

МИНОБРНАУКИ РОССИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г.ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра общей и неорганической химии

**СИНТЕЗ БЕЛКОВО-
МОДИФИЦИРОВАННЫХ
ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ
НАНОКЛАСТЕРОВ ЗОЛОТА
И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ
ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДОКСОРУБИЦИНА**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

студентки 4 курса 411 группы

направления 04.03.01— Химия

Института химии

Калишиной Ксении Романовны

Научный руководитель
доцент, к. х. н.

А. В. Маркин

Зав. кафедрой
д.х.н., профессор

И. Ю. Горячева

Саратов 2024

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы. Поиск новых люминесцентных агентов активировал развитие и применение нанотехнологий в научном сообществе. Наряду с квантовыми точками и флуоресцентными наночастицами, такими как наноалмазы, флуоресцентные нанокластеры (НК) металлов являются одними из перспективных наноструктур. В частности, люминесцентные нанокластеры золота (НКЗ), модифицированные белком, привлекательны за счет простоты их синтеза, малого размера, отсутствия токсичности и настраиваемых полос испускания. Для модификации поверхности нанокластеров золота могут быть использованы многие биологически активные соединения. Наиболее распространенными являются бычий сывороточный альбумин (БСА), человеческий сывороточный альбумин (ЧСА), овальбумин (ОВА), лизоцим, трипсин и т. д. [1–5].

НКЗ демонстрируют широкий спектр потенциального применения для обнаружения перекиси водорода [6], ионов металлов [7,8], дофамина [9], глюкозы [10], аскорбиновой кислоты [11], холестерина [12]. В последнее время широко изучается применение НКЗ для мониторинга различных концентраций цитостатиков, при котором сигнал концентрации преобразуется в оптический сигнал. Так НКЗ используются для обнаружения доксорубина (ДОКС) – антроциклинового антибиотика, который используется для лечения различных опухолей человека. Интервал терапевтических концентраций ДОКС узок. Побочные эффекты, например, тяжелая кардиотоксичность и миелосупрессия, часто наблюдаются, когда концентрация ДОКС превышает определенный уровень в крови. Следовательно, точный и чувствительный подход к количественному определению и точному мониторингу концентрации ДОКС в крови имеет большое значение [13]. ДОКС значительно подавляет люминесценцию НКЗ, поэтому несмотря на многочисленные публикации о подходах к синтезу, по-прежнему остается актуальным поиск новых способов получения люминесцентных НКЗ с яркой люминесценцией.

Целью данной работы является синтез люминесцентных НКЗ, стабилизированных белками и их использование для обнаружения цитостатического препарата доксорубицина.

Краткая характеристика материалов исследования. Для решения поставленных в данной работе задач применяли комплекс физико-химических методов исследования: флуориметрия, спектрофотометрия, гель-электрофорез и просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ). Объектами исследования стали люминесцентные НКЗ, стабилизированные бычьим сывороточным альбумином (БСА), человеческим сывороточным альбумином (ЧСА), овальбумином (ОВА).

Описание структуры работы. Данная работа состоит из введения, трех глав (обзор литературы, экспериментальная часть, результаты и обсуждение), заключения, инструктажа по технике безопасности и списка использованных источников. В тексте работы содержатся рисунки, таблицы и графические иллюстрации. Общий объем работы составляет 52 страницы, включая 26 рисунков и одну таблицу. Всего проанализировано 48 литературных источников.

Научная значимость работы:

- проведено сравнение различных подходов к синтезу НКЗ, стабилизированных БСА: синтез при температуре 37⁰С, синтез в автоклаве, температурный синтез при атмосферном давлении;
- получены и охарактеризованы НКЗ, стабилизированные ЧСА и ОВА с использованием оптимального подхода – синтеза при атмосферном давлении;
- исходя из полученных данных, выявлен наиболее подходящий агент для модификации поверхности НКЗ – БСА, выступающий в процессе синтеза в роли восстановителя и стабилизатора;
- изучены два метода очистки НКЗ-БСА: диализ и центробежное концентрирование (ЦК);

- оценена возможность применения НКЗ, стабилизированных БСА в качестве люминесцентного сенсора для определения концентраций противоопухолевого препарата доксорубина (ДОКС) и изучено влияние компонентов крови на люминесценцию НКЗ.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **введении** описана актуальность НК благородных металлов, в том числе НКЗ, определена цель работы и основные задачи исследования.

В **первой главе** описаны особенности НКЗ, механизм люминесценции, различные подходы к их получению, основные модификаторы поверхности. Для синтеза НКЗ часто используются белковые лиганды, наиболее распространенными из них являются БСА, ЧСА и ОВА [14],[15],[16].

Понимание того, как точно настроить оптические свойства, имеет большое значение для улучшения люминесцентной визуализации и других применений НК. Механизм люминесценции НКЗ до конца не изучен. Исследование Дэниела М. Шеврие и его научной группы показало, что НКЗ демонстрируют молекулярноподобные электронные переходы между высшей занятой молекулярной орбиталью (ВЗМО) и низшей свободной молекулярной орбиталью (НСМО). Это происходит вследствие преобразования электронной зонной структуры в дискретные уровни энергии [17].

Получение НКЗ может осуществляться с использованием подходов, называемых соответственно «снизу-вверх» и «сверху-вниз». Первый подход обычно начинается с отдельных атомов, ионов и молекул в жидкой среде, исторически относящийся к технологиям производства «мокрой» химии. Второй – основан на механическом измельчении частиц целевого материала миллиметрового размера. Технологии «снизу-вверх» наиболее широко применяются в исследовательских лабораториях, в то время как технологии «сверху-вниз» могут представлять заметные преимущества для промышленного масштабного производства [18, 19].

Таким образом, по результатам анализа литературы были выбраны методики синтеза НКЗ и определены основные методы исследования свойств получаемых наноструктур.

Во **второй главе** приведена информация об используемых реактивах, приборах и оборудовании, и методиках синтеза. Описано получение НКЗ из тетрахлороаурата (III) водорода и БСА в течение 12 часов при 37⁰С. Спектры поглощения, возбуждения и фотолюминесценции (ФЛ) данных НКЗ представлены на рисунке 1. НКЗ имели характерную полосу поглощения в области 280 нм, обусловленную присутствием в составе БСА остатков триптофана, тирозина и фенилаланина. Максимум ФЛ находится в области 640 нм при возбуждении в диапазоне длин волн 240–440 нм. Интенсивная флуоресценция в красной области возникала при возбуждении длиной волны 240 нм. Квантовый выход (КВ) относительно гематопорфирина составил (6±3) %.

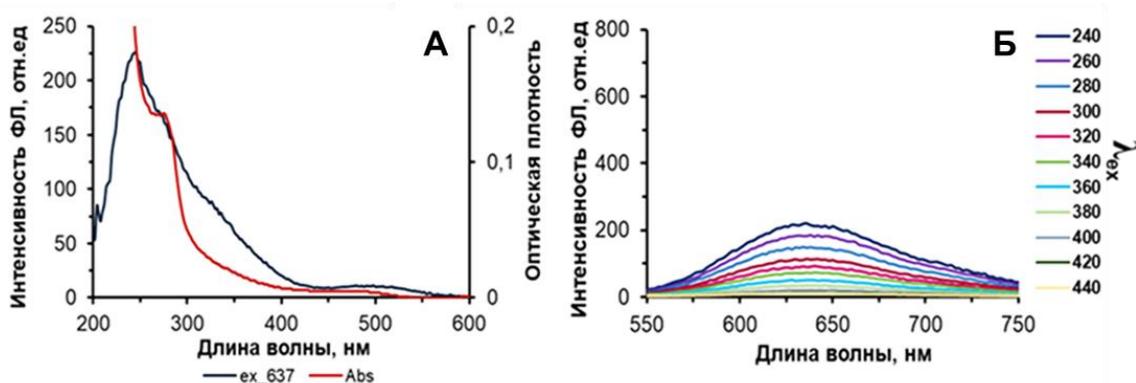


Рисунок 1 – спектры НКЗ-БСА, полученных при температуре 37⁰С: поглощения (красный) и возбуждения (синий) (А), спектр фотолюминесценции НКЗ-БСА (Б)

Для того, чтобы создать изолированную систему для синтеза НКЗ и получать их в более короткий промежуток времени, при этом улучшая оптические свойства, проводили нагревание в автоклаве. На первом этапе определяли оптимальное время синтеза, для этого раствор нагревали в течение 1–3 часов. Полученные с помощью этого подхода НКЗ аналогично

предыдущему подходу имели пик поглощения в области 280 нм, что указывало на сохранение белковой структуры в процессе синтеза. Максимум испускания находился в области 650 нм для НКЗ, полученных нагреванием в течение 1 и 2 часов, и в области 675 нм для НКЗ, полученных нагреванием в течение 3 часов (Рис. 2). КВ образцов составил $9\pm 1\%$, $14\pm 2\%$, $7\pm 2\%$ для времени синтеза 1, 2, 3 часа соответственно. Таким образом, время 2 часа было определено оптимальным и использовалось для последующих синтезов.

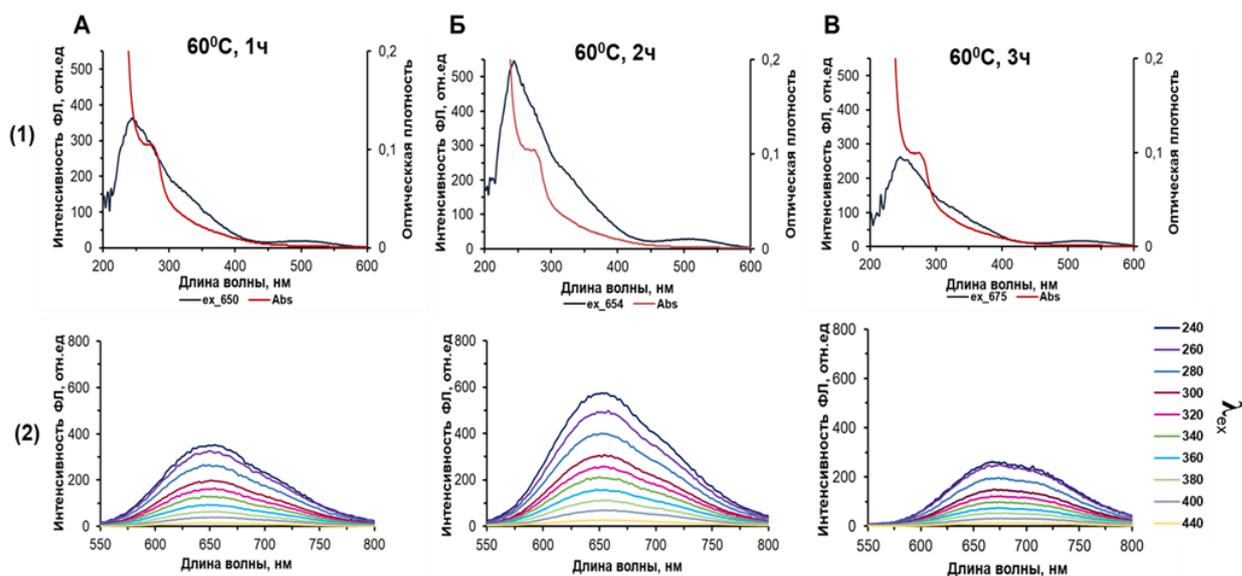


Рисунок 2 – (1) – спектры поглощения (красный) и возбуждения (синий); (2) – спектры люминесценции: НКЗ-БСА 60⁰С, 1ч (А), НКЗ-БСА 60⁰С, 2ч (Б), НКЗ-БСА 60⁰С, 3ч (В)

На втором этапе изучали зависимость оптических свойств НКЗ от температуры синтеза (Рис. 3). Синтез проводили в интервале температур 60-120⁰С в течение 2 часов. Все образцы характеризовались полосой поглощения в области 280 нм. КВ выход с увеличением температуры синтеза снижался и при температуре 120⁰С был равен 0 – не происходило образования НКЗ.

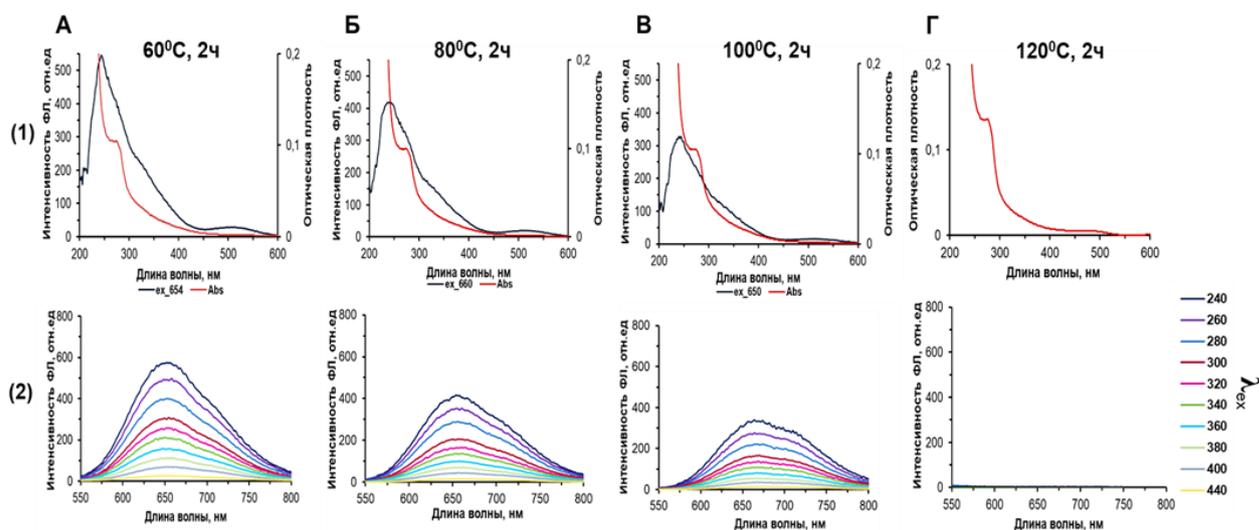


Рисунок 3 – (1) – спектры поглощения (красный) и возбуждения (синий); (2) – спектры люминесценции: НКЗ-БСА 60⁰С, 2ч (А), НКЗ-БСА 80⁰С, 2ч (Б), НКЗ-БСА 100⁰С, 2ч (В), НКЗ-БСА 120⁰С, 2 ч (Г)

Наиболее яркой ФЛ характеризовался образец, полученный при температуре 60⁰С в течение 2 часов. В данных условиях не реализуется избыточное давление насыщенного пара, характерное для синтезов, осуществляемых данным способом, поэтому использование автоклава для синтеза НКЗ не является рациональным.

Температурный синтез при атмосферном давлении в установке Atlas позволяет отслеживать температуру на протяжении всего синтеза с помощью термопары. НКЗ были получены через 5 часов при температуре 60⁰С. КВ относительно гематопорфирина составил 12±2% (Рис. 4 В). Для улучшения оптических свойств варьировали концентрацию БСА. Полоса поглощения находилась в области 280 нм для всех исследованных образцов. В спектрах ФЛ НКЗ были обнаружены два максимума: в области 400 и 630 нм для концентрации БСА 12,5 мг/мл, 350 и 650 нм – 25 мг/мл, 350 и 670 нм – 50 мг/мл. Первый пик соответствует области испускания аминокислот, входящих в состав белка, второй – области испускания НКЗ. НКЗ, полученные при концентрации БСА равной 12,5 мг/мл характеризовались низким значением КВ, что может быть обусловлено недостатком аминокислотных остатков тирозина, необходимых для восстановления золота до атомарного состояния

(Рис. 4 А). Напротив, избыточное количество белка (концентрация БСА – 50 мг/мл) приводило к образованию структур, характеризующихся высокой интенсивностью в области коротких длин волн (350 нм). НКЗ, полученные при концентрации БСА равной 25 мг/мл характеризовались наибольшей интенсивностью ФЛ в области 650 нм, при этом пик белка в области 350 нм был малоинтенсивным (Рис. 4 В). КВ полученных структур составил $19 \pm 1\%$.

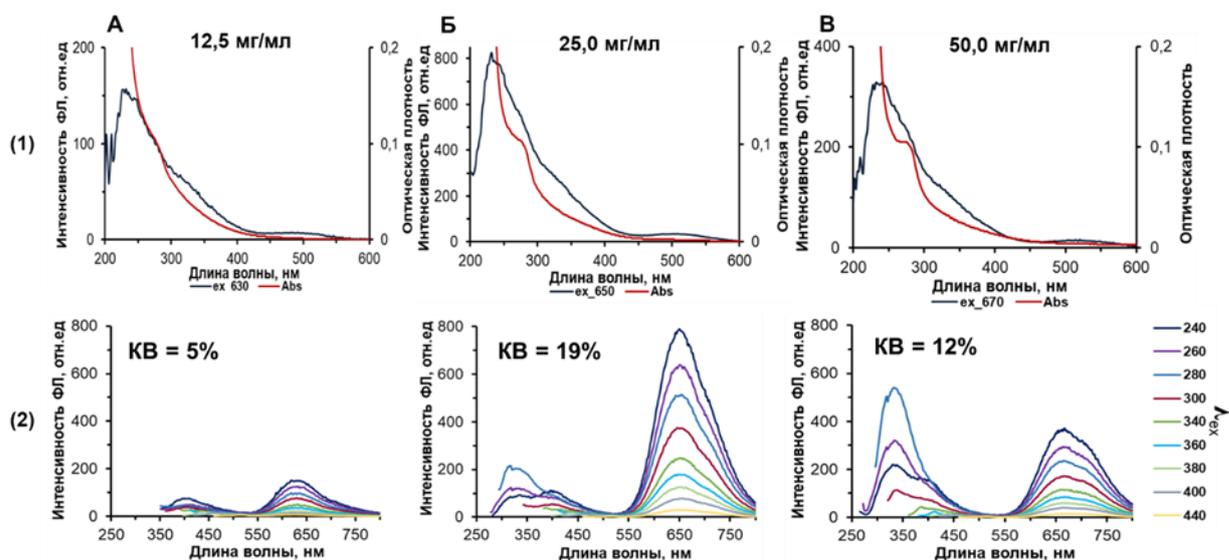


Рисунок 4 – (1) – спектры поглощения (красный) и возбуждения (синий); (2) – спектры люминесценции: НКЗ-БСА 12,5 мг/мл(А), НКЗ-БСА 25,0 мг/мл (Б), НКЗ-БСА 50 мг/мл (В)

Таким образом, образец, полученный с помощью данного подхода, при концентрации БСА – 25 мг/мл характеризовался наилучшим значением КВ. Полученный образец был исследован с использованием геле-электрофоретического метода. На полученной электрофореграмме (Рис. 5 А) видно, что под действием электрического поля данные структуры двигаются к аноду, следовательно, данные НКЗ заряжены отрицательно. НКЗ «двигаются» единым фронтом, это может свидетельствовать об идентичности полученных структур. Средний диаметр НКЗ-БСА составил $2,3 \pm 0,3$ нм (Рис. 5 Б). На ПЭМ-изображениях также видно, что все НКЗ были связаны с БСА (серые области).

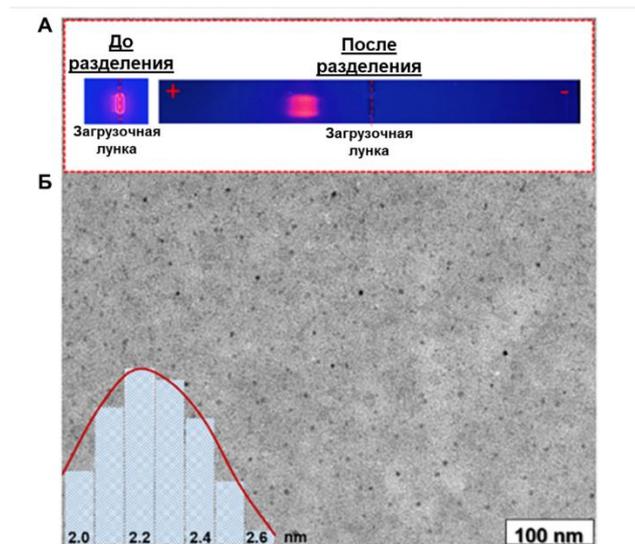


Рисунок 5 – Результат гель-электрофореза в УФ-облучении (А); ПЭМ-изображение полученных НКЗ-БСА (Б)

Исследование различных подходов к синтезу на примере НКЗ-БСА показало, что НКЗ, стабилизированные белком, рационально получать в круглодонной колбе при атмосферном давлении при равномерном нагревании с постоянным перемешиванием. Поэтому НКЗ, стабилизированные ЧСА и ОВА, были получены с использованием этого метода.

Ранее было сказано, что НКЗ, модифицированные белковыми молекулами, формируются за счет аминокислот, входящих в состав белка, а именно благодаря восстановительной способности тирозина и стабилизации за счет остатков цистеина. БСА и ЧСА имеют практически одинаковый аминокислотный состав (в составе каждого из белков содержится по 35 кислотных остатков цистеина, 21 и 18 аминокислотных остатков тирозина для БСА и ЧСА соответственно) [20]. Исходя из этого, для получения НКЗ, модифицированных ЧСА использовали ранее описанные условия (концентрация ЧСА – 25 мг/мл). Полученный образец имел спектральные характеристики идентичные тем, что были получены для НКЗ-БСА: полоса поглощения находилась в области 280 нм, максимум испускания – в области 650 нм (Рис. 6). Однако КВ люминесценции был значительно ниже и составил

5±1%. Это может быть связано с меньшей восстановительной способностью ЧСА из-за меньшего количества остатков тирозина в его составе.

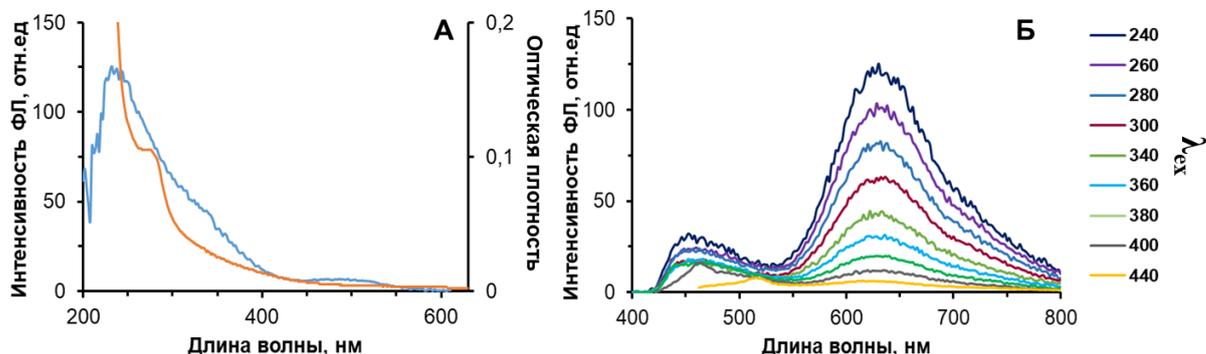


Рисунок 6 – спектры поглощения (оранжевый) и возбуждения (голубой) НКЗ-ЧСА (А); спектр люминесценции НКЗ-ЧСА (Б)

ОВА имеет в своем составе 10 остатков тирозина и 18 остатков цистеина, что примерно вдвое меньше содержания этих аминокислот в молекуле БСА. Положение характеристичных полос поглощения и люминесценции для НКЗ, стабилизированных овальбумином, не изменилось (Рис. 7). Относительный КВ составил менее 1%, что может быть связано со стерической недоступностью нужных аминокислотных остатков для образования НКЗ, вследствие отличного строения овальбумина.

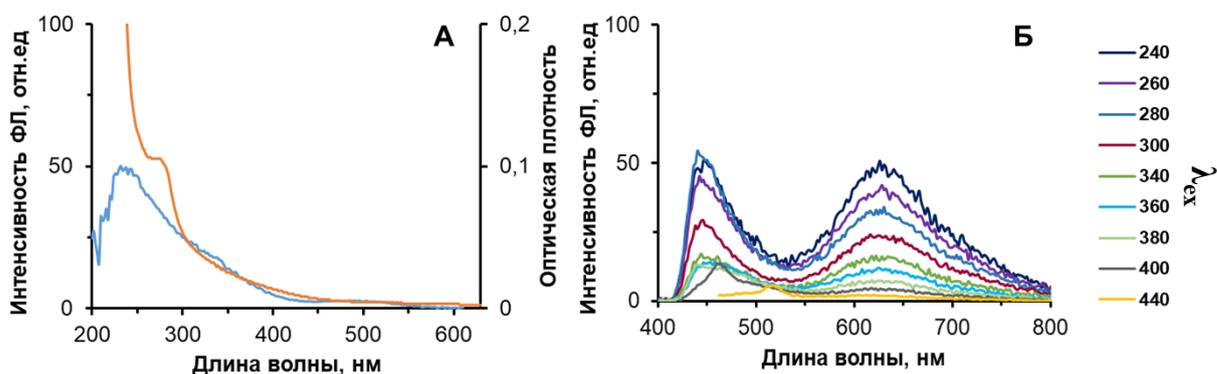


Рисунок 7 – спектры поглощения (оранжевый) и возбуждения (голубой) НКЗ-ОВА (А); спектр люминесценции НКЗ-ОВА (Б)

Таким образом, из данного ряда белков именно БСА, выступающий в роли восстановителя и стабилизатора, позволяет получать НКЗ с наибольшим значением КВ люминесценции.

С целью удаления непрореагировавших компонентов и вследствие улучшения стабильности и оптических свойств НКЗ-БСА в данной работе были исследованы следующие способы очистки: диализ и центробежное концентрирование.

Принцип диализа заключается в разделении молекул в растворе за счет разницы в их скоростях диффузии через полупроницаемую мембрану. В процессе диализа произошла агрегация молекул белка, о чем свидетельствовало образование аморфных структур, которые можно было оценить визуально. Профиль поглощения НКЗ-БСА изменился после диализа, полоса поглощения в области 280 нм стала менее выраженной, КВ резко уменьшился, что свидетельствовало о разрушении кластера (Рис. 8). Таким образом, метод диализа не позволил очистить НКЗ-БСА от непрореагировавших компонентов и не подходит для данной цели.

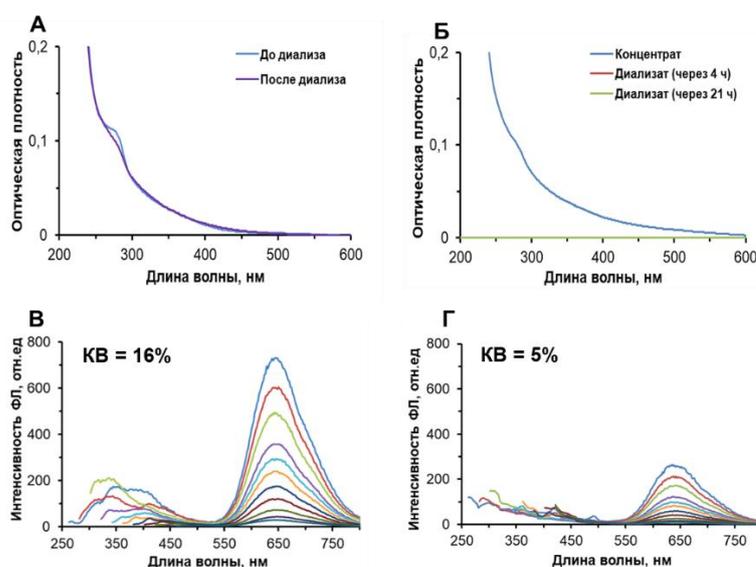


Рисунок 8 – Спектры поглощения до и после диализа (А); спектры поглощения концентрата и диализата (Б); спектры люминесценции до диализа (В) и после диализа (Г)

Центробежное концентрирование реализуется в центрифужном концентраторе в центрифуге. В процессе концентрирования сохранялась белковая структура, на что указывало сохранение полосы поглощения в области 280 нм (Рис. 10 А). Из спектров люминесценции до (Рис. 10 Б) и после

(Рис. 10 В) концентрирования видно, что максимум интенсивности не смещался и находился в области 650 нм. Произошла очистка НКЗ-БСА от малоинтенсивных структур с большим содержанием белка (область 400 нм) (Рис. 10 Г), что вероятно привело к стабилизации структуры кластера и увеличению КВ на 1%.

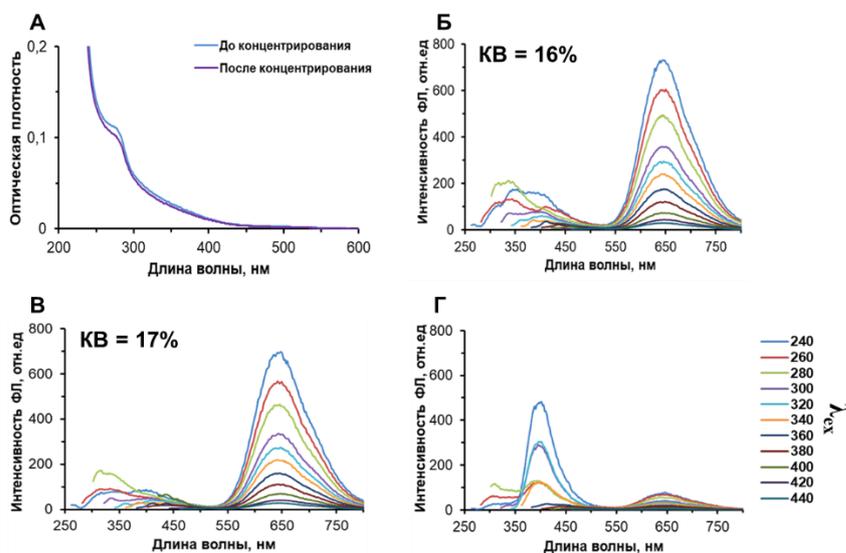


Рисунок 10 – Спектры поглощения до и после концентрирования (А); спектры люминесценции до концентрирования (В), после концентрирования: концентрат (В) и жидкость, прошедшая через концентратор (Г)

Оценили возможность применения люминесцентных НКЗ, стабилизированных БСА, в качестве люминесцентного сенсора для определения концентраций противоопухолевого препарата ДОКС. Количественное определение лекарственного средства осуществляли за счет зависящего уменьшения интенсивности фотолюминесценции НКЗ после взаимодействия. Увеличение концентрации ДОКС приводило к постепенному снижению интенсивности излучения НКЗ-БСА, при этом форма спектра и длина волны максимума излучения оставались неизменными, что указывало на то, что структура НКЗ-БСА не меняется (Рис. 11).

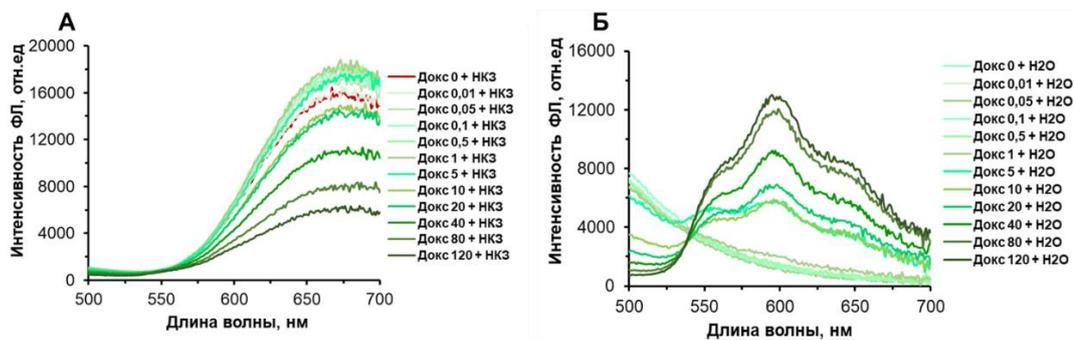


Рисунок 11 – Тушение НКЗ-БСА различными концентрациями ДОКС (концентрация в мкМ) (А); спектры люминесценции различных концентраций ДОКС (концентрация в мкМ) в отсутствие НКЗ-БСА

На основании полученных данных были построены профили тушения фотолюминесценции. Максимальная концентрация ДОКС приводит к тушению люминесценции НКЗ-БСА на приблизительно 65%. Дальнейшее увеличение концентрации ДОКС не приводит к большему уменьшению люминесцентного сигнала, что вероятно связано со стерическими трудностями. В исследованном диапазоне концентраций ДОКС график Штерна-Волмера является линейным (Рис. 12 Б). Рассчитанное значение K_{SV} составляет $1,3 \cdot 10^{-4}$ М. Величина K_{SV} для взаимодействия НКЗ, стабилизированных БСА, с ДОКС коррелирует с литературными данными K_{SV} для БСА в присутствии ДОКС [20].

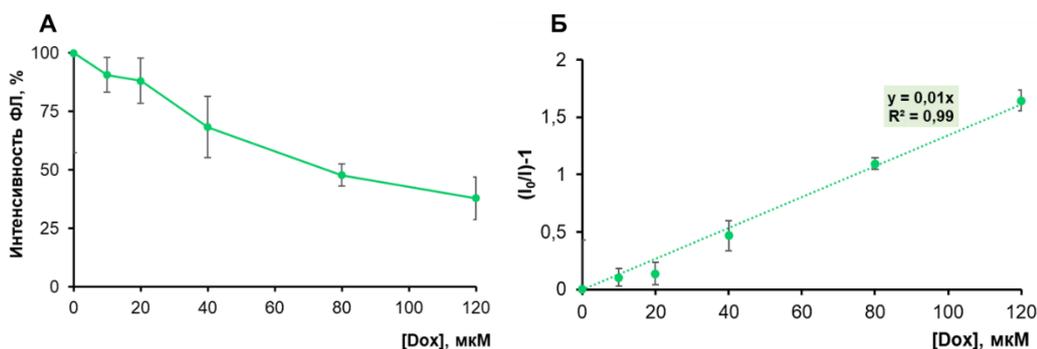


Рисунок 12 – Профиль тушения НКЗ-БСА (А); график Штерна-Фольмера для тушения НКЗ-БСА (Б)

Для определения констант связывания противоопухолевого препарата ДОКС с поверхностью исследуемых НКЗ-БСА был построен график в

логарифмических координатах (Рис. 13). Наклон полученного графика равный 1,68 представляет собой число эквивалентных сайтов связывания. Константа связывания НКЗ-БСА с ДОКС составляет $6,5 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}$, что соответствует данным о константах связывания ДОКС с альбуминами [20].

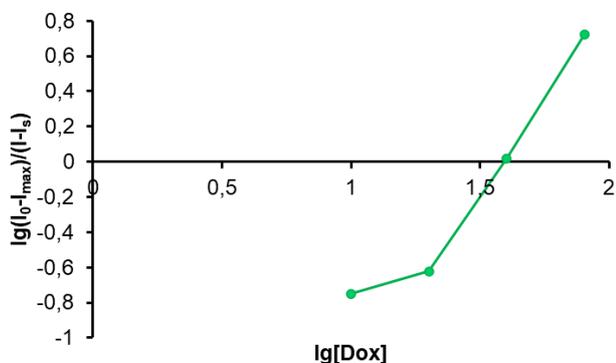


Рисунок 13 – График в логарифмических координатах для определения констант связывания ДОКС с поверхностью исследуемых НКЗ-БСА

Так как использование наносенсора для детектирования ДОКС предполагает работу с биологическими жидкостями человека, мы исследовали влияние молекул, присутствующих в крови в аналогичных условиях реакции. Исследование проводилось со следующими ионами и молекулами: Ca^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , K^+ , Na^+ , Mg^{2+} , глутатион, глюкоза, аскорбиновая кислота, фолиевая кислота, ДОКС в концентрации 10 мкМ. Как показано на рисунке 14, мы наблюдали, что только ДОКС вызывал значительное тушение фотолюминесценции НКЗ-БСА. Таким образом, другие молекулы не мешают определению ДОКС в крови.

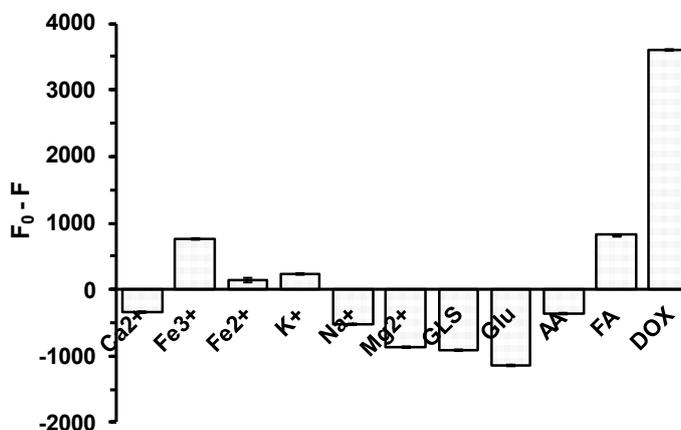


Рисунок 14 – Зависимость интенсивности люминесценции НКЗ-БСА от иона или молекулы тушителя

Таким образом, НКЗ, стабилизированные БСА, демонстрируют возможность применения для определения ДОКС в диапазоне концентраций от 10 до 120 мкМ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Проведено сравнение различных подходов к синтезу НКЗ, стабилизированных БСА: синтез при температуре 37⁰С, синтез в автоклаве, температурный синтез при атмосферном давлении. Выявлен оптимальный метод – температурный синтез при атмосферном давлении (60⁰С, 5 ч). Полученные НКЗ-БСА имеют характерный пик поглощения в области 280 нм и максимум ФЛ в области 640–670 нм в зависимости от способа получения. КВ для НКЗ-БСА, полученных синтезом при атмосферном давлении, составил 19±1 %. Методами гель-электрофореза и ТЭМ изучили морфологические свойства НКЗ. Показано, что люминесцентный продукт представляет собой идентичные структуры с отрицательным зарядом, размер которых составил ~2 нм.
2. Получены НКЗ, стабилизированные ЧСА и ОВА с использованием синтеза при атмосферном давлении. Положение характеристичных полос поглощения и люминесценции для НКЗ, стабилизированных БСА, ЧСА и ОВА совпадает. При использовании ЧСА и ОВА КВ сильно уменьшился и составил 5±1 % и <1 % соответственно.
3. Исходя из полученных данных, выявлен наиболее подходящий агент для модификации поверхности НКЗ – БСА, выступающий в процессе синтеза в роли восстановителя и стабилизатора.
4. Изучены различные методы очистки НКЗ-БСА и выявлен оптимальный – метод центробежного концентрирования, позволяющий провести очистку НКЗ без ухудшения значения КВ люминесценции.
5. Изучена возможность применения полученных НКЗ-БСА для обнаружения цитостатического препарата доксорубицина.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Raut S. et al. Evidence of energy transfer from tryptophan to BSA/HSA protected gold nanoclusters // **Methods Appl. Fluoresc.** – 2014. – Т. 2. – №. 3. – С. 035004.
2. Le Guével X., Daum N., Schneider M. Synthesis and characterization of human transferrin-stabilized gold nanoclusters // **Nanotechnology.** – 2011. – Т. 22. – №. 27. – С. 275103.
3. Mohanty J. S. et al. Luminescent, bimetallic AuAg alloy quantum clusters in protein templates // **Nanoscale.** – 2012. – Т. 4. – №. 14. – С. 4255-4262.
4. Xie J., Zheng Y., Ying J. Y. Protein-directed synthesis of highly fluorescent gold nanoclusters // **J. Am. Chem. Soc.** – 2009. – Т. 131. – №. 3. – С. 888-889.
5. Zhou T. et al. Facile synthesis of red-emitting lysozyme-stabilized Ag nanoclusters // **Nanoscale.** – 2012. – Т. 4. – №. 17. – С. 5312-5315.
6. Wen F. et al. Horseradish peroxidase functionalized fluorescent gold nanoclusters for hydrogen peroxide sensing // **Anal. Chem.** – 2011. – Т. 83. – №. 4. – С. 1193-1196.
7. Liu S., Lu F., Zhu J. J. Highly fluorescent Ag nanoclusters: microwave-assisted green synthesis and Cr³⁺ sensing // **Anal. Commun.** – 2011. – Т. 47. – №. 9. – С. 2661-2663.
8. Liu H. et al. Rapid sonochemical synthesis of highly luminescent non-toxic AuNCs and Au@AgNCs and Cu (II) sensing // **Anal. Commun.** – 2011. – Т. 47. – №. 14. – С. 4237-4239.
9. Biji P., Patnaik A. Interfacial Janus gold nanoclusters as excellent phase-and orientation-specific dopamine sensors // **Analyst.** – 2012. – Т. 137. – №. 20. – С. 4795-4801.
10. Jin L. et al. Biomolecule-stabilized Au nanoclusters as a fluorescence probe for sensitive detection of glucose // **Biosens. Bioelectron.** – 2011. – Т. 26. – №. 5. – С. 1965-1969.
11. Wang X. et al. An ascorbic acid sensor based on protein-modified Au nanoclusters // **Analyst.** – 2013. – Т. 138. – №. 1. – С. 229-233.

12. Chen X., Baker G. A. Cholesterol determination using protein-templated fluorescent gold nanocluster probes //Analyst. – 2013. – T. 138. – №. 24. – C. 7299-7302.
13. Huang K. Y. et al. Gold nanocluster-based fluorescence turn-off probe for sensing of doxorubicin by photoinduced electron transfer //Sensors and Actuators B: Chemical. – 2019. – T. 296. – C. 126656.
14. Hemmateenejad B., Shakerizadeh-shirazi F., Samari F. BSA-modified gold nanoclusters for sensing of folic acid //Sensors and Actuators B: Chemical. – 2014. – T. 199. – C. 42-46.
15. Russell B. A. et al. Human serum albumin encapsulated gold nanoclusters: effects of cluster synthesis on natural protein characteristics //Journal of materials chemistry B. – 2016. – T. 4. – №. 42. – C. 6876-6882.
16. Shi H. et al. Synthesis of ovalbumin-stabilized highly fluorescent gold nanoclusters and their application as an Hg²⁺ sensor //RSC Adv. – 2015. – T. 5. – №. 105. – C. 86740-86745.
17. Chevrier D. M., Chatt A., Zhang P. Properties and applications of protein-stabilized fluorescent gold nanoclusters: short review //Journal of Nanophotonics. – 2012. – T. 6. – №. 1. – C. 064504-064504.
18. He Z. et al. Strategies of luminescent gold nanoclusters for chemo-/bio-sensing //Molecules. – 2019. – T. 24. – №. 17. – C. 3045.
19. Cui H. et al. Development of gold nanoclusters: from preparation to applications in the field of biomedicine //J. Mater. Chem. – 2020. – T. 8. – №. 41. – C. 14312-14333.
20. Agudelo D. et al. Probing the binding sites of antibiotic drugs doxorubicin and N-(trifluoroacetyl) doxorubicin with human and bovine serum albumins. – 2012.

