

На правах рукописи

ВОРОТНИКОВ Юрий Андреевич

**ПОЛУЧЕНИЕ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ  
ОКТАЭДРИЧЕСКИХ КЛАСТЕРНЫХ КОМПЛЕКСОВ МОЛИБДЕНА  
И ИХ АПРОБАЦИЯ В БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ**

02.00.01 – неорганическая химия

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

Новосибирск – 2019

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте неорганической химии им. А.В. Николаева Сибирского отделения Российской академии наук (ИНХ СО РАН)

### **Научный руководитель**

кандидат химических наук, старший научный сотрудник  
Шестопалов Михаил Александрович

### **Официальные оппоненты**

доктор химических наук, доцент, профессор кафедры  
физической и неорганической химии  
Сайкова Светлана Васильевна  
ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет», г. Красноярск

кандидат химических наук, старший научный сотрудник  
Елистратова Юлия Геннадьевна  
Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова –  
обособленное структурное подразделение ФГБУН ФИЦ  
Казанский научный центр РАН, г. Казань

### **Ведущая организация**

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева РАН,  
г. Нижний Новгород

Защита состоится «17» апреля 2019 г. в 10.00 час.  
на заседании диссертационного совета Д 003.051.01  
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 «21» февраля 2019 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
доктор физико-математических наук

В.А. Надолинный

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность работы.** Октаэдрические галогенидные кластерные комплексы молибдена проявляют большое количество свойств, интересных с точки зрения практических применений. Одними из наиболее значимых свойств являются их яркая люминесценция в красной и ближней инфракрасной областях спектра, высокая эффективность в процессах фотоиндуцированной генерации синглетного кислорода, а также их высокая фотостабильность. Данные свойства позволяют прогнозировать возможность применения данных соединений в такой востребованной в наши дни области, как биомедицина, включающей в себя люминесцентную визуализацию живых систем, фотодинамическую терапию, создание антибактериальных покрытий и др. Все это делает комплексы подобного типа заметными конкурентами применяемым в наши дни соединениям. Тем не менее, существует одна значимая проблема применения кластерных комплексов, особенно в биомедицине – низкая гидролитическая устойчивость. Одним из наиболее удобных методов решения данной проблемы является включение комплексов в различные инертные и биосовместимые матрицы. Использование данного подхода позволяет не только повысить стабильность люминофоров в водной среде, но и придать системе в целом большую гибкость и универсальность за счет свойств самой матрицы. Вследствие этого выбор матрицы не менее важен, чем выбор люминофора. В данной работе было выбрано три типа матриц различной природы, в результате чего свойства финальных материалов достаточно сильно различаются. Принимая во внимание свойства каждого из типов материалов, для них была продемонстрирована перспективность применения в различных областях биологии и медицины. Данное исследование показывает, насколько гибко можно подстраивать свойства системы «комплекс-матрица» под необходимое применение.

Таким образом, систематическое изучение закономерностей образования материалов на основе различных матриц и кластерных комплексов, зависимостей люминесцентных и фотосенсибилизационных свойств от состава материала, влияния включения комплекса в матрицу на токсические показатели и др. является актуальным направлением в данной области. Кроме того, стоит отметить, что за последние несколько лет наблюдается стремительный рост количества публикаций, посвященных потенциальным биомедицинским приложениям кластерных комплексов, что также подтверждает актуальность представленной работы и данного направления в целом.

**Степень разработанности темы исследования.** История развития химии кластерных комплексов достаточно стара и богата и берет свое начало ещё со второй половины XVIII века с исследований хлоридных комплексов молибдена. За более чем 150 лет исследований ученые набрали достаточно большой запас знаний о фундаментальных свойствах данных соединений для перехода к следующей стадии – изучению возможностей практического применения. Действительно, во многих работах, особенно в современных,

упоминается принципиальная возможность применения подобных комплексов в различных областях человеческой жизнедеятельности. Тем не менее, вплоть до 2014 года это были только предположения, не подтвержденные экспериментальными данными. После 2014 года наблюдается большой рост количества публикаций, значительная часть которых выполнена в соавторстве с диссертантом, посвященных применению комплексов в тех или иных областях. Стоит отметить, что в работах также наблюдается смещение акцентов с применений самих комплексов на применение материалов, содержащих комплексы в качестве люминесцентных компонентов. Этот факт связан с тем, что сами по себе кластерные комплексы обладают низкой гидролитической устойчивостью. Использование матрицы-носителя повышает универсальность системы, позволяя варьировать как морфологию материалов, так и их свойства в зависимости от типа матрицы. Подобная гибкость системы позволяет получать материал со свойствами, необходимыми для конкретного применения.

Таким образом, развитие подходов к получению люминесцентных материалов на основе кластерных комплексов является актуальной задачей ввиду большого потенциала их использования в различных областях жизни человека. При этом большой интерес представляет изучение и систематизация закономерностей образования материалов, таких как, взаимодействия между кластерным комплексом и матрицей, влияние количества и типа кластерного комплекса на свойства материалов и т.д. Знание этих закономерностей позволит получать материалы со свойствами, необходимыми для конкретных применений.

**Цель работы** заключается в получении люминесцентных материалов на основе матриц различной природы, содержащих октаэдрические галогенидные кластерные комплексы молибдена, и изучении возможности их применения в биологических системах. В рамках достижения данной цели решались следующие задачи:

- получение материалов на основе кластерных комплексов  $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{Mo}_6\text{X}_8\}(\text{NO}_3)_6]$  ( $\text{X} = \text{Cl}, \text{Br}$  или  $\text{I}$ ) и матриц различной природы – органической (PSS), неорганической ( $\text{SiO}_2$ ) и металл-органической (MIL-101);
- характеристика полученных материалов набором физико-химических методов анализа (ИК-спектроскопия, элементный анализ, рентгеновская дифракция на монокристаллических и порошковых образцах, сканирующая и просвечивающая электронные микроскопии, и др.);
- изучение способов взаимодействия между матрицей и кластерным комплексом в зависимости от типа матрицы;
- изучение люминесцентных свойств и определение фотофизических показателей (квантовый выход, времена жизни и максимум эмиссии люминесценции) полученных материалов в зависимости от типа комплекса и его содержания;
- оценка эффективности материалов в качестве фотосенсибилизаторов в процессе генерации синглетного кислорода;

- изучение биологических свойств полученных материалов, таких как темновая и фотоиндуцированная цитотоксичности, кинетика поглощения и выведения, а также распределение в клетках.

**Научная новизна работы.** На основе октаэдрических кластерных комплексов молибдена состава  $(\text{Vu}_4\text{N})_2[\{\text{Mo}_6\text{X}_8\}(\text{NO}_3)_6]$  и трех матриц различной природы получено несколько типов материалов. Показано, что в случае металл-органического координационного полимера MIL-101 наблюдается образование соединений типа гость-хозяин. Модификация каркаса молекулами пиразина, способными координироваться к комплексу, позволяет включать комплекс в МОКП посредством образования ковалентных связей. Показано, что материалы на основе MIL-101 способны генерировать активные формы кислорода внутри клеток, а также они проявляют умеренную фотоиндуцированную цитотоксичность.

На основе водорастворимой органической матрицы – полистиролсульфоната натрия (PSS), впервые были получены водорастворимые кластер-содержащие материалы. Изучение люминесцентных свойств материалов с различным типом кластерного ядра и количеством включаемого комплекса показало, что наилучшие свойства наблюдаются для  $\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}^{4+}$ . Показано, что все материалы проявляют крайне низкую темновую и фотоиндуцированную цитотоксичности.

На основе аморфного диоксида кремния было получено два типа материалов – микро- и наноразмерные частицы. Показано, что в процессе получения материала происходит полный, либо частичный гидролиз кластерного комплекса и образование как водородных, так и ковалентных связей между комплексом и диоксидом кремния. При большом избытке комплекса наблюдается образование смеси фаз диоксида кремния и гидролизованного комплекса. Изучение люминесцентных свойств материалов с различным типом кластерного ядра и количеством включаемого комплекса показало, что наиболее выраженные люминесцентные свойства наблюдаются для  $\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}^{4+}$ . При увеличении количества кластерного комплекса наблюдается сначала повышение фотофизических характеристик, а затем их постепенное снижение. Показано, что уменьшение размера частиц положительно влияет на эффективность генерации синглетного кислорода, что связано с увеличением удельной площади поверхности.

Изучение биологических свойств материалов на основе  $\text{SiO}_2$  показало, что они проявляют низкую темновую цитотоксичность, способны проникать в клетку и находиться в ней достаточно долгое время. Также показано, что частицы легко детектируются внутри клеток благодаря их люминесценции. Модификация поверхности микрочастиц зеленым флуоресцентным белком GFP (Green Fluorescent Protein), который не способен проникать в клетки самостоятельно, позволила продемонстрировать их перспективность для доставки белков. В свою очередь, для наночастиц была показана высокая эффективность

в процессах генерации активных форм кислорода (а именно синглетного кислорода) внутри клетки, и как следствие, их высокая фотоиндуцированная цитотоксичность, значения которой сравнимы с коммерчески доступным фотосенсибилизатором Радахлорином. Полученные данные являются первой демонстрацией проявления высокой фототоксичности материалов на основе кластерных комплексов молибдена.

**Практическая значимость работы.** Полученные данные о закономерностях образования материалов, а также типах реализуемых взаимодействий и свойствах финальных материалов демонстрируют возможность варьирования их свойств для необходимых применений. В работе продемонстрированы перспективы применения материалов различного типа в нескольких направлениях биологии и медицины: материалы на основе MIL-101 – биовизуализация, ФДТ (фотодинамическая терапия) и пролонгированное действие; материалы на основе PSS – биовизуализация; материалы на основе SiO<sub>2</sub>: (1) микрочастицы – биовизуализация и доставка белков в клетку; (2) наночастицы – биовизуализация и ФДТ.

Результаты данной работы являются существенным вкладом не только в фундаментальные знания в области материаловедения, но и имеют ценность для дальнейшего развития возможностей практических применений материалов на основе кластерных комплексов.

**Методология и методы диссертационного исследования.** Методология исследования включает в себя этапы получения материалов на основе различных матриц и кластерных комплексов молибдена (Bu<sub>4</sub>N)<sub>2</sub>{[Mo<sub>6</sub>X<sub>8</sub>](NO<sub>3</sub>)<sub>6</sub>}. Материалы на основе MIL-101, MIL-101-руз и PSS были получены пропиткой заранее полученных матриц раствором кластерного комплекса. Материалы на основе SiO<sub>2</sub> были получены путем аммиачного гидролиза тетраэтоксисилана в присутствии кластерных комплексов двумя методами: микрочастицы – метод Штобера, наночастицы – микроэмульсионный метод. Характеризация полученных соединений проводилась на современном оборудовании при использовании общепризнанных методов, таких как электронная и ИК-спектроскопии, элементные анализы CHN, EDS и ICP-AES, спектроскопия ядерного магнитного резонанса, рентгенофазовый анализ и др. Морфология всех нерастворимых в воде материалов была изучена методами просвечивающей и сканирующей электронных микроскопий. Водорастворимые материалы на основе PSS были исследованы с помощью гель-проникающей хроматографии. Спектры люминесценции для полученных материалов регистрировались при помощи чувствительного к красному свету датчика. Квантовые выходы определены с использованием измерительной системы абсолютных квантовых выходов фотолюминесценции Hamamatsu Photonics, C9920-03.

При проведении биологических исследований использовались раковые клетки линий Hep-2 и HeLa. Цитотоксичность материалов изучалась с использованием МТТ-теста. Количество живых, мертвых и апоптотических клеток определяли с помощью метода двойного окрашивания Hoechst 33342/PI.

Визуализацию клеток проводили с использованием методов ПЭМ, конфокальной лазерной сканирующей микроскопии и флуоресцентной микроскопии. Кинетику проникновения материалов в клетку и их выведения изучали методом проточной цитометрии. Для определения фотоиндуцированной цитотоксичности использовалась лампа с длиной волны  $\lambda \geq 400$  нм, а жизнеспособность клеток после облучения определяли с помощью метода МТТ или двойного окрашивания Hoechst 33342/PI.

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

#### **Положения, выносимые на защиту:**

- методы получения люминесцентных материалов на основе кластерных комплексов  $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{Mo}_6\text{X}_8\}(\text{NO}_3)_6]$  и
  - металл-органического координационного полимера MIL-101 и его модифицированного пирaziном производного – MIL-101-pyz ( $X = \text{I}$ );
  - водорастворимого органического полимера полистиролсульфоната натрия PSS ( $X = \text{Cl}, \text{Br}, \text{I}$ );
  - аморфного диоксида кремния в виде сферических частиц двух размеров – микрочастицы ( $\varnothing \sim 500$  нм) ( $X = \text{Cl}, \text{Br}, \text{I}$ ) и наночастицы ( $\varnothing \sim 50$  нм) ( $X = \text{I}$ );
- результаты исследования состава и морфологии полученных материалов и типов взаимодействия, реализующихся между кластерным комплексом и матрицей в процессе получения материалов, а также влияние количества включаемого комплекса на эти характеристики;
- результаты изучения люминесцентных свойств и эффективности фотосенсибилизации процесса генерации синглетного кислорода полученными материалами в зависимости от состава кластерного ядра, количества кластерного комплекса и типа материала;
- результаты изучения биологических свойств на перевиваемых клеточных культурах, такие как цитотоксичность, клеточное поглощение и выведение из клетки, распределение в клетке, механизмы поглощения, генерация активных форм кислорода внутри клетки, люминесцентная визуализация внутри клетки, доставка белков, 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 (матрицы MIL-101 и MIL-101-pyz предоставлены аспирантом Чеплаковой А.М.), 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: VIII Всероссийская конференция с международным участием молодых ученых по химии «Менделеев – 2014» (Санкт–Петербург, Россия, 2014), 52 и 53 Международная научная студенческая конференция «Студент и научно–технический прогресс» (Новосибирск, Россия, 2014–2015), Международный семинар IV International Workshop of Transition Metal Clusters, IWTMC (Новосибирск, Россия, 2014), XXVI Международная Чугаевская конференция по координационной химии (Казань, Россия, 2014), 48 Международный конгресс по химии «IUPAC-2015» (Пусан, Корея, 2015), IX Международная конференция молодых ученых по химии «Менделеев-2015» (Санкт-Петербург, Россия, 2015), Международный семинар «CLUSPOM-Altay» (Алтай, Россия, 2015), Международный семинар «CLUSPOM-1» (Ренн, Франция, 2016), Международная конференция 42<sup>nd</sup> International Conference on Coordination Chemistry (Брест, Франция, 2016), XIII Международная конференция «Спектроскопия координационных соединений» (Туапсе, Россия, 2016), V Молодежная конференция по молекулярной и клеточной биологии института цитологии РАН (Санкт-Петербург, Россия, 2016), Байкальская школа-конференция по химии (Иркутск, Россия, 2017), IV Школа-конференция молодых учёных «Неорганические соединения и функциональные материалы» ICFM-2017 (Новосибирск, Россия, 2017), 27 Международная Чугаевская конференция по химии координационных соединений и 4 школа-конференция для молодых ученых «Physicochemical Methods in Coordination Chemistry» (Нижний Новгород, Россия, 2017), Международный семинар «CLUSPOM-2018» (Жиф-сюр-Иветт, Франция, 2018).

**Публикации.** По теме диссертационной работы опубликовано 4 статьи в международных рецензируемых журналах, которые входят в перечень индексируемых в международной системе научного цитирования Web of Science. В материалах всероссийских и зарубежных конференций опубликованы тезисы 27 докладов.

**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 различного уровня и высокая оценка на российских и международных конференциях.

**Соответствие специальности 02.00.01 – неорганическая химия.** Диссертационная работа соответствует п. 1. «Фундаментальные основы получения объектов исследования неорганической химии и материалов на их основе» паспорта специальности 02.00.01 – неорганическая химия.

**Структура и объем работы.** Диссертация изложена на 159 страницах, основной текст работы содержит 49 рисунков и 6 таблиц. Работа состоит из введения, литературного обзора, экспериментальной части, описания



полученных результатов и их обсуждения, основных результатов и выводов, списка цитируемой литературы (311 наименований) и приложений на 33 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 проектов РФФИ (14-03-92612, 15-33-20083, 17-03-00140, 18-33-00209) и РФФИ (14-14-00192 и 18-75-10060). Также результаты исследований были поддержаны премией им. академика А.В. Николаева за успехи в научной работе в 2016-2017, 2017-2018 и 2018-2019 гг. (ИНХ СО РАН), стипендией правительства Новосибирской области в 2017 г. и премией мэрии г. Новосибирска 2018 г., а также премией Special Prize in Topsoe PhD Students Competition 2017 for Fundamental importance.

## 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* диссертации посвящена подробному обзору публикаций по методам получения материалов на основе красных неорганических люминофоров и матриц и изучению возможностей их применения в областях биологии и медицины.

В литературном обзоре собрано большое количество современных исследований (в основном не старше 2010 года), направленных на изучение материалов на основе красных неорганических люминофоров (соединения лантаноидов, полупроводниковые квантовые точки, комплексы рутения, и кластерные комплексы) и матриц различной природы органической (различные полимеры), неорганической ( $\text{SiO}_2$ ) и металл-органической (МОКП) и демонстрацию их возможных применений в биологических и медицинских приложениях. На основании данных изученного блока литературы можно сделать вывод, что каждый из рассмотренных классов соединений обладает своими недостатками, которые, однако, как показывает публикационная активность, не являются непреодолимым препятствием для их дальнейшего применения на практике и, тем более, для изучения способов устранения этих недостатков и демонстрации возможностей их применения. Справедливо отметить, что кластерные комплексы также не лишены недостатков, однако их свойства в целом делают

их заметными конкурентами более популярным соединениям в областях биологии и медицины, о чем свидетельствует как рост количества публикаций по данному направлению, так и то, что практически ни одна публикация, посвященная комплексам, не обходится без изучения их биологических свойств.

Во *второй главе* приведен перечень применяемого в работе оборудования и реактивов. Для выполнения работы использовалось следующее основное оборудование: порошковый дифрактометр Philips APD 1700 с длиной волны возбуждения  $\lambda_{Cu}(K_{\alpha 1}, K_{\alpha 2}) = 1.54059, 1.54439$  CHNS-O анализатор EuroVector EA3000; ИК Фурье спектрометр VERTEX 80; спектрометр UV-Vis-NIR Ultrospec 3300 pro; высокоразрешающий ICP-AES спектрометр iCAP-6500 (Thermo Scientific) с распылительной камерой циклонного типа и распылителем «SeaSpray»; энергодисперсионный анализатор Hitachi TM3000 TableTop SEM с приставкой Bruker QUANTAX 70 EDS; использовании сканирующий электронный микроскоп JEOL JSM 5700 CarryScope и просвечивающий электронный микроскоп Libra 120 (Zeiss); гельпроникающий хроматограф Agilent LC 1200 с хроматографической колонкой PL-gel-Mixed B; масс-спектрометр высокого разрешения Maxis 4G (Bruker Daltonics, Germany); лазерный сканирующий конфокальный микроскоп Zeiss LSM 780 NLO (Carl Zeiss Inc., Jena, Germany), построенный на базе микроскопа AxioObserver Z1 (Zeiss) и оборудованный лазерным диодом (405 нм) и объективом APOCHROMAT 63×/1.4 Oil DIC LD; спектры эмиссии регистрировались на многоканальном фотодетекторе (Hamamatsu Photonics, PMA-12); затухание эмиссии анализировали с помощью системы со streak-камерой (Hamamatsu Photonics, C4334 и C5094); квантовые выходы излучения были определены с использованием системы измерения абсолютного квантового выхода фотолюминесценции (Hamamatsu Photonics, C9920-03), которая содержит ксеноновую лампу в качестве источника возбуждения (длина волны возбуждения задана на 380 нм), интегрирующую сферу и многоканальный фотодетектор (Hamamatsu Photonics, PMA-12).

Далее в данной главе приведены методы получения и характеристики материалов на основе различных матриц. Кроме того, указаны детали проведения биологических анализов, таких как МТТ-тест, конфокальная лазерная сканирующая микроскопия, проточная цитометрия, оценка фотоиндуцированной токсичности и др.

*Третья глава* посвящена полученным результатам и их обсуждению. Глава разделена на четыре части. Первые две части посвящены получению, характеристике и изучению биологических свойств материалов на основе МОКП (MIL-101 и MIL-101-руz) и PSS. Третья глава посвящена получению микро- и наноразмерных частиц SiO<sub>2</sub> и изучению их физико-химических свойств. В последнюю главу вынесены результаты исследования биологических свойств материалов на основе диоксида кремния.

**Материалы на основе MIL-101.** Включение комплекса  $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{NO}_3)_6]$  (**3**) в наноразмерные MIL-101 и MIL-101-pyz проводили посредством пропитки дисперсии МОКП в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Предполагалось, что в случае MIL-101 ввиду отсутствия каких-либо функциональных групп пропитка будет приводить к образованию соединения включения **3@MIL-101** с типом взаимодействия «гость-хозяин». В случае же MIL-101-pyz возможно замещение высоко лабильных нитратных лигандов и образование ковалентной связи Mo-N.

Изучение полученных соединений методом элементного анализа EDS показало, что в **3@MIL-101** соотношение  $\text{Cr}/\text{Mo}$  в образце равно 8,37, что соответствует 0,06 молекул комплекса на формульную единицу MIL-101 или  $\sim 0,7$  молекул комплекса на каждую мезопорость, а для **3-MIL-101-pyz** соотношение  $\text{Cr}/\text{Mo}$  составило 3,83, что соответствует 0,13 молекул комплекса на формульную единицу MIL-101-pyz или  $\sim 1,47$  молекул комплекса на каждую мезопорость. Можно заметить, что модификация координационного полимера увеличила количество включаемого комплекса больше, чем в два раза, что косвенно подтверждает теорию об образовании ковалентных связей.

Предположительно, образование ковалентных связей между матрицей и кластерным комплексом должно было увеличить стабильность системы в целом и предотвратить вымывание комплекса из пор. Для того, чтобы подтвердить данную теорию материалы **3@MIL-101** и **3-MIL-101-pyz** помещали в фосфатный буферный раствор при  $\text{pH} = 7,4$  и выдерживали в течение 24 часов. После проведения экстракции и последующего центрифугирования было обнаружено, что в случае **3@MIL-101** раствор над осадком (супернатант) был окрашен в желтый цвет. Напротив, в случае соединения **3-MIL-101-pyz** супернатант был бесцветным, что наглядно подтверждает повышение стабильности системы при образовании ковалентных связей Mo-N.

Люминесцентные свойства были изучены для порошковых образцов исходного MIL-101 и соединений **3@MIL-101** и **3-MIL-101-pyz**. (Рис. 1)

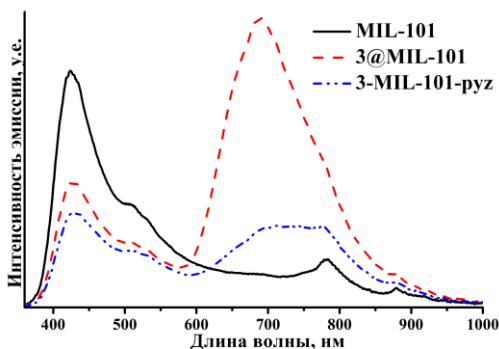


Рис. 1. Спектры люминесценции MIL-101, **3@MIL-101** и **3-MIL-101-pyz**

Несмотря на то, что красную люминесценцию образцов можно отчетливо видеть невооруженным глазом, значения квантовых выходов люминесценции образцов на основе MIL-101 находятся вне пределов определения интегрирующей сферы, т.е.  $< 0,01$ .

Так как соединения **3@MIL-101** и **3-MIL-101-puz** являются достаточно пористыми для проникновения молекулярного кислорода, было проведено исследование их способности к генерации синглетного кислорода с использованием 2,3-дифенил-*para*-диоксена в качестве ловушки на синглетный кислород. Детектирование продукта реакции производилось по спектрам  $^1\text{H}$  ЯМР. Показано, что кластер-содержащие материалы **3@MIL-101** и **3-MIL-101-puz** демонстрируют удовлетворительную активность в генерации синглетного кислорода, тогда как для MIL-101, а также для MIL-101-puz наблюдается лишь незначительная конверсия 2,3-дифенил-*para*-диоксена. Более того, активность генерации синглетного кислорода **3@MIL-101** и **3-MIL-101-puz** практически одинакова, несмотря на значительно более высокое содержание комплекса в **3-MIL-101-puz**.

Далее было оценено влияние исходных матриц и кластер-содержащих материалов на жизнедеятельность клеток Нер-2 с использованием МТТ-теста. Было показано, что MIL-101 и **3@MIL-101** не оказывают значимого влияния (т.е. жизнеспособность клеток составляет более 80%.) на жизнедеятельность клеток в диапазоне концентраций от 0,5 мкг/мл до 125 мкг/мл. Концентрации полумаксимального ингибирования ( $\text{IC}_{50}$ ) для MIL-101 и **3@MIL-101** составили  $744 \pm 16$  мкг/мл и  $535 \pm 48$  мкг/мл соответственно. В то же время соединения MIL-101-puz и **3-MIL-101-puz** оказывают более сильное влияние на метаболическую активность клеток. Например, жизнеспособность клеток после инкубации с MIL-101-puz и **3-MIL-101-puz** была ниже 80% в том же диапазоне концентраций до 125 мкг/мл. Значения  $\text{IC}_{50}$  составили  $407 \pm 26$  мкг/мл и  $339 \pm 16$  мкг/мл соответственно.

Следующий этап исследования материалов заключался в детектировании и количественном определении уровня генерации АФК внутри клеток Нер-2, инкубированных с **3@MIL-101**. Для детектирования наличия внутриклеточных АФК использовали 5,6-карбокси-2',7'-дихлорфлуоресцеиндиацетат (**DCFH-DA**), чувствительный к окислению различными АФК, включая  $^1\text{O}_2$ . При окислении DCFH-DA переходит в флуоресцентную форму, что можно отчетливо детектировать методами флуоресцентной микроскопии. После облучения светом внутри клеток, инкубированных в присутствии **3@MIL-101**, наблюдается ярко-зеленая флуоресценция, что указывает на высокое количество АФК. Таким образом, эти данные подтверждают, что **3@MIL-101** способен генерировать АФК не только *in vitro*, но также и в живых клетках.

Для изучения фотоиндуцированной цитотоксичности клетки Нер-2 инкубировали с соединениями **3@MIL-101** и **3-MIL-101-puz**, а затем облучали светом с  $\lambda \geq 400$  нм и оценивали количество жизнеспособных, апоптотических

и мертвых клеток. Было показано, что после облучения в случае клеток, инкубированных с  $3@MIL-101$  в концентрации 500 мкг/мл, наблюдается гибель  $7 \pm 1,3\%$  клеток, тогда как ни в контрольной группе, ни в клетках, инкубированных с  $3-MIL-101$ -руз, мертвых клеток не было обнаружено. Таким образом, использование МОКП в качестве матрицы перспективно для создания агентов для фотодинамической терапии, однако необходимо использовать кластерные комплексы с более высокими фотофизическими и фотосенсибилизационными показателями.

**Материалы на основе полистиролсульфоната натрия (PSS).** Водорастворимые материалы  $n^x@PSS$  (где  $x = 1, 5, 10$  или  $100$  – масса  $n$  ( $(Bu_4N)_2\{Mo_6X_8\}(NO_3)_6$ , где  $X = Cl$  (1), Br (2) или I (3)) в миллиграммах на 100 мг исходного полимера) был получен путём пропитки полимера раствором кластерного комплекса в ацетоне. После проведения реакции были получены осадки жёлтого цвета. Исследования образцов методом электронной спектроскопии показали широкую полосу поглощения в области 270-450 нм, что подтверждает включение комплексов. С помощью метода ICP-AES было определено содержание молибдена и натрия в полученных материалах. Как и ожидалось, содержание молибдена увеличивается с увеличением значения  $x$ , в то время как содержание натрия уменьшается.

Для полученных материалов были подробно изучены люминесцентные свойства. (Рис.2) Отметим, что материалы  $1^{100}@PSS$  и  $2^{100}@PSS$  обладают гораздо более низкими значениями  $\tau_{эм}$  и  $\Phi_{эм}$  по сравнению с  $3^{100}@PSS$ , в то время как значение  $\lambda_{эм}$  увеличивается в ряду  $Cl > Br > I$ . Также стоит отметить, что времена жизни и квантовые выходы  $n^{100}@PSS$  значительно меньше, чем для известного кластерного комплекса молибдена с терминальными сульфонатными лигандами. Мы полагаем, что это связано с изменением лигандного окружения комплексов в полимере и присутствием молекул воды в материалах.

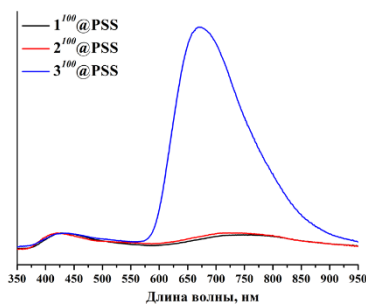


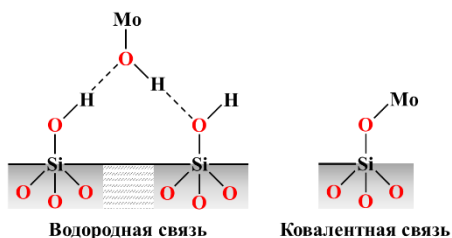
Рис. 2. Спектры люминесценции порошковых образцов  $n^{100}@PSS$  нормированные на эмиссию PSS

Влияние чистого PSS и материалов  $n^{100}@PSS$  на жизнеспособность клеток линии Нер-2 и HeLa было оценено с помощью МТТ – теста в диапазоне концентраций 3,2-3300 мкг/мл. (Рис. 3) Как и ожидалось, PSS проявляет очень низкую токсичность во всём диапазоне исследуемых концентраций.  $1^{100}@PSS$  также проявляет относительно низкую токсичность, поэтому значение концентрации

полуМаксимального ингибирования ( $IC_{50}$ ) не было достигнуто в исследованном диапазоне концентраций в случае обеих клеточных линий. Напротив, материалы, содержащие более «тяжёлые» кластерные комплексы, являются более токсичными для клеток линии HeLa и значения  $IC_{50}$  составили  $1300 \pm 300$  мкг/мл ( $X = Br$ ) и  $370 \pm 80$  мкг/мл ( $X = I$ ).

**Материалы на основе  $SiO_2$  (Микрочастицы).** Большой ряд микрочастиц диоксида кремния, допированных кластерными комплексами молибдена,  $n^x@SiO_2$  MPs (где  $n$  соответствует комплексам **1**, **2** или **3**,  $x$  – загрузка **1-3** в граммах на 1 г получаемого  $SiO_2$ ) был получен аммиачным гидролизом ТЭОС (т.е. по методу Штобера) в присутствии различных количеств соответствующих комплексов.

Известно, что кластерные комплексы молибдена претерпевают гидролиз в щелочной среде с образованием осадков аквагидроксо комплексов, которые можно описать общей формулой  $[Mo_6X_8](H_2O)_2(OH)_4 \cdot zH_2O$  ( $X = Cl$  ( $4 \cdot zH_2O$ ),  $Br$  ( $5 \cdot zH_2O$ ) и  $I$  ( $6 \cdot zH_2O$ )). Следовательно, в процессе получения  $SiO_2$  наряду с гидролизом ТЭОС возможно параллельное протекание процесса гидролиза **1-3**. Данный факт позволяет предположить, что аква- и гидроксо-лиганды образующихся комплексов способны образовывать водородные связи с группами  $-Si-OH$ . Помимо этого, возможно и образование ковалентных связей посредством замещения внешних лигандов комплексов на депротонированные группы  $-Si-O^-$ , которые образуются за счет ионизации групп  $-Si-OH$  в щелочных средах. (Рис. 3)



**Рис. 3.** Возможные типы взаимодействия между матрицей  $SiO_2$  и кластерным комплексом

Принимая во внимание образование как водородных, так и ковалентных связей, состав кластерных комплексов в матрице можно выразить общей формулой  $[Mo_6X_8](H_2O)_{6-y-z}(OH)_y(OSi)_z]_{4-y-z}$ . Более того, при увеличении количества комплекса,  $z$ , вероятно, будет стремиться к 0, т.е. преимущественно будет образовываться аквагидроксо комплекс.

Все полученные материалы были изучены методом РФА. На порошковых дифрактограммах чистых MPs и  $n^x@SiO_2$  MPs с  $x \leq 0,1$  наблюдаются типичные пики гало на  $22^\circ$ , соответствующие аморфному  $SiO_2$ . Увеличение количества кластерного комплекса в частицах выше  $x = 0,1$ , в случае  $n = 2$  или **3**, приводит к уменьшению интенсивности, сужению пика гало и появлению новых узких пиков. В случае  $2^x@SiO_2$  сужение пика было отнесено к образованию аморфной

фазы  $5 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . Напротив, на дифрактограммах  $3^x @ \text{SiO}_2$  ( $x \geq 1$ ) отчетливо наблюдалось образование кристаллической фазы  $6 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . (Рис. 4)

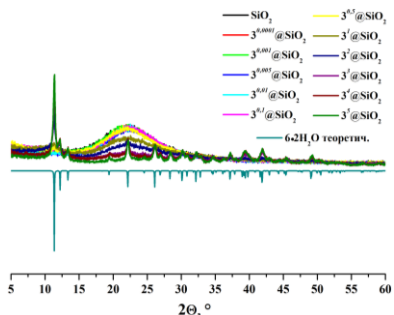


Рис. 4. Порошковая дифрактограмма чистых  $\text{SiO}_2$  и  $3^x @ \text{SiO}_2$  MPs

Изучение дифракции электронов в выбранной области для образцов  $3^x @ \text{SiO}_2$  ( $x = 0,05, 0,5$  и  $5$ ) дополнительно подтвердило, что образцы с низким содержанием  $3$  являются аморфными. В тоже время при повышении количества комплекса наблюдается рост кристалличности образцов.

Для более подробного изучения типов взаимодействия между комплексом и  $\text{SiO}_2$ , образец  $3^{0,1} @ \text{SiO}_2$  был изучен с помощью  $^{29}\text{Si}$  CP MAS ЯМР спектроскопии (Cross Polarization Magic Angle Spinning NMR). (Рис. 5) На полученном спектре наблюдалось два заметных изменения в сравнении со спектром чистых  $\text{SiO}_2$  MPs: сдвиг сигнала Q3 (т.е. Si-OH) примерно на 2 ppm и увеличения кремния, что свидетельствует об образовании водородных связей между Si-OH и Mo-OH или Mo-OH<sub>2</sub>. В тоже время увеличение интенсивности сигнала Q4, вероятно, является результатом образования ковалентных связей Si-O-Mo, что согласуется с известными данными.

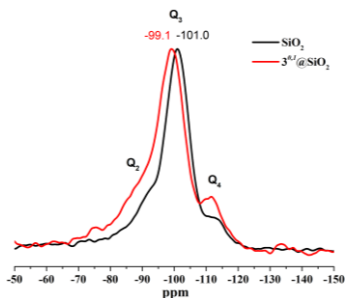


Рис. 5.  $^{29}\text{Si}$  CP MAS ЯМР-спектры чистых  $\text{SiO}_2$  и  $3^{0,1} @ \text{SiO}_2$  MPs

Форма и морфология всех полученных MPs была изучена с помощью ПЭМ. (Рис. 6) Серия образцов  $3^x @ \text{SiO}_2$  также была изучена методом СЭМ (сканирующая электронная микроскопия). Полученные изображения показали,

что как чистые  $\text{SiO}_2$ , так и  $\mathbf{n}^x@ \text{SiO}_2$  с содержанием комплекса до  $x = 0,1$  имеют практически идеальную сферическую форму и диаметр  $\sim 500$  нм. Увеличение загрузки комплексов выше  $x = 0,1$  приводит к искажению сферической формы частиц, а при  $x \geq 0,5$  наблюдается образование крупных частиц неправильной формы.

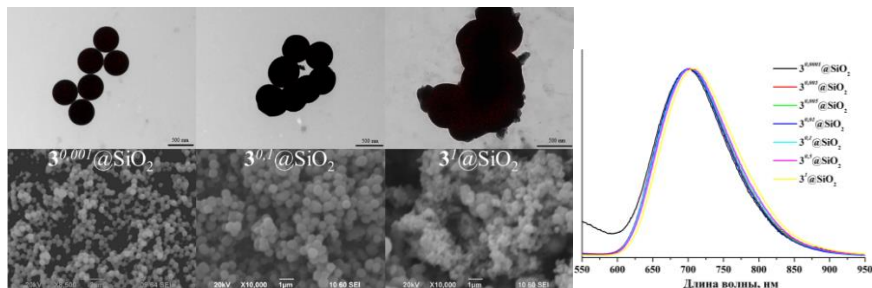


Рис. 6. Изображения  $3^x@ \text{SiO}_2$  MPs ( $x = 0,001, 0,1$  и  $1$ ), полученные с помощью ПЭМ и СЭМ (слева) и нормированные спектры эмиссии образцов  $3^x@ \text{SiO}_2$  (справа)

Фотофизические характеристики были исследованы для порошковых образцов  $\mathbf{n}^x@ \text{SiO}_2$ . (Рис. 6) Полученные данные показывают, что люминесцентные свойства материалов значительно отличаются от свойств исходных соединений **1-3**. Для образцов  $1^x@ \text{SiO}_2$  и  $2^x@ \text{SiO}_2$  наблюдается батохромный сдвиг максимума эмиссии на  $\sim 60$  и  $\sim 85$  нм соответственно. В случае же  $3^x@ \text{SiO}_2$  напротив наблюдается гипсохромный сдвиг на  $\sim 35$  нм. Более того, увеличение загрузки комплекса, независимо от состава кластерного ядра, приводит к постепенному батохромному сдвигу максимумов эмиссии для всех образцов. Эти сдвиги обусловлены изменением лигандного окружения исходных комплексов – от  $(\text{NO}_3)_6$  до  $(\text{H}_2\text{O})_{6-y-z}(\text{OH})_y(\text{OSi})_z$ , где  $z$  зависит от соотношения  $\mathbf{n}/\text{TЭОС}$  в реакционной смеси (чем выше количество комплекса, тем ниже  $z$ ).

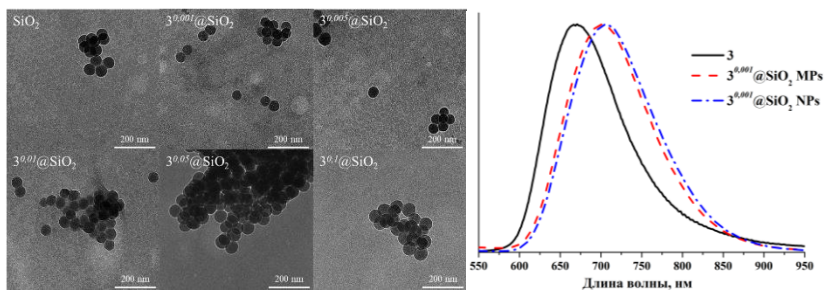
Детальное исследование квантовых выходов большой серии  $3^x@ \text{SiO}_2$  с маленьким шагом увеличения  $x$  показало, что для  $\Phi_{\text{эм}}$  наблюдается тенденция сначала к постепенному увеличению, а затем к уменьшению значений при увеличении концентрации комплекса. В частности, для материалов  $3^x@ \text{SiO}_2$ , в случае, когда  $x$  находится в диапазоне  $0,0002-0,002$ , наблюдаются самые высокие значения  $\Phi_{\text{эм}}$  – вплоть до  $0,09$ . В тоже время, дальнейшее увеличение  $x$  приводит к плавному снижению  $\Phi_{\text{эм}}$  до  $0,01$ . Предположительно, такое уменьшение значений квантового выхода связано с образованием кристаллитов аквагидрокси комплекса  $6 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  в  $3^x@ \text{SiO}_2$  при  $x > 0,002$ .

Также были исследованы фотосенсибилизационные свойства  $3^x@ \text{SiO}_2$  MPs. Согласно полученным данным, увеличение времени облучения приводило к постепенному увеличению конверсии ловушки. Можно заметить, что образцы с более высоким содержанием комплекса ( $x = 0,05$  и  $0,1$ ), проявляют несколько большую эффективность. Максимальная степень конверсии составила  $\sim 3,5\%$ .



**Материалы на основе SiO<sub>2</sub> (Наночастицы).** Для получения материалов 3<sup>x</sup>@SiO<sub>2</sub> NPs (где  $x = 0, 0,001, 0,005, 0,01, 0,05, 0,1$ ) использовался слегка модифицированный микроэмульсионный метод. Большей загрузки комплекса в данном случае достигнуть не удалось по причине слабой растворимости комплекса **3** в этаноле.

Изображения, полученные с помощью ПЭМ показали, что все NPs имеют идеальную сферическую форму. С увеличением загрузки комплекса  $x$  наблюдается увеличение диаметра частиц от 55 нм до 65 нм. (Рис. 7) Аналогично MPs, набор аналитических методов (РФА, ИК- и электронная спектроскопии, спектроскопия диффузного отражения и СНН анализ) однозначно подтвердил наличие кластерного комплекса и одинаковое окружение кластерного ядра в NPs. Точное массовое содержание молибдена в MPs было определено методом ICP-AES. Показано, что в случае NPs количество включенного комплекса выше уже при  $x = 0,005$ .



**Рис. 7.** Изображения чистых SiO<sub>2</sub> и 3<sup>x</sup>@SiO<sub>2</sub> NPs ( $x = 0,001, 0,005, 0,01, 0,05$  и  $0,1$ ), полученные с помощью ПЭМ (слева) и сравнение нормированных спектров эмиссии **3**, 3<sup>0,001</sup>@SiO<sub>2</sub> NPs и 3<sup>0,001</sup>@SiO<sub>2</sub> MPs (справа)

Для оценки влияния размера частиц на свойства люминесценции материалов, мы определили фотофизические характеристики NPs и сравнили их с ранее полученными результатами для MPs. (Рис. 7) Было показано, что свойства NPs при  $x \leq 0,005$  близки к свойствам MPs. В тоже время, увеличение количества комплекса в NPs выше этого значения приводит к более резкому снижению значений как квантовых выходов, так и времен жизни эмиссии. Данная тенденция, вероятно, связана с более высокой степенью гидролиза комплекса, вследствие большей продолжительности реакции получения материалов.

Для полученных NPs также была оценена эффективность генерации синглетного кислорода. Сравнение полученных значений конверсии в присутствии NPs (3<sup>x</sup>@SiO<sub>2</sub>,  $x = 0,001, 0,005$  и  $0,01$ ) со значениями для подобных MPs показало, что эффективность генерации <sup>1</sup>O<sub>2</sub> у наночастиц была примерно в четыре раза выше, чем у микрочастиц. (Рис. 8) Мы предположили, что причиной повышения эффективности генерации синглетного кислорода в случае NPs является более высокая удельная площадь поверхности материала, что значительно влияет на скорость взаимодействия с <sup>3</sup>O<sub>2</sub>. Действительно, удельная

площадь поверхности MPs, полученная с помощью измерений по методу БЭТ, составила 60 м<sup>2</sup>/г, в то время как для NPs – 280 м<sup>2</sup>/г, то есть почти в 5 раз выше.

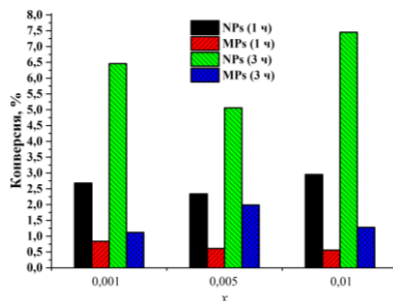


Рис. 8. Сравнение степени конверсии 2,3-дифенил-*para*-диоксена в присутствии MPs и NPs после 1 и 3 часов облучения светом с длиной волны  $\lambda \geq 400$  нм

### Биологические свойства материалов на основе SiO<sub>2</sub> (Микрочастицы).

Как было показано ранее, микроразмерные материалы 3<sup>x</sup>@SiO<sub>2</sub> MPs обладают наилучшими люминесцентными свойствами по сравнению с 1<sup>x</sup>@SiO<sub>2</sub> и 2<sup>x</sup>@SiO<sub>2</sub>. Кроме того, они также проявляют достаточно низкие фотосенсибилизационные свойства. Совокупность достаточно яркой эмиссии в красной области спектра (легкость детекции) и низкую эффективность генерации <sup>1</sup>O<sub>2</sub> (низкая фототоксичность) делает эти объекты перспективными в качестве агентов для биовизуализации, а также в качестве люминесцентных меток в системах доставки биомолекул.

Поэтому, для оценки потенциала люминесцентных MPs в этой области, мы функционализовали поверхность наиболее люминесцентного материала – 3<sup>0.01</sup>@SiO<sub>2</sub>, эпоксидными группами. Полученные модифицированные 3<sup>0.01</sup>@SiO<sub>2</sub> MPs затем конъюгировали с зеленым флуоресцентным белком (GFP -Green Fluorescent Protein). GFP обладает рядом преимуществ для данной работы: (1) его эмиссия не перекрывается с эмиссией комплекса, что позволит легко подтвердить успешность конъюгации и факт проникновения в клетку; (2) в свободной форме GFP не проникает в клетки.

Для исходных частиц и конъюгата с GFP была изучена цитотоксичность. (Рис. 9) Согласно полученным данным, в диапазоне концентраций от 0,01 до 0,18 мг/мл исходные частицы не оказывают влияния на жизнеспособность клеток. Таким образом, концентрации, оптимальные для проведения биологических исследований не должны превышать 0,18 мг/мл. В тоже время, для 3<sup>x</sup>@SiO<sub>2</sub>-GFP наблюдалась значительно более высокая цитотоксичность: значение IC<sub>50</sub> было примерно в 50 раз ниже, в сравнении с неконъюгированным материалом. Значительное повышение токсичности материала после конъюгации является дополнительным доказательством успешной доставки GFP внутрь клетки.

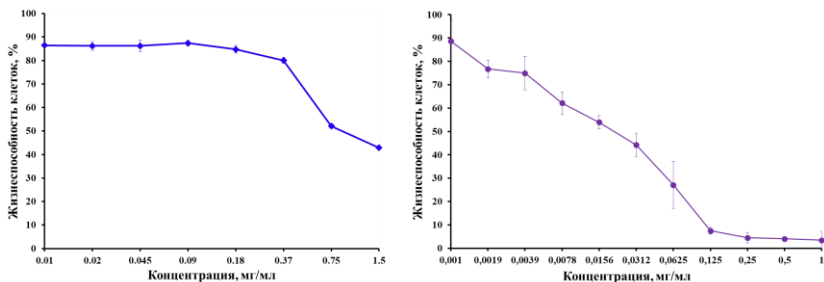


Рис. 9. Влияние  $3^{0,01}@SiO_2$  (слева) и  $3^{0,01}@SiO_2$ -GFP (справа) на жизнеспособность клеток Нер-2.

Клеточное проникновение и локализация частиц в клетках линии Нер-2 была изучена с использованием флуоресцентной микроскопии, проточной цитометрии и ПЭМ. Изображения клеток, инкубированных с  $3^{0,01}@SiO_2$  и  $3^{0,01}@SiO_2$ -GFP и чистым GFP, полученные с помощью флуоресцентного микроскопа, позволили сделать несколько важных выводов. Во-первых, оба образца проникают в клетки Нер-2, поскольку можно видеть красную люминесценцию, распределенную по всему объему цитоплазмы клеток. Во-вторых, сам GFP не проникает в клетки, что согласуется с другими исследованиями. В-третьих, в случае  $3^{0,01}@SiO_2$ -GFP зеленая люминесценция GFP полностью перекрывается с красной люминесценцией комплексов, что означает, что GFP проникает в клетку как часть конъюгата с MPs.

Поскольку приведенные выше результаты подтверждают, что микроразмерные материалы, несмотря на большие размеры, успешно проникают в клетки Нер-2 и локализуются по всему объему цитоплазмы, необходимо было оценить фотоиндуцированную токсичность образцов. Полученные данные демонстрируют, что  $3^{0,01}@SiO_2$  проявляет лишь немного более высокую фотоиндуцированную цитотоксичность в сравнении с чистым диоксидом кремния, который является нетоксичным во всем диапазоне исследованных концентраций. Тем не менее, даже при наибольшей концентрации материала, процент живых клеток после облучения составил более 80%.

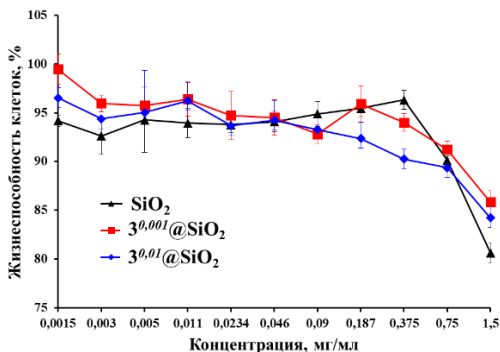
Таким образом, совокупность полученных данных подтверждает перспективность представленных материалов в качестве доставщиков биомолекул в клетку, включая те биомолекулы, которые не проникают в свободном виде. Наличие хорошо детектируемой люминесценции, рецептор-независимый механизм проникновения, а также проявление низкой темновой и фотоиндуцированной токсичности – все эти свойства позволяют легко отследить факт проникновения конъюгата в клетку и не беспокоиться о разрушении биомолекулы.

### **Биологические свойства материалов на основе $SiO_2$ (Наночастицы).**

В отличие от MPs, NPs продемонстрировали достаточно высокую эффективность генерации синглетного кислорода в сочетании с ярко-выраженными люминесцентными свойствами. Кроме того, согласно литературным данным, наночастицы имеют оптимальный размер (50 нм) и форму для биологических исследований. Сочетание приведенных свойств делает наноразмерные кластер-

содержащие материалы интересными с точки зрения визуализации живых систем, а также в качестве агентов для ФДТ.

Влияние чистых наночастиц  $\text{SiO}_2$ ,  $3^{0,001}@\text{SiO}_2$  и  $3^{0,01}@\text{SiO}_2$  в диапазоне концентраций 0,0015-1,5 мг/мл на жизнеспособность клеток Нер-2 оценивали методом МТТ. (Рис. 10) Было показано, что NPs в концентрации от 0,0015 до 0,375 мг/мл не проявляют цитотоксического эффекта. Однако увеличение концентрации всех изученных образцов выше 0,75 мг/мл вызывает резкое снижение количества метаболически активных клеток до 80%.



**Рис. 10.** Влияние чистых  $\text{SiO}_2$  и  $3^x@\text{SiO}_2$  NPs ( $x = 0,001, 0,01$ ) на жизнеспособность клеток Нер-2

Для изучения распределения наночастиц в клетке были использованы методы КЛСМ и ПЭМ. Подробное изучение изображений, полученных методом КЛСМ, показало, что наночастицы локализуются в цитоплазме и на периферии клеток, а также в пространстве около ядер.

Далее мы решили изучить фотоиндуцированную токсичность материалов  $3^{0,001}@\text{SiO}_2$  и  $3^{0,01}@\text{SiO}_2$  на клетках линии Нер-2 и сравнить с коммерчески доступным фотосенсибилизатором Радахлорин®. Влияние концентрации фотосенсибилизаторов на жизнеспособность клеток приведено на рисунке 11. Было показано, что при инкубации с 0,0125-0,05 мг/мл  $3^{0,001}@\text{SiO}_2$  и 0,05 мг/мл  $3^{0,01}@\text{SiO}_2$  и 0,01525 мг/мл Радахлорина количество апоптотических клеток было максимальным. Более того, при концентрациях  $3^{0,001}@\text{SiO}_2$  выше 0,18 мг/мл,  $3^{0,01}@\text{SiO}_2$  – выше 0,025 мг/мл и Радахлорина – выше 0,01525 мг/мл наблюдалось заметное увеличение количества мертвых клеток. В случаях  $3^{0,01}@\text{SiO}_2$  и Радахлорина нам удалось определить значения  $\text{IC}_{50}$ , которые составили  $0,075 \pm 0,007$  мг/мл и  $0,021 \pm 0,002$  мг/мл, соответственно. В тоже время, в случае  $3^{0,001}@\text{SiO}_2$  даже при самой высокой концентрации 0,22 мг/мл наблюдалась гибель только ~35 % клеток. Таким образом, можно заключить, что материал с большим количеством включенного комплекса проявил более сильную фотоиндуцированную токсичность. Значения  $\text{IC}_{50}$  материала  $3^{0,01}@\text{SiO}_2$  находятся примерно на одном уровне со значениями Радахлорина, который используется для флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии злокачественных опухолей.

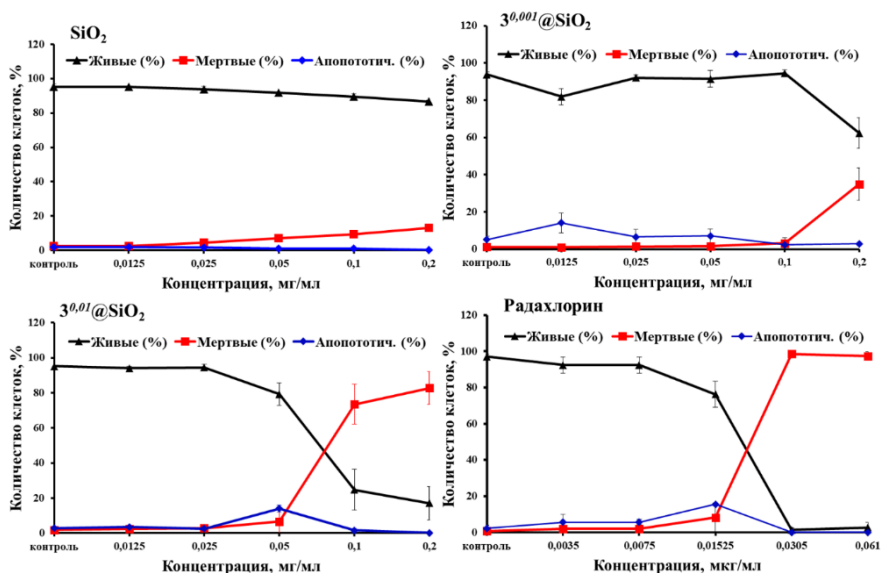


Рис. 11. Жизнеспособность клеток, инкубированных с чистыми SiO<sub>2</sub>, 3<sup>0,001</sup>@SiO<sub>2</sub> NPs ( $\chi = 0,001$  и 0,01) и Радахлорином, после облучения светом с длиной волны  $\lambda \geq 400$  нм.

Подводя итог, можно сказать, что биологические эксперименты подтвердили, что наночастицы являются более эффективными фотосенсибилизаторами по сравнению с микрочастицами. Сочетание низкой темновой токсичности с высокой фотоиндуцированной токсичностью говорят о высоком потенциале подобных материалов в областях, связанных с генерацией синглетного кислорода *in vivo*, например ФДТ.

## ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

- Предложены методики и оптимизированы условия получения материалов на основе галогенидных октаэдрических кластерных комплексов молибдена (Bu<sub>4</sub>N)<sub>2</sub>{Mo<sub>6</sub>X<sub>8</sub>}(NO<sub>3</sub>)<sub>6</sub>], где X = Cl, Br или I, и трех типов матриц различной природы – органической (PSS), неорганической (микро- и наноразмерные частицы SiO<sub>2</sub>) и металл-органической (MIL-101 и его модифицированное пирезином производное – MIL-101-pyz).
- Показано, что включение кластерного комплекса в MIL-101 и MIL-101-pyz не приводит к изменению кристаллической структуры полимера. В случае SiO<sub>2</sub> использование большого избытка комплексов приводит к образованию крупных частиц неправильной формы, которые являются смесью фаз диоксида кремния и аква-гидрокси комплекса состава  $[\{Mo_6X_8\}(OH)_4(H_2O)_2]\cdot nH_2O$ . Показано, что в зависимости от типа используемой матрицы реализуются различные типы взаимодействий между комплексом и матрицей: MIL-101 –

гость-хозяин, MIL-101-pyz и PSS – ковалентная связь, SiO<sub>2</sub> – водородная и ковалентная связи.

3. При изучении люминесцентных свойств полученных материалов выявлено, что во всех случаях наилучшие свойства наблюдаются для образцов, содержащих комплекс с кластерным ядром {Mo<sub>6</sub>I<sub>8</sub>}<sup>4+</sup>. Показано, что при увеличении количества комплекса в частицах SiO<sub>2</sub>, не зависимо от размера, наблюдается сначала повышение фотофизических характеристик, а затем их снижение вплоть до нуля.

4. Показано, что для материалов на основе MIL-101 наблюдается повышение токсичности после модификации пирaziном, в то время как включение комплекса не вызывает повышения токсических показателей. Полимерные материалы на основе PSS в экспериментально достижимых концентрациях (3,3 мг/мл) не оказывают существенного влияния на жизнеспособность клеточной культуры Нер-2, однако токсичны по отношению к культуре HeLa. Материалы на основе SiO<sub>2</sub> проявляют достаточно низкую токсичность вплоть до концентрации 0,18 мг/мл независимо от размера частиц. Исследования клеточного проникновения материалов на основе MIL-101 показало, что сам координационный полимер не проникает в клетки, однако наблюдается постепенное высвобождение комплекса из пор и его поглощение клетками. В случае материалов на основе PSS проникновение в клетку наблюдалось только в случае комплекса с кластерным ядром {Mo<sub>6</sub>I<sub>8</sub>}<sup>4+</sup>. Материалы на основе SiO<sub>2</sub> хорошо проникают в клетки независимо от размера частиц. Показано, что возможным механизмом проникновения микрочастиц является фагоцитоз, а наночастиц – эндоцитоз.

5. Показано, что материалы на основе MIL-101 и наноразмерные частицы SiO<sub>2</sub> способны фотосенсибилизировать процесс генерации активных форм кислорода внутри клеток. Изучение фотоиндуцированной цитотоксичности показало, что наночастицы SiO<sub>2</sub>, содержащие комплекс с кластерным ядром {Mo<sub>6</sub>I<sub>8</sub>}<sup>4+</sup>, проявляют высокий фотодинамический эффект, сравнимый с коммерческим фотосенсибилизатором Радахлорином. Для микрочастиц продемонстрирована возможность их использования в качестве доставщиков биомолекул в клетку (включая биомолекулы неспособные проникать в клетку в свободной форме).

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

1. Cheplakova A. M., Solovieva A. O., Pozmogova T. N., Vorotnikov Y. A., Brylev K. A., Vorotnikova N. A., Vorontsova E. V., Mironov Y. V., Poveshchenko A. F., Kovalenko K. A., Shestopalov M. A., Nanosized mesoporous metal-organic framework MIL-101 as a nanocarrier for photoactive hexamolybdenum cluster compounds // J. Inorg. Biochem. - 2017. - V. 166, - P. 100-107.
2. Svezhentseva E. V., Solovieva A. O., Vorotnikov Y. A., Kurskaya O. G., Brylev K. A., Tsygankova A. R., Edeleva M. V., Girylova S. N., Kitamura N., Efremova O.

- A., Shestopalov M. A., Mironov Y. V., Shestopalov A. M., Water-soluble hybrid materials based on  $\{Mo_6X_8\}^{4+}$  (X = Cl, Br, I) cluster complexes and sodium polystyrene sulfonate // *New J. Chem.* - 2017. - V. 41, No. 4. - P. 1670-1676.
3. 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/ $SiO_2$  // *RSC Adv.* - 2016. - V. 6, No. 49. - P. 43367-43375.
4. 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  $\{Mo_6I_8\}^{4+}$  metal clusters // *J. Mater. Chem. B* - 2016. - V. 4, No. 28. - P. 4839-4846.

### Благодарности

Автор выражает искреннюю благодарность научному руководителю к.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 ИХБФМ СО РАН за проведение экспериментов по характеристике кластерных комплексов и материалов на их основе. Коллегам из ИНХ СО РАН: асп. Чеплаковой Анастасии Михайловне за получение координационных полимеров MIL-101 и MIL-101-ruz и помощь в охарактеризации материалов, к.х.н. Зубаревой Анне Петровне за проведение СНН анализа, к.х.н. Цыганковой Альфии Рафаэльевне за проведение элементного анализа АЭС-ИСП, к.х.н. Куратьевой Наталье Владимировне за проведение рентгеноструктурного анализа, к.х.н. Коваленко Константину Александровичу за проведение экспериментов по сорбции газов и определению удельной площади поверхности, к.х.н. Брылеву Константину Александровичу за проведение исследований люминесцентных свойств, к.х.н. Воротниковой Наталье Андреевне за проведение экспериментов по определению эффективности генерации синглетного кислорода, к.х.н. Еделева Марии Владимировне (НИОХ СО РАН) за проведение характеристики полимерных материалов методом гелепроникающей хроматографии, к.ф.-м.н. Яньшолу Вадиму Владимировичу за проведение масс-спектрометрических исследований, к.б.н. Байбородину Сергею Ивановичу за помощь в проведении микроскопических исследований, к.б.н. Соловьевой Анастасии Олеговне и Позмоговой Татьяне Николаевне (НИИКЭЛ - филиал ИЦиГ СО РАН) за проведение биологических исследований. Также автор благодарит Dr. Olga A. Efremova (University of Hull, UK) за неоценимую помощь в обсуждении результатов и поддержке на всех этапах выполнения работы.

ВОРОТНИКОВ Юрий Андреевич

**ПОЛУЧЕНИЕ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ  
ОКТАЭДРИЧЕСКИХ КЛАСТЕРНЫХ КОМПЛЕКСОВ МОЛИБДЕНА  
И ИХ АПРОБАЦИЯ В БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ**

Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата химических наук  
Изд. лиц. ИД № 04060 от 20.02.2001.

---

Подписано к печати и в свет 14.02.2019.

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

---

Печать оперативная. Печ. л. 1,2. Уч.-изд. л. 1,1. Тираж 120. Заказ № 43

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

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

Просп. Акад. Лаврентьева, 3, Новосибирск, 630090