Институт органической и физической химии им А.Е. Арбузова – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской Академии Наук»

На правах рукописи

## ФАЙЗУЛЛИН БУЛАТ АЙВАРОВИЧ

# ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ НА ОСНОВЕ КОМПЛЕКСОВ Au(I) И Ag(I) С ЦИКЛИЧЕСКИМИ Р,N-ЛИГАНДАМИ И ГЕКСАРЕНИЕВЫМИ И ГЕКСАМОЛИБДЕНОВЫМИ КЛАСТЕРНЫМИ АНИОНАМИ

1.4.4. ФИЗИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

# **ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени кандидата химических наук

Научный руководитель:

доктор химических наук, доцент

### Мустафина Асия Рафаэлевна

# СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ
ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР13
1.1. Процесс супрамолекулярной самосборки как основа формирования
функциональных наноструктур13
1.1.1. Движущие силы процесса супрамолекулярной самосборки. Основные
типы функциональных наноматериалов13
1.1.2. Органические наноматериалы 15
1.1.3. Органические/неорганические гибридные наноматериалы 17
1.1.4. Металл-органические координационные структуры 19
1.2. Потенциальные структурные блоки для функциональных
супрамолекулярных наноматериалов
1.2.1. Комплексы Au(I) и Ag(I) 23
1.2.1.1. Ауро/металлофильные взаимодействия
1.2.1.2. Фотофизические свойства комплексов Au(I) и Ag(I) 25
1.2.1.3. Терапевтический потенциал комплексов Au(I) и Ag(I) 34
1.2.1.4. Наноразмерный подход для модификации терапевтического
потенциала комплексов Au(I) и Ag(I) 40
1.2.2. Октаэдрические кластерные системы 46
1.2.2.1. Халькогенидные гексарениевые кластерные комплексы
1.2.2.2. Иодидные гексамолибденовые кластерные комплексы
ГЛАВА 2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ 50
2.1. Реагенты и исходные соединения 50
2.2. Методики синтеза наноструктур 51
2.3. Методы и приборы53
ГЛАВА 3. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ 59
3.1. Наноструктуры на основе нейтрального комплекса Au(I) с
диазадифосфациклооктановым лигандом ((AuCl) <sub>2</sub> L)59

3.1.1. Оптимизация методики получения полиэлектролит-стабилизированных
наночастиц 59
3.1.2. Характеризация и функциональные свойства полученных ПЭИ-
[(AuCl) <sub>2</sub> L] наноструктур
3.1.3. Взаимодействие полиэлектролит-стабилизированных наноструктур с
биомолекулами
3.2. Гетерометаллические наноструктуры на основе катионного комплекса Au(I)
с диазадифосфациклооктановым лигандом ([Au <sub>2</sub> L <sub>2</sub> ] <sup>2+</sup> ) и гексамолибденовыми
кластерами [ {Mo <sub>6</sub> I <sub>8</sub> }(L') <sub>6</sub> ] <sup>2-</sup> (L'= I <sup>-</sup> или CH <sub>3</sub> COO <sup>-</sup> )
3.2.1. Синтез и характеризация гетерометаллических Au <sub>2</sub> –Mo <sub>6</sub> наночастиц 75
3.2.2. Фотодинамическая активность супрамолекулярных Au <sub>2</sub> -Mo <sub>6</sub>
наноструктур 80
3.2.3. Цитотоксичность, клеточная интернализация и внутриклеточное
распределение супрамолекулярных Au <sub>2</sub> –Mo <sub>6</sub> наноструктур 81
3.3. Гетерометаллические наноструктуры на основе катионного комплекса Au(I)
с диазадифосфациклооктановым лигандом ([Au <sub>2</sub> L <sub>2</sub> ] <sup>2+</sup> ) и гексарениевыми
кластерами [{ $Re_6Q_8$ }(OH) <sub>6</sub> ] <sup>4-</sup> (Q=S <sup>2-</sup> или Se <sup>2-</sup> )
3.3.1. Синтез и характеризация супрамолекулярных Au <sub>2</sub> –Re <sub>6</sub> наноструктур 87
3.3.2. рН-зависимое растворение Au <sub>2</sub> –Re <sub>6</sub> наноструктур
3.3.3. ПЭИ-индуцированное растворение Au <sub>2</sub> -Re <sub>6</sub> наноструктур.
Модификация поверхности лизоцимом
3.3.4. Цитотоксичность и клеточная интернализация Au <sub>2</sub> -Re <sub>6</sub> и лизоцим-Au <sub>2</sub> -
Re <sub>6</sub> наночастиц
3.4. Гетерометаллические наноструктуры на основе катионного комплекса Ag(I)
с фосфоланопиридиновым лигандом ([Ag <sub>2</sub> L <sub>2</sub> ] <sup>2+</sup> ) и гексарениевыми кластерами
[{Re <sub>6</sub> S <sub>8</sub> }( <i>L</i> ') <sub>6</sub> ] <sup><i>n</i>-</sup> ( <i>L</i> '=CN <sup>-</sup> или OH <sup>-</sup> )
3.4.1. Получение и характеризация гетерометаллических Ag(L)-Re <sub>6</sub> (OH)
наночастиц 102
3.4.2. Получение и характеризация гетерометаллических Ag(L)-Re <sub>6</sub> (CN)
наночастиц 106

3.4.3. Взаимодействие гетерометаллических $Ag(L)-Re_6(OH)$ и $Ag(L)-Re_6(CN)$
наночастиц с тиолами 109
3.5. Гетерометаллические наноструктуры на основе катионного комплекса Ag(I)
с фосфоланопиридиновым лигандом ( $[Ag_2L_2]^{2+}$ ) и гексарениевым кластером
$[\{\text{Re}_{6}\text{S}_{8}\}(\text{H}_{2}\text{O})_{n}(\text{OH})_{6-n}]^{n-4}.$ 114
3.5.1. Синтез и характеризация гетерометаллических Ag <sub>x</sub> -Re <sub>6</sub> наночастиц 115
3.5.2. Модификация поверхности гетерометаллических Ag <sub>x</sub> -Re <sub>6</sub> наночастиц121
3.5.3. Химическое поведение гетерометаллических Ag <sub>x</sub> -Re <sub>6</sub> наночастиц в
слабокислых растворах и в присутствии GSH 122
3.5.4. Цитотоксичность, клеточная интернализация и внутриклеточное
распределение гетерометаллических Ag <sub>x</sub> -Re <sub>6</sub> наночастиц 124
ЗАКЛЮЧЕНИЕ
СПИСОК УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ И СОКРАЩЕНИЙ 131
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ 134
ПРИЛОЖЕНИЕ

### введение

Актуальность исследования. Одной из приоритетных задач современной химии является разработка эффективных подходов к созданию функциональных и/или интеллектуальных наноматериалов, проявляющих благодаря своим уникальным физическим и химическим свойствам биологическую активность. Перспективной стратегией дизайна таких наноструктур является наноразмерный подход, основанный на спонтанной самоорганизации молекулярных блоков, структура которых является предпосылкой проявления тех или иных физических Огромное разнообразие И химических свойств. свойств обеспечивают координационные соединения, что делает их чрезвычайно перспективными строительными блоками для дизайна наноструктур. При этом широкий ряд нековалентных взаимодействий между данными блоками является основной движущей силой их самоорганизации наноструктуры. Подбором В добиться координационных блоков направленной модификации можно функциональных характеристик наноструктур И зависимости и/или ИХ воздействий, переключаемости за счет внешних таких как облучение, взаимодействие с биомолекулами или изменение рН в физиологическом диапазоне. Перспективными строительными блоками функциональных и/или интеллектуальных наноструктур являются координационные соединения ионов 4(5)d-металлов, в частности комплексы Au(I) и Ag(I), известные своими уникальными фотофизическими свойствами и имеющие потенциал в антираковой терапии, а также гексарениевые и гексамолибденовые кластеры, обладающие интересными фотофизическими свойствами, регулируемыми их составом и структурой.

Степень разработанности темы. Несмотря на широкий спектр разрабатываемых в настоящее время супрамолекулярных наносистем различной архитектуры, в литературе недостаточно примеров использования в качестве молекулярных блоков комплексов Au(I) и Ag(I), перспективность которых с точки зрения фотофизических характеристик и сенсорных свойств хорошо известна из литературы. В то же время отмечается огромный потенциал данных комплексов в области биомедицины в виду специфики взаимодействия с рядом физиологически важных соединений и, следовательно, влияния на биохимические процессы.

Поскольку катионные комплексы обладают более высокой биологической активностью, для обеспечения формирования коллоидных частиц на их основе могут быть использованы анионные гексарениевые или гексамолибденовые кластеры, обладающие кинетически инертной жесткой структурой, низкой цитотоксичностью и проявляющие уникальные фотофизические характеристики, в том числе, генерирующие активные формы кислорода при облучении.

Научная новизна работы заключается:

в разработке оптимальных методик получения стабильных в водных растворах наноразмерных структур различной архитектуры на основе комплексов Au(I) с целью дальнейшего использования фотофизических свойств для люминесцентного распознавания биотиолов в водных растворах и визуализации клеточного проникновения разработанных наноструктур для корреляции с их влиянием на жизнедеятельность клеток;

– в создании подхода к получению люминесцентных наносистем, основанного на самоагрегации электронейтральных гетерометаллических структур, образующихся в результате электростатического притяжения или координационного взаимодействия водорастворимых анионных кластерных блоков и катионных комплексов Au(I) и Ag(I);

– в выявлении корреляций типа «структура–свойство» коллоидных, люминесцентных и химических свойств гетерометаллических наносистем, включая их химические превращения в присутствии биотиолов и в растворах, моделирующих лизосомальное окружение, от структуры строительных блоков и движущих сил формирования гетерометаллических систем;

– в установлении зависимости между цитотоксическим эффектом гетерометаллических наноструктур и их способностью связывать молекулы глутатиона, растворяться в условиях повышенной кислотности, моделирующих

6

лизосомальное микроокружение, или генерировать активные формы кислорода за счет включения фотодинамически активных кластерных блоков;

– в разработке оптимальных подходов к поверхностной модификации наночастиц водорастворимыми полимерами и биомолекулами в качестве инструмента модификации их клеточного проникновения, внутриклеточного распределения и цитотоксической активности.

Целью работы является разработка подходов для включения нейтральных и катионных комплексов Au(I) и Ag(I) с циклическими P,N-лигандами в наноразмерные структуры, обладающие сенсорными свойствами и способностью к биовизуализации, а также выявление взаимосвязи их химического поведения с проявляемой цитотоксической активностью.

Для достижения поставленной цели были решены следующие задачи:

– оптимизировать методики синтеза и получить полиэлектролитстабилизированные наночастицы на основе нейтрального комплекса Au(I) с диазадифосфациклооктановым лигандом, а также гетерометаллические наноструктуры на основе катионных комплексов Au(I) или Ag(I) с анионными кластерами состава [{Re<sub>6</sub>Q<sub>8</sub>}(*L'*)<sub>6</sub>]<sup>*n*-</sup> и [{Mo<sub>6</sub>I<sub>8</sub>}(*L'*)<sub>6</sub>]<sup>2-</sup>, соответственно;

 установить корреляции коллоидных, фотофизических и химических свойств наносистем со структурными особенностями молекулярных строительных блоков и движущими силами формирования наноструктур;

– выявить корреляции между изменением химических, спектральных и коллоидных свойств наноструктур в растворах, моделирующих клеточное микроокружение, с экспериментально выявленной цитотоксичностью по отношению к раковым и нормальным клеточным линиям и способностью визуализировать проникновение в клетки;

– установить роль поверхностной модификации наночастиц на основе комплексов Au(I) и Ag(I) полимерными и белковыми молекулами в их коллоидной устойчивости, эффективности клеточного проникновения и внутриклеточного поведения, а также жизнедеятельности клеточных линий;  продемонстрировать возможность использования проявляемых наноструктурами люминесцентных свойств как основы для распознавания субстратов в водных растворах и для визуализации клеточной интернализации и внутриклеточного пути наночастиц.

Теоретическая и практическая значимость. Выявленные в данной работе фундаментально значимые результаты, в частности корреляции типа «структура– свойство», демонстрируют потенциал комплексов Au(I) и Ag(I), а также анионных кластерных структур в области дизайна супрамолекулярных наноматериалов. Предложенная простая и воспроизводимая методика получения функциональных агрегационно стабильных наноструктур на основе комплексов Au(I), а также гетерометаллических наноструктур на основе комплексов Au(I) или Ag(I) с гексарениевыми или гексамолибденовыми кластерами с различной модификацией поверхности позволяет рассматривать их как перспективных кандидатов для практического использования не только в качестве сенсорных систем на биообъекты, клеточных контрастных агентов для биовизуализации, но и для терапевтических целей.

Методология и методы исследования. Для решения поставленных задач был применен комплекс современных физико-химических и биологических методов исследования: динамическое рассеяние света, люминесцентная, ЯМР, ЭПР, ИК-, УФ-, КД- и атомно-эмиссионная спектроскопии, просвечивающая электронная, флуоресцентная и конфокальная лазерная микроскопии, порошковая рентгеновская дифракция и проточная цитометрия.

#### Положения, выносимые на защиту:

– оптимизация методик синтеза и получение полиэлектролитстабилизированных наночастиц на основе нейтрального комплекса Au(I) с диазадифосфациклооктановым лигандом и гетерометаллических наноструктур на основе катионных комплексов Au(I) или Ag(I) с анионными гексарениевыми или гексамолибденовыми кластерами;

– установление морфологии, фотофизических и коллоидных характеристик полученных наноструктур, а в случаях их высокой

8

кристалличности – размеров кристаллической ячейки и моделирования структуры гетерометаллического комплекса в рамках полученных размеров ячейки;

– установление возможности использования проявляемых наноструктурами люминесцентных свойств, комплекса Au(I) или входящих в состав анионных кластеров, как основы для распознавания субстратов в водных растворах и для визуализации клеточного проникновения наночастиц;

– выявление влияния структуры молекулярных блоков на химические и коллоидные свойства гетерометаллических наночастиц как в ряду структурно отличающихся кластерных комплексов, так и наночастиц, сформированных из одинаковых кластерных блоков, но на основе различных комплексов Au(I) и Ag(I);

– корреляция химического поведения гетерометаллических наноструктур в растворах глутатиона и средах, моделирующих в первом приближении специфическое микроокружение наночастиц вследствие их локализации в лизосомах или цитоплазме, с проявляемой цитотоксической активностью;

 выявление влияния нековалентной поверхностной модификации наноструктур на эффективность их клеточной интернализации и внутриклеточного пути, а также на проявляемую цитотоксическую активность.

Степень достоверности результатов. Достоверность результатов подтверждается многократной воспроизводимостью экспериментальных данных, полученных с помощью современных физико-химических и биологических методов исследования.

Апробация результатов. Основные результаты диссертационной работы представлены на конференциях: Марковниковский конгресс по органической химии (2019, г. Казань); Международный молодежный научный форум «ЛОМОНОСОВ–2020» (2020, г. Москва); ХХVIII Международная Чугаевская конференция по Координационной химии (2021, с. Ольгинка (Краснодарский край)); а также итоговая научная конференция Федерального исследовательского центра «Казанский Научный Центр Российской Академии Наук» (2022, г. Казань).

Публикации. На основе полученных в ходе выполнения диссертационной работы результатов опубликовано 6 статей в международных журналах, рекомендуемых ВАК при Минобрнауки РФ, а также тезисы 3 докладов в материалах международных конференций.

Объем и структура работы. Работа изложена на 172 страницах, содержит 86 рисунков, 3 схемы и 24 таблицы, а также 200 библиографических ссылок. Объем приложения 14 страниц. Диссертационная работа состоит из введения, 3 заключения, списка условных обозначений и сокращений, списка глав, литературы и приложения. В первой главе представлен литературный обзор по основным типам функциональных супрамолекулярных наноструктур, а также описаны уникальные свойства комплексов Au(I) и Ag(I) и анионных кластеров, позволяющие рассматривать их в качестве потенциальных структурных блоков таких систем. Вторая глава представляет собой экспериментальную часть, в которой приведены коммерческие реагенты и предоставленные коллегами соединения, подробные методики синтеза супрамолекулярных наночастиц, а также описание использованных методов исследования. Глава 3 посвящена обсуждению полученных результатов. В ней рассмотрены процессы образования супрамолекулярных наноструктур, проведена полная характеризация полученных систем широким спектром современных методов, а также скоррелированы структурные свойства наночастиц с химическим и коллоидным поведением последних в смоделированных физиологических условиях и результатами биологических исследований. После 3 главы следуют основные результаты и выводы по проделанной работе, список условных обозначений и сокращений, список использованной литературы и приложение.

Соответствие диссертации паспорту специальности. Диссертационная работа по содержанию и научной новизне соответствует пунктам 4, 9 и 12 паспорта специальности 1.4.4. Физическая химия.

Личный вклад автора заключается в анализе литературных данных по теме диссертационной работы, проведении основного объема экспериментальных исследований, совместно с научным руководителем в постановке целей и задач исследования, а также обсуждении и оформлении полученных результатов в виде публикаций и научных докладов.

Работа выполнена в лаборатории физико-химии супрамолекулярных систем Института органической и физической химии им. А.Е. Арбузова – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук» при поддержке грантов РНФ № 19-43-04119, 19-13-00163 и 22-13-00147.

Автор выражает огромную благодарность и признательность научному руководителю д.х.н. Мустафиной Асие Рафаэлевне за руководство, помощь и поддержку на всех этапах работы. Автор благодарен к.х.н. Елистратовой Ю.Г. и коллективу лаборатории физико-химии супрамолекулярных систем ИОФХ им. А.Е. Арбузова – обособленного структурного подразделения ФИЦ КазНЦ РАН за помощь в освоении приборной базы. Автор признателен научным группам д.х.н. Соколова М.Н. и д.х.н. Брылева К.А. за предоставленные образцы кластерных комплексов (Институт неорганической химии им. А.В. Николаева РАН); научной группе д.х.н. Карасика А.А., в частности к.х.н. Стрельнику И.Д. и к.х.н. Даяновой И.Р., за предоставленные образцы комплексов Au(I) и Ag(I); д.х.н. Губайдуллину А.Т. за проведение экспериментов по порошковой рентгеновской дифракции и обсуждение полученных результатов; к.х.н. Бабаеву В.М. за проведение экспериментов по масс-спектрометрии; к.ф.-м.н. Герасимовой Т.П. за проведение экспериментов по ИК-спектроскопии; к.х.н. Низамееву И.Р. за проведение экспериментов по просвечивающей электронной микроскопии; к.х.н. Холину К.В. за проведение экспериментов по атомно-эмиссионной и ЭПР-спектроскопии; к.б.н. Петрову К.А. и к.б.н. Волошиной А.Д. за проведение биологических исследований и обсуждение результатов (ИОФХ им. А.Е. Арбузова обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН); к.б.н. Самигуллину Д.В. и к.б.н. Сибгатуллиной Г.В. за проведение экспериментов по конфокальной лазерной сканирующей микроскопии (Казанский институт биохимии и биофизики – обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН).

Отдельную благодарность за всестороннюю помощь соискатель выражает заведующему кафедры физической химии д.х.н. Соломонову Б.Н. и коллективу кафедры физической химии Химического института им. А.М. Бутлерова Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет».

# ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

# 1.1. Процесс супрамолекулярной самосборки как основа формирования функциональных наноструктур

В настоящее время одним из активно развивающихся направлений химии является использование процессов самосборки молекулярных единиц как подхода к созданию функциональных наноструктур, обладающих физико-химическими свойствами, отличными от свойств исходных компонентов, что открывает широкие возможности их применения в области наноматериалов и биотехнологий [1, 2]. В качестве примеров самосборки можно отметить такие физиологически важные процессы как укладка полипептидной цепи в белковых молекулах, их ферментативные функции, конформационные изменения нуклеиновых кислот в различные функциональные формы, транскрипция генетической информации в ДНК, формирование липидных бислоев мембран клеток.

# 1.1.1. Движущие силы процесса супрамолекулярной самосборки. Основные типы функциональных наноматериалов

Одной их ключевых особенностей разрабатываемых супрамолекулярных наносистем является обратимость ответственных за образование структур нековалентных взаимодействий. Наиболее важными являются силы Ван-дер-Ваальса, электростатические, гидрофобные, координационные и металлофильные взаимодействия, водородные связи, π стекинг И диполь-дипольные [3]. эффективность взаимодействия При взаимодействий этом, может варьироваться в широком диапазоне – от слабой или умеренной в случае образовании реализации водородных связей ДО высокой, при как связей (Таблица 1). Однако, не координационных смотря на TO, ЧТО межмолекулярные силы все же слабее, чем ковалентные связи, реализация нескольких типов или множества взаимодействий одного типа обуславливает стабильность наноструктур, одновременно оставляя возможность их настройки, необходимой при разработке интеллектуальных наноматериалов и наноплатформ,

а также позволяет динамически переключать структурные свойства наносистем в ответ на внутренние/внешние воздействия [4, 5].

Тип взаимодействия	Энергия связи, кДж/моль
Ковалентная связь	200–400
Ион-ионное	100–360
Ион-дипольное	50–200
Диполь-дипольное	5–50
Водородная связь	4–120
π–π	0–50
Силы ван-дер-Ваальса	< 5
Гидрофобное	_
Аурофильное (Au•••Au)	29–50

Таблица 1 – Сравнение энергий ковалентной связи и нековалентных взаимодействий.

Среди всего разнообразия полученных к настоящему времени функциональных наноархитектур в зависимости от используемых в их разработке молекулярных структурных единиц можно выделить три большие группы:

1) органические наноматериалы,

2) гибридные наноматериалы,

3) металл-органические каркасные структуры (МКС).

В качестве молекулярных блоков органических наноматериалов используются традиционные амфифильные [6–8], линейные и разветвленные полимерные молекулы [9–11], а также такие биообъекты, как пептиды [12].

Сочетание неорганических наночастиц с принципами супрамолекулярной химии способствовало активному развитию гибридных наноматериалов, получение которых осуществляется в результате как нековалентной модификации поверхности функциональных неорганических наночастиц органическими молекулами [13, 14], так и объединения наночастиц с вышеупомянутыми органическими наноматериалами [15–20].

Стремительно развивающимся В последнее десятилетие типом наноматериалов являются металл-органические каркасные структуры, представляющие собой координационные полимеры, в которых ионы металлов (щелочно-земельные [21], переходные [22–26] и редкоземельные металлы [27, 281) или металлокластеры [29] связаны между собой полидентатными органическими линкерами (карбоксилаты [27], фосфонаты [28] и сульфонаты [22, 24]).

Уникальные для каждого типа наносистем структурные и функциональные свойства активно используются для создания широкого круга многообещающих интеллектуальных наноматериалов. Однако, предваряя их обсуждение, необходимо отметить, что фокус подавляющего большинства исследований в больше биомедицинского последние годы все смещается В сторону (биовизуализация, доставка лекарств, терапевтическое воздействие) И биоаналитического (разработка сенсорных систем) применения.

### 1.1.2. Органические наноматериалы

Использование в качестве строительных блоков низкотоксичных амфифильных и полимерных молекул обеспечивает высокую биосовместимость органических наноматериалов, в то время как их структурное разнообразие [9, 30] (Рисунок 1), возможность модификации их поверхности таргетными молекулами [10, 31, 32] позволяет рассматривать данные системы преимущественно для эффективной доставки лекарственных препаратов [9–11, 33, 34]. При этом включение лекарственного вещества в наноконтейнер решает множество проблем, связанных с его агрегационным поведением в биологических средах, деградацией, нежелательным связыванием с белковыми молекулами, а также низкой биодоступностью.

15



**Рисунок 1** – Основные типы структур органических наноматериалов. Сделано на основе рисунка из [30].

Несомненно, ключевой стадией, определяющей эффективность доставки, является контролируемое высвобождение препарата. В настоящее время активно используемой стратегией является реализация стимул-зависимой разборки наноконтейнера с последующим высвобождением активного компонента в ответ как на эндогенные факторы (биомолекулы, pH) [35–37], так и на внешние воздействия (температура, облучение) [9, 38]. Кроме того, разрабатываются наноконтейнеры двойного воздействия – помимо активного препарата в состав включаются вспомогательные соединения [7, 9]. Так, например, в работе [9] были получены полимерные мицеллы, при облучении которых генерация большого количества синглетного кислорода за счет присутствия фотосенсибилизатора быструю разборку способствуя активирует наночастиц, тем самым внутриклеточной доставке целевого компонента.

Инкапсуляция флуоресцентных красителей в составе наночастиц или использование люминесцентных строительных единиц позволяет получать органические наноматериалы, обладающие высоким потенциалом применения как в качестве сенсорных систем, так и для биовизуализации [8, 39].

Однако, несмотря на все преимущества систем доставки на основе органических наноматериалов, недавние результаты клинических испытаний [40] показали лишь незначительное улучшение терапевтической эффективности инкапсулированных лекарств по сравнению с используемой в настоящее время химиотерапией. В связи с этим возникает необходимость в новых подходах к дизайну систем для доставки лекарств и терапевтического воздействия. Многообещающей основой стали гибридные органические/неорганические наноматериалы, спектр потенциального применения которых в принципе не ограничивается лишь использованием в терапевтических целях.

### 1.1.3. Органические/неорганические гибридные наноматериалы

В качестве неорганических блоков при разработке супрамолекулярных гибридных наноматериалов наиболее широкое применение находят металлические [13, 18, 30, 41] и металл-содержащие наночастицы [14, 20, 30, 42, 43], силикатные наночастицы [44, 45], а также квантовые точки [17, 46], повышенный интерес к которым обусловлен возможностью контроля формы, размеров и состава наночастиц, а также вариативности в модификации поверхности (Рисунок 2). При этом важно отметить, что, если силикатные наночастицы выступают исключительно в качестве структурного компонента [44, 45], то остальные представители благодаря проявляемым магнитным, электрическим, оптическим и каталитическим свойствам способны определять функциональность формируемых наноматериалов. Например, включение люминесцентных квантовых точек и наночастиц Аи позволяет использовать наноматериалы в качестве сенсорных систем и для биовизуализации, в то время как парамагнитные железо-оксидные наночастицы перспективны в качестве МРТконтрастных агентов [41, 42]. Кроме того, наблюдаемый для наночастиц Аи локализованный поверхностный плазмонный резонанс (ЛППР) может быть использован для разработки наноматериалов для фототермической терапии [47].



**Рисунок 2** – Основные типы неорганических компонентов гибридных наноматериалов: металлические (а – Au, б – Ag), металл-содержащие (в – Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, г – ZnO) и силикатные (д) наночастицы, квантовые точки (е). Сделано на основе рисунка из [41].

Как правило, выделяют два подхода к разработке гибридных наноматериалов. Первый подход основан на функционализации поверхности неорганических наночастиц, главным образом полимерными структурами [13, 14]. В основе второго подхода лежит стратегия самопроизвольного или вызванного внешними факторами (магнитное поле, ультразвуковое воздействие) связывания неорганических наночастиц с поверхностью [15, 16], либо их инкапсуляции во внутренне пространство органических наноструктур [17–20]. В обоих случаях формируются наносистемы со структурой типа «ядро–оболочка».

В рамках первого подхода для нековалентной модификации поверхности функциональных неорганических наночастиц, выступающих в качестве твердого ядра, в настоящее время широко используются амфифильные полимеры [14], полимеры на основе фосфолипидов [43], а также заряженные полимеры, способные адсорбироваться на поверхности неорганических наночастиц за счет электростатического взаимодействия [48]. В качестве последних стоит отметить катионные полиэтиленимин (ПЭИ) и полилизин (ПЛ), а также анионный полистиролсульфонат (ПСС) [49]. При этом использование метода послойной адсорбции противоположно заряженных полиэлектролитов, позволяет не столько получать многослойные полимерные наночастицы, сколько варьировать и придавать последним необходимые поверхностные свойства (заряд поверхности) для обеспечения эффективного клеточного вхождения [49].

Важно также отметить использование белковых молекул для модификации поверхности наночастиц [50, 51]. Данный подход, наряду с включением белков в нанокапсулы и более сложные наноструктуры, широко используется для решения проблемы эффективной внутриклеточной доставки белковых молекул [50, 52].

Если в рамках первого подхода неорганические наночастицы выступают исключительно в роли «твердых ядер», то при реализации второго подхода «гибридизация» неорганических наночастиц может осуществляться как благодаря их встраиванию в органические наноматериалы [18–20], так и формированию необычных структур с неорганической «оболочкой» [15, 16]. Так, например, в работе [15] описывается система доставки на основе термочувствительных

18

липосом, модифицированных плазмонными наночастицами золота, обеспечивающих быстрое и контролируемое высвобождение противоопухолевого препарата доксорубицина (Рисунок 3).



**Рисунок 3** – Схематичное изображение системы доставки на основе термочувствительных липосом. Сделано на основе рисунка из [15].

Таким образом, рациональный дизайн супрамолекулярных гибридных наноматериалов позволяет не только сохранить физико-химические свойства неорганических наночастиц, но также решить проблему их коллоидной нестабильности, гидрофобности и токсичности [30]. Кроме того, благодаря комбинации таких функциональных свойств неорганических компонентов, как ЛППР, люминесценция, а также генерация АФК при облучении со способностью органических блоков к связыванию лекарственных препаратов открываются новые возможности как для разработки наноматериалов с синергетическим воздействием, так и для визуализации процесса доставки и высвобождения активного препарата.

### 1.1.4. Металл-органические координационные структуры

В настоящее время особое место в химии супрамолекулярных наносистем занимают металл-органические координационные структуры, представляющие собой пористые каркасные системы, полученные в результате координационных взаимодействий между ионами или кластерами металлов и полидентатными органическими лигандами. Варьирование используемых металлических центров и органических линкеров приводит к образованию целого ряда трехмерных структур (Рисунок 4), обладающих как общими, так и некоторыми специфическими свойствами.



**Рисунок 4** – Изображение основных видов МКС: а) изоретикулярные металлорганические каркасы (IRMOF), б) цеолитоподобные имидазолатные каркасы (ZIF), в) материалы Института Лавуазье (MIL), г) пористые координационные сети (PCN), д) каркасы Университета Осло (UIO). Сделано на основе рисунка из [53].

Так, характерные для всех представителей высокие степень пористости и площадь поверхности, а также возможность регулирования размеров пор, основную область несомненно, предопределяют ИХ потенциального биомедицинского применения – использование в качестве наноконтейнеров для доставки ряда субстратов [23, 25, 26]. При этом наблюдаются существенные различия в устойчивости каркасных структур в широком интервале pH [53], что также представляет огромный практический интерес. В частности, полная разборка каркаса стабильных ZIF структур при переходе в кислую среду стала разработки ряда систем доставки с рН-чувствительным основной для высвобождением активных веществ [25, 54] (Рисунок 5).



**Рисунок 5** – рН-чувствительная система доставки на основе ZIF структур. Сделано на основе рисунка из [54].

Важно отметить, что включение в металл-органические каркасы наряду с лекарственными препаратами [25, 54] таких субстратов, как нуклеиновые кислоты [55], пептиды [56], а также молекулы белков [57] позволяет не только решить проблемы их структурной и функциональной устойчивости, но в некоторых случаях и обеспечить стабильность в более экстремальных, чем физиологические, условиях. Так, например, результаты, полученные в работе [56], показывают, что высвобождаемый из каркасных структур ZIF-8 пептид 46, являющийся активатором белка р53, который выполняет функцию подавления роста раковых клеток [58], сохраняет свою структуру и полную биологическую активность после воздействия высокой температуры, повторных циклов замораживанияразмораживания и ферментативной деградации (Рисунок 6).



Рисунок 6 – Сохранность функций и структуры пептида 46, высвобождаемого из каркасных структур ZIF-8, после воздействия экстремальных условий. Сделано на основе рисунка из [56].

Одним ИЗ многообещающих применений люминесцентных металлорганических координационных структур является разработка клеточных контрастных агентов [59], а также оптических сенсорных систем, в частности, биосенсоров [53]. Последние обладают высокой селективностью в виду наличия специфических функциональных сайтов в структуре МКС, повышенной чувствительностью, стабильностью и возможностью повторного использования гибкой высокопористой структуре. Эффективное обнаружение благодаря посредством МКС молекул ДНК/РНК и белков представляет особую важность в диагностике и лечении раковых заболеваний [60].

Сочетание люминесцентных металл-органических координационных структур другими материалами позволяет конструировать с обеспечивающие комбинированное многофункциональные системы, как терапевтическое воздействие, так и возможность мультимодальной визуализации процессов доставки и высвобождения субстратов. Так, в работе [61] получены многофункциональные нанокластеры на основе ZIF-8 структур, объединяющие тримодальную визуализацию (магнитная, компьютерная, люминесцентная) и химиотерапевтическое воздействие (доксорубицин).

Таким образом, возможность варьирования используемых ионов металлов или кластеров и природы органических лигандов позволяет контролировать форму и размеры формирующихся пор, эмиссионные свойства, включение различных биообъектов и люминесцентных молекул в состав металлоорганических координационных структур. Перечисленное открывает возможности их использования не только в традиционных областях катализа и хранения газов, но и для широкого круга биомедицинских целей: разработки биосенсоров, обеспечения эффективной и адресной доставки активных веществ, биовизуализации, а также дизайна многофункциональных наноматериалов.

# 1.2. Потенциальные структурные блоки для функциональных супрамолекулярных наноматериалов

Несмотря на значительное количество опубликованных к настоящему времени исследований, посвященных разработке наносистем различной архитектуры, в литературе весьма ограничены примеры использования в качестве молекулярных блоков комплексов Au(I) и Ag(I), которые могли бы стать многообещающей альтернативой существующим строительным единицам. Основными предпосылками применения данных комплексов являются их уникальные фотофизические свойства, структурное разнообразие, а также огромный потенциал в области биомедицины в виду специфики взаимодействия с рядом физиологически важных соединений и, следовательно, влияния на протекающие биохимические процессы. В связи с этим, в рамках данного раздела будут рассмотрены основы фотофизических свойств комплексов Au(I) и Ag(I), факторы, определяющие их стимул-зависимые люминесцентные свойства, а также возможности потенциального использования данных соединений в терапевтических целях.

### 1.2.1. Комплексы Au(I) и Ag(I)

### 1.2.1.1. Ауро/металлофильные взаимодействия

Всплеск интереса со стороны научного сообщества к золоту и его соединениям, начавшийся в 1980-е годы и проявившийся во множестве структурных работ о новых моно- и полиядерных комплексах золота [62], обусловлен не столько обнаружением для золота новых степеней окисления и координационных чисел, сколько выявлением новых структурных явлений, главным образом связанных с неожиданными и беспрецедентными внутри- и межмолекулярными контактами Au••••Au, не имевших на тот момент четкого теоретического описания [63]. В 1990 году Х. Шмидбаур ввел для этого взаимодействия термин *аурофильность* и определил его как «непредсказуемое взаимодействие между атомами золота даже при электронной конфигурации с «замкнутой оболочкой» и эквивалентных электронных зарядах» [63].

Объяснить наблюдаемые для соединений золота явления удалось с применением теории относительности. Поскольку пост-лантанидные элементы содержат большое количество протонов в атомных ядрах, электроны движутся в поле очень высокого заряда ядра, что приводит к скоростям, приближающимся к скорости света, и резкому росту массы электронов (релятивистская масса) (уравнение 1). Воздействию при этом, главным образом, подвергаются электроны, находящиеся на s-орбиталях.

$$m_{\rm pen} = \frac{m}{\sqrt{1 - \frac{\nu^2}{c^2}}} \tag{1}$$

где *m*-масса покоя, *m*<sub>рел</sub> – релятивистская масса, *v* – скорость движения электрона, *c* – скорость света.

На Рисунке 7 показан график зависимости отношения релятивистского радиуса валентных 6s-электронов к их нерелятивистскому радиусу от атомного номера Z. Очевидно, что это отношение сильно отклоняется от единицы с ростом Z и достигает ярко выраженного локального минимума для атома золота, что фактически подтверждает его особое положение среди элементов и приводит к возникновению ряда уникальных свойств: аномально малые ковалентный/ионный радиусы, желтый цвет, предпочтительная линейная координация, более высокая стабильность высших степеней окисления, а также возможность образования аурид-ионов Au<sup>-</sup> [64].



Рисунок 7 – Зависимость отношения r<sub>(рел.)</sub>/r<sub>(нерел.)</sub> для 6s-электронов от атомного номера.

Концепция гибридизации, основанная на возможности перекрывания сжатых (вследствие релятивистского эффекта) 6s- и 6p- и расширенных 5dорбиталей для образования контактов Au•••Au, достаточно успешно применялась для качественного описания свойств соединений золота. Однако результаты последующих теоретических исследований [65, 66] определяют аурофильное связывание как эффект, обусловленный в значительной степени электронной компонентов замкнутой оболочки, похожей корреляцией чем-то на взаимодействия Ван-дер-Ваальса, но необычно сильной. Более того, оказалось, что расчеты достаточно хорошо воспроизводят силы притяжения между атомами золота только в том случае, если учтены релятивистские эффекты.

Впоследствии аналогичные взаимодействия были обнаружены и для соединений ряда других металлов, включая серебро [62]. Более того, удалось получить комплексные структуры, в которых реализуются контакты между атомами различных металлов, например, Cu•••Ag, Cu•••Au и Au•••Ag [64, 65], в связи с чем было предложено ввести термин более широкого значения – *металлофильные взаимодействия*, или *металлофильность*.

Расстояние между двумя центрами при образовании Au•••Au контакта для моно- и полиядерных комплексов варьируется в пределах 2.5–3.5 Å, что меньше суммы Ван-дер-Ваальсовых радиусов (3.8 Å) и зачастую меньше расстояния между атомами золота в кубическом плотноупакованном металлическом золоте (2.89 Å) [64]. При этом по силе аурофильное взаимодействие соизмеримо с водородной связью (29–50 кДж/моль).

В случае же серебра существует общепринятое мнение, согласно которому можно говорить о реализации Ag•••Ag контактов в молекулярных и кристаллических структурах в том случае, если расстояние между атомами металла короче 3.44 Å [62].

Экспериментальное обнаружение и попытки теоретического обоснования беспрецедентных ауро/металлофильных контактов оказались революционными с точки зрения не только структурной химии соединений Au(I) и Ag(I), но и новых функциональных, в частности, люминесцентных, свойств, что подтолкнуло к активному росту исследований в области фотофизики комплексов данных металлов.

### 1.2.1.2. Фотофизические свойства комплексов Au(I) и Ag(I)

В общем случае, для комплексов переходных металлов характерны 6 основных типов низших по энергии электронных переходов, ответственных за эмиссионные свойства, реализация которых зависит от природы как центрального атома металла, так и его лигандного окружения [67, 68]:

1) металл-центрированные переходы (МС)

2) лиганд-центрированные или внутрилигандные переходы (IL)

3) переходы с металла на лиганд (MLCT)

4) переходы с лиганда на металл (LMCT)

5) переходы с лиганда на лиганд (LLCT)

6) переходы с металла на металл (ММСТ)

Хорошо известно, что каждый такой переход характеризуется наличием как синглетного (S<sub>1</sub>), так и триплетного (T<sub>1</sub>) возбужденного состояния. В случае органических люминофоров переход между ними (S<sub>1</sub> $\rightarrow$ T<sub>1</sub>), называемый интеркомбинационной конверсией (ISC), запрещен правилом отбора, что приводит к реализации флуоресценции – излучательного перехода с низшего колебательного подуровня возбужденного S<sub>1</sub> состояния в основное S<sub>0</sub> (Рисунок 8а). Характерное время жизни состояния S<sub>1</sub> составляет 10<sup>-11</sup>–10<sup>-7</sup> с.



Рисунок 8 – Схематичное изображение переходов для процессов флуоресценции (а), фосфоресценции (б) и замедленной флуоресценции (TADF) (в). Сделано на основе рисунка из [78].

Координация тяжелых атомов органическими флуорофорами позволяет интеркомбинационной процесс конверсии  $S_1 \rightarrow T_1$ значительно ускорять вследствие участия электронов атома в спин-орбитальном взаимодействии, а также снимать ограничение на квантово-механически запрещенный переход T<sub>1</sub>→S<sub>0</sub>, что приводит к накоплению как синглетных, так и триплетных состояний [69] и позволяет эффективнее генерировать фотоны (Рисунок 8б). Излучательный переход  $T_1 \rightarrow S_0$  (фосфоресценция) при этом характеризуется более (10<sup>-6</sup>-10<sup>-2</sup> с), что существенно расширяет временами жизни высокими функциональные возможности люминесцентных материалов и области их практического использования.

Казалось бы, в таком случае для всех комплексов переходных металлов должна проявляться фосфоресценция. Однако на деле преимущественная

реализация того или иного механизма излучения определяется соотношением констант скоростей двух конкурирующих процессов: перехода  $S_1 \rightarrow S_0$  ( $k_{\phi \pi}$ ) и интеркомбинационной конверсии  $S_1 \rightarrow T_1$  ( $k_{ISC}$ ). В общем случае, для комплексов с внутрилигандным характером низшего электронного перехода ограниченный вклад d-орбиталей металла в возбужденное состояние приводит к относительно низким значениям скорости  $S_1 \rightarrow T_1$  процесса ( $k_{ISC} < 10^{11} - 10^{12} \text{ c}^{-1}$ ) и реализации флуоресценции. В то же время, для MLCT перехода, где вклад d-орбиталей значителен,  $k_{ISC}$  как правило превышает  $10^{12} \text{ c}^{-1}$ , следовательно, наблюдается фосфоресценция [70].

При этом стоит сказать, что использование лигандов с разной степенью донорных/акцепторных свойств, изменение расстояния между атомом металла и центром хромофорной группы [71] фактически определяет силу спинорбитального взаимодействия [72] и позволяет варьировать вклад орбиталей атомов металла и лиганда в граничные орбитали, тем самым обеспечивая возможность тонкой настройки фотофизических свойств. В частности, для получения как фосфоресцентных или флуоресцентных комплексов [73–75], так и комплексов с двойной эмиссией [71, 76], реализующейся при сопоставимых скоростях конкурирующих процессов ( $k_{\phi n} \approx k_{ISC} \approx 10^9 \text{ c}^{-1}$ ) [76].

Так, например, в работе [76] было изучено влияние электрон-донорных характеристик заместителей вспомогательного лиганда на соотношение флуоресценции и фосфоресценции в биядерных комплексах Au(I). Показано, что введение акцепторной группы (–CF<sub>3</sub>), в отличие от донорной (–OCH<sub>3</sub>), способствует стабилизации d-орбиталей атома золота, уменьшению их участия в ответственных за эмиссию переходах и, следовательно, преимущественной реализации флуоресценции (Рисунок 9).



Рисунок 9 – Влияние донорных свойств заместителя на соотношение пиков флуоресценции (~350 нм) и фосфоресценции (~525 нм) биядерного комплекса Au(I): 1– заместитель – CF<sub>3</sub>, 2–заместитель – OCH<sub>3</sub>. Сделано на основе рисунка из [76].

Наряду с флуоресцентными и фосфоресцентными особый интерес с точки зрения прикладных аспектов представляют структуры, для которых реализуется *термически-активированная замедленная флуоресценция* (TADF) [77–80]. При этом данное явление чаще проявляется для комплексов Ag(I), нежели для Au(I). В отличие от обычных флуоресцентных и фосфоресцентных соединений, для TADF-комплексов очень малое по величине энергетическое расщепление  $\Delta E$  (S<sub>1</sub>– T<sub>1</sub>), не сильно превышающее 1000 см<sup>-1</sup> ( $\approx$  120 мэВ), обеспечивает эффективный *обратный перенос энергии* T<sub>1</sub> $\rightarrow$ S<sub>1</sub> (RISC), что приводит к *накоплению синглетных состояний* и значительному повышению внешней квантовой эффективности флуоресцентных материалов (Рисунок 8в) [69].

Таким образом, повышенный интерес исследователей к описанным уникальным фотофизическим характеристикам комплексов Au(I) и Ag(I), в частности, возможности тонкой настройки люминесцентных свойств, а также многообещающим предпосылкам их практического использования способствовал бурному росту количества соединений на основе самых разнообразных лигандов [81–88]. Однако наиболее популярными с точки зрения устойчивости образуемых комплексов, их широкого структурного и, соответственно, эмиссионного разнообразия являются моно- и полидентатные Р-донорные лиганды, нередко дополнительно содержащие способный к координации гетероатом. Лигандное окружение атомов Au(I) и Ag(I) при этом может быть дополнено анионными лигандами, такими как галогениды [77, 80, 89, 90], тиолаты [89] и алкинилы [91], что способствует образованию нейтральных комплексов. Синтез катионных монои полиядерных люминесцентных комплексов Au(I) и Ag(I) также хорошо описан в литературе [77, 79, 81, 82, 87, 92, 93].

наблюдается Для получаемых структур нередко изменение люминесцентных характеристик при внешних воздействиях, обусловленное образом «включением» взаимодействий главным нековалентных ИЛИ происходящими конформационными изменениями, что позволяет рассматривать их в качестве многообещающей альтернативы традиционным органическим люминофорам в различных сферах применения.

Основными факторами, влияющими на люминесцентные свойства, являются эффекты взаимодействия с растворителями (*вапо- и сольватохромизм*) [90, 93–96], различными субстратами (*субстрат-индуцированный отклик*) [95, 97], а также механическое (*механохромизм*) [91, 93, 94, 98] и температурное воздействие (*термохромизм*) [91, 93, 94, 96, 99, 100].

Люминесцентный *вапо-* или *сольватохромизм* – это способность соединений изменять положение максимума полосы эмиссии при воздействии паров органических соединений на твердый образец или в растворах различных растворителей, соответственно. Так, например, в серии работ [90, 95] описывается комплекс Au(I) на основе диазадифосфациклооктанового лиганда (PNNP), для которого наблюдается как обратимое взаимопревращение между различными кристаллическими фазами при воздействии паров растворителя (ацетона), так и явление сольватохромизма в растворах (Рисунки 10, 11).

29



Рисунок 10 – а – Молекулярные структуры и кристаллические упаковки исходного комплекса (1), комплекса с двумя (2) и одной (3) гостевыми молекулами ацетона. б – Порошки 1, 2, 3 при облучении λ=365 нм. Сделано на основе рисунка из [90].



Рисунок 11 – Спектры эмиссии комплекса в чистых ацетонитриле (1), ДМФА (2) и ДМСО (3), а также при различных объемных соотношениях растворителей. Сделано на основе рисунка из [95].

Для некоторых комплексов удается наблюдать изменение люминесцентных свойств при механическом воздействии. При этом возможен переход исходной кристаллической фазы как в аморфную [94, 98], так и в другую полиморфную структуру [93]. Стоит отметить, что переходы между состояниями могут быть как обратимыми, необратимыми. Так, работе [93] так И В исследованы механохромные свойства трех полиморфных модификаций десятиядерного комплекса Au(I), обратимость переходов между которыми достигается воздействием паров растворителей (Рисунок 12).



Рисунок 12 – Спектры люминесценции (слева) и взаимные превращения между полиморфными модификациями десятиядерного комплекса Au(I) (справа). Сделано на основе рисунка из [93].

Нельзя не отметить уникальный результат, полученный в работе [98]. Авторам исследования удалось посредством механического измельчения нейтрального кристаллического образца одноядерного комплекса Au(I). люминесценцию в синей области демонстрирующего спектра, получить аморфный порошок ионного биядерного комплекса с внутримолекулярными Аи•••Аи контактами, проявляющего красное свечение (Рисунок 13). Такое сильное изменение цвета позволяет рассматривать данную систему в качестве многообещающего кандидата для применения в разработке люминесцентных переключателей, оптической записи данных, датчиках давления.



**Рисунок 13** – Изменения, наблюдаемые в спектрах люминесценции комплекса Au(I) в зависимости от времени измельчения в шаровой мельнице. Сделано на основе рисунка из [98].

Явление люминесцентного *термохромизма* наблюдается для относительно небольшого ряда комплексов с Р-донорными лигандами [91, 93, 94, 96, 99, 100].

Так, в работе [100] описана температурная зависимость эмиссии биядерного 4,6бис(дифенилфосфино)пиримидинового комплекса Ag(I). Причем с понижением температуры наблюдается переход от предположительно замедленной флуоресценции к чистой фосфоресценции (Рисунок 14).



Рисунок 14 – Зависимость люминесценции биядерного 4,6бис(дифенилфосфино)пиримидинового комплекса Ag(I) от температуры. Сделано на основе рисунка из [100].

Фундаментальный интерес представляет получение комплексов, изменение фотофизических свойств которых проявляется в сильном смещении максимума эмиссии, обусловленного, в частности, наличием двух электронных переходов, преимущественно реализуемых при разных температурах. Например, в работе [99] наблюдаемый для биядерных комплексов люминесцентный термохромизм обусловлен наличием двух связанных триплетных возбужденных состояний <sup>3</sup>IL и <sup>3</sup>(X+M)C/<sup>3</sup>XLCT (Рисунок 15).



**Рисунок 15** – Диаграмма энергетических уровней (а) и структура (б) биядерного комплекса. Сделано на основе рисунка из [99].

При низкой температуре отсутствие тепловой энергии kT не позволяет преодолеть энергетический барьер ( $E_a$ ), что препятствует заполнению состояния T<sub>1</sub>. При повышении температуры возрастает вероятность перехода через барьер, что приводит к переходу системы в самое низкое возбужденное состояние T<sub>1</sub> <sup>3</sup>(X+M)C/<sup>3</sup>XLCT природы, а, следовательно, к повышению интенсивности люминесценции длинноволнового пика (Рисунок 16).



**Рисунок 16** – Нормализованные спектры излучения биядерного комплекса при 298 и 77 К; на вставке показаны спектры излучения в диапазоне 180–116 К. Сделано на основе рисунка из [99].

В настоящее время особую важность представляет получение комплексов, люминесцентные свойства растворов которых изменяются при взаимодействии с различными субстратами (*субстрат-индуцированный отклик люминесценции*), в виду их потенциальной применимости в качестве хемосенсоров [101]. Однако в настоящее время такие системы ограничены рядом комплексов Au(I), способных главным образом обнаруживать катионы металлов благодаря обратимому «включению-выключению» ауро/металлофильных контактов [83, 97, 101]. Данные комплексы, как правило, включают в свой состав рецепторные группы, такие как краун-эфиры, ацетиленидные производные, амидные группы, которые, взаимодействуя с катионом, способствуют сближению ионов золота, образованию Au•••Au контакта и возникновению дополнительного максимума эмиссии. На Рисунке 17 в качестве примера приведены механизм определения катионов К<sup>+</sup>

комплексом [Au<sub>2</sub>(dppm)(S-B15C5)<sub>2</sub>] и соответствующий спектр люминесценции [101].



**Рисунок 17** – Механизм определения катионов K<sup>+</sup> (а) и спектр люминесценции раствора комплекса [Au<sub>2</sub>(dppm)(S-B15C5)<sub>2</sub>] (б). Сделано на основе рисунка из [101].

Тем не менее, возможность проявления для комплексов сенсорных свойств по отношению к органическим молекулам, в частности катиону N-метилпиридиния и дифенилкетону, показана в работе [95], что является следствием перестройки молекулярной структуры комплекса в результате взаимодействия с молекулой субстрата по типу гость-хозяин (Рисунок 18).



**Рисунок 18** – Спектры люминесценции комплекса Au (I) в ацетонитриле при добавлении N-метилпиридиния (a) и дифенилкетона (б). Сделано на основе рисунка из [95].

### 1.2.1.3. Терапевтический потенциал комплексов Au(I) и Ag(I)

Наряду с широкими возможностями практического применения фотофизических свойств комплексов Au(I) и Ag(I), особое внимание научного сообщества в последние десятилетия приковано к их биологической активности, имеющей терапевтический потенциал (Рисунок 19). Успешное клиническое применение *цисплатина*, а в последствии и его аналогов – *карбоплатина*,

оксалиплатина и недаплатина, сменилось обнаружением ряда серьезных ограничений, связанных с нежелательными побочными эффектами и развитием лекарственной резистентности [102, 103]. Необходимость ее устранения стала стимулом для дальнейшего поиска неплатиновых металлокомплексов с терапевтическим потенциалом.



Рисунок 19 – Количество публикаций по терапевтическому потенциалу комплексов Au(I) и Ag(I) в период с 2002 по 2022 год.

Событием, положившим начало активным исследованиям соединений Au(I) и, немного позднее, Ag(I), можно считать выявление цитотоксического эффекта по отношению к раковым клеткам линии M-HeLa фосфинового комплекса *ауранофина* [104] – одного из 5 комплексов Au(I) (Рисунок 20), одобренных «Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов» (FDA) в качестве противоревматоидного средства [105].



Рисунок 20 – Структура ауранофина.

Однако, несмотря на множество полученных с тех пор различных классов комплексов Au(I) и Ag(I), в частности, на основе фосфиновых [106–111], N- и Sдонорных [106, 111–114], N-гетероциклических карбеновых [115, 116], а также модифицированных биофрагментами [113, 117] лигандов в настоящее время лишь ауранофин находится на стадии клинических испытаний при различных видах рака, включая хронический лимфолейкоз, малую лимфоцитарную лимфому и рак яичников [105, 109]. Тем не менее, показанная эффективность комплексов как в *in vitro*, так и в *in vivo* экспериментах [115, 118], несомненно, позволяют рассматривать соединения Au(I) и Ag(I) в качестве перспективных агентов для терапевтических целей.

Согласно теории ЖМКО Пирсона [119], ионы Au<sup>+</sup> и Ag<sup>+</sup>, будучи мягкими преимущественно должны взаимодействовать c кислотами, мягкими основаниями. В связи с этим, биологическими мишенями для их комплексов селено-содержащие биомолекулы – биотиолы, являются cepo-И что потенциально позволяет, как минимум, избавиться от побочных эффектов, присущих соединениям платины, воздействие которых основано на встраивании в структуру молекул ДНК [102, 120] (Рисунок 21). В свою очередь, биохимическая активность комплексов Au(I) и Ag(I) обусловлена двухстадийным лигандным обменом с биомишенями (Схема 1).



**Рисунок 21** – Координация цисплатина между спиралями ДНК. Сделано на основе рисунка из [120].



Схема 1 – Схематичное изображение лигандного обмена комплексов в физиологических условиях.
К биотиолам относят малые по размеру молекулы, такие как цистеин (Cys) и глутатион (GSH), а также крупные белковые структуры – тиоредоксины (Trx1, (цитозольный Trx2), TrxR1, редуктазы (тиоредоксин-редуктазы митохондриальный TrxR2), глутатион-редуктаза (GR)), цистеиновые протеазы. Тиоредоксины и тиоредоксин-редуктазы, совместно с коферментом НАДФ, формируют цитоплазматическую И митохондриальную тиоредоксиновые системы, обеспечивающие «утилизацию» активных форм кислорода, и защищают клетки от окислительного стресса, который является ключевым фактором повреждения ДНК и гибели клеток [121, 122] (Рисунок 22). В связи с этим, блокирование функций компонентов защитной системы, главным образом TrxR [106, 121], перспективным эффективного является для достижения химиотерапевтического воздействия, поскольку обеспечивает индуцирование процесса программируемой гибели клеток – апоптоза.



**Рисунок 22** – Схематичное изображение тиоредоксиновой системы. Сделано на основе рисунка из [122].

Важно отметить, что апоптоз у всех позвоночных реализуется по внутреннему сигнальному пути, так же называемому *митохондриальным*, обусловленным нарушениями в проницаемости мембраны митохондрий в ответ на внутриклеточные изменения, что способствует выходу про-апоптотичесих белков, в частности *цитохрома*, из межмембранного пространства в цитоплазму (Рисунок 23). Последние, в свою очередь, активируют фрагментацию клетки на отдельные апоптотические тельца, которые быстро фагоцитируются макрофагами [123].



**Рисунок 23** – Схематичное изображение процесса индуцирования апоптоза. Сделано на основе рисунка из [123].

Таким образом, митохондрии играют ключевую роль в регуляции гибели как нормальных, так и раковых клеток. Для последних характерна повышенная [124], экспрессия компонентов защитной системы поэтому выявленная способность ауранофина селективно ингибировать митохондриальный TrxR2 одной многообещающих стратегий целенаправленного [125] является ИЗ воздействия на данный фермент путем векторной доставки комплексов непосредственно в митохондрии.

Добиться эффективной митохондриальной локализации удается путем рационального дизайна комплексов Au(I) и Ag(I), а именно: 1) получения положительно заряженных соединений, поскольку мембраны митохондрий в раковых клетках имеют высокий отрицательный потенциал, в виду повышенной скорости производства ATФ, 2) комплексы должны обладать достаточной степенью гидофобности для эффективного проникновения в клетки [126, 127].

Так, в серии работ исследовательской группы Бернерс-Прайс [107–109, 116] варьирования лигандного окружения Au(I)путем для оптимизации функциональных свойств были получены катионные фосфиновые N-И гетроциклические комплексы (Рисунок 24). В работе [110] была получена серия фосфиновых комплексов Au(I), показавших фосфониевых солей in vivo цитотоксичность на линиях раковых клеток, сравнимых с таковой ДЛЯ *паклитаксела* – клинически используемого цитостатического противоракового препарата (Рисунок 25).



Рисунок 24 – Структуры катионных комплексов Au(I), полученных в работах [107–109, 116].



Рисунок 25 – Структуры фосфониевых комплексов Au(I), полученных в работе [110].

Катионные комплексные соединения также были получены и для ионов Ag(I). Например, в работе [111] были синтезированы гомо- и гетеролептические комплексы Ag(I), цитотоксичность которых и ингибирующая активность по отношению к TrxR коррелирует с липофильностью фосфиновых лигандов (Рисунок 26).



Рисунок 26 – Структуры катионных комплексов Ag(I), полученных в работе [196].

# 1.2.1.4. Наноразмерный подход для модификации терапевтического потенциала комплексов Au(I) и Ag(I)

Быстрое развитие направления неплатиновых терапевтических агентов, в целом, и комплексов Au(I) и Ag(I), в частности, привело к возникновению ряда дополнительных ограничений, связанных, прежде всего, с плохой растворимостью комплексов в воде, низкими биодоступностью и устойчивостью в биологических средах, а также малой селективностью по отношению к молекулярным мишеням [128, 129].

Одной из активно развивающихся в последние годы стратегий для устранения перечисленных недостатков является использование нанотехнологического подхода, основанного на формировании наноразмерных структур из молекулярных комплексов.

Важной особенностью нанотехнологического подхода является возможность реализации отличного OT характерного для молекулярных соединений пути клеточного проникновения, что, соответственно, позволяет внутриклеточным распределением управлять последующим наночастиц И селективно воздействовать на определенные органеллы [130]. В частности, в отличие от молекулярных соединений, проникающих в клетки преимущественно путем прямой диффузии [130], клеточное проникновение наноразмерных объектов осуществляется посредством различных механизмов эндоцитоза, в свою очередь, зависящих от размеров наноструктур, а также взаимодействия последних с экспонированными на клеточной мембране рецепторными молекулами. Так, поглощение твердых частиц реализуется главным образом за счет фагоцитоза (>500 нм) или пиноцитоза [131, 132]. В свою очередь, в зависимости от механизма, пиноцитоз подразделяется на макропиноцитоз (> 200 нм), клатринзависимый (≈100-200 нм), кавеолин-зависимый (≈60-80 нм) и рецепторнезависимый эндоцитоз (≈100 нм) (Рисунок 27). Реализация того или иного типа эндоцитоза зависит главным образом от физических параметров наночастиц, таких как размер, форма, заряд, жесткость [131], поверхностная модификация

[133] и, кроме того, определяет дальнейший внутриклеточный путь и, следовательно, эффективность терапевтического воздействия наночастиц.





Основной стратегией при разработке терапевтических агентов является создание таких препаратов, которые способны индуцировать апоптоз, в частности, посредством селективного воздействия на некоторые органеллы, например, лизосомы, вследствие их повышенного количества в раковых клетках в сравнении с нормальными [134] и ключевой роли этих органелл в формировании лекарственной резистентности [135]. В том числе было установлено, что митохондриальный путь апоптоза запускается при условии нарушения проницаемости мембраны лизосом и высвобождения в цитоплазму содержащихся исключительно в лизосомах группы гидролаз (катепсинов) и их связывания с антиапоптотическими белками Bcl-2 на поверхности митохондрий [136]. Более того, данные гидролазы более активны в раковых клетках, чем в нормальных [134].

К повышению проницаемости лизосомальной мембраны и высвобождению содержимого лизосом в цитоплазму может приводить специфическое изменение

состава лизосомальной жидкости. Учитывая повышенную кислотность в (pH~4.5), а также тот факт, что эндосомальные механизмы лизосомах проникновения наночастиц приводят их, главным образом, в лизосомы, причиной проницаемости лизосомальной мембраны pHнарушения могут стать индуцированные химические превращения или изменения агрегационного поведения. Вышесказанное стало основой для разработки эффективных подходов к генерации гибели раковых клеток по механизму апоптоза посредством агрегации/кристаллизации Au-наночастиц [137, 138], растворения ZnO- [139], Agнаноструктур [140] и металл-органических каркасов [54, 141], а также реализации так называемого «эффекта протонной губки» [142], хорошо известного для органических макромолекул.

В частности, в работе [138] авторами продемонстрирована избирательная агрегация смешанно-заряженных Аu-наночастиц в крупные кристаллические образования в лизосомах ряда раковых клеток, что приводит к нарушению целостности и функций лизосом и индуцированию гибели клеток (Рисунок 28).



**Рисунок 28** – Агрегационное поведение смешанно-заряженных Аи-наночастиц в лизосомах раковых клеток. Сделано на основе рисунка из [138].

В работах [54, 141] показано pH-индуцированное растворение металлорганических координационных структур в лизосомах. Высвобождаемые при этом ионы  $Zn^{2+}$  способствуют нарушению целостности лизосомальных мембран благодаря генерации AФK, что обеспечивает не только эффективную доставку инкапсулированных препаратов в цитоплазму, но и синергетическое воздействие на клеточные линии (Рисунок 5). В рамках нанотехнологического подхода к созданию терапевтических агентов на основе комплексов Au(I) и Ag(I) можно выделить два принципиальных направления: 1) включение терапевтически активных комплексов в различные супрамолекулярные системы доставки, 2) использование молекулярных комплексов в качестве строительных блоков. Следует при этом отметить, что включение молекулярных комплексов Au(I) и Ag(I) в наноматериалы затрудняет их химическое взаимодействие с биомолекулами, что, очевидно, должно отразиться на терапевтическом воздействии на клетки.

В рамках первого направления к настоящему времени для комплексов Au(I) и Ag(I) получены наноструктуры на основе амфифильных и полимерных молекул [143–145], металлических наночастиц [146], а также металл-органических каркасных структур [114]. Так, например, в работе [143] были получены pH-чувствительные мицеллярные наночастицы, способные в лизосомальных условиях высвобождать инкапсулированный комплекс Au(I) (Рисунок 29).



**Рисунок 29** – Структура и механизм воздействия на клетку супрамолекулярных наночастиц. Сделано на основе рисунка из [143].

Кроме того, в работе [145] синтезированы биосовместимые наночастицы на основе хитозана, допированные макромолекулярным комплексом Ag(I), цитотоксичность которых значительно выше по отношению к раковым клеткам

(MCF-7, A549) в сравнении как со *«свободным»* комплексом, так и с цисплатином (Рисунок 30).



**Рисунок 30** – Схема получения наночастиц на основе хитозана и макромолекулярного комплекса Ag(I). Сделано на основе рисунка из [145].

В рамках второго направления исследования на данный момент ограничены попытками модификации цитотоксичности ауранофина [147] и фосфинового комплекса Au(I) [148] путем их пришивки к гликополимерным молекулам (GP-30, GP-10) с последующим формированием мицеллярных структур (Рисунок 31).



Рисунок 31 – Структуры гликополимерных молекул с пришитыми ауранофином (a) [147] и фосфиновым комплексом Au(I) (б) [148].

В частности, для разработанных в исследовании [148] наносистем цитотоксическая активность по отношению к ряду раковых клеточных линий, выраженная через концентрации полумаксимального ингибирования (IC<sub>50</sub>), оказалась существенно выше в сравнении с известными противораковыми препаратами – цисплатином и цитарабином (Таблица 2).

	IC <sub>50</sub> , 10 <sup>-6</sup> M					
Препарат	MCF-7	HepG2	HEK 293T	фибробласты	МFC-7 (условия гипоксии)	ЕМТ-6 (условия гипоксии)
Цисплатин	66.7	100	33.3	100	_	—
Цитарабин	2098	1316	1152	1440	_	_
GP-30	3.7	26	6.3	10.3	_	_
GP-30(AuPPh <sub>3</sub> )	1.7	5	0.67	1.33	_	_
GP-10	26	41	3	37	8.4	14
GP-10(AuPPh <sub>3</sub> )	4	2	4	2	0.4	1.3

**Таблица 2** – Значения IC<sub>50</sub> для полученных в работе наносистем и коммерческих препаратов. Данные взяты из [148].

Таким образом, проведенный анализ большого объема литературных данных, посвященного изучению фотофизических свойств и биологической активности молекулярных комплексов Au(I) и Ag(I), свидетельствует об их потенциальной применимости в качестве клеточных маркеров и терапевтических агентов. В то же время, полученные за последние годы результаты выявили широкие перспективы нанотехнологического подхода. В частности, показано использование металл-органических координационных структур в качестве основы таких наночастиц, при этом особое внимание уделяется обратимым процессам их самоорганизации. Однако перспективы использования комплексов Au(I) и Ag(I) в качестве молекулярных блоков систем, претерпевающих вышеуказанные обратимые превращения, еще не раскрыты. Более того, применение наноразмерного подхода для создания люминесцентных систем ограничено полимерными тиолатными комплексами Au(I) [149–151], что является дополнительным стимулом для развития данного направления.

В связи с этим, на основе комплексов Au(I) и Ag(I) различной структуры получены наноразмерные системы, легко диспергируемые в водных растворах. Их синтез реализован с помощью двух известных из литературы подходов. Первый, подходящий для нейтральных, нерастворимых в воде аминофосфиновых комплексов Au(I), основан на их самоорганизации, происходящей при смене растворителя, с последующей стабилизацией полученных наночастиц

формированием гидрофильного слоя. Второй подход, применимый в отношении катионных водорастворимых комплексов Au(I) и Ag(I), основан на их включении в супрамолекулярные наносистемы, обладающие низкой растворимостью. Формирование подобных наноструктур реализуется посредством электростатических и координационных взаимодействий с противоположно заряженными кластерными комплексами. В качестве последних выбраны гексамолибденовые анионные гексарениевые И кластеры, обладающие уникальными структурными и фотофизическими характеристиками, являющихся предпосылками специфических функциональных свойств. Более подробно свойства и спектр потенциального применения данных структур будут рассмотрены в следующем разделе.

#### 1.2.2. Октаэдрические кластерные системы

Одной из характерных особенностей переходных металлов, в частности, в незаполненной d-оболочки, виду является способность К образованию кластерных структур – совокупности атомов металлов, содержащей связь металл-металл. Наиболее популярные – октаэдрические анионные гексарениевые и гексамолибденовые кластерные комплексы с общей формулой [{М<sub>6</sub>(µ<sub>3</sub>- $X_{8}(L_{6})^{n-},$ демонстрирующие большое структурное И функциональное разнообразие благодаря вариациям ионов металла (М), мостиковых (Х) и терминальных («апикальных») (L) лигандов.

#### 1.2.2.1. Халькогенидные гексарениевые кластерные комплексы

Особый интерес к халькогенидным гексарениевым кластерам  $[{Re_6Q_8}L_6]^{n-}$ (где Q= S<sup>2-</sup> или Se<sup>2-</sup>, а L= неорганические или органические терминальные лиганды) и материалам на их основе обусловлен, прежде всего, набором уникальных свойств, которыми они обладают. К ним относят фосфоресценцию в красной/ближней инфракрасной области [152, 153], а также способность генерировать синглетный кислород [154]. Это открывает возможности их использования не только в создании эмиссионных материалов, но и в биомедицинских приложениях: фотодинамической терапии и для биовизуализации, что в последние годы является стремительно развивающимся направлением [154, 155].

Примечательно, что варьирование апикальных лигандов кластерного ядра позволяет не столько настраивать люминесцентные свойства [152, 156], сколько задавать необходимые функциональные характеристики: способность к полимеризации, окислительно-восстановительные свойства, сродство к различным биомолекулам [156].

Уникальным примером с этой точки зрения является кластер с гидроксильными апикальными лигандами [{Re<sub>6</sub>Q<sub>8</sub>}(OH)<sub>6</sub>]<sup>4-</sup>. Люминесцентные свойства растворимость обусловлены быстрым кластера, a также протонированием/депротонированием апикальных гидроксилов при изменении рН среды, что позволяет рассматривать его как основу для создания сенсорных систем [45, 157]. Так, в работе [157] описан новый метод мониторинга процесса гидролиза ацетилхолина посредством люминесценции гексарениевого кластера  $[{Re_6S_8}(OH)_6]^{4-}$ .

Также хорошо известно, что гексарениевые кластеры способны образовывать большое разнообразие супрамолекулярных гетерометаллических структур путем координации апикальными лигандами ионов металлов или их комплексов [158], что, очевидно, предрасполагает их использование в качестве строительных блоков в рамках данной работы. Например, в работе [158] были получены гетерометаллические структуры на основе смешаннолигандного кластера [Re<sub>6</sub>S<sub>8</sub>(CN)<sub>2</sub>(OH)<sub>4</sub>]<sup>4–</sup> с ионами [Cu(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>]<sup>2+</sup> (Рисунок 32).



**Рисунок 32** – Фрагмент слоя, образованного катионами [Cu(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>]<sup>2+</sup> и [Re<sub>6</sub>S<sub>8</sub>(CN)<sub>2</sub>(OH)<sub>4</sub>]<sup>4-</sup>. Взято из [158].

#### 1.2.2.2. Иодидные гексамолибденовые кластерные комплексы

Гексамолибденовые кластерные структуры [{Mo<sub>6</sub>(X)<sub>8</sub>}(L)<sub>6</sub>]<sup>2-</sup> (где X= атом галогена (І<sup>-</sup>, Cl<sup>-</sup>, Br<sup>-</sup>), L= лабильные неорганические или органические лиганды) представляют интерес, главным образом, благодаря проявляемым уникальным фотофизическим и фотохимическим свойствам [159]. Как и в случае с гексарениевыми кластерами, рациональный подбор лигандного окружения позволяет оптимизировать свойства кластеров в соответствии с предполагаемыми функциями.

Так, например, для иодидных кластеров фотолюминесцентные свойства значительно превосходят таковые для их бромидных и хлоридных аналогов по квантовому выходу и времени фосфоресценции, что определило их большую привлекательность для ряда практических применений в биологии и медицине [159–162], а также аналитических целях [163].

В частности, характерная для кластеров фосфоресценция, проявляющаяся в виде широкой полосы эмиссии в красном/ближнем ИК-диапазоне (550–900нм) [161], является важной предпосылкой их успешного использования не только для биовизуализации [160], но и в качестве эффективного фотосенсибилизатора для фотодинамичской терапии [159, 161, 162].

Таким образом, уникальные фотофизические свойства представленных кластерных блоков, кинетически инертная жесткая структура ядра, а также проявляемые функциональные свойства позволяют рассматривать их в качестве перспективных строительных блоков для супрамолекулярных систем наряду с комплексами Au(I) и Ag(I). При этом наноразмерный подход, реализация которого для кластерных систем широко описана в литературе [45, 161, 162], позволит решить проблему, связанную с низкой степенью клеточного проникновения молекулярных кластеров в виду их отрицательного заряда, при этом обеспечивая люминесценцию в красной области спектра.

### ГЛАВА 2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

#### 2.1. Реагенты и исходные соединения

Использованные в работе коммерческие соединения: NaCl, аскорбиновая кислота, полиэтиленимин (ПЭИ, разветвленный, ММ=25000 Да) и 85% (w/v) ортофосфорная кислота (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) фирмы Aldrich Chemistry, дигидрофосфат натрия безводный  $(NaH_2PO_4,$ 99%) фирмы ACROS Organics, дигидрат этилендиаминтетраацетата натрия (Na<sub>2</sub>ЭДТА·2H<sub>2</sub>O, 99%), AgBF<sub>4</sub>, L-цистеин (Cys), L-гомоцистеин (Hcy), глутатион (GSH), дитиотреитол (DTT), поли-DLлизин гидробромид (ПЛ), DL-метионин, бычий сывороточный альбумин (БСА, ≥ 98%) и пепсин (лиофилизированный порошок, 3200-4500 единиц/мг белка) фирмы Sigma-Aldrich, лизоцим (≥ 90%) фирмы AppliChem, а также кумасси бриллиантовый синий (Coomassie brilliant blue G-250) фирмы ThermoFisher.

В качестве буферных растворов использованы гидрохлорид трис(гидроксиметил)аминометана (TRIS) фирмы Scharlau, гидрат 2-(N-морфолино)этансульфоновой кислоты (MES, 99%) фирмы ACROS Organics, уксусно-ацетатный (CH<sub>3</sub>COOH, CH<sub>3</sub>COONa), фосфатный (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) и боратный (Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>·10 H<sub>2</sub>O) буферы.

В качестве растворителей использованы диметилсульфоксид (ДМСО, 99.7%) фирмы Sigma-Aldrich, дистиллированная вода и этиловый спирт.

Реактив Брэдфорда был приготовлен растворением кумасси бриллиантового  $(4 \times 10^{-3} \text{ г})$  в  $2 \times 10^{-3}$  л 95% этилового спирта с последующим медленным добавлением  $4 \times 10^{-3}$  л 85% (w/v) ортофосфорной кислоты. Полученный раствор был доведен до  $4 \times 10^{-2}$  л дистиллированной водой. Перед использованием раствор предварительно отфильтровывался от осадка [164].

Белки тиоредоксин и желтый флуоресцентный белок (ЖФБ) были получены путем расщепления исходного вектора pET-trx1b (предоставлен Gunter Stier, EMBL), экспрессированного в штамме *E.coli* Rosetta 2(DE3) (Novagen), протеазой TEV [165] с последующим разделением компонентов на Ni-NTA колонке и концентрированием. Гомогенность очищенных белков ЖФБ и тиоредоксина составила >95% по данным электрофореза в полиакриламидном геле. Очищенные белковые фракции разделяли на аликвоты и замораживали в жидком азоте.

Комплексы (AuCl)<sub>2</sub>L и [Au<sub>2</sub>L<sub>2</sub>]Cl<sub>2</sub>, где L= 1,5-бис(пара-толил)-3,7бис(пиридин-2-ил)-1,5-диаза-3,7-дифосфоциклооктановый лиганд, а также [Ag<sub>2</sub>L<sub>2</sub>](BF<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, где L= 6-метилпиридин-2-илфосфолановый лиганд, были синтезированы в лаборатории фосфорорганических лигандов ИОФХ им. А.Е. Арбузова – обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН согласно методикам, описанным в работах [87, 90, 92].

Гексарениевые K<sub>4</sub>[{Re<sub>6</sub>S<sub>8</sub>}(CN)<sub>6</sub>], K<sub>4</sub>[{Re<sub>6</sub>S<sub>8</sub>}(OH)<sub>6</sub>], K<sub>4</sub>[{Re<sub>6</sub>Se<sub>8</sub>}(OH)<sub>6</sub>] и Na<sub>10</sub>[{Re<sub>6</sub>S<sub>8</sub>}(SO<sub>3</sub>)<sub>6</sub>] и гексамолибденовые (n-Bu<sub>4</sub>N)<sub>2</sub>[{Mo<sub>6</sub>I<sub>8</sub>}(CH<sub>3</sub>COO)<sub>6</sub>] и K<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>CN)<sub>2</sub>(diglyme)<sub>2</sub>[{Mo<sub>6</sub>I<sub>8</sub>}I<sub>6</sub>] кластерные комплексы, синтезированные согласно опубликованным ранее методикам [166–170], предоставлены коллегами из Института неорганической химии им. А. В. Николаева (научные группы д.х.н., профессора Брылева К. А. и д.х.н., профессора Соколова М. Н.).

#### 2.2. Методики синтеза наноструктур

Полиэлектролит-стабилизированные наночастицы ПЭИ–(AuCl)<sub>2</sub>L были синтезированы прикапыванием раствора комплекса (AuCl)<sub>2</sub>L в ДМСО к водному раствору полиэтиленимина (С<sub>ПЭИ</sub>=1 г/л, С<sub>NaCl</sub>=5×10<sup>-1</sup> М, pH=7) при интенсивном перемешивании. Объемное соотношение водной и органической фаз составило 4:1. Полученные дисперсии далее были подвержены ультразвуковому воздействию в течение 20 минут и отделены от избытков полиэлектролита и NaCl центрифугированием (10000 об/мин в течение 15 минут). После отделения надосадочного раствора (супернатанта) наночастицы были редиспергированы в дистиллированной воде.

Гетерометаллические наноструктуры  $Au_2-Mo_6$  были получены прикапыванием водного раствора комплекса  $[Au_2L_2]Cl_2$  к водным растворам (n- $Bu_4N)_2[\{Mo_6I_8\}(CH_3COO)_6]$  и  $K_2(CH_3CN)_2(diglyme)_2[\{Mo_6I_8\}I_6]$  кластеров при интенсивном перемешивании с последующим ультразвуковым диспергированием. Молярное соотношение комплекс:кластер в растворах составило 3:1. После фазового разделения путем центрифугирования (15000 об/мин в течение 30 минут, T=4 <sup>0</sup>C) наночастицы были редиспергированы в дистиллированной воде. С целью получения поверхностно-модифицированных систем осадок редиспергировался в растворе поли-DL-лизина (ПЛ, C=1 г/л, pH=7.4), после чего подвергался повторной процедуре центрифугирования/диспергирования.

наноструктуры Гетерометаллические  $Au_2 - Re_6$ были получены прикапыванием водного раствора комплекса [Au<sub>2</sub>L<sub>2</sub>]Cl<sub>2</sub> к водным растворам  $K_4[{Re_6S_8}(OH)_6]$  (pH=8.8, C<sub>TRIS</sub>=1×10<sup>-1</sup> M) и  $K_4[{Re_6Se_8}(OH)_6]$  (pH=10.1, С<sub>Na2B4O7</sub>=2×10<sup>-2</sup> М) кластеров при интенсивном перемешивании с последующим ультразвуковым диспергированием. Молярное соотношение комплекс:кластер в полученных растворах составило 2:1. Далее коллоиды были отделены от супернатантов центрифугированием (15000 об/мин в течение 30 минут, T=4 <sup>0</sup>C) и редиспергированы в дистиллированной воде. Для изучения рН-зависимого растворения наноструктур, а также модификации их поверхности лизоцимом центрифугирования полученный после осадок редиспергировался В фосфатном/ацетатном буферах (C= $1 \times 10^{-2}$  M).

Гетерометаллические наночастицы Ag(L)– $Re_6(OH)$  и Ag(L)– $Re_6(CN)$ получены путем прикапывания водного раствора комплекса  $[Ag_2L_2](BF_4)_2$  к водным растворам  $K_4[{Re_6S_8}(OH)_6]$  и  $K_4[{Re_6S_8}(CN)_6]$  кластеров при интенсивном перемешивании с последующим ультразвуковым диспергированием. Молярное соотношение комплекс:кластер в растворах составило 2:1 и 2.5:1, соответственно.

Гетерометаллические наноструктуры  $Ag_x$ -Re<sub>6</sub> получены прикапыванием водного раствора комплекса  $[Ag_2L_2](BF_4)_2$  к водным растворам  $K_4[{Re_6S_8}(OH)_6]$  кластера при значениях pH=7.2 (доведен HCl), pH=7.2 (доведен TRIS,  $C_{TRIS}=1\times10^{-1}$  M) и pH=8.5 (собственный pH раствора кластера), соответственно, при интенсивном перемешивании с последующим диспергированием. Молярное соотношение комплекс:кластер в полученных растворах составило 2:1. После фазового разделения путем центрифугирования (15000 об/мин в течение 30 минут, T=4  $^{0}$ C) наночастицы были редиспергированы в дистиллированной воде.

Для исследования поведения наноструктур в диапазоне pH=4–7.4, а также модификации их поверхности лизоцимом полученный после центрифугирования осадок редиспергировался в фосфатном/ацетатном буферах (C=1×10<sup>-2</sup> M). С целью получения ПЭИ-модифицированных систем осадок редиспергировался в растворе полиэтиленимина (C=1 г/л, pH=7), после чего подвергался повторной процедуре центрифугирования/диспергирования.

#### 2.3. Методы и приборы

Эксперименты по определению среднего гидродинамического диаметра (*d*<sub>ср</sub>), распределения частиц по количеству (*d*<sub>колич</sub>) и электрокинетического потенциала (С-потенциал) были проведены с использованием анализатора размера наночастиц Zetasizer Nano (Malvern Instruments, Великобритания) при 25 С. Экспериментальные автокорреляционные функции анализировали с помощью программы Malvern DTS и методов кумулянтного разложения второго порядка. Значения гидродинамического диаметра ( $d_{cp}$ ) были рассчитаны согласно уравнению Стокса-Эйнштейна: *d*<sub>ср</sub>=(kT)/(4πηD), где k – постоянная Больцмана, Т – температура, п – вязкость, D – коэффициент диффузии. Измерения D проводились не менее трех раз для каждого образца. Средняя ошибка составила ок. 4%. Значения электрокинетического потенциала рассчитывали по уравнению Смолуховского-Гельмгольца [171]. Bce образцы были приготовлены В деионизированной воде, отфильтрованной через PVDF-мембрану (0.45 мкм).

<u>Измерения pH растворов</u> проводились на pH-метре InoLab pH-720 с pHэлектродом SenTix Mic (WTW). Ошибка измерений составляла не более 0.01 ед в термостатируемой ячейке при 25 °C. Калибровка прибора осуществлялась по трем стандартным буферным точкам (pH=4.01, 7.01 и 10.01).

<u>Спектры поглощения</u> регистрировали на спектрофотометре Specord 50 Plus (Analytik Jena AG, Германия) в кварцевых кюветах диаметром 10 мм.

<u>Спектры люминесценции</u> регистрировали на флуоресцентном спектрофотометре Hitachi F-7100 (Япония) со стигматической вогнутой дифракционной решеткой.

<u>Времена жизни возбужденных состояний</u> измерены на спектрофлуориметре FL3-221-NIR (Horiba Jobin Yvon, Япония) с использованием дополнительной приставки фосфориметра SPEX FL-1042 и ксеноновой импульсной лампы в качестве источника фотонов. Параметры съемки: время между импульсами – 41.00 мс, количество импульсов – 200, исходная задержка – 0.03 мс, исследуемый диапазон времени – 0.5 мс. Длина волны возбуждения для систем на основе [{Re<sub>6</sub>S<sub>8</sub>}L<sub>6</sub>]<sup>*n*-</sup> и [{Mo<sub>6</sub>I<sub>8</sub>}(L')<sub>6</sub>]<sup>2-</sup> кластеров составляла  $\lambda$ =400 нм и  $\lambda$ =380 нм, соответственно. Эмиссия фиксировалась при длинах волн, соответствующих максимумам интенсивности люминесценции соответствующих систем. Все измерения проводились с использованием кварцевых кювет диаметром 10 мм.

<u>Спектры кругового дихроизма</u> в диапазоне  $\lambda$ =200–250 нм регистрировали на спектрометре JASCO J-1500 (JASCO Corporation, Япония) в кварцевых кюветах диаметром 10 мм в атмосфере азота.

<u>ИК-спектры</u> регистрировали на фурье-спектрометре Tensor 27 (Bruker, Германия) в диапазоне v=4000-400 см<sup>-1</sup> с оптическим разрешением 4 см<sup>-1</sup> и накоплением 32 сканов с использованием прессованных таблеток KBr.

<u>Спектры ЯМР</u> <sup>1</sup>Н и <sup>31</sup>Р регистрировали на спектрометрах Bruker Avance-DRX 400, Bruker Avance 500 и Bruker Avance 600 (Bruker BioSpin, Германия). Химические сдвиги приведены в миллионных долях по отношению к SiMe<sub>4</sub> (<sup>1</sup>H, внутренний стандарт) и 85%  $H_3PO_4$  (<sup>31</sup>Р, внешний стандарт).

<u>Масс-спектры</u> ионизации электрораспылением (ESI) получены на массспектрометре AmazonX (Bruker Daltonik GmbH, Германия) с ионной ловушкой.

<u>Микрофотографии наночастиц</u> получены методом <u>просвечивающей</u> (трансмиссионной) <u>электронной микроскопии</u> (ПЭМ) на приборе Hitachi HT7700 (Hitachi, Япония). Образцы предварительно обрабатывались ультразвуком в течение 15 минут. Затем наносились на медную сетку, покрытую непрерывным слоем формвара, укрепленного углеродным напылением (Agar Scientific, Великобритания). Размер медной сетки – 300 mesh. Изображения были получены при ускоряющем напряжении 100 кВ. <u>Концентрации ионов</u> в полученных наноструктурах определены методом <u>оптической эмиссионной спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой</u> (ICP-OES) на приборе iCAP 6300 DUO (Varian Thermo Scientific, CША), оснащенного CID-детектором. Конфигурации радиального и осевого обзора обеспечивают оптимальные измерения высоты пика с подавлением спектральных шумов. Концентрации ионов Re, Mo, Au, Ag и P определяли, соответственно, по линиям спектра: 221.426, 202.030, 242.795, 328.068 и 178.284 нм. В качестве внутреннего стандарта использовали Sc (10 ppm в каждом образце), а стандарты Re, Mo, Au, Ag и P – в качестве калибровочных (калибровка по пяти точкам).

Измерения порошковой рентгеновской дифракции (ПРД) проводили на автоматическом дифрактометре Bruker D8 Advance, оснащенном приставкой Vario и линейным детектором Vantec, с использованием Cu-излучения (40 кВ, 40 мA), монохромированного изогнутым монохроматором Йоханссона ( $\lambda$  CuK $\alpha$ 1 1.5406 Å) (Bruker Optik GmbH, Германия). Образцы наносились на поверхность стандартной кремниевой пластины с нулевой дифракцией, уменьшающей фоновое рассеяние. Дифрактограммы записывались в угловом диапазоне 3°<20<90° с шагом в 0.008° и выдержкой в точке 1 с. На протяжении всего сбора данных обеспечивалось вращение образцов (15 об/мин). Дифрактограммы образцов суммировали по нескольким измерениям. Обработка полученных данных была выполнена с использованием пакетов программного обеспечения EVA [172], TOPAS [173], EXPO 2013 [174] и FOX [175].

<u>Фотодинамическая активность</u> гексамолибденовых  $[{Mo_6I_8}(L')_6]^{2-}$ кластеров и наноструктур на их основе была изучена методом <u>электронного</u> <u>парамагнитного резонанса</u> (ЭПР) с использованием спиновой ловушки (DMPO) на ЭПР-спектрометре ELEXSYS E500 (Bruker, США). Спектры моделировали с помощью программы WinSim 0.96 (NIEHS). Облучение образцов производилось светодиодом ( $\lambda$ =405 нм) на расстоянии 50 мм.

<u>Цитотоксичность</u> исходных компонентов и полученных наночастиц по отношению к раковым и нормальным клеточным линиям определяли с помощью флуоресцентного анализа с использованием многофункциональной системы

55

Cytell Cell Imaging (GE Helthcare Life Science, Швеция) с приложением Cell Viability BioApp. Для экспериментов использовали опухолевые культуры клеток M-Hela клон 11 (эпителиоидная карцинома шейки матки, сублиния Hela, клон М-Hela) и культуры нормальных клеток печени (Chang liver) и легких (WI-38 VA-13). Клетки высевали в 96-луночный планшет в концентрации 1×10<sup>5</sup> клеток/мл, 1.5×10<sup>-4</sup> л среды на лунку и культивировали в инкубаторе (T=37 °C). Через 24 часа после посева клеток в лунки добавляли тестируемые образцы при заданных концентрациях по 1.5×10<sup>-4</sup> л в каждую лунку. Растворы образцов готовили сразу в средах. Опыты повторялись трижды. В качестве контроля питательных использовали интактные клетки, культивированные параллельно с экспериментальными. Значения ІС<sub>50</sub> рассчитаны с использованием онлайнкалькулятора [176].

<u>Флуоресцентные микрофотографии</u> были получены методом флуоресцентной микроскопии. Клетки линии WI-38 VA-13 высевали в 6луночные планшеты в количестве  $1 \times 10^5$  клеток на лунку в объеме  $2 \times 10^{-3}$  л. После 24 часов инкубации в лунки были добавлены тестируемые образцы в концентрациях ниже значений IC<sub>50</sub>, после чего клетки были инкубированы в течение 48 часов. Ядра клеток окрашивались красителем ДАФИ (синий). Съемка проводилась с помощью флуоресцентного микроскопа Nikon Eclipse Ci-S (Nikon, Япония) при 1000-кратном увеличении.

Для установления <u>степени клеточного проникновения</u> исследуемых образцов клетки линий M-HeLa, Chang Liver и WI-38 VA-13 высевали в 24луночные планшеты в количестве  $1 \times 10^5$  клеток на лунку в объеме  $5 \times 10^{-4}$  л. После 24 часов инкубации в лунки добавлялись наночастицы в концентрациях ниже соответствующих для них значений IC<sub>50</sub>, после чего клетки снова инкубировались в течение 24 часов. Далее клетки трижды промывали фосфатно-солевым буферным раствором, обрабатывали трипсином и ресуспендировали в свежем фосфатном буфере с 10% фетальной бычьей сывороткой. Суспензии клеток анализировали методом проточной цитометрии (Guava easy Cyte 8HT, MERCK, США). В качестве контроля использовали интактные клетки. трижды. Результаты, полученные методом проточной цитометрии, анализировали с использованием многофункциональной системы Cytell Cell Imaging (GE Helthcare Life Science, Швеция) с приложением Cell Viability BioApp. Статистический анализ проведен с использованием критерия Манна-Уитни (p<0.05).

Количественный анализ локализации гетерометаллических наночастиц в лизосомах был проведен с помощью метода конфокальной микроскопии на лазерном сканирующем микроскопе Leica TCS SP5 MP (Leica Microsystems, Германия). Для визуализации лизосом клетки линии M-HeLa высевали в 6луночные планшеты в количестве 1×10<sup>6</sup> клеток на лунку в объеме 2×10<sup>-3</sup> л в питательной среде и инкубировали в течение 24 часов (T=37 °C, 5% CO<sub>2</sub>). После инкубации и добавления в лунки тестируемых образцов в концентрациях ниже значений IC<sub>50</sub> клетки снова были инкубированы в течение 12 или 24 часов. Далее клетки дважды промывали буфером PBS, после чего инкубировали в течение 30 минут с красителем LysoTracker Blue DND 22 ( $1 \times 10^{-6}$  M). Наночастицы и LysoTracker Blue DND 22 возбуждали при  $\lambda$ =405 нм и  $\lambda$ =373 нм, соответственно. Излучение регистрировали в диапазоне  $\lambda$ =620–670 нм для наночастиц и  $\lambda$ =421– 527 нм в случае красителя. Анализ изображений был выполнен в программном обеспечении LAS AF (Leica Microsystems CMS GmbH, Германия) с инструментом колокализации. Для количественной оценки корреляции между интенсивностью флуоресценции LysoTracker Blue DND 22 И наночастиц использовали коэффициент корреляции Пирсона (РСС). Коэффициент корреляции Пирсона рассчитывали для каждого захваченного поля зрения (n=50), для каждого поля учитывали не менее 50 клеток. Данные выражены как среднее значение ± стандартная ошибка. Достоверность различий данных анализировали с помощью критерия Стьюдента. Различия статистически значимы при p<0.05.

<u>Исследования нарушения проницаемости мембран лизосом</u> проводились с использованием красителя акридинового оранжевого (AO). После инкубации с наночастицами клетки линии M-HeLa были инкубированы с красителем AO в концентрации 5×10<sup>-6</sup> М в течение 5 мин. Далее после трехкратного промывания

буфером PBS клетки визуализировали на конфокальном лазерном микроскопе Leica TCS SP5 MP (Leica Microsystems, Германия). АО возбуждали при  $\lambda$ =488 нм, эмиссию регистрировали при  $\lambda$ =525 нм и  $\lambda$ =625 нм для зеленого и красного излучения, соответственно.

Для определения <u>пути гибели раковых клеток</u> М-НеLa последние высевали в 6-луночные планшеты в количестве  $1 \times 10^6$  клеток на лунку в объеме  $2 \times 10^{-3}$  л. После 24 часов инкубации в лунки добавлялись тестируемые образцы в определенных концентрациях. Клетки собирали при 2000 об/мин в течение 5 минут и затем дважды промывали ледяным фосфатным буфером (4 °C) с последующим повторным ресуспендированием в  $1 \times 10^{-4}$  л связывающего буфера. Далее образцы инкубировали с  $3.5 \times 10^{-7}$  л Аннексина (Annexin V-Alexa Fluor 647) и  $1 \times 10^{-7}$  л пропидий йодида (PI) в течение 40 минут при комнатной температуре без доступа света. Клетки анализировали методом проточной цитометрии (Guava easy Cyte 8HT, MERCK, США). В качестве контроля использовали интактные клетки. Опыты повторялись трижды. Данные выражены как среднее значение  $\pm$ стандартная ошибка. Различия статистически значимы при p<0.01.

## ГЛАВА 3. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

## 3.1. Наноструктуры на основе нейтрального комплекса Au(I) с диазадифосфациклооктановым лигандом ((AuCl)<sub>2</sub>L)

## 3.1.1. Оптимизация методики получения полиэлектролитстабилизированных наночастиц

Для перевода нейтрального комплекса Au(I) с 1,5-бис(пара-толил)-3,7бис(пиридин-2-ил)-1,5-диаза-3,7-дифосфациклооктановым лигандом ((AuCl)<sub>2</sub>L) в наноразмерные гидрофильные частицы и стабилизации его функциональных, в частности, люминесцентных свойств, в рамках нашей работы [177] впервые была использована методика полиэлектролитной адсорбции на поверхности твердых нанотемплатов, образующихся в процессе самоорганизации молекул комплекса при смене растворителя. Данная методика хорошо описана в литературе, в том числе лля перевода нерастворимых В воде комплексов лантанилов В стабилизированные полиэлектролитами наночастицы [178, 179]. Однако в виду немногочисленных примеров использования комплексов Au(I) в качестве блоков гидрофильных супрамолекулярных наночастиц первым и необходимым этапом настоящей работы стала модификация описанной методики путем подбора оптимальных условий синтеза наноразмерных частиц комплекса (AuCl)<sub>2</sub>L.

В качестве органического растворителя был выбран диметилсульфоксид (ДМСО) в виду достаточно высокой растворимости в нем исследуемого комплекса, а также хорошей смешиваемости с водой. Интересно, что прикапывание ДМСО раствора комплекса (AuCl)<sub>2</sub>L к дистиллированной воде в объемном соотношении 1:4 не приводит к образованию твердых нанотемплатов. В связи с этим было сделано предположение о диссоциации комплекса с сохранением основной структуры согласно уравнению 2 как причины его растворимости, что подтверждается данными ESI масс-спектрометрического анализа (Рисунок 33).

$$[(AuCl)_2L] \longleftarrow [Au_2ClL]^+ + Cl^-$$
(2)



60

Рисунок 33 – ESI масс-спектр раствора, полученного при смешении ДМСО раствора  $(AuCl)_2L$  с дистиллированной водой: 1 –  $[(Au_2Cl)L]^+$ , 2 –  $[(AuCl)_2LNa]^+$ , 3 –  $[(AuCl)_2LK]^+$ .  $C_{(AuCl)_2L}=5\times10^{-5}$  М.

В соответствии с принципом Ле Шателье введение в систему дополнительных Cl<sup>-</sup> ионов должно сместить равновесие в сторону образования исходного нерастворимого в воде комплекса  $(AuCl)_2L$ . Более того, наличие в спектре пиков 2 (m/z=971.2) и 3 (m/z=987.2), которые соответствуют структурам [(AuCl)<sub>2</sub>LM]<sup>+</sup>, где M=Na<sup>+</sup> и K<sup>+</sup>, указывает на эффективность электростатических взаимодействий ионов натрия и калия с предорганизованными P–Au–Cl фрагментами (AuCl)<sub>2</sub>L комплекса (Схема 2). Следовательно, связывание ионов Na<sup>+</sup> комплексом (AuCl)<sub>2</sub>L по типу гость-хозяин в растворах NaCl должно обеспечивать дополнительную стабилизацию комплекса.



Схема 2 – Связывание катионных фрагментов с предорганизованной структурой комплекса.

Действительно, при смешивании ДМСО раствора комплекса (AuCl)<sub>2</sub>L и водного раствора NaCl невооруженным глазом наблюдается образование твердых частиц, размеры и электрокинетический потенциал которых были определены с помощью метода динамического рассеяния света (ДРС) (Таблица 3).

Отрицательное значение ζ-потенциала обусловлено СІ<sup>-</sup> ионами в диффузном слое частиц.

**Таблица 3** – Средний гидродинамический диаметр ( $d_{cp}$ , нм), ПДИ и  $\zeta$ -потенциал ( $\zeta$ , мВ) (AuCl)<sub>2</sub>L и ПЭИ–[(AuCl)<sub>2</sub>L] частиц. С<sub>(AuCl)2L</sub>=4×10<sup>-4</sup> M, С<sub>NaCl</sub>=5×10<sup>-1</sup> M, С<sub>ПЭИ</sub>=1 г/л, рН<sub>ПЭИ</sub>=7.

	<i>d</i> ср, нм	пди	ζ, мВ
(AuCl) <sub>2</sub> L	4755±75	0.33	-12
ПЭИ–[(AuCl) <sub>2</sub> L]	270±20	0.67	+55

Для стабилизации образующихся отрицательно заряженных темплатов прикапывание органического раствора комплекса (AuCl)<sub>2</sub>L осуществлялось в солевой раствор полиэтиленимина (ПЭИ). Поскольку растворы ПЭИ являются сильнощелочными (pH≈10-11), необходимо доведение их pH до нейтрального диапазона, в том числе и во избежание окислительного разрушения комплекса. полиэлектролит-стабилизированные Полученные частицы  $\Pi \exists H = [(AuCl)_2L]$ от избыточного количества ПЭИ центрифугированием отделялись с последующим редиспергированием в дистиллированной воде.

Согласно данным, представленным в Таблице 3, использование ПЭИ приводит к перезарядке поверхности наночастиц, что свидетельствует об эффективной адсорбции полиэлектролита, в том числе благодаря способности молекулы комплекса (AuCl)<sub>2</sub>L связывать катионные фрагменты, в частности, аммониевые группы полиэлектролита (Схема 2). При этом повышается устойчивость коллоидной агрегационная системы, что подтверждается размерами достаточно малыми частиц и значениями низкими индекса полидисперсности (ПДИ).

Спектр излучения ПЭИ–[(AuCl)<sub>2</sub>L] наночастиц по форме аналогичен спектру комплекса (AuCl)<sub>2</sub>L в растворах ДМСО [95] и представляет собой уширенную полосу с максимумом излучения  $\lambda_{\text{макс}}$ =505 нм при  $\lambda_{\text{возб}}$ =365 нм (Рисунки 11, 34а).

Для выявления оптимальной концентрации полиэлектролита были синтезированы коллоидные системы с использованием водных растворов с различным содержанием ПЭИ. Согласно данным люминесцентного анализа, концентрация последнего в водном растворе практически не оказывает влияния на интенсивность люминесценции ПЭИ–[(AuCl)<sub>2</sub>L] коллоидов (Рисунок 34а). Однако, исходя из данных, полученных методом ДРС, оптимальной концентрацией ПЭИ в водном растворе было выбрано значение 1 г/л (Таблица 4).



Рисунок 34 – а – Спектры люминесценции ПЭИ–[(AuCl)<sub>2</sub>L] коллоидов, полученных при различных концентрациях ПЭИ: 1 – 0.5, 2 – 1, 3 – 2 г/л. С<sub>(AuCl)2L</sub>=4×10<sup>-4</sup> М. б – Зависимость I/I<sub>0</sub> от концентрации комплекса (AuCl)<sub>2</sub>L в исходном ДМСО растворе, где I<sub>0</sub> – интенсивность люминесценции при C<sub>(AuCl)2L</sub>=5×10<sup>-4</sup> М.  $\lambda_{воз6}$ =365 нм,  $\lambda_{изл}$ =505 нм.

**Таблица 4** – Средние гидродинамические диаметры (*d*<sub>cp</sub>, нм) и ПДИ коллоидов ПЭИ– [(AuCl)<sub>2</sub>L], полученных при использовании водного раствора с различным содержанием ПЭИ. C<sub>(AuCl)2L</sub>=4×10<sup>-4</sup> M, C<sub>NaCl</sub>=5×10<sup>-1</sup> M.

Спэи, г/л	<i>d</i> <sub>ср</sub> , нм	ПДИ	
0.5	316±12	1	
1	270±20	0.67	
2	539±12	0.868	

Для выявления оптимальной концентрации комплекса В исходном органическом растворе был проведен люминесцентный анализ серии ПЭИ- $[(AuCl)_2L]$ коллоидов, синтезированных при использовании различных была концентраций комплекса (AuCl)<sub>2</sub>L. По результатам экспериментов построена зависимость относительной интенсивности люминесценции ПЭИ- $[(AuCl)_2L]$ коллоидов  $(I/I_0)$ от концентрации (AuCl)<sub>2</sub>L. Оптимальной концентрацией (AuCl)<sub>2</sub>L в органическом растворе является 2×10<sup>-3</sup> М как точка выхода  $I/I_0$  на предел (Рисунок 34б).

Необходимо отметить, что использование растворов ПЭИ с pH<7 приводит значительной агрегации наночастиц (Таблица 5), объясняется что К разворачиванием молекулы полиэлектролита с ростом степени протонированности и, соответственно, снижением эффективности его адсорбции на поверхности нанотемплатов. В связи с этим pH=7 был определен в качестве оптимального значения для получения наночастиц, обладающих наилучшими коллоидными свойствами (Таблица 5).

**Таблица 5** – Средние гидродинамические диаметры (*d*<sub>ср</sub>, нм), ПДИ и ζ-потенциалы (ζ, мВ) коллоидов ПЭИ–[(AuCl)<sub>2</sub>L] в зависимости от значений рН используемого ПЭИ. С<sub>(AuCl)2L</sub>=4×10<sup>-4</sup> M, C<sub>NaCl</sub>=5×10<sup>-1</sup> M, С<sub>ПЭИ</sub>=1 г/л.

рНпэи	<i>d</i> <sub>ср</sub> , нм	пди	ζ, мВ
7	270±20	0.67	+55
6.5	1700±75	0.75	+36
6	2179±75	0.94	+29
5.5	3978±75	1	+18
3	3282±75	1	+20

Потери комплекса в ходе синтеза полиэлектролит-стабилизированных наночастиц согласно данным АЭС ( $C_{Au}$ (супернатант)=0.83±0.08 мг/л или 4.2×10<sup>-6</sup> М) составляют около 1% от общего количества комплекса (AuCl)<sub>2</sub>L (в пересчете на содержание ионов Au(I)), что подтверждает эффективность осаждения (AuCl)<sub>2</sub>L в применяемых синтетических условиях.

# 3.1.2. Характеризация и функциональные свойства полученных ПЭИ– [(AuCl)<sub>2</sub>L] наноструктур

Методом ПЭМ была установлена морфология ПЭИ–[(AuCl)<sub>2</sub>L] коллоидов: множество нанотемплатов, средний размер которых порядка 2–3 нм, включены в мягкую полиэлектролитную оболочку (размер оболочки 15–25 нм) (Рисунок 35).



Рисунок 35 – ПЭМ-изображение высушенного образца ПЭИ–[(AuCl)<sub>2</sub>L] коллоидов.

Отмеченная ранее способность к связыванию катионов и катионных фрагментов полиэлектролита молекулами (AuCl)<sub>2</sub>L по типу «гость-хозяин» может являться причиной специфической кристаллической упаковки ПЭИ–[(AuCl)<sub>2</sub>L] коллоидов. Действительно, по данным рентгеновской порошковой дифракции высушенных образцов ПЭИ–[(AuCl)<sub>2</sub>L] установлена кристалличность ядер коллоидов, которая сильно отличается от кристаллической упаковки комплекса (AuCl)<sub>2</sub>L·2ДМСО, рассчитанной по данным рентгеноструктурного анализа (Рисунок 36). Полученный результат согласуется с известной из литературы вариативностью кристаллической упаковки комплекса и ее зависимости от природы растворителя в составе кристаллосольвата [95], что косвенно подтверждает замещение молекулы ДМСО из нуклеофильного сайта связывания (AuCl)<sub>2</sub>L катионами Na<sup>+</sup> или аммониевыми группами ПЭИ.

В связи с тем, что для получения ПЭИ–[(AuCl)<sub>2</sub>L] коллоидов используется водный раствор хлорида натрия, в спектре присутствуют соответствующие ему пики, которые, тем не менее, не интерферируют с дифракционной картиной ПЭИ–[(AuCl)<sub>2</sub>L].



**Рисунок 36** – Экспериментальная дифрактограмма высушенных коллоидов ПЭИ– [(AuCl)<sub>2</sub>L] (1); рассчитанные по данным РСА дифрактограммы лиганда L (2) и комплекса, выращенного из раствора ДМСО (3). Синие вертикальные линии показывают положение интерференционных пиков кристаллического NaCl.

Важно отметить, что полученные ПЭИ–[(AuCl)<sub>2</sub>L] коллоиды сохраняют высокую интенсивность люминесценции в течение как минимум 9 дней и в широком интервале pH (Рисунок 37а, б), в то время как в органических растворителях комплекс практически в течение часа теряет свои люминесцентные свойства вследствие фотодеградации [95].



Рисунок 37 – а – Спектры люминесценции ПЭИ–[(AuCl)<sub>2</sub>L] в зависимости от времени хранения образцов: 0 дней (1), 2 дня (2), 4 дня (3), 9 дней (4).  $C_{(AuCl)2L}=4\times10^{-4}$  М. б – Зависимость I/I<sub>0</sub> от значений pH коллоидных растворов, где I<sub>0</sub> – интенсивность люминесценции коллоидов при pH=7.  $C_{(AuCl)2L}=2\times10^{-4}$  М. в – Нормализованные спектры люминесценции ПЭИ–[(AuCl)<sub>2</sub>L] (1) и ПЭИ–[L] коллоидов (2), полученных из растворов комплекса и лиганда, соответственно.  $C_{(AuCl)2L}=C_L=4\times10^{-4}$  М,  $\lambda_{воз6}=365$  нм,  $\lambda_{изл}=505$  нм.

При этом в процессе синтеза наносистем не происходит разрушения исходного комплекса, что подтверждается данными люминесцентного анализа (Рисунок 37в).

Более того, установлена стабильность фотофизических свойств коллоидов в присутствии дигидрофосфат- и ЭДТА-анионов, а также хорошо известного восстанавливающего агента – аскорбиновой кислоты, широко использующейся в синтезе наночастиц золота (Рисунок 38).



**Рисунок 38** – Зависимость I/I<sub>0</sub> ПЭИ–[(AuCl)<sub>2</sub>L] коллоидов от концентрации: а – Na<sub>2</sub>ЭДТА (1) и NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (2), б – аскорбиновой кислоты, где I<sub>0</sub> – интенсивность люминесценции в отсутствии субстрата. С<sub>(AuCl)2L</sub>= $4 \times 10^{-4}$  M,  $\lambda_{B036}$ =365 нм,  $\lambda_{H31}$ =505 нм.

## 3.1.3. Взаимодействие полиэлектролит-стабилизированных наноструктур с биомолекулами

Основными биологическими мишенями для комплексов Au(I), как было подробно описано в предыдущей главе, являются молекулы биотиолов, в частности низкомолекулярные глутатион (GSH), цистеин (Cys) и гомоцистеин (Hcy), которые обеспечивают поддержание окислительно-восстановительного гомеостаза клеток. В связи с этим, изучение взаимодействия с биотиолами представляет особый интерес для более глубокого понимания процессов, определяющих воздействие наночастиц на клетки, а люминесцентные свойства полиэлектролит-стабилизированных наночастиц являются предпосылкой мониторинга взаимодействия.

Восстанавливающая и высокая комплексообразующая способность тиолов должна приводить к связыванию и/или восстановлению ионов Au(I), что способствует разрушению комплексов [(AuCl)<sub>2</sub>L] в составе наночастиц. Действительно, добавление GSH, Cys и Hcy к коллоидному раствору приводит к концентрационно-зависимому тушению люминесценции (Рисунок 39).



Рисунок 39 – Зависимости I/I<sub>0</sub> ПЭИ–(AuCl)<sub>2</sub>L коллоидов от концентрации GSH (1), Cys (2) и Hcy (3). Данные без поддержания pH (а) и при поддержании pH на уровне 5.6 (б) и 6.8 (в).  $C_{(AuCl)2L}=4\times10^{-4}$  M,  $\lambda_{BO36}=365$  нм,  $\lambda_{H33}=505$  нм.

Предполагаемый механизм, ответственный за тушение люминесценции, может быть представлен уравнениями 3–5.

$$(AuCl)_2L + 2RSH \longrightarrow (AuSR)_2L + 2H^+ + 2Cl^-$$
(3)

 $(AuSR)_2L + 2RSH \longrightarrow 2Au(SR)_2^- + L + 2H^+$ (4)

$$\operatorname{Au}(\operatorname{SR})_2^{-} - 2e \longrightarrow \operatorname{Au}^0 + \operatorname{RS-SR}$$
(5)

Подкисление растворов (Таблица 6) подтверждает высвобождение протонов, что в свою очередь способствует смещению равновесия в сторону исходных компонентов и понижает интенсивность люминесцентного отклика. В связи с этим, pH растворов наночастиц были доведены до уровня 5.6 и 6.8 с помощью буферных систем для выявления оптимального значения pH.

Таблица 6 – Значения рН ПЭИ–(AuCl)<sub>2</sub>L коллоидов до и после добавления биотиолов.

C 10-4 M	рН			
$C, 10^{-1} M$	GSH	Cys	Hcy	
0	5.6	5.6	5.6	
1	4.2	4.3	4.3	
2	3.8	4.0	4.1	

Действительно, наблюдается более сильный эффект тушения люминесценции под действием тиолов при проведении измерений в буферных растворах при pH=5.6 и 6.8 (Рисунки 396, в). Кроме того, поддержание pH=6.8 обеспечивает наибольшее отклонение в значениях I/I<sub>0</sub> для Cys и GSH, в то время как эффект тушения для Cys и Hcy практически одинаков. Интересно, что для Cys и Hcy практически одинаков.

селективного тушения, возможно, является стерическая загруженность тиольной группы в молекуле GSH.

Важно также отметить, что выявленное незначительное влияние метионина (RS-CH<sub>3</sub>) на интенсивность люминесценции ПЭИ–[(AuCl)<sub>2</sub>L] коллоидов подтверждает участие в наблюдаемых процессах именно SH-группы (Рисунок 40а). В то же время, полиэлектролитная оболочка, играющая, как известно, решающую роль в люминесцентном отклике коллоидов типа «ядро–оболочка» [178, 179], выступает в качестве защитного барьера для катионных тиолов, в частности, тиохолина, полученного гидролизом ацетилтиохолина (Рисунок 40б).



**Рисунок 40** – Зависимость I/I<sub>0</sub> ПЭИ–[(AuCl)<sub>2</sub>L] коллоидов от концентрации метионина (а) и тиохолина (б), где I<sub>0</sub> – интенсивность люминесценции в отсутствии субстратов.  $C_{(AuCl)2L}=4\times10^{-4}$  M,  $\lambda_{B036}=365$  нм,  $\lambda_{изл}=505$  нм.

В последние десятилетия все больший интерес вызывает изучение взаимодействия между наноразмерными структурами и молекулами белков, что поспособствовало перспективного инструмента развитию расширения биомедицинского применения наночастиц [180, 181]. В частности, взаимодействие наночастиц белками позволяет модифицировать с как агрегационное поведение наночастиц, так и их проникновение в клетки, а, следовательно, и цитотоксичность [182, 183]. При этом также необходимо учитывать образование так называемой «белковой короны» в физиологических жидкостях и ее влияние на функциональные свойства и, что не менее важно, биологическую активность наноструктур. В связи с этим дальнейшая работа [184] была направлена на выявление взаимодействий наночастицы-белок и их влияния на цитотоксичность полученных полиэлектролит-стабилизированных наноструктур на основе комплекса Au(I).

В качестве модельных были выбраны белковые молекулы, обладающие разными значениями pI (pH в изоэлектрических точках), что позволит установить роль электростатических сил в их взаимодействии с ПЭИ-[(AuCl)<sub>2</sub>L] (Таблица 7). Наряду с пепсином И лизоцимом, обладающими отрицательным И положительным суммарным зарядом поверхности, соответственно, были выбраны бычий сывороточнымй альбумин (БСА), обычно применяющийся в качестве простейшей модели плазмы крови, тиоредоксин и желтый флуоресцентный белок (ЖФБ), у которых присутствуют как положительно, так и отрицательно заряженные зоны поверхности (Рисунок П1) [185]. Кроме того, выбор тиоредоксина в восстановленной форме направлен на выявление возможности связывания экспонированных на поверхности белка цистеиновых остатков (Cys32 и Cys35) с ионами Au<sup>+</sup> в ядрах коллоидов. В свою очередь, ЖФБ, содержащий хромофорный *пара*-гидрокси-бензилиденимидазолидоновый фрагмент, позволит оценить связывание с наночастицами посредством мониторинга его флуоресценции.

Белок	pI	Заряд поверхности
Пепсин (35 кДа)	3.29	-35e
Тиоредоксин (11.7 кДа)	4.42	-5e
БСА (66 кДа)	4.7	-18e
Лизоцим (14.3 кДа)	10.33	8e
ЖФБ (26.8 кДа)	5.63	-4e

Таблица 7 – Значения pI белков и их суммарные заряды поверхности при pH=7.

Хорошо известным способом для осуществления мониторинга взаимодействий между заряженными наночастицами и белками является измерение электрокинетического потенциала и размеров частиц. Так, полученные результаты указывают на перезарядку ПЭИ–(AuCl)<sub>2</sub>L наночастиц при добавлении пепсина и БСА (Таблица 8), что позволяет предположить их встраивание в ПЭИ-оболочку. Напротив, из данных ДРС для ЖФБ, тиоредоксина и лизоцима нельзя

Таблица 8 – Средние ги	идродинамические диаметры (dc	, нм), ПДИ и ζ-потенциалы (ζ,
мВ) коллоидов ПЭИ–[(AuCl) <sub>2</sub> L]	без и в присутствии белковых м	олекул. С <sub>(AuCl)2L</sub> =8×10 <sup>-6</sup> М.

	<i>d</i> <sub>ср</sub> , нм	пди	ζ, мВ
ПЭИ–(AuCl) <sub>2</sub> L	250-290	0.677	+55
ПЭИ–(AuCl) <sub>2</sub> L + $3.2 \times 10^{-7}$ М пепсин	190–396	1	-39
ПЭИ–(AuCl) <sub>2</sub> L + $3.2 \times 10^{-7}$ М БСА	215-250	0.838	-15
ПЭИ–(AuCl) <sub>2</sub> L + 1.6×10 <sup>-7</sup> М ЖФБ	120-220	0.943	+30
$\Pi$ ЭИ–(AuCl) <sub>2</sub> L + $3.2 \times 10^{-7}$ М тиоредоксин	160-400	0.963	+54
ПЭИ–(AuCl) <sub>2</sub> L + 3.2×10 <sup>-7</sup> М лизоцим	190–340	0.970	+46; +61

Люминесцентные свойства желтого флуоресцентного белка являются предпосылкой его использования в качестве зонда для выявления взаимодействий с ПЭИ-[(AuCl)<sub>2</sub>L] наночастицами. Так, сравнение полученных зависимостей интенсивности люминесценции белка ЖФБ (при λ<sub>max</sub>=528 нм) от его концентрации (I<sub>528нм</sub>-С<sub>ЖФБ</sub>) в водных растворах (Рисунок 41а, линия 1) и растворах с ПЭИ (Рисунок 41а, линия 2) указывают на отсутствие влияния молекул полиэлектролита на спектры излучения. Однако значительная сенсибилизация люминесценции белка наблюдается в присутствии ПЭИ-[(AuCl)<sub>2</sub>L] (Рисунок 41а, линия 3), что весьма необычно, поскольку, согласно литературным данным, хромофорная группа, ответственная за флуоресценцию, находится в центре молекулы и полностью экранирована [186]. Это свидетельствует о достаточно глубоком включении белковых молекул в ПЭИоболочку коллоидов. Более того, с увеличением интенсивности эмиссии белка наблюдается тушение люминесценции самих коллоидов (Рисунок 41б), что позволяет предположить реализацию переноса энергии от молекул комплекса к молекулам белка, который, как известно, может быть осуществлен в том случае, если расстояние между донором и акцептором составляет не более нескольких нанометров, т.е. при образовании «жесткой белковой короны».



Рисунок 41 – а – Зависимости I<sub>528нм</sub>–С<sub>ЖФБ</sub> для растворов белка (1) и белка в присутствии ПЭИ (2) или ПЭИ–[(AuCl)<sub>2</sub>L] (3). б – Тушение люминесценции ПЭИ–[(AuCl)<sub>2</sub>L] наночастиц при добавлении ЖФБ. в – Спектры эмиссии ПЭИ–[(AuCl)<sub>2</sub>L] наночастиц (1), редиспергированных наночастиц ПЭИ–[(AuCl)<sub>2</sub>L]+ЖФБ (2) и надосадочной жидкости (3) после фазового разделения. С<sub>(AuCl)2L</sub>=4×10<sup>-5</sup> M,  $\lambda_{воз6}$ =365 нм.

Интересно отметить, что эмиссия комплекса (AuCl)<sub>2</sub>L, чувствительная к изменениям внутри-И внешнесферном окружении Аи-центров [95]. BO практически не изменяется при добавлении тиоредоксина к наночастицам (Рисунок 42а). Такое поведение можно объяснить тем, что SH-группы остатков цистеина (Cys32 и Cys35) экспонированы в зоне нулевого заряда поверхности белка (Рисунок П1), что исключает возможность непосредственного контакта с ядрами коллоидов и связывания с ионами Au<sup>+</sup> подобно тому, как это было ранее биотиолов описано низкомолекулярных [177]. Также установлена для стабильность функциональных свойств наночастиц в присутствии БСА (Рисунок 426), что является важной предпосылкой для потенциального био-применения исследуемых коллоидных систем.



Рисунок 42 – Спектры люминесценции ПЭИ–(AuCl)<sub>2</sub>L коллоидов при добавлении тиоредоксина (а), БСА (б), пепсина (в) и лизоцима (г). С<sub>(AuCl)2L</sub>=4×10<sup>-5</sup> M, λ<sub>возб</sub>=365 нм.

71

В то же время, в присутствии лизоцима и пепсина можно наблюдать две противоположные тенденции. Модификация положительно заряженной оболочки отрицательно заряженным пепсином сопровождается некоторым увеличением интенсивности люминесценции (Рисунок 42в), что свидетельствует о повышении экранирующей способности оболочки. Напротив, добавление лизоцима приводит к незначительному снижению интенсивности люминесценции (Рисунок 42г). Положительный поверхностный заряд лизоцима, который исключает возможность его включения в ПЭИ-облочку, наряду с данными спектроскопии кругового дихроизма (КД) (Рисунок П2) указывает на формирование «жесткой белковой короны». Движущей силой в данном случае предположительно является конкурентное связывание экспонированных аммонийных групп лизоцима с поверхностными комплексами в составе ядер наночастиц, как это было описано для молекул ПЭИ (Схема 2). Схематичное изображение реализации двух моделей взаимодействия представлено на Схеме 3.



Схема 3 – Схематическое изображение взаимодействия ПЭИ–[(AuCl)<sub>2</sub>L] коллоидов с отрицательно (пепсин) и положительно (лизоцим) заряженными белками.

Изменения экранирующей способности полиэлектролитной оболочки ПЭИ– [(AuCl)<sub>2</sub>L] наночастиц при взаимодействии с пепсином и лизоцимом могут оказывать влияние на цитотоксичность коллоидов. В связи с этим была исследована жизнеспособность клеточной линии Wi-38 после инкубации как с исходными ПЭИ–[(AuCl)<sub>2</sub>L], так и с наночастицами с белковой короной (Таблица 9). Результаты выявили концентрационно-зависимую цитотоксичность ПЭИ– [(AuCl)<sub>2</sub>L] наночастиц. Более того, их цитотоксическое воздействие заметно возрастает в присутствии лизоцима (Таблица 9). Это можно объяснить большей
внутриклеточной деградацией комплексов в составе ПЭИ–[(AuCl)<sub>2</sub>L]+лизоцим по сравнению с ПЭИ–[(AuCl)<sub>2</sub>L] вследствие специфического взаимодействия белка с наночастицами. При этом ожидаемое отсутствие какого-либо влияния пепсина, формирующего *«мягкую белковую корону»*, объясняется возможностью его легкой замены молекулами БСА, присутствующих в питательной среде клеток [187].

**Таблица 9** – Значения IC<sub>50</sub>, рассчитанные для клеточной линии Wi-38, инкубированной наночастицами ПЭИ–[(AuCl)<sub>2</sub>L], ПЭИ–[(AuCl)<sub>2</sub>L]+лизоцим и ПЭИ–[(AuCl)<sub>2</sub>L]+пепсин.

Образец	IC50, ×10 <sup>-6</sup> M
ПЭИ–[(AuCl) <sub>2</sub> L]	18.1±0.2
ПЭИ–[(AuCl) <sub>2</sub> L]+1.6×10 <sup>-6</sup> М пепсин	15.0±0.1
ПЭИ–[(AuCl) <sub>2</sub> L]+1.6×10 <sup>-6</sup> М лизоцим	9.2±0.3

Методом проточной цитометрии была установлена эффективная интернализация ПЭИ–[(AuCl)<sub>2</sub>L] коллоидов в клетки линии Wi-38 (Рисунок 43).



Рисунок 43 – Исследование клеточного поглощения ПЭИ–[(AuCl)<sub>2</sub>L] коллоидов, где 1– контроль, 2 и 3 – клетки Wi-38, обработанные 2.5×10<sup>-6</sup> М и 5×10<sup>-6</sup> М ПЭИ–[(AuCl)<sub>2</sub>L] коллоидами, соответственно.

Флуоресцентные микрофотографии образцов клеток Wi-38 были получены после их инкубирования ПЭИ–[(AuCl)<sub>2</sub>L]+лизоцим наночастицами при концентрациях как выше (1×10<sup>-5</sup> M), так и ниже значений IC<sub>50</sub> (Рисунок 44). Во всех случаях происходит окрашивание как цитоплазмы, так и ядер в зеленый цвет. Кроме того, при использовании повышенных концентраций наночастиц

наблюдаются структурные изменения клеток, свидетельствующих о протекании процессов, ведущих к их гибели.



Рисунок 44 – Полученные методом флуоресцентной микроскопии фотографии клеток линии Wi-38, инкубированных наночастицами ПЭИ–[(AuCl)<sub>2</sub>L]+лизоцим при различных концентрациях.

#### 3.2. Гетерометаллические наноструктуры на основе катионного комплекса

# Au(I) с диазадифосфациклооктановым лигандом ([Au<sub>2</sub>L<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>) и гексамолибденовыми кластерами [{Mo<sub>6</sub>I<sub>8</sub>}(L')<sub>6</sub>]<sup>2-</sup> (L'= I<sup>-</sup> или CH<sub>3</sub>COO<sup>-</sup>)

Как было способов описано литературном обзоре, одним В ИЗ дизайна Au(I),обладающих рационального комплексов направленным митохондриальным воздействием и, следовательно, способных индуцировать гибель раковых клеток по апоптотическому пути, является синтез катионных комплексных структур, которые благодаря векторизации доставки проявляют

повышенную цитотоксическую активность в сравнении с нейтральными аналогами. Однако подавляющее большинство комплексов Au(I) в молекулярном виде в водной среде практически не люминесцируют, что не позволяет отслеживать их внутриклеточное распределение. Включение катионных комплексов в наноразмерные супрамолекулярные системы позволяет решить данную проблему. В связи с этим, в рамках нашей работы [188] на основе катионного комплекса Au(I) с 1,5-бис(пара-толил)-3,7-бис(пиридин-2-ил)-1,5диаза-3,7-дифосфациклооктановым лигандом ([Au<sub>2</sub>L<sub>2</sub>]Cl<sub>2</sub>), являющегося аналогом описанного в предыдущей главе (AuCl)<sub>2</sub>L комплекса, и люминесцентных гексамолибденовых кластеров состава [{Mo<sub>6</sub>I<sub>8</sub>}(L')<sub>6</sub>]<sup>2-</sup> (где L'=Г<sup>-</sup> или CH<sub>3</sub>COO<sup>-</sup>) (Рисунок 45) впервые были получены супрамолекулярные наноструктуры Au<sub>2</sub>-Мо<sub>6</sub>, создание которых позволит обеспечить сочетание терапевтических и клеточных контрастных свойств.



Рисунок 45 — Схематическое изображение структур  $[{Mo_6I_8}(L')_6]^{2-}$  кластеров и комплекса  $[Au_2L_2]^{2+}$ .

#### 3.2.1. Синтез и характеризация гетерометаллических Аи2-Мо6 наночастиц

Движущей силой образования гетерометаллических наноструктур, которые для удобства здесь и далее будут обозначаться как Au<sub>2</sub>–Mo<sub>6</sub>(I) и Au<sub>2</sub>– Mo<sub>6</sub>(CH<sub>3</sub>COO), является электростатическое притяжение между кластерным анионом и катионным комплексом золота. Высокая термодинамическая и кинетическая устойчивость данных ионных блоков [170], в свою очередь обусловленная особенностями структуры, является предпосылкой их взаимодействия без разрушения и появления новых координационных связей. Связывание ионных структур в нейтральные супрамолекулярные системы приводит к понижению их растворимости. В свою очередь, оптимизацией концентрационных условий можно получить коллоидные системы. Таким образом, простым прикапыванием раствора комплекса Au(I) к водным растворам  $[{Mo_6I_8}(L')_6]^{2-},$ кластеров где L'=Iгексамолибденовых И CH<sub>3</sub>COO<sup>-</sup>. соответственно, были получены коллоидные системы (Рисунок ПЗ). Однако, несмотря на связывание заряженных блоков в соотношениях близких к 1:1, что подтверждается данными атомно-эмиссионной спектроскопии (Таблица П1), электрокинетический потенциал наночастиц может быть отличен от нуля вследствие преимущественной локализации одного из заряженных строительных фрагментов на границе раздела или связывания противоионов. Так, анализ полученных наноструктур методом ДРС показывает, что Au<sub>2</sub>-Mo<sub>6</sub>(I) имеют средние размеры в пределах 30–40 нм и положительные значения ζ-потенциала, в то время как более крупные Au<sub>2</sub>-Mo<sub>6</sub>(CH<sub>3</sub>COO) характеризуются ζ-потенциалом близким к нулю (Таблица 10).

**Таблица 10** – Средние гидродинамические диаметры (*d*<sub>cp</sub>, нм), ПДИ и ζ–потенциалы (ζ, мВ) систем Au<sub>2</sub>–Mo<sub>6</sub> в воде и буферных растворах. С<sub>буфер</sub>=1×10<sup>-2</sup> М. ПЛ – поли-DL-лизин.

	<i>d</i> ср, нм	пди	ζ, мВ
Au <sub>2</sub> -Mo <sub>6</sub> (I)	28–38	0.44	+20
ПЛ-Аи2-Мо <sub>6</sub> (I)	28–50	0.33	+51
ПЛ-Au <sub>2</sub> -Mo <sub>6</sub> (I)*	164–190	0.28	+24
ПЛ-Аи2-Мо6(I)**	458–530	0.37	+15
Au <sub>2</sub> -Mo <sub>6</sub> (CH <sub>3</sub> COO)	220-340	0.80	-1
ПЛ-Аи2-Мо6(СН3СОО)	91–190	0.43	+49
ПЛ-Au2-Mo6(CH3COO)*	250–712	0.39	+24
ПЛ-Аи2-Мо6(СН3СОО)**	250-340	0.46	+16

\* ацетатный буфер (pH=4.5) \*\* фосфатный буфер (pH=7.5)

Сравнительный анализ ИК-спектров порошков исходных компонентов  $((Bu_4N)_2[\{Mo_6I_8\}(CH_3COO)_6], K_2(CH_3CN)_2(диглим)_2[\{Mo_6I_8\}I_6]$  и  $[Au_2L_2]Cl_2)$  и

соответствующих супрамолекулярных Au<sub>2</sub>-Mo<sub>6</sub> наноструктур, свидетельствует не только об исчезновении полос, соответствующих диглиму (1078, 1115 и 1470 см<sup>-1</sup>) и тетрабутиламмонию (1489 см<sup>-1</sup> и др.), но и появлении полос, характерных для [Au<sub>2</sub>L<sub>2</sub>]Cl<sub>2</sub> (1042, 1193, 1423, 1514, 1572 и 1612 см<sup>-1</sup>) в спектрах наночастиц (Рисунок 46). Более того, сохранение положения и интенсивностей полос комплекса Au(I) и координированных по атому Mo CH<sub>3</sub>COO<sup>-</sup> групп (643, 1012, 1600 см<sup>-1</sup>) позволяет подтвердить сохранность структур 1310. 1370 И  $[{Mo_6I_8}(CH_3COO)_6]^{2-}$  и  $[Au_2L_2]^{2+}$  при образовании супрамолекулярных систем и указывает на электростатическое взаимодействие как движущую силу образования наноструктур.



**Рисунок 46** – ИК-спектры [{Mo<sub>6</sub>I<sub>8</sub>}(CH<sub>3</sub>COO)<sub>6</sub>]<sup>2–</sup> (a, 1) и [{Mo<sub>6</sub>I<sub>8</sub>}I<sub>6</sub>]<sup>2–</sup> (б, 1) кластеров, комплекса [Au<sub>2</sub>L<sub>2</sub>]Cl<sub>2</sub> (a, б, 2) и соответствующих высушенных Au<sub>2</sub>–Mo<sub>6</sub> наночастиц (a, б, 3).

Следует отметить, что большие размеры как катионного, так и анионных структурных блоков, казалось бы, должны препятствовать их эффективному электростатическому взаимодействию. Однако ограниченная растворимость кластерных комплексов в воде наряду с относительной гидрофобностью комплекса, в виду стерической загруженности Au(I)-центров ароматическими и гетероароматическими фрагментами, являются дополнительными движущими силами самосборки, компенсирующими отрицательный вклад размерного фактора.

Результаты, полученные методом порошковой дифрактомерии (Рисунок 47а), не только выявили аморфную природу Au<sub>2</sub>–Mo<sub>6</sub>(I) наночастиц и высокую

кристалличность Au<sub>2</sub>–Mo<sub>6</sub>(CH<sub>3</sub>COO) наноагрегатов, но и позволили установить отсутствие индивидуальных исходных компонентов в составе наночастиц (Рисунок П4).



Рисунок 47 – а – Экспериментальные рентгенограммы порошков Au<sub>2</sub>–Mo<sub>6</sub>(I) (1) и Au<sub>2</sub>– Mo<sub>6</sub>(CH<sub>3</sub>COO) (2). б – Структура Au<sub>2</sub>–Mo<sub>6</sub>(CH<sub>3</sub>COO), рассчитанная по полученным данным.

Более того, количественный анализ первых девяти дифракционных пиков выявил, что размеры  $Au_2$ — $Mo_6(CH_3COO)$  кристаллитов находятся в диапазоне 60— 87 нм (Рисунок П5, Таблица П2). Размер кристаллитов достаточен для оценки структуры  $Au_2$ — $Mo_6(CH_3COO)$  в рамках триклинной элементарной ячейки и пространственной группы Р1 с одной независимой парой [ $\{Mo_6I_8\}(CH_3COO)_6\}^{2-}$  и [ $Au_2L_2$ ]<sup>2+</sup> в элементарной ячейке (Рисунок 47б). Координаты атомов и параметры изотропного смещения для  $Au_2$ — $Mo_6(CH_3COO)$  представлены в Таблице П3.

В то же время порошковая дифрактограмма, полученная для Au<sub>2</sub>-Mo<sub>6</sub>(I), свидетельствует о том, что размеры их кристаллитов сравнимы с параметрами элементарных ячеек и не превышают нескольких нанометров. Стоит также отметить несколько уширенных пиков на порошковой дифрактограмме Au<sub>2</sub>-Мо<sub>6</sub>(I) при 20=10° и 30°, близких к значениям пиков дифракции для Au<sub>2</sub>- $Mo_6(CH_3COO)$ (Рисунок 47a), что может указывать на сходство В пространственной организации обеих наноструктур. По всей видимости, локализация двух ацетатных групп кластера  $[{Mo_6I_8}(CH_3COO)_6]^{2-}$  между пиридиновыми фрагментами [Au<sub>2</sub>L<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> обеспечивает необходимую степень

упорядоченности, в то время как компактный и квази-сферический кластер [{Mo<sub>6</sub>I<sub>8</sub>}I<sub>6</sub>]<sup>2-</sup> в виду свободного вращения внутри элементарных ячеек препятствует реализации дальнего порядка.

Образование наночастиц сопровождается значительным повышением как интенсивности люминесценции (Рисунок 48), так и времени жизни ( $\tau$ ) возбужденных состояний обоих кластеров (Таблица 11), что объясняется снижением доступности кластерных блоков при включении в супрамолекулярные структуры для растворенного в воде кислорода, хорошо известного активного тушителя люминесценции кластерных блоков [189]. Такое поведение уже описано в литературе для [{Mo<sub>6</sub>I<sub>8</sub>}I<sub>6</sub>]<sup>2–</sup> кластера при его включении в мицеллы и агрегаты триблок-сополимеров [163, 170].



Рисунок 48 – Спектры люминесценции кластеров  $[{Mo_6I_8}(CH_3COO)_6]^{2-}$  (a) и  $[{Mo_6I_8}I_6]^{2-}$  (б) при различных концентрациях добавленного комплекса  $[Au_2L_2]Cl_2$ .  $C_{\text{кластер}}=2\times10^{-5}$  М,  $\lambda_{\text{воз6}}=400$  нм.

**Таблица 11** – Значения времен жизни возбужденного состояния кластеров  $[{Mo_6I_8}(CH_3COO)_6]^{2-}$  и  $[{Mo_6I_8}I_6]^{2-}$  в растворе и в составе гетерометаллических  $Au_2$ – $Mo_6$  наночастиц, а также соответствующие коэффициенты детерминации.  $C_{\kappa nacrep}=2\times 10^{-5}$  М.

	τ, ×10 <sup>-6</sup> c	<b>R</b> <sup>2</sup>
$[{Mo_6I_8}(CH_3COO)_6]^{2-}$	$10.08 \pm 0.80$	0.9955
Au <sub>2</sub> -Mo <sub>6</sub> (CH <sub>3</sub> COO)	66.72±6.67	0.9952
$[{Mo_6I_8}I_6]^{2-}$	5.81±0.55	0.9946
Au <sub>2</sub> -Mo <sub>6</sub> (I)	28.58±1.07	0.9974

Следует отметить, что люминесценция [{Mo<sub>6</sub>I<sub>8</sub>}I<sub>6</sub>]<sup>2-</sup> кластерных единиц непрерывно возрастает с постепенным выходом на предельный уровень при их

включении в наноструктуры  $Au_2-Mo_6(I)$  (Рисунок 486). В то же время, на изменение интенсивности люминесценции кластера [ $\{Mo_6I_8\}(CH_3COO)_6\}^{2-}$  при формировании наночастиц  $Au_2-Mo_6(CH_3COO)$  оказывает влияние их агрегационное поведение, в свою очередь обусловленное почти нулевым значением  $\zeta$ -потенциала (Таблица 10). В частности, увеличение размеров агрегатов  $Au_2-Mo_6(CH_3COO)$  в определенных концентрационных условиях сопровождается тушением люминесценции (Рисунок 48а).

### 3.2.2. Фотодинамическая активность супрамолекулярных Au<sub>2</sub>–Mo<sub>6</sub> наноструктур

Снижение доступности кластерных блоков при образовании наносистем, очевидно, должно оказывать влияние на их способность к генерации АФК [189]. Однако прежде чем перейти к анализу полученных данных, необходимо отметить, что фотодинамическая активность кластера [{ $Mo_6I_8$ }(CH<sub>3</sub>COO)<sub>6</sub>]<sup>2–</sup> значительно выше в сравнении с [{ $Mo_6I_8$ }I<sub>6</sub>]<sup>2–</sup>, что объясняется существенным влиянием природы апикальных лигандов на граничные уровни энергии, а также на времена жизни возбужденных состояний [169].

Сравнительный анализ количества генерируемых радикалов в зависимости от времени облучения растворов «*свободных*» кластеров и гетерометаллических наноструктур позволил выявить, что фотодинамическая активность кластера  $[{Mo_6I_8}I_6]^{2-}$  (Рисунки 49а, б) практически не изменяется при его включении в наноразмерные структуры, в то время как для  $[{Mo_6I_8}(CH_3COO)_6]^{2-}$  наблюдается снижение количества АФК (Рисунки 49в, г). Полученные данные коррелируют с большей сенсибилизацией люминесценции  $[{Mo_6I_8}(CH_3COO)_6]^{2-}$  кластера и размерами наночастиц на его основе.



Фотодинамическая  $[{Mo_6I_8}I_6]^{2-}$ Рисунок 49 \_ активность растворов (a) И  $[{Mo_6I_8}(CH_3COO)_6]^{2-}$ соответствующих (B) кластеров, а также гетерометаллических наночастиц (б, г). Скластер=2×10<sup>-5</sup> М,  $\lambda_{облучения}$ =405 нм.

Таким образом, несмотря на влияние агрегационного поведения наноструктур на фотодинамическую активность кластерных блоков оба типа гетерометаллических наносистем потенциально способны вызывать фотоиндуцированную цитотоксичность после их интернализации в клетки.

## 3.2.3. Цитотоксичность, клеточная интернализация и внутриклеточное распределение супрамолекулярных Au<sub>2</sub>–Mo<sub>6</sub> наноструктур

Предваряя обсуждение цитотоксичности  $Au_2-Mo_6$  наноструктур, необходимо сказать о цитотоксической активности исходных компонентов. Так, низкая растворимость гексамолибденовых кластеров в воде, наряду с их повышенной склонностью к гидролизу, а также отрицательным зарядом, обуславливающим низкую степень клеточной интернализации, ограничивают точную оценку их цитотоксичности. В свою очередь инкубация клеточных линий M-HeLa и Chang Liver комплексом [Au<sub>2</sub>L<sub>2</sub>]Cl<sub>2</sub>, демонстрирующим повышенную устойчивость как в водных растворах [92], так и в присутствии биотиолов (Рисунок Пб), приводит к значительному снижению их жизнеспособности и, как следствие, к очень низким значениям IC<sub>50</sub> (Таблица 12). Кроме того, результаты, полученные методом проточной цитометрии, позволяют исключить апоптоз в качестве основного пути гибели клеток при их инкубации комплексом Au(I) (Рисунок 50а).

	IC50, ×10 <sup>-6</sup> M	
	M-HeLa	Chang Liver
[Au <sub>2</sub> L <sub>2</sub> ]Cl <sub>2</sub>	1.9±0.1	3.1±0.2
Au <sub>2</sub> -Mo <sub>6</sub> (I)	7.5±0.5	8.3±0.3
ПЛ-Аи2-Мо <sub>6</sub> (I)	>10	>10
Au <sub>2</sub> -Mo <sub>6</sub> (CH <sub>3</sub> COO)	>10	7.2±0.4
ПЛ-Аи2-Мо6(СН3СОО)	6.6±0.3	>10

**Таблица 12** – Значения IC<sub>50</sub>, рассчитанные для клеточных линий M-HeLa и Chang Liver после инкубации комплексом [Au<sub>2</sub>L<sub>2</sub>]Cl<sub>2</sub> и гетерометаллическими коллоидами.



Рисунок 50 – Данные проточной цитометрии клеток M-HeLa, инкубированных различными концентрациями комплекса [Au<sub>2</sub>L<sub>2</sub>]Cl<sub>2</sub> (а) и гетерометаллических наночастиц ПЛ– Au<sub>2</sub>–Mo<sub>6</sub>(I) (б, 1) и ПЛ–Au<sub>2</sub>–Mo<sub>6</sub>(CH<sub>3</sub>COO) (б, 2) после окрашивания Аннексином V и PI. L – живые клетки; D – мертвые клетки; E.a. – ранние апоптотические клетки; L.a. – клетки позднего апоптоза.

 $[Au_2L_2]^{2+}$ Включение комплекса В состав  $Au_2-Mo_6$ наноструктур способствует значительному снижению его цитотоксичности (Таблица 12), что связано с изменением пути гибели клеток (Рисунок 50б). В свою очередь данные проточной цитометрии (Рисунок 51) указывают на эффективное клеточное проникновение При  $Au_2-Mo_6(CH_3COO)$ наночастиц. этом агрегаты демонстрируют большую степень интернализации, чем Au<sub>2</sub>-Mo<sub>6</sub>(I).



**Рисунок 51** – Изучение клеточной интернализации наночастиц: 1 – контроль, 2 – Au<sub>2</sub>– Mo<sub>6</sub>(I), 3 – ПЛ–Au<sub>2</sub>–Mo<sub>6</sub>(I), 4 – Au<sub>2</sub>–Mo<sub>6</sub>(CH<sub>3</sub>COO), 5 – ПЛ–Au<sub>2</sub>–Mo<sub>6</sub>(CH<sub>3</sub>COO). С<sub>кластер</sub>=5×10<sup>-6</sup> M.

С целью повышения клеточной интернализации, а также коллоидной устойчивости наночастиц их поверхность была модифицирована положительно заряженным при нейтральных pH поли-DL-лизином (ПЛ), широко используемым для векторной доставки лекарств. При этом результаты люминесцентного анализа центрифугированием наночастиц, разделенных а также соответствующих супернатантов указывают на полное фазовое разделение ПЛ-Au<sub>2</sub>-Mo<sub>6</sub>(CH<sub>3</sub>COO) наночастиц, тогда как для ПЛ-Аи<sub>2</sub>-Мо<sub>6</sub>(I) потери составляют около 15% (Рисунок П7). Согласно данным ДРС, наблюдается как перезарядка поверхности Au<sub>2</sub>-Мо<sub>6</sub>(СН<sub>3</sub>СОО) наноструктур, так и снижение полидисперсности системы (Таблица 10), что в свою очередь способствует трехкратному повышению интернализации (Рисунок 51). При клеточной ЭТОМ ΠЛ не оказывает значительного эффекта в случае Au<sub>2</sub>-Mo<sub>6</sub>(I).

Фотографии, полученные на конфокальном микроскопе, выявили существенные различия во внутриклеточном распределении наночастиц (Рисунок

52а). В частности, наносистемы ПЛ–Au<sub>2</sub>–Mo<sub>6</sub>(I) проявляют преимущественную локализацию в ядрах клеточных линий, в то время как для ПЛ–Au<sub>2</sub>–Mo<sub>6</sub>(CH<sub>3</sub>COO) наблюдаются огромные кристаллические агрегаты внутри и вне клеточного пространства с незначительной ядерной локализацией, что согласуется с поведением наночастиц в смоделированных буферных растворах (Таблица 10). При этом форма и размеры образуемых агрегатов схожи с частицами, фотографии которых получены методом просвечивающей микроскопии (Рисунок 52б).



Рисунок 52 – а – Изображения, полученные методом конфокальной микроскопии клеток М-HeLa, инкубированных гетерометаллическими наночастицами и красителем ДАФИ. С<sub>кластер</sub>=5×10<sup>-6</sup> М,  $\lambda_{возб}$ =405 нм. б – ПЭМ-изображения высушенных образцов ПЛ–Au<sub>2</sub>–Mo<sub>6</sub>(I) (1) и ПЛ–Au<sub>2</sub>–Mo<sub>6</sub>(CH<sub>3</sub>COO) (2, 3).

Причиной специфического внутриклеточного распределения является различие в механизмах эндоцитоза. Так, размеры ПЛ–Au<sub>2</sub>–Mo<sub>6</sub>(I) наночастиц соответствует размерным требованиям (≈60 нм) кавеолин-зависимого эндоцитоза, результатом которого обычно является высвобождение наночастиц из эндосом с

возможностью дальнейшей локализации в ядрах клеток, что и наблюдается в случае данных наносистем. Для ПЛ–Au<sub>2</sub>–Mo<sub>6</sub>(CH<sub>3</sub>COO) наноагрегатов же более предпочтительны клатрин-зависимый ( $\approx$ 100–200 нм) и рецептор-независимый ( $\approx$ 100 нм) типы эндоцитоза, при которых реализуется переход эндосом в лизосомы. В связи с этим, был проведен эксперимент по количественному анализу колокализации наночастиц в лизосомах с расчетом коэффициентов корреляции Пирсона (РСС) (Рисунок 53).



Рисунок 53 – Анализ колокализации ПЛ–Au<sub>2</sub>–Mo<sub>6</sub>(CH<sub>3</sub>COO) наночастиц и красителя LysoTracker Blue DND 22 после 3 и 24 часов инкубации клеток M-HeLa.  $C_{\kappa nacrep}=5\times10^{-6}$  M,  $C_{Blue}$  <sub>DND 22</sub>=1×10<sup>-6</sup> M.  $\lambda_{B036}$ (наночастиц)=400 нм,  $\lambda_{B036}$ (Blue DND 22)=373 нм.

Коэффициенты Пирсона, оцененные для образцов клеток, инкубированных с ПЛ–Au<sub>2</sub>–Mo<sub>6</sub>(CH<sub>3</sub>COO) в течение 3 и 24 часов, составляют 0.04±0.01 и 0.22±0.04, соответственно. Полученные значения значительно ниже 0.5, что указывает на низкий уровень колокализации наночастиц и их быстрое эндолизосомальное высвобождение, что объясняет их концентрирование с последующей кристаллизацией в цитоплазме (Рисунок 52а).

Важно отметить, что помимо фактора внутриклеточного распределения наночастиц на значения IC<sub>50</sub> может влиять и цитотоксичность самого ПЛ. Однако значения IC<sub>50</sub> для поли-DL-лизина находятся в пределах  $1.6 \times 10^{-2}$ — $1.9 \times 10^{-2}$  г/л, что выше концентрации ПЛ в ПЛ–Au<sub>2</sub>–Mo<sub>6</sub> ( $9 \times 10^{-3}$ — $1 \times 10^{-2}$  г/л), установленной по методу Брэдфорда (Таблица П4) [164]. При этом значения IC<sub>50</sub>, оцененные для

обоих наносистем (так называемая «*темновая*» цитотоксичность), довольно схожи и их отклонение для раковых и нормальных клеток не является существенным (Таблица 12). Кроме того, согласно результатам проточной цитометрии (Рисунок 50б), преобладающей причиной гибели раковых клеток после инкубации ПЛ–Au<sub>2</sub>–Mo<sub>6</sub> является апоптоз, что существенно отличает цитотоксический эффект наночастиц от такового для «*свободного*» комплекса [Au<sub>2</sub>L<sub>2</sub>]Cl<sub>2</sub> и свидетельствует о достаточно низком выходе последнего из состава наноструктур.

Для выявления фотодинамического эффекта ПЛ– $Au_2$ – $Mo_6$  наночастиц по отношению к раковым клеткам была измерена жизнеспособность клеток M-HeLa, инкубированных наночастицами при концентрациях ниже IC<sub>50</sub>, после их облучения. Время облучения (15 минут) было выбрано для минимизации его влияния на неинкубированные клетки. Это позволило соотнести снижение жизнеспособности клеток с проявляемой ПЛ– $Au_2$ – $Mo_6$  наночастицами фотоиндуцированной цитотоксичностью, которая находится на одном уровне для обеих наносистем (Таблица 13), что коррелирует с их способностью генерировать  $A\Phi K$  (Рисунки 496, г). Наблюдаемое снижение жизнедеятельности клеток до 10% после 15-минутного облучения является примером очень эффективной генерации  $A\Phi K$  наноструктурами на основе гексамолибденовых кластеров, имеющим сравнительно мало аналогов в литературе [190, 162].

**Таблица 13** – Жизнеспособность клеток M-HeLa после их инкубации с ПЛ–Au<sub>2</sub>–Mo<sub>6</sub> без и при облучении в течение 15 минут.  $\lambda_{облучения}$ =405 нм.

	C ×10-6 M	Жизнеспособ	ность клеток, %
	C, ×10 ° M	Без облучения	Облучение в течение 15 минут
Контроль	—	95.4	88.2
ПЛ-Аи2-Мо <sub>6</sub> (I)	5	81.6	9.5
ПЛ-Аи2-Мо6(СН3СОО)	5	74.8	10.9

### 3.3. Гетерометаллические наноструктуры на основе катионного комплекса Au(I) с диазадифосфациклооктановым лигандом ([Au<sub>2</sub>L<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>) и гексарениевыми кластерами [{Re<sub>6</sub>Q<sub>8</sub>}(OH)<sub>6</sub>]<sup>4-</sup> (Q=S<sup>2-</sup> или Se<sup>2-</sup>)

В предыдущем разделе было показано, что образование стабильных супрамолекулярных наночастиц на основе катионного комплекса  $[Au_2L_2]^{2+}$  благодаря внедрению фотодинамически активных гексамолибденовых кластеров открывает возможности не только их внутриклеточного мониторинга, но и модификации цитотоксического эффекта. Другой перспективной стратегией, также позволяющей модифицировать цитотоксический эффект наночастиц, может стать управляемое высвобождение комплексов Au(I). Одним из хорошо известных в литературе факторов, способствующих выходу цитотоксичных компонентов из супрамолекулярных наносистем, является изменение pH. В связи с этим, в рамках следующей работы [191] нами были впервые получены гетерометаллические наноструктуры на основе катионного комплекса  $[Au_2L_2]^{2+}$  с pH-чувствительными гексарениевыми кластерами  $[{Re<sub>6</sub>Q<sub>8</sub>}(OH)<sub>6</sub>]^{4-}$  (Q=S<sup>2-</sup> или Se<sup>2-</sup>) (Рисунок 54), способные к растворению в специфических условиях pH, моделирующих слабокислое лизосомальное окружение.



**Рисунок 54** – Схематическое изображение структур  $[{Re_6Q_8}(OH)_6]^{4-}$  кластеров.

#### 3.3.1. Синтез и характеризация супрамолекулярных Au<sub>2</sub>-Re<sub>6</sub> наноструктур

Упомянутая pH-чувствительность гексарениевых  $[{Re_6Q_8}(OH)_6]^{4-}$  (Q=S<sup>2-</sup> или Se<sup>2-</sup>) кластеров обеспечивается способностью апикальных OH<sup>-</sup>/H<sub>2</sub>O лигандов (Равновесие 6) к ступенчатому протонированию/депротонированию, что сопровождается соответствующим изменением заряда кластеров: «–4» и «–2» – в

сильно- и слабощелочных, «0» – в нейтральных, «+2» – в кислых условиях, соответственно [152].

$$[\{\operatorname{Re}_{6}\operatorname{Q}_{8}\}(\operatorname{OH})_{6}]^{4-} + n\operatorname{H}^{+} \leftrightarrow [\{\operatorname{Re}_{6}\operatorname{Q}_{8}\}(\operatorname{H}_{2}\operatorname{O})_{n}(\operatorname{OH})_{6-n}]^{n-4}$$
(6)

Вышеуказанные процессы, наряду с люминесцентными свойствами, влияют и на растворимость кластерных форм в воде. В частности, наименьшая очевидно, наблюдается нейтральной растворимость, для формы [{Re<sub>6</sub>Q<sub>8</sub>}(H<sub>2</sub>O)<sub>4</sub>(OH)<sub>2</sub>]. Кроме того, значительный вклад вносит и природа халькогенида в кластерном ядре  $\{Re_6Q_8\}$ . Так, нейтральный кластер  $[{Re_6Se_8}(H_2O)_4(OH)_2]$  менее растворим по сравнению с  $[{Re_6S_8}(H_2O)_4(OH)_2]$ [152]. В связи с этим, для реализации электростатического взаимодействия кластерными  $[Au_2L_2]^{2+}$ с блоками комплекса с целью получения гетерометаллических наночастиц сульфидный и селенидный кластеры были переведены в анионную форму оптимизацией рН условий. В частности, рН  $[{Re_6S_8}(H_2O)_n(OH)_{6-n}]^{n-4}$  и  $[{Re_6Se_8}(H_2O)_n(OH)_{6-n}]^{n-4}$ растворов исходных кластеров были доведены до 8.8 (буфер TRIS) и 10.1 (боратный буфер), соответственно. Устойчивость комплекса [Au<sub>2</sub>L<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> в данных условиях pH подтверждена данными УФ-спектроскопии (Рисунок П8).

Супрамолекулярные наноструктуры были получены прикапыванием раствора комплекса [Au<sub>2</sub>L<sub>2</sub>]Cl<sub>2</sub> к растворам кластеров при интенсивном перемешивании с последующим ультразвуковым диспергированием. Далее коллоиды отделялись от супернатантов центрифугированием. Люминесцентный анализ разделенных коллоидных растворов, соответствующих супернатантов и растворов «свободных» кластеров (Рисунок П9) показал эффективное связывание блоков. атомно-эмиссионной Установленные методом спектроскопии соотношения элементов Re, Au и P (6:1.6:3.4 для [{Re<sub>6</sub>S<sub>8</sub>}(H<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>(OH)<sub>6-n</sub>]<sup>n-4</sup> и  $[{Re<sub>6</sub>Se<sub>8</sub>}(H<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>(OH)<sub>6-n</sub>]<sup>n-4</sup>)$  свидетельствуют 6:2.3:4.0 для 0 связывании заряженных блоков в соотношении близком к 1:1. В связи с этим, здесь и далее наноструктуры для удобства будут обозначаться как Au<sub>2</sub>-Re<sub>6</sub>(S) и Au<sub>2</sub>-Re<sub>6</sub>(Se).

Сравнительный анализ данных ИК-спектроскопии высушенных коллоидов  $Au_2-Re_6$  и порошков индивидуальных компонентов свидетельствует о наличии в спектрах наночастиц полос, характерных для исходного комплекса  $[Au_2L_2]Cl_2$  (1042, 1193, 1365, 1423, 1514, 1572 и 1612 см<sup>-1</sup>), с дополнительными широкими полосами кластеров (475, 845, 904, 1637 см<sup>-1</sup>) (Рисунок 55).



**Рисунок 55** – ИК-спектры исходных кластеров К<sub>4</sub>[{Re<sub>6</sub>S<sub>8</sub>}(OH)<sub>6</sub>] (1) и К<sub>4</sub>[{Re<sub>6</sub>Se<sub>8</sub>}(OH)<sub>6</sub>] (2), комплекса [Au<sub>2</sub>L<sub>2</sub>]Cl<sub>2</sub> (3) и высушенных Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub>(S) (4) и Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub>(Se) (5) коллоидов.

Методом просвечивающей электронной микроскопии были получены фотографии высушенных наночастиц (Рисунки 56a, б). Компьютерная постобработка полученных растровых изображений позволила установить средние размеры частиц: 6 нм и 11 нм для Au<sub>2</sub>-Re<sub>6</sub>(S) и Au<sub>2</sub>-Re<sub>6</sub>(Se), соответственно (Рисунки 56в, г). Полученные значения коррелируют с наноструктурированной природой Au<sub>2</sub>-Re<sub>6</sub>(S) и повышенной кристалличностью  $Au_2$ – $Re_6(Se)$  наноструктур (Рисунок П10).

Несмотря на малые размеры, в водных и буферных растворах, согласно данным ДРС (Таблица 14), наночастицы подвержены значительной агрегации, о чем свидетельствует высокая полидисперсность систем, что, в свою очередь, не позволяет адекватно оценивать ζ–потенциалы наноагрегатов.



Рисунок 56 – ПЭМ-изображения (а, б) и гистограммы распределения по размерам (в, г) высушенных образцов коллоидов Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub>(S) (а, в) и Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub>(Se) (б, г).

**Таблица 14** – Определенные по количественному распределению частиц диаметры (*d*<sub>колич</sub>, нм) и ПДИ систем Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub> и лизоцим–Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub> в водных растворах и фосфатном буфере. С<sub>буфера</sub>=1×10<sup>-2</sup> M, pH=7.

	<i>d</i> <sub>колич</sub> , нм	пди
$Au_2-Re_6(S)$	498–520	~1
$Au_2-Re_6(Se)$	400–460	0.846
Фосфатный буфер (pH=7):		
$Au_2-Re_6(S)$	630–1100	~1
лизоцим–Au <sub>2</sub> –Re <sub>6</sub> (S)	620–1040	~1
$Au_2-Re_6(Se)$	340–530	0.9
лизоцим–Au <sub>2</sub> –Re <sub>6</sub> (Se)	460–530	0.9

#### 3.3.2. рН-зависимое растворение Au<sub>2</sub>-Re<sub>6</sub> наноструктур

Поскольку комплекс [Au<sub>2</sub>L<sub>2</sub>]Cl<sub>2</sub> проявляет значительно более высокую цитотоксическую активность в сравнении с гексарениевыми кластерами [188, 192], цитотоксичность гетерометаллических наночастиц в целом должна определяться степенью его высвобождения. Для выявления pH-индуцируемой диссоциации Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub> наноструктур был проведен мониторинг спектров электронного поглощения супернатантов, полученных после диспергирования

свежеприготовленных наночастиц в буферных растворах с различными значениями pH, изменяющимися в диапазоне pH=4.0-7.4, с последующим разделением фаз с помощью центрифугирования и отделением растворов супернатантов. Отслеживание осуществлялось В области электронного поглощения комплекса [Au<sub>2</sub>L<sub>2</sub>]Cl<sub>2</sub>, а именно при  $\lambda$ =308 нм, при котором отсутствует вклад кластеров в поглощение (Рисунки 57а, П8). При этом стоит отметить заметное даже невооруженным глазом растворение гетерометаллических наночастиц при подкислении растворов (Рисунок П11).



Рисунок 57 – а – Зависимости  $A_{308}$ –рН для супернатантов, полученных при фазовом разделении  $Au_2$ – $Re_6(S)$  (1),  $Au_2$ – $Re_6(Se)$  (2), лизоцим– $Au_2$ – $Re_6(S)$  (3) и лизоцим– $Au_2$ – $Re_6(Se)$  (4) наночастиц. б, в – Спектры люминесценции  $Re_6$ -блока в составе  $Au_2$ – $Re_6(S)$  (б) и  $Au_2$ – $Re_6(Se)$  (в) при pH=7.4 (1), pH=5.5 (б, 2) или pH=5 (в, 2). г – Зависимости  $I_{лном}$ –рН  $Au_2$ – $Re_6(S)$  (1) и  $Au_2$ – $Re_6(Se)$  (2) наночастиц при  $\lambda_{max}$ =607 нм (1) и  $\lambda_{max}$ =630 нм (2), соответственно.  $C_{\kappaластер}$ =2.2×10<sup>-5</sup> М,  $\lambda_{воз6}$ =400 нм.

Анализ полученных данных (Рисунок 57а, линии 1 и 2) показывает, что процесс растворения  $Au_2-Re_6(S)$  наночастиц и соответствующее высвобождение комплекса  $[Au_2L_2]^{2+}$  запускается при pH<7.4, тогда как в случае  $Au_2-Re_6(Se)$  требуются более кислые условия (pH<6.0), что коррелирует с более высокой растворимостью  $Re_6(S)$  по сравнению с  $Re_6(Se)$  [152]. При pH<5.5 происходит полное растворение наноструктур и образование истинного раствора (Рисунок

П11), что подтверждается выходом графиков зависимостей на предел. Суммарно процесс разборки супрамолекулярных наночастиц можно представить Равновесием 7.

$$[Au_{2}L_{2}][\{Re_{6}Q_{8}\}(H_{2}O)_{2}(OH)_{4}] + 4H^{+} \longleftarrow [\{Re_{6}Q_{8}\}(H_{2}O)_{6}]^{2+} + [Au_{2}L_{2}]^{2+} (7)$$

Результаты, методом УФ-спектроскопии полученные супернатантов, полностью коррелируют с данными люминесцентного анализа (Рисунок 57б-г). В частности, мониторинг кластер-центрированной эмиссии Au<sub>2</sub>-Re<sub>6</sub>(S) наночастиц выявил вызванное постепенным их растворением увеличение интенсивности люминесценции при подкислении от pH=7.4 до pH=5.5, при котором наблюдается полоса «*свободных*» Re<sub>6</sub>(S) кластерных единиц (Рисунок 576, г). В случае же Au<sub>2</sub>-Re<sub>6</sub>(Se) наноструктур интенсивность люминесценции остается неизменной в широком диапазоне pH=7.4-6.0 (Рисунки 57г), что коррелирует с низкой Полоса растворимостью кластерного блока. эмиссии, характерная ЛЛЯ «свободных» Re<sub>6</sub>(Se) кластеров появляется при последующем подкислении до pH=5.0 (Рисунок 57в). Дальнейшие спектральные изменения при подкислении до pH=4.0 в обоих случаях согласуются с ранее опубликованным pH-зависимым поведением растворов кластеров [152]. При этом важно отметить более интенсивную, в отличие от  $Re_6(Se)$ , эмиссию  $Re_6(S)$  кластера в интервале pH=4.0-5.0 (Рисунок 57г).

# 3.3.3. ПЭИ-индуцированное растворение Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub> наноструктур. Модификация поверхности лизоцимом

Как было работах, показано предыдущих нековалентная В функционализация эффективным поверхности наночастиц является инструментом модификации их свойств, в том числе функциональных. При этом включение отрицательно заряженных кластерных блоков в супрамолекулярные наночастицы является предпосылкой для реализации их взаимодействия с полиэтиленимином [45], что, в свою очередь, потенциально способно повлиять на процесс их разборки. Однако при редиспергировании гетерометаллических

наночастиц в растворе ПЭИ (C=1 г/л, pH=7) наблюдается образование истинного раствора (Рисунок 58а), что наряду с высокой интенсивностью люминесценции супернатантов (Рисунки 58б, в), обусловленной ПЭИ–Re<sub>6</sub> структурами, свидетельствует о полной разборке Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub> наносистем (Рисунок 58г) [45, 192].



Рисунок 58 – а – Фотографии Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub> наночастиц до (справа) и после (слева) обработки ПЭИ. б, в – Спектры люминесценции Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub>(S) (б) и Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub>(Se) (в): 1 – наночастицы, 2 – наночастицы после обработки ПЭИ, 3 – супернатанты.  $\lambda_{B036}$ =400 нм. г – Схематичное изображение растворения Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub> наноструктур при подкислении и взаимодействии с ПЭИ.

Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что ПЭИ, очевидно, не пригоден для функционализации поверхности Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub> наноструктур. В качестве альтернативного способа модификации было выбрано взаимодействие супрамолекулярных наночастиц с лизоцимом, поскольку, как хорошо известно, экспонированные на его поверхности аминогруппы являются предпосылкой для его эффективного связывания с наночастицами, что, в свою очередь, также может влиять на их межфазное разрушение [184, 193].

Роль лизоцима в pH-индуцированной диссоциации Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub> наноструктур была также выявлена посредством спектрофотометрического анализа супернатантов, полученных после редиспергирования свежеприготовленных наночастиц в буферных растворах с последующим разделением фаз с помощью центрифугирования (Рисунок 57а). Результаты показывают, что добавление

лизоцима (C=1.6×10<sup>-6</sup> M) к наночастицам значительным образом влияет на pHзависимое высвобождение комплекса  $[Au_2L_2]^{2+}$ , а именно смещает начало активного процесса растворения в область более низких значений рН (Рисунок 57a). Предположительно, фактором, ограничивающим протонирование кластерных блоков в составе наночастиц при поверхностном связывании лизоцима, является протонирование NH<sub>2</sub>-групп на поверхности белка, в связи с разборка лизоцим–Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub> наноструктур требует более чем сильного подкисления.

### 3.3.4. Цитотоксичность и клеточная интернализация Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub> и лизоцим– Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub> наночастиц

Для проведения экспериментов, связанных с изучением клеточного проникновения и внутриклеточного распределения, а также выявлением пути гибели клеток, необходима предварительная оценка цитотоксичности Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub> и лизоцим–Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub> наночастиц. Значения IC<sub>50</sub>, рассчитанные на основе данных о жизнеспособности клеточных линий M-HeLa и Chang Liver, инкубированных Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub> и лизоцим–Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub>, представлены в Таблице 15.

**Таблица 15** – Значения IC<sub>50</sub>, рассчитанные для клеточных линий M-HeLa и Chang Liver, инкубированных комплексом [Au<sub>2</sub>L<sub>2</sub>]Cl<sub>2</sub>, коллоидами Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub> и лизоцим–Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub>.

	IC <sub>50</sub> , ×10 <sup>-6</sup> M		
	M-HeLa	Chang liver	
$[Au_2L_2]Cl_2$	1.9±0.1	3.1±0.2	
$Au_2-Re_6(S)$	2.2±0.2	1.9±0.2	
лизоцим-Au <sub>2</sub> -Re <sub>6</sub> (S)	1.2±0.1	2.6±0.2	
$Au_2-Re_6(Se)$	1.7±0.1	1.7±0.1	
лизоцим–Au <sub>2</sub> –Re <sub>6</sub> (Se)	3.4±0.2	2.9±0.2	
лизоцим	>30	>30	

Интересно отметить, что значения  $IC_{50}$  для всех типов наносистем находятся на том же уровне или даже ниже, чем для  $[Au_2L_2]Cl_2$ , хотя его включение в гетерометаллические наноструктуры, казалось бы, должно

сопровождаться снижением цитотоксичности, как это наблюдалось в случае с гексамолибденовыми кластерами [188]. Такое поведение позволяет предположить переход эндосом в лизосомы после клеточного проникновения Au<sub>2</sub>-Re<sub>6</sub> и лизоцим-Au<sub>2</sub>-Re<sub>6</sub> наночастиц, что способствует последующей их разборке в кислых лизосомальных условиях. При этом отмеченная ранее разница в степени высвобождения комплекса  $[Au_2L_2]^{2+}$  из  $Au_2-Re_6(S)$  и  $Au_2-Re_6(Se)$  оказывает незначительное влияние на значения IC<sub>50</sub>, тогда как обработка поверхности наночастиц лизоцимом сопровождается изменением цитотоксического эффекта коллоидов. В частности, значения IC<sub>50</sub> лизоцим–Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub>(Se) наноструктур заметно выше, чем для Au<sub>2</sub>-Re<sub>6</sub>(Se), что хорошо согласуется с полученными результатами по высвобождению комплекса (Рисунок 57а), в то время как цитотоксичность Au<sub>2</sub>-Re<sub>6</sub>(S) немного снижается в случае клеточной линии Chang Liver и несколько увеличивается по отношению к раковым клеткам M-HeLa. Кроме того, важно отметить снижение цитотоксического воздействия наночастиц по отношению к нормальным клеткам после обработки лизоцимом (Таблица 15), что поспособствовало их выбору для дальнейшего изучения внутриклеточного поведения.

Поскольку низкая интенсивность люминесценции наносистем не позволяет оценивать степень их клеточной интернализации методом проточной цитометрии (Рисунок 59), успешно визуализировать наночастицы удалось с помощью конфокальной лазерной сканирующей микроскопии (Рисунок 60). В частности, интенсивная люминесценция лизоцим-Au2-Re6(S) наночастиц позволила оценить коэффициент  $(0.79\pm0.01),$ корреляции Пирсона который указывает на лизосомальную локализацию наночастиц. Важно отметить, что причина различного контрастирующего эффекта наноструктур  $Au_2-Re_6(S)$  и  $Au_2-Re_6(Se)$ заключается в отмеченной выше различной интенсивности люминесценции высвобождающихся в слабокислых средах кластеров Re<sub>6</sub>(Se) и Re<sub>6</sub>(S) (Рисунок 57г). Это, в свою очередь, хорошо согласуется с лизосомальной локализацией лизоцим-Au2-Re6(S) и позволяет сделать предположение о лизосомальной локализации лизоцим-Au<sub>2</sub>-Re<sub>6</sub>(Se) наночастиц.



Рисунок 59 – Изучение клеточной интернализации наночастиц. а – контроль (1), Au<sub>2</sub>– Re<sub>6</sub>(S) (2) и лизоцим–Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub>(S) (3). б – контроль (1), Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub>(Se) (2) и лизоцим–Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub>(Se) (3). С<sub>кластер</sub>=1×10<sup>-6</sup> M.



Рисунок 60 – Анализ колокализации лизоцим–Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub> наночастиц и красителя LysoTracker Blue DND 22 после 24 часов инкубации клеток M-HeLa.  $C_{Re6(S)}=1\times10^{-6}$  M,  $C_{Re6(Se)}=3\times10^{-6}$  M,  $C_{Blue DND 22}=1\times10^{-6}$  M.  $\lambda_{B036}$ (наночастиц)=405 нм,  $\lambda_{B036}$ (Blue DND 22)=373 нм.

Установить реализацию лизосомального пути для Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub>(Se) наночастиц удалось благодаря инкубации клеток красителем акридиновым оранжевым (AO), обладающим pH-зависимой флуоресценцией [194]. В частности, для интактных клеток M-HeLa локализованный в лизосомах AO проявляется в виде красных

точек ( $\lambda_{изл}$ =625 нм), а цитозольная форма в виде размытых зеленых пятен ( $\lambda_{изл}$ =525 нм). Напротив, при инкубации клеточных линий лизоцим–Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub>(Se) наночастицами можно наблюдать размытые красные пятна, что свидетельствует о разрыве клеточных лизосом в результате рН-индуцированной разборки супрамолекулярных наночастиц (Рисунок 61).



Рисунок 61 – Изображения конфокальной микроскопии, показывающие разрыв эндо/лизосом в клетках M-HeLa, инкубированных лизоцим–Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub>(Se) наночастицами. В качестве контроля использованы клетки, инкубированные только AO.  $C_{\text{Re6(Se)}}$ = 3×10<sup>-6</sup> M,  $C_{\text{AO}}$ =5×10<sup>-6</sup> M.  $\lambda_{\text{возб}}$ =488 нм.

Наблюдаемая лизосомальная локализация обсуждаемых наночастиц и их последующее растворение объясняет значительную гибель клеток M-HeLa при их инкубации как Au<sub>2</sub>-Re<sub>6</sub>, так и лизоцим-Au<sub>2</sub>-Re<sub>6</sub> наночастицами. При этом, как процесс рН-зависимого растворения наночастиц, так и их цитотоксичность зависят от природы халькогенида кластерного ядра и наличия лизоцима на поверхности наночастиц. Указанные характеристики Аи2-Re<sub>6</sub> наночастиц позволяют достигать цитотоксического эффекта как превышающего, так и уступающего по величине цитотоксичности молекулярного комплекса [Au<sub>2</sub>L<sub>2</sub>]Cl<sub>2</sub>. При ОТ  $[Au_2L_2]Cl_2$ , индуцирующего гибель этом В отличие клеток преимущественно по неапоптотическим механизмам (Рисунок 50а), в процесс гибели клеток, инкубированных наночастицами Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub>, значительный вклад вносит и апоптотический путь (Рисунки 62 и П12).



Рисунок 62 – Данные проточной цитометрии клеток M-HeLa, инкубированных различными концентрациями Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub>(S) (1) и лизоцим– Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub>(S) (2) после окрашивания Аннексином V и PI. L – живые клетки; D – мертвые клетки; E.a. – ранние апоптотические клетки; L.a. – клетки позднего апоптоза.

### 3.4. Гетерометаллические наноструктуры на основе катионного комплекса Ag(I) с фосфоланопиридиновым лигандом ([Ag<sub>2</sub>L<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>) и гексарениевыми кластерами [{Re<sub>6</sub>S<sub>8</sub>}(L')<sub>6</sub>]<sup>n-</sup> (L'=CN<sup>-</sup> или OH<sup>-</sup>)

Наряду с электростатическим взаимодействием, обеспечивающим образование описанных ранее гетерометаллических наноструктур на основе комплекса  $[Au_2L_2]^{2+}$ , в качестве движущей силы формирования таких систем можно рассматривать координационное связывание. Несомненно, к реализации такого взаимодействия должны предрасполагать как структурные факторы, так и координационные возможности строительных блоков. В частности, комплексные соединения, в значительной степени подверженные диссоциации в растворах, приводящей к появлению координационно-ненасыщенных фрагментов, могут быть использованы для получения гетерометаллических наночастиц. Более того,

внедрение таких фрагментов может обеспечить наноструктуры функциональными свойствами, например, проявлением люминесцентного отклика на различные субстраты.

В связи с этим, в работе [195] нами были впервые получены наноразмерные структуры на основе биядерного комплекса  $[Ag_2L_2]^{2+}$ , где L=6-метилпиридин-2илфосфолан, схожего по структуре с описанным ранее комплексом  $[Au_2L_2]^{2+}$ , с  $[{\rm Re}_6 {\rm S}_8](L')_6]^{n-1}$ кластерами состава (Рисунок гексарениевыми 63). Координационное число ионов Ag<sup>+</sup>, достигающее 4, их стабильность и эффективная гидратация В водных растворах являются факторами,  $[Ag_2L_2]^{2+}$ комплекса И способствующими диссоциации образованию координационных связей c «подходящими» апикальными лигандами [{Re<sub>6</sub>S<sub>8</sub>}(L')<sub>6</sub>]<sup>*n*-</sup> кластеров. Следовательно, и координационное связывание, и электростатическое притяжение могут вносить вклад В формирование гетерометаллических коллоидов на основе  $[Ag_2L_2]^{2+}$  и  $[{Re_6S_8}(L')_6]^{n-}$ , хотя априори нельзя сказать какой из вкладов является определяющим.



Рисунок 63 — Схематическое изображение структур  $[{Re_6S_8}(L')_6]^{n-}$  кластеров и комплекса  $[Ag_2L_2]^{2+}$ .

«Подходящими» для ионов Ag<sup>+</sup> с точки зрения координации являются цианидные и гидроксильные апикальные лиганды, при этом можно также ожидать координации по реберным атомам S. В то же время координация ионов Ag<sup>+</sup> по сульфитным апикальным группам менее благоприятна в соответствии с «жесткостью» по Пирсону. Таким образом, выбор кластеров с разной природой апикальных лигандов в рамках данной работы направлен на выявление роли координационного электростатического взаимодействия связывания И В самосборке гетерометаллических наночастиц. Кроме того, для выявления влияния  $[Ag_2L_2]^{2+}$ комплекса формирование лигандного окружения на гетерометаллических структур были проведены аналогичные исследования с использованием Ag<sup>+</sup>. Важно отметить потенциальную применимость таких гетерометаллических коллоидов в качестве сенсоров на биотиолы, поскольку внедрение ионов Ag<sup>+</sup> создает координационные центры для их связывания, а люминесцентные кластерные блоки, в свою очередь, позволяют сгенерировать люминесцентный отклик.

Электростатическое притяжение, как было упомянуто ранее, является одной из очевидных движущих сил взаимодействия заряженных блоков. При этом нейтрализация заряда может сопровождаться агрегацией образующихся структур. В связи с этим, кластер с сульфитными апикальными группами [{Re<sub>6</sub>S<sub>8</sub>}(SO<sub>3</sub>)<sub>6</sub>]<sup>10-</sup>, который для удобства далее будет обозначаться как Re<sub>6</sub>(SO<sub>3</sub>), имея наибольший отрицательный заряд, должен эффективно взаимодействовать с комплексом [Ag<sub>2</sub>L<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> и ионами Ag<sup>+</sup> и приводить к образованию коллоидной системы. Однако раствор Re<sub>6</sub>(SO<sub>3</sub>) остается прозрачным после смешивания с растворами как комплекса [Ag<sub>2</sub>L<sub>2</sub>](BF<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, так и AgBF<sub>4</sub>, в то время как их прикапывание к растворам менее заряженных кластеров [{Re<sub>6</sub>S<sub>8</sub>}(CN)<sub>6</sub>]<sup>4-</sup> и [{Re<sub>6</sub>S<sub>8</sub>}(OH)<sub>6</sub>]<sup>4-</sup> (Re<sub>6</sub>(CN) и Re<sub>6</sub>(OH), соответственно) приводит к их помутнению (Рисунок П13).

Более того, наблюдаются выраженные изменения В спектрах люминесценции растворов данных кластеров, наряду с отсутствием таковых в случае  $\text{Re}_6(\text{SO}_3)$  (Рисунок 64), что говорит о значительной роли координационных образовании коллоидных систем. Образующиеся при связей при этом гетерометаллические наноструктуры на основе комплекса  $[Ag_2L_2]^{2+}$  здесь и далее для удобства будут обозначаться как  $Ag(L)-Re_6(OH)$  и  $Ag(L)-Re_6(CN)$ , соответственно.



Рисунок 64 – Спектры люминесценции водных растворов кластеров при различных количествах добавленного комплекса  $[Ag_2L_2](BF_4)_2$ : (a)  $Re_6(SO_3)$ , (б)  $Re_6(OH)$  и (в)  $Re_6(CN)$ .  $C_{\kappa \pi a c t e p} = 4 \times 10^{-6}$  M,  $\lambda_{BO36} = 370$  нм.

Для выявления причины специфического воздействия комплекса на кластер-центрированную люминесценцию, был проведен массспектрометрический анализ водного раствора  $[Ag_2L_2](BF_4)_2$  (Рисунок 65). Наличие пиков, соответствующих  $[AgL_2]^+$  и  $[AgL]^+$ , позволяет предположить диссоциацию комплекса  $[Ag_2L_2]^{2+}$ . В то же время, анализ растворов методом УФ-спектроскопии (Рисунок 66а) позволил выявить отсутствие как коллоидного серебра, так и продуктов окисления лиганда в течение как минимум одного дня, что согласуется с данными, полученными методом спектроскопии ЯМР <sup>31</sup>Р и <sup>1</sup>Н (Рисунок П14). стабильность Вышеперечисленное указывает на продуктов диссоциации комплекса  $[Ag_2L_2]^{2+}$  в растворах.



Рисунок 65 – ESI масс-спектр  $[Ag_2L_2](BF_4)_2$  комплекса.

Согласно данным люминесцентного анализа водных растворов комплекса [Ag<sub>2</sub>L<sub>2</sub>](BF<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, эмиссия последнего проявляется в виде широкой полосы в области

430-570 нм (Рисунок 66), что сильно отличается от люминесценции твердого комплекса [87].



Рисунок 66 – а – Спектры поглощения  $[Ag_2L_2](BF_4)_2$  сразу после растворения (1) и через 1 день (2). С=2×10<sup>-5</sup> М. б – Спектры люминесценции водных растворов  $[Ag_2L_2](BF_4)_2$  при различных концентрациях: 1 – 1×10<sup>-5</sup> M, 2 – 5×10<sup>-5</sup> M, 3 – 1×10<sup>-4</sup> M, 4 – 5×10<sup>-4</sup> M, 5 – 1×10<sup>-3</sup> M.  $\lambda_{B036}$ =310 нм.

## 3.4.1. Получение и характеризация гетерометаллических Ag(L)–Re<sub>6</sub>(OH) наночастиц

Видимое невооруженным глазом помутнение раствора Re<sub>6</sub>(OH) кластера  $[Ag_2L_2](BF_4)_2$ (Рисунок П13) при прикапывании раствора комплекса эффективном взаимодействии свидетельствует об Ад-содержащими с фрагментами, что наряду со способностью апикальных гидроксо-лигандов участвовать в координации ионов d-металлов [158] позволяет рассматривать координационное связывание в качестве одной из движущих сил самосборки. При этом взаимодействие с катионами может смещать равновесие протонирования  $[{Re_6S_8}(OH)_6]^{4-},$ гидроксо-лигандов (Уравнение 8) В сторону формы преимущественно накапливающейся при pH=12 [157, 192].

$$[\{\operatorname{Re}_{6}S_{8}\}(\operatorname{OH})_{6}]^{4-} + 2\operatorname{H}^{+} \longleftarrow [\{\operatorname{Re}_{6}S_{8}\}(\operatorname{H}_{2}\operatorname{O})_{2}(\operatorname{OH})_{4}]^{2-}$$
(8)

Учитывая зависимость электронных спектров  $Re_6(OH)$  кластера от степени протонирования гидроксо-лигандов (Рисунок 67а), а также вклад продуктов диссоциации комплекса  $[Ag_2L_2]^{2+}$  в спектры поглощения, спектры гетерометаллических коллоидов Ag(L)– $Re_6(OH)$  сравнивались с суммарными

спектрами растворов исходных компонентов (Рисунки 67б, в). Как следует из полученных данных, спектры Ag(L)– $Re_6(OH)$  отличаются от суммарных спектров компонентов, что подтверждает наличие координационных взаимодействий между ними. При этом координация кластерными блоками реализуется как в случае  $AgBF_4$ , так и для  $[Ag_2L_2](BF_4)_2$ .



Рисунок 67 – а – Спектры поглощения раствора  $Re_6(OH)$  кластера при pH=8.3 (1) и pH=12 (2). б, в – Спектры поглощения водных растворов  $Re_6(OH)$  (1), AgBF<sub>4</sub> (2, б), [Ag<sub>2</sub>L<sub>2</sub>](BF<sub>4</sub>)<sub>2</sub> (2, в) и их соответствующих смесей (3). Линии 4 соответствуют суммарным спектрам растворов исходных компонентов.  $C_{\kappa nacrep} = C_{AgBF4} = C_{[Ag2L_2](BF_4)_2} = 1 \times 10^{-5}$  М.

Формирование гетерометаллических коллоидов Ag(L)– $Re_6(OH)$  приводит к увеличению интенсивности кластерной люминесценции (Рисунок 68). При этом люминесценция усиливается в большей степени при добавлении раствора комплекса  $[Ag_2L_2](BF_4)_2$  по сравнению с  $AgBF_4$ , что свидетельствует о несомненном влиянии лигандного окружения ионов серебра на формирование гетерометаллических коллоидов. Возможно, причиной наблюдаемого являются различия в супрамолекулярных упаковках, формирующихся при координации продуктов диссоциации  $[Ag_2L_2]^{2+}$  или ионов  $Ag^+$  кластерными блоками. Хотя, нельзя исключить и коллоидную стабилизацию наночастиц за счет координации молекул лиганда L с ионами  $Ag^+$ , экспонированными на поверхности коллоидных наночастиц.



Рисунок 68 – Спектры люминесценции растворов  $Re_6(OH)$  при различных концентрациях добавленных  $AgBF_4$  (а) и  $[Ag_2L_2](BF_4)_2$  (б).  $C_{\kappa nacrep}=4\times 10^{-6}$  M,  $\lambda_{воз6}=370$  нм.

 $Re_6(OH)$ Следует отметить, что разгорание эмиссии кластера не сопровождается ростом времени жизни возбужденного состояния (Таблица 16) как это наблюдалось для Au<sub>2</sub>-Mo<sub>6</sub> наноструктур. В случае Au<sub>2</sub>-Mo<sub>6</sub> отсутствует вклад координационных связей в процесс самосборки и увеличение как τ, так и 48. кластерной люминесценции (Рисунок Таблица 11) интенсивности обеспечивается уменьшением динамического тушения кластерных блоков молекулами кислорода за счет их включения в наночастицы.

**Таблица 16** – Значения времен жизни возбужденного состояния  $Re_6(OH)$  кластера в растворе и в составе гетерометаллических наночастиц Ag(L)– $Re_6(OH)$  и Ag– $Re_6(OH)$ , а также соответствующие коэффициенты детерминации.  $C_{\text{кластер}}=1\times10^{-5}$  М.

	τ, ×10 <sup>-6</sup> c	<b>R</b> <sup>2</sup>
Re <sub>6</sub> (OH)	3.09±0.07	0.9993
$Ag(L)$ - $Re_6(OH)$	2.59±0.15	0.9957
Ag–Re <sub>6</sub> (OH)	2.05±0.14	0.9946

Согласно данным, полученным методом ДРС, гетерометаллические наночастицы имеют отрицательные значения ζ–потенциалов, которые согласуются с низкой полидисперсностью системы (Таблица 17). При этом фотографии, полученные на просвечивающем микроскопе, позволили установить морфологию наночастиц (Рисунок 69а).

**Таблица 17** – Средние гидродинамические диаметры (*d*<sub>ср</sub>, нм), ПДИ и ζ–потенциалы (ζ, мВ) гетерометаллических коллоидов Ag(*L*)–Re<sub>6</sub>(OH).

	<i>d</i> ср, нм	ПДИ	ζ, мВ
Ag(L)-Re <sub>6</sub> (OH)	105–120	0.152	-21, -51



Рисунок 69 – ПЭМ-изображения высушенных Ag(L)– $Re_6(OH)$  (a) и Ag(L)– $Re_6(CN)$  (б).

Установленное методом атомно-эмиссионной спектроскопии соотношение элементов Re:Ag (2.56) ниже 6:2, что позволяет предположить образование нейтральных блоков в процессе самосборки различной стехиометрии, например, таких как  $K_2[Ag_2L_2][\{Re_6S_8\}(OH)_6], K_2(AgL)_2[\{Re_6S_8\}(OH)_6],$  $(AgL)_2[\{Re_6S_8\}(H_2O)_2(OH)_4]$  или  $K(AgL)[\{Re_6S_8\}(H_2O)_2(OH)_4].$ 

Сравнительный анализ ИК-спектров порошков исходных компонентов  $(\text{Re}_6(\text{OH})$  и  $[\text{Ag}_2L_2](\text{BF}_4)_2)$  и соответствующих гетерометаллических Ag(L)-Re<sub>6</sub>(OH) наноструктур выявил не только наличие в спектрах наночастиц полос, характерных для исходного Re<sub>6</sub>(OH) кластера (477, 1310, 1640, 3500 см<sup>-1</sup>), но и исчезновение в спектре коллоидов широкой полосы валентных колебаний v<sub>BF</sub> (1050 см<sup>-1</sup>), что указывает на отсутствие анионов BF<sub>4</sub><sup>-</sup> в гетерометаллических наноструктурах (Рисунок 70). Более того, в спектре наночастиц полоса валентных колебаний пиридильного фрагмента лиганда  $L(v_{CC,CN})$  проявляется при 1580 см<sup>-1</sup> (1590 см<sup>-1</sup> в спектре комплекса  $[Ag_2L_2](BF_4)_2$ ), что свидетельствует об отсутствии координации пиридильного заместителя [196]. Это, в свою очередь, является доказательством того, что гетерометаллические наноструктуры содержат диссоциированные фрагменты  $[AgL]^+$  с координацией P–Ag.



Рисунок 70 – ИК-спектры исходных K<sub>4</sub>[{Re<sub>6</sub>S<sub>8</sub>}(OH)<sub>6</sub>] (1) и [Ag<sub>2</sub>L<sub>2</sub>](BF<sub>4</sub>)<sub>2</sub> (2), а также высушенных Ag(L)–Re<sub>6</sub>(OH) наночастиц (3). Вставка показывает диапазон 4000–2000 см<sup>-1</sup>.

# 3.4.2. Получение и характеризация гетерометаллических Ag(L)–Re<sub>6</sub>(CN) наночастиц

Как и в случае  $\text{Re}_6(\text{OH})$  кластера, прикапывание раствора комплекса  $[\text{Ag}_2L_2](\text{BF}_4)_2$  к раствору  $\text{Re}_6(\text{CN})$  сопровождается более интенсивным ростом люминесценции по сравнению с добавлением раствора  $\text{AgBF}_4$  (Рисунки 71а, б). Кроме того, добавление  $\text{AgBF}_4$  не приводит к образованию видимой невооруженным глазом коллоидной системы (Рисунок П13), что указывает на гораздо более сильное влияние  $[\text{Ag}L]^+$  по сравнению с  $\text{Ag}^+$  на образование гетерометаллических наноструктур.

Сопоставительный анализ полученных электронных спектров (Рисунки 71в, г) указывает на явные различия в спектрах коллоидных растворов и суммарных спектрах растворов исходных компонентов, что, в свою очередь, является еще одним подтверждением реализации координационных взаимодействий между Re<sub>6</sub>(CN) кластером и Ag-содержащими блоками.





Рисунок 71 – а, б – Спектры люминесценции растворов Re<sub>6</sub>(CN) при различных концентрациях добавленных AgBF<sub>4</sub> (а) и [Ag<sub>2</sub>L<sub>2</sub>](BF<sub>4</sub>)<sub>2</sub> (б).  $C_{\kappa nacrep}=4\times10^{-6}$  M,  $\lambda_{воз6}=370$  нм. в, г – Спектры поглощения водных растворов Re<sub>6</sub>(CN) (1), AgBF<sub>4</sub> (в, 2), [Ag<sub>2</sub>L<sub>2</sub>](BF<sub>4</sub>)<sub>2</sub> (г, 2) и их соответствующих смесей (3). Линии 4 соответствуют суммарным спектрам растворов исходных компонентов.  $C_{\kappa nacrep}=1\times10^{-5}$  M,  $C_{AgBF4}=C_{[Ag2L_2](BF4)2}=2\times10^{-5}$  M.

Измерения времени жизни ( $\tau$ ) возбужденного состояния Re<sub>6</sub>(CN) кластера выявили значительное ее увеличение при смешивании с раствором комплекса [Ag<sub>2</sub>L<sub>2</sub>](BF<sub>4</sub>)<sub>2</sub> (Таблица 18). При этом отсутствие изменений при добавлении AgBF<sub>4</sub> в очередной раз указывает на ключевую роль лиганда при формировании гетерометаллических наноструктур.

**Таблица 18** – Значения времен жизни возбужденного состояния  $\text{Re}_6(\text{CN})$  кластера в растворе и в составе гетерометаллических наночастиц Ag(L)– $\text{Re}_6(\text{CN})$  и Ag– $\text{Re}_6(\text{CN})$ , а также соответствующие коэффициенты детерминации.  $C_{\text{кластер}}=1 \times 10^{-5}$  М.

	τ, ×10 <sup>-6</sup> c	<b>R</b> <sup>2</sup>
Re <sub>6</sub> (CN)	$2.82 \pm 0.06$	0.9994
Ag(L)-Re <sub>6</sub> (CN)	9.45±0.66	0.9980
Ag-Re <sub>6</sub> (CN)	2.54±0.14	0.9963

Наблюдаемые спектральные изменения (Рисунок 71) позволяют предположить, что в гетерометаллической системе реализуется координация [AgL]<sup>+</sup> фрагментов кластерными единицами по азотам цианидных апикальных лигандов, что согласуется с литературными рентгеноструктурными данными для

107

схожей системы – мостиковая координация [Ag(bpy)]<sup>+</sup> (где bpy- 2,2'-дипиридил) кластерными единицами Re<sub>6</sub>(CN) [197].

Полученные ПЭМ-изображения (Рисунок 696) позволяют установить размеры наночастиц, в то время как результаты динамического светорассеяния (Таблица 19) свидетельствуют о значительной степени агрегации гетерометаллических Ag(L)– $Re_6(CN)$  наночастиц по сравнению с Ag(L)– $Re_6(OH)$  частицами.

**Таблица 19** – Средние гидродинамические диаметры (*d*<sub>ср</sub>, нм), ПДИ и ζ-потенциалы (ζ, мВ) гетерометаллических коллоидов Ag(*L*)–Re<sub>6</sub>(CN) и Ag(*L*)–Re<sub>6</sub>(OH).

	<i>d</i> ср, нм	ПДИ	ζ, мВ
$Ag(L)-Re_6(CN)$	160–610	0.978	-2
$Ag(L)$ - $Re_6(OH)$	105–120	0.152	-21, -51

Установленное методом атомно-эмиссионной спектроскопии соотношение элементов Re:Ag (6:3.87) составляет около 1.55, что подтверждает указанное выше связывание между  $\text{Re}_6(\text{CN})$  и продуктами диссоциации  $[\text{Ag}_2L_2]^{2+}$ .

Анализ ИК-спектров порошков исходных компонентов и выделенных осадков соответствующих гетерометаллических Ag(L)-Re<sub>6</sub>(CN) наноструктур (Рисунок 72) не только позволил выявить схожесть спектра последнего с таковым для Ag(L)–Re<sub>6</sub>(OH), но также указывает на отсутствие анионов BF<sub>4</sub><sup>-</sup> (1050 см<sup>-1</sup>) и наличие L (843, 870, 1376, 1564, 1580, 1590 см<sup>-1</sup>) в выделенных коллоидах. Кроме того, в случае Ag(L)-Re<sub>6</sub>(CN) валентные колебания пиридильного фрагмента L  $(v_{CC,CN})$  проявляются в виде полосы при 1580 см<sup>-1</sup>, имеющей плечо при ~1590 см<sup>-1</sup>, что указывает на наличие как координированных, так и некоординированных форм пиридина [196]. Более того, в спектре порошка исходного Re<sub>6</sub>(CN) валентные колебания C=N связи ( $v_{C=N}$ ) проявляются при 2124 см<sup>-1</sup>, в то время как в спектре осажденных гетерометаллических наночастиц полоса уширена в виду проявления дополнительных плеч при ~2147 см<sup>-1</sup> и ~2105 см<sup>-1</sup> (Рисунок 72, вставка). Аналогичные результаты (плечи при ~2135 см<sup>-1</sup> и ~2105 см<sup>-1</sup>) описаны  ${[{Ag(bpy)} {Re_6S_8(CN)_6}]^{3-}}_{\infty}$  с реализацией мостиковой лля комплекса координации Ag(bpy)<sup>+</sup>: CN–Ag(bpy)–NC [197]. Полученные данные однозначно
указывают на построение гетерометаллических наноструктур из блоков  $[AgL_x]_4[{Re_6S_8}(CN)_6]$ , где стехиометрический коэффициент «х» не обязательно равен единице, поскольку нельзя исключать наличие примесей состава от  $Ag_4[{Re_6S_8}(CN)_6]$  до  $[AgL]_4[{Re_6S_8}(CN)_6]$ .



Рисунок 72 – ИК-спектры исходных  $K_4[{Re_6S_8}CN_6]$  кластера (1) и  $[Ag_2L_2](BF_4)_2$  комплекса (2), а также высушенных Ag(L)– $Re_6(CN)$  (3) и Ag(L)– $Re_6(OH)$  (4) коллоидов. Вставка показывает диапазон 2250–2000 см<sup>-1</sup>.

# 3.4.3. Взаимодействие гетерометаллических Ag(L)–Re<sub>6</sub>(OH) и Ag(L)–Re<sub>6</sub>(CN) наночастиц с тиолами

Прежде чем перейти к оценке возможности координационного взаимодействия Ag-содержащих фрагментов в составе гетерометаллических наноструктур с такими биотиолами, как GSH и Cys, а также дитиотреитолом (DTT), необходимо выявить комплексообразование продуктов диссоциации комплекса  $[Ag_2L_2]^{2+}$  с тиолами посредством анализа изменений в спектрах поглощения его растворов.

Действительно, наблюдаемые изменения в электронных спектрах водных растворов AgBF<sub>4</sub> и [Ag<sub>2</sub>L<sub>2</sub>](BF<sub>4</sub>)<sub>2</sub> при добавлении к ним тиолов свидетельствуют о комплексообразовании последних с ионами Ag<sup>+</sup> и продуктами диссоциации  $[Ag_2L_2]^{2+}$  (Рисунок 73). На Рисунке 73 представлены спектральные изменения для Cys и GSH, хотя аналогичные изменения выявляются и в случае DTT (Рисунок П15).



Рисунок 73 – Спектры поглощения растворов  $[Ag_2L_2](BF_4)_2$  (а, б) и AgBF<sub>4</sub> (в, г) до (1) и после (2) добавления пятикратного избытка GSH (а, в) и Cys (б, г). Линии 3 соответствуют спектрам поглощения биотиолов.  $C_{AgBF4}=C_{[Ag_2L_2](BF_4)_2}=2\times10^{-5}$  М.

Напротив, изменения в спектрах поглощения гетерометаллических Ag(L)–  $Re_6(OH)$  и Ag(L)– $Re_6(CN)$  коллоидов довольно незначительны (Рисунки 74, П16). Кроме того, данные динамического светорассеяния (Таблицы 20, П5) позволяют предположить, что комплексообразование тиолат-ионов с Ag-центрами в составе наночастиц не сопровождается разрушением последних.



Рисунок 74 – Спектры поглощения Ag(L)– $Re_6(OH)$  (а, б) и Ag(L)– $Re_6(CN)$  (в, г) наночастиц до (1) и после (2) добавления пятикратного избытка GSH (а, в) и Cys (б, г). С<sub>кластер</sub>= $1 \times 10^{-5}$  М.

Важно при этом отметить, что все эксперименты с участием Ag(L)- $Re_6(OH)$  и Ag(L)- $Re_6(CN)$  наноструктур, с целью нивелирования эффекта pH на

110

спектральные свойства кластерного блока, были проведены в буферной среде (MES, pH=6.8).

**Таблица 20** – Средние гидродинамические диаметры ( $d_{cp}$ , нм), ПДИ и  $\zeta$ -потенциалы ( $\zeta$ , мВ) гетерометаллических коллоидов Ag(L)–Re<sub>6</sub>(OH) и Ag(L)–Re<sub>6</sub>(CN) до и после добавления GSH и Cys.

	<i>d</i> <sub>ср</sub> , нм	пди	ζ, мВ	
$Ag(L)$ - $Re_6(OH)$	105–120	0.152	-21, -51	
$Ag(L)$ - $Re_6(OH) + GSH$ :				
2×10 <sup>-6</sup> M	105–120	0.149	-38	
6×10 <sup>-6</sup> M	100–120	0.255	-34, -57	
1×10 <sup>-5</sup> M	105–120	0.140	-38, -53	
$Ag(L)$ - $Re_6(OH)$ + Cys:				
2×10 <sup>-6</sup> M	118–122	0.128	-44, -71	
6×10 <sup>-6</sup> M	105–120	0.118	-36	
1×10 <sup>-5</sup> M	105–120	0.166	-34, -54	
$Ag(L)$ - $Re_6(CN)$	160–610	0.978	-2	
$Ag(L)$ - $Re_6(CN)$ + $GSH$ :				
2×10 <sup>-6</sup> M	250–530	0.966	-48, -25	
6×10 <sup>-6</sup> M	290–610	0.965	-44, -25	
1×10 <sup>-5</sup> M	340-820	0.820	-25	
Ag(L)-Re <sub>6</sub> (CN) + Cys:				
2×10 <sup>-6</sup> M	370–610	0.843	-19	
6×10 <sup>-6</sup> M	255-290	0.829	-26	
1×10 <sup>-5</sup> M	275-820	0.886	-35	

Для выявления взаимодействия гетерометаллических наночастиц с молекулами тиолов могут быть использованы люминесцентные свойства. Так, согласно результатам люминесцентного анализа растворов гетерометаллических Ag(L)– $Re_6(OH)$  структур, отклик на тиолы проявляется неселективным снижением интенсивности люминесценции наночастиц (Рисунок 75). Важно, что при этом не наблюдается возврата к уровню «*свободных*» кластерных единиц в

растворах, что, в свою очередь, исключает разрушение гетерометаллических наночастиц при комплексообразовании с тиолами.



**Рисунок 75** – Спектры люминесценции водных растворов Ag(L)– $Re_6(OH)$  коллоидов при различных количествах добавленных Cys (a), GSH (б) и DTT (в).  $C_{\text{кластер}}$ =4×10<sup>-6</sup> M,  $\lambda_{\text{возб}}$ =370 нм.

В то же время, кластер-центрированный люминесцентный отклик Ag(L)– Re<sub>6</sub>(CN) наноструктур на тиолы зависит от структуры последних, хотя, согласно данным электронного поглощения (Рисунки 74в, г, П16), различий между ними выявить не удается. В частности, добавление Cys не приводит к изменению интенсивности люминесценции, в присутствии GSH наблюдается незначительное ее повышение, а при добавлении DTT изначальное повышение интенсивности сменяется последующим тушением (Рисунок 76).



**Рисунок 76** – Спектры люминесценции водных растворов Ag(L)– $Re_6(CN)$  коллоидов при различных количествах добавленных Cys (a), GSH (б) и DTT (в). С<sub>кластер</sub>=4×10<sup>-6</sup> M,  $\lambda_{воз6}$ =370 нм.

При этом, как и в случае с Ag(L)– $Re_6(OH)$ , присутствие молекул тиолов не приводит к снижению люминесценции до уровня «*свободных*» кластеров. Более того, при добавлении тиолов к Ag(L)– $Re_6(CN)$  наноструктурам времена жизни возбужденного состояния остаются на том же уровне, что явно подтверждает связывание тиолат-ионов с гетерометаллическими наноструктурами (Таблица 21).

**Таблица 21** – Значения времен жизни возбужденного состояния  $\text{Re}_6(\text{CN})$  кластера в растворе и в составе гетерометаллических наночастиц Ag(L)– $\text{Re}_6(\text{CN})$  без и в присутствии различных концентраций тиолов, а также соответствующие коэффициенты детерминации.  $C_{\text{кластер}}=1 \times 10^{-5} \text{ M}.$ 

	τ, ×10 <sup>-6</sup> c	<b>R</b> <sup>2</sup>			
Re <sub>6</sub> (CN)	$2.82 \pm 0.06$	0.9994			
$Ag(L)$ - $Re_6(CN)$	9.45±0.66	0.9980			
Ag(L)-Re <sub>6</sub> (CN) + Cys:					
5×10 <sup>-6</sup> M	9.46±0.45	0.9991			
1.5×10 <sup>-5</sup> M	9.44±0.45	0.9991			
2.5×10 <sup>-5</sup> M	9.17±0.61	0.9981			
$Ag(L)$ - $Re_6(CN) + GSH$ :					
5×10 <sup>-6</sup> M 10.09±0.87 0.9973					
1.5×10 <sup>-5</sup> M	10.13±1.10	0.9954			
2.5×10 <sup>-5</sup> M	10.19±1.23	0.9943			
Ag(L)-Re <sub>6</sub> (CN) + DTT:					
5×10 <sup>-6</sup> M	$10.4 \pm 0.46$	0.9993			
1.5×10 <sup>-5</sup> M	8.5±0.52	0.9982			
2.5×10 <sup>-5</sup> M	7.75±0.32	0.9991			

Отличие люминесцентного отклика Ag(L)-Re<sub>6</sub>(CN) на тиолы от такового для Ag(L)– $Re_6(OH)$  можно объяснить различным связыванием тиолов с ионами серебра в составе наночастиц. Одним из возможных типов связывания является координация тиолов экспонированными на поверхности наночастиц ионами Ag<sup>+</sup> без изменения супрамолекулярной упаковки металлокомплексных блоков. Второй тип связывания представляет собой обмен лиганда L на анионы тиолов, что должно сопровождаться встраиванием последних В супрамолекулярную структуру гетерометаллических коллоидов. Второй тип связывания является предпосылкой большей селективности по сравнению с поверхностной координацией тиолов. В связи с этим, следует отметить селективность коллоидов Ag(L)-Re<sub>6</sub>(CN). Так, наибольший люминесцентный отклик наблюдается в случае DTT (при C=2×10<sup>-6</sup> M), несколько меньше, но все же обнаруживается, для GSH и незначителен для Cys (Рисунок 76). Наблюдаемая селективность свидетельствует о том, что DTT с двумя SH-группами наиболее эффективно встраивается в Ag(L)-  $Re_6(CN)$ . Однако при C>4×10<sup>-6</sup> M интенсивность люминесценции снижается. В свою очередь, выявленная GSH/Cys селективность свидетельствует о влиянии взаимодействий, отличных от координационных, на встраивание молекул тиолов в Ag(L)– $Re_6(CN)$ .

## 3.5. Гетерометаллические наноструктуры на основе катионного комплекса Ag(I) с фосфоланопиридиновым лигандом ([Ag<sub>2</sub>L<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>) и гексарениевым кластером [{Re<sub>6</sub>S<sub>8</sub>}(H<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>(OH)<sub>6-n</sub>]<sup>n-4</sup>

Как было показано в разделе 3.3, уникальная структура рН-зависимого кластера  $[{\text{Re}}_{6}\text{S}_{8}](\text{H}_{2}\text{O})_{n}(\text{OH})_{6-n}]^{n-4}$  позволяет создавать, благодаря реализации электростатических сил, наноструктуры, способные к растворению в смоделированных слабокислых лизосомальных условиях. Кроме того, для полученных систем выявлена корреляция между рН-зависимым растворением наночастиц и их цитотоксическим эффектом.

В свою очередь, использование способного к диссоциации комплекса  $[Ag_2L_2]^{2+}$ , обеспечивающего координационное связывание между Agсодержащими фрагментами и Re<sub>6</sub> кластерами, должно препятствовать такому растворению. Более того, наличие в составе наночастиц Re<sub>6</sub>(OH) блоков, обеспечивающих связывание протонов, может стать предпосылкой перезарядки наноматериалов в слабокислых средах, моделирующих повышенную кислотность лизосомального окружения. Данное явление, сопровождающееся дисбалансом рН и ионного фона в лизосомах, что приводит к нарушению проницаемости их мембран, хорошо изучено для органических макромолекул и получило название «эффекта протонной губки». Последний имеет большое значение в создании наноматериалов для эффективной доставки лекарств [132] и антираковой терапии Между тем, в литературе крайне мало примеров использования [142]. неорганических протон-связывающих комплексов для создания наносистем, демонстрирующих упомянутый эффект. В связи с этим, в рамках нашей работы [198] на основе [{Re<sub>6</sub>S<sub>8</sub>}(H<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>(OH)<sub>6-n</sub>]<sup>n-4</sup> кластера и комплекса [Ag<sub>2</sub>L<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> были получены два типа люминесцентных наночастиц, для которых впервые показано

проявление «эффекта протонной губки» в условиях, моделирующих повышенную кислотность лизосомального окружения. Это, в свою очередь, обеспечивает их быстрое эндо-лизосомальное высвобождение, что способствует индуцированию гибели клеток преимущественно по механизмам апоптотического пути.

#### **3.5.1.** Синтез и характеризация гетерометаллических Ag<sub>x</sub>-Re<sub>6</sub> наночастиц

Дробная стехиометрия полученных ранее Ag(L)– $Re_6(OH)$  наноструктур [195] хорошо объясняется pH-зависимостью  $Re_6(OH)$  кластера. В то же время, данная особенность открывает возможность варьирования стехиометрии гетерометаллических наноструктур путем доведения pH исходных растворов  $Re_6(OH)$  кластера до определенных значений. В частности, в данной работе наносистемы были получены из водных растворов  $Re_6(OH)$  кластера при pH=7.2, доведенного либо раствором HCl, либо буфером TRIS (C=1×10<sup>-1</sup> M), а также при собственном pH раствора кластера (pH=8.5). Здесь и далее для удобства соответствующие системы будут обозначаться как  $Ag_x$ – $Re_6(II)$ ,  $Ag_x$ – $Re_6(II)$  и  $Ag_x$ – $Re_6(III)$ .

Методом атомно-эмиссионной спектроскопии растворов наноструктур были установлены соотношения элементов Ag:Re:P, в частности 3.0:6:2.0 для Ag<sub>x</sub>– Re<sub>6</sub>(III), 2.0:6:0.9 для Ag<sub>x</sub>–Re<sub>6</sub>(I) и 1.2:6:0.4 для Ag<sub>x</sub>–Re<sub>6</sub>(II) (Таблица 22).

**Таблица 22** – Стехиометрии Ag<sub>x</sub>–Re<sub>6</sub> наночастиц, полученных при различных значениях рН исходного раствора Re<sub>6</sub>(OH) кластера.

	рН	Ag:Re:P
$Ag_x - Re_6(I)$	7.2 (доведен HCl)	2.0:6:0.9
$Ag_x - Re_6(II)$	7.2 (доведен буфером TRIS)	1.2:6:0.4
Ag <sub>x</sub> -Re <sub>6</sub> (III)	8.5 (собственный pH p-ра кластера)	3.0:6:2.0
AgBF <sub>4</sub> -Re <sub>6</sub>	7.2 (доведен буфером TRIS)	4.5:6:-

Наблюдаемая тенденция к снижению содержания Ag при подкислении в интервале pH=8.5-7.2, предположительно, связана с постепенным увеличением протонированности [{Re<sub>6</sub>S<sub>8</sub>}(H<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>(OH)<sub>6-n</sub>]<sup>n-4</sup> кластера и, соответственно,

снижением его заряда. При этом содержание лиганда L, установленное определением количества P в коллоидах, также зависит от pH раствора кластера. Более того, нестехиометричные соотношения Ag:P, полученные для Ag<sub>x</sub>–Re<sub>6</sub>(I) и Ag<sub>x</sub>–Re<sub>6</sub>(II), указывают на незначительные количества L в наноструктурах и свидетельствуют против включения в них  $[AgL]^+$  фрагментов. При этом использование AgBF<sub>4</sub> вместо комплекса  $[Ag_2L_2](BF_4)_2$  приводит к получению наносистем с совершенно отличающимся соотношением Ag:Re (Таблица 22).

Гетерометаллические  $Ag_x$ -Re<sub>6</sub> наночастицы демонстрируют кластерцентрированную люминесценцию, интенсивность которой также зависит от условий их получения (Рисунок 77). В частности, интенсивность эмиссии  $Ag_x$ -Re<sub>6</sub> коллоидов, полученных при pH=7.2, выше по сравнению с синтезированными при pH=8.5 и полученными с использованием  $AgBF_4$  при pH=7.2. Кроме того, измеренные времена жизни возбужденного состояния ( $\tau$ ) для  $Ag_x$ -Re<sub>6</sub>(I) и  $Ag_x$ -Re<sub>6</sub>(II) коллоидов ( $3.40\pm0.06\times10^{-6}$  с) оказались выше по сравнению как с данными для Ag(L)-Re<sub>6</sub>(OH) наночастиц ( $2.59\pm0.15\times10^{-6}$  с), так и для раствора Re<sub>6</sub>(OH) кластера ( $3.01\pm0.06\times10^{-6}$  с) (Таблица 16).

Таким образом, среди представленных гетерометаллических наноструктур высокой интенсивностью люминесценции обладают  $Ag_x$ -Re<sub>6</sub>(I) и  $Ag_x$ -Re<sub>6</sub>(II), эмиссия которых к тому же остается стабильной как минимум в течение двух недель (Рисунок П17). В связи с этим данные системы были выбраны для дальнейшей характеризации и изучения биомедицинского потенциала.



Рисунок 77 – Спектры люминесценции растворов  $\text{Re}_6(\text{OH})$  кластера (1),  $\text{Ag}_x$ - $\text{Re}_6(\text{II})$  (2),  $\text{Ag}_x$ - $\text{Re}_6(\text{III})$  (3),  $\text{Ag}_x$ - $\text{Re}_6(\text{III})$  (4) и  $\text{AgBF}_4$ - $\text{Re}_6$  (5) наночастиц.  $C_{\text{кластер}}$ = $3 \times 10^{-5}$  M,  $\lambda_{\text{воз6}}$ =400 нм.

Сравнительный анализ ИК-спектров порошков исходных компонентов и соответствующих гетерометаллических  $Ag_x$ -Re<sub>6</sub>(I) наноструктур выявил присутствие в спектре наночастиц полос как кластерного блока, так и комплекса, однако эти полосы несколько изменены. В частности, вместо двух полос валентных колебаний OH-связи ( $v_{OH}$ ) при 3521 см<sup>-1</sup> и 3502 см<sup>-1</sup>, проявляющихся в спектре Re<sub>6</sub>(OH), в спектре наночастиц наблюдается одна полоса (Рисунок 78а). Кроме того, значительно снижается интенсивность полосы при 872 см<sup>-1</sup>, предположительно, связанной с валентными колебаниями Re–OH ( $v_{Re-OH}$ ). Наблюдаемые спектральные изменения связаны с протонированием OH-групп кластерных блоков. Также следует отметить отсутствие широкой полосы аниона  $BF_4^-$  при ~1050 см<sup>-1</sup>.



Рисунок 78 – а – ИК-спектры порошков комплекса  $[Ag_2L_2](BF_4)_2$  (1),  $Re_6(OH)$  кластера (2) и  $Ag_x$ - $Re_6(I)$  (3). б – ИК-спектры порошков  $Ag_x$ - $Re_6(I)$  (1) и  $Ag_x$ - $Re_6(II)$  (2).

Присутствующие в ИК-спектре  $Ag_x$ -Re<sub>6</sub>(I) полосы пиридильного фрагмента комплекса  $[Ag_2L_2](BF_4)_2$  (1445, 1562 и 1582 см<sup>-1</sup>) смещены в красную область по сравнению со спектром порошка исходного комплекса, что свидетельствует о диссоциации комплекса и согласуется с ранее представленными данными [195]. Низкая интенсивность полос лиганда *L* свидетельствует о небольших его количествах, что хорошо согласуется с представленными соотношениями Ag:Re:P (Таблица 22). ИК-спектры также были сняты для  $Ag_x$ -Re<sub>6</sub>(II), однако существенное перекрывание с полосами, относящимися к TRIS, не позволяет их анализировать (Рисунок 786). Методом порошковой дифрактометрии была выявлена идентичность и высокая степень кристалличности высушенных образцов  $Ag_x$ - $Re_6(I)$  и  $Ag_x$ - $Re_6(II)$  (Рисунок 79), что позволило индексацией экспериментальной дифрактограммы однозначно установить кубическую симметрию элементарной ячейки и ее параметры (*a*=11.78096(2) Å) (Таблица П6).



Рисунок 79 – а – Экспериментальная дифрактограмма высушенных Ag<sub>x</sub>–Re<sub>6</sub> коллоидов (1), а также порошковая дифрактограмма [{Re<sub>6</sub>Se<sub>8</sub>}(H<sub>2</sub>O)<sub>4</sub>(OH)<sub>2</sub>] кластера, рассчитанная по данным PCA (2), взятым из работы [152]. б – Две проекции кристаллической упаковки смоделированной структуры Ag<sub>2</sub>[{Re<sub>6</sub>S<sub>8</sub>}(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>(OH)<sub>4</sub>].

Важно отметить, что рассчитанные параметры элементарной ячейки для коллоидов отличаются от параметров схожей элементарной ячейки (a=12.084(4) Å) для кластера [{Re<sub>6</sub>Se<sub>8</sub>}(H<sub>2</sub>O)<sub>4</sub>(OH)<sub>2</sub>] [152], о чем также свидетельствует сравнительный анализ дифрактограмм (Рисунок 79). Более того, замена атома Se на S, а также различия в температурных условиях экспериментов ПРД и РСА не способны объяснить наблюдаемые несоответствия. В связи с этим, специфику дифрактограмм высушенных Ag<sub>x</sub>–Re<sub>6</sub>(I) и Ag<sub>x</sub>–Re<sub>6</sub>(II) целесообразно объяснить наличием ионов серебра в элементарной ячейке. Действительно, рассчитанная структура Ag<sub>2</sub>[{Re<sub>6</sub>S<sub>8</sub>}(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>(OH)<sub>4</sub>] обеспечивает адекватное соответствие

ПРД (Рисунки 79б. П18, Таблица П6). В данным свою очередь, супрамолекулярная структура в кристаллах коллоидов определяется в основном четырьмя связями Ag–S (три связи длиной 2.674(6) Å и одна связь длиной 2.346(3) Å), образующими 3D-координационный полимер (Рисунок 79б). Кроме того, отсутствие в представленной структуре лиганда L наряду с ранее полученными данными позволяет предположить координацию лиганда лишь по серебряным центрам, экспонированным на поверхности наночастиц.

Также стоит отметить, что структура  $Ag_2[\{Re_6S_8\}(H_2O)_2(OH)_4]$  хорошо согласуется с соотношением Ag:Re в  $Ag_x$ -Re<sub>6</sub>(I), однако не соответствует таковому в  $Ag_x$ -Re<sub>6</sub>(II) (Таблица 22), что позволяет предположить формальность соотношения Ag:Re в рассчитанной структуре и статистический характер распределения атомов серебра в среднем по объему образца. Это, в свою очередь, может проявляться в структурных дефектах, которые затрудняют рост монокристаллов хорошего качества и размера. Действительно, для наноструктур  $Ag_x$ -Re<sub>6</sub>(I) и  $Ag_x$ -Re<sub>6</sub>(II) с разным соотношением Ag:Re, имеющих одинаковые порошковые дифрактограммы, не удается получить кристаллы, пригодные для РСА. Области когерентного рассеяния, оцененные по методу Ритвельда, распределены в диапазоне 87–92 нм.

Фотографии, полученные на просвечивающем микроскопе, выявили существенные различия в размерах наночастиц  $Ag_x$ -Re<sub>6</sub>(I) и  $Ag_x$ -Re<sub>6</sub>(II) (Рисунок 80). В частности, размеры  $Ag_x$ -Re<sub>6</sub>(I) ( $d_{\Pi \ni M}$ =75±20 нм) очень близки к области когерентного рассеяния (87–92 нм), в то время как размеры  $Ag_x$ -Re<sub>6</sub>(II) ( $d_{\Pi \ni M}$ =325±50 нм) значительно превышают указанные значения (Таблица 23). Это свидетельствует об их повышенной агрегации в процессе высушивания растворов на подложке, что хорошо согласуется с несколько меньшими размерами в водных растворах ( $d_{колич}$ =199–252 нм) (Таблица 23), а также коррелирует с меньшим содержанием лиганда *L* (Таблица 22), что свидетельствует о ключевом его влиянии на межфазную стабилизацию коллоидных частиц.



Рисунок 80 – ПЭМ-изображения (а–в) и гистограммы распределения по размерам (г–е) Ag<sub>x</sub>-Re<sub>6</sub>(I) (а, г), Ag<sub>x</sub>-Re<sub>6</sub>(II) (б, д) и ПЭИ–Ag<sub>x</sub>-Re<sub>6</sub>(II) (в, е) наночастиц.

**Таблица 23** – Средние гидродинамические ( $d_{cp}$ , нм) и определенные по количественному распределению частиц ( $d_{колич}$ , нм) диаметры, ПДИ и ζ–потенциалы (ζ, мВ) наночастиц Ag<sub>x</sub>–Re<sub>6</sub> в воде и фосфатном буфере, а также размеры по данным ПЭМ ( $d_{ПЭM}$ ). С<sub>буфер</sub>=1×10<sup>-2</sup> М.

	<i>d</i> <sub>ср</sub> , нм	<i>d</i> колич, нм	пди	ζ, мВ	<i>d</i> пэм, нм
Ag <sub>x</sub> -Re <sub>6</sub> (I)	135±1	105-122	0.056	-25	75±20
$Ag_{x}-Re_{6}(I)^{*}$	267±23	164–190	0.329	-20	
лизоцим– $Ag_x$ – $Re_6(I)^*$	196±8	130–190	0.175	-4	
ПЭИ–Ад <sub>x</sub> –Re <sub>6</sub> (I)	137±2	105–122	0.082	+63	
ПЭИ– $Ag_x$ – $Re_6(I)^*$	1411±352	220–396	0.845	**	
Ag <sub>x</sub> -Re <sub>6</sub> (II)	312±4	199–252	0.053	-23	325±50
$Ag_x - Re_6(II)^*$	325±19	180–260	0.152	-18	
лизоцим–Ад <sub>x</sub> –Re <sub>6</sub> (II) <sup>*</sup>	360±16	190–310	0.144	-13	
ПЭИ- $Ag_x$ - $Re_6(II)$	394±13	258-300	0.202	+40	380±40
$\Pi$ ЭИ–Ag <sub>x</sub> –Re <sub>6</sub> (II) <sup>*</sup>	665±50	342–458	0.417	-11	

<sup>\*</sup> фосфатный буфер (pH=7.0)

\*\* полидисперсность слишком высока для адекватной оценки ζ-потенциала

Поскольку на значения средних размеров частиц ( $d_{cp}$ ), полученных методом динамического светорассеяния, могут оказывать влияние крупные агрегаты даже при малом их вкладе, наряду с ними в Таблице 23 также приведены значения размеров ( $d_{колич}$ ), определенные по количественному распределению частиц. При этом следует отметить хорошее соответствие значений d, полученных разными методами, для Ag<sub>x</sub>–Re<sub>6</sub>(I) и Ag<sub>x</sub>–Re<sub>6</sub>(II). Низкие значения ПДИ подтверждают

120

незначительную агрегацию отрицательно заряженных коллоидных частиц даже при переходе в буферные растворы, что связано со способностью Re<sub>6</sub> блоков, экспонированных на поверхности, подвергаться дополнительному депротонированию при связывании противоионов [192].

#### 3.5.2. Модификация поверхности гетерометаллических Ag<sub>x</sub>-Re<sub>6</sub> наночастиц

Отрицательные **С**–потенциалов  $Ag_{x}-Re_{6}(I)$  $Ag_{x}-Re_{6}(II)$ значения И модификации наночастиц являются предпосылкой для ИХ поверхности положительно заряженным ПЭИ. Действительно, эффективная перезарядка обоих типов наночастиц после их смешивания с ПЭИ и последующим фазовым разделением указывает на эффективную адсорбцию ПЭИ (Таблица 23).

Полученные ПЭИ–покрытые наночастицы, согласно данным ПЭМ и ДРС, практически тех же размеров, что и немодифицированные аналоги (Рисунки 80б, в, Таблица 23), однако индексы ПДИ свидетельствуют о некоторой их агрегации, значительно усиливающейся в буферных растворах, что согласуется с нейтрализацией поверхностного заряда. При этом процент кластерных блоков, вымытых из коллоидов после их обработки ПЭИ, незначителен, о чем свидетельствует очень слабая кластерная эмиссия супернатантов (Рисунок 81а).



Рисунок 81 – а – Спектры люминесценции ПЭИ–А $g_x$ –Re<sub>6</sub>(I) коллоидов (1) и супернатанта (2) после фазового разделения. С<sub>кластер</sub>= $3 \times 10^{-5}$  М,  $\lambda_{воз6}$ =400 нм. б, в – Спектры люминесценции A $g_x$ –Re<sub>6</sub>(I) (б, 1) и A $g_x$ –Re<sub>6</sub>(II) (в, 1), а также соответствующих лизоцим-покрытых (2) наночастиц. С<sub>кластер</sub>= $1 \times 10^{-5}$  М,  $\lambda_{воз6}$ =400 нм.

Кроме того, как было показано ранее, поверхность гетерометаллических наночастиц может быть модифицирована молекулами белков, в частности, лизоцимом. Суммарный положительный заряд его поверхности в нейтральных средах [184] является предпосылкой адсорбции на отрицательно заряженных  $Ag_{x}$ -Re<sub>6</sub>. Действительно, использование лизоцима (C=1.6×10<sup>-6</sup> M) приводит к частичной нейтрализации заряда поверхности частиц (Таблица 23). Также стоит отметить, что лизоцим-покрытые наночастицы демонстрируют агрегативную стабильность и люминесценцию на уровне с немодифицированными  $Ag_x$ -Re<sub>6</sub> коллоидами (Рисунки 81б, в).

# 3.5.3. Химическое поведение гетерометаллических Ag<sub>x</sub>–Re<sub>6</sub> наночастиц в слабокислых растворах и в присутствии GSH

Ключевое значение в потенциальном цитотоксическом воздействии  $Ag_x$ -Re<sub>6</sub> наночастиц имеет их химическое поведение. В частности, подкисление среды до pH=4.5–5.0 в специфических лизосомальных условиях может приводить к выходу  $Ag^+$ ,  $[AgL]^+$  и Re<sub>6</sub> фрагментов из коллоидов. В связи с этим, для выявления pH-индуцируемой диссоциации  $Ag_x$ -Re<sub>6</sub> наноструктур был проведен анализ спектров электронного поглощения супернатантов, полученных после диспергирования свежеприготовленных наночастиц в буферных растворах со значениями pH=4.0–7.4 с последующим разделением фаз с помощью центрифугирования (Рисунок 82). При этом отслеживание, осуществлявшееся в области электронного поглощения кластера (A=276 нм), не выявило его высвобождения. Это, в свою очередь, свидетельствует о химической стабильности  $Ag_x$ -Re<sub>6</sub>(I) и  $Ag_x$ -Re<sub>6</sub>(II) в условиях, моделирующих лизосомальное микроокружение.



**Рисунок 82** – а – Спектры поглощения раствора Re<sub>6</sub> кластера (1, C=1×10<sup>-5</sup> M) и супернатантов после фазового разделения Ag<sub>x</sub>–Re<sub>6</sub>(II) при различных pH. б – Зависимости A<sub>276</sub>– pH для супернатантов, полученных при фазовом разделении Ag<sub>x</sub>–Re<sub>6</sub>(I) (1) и Ag<sub>x</sub>–Re<sub>6</sub>(II) (2).

Наблюдаемое снижение интенсивности люминесценции Ag<sub>x</sub>-Re<sub>6</sub> при pH<5.5 наряду с перезарядкой поверхности частиц (от –20 до +20 мВ при pH=7.0 и 4.0, соответственно) свидетельствует о протонировании ОН-групп экспонированных на поверхности кластерных блоков (Рисунок 83), что коррелирует с описанной для них ранее pH-зависимой люминесценцией.



**Рисунок 83** – а – Значения  $\zeta$ -потенциалов наночастиц Ag<sub>x</sub>-Re<sub>6</sub>(I) (1) и Ag<sub>x</sub>-Re<sub>6</sub>(II) (2) при различных pH растворов. б – Интенсивности люминесценции коллоидов Ag<sub>x</sub>-Re<sub>6</sub>(II) при различных значениях pH раствора. С<sub>кластер</sub>= $3 \times 10^{-5}$  M,  $\lambda_{воз6}$ =400 нм.

Поскольку внутриклеточный уровень GSH, в зависимости от типа клеток, находится в пределах  $2 \times 10^{-3} - 1 \times 10^{-2}$  M [199], его влияние на спектры люминесценции коллоидов Ag<sub>x</sub>–Re<sub>6</sub> оценивали в крайних точках диапазона. В частности, аналогично ранее обсужденным результатам, добавление GSH (как при  $2 \times 10^{-3}$  M, так и при  $1 \times 10^{-2}$  M) сопровождается снижением интенсивности люминесценции как поверхностно-модифицированных, так и исходных Ag<sub>x</sub>–Re<sub>6</sub> наночастиц (Рисунок П19). При этом время, необходимое для достижения максимального люминесцентного отклика, коррелирует с размерами коллоидов Ag<sub>x</sub>–Re<sub>6</sub>: более развитая площадь поверхности Ag<sub>x</sub>–Re<sub>6</sub>(I) по сравнению с Ag<sub>x</sub>– Re<sub>6</sub>(II) обеспечивает большую доступность Ag-центров.

Модификация поверхности ПЭИ приводит к снижению люминесцентного отклика, что, вероятно, связано с электростатическим взаимодействием GSH/GS<sup>-</sup> форм глутатиона с полиэлектролитным слоем, приводящим к понижению доступности Ag<sub>x</sub>–Re<sub>6</sub> (Рисунок П19). В то же время, количества NH<sub>2</sub>/NH<sub>3</sub><sup>+</sup> групп адсорбированного на поверхности наночастиц лизоцима недостаточно для

достижения аналогичного эффекта, в связи с чем люминесцентный отклик лизоцим–Аg<sub>x</sub>–Re<sub>6</sub> наночастиц схож с откликом немодифицированных наночастиц.

# 3.5.4. Цитотоксичность, клеточная интернализация и внутриклеточное распределение гетерометаллических Ag<sub>x</sub>–Re<sub>6</sub> наночастиц

Для проведения экспериментов, связанных с изучением клеточного проникновения и внутриклеточного распределения, а также выявлением пути гибели клеток, необходима предварительная оценка цитотоксичности как комплекса  $[Ag_2L_2](BF_4)_2$  и наночастиц  $Ag_x$ —Re<sub>6</sub>, так и ПЭИ- и лизоцим-модифицированных структур. Значения IC<sub>50</sub>, рассчитанные на основе данных о жизнеспособности клеточных линий M-HeLa и Chang Liver, инкубированных гетерометаллическими наноструктурами при различных концентрациях, представлены в Таблице 24 и отнесены к концентрациям Re<sub>6</sub> блоков.

**Таблица 24** – Значения IC<sub>50</sub>, рассчитанные для клеточных линий M-HeLa и Chang Liver, инкубированных комплексом [Ag<sub>2</sub>L<sub>2</sub>](BF<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, гетерометаллическими наночастицами Ag<sub>x</sub>–Re<sub>6</sub> и поверхностно-модифицированными структурами.

	IC50, ×10 <sup>-6</sup> M		
	M-HeLa	Chang Liver	
$[Ag_2L_2](BF_4)_2$	9.3±0.6	5.9±0.4	
$Ag_x - Re_6(I)$	14.6±1.1	15.0±1.2	
лизоцим–Ад <sub>x</sub> –Re <sub>6</sub> (I)	13.0±0.8	12±0.9	
ПЭИ-Ад <sub>x</sub> -Re <sub>6</sub> (I)	$8.8{\pm}0.8$	7.1±0.6	
Ag <sub>x</sub> -Re <sub>6</sub> (II)	>15	14.3±1.0	
лизоцим–Ад <sub>х</sub> –Re <sub>6</sub> (II)	>15	>15	
ПЭИ–Ад <sub>x</sub> –Re <sub>6</sub> (II)	9.4±0.5	9.0±0.6	

Слабое цитотоксическое воздействие  $K_4[{Re_6S_8}(OH)_6]$  кластера, выявленное ранее для клеток линии HeLa [200] (IC<sub>50</sub>>1×10<sup>-4</sup> M), указывает на значительный вклад в цитотоксичность полученных в данной работе наночастиц Ag-содержащих фрагментов. Последние могут связываться с внутриклеточными тиолами, способствуя, тем самым, нарушению окислительно-восстановительного баланса и индуцированию гибели клеток. Действительно, результаты проточной цитометрии позволили установить апоптотический путь в качестве преобладающей причины гибели раковых клеток M-HeLa после их инкубации комплексом  $[Ag_2L_2](BF_4)_2$  (Рисунок 84а), что согласуется с его химическим поведением, описанным ранее. Тем не менее, нельзя исключать взаимодействие с другими биомолекулами, такими как белки, ДНК и тиоредоксин-редуктаза, что также может вносить вклад в цитотоксический эффект.



Рисунок 84 – Данные проточной цитометрии клеток M-HeLa, инкубированных различными концентрациями (а) комплекса [Ag<sub>2</sub>L<sub>2</sub>](BF<sub>4</sub>)<sub>2</sub> и (б) Ag<sub>x</sub>–Re<sub>6</sub>(II) (1) и ПЭИ–Ag<sub>x</sub>– Re<sub>6</sub>(II) (2) наночастиц после окрашивания Аннексином V и PI. L – живые клетки; D – мертвые клетки; E.a. – ранние апоптотические клетки; L.a. – клетки позднего апоптоза.

Люминесцентные свойства наноструктур позволяют оценить эффективность их клеточного проникновения методом проточной цитометрии (Рисунок 85). Так, если для исходных отрицательно заряженных  $Ag_x$ – $Re_6(I)$  и  $Ag_x$ – $Re_6(II)$  наночастиц характерна низкая степень интернализации, то модификация поверхности лизоцимом способствует некоторому ее повышению, в то время как

положительно заряженные ПЭИ–покрытые наноструктуры наиболее эффективно проникают как в раковые, так и нормальные клеточные линии.



Рисунок 85 – Изучение клеточной интернализации наночастиц. а – 1 – контроль, 2 –  $Ag_x$ - $Re_6(I)$ , 3 – лизоцим- $Ag_x$ - $Re_6(I)$  и 4 – ПЭИ– $Ag_x$ - $Re_6(I)$ . б – 1 – контроль, 2 –  $Ag_x$ - $Re_6(II)$ , 3 – лизоцим- $Ag_x$ - $Re_6(II)$  и 4 – ПЭИ– $Ag_x$ - $Re_6(II)$ . С<sub>кластер</sub>=7.5×10<sup>-6</sup> М.

Полученные ранее результаты (Рисунки 82, 83), свидетельствующие о химической стабильности гетерометаллических структур и их способности к связыванию H<sup>+</sup> в слабокислых средах, позволяют предположить потенциальное проявление для данных наноструктур так называемого «эффекта протонной губки», обеспечивающего быстрый выход наночастиц из лизосом.

Действительно, методом конфокальной микроскопии установлено быстрое эндо-лизосомальное высвобождение как исходных  $Ag_x$ -Re<sub>6</sub>(II), так и поверхностно-модифицированных коллоидов, что подтверждает реализацию «эффекта протонной губки» (Рисунок 86). Рассчитанные коэффициенты корреляции Пирсона (РСС):  $Ag_x$ -Re<sub>6</sub>(II)=0.18, лизоцим-Ag\_x-Re<sub>6</sub>(II)=0.37, ПЭИ-Ag\_x-Re<sub>6</sub>(II)=0.28. При этом снижение значения РСС от 0.37 до 0.28 при переходе от лизоцим-Ag\_x-Re<sub>6</sub>(II) к ПЭИ-Ag\_x-Re<sub>6</sub>(II) наночастицам можно объяснить вкладом в высвобождение «эффекта протонной губки» ПЭИ-слоя.

	Образец	Blue DND 22	Наложение
Ag <sub>x</sub> –Re <sub>6</sub> (II)	СС боло с 25 µм	<u>25 рм</u>	ССС 1 (1) (1) (1) (1) (1) (1) (1) (1) (1) (
лизоцим–Ag <sub>x</sub> –Re <sub>6</sub> (II)	25 µм	25 µx	<u>25 μν</u>
ПЭИ–Ag <sub>x</sub> –Re <sub>6</sub> (II)	<u>25 рм</u>	<u>25 μм</u>	25 рм

Рисунок 86 – Анализ колокализации наночастиц  $Ag_x$ - $Re_6(II)$ , лизоцим- $Ag_x$ - $Re_6(II)$ , ПЭИ- $Ag_x$ - $Re_6(II)$  и LysoTracker Blue DND 22 после 24 ч инкубации клеток M-HeLa. С<sub>кластер</sub>=1×10<sup>-5</sup> M, С<sub>Blue DND 22</sub>=1×10<sup>-6</sup> M.  $\lambda_{B036}$ (наночастиц)=405 нм,  $\lambda_{B036}$ (Blue DND 22)=373 нм.

Bo внутриклеточной среде Ag<sub>x</sub>-Re<sub>6</sub> наночастицы не подвергаются разрушению, что коррелирует с более высокими значениями IC<sub>50</sub> коллоидов Ag<sub>x</sub>-Re<sub>6</sub>(I) и Ag<sub>x</sub>-Re<sub>6</sub>(II) по сравнению с комплексом [Ag<sub>2</sub>L<sub>2</sub>](BF<sub>4</sub>)<sub>2</sub>. Это позволяет предположить, что механизм их цитотоксического воздействия отличается от такового для [Ag<sub>2</sub>L<sub>2</sub>](BF<sub>4</sub>)<sub>2</sub>. Действительно, результаты проточной цитометрии выявили как апоптотические, так и неапоптотические пути гибели клеток (Рисунки 846, П20). При этом поверхностная модификация наноструктур влияет на соотношение ранних и поздних апоптотических клеток по отношению к неапоптотическим. В частности, гибель клеток, инкубированных как Ag<sub>x</sub>-Re<sub>6</sub>, так и лизоцим-Аg<sub>x</sub>-Re<sub>6</sub>, осуществляется преимущественно по апоптотическому пути. В то же время повышенный по сравнению с другими наноструктурами цитотоксический эффект ПЭИ-покрытых наночастиц обусловлен неапоптотическим механизмом гибели, что коррелирует как с экранирующим действием ПЭИ-слоя по отношению к GSH, так и с их повышенной клеточной интернализацией.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1) Впервые получены охарактеризованы полиэлектролит-И стабилизированные наночастицы на основе комплекса Au(I) с 1,5-бис(паратолил)-3,7-бис(пиридин-2-ил)-1,5-диаза-3,7-дифосфациклооктановым лигандом ((AuCl)<sub>2</sub>L), обладающие повышенной устойчивостью в широком интервале pH, а также в присутствии восстанавливающих и координирующих агентов. Кроме того, впервые продемонстрировано, что наноструктуры на основе комплекса (AuCl)<sub>2</sub>L способны проявлять сенсорные свойства по отношению к низкомолекулярным биотиолам водных обусловленные В растворах, восстанавливающей и координирующей способностью последних.

2) Для полиэлектролит-стабилизированных наноструктур на основе комплекса (AuCl)<sub>2</sub>L выявлена реализация двух моделей взаимодействия с молекулами белков в рамках известной модели «мягкой и жесткой белковой короны», что, в свою очередь, может оказывать влияние на цитотоксическую активность наночастиц. Более того, установлено отсутствие непосредственного взаимодействия включенных в полиэлектролитную матрицу комплексов (AuCl)<sub>2</sub>L с важнейшим внутриклеточным биотиолом тиоредоксином, входящим в систему контроля окислительного стресса в клетках.

3) Впервые получены И охарактеризованы гетерометаллические наночастицы, образующиеся в результате электростатического притяжения водорастворимых люминесцентных анионных  $[{Mo_6I_8}(L')_6]^{2-}$  (L'=I<sup>-</sup>, CH<sub>3</sub>COO<sup>-</sup>) и катионных  $[Au_2L_2]^{2+}$  блоков. Показано, что включение комплекса  $[Au_2L_2]^{2+}$  в гетерометаллические наноструктуры сопровождается значительным снижением цитотоксичности и изменением механизма гибели клеток. Установлено, что кластеров варьирование структуры анионных приводит изменению К кристалличности и размера наночастиц, что влияет на их агрегационное внутриклеточное распределение. Кроме того, включение в поведение и наночастицы фотодинамически активных гексамолибденовых кластеров

обеспечивает возможность «*включать*» цитотоксичность при облучении инкубированных наночастицами клеточных образцов.

Впервые получены гетерометаллические наночастицы, образующиеся 4) в результате электростатического взаимодействия комплекса [Au<sub>2</sub>L<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> и гексарениевых  $[{Re_6Q_8}(OH)_6]^{4-}$  (Q=S<sup>2-</sup>, Se<sup>2-</sup>) кластеров. Показано, что способность к ступенчатому протонированию апикальных гидроксильных лигандов способствует перезарядке кластерного блока и, соответственно, разборке наноструктур с высвобождением цитотоксичного комплекса  $[Au_2L_2]^{2\scriptscriptstyle +}$  в повышенной кислотности, моделирующих лизосомальное условиях микроокружение. Установленная реализация лизосомального пути наноструктур, сопровождающегося разрывом лизосомальной мембраны, коррелирует с их цитотоксичностью на уровне «свободного» комплекса [Au<sub>2</sub>L<sub>2</sub>]Cl<sub>2</sub>, хотя вклад апоптотических процессов в гибель клеток отличает цитотоксическое воздействие наноразмерных структур от комплекса.

5) Установлены закономерности образования гетерометаллических наноструктур на основе комплекса Ag(I) с 6-метилпиридин-2-илфосфолановым лигандом ( $[Ag_2L_2]^{2+}$ ) с гексарениевыми кластерами состава  $[{Re_6S_8}(L')_6]^{4-}$  ( $L'=SO_3^{2-}$ ,  $CN^-$ ,  $OH^-$ ) в водных растворах. Показана решающая роль природы апикального лиганда кластеров L' для реализации координационных взаимодействий, которые являются основными движущими силами самосборки кластерных блоков и ионов Ag<sup>+</sup> или фрагментов  $[AgL]^+$ . Продемонстрирована возможность использования проявляемых наноструктурами люминесцентных свойств для распознавания биотиолов в водных растворах.

6) Впервые установлена возможность варьирования стехиометрического люминесцентных свойств гетерометаллических соотношения, размеров И наноструктур на основе pH-зависимого [{Re<sub>6</sub>S<sub>8</sub>}(OH)<sub>6</sub>]<sup>4-</sup> кластера и комплекса [Ag<sub>2</sub>L<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>. Показано, что реализация координационного связывания обеспечивает их стабильность в слабокислых условиях. Полученные наночастицы являются первым примером неорганических структур, для которых продемонстрирована реализация «эффекта протонной губки», обеспечивающего быстрое

лизосомальное высвобождение и возможность контролируемого воздействия на клетки. Кроме того, установлена корреляция выявленного влияния поверхностной модификации наночастиц на цитотоксическое воздействие и пути гибели клеток со способностью наноструктур к взаимодействию с внутриклеточным тиолом глутатионом.

Перспективы дальнейшей разработки темы. Полученные в ходе выполнения диссертационной работы результаты, а именно разработанные синтетические подходы к получению наносистем на основе комплексов ионов d<sup>10</sup>металлов, а также выявленные для них корреляции типа «структура-свойство» являются фундаментальной основой для дальнейшего направленного создания функциональных наносистем. В частности, планируется расширение ряда как комплексов d<sup>10</sup>-металлов, в том числе за счет нейтральных и катионных комплексов Cu(I), перспективных благодаря проявляемой химиодинамической активности, так и кластерных анионов путем рационального подбора структур с различным лигандным окружением для получения новых наносистем с функциями сенсоров, терапевтических и контрастных агентов.

## СПИСОК УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ И СОКРАЩЕНИЙ

- АО акридиновый оранжевый
- АФК активные формы кислорода
- БСА бычий сывороточный альбумин
- ДРС метод динамического рассеяния света
- ЖФБ желтый флуоресцентный белок
- КД спектроскопия кругового дихроизма
- ЛППР локальный поверхностный плазмонный резонанс
- МКС металл-органические каркасные структуры
- ПДИ индекс полидисперсности
- ПЛ поли-DL-лизин гидробромид
- ПРД метод порошковой рентгеновской дифракции
- ПСС полистиролсульфонат

ПЭИ – полиэтиленимин

- ПЭМ метод просвечивающей электронной микроскопии
- ЭДТА этилендиамминтетраацетат-анион
- ЭПР метод электронного парамагнитного резонанса

Ag<sub>x</sub>-Re<sub>6</sub>(I) – наночастицы, полученные из раствора кластера с pH=7.2 (доведен HCl)

Ag<sub>x</sub>-Re<sub>6</sub>(II) – наночастицы, полученные из раствора кластера с pH=7.2 (доведен буфером TRIS)

Аg<sub>x</sub>-Re<sub>6</sub>(III) – наночастицы, полученные из раствора кластера с pH=8.5 (собственный pH раствора кластера)

Chang Liver – нормальные клетки печени

Cys-L-цистеин

 $d_{\rm cp}$  – средний гидродинамический диаметр

 $d_{\text{колич}}$  – размеры частиц, полученные по данным распределения по количеству

DTT – дитиотреитол

ESI – масс-спектрометрия с ионизацией распылением в электрическом поле

GR – глутатион-редуктаза

GSH – глутатион

Нсу – L-гомоцистеин

IRMOF – изоретикулярные металл-органические каркасы

IC<sub>50</sub> – концентрация полумаксимального ингибирования

IL – лиганд-центрированные или внутрилигандные переходы

ISC – интеркомбинационная конверсия

k<sub>фл</sub> – константа скорости флуоресценции

k<sub>ISC</sub> – константа скорости интеркомбинационной конверсии

L-1,5-бис(пара-толил)-3,7-бис(пиридин-2-ил)-1,5-диаза-3,7- дифосфациклооктан

 $L' - I^-$ или  $CH_3COO^-$ 

*L* – 6-метилпиридин-2-илфосфолан

 $L' - \mathrm{SO}_3^{2-}$ ,  $\mathrm{CN}^-$ или  $\mathrm{OH}^-$ 

LLCТ – переходы с лиганда на лиганд

LMCТ – переходы с лиганда на металл

MES – гидрат 2-(N-морфолино)этансульфоновой кислоты

M-HeLa – клетки эпителиоидной карциномы шейки матки

МС – металл-центрированные переходы

MIL – материалы Института Лавуазье

MLCТ – переходы с металла на лиганд

ММСТ – переходы с металла на металл

РСС – коэффициент корреляции Пирсона

РСМ – пористые координационные сети

PI – пропидий йодид

pI – pH растворов белков в изоэлектрических точках

 $Re_6(CN) -$ кластер [ ${Re_6S_8}(CN)_6$ ]<sup>4-</sup>

 $Re_6(OH) - \kappa ластер [{Re_6S_8}(OH)_6]^{4-}$ 

 $Re_6(SO_3) - \kappa$ ластер  $[{Re_6S_8}(SO_3)_6]^{10-}$ 

RISC – «обратная» интеркомбинационная конверсия

 $S_{n}-\mbox{синглетное}$  возбужденное состояние

- ТАDF термически-активированная замедленная флуоресценция
- TRIS гидрохлорид трис(гидроксиметил)аминометана
- Trx1, Trx2 цитозольный и митохондриальный тиоредоксины
- TrxR1, TrxR2 цитозольный и митохондриальный тиоредоксин-редуктазы
- UIО каркасы Университета Осло
- Wi-38 нормальные клетки легких
- ζ-потенциал электрокинетический потенциал
- ZIF цеолитоподобные имидазолатные каркасы

### СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Gale, P. Supramolecular Chemistry: From Molecules to Nanomaterials / P.
 Gale, J. Steed // Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, Germany, 2012.

2) Tiwari, A. Nanomaterials in Drug Delivery, Imaging, and Tissue Engineering / A. Tiwari, A. Tiwari // Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, Germany, 2013.

 Shcherbina, M. A. Driving Forces of the Self-Assembly of Supramolecular Systems: Partially Ordered Mesophases / M. A. Shcherbina, S. N. Chvalun // Russ. J. Phys. Chem. A – 2018. – V. 92. – №. 6. – P. 1161–1170.

Grzelczak, M. Stimuli-responsive self-assembly of nanoparticles / M.
 Grzelczak, L. M. Liz-Marzán, R. Klajn // Chem. Soc. Rev. – 2019. – V. 48. – №. 5. – P.
 1342–1361.

5) Li, F. Stimuli-responsive nano-assemblies for remotely controlled drug delivery / F. Li, Y. Qin, J. Lee, H. Liao, N. Wang, T. P. Davis, R. Qiao, D. Ling // J. Controlled Release. – 2020. – V. 322. – P. 566–592.

 Wang, J. Assembly behaviors of calixarene-based amphiphile and supraamphiphile and the applications in drug delivery and protein recognition / J. Wang, X.
 Ding, X. Guo // Adv. Colloid Interface Sci. – 2019. – V. 269. – P. 187–202.

7) Zhou, F. Theranostic prodrug vesicles for reactive oxygen species-triggered ultrafast drug release and local-regional therapy of metastatic triple-negative breast cancer / F. Zhou, B. Feng, T. Wang, D. Wang, Z. Cui, S. Wang, C. Ding, Z. Zhang, J. Liu, H. Yu, Y. Li // Adv. Funct. Mater. – 2017. – V. 27. – №. 46. – P. 1703674.

8) Fan, G. Co-self-assembled nanoaggregates of BODIPY amphiphiles for dual colour imaging of live cells / G. Fan, Y. X. Lin, L. Yang, F. P. Gao, Y. X. Zhao, Z. Y. Qiao // Chem. Comm. – 2015. – V. 51. – №. 62. – P. 12447–12450.

9) Jiao, J. Photo-responsive prodrug nanoparticles for efficient cytoplasmic delivery and synergistic photodynamic-chemotherapy of metastatic triple-negative breast cancer / J. Jiao, H. Lu, S. Wang // Acta Biomater. – 2021. – V. 126. – P. 421–432.

10) Li, B. Self-Assembled Supramolecular Nanoparticles for Targeted Delivery and Combination Chemotherapy / B. Li, Z. Feng, L. He, W. Li, Q. Wang, J. Liu, J. Juang, Y. Zheng, Y. Ma, X. Yang, K. Wang // ChemMedChem. – 2018. – V. 13. – №. 19. – P. 2037–2044.

Cook, M. T. Polymers exhibiting lower critical solution temperatures as a route to thermoreversible gelators for healthcare / M. T. Cook, P. Haddow, S. B. Kirton, W. J. McAuley // Adv. Funct. Mater. – 2021. – V. 31. – №. 8. – P. 2008123.

12) Wang, Y. Supramolecular peptide nano-assemblies for cancer diagnosis and therapy: from molecular design to material synthesis and function-specific applications / Y. Wang, X. Zhang, K. Wan, N. Zhou, G. Wei, Z. Su // J. Nanobiotechnol.  $-2021. - V. 19. - N_{\odot}. 1. - P. 1-31.$ 

13) Mahalunkar, S. Functional design of pH-responsive folate-targeted polymer-coated gold nanoparticles for drug delivery and in vivo therapy in breast cancer
/ S. Mahalunkar, A. S. Yadav, M. Gorain, V. Pawar, R. Braathen, S. Weiss, B. Bogen,
S. W. Gosavi, G. C. Kundu // Int. J. Nanomed. – 2019. – V. 14. – P. 8285.

14) Ahmadkhani, L. Synthesis and Evaluation of a Triblock Copolymer/ZnO Nanoparticles from Poly ( $\epsilon$ -caprolactone) and Poly (Acrylic Acid) as a Potential Drug Delivery Carrier / L. Ahmadkhani, A. Baghban, S. Mohammadpoor, R. Khalilov, A. Akbarzadeh, T. Kavetskyy, S. Saghfi, A. N. Nasibova // Drug Res. – 2017. – V. 67. – No. 04. – P. 228–238.

15) Knights-Mitchell, S. S. Near-infrared activated release of doxorubicin from plasmon resonant liposomes / S. S. Knights-Mitchell, M. Romanowski // Nanotheranostics.  $-2018. - V. 2. - N_{\odot}. 4. - P. 295.$ 

16) Lei, Q. Gold nanocluster decorated polypeptide/DNA complexes for NIR light and redox dual-responsive gene transfection / Q. Lei, J. J. Hu, L. Rong, H. Cheng, Y. X. Sun, X. Z. Zhang // Molecules. – 2016. – V. 21. – №. 8. – P. 1103.

17) Liang, B. Biomimetic theranostic strategy for anti-metastasis therapy of breast cancer via the macrophage membrane camouflaged superparticles / B. Liang, T. Deng, J. Li, X. Ouyang, W. Na, D. Deng // Mat. Sci. Eng. C. – 2020. – V. 115. – P. 111097.

18) Martín-Saavedra, F. Lipogels responsive to near-infrared light for the triggered release of therapeutic agents / F. Martín-Saavedra, E. Ruiz-Hernández, C. Escudero-Duch, M. Prieto, M. Arruebo, N. Sadeghi, R. Deckers, G. Storm, W. E. Hennink, J. Santamaria, N. Vilaboa // Acta Biomater. – 2017. – V. 61. – P. 54–65.

19) Deng, Z. Self-healing conductive hydrogels: preparation, properties and applications / Z. Deng, H. Wang, P. X. Ma, B. Guo // Nanoscale. – 2020. – V. 12. – №.
3. – P. 1224–1246.

20) Li, B. Preparation, characterization, and in vitro pH-sensitivity evaluation of superparamagnetic iron oxide nanoparticle-misonidazole pH-sensitive liposomes / B. Li, B. Li, D. He, C. Feng, Z. Luo, M. He // Curr. Drug Delivery. – 2019. – V. 16. – №. 3. – P. 254–267.

21) Kokkinos, C. 3D-printed lab-in-a-syringe voltammetric cell based on a working electrode modified with a highly efficient Ca-MOF sorbent for the determination of Hg (II) / C. Kokkinos, A. Economou, A. Pournara, M. Manos, I. Spanopoulos, M. Kanatzidis, T. Tziotzi, V. Petkov, A. Margariti, P. Oikonomopoulos, G. S. Papaefstathiou // Sens. Actuators, B. – 2020. – V. 321. – P. 128508.

22) Wang, Y. W. A robust and efficient aqueous electrochemiluminescence emitter constructed by sulfonate porphyrin-based metal–organic frameworks and its application in ascorbic acid detection / Y. W. Wang, L. J. Nan, Y. R. Jiang, M. F. Fan, J. Chen, P. X. Yuan, A. J. Wang, J. J. Feng // Analyst. – 2020. – V. 145. – №. 7. – P. 2758–2766.

23) Laha, D. Fabrication of curcumin-loaded folic acid-tagged metal organic framework for triple negative breast cancer therapy in in vitro and in vivo systems / D. Laha, K. Pal, A. R. Chowdhuri, P. K. Parida, S. K. Sahu, K. Jana, P. Karmakar // New J. Chem.  $-2019. - V. 43. - N_{\odot}. 1. - P. 217-229.$ 

24) Cognet, M. Pillared sulfonate-based metal-organic framework as negative electrode for Li-ion batteries / M. Cognet, T. Gutel, R. Gautier, X. F. Le Goff, A. Mesbah, N. Dacheux, M. Carboni, D. Meyer // Mater. Lett. – 2019. – V. 236. – P. 73–76.

25) Wang, H. One-pot synthesis of poly (ethylene glycol) modified zeolitic imidazolate framework-8 nanoparticles: Size control, surface modification and drug encapsulation / H. Wang, T. Li, J. Li, W. Tong, C. Gao // Colloids Surf., A. – 2019. – V. 568. – P. 224–230.

26) Sarker, M. Functionalized mesoporous metal-organic framework PCN-100: an efficient carrier for vitamin E storage and delivery / M. Sarker, S. Shin, S. H. Jhung // J. Ind. Eng. Chem. – 2019. – V. 74. – P. 158–163.

27) Chen, D. M. Template-directed synthesis of a luminescent Tb-MOF material for highly selective  $Fe^{3+}$  and  $Al^{3+}$  ion detection and VOC vapor sensing / D. M. Chen, N. N. Zhang, C. S. Liu, M. Du // J. Mater. Chem. C. – 2017. – V. 5. – No. 9. – P. 2311–2317.

28) Levenson, D. A. Particle size dependence of proton conduction in a cationic lanthanum phosphonate MOF / D. A. Levenson, J. Zhang, B. S. Gelfand, S. P. Kammampata, V. Thangadurai, G. K. Shimizu // Dalton Trans. – 2020. – V. 49. –  $N_{\odot}$ . 13. – P. 4022–4029.

29) Qin, L. Structures and applications of metal–organic frameworks featuring metal clusters / L. Qin, H. G. Zheng // CrystEngComm. – 2017. – V. 19. – №. 5. – P. 745–757.

30) Yang, C. Organic/Inorganic Self-Assembled Hybrid Nano-Architectures for Cancer Therapy Applications / C. Yang, Z. I. Lin, J. A. Chen, Z. Xu, J. Gu, W. C. Law, J. H. C. Yang, C. K. Chen // Macromol. Biosci. – 2022. – V. 22. – №. 2. – P. 2100349.

31) Ediriweera, G. R. Targeted and modular architectural polymers employing bioorthogonal chemistry for quantitative therapeutic delivery / G. R. Ediriweera, J. D. Simpson, A. V. Fuchs, T. K. Venkatachalam, M. Van De Walle, C. B. Howard, S. M. Mahler, J. P. Blinco, N. L. Fletcher, Z. H. Houston, C. A. Bell, K. J. Thurecht // Chem. Sci.  $-2020. - V. 11. - N_{\odot}. 12. - P. 3268-3280.$ 

32) de Lima, P. H. C. Liposome surface modification by phospholipid chemical reactions / P. H. C. de Lima, A. P. Butera, L. F. Cabeça, R. M. Ribeiro-Viana // Chem. Phys. Lipids. – 2021. – V. 237. – P. 105084.

33) Cheng, R. Bioresponsive polymeric nanotherapeutics for targeted cancer chemotherapy / R. Cheng, F. Meng, C. Deng, Z. Zhong // Nano Today. – 2015. – V. 10.
– №. 5. – P. 656–670.

34) Araste, F. Self-assembled polymeric vesicles: Focus on polymersomes in cancer treatment / F. Araste, A. Aliabadi, K. Abnous, S. M. Taghdisi, M. Ramezani, M. Alibolandi // J. Controlled Release. – 2021. – V. 330. – P. 502–528.

35) Zhu, Y. J. pH-responsive drug-delivery systems / Y. J. Zhu, F. Chen // Chem. - Asian J. – 2015. – V. 10. – №. 2. – P. 284–305.

36) Guo, X. Advances in redox-responsive drug delivery systems of tumor microenvironment / X. Guo, Y. Cheng, X. Zhao, Y. Luo, J. Chen, W. E. Yuan // J. Nanobiotechnol.  $-2018. - V. 16. - N_{\odot}. 1. - P. 1-10.$ 

37) Shahriari, M. Enzyme responsive drug delivery systems in cancer treatment
/ M. Shahriari, M. Zahiri, K. Abnous, S. M. Taghdisi, M. Ramezani, M. Alibolandi // J.
Controlled Release. – 2019. – V. 308. – P. 172–189.

38) Gu, X. Temperature-responsive drug delivery systems based on polyaspartamides with isopropylamine pendant groups / X. Gu, J. Wang, X. Liu, D. Zhao, Y. Wang, H. Gao, G. Wu // Soft Matter.  $-2013 - V. 9 - N_{\odot} \cdot 30 - P. 7267 - 7273$ .

39) Cao, S. Amphiphilic AIEgen-polymer aggregates: Design, self-assembly and biomedical applications / S. Cao, J. Shao, L. K. Abdelmohsen, J. C. van Hest // Aggregate.  $-2022. - V. 3. - N_{\odot}. 1. - P. e128.$ 

40) Youn, Y. S. Perspectives on the past, present, and future of cancer nanomedicine / Y. S. Youn, Y. H. Bae // Adv. Drug Delivery Rev. – 2018. – V. 130. – P. 3–11.

41) Seaberg, J. Hybrid nanosystems for biomedical applications / J. Seaberg, H. Montazerian, M. N. Hossen, R. Bhattacharya, A. Khademhosseini, P. Mukherjee // ACS Nano.  $-2021. - V. 15. - N_{\odot}. 2. - P. 2099-2142.$ 

42) Niu, H. Molecular Stereocomplexation for Enhancing the Stability of Nanoparticles Encapsulated in Polymeric Micelles for Magnetic Resonance Imaging / H. Niu, J. Li, Q. Cai, X. Wang, F. Luo, J. Gong, Z. Qiang, J. Ren // Langmuir. – 2020. – V.  $36. - N_{\odot}. 46. - P. 13881-13889.$ 

43) Erogbogbo, F. In vivo targeted cancer imaging, sentinel lymph node mapping and multi-channel imaging with biocompatible silicon nanocrystals / F. Erogbogbo, K. T. Yong, I. Roy, R. Hu, W. C. Law, W. Zhao, H. Ding, F. Wu, R. Kumar, M. T. Swihart, P. N. Prasad //ACS Nano.  $-2011. - V. 5. - N_{\odot}. 1. - P. 413-423.$ 

44) Choi, J. Y. PEGylated lipid bilayer-supported mesoporous silica nanoparticle composite for synergistic co-delivery of axitinib and celastrol in multi-targeted cancer therapy / J. Y. Choi, T. Ramasamy, S. Y. Kim, J. Kim, S. K. Ku, Y. S. Youn, J. R. Kim, J. H. Jeong, H. G. Choi, C. S. Yong, J. O. Kim // Acta Biomater. – 2016. – V. 39. – P. 94–105.

45) Khazieva, A. Surface modification of silica nanoparticles by hexarhenium anionic cluster complexes for pH-sensing and staining of cell nuclei / A. Khazieva, K. Kholin, I. Nizameev, K. Brylev, I. Kashnik, A. Voloshina, A. Lyubina, A. Gubaidullin, A. Daminova, K. Petrov, A. Mustafina // J. Colloid Interface Sci. – 2021. – V. 594. – P. 759–769.

46) Liang, X. Photothermal cancer immunotherapy by erythrocyte membranecoated black phosphorus formulation / X. Liang, X. Ye, C. Wang, C. Xing, Q. Miao, Z. Xie, X. Chen, X. Zhang, H. Zhang, L. Mei // J. Controlled Release. – 2019. – V. 296. – P. 150–161.

47) Shao, J. Erythrocyte membrane modified janus polymeric motors for thrombus therapy / J. Shao, M. Abdelghani, G. Shen, S. Cao, D. S. Williams, J. C. van Hest // ACS Nano.  $-2018. - V. 12. - N_{\odot}. 5. - P. 4877-4885.$ 

48) De Villiers, M. M. Introduction to nanocoatings produced by layer-by-layer
(LbL) self-assembly / M. M. De Villiers, D. P. Otto, S. J. Strydom, Y. M. Lvov // Adv.
Drug Delivery Rev. – 2011. – V. 63. – №. 9. – P. 701–715.

49) Chapel, J. P. Versatile electrostatic assembly of nanoparticles and polyelectrolytes: Coating, clustering and layer-by-layer processes / J. P. Chapel, J. F. Berret // Curr. Opin. Colloid Interface Sci. – 2012. – V. 17. – No. 2. – P. 97–105.

50) Scaletti, F. Protein delivery into cells using inorganic nanoparticle–protein supramolecular assemblies / F. Scaletti, J. Hardie, Y. W. Lee, D. C. Luther, M. Ray, V. M. Rotello // Chem. Soc. Rev. – 2018. – V. 47. – №. 10. – P. 3421–3432.

51) Mout, R. General strategy for direct cytosolic protein delivery via proteinnanoparticle co-engineering / R. Mout, M. Ray, T. Tay, K. Sasaki, G. Yesilbag Tonga,
V. M. Rotello // ACS Nano. – 2017. – V. 11. – №. 6. – Р. 6416–6421.

52) Yang, H. Y. Multifunctional and redox-responsive self-assembled magnetic nanovectors for protein delivery and dual-modal imaging / H. Y. Yang, M. S. Jang, Y. Li, J. H. Lee, D. S. Lee // ACS Appl. Mater. Interfaces. – 2017. – V. 9. – №. 22. – P. 19184–19192.

53) Zheng, Y. Design of metal–organic framework composites in anti-cancer therapies / Y. Zheng, X. Zhang, Z. Su // Nanoscale. – 2021. – V. 13. – №. 28. – P. 12102–12118.

54) Fu, X. Co-delivery of anticancer drugs and cell penetrating peptides for improved cancer therapy / X. Fu, G. Zhang, Y. Zhang, H. Sun, S. Yang, S. Ni, J. Cui // Chin. Chem. Lett.  $-2021. - V. 32. - N_{\odot}. 4. - P. 1559-1562.$ 

55) Tolentino, M. Q. Controlled release of small molecules and proteins from DNA-surfactant stabilized metal organic frameworks / M. Q. Tolentino, A. K. Hartmann, D. T. Loe, J. L. Rouge // J. Mater. Chem. B. – 2020. – V. 8. – №. 26. – P. 5627–5635.

56) Liu, J. Metal-organic frameworks as protective matrices for peptide therapeutics / J. Liu, Z. Guo, M. Kordanovski, J. Kaltbeitzel, H. Zhang, Z. Cao, Z. Gu, P. R. Wich, M. Lord, K. Liang // J. Colloid Interface Sci. – 2020. – V. 576. – P. 356–363.

57) Wang, H. Protein-structure-directed metal–organic zeolite-like networks as biomacromolecule carriers / H. Wang, L. Han, D. Zheng, M. Yang, Y. H. Andaloussi, P. Cheng, Z. Zhang, S. Ma, M. J. Zaworotko, Y. Feng, Y. Chen // Angew. Chem., Int. Ed. – 2020. – V. 59. – №. 15. – P. 6263–6267.

58) Selivanova, G. Reactivation of mutant p53 through interaction of a C-terminal peptide with the core domain / G. Selivanova, L. Ryabchenko, E. Jansson, V. Iotsova, K. G. Wiman // Mol. Cell. Biol. – 1999. – V. 19. – No. 5. – P. 3395–3402.

59) Kundu, T. Gadolinium (III)-Based Porous Luminescent Metal–Organic Frameworks for Bimodal Imaging / T. Kundu, S. Mitra, D. Diaz Diaz, R. Banerjee // ChemPlusChem. – 2016. – V. 81. – №. 8. – P. 728–732.

60) Zhou, J. Nanoscaled metal-organic frameworks for biosensing, imaging, and cancer therapy / J. Zhou, G. Tian, L. Zeng, X. Song, X. W. Bian // Adv. Healthcare Mater. – 2018. – V. 7. – №. 10. – P. 1800022.

61) Bian, R. A combination of tri-modal cancer imaging and in vivo drug delivery by metal–organic framework based composite nanoparticles / R. Bian, T. Wang, L. Zhang, L. Li, C. Wang // Biomater. Sci. – 2015. – V. 3. – №. 9. – P. 1270–1278.

62) Schmidbaur, H. Argentophilic interactions / H. Schmidbaur, A. Schier // Angew. Chem., Int. Ed.  $-2015. - V.54. - N_{\odot}.3. - P.746-784.$ 

63) Schmidbaur, H. Weak Intramolecular Bonding Relationships: The Conformation-Determining Attractive Interaction between Gold (I) Centers / H. Schmidbaur, W. Graf, G. Müller // Angew. Chem., Int. Ed. Engl. – 1988. – V. 27. –  $N_{\odot}$ . 3. – P. 417–419.

64) Schmidbaur, H. Aurophilic interactions as a subject of current research: an up-date / H. Schmidbaur, A. Schier // Chem. Soc. Rev. – 2012. – V. 41. – №. 1. – P. 370–412.

65) Pyykkö, P. Theoretische Chemie des Golds / P. Pyykkö // Angew. Chem. –
2004. – V. 116. – №. 34. – P. 4512–4557.

66) Pyykkö, P. Theoretical chemistry of gold / P. Pyykkö // Angew. Chem., Int.
Ed. – 2004. – V. 43. – №. 34. – P. 4412–4456.

67) Vogler, A. Excited state properties of organometallic compounds of rhenium in high and low oxidation states / A. Vogler, H. Kunkely // Coord. Chem. Rev. – 2000. – V. 200. – P. 991–1008.

68) Vogler, A. Photoreactivity of gold complexes / A. Vogler, H. Kunkely //
 Coord. Chem. Rev. – 2001. – V. 219. – P. 489–507.

69) Yersin, H. The triplet state of organo-transition metal compounds. Triplet harvesting and singlet harvesting for efficient OLEDs / H. Yersin, A. F. Rausch, R.

Czerwieniec, T. Hofbeck, T. Fischer // Coord. Chem. Rev. – 2011. – V. 255. – №. 21-22. – P. 2622–2652.

70) Chou, P. T. Harvesting luminescence via harnessing the photophysical properties of transition metal complexes / P. T. Chou, Y. Chi, M. W. Chung, C. C. Lin // Coord. Chem. Rev. – 2011. – V. 255. – №. 21-22. – P. 2653–2665.

71) Chang, Y. C. Harnessing fluorescence versus phosphorescence branching ratio in (Phenyl) n-bridged (n=0-5) bimetallic Au (I) complexes / Y. C. Chang, K. C. Tang, H. A. Pan, S. H. Liu, I. O. Koshevoy, A. J. Karttunen, W. Y. Hung, M. H. Cheng, P. T. Chou // J. Phys. Chem. C. – 2013. – V. 117. – №. 19. – P. 9623–9632.

McGlynn, S. P. Molecular Spectroscopy of the Triplet State / S. P.
McGlynn, T. Azumi, M. Kinoshita // Prentice-Hall: Englewood Cliffs, NJ. – 1969. – P.
434.

73) Belyaev, A. Solvatochromic dual luminescence of Eu–Au dyads decorated with chromophore phosphines / A. Belyaev, S. O. Slavova, I. V. Solovyev, V. V. Sizov, J. Jänis, E. V. Grachova, I. O. Koshevoy // Inorg. Chem. Front. – 2020. – V. 7. – №. 1. – P. 140–149.

74) Durini, S. Tuning the fluorescence emission in mononuclear heteroleptic trigonal silver (I) complexes / S. Durini, G. A. Ardizzoia, B. Therrien, S. Brenna // New J. Chem.  $-2017. - V. 41. - N_{\odot} \cdot 8. - P. 3006-3014.$ 

75) Wang, D. H. Silver (I) Complexes of Diphenylpyridines: Crystal Structures, Luminescence Studies, Theoretical Insights, and Biological Activities / D. H. Wang, Y. Zhang, Y. T. Wang, H. Y. Feng, Y. Chen, D. Z. Zhao // ChemPlusChem. – 2017. – V. 82. – № 2. – P. 323–332.

76) Kondrasenko, I. Harnessing fluorescence versus phosphorescence ratio via ancillary ligand fine-tuned MLCT contribution / I. Kondrasenko, K. Y. Chung, Y. T. Chen, J. Koivistoinen, E. V. Grachova, A. J. Karttunen, P. T. Chou, I. O. Koshevoy // J. Phys. Chem. C.  $-2016. - V. 120. - N_{\odot}. 22. - P. 12196-12206.$ 

77) Osawa, M. Near-unity thermally activated delayed fluorescence efficiency in three-and four-coordinate Au (I) complexes with diphosphine ligands / M. Osawa, M.

A. Aino, T. Nagakura, M. Hoshino, Y. Tanaka, M. Akita // Dalton Trans. – 2018. – V. 47. – №. 25. – P. 8229–8239.

78) Bizzarri, C. Triplet emitters versus TADF emitters in OLEDs: A comparative study / C. Bizzarri, F. Hundemer, J. Busch, S. Bräse // Polyhedron. – 2018.
- V. 140. – P. 51–66.

79) Teng, T. Lighting silver (I) complexes for solution-processed organic light-emitting diodes and biological applications via thermally activated delayed fluorescence / T. Teng, K. Li, G. Cheng, Y. Wang, J. Wang, J. Li, C. Zhou, H. Liu, T. Zou, J. Xiong, C. Wu, H. X. Zhang, C. M. Che, C. Yang // Inorg. Chem. – 2020. – V. 59. – №. 17. – P. 12122–12131.

80) Osawa, M. Photoluminescence properties of TADF-emitting threecoordinate silver (I) halide complexes with diphosphine ligands: a comparison study with copper (I) complexes / M. Osawa, M. Hashimoto, I. Kawata, M. Hoshino // Dalton Trans.  $-2017. - V.46. - N_{\odot}.37. - P. 12446-12455.$ 

81) Visbal, R. Three-coordinate gold (I) N-heterocyclic carbene complexes: a new class of strongly luminescent derivatives / R. Visbal, J. M. López-de-Luzuriaga, A. Laguna, M. C. Gimeno // Dalton Trans. – 2014. – V. 43. – №. 1. – P. 328–334.

82) Bayrakdar, T. A. C. A. Dinuclear gold (I) complexes: from bonding to applications / T. A. Bayrakdar, T. Scattolin, X. Ma, S. P. Nolan // Chem. Soc. Rev. – 2020. – V. 49. – №. 19. – P. 7044–7100.

83) Upadhyay, P. K. A phosphorescent trinuclear gold (I) pyrazolate chemosensor for silver ion detection and remediation in aqueous media / P. K. Upadhyay, S. B. Marpu, E. N. Benton, C. L. Williams, A. Telang, M. A. Omary // Anal. Chem.  $-2018. - V. 90. - N_{\odot}. 8. - P. 4999-5006.$ 

84) Ghimire, M. M. Remarkable aurophilicity and photoluminescence thermochromism in a homoleptic cyclic trinuclear gold (I) imidazolate complex / M. M. Ghimire, V. N. Nesterov, M. A. Omary // Inorg. Chem. – 2017. – V. 56. – №. 20. – P. 12086–12089.

85) Seki, T. Luminescent mechanochromic 9-anthryl gold (I) isocyanide complex with an emission maximum at 900 nm after mechanical stimulation / T. Seki,

N. Tokodai, S. Omagari, T. Nakanishi, Y. Hasegawa, T. Iwasa, T. Taketsugu, H. Ito // J. Am. Chem. Soc. – 2017. – V. 139. – №. 19. – P. 6514–6517.

Njogu, E. M. Multimetallic silver (I)–pyridinyl complexes: coordination of silver (I) and luminescence / E. M. Njogu, B. Omondi, V. O. Nyamori // J. Coord. Chem. – 2015. – V. 68. – №. 19. – P. 3389–3431.

87) Shamsieva, A. V. Intriguing near-infrared solid-state luminescence of binuclear silver (I) complexes based on pyridylphospholane scaffolds / A. V. Shamsieva, E. I. Musina, T. P. Gerasimova, R. R. Fayzullin, I. E. Kolesnikov, A. I. Samigullina, S. A. Katsyuba, A. A. Karasik, O. G. Sinyashin // Inorg. Chem. – 2019. – V. 58. – No. 12. – P. 7698–7704.

88) Habib, A. Polynuclear Ag (I)-N-heterocyclic carbene complexes: synthesis, electrochemical and in vitro anticancer study against human breast cancer and colon cancer / A. Habib, M. A. Iqbal, H. N. Bhatti // J. Coord. Chem. – 2019. – V. 72. – №. 12. – P. 2065–2079.

89) Tiekink, E. R. T. Luminescence properties of phosphinegold (I) halides and thiolates / E. R. T. Tiekink, J. G. Kang // Coord. Chem. Rev. – 2009. – V. 253. – №. 11-12. – P. 1627–1648.

90) Strelnik, I. D. A stimuli-responsive Au (I) complex based on an aminomethylphosphine template: synthesis, crystalline phases and luminescence properties / I. D. Strelnik, V. V. Gurzhiy, V. V. Sizov, E. I. Musina, A. A. Karasik, S. P. Tunik, E. V. Grachova // CrystEngComm. – 2016. – V. 18. – No. 39. – P. 7629–7635.

91) Zhao, X. Metallophilicity-induced clusterization: single-component whitelight clusteroluminescence with stimulus response / X. Zhao, P. Alam, J. Zhang, S. Lin, Q. Peng, J. Zhang, G. Liang, S. Chen, J. Zhang, H. H. Y. Sung, J. W. Y. Lam, I. D. Williams, X. Gu, Z. Zhao, B. Z. Tang // CCS Chemistry. – 2022. – V. 4. – №. 8. – P. 2570–2580.

92) Elistratova, J. Novel water soluble cationic Au (I) complexes with cyclic PNNP ligand as building blocks for heterometallic supramolecular assemblies with anionic hexarhenium cluster units / J. Elistratova, I. Strelnik, K. Brylev, M. A. Shestopalov, T. Gerasimova, V. Babaev, K. Kholin, A. Dobrynin, E. Musina, S.
Katsyuba, A. Mustafina, A. Karasik, O. Sinyashin // J. Lumin. – 2018. – V. 196. – P. 485–491.

93) Chu, A. Decanuclear Gold (I) Sulfido Pseudopolymorphs Displaying
Stimuli-Responsive RGBY Luminescence Changes / A. Chu, F. K. W. Hau, L. Y. Yao,
V. W. W. Yam // ACS Mater. Lett. – 2019. – V. 1. – №. 2. – P. 277–284.

94) Deák, A. Mechanochemical synthesis of mononuclear gold (I) halide complexes of diphosphine ligands with tuneable luminescent properties / A. Deák, C. Jobbágy, A. Demeter, L. Čelko, J. Cihlář, P. T. Szabó, P. Ábrányi-Balogh, D. E. Crawford, D. Virieux, E. Colacino // Dalton Trans. – 2021. – V. 50. – №. 38. – P. 13337–13344.

95) Shamsutdinova, N. A. "Host–guest" binding of a luminescent dinuclear Au (I) complex based on cyclic diphosphine with organic substrates as a reason for luminescence tuneability / N. A. Shamsutdinova, I. D. Strelnik, E. I. Musina, T. P. Gerasimova, S. A. Katsyuba, V. M. Babaev, D. B. Krivolapov, I. A. Litvinov, A. R. Mustafina, A. A. Karasik, O. G. Sinyashin // New J. Chem. – 2016. – V. 40. – №. 11. – P. 9853–9861.

96) Rogovoy, M. I. Silver (I)–Organic Frameworks Showing Remarkable Thermo-, Solvato-And Vapochromic Phosphorescence As Well As Reversible Solvent-Driven 3D-to-0D Transformations / M. I. Rogovoy, A. S. Berezin, D. G. Samsonenko, A. V. Artem'ev // Inorg. Chem. – 2021. – V. 60. – №. 9. – P. 6680–6687.

97) Zhou, Y. P. Highly Ag<sup>+</sup> selective tripodal gold (I) acetylide-based "off–on" luminescence chemosensors based on  ${}^{3}(\pi\pi^{*})$  emission switching / Y. P. Zhou, E. B. Liu, J. Wang, H. Y. Chao // Inorg. Chem. – 2013. – V. 52. – No. 15. – P. 8629–8637.

98) Baranyai, P. Mechano-induced reversible colour and luminescence switching of a gold (I)–diphosphine complex / P. Baranyai, G. Marsi, C. Jobbágy, A. Domján, L. Oláh, A. Deák // Dalton Trans. – 2015. – V. 44. – №. 30. – P. 13455–13459.

99) Glebko, N. Luminescence Thermochromism of Gold (I) Phosphane–Iodide
Complexes: A Rule or an Exception? / N. Glebko, T. M. Dau, A. S. Melnikov, E. V.
Grachova, I. V. Solovyev, A. Belyaev, A. J. Karttunen, I. O. Koshevoy // Chem. - Eur.
J. - 2018. - V. 24. - №. 12. - P. 3021–3029.

100) Artem'ev, A. V. Synthesis and thermochromic luminescence of Ag (I) complexes based on 4, 6-bis (diphenylphosphino)-pyrimidine / A. V. Artem'ev, M. P. Davydova, A. S. Berezin, D. G. Samsonenko // Inorganics. – 2020. – V. 8. – №. 9. – P. 46.

101) He, X. Luminescent gold (I) complexes for chemosensing / X. He, V. W.
W. Yam // Coord. Chem. Rev. - 2011. - V. 255. - №. 17-18. - P. 2111-2123.

102) Ghosh, S. Cisplatin: The first metal based anticancer drug / S. Ghosh // Bioorg. Chem. – 2019. – V. 88. – P. 102925.

103) Galluzzi, L. Molecular mechanisms of cisplatin resistance / L. Galluzzi, L. Senovilla, I. Vitale, J. Michels, I. Martins, O. Kepp, M. Castedo, G. Kroemer // Oncogene.  $-2012. - V. 31. - N_{\odot}. 15. - P. 1869-1883.$ 

104) Simon, T. M. Inhibitory effects of a new oral gold compound on HeLa cells
/ T. M. Simon, D. H. Kunishima, G. J. Vibert, A. Lorber // Cancer. – 1979. – V. 44. –
№. 6. – P. 1965–1975.

105) Miranda, V. M. Medicinal inorganic chemistry: an updated review on the status of metallodrugs and prominent metallodrug candidates / V. M. Miranda // Rev. Inorg. Chem.  $-2022. - V. 42. - N_{\odot}. 1. - P. 29-52.$ 

106) Ortego, L. Strong inhibition of thioredoxin reductase by highly cytotoxic gold (I) complexes. DNA binding studies / L. Ortego, F. Cardoso, S. Martins, M. F. Fillat, A. Laguna, M. Meireles, M. D. Villacampa, M. C. Gimeno // J. Inorg. Biochem. – 2014. – V. 130. – P. 32–37.

107) Rackham, O. A gold (I) phosphine complex selectively induces apoptosis in breast cancer cells: implications for anticancer therapeutics targeted to mitochondria / O. Rackham, S. J. Nichols, P. J. Leedman, S. J. Berners-Price, A. Filipovska // Biochem. Pharmacol. – 2007. – V. 74. –  $N_{\odot}$ . 7. – P. 992–1002.

108) Humphreys, A. S. Gold (I) chloride adducts of 1,3-bis(di-2-pyridylphosphino)propane: Synthesis, structural studies and antitumour activity / A. S. Humphreys, A. Filipovska, S. J. Berners-Price, G. A. Koutsantonis, B. W. Skelton, A. H. White // Dalton Trans.  $-2007. - N_{\odot}. 43. - P. 4943-4950.$ 

109) Sze, J. H. Anticancer activity of a Gold (I) phosphine thioredoxin reductase inhibitor in multiple myeloma / J. H. Sze, P. V. Raninga, K. Nakamura, M. Casey, K. K. Khanna, S. J. Berners-Price, G. D. Trapani, K. F. Tonissen // Redox Biol. – 2020. – V. 28. – P. 101310.

110) Rousselle, B. Development of a novel highly anti-proliferative family of gold complexes: Au (I)-phosphonium-phosphines / B. Rousselle, F. Bouyer, J. Bayardon, M. Laly, F. Ghiringhelli, Y. Rousselin, E. Bodio, R. Malacea-Kabbara // Dalton Trans.  $-2021. - V. 50. - N_{\odot}. 14. - P. 4880-4889.$ 

111) Dammak, K. Antiproliferative homoleptic and heteroleptic phosphino silver (I) complexes: effect of ligand combination on their biological mechanism of action / K. Dammak, M. Porchia, M. De Franco, M. Zancato, H. Naïli, V. Gandin, C. Marzano // Molecules.  $-2020. - V. 25. - N_{\odot}. 22. - P. 5484.$ 

112) Trommenschlager, A. Gold (I)–Coumarin–Caffeine-Based Complexes as New Potential Anti-Inflammatory and Anticancer Trackable Agents / A. Trommenschlager, F. Chotard, B. Bertrand, S. Amor, P. Richard, A. Bettaïeb, C. Paul, J. L. Connat, P. Le Gendre, E. Bodio // ChemMedChem. – 2018. – V. 13. – №. 22. – P. 2408–2414.

113) Gutiérrez, A. Bioactive gold (I) complexes with 4-mercaptoproline derivatives / A. Gutiérrez, C. Cativiela, A. Laguna, M. C. Gimeno // Dalton Trans. –
2016. – V. 45. – №. 34. – P. 13483–13490.

114) Sun, R. W. Y. Dinuclear gold (I) pyrrolidinedithiocarbamato complex: cytotoxic and antimigratory activities on cancer cells and the use of metal–organic framework / R. W. Y. Sun, M. Zhang, D. Li, Z. F. Zhang, H. Cai, M. Li, Y. J. Xian, S. W. Ng, A. S. T. Wong // Chem. - Eur. J. – 2015. – V. 21. – №. 51. – P. 18534–18538.

115) Hussaini, S. Y. Recent progress in silver (I)-, gold (I)/(III)-and palladium
(II)-N-heterocyclic carbene complexes: A review towards biological perspectives / S. Y. Hussaini, R. A. Haque, M. R. Razali // J. Organomet. Chem. – 2019. – V. 882. – P. 96–111.

116) Hickey, J. L. Mitochondria-Targeted Chemotherapeutics: The Rational Design of Gold(I) N-Heterocyclic Carbene Complexes That Are Selectively Toxic to

Cancer Cells and Target Protein Selenols in Preference to Thiols / J. L. Hickey, R. A. Ruhayel, P. J. Barnard, M. V. Baker, S. J. Berners-Price, A. Filipovska // J. Am. Chem. Soc. – 2008. – V. 130. – P. 12570–12571.

117) Niu, W. Aptamer-mediated selective delivery of a cytotoxic cationic NHC-Au(I) complex to cancer cells / W. Niu, I. T. Teng, X. Chen, W. Tan, A. S. Veige // Dalton Trans.  $-2018. - V. 47. - N_{\odot}. 1. - P. 120-126.$ 

118) Haque, R. A. Synthesis, crystal structures, in vitro anticancer, and in vivo acute oral toxicity studies of bis-imidazolium/benzimidazolium salts and respective dinuclear Ag (I)-N-heterocyclic carbene complexes / R. A. Haque, N. Hasanudin, M. A. Iqbal, A. Ahmad, S. Hashim, A. M. S. Abdul Majid, M. B. K. Ahamed// J. Coord. Chem. – 2013. – V. 66. –  $N_{\odot}$ . 18. – P. 3211–3228.

119) Pearson, R. Hard Acids Soft and Bases / R. Pearson // J. Am. Chem. Soc. –
1963. – V. 85. – №. 22. – P. 3533–3539.

120) Takahara, P. M. Crystal structure of double-stranded DNA containing the major adduct of the anticancer drug cisplatin / P. M. Takahara, A. C. Rosenzweig, C. A. Frederick, S. J. Lippard // Nature. – 1995. – V. 377. – №. 6550. – P. 649–652.

121) Onodera, T. Potential anticancer activity of auranofin / T. Onodera, I.
Momose, M. Kawada // Chem. Pharm. Bull. – 2019. – V. 67. – №. 3. – P. 186–191.

122) van der Westhuizen, D. Cancer molecular biology and strategies for the design of cytotoxic gold (I) and gold (III) complexes: a tutorial review / D. van der Westhuizen, D. I. Bezuidenhout, O. Q. Munro // Dalton Trans. – 2021. – V. 50. – P. 17413–17437.

123) Erxleben, A. Mitochondria-targeting anticancer metal complexes / A. Erxleben // Curr. Med. Chem.  $-2019 - V. 26 - N_{\odot}. 4 - P. 694-728$ .

124) Scalcon, V. Significance of the mitochondrial thioredoxin reductase in cancer cells: An update on role, targets and inhibitors / V. Scalcon, A. Bindoli, M. P. Rigobello // Free Radical Biol. Med. – 2018. – V. 127. – P. 62–79.

125) Barnard, P. J. Targeting the mitochondrial cell death pathway with gold compounds / P. J. Barnard, S. J. Berners-Price // Coord. Chem. Rev. – 2007. – V. 251. – №. 13–14. – P. 1889–1902.

126) Takasu, K. Synthesis and evaluation of β-carbolinium cations as new antimalarial agents based on  $\pi$ -delocalized lipophilic cation (DLC) hypothesis / K. Takasu, T. Shimogama, C. Saiin, H. S. Kim, Y. Wataya, R. Brun, M. Ihara // Chem. Pharm. Bull. – 2005. – V. 53. – No. 6. – P. 653–661.

127) Qian, K. Mitochondria-targeted delocalized lipophilic cation complexed with human serum albumin for tumor cell imaging and treatment / K. Qian, H. Chen, C. Qu, J. Qi, B. Du, T. Ko, Z. Xiang, M. Kandawa-Schulz, Y. Wang, Z. Cheng // Nanomed.: Nanotechnol. Biol. Med. – 2020. – V. 23. – P. 102087.

128) Zhang, M. Drug delivery systems for anti-cancer active complexes of some coinage metals / M. Zhang, C. Saint-Germain, G. He, R. W. Y. Sun // Curr. Med. Chem. - 2018. - V. 25. - №. 4. - P. 493–505.

129) Gou, Y. Versatile delivery systems for non-platinum metal-based anticancer therapeutic agents / Y. Gou, G. Huang, J. Li, F. Yang, H. Liang // Coord. Chem. Rev. – 2021. – V. 441. – P. 213975.

130) Mosquera, J. Cellular uptake of nanoparticles versus small molecules: a matter of size / J. Mosquera, I. García, L. M. Liz-Marzán // Acc. Chem. Res. – 2018. – V. 51. – №. 9. – P. 2305–2313.

131) Manzanares, D. Endocytosis: the nanoparticle and submicron nanocompounds gateway into the cell / D. Manzanares, V. Ceña // Pharmaceutics. –  $2020. - V. 12. - N_{\odot}. 4. - P. 371.$ 

132) Bus, T. The great escape: how cationic polyplexes overcome the endosomal barrier / T. Bus, A. Traeger, U. S. Schubert // J. Mater. Chem. B. -2018. – V. 6. – No. 43. – P. 6904–6918.

133) Salatin, S. Effect of the surface modification, size, and shape on cellular uptake of nanoparticles / S. Salatin, S. Maleki Dizaj, A. Yari Khosroushahi // Cell Biol. Int.  $-2015. - V. 39. - N_{\odot}. 8. - P. 881-890.$ 

134) Saftig, P. Killing from the inside / P. Saftig, K. Sandhoff // Nature. – 2013.
- V. 502. – №. 7471. – P. 312–313.

135) Halaby, R. Influence of lysosomal sequestration on multidrug resistance in cancer cells / R. Halaby // Cancer Drug Resist.  $-2019. - V. 2. - N_{\odot}. 1. - P. 31.$ 

136) Česen, M. H. Lysosomal pathways to cell death and their therapeutic application / M. H. Česen, K. Pegan, A. Špes, B. Turk // Exp. Cell Res. – 2012. – V.
318. – №. 11. – P. 1245–1251.

137) Siek, M. Mixed-Charge, pH-Responsive Nanoparticles for Selective Interactions with Cells, Organelles, and Bacteria / M. Siek, K. Kandere-Grzybowska, B. A. Grzybowski // Acc. Mater. Res.  $-2020. - V. 1. - N_{\odot}. 3. - P. 188-200.$ 

138) Borkowska, M. Targeted crystallization of mixed-charge nanoparticles in lysosomes induces selective death of cancer cells / M. Borkowska, M. Siek, D. V. Kolygina, Y. I. Sobolev, S. Lach, S. Kumar, Y. K. Cho, K. Kandere-Grzybowska, B. A. Grzybowski // Nat. Nanotechnol. – 2020. – V. 15. –  $N_{\odot}$ . 4. – P. 331–341.

139) Hu, Y. Enhancing tumor chemotherapy and overcoming drug resistance through autophagy-mediated intracellular dissolution of zinc oxide nanoparticles / Y. Hu, H. R. Zhang, L. Dong, M. R. Xu, L. Zhang, W. P. Ding, J. Q. Zhang, J. Lin, Y. J. Zhang, B. S. Qiu, P. F. Wei, L. P. Wen // Nanoscale. – 2019. – V. 11. – №. 24. – P. 11789–11807.

140) Li, Y. Uptake, intracellular dissolution, and cytotoxicity of silver nanowires in cell models / Y. Li, W. X. Wang // Chemosphere. – 2021. – V. 281. – P. 130762.

141) Dong, K. Metal–organic framework-based nanoplatform for intracellular environment-responsive endo/lysosomal escape and enhanced cancer therapy / K. Dong, Z. Wang, Y. Zhang, J. Ren, X. Qu // ACS Appl. Mater. Interfaces. – 2018. – V. 10. – №. 38. – P. 31998–32005.

142) Aibani, N. Chitosan nanoparticles at the biological interface: Implications for drug delivery / N. Aibani, R. Rai, P. Patel, G. Cuddihy, E. K. Wasan // Pharmaceutics.  $-2021. - V. 13. - N_{\odot}. 10. - P. 1686.$ 

143) Lin, Y. X. pH-sensitive polymeric nanoparticles with gold (I) compound payloads synergistically induce cancer cell death through modulation of autophagy / Y. X. Lin, Y. J. Gao, Y. Wang, Z. Y. Qiao, G. Fan, S. L. Qiao, R. X. Zhang, L. Wang, H. Wang // Mol. Pharmaceutics.  $-2015. - V. 12. - N_{\odot}. 8. - P. 2869-2878.$ 

144) Varna, D. Pegylated-polycaprolactone nano-sized drug delivery platforms loaded with biocompatible silver (I) complexes for anticancer therapeutics / D. Varna,

E. Christodoulou, E. Gounari, C. P. Apostolidou, G. Landrou, R. Papi, G. Koliakos, A.
G. Coutsolelos, D. N. Bikiaris, P. A. Angaridis // RSC Med. Chem. – 2022. – V. 13. – №. 7. – P. 857–872.

145) Elbehairi, S. E. I. Chitosan nano-vehicles as biocompatible delivering tools for a new Ag (I) curcuminoid-Gboxin analog complex in cancer and inflammation therapy / S. E. I. Elbehairi, L. A. Ismail, M. Y. Alfaifi, R. F. Elshaarawy, H. S. Hafez // Int. J. Biol. Macromol. – 2020. – V. 165. – P. 2750–2764.

146) Adokoh, C. K. Synthesis and evaluation of glycopolymeric decorated gold nanoparticles functionalized with gold-triphenyl phosphine as anti-cancer agents / C. K. Adokoh, S. Quan, M. Hitt, J. Darkwa, P. Kumar, R. Narain // Biomacromolecules. – 2014. – V. 15. –  $N_{2}$ . 10. – P. 3802–3810.

147) Pearson, S. Glycopolymer self-assemblies with gold (I) complexed to the core as a delivery system for auranofin / S. Pearson, H. Lu, M. H. Stenzel // Macromolecules.  $-2015. - V. 48. - N_{\odot}. 4. - P. 1065$ --1076.

148) Ahmed, M. Synthesis and evaluation of polymeric gold glyco-conjugates as anti-cancer agents / M. Ahmed, S. Mamba, X. H. Yang, J. Darkwa, P. Kumar, R. Narain // Bioconjugate Chem. – 2013. – V. 24. – №. 6. – P. 979–986.

149) Luo, Z. From Aggregation-Induced Emission of Au(I)–Thiolate Complexes
to Ultrabright Au(0)@Au(I)–Thiolate Core–Shell Nanoclusters / Z. Luo, X. Yuan, Y.
Yu, Q. Zhang, D. T. Leong, J. Y. Lee, J. Xie // J. Am. Chem. Soc. – 2012. – V. 134. –
P. 16662–16670.

150) Xu, L. Facile Synthesis of Water-Dispersed Photoluminescent Gold (I)-Alkanethiolate Nanoparticles via Aggregation-Induced Emission and Their Application in Cell Imaging / L. Xu, Y. Cao, S. Hong, Y. Kuang, M. Liu, A. Liu, Y. Zhang, R. Pei // ACS Appl. Nano Mater. – 2018. – V. 1. – No. 12. – P. 6641–6648.

151) Wang, J. pH-Responsive Au (I)-disulfide nanoparticles with tunable aggregation-induced emission for monitoring intragastric acidity / J. Wang, J. Li, Y. Li, Z. Zhang, L. Wang, D. Wang, L. Su, X. Zhang, B. Z. Tang // Chem. Sci. – 2020. – V.  $11. - N_{\odot}. 25. - P. 6472-6478.$ 

152) Brylev, K. A. A family of octahedral rhenium cluster complexes  $[\text{Re}_6\text{Q}_8(\text{H}_2\text{O})_n(\text{OH})_{6-n}]^{n-4}$  (Q= S, Se; n=0-6): structural and pH- dependent spectroscopic studies / K. A. Brylev, Y. V. Mironov, S. S. Yarovoi, N. G. Naumov, V. E. Fedorov, S. J. Kim, N. Kitamura, Y. Kuwahara, K. Yamada, S. Ishizaka, Y. Sasaki // Inorg. Chem. – 2007. – V. 46. – No. 18. – P. 7414–7422.

153) Ivanov, A. A. Host–Guest Binding Hierarchy within Redox-and Luminescence-Responsive Supramolecular Self-Assembly Based on Chalcogenide Clusters and  $\gamma$ -Cyclodextrin / A. A. Ivanov, C. Falaise, P. A. Abramov, M. A. Shestopalov, K. Kirakci, K. Lang, M. A. Moussawi, M. N. Sokolov, N. G. Naumov, S. Floquet, D. Landy, M. Haouas, K. A. Brylev, Y. V. Mironov, Y. Molard, S. Cordier, E. Cadot // Chem. - Eur. J. – 2018. – V. 24. – No. 51. – P. 13467–13478.

154) Solovieva, A. O. Singlet oxygen production and biological activity of hexanuclear chalcocyanide rhenium cluster complexes  $[{\text{Re}_6\text{Q}_8}(\text{CN})_6]^{4-}$  (Q= S, Se, Te) / A. O. Solovieva, K. Kirakci, A. A. Ivanov, P. Kubát, T. N. Pozmogova, S. M. Miroshnichenko, E. V. Vorontsova, A. V. Chechushkov, K. E. Trifonova, M. S. Fufaeva, E. I. Kretov, Y. V. Mironov, A. F. Poveshchenko, K. Lang, M. A. Shestopalov // Inorg. Chem. – 2017. – V. 56. – No. 21. – P. 13491–13499.

155) Krasilnikova, A. A. Prospects of molybdenum and rhenium octahedral cluster complexes as X-ray contrast agents / A. A. Krasilnikova, M. A. Shestopalov, K. A. Brylev, I. A. Kirilova, O. P. Khripko, K. E. Zubareva, Y. I. Khripko, V. T. Podorognaya, L. V. Shestopalova, V. E. Fedorov, Y. V. Mironov // J. Inorg. Biochem. – 2015. – V. 144. – P. 13–17.

156) Konovalov, D. I. Octahedral chalcogenide rhenium cluster complexes with imidazole / D. I. Konovalov, A. A. Ivanov, Y. A. Vorotnikov, A. I. Smolentsev, I. V. Eltsov, O. A. Efremova, N. Kitamura, Y. V. Mironov, M. A. Shestopalov // Polyhedron. – 2019. – V. 165. – P. 79–85.

157) Elistratova, J. G. Sensing activity of cholinesterases through a luminescence response of the hexarhenium cluster complex  $[{Re_6S_8}(OH)_6]^{4-}$  / J. G. Elistratova, A. R. Mustafina, K. A. Brylev, K. A. Petrov, M. A. Shestopalov, Y. V.

Mironov, V. M. Babaev, I. K. Rizvanov, P. Masson, O. G. Sinyashin // Analyst. – 2016. – V. 141. – №. 13. – P. 4204–4210.

158) Mironov, Y. V. New mixed-ligand cyanohydroxo octahedral cluster complex trans- $[Re_6S_8(CN)_2(OH)_4]^{4-}$ , its luminescence properties and chemical reactivity / Y. V. Mironov, K. A. Brylev, A. I. Smolentsev, A. V. Ermolaev, N. Kitamura, V. E. Fedorov // RSC Adv. – 2014. – V. 4. – No. 105. – P. 60808–60815.

159) Kirakci, K. A highly luminescent hexanuclear molybdenum cluster–A promising candidate toward photoactive materials / K. Kirakci, P. Kubát, M. Dušek, K. Fejfarová, V. Šícha, J. Mosinger, K. Lang // Eur. J. Inorg. Chem. – 2012. – V. 2012. – №. 19. – P. 3107–3111.

160) Neaime, C. Time-gated luminescence bioimaging with new luminescent nanocolloids based on  $[Mo_6I_8(C_2F_5COO)_6]^{2-}$  metal atom clusters / C. Neaime, M. Amela-Cortes, F. Grasset, Y. Molard, S. Cordier, B. Dierre, M. Mortier, T. Takei, K. Takahashi, H. Haneda, M. Verelst, S. Lechevallier // Phys. Chem. Chem. Phys. – 2016. – V. 18. – No. 43. – P. 30166–30173.

161) Brandhonneur, N. Molybdenum cluster loaded PLGA nanoparticles as efficient tools against epithelial ovarian cancer / N. Brandhonneur, Y. Boucaud, A. Verger, N. Dumait, Y. Molard, S. Cordier, G. Dollo // Int. J. Pharm. – 2021. – V. 592. – P. 120079.

162) Elistratova, J. G. Anticancer potential of hexamolybdenum clusters  $[{Mo_6I_8}(L)_6]^{2-}$  (L= CF<sub>3</sub>COO<sup>-</sup> and C<sub>6</sub>F<sub>5</sub>COO<sup>-</sup>) incorporated into different nanoparticulate forms / J. G. Elistratova, M. A. Mikhaylov, T. S. Sukhikh, K. V. Kholin, I. R. Nizameev, A. R. Khazieva, A. T. Gubaidullin, A. D. Voloshina, G. V. Sibgatullina, D. V. Samigullin, K. A. Petrov, M. N. Sokolov, A. R. Mustafina // J. Mol. Liq. – 2021. – V. 343. – P. 117601.

163) Elistratova, J. Triblock copolymer-based luminescent organic-inorganic hybrids triggered by heating and fluoroquinolone antibiotics / J. Elistratova, V. Burilov, A. Mustafina, M. Mikhailov, M. Sokolov, V. Fedin, A. Konovalov // Polymer. – 2015. – V. 72. – P. 98–103.

164) Bradford, N. A rapid and sensitive method for the quantitation microgram quantities of a protein isolated from red cell membranes / N. Bradford // Anal. Biochem.
- 1976. - V. 72. - №. 248. - P. e254.

165) Bogomolovas, J. Screening of fusion partners for high yield expression and purification of bioactive viscotoxins / J. Bogomolovas, B. Simon, M. Sattler, G. Stier // Protein Expression Purif.  $-2009. - V. 64. - N_{\odot}. 1. - P. 16-23.$ 

166) Naumov, N. G. Synthesis and crystal structure of new layered cluster cyanides  $Cs_2M[Re_6S_8(CN)_6] \cdot 2H_2O$  (M = Mn<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>): size control over framework dimension / N. G. Naumov, A. V. Virovets, Y. I. Mironov, S. B. Artemkina, V. E. Fedorov // Ukr. Chem. J. – 1999. – V. 65.– No 5–6. – P. 21–27.

167) Yarovoi, S. S. Octahedral hexahydroxo rhenium cluster complexes  $[\text{Re}_6\text{Q}_8(\text{OH})_6]^{4-}$  (Q= S, Se): synthesis, structure, and properties / S. S. Yarovoi, Y. V. Mironov, D. Y. Naumov, Y. V. Gatilov, S. G. Kozlova, S. J. Kim, V. E. Fedorov // Eur. J. Inorg. Chem. – 2005. – V. 2005. – Nº 19. – P. 3945–3949.

168) Brylev, K. A.  $[{\text{Re}_6\text{Q}_8}(\text{SO}_3)_6]^{10-}$  (Q= S or Se): Facile Synthesis and Properties of the Most Highly Charged Octahedral Cluster Complexes and High Magnetic Relaxivity of Their Colloids with Gd<sup>3+</sup> Ions / K. A. Brylev, B. S. Akhmadeev, J. G. Elistratova, I. R. Nizameev, A. T. Gubaidullin, K. V. Kholin, I. V. Kashnik, N. Kitamura, S. J. Kim, Y. V. Mironov, A. R. Mustafina// Inorg. Chem. – 2019. – V. 58. –  $N_{2.} - P. 15889-15897$ .

169) Mikhailov, M. A. Synthetic tuning of redox, spectroscopic, and photophysical properties of  $\{Mo_6I_8\}^{4+}$  core cluster complexes by terminal carboxylate ligands / M. A. Mikhailov, K. A. Brylev, P. A. Abramov, E. Sakuda, S. Akagi, A. Ito, N. Kitamura, M. N. Sokolov // Inorg. Chem. – 2016. – V. 55. – No. 17. – P. 8437–8445.

170) Elistratova, J. Supramolecular assemblies of triblock copolymers with hexanuclear molybdenum clusters for sensing antibiotics in aqueous solutions via energy transfer / J. Elistratova, M. Mikhailov, V. Burilov, V. Babaev, I. Rizvanov, A. Mustafina, P. Abramov, M. Sokolov, A. Konovalov, V. Fedin // RSC Adv. – 2014. – V.  $4. - N_{\odot}$ . 53. – P. 27922–27930.

171) Delgado, A. V. Measurement and interpretation of electrokinetic phenomena / A. V. Delgado, F. Gonzalez-Caballero, R. J. Hunter, L. K. Koopal, J. Lyklema // J. Colloid Interface Sci. – 2007. – V. 309. – P. 194–224.

172) DIFFRAC Plus Evaluation package EVA, Version 11. User's Manual, Bruker AXS, Karlsruhe, Germany, 2005. 258 p.

173) TOPAS V3: General profile and structure analysis software for powder diffraction data. Technical Reference, Bruker AXS, Karlsruhe, Germany, 2005. 117 p.

174) Altomare, A. EXPO2013: a kit of tools for phasing crystal structures from powder data / A. Altomare, C. Cuocci, C. Giacovazzo, A. Moliterni, R. Rizzi, N. Corriero, A. Falcicchio // J. Appl. Crystallogr. – 2013. – V. 46. – №. 4. – P. 1231–1235.

175) Favre-Nicolin, V. FOX, free objects for crystallography': a modular approach to ab initio structure determination from powder diffraction / V. Favre-Nicolin, R. Černý // J. Appl. Crystallogr.  $-2002. - V. 35. - N_{\odot}. 6. - P. 734-743.$ 

176) Quest Graph<sup>TM</sup> IC<sub>50</sub> Calculator, AAT Bioquest, Inc., <u>https://www.aatbio.com/tools/ic50-calculator</u>.

177) Elistratova, J. Synthesis of Au (I) complex-based aqueous colloids for sensing of biothiols / J. Elistratova, B. Faizullin, N. Shamsutdinova, A. Gubaidullin, I. Strelnik, V. Babaev, K. Kholin, I. Nizameev, E. Musina, R. Khairullin, A. Karasik, A. Mustafina // Inorg. Chim. Acta. – 2019. – V. 485. – P. 26–32.

178) Davydov, N. Determination of fluoroquinolone antibiotics through the fluorescent response of Eu (III) based nanoparticles fabricated by layer-by-layer technique / N. Davydov, R. Zairov, A. Mustafina, V. Syakayev, D. Tatarinov, V. Mironov, S. Eremin, A. Konovalov, M. Mustafin // Anal. Chim. Acta. – 2013. – V. 784. – P. 65–71.

179) Shamsutdinova, N. Tuning magnetic relaxation properties of "hard cores" in core-shell colloids by modification of "soft shell" / N. Shamsutdinova, R. Zairov, I. Nizameev, A. Gubaidullin, A. Mukhametshina, S. Podyachev, I. Ismayev, M. Kadirov, A. Voloshina, T. Mukhametzyanov, A. Mustafina // Colloids Surf., B. – 2018. – V. 162. – P. 52–59.

180) Das, M. Analyses of protein corona on bare and silica-coated gold nanorods against four mammalian cells / M. Das, D. K. Yi, S. S. A. An // Int. J. Nanomed. – 2015. – V. 10. – P. 1521.

181) Bertoli, F. The intracellular destiny of the protein corona: a study on its cellular internalization and evolution / F. Bertoli, D. Garry, M. P. Monopoli, A. Salvati, K. A. Dawson // ACS Nano. – 2016. – V. 10. –  $N_{2}$ . 11. – P. 10471–10479.

182) Zhou, Y. New strategies in the design of nanomedicines to oppose uptake by the mononuclear phagocyte system and enhance cancer therapeutic efficacy / Y. Zhou, Z. Dai // Chem. - Asian J. – 2018. – V. 13. – No. 22. – P. 3333–3340.

183) Nguyen, V. H. Protein corona: a new approach for nanomedicine design /
Protein corona: a new approach for nanomedicine design / V. H. Nguyen, B. J. Lee //
Int. J. Nanomed. – 2017. – V. 12. – P. 3137.

184) Elistratova, J. Impact of oppositely charged shell and cores on interaction of core-shell colloids with differently charged proteins as a route for tuning of the colloids cytotoxicity / J. Elistratova, B. Faizullin, I. Strelnik, T. Gerasimova, R. Khairullin, A. Sapunova, A. Voloshina, T. Mukhametzyanov, E. Musina, A. Karasik, A. Mustafina // Colloids Surf., B. – 2020. – V. 196. – P. 111306.

185) Dolinsky, T. J. PDB2PQR: an automated pipeline for the setup of Poisson–
Boltzmann electrostatics calculations / T. J. Dolinsky, J. E. Nielsen, J. A. McCammon,
N. A. Baker // Nucleic Acids Res. – 2004. – V. 32. – №. suppl\_2. – P. W665–W667.

186) Rekas, A. Crystal structure of venus, a yellow fluorescent protein with improved maturation and reduced environmental sensitivity / A. Rekas, J. R. Alattia, T. Nagai, A. Miyawaki, M. Ikura // J. Biol. Chem. – 2002. – V. 277. – №. 52. – P. 50573–50578.

187) Lundqvist, M. The evolution of the protein corona around nanoparticles: a test study / M. Lundqvist, J. Stigler, T. Cedervall, T. Berggard, M. B. Flanagan, I. Lynch, G. Elia, K. Dawson // ACS Nano. – 2011. – V. 5. – No. 9. – P. 7503–7509.

188) Faizullin, B. A. Structure impact on photodynamic therapy and cellular contrasting functions of colloids constructed from dimeric Au (I) complex and hexamolybdenum clusters / B. A. Faizullin, I. D. Strelnik, I. R. Dayanova, T. P.

Gerasimova, K. V. Kholin, I. R. Nizameev, A. D. Voloshina, A. T. Gubaidullin, S. V. Fedosimova, M. A. Mikhailov, M. N. Sokolov, G. V. Sibgatullina, D. V. Samigullin, K. A. Petrov, A. A. Karasik, A. R. Mustafina // Mat. Sci. Eng. C. – 2021. – V. 128. – P. 112355.

189) Jackson, J. A. Oxygen quenching of electronically excited hexanuclear molybdenum and tungsten halide clusters / J. A. Jackson, C. Turro, M. D. Newsham, D. G. Nocera // J. Phys. Chem. – 1990. – V. 94. – №. 11. – P. 4500–4507.

190) Elistratova, J. Interfacial uploading of luminescent hexamolybdenum cluster units onto amino-decorated silica nanoparticles as new design of nanomaterial for cellular imaging and photodynamic therapy / J. Elistratova, A. Mukhametshina, K. Kholin, I. Nizameev, M. Mikhailov, M. Sokolov, R. Khairullin, R. Miftakhova, G. Shammas, M. Kadirov, K. Petrov, A. Rizvanov, A. Mustafina // J. Colloid Interface Sci. – 2019. – V. 538. – P. 387–396.

191) Faizullin, B. pH-driven intracellular nano-to-molecular disassembly of heterometallic  $[Au_2L_2]{Re_6Q_8}$  colloids (L = PNNP ligand; Q = S<sup>2-</sup> or Se<sup>2-</sup>) / B. Faizullin, I. Dayanova, I. Strelnik, K. Kholin, I. Nizameev, A. Gubaidullin, A. Voloshina, T. Gerasimova, I. Kashnik, K. Brylev, G. Sibgatullina, D. Samigullin, K. Petrov, E. Musina, A. Karasik, A. Mustafina // Nanomaterials. – 2022. – V. 12. – No. 18. – P. 3229.

192) Elistratova, J. G. Supporting effect of polyethylenimine on hexarhenium hydroxo cluster complex for cellular imaging applications / J. G. Elistratova, K. A. Brylev, A. O. Solovieva, T. N. Pozmogova, A. R. Mustafina, L. V. Shestopalova, M. A. Shestopalov, V. V. Syakayev, A. A. Karasik, O. G. Sinyashin // J. Photochem. Photobiol., A. – 2017. – V. 340. – P. 46–52.

193) Zhang, Y. Impacts of proteins on dissolution and sulfidation of silver nanowires in an aquatic environment: importance of surface charges / Y. Zhang, J. Xu, Y. Yang, B. Sun, K. Wang, L. Zhu // Environ. Sci. Technol. – 2020. – V. 54. – №. 9. – P. 5560–5568.

194) Lin, G. Metal-organic frameworks nanoswitch: Toward photo-controllable endo/lysosomal rupture and release for enhanced cancer RNA interference / G. Lin, Y.

Zhang, L. Zhang, J. Wang, Y. Tian, W. Cai, S. Tang, C. Chu, J. Zhou, P. Mi, X. Chen, G. Liu // Nano Res. – 2020. – V. 13. – № 1. – P. 238–245.

195) Elistratova, J. Water dispersible supramolecular assemblies built from luminescent hexarhenium clusters and silver (I) complex with pyridine-2-ylphospholane for sensorics / J. Elistratova, B. Faizullin, A. Shamsieva, T. Gerasimova, I. V. Kashnik, K. A. Brylev, V. Babaev, K. Kholin, I. Nizameev, E. Musina, S. Katsyuba, A. Karasik, O. Sinyashin, A. Mustafina // J. Mol. Liq. – 2020. – V. 305. – P. 112853.

196) Duncan, J. F. The infrared spectra of some iron (II) pyridine complexes / J.
F. Duncan, K. F. Mok // Aust. J. Chem. – 1966. – V. 19. – №. 4. – P. 701–703.

197) Ermolaev, A. V. First cyano-bridged coordination polymers based on N, N'-chelated Ag (I) ions and octahedral rhenium (III) chalcocyanide clusters exhibiting unusually long-lived photoluminescence / A. V. Ermolaev, A. I. Smolentsev, K. A. Brylev, N. Kitamura, Y. V. Mironov // J. Mol. Struct. – 2018. – V. 1173. – P. 627–634.

198) Faizullin, B. "Proton sponge" effect and apoptotic cell death mechanism of Ag<sub>x</sub>-Re<sub>6</sub> nanocrystallites derived from the assembly of  $[{Re<sub>6</sub>S<sub>8</sub>}(OH)_{6-n}(H_2O)_n]^{n-4}$  with Ag<sup>+</sup> ions / B. Faizullin, A. Gubaidullin, T. Gerasimova, I. Kashnik, K. Brylev, K. Kholin, I. Nizameev, A. Voloshina, G. Sibgatullina, D. Samigullin, K. Petrov, E. Musina, A. Karasik, A. Mustafina // Colloids Surf., A. – 2022. – V. 648. – P. 129312.

199) Scirè, A. Glutathione compartmentalization and its role in glutathionylation and other regulatory processes of cellular pathways / A. Scirè, L. Cianfruglia, C. Minnelli, D. Bartolini, P. Torquato, G. Principato, F. Galli, T. Armeni // Biofactors. –  $2019. - V.45. - N_{\odot}. 2. - P. 152-168.$ 

200) Choi, S. J. Cellular uptake and cytotoxicity of octahedral rhenium cluster complexes / S. J. Choi, K. A. Brylev, J. Z. Xu, Y. V. Mironov, V. E. Fedorov, Y. S. Sohn, S. J. Kim, J. H. Choy // J. Inorg. Biochem. – 2008. – V. 102. – №. 11. – P. 1991–1996.

## ПРИЛОЖЕНИЕ



Рисунок П1 – Распределение поверхностного заряда молекул пепсина (а), лизоцима (б), БСА (в), тиоредоксина (г) и ЖФБ (д) при рН=7.



Рисунок П2 – КД-спектры лизоцима (а, б – спектр в увеличенном масштабе), тиоредоксина (в) и БСА (г), полученные при добавлении ПЭИ-[(AuCl)<sub>2</sub>L] наночастиц.  $C_{тиоредоксин}=4\times10^{-2}$  г/л (3.4×10<sup>-6</sup> M),  $C_{\rm 5CA}=1\times10^{-2}$  г/л (1.5×10<sup>-7</sup> M),  $C_{\rm лизоцим}=2.5\times10^{-2}$  г/л (1.75×10<sup>-6</sup> M).



Рисунок ПЗ – Фотографии растворов гетерометаллических Au<sub>2</sub>–Mo<sub>6</sub> наночастиц.

Наименование образца	Содержание элем	Соотношение элементов	
_	Мо (202.030 нм)	Аи (242.795 нм)	Mo:Au
$Au_2-Mo_6(I)$	2.29	1.69	5.56:2
Au <sub>2</sub> -Mo <sub>6</sub> (CH <sub>3</sub> COO)	2.18	1.12	7.96:2
OCT P	a E		б

Таблица П1 – Соотношения элементов Мо:Аи согласно результатам АЭС.



Рисунок П4 – а – Экспериментальные рентгенограммы порошков  $K_2(CH_3CN)_2(диглим)_2[\{Mo_6I_8\}I_6]$  кластера (1), комплекса  $[Au_2L_2]Cl_2$  (2) и соответствующих высушенных  $Au_2$ —Mo<sub>6</sub>(I) наноструктур (3). б – Экспериментальные рентгенограммы порошков (н-Bu<sub>4</sub>N)<sub>2</sub>[{Mo<sub>6</sub>I<sub>8</sub>}(CH<sub>3</sub>COO)<sub>6</sub>] кластера (1), комплекса  $[Au_2L_2]Cl_2$  (2) и соответствующих высушенных  $Au_2$ —Mo<sub>6</sub>(CH<sub>3</sub>COO)<sub>6</sub>] кластера (1), комплекса  $[Au_2L_2]Cl_2$  (2) и соответствующих высушенных  $Au_2$ —Mo<sub>6</sub>(CH<sub>3</sub>COO) наноструктур (3).



Рисунок П5 – Экспериментальная (черная кривая) и рассчитанная после уточнения по методу Ритвельда (красная кривая) рентгенограммы высушенных Au<sub>2</sub>–Mo<sub>6</sub>(CH<sub>3</sub>COO) наночастиц. Вертикальные линии соответствуют положениям первых 9 дифракционных пиков хорошего разрешения. Серая кривая соответствует разности двух дифрактограмм.

**Таблица П2** – Размеры Au<sub>2</sub>–Mo<sub>6</sub>(CH<sub>3</sub>COO) кристаллитов, рассчитанные по параметрам дифракционных пиков.

Пик	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Угол 20, °	6.10	7.47	8.43	8.71	10.41	10.65	12.10	13.56	15.63
Размер кристаллита, нм	85.1	72.0	61.5	72.6	60.2	86.7	73.7	79.0	75.0
Rwp					7.87%	, )			

Атом	r	v	7	U(eq)[Å2]
Au1	0.4632	0.5515	0.4830	0.0235
P1	0.5528	0.6777	0.4687	0.0345
P2	0.8069	0.4804	0.6094	0.0392
N1	0.7353	0.6418	0.4333	0.0300
N2	0.6649	0.6329	0.6817	0.0174
C1	0.6460	0.6329	0.3876	0.0379
H1	0.6522	0.5413	0.3800	0.0455
H2	0.6266	0.6578	0.3127	0.0455
C2	0.0200	0.0376	0.4225	0.0379
$C_2$	0.7020	0.8328	0.4225	0.0379
H3	0.6535	0.8320	0.2915	0.0455
	0.0355	0.0100	0.3350	0.0379
	0.7203	0.9300	0.3330	0.0455
C5	0.0030	0.9924	0.2013	0.0379
C6	0.8433	0.9000	0.4855	0.0379
H5	0.8911	0.0030	0.5350	0.0455
113 C7	0.8272	0.7042	0.3350	0.0433
Ц Ц	0.8272	0.7751	0.4903	0.0375
110 C8	0.8040	1.08/1	0.3040	0.0433
Ц Ц Т	0.8122	1.0041	0.3949	0.0379
117 Ц8	0.8073	1.1040	0.3173	0.0455
	0.8724	1.0010	0.4349	0.0455
<u> </u>	0.7080	0.5206	0.4209	0.0433
U10	0.7084	0.3390	0.4088	0.0379
<u>Ш11</u>	0.7984	0.4610	0.4141	0.0455
C10	0.0043	0.3301	0.4004	0.0433
N3	0.9292	0.4599	0.0007	0.0379
C11	1.0385	0.4321	0.7701	0.0328
<u>U12</u>	1.0538	0.4249	0.8217	0.0379
C12	1.0558	0.4337	0.0904	0.0433
U12	1.1003	0.3666	0.7087	0.0379
C12	1.1000	0.3000	0.6558	0.0433
U14	1.0054	0.3702	0.0338	0.0379
C14	0.0027	0.3329	0.0145	0.0433
U15	0.9937	0.4010	0.0000	0.0379
C15	0.9772	0.5950	0.5239	0.0433
U16	0.7014	0.0003	0.0000	0.0379
<u>1110</u> Ц17	0.7702	0.0/19	0.0011	0.0455
	0.7908	0.3921	0.7552	0.0433
C10	0.0203	0.3792	0.7333	0.0379
	0.0027	0.0303	0.0334	0.03/9
C19	0.0122	0.7022	0.0242	0.0433
	0.5032	0.3747	0.9242	0.03/9
	0.5319	0.0094	0.2022	0.0433
C19	0.3470	0.4099	0.9000	0.03/9
	0.5704	0.4201	0.8033	0.03/9
H20	0.5588	0.3493	0.7872	0.0433

**Таблица П3** – Координаты атомов и параметры изотропного смещения для Au<sub>2</sub>– Mo<sub>6</sub>(CH<sub>3</sub>COO).

C21	0.6115	0.4726	0.7340	0.0379
H21	0.6291	0.4350	0.6714	0.0455
C22	0.5018	0.4118	0.9771	0.0379
H22	0.5021	0.4501	1.0468	0.0455
H23	0.5348	0.3335	0.9911	0.0455
H24	0.4400	0.4147	0.9411	0.0455
C23	0.6091	0.7234	0.6030	0.0379
H25	0.6473	0.7724	0.5868	0.0455
H26	0.5622	0.7692	0.6394	0.0455
C24	0.4864	0.8094	0.3944	0.0379
N4	0.5043	0.9054	0.4423	0.0375
C25	0.4574	1.0056	0.3914	0.0379
H27	0.4680	1.0720	0.4246	0.0455
C26	0.3961	1.0159	0.2949	0.0379
H28	0.3658	1.0875	0.2627	0.0455
C27	0.3799	0.9205	0.2468	0.0379
H29	0.3384	0.9255	0.1796	0.0455
C28	0.4249	0.8143	0.2969	0.0379
H30	0.4132	0.7480	0.2641	0.0455
Au2	0.7276	0.3415	0.6081	0.0119
P3	0.6379	0.2153	0.6224	0.0312
P4	0.3838	0.4127	0.4818	0.0313
N5	0.4555	0.2511	0.6580	0.0256
N6	0.5259	0.2601	0.4093	0.0566
C29	0.5449	0.2702	0.7034	0.0379
H31	0.5386	0.3515	0.7111	0.0455
H32	0.5644	0.2351	0.7783	0.0455
C30	0.4362	0.1445	0.6688	0.0379
C31	0.4528	0.0845	0.7724	0.0379
H33	0.4761	0.1177	0.8373	0.0455
C32	0.4360	-0.0221	0.7806	0.0379
H34	0.4494	-0.0595	0.8506	0.0455
C33	0.4003	-0.0733	0.6890	0.0379
C34	0.3844	-0.0170	0.5861	0.0379
H35	0.3615	-0.0524	0.5225	0.0455
C35	0.4009	0.0905	0.5733	0.0379
H36	0.3887	0.1260	0.5023	0.0455
C36	0.3805	-0.1916	0.6997	0.0379
H37	0.3516	-0.1944	0.7630	0.0455
H38	0.3409	-0.2055	0.6327	0.0455
H39	0.4367	-0.2492	0.7097	0.0455
C37	0.3850	0.3535	0.6225	0.0379
H40	0.3925	0.4113	0.6771	0.0455
H41	0.3262	0.3367	0.6227	0.0455
C38	0.2617	0.4530	0.4245	0.0379
N7	0.2340	0.5535	0.3706	0.0489
C39	0.1455	0.5859	0.3264	0.0379
H42	0.1255	0.6561	0.2879	0.0455
C40	0.0832	0.5287	0.3318	0.0379
H43	0.0223	0.5582	0.3006	0.0455

C41	0.1119	0.4244	0.3845	0.0379
H44	0.0705	0.3792	0.3868	0.0455
C42	0.2041	0.3833	0.4352	0.0379
H45	0.2250	0.3132	0.4740	0.0455
C43	0.4293	0.2865	0.4023	0.0379
H46	0.4125	0.2210	0.4301	0.0455
H47	0.4001	0.3004	0.3240	0.0455
C44	0.5642	0.3138	0.3359	0.0379
C45	0.5679	0.2772	0.2261	0.0379
H48	0.5445	0.2155	0.2008	0.0455
C46	0.6060	0.3324	0.1560	0.0379
H49	0.6057	0.3083	0.0829	0.0455
C47	0.6445	0.4222	0.1901	0.0379
C48	0.6406	0.4575	0.2971	0.0379
H50	0.6663	0.5176	0.3227	0.0455
C49	0.5995	0.4058	0.3689	0.0379
H51	0.5956	0.4341	0.4401	0.0455
C50	0.6899	0.4790	0.1135	0.0379
H52	0.6750	0.4547	0.0382	0.0455
H53	0.6685	0.5604	0.1152	0.0455
H54	0.7548	0.4580	0.1388	0.0455
C51	0.5817	0.1695	0.4884	0.0379
H55	0.5435	0.1206	0.5045	0.0455
H56	0.6286	0.1238	0.4520	0.0455
C52	0.7043	0.0835	0.6966	0.0379
N8	0.7195	-0.0075	0.6301	0.0381
C53	0.7684	-0.1077	0.6798	0.0379
H57	0.7805	-0.1700	0.6345	0.0455
C54	0.8007	-0.1234	0.7910	0.0379
H58	0.8337	-0.1947	0.8213	0.0455
C55	0.7840	-0.0336	0.8565	0.0379
H59	0.8049	-0.0425	0.9337	0.0455
C56	0.7356	0.0729	0.8098	0.0379
H60	0.7245	0.1355	0.8550	0.0455
Mo1	1.0444	-0.1233	0.9615	0.0097
Mo2	1.0766	-0.0259	1.1598	0.0094
Mo3	1.1945	-0.0442	1.0202	0.0108
I1	1.1843	-0.2397	1.1298	0.0352
I2	0.9220	-0.1117	1.1056	0.0364
13	1.1681	-0.1493	0.8158	0.0387
I4	1.2327	0.0543	1.2277	0.0361
01	1.0224	-0.2845	0.9029	0.0745
O2	0.9129	-0.3347	0.7789	0.0369
03	1.0718	-0.0670	1.3259	0.0289
O4	1.2048	-0.1318	1.4424	0.0598
O5	1.3373	-0.0992	1.0347	0.0001
O6	1.4041	-0.2174	0.9152	0.0693
C57	0.9504	-0.3194	0.8744	0.0379
C58	0.9072	-0.3400	0.9735	0.0379
H61	0.8716	-0.2674	0.9951	0.0455

H62	0.9553	-0.3739	1.0370	0.0455
H63	0.8674	-0.3923	0.9522	0.0455
C59	1.1252	-0.1309	1.4068	0.0379
C60	1.0785	-0.2116	1.4567	0.0379
H64	1.1227	-0.2618	1.5144	0.0455
H65	1.0543	-0.2580	1.3970	0.0455
H66	1.0284	-0.1671	1.4900	0.0455
C61	1.3896	-0.1925	1.0093	0.0379
C62	1.4367	-0.2726	1.1100	0.0379
H67	1.4774	-0.3398	1.0852	0.0455
H68	1.3907	-0.2968	1.1436	0.0455
H69	1.4722	-0.2332	1.1654	0.0455
Mo4	1.0928	0.1603	1.0553	0.0088
Mo5	1.0605	0.0629	0.8572	0.0154
Моб	0.9424	0.0811	0.9966	0.0119
I5	0.9528	0.2769	0.8869	0.0398
I6	1.2152	0.1486	0.9114	0.0379
I7	0.9693	0.1861	1.2010	0.0346
I8	0.9044	-0.0172	0.7891	0.0370
O7	1.1148	0.3217	1.1140	0.0165
08	1.1934	0.4553	1.1520	0.0524
09	1.0654	0.1041	0.6908	0.0598
O10	1.0308	0.1895	0.5208	0.0527
011	0.7999	0.1363	0.9820	0.0464
012	0.7256	0.2497	1.0988	0.0704
C63	1.1870	0.3562	1.1426	0.0379
C64	1.2728	0.2597	1.1704	0.0379
H70	1.3266	0.2911	1.1796	0.0455
H71	1.2724	0.2199	1.2405	0.0455
H72	1.2740	0.2060	1.1094	0.0455
C65	1.0118	0.1679	0.6102	0.0379
C66	0.9165	0.2161	0.6357	0.0379
H73	0.8773	0.2599	0.5701	0.0455
H74	0.8907	0.1530	0.6536	0.0455
H75	0.9205	0.2655	0.7002	0.0455
C67	0.7475	0.2296	1.0076	0.0379
C68	0.7107	0.3162	0.9096	0.0379
H76	0.6692	0.3832	0.9334	0.0455
H77	0.7615	0.3393	0.8859	0.0455
H78	0.6776	0.2817	0.8470	0.0455



Рисунок П6 – Спектры электронного поглощения водных растворов комплекса [Au<sub>2</sub>L<sub>2</sub>]Cl<sub>2</sub> до (1) и после (2) добавления пятикратного избытка GSH (а) и Cys (б). Линии 3 соответствуют спектрам поглощения тиолов. C<sub>[Au2L2]Cl2</sub>=2×10<sup>-5</sup> M.



Рисунок П7 – Спектры люминесценции ПЛ–Au<sub>2</sub>–Mo<sub>6</sub>(CH<sub>3</sub>COO) (a, 1) и ПЛ–Au<sub>2</sub>–Mo<sub>6</sub>(I) (б, 1) наночастиц и супернатантов (2) после фазового разделения.  $\lambda_{воз6}$ =400 нм.

**Таблица П4** – Значения IC<sub>50</sub>, рассчитанные для клеточных линий M-HeLa и Chang Liver, инкубированных ПЛ.



Рисунок П8 – а – Спектры электронного поглощения комплекса [Au<sub>2</sub>L<sub>2</sub>]Cl<sub>2</sub> при различных значениях pH растворов: pH=4 (черная кривая), pH=7 (красная кривая) и pH=10.1 (синяя кривая).  $C_{[Au_{2}L_{2}]Cl_{2}}=1\times10^{-5}$  М. б – Спектры электронного поглощения водных растворов Re<sub>6</sub>(S) (1) и Re<sub>6</sub>(Se) (2) кластеров при pH=8.8 и pH=10.1, соответственно.  $C_{кластер}=3\times10^{-5}$  М.



**Рисунок П9** – Спектры люминесценции водных растворов  $Re_6(S)$  (а) и  $Re_6(Se)$  (б) кластеров (1),  $Au_2$ – $Re_6(S)$  (а) и  $Au_2$ – $Re_6(Se)$  (б) наночастиц (2) и соответствующих супернатантов, полученных после фазового разделения (3).  $\lambda_{B036}$ =400 нм.



Рисунок П10 – Экспериментальные дифрактограммы высушенных Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub>(S) (1) и Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub>(Se) (2) наночастиц. Для наглядности кривые сдвинуты относительно друг друга по оси интенсивности.



Рисунок П11 – Фотографии растворов Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub>(S) (слева) и Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub>(Se) (справа) наночастиц при различных pH.



Рисунок П12 – Данные проточной цитометрии клеток M-HeLa, инкубированных различными концентрациями Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub>(Se) (1) и лизоцим–Au<sub>2</sub>–Re<sub>6</sub>(Se) (2) наночастиц после окрашивания Аннексином V и PI. L – живые клетки; D – мертвые клетки; E.a. – ранние апоптотические клетки; L.a. – клетки позднего апоптоза.

	[Ag <sub>2</sub> L <sub>2</sub> ](BF <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	AgBF <sub>4</sub>
Re <sub>6</sub> (SO <sub>3</sub> )		
Re6(CN)		
Re <sub>6</sub> (OH)		

Рисунок П13 – Фотографии растворов кластеров после прикапывания к ним комплекса [Ag<sub>2</sub>L<sub>2</sub>](BF<sub>4</sub>)<sub>2</sub> или AgBF<sub>4</sub>.



Рисунок П14 – Спектры ЯМР <sup>1</sup>Н и <sup>31</sup>Р (вставка) раствора комплекса  $[Ag_2L_2](BF_4)_2$  в D<sub>2</sub>O.



Рисунок П15 – Спектры поглощения  $[Ag_2L_2](BF_4)_2$  (а) и AgBF<sub>4</sub> (б) до (1) и после (2) добавления пятикратного избытка DTT. Линии 3 соответствуют спектрам поглощения тиола.  $C_{[Ag2L2](BF4)2}=C_{AgBF4}=2\times10^{-5}$  М.



Рисунок П16 – Спектры поглощения Ag(L)– $Re_6(OH)$  (a) и Ag(L)– $Re_6(CN)$  (б) наночастиц до (1) и после (2) добавления пятикратного избытка DTT. Линии 3 соответствуют спектрам поглощения тиола.  $C_{\kappa nacrep}=1\times10^{-5}$  М.

**Таблица П5** – Средние гидродинамические диаметры ( $d_{cp}$ , нм), ПДИ и  $\zeta$ -потенциалы ( $\zeta$ , мВ) гетерометаллических коллоидов Ag(L)–Re<sub>6</sub>(OH) и Ag(L)–Re<sub>6</sub>(CN) до и после добавления DTT.

	<i>d</i> ср, нм	ПДИ	ζ, мВ	
$Ag(L)-Re_6(OH)$	105–120	0.152	-21, -51	
$Ag(L)$ - $Re_6(CN)$	160–610	0.978	-2	
Ag(L	$Ag(L)-Re_6(OH) + DTT:$			
2×10 <sup>-6</sup> M	118–122	0.189	-28	
6×10 <sup>-6</sup> M	140–160	0.144	-31	
1×10 <sup>-5</sup> M	120–140	0.181	-30	
Ag(L	$Ag(L)-Re_6(CN) + DTT:$			
2×10 <sup>-6</sup> M	220–290	0.946	-2	
6×10 <sup>-6</sup> M	140-530	0.933	-37	
1×10 <sup>-5</sup> M	395-460	0.862	-46, -24	



Рисунок П17 – Спектры люминесценции  $Ag_x$ -Re<sub>6</sub>(I) (a) и  $Ag_x$ -Re<sub>6</sub>(II) (б) наночастиц, снятые в течение 14 дней. С<sub>кластер</sub>= $3 \times 10^{-5}$  М,  $\lambda_{воз6}$ =400 нм.

**Таблица П6** – Параметры элементарной ячейки, рассчитанные по данным порошковой дифрактометрии для Ag<sub>2</sub>Re<sub>6</sub>S<sub>8</sub>O<sub>6</sub>.

Структурная формула	$Ag_2O_6Re_6S_8$
Элементарная формула	AgO <sub>3</sub> Re <sub>3</sub> S <sub>4</sub>
Масса, соответствующая элементарной	842.73
формуле, (г/моль)	
Сингония	Кубическая
Пространственная группа	Pa-3 (No. 205)
a, b, c (Å)	11.78096(2), 11.78096(2), 11.78096(2)
α, β, γ (°)	90.0, 90.0, 90.0
$V(Å^3)$	1635.093(5)
Z	8
$D_{pacy} (\Gamma/cM^3)$	6.836
Mu ( /mm )	113.296

1	7	0	

Температура эксперимента (К)	296(1)
Излучение, длина волны (Å)	CuKa <sub>1</sub> , 1.54060
$2\theta_{\text{мин}}, 2\theta_{\text{макс}}, 2\theta_{\text{шаг}}$ (°)	3.0, 106.0, 0.0082
Nref, Npar	325, 54
R <sub>p</sub>	0.0330
R <sub>wp</sub>	0.0487
R <sub>exp</sub>	0.0194
RF2	0.1183
χ2	6.297
Брэгговский R-фактор	0.0654
S	2.50947



Рисунок П18 – а – Экспериментальная (синяя кривая) и рассчитанная (красная кривая) дифрактограммы Ag<sub>2</sub>Re<sub>6</sub>S<sub>8</sub>O<sub>6</sub>, а также их разность (серая кривая). б – Увеличенный в 20 раз фрагмент дифрактограммы в области больших углов 20.



Рисунок П19 – Зависимости люминесценции  $Ag_x$ – $Re_6(I)$  (a),  $Ag_x$ – $Re_6(II)$  (б), лизоцим–  $Ag_x$ – $Re_6(I)$  (в), лизоцим– $Ag_x$ – $Re_6(II)$  (г), ПЭИ– $Ag_x$ – $Re_6(I)$  (д) и ПЭИ– $Ag_x$ – $Re_6(II)$  (е) коллоидов от времени после добавления GSH в концентрациях  $2 \times 10^{-3}$  M (1) и  $1 \times 10^{-2}$  M (2).  $\lambda_{воз6}$ =400 нм.



Рисунок II20 – Данные проточной цитометрии клеток M-HeLa, инкубированных различными концентрациями (а) лизоцим–Ag<sub>x</sub>–Re<sub>6</sub>(I) и (б) Ag<sub>x</sub>–Re<sub>6</sub>(I) (1), лизоцим–Ag<sub>x</sub>–Re<sub>6</sub>(I) (2) и ПЭИ–Ag<sub>x</sub>–Re<sub>6</sub>(I) (3) наночастиц после окрашивания Аннексином V и PI. L – живые клетки; D – мертвые клетки; E.a. – ранние апоптотические клетки; L.a. – клетки позднего апоптоза.