

На правах рукописи

Файзуллин Булат Айварович

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

Специальность 1.4.4. Физическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Казань – 2022

Работа выполнена в Институте органической и физической химии им. А.Е. Арбузова – обособленном структурном подразделении Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук»

- Научный руководитель:** доктор химических наук
Мустафина Асия Рафаэлевна
- Официальные оппоненты:** доктор химических наук
Грачева Елена Валерьевна
профессор кафедры общей и неорганической химии
Института химии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», г. Санкт-Петербург
- доктор химических наук
Селиванова Наталья Михайловна
профессор кафедры физической и коллоидной химии
Института полимеров Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанский национальный исследовательский технологический университет», г. Казань
- Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «**Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова**»

Защита диссертации состоится **25 января 2023 года в 14 часов 30 минут** на заседании диссертационного совета 24.1.225.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук» по адресу: 420088, г. Казань, ул. Академика Арбузова, д. 8, ИОФХ им. А.Е. Арбузова – обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН, большой конференц-зал.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ИОФХ им. А.Е. Арбузова – обособленного структурного подразделения ФИЦ КазНЦ РАН и на сайте <http://www.iopc.ru/>.

Отзывы на автореферат в двух экземплярах просим присылать по адресу: 420088, г. Казань, ул. Академика Арбузова, д. 8, ИОФХ им. А.Е. Арбузова, ученому секретарю совета, e-mail: toropchina@iopc.ru

Автореферат разослан «28» ноября 2022 г.

Учёный секретарь диссертационного совета, кандидат химических наук



Торопчина А.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

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 и химических свойств. Огромное разнообразие 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 в наноструктуры. Подбором координационных блоков можно добиться направленной модификации функциональных характеристик наноструктур и их зависимости и/или переключаемости за счет внешних воздействий, таких как облучение, взаимодействие с биомолекулами или изменение pH 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, регулируемые 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 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 полиэлектролит-стабилизированные наночастицы на основе нейтрального комплекса Au(I) с диазидифосфациклооктановым лигандом, а также гетерометаллические наноструктуры на основе катионных комплексов Au(I) или Ag(I) с анионными кластерами состава $[\{Re_6Q_8\}(L')_6]^{n-}$ и $[\{Mo_6I_8\}(L')_6]^{2-}$, 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 полиэлектролит-стабилизированных наночастиц на основе нейтрального комплекса Au(I) с диазидифосфациклооктановым 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 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); XXVIII 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.

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 РФФИ № 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».

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **введении** обоснована актуальность, сформулированы цель и задачи диссертационной работы, представлены научная новизна проведенных исследований, их теоретическая и практическая значимость.

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.

Третья глава посвящена обсуждению полученных результатов. В ней рассмотрены процессы образования супрамолекулярных наноструктур, проведена полная характеристика 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.

Наноструктуры на основе нейтрального комплекса $(AuCl)_2L$

Гидрофильные люминесцентные наночастицы на основе нейтрального комплекса $(AuCl)_2L$ ($L=1,5$ -бис(пара-толил)-3,7-бис(пиридин-2-ил)-1,5-диаза-3,7-дифосфациклооктановый лиганд) были получены путем адсорбции молекул полиэтиленimina (ПЭИ) на поверхности твердых нанотемплатов, образующихся в процессе самоорганизации молекул комплекса при смене растворителя. При пересадении комплекса из ДМСО раствора в водный раствор образуются твердые частицы, электрокинетический потенциал (ζ) которых равен -12 мВ, что обуславливает их склонность к агрегации (Таблица 1). Молекулы ПЭИ, адсорбируясь на поверхности наночастиц, придают последним агрегативную устойчивость.

Таблица 1 – Средний гидродинамический диаметр ($d_{ср}$, нм), ПДИ и ζ -потенциал (ζ , мВ) $(AuCl)_2L$ и ПЭИ- $[(AuCl)_2L]$ частиц. $C_{(AuCl)_2L}=4 \times 10^{-4}$ М, $C_{NaCl}=5 \times 10^{-1}$ М, $C_{ПЭИ}=1$ г/л, $pH_{ПЭИ}=7$.

	$d_{ср}$, нм	ПДИ	ζ , мВ
$(AuCl)_2L$	4755 ± 75	0.33	-12
ПЭИ- $[(AuCl)_2L]$	270 ± 20	0.67	+55

Методом просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) установлена морфология ПЭИ- $[(AuCl)_2L]$ наночастиц типа «пудинг с изюмом»: множество твердых темплатов (2–3 нм), распределенных в мягкой полиэлектролитной оболочке (15–25 нм) (Рисунок 1).

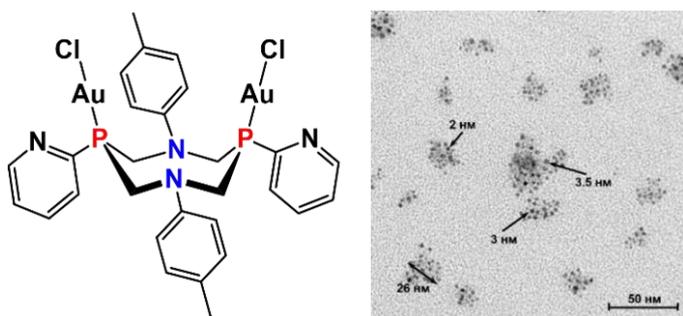


Рисунок 1 – Схематическое изображение структуры комплекса $(AuCl)_2L$ и ПЭМ-изображение высушенного образца ПЭИ- $[(AuCl)_2L]$ коллоидов.

Полученные структуры сохраняют высокую интенсивность люминесценции в течение как минимум 9 дней, в широком интервале pH, а также в присутствии координирующих и восстанавливающих агентов (Рисунок 2).

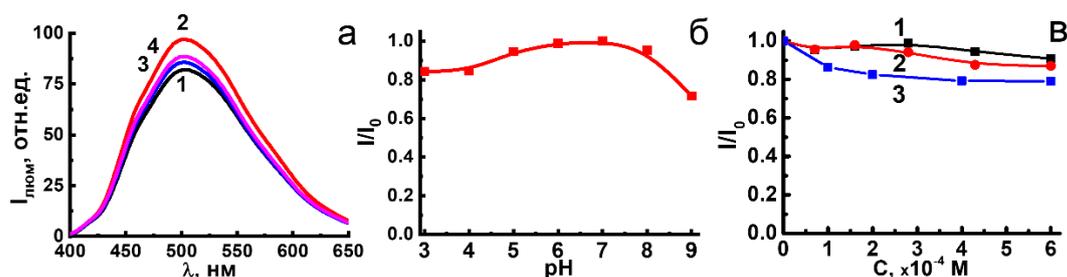


Рисунок 2 – а – Спектры люминесценции ПЭИ- $[(AuCl)_2L]$ в зависимости от времени хранения образцов: 0 дней (1), 2 дня (2), 4 дня (3), 9 дней (4). $C_{(AuCl)_2L}=4 \times 10^{-4}$ М. б – Зависимость I/I_0 от значений pH коллоидных растворов. $C_{(AuCl)_2L}=2 \times 10^{-4}$ М. в – Зависимость I/I_0 ПЭИ- $[(AuCl)_2L]$ коллоидов от концентрации Na_2EDTA (1), NaH_2PO_4 (2), и аскорбиновой кислоты (3). $C_{(AuCl)_2L}=4 \times 10^{-4}$ М, $\lambda_{возб}=365$ нм, $\lambda_{изл}=505$ нм.

Сродство комплексов Au(I) к тиольным группам биомолекул является одной из причин их воздействия на клетки. Люминесцентные свойства комплекса $(AuCl)_2L$ в составе наночастиц позволяют количественно оценить их взаимодействие с внутриклеточными биотиолами. В частности, установлен концентрационно-зависимый люминесцентный отклик на молекулы цистеина (Cys), гомоцистеина (Hcy) и глутатиона (GSH) (Рисунок 3а). Предполагаемый механизм, ответственный за тушение люминесценции, представлен уравнениями 1–3.

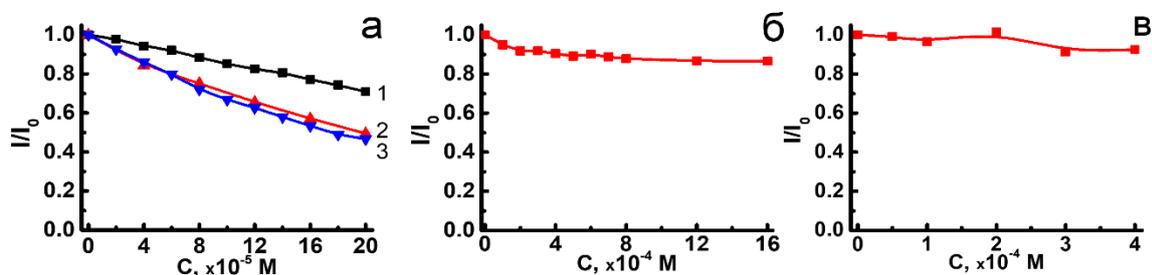
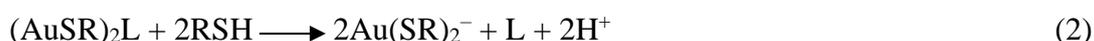
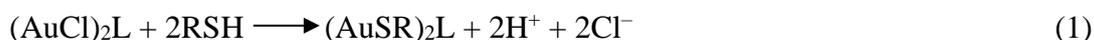


Рисунок 3 – Зависимости I/I_0 ПЭИ- $(AuCl)_2L$ коллоидов от концентрации: а – GSH (1), Cys (2) и Hcy (3), б – метионина и в – тиохолина. $C_{(AuCl)_2L}=4 \times 10^{-4}$ М, pH=6.8, $\lambda_{возб}=365$ нм, $\lambda_{изл}=505$ нм.



Участие в наблюдаемых процессах именно SH-группы тиолов подтверждается незначительным влиянием метионина (RS-CH₃) на интенсивность люминесценции ПЭИ–[(AuCl)₂L] наноструктур (Рисунок 3б). В то же время, ПЭИ-оболочка выступает в качестве защитного барьера для катионных тиолов, в частности, тиохолина (Рисунок 3в).

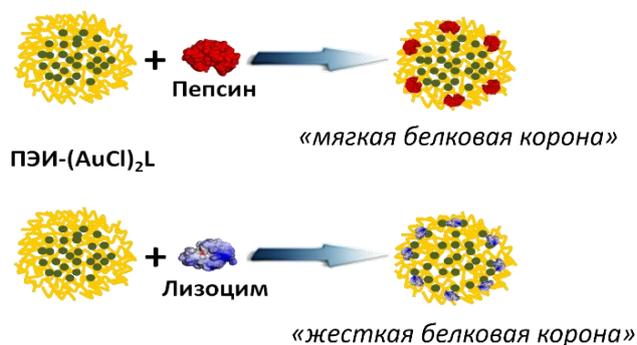


Схема 1 – Схематическое изображение взаимодействия ПЭИ–[(AuCl)₂L] коллоидов с отрицательно (пепсин) и положительно (лизоцим) заряженными белками.

Таблица 2 – Средние гидродинамические диаметры ($d_{ср}$, нм), ПДИ и ζ -потенциалы (ζ , мВ) ПЭИ–[(AuCl)₂L] коллоидов без и в присутствии белковых молекул. $C_{(AuCl)_2L}=8 \times 10^{-6}$ М.

	$d_{ср}$, нм	ПДИ	ζ , мВ
ПЭИ–(AuCl) ₂ L	250–290	0.677	+55
ПЭИ–(AuCl) ₂ L+пепсин	190–396	1	–39
ПЭИ–(AuCl) ₂ L+БСА	215–250	0.838	–15

(БСА) и пепсина в ПЭИ-оболочку, т.е. образованию «мягкой короны» (Таблица 2).

Напротив, полученные люминесцентные (Рисунок 4в), а также данные КД-спектроскопии (Рисунок 4г) в случае положительно-заряженного лизоцима указывают на его взаимодействие с ядрами наночастиц и уменьшение экранирующей способности ПЭИ-оболочки, что соответствует формированию «жесткой белковой короны».

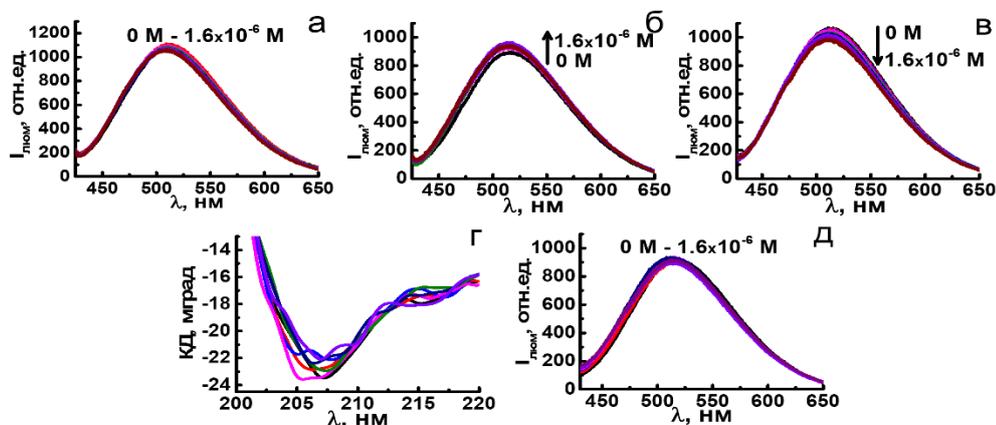


Рисунок 4 – Спектры люминесценции ПЭИ–[(AuCl)₂L] коллоидов при добавлении БСА (а), пепсина (б), лизоцима (в) и тиоредоксина (д). $C_{(AuCl)_2L}=4 \times 10^{-5}$ М, $\lambda_{возб}=365$ нм. г – КД-спектры лизоцима. $C_{лизоцим}=1.75 \times 10^{-6}$ М.

Взаимодействие наночастиц с белками играет важную роль в их клеточной интернализации. Морфология ПЭИ-стабилизированных наночастиц является предпосылкой для реализации двух моделей взаимодействия – образование «мягкой» и «жесткой» белковых корон (Схема 1). На примере ряда белков показана роль поверхностного заряда в формировании «мягкой» и «жесткой» белковых корон.

В частности, данные динамического светорассеяния (ДРС) (Таблица 2) и люминесцентного анализа (Рисунок 4а, б) свидетельствуют о встраивании отрицательно-заряженных бычьего сывороточного альбумина

Кроме того, показано, что чувствительная к изменениям во внутри- и внешнесферном окружении Au-центров эмиссия комплекса практически не изменяется при добавлении физиологического биотиола тиоредоксина (Рисунок 4д). Такое поведение можно объяснить тем, что SH-группы цистеиновых фрагментов белка экспонированы в зоне нулевого заряда его поверхности, что исключает возможность связывания с ионами Au⁺ подобно тому, как это было описано для низкомолекулярных GSH и Cys.

Тушение люминесценции ПЭИ-[(AuCl)₂L] в растворах желтого флуоресцентного белка (ЖФБ) также указывает на его непосредственное связывание с ядрами наночастиц (Рисунок 5).

Установлено, что формирование «жесткой» белковой короны ПЭИ-[(AuCl)₂L] при взаимодействии с лизоцимом заметно увеличивает цитотоксическое воздействие наночастиц по сравнению с формированием «мягкой» короны при взаимодействии с пепсином (Таблица 3). Данный эффект согласуется с нарушением ПЭИ-оболочки наночастиц и уменьшением ее экранирующей способности при формировании «жесткой» короны.

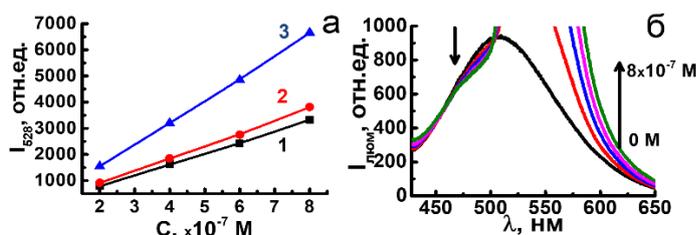


Рисунок 5 – а – Зависимости $I_{528\text{nm}}$ –С_{ЖФБ} для растворов белка (1) и белка в присутствии ПЭИ (2) или ПЭИ-[(AuCl)₂L] (3). б – Тушение люминесценции ПЭИ-[(AuCl)₂L] наночастиц при добавлении ЖФБ. $C_{(\text{AuCl})_2\text{L}}=4 \times 10^{-5}$ М, $\lambda_{\text{возб}}=365$ нм.

Таблица 3 – Значения IC_{50} , рассчитанные для клеточной линии Wi-38, инкубированной наночастицами ПЭИ-[(AuCl)₂L], ПЭИ-[(AuCl)₂L]+лизоцим и ПЭИ-[(AuCl)₂L]+пепсин.

	IC_{50} , $\times 10^{-6}$ М
ПЭИ-[(AuCl) ₂ L]	18.1±0.2
ПЭИ-[(AuCl) ₂ L]+пепсин	15.0±0.1
ПЭИ-[(AuCl) ₂ L]+лизоцим	9.2±0.3

Гетерометаллические наноструктуры на основе катионного комплекса [Au₂L₂]²⁺ с гексамолибденовыми кластерами [{Mo₆I₈}(L')₆]²⁻

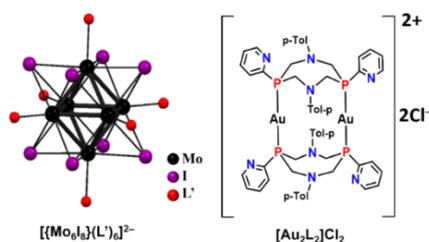


Рисунок 6 – Схематическое изображение структур $\{Mo_6I_8\}(L')_6\}^{2-}$ кластеров и комплекса $[Au_2L_2]^{2+}$.

Гетерометаллические наноструктуры (Au₂–Mo₆) были получены взаимодействием катионного комплекса $[Au_2L_2]^{2+}$ с гексамолибденовыми кластерами $\{Mo_6I_8\}(L')_6\}^{2-}$, где L'=I⁻ и CH₃COO⁻ (Рисунок 6). Для дальнейшего повышения коллоидной устойчивости и клеточной интернализации сформированных наночастиц их поверхность была модифицирована поли-DL-лизином (ПЛ).

На основе ПРД, ПЭМ и ДРС данных установлено, что наночастицы на основе кластера $\{Mo_6I_8\}I_6\}^{2-}$ аморфны, и их средний размер в пределах 30–50 нм, в то время как нанокристаллиты на основе $\{Mo_6I_8\}(CH_3COO)_6\}^{2-}$ склонны к образованию крупных

Таблица 4 – Средние гидродинамические диаметры ($d_{ср}$, нм), ПДИ и ζ -потенциалы (ζ , мВ) супрамолекулярных систем на основе комплекса $[Au_2L_2]Cl_2$ с $[Mo_6I_8](L')_6]^{2-}$ кластерами.

	$d_{ср}$, нм	ПДИ	ζ , мВ
$Au_2-Mo_6(I)$	28–38	0.44	+20
ПЛ– $Au_2-Mo_6(I)$	28–50	0.33	+51
$Au_2-Mo_6(CH_3COO)$	220–340	0.80	–1
ПЛ– $Au_2-Mo_6(CH_3COO)$	91–190	0.43	+49

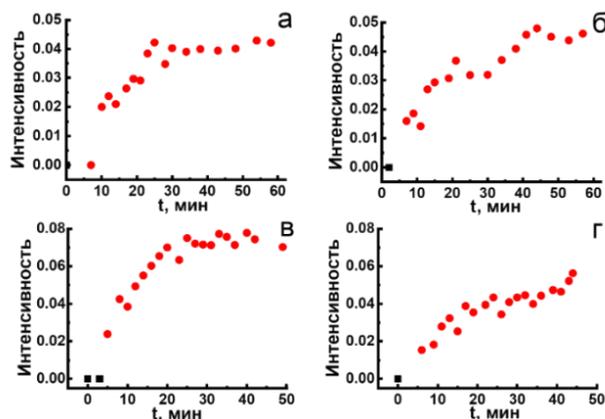


Рисунок 7 – Фотодинамическая активность растворов кластеров $[Mo_6I_8]I_6]^{2-}$ (а) и $[Mo_6I_8](CH_3COO)_6]^{2-}$ (б), а также соответствующих гетерометаллических наночастиц (в, г). Скластер= 2×10^{-5} М, $\lambda_{облучения}=405$ нм.

Таблица 5 – Значения IC_{50} , рассчитанные для клеточных линий М-HeLa и Chang Liver после инкубации комплексом $[Au_2L_2]Cl_2$ и гетерометаллическими коллоидами.

	$IC_{50}, \times 10^{-6}$ М	
	М-HeLa	Chang Liver
$[Au_2L_2]Cl_2$	1.9 ± 0.1	3.1 ± 0.2
$Au_2-Mo_6(I)$	7.5 ± 0.5	8.3 ± 0.3
ПЛ– $Au_2-Mo_6(I)$	>10	>10
$Au_2-Mo_6(CH_3COO)$	>10	7.2 ± 0.4
ПЛ– $Au_2-Mo_6(CH_3COO)$	6.6 ± 0.3	>10

Таблица 6 – Жизнеспособность клеток М-HeLa после их инкубации с ПЛ– Au_2-Mo_6 без и при облучении в течение 15 минут. $C=5 \times 10^{-6}$ М, $\lambda_{облучения}=405$ нм.

	Жизнеспособность клеток, %	
	Без облучения	Облучение 15 минут
Контроль	95.4	88.2
ПЛ– $Au_2-Mo_6(I)$	81.6	9.5
ПЛ– $Au_2-Mo_6(CH_3COO)$	74.8	10.9

агрегатов в высушенных образцах и в растворах (Таблица 4). При этом образование коллоидов сопровождается значительным повышением как интенсивности эмиссии, так и τ возбужденных состояний обоих кластеров.

Сохранность структур комплекса $[Au_2L_2]^{2+}$ и кластеров при образовании наносистем подтверждена данными ИК-спектроскопии.

Способность к генерации АФК кластеров в растворе и наночастиц на их основе изучена методом ЭПР спектроскопии с использованием ДМПО в качестве спиновой ловушки. Показано, что уровень генерируемых АФК практически не изменяется при включении $[Mo_6I_8]I_6]^{2-}$ в наночастицы, в то время как для $[Mo_6I_8](CH_3COO)_6]^{2-}$ наблюдается снижение количества генерируемых радикалов (Рисунок 7), что коррелирует с уменьшением доступности кластерных единиц для взаимодействия с молекулами кислорода вследствие образования крупных агрегатов в растворах.

Сопоставительный анализ жизнеспособности клеток, инкубированных комплексом $[Au_2L_2]Cl_2$ и наночастицами на его основе, свидетельствует о значительном снижении цитотоксичности $[Au_2L_2]^{2+}$ при их включении состав гетерометаллических наночастиц (Таблица 5). При этом наличие в их составе люминесцентных кластерных блоков обеспечивает

возможность не только отслеживания внутриклеточного распределения наночастиц (Рисунок 8), но и фотодинамического воздействия, приводящего к значительной гибели инкубированных клеток при их 15-минутном облучении (Таблица 6).

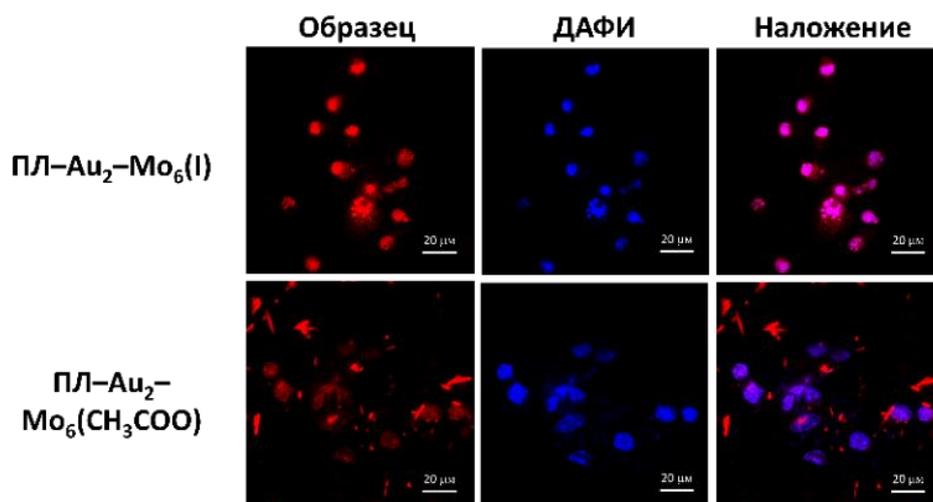


Рисунок 8 – Изображения, полученные методом конфокальной микроскопии клеток M-HeLa, инкубированных гетерометаллическими наночастицами и красителем ДАФИ.

Гетерометаллические наноструктуры на основе катионного комплекса $[Au_2L_2]^{2+}$ с гексарениевыми кластерами $[{Re}_6Q_8](OH)_6^{4-}$ ($Q=S^{2-}$ или Se^{2-})

Вследствие рН-зависимых превращений кластеров $[{Re}_6S_8](OH)_6^{4-}$ и $[{Re}_6Se_8](OH)_6^{4-}$ (Рисунок 9, Уравнение 4) уровень рН раствора выше 8.0 является важной предпосылкой их существования в анионной форме ($[{Re}_6Q_8](H_2O)_2(OH)_4]^{2-}$), взаимодействия с катионами $[Au_2L_2]^{2+}$ и формирования гетерометаллических наноструктур ($Au_2-Re_6(S)$ и $Au_2-Re_6(Se)$).

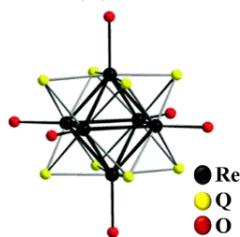


Рисунок 9 – Схематическое изображение структур $[{Re}_6Q_8](OH)_6^{4-}$ кластеров.

Фотографии, полученные методом ПЭМ, позволили установить средние размеры частиц (порядка 6 нм и 11 нм для $Au_2-Re_6(S)$ и $Au_2-Re_6(Se)$, соответственно) (Рисунок 10). Однако в



Сохранность структур комплекса $[Au_2L_2]^{2+}$ и кластеров $[{Re}_6Q_8](OH)_6^{4-}$ при образовании Au_2-Re_6 наносистем подтверждена данными ИК-спектроскопии.

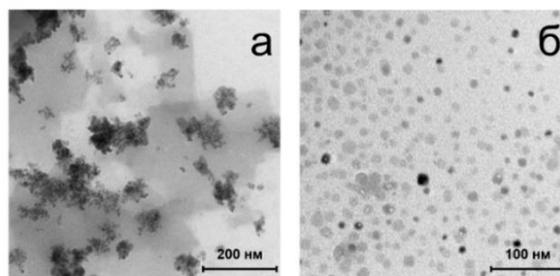


Рисунок 10 – ПЭМ-изображения высушенных образцов коллоидов $Au_2-Re_6(S)$ (а) и $Au_2-Re_6(Se)$ (б).

водных и буферных растворах, согласно данным ДРС, наночастицы подвержены значительной агрегации (Таблица 7).

Таблица 7 – Определенные по количественному распределению частиц диаметры ($d_{\text{колич}}$, нм) и ПДИ Au₂-Re₆ и лизоцим-Au₂-Re₆ наночастиц в воде и фосфатном буфере. $C_{\text{буфера}}=1 \times 10^{-2}$ М, pH=7.

	$d_{\text{колич}}$, 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
Au ₂ -Re ₆ (Se)	340–530	0.9

Отрицательный поверхностный заряд наночастиц является предпосылкой их поверхностной модификации лизоцимом. При этом, адсорбция последнего на поверхности наночастиц сдвигает уровень pH их активного процесса растворения в сторону меньших pH (Рисунок 11).

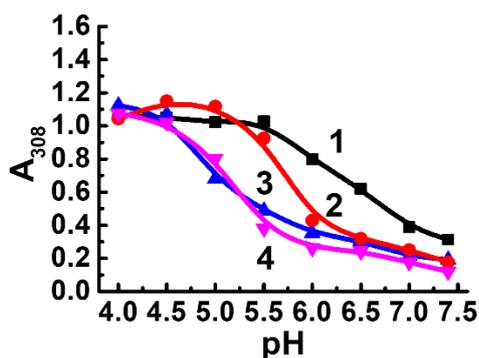


Рисунок 11 – Зависимости A_{308} -pH для супернатантов, полученных при фазовом разделении Au₂-Re₆(S) (1), Au₂-Re₆(Se) (2), лизоцим-Au₂-Re₆(S) (3) и лизоцим-Au₂-Re₆(Se) (4) наночастиц.

Таблица 8 – Значения IC_{50} , рассчитанные для клеточных линий M-HeLa и Chang Liver, инкубированных комплексом [Au₂L₂]Cl₂, коллоидами Au₂-Re₆ и лизоцим-Au₂-Re₆.

	IC_{50} , $\times 10^{-6}$ М	
	M-HeLa	Chang liver
[Au ₂ L 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 ₂ -Re ₆ (S)	1.2±0.1	2.6±0.2
Au ₂ -Re ₆ (Se)	1.7±0.1	1.7±0.1
лизоцим-Au ₂ -Re ₆ (Se)	3.4±0.2	2.9±0.2
лизоцим	>30	>30

pH-зависимые превращения кластеров являются предпосылкой разрушения гетерометаллических наноструктур, построенных на основе электростатического притяжения между противоположно заряженными блоками. Так, мониторинг спектров поглощения супернатантов (Рисунок 11) при различных pH среды позволил скоррелировать процесс разборки наночастиц и соответствующее высвобождение цитотоксичного комплекса [Au₂L₂]²⁺ в зависимости от pH растворов.

Оценка жизнедеятельности клеток, инкубированных наночастицами выявила их высокую цитотоксичность ($IC_{50}=1.2 \times 10^{-6}$ – 3.4×10^{-6} М), сравнимую с цитотоксичностью комплекса [Au₂L₂]Cl₂ (Таблица 8). Интенсивная люминесценция [{Re₆S₈}(H₂O)₂(OH)₄]²⁻ в составе лизоцим-Au₂-Re₆(S) наночастиц позволила методом конфокальной микроскопии доказать их концентрацию в лизосомах (Рисунок 12а), что является предпосылкой их растворения в кислых лизосомальных условиях и выходом

цитотоксичного [Au₂L₂]²⁺ в цитоплазму. Низкая люминесценция [{Re₆Se₈}(H₂O)₂(OH)₄]²⁻ в составе наночастиц лизоцим-Au₂-Re₆(Se) позволила с помощью pH-зависимого индикатора (акридиновый оранжевый (АО)) доказать факт разрыва лизосом клеток, инкубированных данными наночастицами (Рисунок 12б).

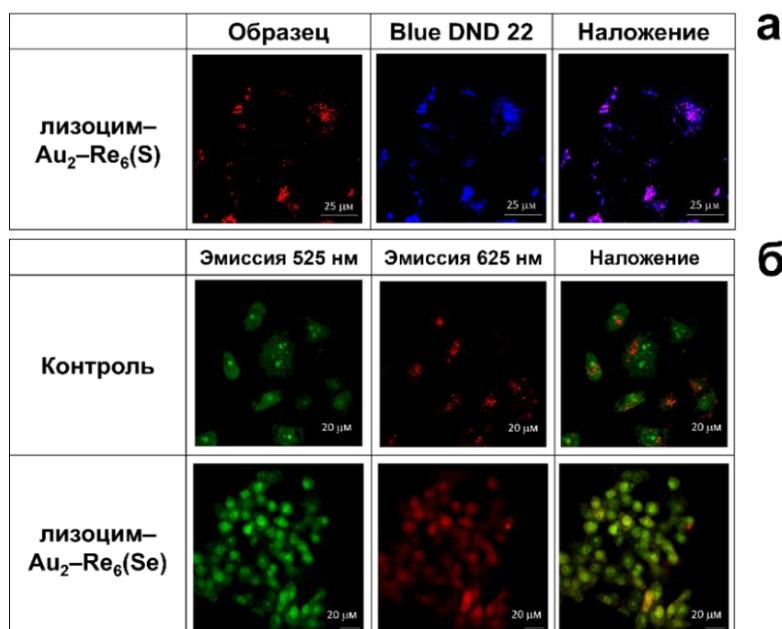


Рисунок 12 – а – Анализ колокализации лизоцим–Au₂–Re₆ наночастиц и красителя Blue DND 22 после 24 часов инкубации клеток М-HeLa. C_{Re6(S)}=1×10⁻⁶ М, C_{Blue DND 22}=1×10⁻⁶ М, λ_{возб}(Au₂–Re₆(S))=405 нм, λ_{возб}(Blue DND 22)=373 нм. б – Изображения конфокальной микроскопии, показывающие разрыв эндо/лизосом в клетках М-HeLa, инкубированных лизоцим–Au₂–Re₆(Se) наночастицами и АО. C_{Re6(Se)}= 3×10⁻⁶ М, C_{АО}=5×10⁻⁶ М, λ_{возб}=488 нм.

Выявленный внутриклеточный путь наночастиц и их последующее растворение объясняют значительный вклад апоптотического пути в гибель клеток М-HeLa в сравнении с процессами, индуцируемыми раствором молекулярного комплекса [Au₂L₂]Cl₂.

Гетерометаллические наноструктуры на основе катионного комплекса [Ag₂L₂]²⁺ с гексарениевыми кластерами [{Re₆S₈}(L')₆]ⁿ⁻ (L'=CN⁻ или OH⁻)

В отличие от [Au₂L₂]²⁺ схожий по структуре [Ag₂L₂]²⁺ (L=6-метилпиридин-2-илфосфофановый лиганд) (Рисунок 13) в значительной степени подвержен диссоциации в растворах, что позволяет рассматривать в качестве движущей силы формирования гетерометаллических наноструктур координацию ионов и комплексов Ag(I) с мостиковыми сульфидами или апикальными лигандами. Для выявления роли координационного связывания были использованы кластеры с различными апикальными лигандами (OH⁻, CN⁻ и SO₃²⁻).

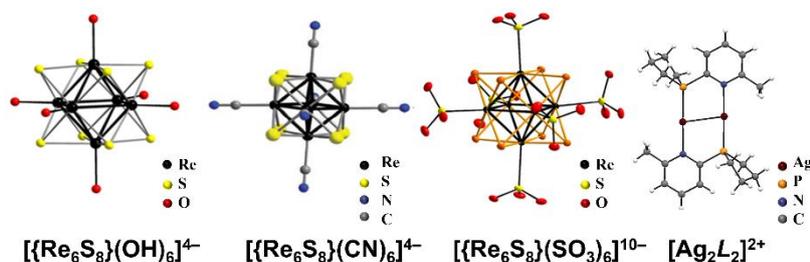


Рисунок 13 – Схематическое изображение структур [{Re₆S₈}(L')₆]ⁿ⁻ кластеров и комплекса [Ag₂L₂]²⁺.

Формирование наноразмерных структур приводит к образованию коллоидных систем и увеличению интенсивности кластер-центрированной люминесценции (Рисунок 14а, б) лишь в случае

$[\{\text{Re}_6\text{S}_8\}(\text{OH})_6\}^{4-}$ и $[\{\text{Re}_6\text{S}_8\}(\text{CN})_6\}^{4-}$ кластеров ($\text{Ag}(\text{L})\text{-Re}_6(\text{OH})$ и $\text{Ag}(\text{L})\text{-Re}_6(\text{CN})$, соответственно), но не для $[\{\text{Re}_6\text{S}_8\}(\text{SO}_3)_6\}^{10-}$ (Рисунок 14в), что подтверждает существенный вклад координационных связей в формирование наноструктур.

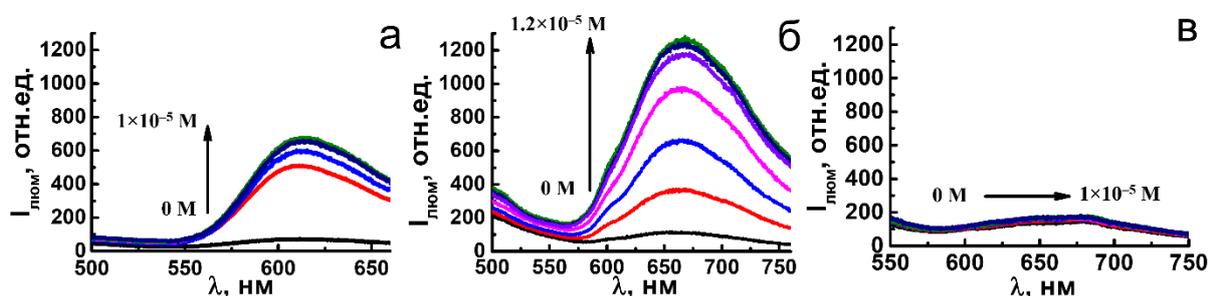


Рисунок 14 – Спектры люминесценции водных растворов кластеров при различных количествах добавленного комплекса $[\text{Ag}_2\text{L}_2](\text{BF}_4)_2$: (а) $[\{\text{Re}_6\text{S}_8\}(\text{OH})_6\}^{4-}$, (б) $[\{\text{Re}_6\text{S}_8\}(\text{CN})_6\}^{4-}$ и (в) $[\{\text{Re}_6\text{S}_8\}(\text{SO}_3)_6\}^{10-}$. $C_{\text{кластер}}=4 \times 10^{-6}$ М, $\lambda_{\text{возб}}=370$ нм.

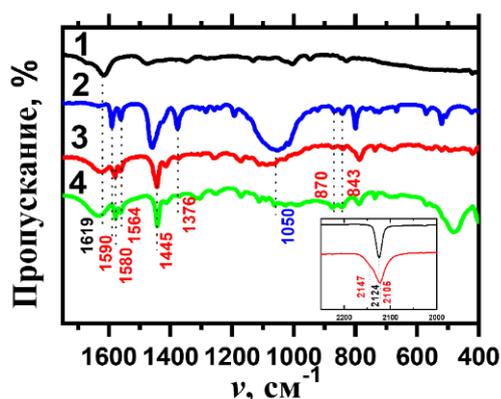


Рисунок 15 – ИК-спектры кластера $\text{K}_4[\{\text{Re}_6\text{S}_8\}(\text{CN})_6]$ (1), комплекса $[\text{Ag}_2\text{L}_2](\text{BF}_4)_2$ (2), а также $\text{Ag}(\text{L})\text{-Re}_6(\text{CN})$ (3) и $\text{Ag}(\text{L})\text{-Re}_6(\text{OH})$ (4) коллоидов. Вставка показывает диапазон $2250\text{-}2000$ cm^{-1} .

$\text{Re}_6(\text{CN})$ кластера (Рисунок 15). Данный факт, наряду с существенным увеличением интенсивности люминесценции и времени жизни (τ) возбужденного состояния $[\{\text{Re}_6\text{S}_8\}(\text{CN})_6\}^{4-}$ (2.82×10^{-6} с и 9.45×10^{-6} с для раствора кластера и наночастиц, соответственно) позволяет предположить реализацию мостиковой координации Ag -содержащих фрагментов между кластерными единицами через азот цианидных групп.

Включение Ag -содержащих фрагментов обеспечивает наноструктуры сенсорными свойствами по отношению к молекулам Cys , GSH и дитиотреитола (DTT). Образование тиолатных комплексов серебра сопровождается появлением характерных полос поглощения в спектрах электронного поглощения растворов комплекса $[\text{Ag}_2\text{L}_2](\text{BF}_4)_2$ и тиолов. В растворах тиолов не происходит разрушения $\text{Ag}(\text{L})\text{-Re}_6(\text{OH})$ и $\text{Ag}(\text{L})\text{-Re}_6(\text{CN})$ и накопления тиолатных комплексов серебра, но существенно изменяется их люминесценция (Рисунок 16).

Это свидетельствует о связывании тиолат-анионов ионами серебра на поверхности наночастиц $\text{Ag}(L)\text{-Re}_6(\text{OH})$ и $\text{Ag}(L)\text{-Re}_6(\text{CN})$.

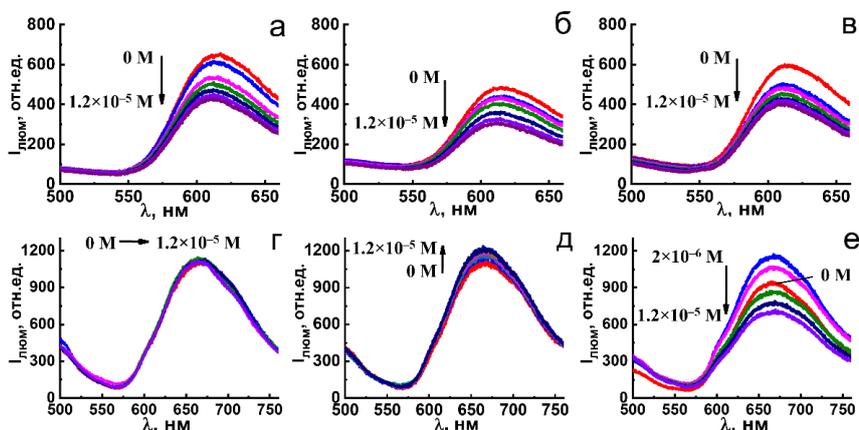


Рисунок 16 – Спектры люминесценции $\text{Ag}(L)\text{-Re}_6(\text{OH})$ (а-в) и $\text{Ag}(L)\text{-Re}_6(\text{CN})$ (г-е) коллоидов при различных количествах добавленных Cys (а, г), GSH (б, д) и DTT (в, е). $C_{\text{кластер}}=4 \times 10^{-6}$ М, $\lambda_{\text{возб}}=370$ нм.

Гетерометаллические наноструктуры на основе катионного комплекса $[\text{Ag}_2\text{L}_2]^{2+}$ с гексарениевым кластером $[\{\text{Re}_6\text{S}_8\}(\text{H}_2\text{O})_n(\text{OH})_{6-n}]^{n-4}$

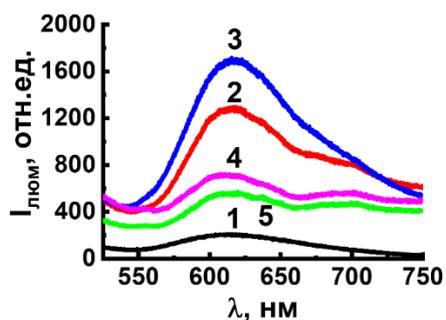


Рисунок 17 – Спектры люминесценции растворов $[\{\text{Re}_6\text{S}_8\}(\text{H}_2\text{O})_2(\text{OH})_4]^{2-}$ (1), $\text{Ag}_x\text{-Re}_6(\text{I})$ (2), $\text{Ag}_x\text{-Re}_6(\text{II})$ (3), $\text{Ag}_x\text{-Re}_6(\text{III})$ (4) и $\text{AgBF}_4\text{-Re}_6$ (5) наночастиц. $C_{\text{кластер}}=3 \times 10^{-5}$ М, $\lambda_{\text{возб}}=400$ нм.

pH-зависимость $[\{\text{Re}_6\text{S}_8\}(\text{OH})_6]^{4-}$ кластера, как было показано ранее, обеспечивает разборку гетерометаллических $\text{Au}_2\text{-Re}_6$ структур в лизосомальных условиях. В случае же $[\text{Ag}_2\text{L}_2]^{2+}$ комплекса реализация координационных связей должна препятствовать растворению структур, в то же время оставляя возможность протонирования кластерных блоков, которое, в свою очередь, влияет на люминесцентные свойства получаемых наночастиц.

Образование гетерометаллических $\text{Ag}_x\text{-Re}_6$ структур сопровождается разгоранием люминесценции кластерного блока, при этом наибольшее изменение наблюдается для $\text{Ag}_x\text{-Re}_6(\text{I})$ и $\text{Ag}_x\text{-Re}_6(\text{II})$ частиц, получаемых при нейтральном pH, при котором кластер преимущественно находится в форме дианиона $[\{\text{Re}_6\text{S}_8\}(\text{H}_2\text{O})_2(\text{OH})_4]^{2-}$ (Рисунок 17, линии 2 и 3).

Состав наночастиц соответствует стехиометрии $\text{Ag}_2\text{-Re}_6$ при нестехиометричном соотношении Ag:P , что наряду с низкой интенсивностью полос лиганда в ИК-спектрах $\text{Ag}_x\text{-Re}_6$ наноструктур (Рисунок 18а) свидетельствует о незначительных количествах лиганда в составе наночастиц. Кроме того, структура комплекса $\text{Ag}_2\text{-Re}_6$, смоделированная в соответствии со стехиометрией гетерометаллических комплексов и размерами элементарной

ячейки, полученной по данным порошковой дифракции, свидетельствует о координации ионов серебра по реберным сульфидам без участия лиганда (Рисунок 18б).

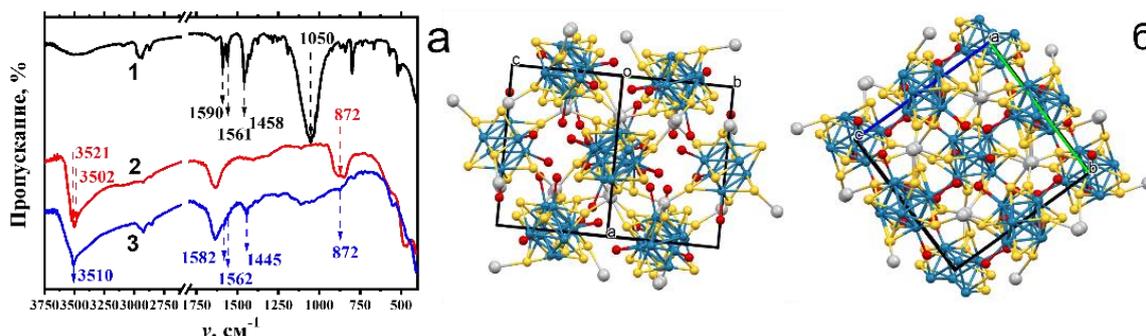


Рисунок 18 – а – ИК-спектры комплекса $[Ag_2L_2](BF_4)_2$ (1), кластера $K_4\{[Re_6S_8](OH)_6\}$ (2) и $Ag_x-Re_6(I)$ (3). б – Две проекции кристаллической упаковки смоделированной структуры $Ag_2\{[Re_6S_8](H_2O)_2(OH)_4\}$.

Наноструктуры $Ag_x-Re_6(I)$ и $Ag_x-Re_6(II)$ имеют отрицательные значения ζ -потенциалов (-25 мВ и -23 мВ), достаточно низкую полидисперсность (ПДИ=0.056 и 0.053, соответственно) и средние размеры в пределах 100–120 и 200–250 нм, соответственно, что согласуется с данными ПЭМ (Рисунок 19а, б).

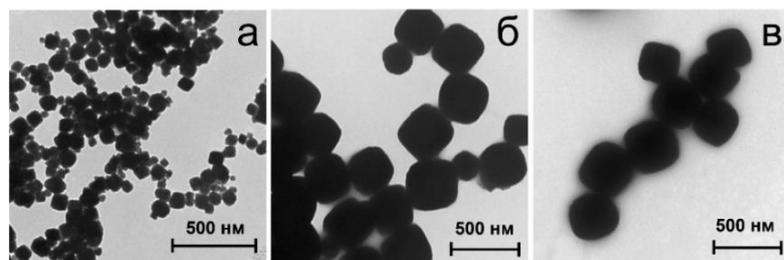


Рисунок 19 – ПЭМ-изображения $Ag_x-Re_6(I)$ (а), $Ag_x-Re_6(II)$ (б) и ПЭИ- $Ag_x-Re_6(II)$ (в) наночастиц.

подтверждается данными просвечивающей микроскопии (Рисунок 19в). В случае же лизоцима наблюдается лишь частичная нейтрализация заряда поверхности (-4 мВ и -13 мВ для лизоцим- $Ag_x-Re_6(I)$ и лизоцим- $Ag_x-Re_6(II)$), что, однако, не снижает коллоидной стабильности системы.

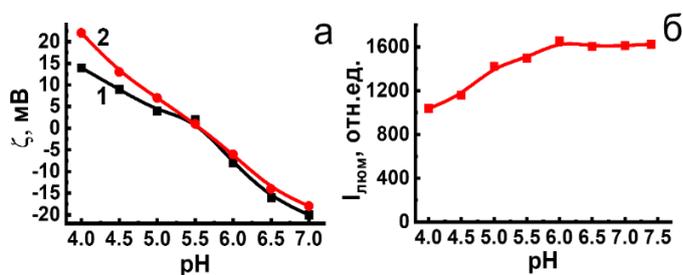


Рисунок 20 – а – Значения ζ -потенциалов наночастиц $Ag_x-Re_6(I)$ (1) и $Ag_x-Re_6(II)$ (2) при различных pH. б – Интенсивности люминесценции коллоидов $Ag_x-Re_6(II)$ при различных значениях pH растворов. $c_{\text{кластер}}=3 \times 10^{-5}$ М, $\lambda_{\text{возб}}=400$ нм.

Для повышения клеточной интернализации, поверхность наноструктур была модифицирована ПЭИ и лизоцимом. Важно отметить, что при взаимодействии с ПЭИ не происходит разрушения наночастиц, что

Установленная химическая стабильность наноструктур в смоделированных лизосомальных условиях, снижение интенсивности их люминесценции и перезарядка поверхности объясняется протонированием апикальных гидроксидов кластеров. Наличие протонируемых центров и

перезарядка поверхности наночастиц в слабокислых условиях может оказывать «эффект протонной губки», обеспечивающий быстрое эндо-лизосомальное высвобождение наночастиц. Данные конфокальной микроскопии свидетельствуют о клеточной интернализации и быстром эндо-лизосомальном высвобождении наночастиц (Рисунки 20 и 21).

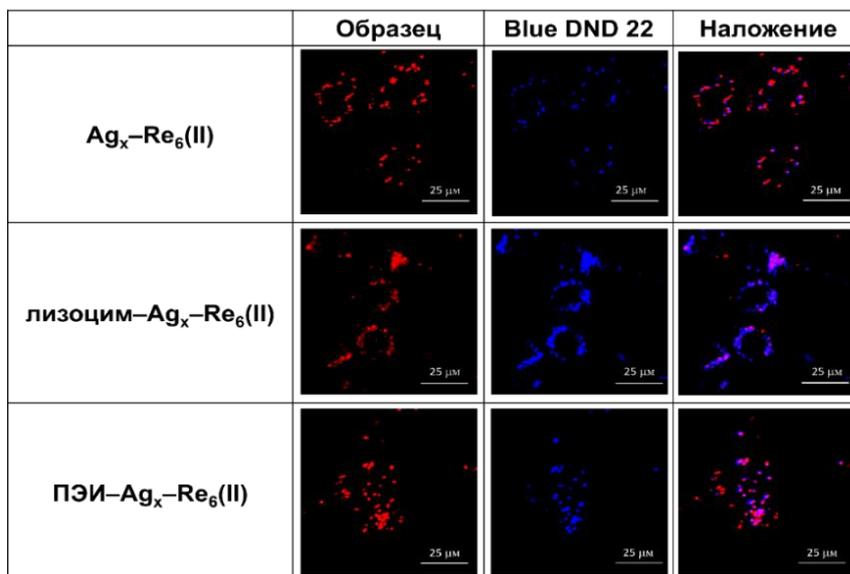


Рисунок 21 – Анализ колокализации наночастиц $Ag_x-Re_6(II)$, лизоцим- $Ag_x-Re_6(II)$, ПЭИ- $Ag_x-Re_6(II)$ и красителя Blue DND 22 после 24 ч инкубации клеток M-HeLa. $C_{\text{кластер}}=1 \times 10^{-5}$ М, $C_{\text{Blue DND 22}}=1 \times 10^{-6}$ М. $\lambda_{\text{возб}}(\text{наночастиц})=405$ нм, $\lambda_{\text{возб}}(\text{Blue DND 22})=373$ нм.

Таблица 9 – Значения IC_{50} , рассчитанные для линий M-HeLa и Chang Liver, инкубированных $[Ag_2L_2](BF_4)_2$, гетерометаллическими наночастицами Ag_x-Re_6 и поверхностно-модифицированными структурами.

	$IC_{50}, \times 10^{-6}$ М	
	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- $Ag_x-Re_6(I)$	13.0±0.8	12±0.9
ПЭИ- $Ag_x-Re_6(I)$	8.8±0.8	7.1±0.6
$Ag_x-Re_6(II)$	>15	14.3±1.0
лизоцим- $Ag_x-Re_6(II)$	>15	>15
ПЭИ- $Ag_x-Re_6(II)$	9.4±0.5	9.0±0.6

Показано также, что гибель раковых и нормальных клеток, инкубированных как комплексом $[Ag_2L_2](BF_4)_2$, так и Ag_x-Re_6 наночастицами (Таблица 9) реализуется преимущественно по апоптотическому пути, что согласуется с их способностью связывать биотиолы. В то же время, модификация наночастиц молекулами ПЭИ приводит к повышению их цитотоксичности и изменению пути клеточной гибели (преимущественно по неапоптотическому пути).

Заключение

По результатам проведенного диссертационного исследования сформулированы следующие **основные результаты и выводы**:

1) Впервые получены и охарактеризованы полиэлектролит-стабилизированные наночастицы на основе комплекса Au(I) с 1,5-бис(пара-толил)-3,7-бис(пиридин-2-ил)-1,5-

диаза-3,7-дифосфациклооктановым лигандом ((AuCl)₂L), 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)₂L способны проявлять сенсорные свойства по отношению к низкомолекулярным биотиолам в водных растворах, обусловленные восстанавливающей и координирующей способностью последних.

2) Для полиэлектролит-стабилизированных наноструктур на основе комплекса (AuCl)₂L 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)₂L 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 [$\{Mo_6I_8\}(L')_6\}^{2-}$ ($L'=I^-, CH_3COO^-$) 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 варьирование структуры анионных кластеров приводит к изменению кристалличности и размера наночастиц, что влияет на их агрегационное поведение и внутриклеточное распределение. Кроме того, включение в наночастицы фотодинамически активных гексамолибденовых кластеров обеспечивает возможность «включать» цитотоксичность при облучении инкубированных наночастицами клеточных образцов.

4) Впервые получены гетерометаллические наночастицы, образующиеся в результате электростатического взаимодействия комплекса $[Au_2L_2]^{2+}$ и гексарениевых $[\{Re_6Q_8\}(OH)_6]^{4-}$ ($Q=S^{2-}, Se^{2-}$) кластеров. Показано, что способность к ступенчатому протонированию апикальных гидроксильных лигандов способствует перезарядке кластерного блока и, соответственно, разборке наноструктур с высвобождением цитотоксичного комплекса $[Au_2L_2]^{2+}$ в условиях повышенной кислотности, моделирующих лизосомальное микроокружение. Установленная реализация лизосомального пути наноструктур, сопровождающегося разрывом лизосомальной мембраны, коррелирует с их цитотоксичностью на уровне «свободного» комплекса $[Au_2L_2]Cl_2$, 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-илфосфофановым лигандом ($[Ag_2L_2]^{2+}$) с

гексарениевыми кластерами состава $[\{\text{Re}_6\text{S}_8\}(\text{L}')_6]^{4-}$ ($\text{L}' = \text{SO}_3^{2-}$, 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^+ или фрагментов $[\text{AgL}]^+$. Продемонстрирована возможность использования проявляемых наноструктурами люминесцентных свойств для распознавания биотиолов в водных растворах.

б) Впервые установлена возможность варьирования стехиометрического соотношения, размеров и люминесцентных свойств гетерометаллических наноструктур на основе рН-зависимого $[\{\text{Re}_6\text{S}_8\}(\text{OH})_6]^{4-}$ кластера и комплекса $[\text{Ag}_2\text{L}_2]^{2+}$. 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^{10} -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^{10} -металлов, в том числе за счет нейтральных и катионных комплексов $\text{Cu}(\text{I})$, 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.

Основное содержание диссертации изложено в следующих публикациях:

- 1) Elistratova, J. Synthesis of Au (I) complex-based aqueous colloids for sensing of biothiols / J. Elistratova, **B. Faizullin**, N. Shamsutdinova, A. Gubaidullin, I. Strel'nik, V. Babaev, K. Kholin, I. Nizameev, E. Musina, R. Khairullin, A. Karasik, A. Mustafina // Inorg. Chim. Acta. – 2019. – V. 485. – P. 26–32.
- 2) 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. Strel'nik, T. Gerasimova, R. Khairullin, A. Sapunova, A. Voloshina, T. Mukhametzyanov, E. Musina, A. Karasik, A. Mustafina // Colloids Surf., B. – 2020. – V. 196. – P. 111306.

- 3) **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. Strel'nik, 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.
- 4) **Faizullin, B.** pH-driven intracellular nano-to-molecular disassembly of heterometallic [Au₂L₂]{Re₆Q₈} colloids (L = PNNP ligand; Q = S²⁻ or Se²⁻) / **B. Faizullin**, I. Dayanova, I. Strel'nik, 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. – №. 18. – P. 3229.
- 5) 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.
- 6) **Faizullin, B.** “Proton sponge” effect and apoptotic cell death mechanism of Ag_x-Re₆ nanocrystallites derived from the assembly of [{Re₆S₈}(OH)_{6-n}(H₂O)_n]ⁿ⁻⁴ with Ag⁺ 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.
- 7) **Faizullin, B. A.** Fluorescent recognition of biothiols by hydrophilic aqueous colloids based on Au(I) complex / **B. A. Faizullin**, Y. G. Elistratova, I. D. Strel'nik, A. A. Karasik, A. R. Mustafina // *BOOK OF ABSTRACTS: Markovnikov Congress on Organic Chemistry.* – 2019. – P. 234.
- 8) **Файзуллин, Б. А.** Люминесцентные гексарениевые кластеры как основа супрамолекулярных структур с комплексом Ag(I) для потенциального применения в качестве сенсоров на тиолы / **Б. А. Файзуллин**, Ю. Г. Елистратова, А. В. Шамсиева, Т. П. Герасимова, К. А. Брылев, В. М. Бабаев, К. В. Холин, И. Р. Низамеев, Э. И. Мусина, С. Н. Кацюба, А. А. Карасик, О. Г. Синяшин, А. Р. Мустафина // *Материалы XXVII Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2020», секция «Химия».* – М.: Издательство «Перо», ISBN 978-5-00171-642-6. – 2020. – С. 670.
- 9) **Faizullin, B. A.** Structure impact of heterometallic colloids constructed from dinuclear Au(I) complex and hexamolybdenum clusters on photodynamic therapy and cellular contrasting functions / **B. A. Faizullin**, I. Strel'nik, M. Sokolov, A. Karasik, A. Mustafina // *Сборник тезисов XXVIII Международной Чугаевской конференции по координационной химии.* – 2021. – С. 213.