

На правах рукописи

НОВИКОВА Евгения Дмитриевна

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

1.4.1. Неорганическая химия

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата химических наук

Новосибирск – 2022

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт неорганической химии им. А.В. Николаева Сибирского отделения Российской академии наук

**Научный руководитель**

доктор химических наук, ведущий научный сотрудник,  
заведующий лабораторией

**Шестопалов Михаил Александрович**

**Официальные оппоненты**

доктор химических наук, доцент, ведущий научный сотрудник

**Луценко Ирина Александровна**

ФГБУН Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН,  
г. Москва

кандидат химических наук, старший преподаватель кафедры органической и  
медицинской химии Химического института им. А.М. Бутлерова

**Бочкова Ольга Дмитриевна**

ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»,  
г. Казань

**Ведущая организация**

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт химии твердого тела и механохимии Сибирского отделения Рос-  
сийской академии наук, г. Новосибирск

Защита состоится «12» октября 2022 г. в 12.00  
на заседании диссертационного совета 24.1.086.01  
на базе ИНХ СО РАН

по адресу: просп. Академика Лаврентьева, 3, г. Новосибирск, 630090

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИНХ СО РАН и на сайте  
организации по адресу:

<http://www.niic.nsc.ru/institute/dissertatsionnyj-sovet/>

Автореферат разослан «5» июля 2022 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
доктор химических наук, доцент



А.С. Потапов

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**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. 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: 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, допированных 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. Продемонстрирована заметная темновая и фотоиндуцированная токсичность материалов в концентрациях, которые оказались 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  $(\text{Vb}_4\text{N})_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}\text{L}_6]$  ( $\text{L} = \text{NO}_3^-$  и  $\text{OTs}^- - \text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3^-$ ) 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 Hep-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  $\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}^{4+}$ ;
- 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 С7b, 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 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 нано-структурированные материалы» паспорта специальности 1.4.1. Неорганическая химия.

**Структура и объем 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 РФФ (18-75-10060).

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во **введении** обоснована актуальность темы, поставлена цель и определены задачи исследования, сформулированы научная новизна, практическая значимость работы и положения, выносимые на защиту.

**Первая глава** представляет собой обзор литературы, посвященный неорганическим соединениям и наноматериалам, которые могут выступать в качестве агентов для фототермической и фотодинамической терапии раковых опухолей. Данная глава разделена на три раздела, первый из которых посвящен агентам для фототермической терапии, а именно: углеродным наноматериалам, материалам на основе соединений переходных металлов (меди, железа и т.д.) и материалам на основе наночастиц благородных металлов (золота и серебра). Во втором разделе рассмотрены комплексы переходных металлов и материалы на их основе, которые могут быть использованы как агенты для фотодинамической терапии: фталоцианины металлов, материалы на основе органических фотосенсибилизаторов и нано-МОКП, а также координационные соединения переходных металлов (рутения, иридия, платины и т.д.). В заключительном разделе первой главы обсуждается комбинация фотодинамической и фототермической терапии. Отдельное внимание уделяется такому явлению как металл-усиленная генерация синглетного кислорода, возникающему при сближении на определенное расстояние фотосенсибилизатора и плазмонных наночастиц.

Во **второй главе** содержится описание использованных в ходе работы реактивов и оборудования, методик синтеза материалов, проведения экспериментов по оценке эффективности генерации синглетного кислорода, фототермических измерений, а также исследований *in vitro* для некоторых материалов.

**Третья глава** посвящена обсуждению полученных результатов. Она разделена на четыре раздела, каждый из которых посвящен описанию определенного типа фотоактивных материалов, представляющих собой наночастицы



золота, покрытые слоем диоксида кремния, допированного кластерными комплексами с ядром  $\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}^{4+}$ . В первом разделе описаны материалы на основе сферических наночастиц золота, которые используются в качестве модели для оптимизации методики синтеза. Следующий раздел посвящен исследованию материалов на основе наностержней золота с различным осевым соотношением и выбору наночастиц с наилучшими люминесцентными и фотодинамическими характеристиками. В третьем разделе описана модельная система, представляющая собой кластер-содержащие наночастицы диоксида кремния, и ее модификация наноантителами C7b для адресной доставки в раковые клетки. Наконец в заключительном разделе представлен синтез и характеристика мезопористых материалов на основе наностержней золота с осевым соотношением равным 4,0, допированных цитостатическим препаратом и модифицированных наноантителами для адресной доставки в раковые клетки, а также исследование некоторых биологических свойств полученной системы.

### Материалы на основе сферических наночастиц золота

Изучение материалов данного типа описано в работе [1]. Для исследования были выбраны сферические наночастицы золота (GNPs – gold nanoparticles) диаметром  $\sim 100$  нм, поскольку их полоса поглощения частично перекрывается с полосой эмиссии кластерных комплексов ( $\lambda_{\text{эм}} \sim 700$  нм, полная ширина на половине высоты  $\sim 200$  нм).

Схема получения комбинированных материалов  $\text{GNP}@SiO_2@n-SiO_2$  представлена на рисунке 1.

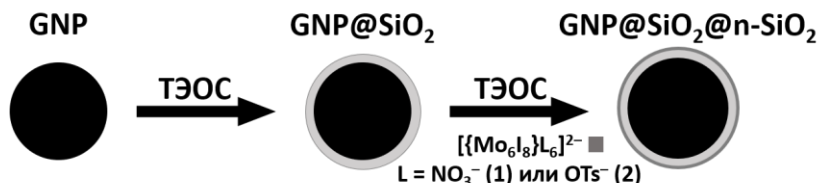


Рис. 1. Схема получения материалов  $\text{GNP}@SiO_2@n-SiO_2$

Сферические наночастицы золота размером  $107 \pm 7$  нм с максимумом поглощения на 580 нм были синтезированы трехстадийным зародышевым методом. Покрытие осуществлялось в две стадии: сначала наночастицы золота были покрыты слоем чистого  $SiO_2$ , а затем тонким слоем  $SiO_2$ , допированного кластерными комплексами молибдена с ядром  $\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}^{4+}$ . Покрытие осуществлялось методом Штобера, т.е. аммиачным гидролизом тетраэтилортосиликата (ТЭОС). В качестве исходных кластерных комплексов были выбраны  $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}L_6]$  (далее будет обозначаться как **n**), где L – терминальные лиганды  $\text{NO}_3^-$  (1) и  $\text{OTs}^-$  (2). Данные кластерные комплексы обладают ярко-выраженными люминесцентными свойствами, а также способны прочно связываться с диоксидом кремния путем замещения лабильных внешних лигандов.

Из литературы известно, что люминесцентные и фотосенсибилизационные свойства комбинированных систем напрямую зависят от расстояния между наночастицей золота и фотосенсибилизатором (ФС). Таким образом, для получения комбинированных материалов с наилучшими оптическими свойствами необходимо определить, на каком расстоянии от наночастицы будет наблюдаться наибольшее усиление интенсивности люминесценции фотосенсибилизатора.

Варьируя количество ТЭОС в реакционной смеси, мы получили частицы с одинаковым содержанием кластерного комплекса **1** и суммарной толщиной внутреннего и внешнего слоя  $\text{SiO}_2$  равной  $9 \pm 2$  ( $\text{GNP@SiO}_2@1\text{-SiO}_2$  (9)),  $21 \pm 2$  ( $\text{GNP@SiO}_2@1\text{-SiO}_2$  (21)) и  $44 \pm 3$  нм ( $\text{GNP@SiO}_2@1\text{-SiO}_2$  (44)) (рис. 2).

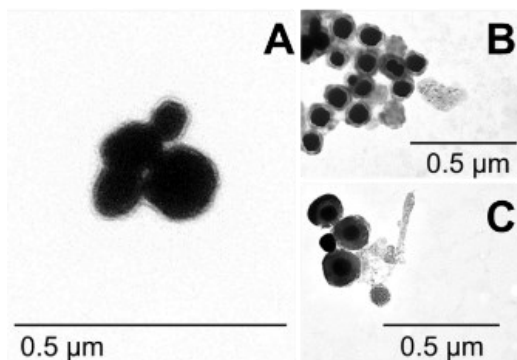


Рис. 2. ПЭМ-изображения  $\text{GNP@SiO}_2@1\text{-SiO}_2$  с разной толщиной слоя диоксида кремния: А – 9 нм; В – 21 нм; С – 44 нм

Для оценки влияния наночастиц золота на люминесцентные свойства комбинированных материалов в качестве образца сравнения использовались частицы чистого  $\text{SiO}_2$  того же размера и с тем же содержанием комплекса **1**, обозначенные как  $\text{SiO}_2@1\text{-SiO}_2$ , а также золотосодержащие наночастицы без внутреннего слоя  $\text{SiO}_2$  ( $\text{GNP@1-SiO}_2$ ). Интенсивность эмиссии для наночастиц без внутреннего слоя  $\text{SiO}_2$  оказалась значительно ниже, чем для остальных образцов, что объясняется переносом энергии с возбужденных молекул ФС на наночастицу золота. 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. 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. 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.

Для определения оптимального содержания кластерного комплекса мы проанализировали серию образцов  $\text{GNP}@SiO_2@1^x-SiO_2$ , 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.

Спектры эмиссии образцов  $\text{GNP}@SiO_2@1^x-SiO_2$  демонстрируют общую тенденцию к повышению интенсивности эмиссии с увеличением количества кластерного комплекса. Эта тенденция особенно выражена для  $x = 1,5-3$ , а в диапазоне  $x = 3-7,5$  интенсивность практически выходит на плато. Согласно данным электронной спектроскопии, полоса поверхностного плазмонного резонанса (ППР) материалов сохраняется вплоть до  $x = 4,5$ , а при  $x = 7,5$  эта полоса практически полностью исчезает. Причиной данного явления может быть агрегация наночастиц в процессе покрытия внешним слоем диоксида кремния.

ПЭМ-изображения образцов подтвердили агрегацию наночастиц в образцах, содержащих большое количество кластерного комплекса (рис. 3). 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.

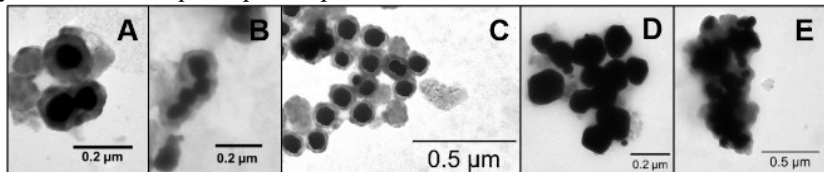


Рис. 3. ПЭМ-изображения  $\text{GNP}@SiO_2@1^x-SiO_2$  с разным содержанием кластерного комплекса: А –  $x = 1,5$ ; В –  $x = 2,3$ ; С –  $x = 3$ ; D –  $x = 4,5$ ; E –  $x = 7,5$

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

Для изучения влияния терминальных лигандов на оптические свойства материалов оптимизированные параметры синтеза были перенесены на частицы, полученные с использованием  $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{OTs})_6]$  (2). Согласно данным ПЭМ, размер и морфология частиц, а также количество кластерных ядер, приходящихся на одну наночастицу, не зависят от исходного кластерного комплекса. Интенсивности эмиссии коллоидных растворов оказались практически идентичны, однако форма спектра несколько менялась. Сравнение профилей эмиссии  $\text{GNP}@SiO_2@n-SiO_2$  и  $SiO_2@n-SiO_2$  показало, что полная ширина на половине высоты для образцов, содержащих плазмонные

наночастицы, оказалась на 13 для  $n=1$  и 4 нм для  $n=2$  меньше, чем для кластер-содержащих наночастиц  $\text{SiO}_2$  (рис. 4). Это сужение спектров на длинах волн  $<700$  нм может быть связано с частичным переносом энергии с возбужденного кластерного комплекса на наночастицы золота, имеющие в этой области плосу ППП.

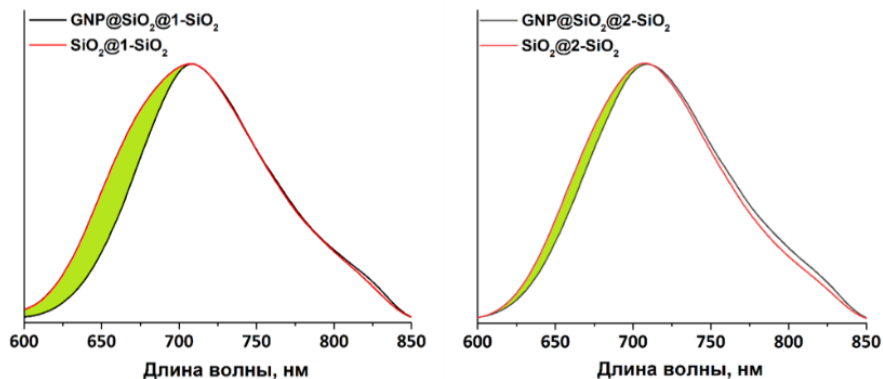


Рис. 4. Сравнение нормированных спектров эмиссии  $\text{GNP@SiO}_2@n\text{-SiO}_2$  и  $\text{SiO}_2@n\text{-SiO}_2$ ,  $n = 1$  (слева) и  $2$  (справа)

Для изучения фотодинамических свойств материалов использовалась хорошо известная в литературе «ловушка» на синглетный кислород 1,5-дигидрокси-нафталин (DHN). В качестве образца сравнения выступали частицы  $\text{SiO}_2@n\text{-SiO}_2$ , относительно которых рассчитывалось усиление генерации синглетного кислорода, обусловленное присутствием плазмонной НЧ (таблица 1).

Таблица 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. 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  $\text{GNP@SiO}_2@n\text{-SiO}_2$ .

Эффективность фототермической конверсии  $\text{GNP@SiO}_2@n\text{-SiO}_2$  и  $\text{GNP@SiO}_2$  оценивали с использованием фемтосекундного ультрафиолетового лазера с длиной волны 400 нм и фемтосекундного инфракрасного лазера с

длиной волны 800 нм. В обоих случаях наибольшую эффективность фототермической конверсии продемонстрировал образец  $\text{GNP}@SiO_2@1-SiO_2$ . Повышение температуры его коллоидного раствора после 8 минут облучения составило 9,6 и 8,9°C соответственно.

### Материалы на основе наностержней золота с различным осевым соотношением

Изучение материалов данного типа описано в работе [2]. В отличие от сферических наночастиц золота, которые способны поглощать свет в достаточно узком диапазоне ~520-620 нм, поглощение наностержней золота варьируется в гораздо более широком диапазоне, включающем как видимую, так и ближнюю ИК-область (~650-1100 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. В связи с этим для исследования были выбраны три типа наностержней золота с отношением длины к ширине (осевым соотношением или AR) равным 1,5, 2,5 и 4,0 (AR-GNRs), которые синтезировались двухстадийным зародышевым методом. С увеличением AR наблюдается сдвиг максимума поглощения наностержней в длинноволновую область, таким образом, их полоса поглощения перекрывается с полосой эмиссии кластерных комплексов в различных областях спектра (рис. 5).

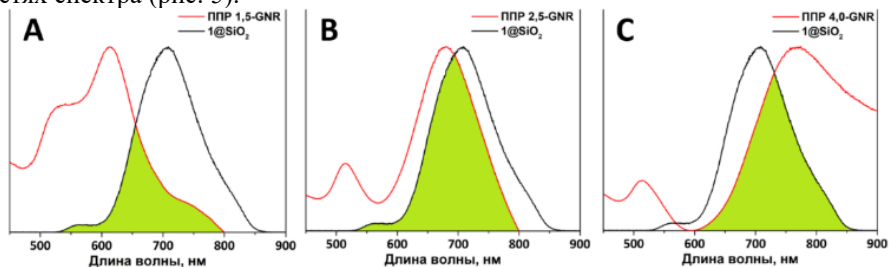


Рис. 5. Перекрытие (выделено зеленым) нормированной полосы ППП AR-GNR и полос эмиссии наночастиц  $SiO_2$ , допированных 1: А – AR = 1,5; В – AR = 2,5; С – AR = 4,0

Методика синтеза материалов была такой же, как и для сферических наночастиц золота – сначала покрытие слоем  $SiO_2$ , а затем тонким слоем  $SiO_2$ , допированного кластерными комплексами молибдена с ядром  $\{Mo_6I_8\}^{4+}$ . Размерные характеристики материалов, а также их ПЭМ-изображения представлены в таблице 2 и на рис. 6. Как видно из полученных данных, оптимальная толщина оболочки оказалась примерно одинакова для всех образцов и составляла 7-10 нм.

Таблица 2. Размерные характеристики образцов AR-GNR@SiO<sub>2</sub>@1-SiO<sub>2</sub>, определенные с помощью ПЭМ

Образец	Длина GNR, нм	Ширина GNR, нм	AR GNR	Толщина слоя SiO <sub>2</sub> , нм	Гидродинамический радиус, нм	PDI
1,5-GNR	56 ± 5	37 ± 6	1,5	7 ± 1	29,6	0,05
2,5-GNR	66 ± 5	27 ± 3	2,5	8 ± 1	28,4	0,06
4,0-GNR	52 ± 3	13 ± 1	4,0	10 ± 1	35,0	0,1

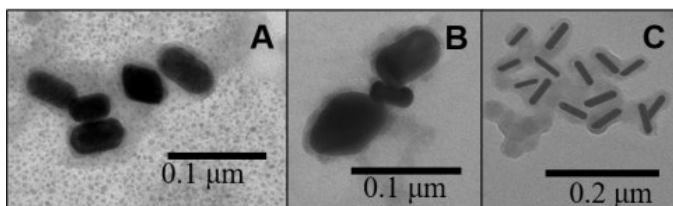


Рис. 6. ПЭМ-изображения материалов на основе наностержней золота с различным осевым соотношением: А – AR = 1,5; В – AR = 2,5; С – AR = 4,0

Люминесцентные свойства были исследованы для серии образцов AR-GNR@SiO<sub>2</sub>@n-SiO<sub>2</sub>, а также для описанных ранее GNP@SiO<sub>2</sub>@n-SiO<sub>2</sub> и SiO<sub>2</sub>@n-SiO<sub>2</sub>, при этом было установлено, что форма спектров люминесценции материалов меняется в зависимости от типа наночастиц золота (рис. 7). Образцы GNP@SiO<sub>2</sub>@1-SiO<sub>2</sub> и 1,5-GNR@SiO<sub>2</sub>@1-SiO<sub>2</sub> демонстрируют одинаковую тенденцию к небольшому сужению спектров на длинах волн < 700 нм без каких-либо изменений формы спектра. В случае 2,5-GNR@SiO<sub>2</sub>@1-SiO<sub>2</sub> 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@SiO<sub>2</sub>@1-SiO<sub>2</sub> 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. Можно заметить, что максимумы спектров люминесценции смещаются в противоположную сторону от области перекрытия полос ППР и эмиссии материалов, что подтверждает перенос энергии с возбужденного ФС на плазмонную НЧ.

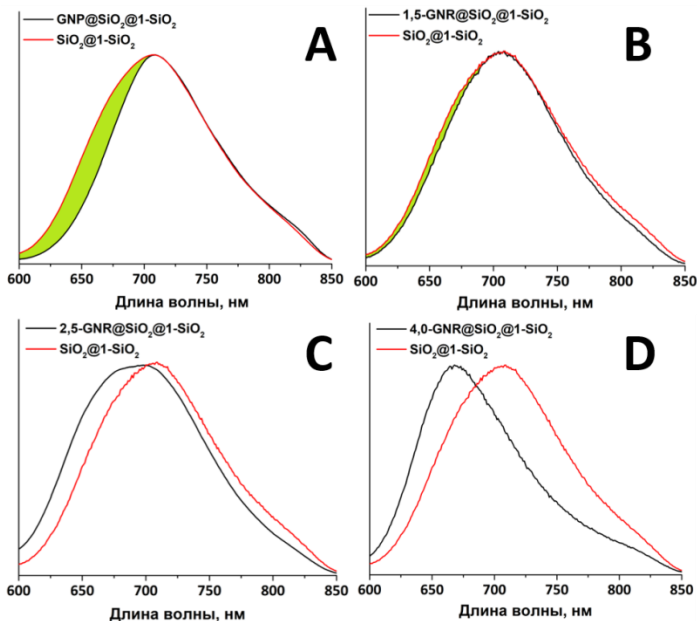


Рис. 7. Сравнение нормированных спектров эмиссии GNP@SiO<sub>2</sub>@1-SiO<sub>2</sub> (A) и AR-GNR@SiO<sub>2</sub>@1-SiO<sub>2</sub> с профилем эмиссии наночастиц диоксида кремния, не содержащих золотого ядра, SiO<sub>2</sub>@1-SiO<sub>2</sub>: B – AR = 1,5; C – AR = 2,5; D – AR = 4,0

Для определения фактора усиления люминесценции в присутствии плазмонных НЧ мы сравнивали абсолютные интенсивности излучения золотосодержащих материалов и наночастиц диоксида кремния без золотого ядра. Содержание кластерных ядер во всех образцах было одинаково. Фактор усиления люминесценции (EEF – emission enhancement factor) рассчитывался по формуле  $EEF = \frac{I_{(НЧ@SiO_2@n-SiO_2)}}{I_{(SiO_2@n-SiO_2)}}$ . Согласно данным таблицы 3, с увеличением AR наночастиц золота наблюдалось увеличение EEF вплоть до 6,7 для 4,0-GNR@SiO<sub>2</sub>@n-SiO<sub>2</sub>, причем EEF практически не зависел от природы терминальных лигандов исходного кластерного комплекса.

Таблица 3. Фактор усиления люминесценции GNP@SiO<sub>2</sub>@n-SiO<sub>2</sub>/AR-GNR@SiO<sub>2</sub>@n-SiO<sub>2</sub> относительно SiO<sub>2</sub>@n-SiO<sub>2</sub>

Образец	Фактор усиления люминесценции	
	n = 1	n = 2
GNP@SiO <sub>2</sub> @n-SiO <sub>2</sub>	2,2	2,2
1,5-GNR@ SiO <sub>2</sub> @n-SiO <sub>2</sub>	2,5	3,2
2,5-GNR@ SiO <sub>2</sub> @n-SiO <sub>2</sub>	3,6	3,8
4,0-GNR@ SiO <sub>2</sub> @n-SiO <sub>2</sub>	6,7	6,7

Фактор усиления генерации синглетного кислорода ( $EF$  – enhancement factor) определялся аналогичным образом по формуле  $EF = \frac{k_{(HЧ@SiO_2@n-SiO_2)}}{k_{(SiO_2@n-SiO_2)}}$ .

Способность материалов фотосенсибилизировать процесс генерации синглетного кислорода возрастала с увеличением AR наночастиц золота (аналогичная закономерность наблюдалась и для люминесцентных свойств материалов). Полученные данные суммированы в таблице 5. Хотя  $k_{набл}$  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  $4,0\text{-GNR}@SiO_2@1\text{-SiO}_2$ .

Таблица 5. Наблюдаемая константа скорости конверсии DHN ( $k_{набл}$ ) и фактор усиления генерации синглетного кислорода в присутствии  $GNP@SiO_2@n\text{-SiO}_2/AR\text{-GNR}@SiO_2@n\text{-SiO}_2$  относительно  $SiO_2@n\text{-SiO}_2$

Образец	$k_{набл} \times 10^2, \text{ мин}^{-1}$		Фактор усиления генерации синглетного кислорода	
	<b>n = 1</b>	<b>n = 2</b>	<b>n = 1</b>	<b>n = 2</b>
$SiO_2@n\text{-SiO}_2$	0,30	0,37	–	–
$GNP@SiO_2@n\text{-SiO}_2$	0,43	0,83	1,5	2,2
$1,5\text{-GNR}@SiO_2@n\text{-SiO}_2$	1,21	1,52	4,0	4,1
$2,5\text{-GNR}@SiO_2@n\text{-SiO}_2$	2,24	2,48	7,5	6,7
$4,0\text{-GNR}@SiO_2@n\text{-SiO}_2$	3,89	4,47	13,0	12,0

Для оценки эффективности фототермической конверсии были выбраны материалы на основе наностержней золота с  $AR = 4,0$ , поскольку они показали наилучшие люминесцентные и фотодинамические свойства. Для облучения использовался фемтосекундный ИК-лазер с длиной волны 800 нм, который идеально соответствует максимуму полосы ППП наностержней золота. Благодаря этому, материалы на основе наностержней золота показали в два раза большую эффективность в процессах фототермической конверсии, чем материалы на основе наносфер золота. Максимальное повышение температуры для них составило  $17,5^\circ\text{C}$ .

### Материалы на основе $SiO_2$ и нанокристаллы **C7b**

Одним из способов обеспечения адресной доставки лекарственных препаратов в злокачественные клетки 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), HerG2 (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  $\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}^{4+}$ . Изучение материалов данного типа описано в работе [3]. Наночастицы  $\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}@\text{SiO}_2$  были синтезированы посредством щелочного гидролиза тетраэтилортосиликата с добавлением в реакционную смесь  $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{NO}_3)_6]$  как источника кластерных ядер  $\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}^{4+}$ . Диаметр полученных наночастиц составил 50 нм, а количество кластерных ядер  $\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}^{4+} - 3,0 \pm 0,3$  мг на 1 г  $\text{SiO}_2$ .

Для конъюгации наночастиц с антителами была проведена двухстадийная модификация, схема которой представлена на рис. 8. На первом этапе поверхность наночастиц функционализировали эпоксидными группами посредством гидролиза (3-глицидилоксипропил)триметоксисилана (GPTMS). Затем по известным биологическим протоколам эпокси- $\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}@\text{SiO}_2$  конъюгировали с наноантителами C7b, способными к специфическому взаимодействию с белком HER2/neu.

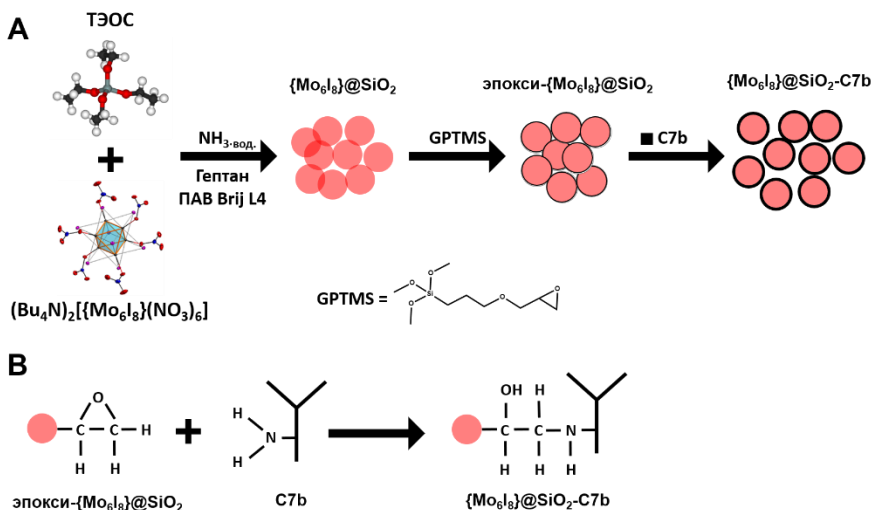


Рис. 8. А – схема получения конъюгата  $\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}@\text{SiO}_2\text{-C7b}$ ; В – схема взаимодействия эпокси- $\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}@\text{SiO}_2$  со свободной аминогруппой C7b

На основании анализа спектров люминесценции водных дисперсий исходных наночастиц  $\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}@\text{SiO}_2$ , эпокси- $\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}@\text{SiO}_2$  и конъюгатов  $\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}@\text{SiO}_2\text{-C7b}$ , можно заключить, что модификация поверхности не оказывает существенного влияния на профиль эмиссии кластерного комплекса, однако, приводит к снижению интенсивности эмиссии более чем в три раза – вероятно, за счет возникновения новых путей безызлучательного распада возбужденного состояния.

Селективность конъюгатов  $\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}@\text{SiO}_2\text{-C7b}$  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). Было показано, что после 5 минут инкубации в клетках линии SKBR3 наблюдается яркая красная люминесценция в околоядерном пространстве, в то время как в клетках линии Her-2 такой люминесценции обнаружено не было, что говорит о различных скоростях проникновения наночастиц в клетки.

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

Ранее нами 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<sub>2</sub>@n-SiO<sub>2</sub> 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: фотодинамической, фототермической и химиотерапии.

Наночастицы золота, покрытые слоем мезопористого диоксида кремния (4,0-GNR@mSiO<sub>2</sub>), были синтезированы методом травления с предварительной защитой поверхности. 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. 9.

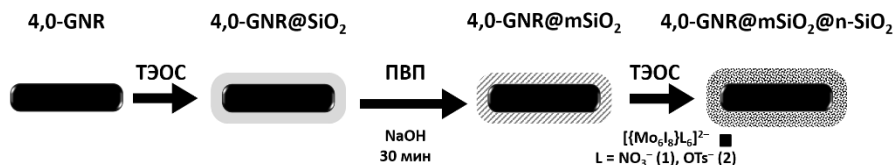


Рис. 9. Схема получения материалов 4,0-GNR@mSiO<sub>2</sub>@n-SiO<sub>2</sub>

ПЭМ-изображения наночастиц 4,0-GNR@mSiO<sub>2</sub>@n-SiO<sub>2</sub> представлены на рис. 10. 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.

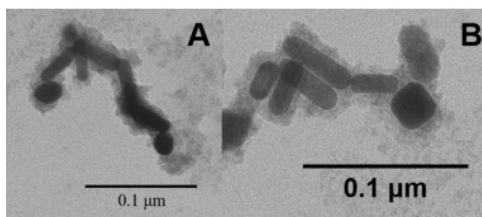


Рис. 10. ПЭМ-изображения 4,0-GNR@mSiO<sub>2</sub>@n-SiO<sub>2</sub>: А – n = 1; В – n = 2

Спектры люминесценции коллоидных растворов 4,0-GNR@mSiO<sub>2</sub>@n-SiO<sub>2</sub> и 4,0-GNR@SiO<sub>2</sub>@n-SiO<sub>2</sub> записывались для образцов с одинаковой концентрацией золота, при этом интенсивность люминесценции 4,0-GNR@mSiO<sub>2</sub>@n-SiO<sub>2</sub> оказалась в 3 раза выше, чем для их непористых аналогов, а форма спектров практически не отличалась. Такое различие связано с тем, что по данным АЭС-ИСП в мезопористые материалы включается примерно в 3 раза больше кластерного комплекса, чем в непористые.

Для количественного определения синглетного кислорода также использовались коллоидные растворы 4,0-GNR@mSiO<sub>2</sub>@n-SiO<sub>2</sub> и 4,0-GNR@SiO<sub>2</sub>@n-SiO<sub>2</sub> с одинаковой концентрацией золота. При этом наблюдаемая константа скорости реакции разложения «ловушки» 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.

Для придания комбинированной системе дополнительных химиотерапевтических свойств был использован известный противоопухолевый препарат цисплатин (cis), действие которого основано на способности образовывать сильные ковалентные связи с ДНК, тем самым препятствуя ее точной репликации. Все дальнейшие эксперименты проводились на материалах, продемонстрировавших наилучшие люминесцентные и фотодинамические свойства – т.е. 4,0-GNR@mSiO<sub>2</sub>@2-SiO<sub>2</sub>.

Для проведения сорбции к водному раствору гидролизованного цисплатина приливали коллоидный раствор мезопористых наночастиц и перемешивали в течение 5 дней. Полученные материалы обозначались как 4,0-GNR@mSiO<sub>2</sub>@2-SiO<sub>2</sub>@cis.

Поскольку взаимодействие цисплатина с диоксидом кремния может осуществляться путем образования ковалентных связей между ОН-группами SiO<sub>2</sub> 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@mSiO<sub>2</sub>@2-SiO<sub>2</sub> и 4,0-GNR@SiO<sub>2</sub>@2-SiO<sub>2</sub>. Так было обнаружено, что по

истечении 5 дней в мезопористые наночастицы включается в 3,5 раза больше цитостатического препарата, чем в непористые.

Исследование кинетики высвобождения цисплатина мы начали с проведения экспериментов в дистиллированной воде. 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. Как и ожидалось, при снижении pH наблюдалось увеличение константы скорости высвобождения цисплатина, вероятнее всего, связанное с кислотным гидролизом ковалентных связей Si-O-Pt (таблица 6). Таким образом, было показано, что наша система обладает потенциальной способностью к селективной активации вблизи или внутри раковых клеток.

Таблица 6. Константа скорости высвобождения цисплатина из 4,0-GNR@mSiO<sub>2</sub>@2-SiO<sub>2</sub>@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. Как и ожидалось, повышение температуры способствовало ускорению высвобождения цитостатического препарата: константа скорости высвобождения цисплатина увеличивалась с  $1,82 \times 10^{-2} \text{ч}^{-1}$  до  $3,09 \times 10^{-1} \text{ч}^{-1}$ . 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. Константа скорости высвобождения цисплатина в питательной среде оказалась равной  $1,11 \times 10^{-1} \text{ч}^{-1}$ , что в 17 раз превышает аналогичную константу для фосфатного буферного раствора с pH = 7,0.

Ранее мы изучили модельную систему {Mo<sub>6</sub>I<sub>8</sub>}@SiO<sub>2</sub>-C7b, предназначенную для адресной доставки фотосенсибилизатора в раковые клетки, отличающиеся повышенной экспрессией рецептора HER2/neu. Далее мы перенесли методику конъюгации наноантител на золотосодержащие материалы 4,0-GNR@mSiO<sub>2</sub>@2-SiO<sub>2</sub>. Схема конъюгации представлена на рис. 11.

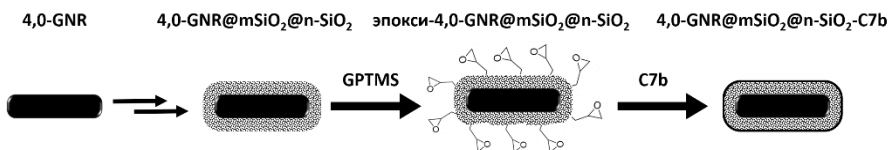


Рис. 11. Схема получения конъюгатов 4,0-GNR@mSiO<sub>2</sub>@n-SiO<sub>2</sub>-C7b

Для оценки активности антител после конъюгации использовался метод твердофазного иммуноферментного анализа. Конъюгаты сравнивались со свободными антителами в той же концентрации, и было показано, что в процессе конъюгации активность антител снижается на 20%.

Для проведения биологических исследований мы выбрали комбинированную систему, сочетающую в себе наностержни золота с  $AR = 4,0$ , мезопористый диоксид кремния, допированный кластерными ядрами  $\{Mo_6I_8\}^{4+}$ , противоопухолевый препарат цисплатин, а также наноантитела C7b. Полученный материал обозначался как 4,0-GNR@mSiO<sub>2</sub>@2-SiO<sub>2</sub>@cis-C7b. В качестве образцов сравнения выступали наночастицы 4,0-GNR@mSiO<sub>2</sub>@2-SiO<sub>2</sub> и 4,0-GNR@mSiO<sub>2</sub>@2-SiO<sub>2</sub>@cis. Биологические свойства исследовались на клеточной линии BT-474 – клетки рака молочной железы, характеризующиеся повышенной экспрессией рецептора HER2/neu.

Оценка цитотоксичности образцов проводилась с помощью стандартного MTT-теста. Было показано, что после 48 часов инкубации образцы 4,0-GNR@mSiO<sub>2</sub>@2-SiO<sub>2</sub> и 4,0-GNR@mSiO<sub>2</sub>@2-SiO<sub>2</sub>@cis характеризуются низкой токсичностью в диапазоне концентраций 0,15–9,63 мкг<sub>Au</sub>/мл, в то время как образец 4,0-GNR@mSiO<sub>2</sub>@2-SiO<sub>2</sub>@cis-C7b гораздо более токсичен. Такое заметное различие, вероятно, связано с модификацией поверхности наноантителами C7b, которые повышают количество наночастиц, проникших внутрь клеток. Кроме того, в концентрациях выше 9,63 мкг<sub>Au</sub>/мл наночастицы, содержащие цисплатин, демонстрируют несколько большую токсичность, которая, вероятно, объясняется высвобождением сорбированного в порах цитостатического препарата.

Селективность наночастиц 4,0-GNR@mSiO<sub>2</sub>@2-SiO<sub>2</sub>@cis-C7b оценивалась по отношению к двум клеточным линиям: BT-474 и MCF-7 – клетки рака молочной железы с низкой экспрессией рецептора HER2/neu. Содержание золота в клетках оценивалось методом АЭС-ИСП. Как и ожидалось, модификация наноантителами C7b увеличивала скорость проникновения наночастиц в клетки, причем для клеток линии BT-474, отличающихся повышенной экспрессией рецепторов HER2/neu, этот эффект был более заметен, чем для клеток линии MCF-7. За 60 минут инкубации в клетках линии BT-474 накапливалось в 2 раза больше наночастиц, чем в клетках линии MCF-7, что подтверждает специфическое средство наночастиц, модифицированных наноантителами C7b, к рецептору HER2/neu.

Для оценки фотоиндуцированной токсичности наночастицы 4.0-GNR@mSiO<sub>2</sub>@2-SiO<sub>2</sub>@cis-C7b были взяты в нетоксичной концентрации 1,2 мкг<sub>Ав</sub>/мл. После 30 минут облучения лампой белого света с длиной волны 400-800 нм наблюдалась гибель 32% раковых клеток, в то время как без облучения погибло лишь 10% клеток. 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.

## 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<sub>6</sub>I<sub>8</sub>}<sup>4+</sup>.
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<sub>2</sub> 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 рН-зависимый характер: при снижении рН 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.

**Основное содержание диссертации изложено в следующих работах:**

1. Novikova E.D., Vorotnikov Y.A., Nikolaev N.A., Tsygankova A.R., Efremova O.A., Shestopalov M.A. Synergetic effect of Mo<sub>6</sub> clusters and gold nanoparticles on photophysical properties of both components // Chem. Eur. J. – 2021. – V. 27. – N. 8. – P. 2818-2825.
2. 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<sub>6</sub> clusters // Chem. Commun. – 2021. – V. 57. – P. 7770-7773.
3. 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.

**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 характеристизации материалов на основе наночастиц золота и кластерных комплексов молибдена. Коллегам из ИНХ СО РАН к.х.н. Цыганковой Альфие Рафаэльевне 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 наноантител 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.

НОВИКОВА Евгения Дмитриевна

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

Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата химических наук

Изд. лиц. ИД № 04060 от 20.02.2001.

---

Подписано к печати и в свет 22.06.2022.

---

Формат 60×84/16. Бумага № 1. Гарнитура “Times New Roman”

---

Печать оперативная. Печ. л. 1,2. Уч.-изд. л. 1,1. Тираж 100. Заказ № 97

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

Институт неорганической химии им. А.В. Николаева СО РАН

Просп. Акад. Лаврентьева, 3, Новосибирск, 630090