. – T. 10, № 13. – C. 3654-3660.
233. Planas O., Macia N., Agut M., Nonell S., Heyne B. Distance-Dependent Plasmon-Enhanced Singlet Oxygen Production and Emission for Bacterial Inactivation // *Journal of the American Chemical Society*. – 2016. – T. 138, № 8. – C. 2762-2768.
234. Hu B., Cao X., Nahan K., Caruso J., Tang H., Zhang P. Surface plasmon-photosensitizer resonance coupling: an enhanced singlet oxygen production platform for broad-spectrum photodynamic inactivation of bacteria // *Journal of Materials Chemistry B*. – 2014. – T. 2, № 40. – C. 7073-7081.
235. Ming T., Chen H. J., Jiang R. B., Li Q., Wang J. F. Plasmon-Controlled Fluorescence: Beyond the Intensity Enhancement // *Journal of Physical Chemistry Letters*. – 2012. – T. 3, № 2. – C. 191-202.
236. Vieira L., Castilho M. L., Ferreira I., Ferreira-Strixino J., Hewitt K. C., Raniero L. Synthesis and characterization of gold nanostructured Chlorin e6 for Photodynamic Therapy // *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. – 2017. – T. 18. – C. 6-11.
237. Paul A. K., Jayaram D. T., Babu P. S. S., Adarsh N., Thurakkal S., Nair A. S., Ramaiah D. Synthesis and in vitro photobiological studies of porphyrin capped gold nanoparticles // *Journal of Chemical Sciences*. – 2018. – T. 130, № 10.

238. Ashjari M., Dehfuly S., Fatehi D., Shabani R., Koruji M. Efficient functionalization of gold nanoparticles using cysteine conjugated protoporphyrin IX for singlet oxygen production in vitro // *Rsc Advances*. – 2015. – T. 5, № 127. – C. 104621-104628.
239. Alea-Reyes M. E., Rodrigues M., Serra A., Mora M., Sagrista M. L., Gonzalez A., Duran S., Duch M., Plaza J. A., Valles E., Russell D. A., Perez-Garcia L. Nanostructured materials for photodynamic therapy: synthesis, characterization and in vitro activity // *Rsc Advances*. – 2017. – T. 7, № 28. – C. 16963-16976.
240. Hari K., Pichaimani A., Kumpati P. Acridine orange tethered chitosan reduced gold nanoparticles: a dual functional probe for combined photodynamic and photothermal therapy // *Rsc Advances*. – 2013. – T. 3, № 43. – C. 20471-20479.
241. Huang P., Lin J., Wang S. J., Zhou Z. J., Li Z. M., Wang Z., Zhang C. L., Yue X. Y., Niu G., Yang M., Cui D. X., Chen X. Y. Photosensitizer-conjugated silica-coated gold nanoclusters for fluorescence imaging-guided photodynamic therapy // *Biomaterials*. – 2013. – T. 34, № 19. – C. 4643-4654.
242. Ke X. B., Wang D., Chen C. Q., Yang A. Q., Han Y., Ren L., Li D. H., Wang H. J. Co-enhancement of fluorescence and singlet oxygen generation by silica-coated gold nanorods core-shell nanoparticle // *Nanoscale Research Letters*. – 2014. – T. 9.
243. Fang S., Li C. X., Lin J., Zhu H. G., Cui D. X., Xu Y. S., Li Z. M. Gold Nanorods-Based Theranostics for Simultaneous Fluorescence/Two-Photon Luminescence Imaging and Synergistic Phototherapies // *Journal of Nanomaterials*. – 2016. – T. 2016.
244. Zhang B. K., Wei L. Y., Chu Z. Q. Development of indocyanine green loaded Au@Silica core shell nanoparticles for plasmonic enhanced light triggered therapy // *Journal of Photochemistry and Photobiology a-Chemistry*. – 2019. – T. 375. – C. 244-251.
245. Luo G. F., Chen W. H., Lei Q., Qiu W. X., Liu Y. X., Cheng Y. J., Zhang X. Z. A Triple-Collaborative Strategy for High-Performance Tumor Therapy by Multifunctional Mesoporous Silica-Coated Gold Nanorods // *Advanced Functional Materials*. – 2016. – T. 26, № 24. – C. 4339-4350.
246. An N., Lin H. M., Qu F. Y. Synthesis of a GNRs@mSiO(2)-ICG-DOX@Se-Se-FA Nanocomposite for Controlled Chemo-/Photothermal/Photodynamic Therapy // *European Journal of Inorganic Chemistry*. – 2018.10.1002/ejic.201800572 № 39. – C. 4375-4384.
247. Calavia P. G., Chambrier I., Cook M. J., Haines A. H., Field R. A., Russell D. A. Targeted photodynamic therapy of breast cancer cells using lactose-phthalocyanine functionalized gold nanoparticles // *Journal of Colloid and Interface Science*. – 2018. – T. 512. – C. 249-259.
248. Lakowicz J. R. Radiative decay engineering: Biophysical and biomedical applications // *Analytical Biochemistry*. – 2001. – T. 298, № 1. – C. 1-24.

249. Cheng Y., Samia A. C., Meyers J. D., Panagopoulos I., Fei B. W., Burda C. Highly efficient drug delivery with gold nanoparticle vectors for in vivo photodynamic therapy of cancer // *Journal of the American Chemical Society*. – 2008. – T. 130, № 32. – C. 10643-10647.
250. Kolemen S., Ozdemir T., Lee D., Kim G. M., Karatas T., Yoon J., Akkaya E. U. Remote-Controlled Release of Singlet Oxygen by the Plasmonic Heating of Endoperoxide-Modified Gold Nanorods: Towards a Paradigm Change in Photodynamic Therapy // *Angewandte Chemie-International Edition*. – 2016. – T. 55, № 11. – C. 3606-3610.
251. Zhang C., Cheng X., Chen M. K., Sheng J., Ren J., Jiang Z. Y., Cai J. F., Hu Y. Fluorescence guided photothermal/photodynamic ablation of tumours using pH-responsive chlorin e6-conjugated gold nanorods // *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces*. – 2017. – T. 160. – C. 345-354.
252. Li W., Zhang H. B., Guo X. M., Wang Z. H., Kong F. F., Luo L. H., Li Q. P., Zhu C. Q., Yang J., Lou Y., Du Y. Z., You J. Gold Nanospheres-Stabilized Indocyanine Green as a Synchronous Photodynamic-Photothermal Therapy Platform That Inhibits Tumor Growth and Metastasis // *Acs Applied Materials & Interfaces*. – 2017. – T. 9, № 4. – C. 3354-3367.
253. Yan J., Sun H. F., Li J. C., Qi W., Wang H. A theranostic plaster combining photothermal therapy and photodynamic therapy based on chlorin e6/gold nanorods (Ce6/Au nrs) composite // *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects*. – 2018. – T. 537. – C. 460-466.
254. Jin X. K., Yao S. T., Qiu F. Y., Mao Z. W., Wang B. A multifunctional hydrogel containing gold nanorods and methylene blue for synergistic cancer phototherapy // *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects*. – 2021. – T. 614.
255. Efremova O. A., Shestopalov M. A., Chirtsova N. A., Smolentsev A. I., Mironov Y. V., Kitamura N., Brylev K. A., Sutherland A. J. A highly emissive inorganic hexamolybdenum cluster complex as a handy precursor for the preparation of new luminescent materials // *Dalton Transactions*. – 2014. – T. 43, № 16. – C. 6021-6025.
256. Ziegler C., Eychmuller A. Seeded Growth Synthesis of Uniform Gold Nanoparticles with Diameters of 15-300 nm // *Journal of Physical Chemistry C*. – 2011. – T. 115, № 11. – C. 4502-4506.
257. Jaramillo N., Paucar C., Garcia C. Influence of the reaction time and the Triton x-100/Cyclohexane/Methanol/H2O ratio on the morphology and size of silica nanoparticles synthesized via sol-gel assisted by reverse micelle microemulsion // *Journal of Materials Science*. – 2014. – T. 49, № 9. – C. 3400-3406.
258. Beltran A., Mikhailov M., Sokolov M. N., Perez-Laguna V., Rezusta A., Revillo M. J., Galindo F. A photobleaching resistant polymer supported hexanuclear molybdenum iodide cluster for photocatalytic oxygenations and photodynamic inactivation of *Staphylococcus aureus* // *Journal of Materials Chemistry B*. – 2016. – T. 4, № 36. – C. 5975-5979.

259. Nikoobakht B., El-Sayed M. A. Preparation and growth mechanism of gold nanorods (NRs) using seed-mediated growth method // *Chemistry of Materials*. – 2003. – T. 15, № 10. – C. 1957-1962.
260. Wang J. L., Zhang W., Li S. H., Miao D. D., Qian G. P., Su G. X. Engineering of Porous Silica Coated Gold Nanorods by Surface-Protected Etching and Their Applications in Drug Loading and Combined Cancer Therapy // *Langmuir*. – 2019. – T. 35, № 44. – C. 14238-14247.
261. Novikova E. D., Vorotnikov Y. A., Nikolaev N. A., Tsygankova A. R., Shestopalov M. A., Efremova O. A. Synergetic Effect of Mo-6 Clusters and Gold Nanoparticles on the Photophysical Properties of Both Components // *Chemistry-a European Journal*. – 2021. – T. 27, № 8. – C. 2818-2825.
262. Novikova E. D., Vorotnikov Y. A., Nikolaev N. A., Tsygankova A. R., Shestopalov M. A., Efremova O. A. The role of gold nanoparticles' aspect ratio in plasmon-enhanced luminescence and the singlet oxygen generation rate of Mo-6 clusters // *Chemical Communications*. – 2021. – T. 57, № 63. – C. 7770-7773.
263. Vorotnikov Y. A., Novikova E. D., Solovieva A. O., Shanshin D. V., Tsygankova A. R., Shcherbakov D. N., Efremova O. A., Shestopalov M. A. Single-domain antibody C7b for address delivery of nanoparticles to HER2/neu-positive cancers // *Nanoscale*. – 2020. – T. 12, № 42. – C. 21885-21894.
264. Bastus N. G., Comenge J., Puntès V. Kinetically Controlled Seeded Growth Synthesis of Citrate-Stabilized Gold Nanoparticles of up to 200 nm: Size Focusing versus Ostwald Ripening // *Langmuir*. – 2011. – T. 27, № 17. – C. 11098-11105.
265. Reineck P., Gomez D., Ng S. H., Karg M., Bell T., Mulvaney P., Bach U. Distance and Wavelength Dependent Quenching of Molecular Fluorescence by Au@SiO₂ Core-Shell Nanoparticles // *Acs Nano*. – 2013. – T. 7, № 8. – C. 6636-6648.
266. Abadeer N. S., Brennan M. R., Wilson W. L., Murphy C. J. Distance and Plasmon Wavelength Dependent Fluorescence of Molecules Bound to Silica-Coated Gold Nanorods // *Acs Nano*. – 2014. – T. 8, № 8. – C. 8392-8406.
267. Lee D., Lee J., Song J., Jen M., Pang Y. Homogeneous silver colloidal substrates optimal for metal-enhanced fluorescence // *Physical Chemistry Chemical Physics*. – 2019. – T. 21, № 22. – C. 11599-11607.
268. Liu Y. T., Luo X. F., Lee Y. Y., Chen C. Investigating the metal-enhanced fluorescence on fluorescein by silica core-shell gold nanoparticles using time-resolved fluorescence spectroscopy // *Dyes and Pigments*. – 2021. – T. 190.
269. Tian X. J., Guo J., Tian Y., Tang H. Y., Yang W. L. Modulated fluorescence properties in fluorophore-containing gold nanorods@mSiO(2) // *Rsc Advances*. – 2014. – T. 4, № 18. – C. 9343-9348.

270. Lin H. H., Chen I. C. Study of the Interaction between Gold Nanoparticles and Rose Bengal Fluorophores with Silica Spacers by Time-Resolved Fluorescence Spectroscopy // *Journal of Physical Chemistry C*. – 2015. – T. 119, № 47. – C. 26663-26671.
271. Zhao T. T., Wu H., Yao S. Q., Xu Q. H., Xu G. Q. Nanocomposites Containing Gold Nanorods and Porphyrin-Doped Mesoporous Silica with Dual Capability of Two-Photon Imaging and Photosensitization // *Langmuir*. – 2010. – T. 26, № 18. – C. 14937-14942.
272. Tham H. P., Chen H. Z., Tan Y. H., Qu Q. Y., Sreejith S., Zhao L. Z., Venkatraman S. S., Zhao Y. L. Photosensitizer anchored gold nanorods for targeted combinational photothermal and photodynamic therapy // *Chemical Communications*. – 2016. – T. 52, № 57. – C. 8854-8857.
273. Ostrowski J. C., Mikhailovsky A., Bussian D. A., Summers M. A., Buratto S. K., Bazan G. C. Enhancement of phosphorescence by surface-plasmon resonances in colloidal metal nanoparticles: The role of aggregates // *Advanced Functional Materials*. – 2006. – T. 16, № 9. – C. 1221-1227.
274. Fort E., Grésillon S. Surface enhanced fluorescence // *Journal of Physics D: Applied Physics*. – 2007. – T. 41, № 1. – C. 013001.
275. Lakowicz J. R. Radiative decay engineering 5: metal-enhanced fluorescence and plasmon emission // *Analytical biochemistry*. – 2005. – T. 337, № 2. – C. 171-194.
276. Zhang Y. X., Aslan K., Previte M. J. R., Malyn S. N., Geddes C. D. Metal-enhanced phosphorescence: Interpretation in terms of triplet-coupled radiating plasmons // *Journal of Physical Chemistry B*. – 2006. – T. 110, № 49. – C. 25108-25114.
277. Chen H. J., Shao L., Li Q., Wang J. F. Gold nanorods and their plasmonic properties // *Chemical Society Reviews*. – 2013. – T. 42, № 7. – C. 2679-2724.
278. Fang S., Lin J., Li C. X., Huang P., Hou W. X., Zhang C. L., Liu J. J., Huang S. S., Luo Y. X., Fan W. P., Cui D. X., Xu Y. S., Li Z. M. Dual-Stimuli Responsive Nanotheranostics for Multimodal Imaging Guided Trimodal Synergistic Therapy // *Small*. – 2017. – T. 13, № 6.
279. Liu J. J., Liu K., Feng L. Z., Liu Z., Xu L. G. Comparison of nanomedicine-based chemotherapy, photodynamic therapy and photothermal therapy using reduced graphene oxide for the model system // *Biomaterials Science*. – 2017. – T. 5, № 2. – C. 331-340.
280. Wang Y., Zhao J. X., Chen Z., Zhang F., Wang Q., Guo W., Wang K., Lin H. M., Qu F. Y. Construct of MoSe₂/Bi₂Se₃ nanoheterostructure: Multimodal CT/PT imaging-guided PTT/PDT/chemotherapy for cancer treating // *Biomaterials*. – 2019. – T. 217.
281. Berners-Price S. J., Ronconi L., Sadler P. J. Insights into the mechanism of action of platinum anticancer drugs from multinuclear NMR spectroscopy // *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*. – 2006. – T. 49, № 1. – C. 65-98.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает искреннюю благодарность научному руководителю д.х.н. Шестопалову Михаилу Александровичу за помощь в постановке цели и задач при выполнении работы и обсуждении полученных результатов. Центрам коллективного пользования ИНХ СО РАН, ИЦиГ и ИАиЭ СО РАН за проведение экспериментов по характеристике материалов на основе наночастиц золота и кластерных комплексов молибдена. Коллегам из ИНХ СО РАН к.х.н. Цыганковой Альфие Рафаэлевне и к.х.н. Гусельниковой Татьяне Яковлевне за проведение элементного анализа АЭС-ИСП. К.т.н. Николаеву Назару Александровичу (ИАиЭ СО РАН) за помощь в изучении фототермических свойств материалов. Шаньшину Даниилу Васильевичу (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор») за получение наноконъюгатов *C7b* и проведение экспериментов по определению активности их конъюгатов с материалами. Позмоговой Татьяне Николаевне (ИНХ СО РАН) за проведение биологических исследований. Также автор благодарит к.х.н. Воротникова Юрия Андреевича (ИНХ СО РАН) за неоценимую помощь в обсуждении результатов и поддержку на всех этапах выполнения работы.

ПРИЛОЖЕНИЕ

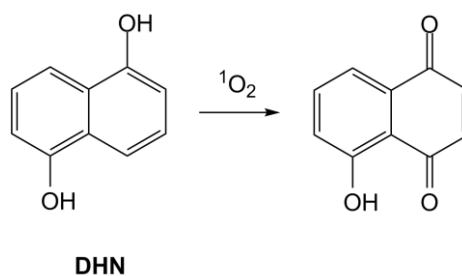
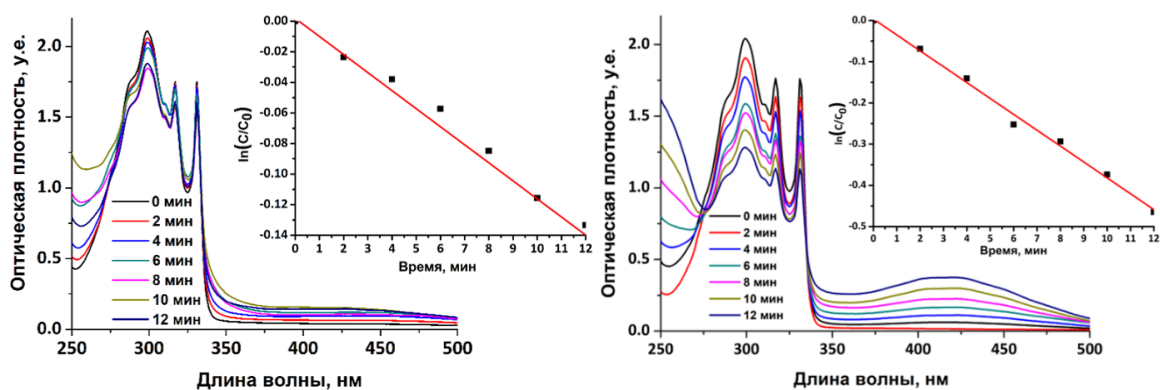
Рис. П1. Окисление 1,5-дигидроксиафталина (DHN) синглетным кислородом (1O_2)

Рис. П2. ЭСП превращения DHN в присутствии $GNP@SiO_2@1-SiO_2$ (слева) и $GNP@SiO_2@2-SiO_2$ (справа) при облучении светом с длиной волны 365 нм и соответствующая линейная аппроксимация, описывающая зависимость $\ln\left(\frac{c}{c_0}\right)$ от времени облучения

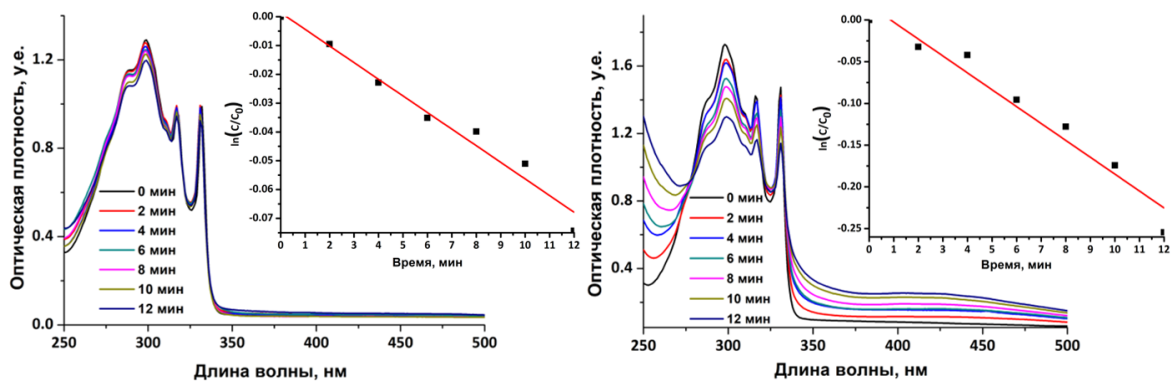


Рис. П3. ЭСП превращения DHN в присутствии $SiO_2@1-SiO_2$ (слева) и $SiO_2@2-SiO_2$ (справа) при облучении светом с длиной волны 365 нм и соответствующая линейная аппроксимация, описывающая зависимость $\ln\left(\frac{c}{c_0}\right)$ от времени облучения

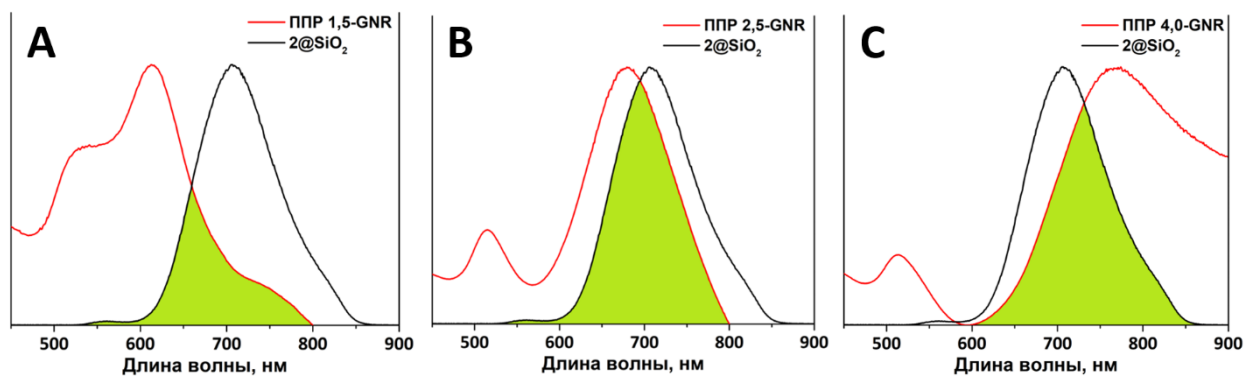


Рис. П4. Перекрывание (выделено зеленым) нормированной полосы ППР AR-GNR и полос эмиссии наночастиц SiO₂, допированных **2**: A – AR = 1,5; B – AR = 2,5; C – AR = 4,0

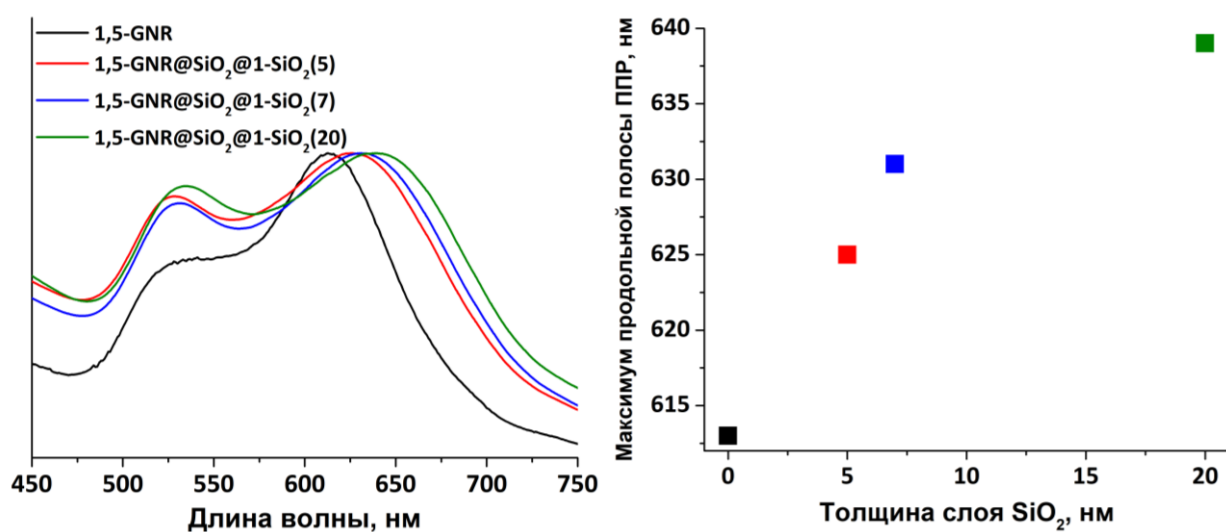


Рис. П5. Нормированные ЭСП 1,5-GNR@SiO₂@1-SiO₂ с разной толщиной слоя диоксида кремния (слева) и зависимость положения максимума ППР 1,5-GNR@SiO₂@1-SiO₂ от толщины слоя диоксида кремния (справа)

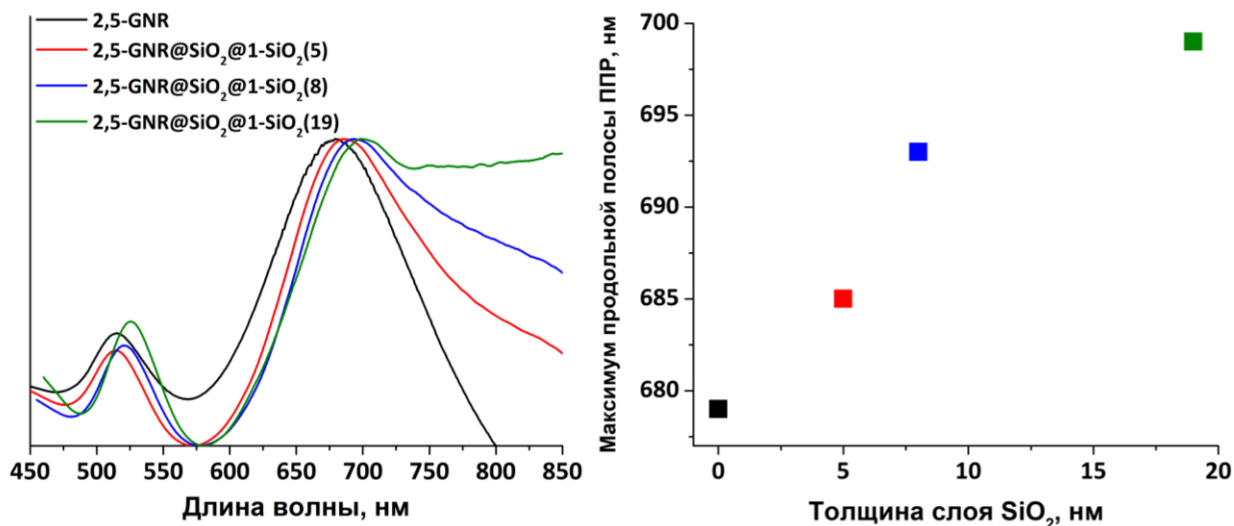


Рис. П6. Нормированные ЭСП 2,5-GNR@SiO₂@1-SiO₂ с разной толщиной слоя диоксида кремния (слева) и зависимость положения максимума ППР 2,5-GNR@SiO₂@1-SiO₂ от толщины слоя диоксида кремния (справа)

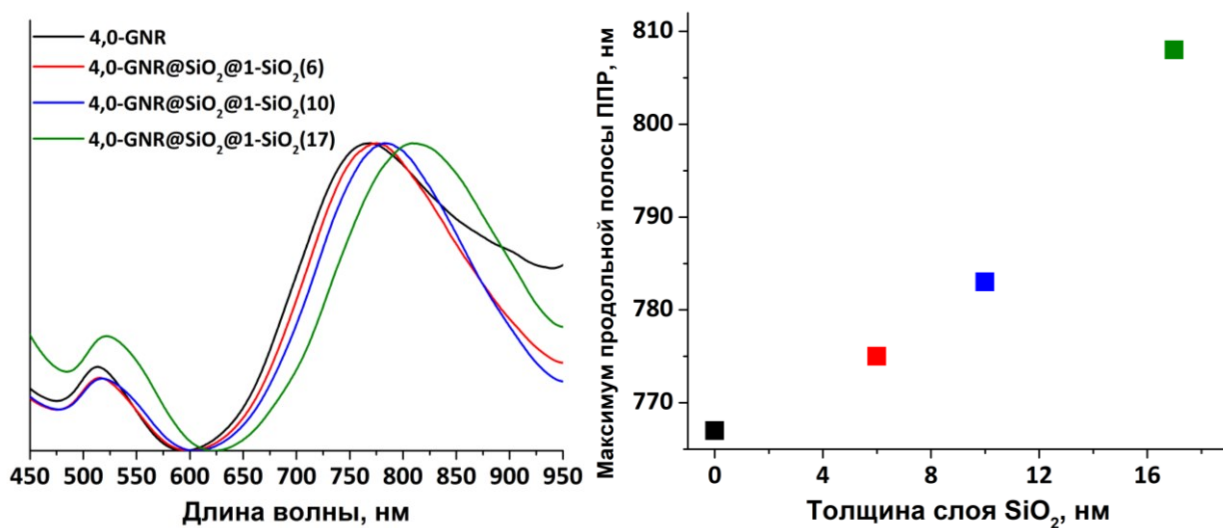


Рис. П7. Нормированные ЭСП 4,0-GNR@SiO₂@1-SiO₂ с разной толщиной слоя диоксида кремния (слева) и зависимость положения максимума ППР 4,0-GNR@SiO₂@1-SiO₂ от толщины слоя диоксида кремния (справа)

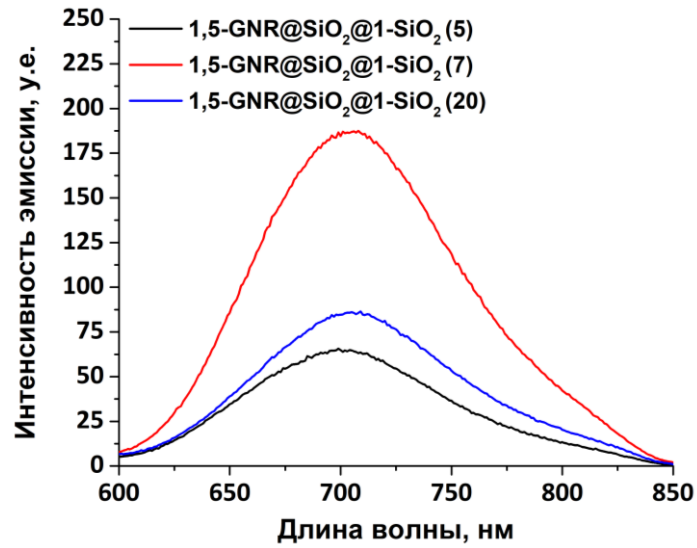


Рис. П8. Спектры люминесценции 1,5-GNR@SiO₂@1-SiO₂ с разной толщиной слоя диоксида кремния

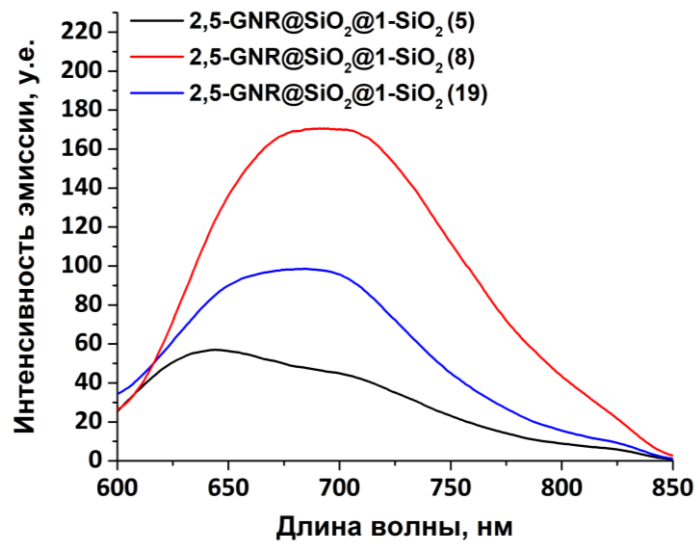


Рис. П9. Спектры люминесценции 2,5-GNR@SiO₂@1-SiO₂ с разной толщиной слоя диоксида кремния

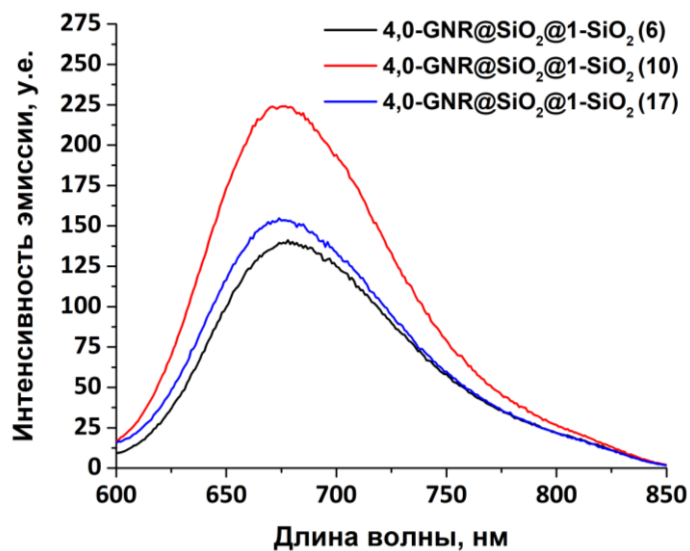


Рис. П10. Спектры люминесценции 4,0-GNR@SiO₂@1-SiO₂ с разной толщиной слоя диоксида кремния

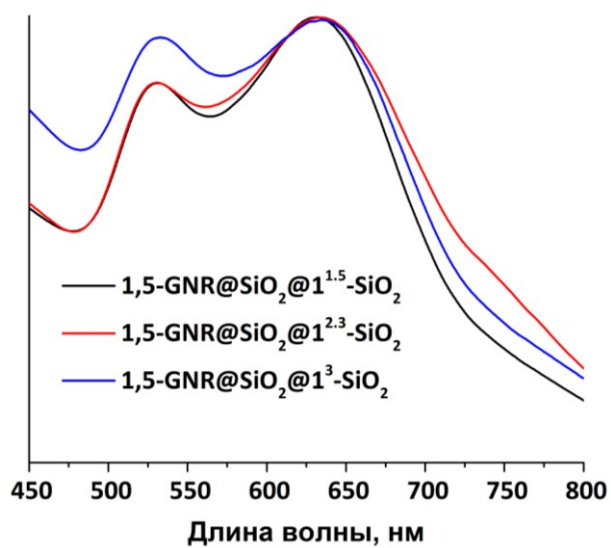


Рис. П11. Нормированные ЭСП 1,5-GNR@SiO₂@1^x-SiO₂ с разным содержанием кластерного комплекса

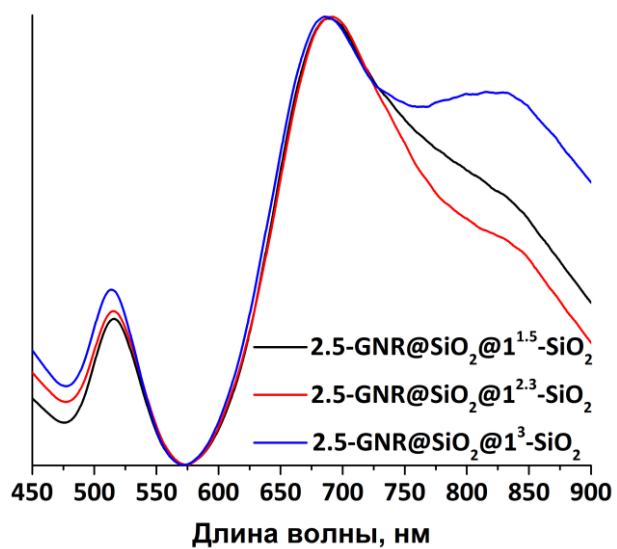


Рис. П12. Нормированные ЭСП 2,5-GNR@SiO₂@1^x-SiO₂ с разным содержанием кластерного комплекса

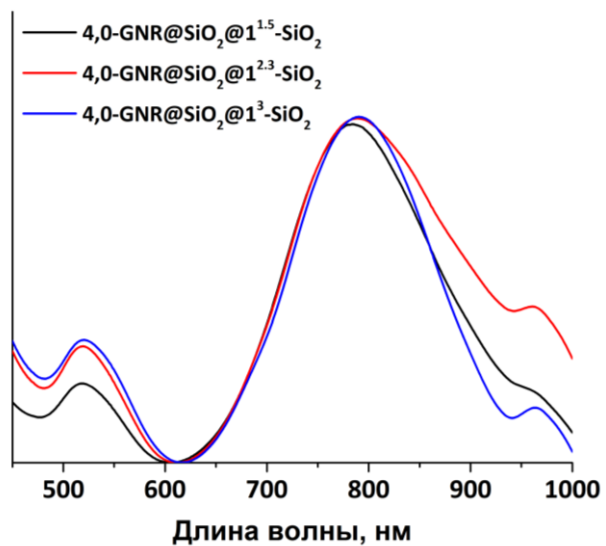


Рис. П13. Нормированные ЭСП 4,0-GNR@SiO₂@1^x-SiO₂ с разным содержанием кластерного комплекса

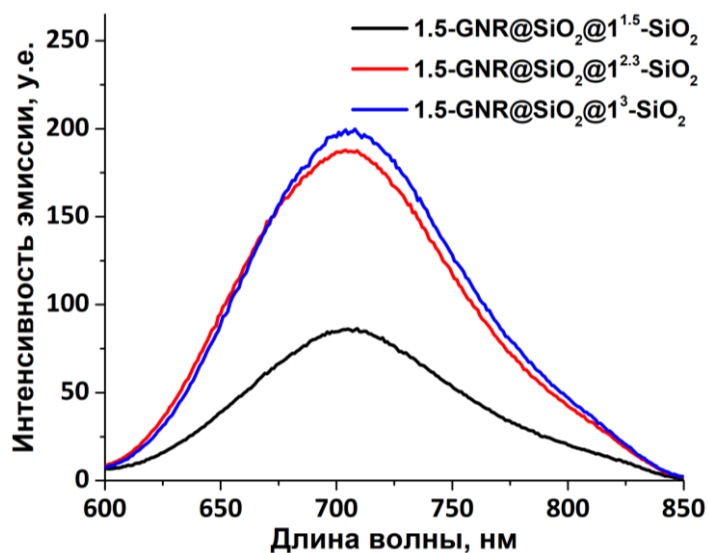


Рис. П14. Спектры люминесценции 1,5-GNR@SiO₂@1^x-SiO₂ с разным содержанием кластерного комплекса

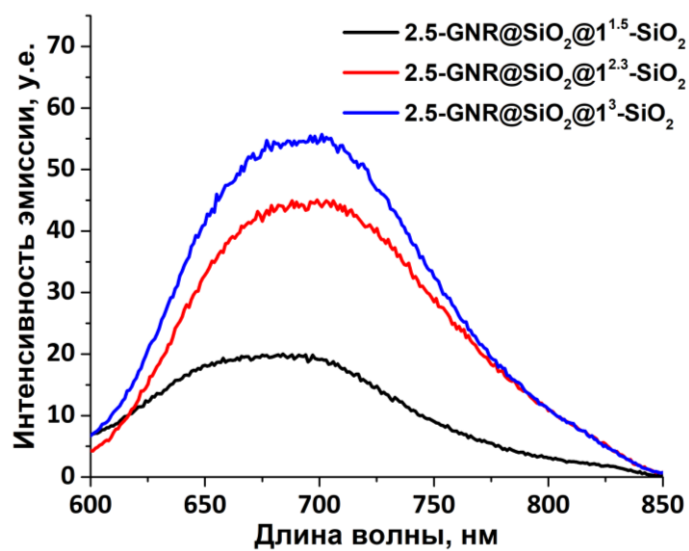


Рис. П15. Спектры люминесценции 2,5-GNR@SiO₂@1^x-SiO₂ с разным содержанием кластерного комплекса

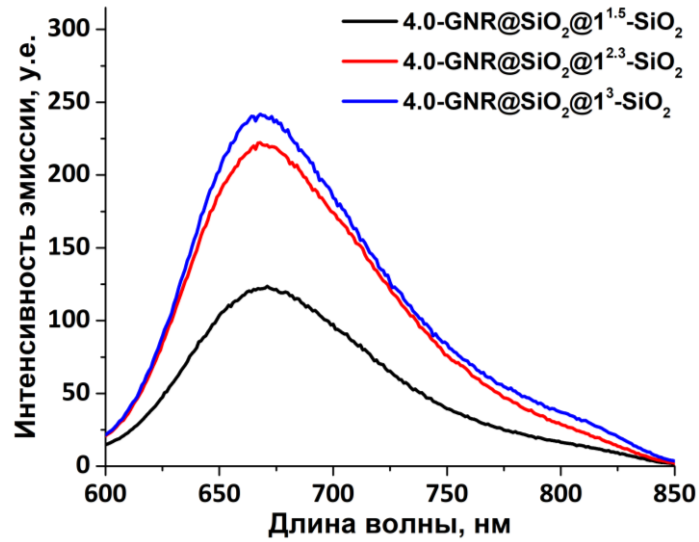


Рис. П16. Спектры люминесценции 4,0-GNR@SiO₂@1^x-SiO₂ с разным содержанием кластерного комплекса

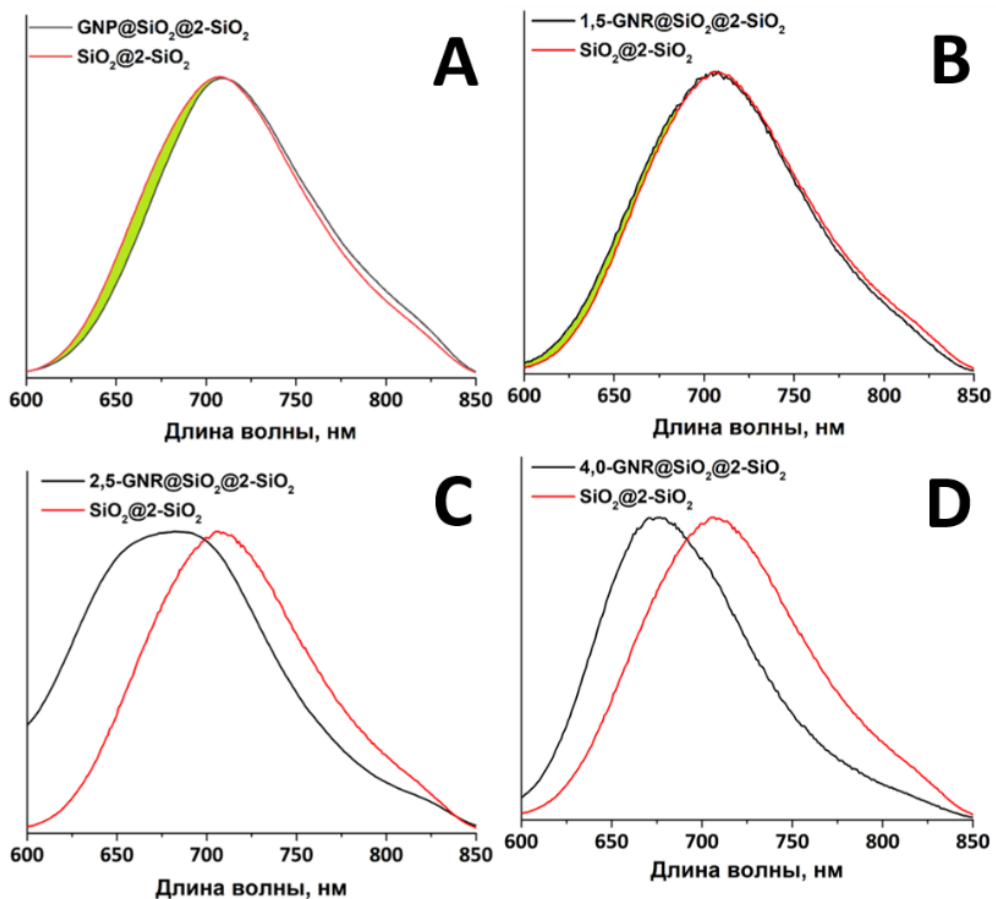


Рис. П17. Сравнение нормированных спектров эмиссии GNP@SiO₂@2-SiO₂ (А) и AR-GNR@SiO₂@2-SiO₂ с профилем эмиссии наночастиц диоксида кремния, не содержащих золотого ядра, SiO₂@2-SiO₂: В – AR = 1,5; С – AR = 2,5; D – AR = 4,0

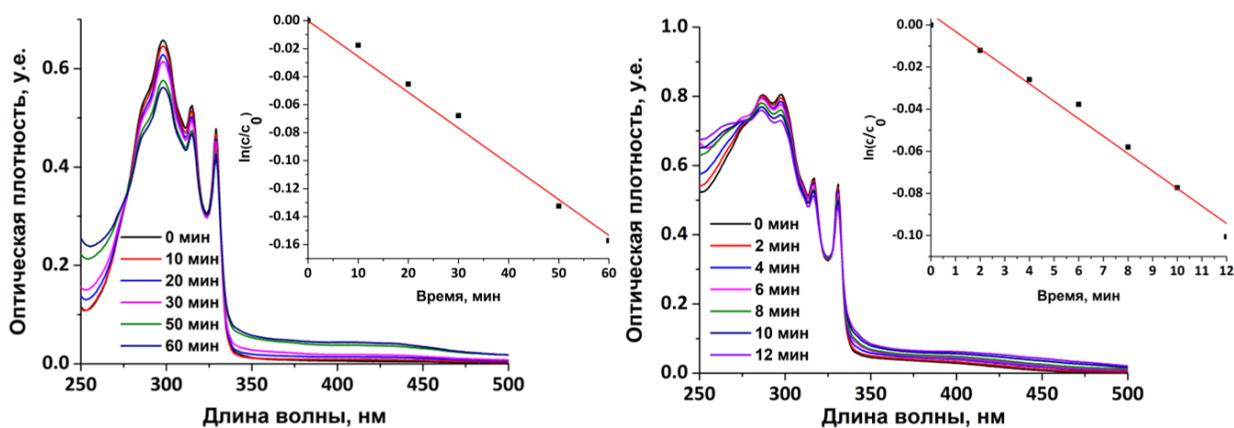


Рис. П18. ЭСП превращения DHN в присутствии $\text{SiO}_2@1\text{-SiO}_2$ (слева) и $\text{SiO}_2@2\text{-SiO}_2$ (справа) при облучении светом с длиной волны 365 нм и соответствующая линейная аппроксимация, описывающая зависимость $\ln\left(\frac{c}{c_0}\right)$ от времени облучения

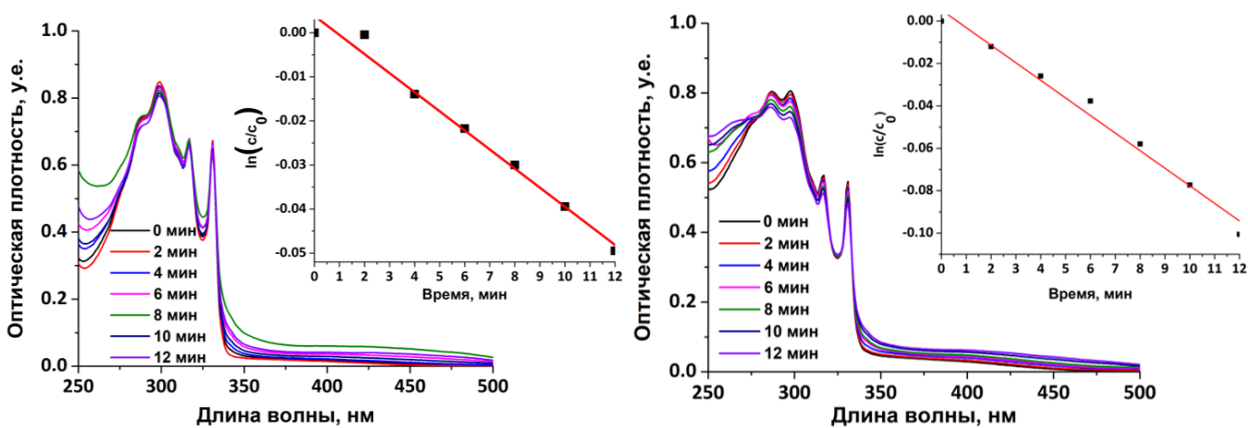


Рис. П19. ЭСП превращения DHN в присутствии $\text{GNP@SiO}_2@1\text{-SiO}_2$ (слева) и $\text{GNP@SiO}_2@2\text{-SiO}_2$ (справа) при облучении светом с длиной волны 365 нм и соответствующая линейная аппроксимация, описывающая зависимость $\ln\left(\frac{c}{c_0}\right)$ от времени облучения

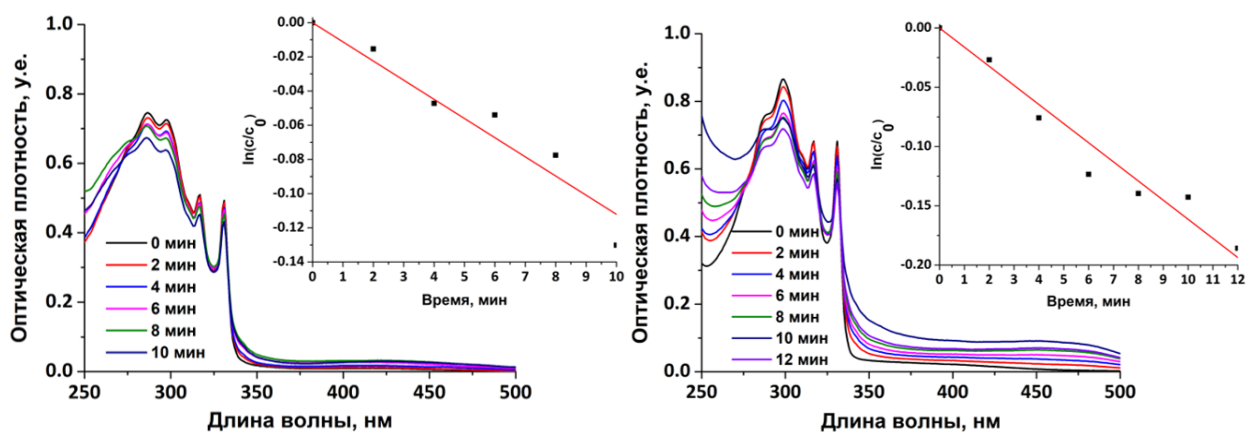


Рис. П20. ЭСП превращения DHN в присутствии 1,5-GNR@SiO₂@1-SiO₂ (слева) и 1,5-GNR@SiO₂@2-SiO₂ (справа) при облучении светом с длиной волны 365 нм и соответствующая линейная аппроксимация, описывающая зависимость $\ln\left(\frac{C}{C_0}\right)$ от времени облучения

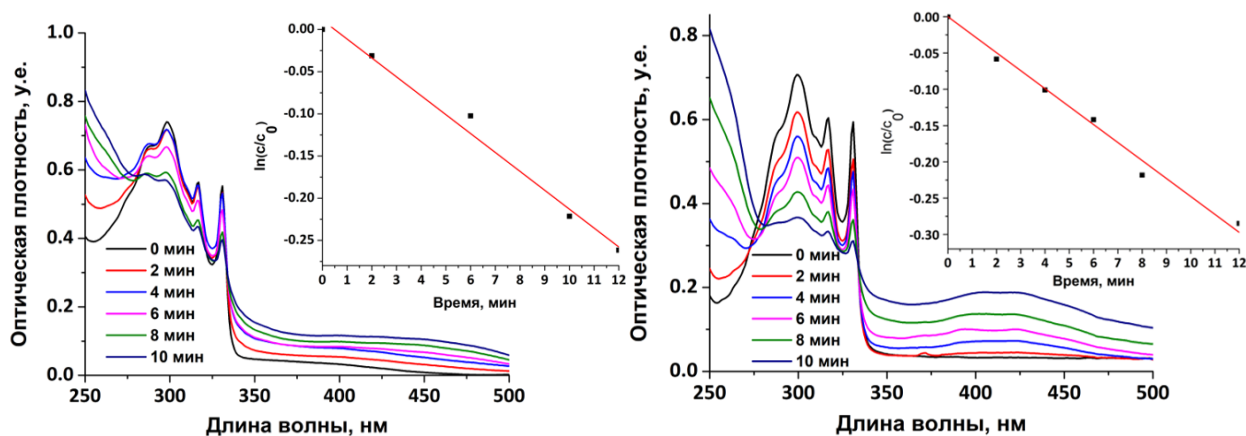


Рис. П21. ЭСП превращения DHN в присутствии 2,5-GNR@SiO₂@1-SiO₂ (слева) и 2,5-GNR@SiO₂@2-SiO₂ (справа) при облучении светом с длиной волны 365 нм и соответствующая линейная аппроксимация, описывающая зависимость $\ln\left(\frac{C}{C_0}\right)$ от времени облучения

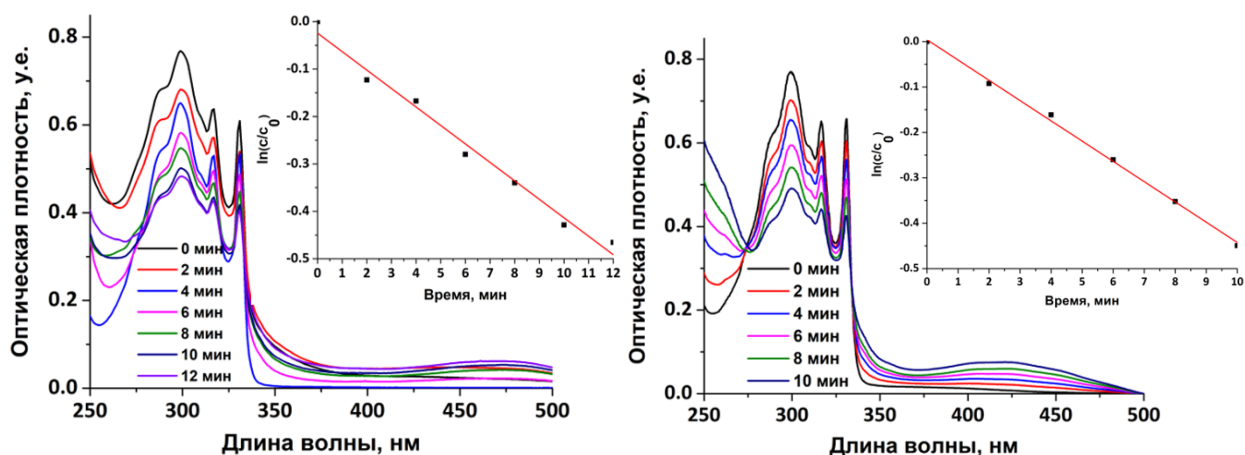


Рис. П22. ЭСП превращения DHN в присутствии 4,0-GNR@SiO₂@1-SiO₂ (слева) и 4,0-GNR@SiO₂@2-SiO₂ (справа) при облучении светом с длиной волны 365 нм и соответствующая линейная аппроксимация, описывающая зависимость $\ln\left(\frac{c}{c_0}\right)$ от времени облучения

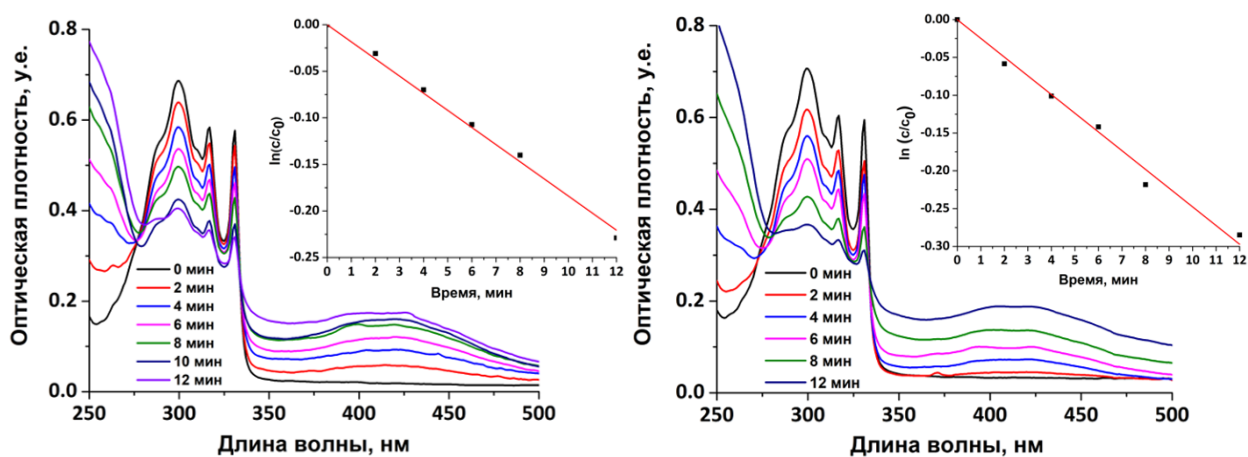


Рис. П23. ЭСП превращения DHN в присутствии 4,0-GNR@mSiO₂@1-SiO₂ (слева) и 4,0-GNR@mSiO₂@2-SiO₂ (справа) при облучении светом с длиной волны 365 нм и соответствующая линейная аппроксимация, описывающая зависимость $\ln\left(\frac{c}{c_0}\right)$ от времени облучения

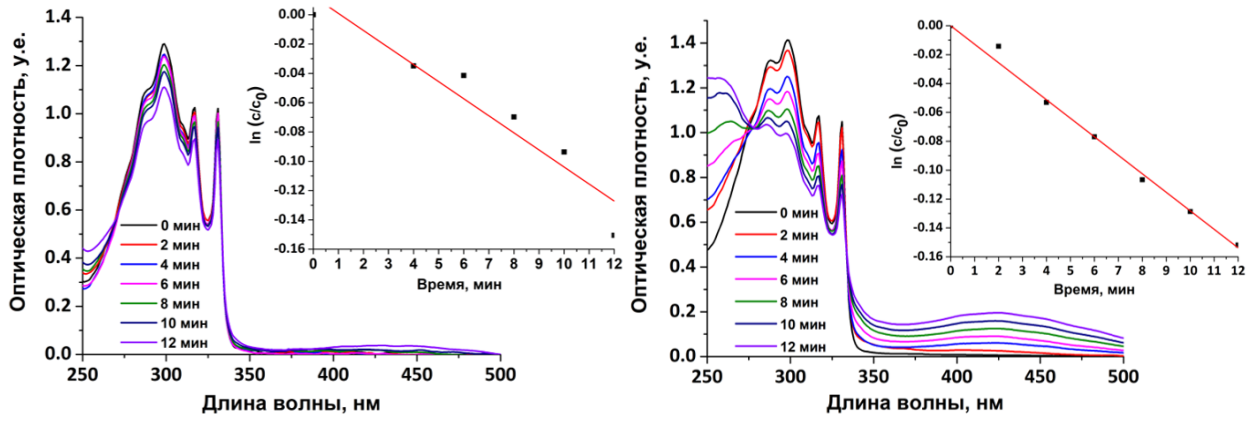


Рис. П24. ЭСП превращения DHN в присутствии 4,0-GNR@SiO₂@1-SiO₂ (слева) и 4,0-GNR@SiO₂@2-SiO₂ (справа) при облучении светом с длиной волны 365 нм и соответствующая линейная аппроксимация, описывающая зависимость $\ln\left(\frac{c}{c_0}\right)$ от времени облучения