

УТВЕРЖДАЮ

Директор Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт неорганической химии им. А.В. Николаева Сибирского отделения Российской академии наук

д.х.н., профессор РАН  К.А. Брылев

« 04 » мая 2022 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Семинара отдела химии координационных, кластерных и супрамолекулярных соединений Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт неорганической химии им. А.В. Николаева Сибирского отделения Российской академии наук

Диссертация Новиковой Евгении Дмитриевны на тему «Материалы на основе диоксида кремния, наночастиц золота и октаэдрических кластерных комплексов молибдена» на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.1. Неорганическая химия выполнена в Лаборатории биоактивных неорганических соединений Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт неорганической химии им. А.В. Николаева Сибирского отделения Российской академии наук (ИНХ СО РАН). В период подготовки диссертации с августа 2018 г. по настоящее время Новикова Евгения Дмитриевна обучается в очной аспирантуре и работает младшим научным сотрудником в Лаборатории биоактивных неорганических соединений ИНХ СО РАН. В 2018 г. окончила ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет» по специальности «Фундаментальная и прикладная химия».

Справка о сдаче кандидатских экзаменов и периоде обучения выдана 11 апреля 2022 г. в ФГБУН «Институт неорганической химии им. А.В. Николаева Сибирского отделения Российской академии наук» (ИНХ СО РАН) на основании подлинных протоколов кандидатских экзаменов и удостоверения, хранящихся в архиве института.

Научный руководитель – доктор химических наук, ведущий научный сотрудник ИНХ СО РАН Шестопалов Михаил Александрович.

На семинаре отдела присутствовали: 43 сотрудника отдела и приглашенные, в том числе 12 докторов наук, членов диссертационного совета 24.1.086.01 (д.х.н. Артемьев А.В., д.х.н. Булавченко А.И., д.х.н. профессор РАН Брылев К.А., д.х.н. профессор РАН Дыбцев Д.Н., д.х.н. Игуменов И.К., д.х.н., профессор Коренев С.В., д.х.н. Костин Г.А., д.х.н. Миронов Ю.В., д.х.н. Потапов А.С., д.х.н. Шубин Ю.В., д.х.н. профессор РАН Соколов М.Н., д.х.н., чл-к. РАН Федин В.П.), 3 доктора наук (д.х.н. Гушин А.Л., д.х.н. Конченко С.Н., д.х.н. Шестопалов М.А.) и 20 кандидатов наук (к.х.н. Воротников Ю.А., к.х.н. Воротникова Н.А., к.х.н. Демидова М.Г., к.х.н. Демаков П.А., к.х.н. Ермолаев А.В., к.х.н. Иванов А.А., к.х.н. Иванова М.Н., к.х.н. Коковкин В.В., к.х.н. Кокина Т.Е., к.х.н. Колодин А.Н., к.х.н. Литвинова Ю.М., к.х.н. Макотченко Е.В., к.х.н. Макотченко В.Г., к.х.н. Плюснин П.Е., к.х.н. Поповецкий П.С., к.х.н. Подлипская Т.Ю., к.х.н. Пушкаревский Н.А., к.х.н. Савков Б.Ю., к.х.н. Чеплакова А.М., к.х.н. Шапаренко Н.О.).

Слушали: доклад соискателя Новиковой Евгении Дмитриевны по диссертационной работе «Материалы на основе диоксида кремния, наночастиц золота и октаэдрических кластерных комплексов молибдена».

Рецензент – д.х.н., профессор, г.н.с. лаборатории химии летучих координационных и металлорганических соединений Игуменов Игорь Константинович (ИНХ СО РАН).

Вопросы задавали: д.х.н. **Федин В.П.** (Одинаковы ли закономерности для материалов с различными наночастицами золота? Чем определялся выбор кластерных комплексов? Изучалось ли взаимодействие кластерных комплексов с SiO₂? Какие методы для этого применялись? Какой идеальный размер частиц для биологических применений?); д.х.н. **Корнев С.В.** (Какова роль нитрата серебра в синтезе наностержней золота? Как он удаляется из системы?); к.х.н. **Пушкаревский Н.А.** (Какова роль цисплатина в комбинированной системе? Оправдано ли использование такой сложной системы? На каком расстоянии от кластера триплетный кислород превращается в синглетный? Каково химическое окружение кластерного ядра? Какое реальное содержание кластера в материале? Как считали?); к.х.н. **Демидова М.Г.** (Каким образом варьировали толщину слоя SiO₂? Какой выход материалов? Самых наночастиц золота?); к.х.н. **Поповецкий П.С.** (Как выводятся из организма большие сферические наночастицы золота? Можно ли использовать частицы меньшего размера? Можно ли сместить полосу эмиссии кластера?); д.х.н. **Дыбцев Д.Н.** (Зачем использовать кластер? Можно ли без него обойтись? За счет чего усиливается люминесценция в присутствии наночастиц золота? Почему в синтезе наностержней золота одни грани пассивируются, а другие – нет?).

По результатам рассмотрения диссертационной работы «Материалы на основе диоксида кремния, наночастиц золота и октаэдрических кластерных комплексов молибдена» принято следующее заключение:

Диссертационная работа Новиковой Е.Д. выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт неорганической химии им. А.В. Николаева Сибирского отделения Российской академии наук (ИНХ СО РАН) в период с 2018 по 2022 г.г.

Диссертационная работа выполнялась 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». Также работа проводилась в рамках проекта РФФ № 18-75-10060 (руководитель О.А. Ефремова).

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.

Актуальность темы исследования. 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.

Научная новизна и практическая значимость проведенных исследований.

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.

Была подробно изучена зависимость люминесцентных и фотосенсибилизационных свойств материалов от толщины слоя диоксида кремния, количества и типа кластерного комплекса и осевого соотношения наночастиц золота. В частности, было 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 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.

Разработка методик синтеза комбинированных материалов на основе наночастиц золота, диоксида кремния и октаэдрических кластерных комплексов молибдена является важным вкладом в фундаментальные знания в области неорганической химии. Результаты могут быть использованы для получения 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.

На защиту выносятся:

- методы получения материалов на основе сферических и стержнеобразных наночастиц золота, покрытых слоем диоксида кремния, допированного кластерными комплексами молибдена с ядром $\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}^{4+}$;
- 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.

Степень достоверности результатов исследований. Достоверность представленных результатов основывается на высоком методическом уровне проведения работы, согласованности экспериментальных данных с данными других исследований. 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.

Полнота опубликования результатов

По теме диссертационной работы опубликовано 3 статьи в международных журналах, входящих в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций, и индексируемых в международных информационно-библиографических системах Web of Science и Scopus. В материалах всероссийских и зарубежных конференций опубликованы тезисы 4 докладов.

Ценность научных работ соискателя ученой степени подтверждается статьями, опубликованными в рецензируемых научных журналах, которые входят в международную базу цитирования Web of Science:

1. Vorotnikov Y.A., Novikova E.D., Solovieva A.O., Shanshin D.V., Tsygankova A.R., D. Shcherbakov D.N., Efremova O.A., Shestopalov M.A. Single-domain antibody C7b for address delivery of nanoparticles to HER2-positive cancers // *Nanoscale*. – 2020. – V. 12. – P. 21885-21894.
2. Novikova E.D., Vorotnikov Y.A., Nikolaev N.A., Tsygankova A.R., Efremova O.A., Shestopalov M.A. Synergetic effect of Mo₆ clusters and gold nanoparticles on photophysical properties of both components // *Chem. Eur. J.* – 2021. – V. 27. – N. 8. – P. 2818-2825.
3. 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 Mo₆ clusters // *Chem. Commun.* – 2021. – V. 57. – P. 7770-7773.

Материалы диссертационной работы представлены на конференциях:

1. Novikova E.D., Vorotnikov Y.A., Shestopalov M.A. Materials based on gold nanoparticles and octahedral molybdenum cluster complexes // XXI Mendeleev Congress on General and Applied Chemistry. 9-13.09.2019 – Saint-Petersburg.
2. Новикова Е.Д., Воротников Ю.А., Николаев Н.А., Шестопалов М.А. Материалы на основе наночастиц золота и октаэдрических кластерных комплексов молибдена // V Школа-конференция молодых учёных «Неорганические соединения и функциональные материалы» ICFM-2019, посвящённая Международному году периодической таблицы химических элементов. 30 сентября – 4 октября 2019 г. – Новосибирск.
3. Новикова Е.Д., Воротников Ю.А., Шестопалов М.А. Влияние формы и размера наночастиц золота на свойства их конъюгатов с октаэдрическими кластерными

комплексами молибдена // XVII Международная конференция «Спектроскопия координационных соединений». 10-13 сентября 2020 г. – Краснодар.

4. Новикова Е.Д., Воротников Ю.А., Позмогова Т.Н. Мезопористые материалы на основе SiO_2 , наностержней золота и октаэдрических кластерных комплексов молибдена // Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2022». 11-22 апреля 2022 г. – Москва.

Соавторы публикаций не возражают против использования материалов перечисленных работ в диссертации Е.Д. Новиковой. Опубликованные работы достаточно полно отражают содержание диссертационной работы.

Решение о рекомендации работы к защите

Автор диссертации Новикова Е.Д. является сложившимся исследователем, имеет высокие теоретические и практические навыки, хорошо ориентируется в научной литературе, способна к критическому анализу и оценке современных научных достижений; уверенно решает поставленные научные задачи, планирует и осуществляет оригинальные исследования, связанные с синтезом и характеризацией новых многокомпонентных материалов и исследованием их свойств. Новикова Е.Д. занимается преподавательской деятельностью и является руководителем проекта РФФИ, ее характеризует высокая работоспособность, ответственность и дисциплинированность. Научные положения и выводы диссертационной работы, выполненной Новиковой Е.Д., не вызывают сомнения. Диссертация удовлетворяет требованиям, предъявляемым к работам на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.1. Неорганическая химия.

В обсуждении работы выступили: научный руководитель д.х.н. **Шестопалов М.А.**, рецензент работы д.х.н., профессор **Игуменов И.К.**, д.х.н., профессор **Корнев С.В.**, д.х.н. **Конченко С.Н.**, к.х.н. **Плюснин П.Е.**, д.х.н., чл.-к. РАН **Федин В.П.**

В ходе обсуждения было отмечено, что диссертационная работа Новиковой Евгении Дмитриевны является важным исследованием, выполненным на высоком современном экспериментальном и теоретическом уровне. Работа содержит большой объем материала с глубокой проработкой исследованных процессов и посвящена получению материалов на основе диоксида кремния, наночастиц золота различного размера и формы и октаэдрических кластерных комплексов молибдена, и изучению возможности их применения для комбинированной терапии раковых опухолей. В ходе работы получено несколько типов материалов, детально изучены их люминесцентные и фотосенсибилизационные свойства и продемонстрирована их перспективность в области биомедицины. Отмечено, что работа отличается комплексным подходом к изложению материала. Актуальность работы четко связана с полученными результатами, цели работы и выводы согласуются. Автором была проведена как синтетическая работа, так и исследование морфологии и люминесцентных свойств материалов, а также обработка данных, полученных на клеточных культурах, что подтверждает высокий уровень теоретической и практической подготовки. Диссертация хорошо структурирована, написана грамотным научным языком с четкой логикой изложения материала.

Работа отвечает требованиям п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», предъявляемых ВАК РФ к кандидатским диссертациям.

В качестве замечания высказано пожелание скорректировать выводы.

ПОСТАНОВИЛИ: диссертация «**Материалы на основе диоксида кремния, наночастиц золота и октаэдрических кластерных комплексов молибдена**» **НОВИКОВОЙ ЕВГЕНИИ ДМИТРИЕВНЫ** рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.1. Неорганическая химия.

Заключение принято на заседании отдела химии координационных, кластерных и супрамолекулярных соединений ИХХ СО РАН. Присутствовало на заседании 43 человека. Результаты голосования «за» – 43 чел., «против» – нет, «воздержавшиеся» – нет, протокол № 259 от 22 апреля 2022 г.

Председатель семинара
зав. отделом химии координационных, кластерных
и супрамолекулярных соединений
чл.-к. РАН, д.х.н.



Владимир Петрович Федин

Секретарь семинара
с.н.с. лаборатории химии комплексных соединений
к.х.н.



Евгения Васильевна Макотченко