

На правах рукописи



Рудаковская Полина Григорьевна

**НОВЫЕ БИФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОРГАНИЧЕСКИЕ
ЛИГАНДЫ ДЛЯ МОДИФИКАЦИИ НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА И
МАГНЕТИТА И ГИБРИДНЫЕ МАТЕРИАЛЫ НА ИХ ОСНОВЕ:
СИНТЕЗ, СВОЙСТВА, ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ**

(02.00.03 – органическая химия)

(05.16.08 – нанотехнологии и наноматериалы)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Москва - 2015

Работа выполнена на кафедре органической химии Химического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова».

Научные руководители:

доктор химических наук, профессор
Белоглазкина Елена Кимовна

доктор химических наук, доцент
Мажуга Александр Георгиевич

Официальные оппоненты:

Злотин Сергей Григорьевич

доктор химических наук, профессор,
заведующий лабораторией тонкого
органического синтеза имени И.Н. Назарова,
зам. директора ФГБУН Институт органической
химии им. Н.Д. Зелинского Российской
академии наук

Горин Дмитрий Александрович

доктор химических наук, доцент, профессор
кафедры физики полупроводников факультета
нано- и биомедицинских технологий ФГБОУ
ВО «Саратовский государственный университет
имени Н.Г. Чернышевского»

Ведущая организация:

ФГБУН Институт органической и физической
химии им. А.Е. Арбузова Казанского научного
центра Российской академии наук

Защита состоится « 26 » февраля 2016 г. в 12 часов 30 минут на заседании диссертационного совета Д 501.001.97 при Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова по адресу: 119991, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 3, Химический факультет МГУ, аудитория 446.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке МГУ имени М.В. Ломоносова по адресу: г. Москва, Ломоносовский проспект, д. 27 и на сайте Химического факультета <http://www.chem.msu.ru>

Автореферат разослан « 21 » января 2016 г.

Ученый секретарь
Диссертационного совета Д 501.001.97
кандидат химических наук



Синикова Н.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

В состав многих современных лекарственных препаратов (противоопухолевые, антигистаминные и противомикробные средства, нейростимуляторы) входят аминокислоты, олигопептиды и пептиды. В последнее время активно разрабатываются методы адресной доставки лекарственных препаратов при помощи пептидных векторов. Пептиды, в состав которых, помимо природных, входят неканонические аминокислоты, обладают большей конформационной подвижностью, энзимологической устойчивостью, улучшенной фармакодинамикой и биодоступностью. Таким образом, синтез соединений пептидного типа представляет интерес для органической химии и биомедицины.

Открытый в 1980-х годах простатический специфический мембранный антиген (ПСМА) экспрессируется преимущественно в клетках простаты, а в случае возникновения опухоли предстательной железы происходит гиперэкспрессия данного антигена. Органические соединения, имеющие в своем составе фрагмент ПСМА, могут найти применение как для селективной доставки противоопухолевых препаратов непосредственно в ткани опухоли и её метастазы, так и при разработке методов ранней диагностики рака предстательной железы.

Наночастицы (НЧ) металлов и их оксидов могут быть использованы для создания материалов при конструировании сенсорных устройств, компонентов микроэлектроники, сепарационных материалов. Среди металлических наночастиц наибольший интерес представляют НЧ благородных металлов, благодаря их возможности образовывать биосовместимые наноматериалы. Поверхность НЧ золота может быть модифицирована серосодержащими органическими лигандами за счет образования ковалентной связи Au-S. Магнитные НЧ оксидов железа, в частности магнетита, нашли в последнее десятилетие широкое применение в практике и биомедицинских исследованиях. Их предложено использовать для лечения раковых заболеваний методом гипертермии, транспортировки и адресной доставки лекарств, получения опухоль-селективных контрастирующих агентов для магнитно-резонансной томографии (МРТ).

Эффективность биомедицинского применения наноматериалов достигается за счет введения в структуру материала органических функциональных лигандов. В связи с этим актуальной задачей является синтез бифункциональных органических лигандов, способных связываться с поверхностью НЧ и одновременно содержащих в своем составе биологически активные группировки, так например на основе аминокислот и пептидов, биотина и других векторных молекул.

В последние два десятилетия активно развиваются новые методы лечения онкологических заболеваний, в том числе фотодинамическая терапия (ФДТ) - комбинированное действия трех факторов: фотосенсибилизатора (ФС), света и кислорода. Данный метод лечения обладает малой инвазивностью, высокой избирательностью поражения опухоли, низкой токсичностью вводимых препаратов и отсутствием риска тяжелых местных и системных осложнений лечения. Поиск новых эффективных ФС является важной проблемой.

Еще одной актуальной задачей является получение на основе НЧ магнетита опухоль-селективных контрастных средств для МРТ, материалов для адресной доставки лекарственных средств и противоопухолевой терапии методом локальной гипертермии. Типичные значения релаксивности для магнитных НЧ на порядок выше, чем соответствующие значения для используемых повсеместно в клинике контрастных агентов на основе хелатных комплексов гадолиния, что позволяет существенно снизить дозировку диагностического препарата и уменьшить его стоимость.

Известные препараты на основе магнетита также имеют ряд недостатков: высокая токсичность, склонность к быстрой агрегации в физиологических условиях, трудности функционализации поверхности. В связи с этим, актуальной задачей является получение материалов, обладающих аналогичными магнетиту магнитными свойствами, но лишенных этих недостатков. Одним из перспективных типов таких материалов являются НЧ типа «ядро-оболочка» магнетит-золото.

Цели работы

Целями данной работы явились: (1) разработка синтетических подходов к новым бифункциональным органическим лигандам, способным к адсорбции на поверхности НЧ различной природы и имеющим в составе группы, отвечающие за функциональные биохимические свойства (адресную доставку, терапевтическое действие); (2) разработка и оптимизация методов синтеза НЧ золота и магнитных НЧ; (3) получение функциональных материалов на основе НЧ и органических лигандов и исследование их биохимических свойств.

Научная новизна

Предложены новые и оптимизированы известные методы синтеза бифункциональных серосодержащих органических лигандов на основе природных и неприродных аминокислот и пептидов. Получены новые серосодержащие производные вектора простатического специфического мембранного антигена (ПСМА) и фотосенсибилизатора бактериохлорина *a* (ФС). Оптимизированы методы синтеза бифункциональных органических лигандов на основе биотина, аминокислот и пептидов.

Разработана новая твердофазная методика получения производных пептидов, имеющих в составе липоевую кислоту и биотин.

Предложен новый метод ацилирования этилового эфира биотина по атому азота.

Оптимизированы методы получения НЧ золота диаметром от 2 до 100 нм и НЧ магнетита различной формы и размера от 4 до 50 нм с узким распределением по размерам. Изучены физико-химические свойства полученных НЧ. Разработаны методы функционализации поверхности НЧ бифункциональными лигандами.

Оптимизирован метод синтеза НЧ $\text{Fe}_3\text{O}_4@Au$ магнетит-золото типа «ядро-оболочка». Продемонстрированы новые эффективные методы очистки, выделения и концентрирования подобных НЧ; изучены их физико-химические свойства.

Практическая значимость

Разработаны методы твердофазного синтеза новых производных пептидов, методы получения бифункциональных органических лигандов, содержащих аминокислоты, биотин, ПСМА-вектор, ФС и разработана реакция ацилирования биотина по атому азота.

Получены новые материалы – сорбенты для хиральной ВЭЖХ на основе неорганической матрицы, НЧ золота и органических лигандов. Продемонстрирована эффективность разделения оптически активных соединений, а также лекарственных препаратов на данных сорбентах.

Получены новые материалы на основе наночастиц золота, ПСМА-лиганда и ФС и изучены их свойства, продемонстрирована потенциальная возможность использования материалов для биомедицинских целей.

Разработан и оптимизирован метод получения коллоидно стабильных и легко функционализируемых наночастиц магнетита различного размера. Изучена релаксивность наночастиц магнетита и показано, что полученные наночастицы магнетита, потенциально могут применяться в качестве T2-контрастных агентов для МРТ.

Осуществлена функционализация поверхности НЧ магнетит-золото серосодержащими лигандами, а также ферментом химотрипсином. Продемонстрирован эффект замедления ферментативной реакции с участием иммобилизованного химотрипсина под действием низкочастотного переменного магнитного поля.

Показано, что НЧ магнетит-золото обладают низкой токсичностью и высокой скоростью T2-релаксации, что делает возможным применение данных материалов в биомедицине.

На защиту выносятся следующие положения:

- Новые и оптимизированные подходы к получению бифункциональных органических лигандов следующих типов: аурофильные лиганды на основе аминокислот и пептидов, биотин-содержащие лиганды, ПСМА-векторные лиганды, производные силана.
- Оптимизированные методики получения НЧ золота и магнетита и результаты исследования их физико-химических свойств. Новые подходы к функционализации НЧ бифункциональными органическими лигандами. Способы получения материалов на основе НЧ. Результаты изучения физико-химических свойств полученных материалов.
- Способы получения, очистки и функционализации НЧ магнетит-золото типа «ядро-оболочка» и результаты исследования их физико-химических и биологических свойств. Результаты изучения влияния переменного магнитного поля на химотрипсин, иммобилизованный на поверхности НЧ магнетит-золото.

Апробация работы

Результаты работы докладывались на XVIII Менделеевском съезде по общей и прикладной химии «Менделеев 2007» (Москва, Россия, 2007), I

Международной научной школе «Наноматериалы и нанотехнологии в живых системах – Нано 2009» (Москва, Россия, 2009), V Конференции молодых ученых, аспирантов и студентов ИФХЭ РАН (Москва, Россия, 2010), Международной научной конференции «Наука будущее» (Санкт-Петербург, Россия, 2014), XII Международной конференции наноструктурных материалов «Нано 2014» (Москва, Россия, 2014), I и V Российско-Греческом Симпозиуме с международным участием «Бионанотокс» (Крит, Греция, 2010 и 2014), I и II Всероссийской научной конференции «Успехи синтеза и комплексообразования» (Москва, Россия, 2012 и 2014), VI Международной конференции наноматериалов «Нанокон 2014» (Чехия, 2014), IV Международной конференции «Мультифункциональные, гибридные и наноматериалы» (Барселона, Испания, 2015).

Публикации

По материалам диссертации опубликованы 9 статей (из списка ВАК и/или WOS), 28 тезисов докладов, 3 патента.

Структура и объем работы

Диссертация состоит из введения, литературного обзора, 5 глав экспериментальной части, общих выводов и списка цитируемой литературы. Материал изложен на 185 страницах машинописного текста, содержит 99 рисунков и 25 таблиц, в списке цитируемой литературы 222 наименования.

Основное содержание работы

1. Синтез органических бифункциональных лигандов

В рамках диссертационной работы были получены органические лиганды различных структурных типов, общая схема строения представлена на Рис. 1.

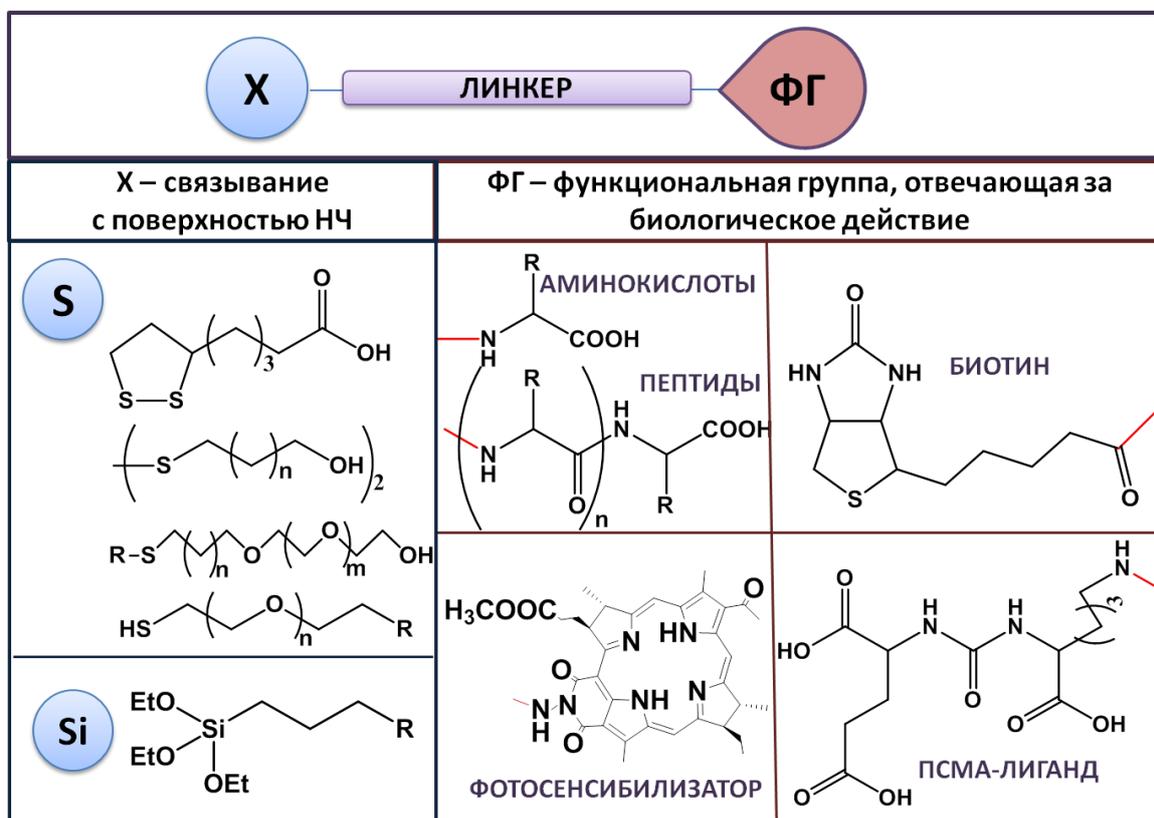


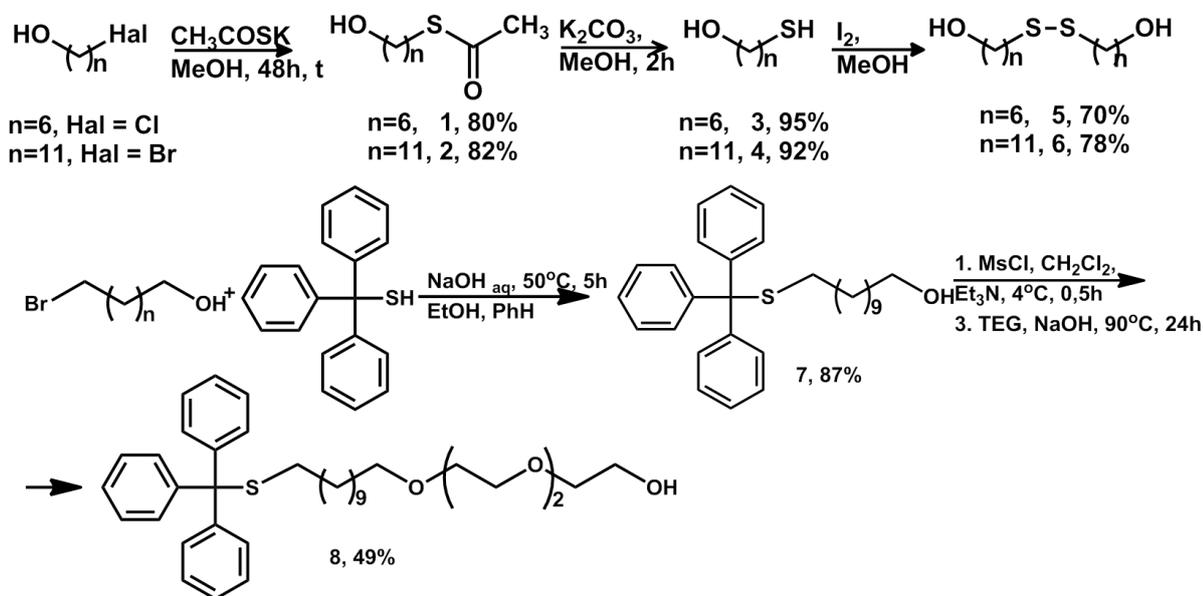
Рис. 1 Общая схема строения бифункциональных органических лигандов

Все синтезированные лиганды имеют в своем составе фрагмент, необходимый для адсорбции на поверхности НЧ; в случае НЧ золота - серосодержащие группы – тиольные, сульфидные и дисульфидные; в случае НЧ магнетита – силан. Терминальная функциональная группа представляет собой либо адресный лиганд (аминокислоты и пептиды, биотин, ПСМА-лиганд), либо терапевтический препарат (пептиды, производное бактериопурпуринимида для ФДТ). В качестве фрагментов-линкеров были выбраны углеводородные и полиэтиленгликольные цепи; последние позволяют увеличить гидрофильность конечных продуктов, важную для работы с водорастворимыми НЧ.

1.1. Лиганды – производные аминокислот и пептидов

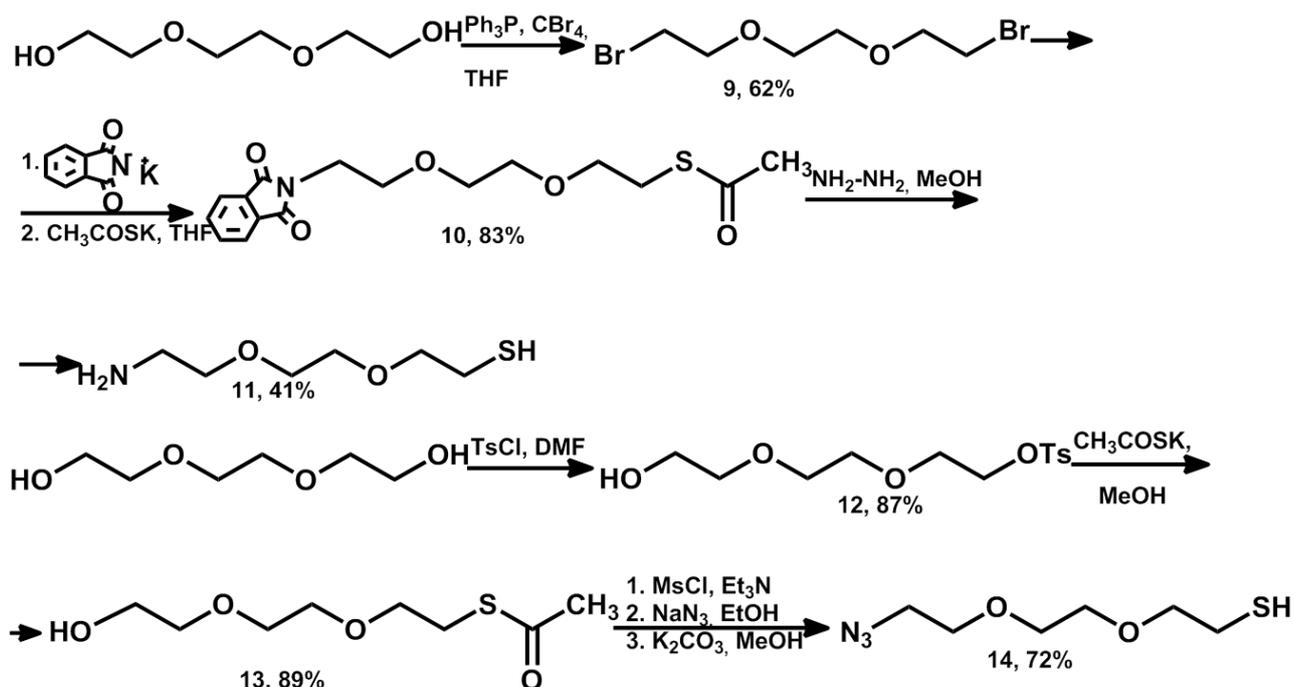
В качестве исходных соединений для синтеза были использованы серосодержащие соединения, имеющие активные функциональные группы: спиртовую, кислотную, amino-, азидо и различные линкеры – гидрофобные, на основе углеводов (соединения **5** и **6**, полученные из ω-галогенспиртов), смешанные (соединение **8**), гидрофильные (соединения **11** и **14**, полученные из триэтиленгликоля).

На первой стадии нами были получены S-11-гидроксиундециловый (**1**) и S-6-гидроксигексилловый (**2**) эфиры тиоуксусной кислоты. Затем полученные S-ацильные производные гидролизовали до тиолов **3** и **4**, с последующим окислением до дисульфидов **5** и **6**. Для увеличения гидрофильности в структуру линкера вводили полиэтиленгликольный фрагмент. Синтез проводили в две стадии: 11-бромундеканол-1 вводили в реакцию нуклеофильного замещения с тритилтиолом с получением соединения **7** и последующим введением в реакцию нуклеофильного замещения с триэтиленгликолем. В результате был получен 2-(2-(3-(тримилтио)пропокси)этокси)этанол **8**.



Полиэтиленгликоли с функциональными группами (амино, азидо) также были синтезированы исходя из триэтиленгликоля. 2-(2-(2-(Тиоэтокси)этокси)этанамин **11** был получен в три последовательные стадии. На первой стадии проводили замещение гидроксильной группы триэтиленгликоля под действием четырехбромистого углерода в присутствии трифенилфосфина был получен 1,2 –

бис (2-бромэтокси)этан **9**. На второй стадии были введены последовательно фталиимидная и тиацетатная группа. Последующая обработка соединения **10** гидразином в метаноле приводит к целевому соединению **11**. Синтез линкера содержащего тио и азидо группы вели также в три стадии: активация гидроксильной группы с получением монотозилпроизводного триэтиленгликоля **12**, замещение тозилльной группы на тиацетатную – **13**, и заключительное введение азидо- группы с получением соединения **14**.



Для получения целевых соединений, содержащих аминокислотные и пептидные фрагменты, использовали два подхода с использованием карбодиимидного синтеза (рис.2). Первый включал получение сложного эфира из серосодержащего спирта (**5,6** и **8**) и N-Вос-аминокислоты, второй - использование в качестве исходных соединений серосодержащей кислоты и эфира аминокислоты с получением амидов.

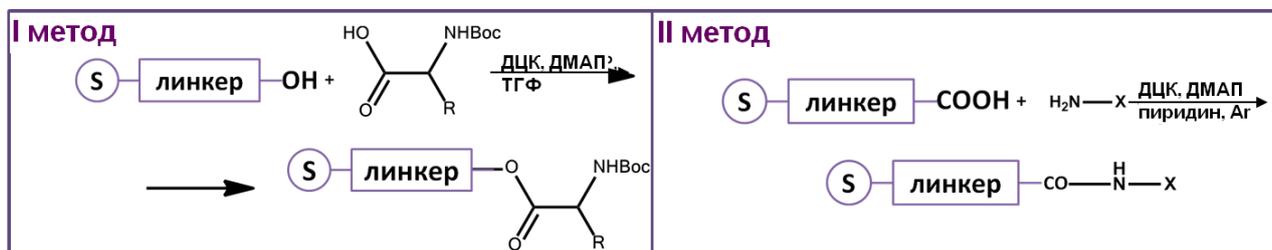


Рис. 2 Два подхода к синтезу производных аминокислот и пептидов

Первым этапом синтеза было получение эфиров аминокислот **15-18** из бис(11-гидроксиундецил)дисульфида **5** и N-Вос-аминокислот (аланина, фенилаланина, S-бензилстеина, пролина); далее при снятии Вос-защиты получали соединения **19-22**. Далее, согласно методу I (Рис. 2), получали сложные эфиры **23-25** из N-Вос-S-бензилстеина, N-Вос-аланина, N-Вос-фенилаланина и спирта **11**, с последующей стадией снятия Вос-защиты. При этом были получены дисульфиды **26-28**. Согласно методу II были синтезированы амиды **29-32** из

этиловых эфиров аланина, фенилаланина, тирозина и триптофана. По аналогичной методике были проведены реакции этиловых эфиров дипептидов аланил-глицина и фенилаланил-аланина с липоевой кислотой и получены производные **33** и **34**. Все полученные соединения (Рис. 3) были охарактеризованы данными ^1H и ^{13}C ЯМР спектроскопии, а состав подтвержден данными элементного анализа.

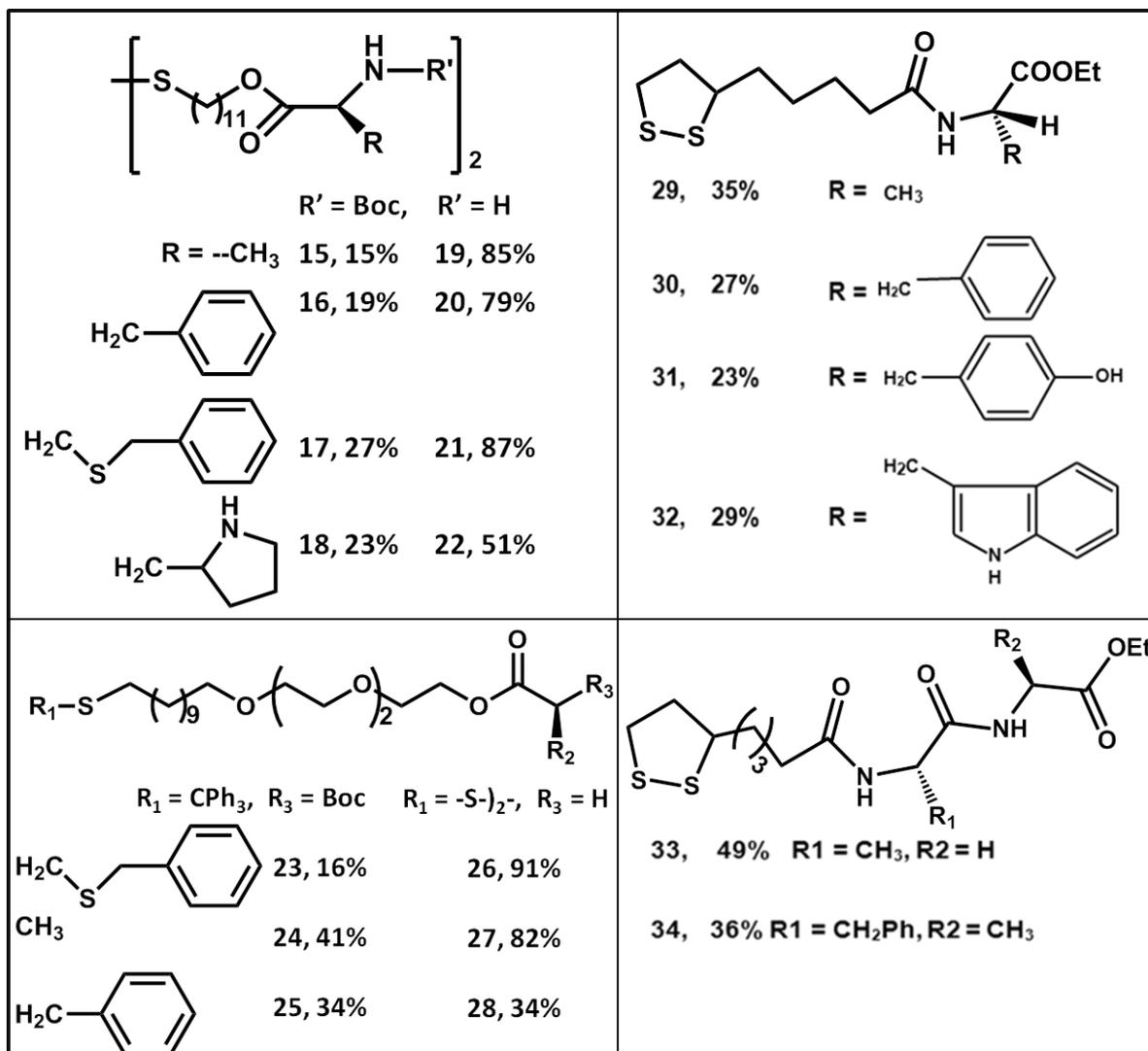
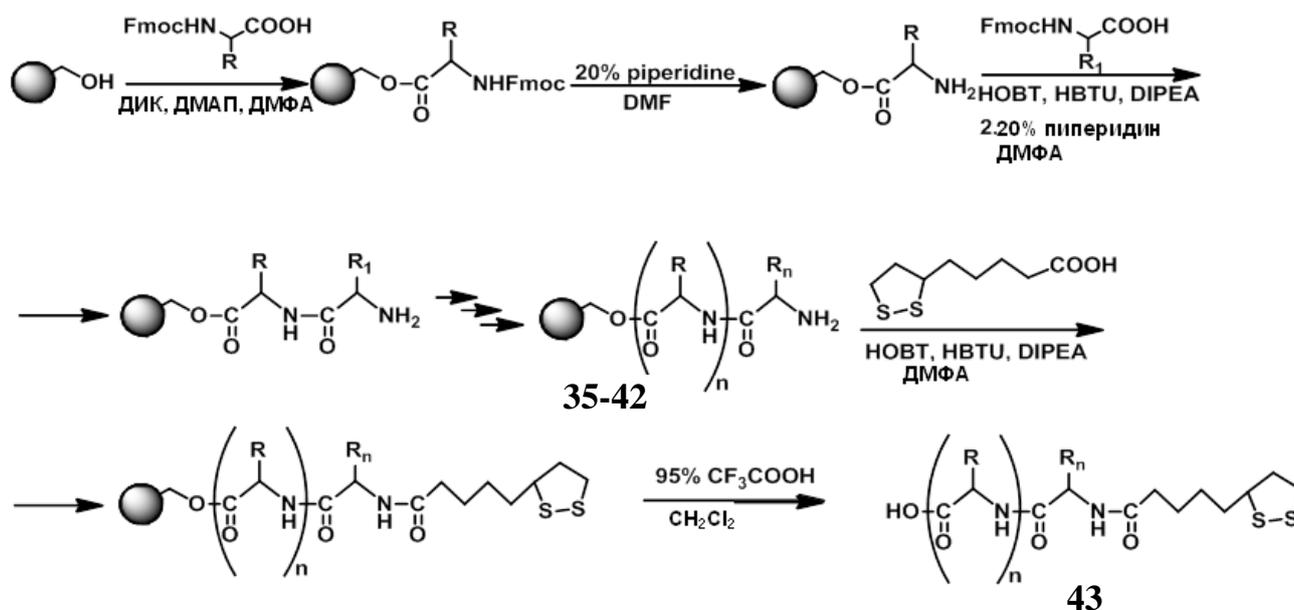


Рис. 3 Структуры полученных серосодержащих производных аминокислот

1.2. Лиганды – производные пептидов (твердофазный метод синтеза)

Жидкофазный метод синтеза производных пептидов трудоемок и требует продолжительной очистки продуктов реакции, поэтому для получения серосодержащих производных пептидов, содержащих более 2 аминокислот, был использован твердофазный метод синтеза. Методика была разработана нами на основе классического твердофазного метода на смоле Ванга с введением в синтез на последней стадии липоевой кислоты.



Для оптимизации и отработки методики твердофазного синтеза на смоле Ванга были получены пептиды **35-42** (Табл. 1) с использованием классической Fmoc-стратегии. В качестве модельных соединений были выбраны пептиды как на основе природных (треонина, глутаминовой кислоты, лизина, лейцина, изолейцина, валина, фенилаланина, пролина, тирозина и аргинина), так и на основе неприродных аминокислот (2-аминоциклогексанкарбоновой кислоты, 3-(3-пиридил)-D-аланина, 5-аминовалериановой кислоты, гомолизина, гомотирозина). Далее по разработанной схеме был получен серосодержащий пентапептид **43**. Все полученные соединения были охарактеризованы данными спектроскопии ^1H ЯМР и масс-спектрометрии.

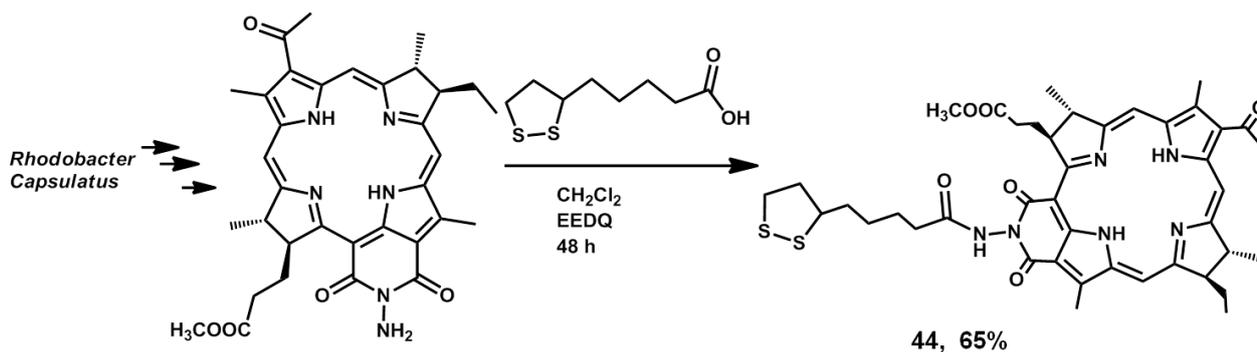
Таблица 1. Структура полученных твердофазным синтезом пептидов

№	пептид	выход	№	Пептид	выход
35	Thr-Thr-Thr-Thr-Glu	17%	40	Lys-2-aminocyclohexanecarbonyl-3-(3-pyridyl)-D-Ala-Met	36%
36	Glu-Glu-Glu-Glu-Lys-Glu	49%	41	Met-5-aminovaleryl-Glu-Lys	28%
37	Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu	30%	42	Leu-Ile-Tyr-Pro-Homolys	50%
38	Gly-Gly-Leu-Val-Phe-Val	30%	43	Gly-Gly-Leu-Val-Phe-Val-lipoic	25%
39	Arg-Arg-Pro-Tyr-Ile-Leu	51%			

1.3. Лиганд - производное N-аминобактериопурпуринимида

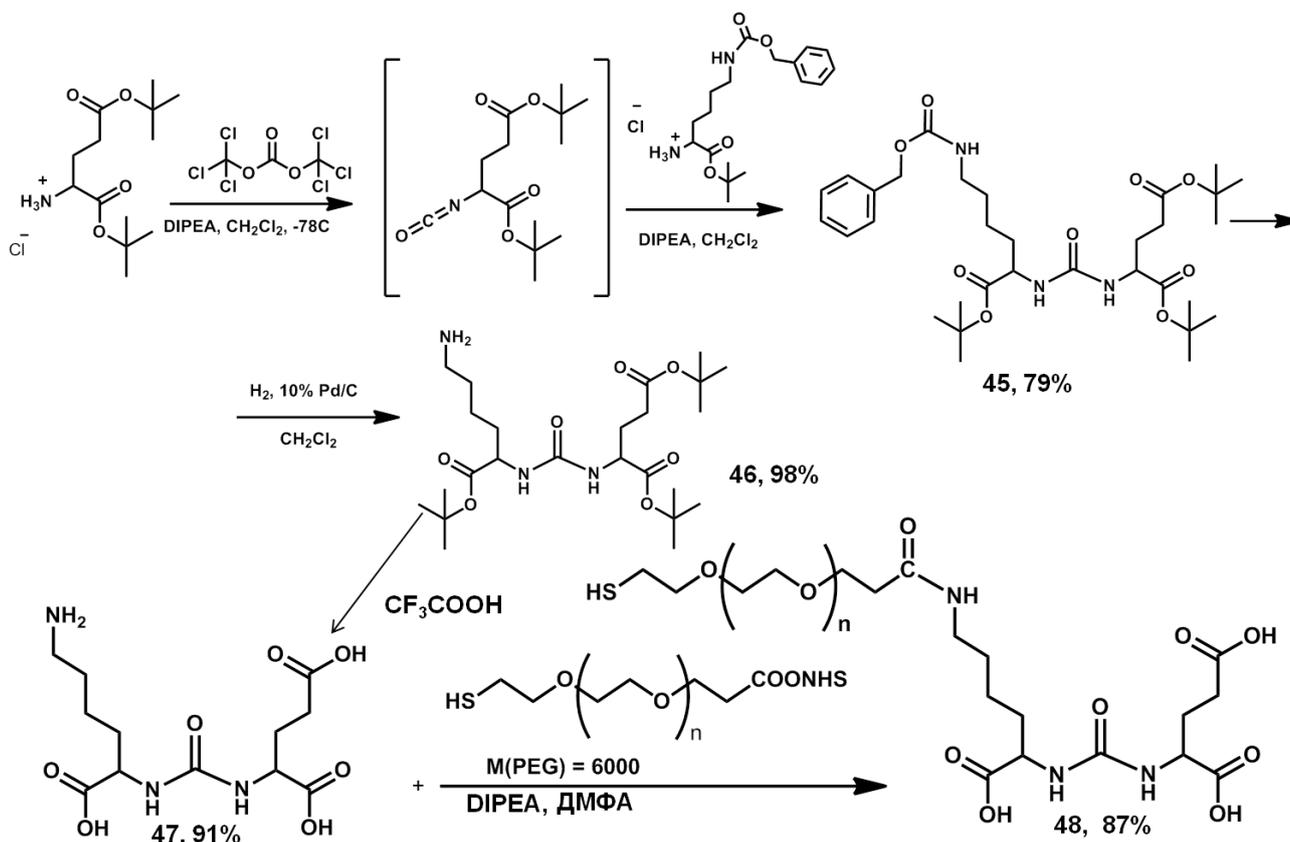
В качестве структурной основы ФС обычно используют природные пигменты, благодаря их распространенности в природе, интенсивности поглощения в длинноволновой области спектра, возможности химической модификации, структурной близости к эндогенным порфиринам, что предполагает низкий уровень токсичности подобных соединений и быстрое выведение из организма. В качестве исходного вещества для получения лиганда-фотосенсебилизатора был использован N-аминобактериопурпуринимид. Ацилирование N-аминобактериопурпуринимида липоевой кислотой в присутствии

EEDQ (N-карбоэтокси-2-этокси-1,2-дигидрохиолин) привело к образованию серосодержащего пигмента **44**.



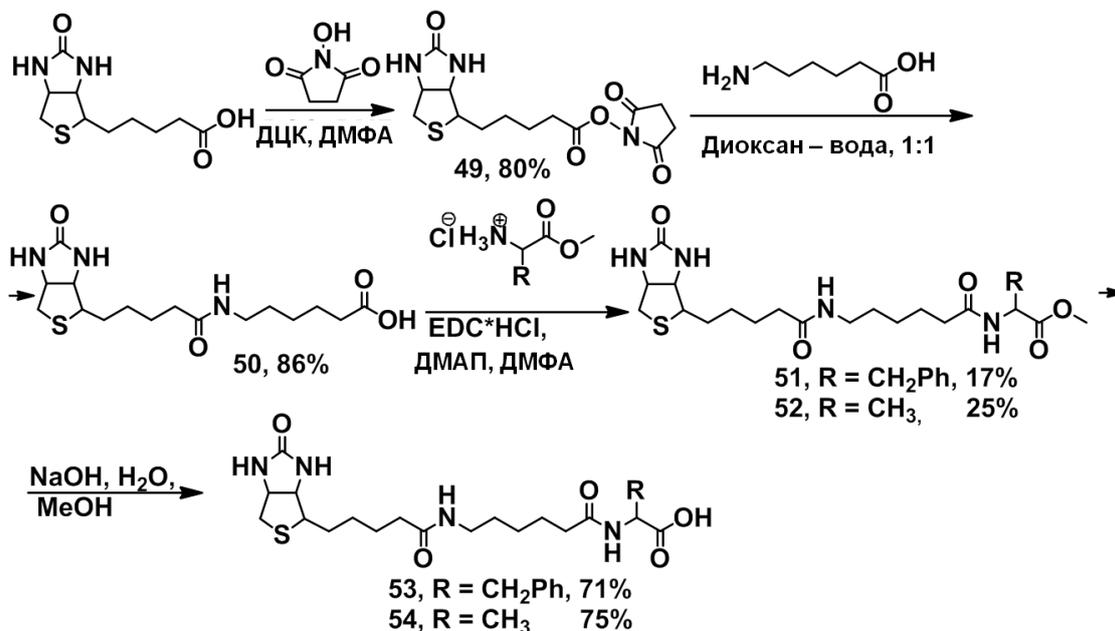
1.4. Лиганд на основе ПСМА-вектора

ПСМА-вектор **46**, был получен в две стадии из L-лизина и L-глутамина по представленной ниже схеме. Для проведения данной реакции на первой стадии использовался трифосген, который является источником фосгена, реагирующий впоследствии с первичным амином давая в результате реакции изоцианат. По реакции изоцианата и амина была получена целевая мочевина **45**. Дальнейшая реакция гидрогенолиза соединения **45** в присутствии 10% Pd/C приводила к свободному амину **46** с выходом 98%, последующее удаление трет-бутильных защит с векторного фрагмента протекает в растворе трифторуксусной кислоты с получением соединения **47**. Полученный вектор **47** был введен в реакцию с бифункциональным серосодержащим производным полиэтиленгликоля (полиэтиленгликоль-2-меркаптоэтиловым эфиром уксусной кислоты) с получением лиганда **48**.



1.5. Лиганды – производные биотина

Известно, что биотин специфично связывается с опухолевыми клетками молочной железы, почек, желудка и кишечника. В данной работе решалась задача получения двух типов биотин-содержащих лигандов: со свободным или N-ацилированным фрагментом биотина. В первом случае получение целевых лигандов типа «биотин-линкер-аминокислота» **53**, **54** проводили по следующей схеме:

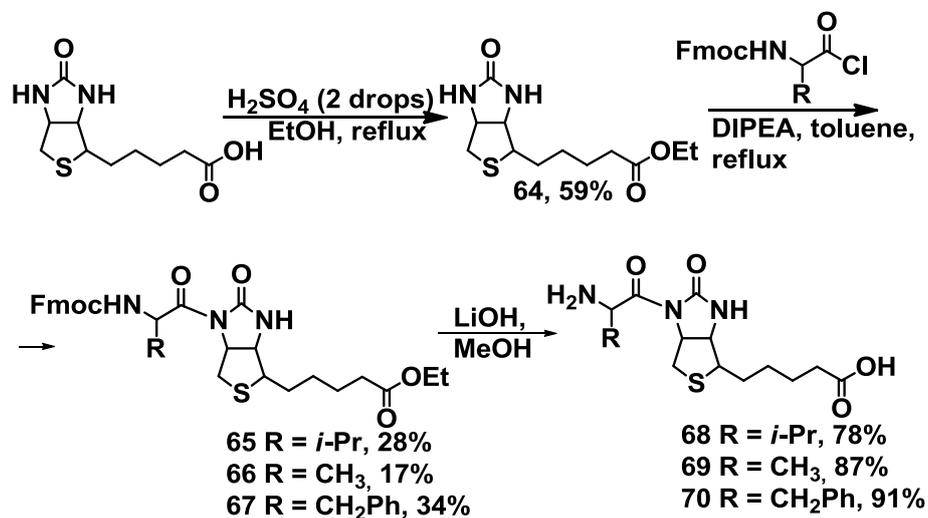


Синтез пептидных лигандов **58**, **61**, **62** и **63** проводили с помощью жидкофазной и разработанной твердофазной методики (аналогичной описанной в разделе 1.2 для получения производных липоевой кислоты). Проведение реакции на смоле Ванга позволило получить производные трипептида и биотина с хорошими выходами (рис. 4) и значительно упростить проведение реакции и очистку целевых лигандов.

Жидкофазный синтез производных биотина и трипептидов	Твердофазный синтез
<p>58, 10%</p>	<p>62, 28%</p>
<p>61, 91%</p>	<p>63, 49%</p>

Рис. 4 Структура производных биотина и трипептидов в заголовке

Второй тип производных биотина типа «аминокислота-биотин» получали ацилированием эфира биотина **64** хлорангидридами аминокислот в жестких условиях с получением N-ацилированных эфиров биотина **65-67**, и после обработки щелочью целевых соединений **68-70**. Реакция ацилирования биотина хлорангидридами аминокислот является новой. Все полученные соединения были охарактеризованы данными спектроскопии ^1H ЯМР и масс-спектрометрии.



Таким образом, в ходе выполнения первой части работы были получены новые бифункциональные органические лиганды, способные адсорбироваться на поверхности НЧ, и имеющие в составе функциональные группы различной природы для взаимодействия с биологическими объектами.

2. Синтез наночастиц золота и магнетита

2.1. Синтез наночастиц золота

Для синтеза НЧ золота в работе были использованы два метода: метод Бруста-Шифрина для получения НЧ размером до 2 нм и метод Туркевича для получения НЧ диаметром $>2,5$ нм. В ходе работы нами были получены НЧ золота со средним диаметром $1,7 \pm 0,3$ нм (**1н**), $2,5 \pm 0,5$ нм (**2н**), 5 ± 1 нм (**3н**), 10 ± 2 нм (**4н**), 25 ± 3 нм (**5н**), 40 ± 3 нм (**6н**), 70 ± 10 нм (**7н**). Размер образующихся в ходе реакции Туркевича НЧ золота контролировали, варьируя соотношение реагирующих веществ: HAuCl_4 и восстановителя. Для получения НЧ **2н** и **3н** в раствор добавляли танниновую кислоту. Наночастицы **6н** были получены в присутствии аскорбиновой кислоты. Полученные НЧ были охарактеризованы данными просвечивающей электронной микроскопии и электронной спектроскопии в видимой области.

2.3. Синтез наночастиц магнетита

В ходе выполнения данной работы были получены НЧ магнетита синтезом в органической среде или в водном растворе (рис. 5; образцы **8н**, **9н**, **13н**, **14н**, **16н** и **18н** получены в органической среде; **10н**, **11н**, **12н**, **15н**, **17н**, **19н**, **20н**, **21н** и **22н** – в водной среде). Полученные НЧ магнетита имели различные размеры (от 5 до 100 нм) и форму (сферическая, кубическая и цилиндрическая). Морфология НЧ магнетита зависит от соотношения реагентов и условий проведения реакции.

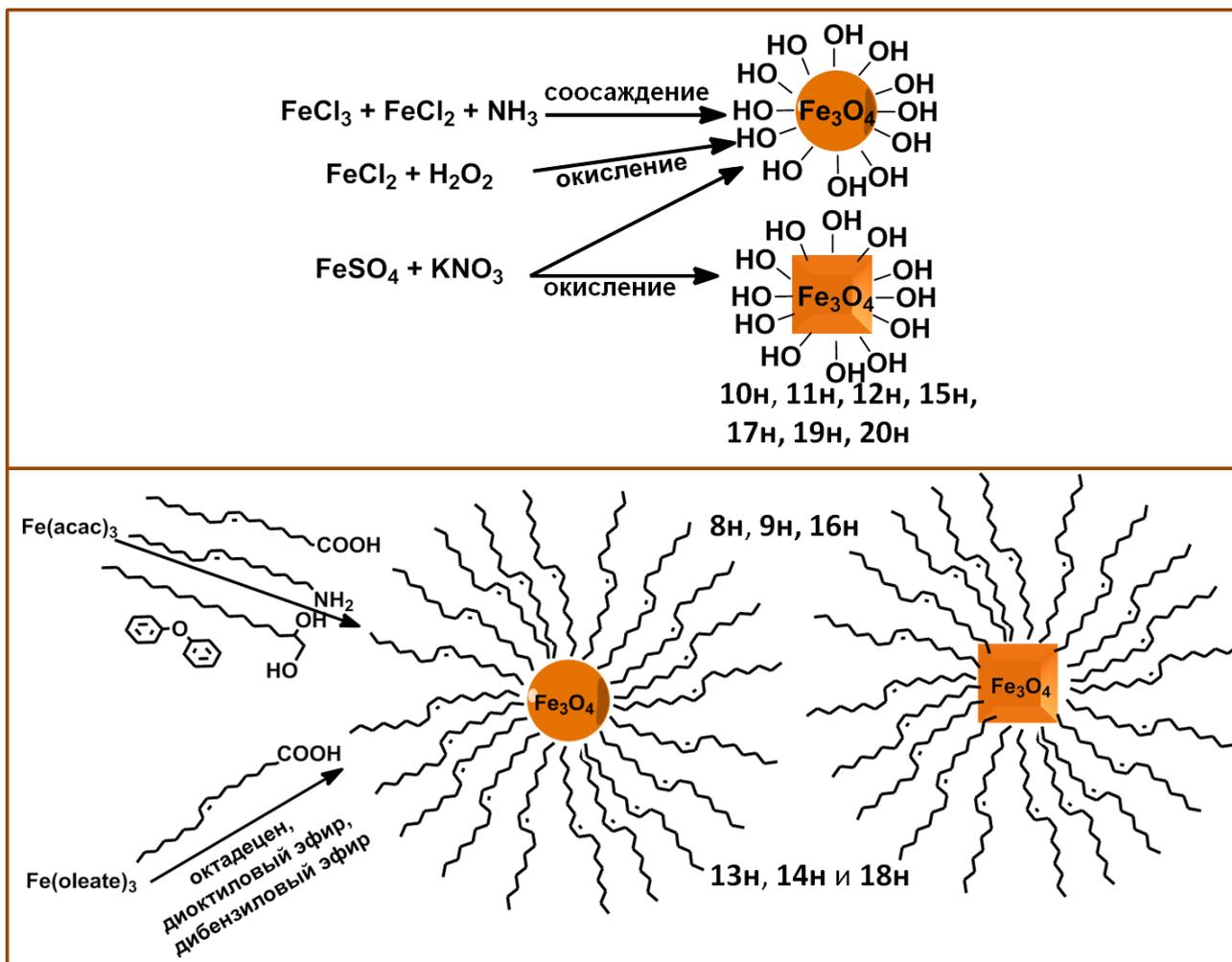


Рис. 5 Схема синтеза НЧ магнетита различной морфологии

Получение НЧ в органических растворителях имеет преимущества: узкое распределение получаемых НЧ по размерам, их стабильность за счет углеводородной оболочки, но также и ряд недостатков, такие как сложность функционализации, и как следствие - перевода НЧ в водную среду для изучения биохимических свойств.

Все полученные образцы НЧ магнетита проявляли ферромагнитные свойства. Величины намагниченности изменялись в диапазоне от 50 до 80 Ам²/кг, а коэрцитивная сила НЧ - от 33 до 147 Э, что согласуется с данными модели когерентного вращения вектора намагниченности Стонера–Вольфарта. Следует отметить, что кубические НЧ обладают более высокими значениями намагниченности по сравнению со сферическими. С целью определения кристаллической структуры и фазового состава исследуемых НЧ были проведены рентгеноструктурные исследования порошков НЧ, подтвержденные затем данными Мессбауэровской спектроскопии.

Так как использование образцов магнетита в биомедицине возможно только в форме водных суспензий, важной задачей является обеспечение их коллоидной стабильности. Для функционализации НЧ магнетита органическими лигандами необходимо наличие в структуре последних триэтоксисилановой группы, для образования связи Fe-O-Si. Нами была проведена модификация наночастиц

магнетита (**10н**, **12н**, **15н**, **20н**) предварительно синтезированным бифункциональным лигандом **72** на основе полиэтиленгликоля, содержащего фрагмент $\text{Si}(\text{OEt})_3$ и карбоксильную группу (Рис 6).

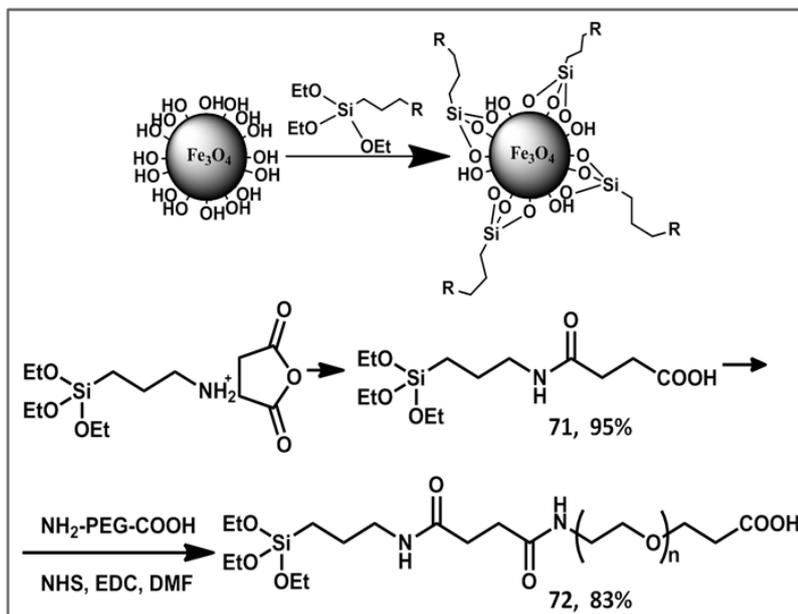


Таблица 2.

№	10н	12н	20н	15н
Диаметр (ПЭМ), нм	9 ± 2	22 ± 4	40 ± 5	50 ± 6
Диаметр (ДСР) (НЧ без покрытия), нм	231	475	689	251
Диаметр (ДСР) (НЧ с покрытием ПЭГ), нм	36	54	92	76
Релаксивность, T2, 1/ммоль/с	109	140	130	189

Рис. 6 Схема модификации НЧ магнетита лигандом **72** и синтез кремнийсодержащего производного ПЭГ **72** (слева) и Таблица 2. Данные ДСР и измерения релаксивности (справа).

Применение функционализированного водорастворимого полимерного стабилизатора **72** обеспечивает коллоидную стабильность получаемых наночастиц, а также возможность их дальнейшей функционализации по карбоксильной группе. По данным динамического светорассеивания, нефункционализированные НЧ образуют агрегаты со средним размером от 100 до 800 нм, тогда как гидродинамический размер частиц, функционализированных лигандом **72**, значительно меньше (Табл. 2).

2.3. Синтез наночастиц магнетит-золото

В отсутствие защитной оболочки НЧ магнетита нестабильны и токсичны в физиологических условиях, а также сложны для функционализации. Чтобы устранить эти недостатки, в работе осуществили покрытие поверхности НЧ магнетита золотом, которое обеспечивает их стабильность, снижает до минимума токсичность, а также образует прочные ковалентные связи с серосодержащими лигандами, что дает возможность модификации поверхности. Получение таких НЧ типа «ядро-оболочка» проводилось в три последовательные стадии: синтез ядра – НЧ магнетита, покрытие оболочкой золота и очистка конечных НЧ. Для покрытия магнетита золотом использовался метод восстановления HAuCl_4 цитратом натрия при кипячении (Рис. 7).



Рис. 7 Синтез и очистка НЧ магнетит-золото.

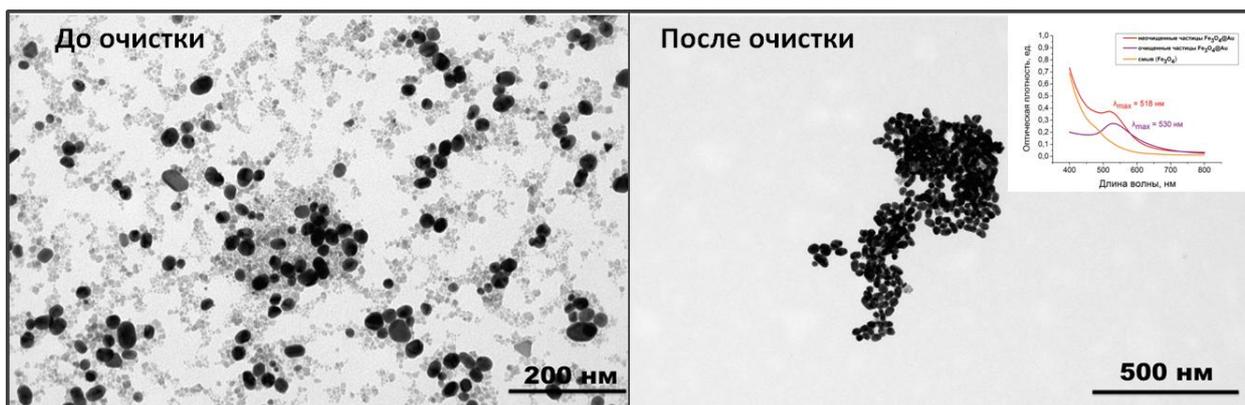


Рис. 8 Данные ПЭМ до очистки и после наночастиц магнетит-золото (24н)

В ходе работы было получено 2 образца: **23н** ($19,6 \pm 6,8$ нм) и **24н** ($22,6 \pm 3,2$ нм) (на основе магнетита промытого водой и 2М HClO_4 соответственно). Было обнаружено, что выбор среды ($\text{H}_2\text{O}/\text{HClO}_4$) для промывки магнетита оказывает существенное влияние на размер, морфологию и состав частиц, которые образуются в результате покрытия магнетита золотой оболочкой. В процессе покрытия оболочкой получается смесь НЧ $\text{Fe}_3\text{O}_4@Au$, Fe_3O_4 и Au. Поэтому необходимым этапом синтеза материала является очистка НЧ и их стабилизация органическими лигандами. В рамках данной работы было предложено и оптимизировано два метода очистки – хроматография на различных сорбентах Sephadex G10/G50/G100 и центрифугирование. Метод хроматографической очистки подобных НЧ был предложен и разработан нами впервые. Однако, несмотря на высокую эффективность очистки НЧ $\text{Fe}_3\text{O}_4@Au$ при помощи хроматографии на Sephadex G50, этот метод обладает существенным недостатком: для того, чтобы нарушить прочное связывание НЧ $\text{Fe}_3\text{O}_4@Au$ с носителем и перевести их в коллоидно-стабильное состояние, необходимо использовать раствор серосодержащего лиганда; следовательно, проведение очистки невозможно без последующей за ней стадии функционализации. На практике это приводит к разбавлению раствора НЧ более чем в два-три раза по сравнению с исходной концентрацией. Для того, чтобы избежать процесса разбавления (снижения концентрации), а также для упрощения метода очистки, был предложен второй способ – центрифугирование. Для оценки степени очистки НЧ $\text{Fe}_3\text{O}_4@Au$ использовались качественные методы (ПЭМ (рис. 8) и электронная спектроскопия), а также количественный - масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС). Прямым методом доказательства структуры «ядро-

оболочка» служат результаты энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии (ЭДРС), снятой в ходе анализа методом ПЭМ высокого разрешения (Рис.9).

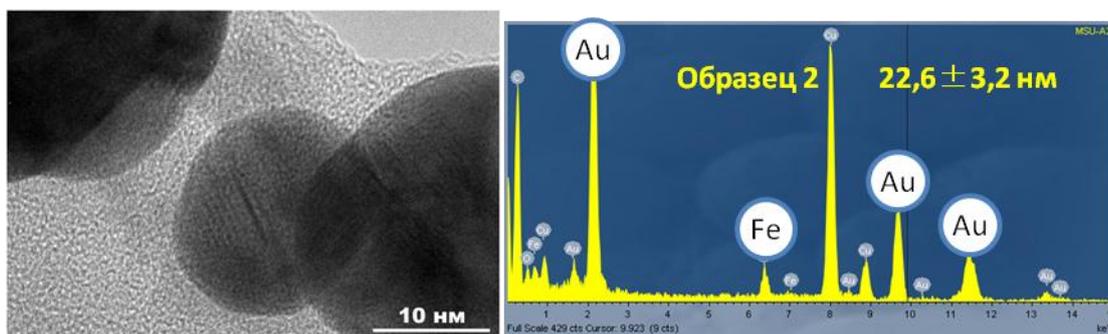


Рис. 9 Данные ЭДРС и ПЭМ высокого разрешения образца 24н

По результатам изучения магнитных свойств было обнаружено, что образцы $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Au}$ являются ферромагнетиками с коэрцитивной силой 35-47 Э и намагниченностью насыщения 59-62 э.м.е./г Fe_3O_4 . Таким образом, золотая оболочка на поверхности магнетита не оказывает влияние на намагниченность насыщения.

В ходе работы был получен ряд образцов НЧ $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Au}$, функционализированных серосодержащими органическими лигандами: L-цистеином (8м), 3-меркаптопропионовой кислотой (9м), липоевой кислотой (10м), 11-меркаптоундекановой кислотой (11м), меркаптополиэтиленгликолевой кислотой (SH-PEG-COOH) (12м, 13м и 14м) (на основе НЧ 23н и 24н). Эффективность функционализации была доказана при помощи термогравиметрии, измерения гидродинамического размера НЧ и ξ -потенциала.

3. Практическая значимость

3.1. Получение сорбентов для ВЭЖХ на основе силикагеля, модифицированного наночастицами золота.

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) широко используется для разделения и количественного анализа различных классов органических веществ. В данной работе нами впервые были получены и протестированы образцы неподвижных фаз на основе наночастиц металлов. Полученные золотые НЧ различного диаметра (от 2 нм до 50 нм) наносили на поверхность сорбента – силикагеля SiO_2 (Рис. 10). Для этого НЧ либо наносили непосредственно на поверхности силикагеля, либо носитель (силикагель) предварительно модифицировали аминопропилтриэтоксисиланом (АПТЭС) или меркаптопропилтриметоксисиланом (МППМС), что приводило к функционализации поверхности SiO_2 amino- или меркапто-группами соответственно, и на следующем этапе НЧ золота адсорбировались на поверхности носителя за счет химического связывания: электростатического и ковалентного соответственно. После этого поверхность НЧ золота функционализировали серосодержащими лигандами (так, например, меркаптопропионовой кислотой (МПК)). Для адсорбции на поверхности сорбента хирального высокомолекулярного селектора (бычий сывороточный альбумин (БСА), ванкомицин), не содержащего тио-групп, последовательно проводили

модификацию МПК, а затем реакцию карбодиимидного синтеза на поверхности НЧ, в результате которой образовывалась амидная связь со свободной аминогруппой БСА или ванкомицина.

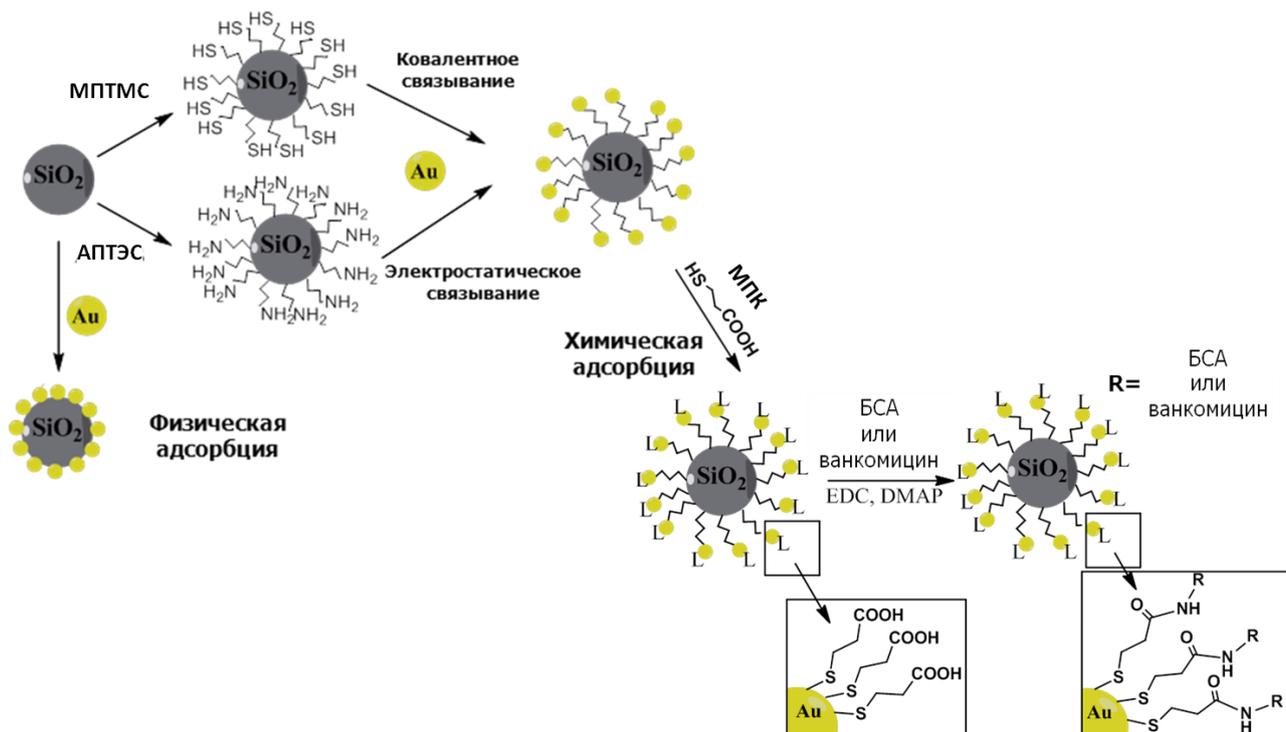


Рис. 10 Схема синтеза сорбентов для ВЭЖХ на основе НЧ золота

В результате были получены 6 сорбентов: SiO₂ – Au – L-цитрат (**1м**), SiO₂ – Au – L-цистеин (**2м**), SiO₂ – NH₂ – Au – L-цистеин (**3м**), SiO₂ – S – Au – L-цистеин (**4м**), SiO₂ – S – Au – БСА (**5м**) и SiO₂ – S – Au – ванкомицин (**6м**). Полученные сорбенты исследовались в качестве стационарной фазы ВЭЖХ для разделения различных соединений: аминопиридинов, нитроанилинов, пестицидов, витаминов, энантиомеров β-блокаторов и лекарственных препаратов. Все сорбенты были охарактеризованы данными сканирующей электронной микроскопии (СЭМ), согласно которым НЧ золота любого размера (2,5 ± 0,5 нм, 10 ± 2 нм, 25 ± 3 нм, 40 ± 3 нм) способны сорбироваться на поверхности, однако, в случае более крупных НЧ адсорбируются в основном не дискретные частицы, а их агрегаты. Результаты атомной адсорбционной спектроскопии смывов золота с поверхности силикагеля показали, что наибольшая поверхностная концентрация золотых НЧ на носителе наблюдается при размере НЧ 10 ± 2 нм и 40 ± 3 нм, но так как в последнем случае происходит агрегация, оптимальным размером является 10 ± 2 нм.

Хроматографические свойства сорбентов **2м** с различным размером НЧ золота были исследованы на примере разделения аминопиридинов. Наибольшей эффективностью обладает сорбент – силикагель, покрытый НЧ золота, диаметром 10 ± 2 нм, что подтверждает данные физико-химических исследований.

Было проведено сравнение физико-химических и аналитических свойств трех сорбентов: SiO₂ – Au – L-цистеин (**2м**), SiO₂ – NH₂ – Au – L-цистеин (**3м**), SiO₂ – S – Au – L-цистеин (**4м**) для изучения эффективности ковалентной модификации, а также для оценки влияния метода модификации на физико-химические и

аналитические характеристики сорбентов. Наиболее эффективным методом модификации являлось покрытие силикагеля МПТМС с дальнейшей адсорбцией наночастиц золота.

В ходе работы были исследованы два высокомолекулярных соединения, в качестве селектора – БСА (**5м**) и ванкомицин (**6м**), в качестве модельных соединений исследовали энантимеры β -блокаторов. Наиболее эффективным и селективным проявил себя сорбент **6м** на основе антибиотика. На заключительном этапе было продемонстрировано разделение энантимеров пиндолола и метопролола в лекарственных препаратах (вискен и вазокардин; Рис.11).

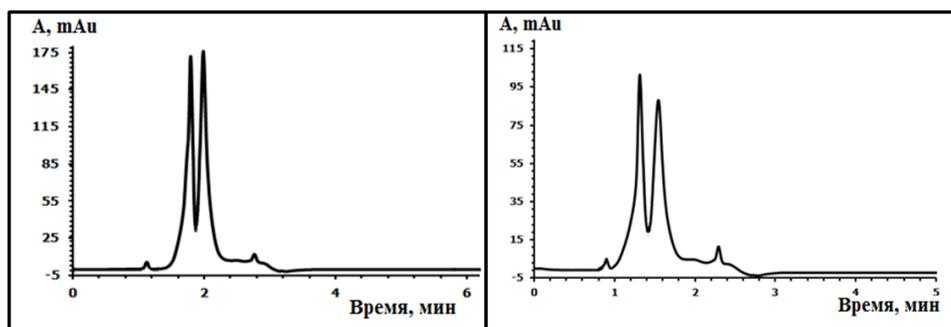


Рис. 11 Хроматограммы разделения лекарственных препаратов Вискен (слева) и Вазокардин (справа) на сорбенте **6м**, ПФ: 95% фосфатный буфер (25 мМ, рН 4.0) – 5% АСН. 0.5 мл/мин. $\lambda_{max}=270$ нм

Таким образом, впервые получены сорбенты на основе силикагеля, модифицированного НЧ золота, для разделения органических соединений, включая 4 сорбента для разделения энантимеров β -блокаторов.

3.2. Получение материала для ФДТ

Применение НЧ золота с иммобилизованными на них ФС открывает новые возможности для повышения результативности ФДТ. Нами получен материал **7м** на основе лиганда **44** (Рис. 12), ковалентно иммобилизованного на НЧ золота, и изучены спектральные, фотофизические и биологические свойства полученного наноструктурированного ФС.

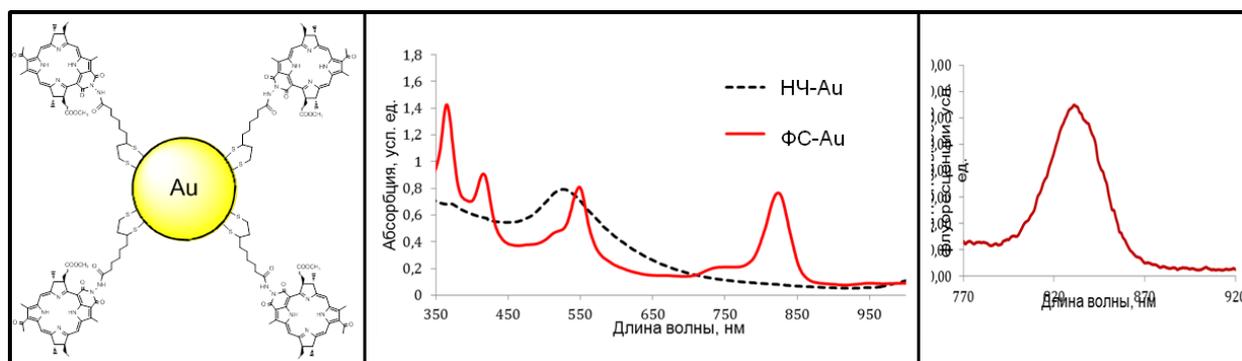


Рис. 12 Структура ФС **7м** (слева), Электронный спектр поглощения **7м** (в центре). Спектр флуоресценции **7м** (возбуждение в полосу 540 нм) (справа)

Облучение образца **7м** светом с длиной волны 540 нм приводит к интенсивной флуоресценции при 830 нм, что позволило нам изучить кинетику распределения в органах и тканях, а также накопление ФС в опухоли. В ходе

выполнения данной части работы показано, что иммобилизация ФС 44 на НЧ золота увеличивает время циркуляции наноструктурированного ФС в кровотоке и повышает его тропность к опухоли за счет неспецифического таргетинга, реализуемого путем экстравазации НЧ, нагруженных пигментом, из дефектных сосудов опухоли.

3.3. Получение материалов для МРТ

С использованием метода МРТ была продемонстрирована потенциальная возможность использования полученных НЧ магнетита, стабилизированных силансодержащим производным полиэтиленгликоля в качестве T2-контрастных агентов. Значения релаксивности НЧ магнетита (образцы 10н, 12н, 20н и 15н) представлены в Табл. 2 (стр. 15). При сопоставлении этих результатов с данными по релаксивности для коммерчески доступного клинического T2-контрастного агента (Feridex, $126 \text{ ммоль}^{-1}\text{с}^{-1}$) для визуализации печени, можно сделать вывод, что НЧ, покрытые гетеробифункциональным производным полиэтиленгликоля, можно рассматривать как потенциальные агенты для визуализации опухолей.

Также, для образцов 13м и 14м (образцы магнетит-золото 23н и 24н, покрытые SH-PEG-COOH) определяли релаксивность *in vitro* при 25°C и силе поля 7Т, которую сравнивали с релаксивностью не покрытого магнетита, также полученного в данной работе. Измеренные величины R2-релаксивности 226 и 232 $\text{мм}^{-1}\text{с}^{-1}$, (13м и 14м) превышают аналогичные величины существующих контрастных агентов на основе магнитных НЧ оксидов железа. Покрытие золотой оболочкой не приводит к существенному влиянию на способность НЧ магнетита уменьшать время T2-релаксации протонов воды за счет создания вокруг себя неоднородного магнитного поля, что коррелирует также с отсутствием влияния золотой оболочки на параметры петли гистерезиса. В ходе работы также изучена токсичность НЧ магнетита (основы), образцы 13м и 14м для клеточных линий LNCaP и PC-3 (клетки рака предстательной железы человека). Исследованные образцы были нетоксичны в диапазоне 0,075 – 1,5 мкг/мл по магнетиту (>90% выживших клеток по сравнению с контролем); исключение составлял образец 14м в концентрации 0,75 – 1,5 мкг/мл по магнетиту, приводящий к снижению выживаемости клеток до 65-75%.

3.4. Изучение эффекта переменного магнитного поля на фермент иммобилизованный на наночастицах магнетита

В ходе работы была также проведена модификация поверхности НЧ химотрипсином – ферментом, каталитические свойства которого подробно изучены в литературе. Данный белок был использован в качестве модели для изучения механохимического действия магнитного поля, а именно возможности регулирования каталитической активности иммобилизованного на магнитных НЧ фермента за счет изменения его конформации под действием сил поля. Изучалась кинетика реакции гидролиза *n*-нитроанилида N-бензоил-L-тирозина (BTNA), катализируемая химотрипсином (Рис. 13). В условиях карбодиимидного синтеза были получены модифицированные химотрипсином образцы 15м, 16м, 17м, 18м и 19м на основе функционализированных НЧ 8м, 9м, 10м, 11м и 12м соответственно. В образцах 15м, 16м и 17м, подвергавшихся действию

магнитного поля ($H = 110 \text{ кА/м}$, частота 50 Гц), наблюдалось замедление реакции после каждой экспозиции в поле (типичная кинетическая кривая показана на Рис 13). В ходе исследования обнаружен эффект влияния слабого низкочастотного магнитного поля на кинетику катализируемой химотрипсином реакции (замедление до 65%.) Основываясь на результатах моделирования, можно заключить, что наблюдаемый эффект уменьшения ферментативной активности под действием магнитного поля вызван наномеханическим воздействием со стороны магнитных НЧ в переменном магнитном поле. Наиболее вероятной причиной наблюдавшегося эффекта является изменение топологии групп в активном центре на поверхности молекулы фермента в результате ее необратимой деформации приложенными силами поля.

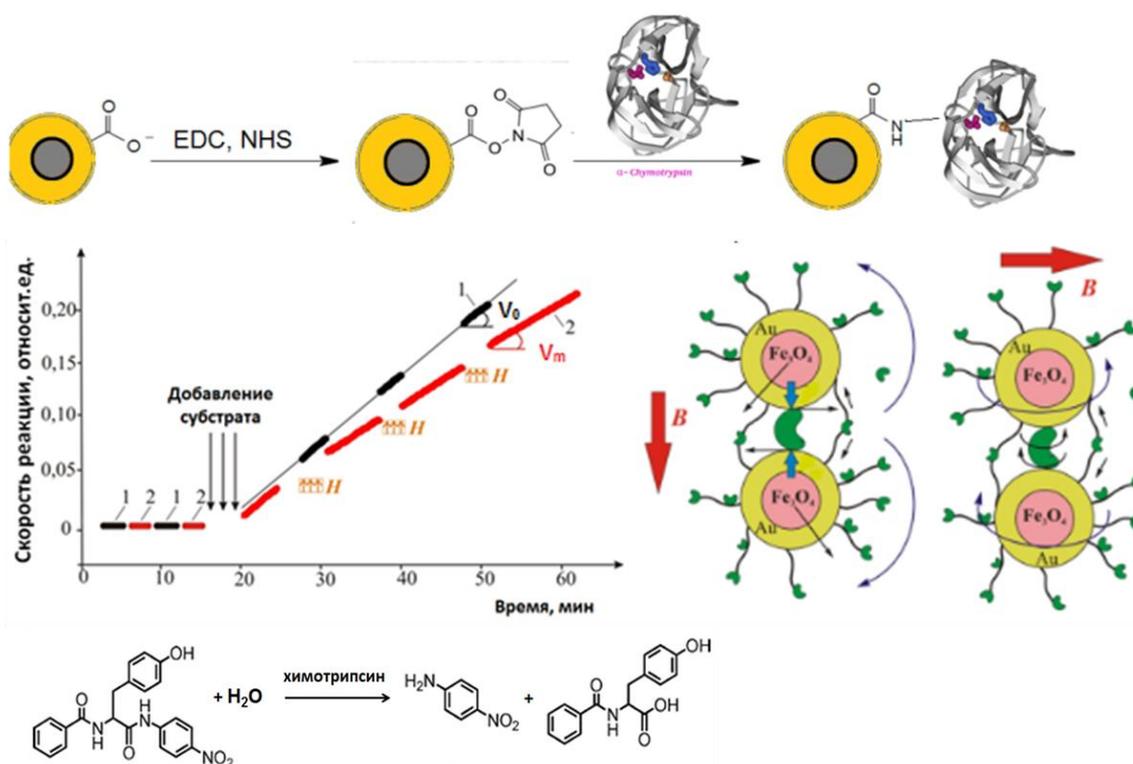


Рис. 13 Модификация поверхности НЧ магнетит-золото химотрипсином; кинетическая кривая для образца 17м; схема действия переменного магнитного поля; реакция катализируемая химотрипсином

Таким образом, продемонстрирована перспективность использования НЧ магнетит-золото типа «ядро-оболочка» в качестве лекарственных и диагностических препаратов, в том числе, тераностиков. НЧ $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Au}$ обладают выраженными магнитными свойствами (высокая намагниченность насыщения, высокая скорость T2-релаксации), низкой токсичностью, а также простотой функционализации поверхности.

Выводы

1. Разработаны и оптимизированы методы получения новых органических бифункциональных ауروفильных лигандов: серосодержащих производных аминокислот, пептидов, ПСМА-вектора, N-аминобактериопуринимида.
2. Разработана новая твердофазная методика получения производных пептидов, содержащих в своем составе липоевую кислоту и биотин. Предложен метод ацилирования этилового эфира биотина по атому азота.
3. Оптимизированы методы получения и изучены физико-химические свойства НЧ золота различного размера (2 -100 нм) и НЧ магнетита различной формы и размера (4 - 50 нм) с узким распределением по размерам. Предложена и оптимизирована методика стабилизации наночастиц магнетита в водном растворе путем функционализации НЧ производными полиэтиленгликоля. Изучена T2-релаксивность функционализированных наночастиц магнетита.
4. Разработаны и оптимизированы методы синтеза, очистки и концентрирования НЧ магнетит-золото типа «ядро-оболочка». Изучены физико-химические и биологические свойства частиц $\text{Fe}_3\text{O}_4@Au$; обнаружено, что золотая оболочка НЧ $\text{Fe}_3\text{O}_4@Au$ не оказывает влияния на их магнитные свойства. Осуществлена функционализация поверхности НЧ $\text{Fe}_3\text{O}_4@Au$ серосодержащими лигандами, а также ферментом химотрипсином. Обнаружен эффект замедления ферментативной реакции с участием иммобилизованного химотрипсина под действием переменного низкочастотного магнитного поля.
5. Получены новые материалы на основе НЧ: сорбенты для хиральной ВЭЖХ на основе неорганических матриц, НЧ золота и органических лигандов; материал для ФДТ на основе НЧ золота и ФС.

Основные результаты работы изложены в следующих публикациях:

1. **Рудаковская П.Г.**, Герасимов В.М., Метелкина О.Н., Белоглазкина Е.К., Зык Н.В., Савченко А.Г., Щетинин И.В., Салихов С.В., Абакумов М.А., Клячко Н.Л., Головин Ю.И., Мажуга А.Г. Синтез и физико-химическое исследование НЧ магнетита, функционализированных полиэтиленгликолем с терминальной триэтоксисилановой группировкой, для биомедицинского применения. // Российские Нанотехнологии Издательство: Парк-медиа (Москва) ISSN: 1992-7223. - 2015. - Т. 10. - №11-12. - С.52-59.
2. Пулькова Н.В., Тоневицкая С.А., Герасимов В.М., **Рудаковская П.Г.**, Мажуга А.Г., Сахаров Д.А. Синтез, оптимизация методов получения НЧ магнетита различного размера и морфологии для биологического применения // Российские Нанотехнологии Издательство: Парк-медиа (Москва) ISSN: 1992-7223. - 2015. - Т. 10. - №7-8. - С.51-55.
3. Пантюшенко И.В., **Рудаковская П.Г.**, Старовойтова А.В., Михайловская А.А., Абакумов М.А., Каплан М.А., Цыганков Н.А., Мажуга А.Г., Грин М.А., Миронов А.Ф. Разработка наноструктурированных ИК-фотосенсибилизаторов на основе производных бактериохлорофилла а и НЧ золота для фотодинамической терапии рака // Биохимия (Biochemistry (Moscow), Biokhimiya). - 2015. - №.6. - С. 891-903.
4. **Rudakovskaya P.G.**, Beloglazkina E.K., Majouga A.G., Klyachko N.L., Kabanov A.V., Zyk N.V. Synthesis of Magnetite–Gold Nanoparticles with Core–Shell Structure // Moscow University Chemistry Bulletin. - 2015. - V. 70. - № 3. - P. 149-156.
5. Alexander Majouga, Marina Sokolsky-Papkov, Artem Kuznetsov, Dmitry Lebedev, Maria Efremova, Elena Beloglazkina, **Rudakovskaya P.G.**, Maxim Veselov, Nikolay Zyk, Yuri Golovin, Natalia Klyachko, Alexander Kabanov Enzyme-functionalized gold-coated magnetite nanoparticles

- as novel hybrid nanomaterials: Synthesis, purification and control of enzyme function by low-frequency magnetic field // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. - 2014. - V. 125. - P.104-109.
6. Клячко Н.Л., Зайцева Е.А., Ефременко Е.Н., Кост О.А., Маникам Д., Нуколова Н.В., Мажуга А.Г., Головин Ю.И., Легоцкий С.А., Филатова Л.Ю., Мирошников К.А., Абакумов М.А., Лягин И.В., Чеснокова Н.Б., Ефремова М.В., **Рудаковская П.Г.**, Кузнецов А.А., Кабанов А.В. Новые бионаносистемы для медицинских применений. Развитие технологии «NanoZYME» в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова // *Вестн. моск. ун-та.сер.2 Химия*. - 2014. - том 55. - № 3. - С. 139 -147.
 7. Михалюк А.Н., Шаповалова Е.Н., **Рудаковская П.Г.**, Мажуга А.Г., Шпигун О.А. Электрофоретическое разделение азотсодержащих препаратов на кварцевых капиллярах, модифицированных НЧ золота, стабилизированных цитратом натрия, 6,10-ионеной и сульфополисахаридами // *Вестн. моск. ун-та.сер.2 Химия*. - 2013. - том 54. - № 5. - С. 252-256.
 8. Ананьева И.А., Елфимова Я.А., **Рудаковская П.Г.**, Мажуга А.Г., Шаповалова Е.Н., Зык Н.В., Шпигун О.А. Новый наногибридный функциональный материал для ВЭЖХ на основе НЧ золота, стабилизированных L-цистеином // *Сорбционные и хроматографические процессы*. - 2011. - том 11. - № 2. - С. 281-291.
 9. **Rudakovskaya P.G.**, Beloglazkina Elena K., Alexander G Majouga, Zyk Nikolai V. Synthesis and characterization of terpyridine-type ligand-protected gold-coated Fe₃O₄ nanoparticles // *Mendeleev Communications*. - 2010. - V. 20. - № 3. - P. 158-160.
 10. Majouga A.G., Antipin R.L., Agron L.A., Beloglazkina E.K., **Rudakovskaya P.G.**, Romashkina R.B., Zyk N.V. Synthesis of novel organic ligands for gold nanoparticles decoration and architectures based on them / *Материалы в сборнике Nanotechnology for sustainable Economy European and international Forum on Nanotechnology, Prague (Czech Republic)*. - с. 41. - 2009.
 11. Ананьева И.А., Мажуга А.Г., **Рудаковская П.Г.**, Курилова С.П., Зык Н.В., Шпигун О.А. Новый наногибридный функциональный сепарационный материал на основе НЧ золота / *Материалы в сборнике Всероссийская конференция «Теория и практика хроматографии. Хроматография и нанотехнологии»*, место издания Самара. - с. 71. – 2009.
 12. **Рудаковская П.Г.**, Мажуга А.Г., Белоглазкина Е.К., Зык Н.В. Модификация поверхности магнитных НЧ Fe₃O₄@Au органическими лигандами и исследование их свойств / *Материалы XVI Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» 2009*, секция «Химия», подсекция «Органическая химия». Москва. – с. 38. - 2009.
 13. **Рудаковская П.Г.**, Мажуга А.Г., Белоглазкина Е.К., Зык Н.В. Синтез магнитных НЧ Fe₃O₄@Au и модификация их органическими лигандами / *Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Современная химия: интеграция науки, образования и экологии»*, Казань. - с. 41. – 2009.
 14. **Рудаковская П.Г.**, Мажуга А.Г. Получение модифицированных магнитных НЧ Fe₃O₄@Au и изучение их физико-химических свойств/ *Материалы V Конференции молодых ученых, аспирантов и студентов ИФХЭ РАН 2010*, Москва, Россия. – с. 35. – 2010.
 15. **Рудаковская П.Г.**, Мажуга А.Г., Белоглазкина Е.К., Зык Н.В. Magnetic nanoparticles, modified by gold nanoparticles, which are stabilized by organic ligands; synthesis and properties / *Сборник тезисов конференции 1st Russian – Hellenic Sympos. “Biomaterials and bionanomaterials: recent advances and safety – toxicology issues”*, Crete – Greece, Heraklion, Греция. – с. 113. – 2010.
 16. Белоглазкина Е.К., Кашаев А.С., Мажуга А.Г., Рахимов Р.Д., Ромашкина Р.Б., **Рудаковская П.Г.**, Зык Н.В. Новые органические лиганды терпиридинового ряда для модификации НЧ / *Сборник тезисов конференции International Symposium on «Advanced Science in Organic Chemistry (ASOC-2010)*. Miskhor, Krimea. – с. 172. – 2010.
 17. Мажуга А.Г., **Рудаковская П.Г.**, Белоглазкина Е.К., Зык Н.В. Synthesis of novel organic ligands for gold nanoparticles decoration / *Сборник тезисов конференции 6th Nanoscience and Nanotechnology Conference, Turkey*. - с. 569. – 2010.
 18. **Рудаковская П.Г.**, Мажуга А.Г., Ананьева И.А., Белоглазкина Е.К., Зык Н.В. Синтез новых ауофильных лигандов, содержащих хиральную группировку / *Сборник тезисов конференции II Всероссийской научной конференции с международным участием «Успехи синтеза и комплексообразования»*, Москва, Россия, РУДН. - с. 157. – 2012.

19. Alexander Majouga, Elena Beloglazkina, Artem Kuznetsov, **Rudakovskaya P.G.**, Nikolay Zyk, Natalia Klyachko, Marina Sokolsky-Papkov, Alexander Kabanov L-cystein stabilized core-shell Au/Fe₃O₄ nanoparticles, as smart platform for the immobilization of biomolecules: synthesis and purification / Сборник тезисов конференции Nanomedicine, , 15-17 July, Amsterdame, Holland. – с.141. – 2012.
20. Elfimova Y.A., Ananieva I.A., **Rudakovskaya P.G.**, Majouga A.G., Shpigun O.A. HPLC enantiomeric separation of β -blockers using bovine serum albumin immobilized on gold nanoparticles supported on silica gel / Сборник тезисов конференции Materials of Advances in chromatography and electrophoresis Olomouc, Czech Republic, June 11-14. - P. 72-73. - 2012.
21. Elfimova Y.A., Ananieva I.A., **Rudakovskaya P.G.**, Majouga A.G., Shpigun O.A. New chiral stationary phase for HPLC based on silica gel modified with vancomycin-gold nanoparticles conjugates / Сборник тезисов конференции 29th International Symposium on Chromatography Toruń, Poland, September 9-13. - P. 636. – 2012.
22. **Рудаковская П.Г.**, Мажуга А.Г., Белоглазкина Е.К., Зык Н.В. Синтез пептидов и производных, содержащих природные и неприродные аминокислоты / Сборник тезисов III Всероссийской научной конференции с международным участием "Успехи синтеза и комплексообразования", Москва, Россия, РУДН. - с. 33. – 2013.
23. Golubina E., Lokteva E., Kavalerskaya N.E., **Rudakovskaya P.G.**, Alexander Majouga Modification of Ni/Al₂O₃ catalyst by gold for chlorobenzene hydrodechlorination / Сборник тезисов конференции 41th World Chemistry Congress, Стамбул, Турция, 11-16 августа 2013. - с. 1207. – 2013.
24. Николаев С.А., Голубина Е.В., Кротова И.Н., Эзжеленко Д.И., **Rudakovskaya P.G.**, Мажуга А.Г., Влияние структурной организации металлов на активность синергетических катализаторов окисления и гидрирования / Сборник тезисов конференции XXVI Симпозиум "Современная химическая физика" Москва,Россия. - с. 320. – 2014.
25. **Рудаковская П.Г.**, Денисов Д.А., Ковальчук М.В., Мажуга А.Г., Белоглазкина Е.К., Зык Н.В. Синтез производных биотина, содержащих пептидный фрагмент / Сборник тезисов III Всероссийской научной конференции с международным участием "Успехи синтеза и комплексообразования", Москва, Россия, РУДН. - с. 152. – 2014.
26. **Rudakovskaya P.G.**, Efremova M.V., Metelkina O.N., Veselov M.M., Majouga A.G., Klyachko N.L., Golovin Y.I., Kabanov A.V. Magnetic nanoparticles with different size, shape and structure: synthesis and physico-chemical stud / Сборник тезисов конференции International Scientific Conference «Science of the Future», Final Program, 17-20 September, 2014, St.Petersburg, Russia. – с. 245. – 2014.
27. **Rudakovskaya P.G.**, Majouga A.G., Salihov S.V., Efremova M.V., Schetinin I.V., Barulin A.V., Metelkina O.M. Synthesis and Physicochemical Characterization of Core-Shell Fe₃O₄@Au Nanoparticles / Сборник тезисов конференции XII International Conference on Nanostructured Materials «NANO 2014» 13-18 July, 2014, Moscow, Russia. – с. 24. – 2014.
28. **Rudakovskaya P.G.**, Salihov S.V., Majouga A.G., Efremova M.V., Schetinin I.V. Influence of Shape and Size of Magnetite Nanoparticles on Their Magnetic Properties / Сборник тезисов конференции XII International Conference on Nanostructured Materials «NANO 2014» 13-18 July, 2014, Moscow, Russia. – с. 29. – 2014.
29. Deygen I., Kutsenok E., Efremova M., **Rudakovskaya P.G.**, Majouga M., Golovin Yu, Kudryashova E., Kabanov A., Klyachko N. FTIR-spectroscopy allows detecting fine changes in liposomal structure caused by interaction with magnetic nanoparticles / Сборник тезисов конференции Biocatalysis 2015, Истра, Россия, 21-26 июня 2015. – с. 13. – 2015.
30. **Rudakovskaya P.G.**, Majouga A. Influence of morphology and coating of magnetite nanoparticles on their magnetic and biological properties / Сборник тезисов конференции Fourth International Conference on Multifunctional, Hybrid and Nanomaterials, Final Program, 9-13 March, 2015, Barcelona, Spain. – с. 117. – 2015.
31. Barulin A.V., Efremova M.V., **Rudakovskaya P.G.**, Metelkina O.N., Kabanov A.V., Golovin Y.I., Majouga A.G., Klyachko N.L. The catalytic activityregulationof enzyme – inhibitor pairimmobilized on magnetite-gold nanoparticlesvia ultra low magnetic field application / Сборник тезисов конференции Bionanotox 2015, Крит, Греция, 3-10 мая 2015. – с. 14. – 2015.

32. Klyachko N.L., Filatova L.Yu, Miroshnikov K.A., Legotsky S.A., Priyma A.D., Belyu T.S., Usvaliev A., **Rudakovskaya P.G.**, Gribovsky S.L., Zaitseva E.A., Belova A.B., Majouga A.G., Golovin Yu I., Kabanov A.V. The antibacterial enzymes and methods of delivery - an alternative to antibiotics / Сборник тезисов конференции VIII Moscow international congress "Biotechnology: state of the art and prospects of development" Москва, Россия. - том 2, с. 348. – 2015.
33. **Рудаковская П.Г.**, Мажуга А.Г., Белоглазкина Е.К., Зык Н.В. Синтез новых наногибридных материалов на основе серосодержащих органических соединений / Сборник тезисов конференции Всероссийская конференция по органической химии, посвященная 75-летию ИОХ им. Н.Д. Зелинского РАН, Москва, Россия. - с. 272. – 2015.
34. Клячко Н.Л., Филатова Л.Ю., Мирошников К.А., Легоцкий С.А., Прийма А.Д., Белый Т.С., Усвалиев А., **Рудаковская П.Г.**, Грибановский С.Л., Зайцева Е.А., Белова А.Б., Мажуга А.Г., Головин Ю.И., Кabanov A.V. Антибактериальные ферменты и способы их доставки - альтернатива антибиотикам / Сборник тезисов конференции VIII Московский международный конгресс "Биотехнология состояние и перспективы развития", ЗАО «Экспо-биохим-технологии», РХТУ им. Д.И. Менделеева Москва, Россия, том 1. - с. 348. – 2015.
35. Klyachko N.L., Filatova L.Yu, Miroshnikov K.A., Legotsky S.A., Priyma A.D., Belyu T.S., Usvaliev A., Gribovsky S.L., **Rudakovskaya P.G.**, Zaitseva E.A., Belova A.B., Majouga A.G., Golovin Yu I., Kabanov A.V. The antibacterial enzymes and methods of delivery - an alternative to antibiotics / Сборник тезисов конференции "Biomaterials and Nanobiomaterials Recent Problems and Ecology Issues" including Russian-Hellenic Workshop and School of Young Scientists, May, 3-10, 2015, Heraklion, Crete-Greece. - с. 26. – 2015.
36. Kutsenok E.O., Deygen I.M., Efremova M.V., **Rudakovskaya P.G.**, Majouga A.G., Golovin Yu I., Kudryashova E.V., Kabanov A.V., Klyachko N.L. Synthesis of magnetic nanoparticles and their liposome complexes for biomedical application / Сборник тезисов конференции Biocatalysis 2015, Истра, Россия, 21-26 июня 2015. – с. 34. – 2015.
37. Deygen I., Kutsenok E., Efremova M., **Rudakovskaya P.G.**, Majouga M., Golovin Yu, Kudryashova E., Kabanov A., Klyachko N. Interaction of liposomes and magnetic nanoparticles / Сборник тезисов конференции Bionanotech 2015, Крит, Греция, 3-10 мая 2015. – с.9. – 2015.

Автор выражает искреннюю благодарность

• к.т.н., ст. преп. Щетинину И.В., асп. Гребенникову И.С. за проведение рентгенофазового анализа, магнитных измерений, мессбауэровской спектроскопии; • проф., д.х.н. Клячко Н.Л., проф., д.ф.-м.н. Савченко А.Г., проф., д.ф.-м.н. Головину Ю.И. за полезные обсуждения и ценные советы и указания, данные в процессе выполнения работы; • асп., инж. Гараниной А.С. за проведение экспериментов по изучению токсичности; • с.н.с. к.ф.-м.н. Упорову И.В. за проведение экспериментов по компьютерному моделированию; • к.х.н. Абакумову М.А. за измерение времен релаксивности; • к.х.н. Ананьевой И.А., проф., д.х.н. Шпигуну О.А. за помощь в изучении хроматографических свойств сорбентов; • д.х.н. Грину М.А., Пантюшенко И.В. за помощь в выполнении работ по ФДТ; • студентам Денисову Д.Д., Ковальчуку М.В., Ефремовой М.В. за помощь в организации различных экспериментов.