

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования
«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ИНСТИТУТ ФИЗИКИ

КАФЕДРА МЕДИЦИНСКОЙ ФИЗИКИ

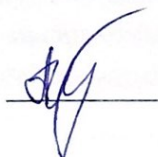
Направление: 03.03.02 Физика

Профиль: Медицинская физика

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ
СПЕКТРАЛЬНО-КИНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ
ФТОРИДНЫХ НАНОЧАСТИЦ $Y_{0,5-x}Ce_{0,5}Tb_xF_3$
КАК ПЕРСПЕКТИВНЫХ АГЕНТОВ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ
ТЕРАПИИ

Студент 2 курса группы 06-919

«15» июня 2021 г.

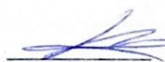


(Андреева Д.Д.)

Научный руководитель

к.ф.-м.н., доцент

«15» июня 2021 г.



(Низамутдинов А.С.)

Заведующий кафедрой медицинской физики

Д.х.н., профессор

«15» июня 2021 г.



(Иванов А.В.)

Казань-2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	5
1.1 Принципы комбинированной фотодинамической терапии и фотосенсибилизаторы.....	5
1.2 Радахлорин	14
1.3 Кристаллы YF_3 и CeF_3	18
2.4 Фёрстеровский резонансный перенос энергии	23
ГЛАВА 2. ТЕХНИКА ЭКСПЕРИМЕНТА И СИНТЕЗ НАНОЧАСТИЦ $Y_{0,5-x}Ce_{0,5}Tb_xF_3$	28
2.1 Синтез наночастиц $Y_{0,5-x}Ce_{0,5}Tb_xF_3$ ($x=0,005; 0,01; 0,05; 0,2$)	28
2.2 Экспериментальная техника	29
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	32
3.1 Характеризация наночастиц $Y_{0,5-x}Ce_{0,5}Tb_xF_3$	32
3.2 Спектрально–кинетические характеристики образцов $Y_{0,5-x}Ce_{0,5}Tb_xF_3$ ($x=0,005; 0,01; 0,05; 0,2$)	35
3.3 Исследование кинетики затухания люминесценции коллоида наночастиц в присутствии Радахлорина, а также конъюгированного с препаратом Радахлорин посредством полиэтиленimina	39
3.3 Расчет критического расстояния.....	43
3.4 Оценка выживаемости клеток А549 в присутствии наночастиц и Радахлорина.....	44
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	48
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	50

ВВЕДЕНИЕ

В отрасли материаловедения и разработки новых материалов в настоящее время активно развивается направление фотодинамической терапии (ФДТ), которая уже сейчас используется для лечения множества различных заболеваний, включая онкологию [1]. Основным принципом ФДТ является взаимодействие фотосенсибилизатора и света, которое приводит к генерации цитотоксических веществ, таких как синглетный кислород, свободные радикалы и пероксиды. Традиционный подход в ФДТ использует фотосенсибилизаторы, поглощающие свет в видимой области спектра с длиной волны короче 700 нм. Преимуществом традиционных фотосенсибилизаторов является определенная специфичность к опухолям, то есть эти вещества способны локализоваться преимущественно в патологической ткани, и будут атаковать ключевые структурные элементы в клетках-мишенях. Однако они обладают серьезным недостатком, свет, требуемый для их активации не проникает глубоко в биологические ткани, что накладывает ограничения на применение методики.

С другой стороны, известна лучевая терапия, которая использует проникающее излучение. При этом для целей уменьшения дозы возможно использование опухолеспецифических химических агентов, таких как химиотерапевтические препараты или радиосенсибилизаторы, способных увеличить уничтожение целевых раковых клеток без сопутствующего увеличения радиационно-индуцированного повреждения нормальных клеток.

Перспективным направлением сейчас является комбинированная ФДТ. Этот подход основан на концепции, что сцинтиллирующая наночастица может локально преобразовать проникающее излучение в свет видимого диапазона и активировать прикрепленные к ней фотосенсибилизаторы по механизму безызлучательной передачи энергии, в результате чего фотосенсибилизатор активируется для генерации синглетного кислорода, который приводит к апоптозу опухолевых клеток.

Таким образом, данная методика может снять ограничение на глубину проникновения света для фотодинамической терапии.

Актуальной задачей является поиск и синтез таких комплексов, т.к. с одной стороны материал должен эффективно преобразовывать ионизирующее излучение в свет, который активирует лекарство, а с другой не должен быть токсичным.

Цель данной работы заключалась в исследовании таких материалов, а именно исследовании спектрально–кинетических характеристик наночастиц $Y_{0,5-x}Ce_{0,5}Tb_xF_3$ ($x=0,005; 0,01; 0,05; 0,1; 0,15; 0,2$), полученных методом соосаждения из водных растворов, и создании их конъюгатов с препаратом фотодинамической терапии.

Для этого требовалось выполнить следующие задачи:

1. Произвести синтез наночастиц $Y_{0,5-x}Ce_{0,5}Tb_xF_3$ ($x=0,005; 0,01; 0,05; 0,2$) методом соосаждения.
2. Исследовать спектры люминесценции и кинетики затухания люминесценции примесных ионов в синтезированных наночастицах.
3. Исследовать спектрально-кинетические характеристики коллоида наночастиц в присутствии препарата Радахлорин, а также наночастиц конъюгированных с Радахлорином посредством полиэтиленimina.
4. Оценить коэффициент передачи энергии $Ce^{3+}-Tb^{3+}$, исследовать передачу энергии между наночастицами и препаратом Радахлорин в конъюгате.
5. Исследовать выживаемость клеток A549 в присутствии наночастиц и Радахлорина.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Принципы комбинированной фотодинамической терапии и фотосенсибилизаторы

В последние годы фотодинамическая терапия (ФДТ) получила распространение как перспективный терапевтический вариант для лечения рака благодаря его преимуществам, таким как минимальная системная токсичность, минимальная инвазивность, высокая терапевтическая эффективность и потенциал для развития противоопухолевого иммунитета по сравнению с традиционными методами лечения рака (хирургия, химиотерапия и лучевая терапия) [2–5]. Этот метод был клинически одобрен для лечения нескольких типов солидных опухолей, таких как простата [6], кожа головы, шея и пищевод [7], и в настоящее время используется в клинических испытаниях с метастатическим раком яичников [8]. Молекула ФС, воздействие света и снабжение кислородом тканевого микроокружения считаются тремя ключевыми параметрами, определяющими эффективность ФДТ. Молекулы ФС поглощают свет определенной длины волны и генерируют образование активных форм кислорода (АФК), которые обладают способностью повреждать раковые клетки через апоптоз, разрушать сосуды и активировать иммунный ответ.

Существует два основных механизма фотодинамической реакции. Оба они сильно зависят от молекул кислорода внутри клеток. Первая ступень обоих механизмов похожа. Фотосенсибилизатор после входа в клетку облучают светом с длиной волны, соответствующей спектру поглощения ФС, в результате чего он переходит из основного синглетного состояния S_0 в возбужденное синглетное состояние S_1 . Далее в результате релаксации часть молекул могут высветить энергию в виде кванта флуоресценции, а другая часть молекул может перейти в возбужденное триплетное состояние T_1 (Рисунок 1).

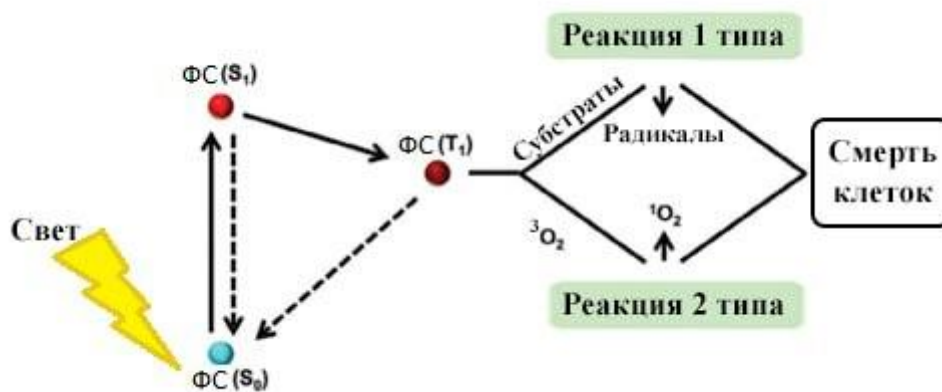


Рисунок 1 – Схематическое изображение механизмов I типа и II типа ФДТ

В возбужденном триплетном состоянии T_1 фотосенсибилизатор способен передавать энергию биомолекулам из своего окружения (механизм типа I), а также окружающему триплетному кислороду (3O_2) для образования синглетного кислорода (1O_2) (механизм типа II). Между фотосенсибилизатором в состоянии T_1 и раковой тканью (субстратом) происходит перенос водорода или электрона, что приводит к образованию свободных радикалов. Эти радикалы имеют очень короткое время жизни (около 1 нс). Они мгновенно реагируют с такими молекулами, как вода и кислород, образуя перекись водорода (H_2O_2), супероксид-анион ($O_2^{\cdot-}$) и гидроксильный радикал ($\cdot OH$). Этот процесс приводит к образованию активных форм кислорода (АФК). В биологическом материале при этом запускается каскад реакций, который приводит к окислительному стрессу и разрушению раковых клеток [9].

Как уже было сказано выше, фотосенсибилизатор, находясь в возбужденном триплетном состоянии, способен передать энергию резонансным механизмом непосредственно молекуле кислорода, находящейся в основном энергетическом состоянии (основное триплетное состояние). Прямая передача энергии между молекулами ($\Phi C \rightarrow O_2$)

возможна, так как они характеризуются одинаковыми спиновыми состояниями. Таким образом, образуются возбужденные частицы кислорода – так называемый синглетный кислород – которые характеризуются чрезвычайно сильными окислительными свойствами [9].

Большинство органических соединений находятся в основном синглетном состоянии. Тем не менее, молекулы кислорода характеризуются своим триплетным состоянием и возбуждением в синглет. Благодаря этому возбужденные частицы фотосенсибилизатора не повреждают структуры органических клеток и вступают в реакцию только с молекулами кислорода, растворенными в цитоплазме.

Предполагается, что механизм типа II является важнейшим процессом, обуславливающим эффективность ФДТ. Однако соотношение вклада обоих механизмов зависит от многих факторов, включая концентрацию кислорода, диэлектрическую проницаемость ткани, pH и структуру фотосенсибилизатора. Когда кислород заканчивается, начинает преобладать первый тип механизма [10].

Высокореактивные формы кислорода вызывают фотоиндуцируемое повреждение белков, жиров и других молекул в области действия фотосенсибилизатора. Это приводит к прямой гибели опухолевых клеток по механизмам апоптоза и некроза [11]. Взаимный вклад разных механизмов гибели клеток определяется расположением фотосенсибилизатора внутри клетки. Повреждение митохондрий может привести к апоптозу, разрушение клеточной мембраны и потеря целостности могут вызвать некроз, а повреждение лизосом или эндоплазматического ретикулума может спровоцировать аутофагию [12].

В конце 19 века Нильс Финсен продемонстрировал фототерапию для лечения пациентов, страдающих волчанкой, с помощью концентрированных лучей ультрафиолетового света. И в 1903 год он получил Нобелевскую премию в области физиологии и медицины. Впоследствии ФС, такие как эозин и акридин, были задействованы в уничтожении инфузорий и лечении

рака кожи. В 1907 году концепция ФДТ была предложена фон Таппейнером и Йесионекком. Первое исследование ФДТ на человеке было проведено в 1913 г. Фридрихом Мейер-Бец, который проверил действие гематопорфирина на собственной коже [13]. Однако следующий значительный прорыв произошел только в 1970-х годах. В 1975 году Томас Догерти и его сотрудники сообщили, что производное гематопорфирина полностью уничтожило опухоль молочной железы у мышей при облучении красным светом [14]. В том же году было получено первое успешное лечение рака кожи с помощью ФДТ.

ФС делятся на три основные структуры, такие как порфирин, хлорин, цианин и другие красители (например, метиленовый синий, толуидиновый синий, бенгальский розовый и гиперидин). ФС также можно разделить на разные поколения, такие как первое, второе и третье поколение. Следующее поколение ФС разрабатывается с использованием системы носителя (например, липосом, наночастиц и моноклональных антител).

Гематопорфирин и его производные - первое поколение ФС. Гематопорфирин был выделен из гемоглобина эритроцитов путем обработки концентрированной серной кислотой в 1841 году Шером. Позже гематопорфирин был дополнительно очищен в виде фотофрина [14]. ФС первого поколения широко использовались для лечения различных видов рака в клинической практике. Однако имелись некоторые ограничения и внутренние недостатки, такие как низкая химическая чистота, плохое проникновение света в опухоль из-за относительно коротковолнового поглощения (630 нм), длительный период полураспада и интенсивное накопление в нормальных тканях, что приводило к светочувствительной токсичности. Следовательно, чтобы преодолеть эти недостатки и повысить эффективность лечения, было использовано несколько стратегий для разработки средств, более селективных к опухолям, с уменьшенными побочными эффектами, особенно фототоксичностью кожи [15].

В настоящее время в группу фотосенсибилизаторов второго поколения входят производные гемопорфирина и синтетические фотосенсибилизаторы такие как: 5-аминолевулиновая кислота, производные бензопорфирина, тексафирины, производные тиопурина, хлорин [16], а также аналоги бактериохлорина и фталоцианины [16]. Важным открытием оказалось использование 5 -аминолевулиновой кислоты (ALA) - предшественника протопорфирина IX. АЛК-это своего рода пролекарство, которое становится активным ФС только после превращения в протопорфирин. По этой причине АЛК или его сложные эфиры могут использоваться местно или перорально во многих клинических применениях [17].

Фотосенсибилизаторы второго поколения имеют максимумы поглощения в диапазоне длин волн 650-800 нм, благодаря чему увеличивается глубина проникновения в ткани, а также высокие коэффициенты экстинкции. Фотосенсибилизаторы второго типа демонстрируют более высокие квантовые выходы синглетного кислорода, более высокую селективности в отношении раковых тканей и более быстрого выведения фотосенсибилизатора из организма. Основным недостатком ФС второго поколения является их плохая растворимость в воде, что является существенным ограничивающим фактором при их внутривенном введении и вынуждает искать новые методы доставки лекарственных средств [9].

Разрабатываются фотосенсибилизаторы третьего поколения, которые могут активироваться светом с большей длиной волны, вызывать короткую светочувствительность и, что более важно, имеют высокую опухолеспецифичность. ФС третьего поколения будет улучшением ФС второго поколения с точки зрения их возможностей доставки и нацеливания. Хотя многие из ФС третьего поколения считаются способными к селективному нацеливанию *in vitro*, очень немногие из них были оценены для клинического применения, поскольку их селективность *in vivo* не была обнаружена достаточно высокой [18].

Таким образом, можно выделить набор характеристик и условий, описывающих идеальный ФС:

- Высокая степень химической чистоты;
- Стабильность при комнатной температуре;
- Фоточувствительный эффект только при наличии определенной длины волны;
- Высокая фотохимическая реакционная способность; максимальное поглощение света на длинах волн от 600 до 800 нм. Поглощение света на длине волны выше 800 нм не обеспечивает достаточной энергии для стимулирования кислорода в его синглетном состоянии и производства других активных форм кислорода;
- Минимум поглощения в диапазоне от 400 нм до 600 нм. Это предотвращает возможную чрезмерную светочувствительность, вызванную солнечным светом;
- Полосы поглощения не должны перекрывать полосу поглощения других веществ в организме, включая эндогенные красители, такие как мелатонин, гемоглобин или оксигемоглобин;
- Минимальная цитотоксичность в темноте;
- Легкорастворимость в тканях тела;
- Высокая избирательность к опухолевым тканям: фотосенсибилизатор должен медленно удаляться из пораженных участков, оставаясь там не менее нескольких часов, но быстро выводиться из здоровых тканей, таким образом сводя к минимуму фототоксические побочные эффекты терапии;
- Недорогой и простой синтез и легкая доступность.

Основные ФС, используемые в ФДТ приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Основные ФС, используемые в ФДТ

Фотосенсибилизатор	Коммерческое название	Страна производитель	Пик поглощения
Производные гематопорфирина	Фотофрин Фотогем	США, Европа,Россия	630 нм
Бензопорфирин	Vertiporfin, Visudyne	США, Европа	689 нм
Мета-тетрагидроксифенил хлорин	Foscan	Англия	652 нм
5-аминолевулиновая кислота	Levulan, Аласенс	Европа, Россия	635 нм
Sn-этиопурпурин	Purlytin	США	660 нм
Тексафрины	LUTRIN, ANTRIN, OPTRIN	США	732 нм
Хлорин е6	Фотодиазин, Радахлорин	Россия	662 нм
Фталоцианины	Фотосенс	Россия	670 нм

За прошедшие годы, несмотря на попытки изменить компоненты критических параметров, использование ФДТ в лечении рака еще не получило значительного признания, в основном из-за эффективности, ограниченной недостаточной глубиной проникновения света и отсутствием идеального ФС [19].

С целью повышения селективности препарата используются различные модификации фотодинамической терапии. Например, использование

маркеров поверхности опухоли, таких как рецепторы фактора роста, рецепторы трансферрина или гормоны. Эти растворы повышают селективность и обеспечивают большее накопление фотосенсибилизатора в пораженных участках, и, как следствие дают возможность снизить дозы препарата при сохранении удовлетворительного терапевтического эффекта [20].

Большинство ФС обладают неблагоприятными фармакокинетическими свойствами, такими как низкая растворимость в воде, низкая биодоступность, низкая степень проникновения в клетки, что приводит к неэффективному производству синглетного кислорода в месте поражения опухоли. Поэтому многие исследователи стремятся определить методы инкапсуляции и солюбилизации ФС в водных условиях для инъекции в организм человека [21].

Идеальная система доставки должна быть биосовместимой, способной предотвращать агрегацию и должна обеспечивать высокое накопление ФС в месте поражения с минимальным поглощением нормальными клетками. В последние годы были разработаны различные наночастицы для использования в качестве носителей лекарств или зондов для визуализации благодаря следующим преимуществам [22]. Во-первых, они могут увеличивать растворимость гидрофобных лекарств за счет физической нагрузки и химического конъюгирования в водных условиях. Во-вторых, их размер подходит для внутривенного введения шприцем и обеспечивает более длительную циркуляцию в крови, чем при использовании небольших молекул. В частности, макромолекулы, такие как полимеры или НЧ, могут проходить через щели в стенках недавно выросших сосудов при ангиогенных заболеваниях, таких как опухоли. Кроме того, они секретируются медленно из-за сниженного лимфодренажа, и эта ситуация получила название эффекта повышенной проницаемости и удерживания (EPR) [23]. В-третьих, высвобождение лекарств можно контролировать, изменяя структуру НЧ. В-четвертых, на поверхности НЧ могут быть

размещены биологические лиганды, включая антитела, аптамеры или пептиды, которые могут связываться со специфическими рецепторами на клетках-мишенях. В результате повышается специфичность [24]. В-пятых, как визуализирующие агенты, так и лекарственные препараты могут содержаться в одной наночастице, что обеспечивает одновременно визуализацию и терапию, подход, называемый тераностикой [25]. Эти преимущества сделали НЧ перспективными носителями ФС в комбинированной ФДТ, и в большом количестве работ сообщается о положительных результатах [26].

Фотосенсибилизаторы обладают недостатками, которые не позволяют сегодня использовать ФДТ для многих типов рака. Однако методы ФДТ могут применяться для повышения эффективности других методов лечения онкологии, таких как радиотерапия. Для реализации данной идеи «гибридной» терапии предполагается создание наносцинтилляторов, которые могут быть объединены с красителями, используемыми в ФДТ. Если спектр поглощения фотосенсибилизатора перекрывается со спектром излучения наночастицы, краситель должен производить синглетный кислород, как в ФДТ, при воздействии рентгеновским излучением. На данный момент уже получены некоторые результаты в данной области. В работе [27] были продемонстрированы перенос энергии и генерация синглетного кислорода после облучения рентгеновскими лучами в конъюгатах наночастиц $\text{LaF}_3:\text{Tb}^{3+}$ и мезо-тетра(4-карбоксифенил) порфин (МТКП) конъюгаты наночастиц $\text{LaF}_3:\text{Tb}^{3+}$ -МТСП являются эффективными фотодинамическими агентами, которые могут быть возбуждены рентгеновскими лучами.

Ван Ч. и др. в работе [28] исследовали эффективность терапии ФДТ у мышей с опухолями после инъекции хлорина е6 (Ce6), связанного с нанокристаллами NaYF_4 , легированными 20% Yb и 2% Er, и последующего воздействия света в ближнем инфракрасном диапазоне. В этой работе

показано, что наночастицы после лечения ФДТ постепенно выводятся из органов мыши, не оказывая заметной токсичности для животных.

Фотосенсибилизатор пиррофеофорбид а (Ppa) и RGD пептид с(RGDyK), объединенный с наночастицей NaYF₄: Yb/Er исследовался в работе [29]. Результаты показывают, что ковалентно связанная с наночастицей молекула пиррофеофорбида не только стабильна, но также сохраняет свои спектроскопические и функциональные свойства. Наноструктура показала низкую темновую токсичность и высокую фототоксичность в отношении раковых клеток при облучении лазером 980 нм.

1.2 Радахлорин

Было показано, что производные хлорофилла обладают существенным фотосенсибилизирующим свойством.

Препарат Радахлорин компании РадаФарма, (Москва, Россия) - хорошо известный фотосенсибилизатор на основе хлорина еб [30]. Хлорин еб это природное производное хлорофилла, которое способно накапливаться в злокачественных тканях и эффективно разрушать опухоли при облучении [31].

Хлорин еб, который играет роль солюбилизатора Радахлорина, обеспечивает лучшую растворимость в водном растворе, что определяет удобство разведения препарата и применения в лечении фотодинамической терапией для клиницистов [32]. Поэтому этот фотосенсибилизатор широко изучается и в последние годы применяется для диагностики опухолей, а также для фотодинамической терапии [32]. Сообщалось, что опосредованная Радахлорином фотодинамическая терапия обладает противоопухолевой эффективностью при различных злокачественных новообразованиях, таких как рак кожи, легких, головы и шеи, а также рак щитовидной железы [33].

Состав вещества Радахлорин представляет собой хлорин е6 (80%), пурпурин 5 (15%) и хлорин р6 (5%). Структурные формулы этих соединений представлены на рисунке 2.

Хлорин е6 интенсивно изучается в течение 20 лет и является эффективным фотосенсибилизатором благодаря своей низкой токсичности в темноте, быстрого и достаточно избирательного накопления в ткани-мишени и хорошо сбалансированного сочетания диагностических свойств и противоопухолевой способности [34]. Тем не менее, один из окисленных продуктов Радахлорина, пурпурин-5, кажется намного более эффективным, отчасти из-за его способности накапливаться в раковых клетках через липопротеины низкой плотности [35]. Пурпурин-5 слишком гидрофобен, чтобы его можно было вводить только в водных растворах, поэтому его комбинируют с хлорином е6 для достижения химической стабильности коммерческого препарата Радахлорин [36], который, таким образом, должен обладать лучшим фотодинамическим действием.

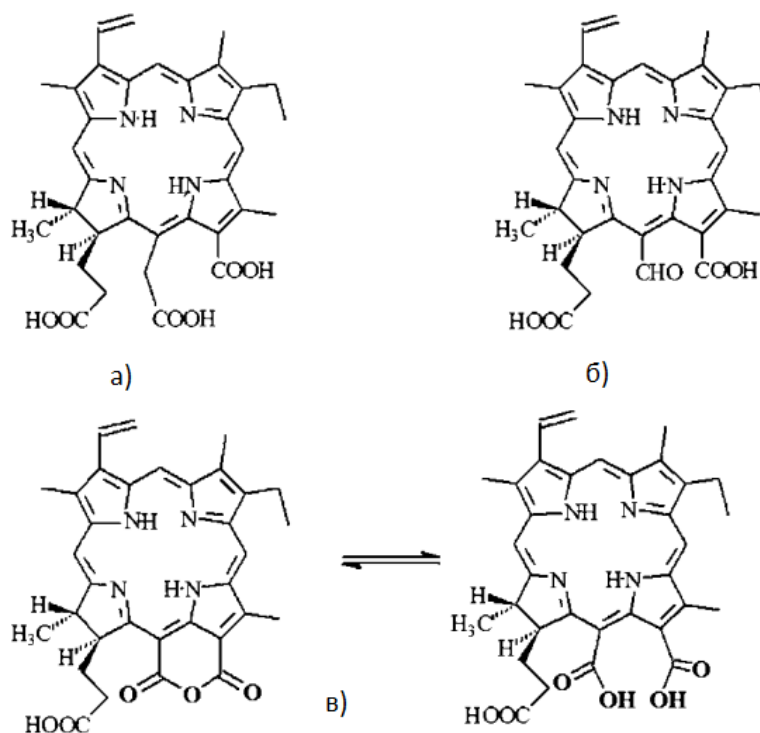


Рисунок 2 – Состав препарата Радахлорин: а) хлорин е6, б) хлорин р6, в) пурпурин [37]

По сравнению с фотосенсибилизаторами первого поколения, такими как и Фотофрин, Радахлорин имеет более быструю фармакокинетику и аналогичную фототоксичность. Он имеет максимальное поглощение опухолью через 3-5 часов после введения, с высоким соотношением опухоль – ткань и периодом выведения примерно 24-48 часов. Он обладает максимальным значением поглощения света на длине волны 662 ± 3 нм. Радахлорин вызывает меньшую фотосенсибилизацию нормальных тканей по сравнению с другими фотосенсибилизаторами первого поколения.

В таблице 2 представлены фотофизические параметры Радахлорина и хлорина еб соответственно [19].

Таблица 2 – Фотофизические параметры Радахлорина и Хлорина еб

	Радахлорин	Хлорин еб
Максимум поглощения	406, 506, 536, 608, 662 нм (Рисунок 3)	402, 654 нм
Максимум флуоресценции	660-668 нм	662 нм
Квантовый выход флуоресценции	0,04	0,18
Коэффициент экстинкции	$34200 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (662 нм)	$150\ 000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (402 нм) $59000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (663 нм)
Квантовый выход синглетного кислорода	0,52-0,62	0,74
Время жизни первого возбужденного синглетного состояния	-	4,3 нс
Максимум фосфоресценции от первого возбужденного триплетного состояния	-	830–900 нм

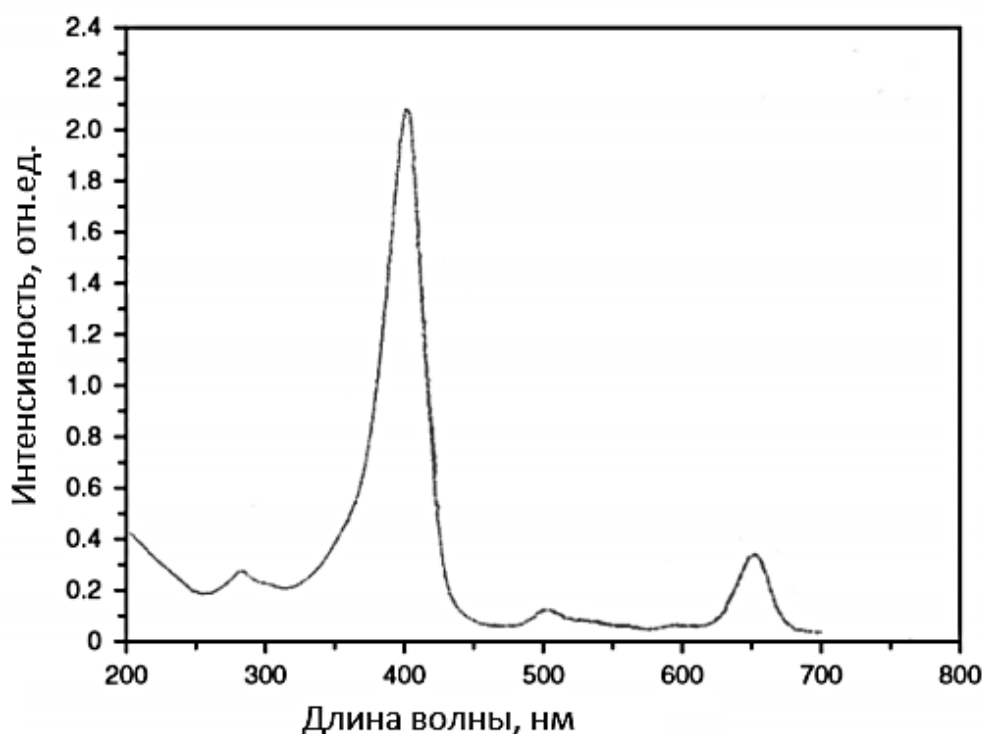


Рисунок 3 – Спектр поглощения Радахлорина [19]

При работе с фотосенсибилизаторами необходимо обращать большое внимание на их фотостабильность. Это свойство играет важную роль при расчете дозы, используемой в фотодинамической терапии. Высокая фотостабильность фотосенсибилизатора поможет предотвратить попадание большого количества фотосенсибилизатора в организм и снизить дозу облучения, необходимую для достижения аналогичного клинического результата при использовании низкостабильного ФС.

В работе [38] для Радахлорина показано резкое снижение концентрации, измеряемой оптическими методами, в процессе облучения, что указывает на интенсивное разрушение фотосенсибилизаторов под действием света и, как следствие, их низкую фотостабильность, хотя в работах [21,22] в экспериментах по измерению затухания флуоресценции Радахлорина при облучении на длине волны 405 нм такого активного фотообесцвечивания раствора не наблюдалось.

1.3 Кристаллы YF₃ и CeF₃

Успех концепции комбинированной ФДТ зависит от нескольких факторов. Первый ключевой элемент - это возможность производить наноразмерные сцинтилляторы с высоким выходом радиолюминесценции. Также должна быть эффективная передача энергии между наносцинтилляторами и прикрепленным красителем - ФС, то есть максимальное перекрытие между поглощением ФС и испусканием наносцинтиллятора, а также благоприятное пространственное разделение между ними. Наконец, конъюгаты наночастиц и фотосенсибилизатора должны быть стабильными в физиологических условиях, чтобы минимизировать агрегацию и изменчивость производства синглетного кислорода.

В организме НЧ могут накапливаться в определенных органах и выводятся из организма. Размер НЧ имеет большое влияние на распределение НЧ в органах и их выведение из крови [33]. Крупные НЧ, обладающие размером около 200 нм, накапливаются в селезенке, печени [34], тогда как НЧ относительно небольшого размера (<100 нм) обычно локализуются и выводятся через почечную систему [35]. Что касается НЧ среднего размера (100–200 нм), то основными местами их накопления являются почки, сердце, желудок и костный мозг [36]. Кроме того, размер НЧ должен быть достаточно малым (<50 нм), чтобы предотвратить быструю фильтрацию в селезенке, но достаточно большим, чтобы предотвратить почечный клиренс. Следовательно, разработка новых многофункциональных НЧ с контролируемым размером, запускаемых микроокружением опухоли, может быть эффективным подходом для достижения повышенного накопления опухоли, проникновения клеток и интернализации.

Сцинтилляционные НЧ на основе редкоземельных элементов, таких как, LaF₃:Tb³⁺, LaF₃:Ce³⁺, CeF₃:Tb³⁺ и т.д., привлекают все большее внимание в рентгеновской ФДТ из-за их соответствующих сцинтилляционных свойств

и спектроскопических характеристик [39]. Было показано, что эти сцинтилляционные НЧ являются эффективными преобразователями энергии для обычных ФС, приводя к усилению индуцированного рентгеновским излучением генерации синглетного кислорода как в модельных системах, так и в экспериментах *in vivo* [39].

Ионы редкоземельных элементов обладают метастабильными уровнями энергии, которые показывают яркое излучение от УФ до средних инфракрасных областей, используемые для множества фотонных приложений, включая разработку твердотельных лазеров с диодной накачкой в видимой и инфракрасной области [40]. Оптические свойства трехвалентных ионов РЗЭ определяются схемой энергетических уровней их 4f оболочки. Частично запрещенные 4f – 4f переходы формируют спектры поглощения и люминесценции в виде серий узких линий. Подобная энергетическая конфигурация позволит наблюдать в материалах, активированных ионами РЗЭ как стоксову, так и антистоксову люминесценцию.

Благодаря длительному времени жизни своих метастабильных уровней, ионы РЗЭ также могут обладать антистоксовыми полосами излучения, обусловленными процессом передачи энергии, называемым повышающим преобразованием, который способствует возбуждению на более высокие уровни энергии с минимальными потерями. Это явление стало очень популярным в наночастицах, легированных РЗЭ, особенно наночастицах фторидов, которые могут демонстрировать очень яркое антистоксово излучение [41]. Эти наночастицы обладают большими преимуществами перед более распространенными квантовыми точками, такими как стабильность флуоресценции, отсутствие фотообесцвечивания, сильная проникающая способность, низкое индуцированное фотоповреждение, слабый фон автофлуоресценции, высокая чувствительность обнаружения и отношение сигнал / шум [42].

В свою очередь понижающее преобразование в материалах, содержащих РЗЭ, может происходить с высокой эффективностью.

Среди фторидов элементов редкоземельной группы трифторид иттрия (YF_3) является важным материалом и имеет потенциально широкие применения в оптической телекоммуникации, в качестве люминофоров, в люминесцентных устройствах, твердотельных батареях, датчиках и т.д. [32]. Соединение YF_3 было исследовано в качестве кристаллической матрицы, легированной лантаноидами, для люминофоров. Кристалл YF_3 , легированный редкоземельными ионами, благодаря большой величине запрещенной зоны (10 эВ) характеризуется эффективной эмиссией в видимом диапазоне спектра под облучением вакуумного УФ диапазона [32] и, следовательно, является хорошим кандидатом на потенциальный люминофор в этой области. Этот материал обеспечивает возможность легирования редкоземельными ионами за счет подходящих позиций Y^{3+} , которые могут легко быть замещены трехвалентными редкоземельными элементами без дополнительной компенсации заряда. Известно, что YF_3 кристаллизуется в ромбической структуре. Все дифракционные пики могут быть легко проиндексированы на чистую ромбическую структуру YF_3 без присутствия какой-либо дополнительной фазы. Узловая симметрия иона Y^{3+} в решетке YF_3 соответствует C_5 .

Дважды допированные образцы YF_3 , содержащие ионы-активаторы, совместно легированные Ce^{3+} , были также изучены, и было обнаружено, что их рентгенограммы сходны с нелегированным и однократно легированным YF_3 , показывая, что во всех образцах сохраняется орторомбическая структура [33].

Поэтому YF_3 является перспективным материалом, используемым в качестве кристаллической матрицы для фосфоров, активированных ионами РЗМ.

Наночастицы CeF_3 были выбраны для исследования, поскольку CeF_3 является эффективным сцинтиллятором, который излучает видимый свет при возбуждении рентгеновскими или гамма-лучами. Данная кристаллическая матрица обладает структурой гексагональной фазы с $R\bar{3}c1$. Ион Ce^{3+} в

кристалле CeF_3 координируется девятью F^- и имеет симметрию C_2 . Кроме того, CeF_3 обладает большим стоксовым сдвигом (10000 см^{-1}) как люминесцентный материал со 100% концентрацией активатора. Это большое значение сдвига Стокса и результирующее меньшее спектральное перекрытие предотвращают резонансный перенос энергии между ионами Ce^{3+} , тем самым уменьшая вероятность концентрационного тушения. Кроме того, CeF_3 обладает высокой квантовой эффективностью и широким спектром излучения в ультрафиолетовой области при комнатной температуре, что делает его вполне пригодным для разработки перестраиваемых твердотельных лазеров с короткими импульсами в этой спектральной области [34]. Также, ионы Ce^{3+} с оптически разрешенными d-f-переходами демонстрируют большее поглощение в УФ-области и более короткое время жизни люминесценции в качестве превосходного сенсibilизатора.

До настоящего времени было разработано множество стратегий для синтеза люминофоров CeF_3 и $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}$, включая полиольный процесс, гидротермальный метод, ультразвуковой путь, микроэмульсионный подход, метод электрораспыления и процесс термолиза [34,35].

Эффективный механизм переноса энергии между ионами лантаноидов позволяет получить эффективный люминесцентный материал [36]. Трехвалентные лантаноидные катионы характеризуются электронными переходами в экранированной 4f-оболочке. Например, люминесценция тербия (Tb^{3+}) состоит из серии узких линий в видимом диапазоне спектра и широко используется в качестве люминофоров для освещения и биологической маркировки [37]. Ионы церия (Ce^{3+}) и тербия (Tb^{3+}) имеют характерные и весьма привлекательные для настоящего применения спектры возбуждения в УФ и рентгеновской области. Следовательно, они часто используются в качестве люминесцентных легирующих ионов в сцинтилляторах. При использовании фторида лантана в качестве матрицы, спектр свечения Ce^{3+} перекрывается с фотосенсibilизаторами, такими как

хлорин е6 (Ce6) и дейтеропорфирин IX. Ионы Tb^{3+} имеет сильное свечение в области 542 нм, которое перекрывается с спектром поглощения фотосенсибилизатора розовый бенгальский.

Со-активация ионами Ce^{3+} и Tb^{3+} приводит к интенсивному зеленому излучению при возбуждении УФ излучением благодаря высокоэффективному переносу энергии от Ce^{3+} к Tb^{3+} , что наблюдается в таких материалах как $LaPO_4$ и $NaYF_4$ [36]. В этих материалах ионы Ce^{3+} , используемые в качестве сенсбилизатора, обладают высокой поглощающей способностью в области УФ/видимой из-за разрешенных 4f–5d–переходов. Следовательно, интенсивная люминесценция Tb^{3+} может наблюдаться при возбуждении иона Ce^{3+} и за счет дальнейшей эффективной передачи энергии от Ce^{3+} на высоколежащие состояния ионов Tb^{3+} с последующей перекрестной релаксацией. Процессы переноса энергии ($Ce^{3+}-Tb^{3+}$) схематично показаны на рисунке 4.

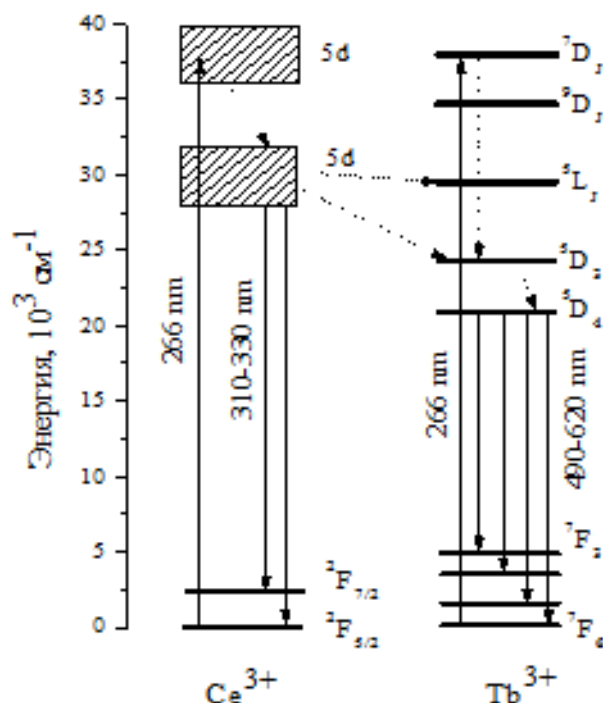


Рисунок 4 – Схема энергетических состояний ионов Ce^{3+} и Tb^{3+}

1.4 Фёрстеровский резонансный перенос энергии

Флуоресцентный резонансный перенос энергии (FRET) между двумя молекулами является важным физическим явлением, которое может использоваться для изучения взаимодействия наномедицинских препаратов с биологическими системами [43]. Метод FRET, используемый в оптической микроскопии, позволяет определять приближение двух молекул на расстоянии нескольких нанометров. FRET был впервые описан более 50 лет назад и сегодня все чаще используется в биомедицинских исследованиях и открытии лекарств. FRET – это безызлучательный перенос энергии от возбужденного донорного флуорофора на соответствующий акцепторный флуорофор. FRET – один из немногих инструментов для измерения расстояний в нанометровом масштабе и для измерения расстояний *in vitro* и *in vivo*. Из-за своей чувствительности к расстоянию FRET используется для изучения взаимодействий на молекулярном уровне. Последние достижения в этой технике привели к качественным и количественным улучшениям, включая более высокое пространственное разрешение, расстояние и чувствительность.

Механизм резонансной передачи энергии включает в себя донорный флуорофор в возбужденном электронном состоянии, который может передавать свою энергию возбуждения без излучения соседнему акцепторному флуорофору посредством электро-дипольного взаимодействия на расстоянии до 10 нм.

Пару молекул, которые взаимодействуют посредством FRET, часто называют донорно-акцепторной парой. Происхождение FRET не связано с испусканием фотонов. Кроме того, акцепторный хромофор не обязательно должен быть флуоресцентным. Хотя в большинстве случаев донор и акцептор - флуоресцентные.

В процессе FRET донор сначала поглощает энергию из-за возбуждения падающего света и передает энергию возбуждения ближайшему акцептору.

Обнаружение и количественное определение FRET может быть произведено несколькими различными способами. Явление можно наблюдать, возбуждая образец, содержащий как донорные, так и акцепторные молекулы, светом, излучаемым на длинах волн с центром вблизи максимума излучения акцептора. Поскольку FRET может привести как к уменьшению флуоресценции донорной молекулы, так и к увеличению флуоресценции акцептора, можно определить соотношение двух сигналов. Преимущество этого метода заключается в том, что может быть произведена мера взаимодействия, которая не зависит от абсолютной концентрации датчика. Так как не все акцепторные фрагменты являются флуоресцентными, их можно использовать в качестве средства для тушения флуоресценции. В результате взаимодействий, которые приводят к тому, что флуоресцентная донорная молекула, находящаяся в непосредственной близости от такой молекулы, приведет к потере сигнала. И наоборот, реакции, которые устраняют близость флуоресцентного донора и гасителя, приводят к увеличению флуоресценции. Другим альтернативным методом, быстро набирающим популярность, является измерение времени жизни флуоресценции донорного флуорофора в присутствии и отсутствии акцепторного хромофора. FRET приведет к уменьшению времени жизни донорного флуорофора.

На рисунке 5 показана диаграмма Яблонского, показывающая связанные переходы между испусканием и поглощением донора в FRET. В присутствии подходящего акцептора флуорофор может передавать энергию своего возбужденного состояния непосредственно акцептору, не испуская фотон.

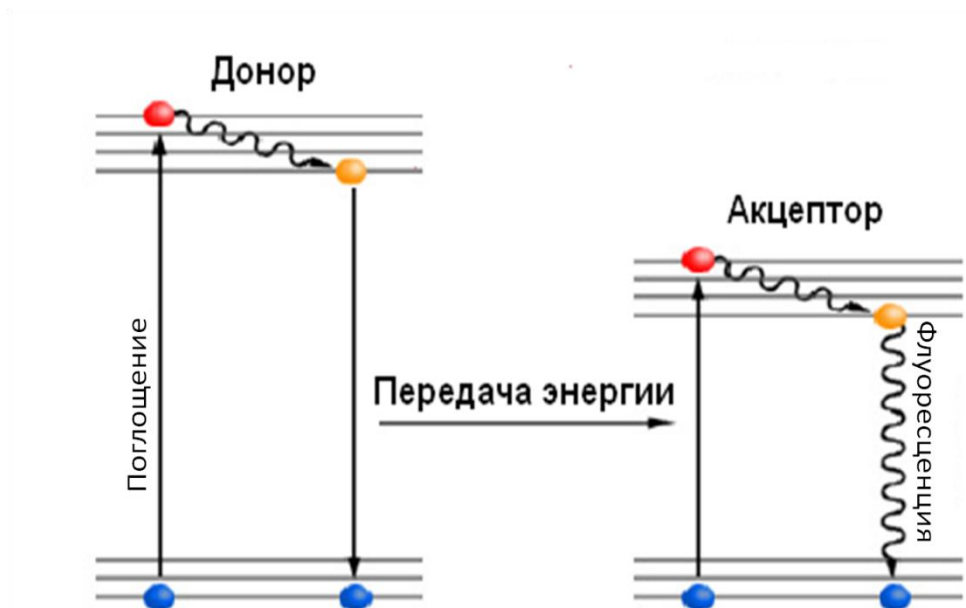


Рисунок 5 – диаграмма Яблонского, показывающая связанные переходы между испусканием и поглощением донора в FRET

Для реализации FRET необходимо соответствие нескольким критериям:

1. Спектр излучения флуоресценции донорной молекулы (F_d) должен перекрывать спектр поглощения или возбуждения акцепторного хромофора, который является прямым измерением коэффициента молярной экстинкции ϵ_A (Рисунок 6). Степень перекрытия называется спектральным интегралом перекрытия (J), определяющимся следующей формулой:

$$J = \int F_d(\lambda) \epsilon_A(\lambda) \lambda^4 d\lambda \quad (1)$$

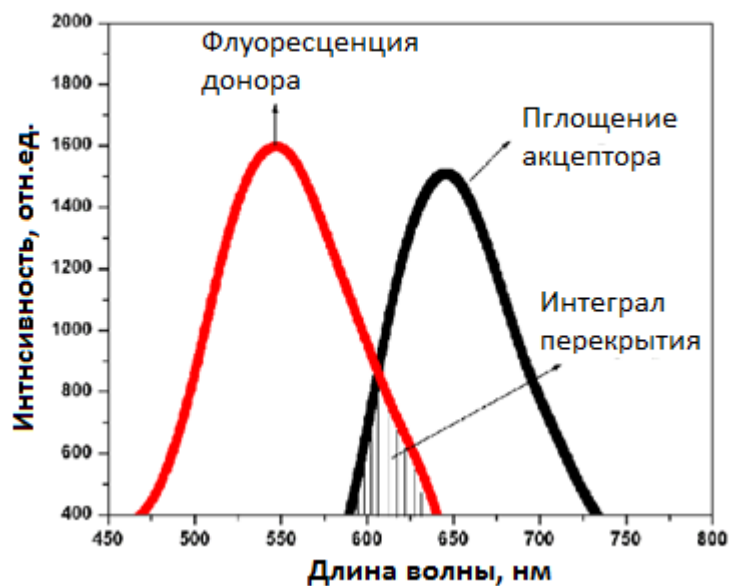


Рисунок 6 – Графическое представление спектрального перекрытия J между спектрами флуоресценции донора (красный) и спектрами поглощения акцептора (черный)

2. Два флуорофора (донор и акцептор) должны находиться в непосредственной близости (обычно от 1 до 10 нанометров).

3. Переходные дипольные моменты донора и акцептора должны быть примерно параллельны друг другу. Обычно предполагается, что K^2 равно $2/3$, что представляет собой среднее значение, проинтегрированное по всем возможным углам для свободно вращающихся прикрепленных флуорофоров.

4. Время жизни флуоресценции донорной молекулы должно быть достаточно большим, чтобы позволить FRET сформироваться.

Ферстер [44] показал, что эффективность процедуры FRET (E_{FRET}) обратно пропорциональна шестой степени от расстояния между парой доноров и акцепторов (r) и определяется выражением:

$$E_{\text{FRET}} = R_0^6 / (R_0^6 + r^6), \quad (2)$$

где R_0 – радиус Ферстера, при котором половина энергии возбуждения донора передается акцепторному хромофору. Поэтому радиус Ферстера (R_0) называется расстоянием, при котором эффективность передачи энергии составляет 50%.

Радиус Ферстера (R_0) зависит от квантовой эффективности флуоресценции донора в отсутствие акцептора (f_d), показателя преломления раствора (n), угловой ориентации диполя каждой молекулы (K^2) и интеграл спектрального перекрытия донорно–акцепторной пары (J) по формуле [44]:

$$R_0^6 = \frac{2.07}{128\pi^5 N_A} \frac{K^2 f_d}{n^4} J \quad (3)$$

Любое событие или процесс, которые влияют на расстояние между парой донор–акцептор, будут влиять на скорость FRET, которая зависит от степени спектрального перекрытия между парой донор–акцептор, квантового выхода донора, относительной ориентации дипольных моментов перехода донор–акцептор и расстояния между донорно–акцепторным хромофором, что позволяет количественно оценить явление.

ГЛАВА 2. ТЕХНИКА ЭКСПЕРИМЕНТА И СИНТЕЗ НАНОЧАСТИЦ $Y_{0,5-x}Ce_{0,5}Tb_xF_3$

2.1 Синтез наночастиц $Y_{0,5-x}Ce_{0,5}Tb_xF_3$ ($x=0,005; 0,01; 0,05; 0,2$)

Для получения исследуемых наночастиц использовали метод соосаждения [45]. Объектами исследования являлись кристаллы серии $Y_{0,5-x}Ce_{0,5}Tb_xF_3$ ($x=0,005; 0,01; 0,05; 0,2$).

Для синтеза использовались такие исходные вещества, как $Ce(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$, $Tb(NO_3)_3 \cdot 5H_2O$, $Y(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$, лимонная кислота, раствор аммиака. В качестве фторирующего агента применялся NH_4F , взятый в трехкратном избытке.

Для уменьшения размера наночастиц использовали 0,3 М раствор цитрата аммония, который готовили следующим образом: навеску лимонной кислоты растворяли в 800 мл дистиллированной воды, затем доводили рН до 5 путем прикапывания раствора аммиака.

Массы исходных веществ приведены в таблице 3.

Таблица 3 – Массы исходных веществ, которые были использованы для синтеза $Y_{0,5-x}Ce_{0,5}Tb_xF_3$ ($x=0,005; 0,01; 0,05; 0,2$)

Масса исходного вещества, г	$x=0,005$	$x=0,01$	$x=0,05$	$x=0,2$
$m(Ce(NO_3)_3 \cdot 6H_2O)$	2,1706	2,1706	2,1706	2,1706
$m(Tb(NO_3)_3 \cdot 5H_2O)$	0,0217	0,0435	0,2174	0,8699
$Y(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$	1,8959	1,8767	1,7235	1,1491
$m(NH_4F)$	3,3333	3,3333	3,3333	3,3333

К навеске NH_4F добавляли 100 мл дистиллированной воды. После полного растворения фторида аммония раствор был профильтрован при помощи бумажного фильтра, чтобы избавиться от механических примесей. Навеску нитратов иттрия, церия и тербия растворяли в 150 мл раствора цитрата аммония, затем фильтровали. Полученный раствор был поставлен на магнитную мешалку. К нему тонкой струей добавляли раствор фторида аммония. После чего, полученный коллоид перемешивали 15 минут на магнитной мешалке.

К коллоидному раствору долили воды до объема 400 мл, затем облучали микроволновым излучением (2,5 ГГц, 650 W) в течение 180 минут. При этом время нагрева разбивали на интервалы по 10 минут, с восполнением объема до 400 мл после каждого интервала.

Выпавший осадок промывали от побочных продуктов реакции следующим образом: сначала коллоид центрифугировали в течение 5–7 минут при скорости вращения 10000 об/мин, затем раствор над осадком сливали и снова заливали дистиллированную воду. Затем осадок диспергировали в ультразвуковой ванне. После 6 циклов промывания сушили на воздухе при температуре 50 °С в течение 12 часов.

Для создания конъюгата наночастицы и препарата Радахлоин был использован связующий материал, которым покрывались наночастицы. Для этого наночастицы добавляли к раствору полиэтиленimina (ПЭИ). К готовому коллоиду прикапывали препарат Радахлорин.

2.2 Экспериментальная техника

Для возбуждения образцов использовалось излучение на двух длинах волн – 266 и 299 нм. В качестве источника излучения с длиной волны 266 нм использовался импульсный лазер YAG: Nd с 4-ой гармоникой (LS-2147, Lotis Tii). Для получения излучения с длиной волны 299 нм лазерные импульсы с длиной волны 266 нм проходили через ВКР преобразователь. Во

всех случаях длительность импульса составляла 10 нс, а частота следования 10 Гц.

Регистрация спектров люминесценции осуществлялась при помощи установки, показанной на рисунке 7. Здесь, излучение от источника 1 через призму 3 заводится на образец 4. Люминесценция образца при помощи оптоволоконна 5 заводится на портативный спектрометр (EPP2000, StellarNet) с разрешением 0,5 нм. 6. Управление спектрометром и регистрация спектров осуществляется с помощью компьютера 7.

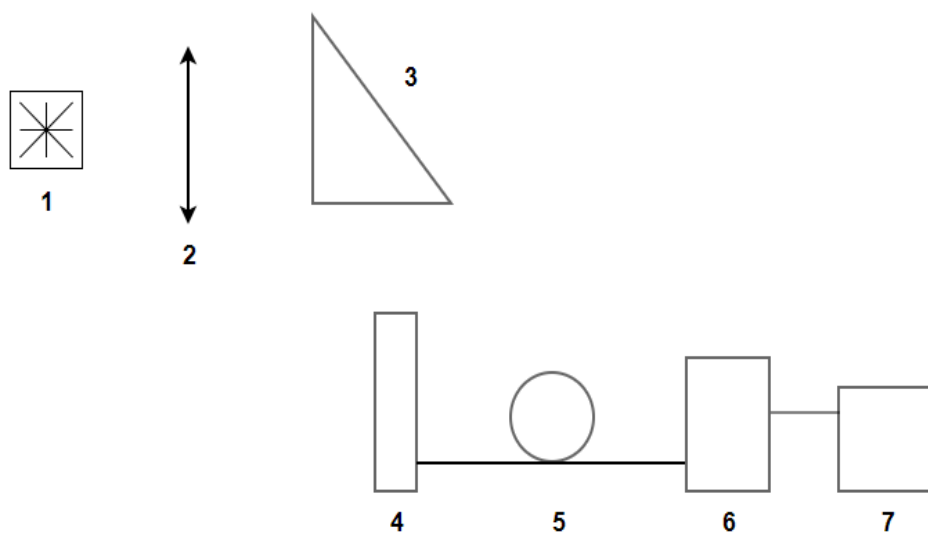


Рисунок 7 – Схема экспериментальной установки для регистрации спектров люминесценции: 1– источник возбуждения, 2– собирающая линза, 3– призма, 4– кювета с образцом, 5– оптоволоконно, 6– спектрометр, 7– ПК

Для обработки зарегистрированных данных использовался программный пакет OriginPro.

Схема установки, использованной для регистрации сигнала затухания люминесценции образцов, показана на рисунке 8.

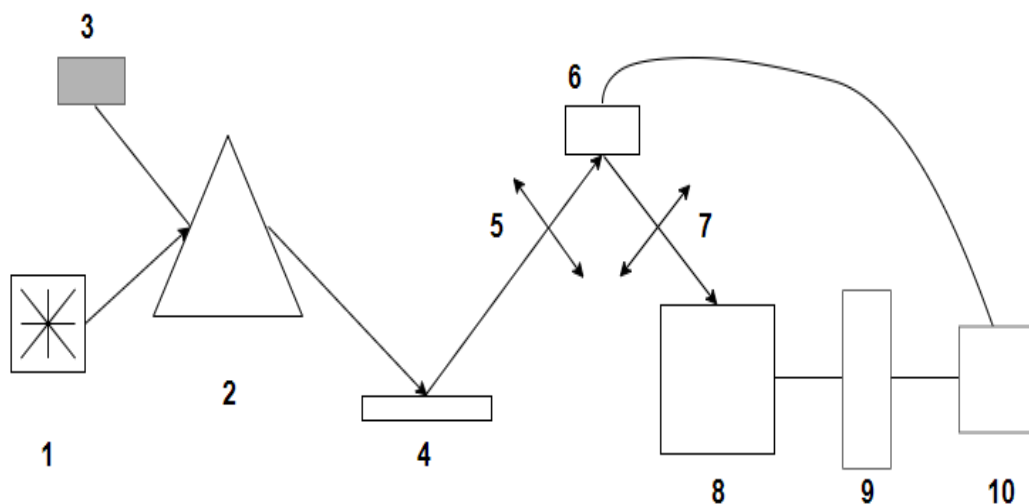


Рисунок 8 – Схема экспериментальной установки для исследования времен затухания люминесценции: 1–источник возбуждения, 2– призма, 3– детектор синхронизации, 4– зеркало, 5,7– собирающие линзы, 6–кювета с образцом, 8– монохроматор, 9– ФЭУ, 10– осциллограф

От источника 1 импульс возбуждения попадал на призму 2. Часть, отраженная от поверхности призмы, попадала на детектор синхронизации 3, а остальная часть отражалась от зеркала 4 и фокусировалось на образце 6 линзой 5. Люминесценция образца фокусировалась линзой 7 на входной щели монохроматора (МДР-23, Ломо). Регистрация осуществлялась при помощи фотоэлектронного умножителя ФЭУ-100 с постоянной времени меньше 6 нс и осциллографа (RTE1102, Rhode&Schwartz) с частотой дискретизации 1 ГГц.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Характеризация наночастиц $Y_{0,5-x}Ce_{0,5}Tb_xF_3$

Полученные образцы были исследованы методами рентгеноструктурного анализа при комнатной температуре, используя рентгеновский дифрактометр Shimadzu XRD7000S. Также, морфология и размер наночастиц были изучены при помощи просвечивающего электронного микроскопа (ПЭМ) Hitachi HT7700 Exalens. В дополнение к этому, при помощи сканирующего электронного микроскопа Zeiss Merlin были зарегистрированы рентгеновские спектрограммы для демонстрации химического состава наночастиц. Образцы для СЭМ были покрыты слоем хрома.

Дифрактограмма представлена на рисунке 9. Она представляет собой линии пространственной группы $P\bar{3}c1$, характерные для кристаллической структуры CeF_3 .

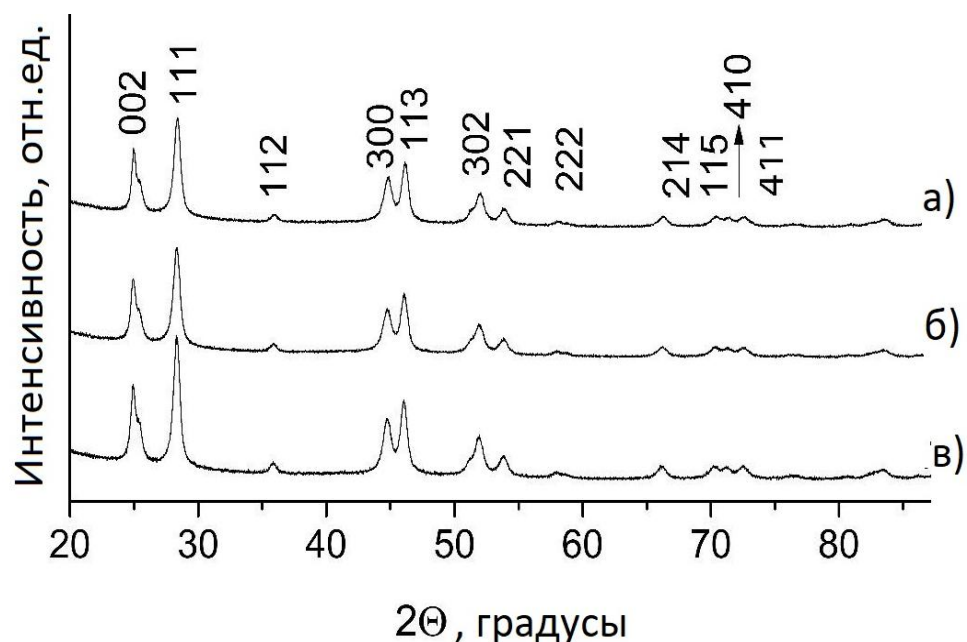


Рисунок 9 – Рентгеновские дифрактограммы наночастиц $Y_{0,5-x}Ce_{0,5}Tb_xF_3$

а) $x = 0,01$; б) $x = 0,05$; в) $x = 0,2$

Рентгеновская дифрактометрия позволяет оценить параметры кристаллической решетки исследуемых нанокристаллов. Применяя закон Брегга к положениям пиков на дифрактограмме можно вычислить межплоскостное расстояние. Затем, зная индексы Миллера, соответствующие пикам и симметрию кристаллической решетки кристалла CeF_3 [25], возможно рассчитать параметры кристаллической ячейки. Результаты расчетов представлены в таблице 4. Они хорошо соответствуют значениям, найденным в литературе ($a = 0.7163$ нм и $c = 0.7336$ нм) [25].

Таблица 4 – Рассчитанные значения параметров кристаллической ячейки наночастиц $\text{Y}_{0,5-x}\text{Ce}_{0,5}\text{Tb}_x\text{F}_3$ ($x=0,005; 0,01; 0,05; 0,2$)

x	0.005	0,01	0,05	0,20
a, Å	7,01±0,14	7,01±0,13	7,02±0,15	7,02±0,16
c, Å	7,18±0,13	7,20±0,14	7,20±0,14	7,19±0,10

Снимки, полученные при помощи ПЭМ, представлены на рисунке 10.

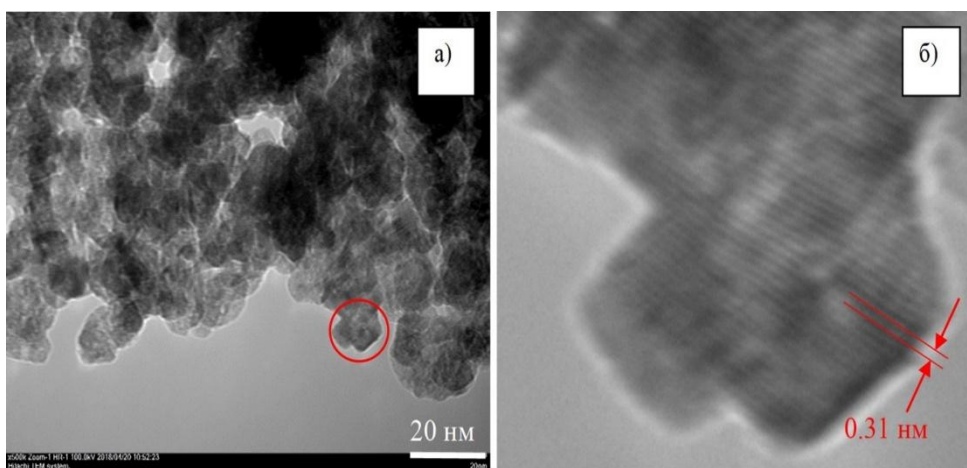
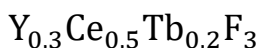


Рисунок 10 – ПЭМ изображения а) наночастиц $\text{Y}_{0,3}\text{Ce}_{0,5}\text{Tb}_{0,2}\text{F}_3$, б) увеличенное изображение выделенной области ПЭМ изображения



Видно, что наночастицы имеют размер 10–15 нм и эллиптическую форму. На рисунке 10б в наночастицах видны хорошо разрешенные атомарные слои, с расстоянием 0,31 нм, что соответствует межплоскостному расстоянию для плоскостей (1 1 1) гексагональной структуры (пространственная группа $P63/mcm$) кристалла CeF_3 (JCPDS card No.08–0045). Это доказывает хорошую кристалличность образцов.

Для дальнейшего исследования элементного состава образцов, при помощи СЭМ были зарегистрированы рентгеновские спектрограммы. Результаты элементного анализа представлены в таблице 5. Значения в таблице явно демонстрируют, что при добавлении Tb^{3+} относительная концентрация Y^{3+} уменьшается, а концентрация Ce^{3+} остается практически неизменной. Очевидно, что ионы Tb^{3+} замещают катионы Y^{3+} решетки и кристаллическая структура остается неизменной.

Таблица 5 – Элементный анализ наночастиц $Y_{0,5-x}Ce_{0,5}Tb_xF_3$ ($x=0,005; 0,01; 0,05; 0,2$), доля ионов в соединении

x	0.005	0,01	0,05	0,2
F	0,771	0,768	0,784	0,754
Y	0,119	0,109	0,096	0,075
Ce	0,107	0,111	0,101	0,123
Tb	0,003	0,011	0,019	0,046

Результаты могут быть объяснены следующим образом: TbF_3 и YF_3 обладают одинаковой орторомбической кристаллической симметрией, близкими значениями параметров кристаллической решетки и ионный радиус Tb^{3+} ближе к радиусу Y^{3+} , чем к Ce^{3+} . Кристаллическая симметрия CeF_3 – гексагональная [25], таким образом, можно предположить, что замещение ионов Y^{3+} ионами Tb^{3+} более предпочтительно.

3.2 Спектрально–кинетические характеристики образцов $Y_{0,5-x}Ce_{0,5}Tb_xF_3$ ($x=0,005; 0,01; 0,05; 0,2$)

Были исследованы спектрально–кинетические характеристики синтезированных образцов $Y_{0,5-x}Ce_{0,5}Tb_xF_3$ ($x= 0,005; 0,01; 0,05; 0,2$). Спектры люминесценции при возбуждении на длине волны 299 нм представлены на рисунке 11.

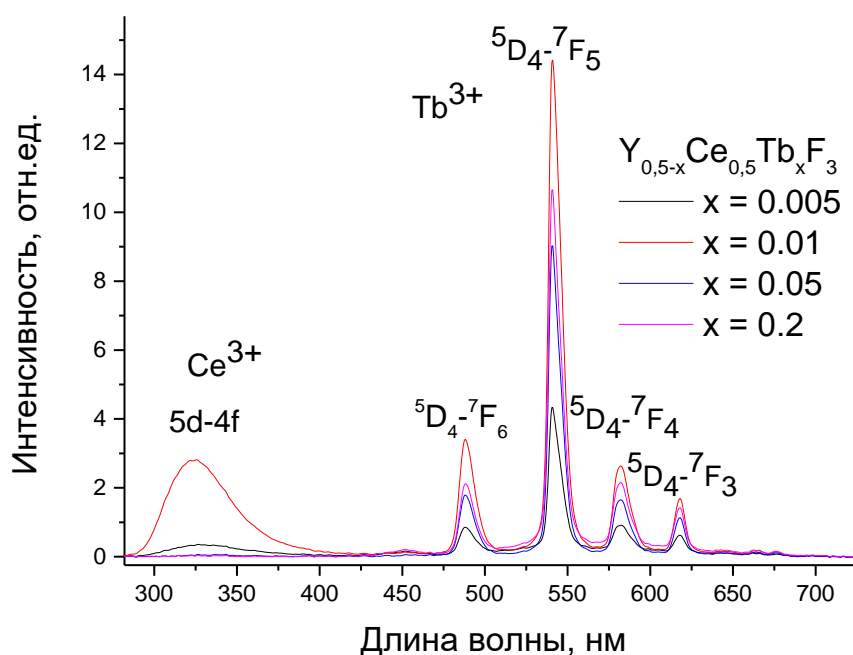


Рисунок 11 – Спектры люминесценции наночастиц $Y_{0,5-x}Ce_{0,5}Tb_xF_3$ ($x=0,005; 0,01; 0,05; 0,2$)

Представленные на рисунке 11 спектры включают в себя линии, характерные для ионов церия и тербия. В области от 280 до 400 нм видна широкая полоса люминесценции ионов церия, обусловленная 5d–4f переходами.

В видимой области спектр состоит из хорошо известных линий излучения 4f–4f переходов ионов Tb^{3+} , которые наблюдаются при 487, 540, 583 и 619 нм, соответствующих переходам $^5D_4 \rightarrow ^7F_6$, $^5D_4 \rightarrow ^7F_5$, $^5D_4 \rightarrow ^7F_4$ и $^5D_4 \rightarrow ^7F_3$ соответственно. Положение пиков оставалось постоянным во всех образцах. Это говорит о том, что локальное окружение излучающих ионов Ce^{3+} и Tb^{3+} было одинаковым во всех образцах, и кристаллическая структура наночастиц не изменялась при увеличении концентрации Tb^{3+} . В то же время, при увеличении концентрации ионов Tb^{3+} 5d–4f люминесценция ионов Ce^{3+} значительно уменьшается. Спектры люминесценции всех образцов выявили аналогичный спектральный профиль, за исключением изменения интенсивности излучения при увеличении концентрации ионов тербия.

На рисунках представлены кинетики люминесценции ионов церия (327 нм) (рисунок 12) и ионов тербия (рисунок 13) (540 нм) в наночастицах $Y_{0,5-x}Ce_{0,5}Tb_xF_3$ ($x=0,005; 0,01; 0,05; 0,2$).

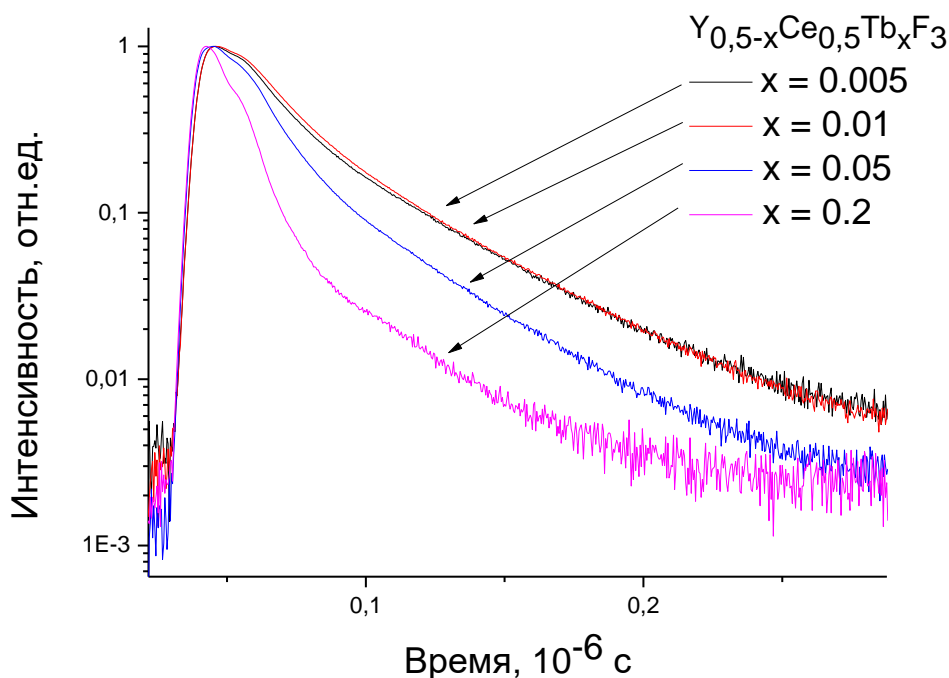


Рисунок 12 – Кинетики люминесценции наночастиц $Y_{0,5-x}Ce_{0,5}Tb_xF_3$ ($x=0,005; 0,01; 0,05; 0,2$) для ионов церия

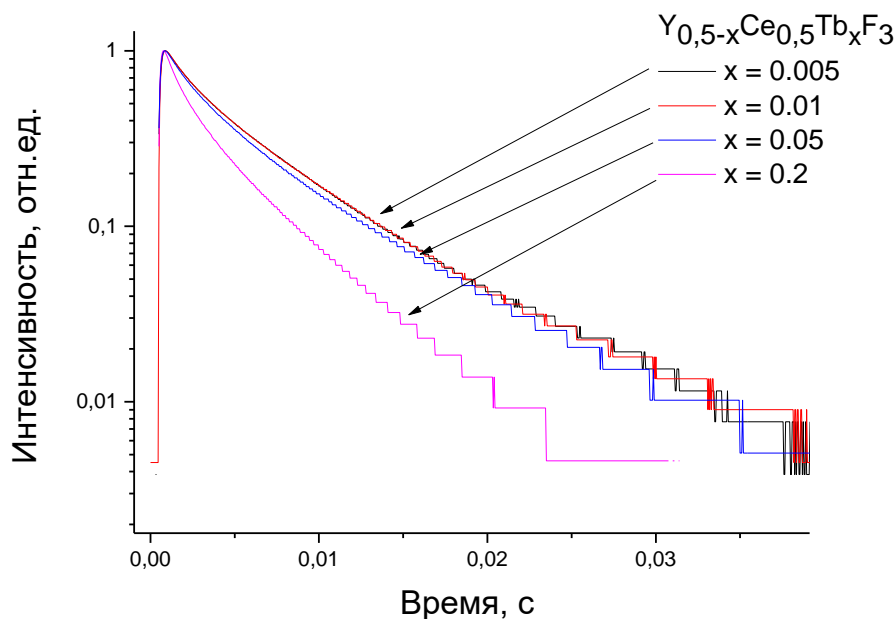


Рисунок 13 – Кинетики люминесценции наночастиц $Y_{0,5-x}Ce_{0,5}Tb_xF_3$ ($x=0,005; 0,01; 0,05; 0,2$) для ионов тербия

Времена жизни являются характерными для этих ионов, но при этом заметно значительное отклонение от одноэкспоненциального закона распада.

В связи с этим было оценено среднее время затухания люминесценции t_{cp} для этих ионов по формуле:

$$t_{cp} = \frac{\int t \cdot I(t) dt}{\int I(t) dt} \quad (4)$$

где $I(t)$ – интегральная интенсивность люминесценции. Результаты расчетов приведены в таблице 6.

Таблица 6 – Среднее время затухания люминесценции наночастиц $Y_{1-x}Ce_{0,5}Tb_xF_3$ ($x=0,005; 0,01; 0,05; 0,2$)

x	0,005	0,01	0,05	0,2
t(Ce), нс	26,0±5,0	26,0±5,0	19±5,0	13,0±5,0
t(Tb), мс	6,2±1,0	6,5±1,0	6,4±1,0	4,3±1,0

При увеличении количества ионов тербия наблюдается уменьшение времени жизни люминесценции ионов церия. Это означает, что ионы церия передают энергию ионам тербия безызлучательно. Для ионов тербия видно, что при концентрации 20 % время жизни также меньше, по всей видимости наблюдается концентрационное тушение люминесценции ионов тербия. По-видимому, оптимальной с точки зрения интенсивности люминесценции ионов тербия является концентрация от 5–20 %.

Коэффициент передачи энергии k от Ce^{3+} к Tb^{3+} был оценен используя формулу:

$$k = 1 - I^{Ce,Tb} / I^{Ce}, \quad (5)$$

где $I^{Ce,Tb}$ – интегральная интенсивность люминесценции ионов Ce^{3+} в образце, со-активированным ионами Tb^{3+} и Ce^{3+} , а I^{Ce} – интегральная интенсивность люминесценции ионов Ce^{3+} в образце активированном только ионами Ce^{3+} .

Таблица 7 – Эффективность передачи энергии от Ce^{3+} к Tb^{3+}

Ть	0,005	0,01	0,05	0,20
k	Ниже порога детектирования	0,17	0,20	0,86

Результаты расчетов демонстрируют, что эффективность передачи возрастает при изменении концентрации Tb^{3+} от 0,5% до 5%, а затем значительно увеличивается вплоть до концентрации Tb^{3+} 20%, при которой составляет 0,86.

3.3 Исследование кинетики затухания люминесценции коллоида наночастиц в присутствии Радахлорина, а также конъюгированного с препаратом Радахлорин посредством полиэтиленimina

С точки зрения практического применения терапевтическим ФС будет являться стабильный комплекс наночастицы и молекулы–красителя. Поэтому в настоящей работе был исследован коллоид наночастиц $Y_{0,4}Ce_{0,5}Tb_{0,1}F_3$, конъюгированный с Радахлорином. Эксперимент был разделен на два этапа. В первом исследовалась возможность конъюгации наночастиц и Радахлорина без вспомогательных элементов. Во втором эксперименте исследовалась возможность конъюгации наночастиц и Радахлорина посредством полиэтиленimina.

В ходе первого эксперимента в коллоид наночастиц $Y_{0,4}Ce_{0,5}Tb_{0,1}F_3$ был добавлен Радахлорин, разбавленный водой в соотношении 1:10 и детектировалось время жизни люминесценции ионов Tb^{3+} . При увеличении количества Радахлорина время жизни люминесценции не изменялось. После в коллоид $Y_{0,4}Ce_{0,5}Tb_{0,1}F_3$ прикапывали воду с шагом 0,5 мл, что также не привело к изменению времени люминесценции ионов Tb^{3+} . Таким образом, не наблюдалось образование конъюгатов молекулы–красителя и наночастиц.

Кинетики затухания люминесценции раствора коллоида наночастиц $Y_{0,4}Ce_{0,5}Tb_{0,1}F_3$ в присутствии Радахлорина представлены на рисунке 14. Результаты расчетов среднего времени затухания люминесценции по формуле (4) представлены в таблице 8.

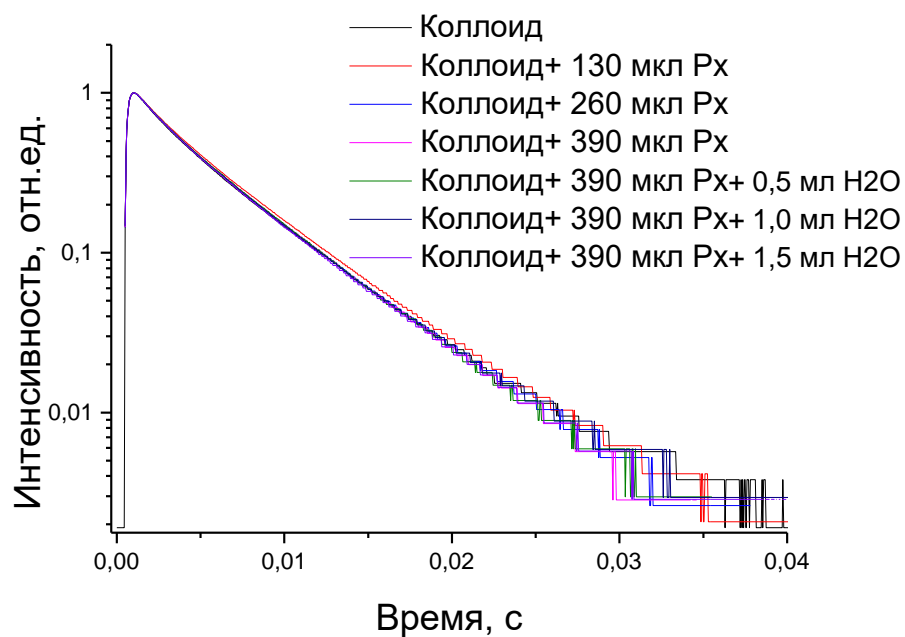


Рисунок 14 – Кинетика затухания люминесценции для коллоида наночастиц $Y_{0,4}Ce_{0,5}Tb_{0,1}F_3$ в присутствии Радахлорина

Таблица 8 – Среднее время затухания люминесценции коллоида наночастиц $Y_{0,4}Ce_{0,5}Tb_{0,1}F_3$ в присутствии Радахлорина

Образец	Время, мс
Коллоид	5,0±0,1
Коллоид+130 мкл Рх	5,1±0,1
Коллоид+260 мкл Рх	5,0±0,1
Коллоид+390 мкл Рх	5,0±0,1
Коллоид+390 мкл Рх+0,5 мл H2O	5,0±0,1
Коллоид+390 мкл Рх+1,0 мл H2O	5,0±0,1
Коллоид+390 мкл Рх+1,5 мл H2O	5,0±0,1

Для второго эксперимента наночастицы $Y_{0,35}Ce_{0,5}Tb_{0,15}F_3$ были покрыты полиэтиленгликолем. Для этого наночастицы были диспергированы в воде и был подготовлен водный раствор полиэтиленгликоля. Общая масса полиэтиленгликоля в два раза превышала массу наночастиц. Затем коллоид прикапывался в раствор полиэтиленгликоля при постоянном перемешивании. После чего дополнительно перемешивался 12 ч при комнатной температуре. Полученный раствор промывался до тех пор, пока значение pH над осадком не стало равным 5–6.

В коллоид наночастиц $Y_{0,35}Ce_{0,5}Tb_{0,15}F_3$, покрытых полиэтиленгликолем, был добавлен Радахлорин, разбавленный водой в соотношении 1:10 и детектировалось кинетика затухания люминесценции ионов Tb^{3+} (рисунок 15). Также как и для чистых наночастиц $Y_{0,5-x}Ce_{0,5}Tb_xF_3$ ($x=0,005; 0,01; 0,05; 0,2$). Наблюдается отклонение от одноэкспоненциального закона распада. Среднее время затухания люминесценции и коэффициент передачи энергии между наночастицами и Радахлорином по рассчитываются формулам (4) и (5) соответственно. Результаты расчетов приведены в таблице 9.

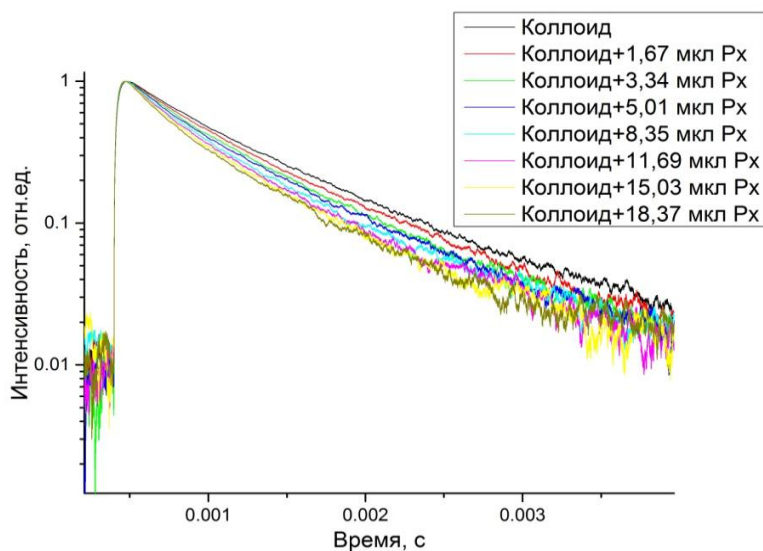


Рисунок 15 – Кинетика затухания люминесценции для коллоида наночастиц $Y_{0,35}Ce_{0,5}Tb_{0,15}F_3$, конъюгированных с Радахлорином посредством полиэтиленгликоля

Таблица 9 – Среднее время затухания люминесценции коллоида наночастиц $Y_{0,35}Ce_{0,5}Tb_{0,15}F_3$ и коэффициент передачи энергии $k_{Hч-Px}$

Образец	Время, мс	$k_{Hч-Px}$, %
Коллоид	$8,1 \pm 0,1$	
Коллоид+1,67 мкл Рх	$7,7 \pm 0,1$	5
Коллоид+3,34 мкл Рх	$6,9 \pm 0,1$	14
Коллоид+5,01 мкл Рх	$6,8 \pm 0,2$	16
Коллоид+8,35 мкл Рх	$6,3 \pm 0,2$	22
Коллоид+11,69 мкл Рх	$6,2 \pm 0,2$	23
Коллоид+15,03 мкл Рх	$5,9 \pm 0,2$	27
Коллоид+18,37 мкл Рх	$5,8 \pm 0,2$	28
Коллоид+18,37 мкл Рх+ 0,5 мл H ₂ O	$5,0 \pm 0,2$	37
Коллоид+18,37 мкл Рх+ 1,0 мл H ₂ O	$5,0 \pm 0,2$	37
Коллоид+18,37 мкл Рх+ 1,5 мл H ₂ O	$5,1 \pm 0,2$	36

При добавлении Радахлорина к коллоиду наблюдалось уменьшение времени жизни люминесценции ионов Tb^{3+} . Следовательно, наблюдается эффективная безызлучательная передача энергии от наночастиц к Радахлорину. При этом разбавление исследуемого раствора наночастиц и Радахлорина водой не изменяет время жизни люминесценции. Таким образом, можно сделать вывод о том, что образовался устойчивый комплекс.

3.3 Расчет критического расстояния

Зная спектральные формы линий поглощения Радахлорина и люминесценции наночастиц (рисунок 16), можно посчитать критический радиус с использованием формулы 3.

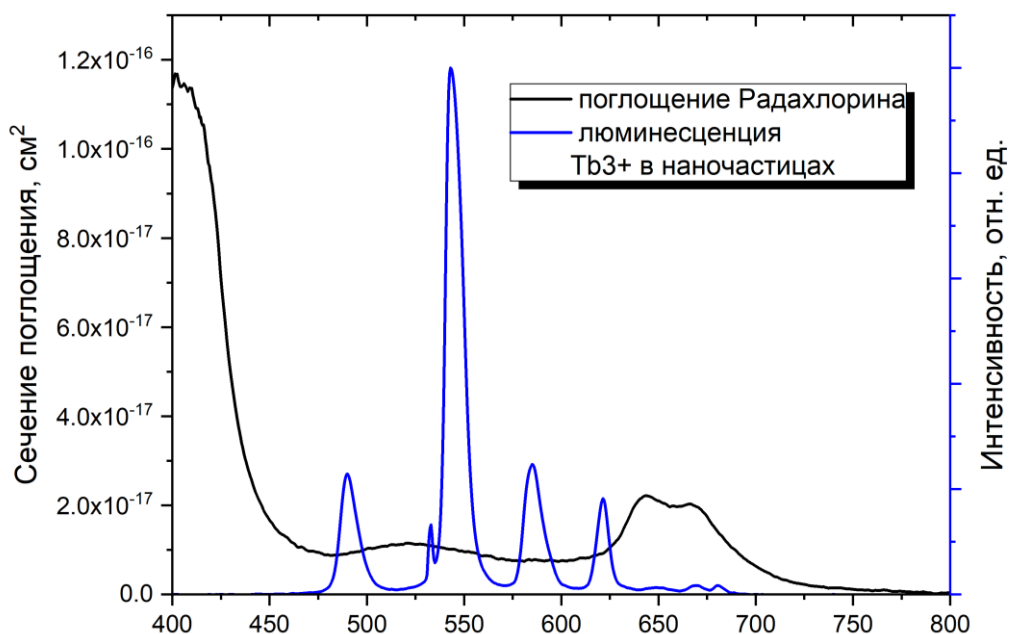


Рисунок 16 – Спектр поглощения Радахлорина и спектр люминесценции ионов Tb^{3+} в наночастицах $Y_{0,35}Ce_{0,5}Tb_{0,15}F_3$

Расчетное значение интеграла перекрытия составило $9.7 \cdot 10^7$ при диапазоне интегрирования от 435 нм до 740 нм, а критический радиус $R_0 = 4,3$ нм.

Далее, используя измеренные эффективности передачи энергии между наночастицами и Радахлорином можно вычислить расстояние между ними с использованием формулы $k = \frac{1}{1 + (\frac{r}{R_0})^6}$, наблюдаемое в эксперименте. Результаты представлены в таблице 10.

Таблица 10 – Расстояние между НЧ и РХ

	r, нм
Коллоид+1,67 мкл РХ	7,0
Коллоид+3,34 мкл РХ	5,8
Коллоид+5,01 мкл РХ	5,7
Коллоид+8,35 мкл РХ	5,3
Коллоид+11,69 мкл РХ	5,2
Коллоид+15,03 мкл РХ	5,1
Коллоид+18,37 мкл РХ	5,0
Коллоид+18,37 мкл РХ+0,5 мл Н ₂ О	4,7
Коллоид+18,37 мкл РХ+1,0 мл Н ₂ О	4,7
Коллоид+18,37 мкл РХ+1,5 мл Н ₂ О	4,7

Из таблицы 10 видно, что при увеличении количества РХ расстояние между НЧ и молекулами РХ уменьшается. При минимальной концентрации РХ $r=7$ нм, при максимальной – 5 нм.

При последующем разбавлении водой расстояние между НЧ и молекулами РХ незначительно уменьшается, что объясняется остаточными процессами агломерации между НЧ и РХ. Дальнейшее разбавление не сказывается на расстоянии между НЧ и РХ, что доказывает формирование стабильных конъюгатов.

3.4 Оценка выживаемости клеток A549 в присутствии наночастиц и Радахлорина

Клетки культивировали в среде DMEM с добавлением 10%-ой инактивированной телячьей эмбриональной сыворотки, 2 мМ глутамина, 100 ед/мл пенициллина и 100 ед/мл стрептомицина в 5%-ой среде CO_2 при 37°C в инкубаторе.

Клетки высевали в 96-луночный черный планшет. В каждую лунку планшета вносили суспензию 1×10^4 клеток/лунку и доводили объем среды до 150 мкл/лунку. По достижению монослоем клеток 60% конфлюэнтности заменяли среду в лунках на свежую с добавлением анализируемых агентов.

Оценку выживаемости клеток осуществляли после их культивирования в течение 24 часов в присутствии наночастиц и после облучения с использованием МТТ (бромид 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия) (5 мг/мл) (Sigma-Aldrich, США). В основе МТТ-теста лежит реакция восстановления желтой соли тетразолия МТТ митохондриальными дегидрогеназами живых клеток до пурпурных кристаллов формазана, которые нерастворимы в водной среде обитания клеток. Количество образовавшегося формазана пропорционально числу жизнеспособных клеток в лунке.

В результате показано, что для конъюгатов с препаратом Радахлорин выживаемость оказывается немного выше, чем для наночастиц без него (Рисунки. 17 и 18).

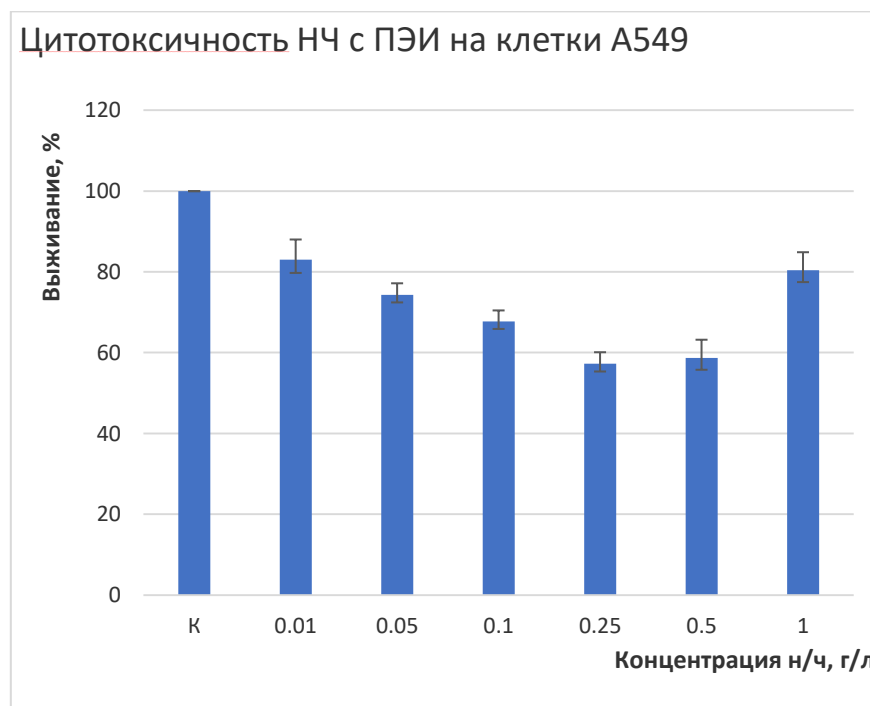


Рисунок 17 – Цитотоксичность НЧ с ПЭИ на клетки A549

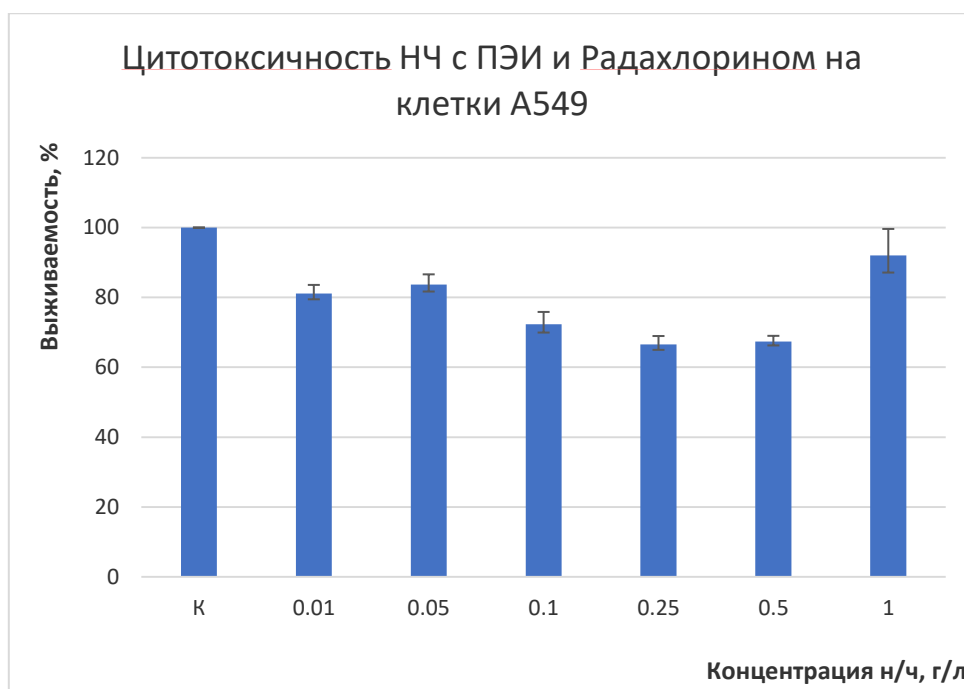


Рисунок 18 – Цитотоксичность НЧ с ПЭИ и Радахлорином на клетки А549

Общей характеристикой является то, что при увеличении концентрации наночастиц выживаемость уменьшается. При этом выживаемость не опускается ниже 50% для ПЭИ. Для больших значений концентрации наблюдается увеличение выживаемости, что по-видимому связано с образованием крупных агломератов, которые выпадают в виде осадка, либо не участвуют во взаимодействии с клетками.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Произведен синтез наночастиц $Y_{0,5-x}Ce_{0,5}Tb_xF_3$ ($x= 0,005; 0,01; 0,05; 0,2$) методом соосаждения. Фазовый состав, размер и морфология полученных наночастиц были исследованы с использованием техники порошковой рентгеновской дифракции и просвечивающей электронной микроскопии. Была подтверждена кристалличность образцов, образцы имели распределение размеров от 10 до 15 нм, демонстрировали постоянный фазовый и элементный состав. Показано, что все образцы серии имели кристаллическую структуру CeF_3 . Химический состав был исследован при помощи рентгеновской флуоресценции, что показало, что ионы Tb^{3+} замещают ионы Y^{3+} .

Для исследования оптических свойств наночастиц были зарегистрированы спектры люминесценции и кинетики затухания люминесценции порошкообразных образцов на длинах волн свечения как ионов Ce^{3+} , так и ионов Tb^{3+} при возбуждении на длинах волн 266 нм и 299 нм.

Кинетики затухания люминесценции обоих ионов не являются одноэкспоненциальными, что следует ожидать для наноразмерных образцов. Показана эффективная передача энергии от ионов Ce^{3+} к ионам Tb^{3+} . Эксперименты с образцами с различной концентрацией ионов Tb^{3+} доказали существование концентрационного тушения, и оптимальным количеством ионов Tb^{3+} являются значения концентрации от 5 до 20 %, эффективность передачи энергии растет при увеличении концентрации ионов Tb^{3+} и достигает 86% для концентрации ионов Tb^{3+} 20 %.

Исследованы кинетики затухания люминесценции наночастиц $Y_{0,4}Ce_{0,5}Tb_{0,1}F_3$ в присутствии Радахлорина, а также конъюгированных с препаратом Радахлорин посредством полиэтиленimina. Показана эффективная безызлучательная передача энергии между наночастицами и препаратом Радахлорин, рассчитанный по данным спектроскопических

экспериментов критический радиус составляет $R_0=4,3$ нм. Коэффициент передачи энергии между наночастицами и Радахлорином достигает 38%.

Таким образом, можно сделать вывод, что простой метод соосаждения наночастиц из водного раствора позволяет получать перспективные люминофоры для ФДТ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Photodynamic therapy / T. J. Dougherty, C. J. Gomer, B. W. Henderson [et al.]. – Текст : непосредственный // JNCI: Journal of the national cancer institute. – 1998. – V. 90, №. 12. – P. 889–905.
2. Rational design of IR820– and Ce6–based versatile micelle for single NIR laser–induced imaging and dual–modal phototherapy / X. Hu, H. Tian, W. Jiang [et al.]. – Текст : непосредственный // Small. – 2018. – V. 14. – P.e1802994 (1–11).
3. MnO₂@Ce6–loaded mesenchymal stem cells as an "oxygen–laden guided–missile" for the enhanced photodynamic therapy on lung cancer / W. Cao, B. Liu, F. Xia [et al.]. – Текст : непосредственный // Nanoscale. – 2020. – V. 12. – P. 3090–3102.
4. Self–assembled single–atom nanozyme for enhanced photodynamic therapy treatment of tumor / D. Wang, H. Wu, SZF. Phua [et al.]. – Текст : непосредственный // Nat. Commun. – 2020. – V. 11. – P. 357.
5. Preclinical and clinical evidence of immune responses triggered in oncologic photodynamic therapy: clinical recommendations / H. I. Beltran, Y. Yu, F. Ossendorp [et al.]. – Текст : непосредственный // J. Clin. Med. – 2020. – V. 9.
6. Padeliporfin vascular–targeted photodynamic therapy versus active surveillance in men with low–risk prostate cancer (CLIN1001 PCM301): an open–label, phase 3, randomised controlled trial / A. R. Azzouzi, S. Vincendeau, E. Barret [et al.]. – Текст : непосредственный // Lancet Oncol. – 2017. – V. 18. – P. 181–191.
7. Beyond the barriers of light penetration: strategies, perspectives and possibilities for photodynamic therapy / S. Mallidi, S. Anbil, A. L. Bulin [et al.]. – Текст : непосредственный // Theranostics. – 2016. – V. 6. – P. 2458–2487.

8. Longitudinal, label-free, quantitative tracking of cell death and viability in a 3D tumor model with OCT / Y. Jung, O. J. Klein, H. Wang, C. L. Evans. – Текст : непосредственный // Sci. Rep. – 2016. – V. 6. – P. 27017.
9. Dougherty, T. J. Photodynamic therapy (PDT) of malignant tumors / T. J. Dougherty. – Текст : непосредственный // Critical reviews in oncology / hematology. – 1984. – V. 2, №. 2. – P. 83–116.
10. Photosensitizers in clinical PDT / R. R Allison, G. H. Downie, R. Cuenca [et al.]. – Текст : непосредственный // Photodiagnosis and photodynamic therapy. – 2004. – V. 1, №. 1. – P. 27–42.
11. Robust photodynamic therapy using 5-ALA-incorporated Nanocomplexes cures metastatic melanoma through priming of CD4(+)CD8(+) double positive T cells / Z. Li, C. Wang, H. Deng [et al.]. – Текст : непосредственный // Adv Sci (Weinh). – 2019. – V. 6. – P. 1802057 (1–18).
12. Designing photosensitizers for photodynamic therapy: strategies, challenges and promising developments / M. J. Garland, C. M. Cassidy, D. Woolfson, R. [et al.]. – Текст : непосредственный // Future Med. Chem. – 2009. – V. 1. – P. 667–691.
13. Dolmans, D. E. Photodynamic therapy for cancer / D. E. Dolmans, D. Fukumura, R. K. Jain. – Текст : непосредственный // Nature reviews cancer. – 2003. – V. 3, №. 5. – P. 380-387.
14. Detty, M. R. Current clinical and preclinical photosensitizers for use in photodynamic therapy / M. R. Detty, S. L. Gibson, S. J. Wagner. – Текст : непосредственный // Journal of medicinal chemistry. – 2004. – V. 47, №. 16. – P. 3897–3915.
15. Allison, R. R. Oncologic photodynamic therapy photosensitizers: a clinical review / R. R. Allison, C. H. Sibata. – Текст : непосредственный // Photodiagnosis and photodynamic therapy. – 2010. – V. 7, №. 2. – P. 61–75.
16. Photosensitizer Radachlorin®: Skin cancer PDT phase II clinical trials / E.V. Kochneva, E. V. Filonenko, E. G. Vakulovskaya [et al.]. – Текст :

- непосредственный // Photodiagnosis and photodynamic therapy. – 2010. – V. 7, №. 4. – P. 258–267.
17. Radachlorin as a photosensitizer / M. A. Neginskaya, E. V. Berezhnaya, M. V. Rudkovskii, A. B. Uzdensky. – Текст : непосредственный // Saratov Fall Meeting 2014: Optical Technologies in Biophysics and Medicine XVI; Laser Physics and Photonics XVI; and Computational Biophysics. – International Society for Optics and Photonics. – 2015. – V. 9448. – P. 94480.
18. Toward understanding the high PDT efficacy of chlorin e6–polyvinylpyrrolidone formulations: Photophysical and molecular aspects of photosensitizer–polymer interaction in vitro / H. A. Isakau, M. V. Parkhats, V. N. Knyukshto [et al.]. – Текст : непосредственный // Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. – 2008. – V. 92, №. 3. – P. 165–174.
19. Steady–state fluorescence–phosphorescence studies of Radachlorin® kinetics and singlet oxygen formation in water / A. L. Glazov, I. V. Semenova, O. S. Vasyutinskii. – Текст : непосредственный // Journal of Applied and Laser Spectroscopy. – 2015. – V. 1, №. 2. – P. 9–14.
20. Фотофизические свойства фотосенсибилизаторов порфириновой природы / А. В. Дадеко, Т. Д. Муравьева, А. М. Стародубцев [и др.]. – Текст : непосредственный // Оптика и спектроскопия. – 2015. – Т. 119, №. 4. – С. 617–622.
21. Kinetics of photobleaching of Radachlorin photosensitizer in aqueous solutions / D. M. Beltukova, I. V. Semenova, A. G. Smolin, O. S. Vasyutinskii. – Текст : непосредственный // Chemical Physics Letters. – 2016. – V. 662, № 1. – P. 127–131.
22. Photobleaching Mechanisms of Radachlorin Photosensitizer in Aqueous Solution / D. M. Beltukova, O. S. Vasyutinskii, A. L. Glazov. – Текст : непосредственный // Optics and Spectroscopy. – 2017. – V. 122, № 2. – P. 229–234.

23. Bioactivity Evaluation of Crude Polysaccharide from Rice Bran Fermented by *Preussia Aemulans* and the Changes in its Nutritional Contents / Y. Li, Sh. Meng, M. Shi [et al.]. – Текст : непосредственный // *Journal of Food Biochemistry*. – 2016. – V.40, № 5. – P. 664–672.
24. SUN, C., Magnetic nanoparticles in MR imaging and drug delivery / C. Sun, J. S. Lee, M. Zhang. – Текст : непосредственный // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2008. – V.60, №11. – P. 1252–1265.
25. Renal clearance of quantum dots / H. Soo Choi, W. Liu, P. Misra [et al.]. – Текст : непосредственный // *Nature Biotechnology*. – 2007. – V. 25, №. 10. – P. 1165–1170.
26. Preparation, characterization and biodistribution of ultrafine chitosan nanoparticles / T. Banerjee, S. Mitra, A. Kumar Singh [et al.]. – Текст : непосредственный // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2002. – V. 243. – P. 93–105.
27. Investigation of water-soluble x-ray luminescence nanoparticles for photodynamic activation / Y. Liu, W. Chen, Sh. Wang, A. G. Joly. – Текст : непосредственный // *Applied Physics Letters*. – 2008. – V. 94, №. 4. – P. 043901 (1–4).
28. Near-infrared light induced in vivo photodynamic therapy of cancer based on upconversion nanoparticles / C. Wang, H. Tao, L. Cheng, Z. Liu. – Текст : непосредственный // *Biomaterials*. – 2011. – V. 32, №. 26. – P.6145–6154.
29. Pyropheophorbide A and c(RGDyK) Comodified Chitosan-Wrapped Upconversion Nanoparticle for Targeted Near-Infrared Photodynamic Therapy / A. Zhou, Y. Wei, B. Wu [et al.]. – Текст : непосредственный // *Molecular Pharmaceutics*. – 2012. – V. 9, №. 6. – P. 1580–1589.
30. Multicolour PEI/NaGdF₄: Ce³⁺, Ln³⁺ nanocrystals by single-wavelength excitation / F. Wang, X. Fan, M. Wang, Y. Zhang. – Текст : непосредственный // *Nanotechnology*. – 2006. – V. 18, №. 2. – P. 025701 (1–6).

31. Structural, spectroscopic and cytotoxicity studies of TbF₃@ CeF₃ and TbF₃@ CeF₃@ SiO₂ nanocrystals / T. Grzyb, M. Runowski, K. Dąbrowska [et al.]. – Текст : непосредственный // Journal of Nanoparticle Research. – 2013. – V. 15, №. 10. – P. 1958.
32. Synthesis, characterization, and luminescence properties of uniform Ln³⁺-doped YF₃ nanospindles / M. Zhang, H. Fan., B. Xi [et al.]. – Текст : непосредственный // The Journal of Physical Chemistry C. – 2007. – V. 111, №. 18. – P. 6652–6657.
33. Color tunable YF₃: Ce³⁺/Ln³⁺ (Ln³⁺: Eu³⁺, Tb³⁺, Dy³⁺, Sm³⁺) luminescent system: role of sensitizer and energy transfer study / F.N. Sayed, V. Grover, S. V. Godbole, A. K. Tyagi. – Текст : непосредственный // RSC Advances. – 2012. – V. 2, №. 3. – P. 1161–1167.
34. LaF₃, CeF₃, CeF₃: Tb³⁺, and CeF₃: Tb³⁺@ LaF₃ (Core– Shell) Nanoplates: Hydrothermal Synthesis and Luminescence Properties / C. Li, X. Liu, P. Yang [et al.]. – Текст : непосредственный // The Journal of Physical Chemistry C. – 2008. – V. 112, №. 8. – P. 2904–2910.
35. A facile synthesis and photoluminescent properties of redispersible CeF₃, CeF₃: Tb³⁺, and CeF₃: Tb³⁺/LaF₃ (core/shell) nanoparticles / Z. L. Wang, Z. W. Quan, P. Y. Jia [et al.]. – Текст : непосредственный // Chemistry of Materials. – 2006. – V. 18, №. 8. – P. 2030–2037.
36. Mechanism for energy transfer processes between Ce³⁺ and Tb³⁺ in LaPO₄: Ce, Tb nanocrystals by time-resolved luminescence spectroscopy / V. Pankratov, A. I. Popov, S. A. Chernov [et al.]. – Текст : непосредственный // Physica status solidi (b). – 2010. – V. 247, №. 9. – P. 2252–2257.
37. Ansari, A. A. Influence of surface functionalization on structural and photoluminescence properties of CeF₃:Tb nanoparticles / A. A. Ansari. – Текст : непосредственный // Applied Surface Science. – 2017. – V. 409. – P. 285–290.

38. Фотостабильность растворов димегина, фотодитазина и радахлорина / И.В. Багров, А. Дадеко, В. М. Киселев [и др.]. – Текст : непосредственный // Журнал Технической физики. – 2019. – Т. 126, №. 2. – Р. 170.
39. Nanocomposites for X-Ray Photodynamic Therapy/ Z. Gadzhimagomedova, P. Zolotukhin, O. Kit [et al – Текст : непосредственный.]. // Int. J. Mol. Sci. – 2020. – Т. 21. – Р. 4004–4019.
40. Denker, B. Handbook of solid-state lasers: materials, systems and applications / B. Denker, E. Shklovsky: (ed.). – Cambridge: Elsevier, 2013. – 688 p. – Текст : непосредственный.
41. Advances in highly doped upconversion nanoparticles / S. Wen, J. Zhou, K. Zheng [et al.]. – Текст : непосредственный // Nature communications. – 2018. – V. 9, №. 1. – Р. 1-12.
42. Liu, M. Multifunctional hydroxyapatite/Na (Y/Gd) F4: Yb³⁺, Er³⁺ composite fibers for drug delivery and dual modal imaging / M. Liu, H. Liu, S. Sun [et al.]. – Текст : непосредственный // Langmuir. – 2014. – V. 30, №. 4. – Р. 1176-1182.
43. Cantor, C. R. Biophysical chemistry: Part II: Techniques for the study of biological structure and function // C.R. Cantor, P. R. Schimmel. – Macmillan, 1980. – 503 p. – Текст : непосредственный.
44. Förster, T. 10th Spiers Memorial Lecture. Transfer mechanisms of electronic excitation / T. Förster – Текст : непосредственный // Discussions of the Faraday Society. – 1959. – V. 27. – Р. 7–17. – Текст : непосредственный.
45. Luminescence properties of Yb: Er: KY₃F₁₀ nanophosphor and thermal treatment effects / L. Gomes, H. M. Linhares, R. U. Ichikawa [et al.]. // – Текст : непосредственный Optical Materials. – 2016. – V. 54. – Р. 57–66.