

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования  
«Южный федеральный университет»  
Международный исследовательский институт интеллектуальных материалов

*На правах рукописи*



**ГАДЖИМАГОМЕДОВА ЗАИРА МАГОМЕДОВНА**

**РАЗРАБОТКА И ИССЛЕДОВАНИЕ НАНОКОМПОЗИТОВ НА ОСНОВЕ  
РЕДКОЗЕМЕЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ ДЛЯ ПОТЕНЦИАЛЬНОГО  
ПРИМЕНЕНИЯ В РЕНТГЕНОВСКОЙ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ  
ТЕРАПИИ**

2.6.6. Нанотехнологии и наноматериалы (физико-математические науки)

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание учёной степени  
**кандидата физико-математических наук**

Научный руководитель:  
доктор физико-математических наук, профессор  
Солдатов Александр Владимирович

Ростов-на-Дону

2026

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ПЕРЕЧЕНЬ ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В ТЕКСТЕ АББРЕВИАТУР И СОКРАЩЕНИЙ .....</b>	<b>4</b>
<b>СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ.....</b>	<b>5</b>
<b>ВВЕДЕНИЕ.....</b>	<b>7</b>
<b>Глава I: Обзор современного состояния исследований по тематике диссертации .....</b>	<b>13</b>
1.1. Принципы и основные отличия фотодинамической терапии и рентгеновской фотодинамической терапии .....	13
1.2. Теория Фёрстеровского резонансного переноса энергии .....	17
1.3. FRET-системы для рентгеновской фотодинамической терапии.....	21
1.4. Металлоорганические каркасные полимеры в качестве FRET-систем	25
1.5. Фториды тяжелых элементов с частичным замещением редкоземельными элементами.....	27
<b>Глава II: Материалы и методы .....</b>	<b>32</b>
2.1. Условия проведения экспериментов и описания экспериментальных установок.....	32
2.2. Синтез исследуемых материалов .....	39
<b>Глава III: Результаты научно-исследовательской работы .....</b>	<b>45</b>
3.1. Нанолюминофоры на основе редкоземельных элементов .....	45
3.1.1. Кристаллическая структура и состав наночастиц .....	45
3.1.2. Анализ композитов методом просвечивающей электронной микроскопии .....	50
3.1.3. Анализ ИК-Фурье спектров полученных наночастиц .....	51
3.1.4. Рентгенолюминесценция полученных серий наночастиц .....	53
3.1.5. Стабильность коллоидного раствора .....	56

3.1.6. Варьирование параметров синтеза: способ нагрева, температуры и состава растворителя .....	59
3.2. Функционализация поверхности редкоземельных нанолюминофоров и получение нанокомпозитов с фотосенсибилизаторами: разработка и исследование свойств .....	64
3.2.1. Модификация поверхности частиц $BaGd_{0,9}F_5:Eu_{0,1}$ цитратом натрия .....	65
3.2.2. Модификация поверхности частиц $BaGd_{0,9}F_5:Eu_{0,1}$ диоксидом кремния $SiO_2$ .....	67
3.2.3. Влияние толщины оболочки $SiO_2$ на характеристики нанолюминофоров.....	70
3.2.4. Нанокомпозиты на основе фотосенсибилизаторов и люминофоров $BaGd_{0,9}F_5:Eu_{0,1}$ , $BaGd_{0,75}F_5:Tb_{0,25}$ .....	78
3.3. Одностадийный метод получения нанолюминофора $BaGdF_5:Tb$ с возможностью измерения рентгенолюминесценции в режиме <i>in situ</i> .....	83
3.3.1. Анализ фазового и элементного состава наночастиц .....	85
3.3.2. Анализ изображений ПЭМ, ПЭМ-ВР и результатов ДРС .....	90
3.3.3. Анализ спектров рентгенолюминесценции ХЕОЛ и фотолюминесцентных спектров .....	94
3.4. Разработка нанокомпозитов на основе редкоземельных люминофоров и фотосенсибилизаторов с использованием проточной микрофлюидной системы.....	97
3.4.1 Получение и исследование нанокомпозита $BaGdF_5:Tb@PB$ .....	97
3.4.2. Получение и исследование нанокомпозита $BaGdF_5:Eu@MC$ .....	115
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....</b>	<b>119</b>
<b>Основные публикации автора по теме диссертации .....</b>	<b>123</b>
<b>Результаты интеллектуальной детальности по теме диссертации.....</b>	<b>124</b>
<b>Благодарности.....</b>	<b>125</b>
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....</b>	<b>126</b>

## ПЕРЕЧЕНЬ ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В ТЕКСТЕ АББРЕВИАТУР И СОКРАЩЕНИЙ

РФДТ – рентгеновская фотодинамическая терапия

НЧ – наночастица

АФК – активные формы кислорода

ФС – фотосенсибилизатор

FRET – (*англ.* Förster resonance energy transfer) Фёрстеровский резонансный перенос энергии

РЗЭ – редкоземельные элементы

ХЕОЛ – (*англ.* X-ray Excited Optical Luminescence) возбуждаемая рентгеновским излучением оптическая люминесценция

РФА – рентгенофлуоресцентный анализ

ПЭМ – просвечивающая электронная микроскопия

ДСК – дифференциальная сканирующая калориметрия

ТГА – термогравиметрический анализ

ИК-Фурье спектроскопия – инфракрасная Фурье-спектроскопия

Микро-КТ – микрокомпьютерная томография

МС – метиленовый синий

МР – маточный раствор (супернатант)

РБ – бенгальский розовый

ТЭОС – тетраэтилортосиликат

A549 – аденокарцинома легких человека

HeLa – аденокарцинома шейки матки

HSF – (*англ.* Human Splenic Fibroblasts) фибробласты кожи здорового донора

HU – (*англ.* Hounsfield Units) единицы Хаунсфилда

МВ метод синтеза – микроволновый метод синтеза

СТ метод синтеза – сольвотермальный метод синтеза

МФ метод синтеза – микрофлюидный метод синтеза

## СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ

Рентгенолюминесцентные наночастицы или рентгеновские нанолуминофоры (*англ.* scintillating nanoparticles, ScNPs) — это наноразмерные объекты, состоящие из материала, способного поглощать энергию ионизирующего излучения (рентгеновского,  $\gamma$ -лучей, электронов) и преобразовывать её в видимый или ближний ИК-свет за счёт люминесценции активаторных ионов (например,  $\text{Eu}^{3+}$ ,  $\text{Tb}^{3+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ ) в кристаллической матрице (оксиды, фториды, сульфиды). Такие наноматериалы играют ключевую роль в организации FRET-систем в рентгеновской фотодинамической терапии, где они выступают «мостом» между ионизирующим излучением и фотосенсибилизаторами.

Фотосенсибилизатор — это вещество (молекула, комплекс или наноматериал), способное поглощать энергию электромагнитного излучения (видимого света, УФ или рентгеновских лучей) и передавать её другим молекулам, инициируя фотохимические реакции. В медицинских приложениях, особенно в фотодинамической терапии, фотосенсибилизаторы играют ключевую роль в генерации реактивных форм кислорода, таких как синглетный кислород ( $^1\text{O}_2$ ), которые избирательно разрушают опухолевые клетки.

*In situ* (с лат. – «на месте») означает проведение измерений непосредственно в процессе исследования без извлечения образца из его естественной среды. Например, анализ спектров рентгенолюминесценции наночастиц во время химической реакции позволяет изучать его свойства в реальном времени.

*In vitro* (с лат. – «в стекле») – термин, обозначающий проведение экспериментов в искусственных условиях вне живого организма, как правило, в лабораторной посуде (пробирках, чашках Петри, планшетах).

*In vivo* (с лат. – «в живом») – термин, обозначающий проведение эксперимента или наблюдение биологических процессов внутри живого целостного организма (человека, животного, растения).

ХЕОЛ (англ. *X-ray Excited Optical Luminescence*) — это метод исследования люминесцентных материалов, основанный на регистрации их оптического свечения при возбуждении рентгеновским излучением. Данная техника позволяет изучать электронную структуру и люминесцентные свойства веществ. Она особенно эффективна для анализа материалов, содержащих редкоземельные элементы.

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность работы.** Существующие методы лучевой и химиотерапии помимо разрушения опухолевых клеток приводят к гибели здоровых клеток. Разработка альтернативных более безопасных и неинвазивных методов терапии является важной задачей. Одним из перспективных методов является рентгеновская фотодинамическая терапия (РФДТ) [1-3], основанная на ингибировании роста глубоко расположенных злокачественных опухолей посредством генерации активных форм кислорода (АФК), таких как синглетный кислород  $^1\text{O}_2$  и радикалы кислорода, например, супероксидный радикал анион  $\cdot\text{O}_2^-$  и гидроксильный радикал  $\cdot\text{OH}$ . АФК образуются в результате передачи переизлученной энергии фотосенсибилизатора окружающим молекулам кислорода в клетках [4-6].

Для активации процессов взаимодействия молекул фотосенсибилизатора и кислорода необходимо добавить дополнительный компонент, рентгенолюминофор, который поглощает рентгеновские лучи и переизлучает накопленную энергию в ультрафиолетовом-видимом диапазоне электромагнитного спектра. При этом спектр эмиссии рентгенолюминесцентных частиц должен частично или практически полностью перекрывать спектр поглощения фотосенсибилизатора для достижения наиболее эффективного переноса энергии в системе. Избыточная энергия, полученная фотосенсибилизатором, может передаваться соседним молекулам кислорода и воды с последующим образованием АФК, что приводит к разрушению раковых клеток и патогенных микроорганизмов. Фотосенсибилизатор активируется излучением с определенной длиной волны, и проникновение этого света обычно ограничено несколькими миллиметрами, с максимальной глубиной проникновения в красной и ближней инфракрасной областях спектра. Таким образом, для достижения терапевтического эффекта в рентгеновской фотодинамической терапии используют проникающее рентгеновское излучение, а нанокompозит, состоящий из

рентгенолюминофора и фотосенсибилизатора, должен быть локализован в области формирования патогенных объектов.

В центре внимания современных исследований находятся рентгеновские нанолуминофоры на основе матриц  $\text{NaGdF}_4$  и  $\text{BaGdF}_5$ , допированные ионами  $\text{Eu}^{3+}$ ,  $\text{Tb}^{3+}$  или иными представителями ряда лантаноидов [7-14]. Интерес к подобным соединениям продиктован их высоким потенциалом для решения задач биомедицины. К числу определяющих физико-химических характеристик данных материалов относятся: продолжительное время затухания люминесценции, выраженные стоксовы и антистоксовы сдвиги, узкие полосы излучения, высокая фотостабильность и низкая цитотоксичность, что в совокупности обеспечивает их биосовместимость [15]. Данное диссертационное исследование направлено на разработку и исследование структуры и свойств биосовместимых композитов на основе редкоземельных рентгеновских нанолуминофоров и фотосенсибилизаторов различными методами диагностики: порошковой рентгеновской дифракцией, рентгенофлуоресцентным анализом (РФА), просвечивающей электронной микроскопией (ПЭМ), инфракрасной-Фурье (ИК-Фурье) спектроскопией, рентгенолюминесцентной спектроскопией, микро-компьютерной (микро-КТ) рентгеновской томографией и др.

Таким образом, диссертационное исследование посвящено **актуальной теме** – исследованию структуры и свойств нанокompозитов на основе редкоземельных рентгеновских нанолуминофоров и фотосенсибилизаторов и их биораспределения с целью дальнейшего применения в рентгеновской фотодинамической терапии злокачественных новообразований и компьютерной томографии в качестве контрастного вещества.

**Объектами исследования** являются нанокompозиты на основе рентгеновского нанолуминофора  $\text{BaGdF}_5$ , допированного редкоземельными элементами ( $\text{Eu}^{3+}$  или  $\text{Tb}^{3+}$ ), и различных фотосенсибилизаторов.

**Цель диссертационной работы** заключалась в разработке и исследовании биосовместимого состава нанокompозита на основе редкоземельных рентгенолюминесцентных наночастиц.

Для достижения поставленной цели решались следующие **задачи**:

1. Разработка и апробация методики микроволнового синтеза монодисперсных рентгеновских нанолуминофоров  $\text{BaGd}_{1-x}\text{F}_5:\text{Eu}_x$  и  $\text{BaGd}_{1-x}\text{F}_5:\text{Tb}_x$  с различным содержанием допирующих редкоземельных элементов.

2. Исследование кристаллической структуры, элементного состава, морфологии, размера, цитотоксичности и подбор оптимальных люминесцентных характеристик наночастиц  $\text{BaGd}_{1-x}\text{F}_5:\text{Eu}_x$  и  $\text{BaGd}_{1-x}\text{F}_5:\text{Tb}_x$ .

3. Модификация поверхности цитратом натрия предварительно оптимизированных наночастиц  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}$ , обеспечивающих максимальный выход люминесценции на длине волны  $\lambda_{\text{max}} = 591$  нм, соответствующей области поглощения фотосенсибилизатора метиленового синего.

4. Модификация поверхности пористой оболочкой  $\text{SiO}_2$  предварительно оптимизированных наночастиц  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}$ , обеспечивающих максимальный выход люминесценции на длине волны  $\lambda_{\text{max}} = 591$  нм, соответствующей области поглощения фотосенсибилизатора метиленового синего.

5. Исследование влияния толщины оболочки  $\text{SiO}_2$  в частицах  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}@\text{SiO}_2$  на выход рентгенолюминесценции.

6. Исследование влияния микроволнового и сольвотермального методов синтеза, а также температуры и соотношения растворителей этиленгликоль/вода на морфологию, размер и люминесцентные характеристики наночастиц  $\text{BaGd}_{1-x}\text{F}_5:\text{Tb}_x$ .

7. Исследование влияния микрофлюидного способа синтеза рентгенолюминесцентных наночастиц  $\text{BaGd}_{1-x}\text{F}_5:\text{Tb}_x$  на морфологию, размер, форму и люминесцентные характеристики получаемых наночастиц.

8. Разработка одностадийного микрофлюидного способа синтеза рентгенолюминесцентных наночастиц  $BaGd_{1-x}F_5:Tb_x$  с уменьшенной температурой, временем синтеза и с возможностью регистрации спектров рентгенолюминесценции в режиме *in situ*

9. Разработка одностадийного микрофлюидного способа синтеза нанокompозита на основе предварительно оптимизированного рентгеновского наноломинофора  $BaGd_{0,75}F_5:Tb_{0,25}$  и фотосенсибилизатора бенгальского розового.

10. Исследование цитотоксичности, проточной цитометрии, а также контрастирующей способности нанокompозита на основе рентгеновского наноломинофора  $BaGd_{0,75}F_5:Tb_{0,25}$  и фотосенсибилизатора бенгальского розового при внутривенном введении лабораторным мышам линии BALB/c.

**Научная новизна.** В ходе выполнения работы *впервые*:

- получены и изучены рентгенолюминесцентные наночастицы  $BaGd_{1-x}F_5:Tb_x$  и  $BaGd_{1-x}F_5:Eu_x$  микроволновым методом синтеза;
- разработана новая одностадийная методика синтеза нанокompозита на основе рентгеновского наноломинофора  $BaGd_{0,75}F_5:Tb_{0,25}$  и фотосенсибилизатора бенгальского розового с помощью проточной микрофлюидной системы;
- изучено влияние способа синтеза и соотношения растворителей этиленгликоль/вода на размер формируемых кристаллитов  $BaGdF_{1-x}:Tb_x$ ;
- разработана установка и отработана методика, позволяющая осуществлять регистрацию спектров оптической люминесценции при возбуждении рентгеновскими лучами в режиме *in situ* для контроля влияния параметров синтеза на люминесцентные свойства наночастиц  $BaGd_{1-x}F_5:Tb_x$ ;
- исследованы биораспределение и контрастирующая способность нанокompозитов на основе нанорентгенолюминофоров  $BaGd_{0,75}F_5:Tb_{0,25}$  и фотосенсибилизатора бенгальского розового в организме лабораторных мышей при введении суспензии наночастиц внутривенно.

### **Положения, выносимые на защиту.**

1. Синтезированные микроволновым методом две серии рентгеновских наноломинофоров с составами  $\text{BaGd}_{1-x}\text{:Eu}_x$  и  $\text{BaGd}_{1-x}\text{:Tb}_x$  со средним размером частиц 11 нм имеют максимум люминесценции в красной ( $\lambda_{\text{max}} = 591$  нм) и зеленой ( $\lambda_{\text{max}} = 544$  нм) области видимого спектра, соответственно. Максимальное значение интенсивности рентгенолюминесценции для серий  $\text{BaGd}_{1-x}\text{:Eu}_x$  и  $\text{BaGd}_{1-x}\text{:Tb}_x$  с различным соотношением редкоземельных элементов наблюдается для образцов, содержащих 25% Tb и 10% Eu.

2. Использование микроволнового метода синтеза приводит к получению наночастиц  $\text{BaGd}_{0,75}\text{F}_5\text{:Tb}_{0,25}$  меньшего размера при температурах 25, 100 и 200 °С в сравнении с сольвотермальным методом. Уменьшение содержания воды с 50% до 0% в смеси растворителей этиленгликоль / вода приводит к уменьшению среднего размера наночастиц  $\text{BaGd}_{0,75}\text{F}_5\text{:Tb}_{0,25}$  с  $23,9 \pm 5,0$  нм до  $7,3 \pm 1,5$  нм при использовании микроволнового метода и с  $49,4 \pm 13,3$  нм до  $13,3 \pm 3,0$  нм при использовании сольвотермального метода.

3. Разработанный проточный микрофлюидный способ синтеза наночастиц состава  $\text{BaGd}_{1-x}\text{F}_5\text{:Tb}_x$  позволяет измерять рентгенолюминесценцию в режиме *in situ*. Уменьшение температуры синтеза до 100 °С и уменьшение времени термической обработки до 6 минут в проточном микрофлюидном режиме не приводят к потере кристалличности и монодисперсности формируемых наночастиц, при этом средний размер наночастиц составляет 7 – 9 нм, что соответствует значениям, полученным при более высоких температурах и длительной обработке при использовании микроволнового способа.

**Практическая значимость** полученных результатов заключается в разработке и исследовании оптимального состава нанокompозитов для потенциального применения в рентгеновской фотодинамической терапии злокачественных новообразований, а также в качестве контрастного вещества для компьютерной томографии.

**Надёжность и достоверность** полученных результатов и обоснованность выводов, сформулированных в работе, обеспечивается их апробацией в высокорейтинговых научных изданиях, относящихся к первому и второму квартилям и индексируемых в международных базах Scopus и Web of Science. Экспериментальная часть исследования выполнена с использованием современного оборудования и паспортизированных реактивов. Обработка, анализ и интерпретация данных осуществлялась с применением актуальных методов лицензионного программного обеспечения. Выносимые на защиту положения не противоречат фундаментальным концепциям физики, химии и смежных дисциплин.

**Апробация** основных результатов диссертации проходила на всероссийских и международных конференциях и школах:

- XVII Курчатовская молодежная научная школа (Москва, Россия, 2023),
- Международная конференция «The sixth international conference on new horizons in basic and applied sciences» (Хургада, Египет, 2023),
- Международная школа для аспирантов и молодых ученых IWSN 2024 «Synchrotron Radiation and Smart Nanomaterials» (Сочи, Россия, 2024).

**Публикации.** Непосредственно по теме диссертации автором опубликовано 12 работ, из которых 7 статей в ведущих российских и зарубежных журналах, индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus, 2 патента и 3 тезиса докладов, представленных на международных конференциях и школах, проводившихся как в России, так и за рубежом.

**Объем и структура работы.** Диссертация состоит из введения, 3 глав основной части исследования, заключения, списка литературы из 173 наименований, публикаций автора из 9 наименований, снабженных литерой А. Диссертация изложена на 146 страницах, включая 57 рисунков и 10 таблиц.

## **Глава I: Обзор современного состояния исследований по тематике диссертации**

### **1.1. Принципы и основные отличия фотодинамической терапии и рентгеновской фотодинамической терапии**

Первые попытки применить фотоактивные соединения при их взаимодействии с видимым светом для лечения кожных заболеваний, например, таких как витилиго и псориаз, известны еще со времен Древнего Египта, Китая и Индии [16, 17]. Накануне большого научного прорыва в начале XX века первые литературные сообщения о фотодинамическом эффекте были опубликованы Раабом [18] и фон Таппейнером [19], где было показано, что определенные красители могут сенсibilизировать микроорганизм таким образом, что дальнейшее воздействие солнечного света быстро приводит к гибели клеток [20, 21]. Figge et al. в 1948 году [22] и Lipson, Blades & Olsen в 1961 году [23] в своих работах показали, что комбинация порфиринов и облучения видимым светом приводит к цитотоксичности в отношении раковых клеток. Также обе исследовательские группы заявили о способности таких порфиринов избирательно накапливаться в мышечных опухолях. В более поздних работах Т. Догерти и соавторы систематически исследовали успешно применяемый фотосенсibilизатор гематопорфирин и проверили его действие на более чем 100 видов рака [24, 25], заявив, что ни один вид рака не остается без положительного ответа. В настоящее время классическое применение фотодинамической терапии (ФДТ) широко используется в клинической практике для лечения кожных и онкологических заболеваний [26-28]. Однако она все еще страдает от некоторых ограничений, таких как трудности в лечении глубоко расположенных раковых опухолей из-за ограниченной глубины проникновения излучения в видимом, ультрафиолетовом или инфракрасном диапазонах в живые ткани. Это ограничение может быть частично преодолено путем использования сверхтонких оптических волокон для доставки излучения и активации

фотосенсибилизатора, но все же это нарушает концепцию полностью неинвазивного лечения.

Современные методы терапии онкологических заболеваний активно развиваются в направлении точечного воздействия на опухолевые клетки, минимизируя повреждение здоровых тканей [29]. Одним из перспективных подходов является рентгеновская фотодинамическая терапия (РФДТ), где для генерации активных форм кислорода используются вещества, активируемые не видимым светом (как в классической ФДТ), а рентгеновским излучением. РФДТ разработан таким образом, что позволяет преодолеть ограничения фотодинамической терапии [1, 2] благодаря значительному усовершенствованию технологий генерации рентгеновского излучения и рентгеновской оптики, реализованной в компактных установках, которые могут быть использованы в медицинской практике. Однако существуют ограничения в виде отсутствия одобренных с медицинской точки зрения агентов, характеризующихся низкой токсичностью, хорошо изученным механизмом накопления и выведения из организма пациента, а также эффективностью генерации АФК, которая должна обеспечиваться как эффективным поглощением ионизирующего излучения рентгенолюминофора, так и последующим переносом энергии на фотосенсибилизаторы.

Опухоли, расположенные глубоко внутри организма, обычно недоступны для лечения методом фотодинамической терапии. Относительно новый подход РФДТ [30-38] основан на использовании рентгеновских или гамма-лучей, которые могут проникать далеко вглубь тканей. Как было описано выше, основной принцип РФДТ схож с принципом фотодинамической терапии [39]. При ФДТ нанокompозиты вводятся в аномальные клетки и облучаются ультрафиолетовым-видимым светом. Однако излучение ультрафиолетового и видимого диапазонов обладает низкой проникающей способностью в ткани организма. Таким образом, рентгеновское излучение, в отличие от УФ-видимого света, может стать

перспективным источником для глубокой фотодинамической активации, поскольку обладает достаточной проникающей способностью для воздействия на глубоко расположенные опухоли. Впервые идея использования рентгеновского излучения для преодоления ограниченной глубины проникновения света при ФДТ была высказана Ченом и др. в 2006 году [3]. В РФДТ наноконпозиты представляют собой системы, состоящие из рентгеновских нанолюминофоров [40, 41] и фотосенсибилизаторов(ФС) [5, 6, 17, 42-44]. Локально введенные наноконпозиты подвергаются воздействию рентгеновского излучения (Рисунок 1), в результате чего рентгенолюминофоры преобразуют поглощенную энергию в фотоны ультрафиолетового и видимого диапазонов. Данное вторичное излучение поглощается молекулами фотосенсибилизатора, что индуцирует генерацию активных форм кислорода. При возбуждении фотосенсибилизатора первоначально формируется синглетное состояние, которое впоследствии переходит в долгоживущее возбужденное триплетное состояние. Взаимодействие триплетного состояния с молекулярным кислородом приводит к образованию АФК, включая синглетный кислород ( $^1\text{O}_2$ ), что вызывает селективную деструкцию злокачественных клеток, патогенных микроорганизмов и патологически измененных тканей [4-6]. Активация ФС требует облучения светом определенной длины волны, однако глубина проникновения такого излучения в биологические ткани, как правило, не превышает нескольких миллиметров. Наибольшая глубина проникновения наблюдается для красного и ближнего инфракрасного диапазонов, где она может достигать значений порядка 5 мм. Для преодоления данного ограничения в рентгеновской фотодинамической терапии применяются композитные системы, сочетающие фотосенсибилизаторы с рентгеновскими нанолюминофорами, что обеспечивает эффективную активацию терапевтических агентов в глубоко расположенных тканях рентгеновским излучением.

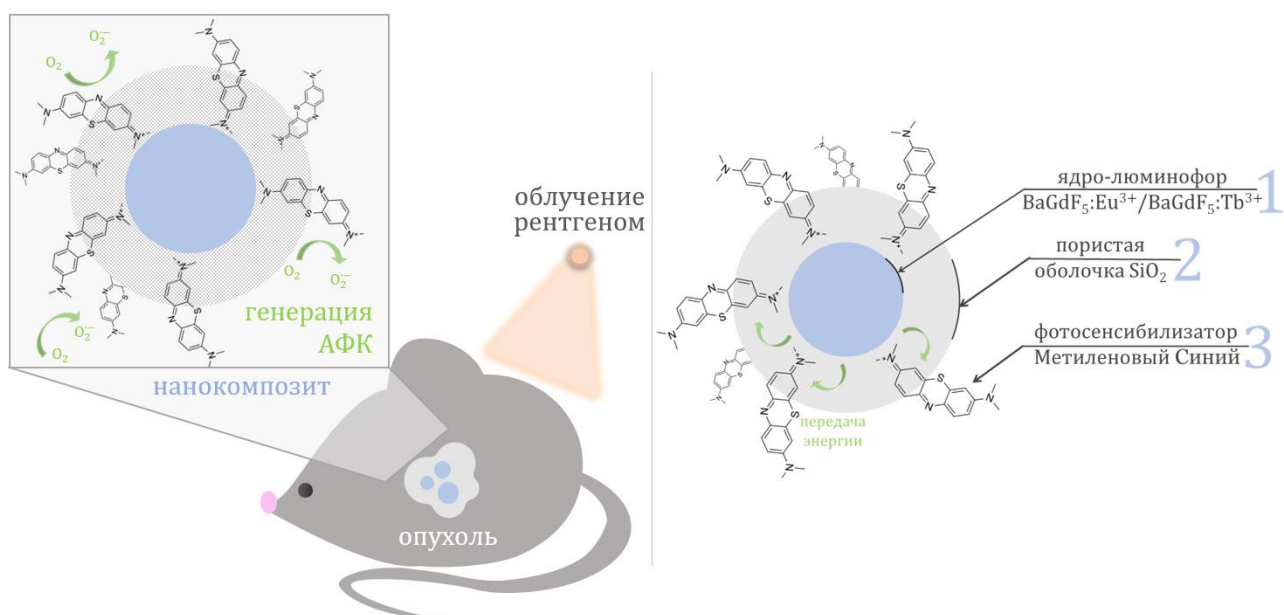


Рисунок 1 – Схематическая иллюстрация принципа рентгеновской фотодинамической терапии и возможной морфологии композитного материала, состоящего из наночастиц BaGdF<sub>5</sub>, допированных ионами Tb<sup>3+</sup> или Eu<sup>3+</sup>, сопряженных с молекулами подходящего фотосенсибилизатора, розового бенгальского или метиленового синего

подавляющее большинство фотосенсибилизаторов демонстрирует фотоактивацию исключительно под действием ультрафиолетового, видимого или ближнего инфракрасного излучения, что ограничивает их применение поверхностными онкологическими патологиями (например, меланомой [45]). В качестве решения данной проблемы предложены рентгеновские нанолюминофоры, обладающие способностью к эффективной конверсии рентгеновского излучения в видимый или ближний инфракрасный диапазон, подходящий для активации фотосенсибилизаторов. Спектральные характеристики таких наночастиц определяются природой легирующих элементов и их комбинациями, что позволяет создавать системы, совместимые с различными классами фотосенсибилизаторов. Однако следует отметить, что не все комбинации люминофор-фотосенсибилизатор обладают достаточной биосовместимостью вследствие потенциальной цитотоксичности компонентов. Для решения этой проблемы применяют методы поверхностной

модификации, включая создание защитных биосовместимых оболочек, таких как мезопористый диоксид кремния [8, 46] (Рисунок 2). Разрабатываемый подход РФДТ обладает значительным терапевтическим потенциалом, позволяя преодолеть принципиальные ограничения классической ФДТ [47]. Метод обеспечивает возможность воздействия на глубоко локализованные опухолевые очаги, высокую пространственную селективность терапии, минимальное повреждение окружающих здоровых тканей.

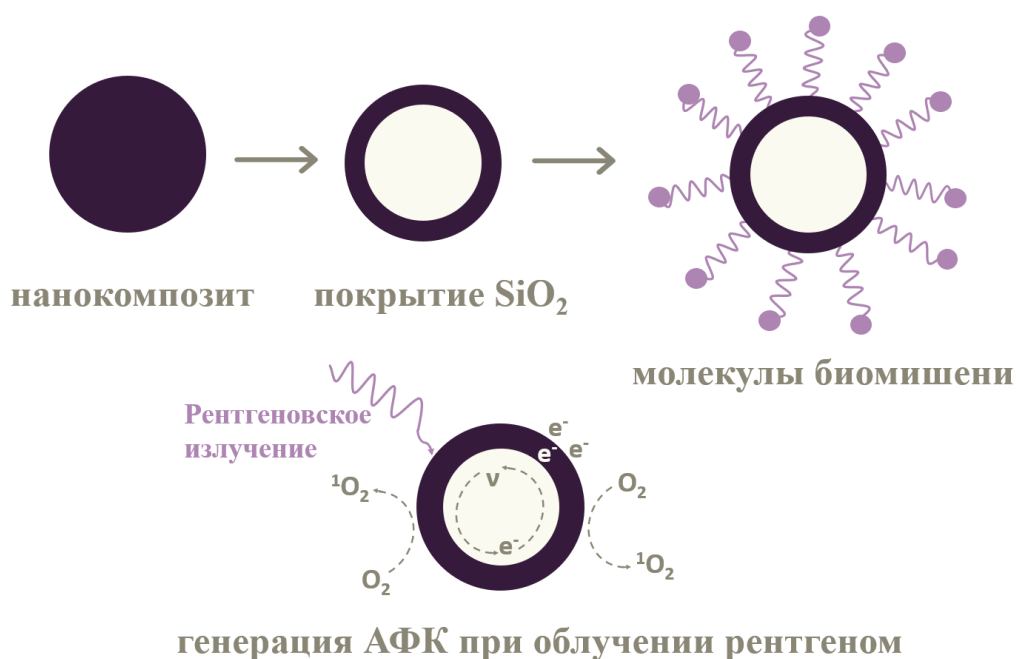


Рисунок 2 – Иллюстрация концепции нанокompозита для РФДТ, состоящего из активируемого рентгеновским излучением ядра, покрытого оболочкой из диоксида кремния SiO<sub>2</sub> или другого биосовместимого материала для снижения цитотоксичности и функционализации целевыми лигандами с целью избирательного накопления в опухолях (адаптировано из [38])

## 1.2. Теория Фёрстеровского резонансного переноса энергии

Основным ограничением РФДТ является низкое сечение поглощения рентгеновского излучения большинством органических фотосенсибилизаторов. Перспективным подходом к преодолению данного ограничения представляется использование механизма Фёрстеровского

резонансного переноса энергии (FRET – *англ.* Förster Resonance Energy Transfer) [48-51]. Данный механизм предполагает опосредованную передачу энергии от высокоэнергетических рентгеновских квантов к молекулам фотосенсибилизаторов через промежуточные люминесцентные наноматериалы [52]. FRET представляет собой хорошо изученный в биофизике и молекулярной биологии механизм безызлучательного переноса энергии, широко применяемый для исследования межмолекулярных взаимодействий в нанометровом диапазоне [53]. Физическая основа данного явления заключается в диполь-дипольном резонансном взаимодействии между донором и акцептором, в процессе чего возбуждённая молекула-донор передаёт энергию молекуле-акцептору без стадии испускания промежуточных фотонов.

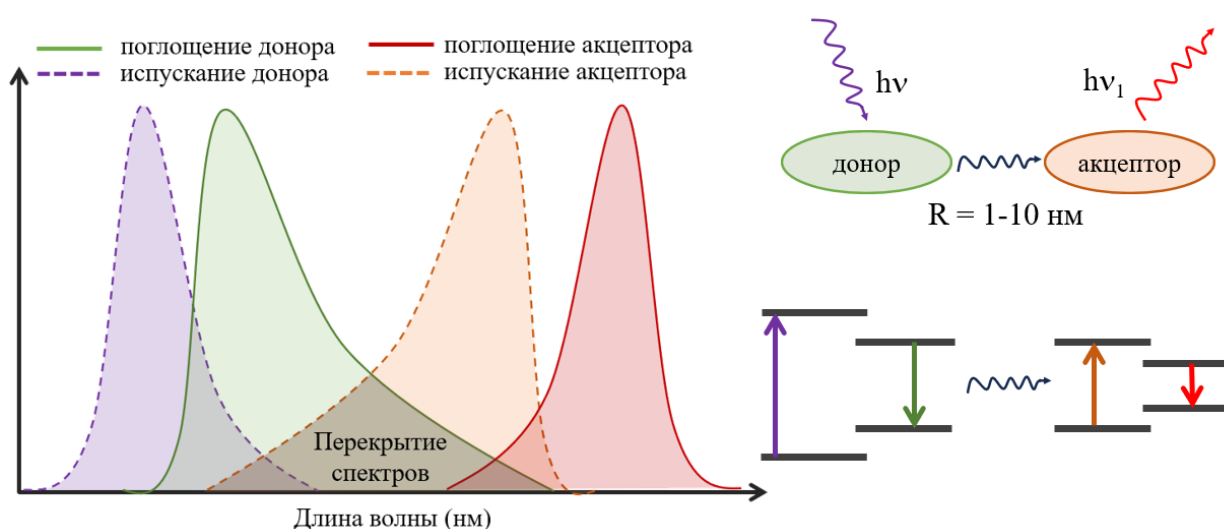


Рисунок 3 – *слева*: спектры возбуждения и испускания для донора (фиолетовый и зеленый), спектры возбуждения и испускания для акцептора (оранжевый и красный); *справа*: схематичное изображение передачи энергии от акцептора донору (фиолетовая стрелка – возбуждение донора, зеленая – испускание донора, оранжевая – возбуждение акцептора, красная – испускание акцептора)

Для того чтобы передача энергии между двумя молекулами была возможной, необходимо выполнение нескольких условий. Основные из них можно сформулировать следующим образом:

1. Требуется спектральное перекрытие между полосой испускания донора (люминесцирующего центра) и полосой поглощения акцептора как показано на рисунке 3.

2. Оптимальное расстояние между донором и акцептором должно находиться в диапазоне 1-10 нм. Эффективность переноса энергии обратно пропорциональна шестой степени расстояния между молекулами ( $\sim 1/R^6$ ), что обуславливает резкое снижение вероятности переноса при увеличении межмолекулярного расстояния за пределы указанного диапазона.

При значительном межмолекулярном расстоянии флуорофоры демонстрируют независимое люминесцентное поведение, характерное для изолированных хромофоров. Ключевой особенностью данного процесса является строгая зависимость его эффективности от межмолекулярного расстояния (Рисунок 4), описываемая соотношением:

$$E = \frac{1}{1+(R/R_0)^6}, \quad (1)$$

где  $E$  – эффективность переноса энергии,  $R$  – расстояние между флуорофорами,  $R_0$  – критическое расстояние или радиус Фёрстера.

Эффективность резонансного переноса энергии  $E$  может быть рассчитана из констант скорости возможных вариантов переноса энергии:

$$E = \frac{k_T}{k_T+k_{DF}+k_{DnF}}, \quad (2)$$

где  $k_T$  – константа реакции безызлучательного перехода,  $k_{DF}$  – константа реакции при испускании донором кванта света в области эмиссии донора,  $k_{DnF}$  – константа реакции при гашении возбуждения донором нелюминесцентным образом за счет побочных реакций, перехода в триплетное состояние или

потери энергии безызлучательным образом. Экспериментально получить значения констант скоростей довольно сложно, существует теоретическое уравнение, позволяющее оценить значение  $k_T$ :

$$k_T = \frac{1}{\tau_d} \left( \frac{R_0}{R} \right)^6, \quad (3)$$

где  $R$  – расстояние между флуорофорами,  $R_0$  – критическое расстояние или характерный радиус Фёрстера,  $\tau_d$  – характерное время жизни состояния. Анализ формулы показывает, что при  $R = R_0$  данное отношение принимает значение, равное единице, что соответствует 50 %-ной эффективности резонансного переноса. Как показано на рисунке 4, полученная зависимость демонстрирует следующие особенности: во-первых, вблизи точки перегиба ( $R = R_0$ ) зависимость имеет практически линейный характер; во-вторых, в окрестности точки, соответствующей фёрстеровскому радиусу, даже незначительное изменение расстояния приводит к максимальному изменению эффективности резонансного переноса.

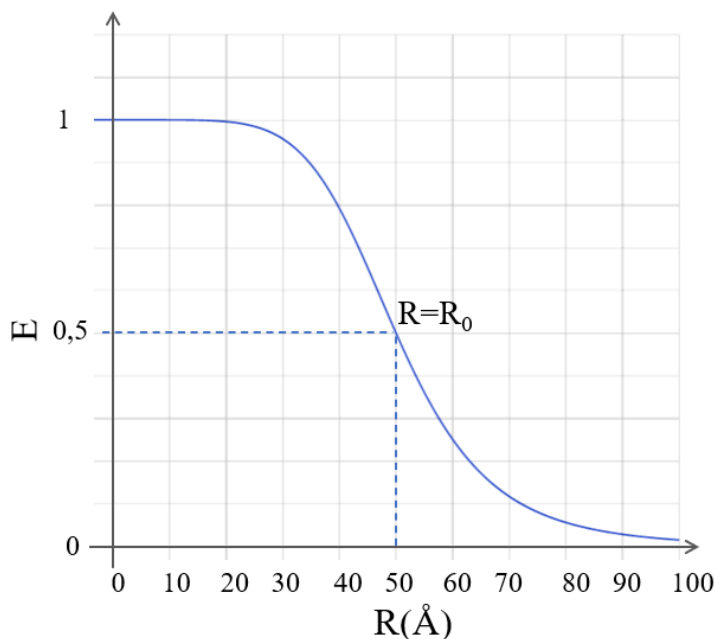


Рисунок 4 – График зависимости эффективности резонансного перехода от расстояния между двумя флуорофорами

На графике зависимости эффективности FRET перехода от расстояния между флуорофорами (Рисунок 4) есть три характерные области. Первая область соответствует расстояниям менее 25 Å, где резонансный перенос происходит со стопроцентной эффективностью, что проявляется в полном подавлении люминесценции донора и регистрации излучения исключительно от акцептора. Вторая область наблюдается при расстояниях свыше 75 Å, где эффективность резонансного переноса стремится к нулю. Третья область охватывает диапазон 25–75 Å, в котором эффективность переноса демонстрирует выраженную зависимость от межфлуорофорного расстояния. Данная область представляет особый интерес, поскольку изменение взаимного расположения флуорофоров в этих пределах позволяет, на основе анализа эффективности резонансного переноса, делать выводы об их пространственной конфигурации.

Теория резонансного переноса энергии по Фёрстеру служит фундаментальной основой для разработки высокоэффективных систем РФДТ. Методичный подбор ключевых параметров системы, таких как межмолекулярное расстояние, степень спектрального перекрытия и взаимная ориентация дипольных моментов позволяет максимизировать эффективность преобразования рентгеновского излучения в терапевтически активные формы энергии. Данный подход создает принципиально новые возможности для лечения глубоко локализованных злокачественных новообразований, преодолевая ограничения традиционной фотодинамической терапии.

### **1.3. FRET-системы для рентгеновской фотодинамической терапии**

На сегодняшний день разработано значительное количество наноматериалов для применения в рентгеновской фотодинамической терапии, включая сцинтилляционные наночастицы на основе оксидов ( $\text{TiO}_2$  [54, 55],  $\text{Gd}_2\text{O}_3$  [56, 57]), сульфидов ( $\text{ZnS}$ ) [58, 59], лантанидов и переходных металлов, которые эффективно преобразуют рентгеновское излучение в ультрафиолетовый или видимый свет для активации сопряженных

фотосенсибилизаторов. Например, встречаются исследования частиц  $Y_2O_3$  [60, 61]. Экспериментальные данные демонстрируют, что комбинация рентгеноактивируемых наночастиц с фотосенсибилизаторами обеспечивает полную эрадикацию опухолевых клеток при облучении, подтверждая перспективность данного подхода. Наночастицы  $Y_2O_3$  были также конъюгированы с пептидом HIV-1 TAT и псораленом [60]. Механизм действия основан на преобразовании рентгеновского излучения в УФ диапазон наночастицами, что индуцирует фотохимическое сшивание азотистых оснований ДНК псораленом. В работе [62] представлены наночастицы  $LiGa_5O_8:Cr$ , демонстрирующие устойчивую ближнюю ИК-люминесценцию, что делает их перспективными для визуализации глубоких тканевых структур. При совместном включении в мезопористый кремнезем с фотосенсибилизатором 2,3-нафталоцианином наблюдалась селективная аккумуляция комплекса в легочных новообразованиях. Для получения данных наночастиц был использован золь-гель метод.

Не менее перспективными являются исследования оксидов титана  $TiO_2$ , обладающих ограниченной эффективностью в генерации активных форм кислорода. В работе [54] Chun-Chen Yang et al. показали, что допирование анатазной решетки  $TiO_2$  церием значительно повышает фотосенсибилизирующие свойства и выход АФК. Церий увеличивает каталитическую активность  $TiO_2$ , расширяет спектр поглощения и подавляет рекомбинацию электрон-дырочных пар. Кроме того, высокое сечение взаимодействия  $\text{Ce}$  с рентгеновскими фотонами усиливает генерацию АФК [37, 54]. В исследовании [55] Chun-Chen Young изучили наночастицы  $TiO_2$ , допированные углеродом, которые под действием мягкого рентгеновского излучения (80 кВ, 10 мА) генерируют АФК, избирательно повреждая опухолевые клетки. Эксперименты *in vivo* подтвердили уменьшение объема опухоли после облучения (0,08 Гр/мин, 100 с).

Широко исследована матрица ортованадата гадолиния  $GdVO_4$  [63, 64]. Например, в работе [64] был представлен композит  $GdVO_4: Eu^{3+}$ , ковалентно

связанный с молекулами фотосенсибилизатора метиленового синего. Эффективный перенос энергии возбуждения в данных конъюгатах делает их перспективными для применения в фотодинамической терапии, хотя при рентгеновском облучении (30 кВ, 20 мА) отмечается значительное гашение гидроксильных радикалов наночастицами. Не менее интересны оксиды цинка-галлия в качестве компонента РФДТ [65-68]. В исследовании Song L. и соавторов [68] была разработана наноплатформа для фотодинамической терапии на основе вольфрам-допированных наночастиц  $ZnGa_2O_4:Cr$  (сокращенно ZGO:Cr/W). Полученные наноструктуры характеризуются выраженной устойчивой люминесценцией даже при минимальных дозах рентгеновского облучения, что существенно повышает их терапевтическую эффективность при лечении глубоких опухолевых очагов. При конъюгации с фотосенсибилизатором тетрасульфонатом фталоцианина цинка  $ZnPcS_4$  созданная система (ZGO:Cr/W-ZnPcS<sub>4</sub>) наблюдалось длительное послесвечение, обеспечивающее непрерывную генерацию цитотоксических АФК даже после прекращения рентгеновского воздействия.

В работе A.-L. Boulin [69] была исследована гибридная наносистема на основе наночастиц  $Tb_2O_3$ , покрытых биосовместимым полисилоксановым покрытием для связывания неорганического ядра и органических молекул фотосенсибилизатора. Далее оболочка была модифицирована молекулами порфирина, то есть к ней были ковалентно пришиты молекулы этого фотосенсибилизатора. Экспериментальные результаты продемонстрировали способность данного комплекса эффективно продуцировать синглетный кислород  $^1O_2$  под действием рентгеновского излучения.

Наночастицы ZnS, допированные медью и кобальтом ( $ZnS:Cu,Co$ ), в комплексе с фотосенсибилизатором тетрабромированным родамином 123 были разработаны L. Ma [70]. Полученные наноконпозиты демонстрируют эффективный механизм переноса энергии с последующей генерацией цитотоксического синглетного кислорода  $^1O_2$ , а также свойство длительного послесвечения, обеспечивающее непрерывную активацию фотосенсибилизатора.

тора и пролонгированный терапевтический эффект. Система обладает мультимодальным действием, сочетая противоопухолевую активность *in vitro* с возможностями для визуализации, что реализует принцип тераностики.

Мицеллярные системы  $GdEuC_{12}$  были разработаны S. Kascakova и соавторами [71]. Поверхность мицелл была модифицирована молекулами фотосенсибилизатора гиперидина [72] в качестве фотосенсибилизатора. Данная система решает проблему доставки гидрофобных фотосенсибилизаторов, обеспечивая генерацию синглетного кислорода при рентгеновском облучении. Исследования с использованием лазерной спектроскопии с временным разрешением подтвердили возможность каскадных реакций с образованием.

В последние годы значительный научный интерес привлекают исследования золотосодержащих наноматериалов [73-76]. В частности, в работе [77] описаны золотые нанокластеры, синтезированные на мезопористом кремнеземном носителе ( $SiO_2$ ) с иммобилизованными наночастицами золота. Данная архитектура обеспечивает высокую удельную поверхность и выраженные каталитические свойства золота, что способствует интенсивному образованию активных форм кислорода при рентгеновском облучении. Проведенные эксперименты продемонстрировали выраженную цитотоксическую активность разработанной системы в отношении клеточных линий рака молочной железы в широком диапазоне доз облучения (0,5-5 Гр), что свидетельствует о перспективности таких наноконструкций для терапии глубоко локализованных опухолевых очагов.

Наночастицы на основе меди и цистеамина (Cu-Cys) были исследованы в качестве фотосенсибилизаторов в работах [78, 79]. Shi Lei и соавторы показали, что в отсутствие рентгеновского облучения Cu-Cys наночастицы не проявляют токсичности по отношению к кератиноцитам. При этом плоскоклеточная карцинома оказалась более чувствительной к РФДТ, чем меланома. В экспериментах *in vivo* частицы эффективно подавляли рост плоскоклеточной карциномы, тогда как меланома оставалась стабильной. Микрососудистая плотность в ткани плоскоклеточной карциномы

значительно снижалась, при этом острые токсические реакции отсутствовали. S. Shrestha и соавторы также продемонстрировали возможность конъюгации Cu-Cu с pH-чувствительным пептидом для направленной доставки в кислую среду опухолей. Результаты показали значительное уменьшение объема опухоли у мышей после облучения. Karlan Kirakci et al. [80] синтезировали наночастицы на основе октаэдрического молибденового кластера  $(n\text{-Bu}_4\text{N})_2[\text{Mo}_6\text{I}_8(\text{OCOCF}_3)_6]$ , способные генерировать синглетный кислород  $^1\text{O}_2$  при рентгеновском облучении. Благодаря наличию тяжелых элементов (Mo, I) наночастицы эффективно поглощают излучение, образуя триплетные состояния, которые передают энергию молекулярному кислороду. Низкая токсичность и стабильность в водной среде делают их перспективными для клинического применения.

#### **1.4. Металлоорганические каркасные полимеры в качестве FRET-систем**

Металлоорганические каркасные полимеры (МОКП) представляют собой класс пористых кристаллических материалов (до 90% свободного объема), состоящих из ионов металлов или узлов металлических кластеров (также известных как вторичные строительные единицы) и органических молекул – линкеров, таким образом формируя периодическую трехмерную структуру материала [81]. Благодаря высокой пористости МОКП могут быть идеальными кандидатами для потенциального применения в катализе, а также в качестве сред хранения для таких газов, как водород и метан [82]. Особый интерес представляют исследования, направленные на разработку МОКП для применения в адресной доставке лекарств, визуализации и диагностики онкологических заболеваний [83, 84].

В частности, в работе [85] представлен МОКП на основе  $\text{Hf}^{4+}$  и тетраакис(4-карбоксифенил)порфирина (ТКПП). ТКПП выступает в роли фотосенсибилизатора, а  $\text{Hf}^{4+}$  — радиосенсибилизатора, усиливающего лучевую терапию. Высокий атомный номер гафния способствует поглощению ионизирующего излучения с последующей генерацией АФК, повреждающих

сосудистую сеть опухоли [86]. В комбинации с  $\text{Hf}^{4+}$  и линкером DBB-Ru были синтезированы описаны наноразмерные МОКП [87], где DBB-Ru — хлорид бис(2,2'-бипиридин)(5,5'-ди(4-бензоато)-2,2'-бипиридин)рутения(II). При облучении рентгеновским излучением (дозы 1–10 Гр) Hf-DBB-Ru генерирует гидроксильные радикалы  $\cdot\text{OH}$  за счет кластерных вторичных строительных единиц  $\text{Hf}_6$  и синглетный кислород  $^1\text{O}_2$  посредством фотосенсибилизирующих лигандов DBB-Ru. Катионная природа каркаса обеспечивает селективное накопление в митохондриях, что индуцирует деполяризацию мембраны и апоптоз клеток колоректального рака. В работе [88] исследованы МОКП на основе порфириновых лигандов — 5,15-ди(п-бензоато)порфирина-Hf (DBP-Hf) и 5,10,15,20-тетра(п-бензоато)порфирина-Hf (TBP-Hf). Синтез проведен по методике, описанной в [89]. Поглощение рентгеновских фотонов кластерами Hf сопровождается передачей энергии антраценовым лигандам с последующей эмиссией радиолуминесценции и генерацией гидроксильных радикалов  $\cdot\text{OH}$  и синглетного кислорода  $^1\text{O}_2$ .

Более того, варьирование состава МОКП, а именно неорганических металлосодержащих узлов и органических линкеров, уже позволило разработать люминесцентные металлоорганические каркасы на основе редкоземельных элементов [90-97], демонстрирующие яркую люминесценцию в оптических диапазонах длин волн [98, 99]. На сегодняшний день многие редкоземельные МОКП были изготовлены с использованием различных органических линкеров. В частности, наличие карбоксильных групп в органических линкерах, таких как 1,3,5-бензолтрикарбоновая кислота ( $\text{H}_3\text{-BTC}$ ) или 1,4-бензолдикарбоновая кислота ( $\text{H}_2\text{-BDC}$ ) способствует координированию ионов металлов с образованием высокостабильных МОКП [100, 101].

## 1.5. Фториды тяжелых элементов с частичным замещением редкоземельными элементами

Фториды тяжелых элементов, таких как Ba, Gd, La, допированные редкоземельными элементами (РЗЭ), являются одними из наиболее перспективных рентгеновских нанолюминофоров в составе нанокompозитных материалов для РФДТ [102-104]. К их преимуществам относятся устойчивость к рентгеновскому облучению, химическая стабильность, эффективная передача энергии от матрицы носителя к легирующим элементам и возможность тонкой настройки люминесценции путем изменения типа и концентрации легирующих РЗЭ [105, 106].

Морфология, размер частиц и люминесцентные свойства рентгеновских нанолюминофоров BaGdF<sub>5</sub>, допированных различными редкоземельными элементами, ранее обсуждались в работах [8, 107-113]. В частности, D. Yang и др. сообщили о наночастицах BaGdF<sub>5</sub>:Yb<sup>3+</sup>/Tm<sup>3+</sup> со средним размером 10 нм и с повышенной конверсией, синтезированных при 300 °С, стабилизированных олеиновой кислотой и впоследствии покрытых доксорубицином для усиления противораковой активности [111]. Твердые растворы BaGdF<sub>5</sub>, легированные Yb<sup>3+</sup>, Ho<sup>3+</sup> с повышенной и пониженной конверсией, были синтезированы по легкому гидротермальному методу с добавками и термической обработкой реакционной смеси при 180 °С в течение 24 ч [114]. Guan и соавторы сообщили об автоклавном гидротермальном синтезе с температурной обработкой при 180 °С для получения легированных Dy<sup>3+</sup>/Tb<sup>3+</sup>/Eu<sup>3+</sup> наночастиц BaGdF<sub>5</sub> сферической формы и средним размером около 20 нм [115]. Veserо и др. предложили синтез без поверхностно-активных веществ, основанный на гомогенном осаждении с использованием в качестве прекурсора ацетилацетонатов Ba, Gd и RE, которые позволяют контролируемо высвободить катионы в реакционную среду [116]. Этот подход позволил получить гидрофильные однородные BaGdF<sub>5</sub> с регулируемым размером (контролируемым концентрацией Ba и Gd в прекурсорах) в диапазоне от 45 до 85 нм, которые были получены при температуре 120 °С и времени старения 10

ч. Совсем недавно W. Liu и соавторы сообщили о гидротермальном синтезе микрокристаллов  $\text{BaGdF}_5:\text{RE}$  и субмикронных частиц октаэдрической формы, где в качестве структурообразующего агента использовалась экологически чистая ионная жидкость 1-октил-3-метилимидазолий тетрафторборат ( $[\text{Omim}][\text{BF}_4]$ ) [117]. Кроме того, благодаря эффективному, быстрому и гомогенному теплообмену микроволновой синтез был применен для синтеза фторидов лантанидов [118-120]. В частности, Y. Lei и соавторы [121] сообщили о микроволновом синтезе люминесцентных гидрофильных нанокристаллов с матрицей  $\text{BaYF}_5$ , а наша группа ранее применила микроволновую обработку при 200 °C для получения наночастиц  $\text{BaGdF}_5$ , легированных Tb, Eu и Sm, с узким распределением по размерам [113].

В работе L. Sudheendra [122] были синтезированы гидротермальным методом наночастицы  $\text{NaGdF}_4$  допированные  $\text{Eu}^{3+}$  и  $\text{Ce}^{3+}$ . Согласно данным рентгенолюминесценции, максимальная интенсивность эмиссии в системе  $\text{NaGdF}_4$  достигается при 15% замещении  $\text{Gd}^{3+}$  на  $\text{Eu}^{3+}$ . Примечательно, что введение иона  $\text{Ce}^{3+}$  в матрицу  $\text{NaGdF}_4:\text{Eu}$  привело к существенному снижению интенсивности люминесценции при рентгеновском возбуждении. Дополнительные исследования продемонстрировали, что формирование золотого покрытия на поверхности наночастиц  $\text{NaGdF}_4:\text{Eu}^{3+}$  вызывает двукратное уменьшение интенсивности рентгенолюминесценции по сравнению с немодифицированными образцами. В исследовании Qien [123] были разработаны наночастицы топологии ядро-оболочка  $\text{LiYF}_4@\text{SiO}_2@\text{ZnO}$ , допированные  $\text{Ce}^{3+}$ . Механизм действия данной системы основан на каскадном преобразовании энергии. Под воздействием рентгеновского излучения наночастицы  $\text{LiYF}_4:\text{Ce}$  генерируют ультрафиолетовую флуоресценцию, которая в свою очередь индуцирует образование электронно-дырочных пар в полупроводниковой оболочке ZnO. Этот процесс приводит к последующей генерации высокотоксичных гидроксильных радикалов  $\cdot\text{OH}$  при взаимодействии с молекулами воды.

Фторид лантана  $\text{LaF}_3$  является перспективной матрицей для создания рентгенолюминесцентных наноматериалов, поскольку позволяет варьировать спектральные характеристики путём введения редкоземельных ионов-активаторов. В исследовании Parak W.J. и соавт. [124] были синтезированы наночастицы  $\text{LaF}_3$ , допированные ионами  $\text{Ce}^{3+}$ ,  $\text{Tb}^{3+}$  или их комбинацией, демонстрирующие оптимальное спектральное перекрытие с полосой поглощения фотосенсибилизатора розового бенгальского, что критически важно для переноса энергии. Наночастицы  $\text{LaF}_3:\text{Tb}$ , размером  $\sim 25$  нм были также исследованы в сочетании с другим фотосенсибилизатором, мезо-тетра(4-карбоксифенил)порфирином [125]. Рентгенолюминофоры были синтезированы гидротермальным методом [126], обладают высокой водной диспергируемостью и биосовместимостью. При облучении мягким рентгеновским излучением (80 кВ) они демонстрируют эффективное преобразование энергии ионизирующего излучения в люминесценцию. Эффективность переноса энергии возбуждения FRET в системе  $\text{LaF}_3:\text{Tb}@PB$  достигает 85%, что обеспечивает значительное увеличение генерации синглетного кислорода  $^1\text{O}_2$  при облучении. Исследования Elmenoufy A.H. и соавт. [31] подтвердили эффективность наночастиц  $\text{LaF}_3:\text{Tb}$ , покрытых слоями диоксида кремния  $\text{SiO}_2$ , затем модифицированных розовым бенгальским.

Фториды церия были также хорошо изучены как и фториды лантана. В работе Porovich K. И соавт. [127] были изучены наночастицы  $\text{CeF}_3$ , допированные ионами  $\text{Tb}^{3+}$ , модифицированные оболочкой  $\text{SiO}_2$  и конъюгированные с фотосенсибилизатором протопорфирином IX (PpIX). Согласно исследованиям рентгенолюминесценции наблюдается эффективный перенос энергии по цепочке  $\text{Ce}^{3+} \rightarrow \text{Tb}^{3+} \rightarrow \text{PpIX}$  при облучении рентгеновскими лучами (40 кВ, 30 мА,  $\lambda=0.15418$  нм). Гидротермально синтезированные наночастицы  $\text{CeF}_3$  [128], допированные ионами  $\text{Gd}^{3+}$  и  $\text{Tb}^{3+}$ , демонстрируют усиленные рентгенолюминесцентные свойства благодаря оптимальному

расположению энергетических уровней  $Gd^{3+}$  между активатором ( $Ce^{3+}$ ) и люминесцентным центром ( $Tb^{3+}$ ).

Как уже упоминалось выше, гидро/сольвотермальный и микроволновой синтез нанофосфоров  $BaGdF_5:Ln$  обычно характеризуется относительно высокой температурой и большой продолжительностью термической обработки, а также в большинстве случаев требует использования тефлонового автоклава или плотно закрытых сосудов, что делает оптимизацию условий синтеза задачей трудоемкой и реагентно затратной. Несмотря на ряд ограничений (общих для неорганических объектов), рассмотренных в данной работе, применение микрофлюидики для синтеза тяжелоэлементных фторидных рентгеновских нанолюминофоров открывает возможность быстрого скрининга различных условий синтеза, таких как температура синтеза, состав растворителя и варьирование процентного содержания легирующих элементов. Одним из основных преимуществ микрофлюидных проточных систем синтеза является возможность более эффективного перемешивания реагентов за существенно меньшее время, скрининг широкого диапазона параметров синтеза с умеренными затратами времени и реагентов, а также эффективный теплообмен без нежелательных температурных градиентов благодаря малому сечению микрофлюидных каналов и трубок.

Несмотря на то что о первом синтезе нанокристаллов  $LaF_3$ , легированных  $Ce$ ,  $Tb$ , с помощью микрофлюидного реактора было сообщено в 2008 году [129], в литературе можно найти лишь несколько примеров применения микроволнового синтеза для получения подобных объектов. Позже X. Zhu и соавторы объединили микрофлюидный реактор с сечением канала 300 мкм и микроволновую обработку для синтеза водорастворимых наночастиц  $LaF_3$  и наностержней  $LaPO_4$  [130]. Недавно D. Liu и др. сообщили о синтезе  $\alpha$ -фазных наночастиц  $NaYF_4:Tb,Er$  с использованием проточной кварцевой трубки с внутренним диаметром 1 мм в диапазоне температур от

155 до 255 °C [110]. J. Ma и др. продемонстрировали, что синтез наночастиц KGdF<sub>4</sub>, легированных Ln<sup>3+</sup>, и их дальнейшая поверхностная функционализация гиалуроновой кислотой могут быть осуществлены на микрофлюидической платформе с простой архитектурой [131]. Наконец, совсем недавно M. Isikawa и E. Guidelli сообщили о микрофлюидическом синтезе сцинтилляционных наночастиц GdF<sub>3</sub>:Eu ближнего инфракрасного диапазона, поверхность которых впоследствии была модифицирована путем выращивания оболочки из полиакриловой кислоты и метиленового синего, что позволило получить нанокомпозит с эффективной генерацией АФК и линейным откликом на мощность дозы облучения [132].

## Глава II: Материалы и методы

### 2.1. Условия проведения экспериментов и описания экспериментальных установок

#### Рентгеноструктурный анализ

Измерения порошковой рентгеновской дифракции синтезированных наночастиц проводились на дифрактометре D2 PHASER (Bruker, Германия) с использованием  $\text{Cu K}\alpha$ -излучения (длина волны  $\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$ ). Измерения проводили при напряжении 30 кВ и токе 10 мА с использованием кюветы с низким фоном. Сканирование осуществляли в угловом диапазоне  $2\theta = 5\text{--}90^\circ$  с шагом  $0,01^\circ$ .

#### Просвечивающая электронная микроскопия

Исследование морфологии и определение размеров синтезированных наночастиц выполняли методом просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) на приборе FEI Tecnai G2 Spirit BioTWIN (Thermo Fisher Scientific, США). Съемку проводили при ускоряющем напряжении 80 кВ. Для подготовки образцов исследуемый материал диспергировали в изопропанол с последующим нанесением суспензии на углеродосодержащие подложки-носители.

#### Рентгенофлуоресцентный анализ

Элементный состав образцов определяли на энергодисперсионном спектрометре M4 Tornado (Bruker, Германия). Анализ проводили в 20–25 случайных точках поверхности образца с временем накопления сигнала 10 секунд на точку.

#### Термогравиметрический анализ

Определение термической стабильности синтезированных наночастиц проводились с использованием синхронного термического анализатора STA 449 F5 Jupiter (Netzsch, Германия), совмещающего методы дифференциальной

сканирующей калориметрии (ДСК) и термогравиметрии (ТГА). Образцы массой ~ 3 мг помещали в корундовые тигли ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ). Эксперименты были проведены в атмосфере воздуха в диапазоне температур в диапазоне 25–800 °C со скоростью нагрева 10 °C/мин. Скорость потока газовой смеси поддерживали на уровне 70 мл/мин для воздуха и 20 мл/мин для азота, используемого в качестве продувочного газа.

### **Рентгенолюминесценция XEOL**

Исследование люминесцентных характеристик синтезированных материалов выполняли на модифицированном флуоресцентном спектрофотометре Agilent Cary Eclipse (Agilent Technologies, США). Для возбуждения люминесценции использовали рентгеновское излучение (напряжение в трубке 35 кВ, анодный ток 1,6 мА), ширина эмиссионной щели составляла 10 нм. Пробоподготовка заключалась в гомогенизации порошковых образцов и нанесении их на полимерную подложку, прозрачную в УФ, видимом и рентгеновском диапазонах. Регистрацию сигнала осуществляли под углом 45° к плоскости образца.

### **Микрокомпьютерная томография**

Сравнительное исследование контрастных свойств *in vitro* проводили с использованием микротомографа Quantum GX-2 (PerkinElmer, США). Водные растворы  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,01}$  и коммерческого контрастного агента Optiray®350 (с(I) = 350 мг/мл) в различных концентрациях помещали в пробирки Eppendorf, закрепленных в 3D-печатном держателе. Сканирование проводили при ускоряющем напряжении 80 кВ, токе трубки 90 мкА и времени экспозиции 2 минуты. Оценку контрастности образцов выполняли в единицах Хаунсфилда (HU).

*In vivo* исследования проводили на интактных мышах-самцах линии BALB/c в возрасте 3 месяцев массой 34–35 г. Животным внутривенно (в хвостовую вену) вводили водные растворы наночастиц  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,01}@\text{Cit}^{3-}$

(объем 200 мкл, концентрация 89 мМ, ~7 мг наночастиц) и  $\text{BaGd}_{0,75}\text{F}_5:\text{Tb}_{0,25}$ @PB (объем 170-200 мкл, концентрация 35 мг/мл, доза 0.2 мг наночастиц на 1 г массы тела). Анестезию осуществляли 2%-ным изофлураном (Kari-zoo, Испания) с использованием наркозного аппарата RAS-4 (PerkinElmer, США).

Микротомографические сканирования проводили на приборе Quantum GX-2 (PerkinElmer, США) при напряжении 80 кВ, токе трубки 90 мкА и разрешении 140 мкм (поле обзора 86×72 мм). Длительность сканирования составляла 4 мин (эквивалентная доза облучения – 136 мГр). Исследование одобрено локальным этическим комитетом и проведено в соответствии с международными стандартами работы с лабораторными животными [133].

### **ИК-спектроскопия с Фурье-преобразованием**

Регистрацию ИК-спектров поглощения осуществляли методом инфракрасной спектроскопии с Фурье-преобразованием на спектрометре Bruker Vertex 70 (Bruker, Германия), оснащенном МСТ-детектором. Измерения проводили в режиме ослабленного полного внутреннего отражения (ОПВО, ATR) с использованием платиновой приставки Platinum ATR. Спектры регистрировали в диапазоне 5000–300  $\text{см}^{-1}$  с разрешением 1  $\text{см}^{-1}$  с накоплением и усреднением 64 сканов. Фоновый спектр снимали при комнатной температуре (воздух).

### **Динамическое рассеяние света**

Определение гидродинамических диаметров синтезированных частиц проводили методом динамического рассеяния света (ДРС) на анализаторе NANO-flex (Microtrac MRB, Германия). Для измерений готовили водные дисперсии с концентрацией 1 мг/мл, которые перед анализом выдерживали при перемешивании в течение 40 мин. Регистрацию данных осуществляли в пяти последовательных циклах длительностью 2 мин каждый с автоматической коррекцией результатов с учетом вязкости дисперсионной

среды и температуры. Из измеренных значений исключали фоновый сигнал дистиллированной воды.

### **Измерения $\zeta$ -потенциала**

Измерение электрокинетического (дзета) потенциала и электрофоретической подвижности синтезированных наночастиц проводили на анализаторе Stabino (Microtrac MRB, Германия). Для анализа были приготовлены водные дисперсии с концентрацией 2 мг/мл, которые перед измерением перемешивали в течение 2 мин. Регистрацию параметров осуществляли в 24 точках с интервалом 5 с.

### **Адсорбция азота**

Изотермы низкотемпературной адсорбции-десорбции азота регистрировали на автоматическом газоадсорбционном анализаторе ASAP 2020 (Micromeritics, США) при температуре жидкого азота  $-196$  °C. Перед измерениями образцы подвергали вакуумной дегазации при температуре  $250$  °C в течение 10 ч (остаточное давление  $10^{-3}$  Торр).

### **Ультрафиолетовая и видимая спектроскопия**

Регистрацию спектров поглощения проводили на двухлучевом спектрофотометре Shimadzu UV-2600 (Shimadzu, Япония) в диапазоне длин волн 190–900 нм с оптическим разрешением 1 нм. Измерения выполняли в кварцевых кюветах с толщиной поглощающего слоя 1 см, заполненных водными суспензиями синтезированных наночастиц (дисперсионная среда – деионизированная вода).

### ***In situ* измерения рентгенолюминесценции**

Синтез наноматериалов проводили с использованием лабораторной микрофлюидной установки MF-1, собранной на базе шаговых двигателей стандарта NEMA-23. В состав системы входили химически стойкие шприцы производства Runze New Technology Development Co. (Китай), изготовленные из фторопласта (ПТФЭ), боросиликатного стекла и нержавеющей стали

(Рисунок 5). Управление установкой, включая контроль скоростей потоков и дозирование реагентов для каждого шприцевого насоса, осуществляли с помощью специализированного программного обеспечения.

Микрофлюидные чипы были изготовлены методом цифровой световой проекции (DLP-технология) на 3D-принтере Asiga UV MAX (Сидней, Австралия). Для подачи растворов прекурсоров использовали шприцы объемом 10 мл. Соединение элементов микрофлюидной системы осуществлялось с помощью силиконовых трубок. Реакционный участок, помещенный в нагревательный блок, представлял собой фторопластовую трубку длиной 1,5 м с внутренним диаметром 2,5 мм. Нагрев реакционной зоны проводился в масляной бане с силиконовым маслом, температура которой поддерживалась с точностью  $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$  при помощи нагревательной печи IKA C-MAG HS 7, оснащенной магнитной мешалкой.

Конструкция микрофлюидных чипов включала пассивный микромиксер меандровой топологии, предназначенный для эффективного смешивания двух- и четырехкомпонентных реакционных смесей. Ширина микроканалов составляла 500 мкм. Для проведения рентгенолюминесцентных исследований был разработан микрофлюидный чип специальной конструкции, содержащий плоский резервуар ромбовидной формы площадью  $2 \times 2$  см и общим объемом ~600 мкл. Выбор данной геометрии резервуара обусловлен следующими факторами: увеличение площади детектируемого сигнала (компенсация отсутствия идеальной фокусировки образца в оптической системе детектора) и снижением линейной скорости потока реакционной смеси в зоне рентгеновского облучения, что позволяло стабилизировать регистрируемый сигнал. Конструктивно чип представлял собой открытый резервуар, который после заполнения реакционной смесью герметично закрывался тонким стеклянным окном. Фиксацию окна осуществляли с использованием фотополимерной смолы FunToDo. Применение стеклянного окна

обеспечивало максимальную прозрачность для люминесцентного излучения и минимизацию потерь сигнала при регистрации спектров XEOL.

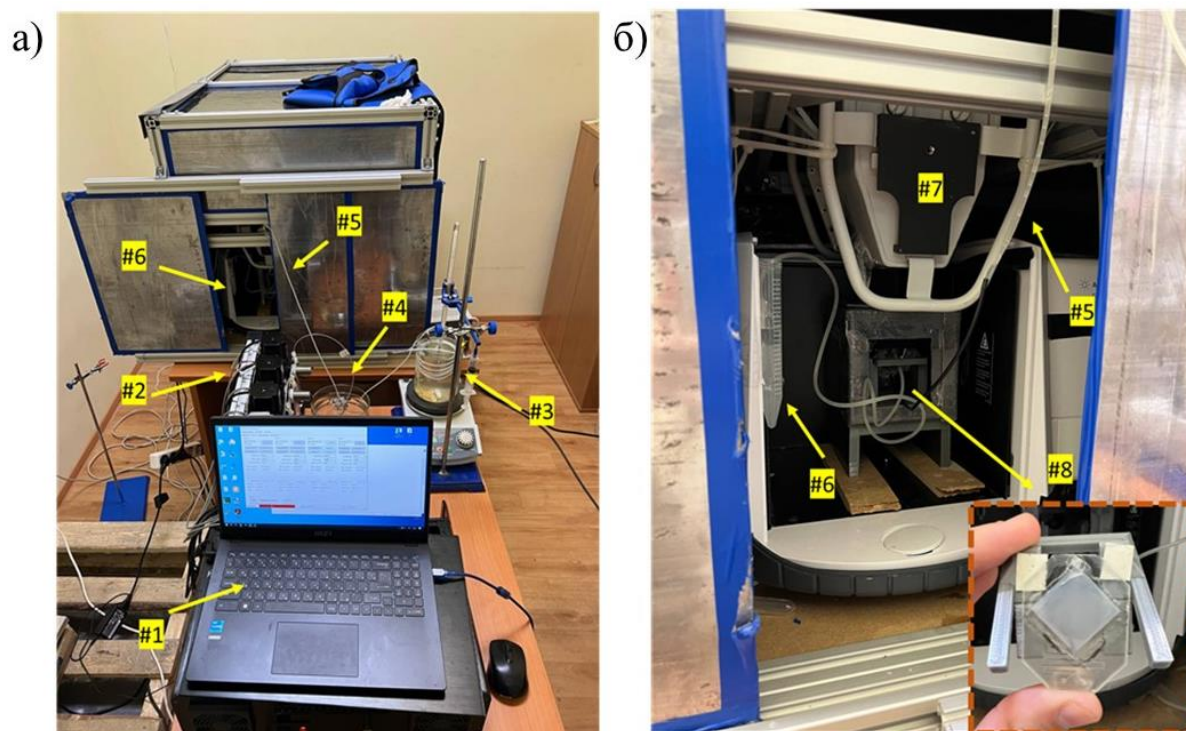


Рисунок 5 – Микрофлюидная установка для синтеза наночастиц  $\text{BaGd}_{1-x}\text{F}_5:\text{Tb}_x$  с возможностью *in situ* регистрации рентгеновского возбуждения оптической люминесценции: (а) общий вид установки; (б) узел регистрации спектров. (а) *Общий вид установки*: #1 – ноутбук с программным обеспечением для управления шприцевыми насосами (контроль скорости потока и объема подачи реагентов); #2 – шприцевые насосы; #3 – масляная баня ( $T = 100\text{ }^\circ\text{C}$ ) с погруженной в нее трубкой из ПТФЭ (длина 1,5 м); #4 – охлаждающая баня (вода, комнатная температура); #5 – силиконовая трубка, подключенная к свинцовой крышке камеры для XEOL-измерений; #6 – приемник (коллектор) для сбора продуктов синтеза; (б) *Узел регистрации XEOL*: #7 – рентгеновская трубка (источник возбуждения XEOL); #8 – микрофлюидный XEOL-чип, изготовленный методом 3D-печати. Чип имеет ромбовидный резервуар, заполненный продуктом синтеза, и закреплен на держателе образца с помощью клейкой ленты. Расположение чипа внутри свинцовой камеры обеспечивает наклон его поверхности под углом  $45^\circ$  как к падающему рентгеновскому лучу, так и к окну флуоресцентного детектора

## **Тест на цитотоксичность**

В работе были использованы следующие клеточные линии: A549 (аденокарцинома легких человека), HeLa (аденокарцинома шейки матки) и HSF (фибробласты кожи здорового донора). Клетки культивировали в среде DMEM (Gibco), дополненной 10% фетальной бычьей сыворотки (BioSera), 2 mM L-глутамина, 100 ЕД/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина.

Исследование цитотоксических свойств наночастиц проводили методом МТТ-тестирования (МТТ – тетразолиевый краситель 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-тетразолиум бромид). Клетки линий A549, HeLa и HSF пассировали в 96-луночные планшеты с плотностью посева  $1 \times 10^4$  клеток/лунку и инкубировали в стандартных условиях (37°C, 5% CO<sub>2</sub>) в течение 24 ч для формирования монослоя. Затем культурную среду заменяли свежей, содержащей исследуемые наночастицы в концентрациях от 40 до 2000 мкг/мл. Клетки инкубировали с наночастицами в течение 24 и 48 часов. В качестве контроля использовали клетки, инкубировавшиеся в среде без добавления наночастиц. По окончании инкубации в каждую лунку вносили раствор МТТ (конечная концентрация 0,5 мг/мл) и инкубировали в течение 3 ч. Образовавшиеся кристаллы формазана растворяли в 100 мкл ДМСО. Интенсивность окрашивания оценивали спектрофотометрически при длине волны 570 нм с помощью микропланшетного ридера BioRad xMark™.

## **Проточная цитометрия**

Исследование влияния наночастиц на распределение клеток по фазам клеточного цикла и выявление апоптотических популяций выполняли на проточном цитометре BD FACSCanto II (BD Biosciences) с возбуждением флуоресценции аргоновым лазером ( $\lambda = 488$  нм). Культивирование клеток осуществляли в флаконах T25 (SPL Life Sciences) с начальной плотностью  $5 \times 10^4$  клеток/мл в течение 24 ч. Затем в среду вносили наночастицы в концентрации 400 мкг/мл и инкубировали клетки в течение 12 ч. По окончании экспозиции клетки дважды отмывали фосфатно-солевым буфером (PBS –

Phosphate Buffered Saline, 0,01, pH = 7,2), обрабатывали раствором трипсина и ресуспендировали в 1 мл PBS для цитометрического анализа.

Оценку жизнеспособности клеток проводили с использованием йодида пропидия. Клетки окрашивали раствором йодида пропидия в концентрации 5 мкг/мл в течение 2 мин при комнатной температуре в защищенном от света месте. Для каждого образца был проведен анализ не менее 10 000 событий с использованием программного обеспечения BD FACSDiva, учитывая только жизнеспособную популяцию клеток.

### **Статистический анализ**

Все эксперименты выполняли не менее чем в трех биологических повторностях. Статистическую значимость различий оценивали с использованием непараметрического U-критерия Манна-Уитни (для данных МТТ-теста) и двухвыборочного Z-теста (для данных проточной цитометрии). Критический уровень значимости принимали равным  $p < 0,05$ .

## **2.2. Синтез исследуемых материалов**

### **Микроволновый синтез наночастиц $BaGdF_5$ допированных $Eu^{3+}$ и $Tb^{3+}$**

Синтез наночастиц осуществляли с использованием оригинального микроволнового метода, разработанного нашей научной группой и детально описанного в предыдущей публикации [134]. В ходе работы была синтезирована серия ультрадисперсных наночастиц  $BaGd_{1-x}F_5:Eu_x$  и  $BaGd_{1-x}F_5:Tb_x$  с варьируемым содержанием ионов  $Eu^{3+}$  (где  $x = 1, 2,5, 5, 10, 25$  и  $50\%$  относительно содержания  $Gd^{3+}$ ), и  $Tb^{3+}$  (где  $x = 5, 10, 25$  и  $50\%$  относительно  $Gd^{3+}$ ) что соответствует процентному соотношению  $EuCl_3$  и  $TbCl_3$  к мольному количеству  $GdCl_3$ . Точные количества использованных прекурсоров и обозначения полученных образцов приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Молярная концентрация и масса прекурсоров, добавляемых при использовании микроволнового синтеза

Название образца	BaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O		GdCl <sub>3</sub>		EuCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O		NH <sub>4</sub> F	
	МГ	ММОЛЬ	МГ	ММОЛЬ	МГ	ММОЛЬ	МГ	ММОЛЬ
BaGd <sub>0,99</sub> F <sub>5</sub> :Eu <sub>0,01</sub>	244,3	1	261	0,99	3,7	0,01	203,7	5,5
BaGd <sub>0,975</sub> F <sub>5</sub> :Eu <sub>0,025</sub>			257	0,975	9,2	0,025		
BaGd <sub>0,95</sub> F <sub>5</sub> :Eu <sub>0,05</sub>			250,4	0,95	18,3	0,05		
BaGd <sub>0,9</sub> F <sub>5</sub> :Eu <sub>0,1</sub>			210,9	0,8	36,6	0,1		
BaGd <sub>0,75</sub> F <sub>5</sub> :Eu <sub>0,25</sub>			197,7	0,75	91,6	0,25		
BaGd <sub>0,5</sub> F <sub>5</sub> :Eu <sub>0,5</sub>			131,8	0,5	183,2	0,5		
BaGd <sub>0,95</sub> F <sub>5</sub> :Tb <sub>0,05</sub>	244,3	1	250,4	0,95	13,3	0,05	203,7	5,5
BaGd <sub>0,9</sub> F <sub>5</sub> :Tb <sub>0,1</sub>			210,9	0,9	26,5	0,1		
BaGd <sub>0,75</sub> F <sub>5</sub> :Tb <sub>0,25</sub>			197,7	0,75	66,3	0,25		
BaGd <sub>0,5</sub> F <sub>5</sub> :Tb <sub>0,5</sub>			131,8	0,5	132,6	0,5		

Процесс синтеза начинался с растворения смеси GdCl<sub>3</sub> и EuCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O в 20 мл этиленгликоля при помощи ультразвуковой обработки. К полученному раствору добавляли BaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O и проводили дополнительную ультразвуковую обработку до полного растворения компонентов, после чего раствор перемешивали на магнитной мешалке в течение 30 минут для обеспечения гомогенности системы. Затем в раствор вводили 1,5 г ПЭГ-1500, который растворяли с помощью 15-минутной ультразвуковой обработки. Параллельно готовили отдельный раствор NH<sub>4</sub>F в 10 мл этиленгликоля. Оба раствора объединяли, подвергали 5-минутной ультразвуковой обработке, после чего реакционную смесь переносили в тефлоновый реактор и помещали в микроволновую систему CEM Mars6 (Microwave Accelerated Reaction System).

Синтез проводили при следующих параметрах: время нагрева до рабочей температуры составляло 20 минут, рабочая температура поддерживалась на уровне 200°C в течение 2 часов, при этом раствор постоянно перемешивался со средней интенсивностью, а мощность микроволнового излучения составляла 600 Вт. После завершения синтеза

полученную суспензию дважды центрифугировали при 13000 об/мин в течение 10 минут, промывая водой, после чего очищенные наночастицы высушивали при 60°C до получения сухого порошка. Данная методика позволила получить серию наночастиц с контролируемым содержанием активатора  $\text{Eu}^{3+}$  в матрице  $\text{BaGdF}_5$ . Уравнение реакции:



### Микроволновый и гидротермальный синтез наночастиц $\text{BaGd}_{1-x}\text{F}_5:\text{Tb}_x$ с различным составом растворителей и температурой

Для оптимизации размеров синтезируемых наночастиц  $\text{BaGdF}_5:\text{Tb}$  проводилось варьирование параметров синтеза. В исследовании изменялись следующие ключевые параметры: метод синтеза (микроволновой или сольвотермальный), состав растворителя (смесь этиленгликоля с водой в различных соотношениях) и температурный режим проведения реакции. Полный перечень исследованных условий синтеза с указанием конкретных параметров для каждого эксперимента приведен в таблице 2.

Таблица 2 – Условия синтезов наночастиц  $\text{BaGd}_{1-x}\text{F}_5:\text{Tb}_x$

Тип синтеза	Название образца	Процентное содержание ЭГ, %	Температура, °C
Микроволновый синтез	25Ть МВ 100ЭГ 200Т	100	200
	25Ть МВ 50ЭГ	50	
	25Ть МВ 25ЭГ	25	
	25Ть МВ 10ЭГ	10	
	25Ть МВ 0ЭГ	0	
	25Ть МВ 100ЭГ 150Т	100	150
	25Ть МВ 100ЭГ 100Т	100	100
Сольвотермальный синтез	25Ть СТ 100ЭГ 200Т	100	200
	25Ть СТ 50ЭГ	50	
	25Ть СТ 25ЭГ	25	
	25Ть СТ 10ЭГ	10	
	25Ть СТ 0ЭГ	0	
	25Ть СТ 100ЭГ 100Т	100	100
	25Ть СТ 100ЭГ КТ	100	комнатная температура

## **Модификация поверхности рентгенолюминесцентных наночастиц**

### **BaGd<sub>1-x</sub>F<sub>5</sub>:Eu<sub>x</sub> оболочкой SiO<sub>2</sub>**

Все синтезированные образцы BaGd<sub>1-x</sub>F<sub>5</sub>:Eu<sub>x</sub> (x = 0,01, 0,025, 0,05, 0,1, 0,25, 0,50) были покрыты оболочкой SiO<sub>2</sub>. Синтез нанокмозитов осуществлялся следующим образом: 100 мг BaGd<sub>1-x</sub>F<sub>5</sub>:Eu<sub>x</sub> добавляли к 25 мл водного раствора поливинилпирролидона (ПВП) (концентрация 1 мг/мл). Полученную смесь подвергали обработке ультразвуком до полного растворения. После этого раствор дважды центрифугировали (13000 об/мин, 10 мин) в метаноле. Затем осадок после центрифугирования переносили в 20 мл метанола, прибавляли 10 мл концентрированного раствора аммиака и к полученному раствору добавляли 325 мкл тетраэтилортосиликата (ТЭОС). Раствор оставляли перемешиваться магнитной мешалкой на 24 часа. После этого смесь дважды центрифугировали (13000 об/мин, 10 мин) с водой. Полученный раствор сушили при 60 °С в течение 24 часов. Полученные образцы были обозначены как BaGd<sub>1-x</sub>F<sub>5</sub>:Eu<sub>x</sub>@SiO<sub>2</sub> (x = 0,01, 0,025, 0,05, 0,1, 0,25, 0,50). Для изменения толщины оболочки SiO<sub>2</sub> использовались два подхода: варьирование времени синтеза и варьирование количества ТЭОС. В первом подходе частицы в процессе синтеза отбирались каждые 10 мин в течение 1 ч, тем самым была предпринята попытка формирования варьируемого объема слоя мезопористого SiO<sub>2</sub> на поверхности наночастиц. Во втором подходе была проведена серия из четырех аналогичных синтезов, но при этом в качестве варьируемого параметра использовалось количество ТЭОС, которое было уменьшено в два, четыре, шесть, восемь и шестнадцать раз.

## **Модификация поверхности рентгенолюминесцентных наночастиц**

### **BaGd<sub>0,9</sub>F<sub>5</sub>:Eu<sub>0,01</sub> цитратом натрия**

Поверхность готовых наночастиц BaGd<sub>0,9</sub>F<sub>5</sub>:Eu<sub>0,01</sub> была модифицирована цитратом натрия для повышения биосовместимости и изменения поверхностного заряда частиц на отрицательный, что должно повысить эффективность эндоцитоза. Для этого 0,7 г трёхзамещенного цитрата натрия

растворяли в 50 мл дистиллированной воды. К полученному раствору добавляли 0,06 г частиц  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,01}$ , затем дисперсию обрабатывали ультразвуком при 50 °С в течение 30 минут. Бесцветный осадок промывали несколько раз дистиллированной водой, а затем ацетоном для удаления избытка цитратных групп. Полученные наночастицы сушили в течение 24 ч при 60 °С. Синтезированный образец был обозначен как  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,01}@\text{Cit}^{3-}$ .

### **Синтез нанокомпозитов $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,01}@\text{MC}$ и $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,01}@\text{SiO}_2@\text{MC}$**

Предварительно был приготовлен 15 мл раствор метиленового синего (концентрация 8 мкг/мл ( $2,5 \cdot 10^{-5}$  М)). Затем к двум частям этого раствора добавляли по 50 мг  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,01}$  и 50 мг  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,01}@\text{SiO}_2@\text{MC}$ . Полученные смеси композитов подвергались перемешиванию в течение 1 ч при комнатной температуре. По истечении часа осадки отделяли от раствора центрифугированием (15000 об/мин в течение 5 минут) и измеряли спектры поглощения маточных растворов. Осадки трижды подвергались центрифугированию дистиллированной водой и дальнейшей сушке при 60 °С.

### **Микрофлюидный синтез нанолюминофоров $\text{BaGd}_{1-x}\text{F}_5:\text{Tb}_x$ и нанокомпозитов $\text{BaGd}_{0,75}\text{F}_5:\text{Tb}_{0,25}:\text{Pb}$ , $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}@\text{MC}$**

В работе использовалась микрофлюидная установка (MF-1), созданная на базе шаговых электродвигателей NEMA-23, шприцев (Runze New Technology Development Co., Китай), изготовленных из химически стойких материалов (ПТФЭ, боросиликатное стекло и нержавеющая сталь), а также специализированного программного обеспечения, позволяющего индивидуально контролировать скорость потока и дозирование для каждого шприцевого насоса. Микрофлюидные чипы были напечатаны на 3D-принтере Asiga UV MAX (Сидней, Австралия) методом цифровой светодиодной проекции. Использовались шприцы объемом 10 мл, заполненные растворами прекурсоров. Для соединения элементов системы синтеза между собой

применялись силиконовые трубки. ПТФЭ-трубка длиной 1.5 м и внутренним диаметром 2.5 мм была помещена в нагреваемую масляную баню с силиконовым маслом. Нагрев и поддержание постоянной температуры масляной бани осуществлялись с помощью нагревательного столика ИКА С-MAG HS 7 с магнитной мешалкой. Микрофлюидные чипы были оснащены пассивным микросмесителем традиционной меандровой топологии для смешивания двух- и четырехкомпонентных систем с шириной канала 500 мкм.

## Глава III: Результаты научно-исследовательской работы

### 3.1. Рентгеновские наноломинофоры на основе редкоземельных элементов

#### 3.1.1. Кристаллическая структура и состав наночастиц

Элементный состав синтезированных образцов на основе  $\text{BaGdF}_5$ , легированных ионами  $\text{Eu}^{3+}$  (номинальное содержание  $x = 1, 2.5, 5, 10, 25, 50$  ат. % относительно  $\text{Gd}^{3+}$ ) и  $\text{Tb}^{3+}$  ( $x = 5, 10, 25, 50$  ат. %), был определен методом рентгенофлуоресцентного анализа (РФА). Полученные данные (Таблица 3) демонстрируют хорошую корреляцию между номинальным и фактическим содержанием допирующих примесей, что свидетельствует о практически полном встраивании допантов в кристаллическую решетку формируемых наночастиц  $\text{BaGdF}_5$ . Незначительные расхождения, наблюдаемые для минимальных концентраций  $\text{Eu}^{3+}$ , вероятно, обусловлены как присутствием следовых количеств непрореагировавшего прекурсора, так и инструментальной погрешностью рентгенофлуоресцентного анализатора в области низких содержаний элементов.

Исследование кристаллической структуры наночастиц  $\text{BaGd}_{1-x}\text{F}_5:\text{Eu}_x$  выполнено методом порошковой рентгеновской дифракции (Рисунок 6). Установлено, что для всех составов серии  $\text{BaGd}_{1-x}\text{F}_5:\text{Eu}_x$  формируется однофазный материал, структура которого аналогична структуре нелегированного  $\text{BaGdF}_5$  (база данных PDF JCPDS № 24-0098). Параметры элементарной ячейки, рассчитанные по профилям дифракции в программе Jana2006 (Таблица 3), оказались несколько ниже литературного значения ( $a = 6,023 \text{ \AA}$ ), что связано с размерным эффектом наночастиц. Размеры областей когерентного рассеяния оценивали по уравнению Шеррера и представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Структурные параметры и элементный состав образцов BaGdF<sub>5</sub>, BaGd<sub>1-x</sub>F<sub>5</sub>:Eu<sub>x</sub> и BaGd<sub>1-x</sub>F<sub>5</sub>:Tb<sub>x</sub>: параметры элементарной ячейки (рассчитанные в программе Jana2006 по данным рентгеновской дифракции), размеры кристаллитов (расчет по уравнению Шеррера), номинальное и фактическое содержание допантов (согласно данным рентгеновского флуоресцентного анализа)

Названия образцов	Номинальное содержание Eu или Tb в ат., %	Фактическое содержание Eu или Tb в ат., %	Параметр ячейки, Å	Объем решетки, Å <sup>3</sup>	Размеры кристаллитов, рассчитанные по уравнению Шеррера, Å
BaGdF <sub>5</sub>	0	0	5.9099 (5)	206.41 (3)	10.71
BaGd <sub>0,99</sub> F <sub>5</sub> :Eu <sub>0,01</sub>	0.14	0.02	5.9198 (8)	207.45 (3)	10.45
BaGd <sub>0,975</sub> F <sub>5</sub> :Eu <sub>0,025</sub>	0.36	0.20	5.9168 (8)	207.13 (8)	10.49
BaGd <sub>0,95</sub> F <sub>5</sub> :Eu <sub>0,05</sub>	0.71	0.50	5.9208 (14)	207.55 (8)	9.64
BaGd <sub>0,9</sub> F <sub>5</sub> :Eu <sub>0,1</sub>	1.43	1.37	5.9212 (7)	207.60 (1)	10.98
BaGd <sub>0,75</sub> F <sub>5</sub> :Eu <sub>0,25</sub>	3.57	3.51	5.9276 (9)	208.27 (4)	9.61
BaGd <sub>0,5</sub> F <sub>5</sub> :Eu <sub>0,5</sub>	7.14	8.33	5.9388 (8)	209.45 (5)	9.99
BaGd <sub>0,95</sub> F <sub>5</sub> :Tb <sub>0,05</sub>	0.71	0.45	5.9310(12)	208.64(7)	8.53
BaGd <sub>0,9</sub> F <sub>5</sub> :Tb <sub>0,1</sub>	1.43	1.37	5.9279(14)	208.30(8)	8.87
BaGd <sub>0,75</sub> F <sub>5</sub> :Tb <sub>0,25</sub>	3.57	3.78	5.9201(16)	207.49(3)	7.67
BaGd <sub>0,5</sub> F <sub>5</sub> :Tb <sub>0,5</sub>	7.14	6.91	5.9034(9)	205.73(5)	10.25

Расчет параметров решетки выявил их зависимость от концентрации легирующей примеси Eu<sup>3+</sup>. Как показано на рисунке 7, увеличение содержания Eu<sup>3+</sup> приводит к закономерному росту параметра ячейки, что объясняется большим ионным радиусом Eu<sup>3+</sup> ( $R_i = 1,066 \text{ \AA}$  [135]) по сравнению с Gd<sup>3+</sup> ( $R_i = 1,053 \text{ \AA}$  [135]). Зависимость параметра решётки от концентрации ионов Eu<sup>3+</sup> имеет немонотонный характер: в области малых содержаний допанта наблюдается резкий рост параметра, тогда как при высоких концентрациях (более 0.5 ат. % Eu) зависимость становится линейной. Отсутствие на

дифрактограммах рефлексов, соответствующих каким-либо побочным кристаллическим фазам, а также наблюдаемый тренд изменения параметра ячейки свидетельствует о том, что даже при высоких концентрациях ионы Eu преимущественно встраиваются в решетку матрицы BaGdF<sub>5</sub>, замещая ионы Gd<sup>3+</sup>. Таким образом, параметры ячейки зависят от количества легирующих элементов.

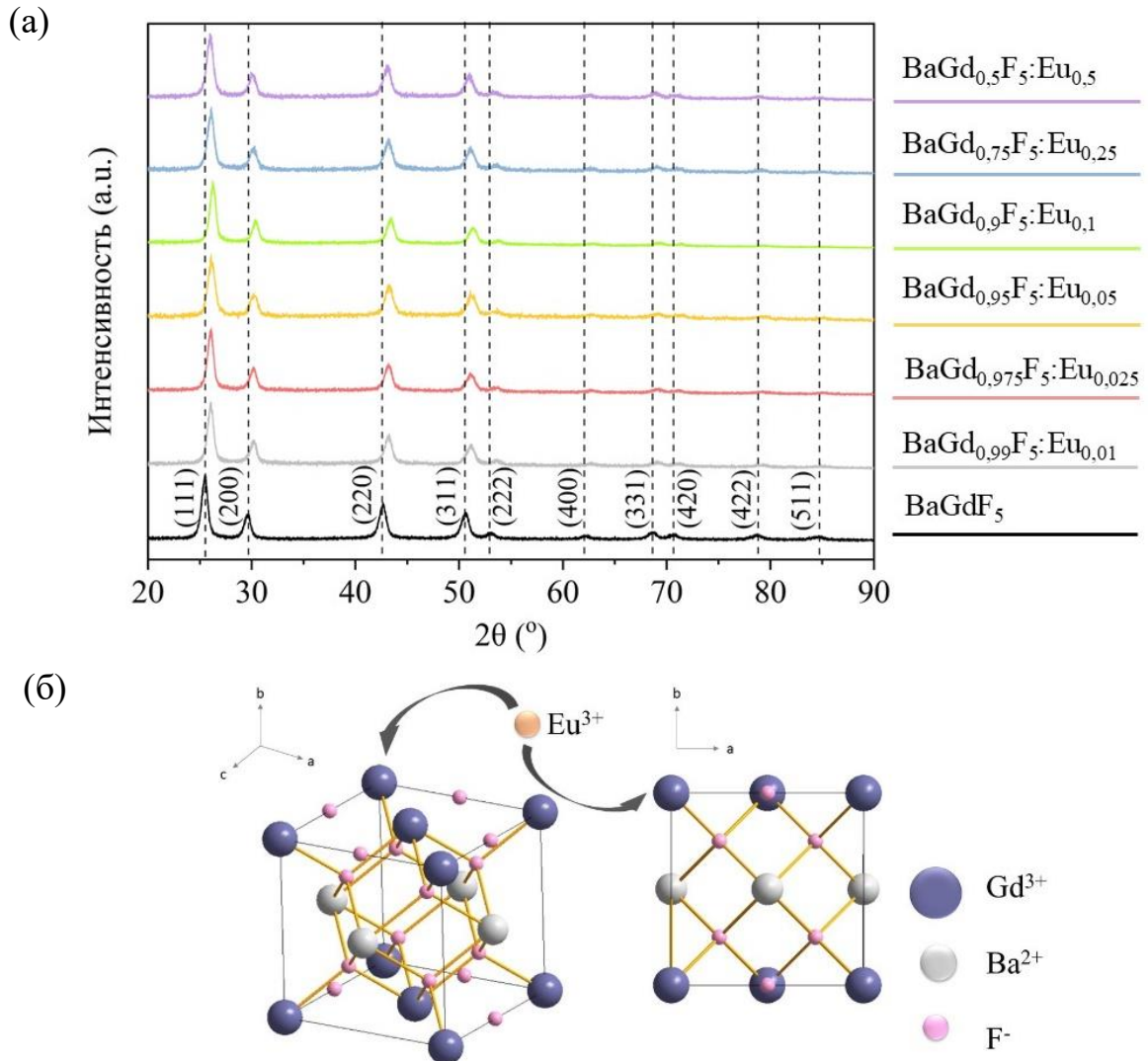


Рисунок 6 – (а) Профили порошковой рентгеновской дифракции BaGdF<sub>5</sub> и BaGd<sub>1-x</sub>F<sub>5</sub>:Eu<sub>x</sub>; (б) схематическое изображение структуры BaGdF<sub>5</sub>, легированной ионами Eu<sup>3+</sup>

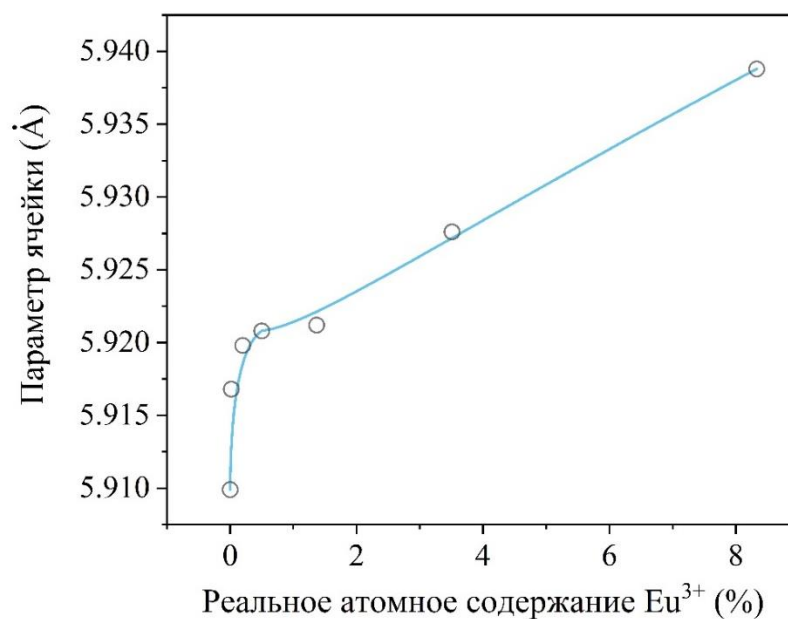


Рисунок 7 – График зависимости фактического процентного содержания (согласно данным РФА) допирующего элемента  $\text{Eu}^{3+}$  от параметра решетки

Согласно данным порошковой рентгеновской дифракции (Рисунок 8), введение ионов  $\text{Tb}^{3+}$  в кристаллическую структуру  $\text{BaGdF}_5$  сопровождается уменьшением параметров элементарной ячейки. Это закономерно следует из соотношения ионных радиусов  $\text{Tb}^{3+}$  ( $R_i = 1,040$ ) и  $\text{Gd}^{3+}$  ( $R_i = 1,053 \text{ \AA}$ ) [135]. Таким образом, повышение концентрации легирующей примеси приводит к монотонному снижению параметров решетки.

Линейный характер зависимости параметра ячейки от содержания  $\text{Tb}^{3+}$  (Рисунок 9) указывает на эффективное вхождение ионов тербия в структуру  $\text{BaGdF}_5$ . Наблюдаемая тенденция подтверждает изоморфное замещение ионов  $\text{Gd}^{3+}$  ионами  $\text{Tb}^{3+}$ . Отсутствие на дифрактограммах рефлексов, отвечающих посторонним кристаллическим фазам, свидетельствует о том, что легирующие ионы, даже при высоких концентрациях, полностью встраиваются в решетку матрицы, замещая  $\text{Gd}^{3+}$ .

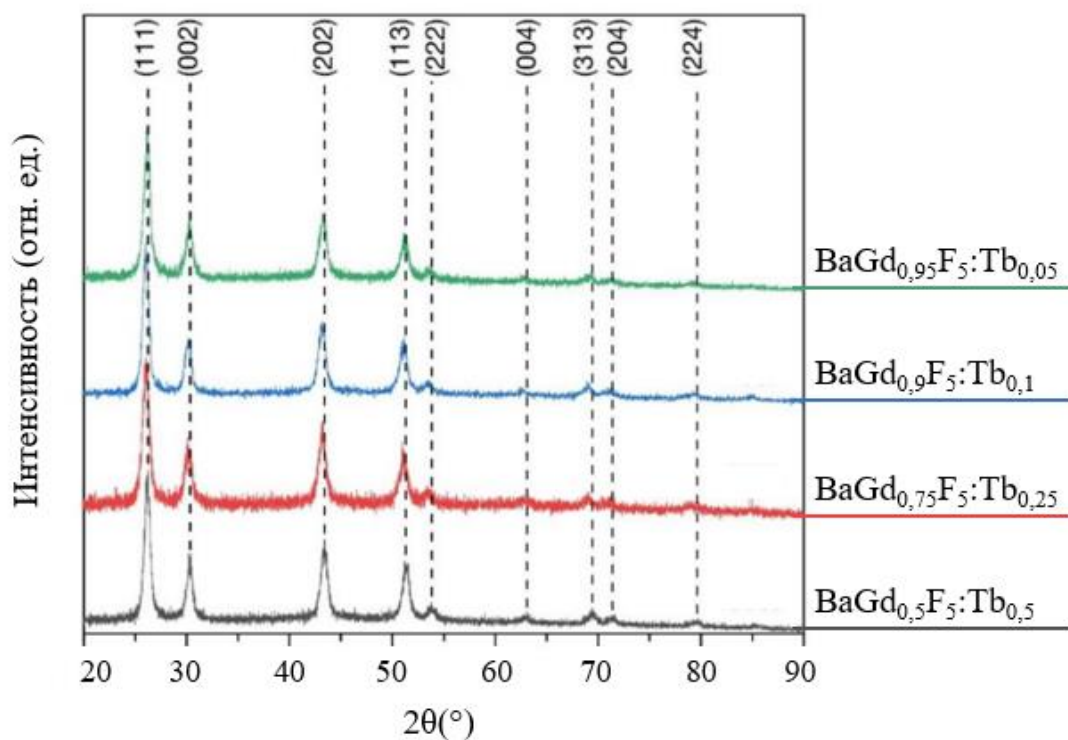


Рисунок 8 – Профили порошковой рентгеновской дифракции для образцов  $\text{BaGd}_{1-x}\text{F}_5:\text{Tb}_x$

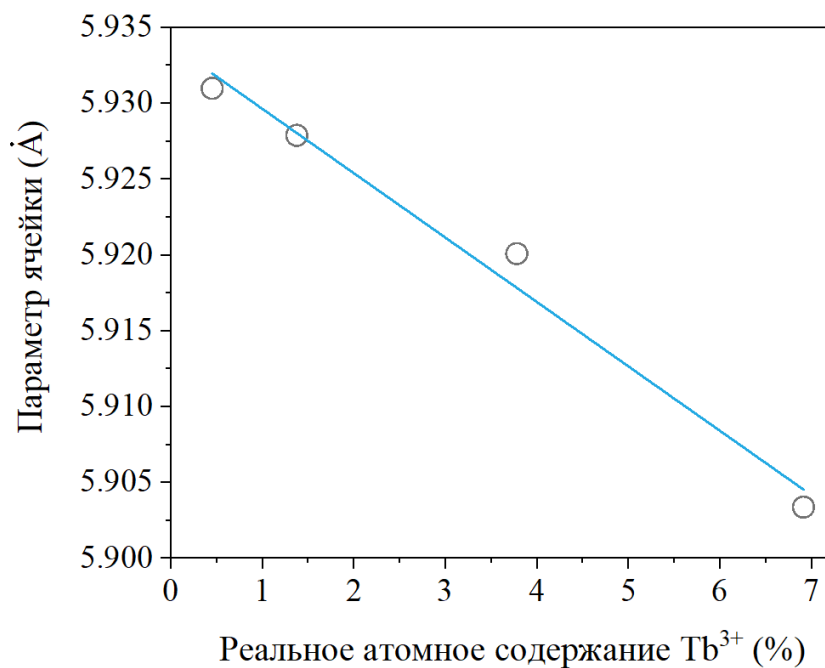


Рисунок 9 – График зависимости фактического процентного содержания допирующего элемента  $\text{Tb}^{3+}$  от параметра решетки

### 3.1.2. Анализ композитов методом просвечивающей электронной микроскопии

Морфологию и размер частиц исследовали методом просвечивающей электронной микроскопии. Согласно полученным данным (Рисунок 10), все наночастицы  $\text{BaGd}_{1-x}\text{F}_5:\text{Eu}_x$  характеризуются сферической формой. Анализ распределения частиц по размерам (общее число измеренных частиц составило около 600 для каждого образца), выполненный с использованием программного обеспечения ImageJ, показал, что максимум распределения (мода) для образцов с концентрацией Eu 2,5 % и 5 % составляет 11 нм, для образцов с 1 %, 25% и 50 % – 12 нм, для образцов 10 % – 13 нм. Таким образом, синтезированные наночастицы являются монодисперсными, о чем свидетельствуют узкие пики распределения по размерам.

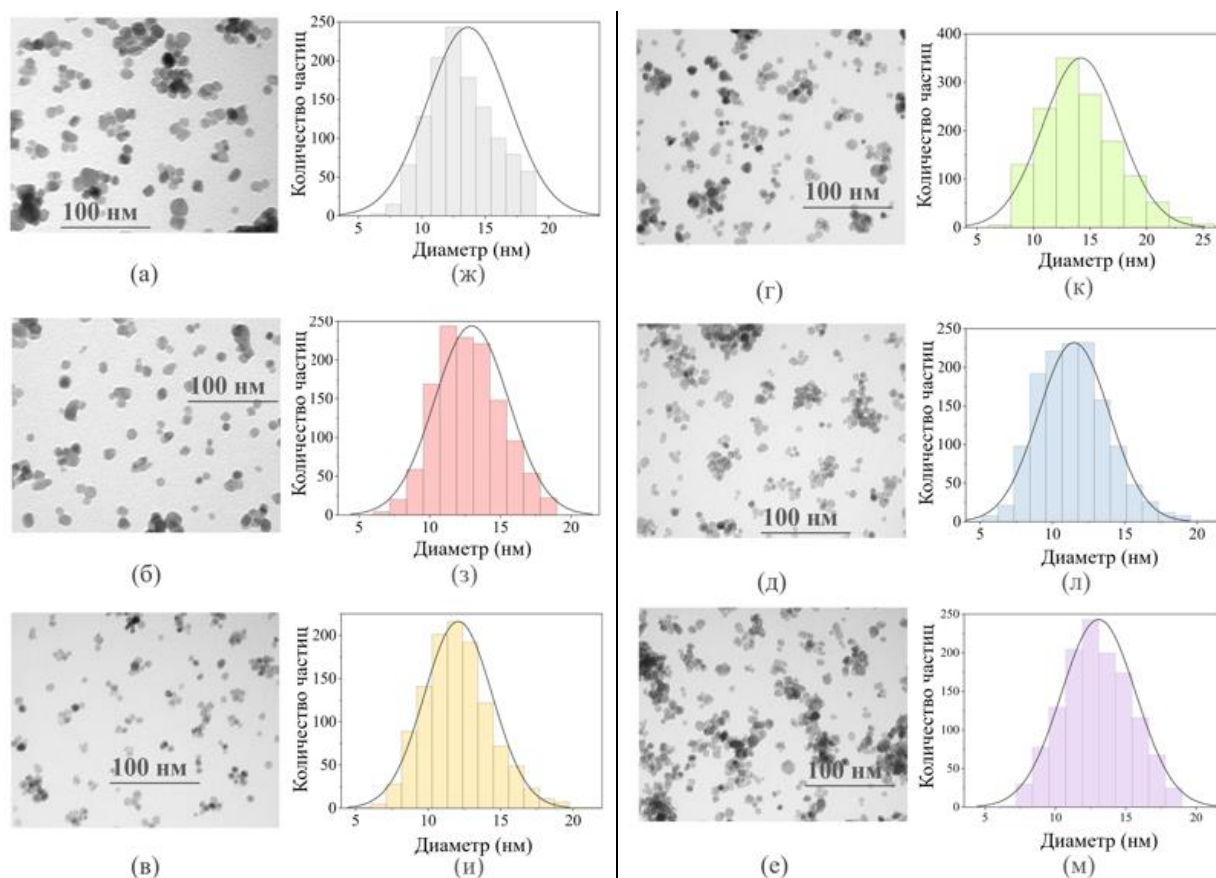


Рисунок 10 – (а – е) ПЭМ-изображения синтезированных образцов  $\text{BaGd}_{1-x}\text{F}_5:\text{Eu}_x$ , где  $x = 1, 2.5, 5, 10, 25, 50$  %, соответственно; (ж – м) гистограммы распределения наночастиц  $\text{BaGd}_{1-x}\text{F}_5:\text{Eu}_x$  по размерам, полученные в результате анализа ПЭМ-изображений

Согласно ПЭМ-изображениям (Рисунок 11), все наночастицы  $\text{BaGd}_{1-x}\text{F}_5:\text{Tb}_x$  имеют сферическую форму. Анализ изображений (общее число измеренных частиц составило около 600 для каждого образца) показал, что для всех образцов мода распределения находится в диапазоне 8-10 нм. Полученные значения хорошо согласуются с размерами кристаллитов, рассчитанными по уравнению Шеррера (Таблица 3). Узкое распределение частиц по размерам свидетельствует об их монодисперсности, что соответствует требованиям, предъявленным к наноломинофорам для применения в рентгеновской фотодинамической терапии.

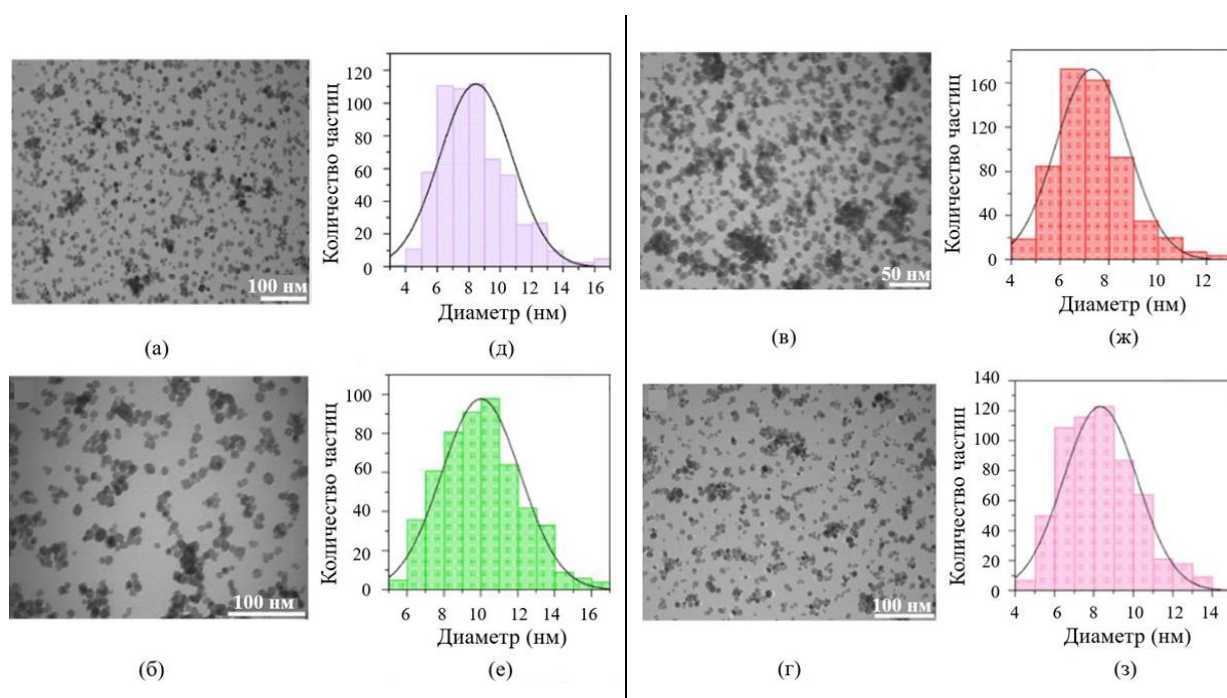


Рисунок 11 – (а – г) ПЭМ-изображения синтезированных образцов

$\text{BaGd}_{1-x}\text{F}_5:\text{Tb}_x$ , где  $x = 5, 10, 25, 50 \%$ , соответственно;

(д – з) гистограммы распределения наночастиц  $\text{BaGd}_{1-x}\text{F}_5:\text{Tb}_x$  по размерам, полученные в результате анализа ПЭМ-изображений

### 3.1.3. Анализ ИК-Фурье спектров полученных наночастиц

Чистота синтезированных продуктов была проанализирована методом инфракрасной спектроскопии с преобразованием Фурье (ИК-Фурье спектроскопия) (Рисунок 12). Спектральные характеристики всех образцов согласуются с литературными данными [136, 137]. Широкая полоса на

спектрах в области  $3500\text{--}3000\text{ см}^{-1}$ , а также сигнал при  $1643\text{ см}^{-1}$  соответствуют валентным и деформационным колебаниям адсорбированных молекул воды. Пик при  $1442\text{ см}^{-1}$  обусловлен валентными колебаниями связей Gd–F и Ba–F [136], тогда как сигнал при  $1053\text{ см}^{-1}$  может быть отнесен к колебаниям O–H первичных гидроксильных групп [137].

Кроме того, хорошо заметен слабоинтенсивный пик при  $2964\text{ см}^{-1}$ , связанный с колебаниями метильных групп остаточного изопропанола, использовавшегося для промывки образцов перед анализом. Наличие полиэтиленгликоля (ПЭГ) на поверхности наночастиц подтверждается характерными сигналами: интенсивным пиком при  $1092\text{ см}^{-1}$ , соответствующим колебаниям C–O–C в полимерной цепи, а также слабыми полосами при  $2949\text{ см}^{-1}$  и  $2878\text{ см}^{-1}$ , относящимся к асимметричным и симметричным валентным колебаниям групп  $\text{--CH}_2$ . Полученные спектральные данные хорошо согласуются с ранее опубликованными результатами [138-140].

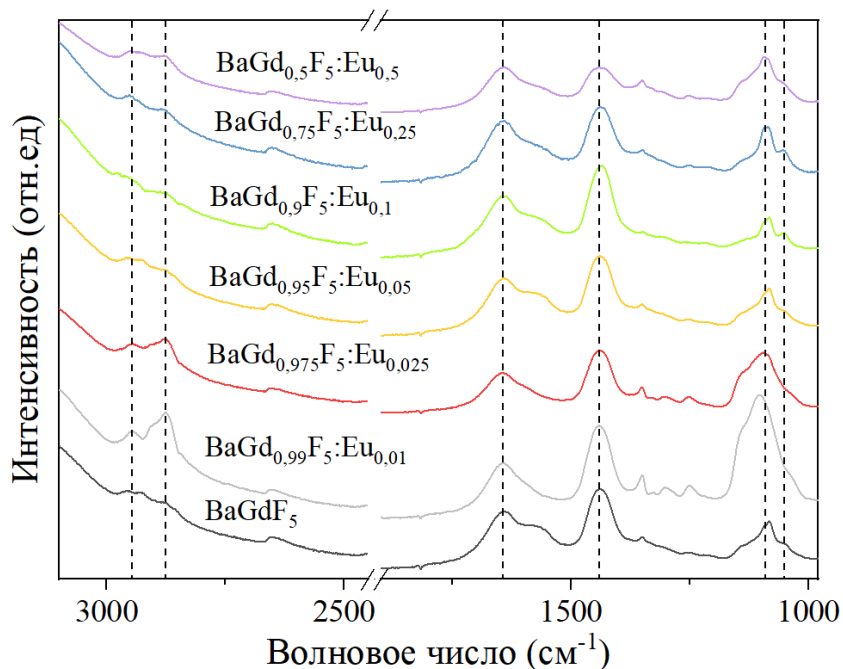


Рисунок 12 – ИК-Фурье спектры серии образцов  $\text{BaGd}_{1-x}\text{F}_5:\text{Eu}_x$

### 3.1.4. Рентгенолюминесценция полученных серий наночастиц

Для всех образцов серии  $\text{BaGd}_{1-x}\text{F}_5:\text{Eu}_x$  были зарегистрированы спектры рентгенолюминесценции XEOL, представленные на рисунке 13. Анализ полученных данных показал, что интенсивность люминесценции возрастает с увеличением концентрации  $\text{Eu}^{3+}$  от 2,5 до 10 %, однако при дальнейшем повышении содержания допанта до 50 % наблюдается спад интенсивности. Отсутствие прямой пропорциональной зависимости между интенсивностью свечения и количеством люминисцентных центров обусловлено, по-видимому, эффектом концентрационного тушения, характерным для систем, легированных ионами  $\text{Eu}^{3+}$  [141].

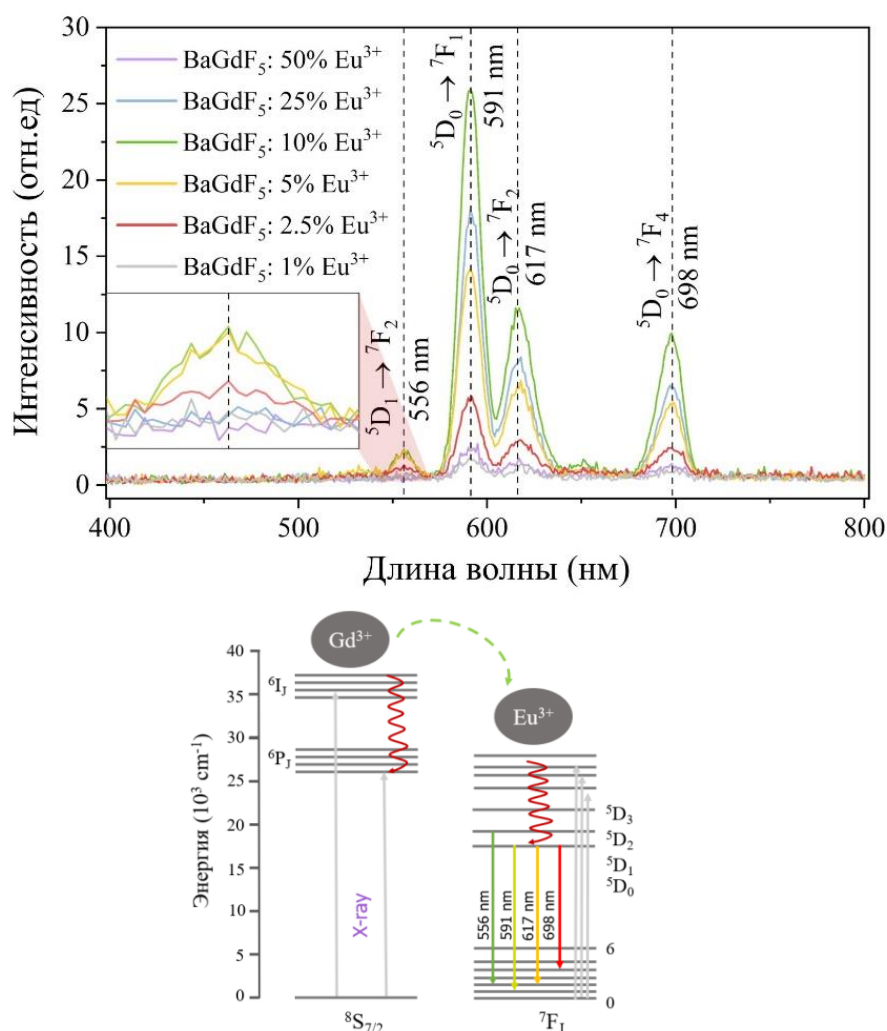


Рисунок 13 – Спектры оптической люминесценции при возбуждении рентгеновскими лучами (*сверху*), измеренные для  $\text{BaGd}_{1-x}\text{F}_5:\text{Eu}_x$ , а также схематичные изображения (*снизу*) механизмов переноса энергии от Gd к Eu посредством возбуждения атомов Gd рентгеновским излучением

Следует отметить, что варьирование концентрации легирующего элемента не приводит к существенному изменению относительной интенсивности пиков в спектрах XEOL, т. е. перераспределения интенсивности между различными электронными переходами не наблюдается. Полученный результат указывает на идентичность локального окружения ионов  $\text{Eu}^{3+}$  в образцах независимо от степени легирования.

Таким образом, общая эффективность люминесценции наночастиц при возбуждении рентгеновскими лучами может быть оценена как интегральная интенсивность сигнала в диапазоне от 400 до 800 нм (Рисунок 14). Установлено, что оптимальное фактическое содержание легированного  $\text{Eu}^{3+}$  равно 1,37 ат. % (т. е. образец  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}$ ), что соответствует мольному соотношению  $\text{Eu}:\text{Gd}$  равному 10 %.

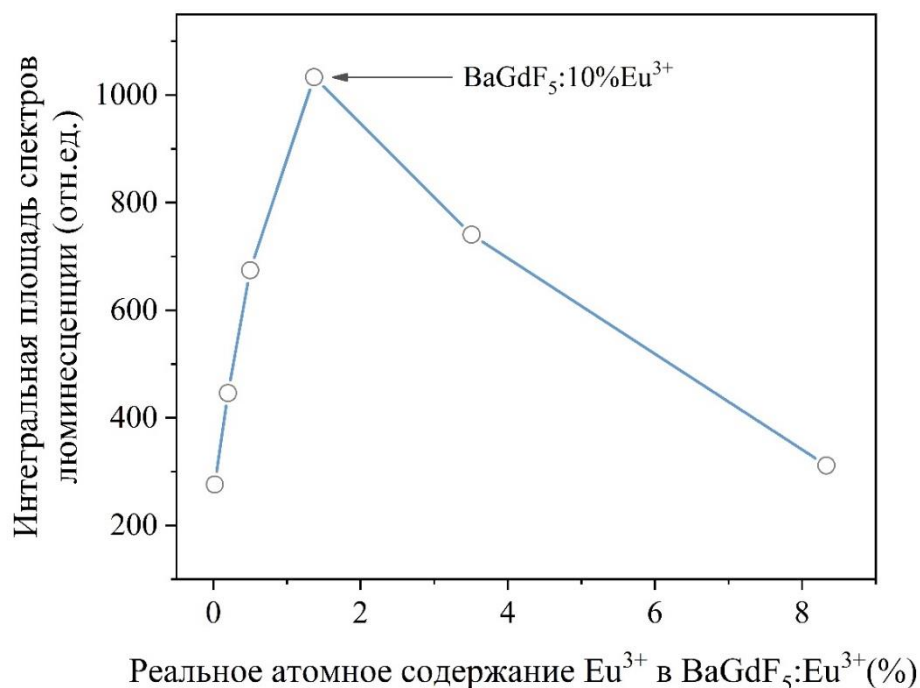


Рисунок 14 – График зависимости интегрированной площади спектров люминесценции (в диапазоне 400–800 нм) от фактического атомного содержания  $\text{Eu}^{3+}$  в образцах  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}$

Спектр рентгеновского возбуждённого оптического люминесценции (Рисунок 15) образцов, легированных  $x\%$  Tb, демонстрирует спектральную форму, характерную для ионов  $\text{Tb}^{3+}$ , внедрённых в структуру  $\text{BaGdF}_5$  [9, 108].

Согласно спектру люминесценции  $x\%$   $Tb^{3+}$ , четыре интенсивные узкие полосы при 490, 545, 586 и 621 нм соответствуют электронным переходам с возбуждённого уровня  $^5D_4$  на основные состояния  $^7F_J$  ( $J = 6 - 3$ ):  $^5D_4 \rightarrow ^7F_6$  для  $\lambda = 490$  нм,  $^5D_4 \rightarrow ^7F_5$  для  $\lambda = 545$  нм,  $^5D_4 \rightarrow ^7F_4$  для  $\lambda = 586$  нм и  $^5D_4 \rightarrow ^7F_3$  для  $\lambda = 621$  нм. Доминирующий пик соответствует зелёной люминесценции при 544 нм, которая представляет собой магнитно-дипольный переход с  $\Delta J = 1$  и обладает наибольшей интенсивностью по сравнению с другими переходами [142, 143]. Общая эффективность люминесценции наночастиц при возбуждении рентгеновскими лучами может быть оценена как интегральная интенсивность сигнала в диапазоне от 400 до 800 нм (Рисунок 16). Как видно из рисунка 15, оптимальная фактическая концентрация легирования  $Tb^{3+}$  составляет 3,78 ат. %, что соответствует образцу  $BaGd_{0,75}F_5:Tb_{0,25}$ . Поэтому для последующей оптимизации синтеза был выбран именно этот состав  $BaGd_{0,75}F_5:Tb_{0,25}$ .

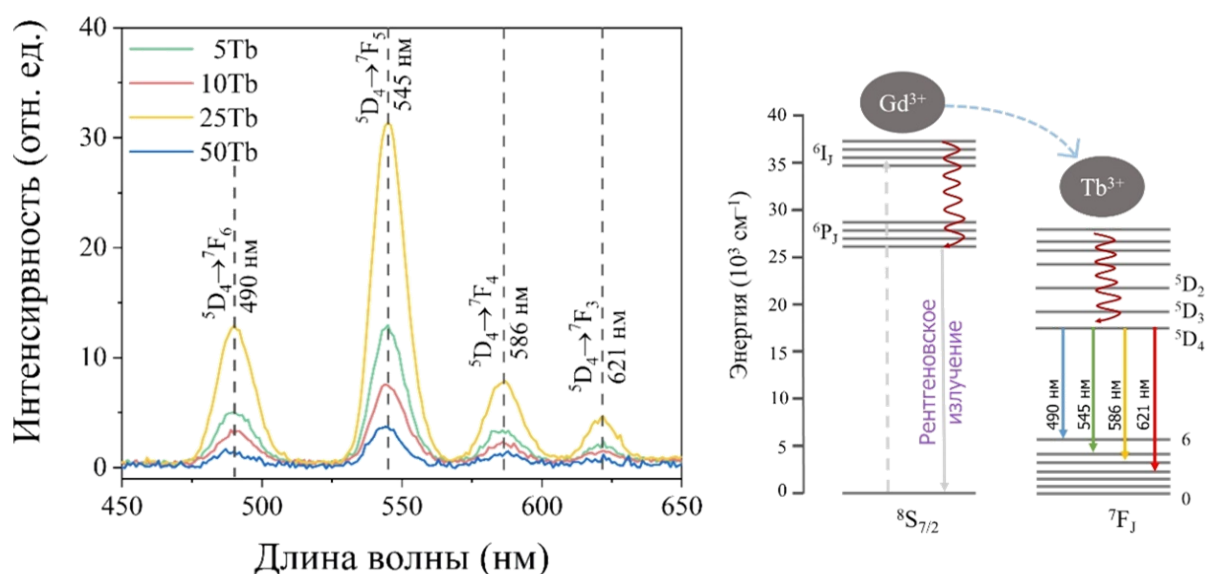


Рисунок 15 – Спектры оптической люминесценции при возбуждении рентгеновскими лучами (слева), измеренные для  $BaGd_{1-x}F_5:Tb_x$ , а также схематичные изображения (справа) механизмов переноса энергии от Gd к Tb посредством возбуждения атомов Gd рентгеновским излучением

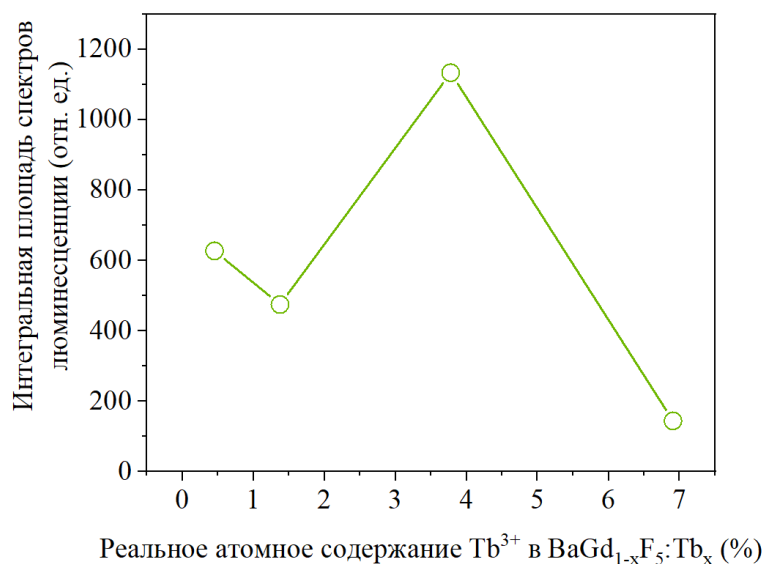


Рисунок 16 – График зависимости интегрированной площади спектров люминесценции (в диапазоне 400–800 нм) от фактического атомного содержания Tb<sup>3+</sup> в образцах BaGd<sub>1-x</sub>F<sub>5</sub>:Tb<sub>x</sub>

В результате проведенных исследований было сформулировано **первое положение**, выносимое на защиту:

Синтезированные микроволновым методом две серии рентгеновских нанолуминофоров с составами BaGd<sub>1-x</sub>:Eu<sub>x</sub> и BaGd<sub>1-x</sub>:Tb<sub>x</sub> со средним размером частиц 11 нм имеют максимум люминесценции в красной ( $\lambda_{\max} = 591$  нм) и зеленой ( $\lambda_{\max} = 544$  нм) области видимого спектра, соответственно. Максимальное значение интенсивности рентгенолюминесценции для серий BaGd<sub>1-x</sub>:Eu<sub>x</sub> и BaGd<sub>1-x</sub>:Tb<sub>x</sub> с различным соотношением редкоземельных элементов наблюдается для образцов, содержащих 25% Tb и 10% Eu.

### 3.1.5. Стабильность коллоидного раствора

Для оценки коллоидной стабильности и определения гидродинамического размера синтезированных наночастиц использовали метод динамического рассеяния света (ДРС). Данный метод позволяет проводить прямую характеристику частиц в дисперсии, а также оценивать изменение их состояния во времени. Для измерений готовили водные дисперсии образцов с концентрацией 2 мг/мл (объем 10 мл).

Для дисперсии образца  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}$  в первые минуты после перемешивания характерно присутствие крупной фракции частиц (Рисунок 17 а), которая в течение 5 минут частично осаждается (Рисунок 17 б). В дисперсии остаются преимущественно частицы с гидродинамическим радиусом около 30 нм. Крупная фракция выпадает в осадок (Рисунок 17 в).

Полученные данные свидетельствуют о том, что в первые 30 минут после приготовления дисперсии происходит седиментация крупных агрегатов, в то время как мелкие наночастицы (с гидродинамическим радиусом около 30 нм) остаются в объеме и формируют устойчивую коллоидную систему.

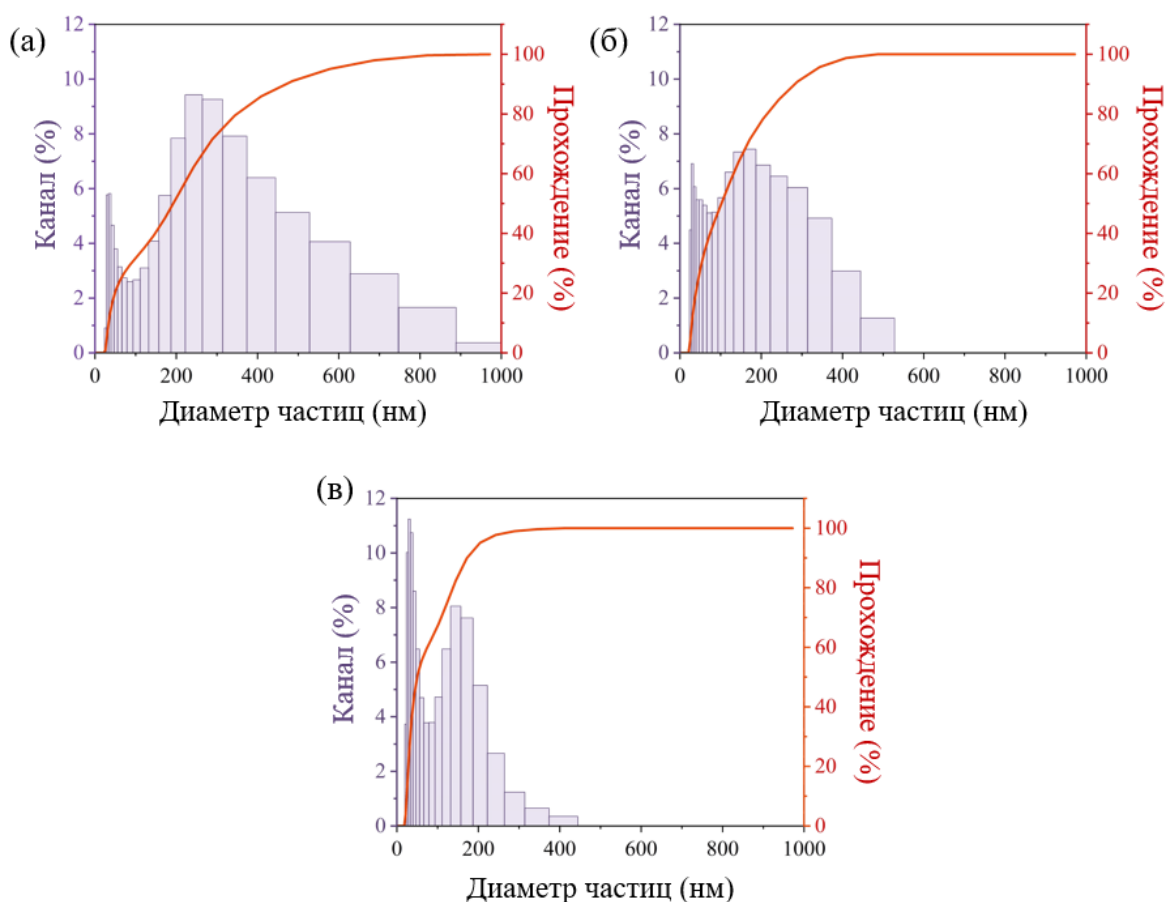


Рисунок 17 – Результаты динамического светорассеяния для образца  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,01}$ , полученные через 1 (а), 5 (б) и 30 (в) минут после процесса перемешивания

Как показывают результаты ДРС (Рисунок 17 в), гидродинамический диаметр частиц в стабилизированной дисперсии (через 30 минут

измерений) лежит в интервале от 30 нм до 400 нм. Широкая крупная фракция, наблюдаемая на начальном этапе (Рисунок 17 а), обусловлена агрегацией наночастиц в растворе. Стоит отметить, что гидродинамический размер наночастиц всегда больше их реального размера. Поэтому гидродинамический размер, оцененный с помощью ДРС, существенно отличался от распределения размеров, полученного с помощью ПЭМ-микроскопии (Рисунок 10) и расчетов по данным рентгеновской дифракции (Таблица 3).

Дзета-потенциал ( $\zeta$ -потенциал) соответствует электрическому потенциалу на плоскости скольжения – границе раздела между неподвижным слоем жидкости, адсорбированным на поверхности частицы, и подвижной дисперсионной средой. Эта характеристика является общепринятым индикатором стабильности коллоидных систем. Высокой устойчивостью обладают дисперсии, для которых  $\zeta$ -потенциал превышает +30 мВ или опускается ниже -30 мВ [144-147]. Таким образом, стабильность раствора может быть проверена с помощью измерений  $\zeta$ -потенциала. Значения  $\zeta$ -потенциала для образцов  $\text{BaGdF}_5$  и  $\text{BaGdF}_{1-x}:\text{Eu}_x$  приведены в Таблице 4.

Таблица 4 – Значения  $\zeta$ -потенциала для  $\text{BaGdF}_5$  и серии  $\text{BaGdF}_{1-x}:\text{Eu}_x$

Образец	$\zeta$ -потенциал, мВ
$\text{BaGdF}_5$	26.12
$\text{BaGd}_{0,99}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,01}$	29.89
$\text{BaGd}_{0,975}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,025}$	32.04
$\text{BaGd}_{0,95}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,05}$	25.16
$\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}$	32.37
$\text{BaGd}_{0,75}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,25}$	25.49
$\text{BaGd}_{0,5}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,5}$	28.57

Все образцы были растворены в 2 мл дистиллированной воды с концентрацией 2 мг/мл. Четких закономерностей в изменении измеренных значений  $\zeta$ -потенциала в зависимости от содержания  $\text{Eu}^{3+}$  в образцах

обнаружено не было. Среднее значение  $\zeta$ -потенциала для всех образцов составило +29,95 мВ, что указывает на стабильность суспензий  $\text{BaGdF}_5$  и  $\text{BaGd}_{1-x}\text{:Eu}_x$  в водном растворе.

### **3.1.6. Варьирование параметров синтеза: способ нагрева, температуры и состава растворителя**

Таким образом, на основе оптимального состава рентгеновского наноломинофора  $\text{BaGd}_{0,75}\text{F}_5\text{:Tb}_{0,25}$  далее исследовалось влияние температуры, состава растворителя этиленгликоль/ $\text{H}_2\text{O}$  (ЭГ/ $\text{H}_2\text{O}$ ) и микроволн на размер получаемых частиц. На рентгеновских дифрактограммах всех синтезированных образцов, представленных на рисунке 18, было установлено, что сольвотермальный синтез (СТ) в чистом этиленгликоле (25Тб СТ 100ЭГ) характеризовался пониженной скоростью нуклеации кристаллов. Это явление можно объяснить сочетанием двух факторов: высокой вязкостью реакционной среды и, как следствие, замедленной диффузией реагентов. В таких условиях система успевала прогреться до температуры реакции до начала активной кристаллизации, что обеспечивало образование структурно однородной фазы  $\text{BaGdF}_5$  без примесей.

Введение воды в реакционную систему (образцы 25Тб СТ 25ЭГ и 25Тб СТ 50ЭГ) приводило к существенному снижению вязкости среды и соответствующему ускорению реакции. В условиях избытка ионов  $\text{Ba}^{2+}$  и  $\text{Gd}^{3+}$  по сравнению с  $\text{Tb}^{3+}$  на начальных стадиях процесса преимущественно образовывались фазы  $\text{BaF}_2$ ,  $\text{BaGdF}_5$  и  $\text{GdF}_3$ , тогда как тербийсодержащие соединения формировались позднее через механизм замещения ионов  $\text{Gd}^{3+}$  на  $\text{Tb}^{3+}$  в уже сформированных кристаллических решетках.

Сравнение энергий диссоциации связей  $\text{Gd-F}$  (590 кДж/моль [148]) и  $\text{Tb-F}$  (561 кДж/моль [148]) указывает на эндотермический характер процесса замещения, требующий повышенных температур. Особенности сольвотермального синтеза, включая неравномерный нагрев реакционной смеси и ограниченную диффузию ионов  $\text{Tb}^{3+}$ , обуславливают

пространственную неоднородность протекания реакции. Наиболее интенсивное замещение происходит в пристеночных слоях ампулы, где температура выше, что объясняет наличие примесных пиков  $GdF_3$  [149] на дифрактограммах (отмечены розовыми кружками на рисунке 18 а).

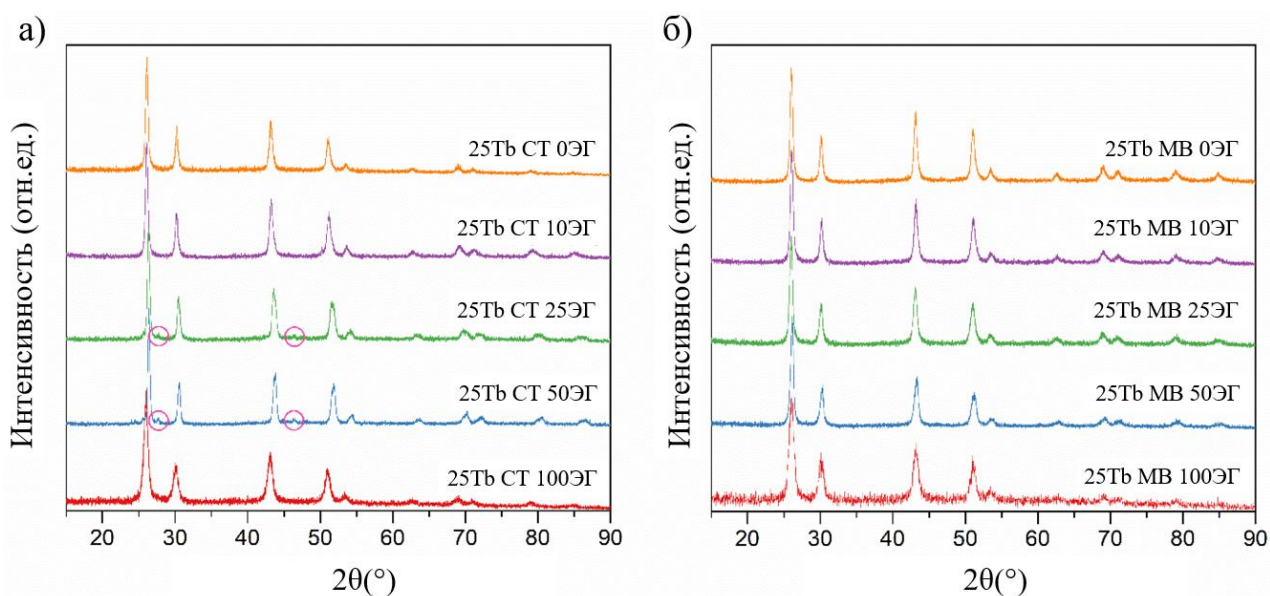


Рисунок 18 – Порошковая рентгеновская дифракция для образцов состава  $BaGd_{0,75}F_5:Tb_{0,25}$ , синтезированных (а) сольвотермальным и (б) микроволновым методами синтеза с различным составом растворителя

Дальнейшее увеличение содержания воды (образцы 25Тб СТ 0ЭГ и 25Тб СТ 10ЭГ) вызывало дополнительное снижение вязкости и улучшение массопереноса. Одновременно рост теплопроводности системы с  $0,249 \text{ Вт/м}\cdot\text{К}$  (чистый этиленгликоль [150]) до  $0,569 \text{ Вт/м}\cdot\text{К}$  (вода [150]) способствовал более равномерному распределению температуры по объему реактора. В результате в этих условиях наблюдалось образование чистой фазы  $BaGdF_5$ , что подтверждается данными рентгеновской дифракции (Рисунок 18).

При уменьшении доли воды от 50% до 0% средний размер наночастиц  $BaGd_{0,75}F_5:Tb_{0,25}$  снижается с  $23,9 \pm 5,0 \text{ нм}$  до  $7,3 \pm 1,5 \text{ нм}$  при использовании микроволнового метода синтеза (МВ) и с  $49,4 \pm 13,3 \text{ нм}$  до  $13,3 \pm 3,0 \text{ нм}$  при использовании сольвотермального согласно анализу данных ПЭМ-изображений на рисунке 19. Такое уменьшение размера частиц можно

объяснить изменением вязкости смесей растворителя и адсорбцией молекул этиленгликоля на поверхности растущих наночастиц, которая приводит к пассивации поверхности и ограничению их роста [151].

Наиболее крупные частицы с широким распределением по размерам формируются в смеси 50% ЭГ / 50% H<sub>2</sub>O, что связано с различиями в кинетике зародышеобразования. Добавление 50% воды к этиленгликолю приводит к резкому увеличению размера получаемых наночастиц независимо от метода синтеза, что связано с частичной десорбцией пассивирующего слоя этиленгликоля с поверхности зародышей и активацией их роста при сохранении еще достаточно высокой вязкости среды, замедляющей диффузию и способствующей локальному потреблению прекурсоров.

Дальнейшее повышение содержания воды (свыше 50 %) по-разному сказывается на размере наночастиц в зависимости от способа нагрева. При использовании микроволнового синтеза увеличение доли воды практически не влияет на размер и дисперсию наночастиц, поскольку равномерность нагрева уже при 50% воды обеспечивает максимальную скорость нуклеации. Для сольвотермального процесса при содержании воды более 50 % наблюдаются уменьшение размера наночастиц и сужение их распределения. Это обусловлено ростом теплопроводности раствора и дальнейшим снижением его вязкости, что ускоряет нагрев системы и диффузионный транспорт ионов (Ba<sup>2+</sup>, Gd<sup>3+</sup>, Tb<sup>3+</sup>, F<sup>-</sup>), способствуя более синхронной нуклеации и увеличению числа зародышей.

Микроволновый нагрев во всем исследованном диапазоне составов растворителя закономерно обеспечивает формирование более мелких частиц с узким распределением по размерам (Рисунок 19 а) по сравнению с сольвотермальным методом (Рисунок 19 б). Данное различие обусловлено более высокой скоростью и равномерностью нагрева реакционной среды при микроволновом воздействии.

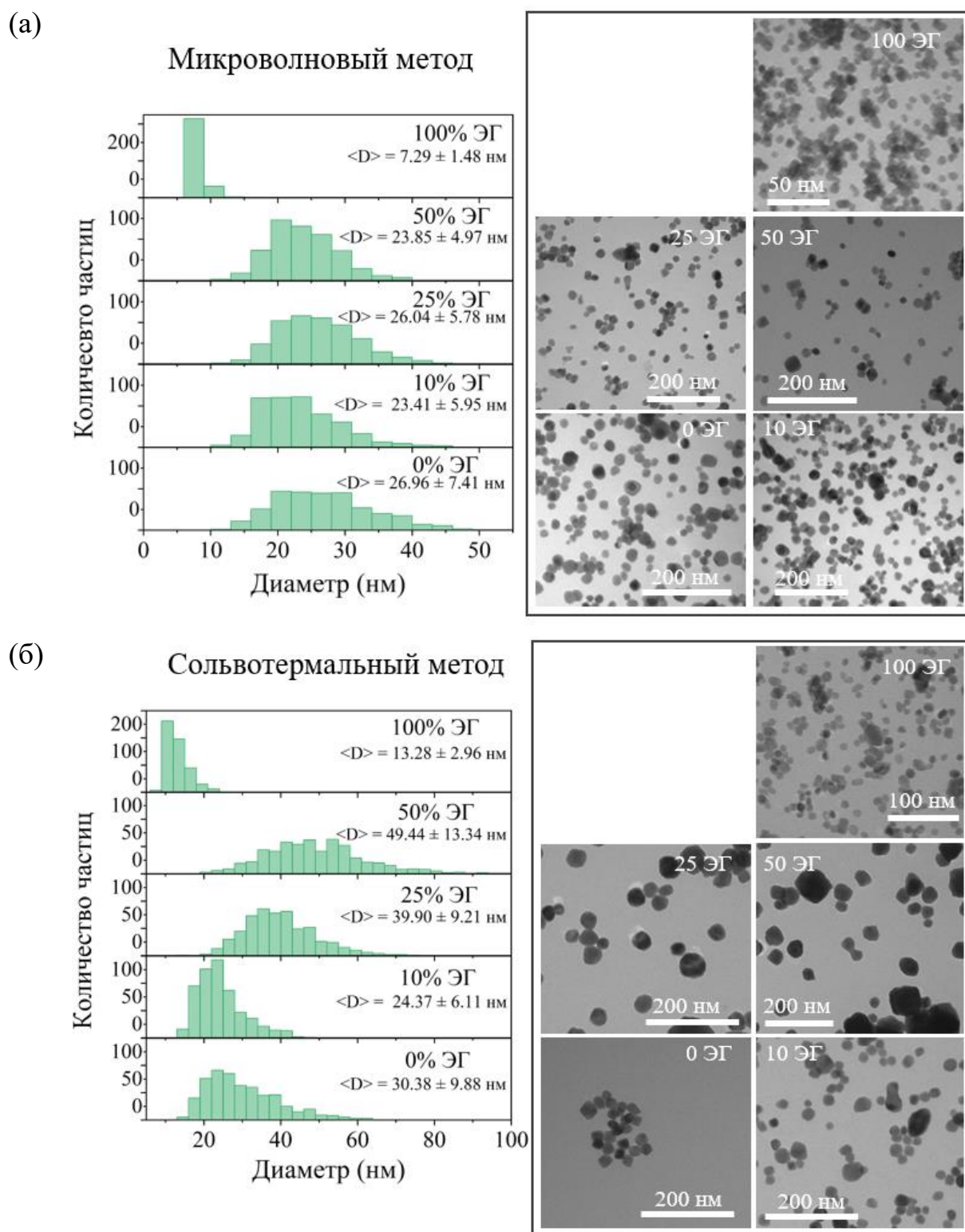


Рисунок 19 – Гистограммы распределения частиц по размерам, а также соответствующие им ПЭМ-изображения образцов  $\text{BaGd}_{0.75}\text{F}_5:\text{Tb}_{0.15}$ , синтезированных (а) микроволновым и (б) сольвотермальным методами с различным соотношением растворителей ЭГ/вода

Температурный фактор (25, 100, 200 °С) не оказывает статистически значимого влияния на размер частиц в обоих методах синтеза, что указывает на определяющую роль состава реакционной среды и типа нагрева (Рисунок 20). При этом во всем исследованном диапазоне микроволновый нагрев закономерно обеспечивает формирование более мелких и однородных частиц по сравнению с сольвотермальным.

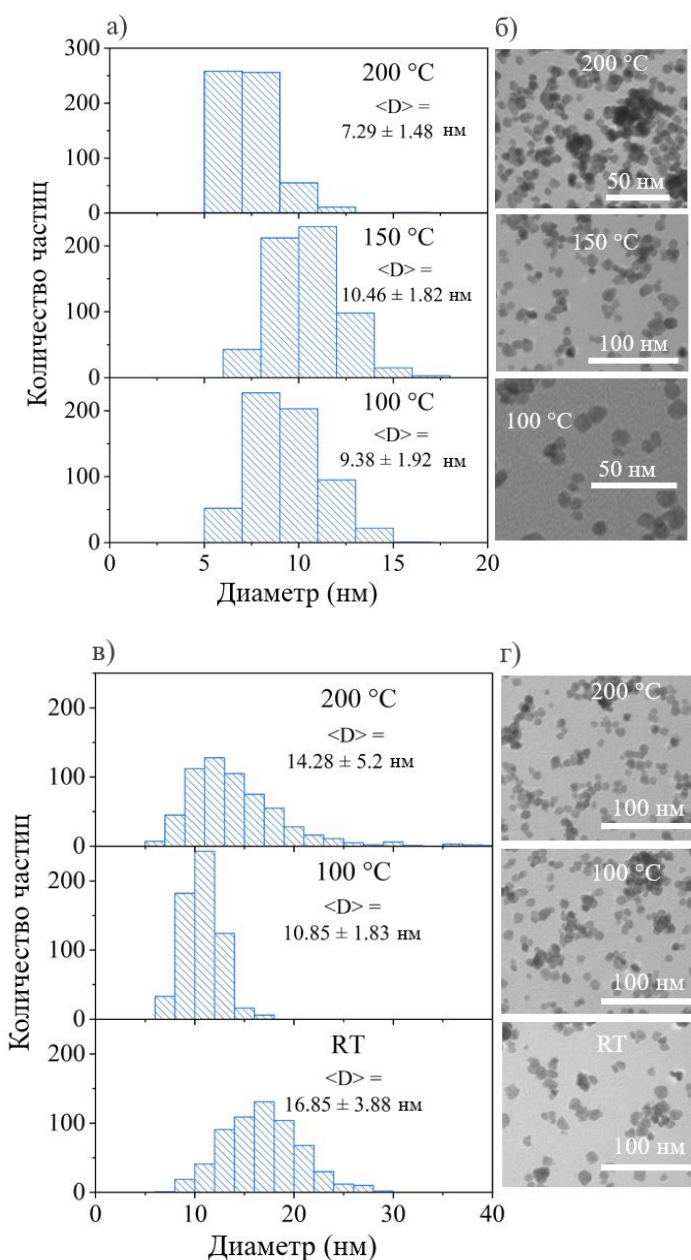


Рисунок 20 – (а, в) Гистограммы распределения частиц по размерам, а также соответствующие им (б, г) ПЭМ-изображения образцов BaGd<sub>0.75</sub>F<sub>5</sub>:Tb<sub>0.15</sub>, синтезированных (а, б) микроволновым и (в, г) сольвотермальным способами синтеза

Таким образом, варьирование состава растворителя и способа нагрева позволяет осуществлять контролируемую настройку размерных характеристик наночастиц  $\text{BaGdF}_5$ .

В результате было сформулировано **второе положение**, выносимое на защиту:

Использование микроволнового метода синтеза приводит к получению наночастиц  $\text{BaGd}_{0,75}\text{F}_5:\text{Tb}_{0,25}$  меньшего размера при температурах 25, 100 и 200 °С в сравнении с сольвотермальным методом. Уменьшение содержания воды с 50% до 0% в смеси растворителей этиленгликоль / вода приводит к уменьшению среднего размера наночастиц  $\text{BaGd}_{0,75}\text{F}_5:\text{Tb}_{0,25}$  с  $23,9 \pm 5,0$  нм до  $7,3 \pm 1,5$  нм при использовании микроволнового метода и с  $49,4 \pm 13,3$  нм до  $13,3 \pm 3,0$  нм при использовании сольвотермального метода.

### **3.2. Функционализация поверхности редкоземельных рентгеновских нанолюминофоров и получение нанокомпозитов с фотосенсибилизаторами: разработка и исследование свойств**

После определения оптимального состава, размера и условий синтеза рентгеновских нанолюминофоров  $\text{BaGdF}_5:\text{Eu}^{3+}$  и  $\text{BaGdF}_5:\text{Tb}^{3+}$  следующим логическим шагом стало создание на их основе композитных материалов для рентгеновской фотодинамической терапии. Как обсуждалось в главе I, такие композиты состоят из рентгеновского нанолюминофора и фотосенсибилизатора. Для обеспечения их эффективной комбинации, а также для повышения биосовместимости материалов потребовалась модификация поверхности люминофоров, выполненная с использованием цитрата натрия и диоксида кремния. Такая обработка позволяет не только изменить поверхностный заряд частиц для связывания с молекулами фотосенсибилизатора, но и улучшить их взаимодействие с биологическими средами. Для каждой из двух серий ( $\text{BaGdF}_5:\text{Eu}^{3+}$  и  $\text{BaGdF}_5:\text{Tb}^{3+}$ ) были подобраны соответствующие фотосенсибилизаторы и исследованы цитотоксические свойства полученных нанокомпозитов.

### 3.2.1. Модификация поверхности частиц $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}$ цитратом натрия

Согласно результатам рентгенолюминесцентного анализа для серии образцов  $\text{BaGd}_{1-x}\text{F}_5:\text{Eu}_x$  (Рисунок 13), максимальная интенсивность свечения наблюдается для состава  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}$ . Именно этот состав был выбран для дальнейшей функционализации. С целью повышения биосовместимости и стабильности раствора их модифицировали цитратом натрия ( $\text{Na}_3\text{Cit}$ ).

#### ИК-спектры поглощения $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}@\text{Cit}^{3-}$

Модифицированные цитратом натрия частицы были исследованы методом ИК спектроскопии (Рисунок 21). Исходя из полученных данных, было подтверждено формирование слоя цитрат-анионов на поверхности исследуемых рентгенолюминесцентных наночастиц. Наблюдаются явные отличия в профилях спектров материалов до и после обработки цитратом натрия. В спектрах образца с покрытием наблюдались характерные полосы колебания связей  $\text{C}=\text{O}$  карбоксильных групп при  $1560$  и  $1378 \text{ см}^{-1}$ , колебания связей  $\text{C}-\text{H}$  при  $1041 \text{ см}^{-1}$  [152], а также группы  $\text{C}-\text{O}$  при  $1271 \text{ см}^{-1}$ . Увеличение пика при  $1643 \text{ см}^{-1}$  связано с увеличением количества молекул воды, адсорбированных на поверхности частиц. Эти связи соответствовали аналогичной модификации наночастиц магнетита  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  [153].

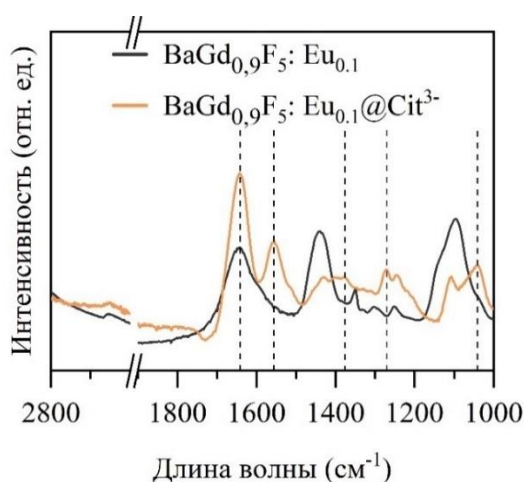


Рисунок 21 – ИК-Фурье спектры синтезированных образцов  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}$  и  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}@\text{Cit}^{3-}$

## Термогравиметрический анализ $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}@\text{Cit}^3$

Методом термогравиметрического анализа проведено сравнение образцов рентгенолюминофоров  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}$ , модифицированных полиэтиленгликолем (ПЭГ) и комбинированным покрытием ПЭГ с цитратом натрия (Рисунок 22). Установлено, что образец с цитратной оболочкой демонстрирует более значительную потерю массы по сравнению с образцом, содержащим только ПЭГ. Разница в значениях на плато, достигаемом после 500 °С, соответствует содержанию цитратов в образце. В данном случае эта разница составляет 2,2%.

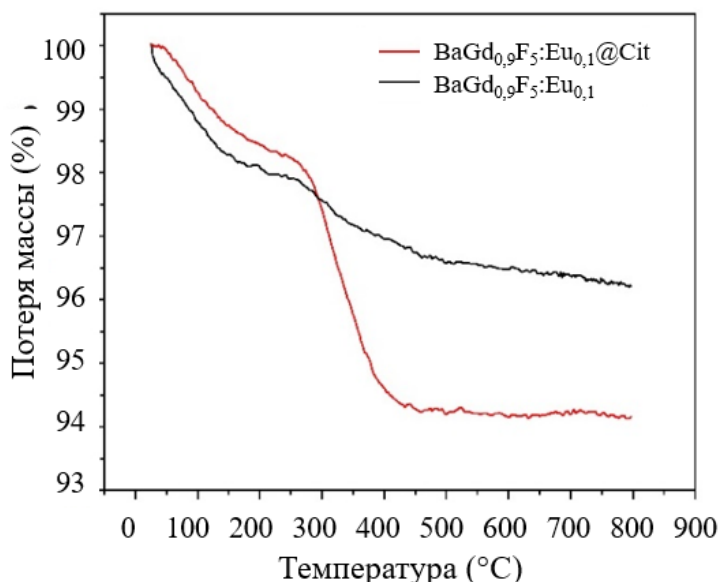


Рисунок 22 – Термогравиметрические кривые образца  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}$ , модифицированных ПЭГ (черная кривая) и ПЭГ с цитратом натрия (красная кривая)

## Исследование стабильности коллоидных растворов нанокomпозитов

Стабильность дисперсий наночастиц  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}$  оценивали методом измерения  $\zeta$ -потенциала. Как отмечалось ранее, значения  $\zeta$ -потенциала выше +30 мВ или ниже -30 мВ свидетельствуют о высокой устойчивости водных дисперсий. Среднее значение  $\zeta$ -потенциала для всех исследованных образцов составило +29,95 мВ, что свидетельствует о стабильности суспензий  $\text{BaGd}_{1-x}\text{F}_5:\text{Eu}_x$  в водном растворе. После модификации поверхности частиц

цитратом натрия (образец  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}@\text{Cit}^{3-}$ )  $\zeta$ -потенциал изменился до  $-30$  мВ. Полученное значение не только подтверждает факт функционализации поверхности, но и свидетельствует о сохранении стабильности дисперсии, что важно для дальнейшего биомедицинского применения.

### **3.2.2. Модификация поверхности частиц $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}$ диоксидом кремния $\text{SiO}_2$**

Для отработки формирования мезопористого  $\text{SiO}_2$ -покрытия был выбран образец  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}$ , обладающий, согласно данным рентгенолюминесценции (Рисунок 13), наибольшей интенсивностью свечения. Возможность целенаправленного изменения толщины кремнеземной оболочки имеет ключевое значение при разработке композитов, так как позволяет не только регулировать количество иммобилизованного фотосенсибилизатора, но и влиять на эффективность переноса энергии от рентгеновского нанолуминофора к молекулам фотосенсибилизатора. В частности, оптимизация толщины слоя  $\text{SiO}_2$  необходима для реализации безызлучательного Фёрстеровского резонансного переноса энергии, эффективность которого критически зависит от расстояния между донором и акцептором [8].

### **Рентгеновская порошковая дифракция образцов $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}@\text{SiO}_2$**

Методом порошковой рентгеновской дифракции установлено, что формирование покрытия  $\text{SiO}_2$  не нарушает кристаллическую структуру ядра нанокompозита: все рефлексы на дифрактограмме (Рисунок 23) соответствуют однофазной структуре с матрицей  $\text{BaGdF}_5$ . Помимо рефлексов кристаллической фазы, на дифрактограмме наблюдался присутствует широкий размытый пик в области  $2\theta \approx 25^\circ$ , характерный для аморфного диоксида кремния [154]. Такая структура является предпочтительной для последующей иммобилизации фотосенсибилизатора, так как обеспечивает высокую удельную поверхность и пористость.

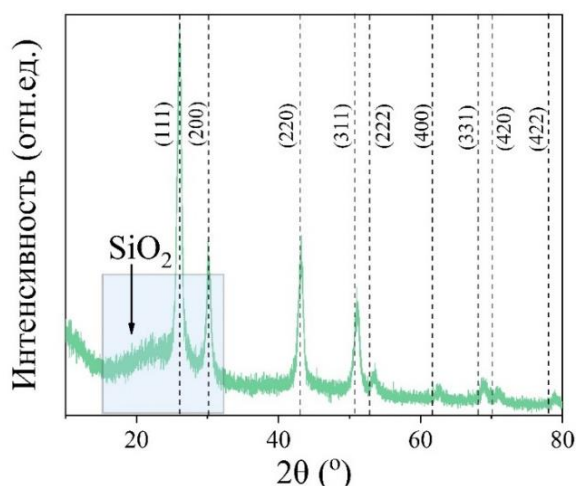


Рисунок 23 – Порошковая рентгеновская дифракция образца  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}@\text{SiO}_2$

### ИК-спектры $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}@\text{SiO}_2$

Методом ИК-Фурье спектроскопии исследованы образцы до  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}$  и после нанесения  $\text{SiO}_2$ -покрытия (Рисунок 24). В полученных спектрах идентифицированы полосы поглощения, характерные для диоксида кремния: при  $498\text{ см}^{-1}$  и  $801\text{ см}^{-1}$  (колебания связи в трехмерной сетке  $\text{SiO}_2$  и деформационные колебания связи  $\text{Si-O}$ ). Плечо на  $944\text{ см}^{-1}$  обусловлено связями  $\text{Si-O}$  и  $\text{Si-OH}$  на поверхности кремниевой оболочки. Наиболее интенсивная полоса  $1077\text{ см}^{-1}$  и плечо на  $1187\text{ см}^{-1}$  соответствуют поперечной оптической и продольной оптическим модам валентных асимметричных колебаний  $\text{Si-O-Si}$  [155]. Таким образом, совокупность полученных данных методом ИК-спектроскопии свидетельствует о формировании на поверхности наночастиц структуры  $\text{SiO}_2$ .

Согласно анализу изображений просвечивающей электронной микроскопии (Рисунок 25) размер полученных частиц структуры «ядро-оболочка»  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}@\text{SiO}_2$  примерно равен  $164\text{ нм}$  с размером ядра  $\sim 60\text{ нм}$ . Увеличение размера ядра по сравнению с исходными наночастицами  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}$  объясняется их частичной агломерацией в процессе постсинтетической модификации поверхности тетраэтилортосиликатом (ТЭОС). Важно отметить, что такие малые частицы способны легко преодолевать биологические барьеры [156]. Капилляры имеют минимальный

диаметр около 5 мкм, а наночастицы размером менее 200 нм способны свободно транспортироваться по кровеносной системе и переносить фармацевтически активные вещества. Таким образом, после покрытия  $\text{SiO}_2$ , размер полученных композитов остается достаточно малым для безопасной циркуляции без риска окклюзии капилляров.

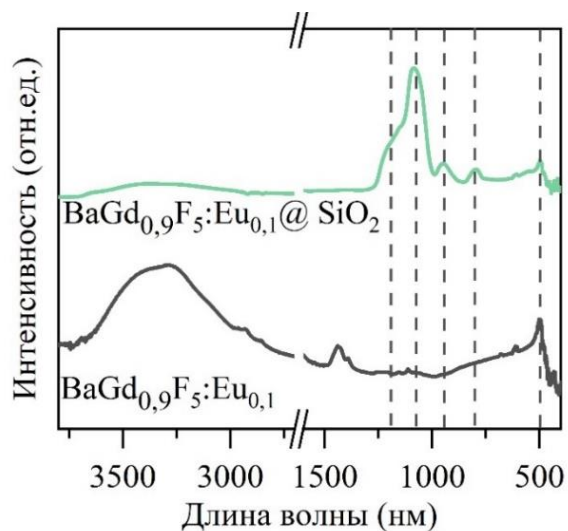


Рисунок 24 – ИК-спектры  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}@ \text{SiO}_2$  и  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}$

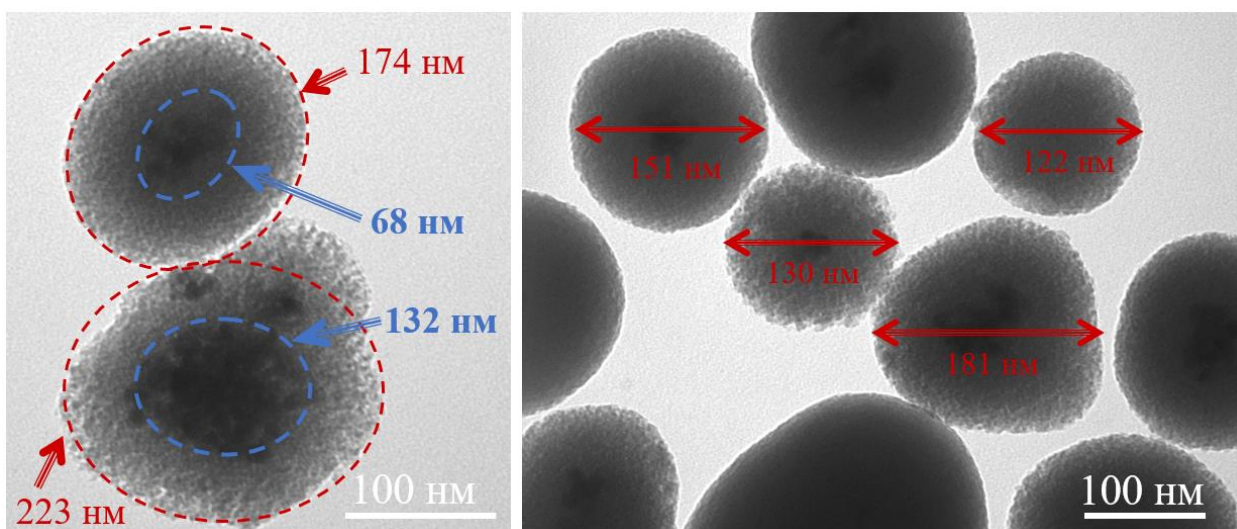


Рисунок 25 – Изображения наночастиц композита  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}@ \text{SiO}_2$ , полученные методом просвечивающей электронной микроскопии

### 3.2.3. Влияние толщины оболочки $\text{SiO}_2$ на характеристики рентгеновских нанолуминофоров

#### Рентгенофлуоресцентный анализ

Варьирование времени взаимодействия наночастиц и ТЭОС не приводило к существенному изменению толщины формируемой оболочки (Рисунок 26 *слева*). Это позволяет предположить, что реакция образования оболочки происходит довольно быстро, и уже в первые минуты вокруг наночастиц формируется слой пористого  $\text{SiO}_2$  фиксированной толщины, определяемой количеством добавки ТЭОС. Этот вывод подтверждается данными РФА: содержание кремния на поверхности рентгеновского нанолуминофора остается постоянным для разных временных точек, но закономерно растет при увеличении концентрации ТЭОС, что открывает возможность контролируемого наращивания толщины оболочки (Рисунок 26 *справа*).

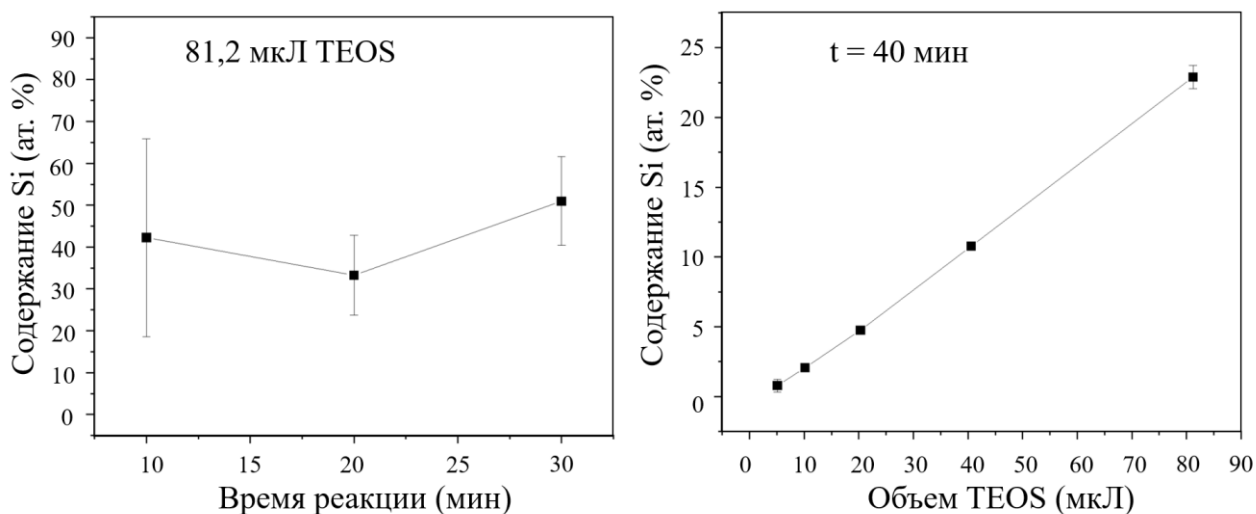


Рисунок 26 – Содержание кремния, определенное с помощью РФА образцов  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}@\text{SiO}_2$ , синтезированных с использованием различных методик: *слева* с фиксированным количеством ТЭОС и различным временем взаимодействия, *справа* с фиксированным временем взаимодействия и различным количеством ТЭОС

## Анализ ПЭМ-изображений

Экспериментально подтверждена прямая корреляция между количеством прекурсора и толщиной формируемой кремнеземной оболочки. На рисунке 27 представлены ПЭМ-изображения покрытых наночастиц, полученных при различном содержании ТЭОС в реакционной смеси, и соответствующие им гистограммы распределения по размерам. Стандартный протокол синтеза с использованием 325 мкл ТЭОС приводит к формированию оболочки толщиной ~53 нм. Экспериментальные данные демонстрируют четкую зависимость: уменьшение объема ТЭОС до 162,5 и 81,25 мкл позволяет получать оболочки со средней толщиной 16 и 8 нм соответственно (Рисунок 27 в, г). При дальнейшем снижении количества ТЭОС до 40,6 и 20,3 мкл формируемая оболочка становится слишком тонкой для визуализации методом ПЭМ (Рисунок 27 д, е), что подтверждается лишь косвенными признаками – значительным ослаблением интенсивности сигнала рентгенолюминесценции ХЕОЛ (Рисунок 28). Полученные результаты свидетельствуют о возможности прецизионного управления толщиной мезопористого кремнеземного покрытия на поверхности люминофорных частиц путем регулирования количества ТЭОС в синтетической процедуре. Установленная зависимость "концентрация ТЭОС – толщина оболочки" открывает новые перспективы для направленного дизайна гибридных материалов с заданными оптическими свойствами.

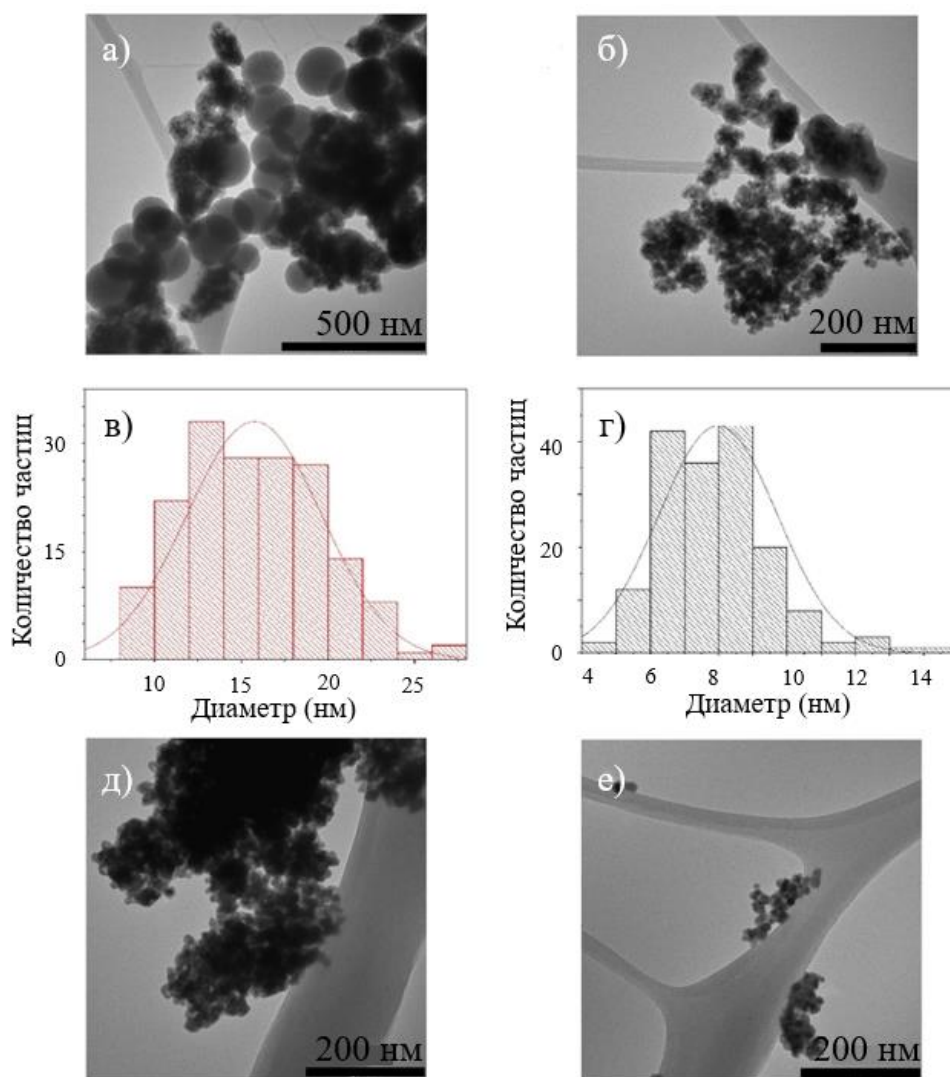


Рисунок 27 – ПЭМ-изображения композитов  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}@\text{SiO}_2$ , синтезированные с использованием разных количеств ТЭОС: (а) 162,5 мкл, (б) 81,25 мкл, (д) 40,6 мкл и (е) 20,3 мкл. На вставках(в) и (г) представлены соответствующие изображениям (а) и (б) гистограммы распределения толщины оболочки  $\text{SiO}_2$

### Исследование спектров оптической люминесценции при возбуждении рентгеновскими лучами

На рисунке 28 представлена серия спектров рентгенолюминесценции XEOL, полученных для частиц рентгеновских нанолуминофоров без модификации поверхности  $\text{SiO}_2$  (черная кривая) и для частиц, функционализированных диоксидом кремния  $\text{SiO}_2$  с различной толщиной оболочки путем варьирования ТЭОС. Можно видеть, что наблюдаемая

зависимость демонстрирует постепенное уменьшение интенсивности сигнала с увеличением количества ТЭОС, что связано с экранированием ядра и гашением люминесценции в оболочке  $m\text{-SiO}_2$ . Важно отметить, что наблюдаемая вариация интенсивности основных максимумов рентгенолюминесценции XEOL спектра (590 нм и 697 нм), хорошо описывается экспоненциальными зависимостями, а именно параметрическими функциями экспоненциального распада (exponential decay). Экспоненциальный характер гашения интенсивности при модификации поверхности  $\text{SiO}_2$  указывает на то, что интенсивность переизлученного люминесцентного сигнала рассеивается именно оболочкой  $\text{SiO}_2$  и экспоненциально зависит от толщины поверхностного слоя.

Проведенные исследования выявили четкую корреляцию между количеством вводимого ТЭОС и интенсивностью сигнала рентгеновской люминесценции XEOL, что свидетельствует о зависимости оптических свойств от толщины формируемого мезопористого кремнеземного слоя на поверхности рентгенолюминесцентных наночастиц. Более того, формирование структуры топологии ядро-оболочка с варьируемым размером оболочки  $\text{SiO}_2$  было подвержено методом рентгенофлуоресцентного анализа для серии порошкообразных образцов  $\text{BaGdF}_5:\text{Eu}@\text{SiO}_2$ , где продемонстрирована линейная зависимость содержания кремния, присутствующего в образцах после тщательной промывки, от количества ТЭОС, используемого для модификации поверхности частиц при постоянном времени взаимодействия  $t = 40$  мин.

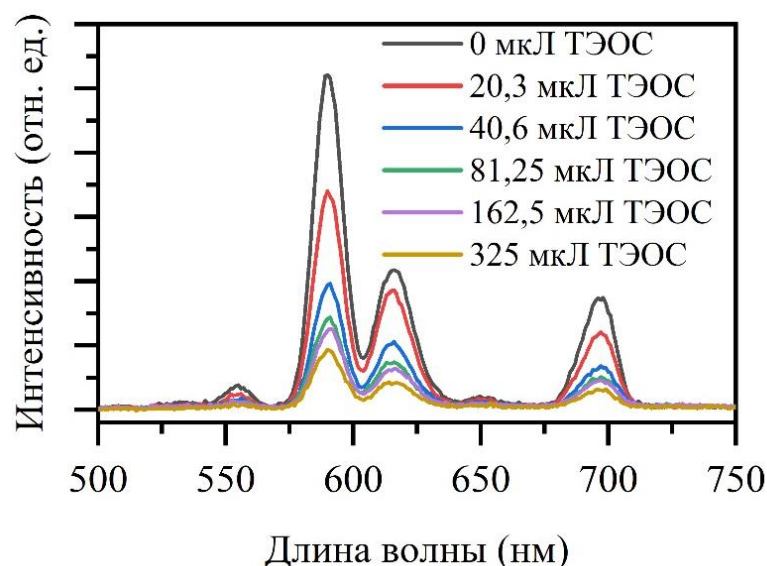


Рисунок 28 – Сигнал рентгенолюминесценции, полученный для образцов  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}@\text{SiO}_2$ , синтезированных с различным количеством ТЭОС

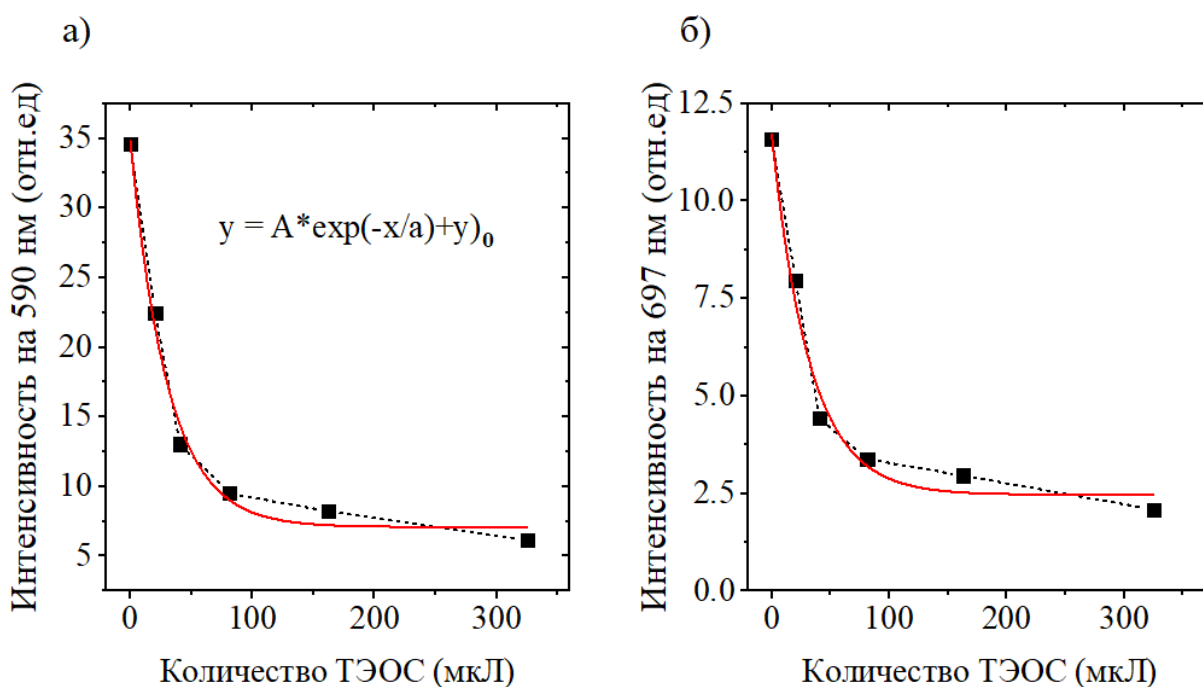


Рисунок 29 – Интенсивность пиков XEOL при 590 (а) и 697 нм (б), полученных для серии рентгеновских нанолуминофоров  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}$ , покрытых различной толщиной оболочки  $\text{SiO}_2$ . Красные кривые соответствуют линиям тренда, полученным с помощью стандартной аппроксимации экспоненциального затухания

## Измерение удельной поверхности и распределения пор по размерам

Для характеристики изотерм адсорбции-десорбции  $N_2$  и конъюгации с фотосенсибилизатором был выбран образец с наибольшей толщиной слоя  $SiO_2$ , чтобы получить более репрезентативный эффект покрытия.

Была исследована площадь поверхности покрытых образцов и размер их пор. Изотермы образцов можно отнести к IV типу (по классификации IUPAC), что характерно для мезопористых материалов. Действительно, наиболее вероятный размер наночастиц  $BaGd_{0,9}F_5:Eu_{0,1}@SiO_2$  составлял 164 нм согласно анализу ПЭМ. Явление гистерезиса на изотермах низкотемпературной адсорбции азота связано с капиллярной конденсацией в мезопористых структурах. Различные типы адсорбционной и сорбционной среды (температура и давление) влияют на форму петель гистерезиса исследуемых образцов. В петле гистерезиса образца  $BaGd_{0,9}F_5:Eu_{0,1}@SiO_2$  (Рисунок 30 а) форма поры соответствует типу гистерезиса НЗ, что, в свою очередь, характеризует поры щелевидной формы. Такой вид пор предполагает возможность проникновения молекул фотосенсибилизатора в поры оболочки.

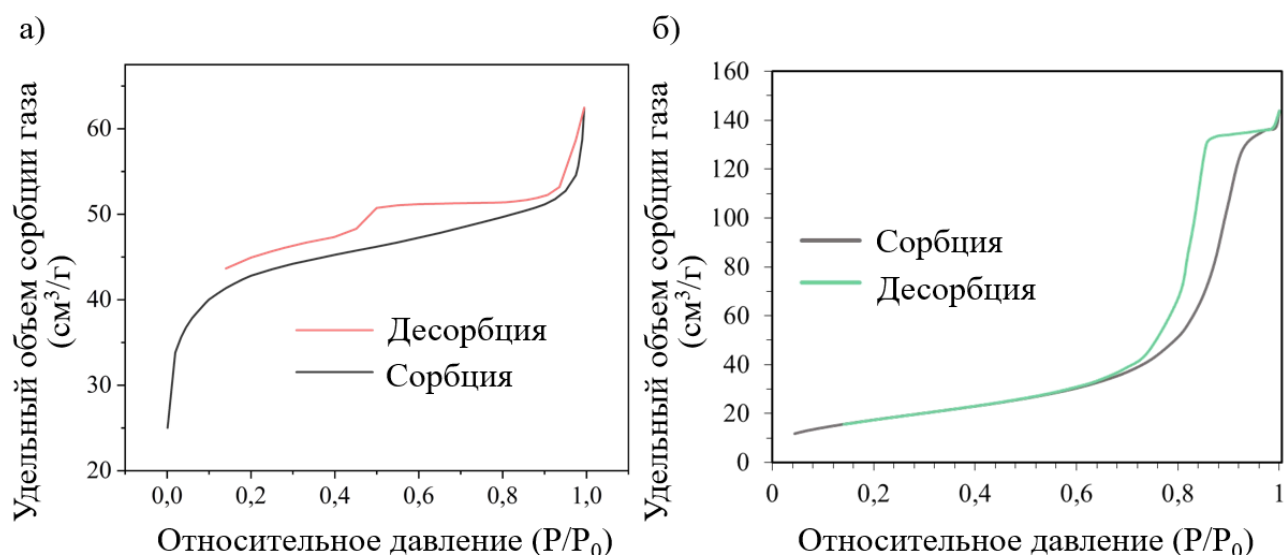


Рисунок 30 – Изотермы адсорбции и десорбции азота для

(а)  $BaGd_{0,9}F_5:Eu_{0,1}@SiO_2$ , (б)  $BaGd_{0,9}F_5:Eu_{0,1}$

Изотермы образца без покрытия (Рисунок 30 б) можно отнести к типу III (классификация IUPAC), который характерен для непористых или

макропористых материалов. Действительно, согласно расчетам Барретта – Джойнера – Халенды, размер пор составил 11,9 нм. Полученное значение хорошо соответствует среднему расстоянию между частицами примерно равному 15 нм. Более того, наночастицы без покрытия можно отнести к типу H1, связанному с капиллярной конденсацией азота в полостях между наночастицами и их агрегатами.

### Исследование цитотоксичности образцов $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}@\text{SiO}_2$

Помимо физико-химических характеристик нанокompозитов, было оценено их сравнительное влияние на жизнеспособность клеток HeLa (Рисунок 31).

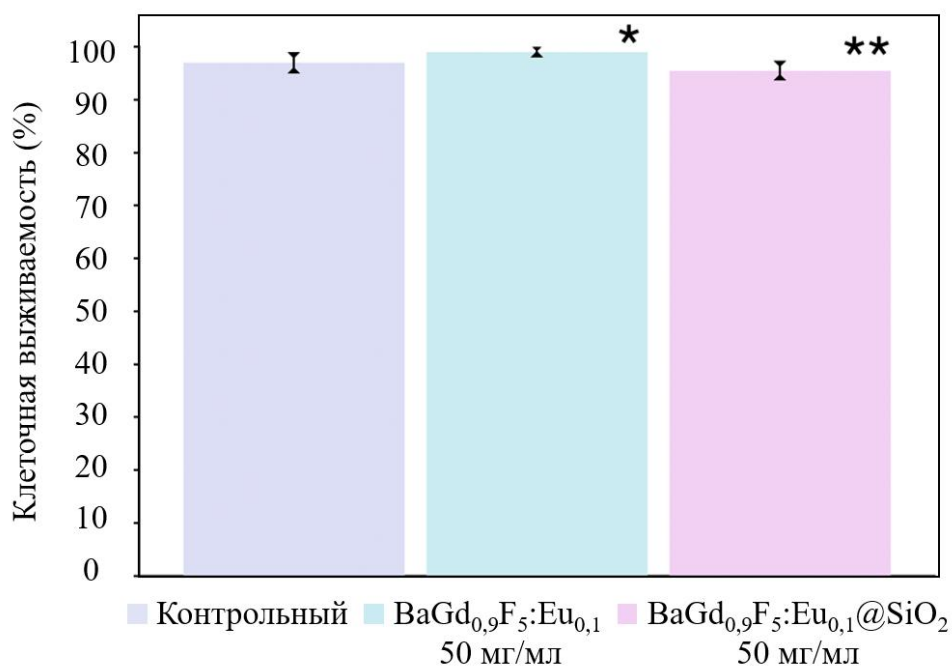


Рисунок 31 – Жизнеспособность клеток HeLa после воздействия физиологического раствора (контрольная группа), 50 мкг/мл  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}$  и 50 мкг/мл  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}@\text{SiO}_2$  в течение 24 часов с последующим анализом исключения трипанового синего. \* -  $p < 0,02$  по сравнению с контролем. \*\* -  $p < 0,001$  - различия между группами нанокompозитов значительны.

Тестирование по критерию Краскела-Уоллиса дало  $p = 0,001$

Экспериментальные данные демонстрируют существенные различия в биологической активности исследуемых нанокompозитов.

Немодифицированные наночастицы  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}$  проявили стимулирующее действие, увеличивая клеточную жизнеспособность на 3% ( $p < 0.05$ ). Полученные результаты позволяют предположить, что наблюдаемый эффект обусловлен окислительно-восстановительными свойствами наноматериала, которые могут модулировать клеточные сигнальные пути и влиять на адаптационные механизмы клеток через специфический элементный состав наночастиц [157]. Это предположение согласуется с отсутствием аналогичного эффекта у кремнезем-модифицированного аналога, что может объясняться ингибирующим действием  $\text{SiO}_2$ -покрытия на процессы деградации нанокompозита, ограничивающим высвобождение биологически активных ионов и их влияние на редокс-статус клеток. Данная гипотеза требует дальнейшей экспериментальной верификации.

Статистический анализ выявил достоверное ( $p < 0.05$ ), но клинически незначительное снижение клеточной жизнеспособности ( $\sim 1\%$ ) в группе  $\text{SiO}_2$ -модифицированных наночастиц по сравнению с контролем. Этот эффект может быть связан с определенной биологической активностью кремнеземного покрытия [157], однако его минимальная выраженность не оправдывает проведение дополнительных исследований с экономической точки зрения.

Таким образом, оба типа нанокompозитов показали высокий профиль биобезопасности. Наблюдаемые различия в их биологической активности, вероятно, обусловлены комплексом факторов: физико-химическими характеристиками аморфного  $\text{SiO}_2$ -покрытия, его поверхностными свойствами, способностью замедлять деградацию редкоземельного ядра наночастиц. Полученные результаты имеют важное значение для разработки новых биосовместимых наноматериалов с контролируемыми биологическими эффектами.

### 3.2.4. Наноконпозиты на основе фотосенсибилизаторов и люминофоров

#### **BaGd<sub>0,9</sub>F<sub>5</sub>:Eu<sub>0,1</sub>, BaGd<sub>0,75</sub>F<sub>5</sub>:Tb<sub>0,25</sub>**

Дальнейшие исследования были направлены на создание композита на основе рентгенолюминесцентных наночастиц, обладающих наилучшими люминесцентными характеристиками согласно предыдущим исследованиям, и подобранных для них фотосенсибилизаторов. Как обсуждалось в главе I, основным критерием при выборе пары «люминофор – ФС» являлось частичное или полное перекрытие спектра люминесценции наночастиц со спектром поглощения ФС. Руководствуясь этим принципом, для образцов, легированных Eu, в качестве фотосенсибилизатора был выбран метиленовый синий (МС), а для образцов, легированных Tb – бенгальский розовый (РБ).

#### **Адсорбция метиленового синего на поверхности частиц**

#### **BaGd<sub>0,9</sub>F<sub>5</sub>:Eu<sub>0,1</sub>@SiO<sub>2</sub> и BaGd<sub>0,9</sub>F<sub>5</sub>:Eu<sub>0,1</sub>**

Спектр поглощения метиленового синего частично перекрывается со спектром люминесценции BaGd<sub>0,9</sub>F<sub>5</sub>:Eu<sub>0,1</sub> (Рисунок 32 б). Из спектров ультрафиолетовой и видимой области образцов пропитанных и непропитанных МС (Рисунок 32 а) видно, что образец, пропитанный МС, имеет широкие пики низкой интенсивности, характерные для фотосенсибилизатора. Для большей ясности был вычтен спектр BaGd<sub>0,9</sub>F<sub>5</sub>:Eu<sub>0,1</sub> из спектра BaGd<sub>0,9</sub>F<sub>5</sub>:Eu<sub>0,1</sub>@SiO<sub>2</sub>@МС и получено более наглядное результирующее положение пика адсорбции (Рисунок 32 б, пунктирная диаграмма).

Из литературных данных известно [158], что водные растворы метиленового синего имеют два основных пика поглощения при 664 и 614 нм, соответствующие мономерной и димерной формам красителя, соответственно. Однако, мы также можем наблюдать небольшой гипсохромный сдвиг основных пиков поглощения до 607 нм. Этот сдвиг может указывать на связывание молекул метиленового синего с поверхностью наночастиц, а также на образование так называемых Н-агрегатов [159]. Н-

агрегаты метиленового синего представляют собой димеры, в которых фенотиазиновые кольца уложены друг на друга, что приводит к  $\pi$ - $\pi$ -взаимодействию двух молекул. Для метиленового синего также известны тримеры и тетрамеры. Присутствие димерной формы подтверждается полученной длиной волны пика поглощения (примерно 607 нм) [160]. Образование H-димеров на поверхности кремнезема уже обсуждалось ранее в литературе [161]. Преобладание димерной формы, а также гипсохромный сдвиг пика поглощения приводит к более эффективному перекрытию спектра поглощения со спектром излучения XEOL (Рисунок 32 б). Это способствует более эффективному переносу излучения от рентгеновского нанолюминофора к фотосенсибилизатору.

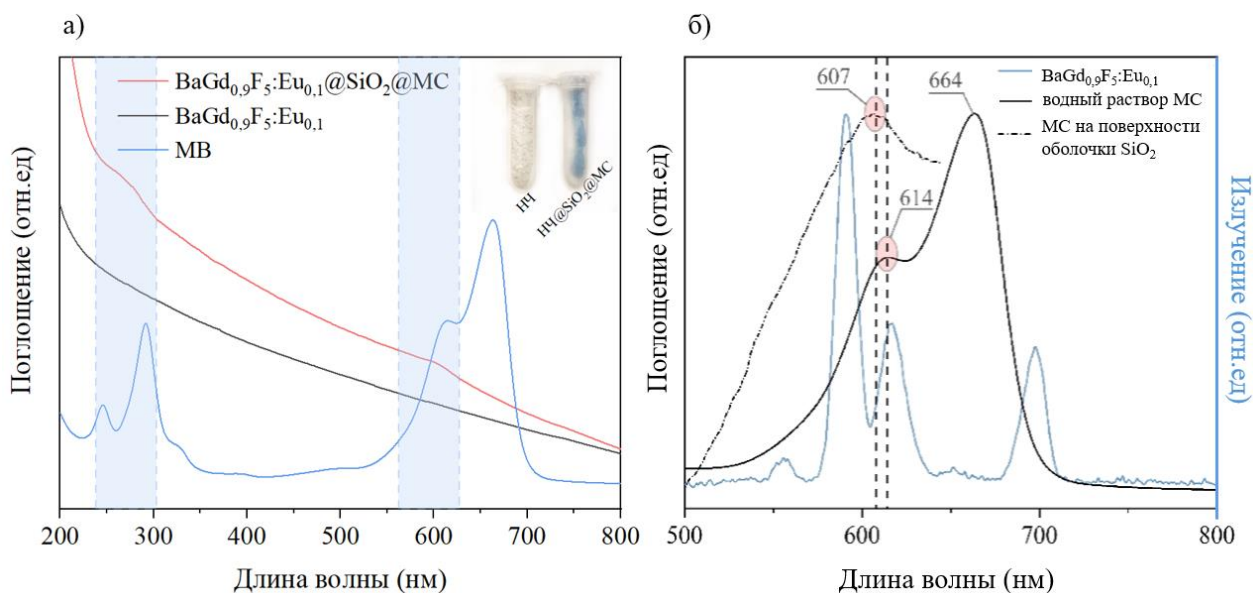


Рисунок 32 – (а) Спектры поглощения в ультрафиолетовой и видимой области для образцов  $BaGd_{0.9}F_5:Eu_{0.1}@SiO_2@MC$ ,  $BaGd_{0.9}F_5:Eu_{0.1}$ , MC; (б) спектры поглощения MC в водном растворе, MC на поверхности оболочки  $SiO_2$  (полученный путем вычитания спектра поглощения  $BaGd_{0.9}F_5:Eu_{0.1}$  из спектра поглощения  $BaGd_{0.9}F_5:Eu_{0.1}@SiO_2@MC$ ) и спектр излучения рентгенолюминесценции XEOL  $BaGd_{0.9}F_5:Eu_{0.1}$

Количество адсорбированного фотосенсибилизатора контролировалось методом УФ-видимой спектроскопии с использованием калибровочной прямой (Рисунок 33). Можно видеть, что образец, покрытый оболочкой

мезопористого  $\text{SiO}_2$  сорбировал большее количество фотосенсибилизатора, чем чистый рентгеновский наноломинофор. Это обусловлено двумя основными причинами: наличием пористой оболочки, позволяющей поглотить большее количество адсорбата, а также отрицательным поверхностным зарядом оболочки  $\text{SiO}_2$ . Как известно, фотосенсибилизатор метиленовый синий является катионным красителем, то есть его молекула заряжена положительно, и с точки зрения электростатического взаимодействия ему проще связаться с отрицательно заряженной поверхностью. Образец, содержащий  $\text{SiO}_2$ , имел насыщенный синий цвет и был обозначен как  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}@SiO_2@MC$ , в то время как образец без покрытия  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}@SiO_2$  имел бледно-голубой цвет. Согласно полученным расчётам, образец  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}@SiO_2$  сорбировал примерно 55 мкг МС, в то время как образец  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}$  сорбировал только 27 мкг МС.

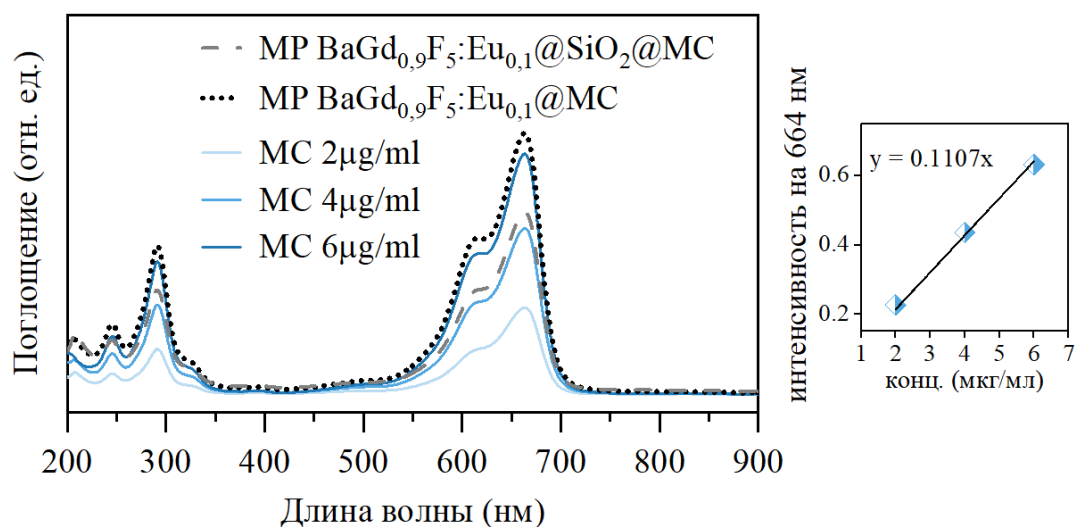


Рисунок 33 – Спектры поглощения в УФ-видимом диапазоне калибровочных растворов метиленового синего, а также растворов супернатантов после пропитки наночастиц  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}@SiO_2@MC$  и  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}@MC$

### Адсорбция бенгальского розового на поверхности частиц

#### $\text{BaGd}_{0,75}\text{F}_5:\text{Tb}_{0,25}@SiO_2$

Поскольку спектр рентгенолюминесценции  $\text{BaGdF}_5:\text{Tb}$  несколько отличается от спектра рентгенолюминесценции  $\text{BaGdF}_5:\text{Eu}$ , для образцов,

легированных тербием, потребовался иной фотосенсибилизатор, спектр поглощения которого перекрывался бы с излучением данного люминофора. В качестве такого сенсбилизатора был выбран бенгальский розовый, который поглощает в зеленой области спектра с максимумом при 550 нм. Благодаря этому пик поглощения бенгальского розового практически полностью перекрывается с пиком излучения  $\text{BaGdF}_5:\text{Tb}$  (Рисунок 34).

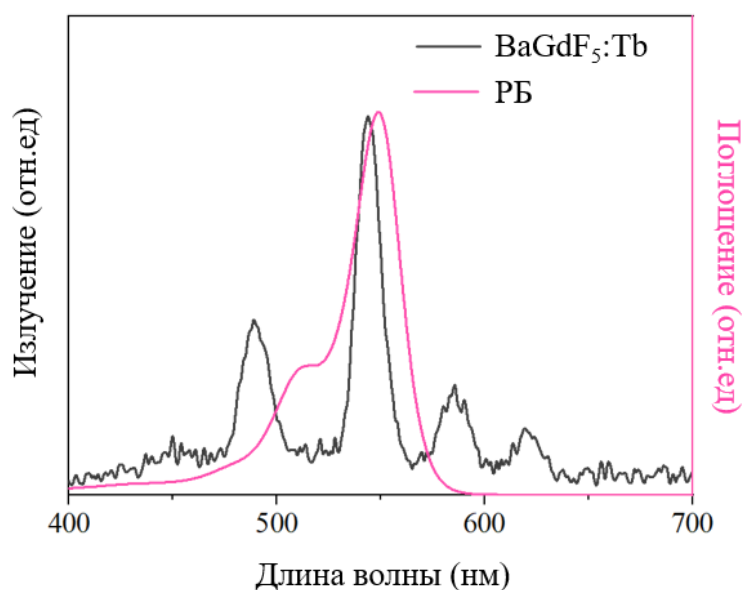


Рисунок 34 – Спектр излучения  $\text{BaGdF}_5:\text{Tb}^{3+}$  и спектр поглощения фотосенсибилизатора РБ

Наличие на поверхности частиц  $\text{BaGdF}_5:\text{Tb}$  молекул красителя было подтверждено методами ИК-спектроскопии и анализа изображений сканирующего электронного микроскопа с энергодисперсионным рентгеновским анализом (СЭМ с ЭДРС) (Рисунок 35). Как упоминалось ранее, после пропитки полученный образец представлял собой порошок розового цвета. Таким образом, можно предположить, что изменение цвета образца свидетельствует от том, что фотосенсибилизатор РБ встроился в поры структуры  $\text{BaGdF}_5:\text{Tb}@\text{SiO}_2$ . На ИК-спектрах видна область около  $1420\text{ cm}^{-1}$ , которая относится к наиболее интенсивным пикам РБ (Рисунок 35 а) [162], что дополнительно подтверждает наличие ФС.

Помимо легких атомов (С, Н, N, О), структура бенгальского розового содержит тяжелые атомы йода (I), что делает его удобным объектом для исследования методом ЭДРС-картирования. Представлен результат ЭДРС картирования частиц на атомы йода, которые обозначены зелеными точками (Рисунок 35 в). Полученные данные однозначно свидетельствуют о присутствии молекул РБ в составе образца.

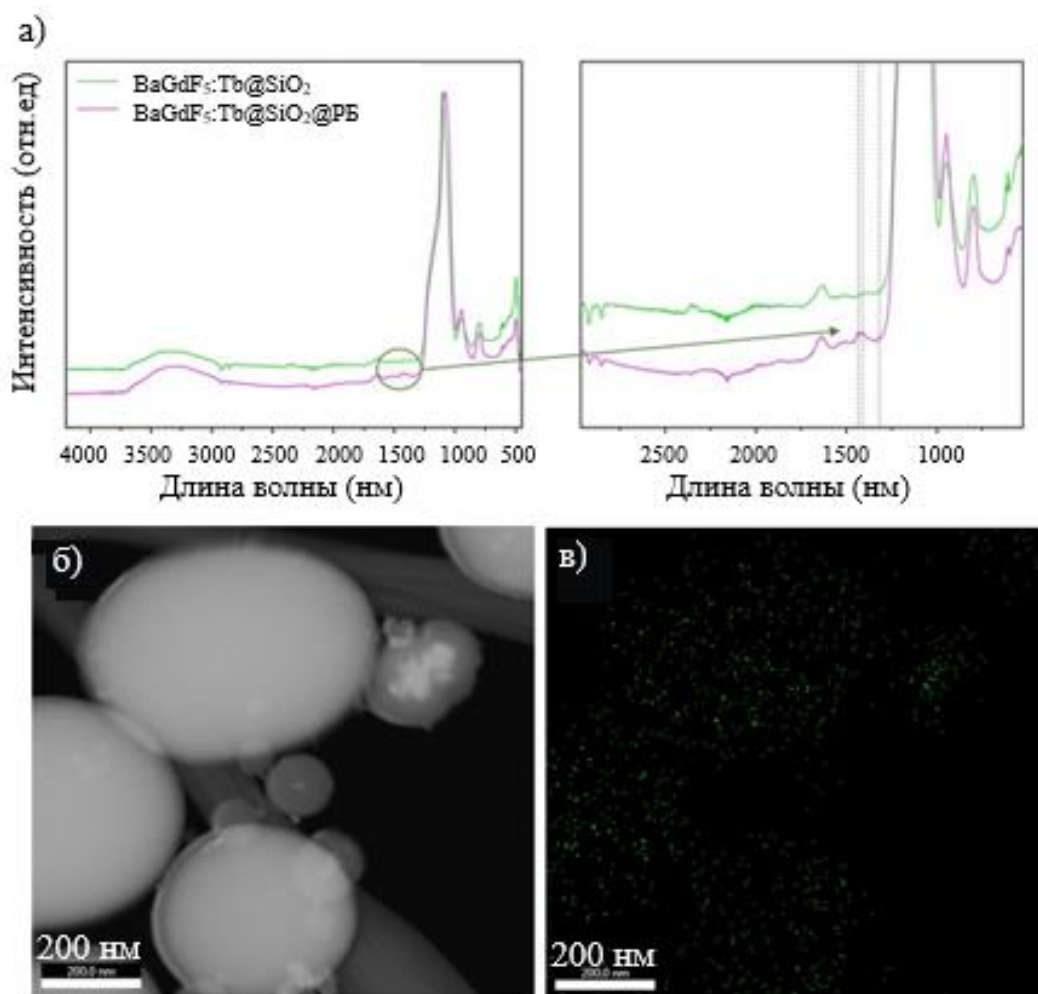


Рисунок 35 – (а) ИК-спектр нанокompозита  $BaGd_{0,75}F_5:Tb_{0,25}@SiO_2$ , модифицированного и не модифицированного фотосенсибилизатором РБ, (б) СЭМ-изображение наночастиц композита, (в) изображения ЭДРС картирования (зеленые маркеры – атомы йода)

### 3.3. Одностадийный метод получения рентгеновского наноломинофора $\text{BaGdF}_5:\text{Tb}$ с возможностью измерения рентгенолюминесценции в режиме *in situ*

Следующий этап исследований был посвящен адаптации процессов синтеза рентгеновских наноломинофоров  $\text{BaGd}_{1-x}\text{F}_5:\text{Tb}_x$  к условиям проточной микрофлюидной системы. Впервые проведен микрофлюидный синтез наночастиц  $\text{BaGdF}_5$ , легированных редкоземельным ионом  $\text{Tb}^{3+}$ , с возможностью *in situ* мониторинга рентгеновской люминесценции в качестве целевого функционального свойства. Схема микрофлюидной установки для синтеза рентгенолюминесцентных наночастиц и *in situ* измерения XEOL спектров приведена на рисунке 36, а фотография экспериментальной установки, использованной в этой работе, представлена на рисунке 4 в главе II.

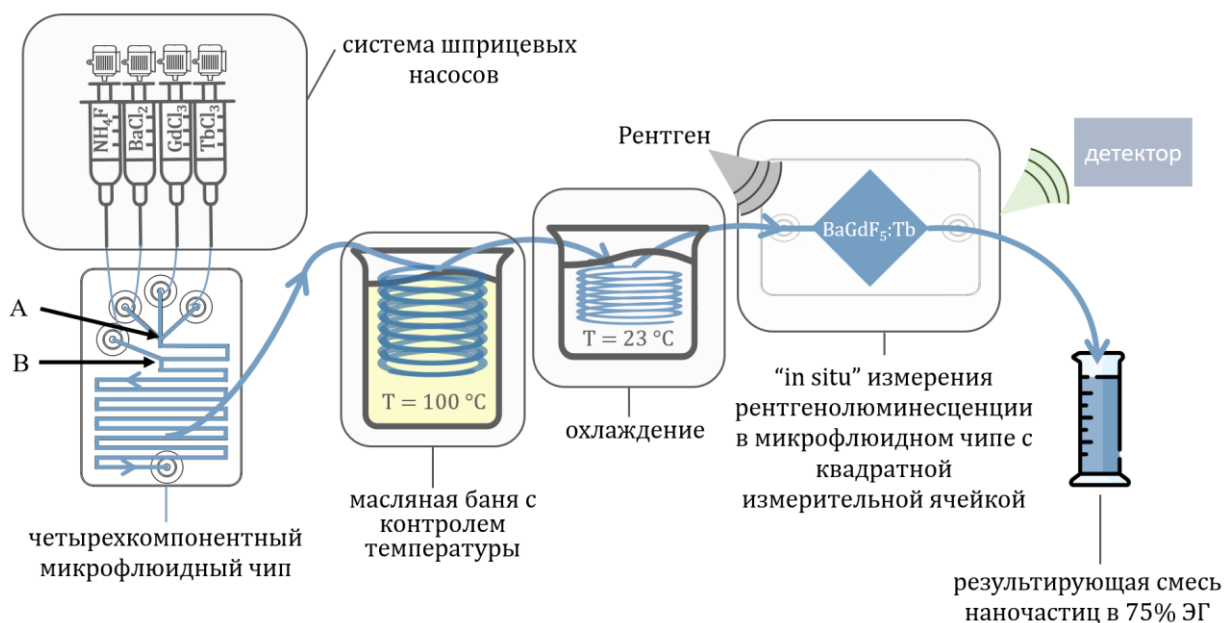


Рисунок 36 – Схема экспериментальной установки, используемой для микрофлюидного синтеза  $\text{BaGd}_{1-x}\text{F}_5:\text{Tb}_x$  с возможностью регистрации рентгенолюминесцентных спектров в режиме *in situ*

Были приготовлены 0,3 М растворы  $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{GdCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{TbCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  и 1,65 М раствор  $\text{NH}_4\text{F}$  в смеси 75 % этиленгликоля и 25 % деионизированной воды. Затем в самодельную микрофлюидную установку загружали

приготовленные растворы. Скорость потока каждого компонента контролировалась специальным программным обеспечением. Сумма скоростей потоков  $Gd^{3+}$  и  $Tb^{3+}$  всегда поддерживалась равной расходом  $Ba^{2+}$  и  $F^-$  по отдельности (Таблица 5).

Таблица 5 – Скорости потоков прекурсоров, используемые при МФ синтезе для получения образцов с различной концентрацией допанта Tb

Образец	Скорости потоков прекурсоров, мкл/с			
	$Ba^{2+}$	$Gd^{3+}$	$Tb^{3+}$	$F^-$
$BaGd_{0,95}F_5:Tb_{0,05}$	10,28	9,77	0,51	10,28
$BaGd_{0,9}F_5:Tb_{0,1}$		9,25	1,03	
$BaGd_{0,85}F_5:Tb_{0,15}$		8,74	1,54	
$BaGd_{0,8}F_5:Tb_{0,2}$		8,22	2,06	
$BaGd_{0,75}F_5:Tb_{0,25}$		7,71	2,57	

На первом этапе растворы, содержащие ионы  $Gd^{3+}$ ,  $Tb^{3+}$  и  $Ba^{2+}$ , объединяли в точке А (Рисунок 36), где они смешивались при прохождении первого изгиба канала микрофлюидного чипа. Затем в точке В к смеси добавлялся раствор фторида аммония. Далее смесь всех четырех реагентов проходила по оставшейся части меандрового пассивного миксера при общей скорости потока 30,84 мкл/с. После этого реакционная смесь поступала в ПТФЭ-трубку общей длиной 1,5 м и внутренним диаметром  $D_{внутр.} = 2$  мм, погруженную в баню с силиконовым маслом, находящимся при постоянной температуре 100 °С. После зоны термической обработки поток результирующей реакционной смеси внутри силиконовых трубок (внутренний диаметр  $D_{внутр.} = 1$  мм) проходил через водяную охлаждающую баню комнатной температуры, и, затем, направлялся во второй микрофлюидный чип, предназначенный для регистрации сигналов рентгенолюминесценции XEOL в режиме *in situ* (Рисунок 36). Наконец, продукты синтеза собирали в сосуд-приемник.

Для дальнейших исследований, полученную смесь тщательно промывали деионизированной водой 3 раза методом центрифугирования при 15000 об/мин в течение 5 минут. Затем полученный осадок диспергировали в дистиллированной воде (объемом, аналогичным объему до промывания), образуя устойчивый коллоидный раствор наночастиц. Фракцию объемом 1-2 мл каждого синтеза высушивали для оценки фактической концентрации наночастиц в полученных коллоидных растворах, а также для анализа фазового и элементного состава методами порошковой рентгеновской дифракции и РФА соответственно.

### **3.3.1. Анализ фазового и элементного состава наночастиц**

Анализ профилей порошковой рентгеновской дифракции показал, что все синтезированные образцы с различным количеством легирующего элемента Tb имеют схожую дифракционную картину, соответствующую кубической пространственной группе Fm-3m (225) (225) (JCPDS № 24-0098). Кроме того, картины профилей полностью идентичны таковым для частиц, синтезированных микроволновым способом (Рисунок 8). Параметры дифракционных картин были уточнены с использованием функции псевдо-Войта, реализованной в программном пакете Jana2006 (версия 25/1-/2015) [163] и обобщены в таблице 7.

Эксперименты с различным временем синтеза осуществлялись за счёт изменения общих расходов реакционной смеси, соответствующих временам прохождения элемента объёма через всю установку синтеза: 2 часа (1,54 мкл/с), 1 час (3,08 мкл/с), 30 минут (6,17 мкл/с), 12 минут (15,42 мкл/с) и 6 минут (30,84 мкл/с). При этом значительная часть общей длины трубок приходилась на термическую обработку в масляной ванне (Рисунок 36). Полученные концентрации частиц представлены в Таблице 6. Было установлено, что существенное сокращение времени синтеза не приводит к ухудшению кристалличности образующихся наночастиц, что подтверждено методом рентгеновской дифракции для всех исследованных временных

интервалов (Рисунок 38). Это свидетельствует о том, что термическая обработка при 100 °С в течение всего 6 минут является достаточной для роста и формирования частиц в режиме микрофлюидного синтеза.

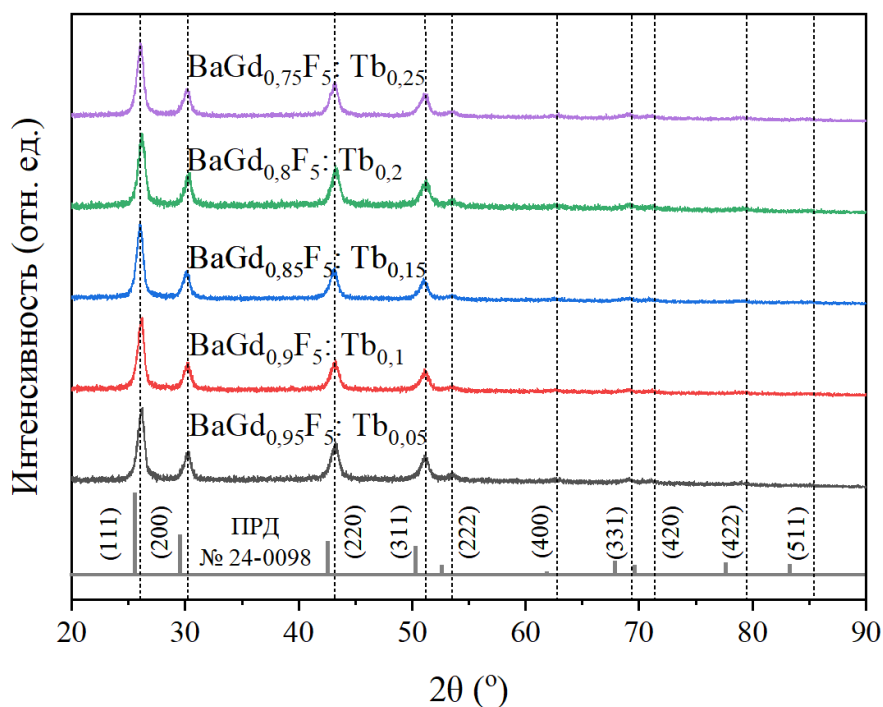


Рисунок 37 – Профили порошковой рентгеновской дифракции для синтезированных микрофлюидным способом образцов  $\text{BaGd}_{1-x}\text{F}_5:\text{Tb}_x$

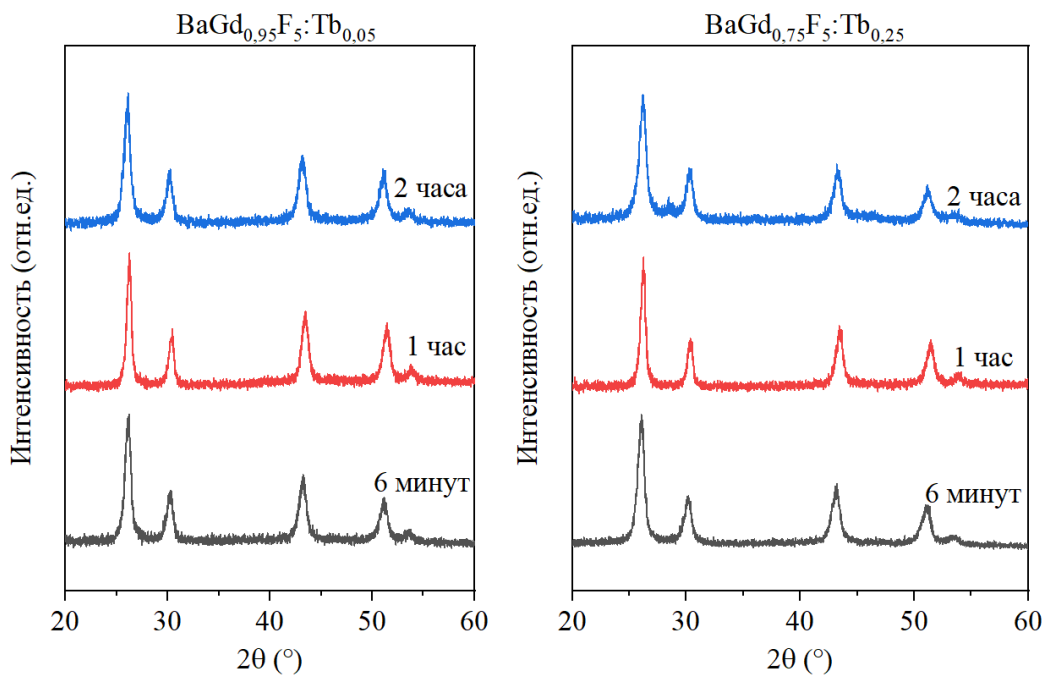


Рисунок 38 – Порошковая рентгеновская дифракция образцов  $\text{BaGd}_{1-x}\text{F}_5:\text{Tb}_x$ , синтезированных микрофлюидным способом при разных скоростях 1,54 мкЛ/с (2 часа), 3,08 мкЛ/с (1 час), 30,84 мкЛ/с (6 минут)

Следует отметить, что в работе Y. Lei с соавторами [121] был представлен метод сверхбыстрого (10 мин) микроволнового синтеза коллоидных нанокристаллов  $BaYF_5:Tb/Ce,Tb$ , характеризующийся высоким выходом продукта. В наших исследованиях при проведении МВ-синтеза в течение 6 минут с использованием 0.1 М растворов металлсодержащих прекурсоров концентрация наночастиц в реакционной смеси достигала приблизительно 5 мг/мл. В то же время, микрофлюидный синтез в аналогичных условиях обеспечивал образование наночастиц с концентрацией 10-12 мг/мл (Таблица 6), что свидетельствует о более высокой эффективности МФ-метода по показателю выхода наночастиц.

Таблица 6 – Различные микрофлюидного синтеза (состав растворителей, концентрация, время синтеза) и, как результат, итоговая концентрация получаемых частиц после центрифугирования

Изменение состава растворителя	
Х% ЭГ	Концентрация частиц, мг/мл
100% ЭГ	1.5-2
75% ЭГ	10-12
50% ЭГ	забитие чипа
25% ЭГ	забитие чипа
0% ЭГ	забитие чипа
Варьирование времени синтеза	
Время синтеза	Концентрация частиц, мг/мл
2 часа	зарастание каналов чипа
1 час	10-12
30 минут	10-12
12 минут	10-12
6 минут	10-12
Изменение концентрации прекурсоров хлоридов металлов*	
Концентрация, моль/Л	Концентрация частиц, мг/мл
0.1	10-12
0.2	17-19
0.3	25-30
0.4	зарастание каналов чипа
0.5	зарастание каналов чипа

\* Концентрации прекурсора  $NH_4F$  были изменены соответственно, сохраняя пропорцию ионов  $5F$  на 1 ион  $Gd/Tb/Ba$ .

Резкое уменьшение времени синтеза можно объяснить тем, что образование зародышей происходит практически сразу после начального интенсивного перемешивания всех четырёх реагентов внутри микрофлюидного чипа даже при комнатной температуре. Данное предположение подтверждается засорением чипа при низком содержании этиленгликоля, малой скорости подачи реагентов или высокой концентрации растворов прекурсоров (Таблица 6). Последующая стадия роста наночастиц протекает с высокой скоростью благодаря эффективному теплопереносу внутри узкой ПТФЭ-трубки с внутренним диаметром 2 мм.

Согласно данным РФА, МФ синтез приводит к наиболее эффективному процессу замещения ионов  $Gd^{3+}$  на ионы  $Tb^{3+}$ , обеспечивая меньшую разницу между номинальным и фактическим содержанием Tb по сравнению с микроволновым синтезом (таблицы 3 и 7). Такое улучшение эффективности замещения  $Tb^{3+}$  на  $Gd^{3+}$ , вероятно, было достигнуто за счет лучшей смешиваемости компонентов в микроканалах по сравнению со смешиванием большого объема реагентов, используемых при микроволновом синтезе.

Таблица 7 – Параметры решетки образцов  $BaGd_{1-x}F_5:Tb_x$ , полученных МФ методом, рассчитанные на основе полнопрофильного рентгеноструктурного анализа; фактическое содержание Tb, полученного из данных РФА, по сравнению с номинальным

Образец	Содержание Tb (номинальное), ат. %	Содержание Tb (РФА), ат. %	Параметр решетки, Å	Объем ячейки, Å <sup>3</sup>
$BaGd_{0,95}F_5:Tb_{0,05}$	0,71	0,66	5,9388(14)	209,46(8)
$BaGd_{0,9}F_5:Tb_{0,1}$	1,43	1,29	5,9408(14)	209,67(9)
$BaGd_{0,85}F_5:Tb_{0,15}$	2,13	2,11	5,9355(12)	209,11(7)
$BaGd_{0,8}F_5:Tb_{0,2}$	2,86	2,86	5,9352(16)	209,08(10)
$BaGd_{0,75}F_5:Tb_{0,25}$	3,57	3,63	5,9337(11)	208,92(7)

Постепенное уменьшение параметров ячейки и объема элементарной ячейки при увеличении концентрации легирующего элемента с несколько меньшим ионным радиусом (1,063 Å и 1,078 Å для Tb<sup>3+</sup> и Gd<sup>3+</sup> соответственно) [164] показало, что ионы Tb замещают ионы Gd в решетке. В обоих синтезах наблюдается монотонное увеличение содержания тербия, при этом фактическое количество наблюдаемых ионов Tb<sup>3+</sup> находится в тесном соответствии с количеством прекурсора Tb<sup>3+</sup>, загруженного в синтез. Фактические соотношения (согласно данным РФА) Gd/Tb также имеют значения, близкие к теоретическим. В то же время интеркаляция минимальных количеств ионов Tb<sup>3+</sup> (то есть образец BaGd<sub>0,95</sub>F<sub>5</sub>:Tb<sub>0,05</sub> микрофлюидный) в решетку BaGdF<sub>5</sub> существенно улучшилась в МФ синтезе по сравнению с микроволновым, согласно результатам РФА. Было обнаружено, что МФ синтез приводит к несколько более точному легированию, обеспечивая меньшую разницу между ожидаемым и фактическим содержанием Tb, по сравнению с микроволновым синтезом (за единственным исключением образца BaGd<sub>0,9</sub>F<sub>5</sub>:Tb<sub>0,1</sub>, синтезированного микроволновым методом). Такое улучшение эффективности замещения Tb<sup>3+</sup> на Gd<sup>3+</sup>, вероятно, было достигнуто за счет лучшей смешиваемости компонентов в микроканалах по сравнению со смешиванием большого объема реагентов, используемых при микроволновом синтезах. Кроме того, МФ синтез за счет более эффективного нагрева реакционной смеси позволяет избежать формирования примесной фазы GdF<sub>3</sub>, образование которой наблюдалось в микроволновых синтезах (Рисунок 39).

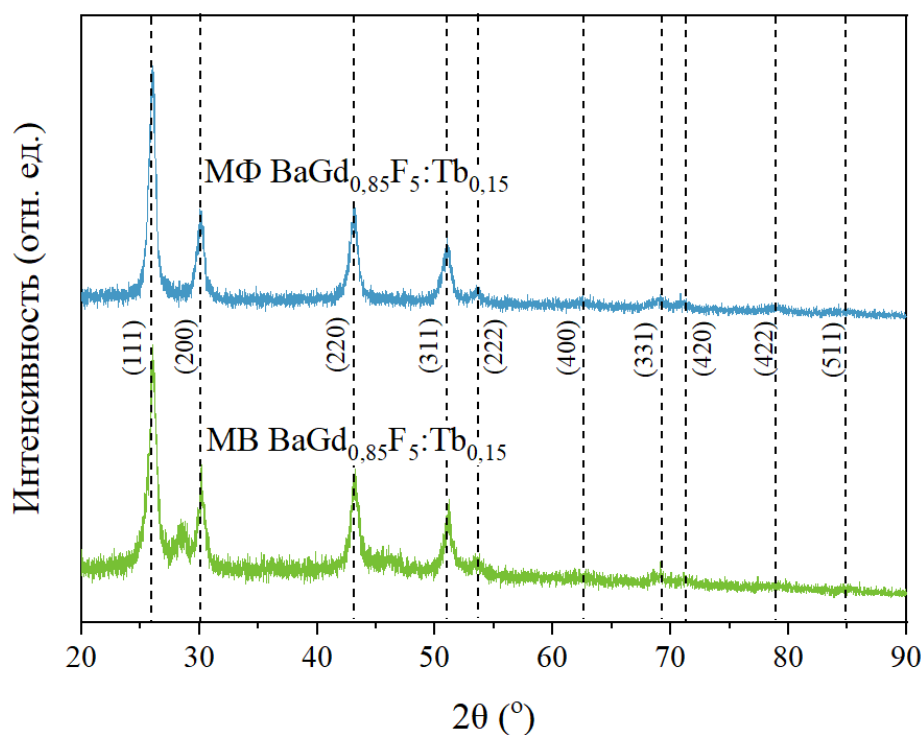


Рисунок 39 – Сравнение дифракционных профилей образцов  $\text{BaGd}_{0.85}\text{F}_5:\text{Tb}_{0.15}$ , полученных микрофлюидным и микроволновым методами синтеза

### 3.3.2. Анализ изображений ПЭМ, ПЭМ-ВР и результатов ДРС

Согласно данным просвечивающей электронной микроскопии, образцы  $\text{BaGd}_{1-x}\text{F}_5:\text{Tb}_x$ , синтезированные микроволновым способом, имели средний размер частиц в диапазоне 5–17 нм. При этом добавление воды к этиленгликолю приводило к росту размера наночастиц  $\text{BaGdF}_5$  до 20–25 нм, что обусловлено ускорением стадии роста наночастиц вследствие уменьшения вязкости системы. Анализ изображений ПЭМ-изображений образцов, полученных МФ способом в смеси 75% ЭГ и 25% дистиллированной воды (Рисунок 40 а, б), показал формирование наночастиц сферической формы со средним размером частиц 7–8 нм. Введение воды при микрофлюидном синтезе к ЭГ не приводит к увеличению размера наночастиц, а даже несколько уменьшает его, сохраняя при этом монодисперсность.

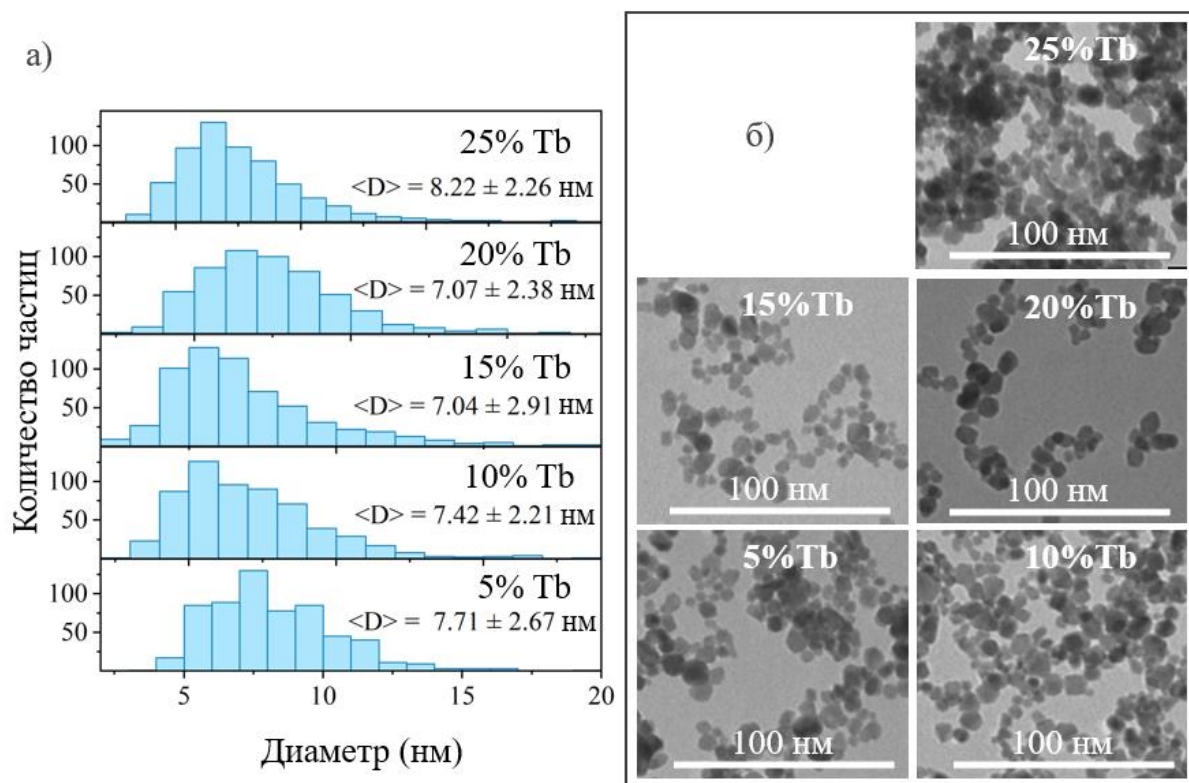


Рисунок 40 – (а) Гистограммы распределения частиц  $\text{BaGd}_{1-x}\text{F}_5:\text{Tb}_x$ , полученных при помощи микрофлюидного способа синтеза и соответствующие им (б) ПЭМ- изображения

Кристаллическую структуру полученных наночастиц исследовали методом просвечивающей электронной микроскопии высокого разрешения (ПЭМ-ВР, Рисунок 41 а, б, г, д). Согласно полученным данным, для наночастиц, полученных микрофлюидным способом, межплоскостное расстояние составило 4,1 Å, в то время как для частиц, синтезированных микроволновым способом – 4,2 Å. Более того, для детального сравнения двух способов синтеза были также получены электронные дифракции синтезированных образцов. Анализ четких кольцевых линий электронограмм подтвердил образование кубической гранецентрированной структуры как для микрофлюидного, так и для микроволнового способов синтеза (Рисунок 41 в, е). Идентификацию фаз проводили путем сравнения измеренных расстояний от электронной дифракционной картины с дифракционными картинками из базы данных ICDD (JCPDS, № 24-0098).

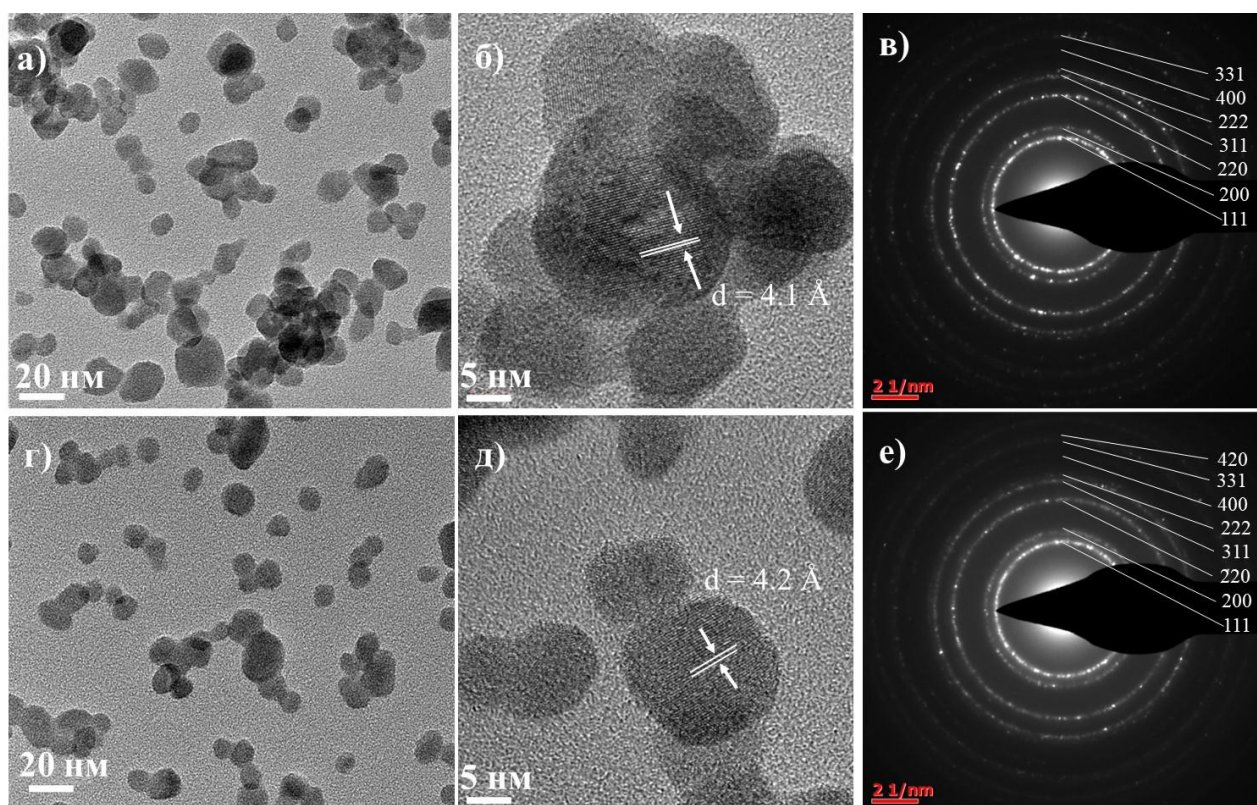


Рисунок 41 – Изображения ПЭМ-ВР для рентгеновских нанолуминофоров  $\text{BaGd}_{0,85}\text{F}_5:\text{Tb}_{0,15}$  полученных микрофлюидным (а, б) и микроволновым (г, д) способами синтеза, а также соответствующие электронограммы (в, е).

Окружностями обозначены межплоскостные расстояния

Анализ ПЭМ-изображений и электронограмм образцов с иной концентрацией допанта,  $\text{BaGd}_{0,85}\text{F}_5:\text{Tb}_{0,15}$ , синтезированных микрофлюидным и микроволновым методами показал идентичные результаты (Рисунок 42). Исходя из данных электронной дифракции, полученные микрофлюидным способом наночастицы имеют межплоскостное расстояние равное  $4,3 \text{ \AA}$ , в то время как частицы, синтезированные микроволновым способом, –  $4,2 \text{ \AA}$ . Таким образом, все полученные образцы имеют схожую морфологию вне зависимости от способа синтеза материала.

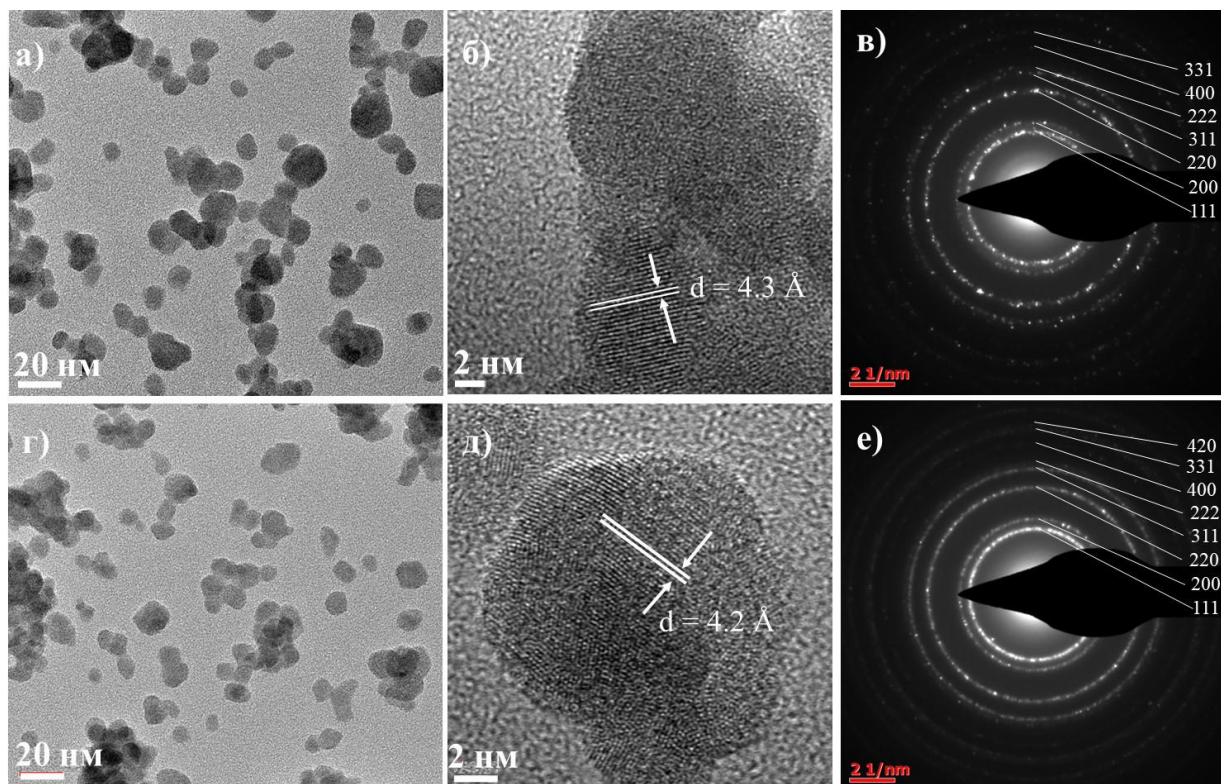


Рисунок 42 – Изображения ПЭМ-ВР для рентгеновских нанолуминофоров  $\text{BaGd}_{0,75}\text{F}_5:\text{Tb}_{0,25}$  полученных микрофлюидным (а, б) и микроволновым (г, д) способами синтеза, а также соответствующие электронограммы (в, е).

Окружностями обозначены межплоскостные расстояния

Как видно из данных динамического рассеивания света, измеренных для образца  $\text{BaGd}_{0,75}\text{F}_5:\text{Tb}_{0,25}$  (Рисунок 43), средний гидродинамический размер наночастиц в коллоидном растворе, полученном микрофлюидным методом, составляет около 22 нм. В то время как распределение размеров, полученное для образцов синтезированных микроволновым способом синтеза, было смещено в сторону большего размера частиц и показало средний гидродинамический размер около 34 нм.

Стоит отметить, что гидродинамический размер наночастиц всегда больше их фактического размера (обычно оцениваемого с помощью анализа ПЭМ-изображений), поскольку он учитывает адсорбционные и диффузионные слои молекул растворителя на поверхности частиц. В рассматриваемом случае более высокие значения, полученные для

гидродинамического размера наночастиц, также могут быть связаны с небольшими количествами молекул ЭГ, прикрепленными к поверхности частиц.

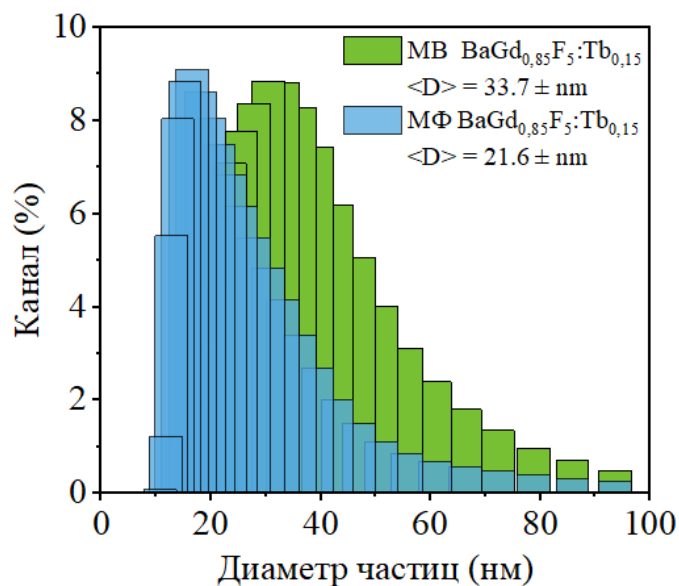


Рисунок 43 – Кривые распределения наночастиц по гидродинамическим размерам и значения среднего размера, полученные в результате измерений динамического рассеивания света для образцов  $BaGd_{0,85}F_5:Tb_{0,15}$ , синтезированных МФ (голубая гистограмма) и МВ методами синтеза (зеленая гистограмма)

### 3.3.3. Анализ спектров рентгенолюминесценции XEOL и фотолюминесцентных спектров

На рисунке 44 показаны спектры рентгенолюминесценции, измеренные *in situ* при синтезе с различным соотношением скоростей растворов реагентов  $GdCl_3$  и  $TbCl_3$ , которые позволяют получать образцы с различным фактическим содержанием  $Tb^{3+}$ , определенным методом РФА-анализа (Таблица 7). Полученные спектры рентгенолюминесценции имеют типичный профиль для систем, допированных  $Tb^{3+}$ , и демонстрируют характерные пики люминесценции ионов  $Tb^{3+}$  при 490, 545, 585 и 620 нм, связанные с электронными переходами из нижнего возбужденного состояния  $^5D_4$  в основные состояния  $^7F_{J=3,4,5,6}$ , соответственно, с доминирующей линией

излучения 545 нм (зеленый цвет), которые соответствуют магнитно-дипольному переходу с  $\Delta J = 1$ . Несмотря на довольно разное фактическое содержание Tb, интенсивность излучения при 545 нм для образцов  $\text{BaGd}_{0,85}\text{F}_5:\text{Tb}_{0,15}$  МФ и  $\text{BaGd}_{0,8}\text{F}_5:\text{Tb}_{0,2}$  МФ оказалась практически одинаковой, что может быть связано с несколько различным тушением люминесценции на этих образцах или некоторой систематической неопределенностью в концентрациях наночастиц в продукте МФ синтеза. Наиболее интенсивный сигнал XEOL был получен для образца  $\text{BaGd}_{0,75}\text{F}_5:\text{Tb}_{0,25}$  с фактическим содержанием Tb, равным 3,63 ат.%, что соответствует результатам, полученным для микроволновой серии синтезов аналогичных образцов  $\text{BaGd}_{1-x}\text{F}_5:\text{Tb}_x$ . Наблюдается четкая корреляция сигналов между двумя способами синтеза, однако интенсивность XEOL у образцов в потоке несколько ниже, нежели образцов при использовании микроволнового синтеза и отмывки, что связано с меньшей концентрацией частиц, регистрируемых *in situ* в микрофлюидном режиме.

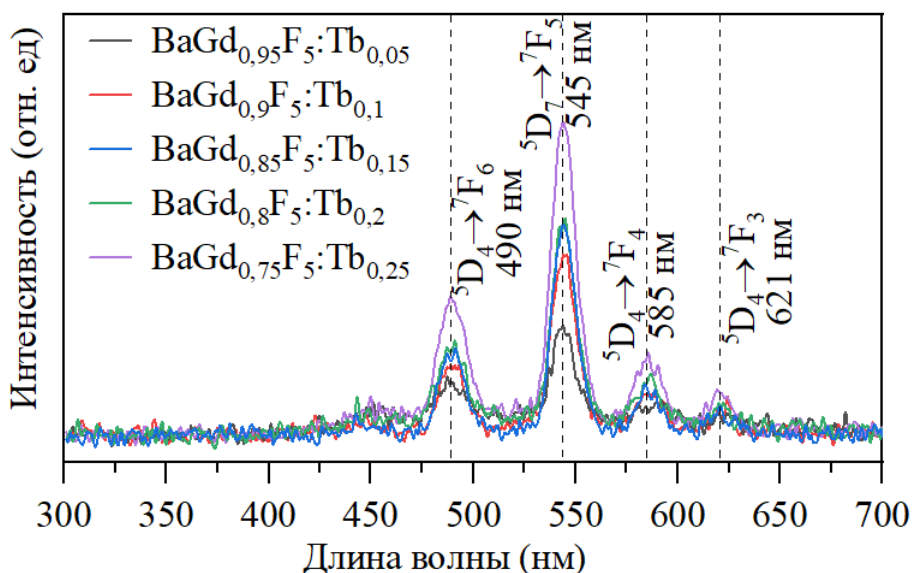


Рисунок 44 – Спектры оптической люминесценции при возбуждении рентгеновскими лучами для серии образцов  $\text{BaGd}_{1-x}\text{F}_5:\text{Tb}_x$ , измеренные *in situ* в микрофлюидном режиме

Наконец, для сравнения фотолюминесцентных спектров рентгеновских наноломинофоров, синтезированных с помощью МВ и МФ синтезов, были

измерены полосы адсорбции  ${}^8S_{7/2} - {}^6I_J$  ( $\lambda_{\text{возб.}} = 274 \text{ нм}$ ) ионов  $\text{Gd}^{3+}$  при прямом возбуждении с использованием 4-й гармоники YAG:Nd-лазера с модуляцией добротности. Полученные спектры представлены на рисунке 45 и подтверждают эффективную передачу энергии  $\text{Gd}^{3+} \rightarrow \text{Tb}^{3+}$  для обоих образцов, демонстрируя очень слабую интенсивность ионов  $\text{Gd}^{3+}$  (явно не видимую в спектрах XEOL) по сравнению с основными линиями излучения ионов  $\text{Tb}^{3+}$ .

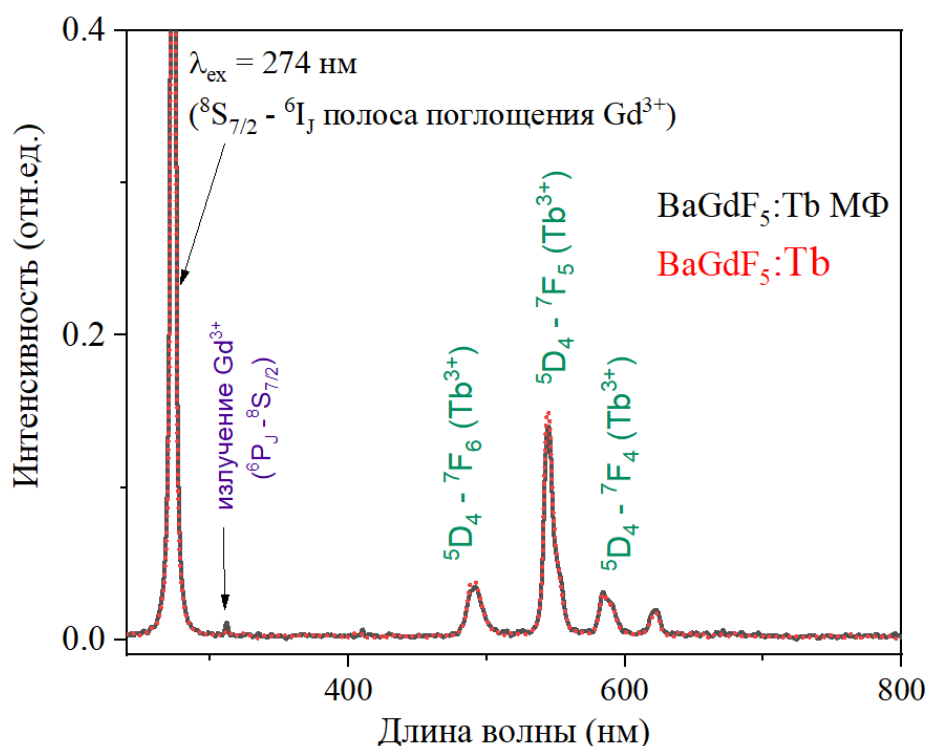


Рисунок 45 – Сравнение фотолуминесцентных спектров образцов  $\text{BaGdF}_5:\text{Tb}$ , синтезированных при помощи микроволнового (красная кривая) и микрофлюидного (черная кривая) методов синтеза

Подводя итог, адаптация синтеза наночастиц  $\text{BaGdF}_5$ , допированных редкоземельными элементами в режиме МФ может решить несколько проблем классического синтеза. Во-первых, из-за небольших объемов реакционной смеси, присутствующих в микрофлюидном синтезе, обеспечивающем быструю тепловую конвекцию, температура реакции может быть снижена до  $100 \text{ }^\circ\text{C}$ , а время синтеза может быть заметно уменьшено с 12–

24 часов (в классическом СТ синтезе) и 2 часов (в МВ синтезе) до 6 минут с сохранением структуры, аналогичной структурам, полученным в МВ синтезе.

Кроме того, возможность варьирования скоростей потока в режимах «на лету» позволяет проводить множество синтезов с различным процентным содержанием легирующего элемента за короткое время и с уменьшенным (по сравнению с классическим синтезом) расходом реагентов. Во-вторых, за счет хорошего смешивания прекурсоров в небольших объемах наблюдается увеличение эффективности интеркаляции тербия, что может быть особенно важно, если необходимо получить образцы с низким процентом легирующих элементов. Наконец, адаптация реакции синтеза в микрофлюидном режиме сохраняет такие важные свойства, как однофазность продуктов и монодисперсность синтезируемых частиц в растворах.

В результате было сформулировано **третье положение**, выносимое на защиту:

Разработанный проточный микрофлюидный способ синтеза наночастиц состава  $\text{BaGd}_{1-x}\text{F}_5:\text{Tb}_x$  позволяет измерять рентгенолюминесценцию в режиме *in situ*. Уменьшение температуры синтеза до 100 °С и уменьшение времени термической обработки до 6 минут в проточном микрофлюидном режиме не приводят к потере кристалличности и монодисперсности формируемых наночастиц, при этом средний размер наночастиц составляет 7 – 9 нм, что соответствует значениям, полученным при более высоких температурах и длительной обработке при использовании микроволнового способа.

### **3.4. Разработка нанокомпозитов на основе редкоземельных люминофоров и фотосенсибилизаторов с использованием проточной микрофлюидной системы**

#### **3.4.1 Получение и исследование нанокомпозита $\text{BaGdF}_5:\text{Tb}@P\text{B}$**

Анализ литературных данных выявил ограниченное количество работ по микрофлюидному синтезу Ln-допированных нанокомпозитов. В

исследовании J. Ma et al. [131] описан синтез Ce/Eu/Tb-допированных наночастиц  $\text{KGdF}_4$  с последующей функционализацией гиалуроновой кислотой. В работе M. Iskawa и E. Guidelli [132] описан микрофлюидный синтез Eu-допированных сцинтилляционных наночастиц с формированием композита на основе полиакриловой кислоты и метиленового синего, однако процесс требовал многоэтапной постсинтетической модификации с длительными операциями центрифугирования и пропитки.

В данной работе предложен усовершенствованный метод одностадийного микрофлюидного синтеза нанокompозитов  $\text{BaGdF}_5:\text{Tb}$  с розовым бенгальским, обеспечивающий оптимальное спектральное согласование между сцинтилляционными наночастицами и фотосенсибилизатором. Процесс осуществляется с использованием 0,1 М растворов хлоридов металлов и 0,55 М раствора  $\text{NH}_4\text{F}$  в проточной микрофлюидной системе (Рисунок 46), что исключает необходимость сложных постсинтетических модификаций и значительно упрощает технологический процесс.

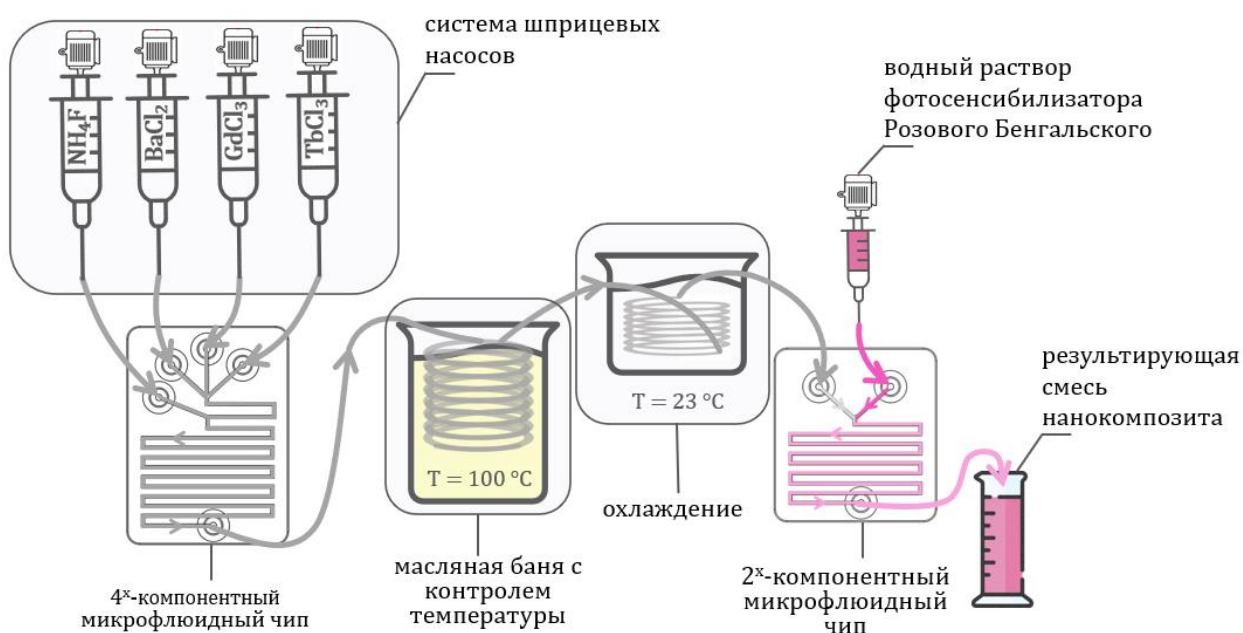


Рисунок 46 – Схема одностадийного микрофлюидного синтеза нанокompозита  $\text{BaGdF}_5:\text{Tb}@РБ$  в проточной микрофлюидной системе

Реакционная смесь последовательно проходила через четырехканальный микрофлюидный чип, термостатируемый масляный нагреватель, систему охлаждения, после чего смешивалась с водным раствором Розового Бенгальского с концентрацией 0,0625 мг/мл в двухканальном меандровом микрореакторе. Скорость потока фотосенсибилизатора составляла 30,84 мкл/с, что соответствовало суммарной скорости потоков всех реагентов рентгеновского нанолюминофора. Для оценки влияния длины микрофлюидного канала на эффективность конъюгации использовали два типа реакторов с длиной каналов 16 см и 47 см (Рисунок 47). Параллельно проводили классическую пропитку в стеклянной колбе, где предварительно синтезированные наночастицы смешивали с раствором РБ при магнитном перемешивании в течение 30 мин. После центрифугирования (15000 об/мин, 5 мин) анализировали оптическое поглощение супернатанта (Рисунок 47), что позволило провести сравнительную оценку эффективности микрофлюидного способа и синтеза «в пробирке».

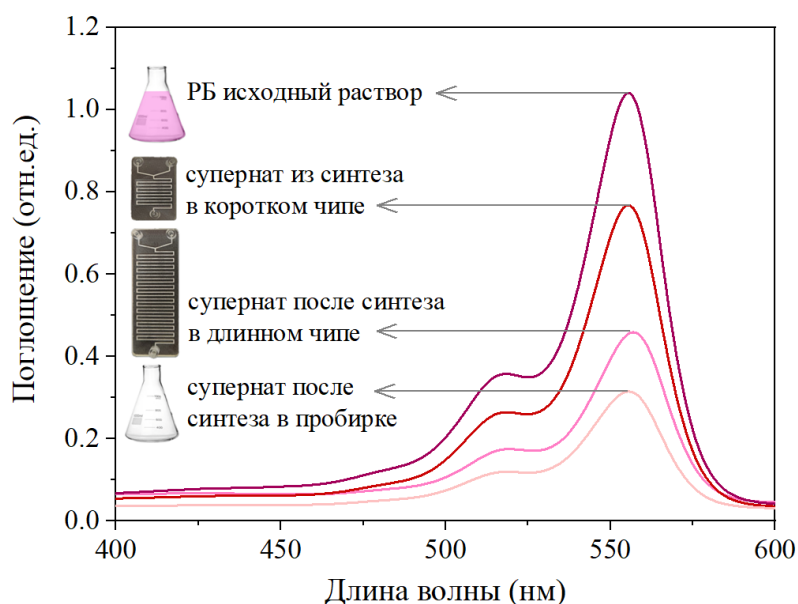


Рисунок 47 – Спектры поглощения УФ-видимой области: исходного водного раствора РБ, использованного для пропитки наночастиц; спектры супернатантов, полученных после пропитки в одностадийном микрофлюидной синтезе с использованием короткого и длинного чипов, а также полученных в результате пропитки в пробирке

Результаты исследования демонстрируют зависимость эффективности пропитки от длины микрофлюидного чипа. Применение короткого чипа обеспечивает относительно низкую степень конъюгации – около 25 % молекул Розового Бенгальского связывается с поверхностью наночастиц. Увеличение длины чипа приводит к существенному улучшению процесса пропитки, уменьшая долю несвязанного фотосенсибилизатора до 45 %. Хотя данный показатель уступает результатам классического метода в пробирке (70% конъюгации), разработанный микрофлюидный подход сохраняет преимущества одностадийного синтеза нанокомпозитов.

### **Влияние скорости потока фотосенсибилизатора на процесс сорбции**

Для изучения влияния скорости потока фотосенсибилизатора на процесс сорбции были проведены эксперименты со скоростями потока РБ, составляющими 15,42 мкл/с, 30,84 мкл/с, 46,26 мкл/с и 61,68 мкл/с, что соответствует 0,5, 1, 1,5 и 2 от оптимальной скорости потока наночастиц в микрофлюидном синтезе 30,84 мкл/с. Концентрация РБ при этом была постоянной и соответствовала 62,5 мкг/мл. Результаты исследования приведены на Рисунке 48.

При скорости потока 15,42 мкл/с наблюдается крайне слабый сорбционный процесс (Рисунок 48 а). Низкая эффективность сорбции ФС обусловлена тем, что малая скорость подачи раствора фотосенсибилизатора приводит к снижению количества молекул красителя, контактирующих с поверхностью наночастиц в единицу времени. Сорбционная емкость частиц в этих условиях составила 0,01 мкг/мг. Дальнейшее увеличение скорости потока РБ приводит к росту сорбционной ёмкости частиц. Так, при увеличении скорости потока до 30,84, 46,26 и 61,68 мкл/с сорбционная емкость частиц, рассчитанная на основе калибровочной прямой по пику поглощения на 556 нм (Рисунок 48 д), составляет 3,33, 8,2 и 16,7 мкг/мг, соответственно (Рисунок 48 б, в, г). Таким образом, повышение скорости потока

фотосенсибилизатора способствует увеличению сорбционной эффективности наночастиц  $\text{BaGdF}_5:\text{Tb}$ .

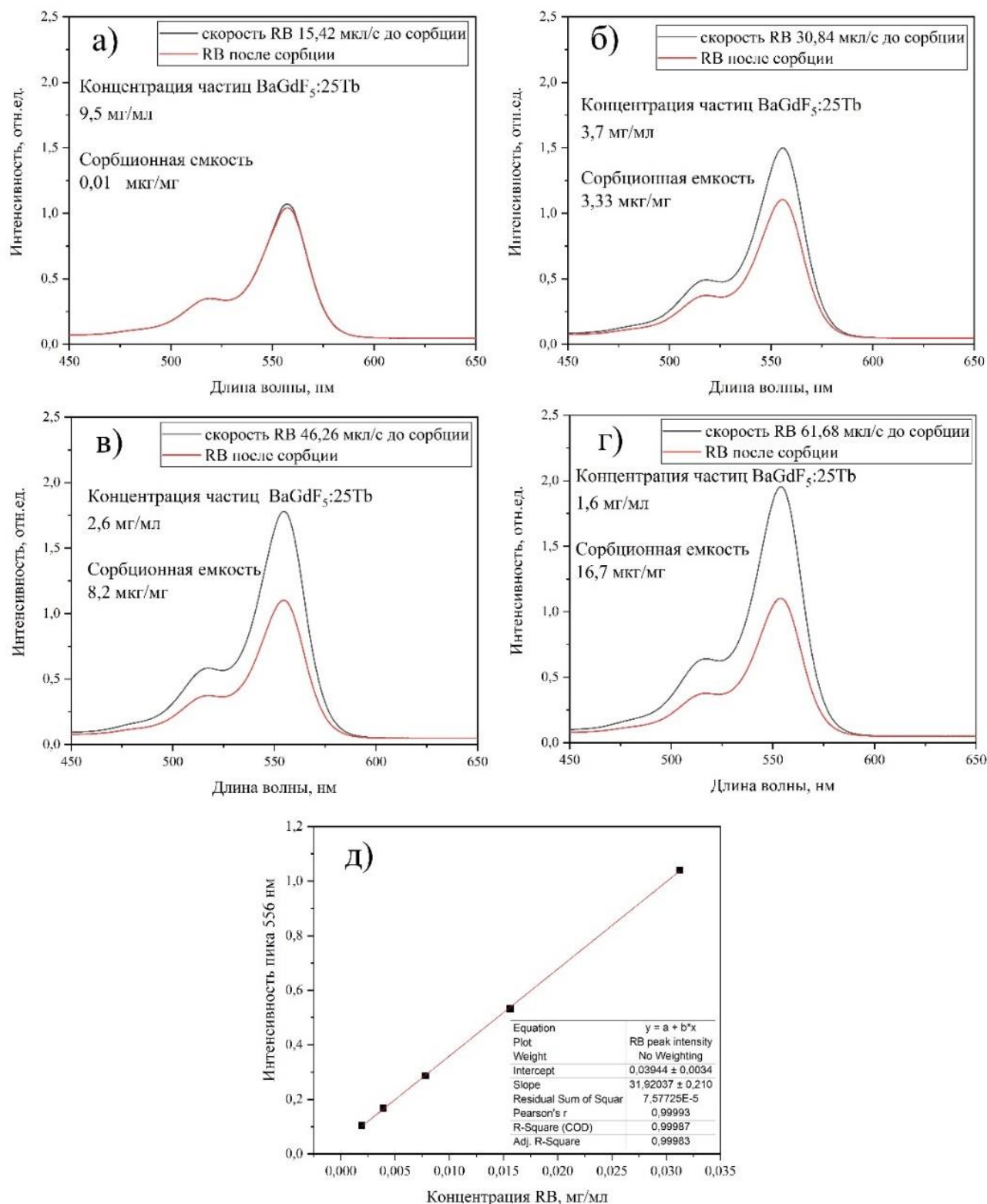


Рисунок 48 – Спектры поглощения ультрафиолетового и видимого диапазонов, снятые для растворов до и после сорбции РБ наночастицами  $\text{BaGd}_{0,75}\text{F}_5:\text{Tb}_{0,25}$  при различных (а) – (г) скоростях потока красителя; (д) калибровочная прямая для расчета концентраций РБ по пику 556 нм

## **Влияние концентрации фотосенсибилизатора на процесс сорбции**

Влияние концентрации ФС также было изучено на модели взаимодействия наночастиц  $\text{BaGd}_{0,75}\text{F}_5:\text{Tb}_{0,25}$  с фотосенсибилизатором бенгальским розовым. Были исследованы 3 дополнительные концентрации РБ 6,25 мкг/мл, 125 мкг/мл и 312,5 мкг/мл, что соответствует 0,1, 2 и 5 от оптимальной концентрации РБ 62,5 мкг/мл, используемой в микрофлюидном синтезе нанокompозита. При этом потоки компонентов были равными и соответствовали 30,84 мкл/с каждый. Результаты представлены на рисунке 49.

При малых концентрациях РБ наблюдается эффект подавления сорбционной способности частиц (Рисунок 49 а). При концентрации РБ 6,25 мкг/мл сорбционная емкость частиц составила 0,15 мкг/мг. Увеличение концентрации ФС в 2 и 5 раз приводит к резкому увеличению сорбционной емкости частиц. Так, сорбционная емкость частиц при концентрации РБ 125 мкг/мл составила 2,24 мкг/мг (Рисунок 49 б). Однако, полученное значение оказалось даже меньше, чем сорбционная емкость частиц в стандартном эксперименте (3,33 мкг/мг) при использовании РБ в оптимальной концентрации и в оптимальных потоках. Исследование концентрации 312,5 мкг/мл не позволяет оценить сорбционную емкость частиц по основному пику на 556 нм, так как на спектрах поглощения наблюдается сатурация сигнала от главного пика поглощения, в результате чего невозможно оценить его интенсивность (Рисунок 49 в). Однако, аналогичную калибровочную прямую (Рисунок 49 г) можно получить на основе интенсивностей пика при 519 нм, не подверженному сатурации. Оценка сорбционной емкости показала значение 24,7 мкг/мг.

Таким образом, концентрация ФС также оказывает влияние на сорбционную способность  $\text{BaGdF}_5$ . Использование слишком малых концентраций приводит к подавлению сорбции из-за крайне малого числа частиц красителя в растворе. Однако, использование слишком высоких концентраций также нежелательно, т. к. за счет высокой интенсивности

окраски РБ, можно столкнуться с сатурацией не только основного пика поглощения, но и менее интенсивного при 519 нм. В таблице 8 представлены результаты по двум экспериментам. При этом, как показали эксперименты, более оптимальным подходом к повышению эффективности сорбционного процесса является варьирование скоростей потоков в микрофлюидном режиме в сравнении с использованием более высоких концентраций ФС.

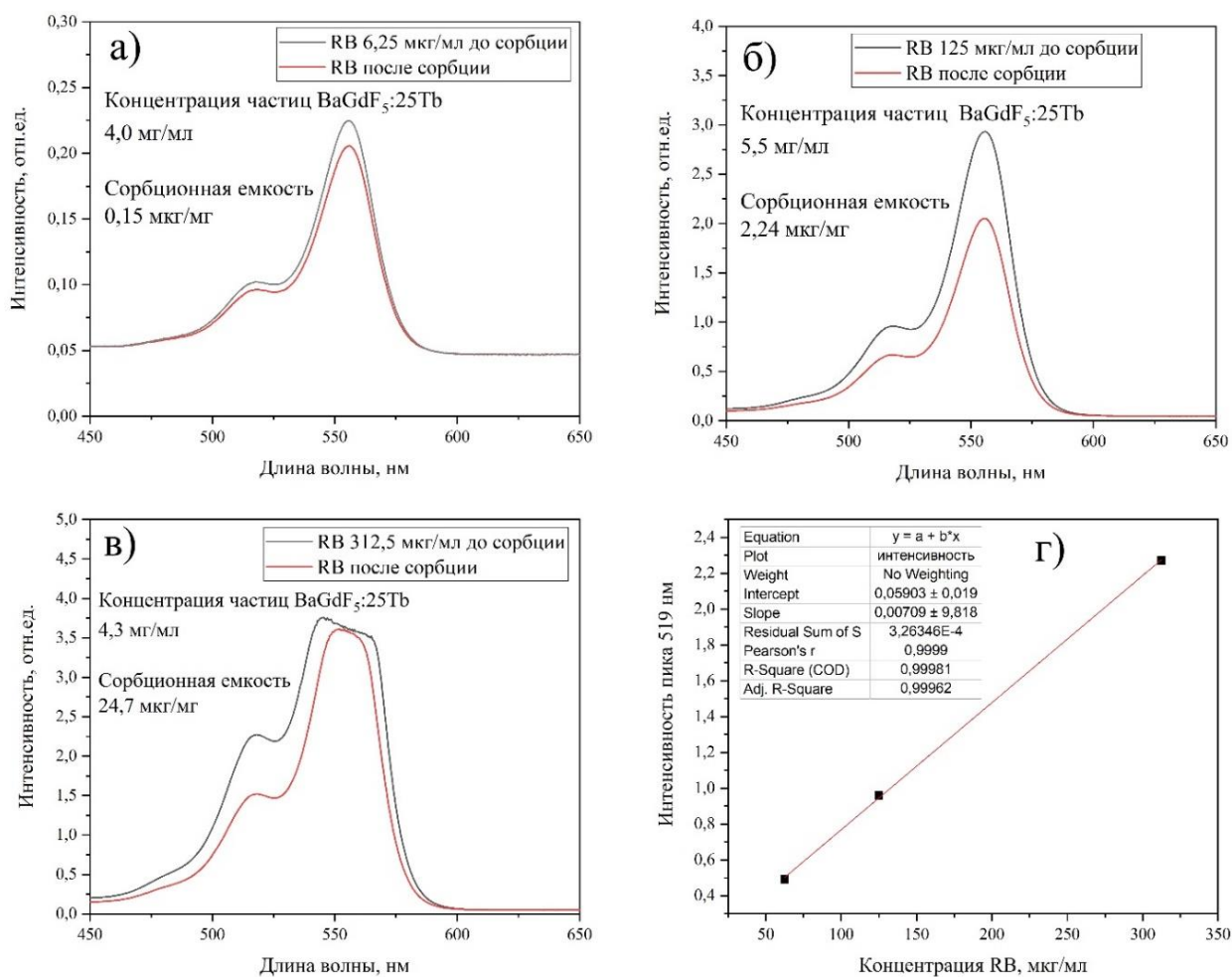


Рисунок 49 – спектры поглощения ультрафиолетового и видимого диапазонов, снятые для растворов до и после сорбции РБ наночастицами BaGd<sub>0,75</sub>F<sub>5</sub>:Tb<sub>0,25</sub> при различных (а) – (в) концентрациях РБ; (г) калибровочная прямая для расчета концентраций РБ по пику 519 нм

Таблица 8– Результаты варьирования скорости потока РБ и его концентрации в режиме микрофлюидной пропитки частиц  $BaGd_{0,75}F_5:Tb_{0,25}$

Варьирование скорости потока РБ (концентрация 62,5 мкг/мл)		
Скорость потока РБ, мкл/с	Концентрация частиц, мг/мл	Сорбционная емкость, мкг/мг
15,42	9,5	0,01
30,84	3,7	3,33
46,26	2,6	8,2
61,68	1,6	16,7
Варьирование концентрации РБ (скорость потока 30,84 мкл/с)		
Концентрация РБ, мкг/мл	Концентрация частиц, мг/мл	Сорбционная емкость, мкг/мг
6,25	4,0	0,15
125	5,5	2,24
312,5	4,3	24,7

### **Оценка формирования нанокompозита и количественного элементного состава на основе энерго-дисперсионного анализа и ПЭМ-ВР**

Как уже обсуждалось ранее в главе III, молекула РБ, помимо углерода, водорода, кислорода и хлора, содержит в своем составе 4 атома иода, что позволяет детектировать адсорбированный на поверхности частиц краситель при помощи ЭДРС-картирования частиц на сканирующем электронном микроскопе. Молекула также содержит 4 атома хлора, однако детектирование РБ на поверхности частиц по атомам хлора не достоверна, так как в процессе синтеза возможна адсорбция ионов хлора, образующихся при диссоциации хлоридов металлов-прекурсоров.

На рисунке 50 представлены изображения сканирующего электронного микроскопа с энергодисперсионным рентгеновским анализом агломерата наночастиц композита  $BaGd_{0,75}F_5:Tb_{0,25}@РБ$ , полученного микрофлюидным

способом путем смешивания в МФ чипе потока образовавшихся наночастиц  $\text{BaGd}_{0,75}\text{F}_5:\text{Tb}_{0,25}$  с водным раствором РБ, подаваемым с той же скоростью.

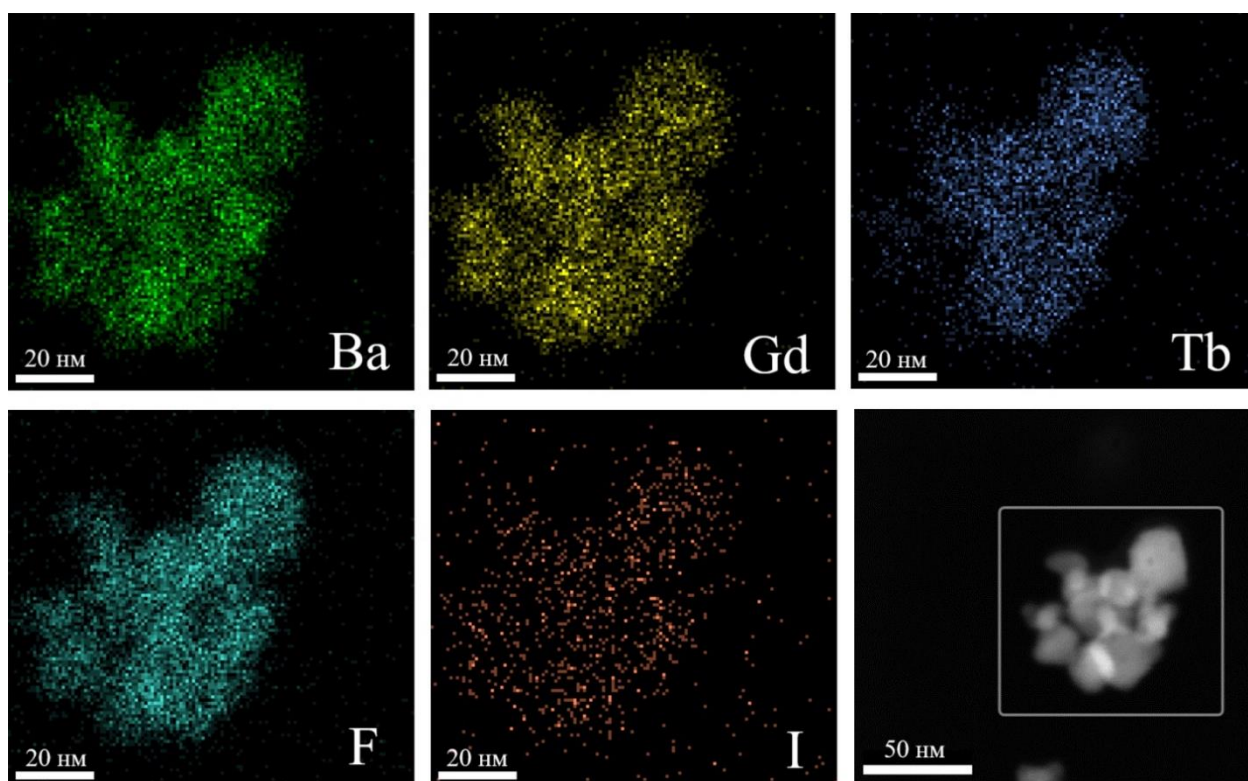


Рисунок 50 – изображения СЭМ с ЭДРС агломерата частиц нанокompозита  $\text{BaGd}_{0,75}\text{F}_5:\text{Tb}_{0,25}@\text{РБ}$ , полученного при помощи микрофлюидного способа синтеза

Видно, что в состав нанокompозита помимо атомов бария, гадолиния, тербия и фтора входят также атомы иода на поверхности частиц, что свидетельствует о процессе адсорбции молекул РБ на  $\text{BaGd}_{0,75}\text{F}_5:\text{Tb}_{0,25}$ . Количественная оценка содержания элементов представлена в таблице 9.

Расчет брутто-формулы нанокompозита с учетом количества атомов иода в одной молекуле РБ позволяет получить следующий состав:  $\text{Ba}_{1,11}\text{Gd}_{0,48}\text{Tb}_{0,26}\text{F}_5 \cdot 0,0038\text{РБ}$ . Соотношение ионов  $\text{Ba}/\text{Gd}/\text{Tb}$ , полученное методом ЭДРС картирования, близко к соотношению, оцененному методом РФА. Таким образом, на одну молекулу РБ приходится 263 «молекулы»  $\text{BaGd}_{0,75}\text{F}_5:\text{Tb}_{0,25}$ . Порядок полученных величин коррелирует со значениями

сорбционной емкости частиц, полученными из спектров поглощения и составляющими единицы микрограммов РБ на 1 миллиграмм  $BaGdF_5$ .

Таблица 9 – Элементный состав нанокompозита  $BaGd_{0,75}F_5:Tb_{0,25}@PB$ , полученного в МФ синтезе

Элемент	Содержание, ат.%
Ba	16,64
Gd	7,05
Tb	3,74
F	72,35
I	0,22

### **ПЭМ-изображения процесса клеточного поглощения нанокompозитов $BaGdF_5:Tb@PB$**

ПЭМ-изображения клеточных культур карциномы легкого человека А-549 после 12 ч воздействия нанокompозитов  $BaGdF_5:Tb@PB$  представлены на рисунке 51 (а-г). Данные ПЭМ показали, что специфическая структура клеточной мембраны (многоугольная форма и листовидный рисунок) сохранилась (Рисунок 51 а). Большое количество наночастиц присутствует в межклеточном пространстве, как в виде обособленных частичек, так и в виде агломератов. Более того видно, что в клетки интернализировали нанокompозиты. Наблюдаемая картина свидетельствует о том, что наночастицы не влияют на морфологию и структуру клеток. Частицы внутри клеток упакованы в везикулы размером от ~ 400 до 2500 нм, чаще всего с четко оформленным контуром внутренней мембраны. Средний диаметр пузырьков составляет 840 нм. ПЭМ-изображения клеточного поглощения частиц при большем увеличении представлены на рисунке 51 (б-г). На таком увеличении можно заметить, что наночастицы образуют агломераты в биологической среде размером от 400 до 1200 нм. Хорошо видно, что наночастицы не были обнаружены ни в ядрах, ни в других органеллах клетки, что может

свидетельствовать о меньшей токсикологической нагрузке при захвате клетками фагоцитами.

Можно предположить, что интернализация (процесс перемещения веществ внутрь клетки) происходит посредством макропиноцитоза, классифицируемого как эндоцитозный процесс, посредством которого клетки интернализуют жидкости и частицы вместе. Во время макропиноцитоза образуются относительно крупные везикулы (0,3–5 мкм) [165]. Для настоящих экспериментальных условий рецептор-опосредованные эндоцитозные процессы (например, наиболее распространенными процессами являются клатрин-опосредованный, кавеол-опосредованный, RhoA-опосредованный эндоцитоз) не ожидаются из-за немодифицированной поверхности наночастиц. Более того, рецептор-опосредованные эндоцитозные везикулы меньше по размеру по сравнению с везикулами, образующимися при макропиноцитозе. Действительно, по данным Эрлиха и др. [166], верхний предел клатрин-опосредованного эндоцитоза везикул равен 200 нм. Однако обычно размер пузырьков находится в диапазоне от 50 до 150 нм [167]. В результате макропиноцитоз выявлялся по размеру везикул и отсутствию специфических молекул на поверхности наночастиц. Также следует отметить, что везикулы размером менее 200 нм не обнаружены.

Таким образом, анализ ПЭМ-изображений показал, что наноконпозиты BaGdF<sub>5</sub>:Tb@PB эффективно интернализируются клетками аденокарциномы легкого А-549, не нарушая целостности клеточной мембраны и ультраструктуры. Частицы локализуются исключительно в цитоплазматических везикулах размером 400–2500 нм (средний диаметр 840 нм) и не проникают в ядро или другие органеллы, что свидетельствует о низком риске генотоксичности. Механизм захвата, по-видимому, реализуется через макропиноцитоз, поскольку размер везикул превышает характерные для рецептор-опосредованного эндоцитоза значения (<200 нм), а поверхность наночастиц не содержит специфических лигандов. Отсутствие частиц в ядре и

их компартиментализация в везикулах указывают на потенциально меньшую токсикологическую нагрузку на нормальные ткани, в частности при фагоцитозе клетками печени.

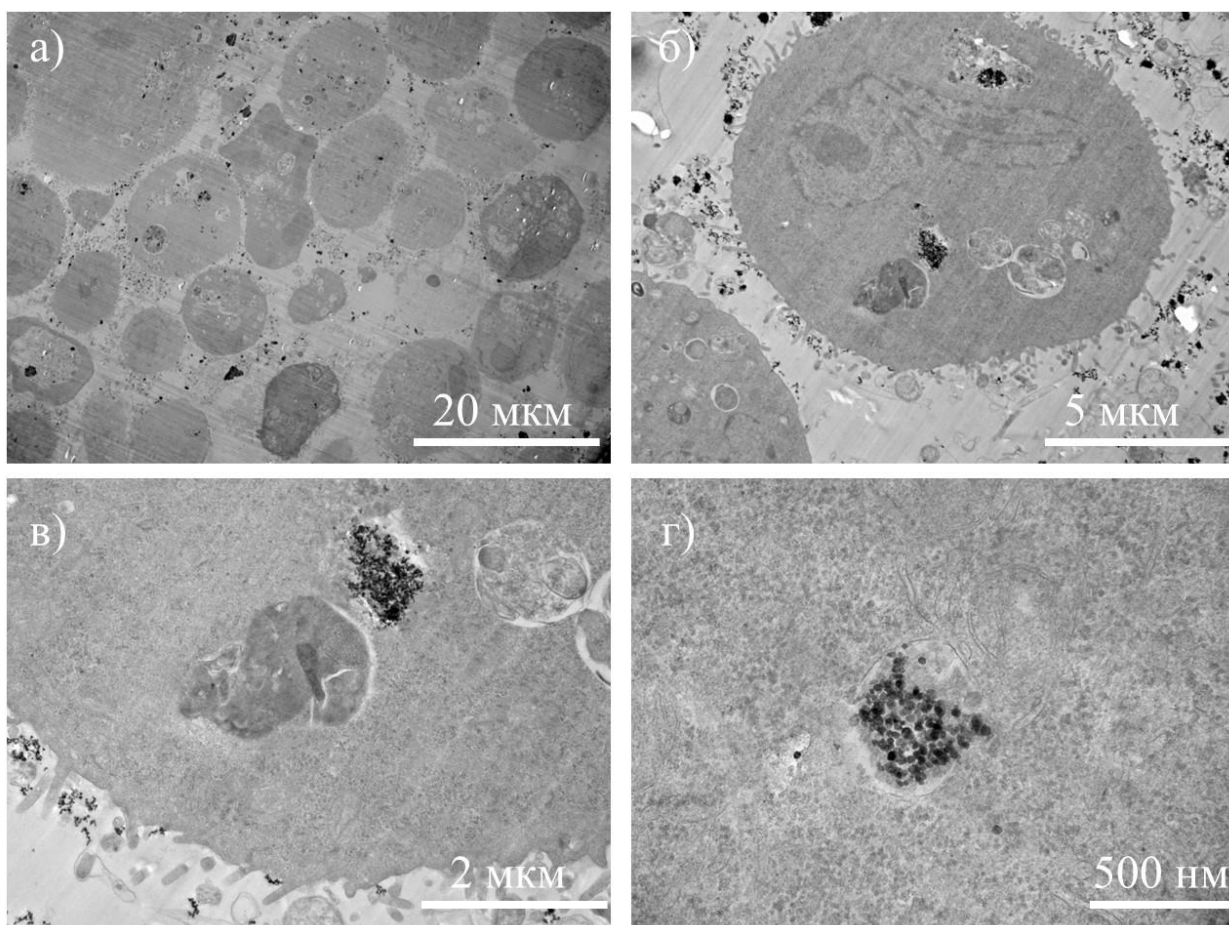


Рисунок 51 – ПЭМ-изображения клеток А-549 при введении наночастиц BaGdF<sub>5</sub>:Tb@РБ в течение 12 ч

### Цитотоксичность и проточная цитометрия

Цитотоксические эффекты НЧ оценивали с помощью МТТ-анализа. Оба исследованных типа наночастиц снижали жизнеспособность клеток А459, HSF (*англ.* Human Skin Fibroblasts — фибробласты кожи здорового донора) и HeLa (*англ.* HeLa – аденокарцинома шейки матки) в зависимости от концентрации и времени обработки (Рисунок 52). Тем не менее цитотоксические эффекты наноматериалов были умеренными и достигали значительных значений только при сочетании времени обработки 48 часов и высоких концентраций (400–2000 мкг/мл).

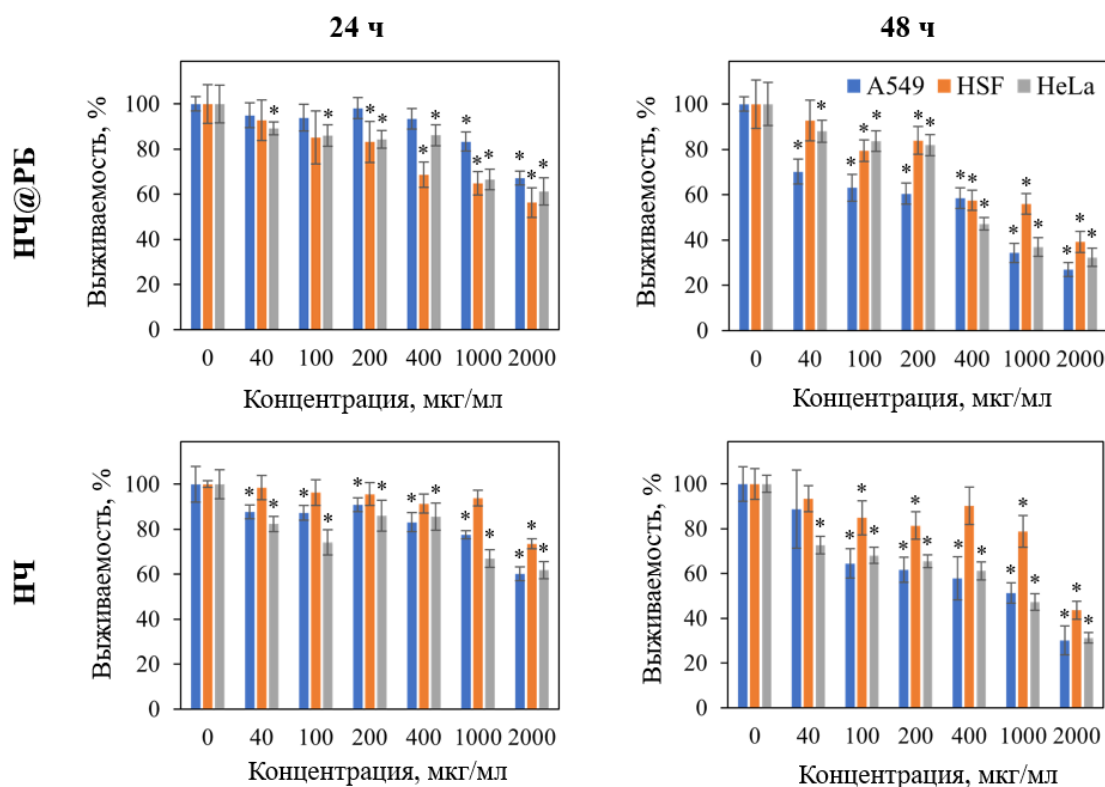


Рисунок 52 – Исследование жизнеспособности клеточных линий A459, HSF и HeLa после 24- и 48-часовой инкубации с наночастицами BaGd<sub>0,75</sub>F<sub>5</sub>:Tb<sub>0,25</sub> и их конъюгатами с фотосенсибилизатором розовым бенгальским, синтезированными микрофлюидным методом. Контрольные значения (необработанные клетки) были приняты за 100% жизнеспособности. Статистически значимые различия (p<0,05) по сравнению с контролем отмечены символом \*. Данные представлены как среднее значение процента жизнеспособности ± стандартное отклонение

Обнаружение наночастиц в клетках методом проточной цитометрии является одним из методов оценки захвата и удержания нанообъектов клетками [168]. В зависимости от оптических свойств наночастиц, увеличение сигнала бокового рассеяния для клеток может быть изменено по сравнению с контрольной линией. Действительно, поглощенные наночастицы или композиты, локализуясь внутри клеток и/или на клеточной мембране, увеличивают оптическую неоднородность клетки, что отражается на увеличении сигнала бокового рассеяния [169]. В этом исследовании были оценены изменения сигнала бокового рассеяния только в живых клетках,

определенных как PI-отрицательные. Поскольку цель заключалась в демонстрации принципиальной возможности поглощения синтезированных наночастиц клетками, для проточной цитометрии была выбрана обработка агентами в концентрации 400 мкг/мл в течение 12 часов, которая сохранила жизнеспособность большинства клеток.

Выявлено значимое изменение сигнала бокового рассеяния (*англ.* SSC – side scatter) в обработанных клетках по сравнению с контролем (Таблица 10). Только для одного варианта (HeLa, НЧ@РБ) не было зафиксировано статистически значимого увеличения SSC после инкубации. Эффект препаратов был наиболее выражен в клетках HSF, для которых было продемонстрировано увеличение бокового рассеяния в 1,63 и 1,88 раза после обработки НЧ@РБ и только НЧ соответственно. Полученные данные позволяют подтвердить предположение о способности клеток захватывать синтезированные нанообъекты. Более высокий уровень сигнала SSC, полученный для HSF, свидетельствует о том, что исследуемые наночастицы и нанокompозиты легче поглощаются этой линией.

Таблица 10 – Сигналы бокового рассеяния клеток A549, HSF и HeLa после 12-часовой инкубации с 400 мкг/мл композитов НЧ и НЧ@РБ

<b>Образец</b>	<b>A549</b>	<b>HSF</b>	<b>HeLa</b>
Контроль	28.156 ± 8.823	32.261 ± 12.467	31.060 ± 10.525
НЧ@РБ	40.398 ± 13.794*	52.504 ± 31.848*	32.343 ± 19.897
НЧ	45.946 ± 13.134*	60.513 ± 30.340*	37.061 ± 15.484*

\* -  $p < 0,05$  по сравнению с необработанным вариантом (контроль). Данные представлены в отн. ед. как среднее ± стандартное отклонение.

## Исследование биораспределения нанокompозитов методом микро-КТ

Перед экспериментами по КТ-визуализации *in vivo* оценивали способность синтезированного нанокompозита ослаблять рентгеновское излучение в сравнении с коммерческим контрастным веществом на основе йода Optiray-350®. Для этого водный раствор конъюгатов BaGd<sub>0,75</sub>F<sub>5</sub>:Tb<sub>0,25</sub>, полученный при помощи микрофлюидного синтеза с пропиткой в длинном чипе, сравнивали с Optiray-350®, разбавленным деионизированной водой для получения близких молярных концентраций тяжелых ионов (Ba<sup>2+</sup>, Gd<sup>3+</sup> и Tb<sup>3+</sup>) в синтезированном образце и I в коммерческом контрасте. В соответствии с предыдущими сообщениями об эффективности ослабления рентгеновского излучения матрицей BaGdF<sub>5</sub>, синтезированные нанокompозиты несколько превосходят по контрастной способности коммерческий йодный контрастный препарат Optiray-350® (Рисунок 53). Данное явление связано с тем, что Ba и Gd эффективнее поглощают рентгеновские фотоны высоких энергий из-за большего коэффициента ослабления рентгеновского излучения по сравнению с ионами I (при 60 кВ Ba = 8,51, Gd = 11,75 и I = 7,58 см<sup>2</sup>/г [153]).

На следующем этапе биораспределение синтезированных нанокompозитов оценивали с помощью микроКТ-томографии *in vivo*. Для проведения экспериментов синтезированные МФ композиты BaGd<sub>0,75</sub>F<sub>5</sub>:Tb<sub>0,25</sub>@РБ, полученные методом импрегнирования, тщательно (8 раз) промывали деионизированной водой, а затем полученный водный раствор (концентрация около 35 мг/мл) вводили в хвостовую вену трех мышей BALB/c. Несмотря на относительно высокую концентрацию тяжелых ионов (около 0,77 мг на 1 г массы мышей), выбранную для достижения надежного уровня контрастирования, острых токсикологических признаков за весь период наблюдения (3 недели) не наблюдалось. Результаты количественной оценки представлены на рисунке 54, а визуализация брюшной клетки мыши № 1 через различные промежутки времени после инъекции представлена на рисунке 55. В соответствии с ранее сообщенными в литературе данными [170], ПЭГ-модифицированные наночастицы BaGdF<sub>5</sub> в течение первых суток

преимущественно накапливались в печени и селезенке. Стоит отметить, что для печени максимум контраста наблюдался примерно через 1 ч после инъекции, а для селезенки максимальная концентрация наблюдалась в период от 4 ч до 24 ч.

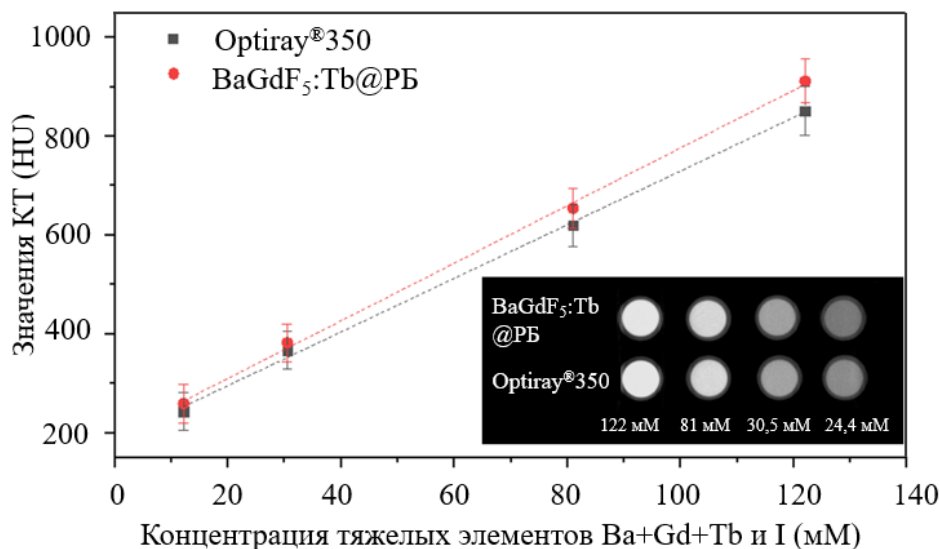


Рисунок 53— Зависимость способности ослабления рентгеновского излучения в единицах Хаунсфилда (HU, от *англ.* Hounsfield Units) от концентрации тяжелых элементов для синтезированных микрофлюидным способом нанокомпозитов BaGdF<sub>5</sub>:Tb@PB и коммерческого йодного контраста Optiray-350® при различных молярных концентрациях

У всех испытуемых мышей сразу после инъекции нанокомпозита (5 мин) наблюдалось небольшое, но систематическое увеличение контрастности сердца, что указывает на присутствие агентов в кровеносной системе мышей в относительно высоких концентрациях. Никаких изменений или стохастических изменений контрастной способности почек за весь период наблюдения не наблюдалось, что свидетельствует об отсутствии накопления нанокомпозитов в обнаруживаемых количествах.

Необычная динамика накопления нанокомпозитов в печени и селезенке наблюдалась при длительном мониторинге. В печени уже через 24 часа наблюдалось систематическое снижение концентрации, тогда как для селезенки резкое контрастирование у 2 из 3 мышей наблюдалось на 2-й день. Наименьшие концентрации нанокомпозитов для печени и селезенки

наблюдались в течение 7-9 дней после инъекции, а полученные значения КТ для тканей в обоих случаях были всего на 15-20% выше, чем для интактных мышечных (сканирование до инъекции или 0 мин).

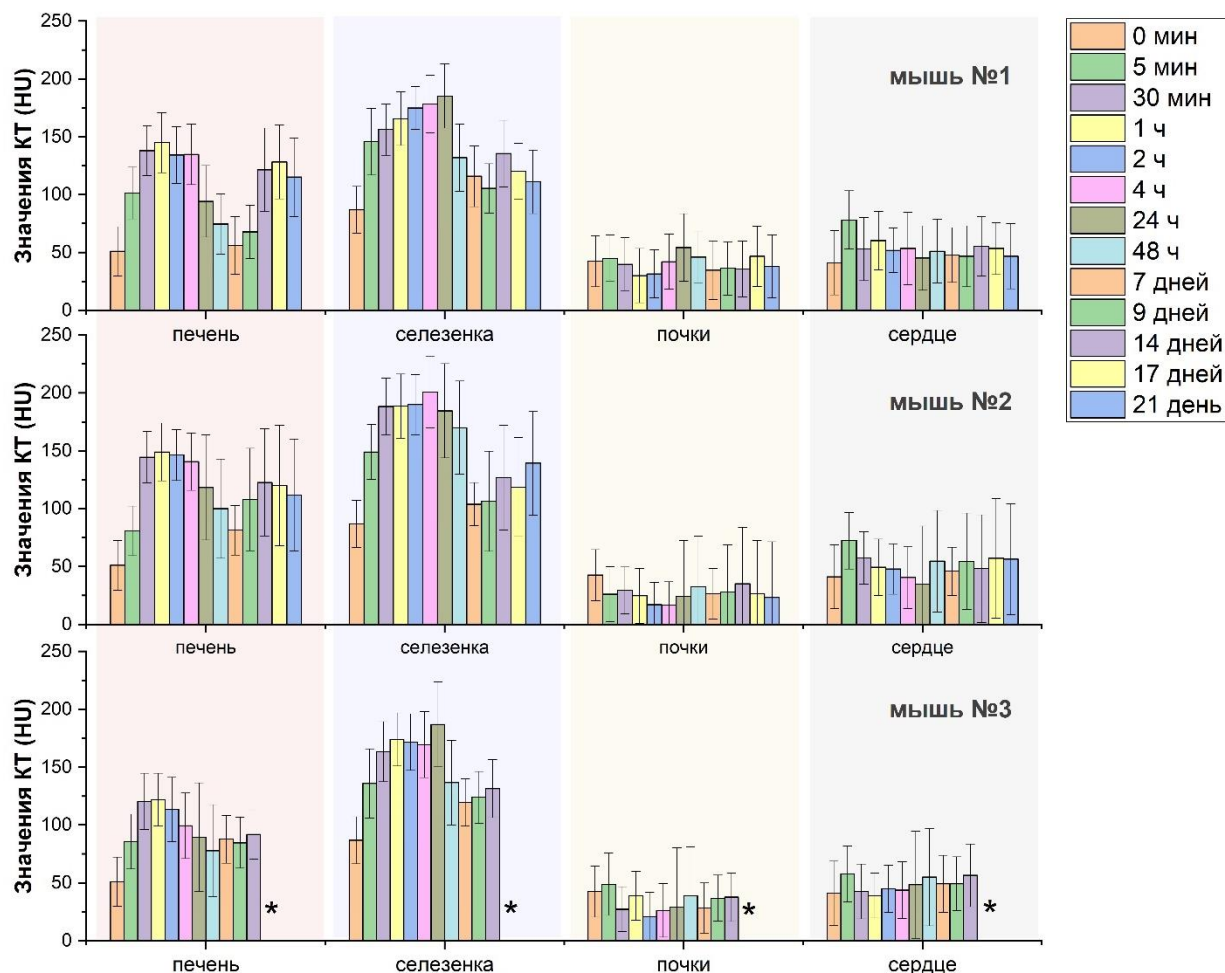


Рисунок 54 – Результаты количественного анализа биораспределения синтезированных микрофлюидным методом наноконкомпозитов  $BaGd_{0,75}F_5:Tb_{0,25}@PB$  в печени, селезенке, почках и сердце, полученные через разные промежутки времени после инъекции наноконкомпозитов в хвостовую вену мышей

Важно отметить, что после значительного спада концентрации наблюдалось повторное накопление наночастиц, преимущественно в печени. У мышей № 1 и № 2 этот эффект отчетливо проявлялся на второй и третьей неделях эксперимента. Повышение контрастности селезенки также фиксировалось на 14, 17 и 21-е сутки. Начиная с 14-го дня после инъекции и

более выражено на 17-й и 21-й дни в срединной доле печени регистрировался неравномерный характер распределения контрастного вещества; скопления наночастиц выявлялись и в ткани селезенки.

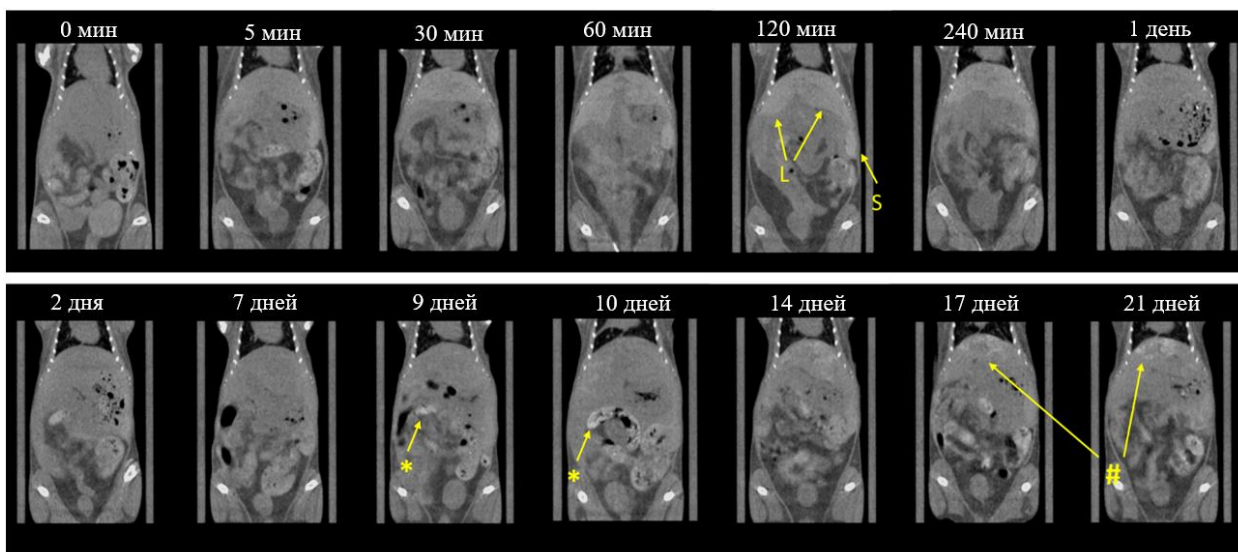


Рисунок 55 – Визуализация брюшной полости мыши № 1, оцененная с помощью рентгеновской микро-КТ для интактной мыши (0 минут) и через различные интервалы времени после инъекции нанокompозитов в хвостовую вену. L, S — локализация печени и селезенки соответственно, где преимущественно наблюдалось накопление инъецированных нанокompозитов. \* - зона повышенной контрастности толстой кишки за счет присутствия минерализованного корма мышей; # - неравномерное распределение композита в ткани средней доли печени, сформировавшееся на третьей неделе наблюдения

По этическим причинам эксперимент *in vivo* был остановлен через 21 день для мышей №1 и №2, а мышь №3 была выведена из эксперимента через 14 дней, когда эффект неравномерного перенакопления еще не проявился резко. Ткани селезенки, печени, почек и легких были собраны для дальнейшего исследования посмертно.

Таким образом, преимущественное накопление нанокompозитов наблюдалось в печени и селезенке как органах, ответственных за фильтрацию крови, характеризующихся хорошо развитой сосудистой системой. Для обоих

органов наблюдалось существенное снижение накопления НЧ в течение первой недели с последующим повторным накоплением на второй и третьей неделе. Мы предполагаем, что в период со 2-го по 9-е сутки НЧ постепенно высвобождались обратно в систему крови, тем самым констатируя, что по крайней мере часть поступивших наноагентов не подвергается фагоцитозу клетками печени и селезенки. Однако эта гипотеза должна быть точно проверена в дальнейшем. Чувствительность метода микро-КТ недостаточна для обнаружения умеренных и плавных изменений концентраций соединений в системе крови (действительно, как показано на рисунке 54, систематическое увеличение значений КТ сердца было обнаружено только в течение 5 минут сканирования сразу после инъекции, когда повышение концентрации НЧ было существенным).

Очевидно, что неравномерный характер повторного накопления нанокompозита в печени можно рассматривать как нежелательный негативный эффект, а механизм этого процесса остается неясным и станет предметом наших дальнейших исследований. Следует также отметить, что в литературе до сих пор нет данных об особенностях долговременной циркуляции наночастиц и нанокompозитов на основе  $\text{BaGdF}_5$  (или других фторидов лантаноидов).

### **3.4.2. Получение и исследование нанокompозита $\text{BaGdF}_5:\text{Eu}@MC$**

Фотосенсибилизатор метиленовый синий уже использовался в качестве фотосенсибилизатора благодаря своей способности производить синглетный кислород под воздействием УФ-видимого излучения [171-173]. Как видно из рисунка 56 спектр излучения нанокompозита  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}$  хорошо перекрывается со спектром поглощения фотосенсибилизатора метиленового синего. Исходя из приведенных критериев, для дальнейших исследований был подобран состав нанокompозита  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}@MC$  на основе люминофора, обладающего максимальным выходом люминесценции. В текущих экспериментах было оценено влияние расположенных на поверхности

люминофора групп  $Cit^-$  и поливинилпирролидона (ПВП) на качество пропитки нанокompозита.

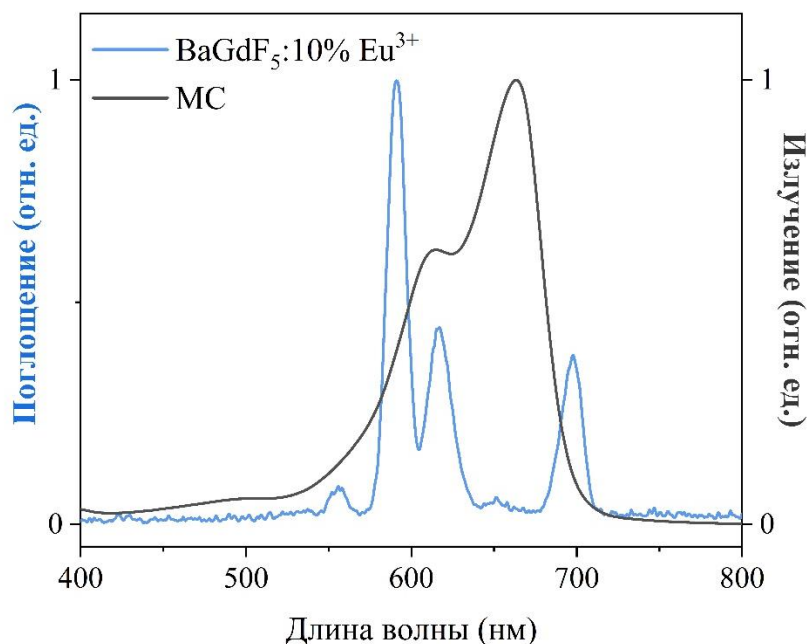


Рисунок 56 – Перекрытие спектров оптического поглощения водного раствора фотосенсибилизатора MC и спектра эмиссии наночастиц  $BaGd_{0,9}F_5:Eu_{0,1}$

Модифицированный группой  $Cit^-$  нанокompозит  $BaGd_{0,9}F_5:Eu_{0,1}@MC$  был синтезирован одностадийным микрофлюидным способом с использованием чипа топологии меандр. Для осуществления одностадийного микрофлюидного синтеза нанокompозита  $BaGd_{0,9}F_5:Eu_{0,1}$  прекурсоры были приготовлены путем растворения в отдельных колбах в смеси этиленгликоль-вода, взятой в соотношении 3:1, хлоридов  $BaCl_2$ ,  $GdCl_3$  и  $NH_4F$  в объеме 50 мл с концентрацией 0,1 М и допирующего прекурсора  $EuCl_3$  в объеме 10 мл с концентрацией 0,1 М. Дополнительно в прекурсор  $BaCl_2$  системы шприцевых насосов была добавлена натриевая соль лимонной кислоты  $Na_3C_6H_5O_7$  в концентрации 0,01 М. Затем был приготовлен водный раствор фотосенсибилизатора MC для непосредственной пропитки наночастиц в концентрации 4 мкг/мл (см. калибровочную кривую рисунке 57).

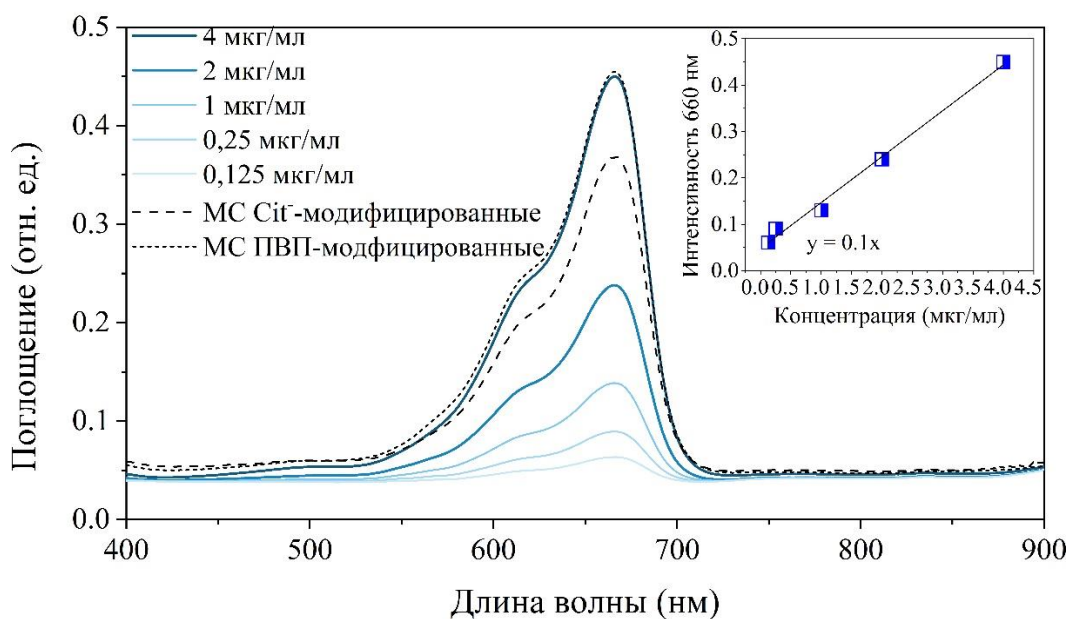


Рисунок 57 – Спектры поглощения в УФ-видимой области, полученные для растворов фотосенсибилизатора MS с различной концентрацией (с целью получения калибровочной кривой и последующей количественной оценки осаждённого на поверхности НЧ фотосенсибилизатора) и супернатантов, собранных после пропитки Cit<sup>-</sup>- и ПВП-модифицированных наночастиц BaGd<sub>0,9</sub>F<sub>5</sub>:Eu<sub>0,1</sub> в системе одностадийного проточного микрофлюидного синтеза

С помощью системы шприцевых насосов отдельно в каждый канал четырехканального микрореактора подавались подготовленные заранее растворы прекурсоров с заданными скоростями потоков: BaCl<sub>2</sub> – 10,28 мкЛ/с, GdCl<sub>3</sub> – 7,71 мкЛ/с, TbCl<sub>3</sub> – 2,57 мкЛ/с, NH<sub>4</sub>F – 10,28 мкЛ/с. Реагенты смешивались в меандре четырехканального микрореактора с суммарной скоростью потока реакционной смеси 30,84 мкЛ/с, затем на выходе из чипа подвергаясь термостатированию в масляной бане при температуре 100 °С для получения итоговой суспензии кристаллов люминофора. Смесь люминофоров охлаждалась в водяной бане до комнатной температуры и вводилась в один из каналов двухкомпонентного чипа топологии меандр, в другой канал с помощью инфузионного насоса подавался водный раствор MS со скоростью

потока 30,4 мкЛ/с, эквивалентной скорости потока результирующей реакционной смеси.

Наноккомпозит  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}@MC$  на основе ПВП-модифицированных люминофоров был также синтезирован одностадийным микрофлюидным способом с использованием двухкомпонентного чипа топологии меандр. Синтез проводился в аналогичных условиях, за исключением подготовки реактивов, в состав которых входил ПВП. Препараторы были приготовлены путем растворения в отдельных колбах в смеси этиленгликоль-вода, взятой в соотношении 3:1, хлоридов  $\text{BaCl}_2$ ,  $\text{GdCl}_3$  и  $\text{NH}_4\text{F}$  в объеме 50 мл с концентрацией 0,1 М с добавлением 5 г ПВП в каждый; и допирующего прекурсора  $\text{EuCl}_3$  в объеме 10 мл с концентрацией 0,1 М с добавлением 1 г ПВП.

Для дальнейшей количественной оценки была использована калибровочная кривая, которая отражает зависимость между концентрацией МС и интенсивностью сигнала на 660 нм. Исходя из данных оптических спектров поглощения (Рисунок 57), маточный раствор  $\text{Cit}^-$ -модифицированных наноккомпозитов содержал молекулы фотосенсибилизатора в меньшем количестве, чем в изначальном растворе с концентрацией 4 мкг/мл. Концентрация маточного раствора для этого образца составила 3,25 мкг/мл и для ПВП-модифицированных – 4 мкг/мл. Таким образом, добавление ПВП не способствует сорбции ФС на поверхности наночастиц. В свою очередь, модификация частиц группами  $\text{Cit}^-$  оказывает незначительное воздействие на пропитку, при которой только 19% от изначальной концентрации МС остается на поверхности частиц.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Настоящая работа была посвящена разработке и изучению свойств рентгенолюминесцентных наночастиц  $\text{BaGdF}_5$ , допированных редкоземельными элементами  $\text{Eu}^{3+}$ ,  $\text{Tb}^{3+}$ , а также нанокомпозитов на основе рентгеновских нанолюминофоров оптимального состава и подходящих им по спектральному перекрытию фотосенсибилизаторов.

**Первая часть работы**, результаты которой изложены в разделе 3.1., посвящена получению микроволновым методом синтеза рентгеновских нанолюминофоров  $\text{BaGd}_{1-x}\text{F}_5:\text{Eu}_x$  и  $\text{BaGd}_{1-x}\text{F}_5:\text{Tb}_x$  с различной степенью замещения ионов  $\text{Gd}^{3+}$ , а также изучению их кристаллической структуры, элементного состава, морфологии, размера, цитотоксичности и оптимальных люминесцентных характеристик. Спектральный анализ рентгенолюминесценции выявил оптимальные концентрации допирующих элементов: 10%  $\text{Eu}^{3+}$  и 25%  $\text{Tb}^{3+}$ , обеспечивающие максимальную интенсивность эмиссии в составе наночастиц  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}$  и  $\text{BaGd}_{0,75}\text{F}_5:\text{Tb}_{0,25}$ , соответственно. Сравнительный анализ методов синтеза (микроволнового и гидротермального) показал преимущества микроволнового подхода, обеспечивающего получение более мелких частиц ( $7.3 \pm 1.5$  нм при 0% воды) по сравнению с сольвотермальным методом ( $13.3 \pm 3.0$  нм в аналогичных условиях).

**Вторая часть исследований**, представленная в разделе 3.2., посвящена функционализации поверхности рентгеновских нанолюминофоров и их конъюгации с фотосенсибилизирующими молекулами. Модификация поверхности наночастиц  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}$  цитратом натрия привела к изменению  $\zeta$ -потенциала с +29.95 мВ до -30 мВ, что говорит о стабильности полученных коллоидных растворов. Наночастицы  $\text{BaGd}_{0,9}\text{F}_5:\text{Eu}_{0,1}$  были функционализированы мезопористой оболочкой диоксида кремния  $\text{SiO}_2$ . Экспериментально установлено, что уменьшение количества прекурсора ТЭОС приводит к снижению толщины кремниевой оболочки  $\text{SiO}_2$  что

сопровождается увеличением интенсивности рентгенолюминесценции. Полученные мезопористые структуры демонстрируют повышенную сорбционную способность в отношении фотосенсибилизатора метиленового синего, достигающую 55 мкг, что в 2 раза превышает аналогичный показатель для нефункционализированных наночастиц (27 мкг).

**В третьей части исследований**, представленных в разделе 3.3., описан разработанный проточный микрофлюидный способ синтеза наночастиц  $BaGd_{1-x}F_5:Tb_x$  с возможностью измерения рентгенолюминесценции в режиме *in situ*. Уменьшение температуры синтеза до 100 °С, а также времени термической обработки до 6 минут в проточном микрофлюидном режиме не приводит к потере кристалличности и монодисперсности формируемых наночастиц, при этом средний размер наночастиц составляет 7-9 нм и соответствует значениям, полученным при более высоких температурах в течении 2 часов при использовании микроволнового синтеза. Результаты исследования демонстрируют возможность точного контроля содержания легирующих элементов ( $Gd^{3+}$  и  $Tb^{3+}$ ) в процессе микрофлюидного синтеза посредством регулирования скоростей подачи прекурсоров. Важно отметить, что ключевой параметр синтезируемых образцов – интенсивность рентгенолюминесценции – может контролироваться *in situ* непосредственно в ходе синтеза. Спектроскопические исследования фотолуминесценции при возбуждении ионов  $Gd^{3+}$  лазером YAG:Nd ( $\lambda_{exc} = 274$  нм) подтвердили эффективный механизм переноса энергии по схеме  $Gd^{3+} \rightarrow Tb^{3+}$ .

**Четвертая часть исследований**, описанная в разделе 3.4., посвящена разработке одностадийным микрофлюидным способом синтеза и исследованию нанокомпозитов на основе рентгенолюминесцентных наночастиц оптимального состава  $BaGd_{0,75}F_5:Tb_{0,25}$ ,  $BaGd_{0,9}F_5:Eu_{0,1}$  и подходящих им по спектральному перекрытию фотосенсибилизаторов, бенгальского розового и метиленового синего. Было изучено влияние концентрации и скорости потока фотосенсибилизатора на процесс сорбции.

Цитотоксические исследования выявили умеренную токсичность как наночастиц  $\text{BaGdF}_5:\text{Tb}$ , так и их конъюгатов с фотосенсибилизатором розовым бенгальским. Анализ методом проточной цитометрии свидетельствует о дифференцированном клеточном поглощении: наиболее выраженное накопление наблюдалось в клетках аденокарциномы легких человека A549 и фибробластах кожи HSF, тогда как в клеточной линии HeLa поглощение было менее значительным. *In vivo* исследования продемонстрировали отсутствие признаков острой токсичности у мышей линии BALB/c и выявили нелинейную динамику биораспределения с первоначальным накоплением в печени и селезенке, последующим снижением концентрации в течение первой недели и неравномерным повторным накоплением преимущественно в средней доле печени, что было подтверждено данными рентгеновской микротомографии.

Таким образом, было сформулировано три положения, выносимых на защиту:

1. Синтезированные микроволновым методом две серии рентгеновских нанолюминофоров с составами  $\text{BaGd}_{1-x}:\text{Eu}_x$  и  $\text{BaGd}_{1-x}:\text{Tb}_x$  со средним размером частиц 11 нм имеют максимум люминесценции в красной ( $\lambda_{\text{max}} = 591$  нм) и зеленой ( $\lambda_{\text{max}} = 544$  нм) области видимого спектра, соответственно. Максимальное значение интенсивности рентгенолюминесценции для серий  $\text{BaGd}_{1-x}:\text{Eu}_x$  и  $\text{BaGd}_{1-x}:\text{Tb}_x$  с различным соотношением редкоземельных элементов наблюдается для образцов, содержащих 25% Tb и 10% Eu.

2. Использование микроволнового метода синтеза приводит к получению наночастиц  $\text{BaGd}_{0,75}\text{F}_5:\text{Tb}_{0,25}$  меньшего размера при температурах 25, 100 и 200 °C в сравнении с сольвотермальным методом. Уменьшение содержания воды с 50% до 0% в смеси растворителей этиленгликоль / вода приводит к уменьшению среднего размера наночастиц  $\text{BaGd}_{0,75}\text{F}_5:\text{Tb}_{0,25}$  с

$23,9 \pm 5,0$  нм до  $7,3 \pm 1,5$  нм при использовании микроволнового метода и с  $49,4 \pm 13,3$  нм до  $13,3 \pm 3,0$  нм при использовании сольвотермального метода.

3. Разработанный проточный микрофлюидный способ синтеза наночастиц состава  $BaGd_{1-x}F_5:Tb_x$  позволяет измерять рентгенолюминесценцию в режиме *in situ*. Уменьшение температуры синтеза до  $100$  °С и уменьшение времени термической обработки до 6 минут в проточном микрофлюидном режиме не приводят к потере кристалличности и монодисперсности формируемых наночастиц, при этом средний размер наночастиц составляет  $7 - 9$  нм, что соответствует значениям, полученным при более высоких температурах и длительной обработке при использовании микроволнового способа.

## Основные публикации автора по теме диссертации

- A1. Nanocomposites for X-ray photodynamic therapy / Z. Gadzhimagomedova, P. Zolotukhin, O. Kit [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2020. – Vol. 21, No. 11. – P. 4004. – DOI 10.3390/ijms21114004. K1;
- A2. BaGdF<sub>5</sub> Nanophosphors Doped with Different Concentrations of Eu<sup>3+</sup> for Application in X-ray Photodynamic Therapy / Z. Gadzhimagomedova, V. Polyakov, I. Pankin [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2021. – Vol. 22, No. 23. – DOI 10.3390/ijms222313040. K1;
- A3. The rare-earth elements doping of BaGdF<sub>5</sub> nanophosphors for X-ray photodynamic therapy / D. Kirsanova, V. Polyakov, V. Butova [et al.] // Nanomaterials. – 2021. – Vol. 11, No. 12. – DOI 10.3390/nano11123212. K1;
- A4. Synthesis Optimization of BaGdF<sub>5</sub>:x%Tb<sup>3+</sup> Nanophosphors for Tunable Particle Size / V. Polyakov, Z. Gadzhimagomedova, D. Kirsanova, A. Soldatov // Materials. – 2022. – Vol. 15, No. 23. – P. 8559. – DOI 10.3390/ma15238559. K1;
- A5. X-ray Nanophosphors based on BaGdF<sub>5</sub> for X-ray photodynamic therapy in oncology / D. Y. Kirsanova, V. V. Butova, V. A. Polyakov [et al.] // Nanotechnologies in Russia. – 2020. – Vol. 15, No. 1. – P. 105-111. – DOI 10.1134/S1995078020010164. [Русскоязычная версия: Нанорентгенолюминофоры на основе BaGdF<sub>5</sub> для рентгеновской фотодинамической терапии в онкологии / Д. Ю. Кирсанова, В. В. Бутова, В. А. Поляков [и др.] // Российские нанотехнологии. – 2020. – Т. 15, № 1. – С. 118-124. – DOI 10.1134/S1992722320010161. – EDN YSIKNC.]. K3;
- A6. Single-Stage Microfluidic Synthesis Route for BaGdF<sub>5</sub>:Tb<sup>3+</sup>-Based Nanocomposite Materials: Synthesis, Characterization and Biodistribution / Z. Gadzhimagomedova, I. Pankin, V. Polyakov [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2023. – Vol. 24, No. 24. – P. 17159. – DOI 10.3390/ijms242417159. K1;

### **Результаты интеллектуальной детальности по теме диссертации**

А7. Патент № 2822425 С1 Российская Федерация, МПК С09К 11/55, С09К 11/85, В82В 3/00. Микрофлюидный синтез нанокompозита на основе люминофора BaGdF<sub>5</sub>:Tb и фотосенсибилизатора бенгальского розового для применения в рентгеновской фотодинамической терапии опухолей: № 2023132850: заявл. 12.12.2023: опубл. 05.07.2024, Бюл. № 19 / З. М. Гаджимагомедова, В. А. Поляков, И. А. Панкин [и др.]; патентообладатель Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Южный федеральный университет";

А8. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2023688699 Российская Федерация. Программная реализация анализа особенностей XEOL спектров наночастиц рентгеновских люминофоров и поиска оптимизации условий реакции их синтеза: № 2023688567: заявл. 13.12.2023: опубл. 25.12.2023, Бюл. № 1 / М. С. Лифарь, И. А. Панкин, З. М. Гаджимагомедова, А. А. Гуда; правообладатель федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Южный федеральный университет». – EDN WJUAGG.

### **Иные публикации**

А9. Nanomaterials for deep tumor treatment / D. Y. Kirsanova, Z. M. Gadzhimagomedova, A. V. Soldatov, A. Y. Maksimov // Mini-Reviews in Medicinal Chemistry. – 2021. – Vol. 21, No. 6. – P. 677-688. – DOI 10.2174/138955752066620111161705. K1.

## **Благодарности**

Автор выражает глубокую признательность научному руководителю Солдатову А. В. за научное руководство и неоценимую помощь в работе над диссертацией. Искренняя благодарность коллегам Полякову В. А. и Панкину И. А. за неизменный интерес к исследованию, плодотворные дискуссии и поддержку. Автор также благодарен коллективу Международного исследовательского института интеллектуальных материалов ЮФУ за всестороннюю помощь и теплую, дружескую атмосферу.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Larue L. Using X-rays in photodynamic therapy: an overview / Larue L., Ben Mihoub A., Youssef Z., Colombeau L., Acherar S., André J. C., Arnoux P., Baros F., Vermandel M., Frochot C. // *Photochemical & Photobiological Sciences*. – 2018. – Т. 17, № 11. – С. 1612-1650.
2. Brian W. P. Optical and x-ray technology synergies enabling diagnostic and therapeutic applications in medicine / Brian W. P., Brian C. W. // *J Biomed Opt*. – 2018. – Т. 23, № 12. – С. 121610.
3. Chen W. Using nanoparticles to enable simultaneous radiation and photodynamic therapies for cancer treatment / Chen W., Zhang J. // № 1533-4880 (Print).
4. Abrahamse H. New photosensitizers for photodynamic therapy / Abrahamse H., Hamblin M. R. // № 1470-8728 (Electronic).
5. Allison R. R. Photosensitizers in clinical PDT / Allison R. R., Downie G. H., Cuenca R., Hu X.-H., Childs C. J. H., Sibata C. H. // *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. – 2004. – Т. 1, № 1. – С. 27-42.
6. Levy J. G. Photosensitizers in photodynamic therapy / Levy J. G. // *Seminars in oncology*. – 1994. – Т. 21. – С. 4-10.
7. Zhang W. Ultra-high FRET efficiency NaGdF<sub>4</sub>: Tb<sup>3+</sup>-Rose Bengal biocompatible nanocomposite for X-ray excited photodynamic therapy application / Zhang W., Zhang X., Shen Y., Shi F., Song C., Liu T., Gao P., Lan B., Liu M., Wang S., Fan L., Lu H. // *Biomaterials*. – 2018. – Т. 184. – С. 31-40.
8. Gadzhimagomedova Z. BaGdF<sub>5</sub> Nanophosphors Doped with Different Concentrations of Eu<sup>3+</sup> for Application in X-ray Photodynamic Therapy / Gadzhimagomedova Z., Polyakov V., Pankin I., Butova V., Kirsanova D., Soldatov M., Khodakova D., Goncharova A., Mukhanova E., Belanova A., Maksimov A., Soldatov A. // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – Т. 22, № 23.
9. Guan H. BaGdF<sub>5</sub>:Dy<sup>3+</sup>,Tb<sup>3+</sup>,Eu<sup>3+</sup> multifunctional nanospheres: paramagnetic, luminescence, energy transfer, and tunable color / Guan H., Song Y., Zheng K., Sheng Y., Zou H. // *Phys Chem Chem Phys*. – 2016. – Т. 18, № 20. – С. 13861-73.

10. Li H. Dual-mode, tunable color, enhanced upconversion luminescence and magnetism of multifunctional BaGdF<sub>5</sub>:Ln<sup>3+</sup> (Ln = Yb/Er/Eu) nanophosphors / Li H., Liu G., Wang J., Dong X., Yu W. // *Phys Chem Chem Phys.* – 2016. – Т. 18, № 31. – С. 21518-26.
11. Becerro A. I. Ligand-Free Synthesis of Tunable Size Ln:BaGdF<sub>5</sub> (Ln = Eu<sup>3+</sup> and Nd<sup>3+</sup>) Nanoparticles: Luminescence, Magnetic Properties, and Biocompatibility / Becerro A. I., Gonzalez-Mancebo D., Cantelar E., Cusso F., Stepien G., de la Fuente J. M., Ocana M. // *Langmuir.* – 2016. – Т. 32, № 2. – С. 411-20.
12. Kirsanova D. The rare-earth elements doping of BaGdF<sub>5</sub> nanophosphors for X-ray photodynamic therapy / Kirsanova D., Polyakov V., Butova V., Zolotukhin P., Belanova A., Gadzhimagomedova Z., Soldatov M., Pankin I., Soldatov A. // *Nanomaterials* – Т. 11, № 12. – С. 3212.
13. Gadzhimagomedova Z. Single-Stage Microfluidic Synthesis Route for BaGdF<sub>5</sub>:Tb<sup>3+</sup>-Based Nanocomposite Materials: Synthesis, Characterization and Biodistribution / Gadzhimagomedova Z., Pankin I., Polyakov V., Khodakova D., Medvedev P., Zelenikhin P., Shamsutdinov N., Chapek S., Goncharova A., Soldatov A. // *International Journal of Molecular Sciences.* – 2023.
14. Polyakov V. Synthesis Optimization of BaGdF<sub>5</sub>:x%Tb<sup>3+</sup> Nanophosphors for Tunable Particle Size / Polyakov V., Gadzhimagomedova Z., Kirsanova D., Soldatov A. // *Materials.* – 2022.
15. Улитко М. В. Люминесцентные наноматериалы, допированные редкоземельными ионами, и перспективы их биомедицинского применения (обзор) / Улитко М. В., Мышкина А. В., Пустоваров В. А., Бажукова И. Н. // *Журнал технической физики.* – 2020. – Т. 128, № 12.
16. Luksiene Z. Photodynamic therapy: mechanism of action and ways to improve the efficiency of treatment / Luksiene Z. // *Medicina (Kaunas, Lithuania).* – 2003. – Т. 39, № 12. – С. 1137-1150.
17. Panzarini E. Overview of Cell Death Mechanisms Induced by Rose Bengal Acetate-Photodynamic Therapy / Panzarini E., Inguscio V., Dini L. // *International Journal of Photoenergy.* – 2011. – Т. 2011. – С. 713726.

18. Raab O. Über die Wirkung fluorescirender Stoffe auf Infusorien / Raab O., Raab // Ztg. Biol. – 1900. № 39. – C. 524-546.
19. Tappeiner H. v. Über die Wirkung der photodynamischen (fluorescierenden) Stoffe auf Protozoen und Enzyme / Tappeiner H. v., Jodlbauer A. // Dtsch. Arch. Klin. Med. – 1904. – T. 39. – C. 427-487.
20. Kessel D. Photodynamic Therapy: A Brief History / Kessel D. // Journal of clinical medicine. – 2019. – T. 8, №10. – C. 1581.
21. Kaščáková S. X-ray-induced radiophotodynamic therapy (RPDT) using lanthanide micelles: Beyond depth limitations / Kaščáková S., Giuliani A., Lacerda S., Pallier A., Mercère P., Tóth É., Réfrégiers M. // Nano Research. – 2015. – T. 8, № 7. – C. 2373-2379.
22. Figge F. H. Cancer detection and therapy; affinity of neoplastic, embryonic, and traumatized tissues for porphyrins and metalloporphyrins / Figge F. H., Weiland G. S., Manganiello L. O. J. // Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y.). – 1948. – T. 68, № 3. – C. 640.
23. Lipson R. L. The use of a derivative of hematoporphyrin in tumor detection / Lipson R. L., Baldes E. J., Olsen A. M. // *Journal of the National Cancer Institute*. – 1961. – T. 26. – C. 1-11.
24. Dougherty T. J. Photoradiation Therapy for the Treatment of Malignant Tumors I / Dougherty T. J., Kaufman J. E., Goldfarb A., Weishaupt K. R., Boyle D., Mittleman A. // *Cancer Research*. – 1978. – T. 38, № 8. – C. 2628-2635.
25. Dougherty T. J. Photoradiation Therapy. II. Cure of Animal Tumors With Hematoporphyrin and Light<sup>23</sup> / Dougherty T. J., Grindey G. B., Fiel R., Weishaupt K. R., Boyle D. G. // *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*. – 1975. – T. 55, № 1. – C. 115-121.
26. Wen X. Photodynamic therapy in dermatology beyond non-melanoma cancer: An update / Wen X., Li Y., Hamblin M. R. // *Photodiagnosis and photodynamic therapy*. – 2017. – T. 19. – C. 140-152.

27. Akimoto J. Photodynamic Therapy for Malignant Brain Tumors / Akimoto J. // *Neurologia medico-chirurgica*. – 2016. – T. 56, № 4. – C. 151-170.
28. Dolmans D. E. Photodynamic therapy for cancer / Dolmans D. E., Fukumura D., Jain R. K. // *Nature reviews. Cancer*. – 2003. – T. 3, № 5. – C. 380-387.
29. Forastiere A. A. Concurrent chemotherapy and radiotherapy for organ preservation in advanced laryngeal cancer / Forastiere A. A., Goepfert H., Maor M., Pajak T. F., Weber R., Morrison W., Glisson B., Trotti A., Ridge J. A., Chao C., Peters G., Lee D.-J., Leaf A., Ensley J., Cooper J. // *The New England journal of medicine*. – 2003. – T. 349, № 22. – C. 2091-2098.
30. Misawa M. Generation of reactive oxygen species induced by gold nanoparticles under x-ray and UV Irradiations / Misawa M., Takahashi J. // *Nanomedicine*. – 2011. – T. 7, № 5. – C. 604-14.
31. Elmenoufy A. H. A novel deep photodynamic therapy modality combined with CT imaging established via X-ray stimulated silica-modified lanthanide scintillating nanoparticles / Elmenoufy A. H., Tang Y., Hu J., Xu H., Yang X. // *Chem Commun (Camb)*. – 2015. – T. 51, № 61. – C. 12247-50.
32. Fan W. Overcoming the Achilles' heel of photodynamic therapy / Fan W., Huang P., Chen X. // *Chem Soc Rev*. – 2016. – T. 45, № 23. – C. 6488-6519.
33. Chen H. Nanoscintillator-mediated X-ray inducible photodynamic therapy for in vivo cancer treatment / Chen H., Wang G. D., Chuang Y. J., Zhen Z., Chen X., Biddinger P., Hao Z., Liu F., Shen B., Pan Z., Xie J. // *Nano Lett*. – 2015. – T. 15, № 4. – C. 2249-56.
34. Sivasubramanian M. Evolution of Nanoparticle-Mediated Photodynamic Therapy: From Superficial to Deep-Seated Cancers / Sivasubramanian M., Chuang Y. C., Lo L. W. // *Molecules*. – 2019. – T. 24, № 3.
35. Cline B. Nanoparticles to mediate X-ray-induced photodynamic therapy and Cherenkov radiation photodynamic therapy / Cline B., Delahunty I., Xie J. // *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*. – 2019. – T. 11, № 2. – C. 1541.
36. Larue L. Using X-rays in photodynamic therapy: an overview / Larue L., Ben Mihoub A., Youssef Z., Colombeau L., Acherar S., Andre J. C., Arnoux P., Baros

- F., Vermandel M., Frochet C. // *Photochem Photobiol Sci.* – 2018. – T. 17, № 11. – C. 1612-1650.
37. Chen H. P. A magnetic vehicle realized tumor cell-targeted radiotherapy using low-dose radiation / Chen H. P., Tung F. I., Chen M. H., Liu T. Y. // *J Control Release.* – 2016. – T. 226. – C. 182-92.
38. Gadzhimagomedova Z. Nanocomposites for X-Ray Photodynamic Therapy / Gadzhimagomedova Z., Zolotukhin P., Kit O., Kirsanova D., Soldatov A. // *Int J Mol Sci.* – 2020. – T. 21, № 11.
39. Kamkaew A. Scintillating Nanoparticles as Energy Mediators for Enhanced Photodynamic Therapy / Kamkaew A., Chen F., Zhan Y., Majewski R. L., Cai W. // *ACS Nano.* – 2016. – T. 10, № 4. – C. 3918-3935.
40. Ren X. D. Progress in the development of nanosensitizers for X-ray-induced photodynamic therapy / Ren X. D., Hao X. Y., Li H. C., Ke M. R., Zheng B. Y., Huang J. D. // *Drug discovery today.* – 2018. – T. 23, № 10. – C. 1791-1800.
41. Cline B. Nanoparticles to mediate X-ray-induced photodynamic therapy and Cherenkov radiation photodynamic therapy / Cline B., Delahunty I., Xie J. A.-O. // *Wiley interdisciplinary reviews. Nanomedicine and nanobiotechnology.* – 2019. – T. 11, № 2. – C. 1541.
42. Rolim J. P. M. L. The antimicrobial activity of photodynamic therapy against *Streptococcus mutans* using different photosensitizers / Rolim J. P. M. L., de-Melo M. A. S., Guedes S. F., Albuquerque-Filho F. B., de Souza J. R., Nogueira N. A. P., Zanin I. C. J., Rodrigues L. K. A. // *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology.* – 2012. – T. 106. – C. 40-46.
43. Dhamgaye S. In vitro effect of malachite green on *Candida albicans* involves multiple pathways and transcriptional regulators UPC2 and STP2 / Dhamgaye S., Devaux F., Manoharlal R., Vandeputte P., Shah A. H., Singh A., Blugeon C., Sanglard D., Prasad R. // *Antimicrobial agents and chemotherapy.* – 2012. – T. 56, №1. – C. 495-506.

44. Wood S. Erythrosine is a potential photosensitizer for the photodynamic therapy of oral plaque biofilms / Wood S., Metcalf D., Devine D., Robinson C. // *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. – 2006. – T. 57, №4. – C. 680-684.
45. Baldea I. Photodynamic therapy in melanoma—an update / Baldea I., Filip A. G. // *Journal of physiology and pharmacology: an official journal of the Polish Physiological Society*. – 2012. – T. 63, №2. – C. 109-118.
46. Orsi D. Rationale design of a layer-by-layer nanostructure for X-ray induced photodynamic therapy / Orsi D., Bernardi D., Giovanardi G., Rossi F., Szczepanowicz K., Cristofolini L. // *Colloid and Interface Science Communications*. – 2020. – T. 39. – C. 100327.
47. He L. Recent Progress and Trends in X-ray-Induced Photodynamic Therapy with Low Radiation Doses / He L., Yu X., Li W. // *ACS Nano*. – 2022. – T. 16, № 12. – C. 19691-19721.
48. Förster T. Zwischenmolekulare Energiewanderung und Fluoreszenz / Förster T. // *Annalen der Physik*. – 1948. – T. 437, № 1-2. – C. 55-75.
49. Schneckenburger H. Förster resonance energy transfer—what can we learn and how can we use it? / Schneckenburger H. // *Methods and Applications in Fluorescence*. – 2020. – T. 8, № 1. – C. 013001.
50. Chirio-Lebrun M.-C. Fluorescence resonance energy transfer (FRET): theory and experiments / Chirio-Lebrun M.-C., Prats M. // *Biochemical Education*. – 1998. – T. 26, № 4. – C. 320-323.
51. Selvin P. R. Luminescence energy transfer using a terbium chelate: improvements on fluorescence energy transfer / Selvin P. R., Hearst J. E. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 1994. – T. 91, № 21. – C. 10024-10028.
52. Sun W. Nanoscintillator-Mediated X-Ray Induced Photodynamic Therapy for Deep-Seated Tumors: From Concept to Biomedical Applications / Sun W., Zhou Z., Prats G., Chen X., Chen H. // *Theranostics*. – 2020. – T. 10, № 3. – C. 1296–1318.
53. Sinha C. Förster resonance energy transfer - an approach to visualize the spatiotemporal regulation of macromolecular complex formation and

compartmentalized cell signaling / Sinha C., Arora K., Moon C. S., Yarlagadda S., Woodrooffe K., Naren A. P. // *Biochimica et biophysica acta.* – 2014. – T. 1840, № 10. – C. 3067–3072.

54. Yang C.-C. Development of Ce-doped TiO<sub>2</sub> activated by X-ray irradiation for alternative cancer treatment / Yang C.-C., Sun Y.-J., Chung P.-H., Chen W.-Y., Swieszkowski W., Tian W., Lin F.-H. // *Ceramics International.* – 2017. – T. 43, № 15. – C. 12675-12683.

55. Yang C. C. Carbon-Doped TiO<sub>2</sub> Activated by X-Ray Irradiation for the Generation of Reactive Oxygen Species to Enhance Photodynamic Therapy in Tumor Treatment / Yang C. C., Tsai M. H., Li K. Y., Hou C. H., Lin F. H. // *Int J Mol Sci.* – 2019. – T. 20, № 9.

56. Liu J. Magnetic and fluorescent Gd<sub>2</sub>O<sub>3</sub>:Yb<sup>3+</sup>/Ln<sup>3+</sup> nanoparticles for simultaneous upconversion luminescence/MR dual modal imaging and NIR-induced photodynamic therapy / Liu J., Huang L., Tian X., Chen X., Shao Y., Xie F., Chen D., Li L. // *International journal of nanomedicine.* – 2016. – T. 12. – C. 1-14.

57. Li H. In vitro photodynamic therapy based on magnetic-luminescent Gd<sub>2</sub>O<sub>3</sub>:Yb,Er nanoparticles with bright three-photon up-conversion fluorescence under near-infrared light / Li H., Song S., Wang W., Chen K. // *Dalton Transactions.* – 2015. – T. 44, № 36. – C. 16081-16090.

58. Ma L. X-ray excited ZnS:Cu,Co afterglow nanoparticles for photodynamic activation / Ma L., Zou X., Bui B., Chen W., Song K. H., Solberg T. // *Applied Physics Letters.* – 2014. – T. 105, № 1. – C. 013702.

59. Maji S. K. Luminescence-Tunable ZnS—AgInS<sub>2</sub> Nanocrystals for Cancer Cell Imaging and Photodynamic Therapy / Maji S. K. // *ACS Applied Bio Materials.* – 2022. – T. 5, № 3. – C. 1230-1238.

60. Scaffidi J. P. Activity of Psoralen-Functionalized Nanoscintillators against Cancer Cells upon X-ray Excitation / Scaffidi J. P., Gregas M. K., Lauly B., Zhang Y. // *ACS Nano.* – 2011. – T. 5, № 6. – C. 4679-4687.

61. Zhang H. J. Evaluation of Y<sub>2</sub>O<sub>3</sub>:Eu@SiO<sub>2</sub> Nanoparticles as Photosensitizer for X-Ray Activated Photodynamic Therapy in Cancer / Zhang H. J., Ide T.,

- Sivasubramanian M., Leoni L., Souris J. S., Brahmabhatt D., Tanios E., Pan A., Cheng S.-H., Chen N.-T., Lo L.-W., Chen C.-T. // EditorPreprints. 2024.
62. Chen H. LiGa<sub>5</sub>O<sub>8</sub>:Cr-based theranostic nanoparticles for imaging-guided X-ray induced photodynamic therapy of deep-seated tumors / Chen H., Sun X., Wang G. D., Nagata K., Hao Z., Wang A., Li Z., Xie J., Shen B. // Mater Horiz. – 2017. – T. 4, № 6. – C. 1092-1101.
63. Zhu G. GdVO<sub>4</sub>:Eu<sup>3+</sup>,Bi<sup>3+</sup> Nanoparticles as a Contrast Agent for MRI and Luminescence Bioimaging / Zhu G., Chen L., Zeng F., Gu L., Yu X., Li X., Jiang J., Guo G., Cao J., Tang K., Zhu H., Daldrup-Link H. E., Wu M. // ACS Omega. – 2019. – T. 4, № 14. – C. 15806-15814.
64. Hubenko K. Reactive oxygen species generation in aqueous solutions containing GdVO<sub>4</sub>:Eu<sup>3+</sup> nanoparticles and their complexes with methylene blue / Hubenko K., Yefimova S., Tkacheva T., Maksimchuk P., Borovoy I., Klochkov V., Kavok N., Opolonin O., Malyukin Y. // Nanoscale Res Lett. – 2018. – T. 13, № 1. – C. 100.
65. Mian F. Chromium doped ZnGa<sub>2</sub>O<sub>4</sub> thin films: An X-ray absorption near edge structure (XANES) and X-ray excited optical luminescence (XEOL) study / Mian F., Bottaro G., Wang Z., Yiu Y.-M., Rancan M., Sham T.-K., Armelao L. // Applied Surface Science. – 2022. – T. 577. – C. 151896.
66. Rana S. Direct hard X-ray photodetector with superior sensitivity based on ZnGa<sub>2</sub>O<sub>4</sub> epilayer grown by metalorganic chemical vapor deposition / Rana S., Chiu S.-J., Huang C.-Y., Tairtan F.-G., Lin Y.-G., Wu D.-S., Singh J. P., Su G.-C., Liu P.-L., Horng R.-H. // Materials Today Advances. – 2023. – T. 19. – C. 100411.
67. Tuerdi A. Dual-functional persistent luminescent nanoparticles with enhanced persistent luminescence and photocatalytic activity / Tuerdi A., Abdukayum A. // RSC Advances. – 2019. – T. 9, № 31. – C. 17653-17657.
68. Song L. Low-Dose X-ray Activation of W(VI)-Doped Persistent Luminescence Nanoparticles for Deep-Tissue Photodynamic Therapy / Song L., Li P.-P., Yang W., Lin X.-H., Liang H., Chen X.-F., Liu G., Li J., Yang H.-H. // Advanced Functional Materials. – 2018. – T. 28, № 18.

69. Bulin A.-L. X-ray-Induced Singlet Oxygen Activation with Nanoscintillator-Coupled Porphyrins / Bulin A.-L., Truillet C., Chouikrat R., Lux F., Frochot C., Amans D., Ledoux G., Tillement O., Perriat P., Barberi-Heyob M., Dujardin C. // *The Journal of Physical Chemistry C*. – 2013. – T. 117, № 41. – C. 21583-21589.
70. Ma L. X-ray excited ZnS:Cu,Co afterglow nanoparticles for photodynamic activation / Ma L., Zou X., Bui B., Chen W., Song K. H., Solberg T. // *Applied Physics Letters*. – 2014. – T. 105, № 1.
71. Kaščáková S. X-ray-induced radiophotodynamic therapy (RPDT) using lanthanide micelles: Beyond depth limitations / Kaščáková S., Giuliani A., Lacerda S., Pallier A., Mercère P. // *Nano Research*. – 2017. – T. 8. – C. 2372-2379.
72. Boiy A. Photosensitizing activity of hypericin and hypericin acetate after topical application on normal mouse skin / Boiy A., Roelandts R., van den Oord J., de Witte P. A. M. // *The British journal of dermatology*. – 2008. – T. 158, № 2. – C. 360-369.
73. Cheng Y. Highly Efficient Drug Delivery with Gold Nanoparticle Vectors for in Vivo Photodynamic Therapy of Cancer / Cheng Y., Samia A. C., Meyers J. D., Panagopoulos I., Fei B., Burda C. // *Journal of the American Chemical Society*. – 2008. – T. 130, № 32. – C. 10643-10647.
74. Huang X. Plasmonic photothermal therapy (PPTT) using gold nanoparticles / Huang X., Jain P. K., El-Sayed I. H., El-Sayed M. A. // *Lasers in Medical Science*. – 2008. – T. 23, № 3. – C. 217-228.
75. Dykman L. Gold nanoparticles in biomedical applications: recent advances and perspectives / Dykman L., Khlebtsov N. // *Acta naturae*. – T. 3, № 2. – C. 34-55.
76. Connor E. E. Gold nanoparticles are taken up by human cells but do not cause acute cytotoxicity / Connor E. E., Mwamuka J., Gole A., Murphy C. J., Wyatt M. D. // № 1613-6829 (Electronic).
77. Tew L. S. Pollen-Structured Gold Nanoclusters for X-ray Induced Photodynamic Therapy / Tew L. S., Cai M. T., Lo L. W., Khung Y. L., Chen N. T. // *Materials (Basel)*. – 2018. – T. 11, № 7.

78. Lei S. The effectiveness and safety of X-PDT for cutaneous squamous cell carcinoma and melanoma / Lei S., Pei L., Jing W., Lun M. // *Nanomedicine*. – 2019. – T. 14, № 15. – C. 2027-2043.
79. Shrestha S. X-ray induced photodynamic therapy with copper-cysteamine nanoparticles in mice tumors / Shrestha S., Wu J., Sah B., Vanasse A., Cooper L. N., Ma L., Li G., Zheng H., Chen W., Antosh M. P. // *Proc Natl Acad Sci U S A*. – 2019. – T. 116, № 34. – C. 16823-16828.
80. Kirakci K. Octahedral molybdenum clusters as radiosensitizers for X-ray induced photodynamic therapy / Kirakci K., Zelenka J., Rumlová M., Martinčík J., Nikl M., Ruml T., Lang K. // *Journal of Materials Chemistry B*. – 2018. – T. 6, № 26. – C. 4301-4307.
81. Kumar P. Metal organic frameworks for sensing applications / Kumar P., Deep A., Kim K.-H. // *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. – 2015. – T. 73. – C. 39-53.
82. Zhou H.-C. Introduction to Metal—Organic Frameworks / Zhou H.-C., Long J. R., Yaghi O. M. // *Chemical Reviews*. – 2012. – T. 112, № 2. – C. 673-674.
83. Wang H.-S. Metal—organic frameworks for biosensing and bioimaging applications / Wang H.-S. // *Coordination Chemistry Reviews*. – 2017. – T. 349. – C. 139-155.
84. Cunha D. Rationale of Drug Encapsulation and Release from Biocompatible Porous Metal—Organic Frameworks / Cunha D., Ben Yahia M., Hall S., Miller S. R., Chevreau H., Elkaïm E., Maurin G., Horcajada P., Serre C. // *Chemistry of Materials*. – 2013. – T. 25, № 14. – C. 2767-2776.
85. Liu J. Nanoscale metal-organic frameworks for combined photodynamic & radiation therapy in cancer treatment / Liu J., Yang Y., Zhu W., Yi X., Dong Z., Xu X., Chen M., Yang K., Lu G., Jiang L., Liu Z. // *Biomaterials*. – 2016. – T. 97. – C. 1-9.
86. Maggiorella L. Nanoscale radiotherapy with hafnium oxide nanoparticles / Maggiorella L., Barouch G., Devaux C., Pottier A., Deutsch E., Bourhis J., Levy E. B. L. // *Future Oncology*. – 2012. – T. 8, № 9. – C. 1167-1181.

87. Lan G. Titanium-Based Nanoscale Metal-Organic Framework for Type I Photodynamic Therapy / Lan G., Ni K., Veroneau S. S., Feng X., Nash G. T., Luo T., Xu Z., Lin W. // *J Am Chem Soc.* – 2019. – T. 141, № 10. – C. 4204-4208.
88. Lu K. Low-dose X-ray radiotherapy-radiodynamic therapy via nanoscale metal-organic frameworks enhances checkpoint blockade immunotherapy / Lu K., He C., Guo N., Chan C., Ni K., Lan G., Tang H., Pelizzari C., Fu Y. X., Spiotto M. T., Weichselbaum R. R., Lin W. // *Nat Biomed Eng.* – 2018. – T. 2, № 8. – C. 600-610.
89. Lu K. Nanoscale metal-organic framework for highly effective photodynamic therapy of resistant head and neck cancer / Lu K., He C., Lin W. // *J Am Chem Soc.* – 2014. – T. 136, № 48. – C. 16712-5.
90. Chen Y. Folic acid-nanoscale gadolinium-porphyrin metal-organic frameworks: fluorescence and magnetic resonance dual-modality imaging and photodynamic therapy in hepatocellular carcinoma / Chen Y., Liu W., Shang Y., Cao P., Cui J., Li Z., Yin X., Li Y. // *International journal of nanomedicine.* – 2018. – T. 19, № 14. – C. 57-74.
91. Lu K. Low-dose X-ray radiotherapy-radiodynamic therapy via nanoscale metal-organic frameworks enhances checkpoint blockade immunotherapy / Lu K., He C., Guo N., Chan C., Ni K. A.-O., Lan G., Tang H., Pelizzari C., Fu Y. A.-O. X., Spiotto M. T., Weichselbaum R. R., Lin W. A.-O. // *Nature biomedical engineering.* – 2018. – T. 2, № 8. – C. 600-610.
92. Lan G. Nanoscale Metal-Organic Layers for Deeply Penetrating X-ray-Induced Photodynamic Therapy / Lan G., Ni K., Xu R., Lu K., Lin Z., Chan C., Lin W. A.-O. // *Angewandte Chemie (International ed. in English).* – 2017. – T. 56, № 40. – C. 12102–12106.
93. Rojas S. Metal organic frameworks based on bioactive components / Rojas S., Devic T., Horcajada P. // *Journal of Materials Chemistry B.* – 2017. – T. 5, № 14. – C. 2560-2573.
94. Nguyen C. V. A metal-free, high nitrogen-doped nanoporous graphitic carbon catalyst for an effective aerobic HMF-to-FDCA conversion / Nguyen C. V., Liao

- Y.-T., Kang T.-C., Chen J. E., Yoshikawa T., Nakasaka Y., Masuda T., Wu K. C. W. // *Green Chemistry*. – 2016. – T. 18, № 22. – C. 5957-5961.
95. Imaz I. Metal-biomolecule frameworks (MBioFs) / Imaz I., Rubio-Martinez M., An J., Sole-Font I., Rosi N. L., Maspoch D. // *Chem Commun (Camb)*. – 2011. – T. 47, № 26. – C. 7287-302.
96. Hsu S. H. Platinum-free counter electrode comprised of metal-organic-framework (MOF)-derived cobalt sulfide nanoparticles for efficient dye-sensitized solar cells (DSSCs) / Hsu S. H., Li C. T., Chien H. T., Salunkhe R. R., Suzuki N., Yamauchi Y., Ho K. C., Wu K. C. // *Sci Rep*. – 2014. – T. 4. – C. 6983.
97. Song M.-R. Zeolitic imidazolate metal organic framework-8 as an efficient pH-controlled delivery vehicle for zinc phthalocyanine in photodynamic therapy / Song M.-R., Li D.-Y., Nian F.-Y., Xue J.-P., Chen J.-J. // *Journal of Materials Science*. – 2017. – T. 53, № 4. – C. 2351-2361.
98. Shi F.-N. Hydro-Ionothermal Synthesis of Lanthanide-Organic Frameworks with 1,4-Phenylenebis(methylene)diphosphonate / Shi F.-N., Trindade T., Rocha J., Paz F. A. A. // *Crystal Growth & Design*. – 2008. – T. 8, № 11. – C. 3917-3920.
99. Hu S. A new fluorescent biosensor based on inner filter effect and competitive coordination with the europium ion of non-luminescent Eu-MOF nanosheets for the determination of alkaline phosphatase activity in human serum / Hu S., Liu J., Wang Y., Liang Z., Hu B., Xie J., Wong W.-L., Wong K.-Y., Qiu B., Peng W. // *Sensors and Actuators B: Chemical*. – 2023. – T. 380. – C. 133379.
100. Yang X.-p. Syntheses, structures and luminescent properties of new lanthanide-based coordination polymers based on 1,4-benzenedicarboxylate (bdc) / Yang X.-p., Jones R. A., Rivers J. H., Lai R. J. // *Dalton transactions*. – 2007. – T. 35. – C. 3936-42.
101. Feng J.-f. Facile and Rapid Growth of Nanostructured Ln-BTC Metal—Organic Framework Films by Electrophoretic Deposition for Explosives sensing in Gas and Cr<sup>3+</sup> Detection in Solution / Feng J.-f., Yang X., Gao S.-y., Shi J., Cao R. // *Langmuir*. – 2017. – T. 33, № 50. – C. 14238-14243.

102. Naccache R. The Fluoride Host: Nucleation, Growth, and Upconversion of Lanthanide-Doped Nanoparticles / Naccache R., Yu Q., Capobianco J. // *Advanced Optical Materials*. – 2015. – T. 3, № 4.
103. Yi T. Establishment of NaLuF<sub>4</sub>:15%Tb-based low dose X-PDT agent and its application on efficient antitumor therapy / Yi T., Zhiguang F., Xiaosheng Z., Chunjing Z., Jinwei H., Li F., Chaojun S., Qian Y., Mei S., Yu W. // *International Journal of Minerals, Metallurgy and Materials*. – 2023.10.1007/s12613-023-2717-3.
104. Zhang L. Growth phase diagram and X-ray excited luminescence properties of NaLuF<sub>4</sub>:Tb<sup>3+</sup> nanoparticles / Zhang L., Xu F., Lei T., Zhang X., Lan B., Li T., Yu J., Lu H., Zhang W. // *Arabian Journal of Chemistry*. – 2023. – T. 16, № 6. – C. 104672.
105. Fulbert C. Using rare-earth based nanoscintillators for X-ray induced photodynamic therapy / Fulbert C., Stelse-Masson S., Chaput F., Jacquet T., Nomezine A., Bohic S., Brueckner D., Garrevoet J., Moriscot C., Gallet B., Elleaume H., Bulin A.-L. // *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. – 2023. – T. 41. – C. 103421.
106. Kamkaew A. Scintillating Nanoparticles as Energy Mediators for Enhanced Photodynamic Therapy / Kamkaew A., Chen F., Zhan Y., Majewski R. L., Cai W. // *ACS Nano*. – 2016. – T. 10, № 4. – C. 3918-3935.
107. He F. Optimization of upconversion luminescence of Nd<sup>3+</sup>-sensitized BaGdF<sub>5</sub>-based nanostructures and their application in dual-modality imaging and drug delivery / He F., Li C., Zhang X., Chen Y., Deng X., Liu B., Hou Z., Huang S., Jin D., Lin J. // *Dalton Transactions*. – 2016. – T. 45, № 4. – C. 1708-1716.
108. Li H. Eu<sup>3+</sup>/Tb<sup>3+</sup> doped cubic BaGdF<sub>5</sub> multifunctional nanophosphors: Multicolor tunable luminescence, energy transfer and magnetic properties / Li H., Liu G., Wang J., Dong X., Yu W. // *Journal of Luminescence*. – 2017. – T. 186. – C. 6-15.
109. Li H. Dual-mode, tunable color, enhanced upconversion luminescence and magnetism of multifunctional BaGdF<sub>5</sub>:Ln<sup>3+</sup> (Ln = Yb/Er/Eu) nanophosphors / Li H.,

- Liu G., Wang J., Dong X., Yu W. // *Physical Chemistry Chemical Physics*. – 2016. – T. 18, № 31. – C. 21518-21526.
110. Liu D. Reaction study of  $\alpha$ -phase NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er generation via a tubular microreactor: discovery of an efficient synthesis strategy / Liu D., Jing Y., Wang K., Wang Y., Luo G. // *Nanoscale*. – 2019. – T. 11, № 17. – C. 8363-8371.
111. Yang D. Ultra-small BaGdF<sub>5</sub>-based upconversion nanoparticles as drug carriers and multimodal imaging probes / Yang D., Dai Y., Liu J., Zhou Y., Chen Y., Li C., Ma P. a., Lin J. // *Biomaterials*. – 2014. – T. 35, № 6. – C. 2011-2023.
112. Zeng S. Dual-modal fluorescent/magnetic bioprobes based on small sized upconversion nanoparticles of amine-functionalized BaGdF<sub>5</sub>:Yb/Er / Zeng S., Tsang M.-K., Chan C.-F., Wong K.-L., Fei B., Hao J. // *Nanoscale*. – 2012. – T. 4, № 16. – C. 5118-5124.
113. Kirsanova D. The Rare-Earth Elements Doping of BaGdF<sub>5</sub> Nanophosphors for X-ray Photodynamic Therapy / Kirsanova D., Polyakov V., Butova V., Zolotukhin P., Belanova A., Gadzhimagomedova Z., Soldatov M., Pankin I., Soldatov A. // *Nanomaterials*. – 2021. – T. 11, № 12.
114. Guo L. Crystal structure and up- and down-conversion properties of Yb<sup>3+</sup>, Ho<sup>3+</sup> codoped BaGdF<sub>5</sub> solid-solution with different morphologies / Guo L., Wang Y., Wang Y., Zhang J., Dong P. // *CrystEngComm*. – 2012. – T. 14, № 9. – C. 3131-3141.
115. Guan H. BaGdF<sub>5</sub>:Dy<sup>3+</sup>, Tb<sup>3+</sup>, Eu<sup>3+</sup> multifunctional nanospheres: paramagnetic, luminescence, energy transfer, and tunable color / Guan H., Song Y., Zheng K., Sheng Y., Zou H. // *Physical Chemistry Chemical Physics*. – 2016. – T. 18, № 20. – C. 13861-13873.
116. Becerro A. I. Ligand-Free Synthesis of Tunable Size Ln:BaGdF<sub>5</sub> (Ln = Eu<sup>3+</sup> and Nd<sup>3+</sup>) Nanoparticles: Luminescence, Magnetic Properties, and Biocompatibility / Becerro A. I., González-Mancebo D., Cantelar E., Cussó F., Stepien G., de la Fuente J. M., Ocaña M. // *Langmuir*. – 2016. – T. 32, № 2. – C. 411-420.
117. Liu W. Ionic liquid/H<sub>2</sub>O two-phase synthesis and luminescence properties of BaGdF<sub>5</sub>:RE<sup>3+</sup> (RE = Ce/Dy/Eu/Yb/Er) octahedra / Liu W., Sun Q., Zou H., Zhang

X., Xiao X., Shi Z., Song Y. // *New Journal of Chemistry*. – 2021. – T. 45, № 2. – C. 742-750.

118. Li F. Microwave-assisted synthesis and up—down conversion luminescent properties of multicolor hydrophilic  $\text{LaF}_3:\text{Ln}^{3+}$  nanocrystals / Li F., Li C., Liu X., Bai T., Dong W., Zhang X., Shi Z., Feng S. // *Dalton Transactions*. – 2013. – T. 42, № 6. – C. 2015-2022.

119. Alakshin E. M. Microwave-Assisted Hydrothermal Synthesis and Annealing of  $\text{DyF}_3$  Nanoparticles / Alakshin E. M., Klochkov A. V., Kondratyeva E. I., Korableva S. L., Kiiamov A. G., Nuzhina D. S., Stanislavovas A. A., Tagirov M. S., Zakharov M. Y., Kodjikian S. // *Journal of Nanomaterials*. – 2016. – T. 2016. – C. 7148307.

120. Nizamutdinov A.  $\text{CeF}_3\text{-YF}_3\text{-TbF}_3$  Nanoparticle-Polymer-"Radachlorin" Conjugates for Combined Photodynamic Therapy: Synthesis, Characterization, and Biological Activity / Nizamutdinov A., Lukinova E., Shamsutdinov N., Zelenikhin P., Khusainova A., Gafurov M., Zinchenko S., Safin D., Pudovkin M. // *Journal of Composites Science*. – 2023. – T. 7, № 6.

121. Lei Y. Microwave-assisted synthesis of hydrophilic  $\text{BaYF}_5:\text{Tb/Ce,Tb}$  green fluorescent colloid nanocrystals / Lei Y., Pang M., Fan W., Feng J., Song S., Dang S., Zhang H. // *Dalton Transactions*. – 2011. – T. 40, № 1. – C. 142-145.

122. Achilefu S. Lanthanide-doped nanoparticles for hybrid x-ray/optical imaging / Achilefu S., Sudheendra L., Das G. K., Li C., Cherry S. R., Kennedy I. M., Raghavachari R. // 2013.

123. Zhang C. Marriage of scintillator and semiconductor for synchronous radiotherapy and deep photodynamic therapy with diminished oxygen dependence / Zhang C., Zhao K., Bu W., Ni D., Liu Y., Feng J., Shi J. // *Angew Chem Int Ed Engl*. – 2015. – T. 54, № 6. – C. 1770-4.

124. Parak W. J. Lanthanum fluoride nanoparticles for radiosensitization of tumors / Parak W. J., Osinski M., Liang X.-J., Kudinov K., Bekah D., Cooper D., Shastry S., Hill C., Bradforth S., Nadeau J. // *Reporters, Markers, Dyes, Nanoparticles, and Molecular Probes for Biomedical Applications V*. 2016. – T. 8596. – C. 1-8.

125. Chen M. H. Non-invasive Photodynamic Therapy in Brain Cancer by Use of Tb<sup>3+</sup>-Doped LaF<sub>3</sub> Nanoparticles in Combination with Photosensitizer Through X-ray Irradiation: A Proof-of-Concept Study / Chen M. H., Jenh Y. J., Wu S. K., Chen Y. S., Hanagata N., Lin F. H. // *Nanoscale Res Lett.* – 2017. – T. 12, № 1. – C. 62.
126. Tang Y. A Highly Efficient FRET System Capable for Deep Photodynamic Therapy Established on X-Ray Excited Mesoporous LaF<sub>3</sub>:Tb Scintillating Nanoparticles / Tang Y., Hu J., Elmenoufy A., Yang X. // *ACS Applied materials and interfaces.* – 2015.
127. Popovich K. Preliminary study on singlet oxygen production using CeF<sub>3</sub>:Tb<sup>3+</sup>@SiO<sub>2</sub>-PpIX / Popovich K., Procházková L., Pelikánová I. T., Vlk M., Palkovský M., Jarý V., Nikl M., Múčka V., Mihóková E., Čuba V. // *Radiation Measurements.* – 2016. – T. 90. – C. 325-328.
128. Ahmad F. Codoping Enhanced Radioluminescence of Nanoscintillators for X-ray-Activated Synergistic Cancer Therapy and Prognosis Using Metabolomics / Ahmad F., Wang X., Jiang Z., Yu X., Liu X., Mao R., Chen X., Li W. // *ACS Nano.* – 2019. – T. 13, № 9. – C. 10419-10433.
129. Zhu X. Redispersible and water-soluble LaF<sub>3</sub>:Ce,Tb nanocrystals via a microfluidic reactor with temperature steps / Zhu X., Zhang Q., Li Y., Wang H. // *Journal of Materials Chemistry.* – 2008. – T. 18, № 42. – C. 5060-5062.
130. Zhu X. Facile crystallization control of LaF<sub>3</sub>/LaPO<sub>4</sub>:Ce, Tb nanocrystals in a microfluidic reactor using microwave irradiation / Zhu X., Zhang Q., Li Y., Wang H. // *Journal of Materials Chemistry.* – 2010. – T. 20, № 9. – C. 1766-1771.
131. Ma J. Facile synthesis and functionalization of color-tunable Ln<sup>3+</sup>-doped KGdF<sub>4</sub> nanoparticles on a microfluidic platform / Ma J., Yi C., Li C.-W. // *Materials Science and Engineering: C.* – 2020. – T. 108. – C. 110381.
132. Isikawa M. Microfluidic Synthesis of Theranostic Nanoparticles with Near-Infrared Scintillation: Toward Next-Generation Dosimetry in X-ray-Induced Photodynamic Therapy / Isikawa M., Guidelli E. // *ACS Applied Materials & Interfaces.* – 2022. – T. 14, № 1. – C. 324-336.

133. Council N. R. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals: Eighth Edition. / Council N. R. – Washington, DC: The National Academies Press, 2011. – 246 c.
134. Kirsanova D. Y. X-ray nanophosphors based on BaGdF<sub>5</sub> for X-ray photodynamic therapy in oncology / Kirsanova D. Y., Butova V. V., Polyakov V. A., Zolotukhin P. V., Belanova A. A., Legostaev V. M., Kuchma E. A., Gadzhimagomedova Z. M., Soldatov A. V. // Nanotechnologies in Russia. – 2020. – T. 15, № 1. – C. 105-111.
135. Shannon R. D. Revised Effective Ionic Radii and Systematic Studies of Interatomic Distances in Halides and Chalcogenides / Shannon R. D. // Acta Cryst. – 1976. – T. 32. – C. 751-767.
136. Banski M. Rice oil as a green source of capping ligands for GdF<sub>3</sub> nanocrystals / Banski M., Noculak A., Misiewicz J., Podhorodecki A. // New Journal of Chemistry. – 2016. – T. 40, № 9. – C. 7928-7934.
137. Zhang P. Core—shell BaYbF<sub>5</sub>:Tm@BaGdF<sub>5</sub>:Yb,Tm nanocrystals for in vivo trimodal UCL/CT/MR imaging / Zhang P., He Y., Liu J., Feng J., Sun Z., Lei P., Yuan Q., Zhang H. // RSC Advances. – 2016. – T. 6, № 17. – C. 14283-14289.
138. Xu C. Upconversion luminescence and magnetic properties of ligand-free monodisperse lanthanide doped BaGdF<sub>5</sub> nanocrystals / Xu C., Ma M., Yang L., Zeng S., Yang Q. // Journal of Luminescence. – 2011. – T. 131, № 12. – C. 2544-2549.
139. Chieng B. Poly(lactic acid)/Poly(ethylene glycol) Polymer Nanocomposites: Effects of Graphene Nanoplatelets / Chieng B., Ibrahim N., Yunus W., Hussein M. // Polymers. – 2013. – T. 6, № 1. – C. 93-104.
140. Zhang H. Graphene oxide-BaGdF<sub>5</sub> nanocomposites for multi-modal imaging and photothermal therapy / Zhang H., Wu H., Wang J., Yang Y., Wu D., Zhang Y., Zhang Y., Zhou Z., Yang S. // Biomaterials. – 2015. – T. 42. – C. 66-77.
141. Jorma H. Crystal Fields in REOF:Eu<sup>3+</sup> (RE=La, Gd and Y) / Jorma H., Eija K. // J. CHEM. SOC. FARADAY TRANS. – 1995. – T. 91, № 10. – C. 1503-1509.

142. Cheng S. D. Enhancement of green emission from  $Tb^{3+}$ :GdOBr phosphors with  $Ce^{3+}$  ion co-doping / Cheng S. D., Kam C. H., Buddhudu S. // *Materials Research Bulletin*. – 2001. – T. 31. – C. 1131—1137.
143. Xu S. Luminescence and energy transfer of  $Eu^{2+}/Tb^{3+}/Eu^{3+}$  in  $LiBaBO_3$  phosphors with tunable-color emission / Xu S., Li P., Wang Z., Li T., Bai Q., Sun J., Yang Z. // *Journal of Materials Chemistry C*. – 2015. – T. 3, № 35. – C. 9112-9121.
144. Kadu P. J. Enhancement of oral bioavailability of atorvastatin calcium by self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS) / Kadu P. J., Kushare S. S., Thacker D. D., Gattani S. G. // *Pharm Dev Technol*. – 2011. – T. 16, № 1. – C. 65-74.
145. Asadi A. Effect of sonication characteristics on stability, thermophysical properties, and heat transfer of nanofluids: A comprehensive review / Asadi A., Pourfattah F., Miklós Szilágyi I., Afrand M., Żyła G., Seon Ahn H., Wongwises S., Minh Nguyen H., Arabkoohsar A., Mahian O. // *Ultrasonics Sonochemistry*. – 2019. – T. 58. – C. 104701.
146. Dey D. A review of nanofluid preparation, stability, and thermo-physical properties: Dey et al / Dey D., Kumar P., Samantaray S. // *Heat Transfer-Asian Research*. – 2017. – T. 46.
147. Ali N. A Review on Nanofluids: Fabrication, Stability, and Thermophysical Properties / Ali N., Amaral Teixeira J., Addali A. // *Journal of Nanomaterials*. – 2018. – T. 2018.
148. Luo Y.-R. Comprehensive handbook of chemical bond energies. / Luo Y.-R. // CRC press, 2007.
149. Zhao Q. Inorganic-salt-induced morphological transformation and luminescent performance of  $GdF_3$  nanostructures / Zhao Q., Lü W., Guo N., Jia Y., Lv W., Shao B., Jiao M., You H. // *Dalton Transactions*. – 2013. – T. 42, № 19. – C. 6902-6908.
150. Bohne D. Thermal, Conductivity, Density, Viscosity, and Prandtl-Numbers of Ethylene Glycol-Water Mixtures / Bohne D., Fischer S., Obermeier E. // *Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie*. – 1984. – T. 88. – C. 739-742.

151. Ludwig J. Particle size-controllable microwave-assisted solvothermal synthesis of the high-voltage cathode material  $\text{LiCoPO}_4$  using water/ethylene glycol solvent blends / Ludwig J., Haering D., Doeff M. M., Nilges T. // *Solid State Sciences*. – 2017. – T. 65. – C. 100-109.
152. Thottoli A. K. Effect of trisodium citrate concentration on the particle growth of ZnS nanoparticles / Thottoli A. K., Unni A. K. A. // *Journal of Nanostructure in Chemistry*. – 2013. – T. 3, № 1. – C. 56.
153. M.J. Silva-Silva. Single and mixed adsorption of Cd(II) and Cr(VI) onto citrate-coated magnetite nanoparticles, *Desalination and Water Treatment* / M.J. Silva-Silva, O.F. Mijangos-Ricardez, V. Vázquez-Hipólito, S. Martínez-Vargas, J. López-Luna // *Circulation*. – 2016. – T. 57, № 9. – C. 4008-4017.
154. Liang Y. Synthesis and characterization of core-shell structured  $\text{SiO}_2@YVO_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$  microspheres / Liang Y., Ouyang J., Wang H., Wang W., Chui P., Sun K. // *Applied Surface Science*. – 2012. – T. 258, № 8. – C. 3689-3694.
155. Musić S. Precipitation of amorphous  $\text{SiO}_2$  particles and their properties / Musić S., Filipović-Vinceković N., Sekovanić L. // *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. – 2011. – T. 28, № 1. – C. 89 - 94.
156. Teleanu D. M. Neuronanomedicine: An Up-to-Date Overview / Teleanu D. M., Chircov C., Grumezescu A. M., Teleanu R. I. // *Pharmaceutics*. – 2019. – T. 11, № 3.
157. Belanova A. A mini-review of X-ray photodynamic therapy (XPDT) nonoagent constituents' safety and relevant design considerations / Belanova A., Chmykhalo V., Beseda D., Belousova M., Butova V., Soldatov A., Makarenko Y., Zolotukhin P. // *Photochem Photobiol Sci*. – 2020. – T. 19, № 9. – C. 1134-1144.
158. Lewis G. N. Dimeric and Other Forms of Methylene Blue: Absorption and Fluorescence of the Pure Monomer / Lewis G. N., Goldschmid O., Magel T. T., Bigeleisen J. // *Journal of the American Chemical Society*. – 1943. – T. 65, № 6. – C. 1150-1154.
159. Pepe G. Rationalizing the suitability of rhodamines as chromophores in dye-sensitized solar cells: a systematic molecular design study / Pepe G., Cole J. M.,

Waddell P. G., Perry J. I. // *Molecular Systems Design & Engineering*. – 2016. – T. 1, № 4. – C. 416-435.

160. Fernandez-Perez A. Visible Light Spectroscopic Analysis of Methylene Blue in Water; What Comes after Dimer? / Fernandez-Perez A., Marban G. // *ACS Omega*. – 2020. – T. 5, № 46. – C. 29801-29815.

161. Martini I. Ultrafast Photophysical Investigation of Cresyl Violet Aggregates Adsorbed onto Nanometer-Sized Particles of SnO<sub>2</sub> and SiO<sub>2</sub> / Martini I., Hartland G. V., Kamat P. V. // *The Journal of Physical Chemistry B*. – 1997. – T. 101, № 24. – C. 4826-4830.

162. Kaur R. Development of agri-biomass based lignin derived zinc oxide nanocomposites as promising UV protectant-cum-antimicrobial agents / Kaur R., Thakur N. S., Chandna S., Bhaumik J. // *Journal of Materials Chemistry B*. – 2020. – T. 8, № 2. – C. 260-269.

163. Petříček V. Crystallographic Computing System JANA2006: General features / Petříček V., Dušek M., Palatinus L. // *Zeitschrift für Kristallographie - Crystalline Materials*. – 2014. – T. 229, № 5.

164. Shannon R. D. Revised effective ionic radii and systematic studies of interatomic distances in halides and chalcogenides / Shannon R. D. // *Acta Crystallographica Section A*. – 1976. – T. 32, № 5. – C. 751-767.

165. Kuhn D. A. Different endocytotic uptake mechanisms for nanoparticles in epithelial cells and macrophages / Kuhn D. A., Vanhecke D., Michen B., Blank F., Gehr P., Petri-Fink A., Rothen-Rutishauser B. // *Beilstein Journal of Nanotechnology*. – 2014. – T. 5. – C. 1625-1636.

166. Ehrlich M. Endocytosis by Random Initiation and Stabilization of Clathrin-Coated Pits / Ehrlich M., Boll W., van Oijen A., Hariharan R., Chandran K., Nibert M. L., Kirchhausen T. // *Cell*. – 2004. – T. 118, № 5. – C. 591-605.

167. Canton I. Endocytosis at the nanoscale / Canton I., Battaglia G. // *Chemical Society Reviews*. – 2012. – T. 41, № 7. – C. 2718-2739.

168. Jochums A. Revelation of Different Nanoparticle-Uptake Behavior in Two Standard Cell Lines NIH/3T3 and A549 by Flow Cytometry and Time-Lapse

Imaging. LID - 10.3390/toxics5030015 [doi] LID - 15 / Jochums A., Friehs E., Sambale F., Lavrentieva A., Bahnemann D., Scheper T. // № 2305-6304 (Electronic).

169. Zucker R. M. Detection of TiO<sub>2</sub> nanoparticles in cells by flow cytometry / Zucker R. M., Massaro E. J., Sanders K. M., Degn L. L., Boyes W. K. // № 1552-4930 (Electronic).

170. Wang T. Active targeted dual-modal CT/MR imaging of VX2 tumors using PEGylated BaGdF<sub>5</sub> nanoparticles conjugated with RGD / Wang T., Jia G., Cheng C., Wang Q., Li X., Liu Y., He C., Chen L., Sun G., Zuo C. // *New Journal of Chemistry*. – 2018. – T. 42, № 14. – C. 11565-11572.

171. Bechet D. Nanoparticles as vehicles for delivery of photodynamic therapy agents / Bechet D., Couleaud P., Frochot C., Viriot M. L., Guillemin F., Barberi-Heyob M. // *Trends Biotechnol.* – 2008. – T. 26, № 11. – C. 612-21.

172. Dayane B. T. Methylene Blue-Containing Silica-Coated Magnetic Particles: A Potential Magnetic Carrier for Photodynamic Therapy / Dayane B. T., Lucas L. R. V., Evandro L. D., Rosangela I., Pedro K. K., Maurício S. B., Liane M. R. // *Langmuir*. – 2007. № 23. – C. 8194-8199.

173. He X. Methylene blue-encapsulated phosphonate-terminated silica nanoparticles for simultaneous in vivo imaging and photodynamic therapy / He X., Wu X., Wang K., Shi B., Hai L. // *Biomaterials*. – 2009. – T. 30, № 29. – C. 5601-9.