

## МОДИФИКАЦИЯ НАНОКРИСТАЛЛИЧЕСКОГО КРЕМНИЯ ПОЛИМЕРАМИ ДЛЯ БИМЕДИЦИНСКИХ ПРИЛОЖЕНИЙ

**Н.В. Шаронова, Е.Ю. Ягудаева, С.В. Сизова, Е.В. Смирнова, А.Ю. Ермакова, А.П. Свиридов,  
В.П. Zubov, А.А. Ищенко**

Нина Валерьевна Шаронова\*, Анатолий Александрович Ищенко

Кафедра аналитической химии, Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, МИРЭА – Российский технологический университет, просп. Вернадского, 78, Москва, Российская Федерация, 119571

E-mail: NinavSharonova@yandex.ru\*, aischenko@yasenevo.ru

Елена Юрьевна Ягудаева\*, Светлана Викторовна Сизова, Евгения Владимировна Смирнова

Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, ул. Миклухо-Маклая, 16/10, корп. 24, Москва, Российская Федерация, 117997

E-mail: elena-yagudaeva@yandex.ru\*, smirnova.evgeniya@gmail.com

Анна Юрьевна Ермакова

Российский университет дружбы народов, ул. Миклухо-Маклая, 6, Москва, Российская Федерация, 117198

E-mail: anna\_ermakova\_93@bk.ru

Александр Петрович Свиридов

Институт фотонных технологий РАН, Федеральный научно-исследовательский центр «Кристаллография и фотоника РАН, ул. Пионерская, 2, Троицк, Москва, Российская Федерация, 108840

E-mail: sviridoa@gmail.com

Виталий Павлович Zubov

Кафедра химии и технологии высокомолекулярных соединений, Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, МИРЭА – Российский технологический университет, просп. Вернадского 78, Москва, Российская Федерация, 119571

Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, ул. Миклухо-Маклая, 16/10, корп. 24, Москва, Российская Федерация, 117997

E-mail: zubov@ibch.ru

*В настоящей работе предложено использовать полимермодифицированные композитные материалы на основе нанокристаллического кремния (nc-Si) в качестве альтернативы органическим флуоресцентным меткам, традиционно применяемым в медицине. Отличительной особенностью nc-Si является высокий коэффициент поглощения в ближнем УФ и сине-фиолетовом диапазоне и способность пропускать свет в видимой области спектра. Основным преимуществом наночастиц на основе кремния для использования in vivo является их биodeградируемость и отсутствие токсических свойств. Для гидрофилизации наночастиц кремния проведена модификация их поверхности амфифильными биосовместимыми полимерами: поливинилпирролидоном, сополимером малеинового ангидрида и 1-октадецена, кремофором, представляющим собой полиоксиэтилированное гидрированное касторовое масло. В работе использовали фотолюминесцирующие в красно-инфракрасной области спектра наночастицы кремния (nc-Si) со средним диаметром 4,5 нм, синтезированные отжигом SiO при 1150 °C и функционализированные 1-октадеценом. Наличие полимерной оболочки на поверхности наночастиц подтверждали ИК-Фурье спектроскопией. Проведен анализ седиментационной и агрегативной устойчивости полученных частиц в воде. Показано, что после модификации nc-Si полимерами фотолюминесцентные свойства наночастиц сохраняются, хотя модификация приводит к сдвигу спектров фотолюминесценции в коротковолновую область. Анализ цитотоксичности модифицированных полимерами частиц нанокремния, проведенный с помощью колориметрического МТТ-теста с использованием моноклонизированных клеток эритролейкоза человека K562, показал отсутствие токсичности для*

*клеток в культуре при концентрации частиц до 50 мкг/мл. С помощью флуоресцентной микроскопии показана субклеточная локализация наночастиц кремния с использованием клеточной линии карциномы шейки матки человека HeLa. Полученные полимермодифицированные частицы nc-Si могут быть рекомендованы для целей биомиметизации в *in vitro* и *in vivo* приложениях.*

**Ключевые слова:** наночастицы кремния, амфифильные полимеры, наноконпозиты, ИК-Фурье спектроскопия, фотолюминесценция, цитотоксичность

## MODIFICATION OF NANOCRYSTALLINE SILICON BY POLYMERS FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS

**N.V. Sharonova, E.Yu. Yagudaeva, S.V. Sizova, E.V. Smirnova, A.Yu. Ermakova, A.P. Sviridov,  
V.P. Zubov, A.A. Ischenko**

Nina V. Sharonova\*, Anatoly A. Ischenko

Department of Analytical Chemistry, MIREA- Russian Technological University, M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, Vernadskogo ave., 78, Moscow, 119571, Russia

E-mail: NinavSharonova@yandex.ru\*, aischenko@yasenevo.ru

Elena Yu. Yagudaeva\*, Svetlana V. Sizova, Evgeniya V. Smirnova

M.M. Shemyakin & Yu.A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, RAS, Miklukho-Maklay st., 16/10, GSP-7, Moscow, 117997, Russia

E-mail: elena-yagudaeva@yandex.ru\*, smirnova.evgeniya@gmail.com

Anna Yu. Ermakova

Russian University of Peoples' Friendship, Miklukho-Maklay st., 6, Moscow, 117198, Russia

E-mail: anna\_ermakova\_93@bk.ru

Alexander P. Sviridov

Institute of Photon Technologies of Federal Scientific Research Centre "Crystallography and Photonics", RAS, Russia, Pionerskaya st., 2, Troitsk, 108840, Russia,

E-mail: sviridoa@gmail.com

Vitaly P. Zubov

Department of Chemistry and Technology of Macromolecular Compounds, Moscow University of Technology, Institute of Fine Chemical Technologies, Vernadskogo ave., 78, Moscow, 119571, Russia

M.M. Shemyakin & Yu.A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, RAS, Miklukho-Maklay st., 16/10, GSP-7, Moscow, 117997, Russia

E-mail: zubov@ibch.ru

*In this paper, it is proposed to use polymer-modified composite materials based on nanocrystalline silicon (nc-Si) as an alternative to organic fluorescent quantum dots traditionally used in medicine. A distinctive feature of nc-Si is a high absorption coefficient in the near UV and blue-violet range and the ability to transmit light in the visible region of the spectrum. The main advantage of silicon-based nanoparticles for *in vivo* use is their biodegradability and the absence of toxic properties. For hydrophilization of silicon nanoparticles, their surface was modified by amphiphilic biocompatible polymers: polyvinylpyrrolidone, a copolymer of maleic anhydride and 1-octadecene, cremophore, which is a polyoxyethylene derivative of hydrogenated castor oil. Silicon nanoparticles (nc-Si) with an average diameter of 4.5 nm, synthesized by annealing of SiO at 1150 °C, and functionalized with 1-octadecene photoluminescent in the red-infrared spectral region were used. The presence of the polymer shell on the surface of the nanoparticles was confirmed by FTIR spectroscopy. The sedimentation and aggregative stability of the particles in water were analyzed.*

*It is shown that after the nc-Si polymer modification, the photoluminescent properties of nanoparticles are retained although the photoluminescence maxima were shifted to the blue region. Colorimetric MTT-assay of the cytotoxicity of the nanoparticles modified with polymers to monoclonal cells of human erythroleukemia K562 showed no toxicity for cells in culture at a particle concentration of up to 50 µg/ml. Subcellular localization of silicon nanoparticles into the human cervical carcinoma cell line HeLa was shown by means of fluorescence microscopy. The obtained polymer-modified nc-Si particles can be recommended for the purposes of bioimaging in vitro and in vivo applications.*

**Key words:** silicon nanoparticles, amphiphilic polymers, nanocomposites, FTIR spectroscopy, photoluminescence, cytotoxicity

**Для цитирования:**

Шаронова Н.В., Ягудаева Е.Ю., Сизова С.В., Смирнова Е.В., Ермакова А.Ю., Свиридов А.П., Zubov В.П., Ищенко А.А. Модификация нанокристаллического кремния полимерами для биомедицинских приложений. *Изв. вузов. Химия и хим. технология.* 2019. Т. 62. Вып. 9. С. 86–96

**For citation:**

Sharonova N.V., Yagudaeva E.Yu., Sizova S.V., Smirnova E.V., Ermakova A.Yu., Sviridov A.P., Zubov V.P., Ischenko A.A. Modification of nanocrystalline silicon by polymers for biomedical applications. *Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.* 2019. V. 62. N 9. P. 86–96

## ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в современных медицинских диагностических системах широко используются различные флуоресцентные метки, среди которых важное место занимают, например, квантовые точки [1-3]. Однако, высокая токсичность для живого организма существенно ограничивает их применение.

Недавно было показано, что ценными фотолуминесцентными свойствами обладает нанокристаллический кремний (nc-Si). Отличительной особенностью nc-Si является высокий коэффициент поглощения в ближнем УФ и сине-фиолетовом диапазоне и способность пропускать свет в видимой области спектра [4]. В зависимости от диаметра кристаллического ядра изменяются фотолуминесцентные свойства нанокремния благодаря квантово-размерным эффектам [4, 5]. Основным преимуществом наночастиц на основе кремния по сравнению с традиционно используемыми квантовыми точками является биodeградируемость и отсутствие токсических свойств [6]. В живом организме наночастицы кремния подвергаются биodeградации с образованием ортокремниевой кислоты, которая затем легко выводится из организма [7]. Однако, в силу особенностей получения, частицы nc-Si имеют гидрофобную поверхность и поэтому практически не пригодны для *in vivo* приложений. Выход может быть найден в их гидрофиллизации с использованием различных полимерных модификаторов поверхности наночастиц.

Модификация наночастиц полимерами наряду с гидрофиллизацией поверхности должна обеспечивать сохранение их физико-химических

свойств при взаимодействии с компонентами биологической среды организма, в частности фотолуминесцентных свойств, т.к. согласно литературным данным [8, 9], наночастицы, попадая в кровяное русло, адсорбируют на своей поверхности белки, образуя так называемую «белковую корону». Вследствие этого, адсорбированные компоненты среды могут изменять свойства наночастиц, такие как поверхностный заряд и растворимость. Это определяет коллоидную стабильность и биологическую активность, в том числе способность проникать в клетку и взаимодействовать с ее структурными компонентами [10, 11]. При использовании наночастиц для направленной доставки лекарственных препаратов необходимо подавить этот неспецифический иммунный ответ путем создания биосовместимых оболочек [12]. Таким образом, разработка подходов к формированию полимерных покрытий на поверхности наночастиц кремния для получения флуоресцентных дисперсий является актуальной задачей.

Цель настоящей работы состояла в гидрофиллизации поверхности частиц нанокремния амфифильными полимерами, исследование спектральных характеристик и изучение влияния полученных нанокомпозитов на жизнеспособность клеток в культуре на линии раковых клеток, в том числе проникающей способности наночастиц в клетки.

В настоящей работе использовали квантово-размерные кремниевые наночастицы, полученные в результате диспропорционирования SiO при его отжиге (1150 °C), имеющие кристаллическое ядро среднего диаметра 4,5 нм. Наночастицы имеют структуру типа «ядро-оболочка» (core-shell). Ядро

наночастицы состоит из нанокристаллического кремния (рис. 1). Оболочка образована 1-октадецильными радикалами в результате термически-активированной реакции гидросилилирования с 1-октадеценом. При воздействии воздушной атмосферы часть (Si-H) групп нанокремния, не вступивших в реакцию гидросилилирования, окисляется кислородом воздуха, образуя островки субоксида  $\text{SiO}_x$  ( $0 \leq x \leq 2$ ). Полученные квантовые точки обладают яркой устойчивой фотолюминесценцией в "окне прозрачности" биотканей и являются перспективными, прежде всего для ранней диагностики онкологических заболеваний.

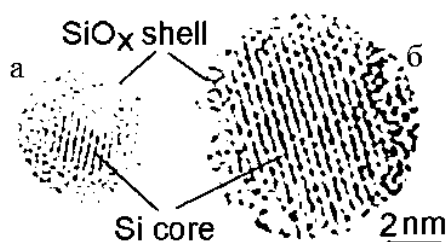


Рис. 1. Типичные TEM-изображения высокого разрешения (JEM 2100 F/Cs instrument, JEOL) квантовых точек синтезированного *np-Si* ясно демонстрируют кристаллическое ядро *Si* диаметром ~ 2 нм для «маленькой» наночастицы (а) и ~ 6 нм для «большой» наночастицы (б). Толщина аморфной оболочки  $\text{SiO}_x$  в обоих случаях составляет 1-1,5 нм

Fig. 1. The typical HRTEM images (JEM 2100 F/Cs instrument, JEOL) of the synthesized *npSi/SiO<sub>x</sub>* (Fig.1) clearly demonstrate a crystalline *Si* core with a diameter of ~2 nm for a "small" nanoparticle (a) and ~6 nm for "large" nanoparticle (b). The thickness of the amorphous  $\text{SiO}_x$  shell in both cases is 1-1.5 nm

В качестве модификаторов гидрофобной поверхности наночастиц кремния использовали биосовместимые поверхностно-активные полимеры: кремофор (Cremofor), поливинилпирролидон (PVP), сополимер малеинового ангидрида и 1-октадецена (РМАО) [13-15]. Кремофор является распространенным коллоидным стабилизатором, используемым в рецептуре многих медицинских препаратов [16]. Для этих целей также применяют поливинилпирролидон, благодаря его хорошей связующей и пленкообразующей способности, а также сродству к гидрофильным и гидрофобным поверхностям. Кроме того, PVP образует комплексные соединения с целым рядом веществ, включая фармакологически активные субстанции, которые хорошо растворяются в воде [17]. Аналогичными свойствами обладает сополимер малеинового ангидрида и 1-октадецена. Было показано, что при сольubilизации гидрофобных наночастиц РМАО образующиеся наночастицы характеризуются узким распределением по размеру, причем интенсивность фотолюминесценции квантовых точек значительно увеличивается [18].

## МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Использовали золь наночастиц кремния *np-Si* в гексане. Средний диаметр наночастиц, определенный методом малоуглового рассеяния рентгеновского излучения, 4,5 нм; *np-Si* получены при термическом отжиге монооксида кремния  $\text{SiO}$  с последующим гидросилилированием в 1-октадецене [19]. Наночастицы *Si* обладают яркой фотолюминесценцией в красной и ближнеинфракрасной области спектра. Для гидрофилизации частиц нанокремния использовали кремофор, представляющий собой гидрированное касторовое масло, модифицированное полиэтиленгликолем 40 Cremophor RH40 (PEG-40 Hydrogenated Castor Oil, BASF), полиэтиленимин PEI, (ММ 25000, Aldrich), поливинилпирролидон (PVP) (Povidone K25, BASF), чередующийся сополимер малеинового ангидрида и 1-октадецена (РМАО, Mn 30000-50000, Aldrich), бис(гексаметилен)триамин (Acros Organics), ТМАН (гидроксид тетраметиламмония, 25% водный раствор, Sigma-Aldrich), Tween-80 (Aldrich), хлороформ (Aldrich), NaCl, воду-стадарт milli-Q. Для оценки цитотоксичности использовали клетки эритролейкоза K562, среду RPMI, содержащую 10% фетальной бычьей сыворотки (FBS), 100 ед./мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина. Для МТТ-теста использовали раствор 3-[4,5-диметилтиазол-2-ил]-2,5-дифенилтетразолия бромид (МТТ) в фосфатном буферном растворе (PBS) с концентрацией 5 мг/мл. Клеточные линии выращивали в  $\text{CO}_2$ -инкубаторе, а оценку жизнеспособности обработанных наночастицами клеток измеряли на планшетном спектрофотометре.

**Модификация частиц нанокремния кремофором.** В расплавленный при температуре 70 °С кремофор (навески от 0,2 г до 0,6 г) добавляли 200 мкл золя частиц нанокремния в гексане (0,2 мг), предварительно прошедшего ультразвуковую обработку. Перемешивали смесь на магнитной мешалке с нагревом при температуре 32 °С. После выпаривания гексана добавляли 10 мл  $\text{H}_2\text{O}$  и продолжали перемешивание без нагрева. Добавляли дистиллированную воду 5 мл и/или дистиллированную воду 5 мл и 200 мкл Tween-80 и перемешивали 8 мин в режиме переменного нагрева. Ультразвуковую обработку проводили в водяной ультразвуковой ванне в течение 40 с (ультразвуковая ванна Elmasonic P30H, частота 37 кГц, мощность 520 Вт). Затем добавляли 0,5M NaCl (1 мл) и перемешивали. После чего полученный золь помещали в холодильник с температурой +4 °С на 2 ч.

**Модификация частиц нанокремния полиэтиленимином (PEI) и поливинилпирролидоном (PVP).** На первом этапе *np-Si* модифицировали полиэтиленимином. PEI растворяли в хлороформе (25 мг/мл). К 1 мл полученного раствора добавляли 50 мкл золя *np-Si* в гексане и инкубировали в течение 30 мин при постоянном перемешивании. Затем растворители выпаривали на роторном испарителе.

К полученному вязкому осадку добавляли раствор поливинилпирролидона в хлороформе (50 мг/мл), инкубировали при комнатной температуре в течение 2 ч, затем нагревали до 70 °С и выдерживали до полного удаления растворителя. Полученный осадок переводили в водную фазу (4 мл) под действием ультразвука (ультразвуковая ванна Elmasonic P 30H, частота 37 кГц, пиковая мощность ультразвука 520 Вт). Агрегаты, присутствующие в суспензии, удаляли очисткой через фильтр с диаметром пор 0,02 мкм (Anodisc 25, Whatman).

**Модификация частиц нанокремния сополимером малеинового ангидрида и 1-октадецена РМАО.** Частицы *nc-Si* диспергировали в хлороформе до концентрации 0,1 мг/мл (концентрацию *nc-Si* определяли гравиметрически), добавляли раствор РМАО (400 мг/10 мл, 0,136 М) в том же растворителе и выдерживали при перемешивании в течение 2 ч при комнатной температуре. После этого растворитель выпаривали на ротонном испарителе, к полученному осадку добавляли раствор сшивающего агента – бис(гексаметилен)триамина в хлороформе (43 мг/10 мл, 0,02 мл), соотношение полимерных звеньев и сшивающего агента должно быть не менее 1:10 мол. Полученную смесь обрабатывали ультразвуком в течение 20 мин (ультразвуковая ванна Elmasonic P 30 H, частота 37 кГц, пиковая мощность ультразвука 520 Вт), растворитель выпаривали и осадок диспергировали в воде с добавлением по каплям ТМАН. Смесь подвергали действию ультразвука в течение 5 мин, фильтровали через мембранный фильтр с размером пор 0,22 мкм для удаления большей части не связанного полимера и сшивающего агента. Гидрофилизированные *nc-Si* частицы центрифугировали в течение 30 мин при 14000 об./мин и пропускали через фильтр с диаметром пор 0,02 мкм (Anodisc 25, Whatman).

**Гидродинамический диаметр** полученных частиц оценивали методом динамического светорассеяния на анализаторе размеров частиц (90 Plus Particle Size Analyzer (Brookhaven instruments corporation, США), а также методом спектроскопии кросс-корреляции фотонов на анализаторе размеров частиц NANOPHOX (SYMPATEC GmbH). Рабочий диапазон детектируемых размеров частиц составляет от 4 нм до 6 мкм. Измерения регистрировали при температуре 25 °С при фиксированном угле рассеяния света к исходному направлению лазерного луча (длина волны лазерного излучения – 633 нм). В качестве дисперсионной среды использовали воду.

**ИК-Фурье** спектральные исследования проводили на FTIR-спектрофотометре Shimadzu-8400S (по 30 сканов для каждого образца) в режиме пропускания при разрешении 1см<sup>-1</sup> и диапазоне длин волн сканирования от 500 до 3500см<sup>-1</sup>. Проводили измерение тонких пленок, сформированных

из раствора наночастиц кремния в гексане, и растворов полимеров и нанокompозитов в воде на поверхности стекла из селенида цинка после выпаривания растворителя.

**Фотолюминесцентный анализ** проводили с помощью волоконного спектрометра QE65000 (Ocean, США) при возбуждении излучением диодного лазера с длиной волны 405 нм.

**Анализ цитотоксичности нанокремния с использованием стабильных клеточных линий.** Перед проведением эксперимента клетки суспензионной линии K562 высевали на 96-луночный планшет в количестве 20000 клеток на лунку (в 100 мкл среды RPMI, содержащей 10% фетальной бычьей сыворотки (FBS), 100 ед./мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина). После посева клетки обрабатывали испытываемым соединением в указанных концентрациях в течение заданного интервала времени. Серийные разведения испытываемого соединения в PBS готовили таким образом, чтобы добавление 5 мкл раствора к клеткам обеспечивало конечную заданную концентрацию. Суспензии наночастиц в воде непосредственно перед приготовлением серии разведений обрабатывали ультразвуком при частоте 22 кГц, мощности 520 Вт в течение 10 мин. Через 48 ч после добавления соединений к клеткам добавляли 5 мкл раствора 3-[4,5-диметилтиазол-2-ил]-2,5-дифенилтетразолия бромид (МТТ) в PBS с концентрацией 5 мг/мл. Планшеты инкубировали дополнительно 3 ч в CO<sub>2</sub>-инкубаторе и добавляли 100 мкл лизирующего буферного раствора (250 мл диметилсульфоксида (ДМСО) и 100 г додецилсульфата натрия (SDS) растворяли в 450 мл H<sub>2</sub>O; затем добавляли 12,5 мл ледяной уксусной кислоты и 12,8 мл 1N HCl). Планшеты инкубировали при комнатной температуре закрытыми от света и герметично упакованными, поглощение измеряли при 540 нм и 690 нм. В каждом планшете оставляли лунки только со средой для определения фонового уровня поглощения, создаваемого средой, а также лунки с клетками, в которые не добавляли испытываемое вещество (контроль). Результаты представляли в виде доли выживших клеток от уровня контроля (необработанных клеток), принимаемого за 1.

Исследование токсичности модифицированных кремнефтором наночастиц кремния проводили с помощью стандартного колориметрического МТТ-теста, позволяющего количественное определение жизнеспособных клеток. Клетки эритролейкоза K562 высевали в 96-луночный планшет в объеме 100 мкл. Исходную суспензию частиц нанокремния разводили в PBS 1:100, получая концентрацию 730 мкг/мл, и обрабатывали ультразвуком. Далее готовили серию 5х разведений из первого разведения 1:100. 5 мкл полученных разведенных суспензий добавляли к клеткам в 4 повторах для каждой точки. Оставляли 4 лунки с клет-

ками, в которые не добавляли соединения (контрольные лунки). Планшет помещали в CO<sub>2</sub>-инкубатор. Через 48 ч во все лунки добавляли по 5 мкл раствора МТТ-реагента и помещали планшет в CO<sub>2</sub>-инкубатор на 3 ч. После инкубации во все лунки добавляли по 100 мкл лизирующего буфера, помещали планшет в герметично закрытый пакет и оставляли на ночь при комнатной температуре для клеточного лизиса и растворения образовавшихся кристаллов формазана. На следующий день на планшетном спектрофотометре измеряли оптическое поглощение OD при 540 нм (формазан) и 690 нм (фон). Для каждой лунки с клетками вычисляли поглощение формазана, которое пропорционально количеству клеток в лунке: OD (лунка с клетками) = (OD<sub>540</sub>-OD<sub>690</sub>) (лунка с клетками)-среднее (OD<sub>540</sub>-OD<sub>690</sub>) (лунки без клеток). Далее вычисляли среднее для четырех повторов в каждой точке. Средние значения OD для точек с добавлением соединения делили на среднее значение OD для точки без добавления соединения, которую принимали за 1, получая, таким образом, долю выживших клеток относительно контрольных (необработанных) клеток.

**Изучение связывания наночастиц кремния с адгезионными клетками с помощью флуоресцентной микроскопии.** Клетки высевали с низкой плотностью (10-30%) на предварительно обработанные фибронектином покровные стекла. На следующий день к клеткам добавляли золь наночастиц кремния в разведениях 1:10, 1:100 и 1:1000 и инкубировали в течение 2 ч. После окончания инкубации клетки фиксировали формальдегидом (4% в 1xPBS, pH 7,4) в течение 20 мин при комнатной температуре. Реакцию останавливали

1M Gly (pH 8,5) в PBS, после чего стекла промывали PBS. Полученные таким образом препараты на покровных стеклах монтировали на предметные стекла в 90% глицерине в 10 mM фосфатном буфере, pH 7,4, содержащем п-фенилендиамин в качестве анти-выцветяющего агента. После этого слайды анализировали на конфокальном микроскопе Olimpus FV10. Съемку проводили в режиме для квантовых точек при возбуждении 405 нм и регистрируемой эмиссии 706 нм.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### 1. Модификация поверхности частиц нанокремния амфифильными полимерами

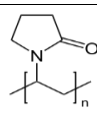
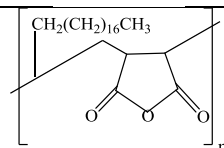
В настоящей работе использовали наночастицы кремния с кристаллическим ядром (4,5 нм) и субоксидной оболочкой SiO<sub>x</sub> (0 ≤ x ≤ 2) толщиной 1-2 нм, обладающие фотолюминесценцией в красно-инфракрасной области спектра (900 нм) при возбуждении на длине волны 405 нм. В ходе синтеза внешняя оболочка исходных частиц нанокремния в результате гидросилилирования покрыта 1-октадецильными радикалами, поэтому их поверхность обладает гидрофобными свойствами.

Для гидрофилизации поверхности частиц нанокремния использовали метод принудительного осаждения амфифильных полимеров на поверхность наночастиц. В качестве модификаторов гидрофобной поверхности наночастиц кремния использовали такие биосовместимые полимеры, как оксиэтилированное гидрированное касторовое масло (кремофор), поливинилпирролидон (PVP), сополимер малеинового ангидрида и 1-октадецена (РМАО) (табл. 1).

Таблица 1

Структурные формулы полимеров, использованных для модификации наночастиц кремния, и диаметр полученных модифицированных частиц

Table 1. Structural formulas of polymers used to modify silicon nanoparticles and the diameter of the resulting modified particles

| Полимер  |                   | Структурная формула   | nc-Si-Полимер, D, нм |
|--|-------------------|---|----------------------|
| Название   | Торговое название |   |                      |
| Кремофор<br>(оксиэтилированное гидрированное касторовое масло) | Cremophor RH40    | $  \begin{array}{c}  \text{CH}_2-\text{OR} \\    \\  \text{CH}-\text{OR} \\    \\  \text{CH}_2-\text{OR} \\  \text{R} = -\text{CO}-(\text{CH}_2)_{10}-\text{CH}-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3 \\    \\  \text{O}-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_{40}-\text{H}, \text{H}  \end{array}  $ | от 9 до 109          |
| Поливинилпирролидон  | Povidone K25      |   | 8                    |
| Сополимер малеинового ангидрида и 1-октадецена                 | РМАО              |   | 10                   |

Основным компонентом кремфора являются гидроксистеарат полиэтиленгликоля глицерина, который вместе с жирнокислотными глицериновыми полигликолевыми эфирами образует гидрофобную часть продукта. Гидрофильная часть состоит из полиэтиленгликолей и этоксилата глицерина. Удерживание молекулы ПАВ у поверхности нанокристалла nc-Si происходит благодаря гидрофобным взаимодействиям между молекулами октадецена на поверхности nc-Si и неполярным блоком кремфора. Условия гидрофилизации nc-Si кремфором и характеристики полученных зольей представлены в табл. 2. При массовом соотношении кремфора к nc-Si как 1:1 образуются частицы различного диаметра с преобладанием крупных частиц более 100 нм, которые со временем оседают. При повышении концентрации полимера (соотношение 1,5:1) образуется стабильный золь с частицами, имеющими средний диаметр ~ 36 нм, характеризующийся узким мономодальным распределением частиц по размерам (рис. 2). Как видно из табл. 2, увеличение количества добавляемого кремфора по отношению к массе нанокремния приводит к дальнейшему уменьшению диаметра получающихся полимермодифицированных частиц до ~ 10 нм. Исходя из диаметра исходных частиц нанокремния, составляющего 4,5 нм, можно предположить, что при недостатке модификатора (соотношение  $C_{rem}$ : nc-Si от 1:1 до 1,3:1) образуются включенные в полимерную оболочку агрегаты частиц nc-Si, а при соотношении  $C_{rem}$ : nc-Si от 1,7:1 до 2:1 образуются отдельные наночастицы кремния, покрытые полимерной оболочкой. Введение в систему дополнительного ПАВ Tween-80 на стадии формирования полимерной оболочки приводит еще к некоторому уменьшению диаметра модифицированных кремфором частиц и увеличению седиментационной и агрегативной устойчивости полученных частиц в воде (рис. 3). Средний диаметр модифицированных наночастиц без добавления детергента составил 11,5 нм, а при добавлении Tween-80 при том же соотношении ~ 9 нм (табл. 2).

Таблица 2

Условия гидрофилизации nc-Si кремфором и характеристики полученных зольей

Table 2. Hydrophilisation conditions of nc-Si by Cremophor RH40 and characteristics of the resulting sols

| № образца | Cremophor RH40 м, г | Tween-80 | nc-Si-Cremophor D, нм |
|-----------|---------------------|----------|-----------------------|
| 1         | 0,2                 | -        | 109,1                 |
| 2         | 0,3                 | -        | 36                    |
| 3         | 0,4                 | -        | 11,5                  |
| 4         | 0,4                 | +        | 9                     |

Аналогично, при модификации нанокремния поливинилпирролидоном (PVP) и сополимером малеинового ангидрида и 1-октадецена (РМАО) в случае использования избытка модификатора стабилизируются частицы с исходным средним диаметром 4,5 нм. При недостатке модификатора образуются крупные частицы ( $D =$  от 40 до 100 нм), поскольку в полимерную оболочку включается несколько частиц нанокремния. При повышении концентрации полимера наблюдали образование стабильных водных дисперсий с узким распределением частиц по размерам и незначительной долей агрегатов частиц. Гидрофилизация наночастиц PVP и РМАО происходит за счет многоточечных гидрофобных взаимодействий полимера с поверхностью частиц. Средний диаметр модифицированных наночастиц составил для nc-Si-PVP ~ 8 нм, для nc-Si-РМАО ~ 10 нм (рис. 2).

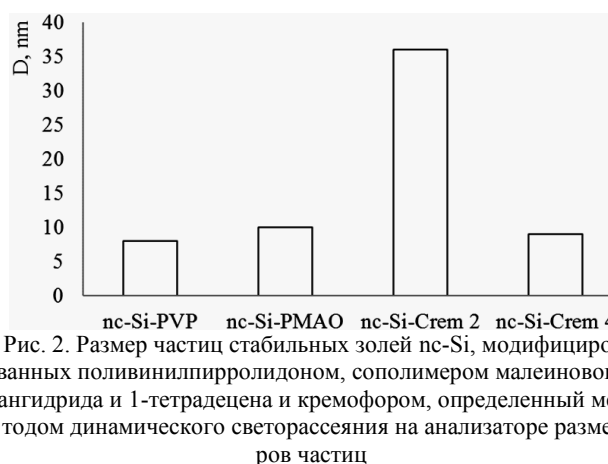


Рис. 2. Размер частиц стабильных зольей nc-Si, модифицированных поливинилпирролидоном, сополимером малеинового ангидрида и 1-тетрадецена и кремфором, определенный методом динамического светорассеяния на анализаторе размеров частиц

Fig. 2. The particle size of the stable nc-Si sols modified by polyvinylpyrrolidone, a copolymer of maleic anhydride and 1-tetradecene and cremophor, determined by dynamic light scattering on a particle size analyzer

Таким образом, при использовании амфифильных полимерных стабилизаторов коллоидной устойчивости можно получать коллоидно-стабильные водные дисперсии, состоящие как из отдельных частиц разного диаметра, так и из их агрегатов в зависимости от модификатора и его концентрации для решения различных биоаналитических задач.

**2. ИК-Фурье спектроскопия.** Наличие полимерной оболочки на поверхности наночастиц подтверждали сравнением ИК спектров наночастиц кремния и исходных полимеров со спектрами модифицированных наночастиц.

На спектре исходных частиц нанокремния (рис. 3а) присутствуют две характеристические полосы, соответствующие колебаниям связи Si-C ( $\nu = 667 \text{ см}^{-1}$ ). Пики  $\nu$ , соответствующие колебаниям связи C-H для  $(\text{CH}_2) = 2923 \text{ см}^{-1}$  и  $(\text{CH}_3) = 2852 \text{ см}^{-1}$ ,

относятся к колебаниям связей в 1-октаэдрене, что согласуется с ИК спектрами *nc-Si*, полученного при термическом отжиге монооксида кремния SiO с последующим гидросилилированием в 1-октаэдрене [19].

На спектре наночастиц, модифицированных кремофором (рис. 3б), появляются характерные полосы полимера: 1730  $\text{cm}^{-1}$  (производные карбоновых кислот), 1280  $\text{cm}^{-1}$  (вторичные спирты, сложные эфиры), 1106  $\text{cm}^{-1}$  (простые

эфиры). На спектре *nc-Si-PVP* (рис. 3в) присутствуют пики, относящиеся к колебаниям связей третичного амина 1280  $\text{cm}^{-1}$ , а также амидов 1640  $\text{cm}^{-1}$ . В спектре *nc-Si-PMAO* (рис. 3г) появляются пики, соответствующие карбоновым кислотам и их производным 1640  $\text{cm}^{-1}$  и 1400  $\text{cm}^{-1}$ . Карбоксильные группы появляются на поверхности наночастиц после модификации PMAO в связи с раскрытием цикла в результате гидролиза [18].

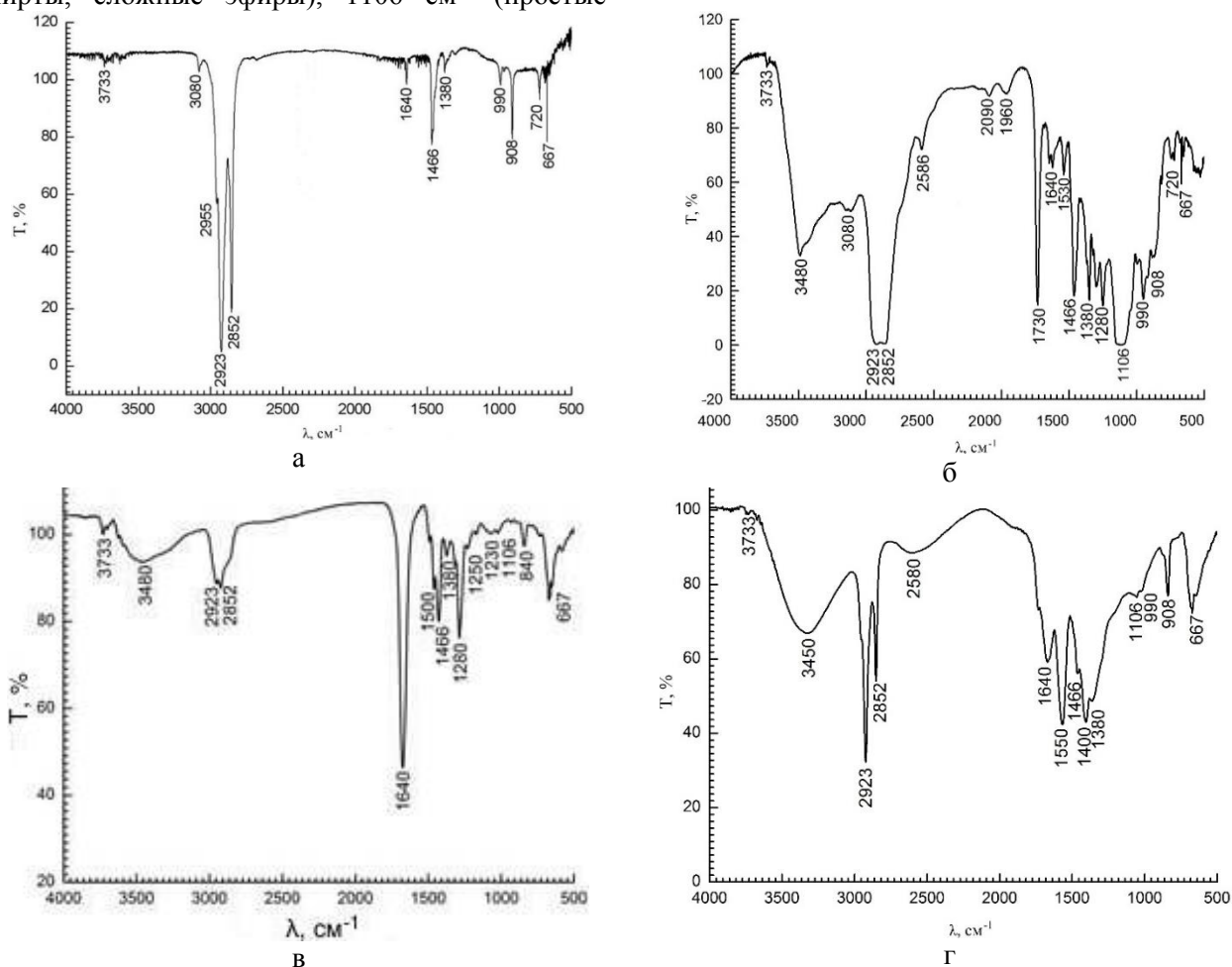


Рис. 3. ИК-Фурье спектры пропускания исходных наночастиц кремния *nc-Si* (а), модифицированных кремофором (*nc-Si-Cremofor* №2, 36 нм) (б), модифицированных PVP (в) и модифицированных PMAO (г)

Fig. 3. FTIR spectra of the initial silicon nanoparticles *nc-Si* (a), modified by cremophor (*nc-Si-Cremofor* N 2, 36 nm) (б), modified by PVP (в) and modified by PMAO (г)

Присутствие на ИК спектрах модифицированных частиц нанокремния характеристических полос, аналогичных полосам в спектрах исходных полимеров, свидетельствует об образовании полимерной оболочки на поверхности *nc-Si*.

**3. Фотолюминесцентные свойства модифицированного амфифильными полимерами нанокремния.** Следующим этапом работы было исследование фотолюминесцентных свойств модифицированных частиц по сравнению с исходным

нанокремнием. Типичный спектр фотолюминесценции исходных наночастиц кремния показан на рис. 4. В соответствии с длиной волны фотолюминесценции (800 нм) исходные наночастицы имеют кристаллическое ядро со средним диаметром 4,5 нм [5]. Видно, что спектры фотолюминесценции модифицированных полимерами *nc-Si* отличаются от спектра исходного нанокремния. Во-первых, интенсивность эмиссии ниже интенсивности исходных частиц *nc-Si*, причем для крупных частиц



( $D = 36,6$  нм) более чем в 4 раза. Во-вторых, спектр фотолюминесценции полимерных наноконструктов nc-Si-Cremofor №4, nc-Si-PVP и nc-Si-ПМАО сдвинут в коротковолновую область,  $\Delta\lambda$  составляет от 50 до 500 нм, в зависимости от модификатора. Кроме того, спектр фотолюминесценции представляет собой два максимума с разными длинами волн. Например, спектр фотолюминесценции nc-Si-Cremofor №2 представляет собой два пика с длинами волн 500 нм и 800 нм.

Известно, что при возбуждении лазером нанокремния основную роль в эмиссии играет оксидная оболочка на его поверхности (рис. 1), т.к. при травлении поверхности nc-Si кислотами, фотолюминесценция частиц гаснет [19].

При адсорбционной модификации полимерами происходит изменение структуры поверхности нанокремния, влекущее за собой изменение природы активных центров фотолюминесценции. Вероятно, образование полимерного покрытия приводит к автозахвату экситонов близкими по энергии примесными состояниями и частичное гашение кислородно-дефицитных центров (КДЦ), отвечающих за фотолюминесценцию [19]. Появление нескольких максимумов на кривых фотолюминесценции можно объяснить присутствием в золях модифицированных nc-Si двух ансамблей частиц: отдельные частицы nc-Si, покрытые полимерной оболочкой, и агрегаты кристаллов нанокремния, заключенные в гидрофильную оболочку. Таким образом, спектральные данные подтверждают схему стабилизации частиц nc-Si, рассмотренную в разделе Модификация поверхности частиц полимерами.

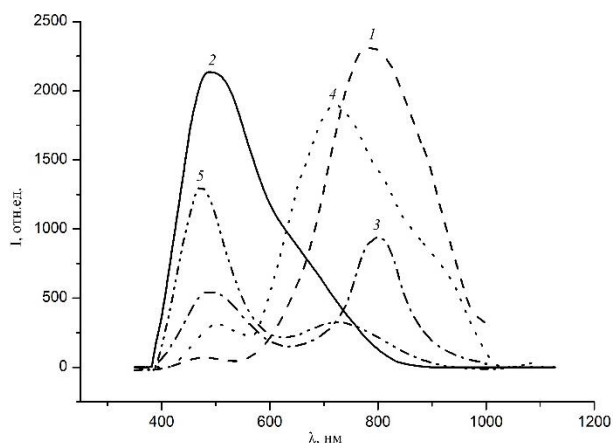


Рис. 4. Спектры фотолюминесценции, возбуждаемой в наночастицах кремния излучением с длиной волны 405 нм: 1 – исходный nc-Si; 2 – nc-Si-Cremofor №4 (9 нм), 3 – nc-Si-Cremofor №2 (36 нм); 4 – nc-Si-PVP; 5 – nc-Si-ПМАО

Fig. 4. Photoluminescence spectra excited in silicon nanoparticles by irradiation with a wavelength of 405 nm: 1 – initial nc-Si; 2 – nc-Si-Cremofor N4 (9 nm), 3 – nc-Si-Cremofor N2 (36 nm); 4 – nc-Si-PVP; 5 – nc-Si-ПМАО

Несмотря на то, что при взаимодействии nc-Si с полимерной оболочкой меняются люминесцентные свойства образующихся наночастиц, их фотолюминесценция сохраняется. Характер фотолюминесценции наноконструктов определяется природой полимера и способом проведения модификации. Таким образом, варьируя условия модификации, можно получать наночастицы с различными свойствами для тераностики.

#### 4. Анализ цитотоксичности модифицированного полимерами нанокремния.

Была исследована цитотоксичность гидрофобных наночастиц в ДМСО и гидрофилизированных кремнефором nc-Si с различными диаметрами. Для этой цели использовали моноклональные клеточные линии эритролейкоза человека K562. Из рис. 5 видно, что как исходные, так и модифицированные кремнефором nc-Si, не обладают клеточной токсичностью. Небольшое превышение токсичности у немодифицированных nc-Si, вероятно, происходит из-за влияния органического растворителя. Частичная гибель клеток (<5%) при концентрации частиц выше 50 мкг/мл, по-видимому, связана с визуализируемым механическим осаждением последних на поверхности клеток.

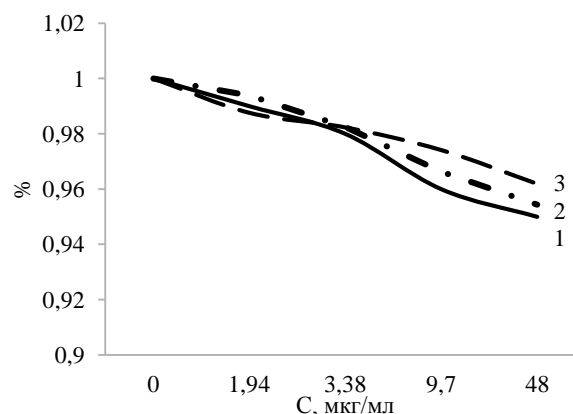


Рис. 5. Зависимость процента выживших клеток по сравнению с необработанным контролем от концентрации добавляемых наночастиц кремния: исходные наночастицы в ДМСО, кривая 1, и гидрофилизированные кремнефором в воде: nc-Si-Cremofor №4 (диаметр 9 нм, кривая 2) и nc-Si-Cremofor №2 (диаметр 36 нм, кривая 3) после 48 ч воздействия

Fig. 5. Cell survival after 48 h of exposure of initial silicon nanoparticles in DMSO (curve 1) and nanoparticles hydrophilized by Cremofor RH40: nc-Si-Cremofor N4 ( $D=9$  нм, curve 2) and nc-Si-Cremofor N2 ( $D=36$  нм, curve 3)

#### 5. Исследование взаимодействия наночастиц кремния с клетками линии HeLa методом конфокальной микроскопии

Для изучения влияния полимерной модификации наночастиц на фотолюминесцирующую и проникающую способность исследовали их субклеточную локализацию на линии клеток карциномы шейки матки человека HeLa, пригодной для анализа проникновения наночастиц в клетки [20].

С помощью конфокального микроскопа, настроенного на возбуждение квантовых точек лазерным излучением на длине волны 405 нм и регистрацию эмиссии при 706 нм, удалось зафиксировать фотолюминесценцию наночастиц кремния, несмотря на то, что указанное значение эмиссии находится на границе спектра фотолюминесценции nc-Si (рис. 4, кр. 1). Метод конфокальной лазерной сканирующей микроскопии позволяет получать изображения очень тонкого среза объекта на одном уровне глубины без учета фотолюминесценции на поверхности клетки.

Результаты фотолюминесценции среза не модифицированных nc-Si представлены на рис. 6а.

Как видно из рисунка, частицы nc-Si проникают в клетки HeLa и накапливаются преимущественно в цитоплазме, не проникая в ядро, однако также наблюдается накопление частиц в ядрышковых структурах. Поскольку снижение концентрации частиц в среде на порядок при окрашивании (с 0,48 мкг/мл до 0,048 мкг/мл) практически не влияет на интенсивность сигнала от частиц, находящихся в клетках, можно заключить, что клетки накапливают частицы из среды.

Отсутствие сигнала фотолюминесценции в межклеточном пространстве и на поверхности клеток свидетельствует о полном включении частиц внутри клеток.

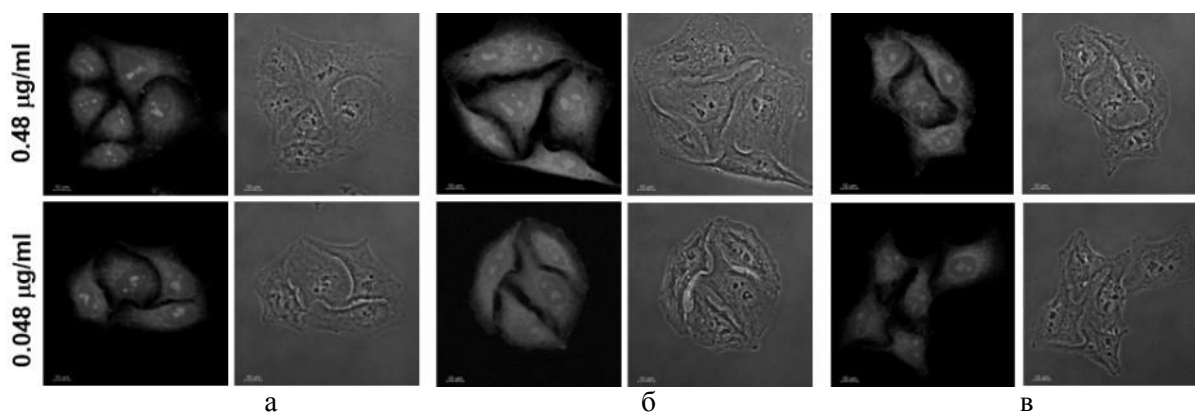


Рис. 6. Фотолюминесценция исходных наночастиц кремния nc-Si (а) и наночастиц, модифицированных кремофором: nc-Si-Cremofor №4 (диаметр 9 нм) (б) и nc-Si-Cremofor №2 (диаметр 36 нм) (в) после проникновения в клетки линии HeLa. Справа от изображения фотолюминесценции приведены фотографии тех же клеток, полученные в световом поле. Слева указаны концентрации наночастиц в среде

Fig. 6. Photoluminescence of the initial silicon nanoparticles nc-Si (a) and nanoparticles modified by Cremofor RH 40: nc-Si-Cremofor N 4 (D=9 nm) (б) and nc-Si-Cremofor N 2 (D=36 nm) (в) after entering HeLa cells. To the right of the photoluminescence image are photographs of the same cells obtained in the light field. The concentrations of nanoparticles in the medium are indicated on the left

Фотолюминесценция гидрофилизированных кремофором частиц с диаметрами 9 нм и 36 нм показана на рис. 6б и 6в. Характер субклеточной локализации аналогичен поведению не модифицированных частиц. Для частиц разного диаметра снижение концентрации на порядок приводит к незначительному уменьшению интенсивности фотолюминесценции. Таким образом, после модификации кремофором способность клеток накапливать частицы практически не меняется. При сравнении рис. 6б и 6в можно заметить, что интенсивность фотолюминесценции у частиц большего диаметра немного слабее. То есть диаметр частиц влияет на их способность проникать в клетки.

Таким образом, после гидрофиллизации nc-Si кремофором сохраняется способность наночастиц проникать в клетку и фотолюминесцировать.

#### ВЫВОДЫ

Были разработаны методики гидрофиллизации поверхности частиц нанокремния различными амфифильными полимерами (Cremofor RH40, PVP, PMAO). При модификации наночастиц полиме-

рами солюбилизация nc-Si осуществляется в результате процесса включения нанокристаллов в полимерную оболочку. Формирование полимерных оболочек происходит за счет многоточечных гидрофобных взаимодействий полимера с поверхностью частиц. Образование полимерной оболочки на поверхности nc-Si подтверждается присутствием в ИК-спектрах модифицированных частиц нанокремния характеристических полос, соответствующих полосам в спектрах исходных полимеров. Показано, что модифицированный кремофором, поливинилпирролидоном и сополимером малеинового ангидрида и 1-октадецена нанокремний сохраняет способность фотолюминесцировать при возбуждении лазерным излучением на длине волны 405 нм. Снижение интенсивности фотолюминесценции и сдвиг пиков фотолюминесценции в коротковолновую область можно объяснить образованием в процессе модификации агрегатов кристаллов нанокремния, заключенных в общую гидрофильную оболочку. Интенсивность и характер спектров фотолюминесценции определяется составом и типом поверхности наночастиц. Таким обра-

зом, путем подбора природы полимера и стабилизаторов коллоидной устойчивости можно регулировать как размер частиц, так и их фотолюминесцентные свойства.

Показано, что частицы нанокремния проникают в клетки и накапливаются преимущественно в цитоплазме, не проникая в ядро, причем при увеличении диаметра частиц нанокремния их проникающая способность уменьшается. Так как полученные полимермодифицированные частицы не обладают токсичностью и сохраняют свои фотолюминесцентные свойства, их можно рекомендовать для использования в *in vitro* и *in vivo* приложениях для решения различных задач биоанализа.

*Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования в рамках выполнения работ по Государственному заданию ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН в части выращивания наночастиц кремния типа ядро-оболочка, Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 16-29-11741) в части исследования спектральных и оптических свойств функционализированных наночастиц кремния.*

*Авторы благодарны к.х.н. Дорофееву С.Г. (Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова) и к.ф.-м.н. Кононову Н.Н. (ИОФ РАН им. А.М. Прохорова) за помощь в выполнении работы.*

#### ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Kairdolf B.A., Smith A.M., Stokes T.H., Wang M.D., Young A.N., Nie S. Semiconductor Quantum Dots for Bioimaging and Biodiagnostic Applications. *Annual Rev. Analyt. Chem.* 2013. V. 6. N 1. P. 143-162. DOI: 10.1146/annurev-anchem-060908-155136.
2. Gao X., Cui Y., Levenson R.M., Chung L. W. K., Nie S. In vivo cancer targeting and imaging with semiconductor quantum dots. *Nat. Biotechnol.* 2004. V. 22. P. 969-976. DOI: 10.1038/nbt994.
3. Yu W.W., Chang E., Falkner J.C., Zhang J., Al-Somali A.M., Sayes C.M., Johns J., Drezek R., Colvin V.L. Forming biocompatible and nonaggregated nanocrystals in water using amphiphilic polymers. *J. Am. Chem. Soc.* 2007. V. 129. P. 2871-2879. DOI: 10.1021/ja067184n.
4. Ищенко А.А., Фетисов Г.В., Асланов Л.А. Нанокремний: свойства, получение, применение, методы исследования и контроля. М.: Физматлит. 2013. 648 с.  
Ischenko A.A., Fetisov G.V., Aslanov L.A. Nanosilicon: properties, synthesis, applications, methods of analysis and control. M.: Fizmatlit. 2011. 646 p. (in Russian).
5. Ledoux G., Gong J., Huisken F., Guillois O., Reynaud C. Photoluminescence of size-separated silicon nanocrystals: Confirmation of quantum confinement. *Appl. Phys. Lett.* 2002. V. 80. P. 4834-4836. DOI: 10.1063/1.1485302.
6. Osminkina L.A., Sviridov A.P., Tamarov K.P., Gongalsky M.B., Timoshenko V.Y., Nikolaev A.L., Andronova N., Treshalina H.M., Kudryavtsev A.A. Porous silicon nanoparticles as efficient sensitizers for sonodynamic therapy of cancer. *Micropor. Mesopor. Mater.* 2015. V. 210. P. 169-175. DOI: 10.1016/j.micromeso.2015.02.037.
7. Ксенофонтова О.И., Васин А.В., Егоров В.В., Бобыль А.В., Солдатенков Ф.Ю., Теруков Е.И., Улин В.П., Улин Н.В., Киселев О.И. Пористый кремний и его применение в биологии и медицине. *Журн. техн. физики.* 2014. Т. 84. N 1. С. 67-78. DOI: 10.1134/S1063784214010083.
8. Ehrenberg M.S., Eriedman A.E., Finkelstein J.N., Oberdorster G., McGrath J.L. The influence of protein adsorption on nanoparticle association with cultured endothelial cells. *Biomaterials.* 2009. V. 30. P. 603-610. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2008.09.050.
9. Sohaebuddin S.K., Thevenot P. T., Baker D., Eaton J. W., Tang L. Nanomaterial cytotoxicity is composition, size, and cell type dependent. *Part. Fibre Toxicol.* 2010. V. 7. N 22. P. 1-17. DOI: 10.1186/1743-8977-7-22.
10. Maiorano G., Sabella S., Sorce B., Brunetti V., Malvindi M.A., Cingolani R., Pompa P.P. Effects of cell culture media on the dynamic formation of protein-nanoparticle complexes and influence on the cellular response. *ACS Nano.* 2010. V. 4. N 12. P. 7481-7491. DOI: 10.1021/nn101557e.
11. Ekkapongpisit M., Giovia A., Follo C., Caputo G., Lsidoro C. Biocompatibility, endocytosis, and intracellular trafficking of mesoporous silica and polystyrene nanoparticles in ovarian cancer cells: effects of size and surface charge groups. *Intern. J. Nanomed.* 2012. V. 7. P. 4147-4158. DOI: 10.2147/IJN.S33803.
12. Pich A., Zhang F., Shen L., Berger S., Ornatsky O., Baranov V., Winnik M.A. Biocompatible hybrid nanogels. *Small.* 2008. V. 4. N 12. P. 2171-2175. DOI: 10.1002/smll.200801159.
13. Yang J., Dave S.R., Gao X. Quantum dot nanobarcode: epitaxial assembly of nanoparticle-polymer complexes in homogeneous solution. *J. Am. Chem. Soc.* 2008. V. 130. N 15. P. 5286-5292. DOI: 10.1021/ja710934v.
14. Kasperek R., Zimmer L., Zun M., Dwornicka D., Wojciechowska K., Poleszak E. The application of povidone in the preparation of modified release tablets. *Curr. Issues Pharm. Med. Sci.* 2016. V. 29. N 2. P. 71-78. DOI: 10.1515/cipms-2016-0015.
15. Demina T.V., Budkina O.A., Badun G.A., Melik-Nubarov N.S., Grozdova I.D., Frey H., Müller S.S., Nieberle J. Cytotoxicity and chemosensitizing activity of amphiphilic poly(glycerol)-poly(alkylene oxide) block copolymers. *Biomacromolec.* 2014. V. 15. P. 2672-2681. DOI: 10.1021/bm500521j.
16. Краснюк И.И., Михайлова Г.В., Чижова Е.Т. Фармацевтическая технология. Технология лекарственных форм. М.: Изд. центр «Академия». 2004. 464 с.  
Krasnyuk I.I., Mikhailova G.V., Chizhova E.T. Pharmaceutical technology. Technology of medical forms. M.: Publishing Center "Academy". 2004. 464 p. (in Russian).
17. Buhler V. Kollidon - polyvinylpyrrolidone excipients for the pharmaceutical industry. 9th Ed. Ludwigshafen: BASF SE. 2008. P. 330.
18. Mohamed F. Attia, Sidy M. Dieng, Mayeul Collot, Andrey S. Klymchenko, Caroline Bouillot, Christophe A. Serra, Marc Schmutz, Meriem Er-Rafik, Thierry F. Vandamme, Nicolas Anton Functionalizing Nanoemulsions with Carboxylates: Impact on the Biodistribution and Pharmacokinetics in Mice. *Macromol. Biosci.* 2017. V. 17. P. 1600471. DOI: 10.1002/mabi.201600471.
19. Dorofeev S.G., Ischenko A.A., Kononov N.N., Fetisov G.V. Effect of annealing temperature on the optical properties of nanosilicon produced from silicon monoxide. *Curr. Appl. Phys.* 2012. V. 12. P. 718-725. DOI: 10.1016/j.cap.2011.10.016.
20. Depan D., Misra R.D. Structural and physicochemical aspects of silica encapsulated ZnO quantum dots with high quantum yield and their natural uptake in HeLa cells. *J. Biomed. Mater. Res. A.* 2014. V. 102. N 9. P. 2934-2941. DOI: 10.1002/jbm.a.34963.

Поступила в редакцию (Received) 06.11.2018  
Принята к опубликованию (Accepted) 15.07.2019