

ИССЛЕДОВАНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ, БИОРАСПРЕДЕЛЕНИЯ И БИОЭЛИМИНАЦИИ НАНОЧАСТИЦ ОРГАНОМОДИФИЦИРОВАННОГО КРЕМНЕЗЕМА С РАЗЛИЧНЫМИ РАЗМЕРАМИ ГЛОБУЛ

Д.В. Королёв^{1,2}, В.Н. Постнов^{1,3}, Е.Б. Наумышева^{1,3}, И.С. Усков¹, Д.Л. Сонин^{1,2}, М.М. Галагудза^{1,2}

¹ ФГБУ «Федеральный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова»

Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

² ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет

имени акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

³ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

Королёв Дмитрий Владимирович — кандидат технических наук, доцент, заведующий НИЛ нанотехнологий Института экспериментальной медицины ФГБУ «Федеральный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» (ФМИЦ им. В.А. Алмазова) Минздрава России, младший научный сотрудник Лаборатории биофизики кровообращения Института сердечно-сосудистых заболеваний ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» (ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова) Минздрава России; *Постнов Виктор Николаевич* — кандидат химических наук, доцент, старший научный сотрудник НИЛ нанотехнологий Института экспериментальной медицины ФМИЦ им. В.А. Алмазова, доцент кафедры химии твердого тела Химического факультета СПбГУ; *Наумышева Елена Борисовна* — кандидат химических наук, младший научный сотрудник НИЛ нанотехнологий Института экспериментальной медицины ФМИЦ им. В.А. Алмазова, *Усков Иван Сергеевич* — аспирант ФМИЦ им. В.А. Алмазова, *Сонин Дмитрий Леонидович* — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник НИЛ метаболизма миокарда Института экспериментальной медицины ФМИЦ им. В.А. Алмазова, ассистент кафедры патофизиологии ГБОУ ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, *Галагудза Михаил Михайлович* — доктор медицинских наук, директор Института экспериментальной медицины ФМИЦ им. В.А. Алмазова, профессор кафедры патофизиологии ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова.

Контактная информация: ФГБУ «Федеральный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России, ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург, Россия, 197341. Тел.: +7(812)702–37–00. E-mail: galagoudza@mail.ru (Галагудза Михаил Михайлович)

Резюме

Наночастицы органоимодифицированного кремнезема (НЧОМК) представляют собой перспективный носитель для направленной доставки лекарственных препаратов и генетических конструкций. В настоящей работе описывается схема синтеза НЧОМК различного размера (3 и 150 нм), а также приводятся данные об отсутствии острой токсичности НЧОМК при внутривенном введении животным. Исследование биораспределения и биоэлиминации НЧОМК показало, что данные носители не накапливаются в органах ретикуло-эндотелиальной системы и быстро выводятся из организма через почки.

Ключевые слова: наночастицы органоимодифицированного кремнезема, полиорганосилоксан, острая токсичность, биораспределение, биodeградация, направленная доставка лекарственных препаратов.

ACUTE TOXICITY, BIODISTRIBUTION, AND BIOELIMINATION OF ORGANOMODIFIED SILICA NANOPARTICLES WITH DIFFERENT GLOBULE SIZES

D.V. Korolev^{1,2}, V.N. Postnov^{1,3}, E.B. Naumysheva^{1,3}, I.S. Uskov¹, D.L. Sonin^{1,2}, M.M. Galagudza^{1,2}

¹ Federal Almazov Medical Research Centre, Saint-Petersburg, Russia

² First Pavlov State Medical University of St. Petersburg, Saint-Petersburg, Russia

³ Saint-Petersburg State University, Chemical Faculty, Saint-Petersburg, Russia

Corresponding author: Federal Almazov Medical Research Centre, 2 Akkuratova st., St. Petersburg, Russia, 197341. Tel.: +7(812)702–37–00. E-mail: galagoudza@mail.ru (Michail M. Galagudza — MD, Director of Research Institute of experimental medicine, Federal Almazov Medical Research Centre).

Abstract

Organommodified silica (ORMOSIL) nanoparticles (NPs) are considered as promising nanocarriers for targeted drug and gene delivery. In the present study, we describe the process of synthesis of ORMOSIL NPs of different size (3 and 150 nm). The data showing the lack of systemic toxicity of ORMOSIL NPs after their intravenous administration are also presented. Investigation of ORMOSIL NP biodistribution and bioelimination demonstrated that these nanocarriers are not accumulated in the reticulo-endothelial system organs and are rapidly excreted from the organism through the kidney.

Key words: organommodified silica nanoparticles, polyorganosiloxane, acute toxicity, biodistribution, biodegradation, targeted drug delivery.

Статья поступила в редакцию 19.05.14 и принята к печати 30.05.14.

Введение

Наноразмерные частицы (НЧ) различной химической природы широко используются при разработке новых методов диагностики и терапии социально значимых заболеваний. Одним из наиболее важных аспектов применения НЧ в медицине является их использование в качестве носителей для направленной доставки лекарственных препаратов (ЛП) в поврежденную ткань, в частности, при опухолях, воспалении и ишемии [1]. Направленная доставка позволяет усилить терапевтический эффект ЛП и минимизировать его побочное действие, а также обеспечить повышение стабильности ЛП [2]. Идеальный наноразмерный носитель ЛП должен обладать следующими свойствами: быть полностью биodeградируемым, иметь минимальную токсичность, связывать достаточное количество ЛП, обеспечивать предсказуемую кинетику высвобождения ЛП после накопления комплекса «НЧ-ЛП» в поврежденной ткани. Концепция направленной доставки ЛП с помощью таких органических НЧ, как липосомы и мицеллы, уже успешно используется в лечении онкологических заболеваний [3]. Значительно менее изучена возможность направленной доставки кардиопротективных препаратов в миокард при ишемии-реперфузии. На сегодняшний день имеются единичные исследования, показывающие принципиальную возможность уменьшения последствий ишемического повреждения миокарда путем таргетной доставки аденозина, заключенного в липосомы [4] или адсорбированного на поверхности НЧ кремнезема [5]. Однако, как было нами ранее показано, при отсутствии острой токсичности НЧ кремнезема уже после однократного внутривенного введения накапливаются в органах ретикуло-эндотелиальной системы и вызывают формирование в печени и селезенке множествен-

ных гранул инородных тел [6]. Хотя в некоторых исследованиях была продемонстрирована полная биodeградация НЧ кремнезема [7], большинство работ подтверждают полученные нами данные [8, 9]. В связи с этим, особый интерес представляют органические кремнеземные материалы, которые должны обладать повышенной способностью к биodeградации. Следует отметить, что вопрос о биораспределении и выведении из организма НЧ органо-модифицированного кремнезема (НЧОМК) практически не изучен.

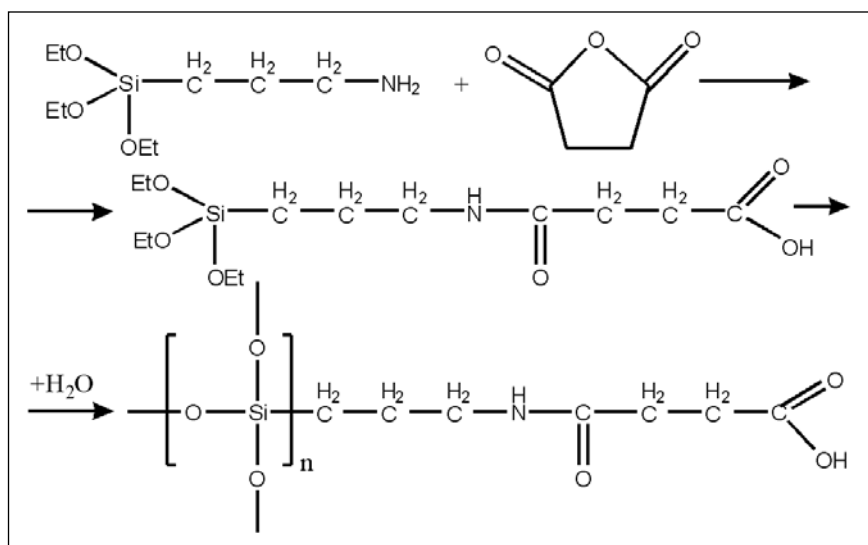
Целью настоящей работы являлось описание физико-химических свойств НЧОМК различного размера, а также исследование их острой токсичности, биораспределения и биоэлиминации для оценки возможности применения данного материала в качестве носителя ЛП.

Материалы и методы

Синтез наночастиц органо-кремнезема. Реакцию проводили в ацетоне (10 мл), предварительно растворяя в нем двукратный избыток янтарного ангидрида, затем добавляя 1 мл 3-аминопропилтриэтоксисилана, на перемешивающем устройстве LOIP LS 110 в течение 1 часа. Затем добавляли 0,5 мл воды для гидролиза непрореагировавших этоксигрупп. Через полчаса выпаривали весь ацетон и заливали 10 мл воды. Для удаления избытка янтарного ангидрида препарат очищали на колонке с сильноосновным анионитом АВ-18 в гравитационном режиме. В результате получали трехмерно-сшитый полимер органо-кремнезема. Схема синтеза показана на Рис. 1.

Для получения более крупных НЧОМК синтезированный гель высушивается до сухого остатка при повышенной температуре. При этом идет конденсация с образованием более длинных цепочек

Рисунок 1. Схема синтеза органокремнезема



и, следовательно, НЧ больших размеров. Размер зависит от величины температуры. Использованный в работе наноматериал был получен при температуре сушки (конденсации) 70°C . Высушенный остаток диспергировался при помощи ультразвукового диспергатора УЗД-2 до образования насыщенного раствора. Остаток нерастворенного наноматериала удаляли центрифугированием. Содержание карбоксильных групп в данном носителе, определенное методом титрования, составило $3,01$ ммоль/г.

Оценка физико-химических свойств НЧОМК. Определение размера НЧ в приготовленных суспензиях осуществлялось на приборе «Zetasizer Nano» (Malvern Instruments, Великобритания) методом динамического рассеяния света (динамическое светорассеяние, фотонная корреляционная спектроскопия) с использованием технологии NIBS (неинвазивного обратного рассеяния).

Оценка острой токсичности НЧОМК. Эксперименты выполнялись на крысах-самцах стока Wistar массой $250\text{--}300$ г. В качестве наркоза использовался хлоралгидрат в дозировке 480 мг/кг. В ходе эксперимента осуществлялось внутривенное введение НЧОМК двух диаметров в физиологическом растворе в концентрации 16 мг/мл ($n = 5$ для каждого диаметра НЧОМК), что соответствовало концентрации исследованного ранее раствора Аэросила А-380 с концентрацией 2 мг/мл [10, 11]. Инфузию проводили в количестве 1 мл в течение 10 мин. Гемодинамический ответ на введение НЧ в процессе эксперимента оценивался по следующим показателям: частота сердечных сокращений (ЧСС, уд/мин) и среднее артериальное давление (САД, мм рт. ст.) в исходном состоянии, через 5 и 10 мин. после начала инфузии, а также через 5 мин. после окончания инфузии.

Биораспределение и биоэлиминация НЧОМК.

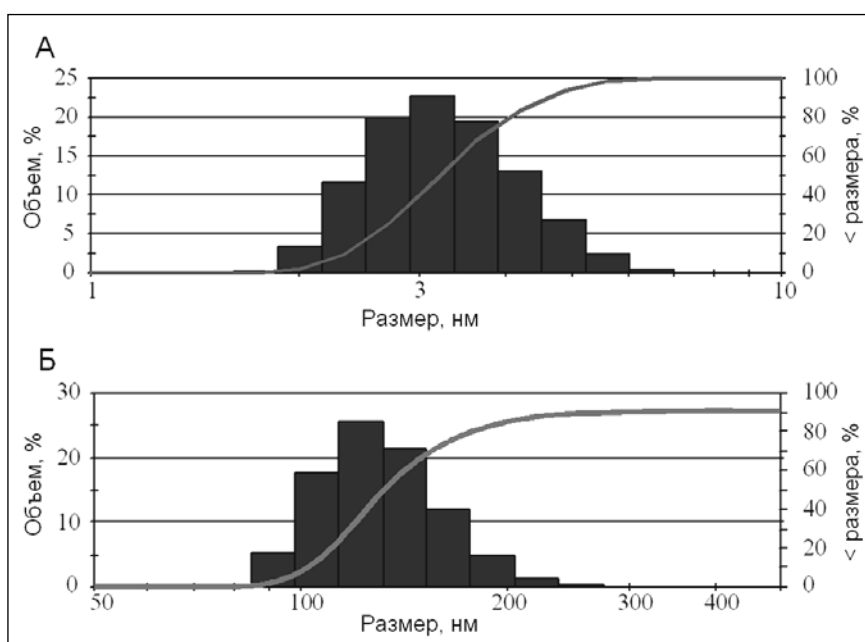
Для оценки биораспределения и динамики биоэлиминации НЧОМК проводилось внутривенное введение суспензии НЧ в физиологическом растворе в концентрации 16 мг/мл. Эксперименты выполнялись на крысах-самцах стока Wistar массой $250\text{--}300$ г, наркотизированных хлоралгидратом в дозировке 480 мг/кг. Инфузия НЧ проводилась в объеме 1 мл в течение 10 мин. в хвостовую вену. После завершения инфузии по 5 животных выводилось из эксперимента в следующих семи точках: 10 мин., 1 , 3 , 24 часа, 2 , 3 и 7 суток. После эвтаназии проводился забор следующих органов: печень, сердце, почка, селезенка, головной мозг, легкое. Также была исследована контрольная группа животных ($n = 5$) для определения фонового содержания кремния в тканях. Забранные образцы тканей доводились до постоянной массы в сухожаровом шкафу при температуре 90°C в течение 24 часов, затем измельчались до порошкообразного состояния и растворялись в серной кислоте. Анализ полученного сернокислого раствора на содержание кремния проводился атомно-эмиссионным методом с индуктивно связанной плазмой (АЭСИСП) по стандартной методике. Статистическую обработку результатов проводили с помощью критерия Манна-Уитни (программный пакет STATISTICA).

Результаты

Распределение НЧОМК по диаметру. Диаметр НЧОМК, полученных из исходного полиорганосилоксана, составил в среднем 3 нм, тогда как НЧОМК, полученные после поликонденсации, были значительно крупнее и имели средний диаметр 150 нм. Гистограммы распределения НЧОМК по диаметру представлены на Рис. 2.

Рисунок 2. Распределение нанообъектов по размерам.

А — исходный полиорганосилоксан, Б — полиорганосилоксан, полученный после конденсации



Острая токсичность НЧОМК. Внутривенное введение НЧОМК в дозе 64 мг/кг не вызывало гибели животных и каких-либо видимых изменений их состояния. При анализе гемодинамических параметров было обнаружено отсутствие их статистически значимых изменений как в ходе инфузии, так и после ее завершения (Табл. 1), что свидетельствует об отсутствии острой токсичности НЧОМК в данной дозе.

Биораспределение и биоэлиминация НЧОМК. Данные о фоновом содержании кремния в различных органах представлены на Рис. 3. Обращает на себя внимание тот факт, что, несмотря на в целом низкие значения, в физиологических условиях содержание кремния в почке, сердце и головном мозге в 2–3 раза выше, чем в печени, селезенке и легком. Данные по динамике изменения содержания

кремния в различных органах в разные сроки после инфузии НЧОМК с диаметром 3 нм показаны на Рис. 4. Обращает на себя внимание существенный прирост содержания кремния в почке через 10 и 60 минут после инфузии. Содержание кремния в других органах не отличалось от контроля на протяжении всего эксперимента. Сходная картина была отмечена после инфузии НЧОМК с диаметром 150 нм, однако пик прироста концентрации кремния в данном случае наступил через 24 ч после введения (рис. 5).

Обсуждение

Методы синтеза полиорганосилоксанов достаточно хорошо известны. Roy et al. (2012) [12] описана схема синтеза НЧОМК путем щелочной конденсации-полимеризации органосила-

Таблица 1

ВЛИЯНИЕ ИНФУЗИИ НАНОЧАСТИЦ ОРГАНОМОДИФИЦИРОВАННОГО КРЕМНЕЗЕМА НА СРЕДНЕЕ АРТЕРИАЛЬНОЕ ДАВЛЕНИЕ И ЧАСТОТУ СЕРДЕЧНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

	НЧОМК 3 нм	НЧОМК 150 нм
Среднее артериальное давление, мм рт. ст.		
До инфузии	115 ± 12	121 ± 15
5 мин. инфузии	118 ± 14	116 ± 17
10 мин. инфузии	105 ± 13	108 ± 15
5 мин. после инфузии	117 ± 14	105 ± 11
Частота сердечных сокращений, уд/мин		
До инфузии	416 ± 25	421 ± 25
5 мин. инфузии	410 ± 31	406 ± 28
10 мин. инфузии	405 ± 33	412 ± 34
5 мин. после инфузии	396 ± 19	398 ± 29

Рисунок 3. Фоновое распределение кремния в организме лабораторных животных

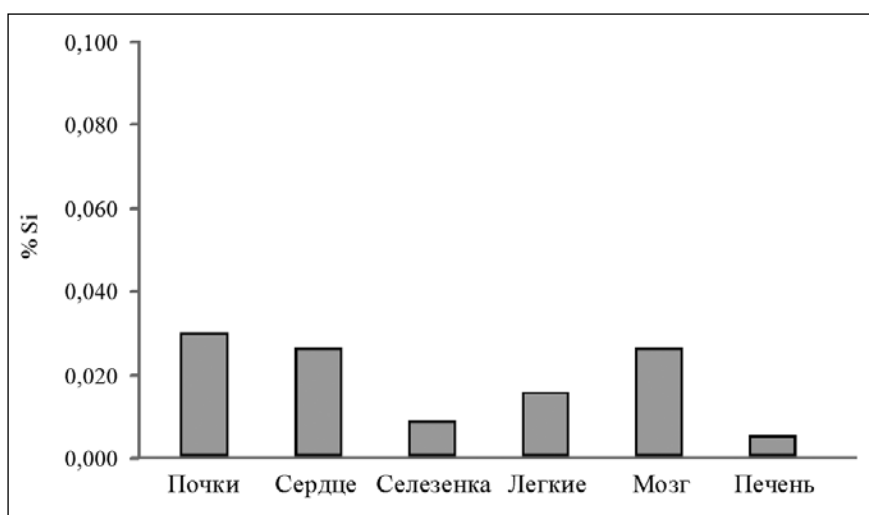


Рисунок 4. Содержание кремния после внутривенного введения наночастиц полиорганосилоксана размером 3 нм

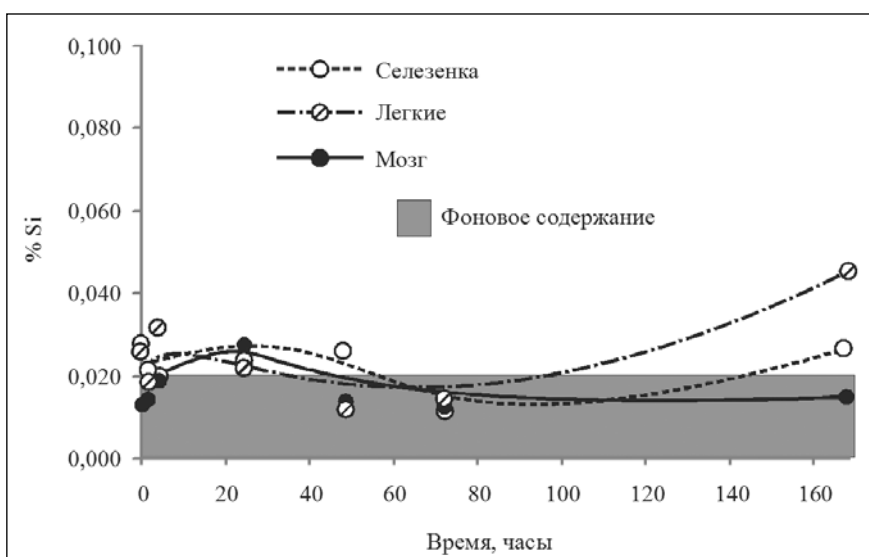
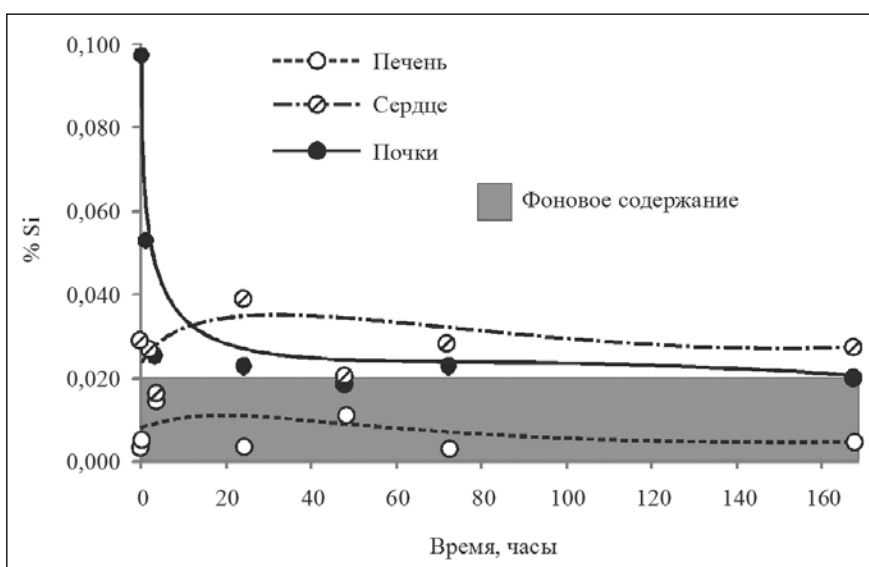
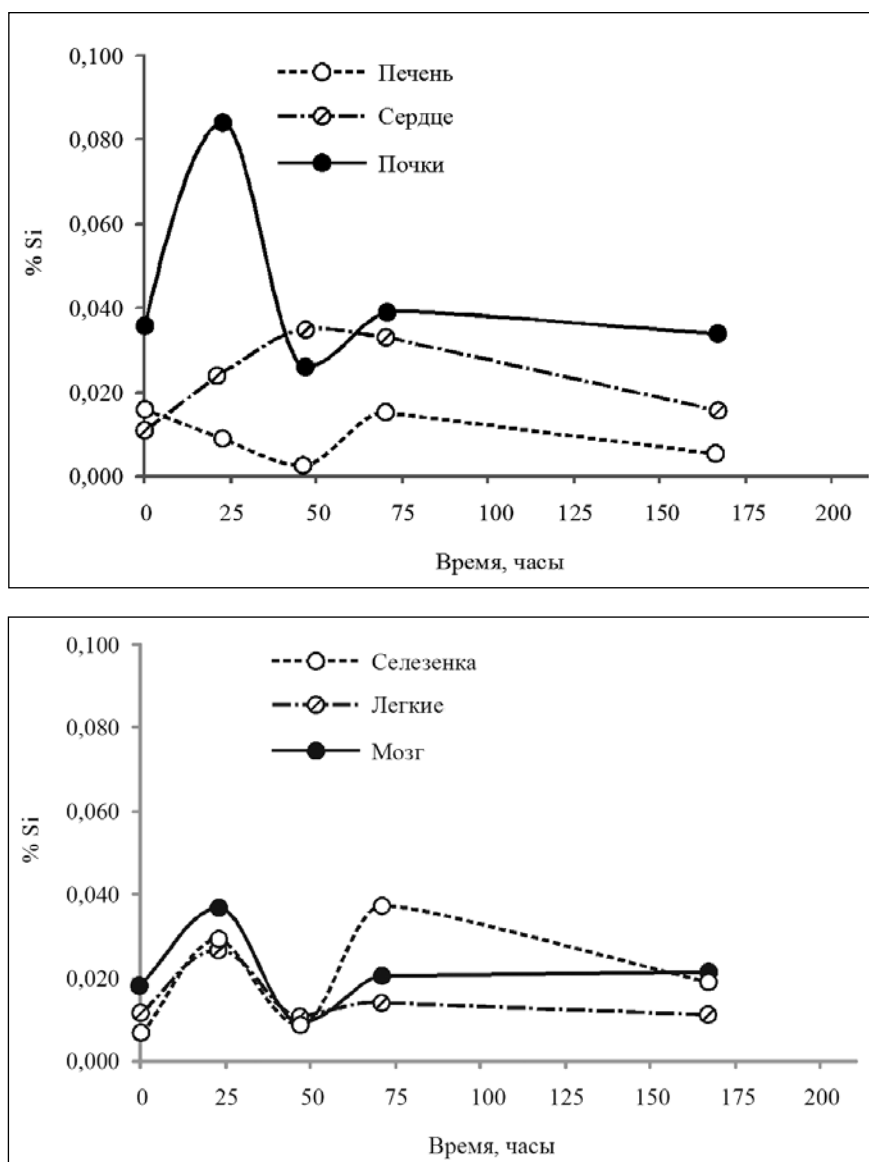


Рисунок 5. Содержание кремния после внутривенного введения наночастиц полиорганосилоксана размером 150 нм



нов. На первом этапе готовится микроэмульсия диоктилсульфосукцинат/1-бутанол/вода, после чего в зависимости от необходимого состава НЧОМК в микроэмульсию добавляются либо действующие вещества, либо N,N-диметилформамид. Затем последовательно производится добавление органосиланов — триэтоксивинилсилана и 3-аминопропилтриэтоксисилана. На заключительном этапе для очистки НЧОМК от избытка поверхностно активных веществ раствор подвергают диализу. В отечественной литературе представлены результаты изучения реакции переэтерификации и ацилирования 3-аминопропилтриэтоксисилана и 2-(аминоэтил)-3-(триметоксисилил) пропиламина [13]. Показана возможность получения линейных и гетероциклических кремнийсодержащих продуктов независимо от числа атомов азота в молекуле.

В другой работе были синтезированы гибридные органо-неорганические субмикро- и наночастицы, содержащие протоноакцепторные и протонодонорные группы [14]. На примере фенилмочевинного производного силикатных частиц изучены различные подходы к формированию гибридных органосиликатных частиц. Примененная в настоящем исследовании схема синтеза НЧОМК показала хороший результат с возможностью регулировать диаметр получаемых НЧОМК за счет температуры, при которой происходит конденсация.

Исследованию биodeградации НЧОМК посвящено всего одно исследование, в котором НЧОМК диаметром 20–25 нм с флуоресцентной и радиоактивной меткой вводили атимическим безволосым мышам [15]. Через 24–120 ч после инфузии было показано преимущественное накопление НЧОМК

в печени, селезенке и желудке и существенно меньшая степень накопления в почке, сердце и легком. В течение 15 дней наблюдалась практически полная элиминация НЧОМК за счет гепатобилиарной экскреции с отсутствием гистологических проявлений органотоксичности. Результаты нашего исследования позволяют предположить, что НЧОМК с диаметром 3 и 150 нм выводятся из организма с мочой, поскольку уровень кремния в почке в первые часы после введения НЧОМК существенно превышал фоновое значение. Исходя из теоретических предположений, НЧОМК с диаметром 3 нм могут беспрепятственно проходить через почечный фильтр.

В последние годы в литературе активно обсуждаются перспективы применения НЧОМК в медицине. Наибольшее число исследований посвящено разработке методов фотодинамической терапии опухолей с использованием НЧОМК, содержащих фотосенсибилизаторы [16–19]. Не менее важной областью применения НЧОМК является адресная доставка в клетку генетических конструкций [20]. Трансфекция клеток-мишеней генами может применяться и для моделирования патологии центральной нервной системы в эксперименте. В частности, НЧОМК использовались в качестве вектора для доставки плазмид, кодирующих полиглутамины, в головной мозг мышей, с целью моделирования болезни Хантингтона [21]. С другой стороны, высокая тропность НЧОМК к нейронам и отсутствие значимых изменений функции последних после проникновения НЧОМК в тело нейрона [22] дает основания надеяться на использование НЧОМК для терапии нейродегенеративных заболеваний [23]. НЧОМК могут применяться не только для доставки препаратов и генов в измененные ткани, и для визуализации поврежденных клеток. В работе Kumar et al. (2008) осуществляли конъюгирование НЧОМК, содержащих родамин В, с трансферрином и моноклональными антителами анти-клаудин 4 и анти-мезотелином для обеспечения направленной доставки НЧОМК к клеткам рака поджелудочной железы, что открывает перспективу оптической визуализации опухолей [24]. Двухфотонная и околоинфракрасная визуализация с помощью НЧ являются важными направлениями в биофотонике. НЧОМК, связанные с протопорфирином IX или околоинфракрасным флуорофором IR-820, применяли для визуализации структур головного мозга мыши [25]. Недавно были синтезированы многофункциональные НЧОМК диаметром 150 нм, содержащие НЧ магнетита, которые обладают и оптическими, и суперпарамагнитными свойствами [26].

Таким образом, в данной работе описана оригинальная методика синтеза НЧОМК разного диаметра

и показано отсутствие острой токсичности данных наноразмерных носителей. НЧОМК с диаметром 3 нм подвергаются быстрой элиминации из организма за счет почечной экскреции в течение первого часа после инфузии. Более крупные НЧОМК (150 нм), вероятно, также выводятся из организма за счет фильтрации в почке, однако данный процесс занимает больше времени и, по-видимому, связан с расщеплением НЧОМК в кровотоке на более мелкие фрагменты. НЧОМК с диаметром 150 нм не накапливаются в органах ретикуло-эндотелиальной системы, что требует дальнейшего изучения.

Работа выполнена на базе оборудования Ресурсного центра Санкт-Петербургского государственного университета «Инновационные технологии композитных наноматериалов». Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 14–15–00473).

Литература

1. Галагудза М.М., Королёв Д.В., Сонин Д.Л. и др. Направленная доставка лекарственных препаратов — итоги последних лет и перспективы // Нанотехнологии. Экология. Производство. — 2010. — № 1. — С. 132–138.
2. Постнов В.Н., Наумышева Е.Б., Королёв Д.В., Галагудза М.М. Наноразмерные носители для доставки лекарственных препаратов // Биотехносфера. — 2013. — № 6(30). — С. 16–27.
3. Lyseng-Williamson K.A., Duggan S.T., Keating G.M. Pegylated liposomal doxorubicin: a guide to its use in various malignancies // BioDrugs. — 2013. — Vol. 27, № 5. — P. 533–540.
4. Takahama H., Minamino T., Asanuma H. et al. Prolonged targeting of ischemic/reperfused myocardium by liposomal adenosine augments cardioprotection in rats // J. Am. Coll. Cardiol. — 2009. — Vol. 53, № 8. — P. 709–717.
5. Galagudza M., Korolev D., Postnov V. et al. Passive targeting of ischemic-reperfused myocardium with adenosine-loaded silica nanoparticles // Int. J. Nanomedicine. — 2012. — № 7. — P. 1671–1678.
6. Ivanov S., Zhuravsky S., Yukina G. et al. In vivo toxicity of intravenously administered silica and silicon nanoparticles // Materials. — 2012. — Vol. 5, № 10. — P. 1873–1889.
7. Malvindi M.A., Brunetti V., Vecchio G. et al. SiO₂ nanoparticles biocompatibility and their potential for gene delivery and silencing // Nanoscale. — 2012. — № 4. — P. 486–495.
8. Xie G., Sun J., Zhong G. et al. Biodistribution and toxicity of intravenously administered silica nanoparticles in mice // Arch. Toxicol. — 2010. — Vol. 84, № 3. — P. 183–190.
9. Nishimori H., Kondoh M., Isoda K. et al. Silica nanoparticles as hepatotoxicants. Eur. J. Pharm. Biopharm. — 2009. — Vol. 72, № 3. — P. 496–501.

10. Galagudza M.M., Korolev D.V., Sonin D.L. *et al.* Targeted drug delivery into reversibly injured myocardium with silica nanoparticles: surface functionalization, natural biodistribution, and acute toxicity // *Int. J. Nanomedicine*. — 2010. — № 5. — P. 231–237.
11. Galagudza M., Korolev D., Sonin D. *et al.* Targeted drug delivery to ischemic heart with use of nanoparticulate carriers: concepts, pitfalls and perspectives // *Journal of Manufacturing Technology Management*. — 2010. — Vol. 21, № 8. — P. 930–949.
12. Roy I. Synthesis, surface modification, characterization, and biomedical in vitro applications of organically modified silica (ORMOSIL) nanoparticles // *Methods Mol. Biol.* — 2012. — Vol. 906. — P. 365–379.
13. Коробова Е.А., Гаврилова А.В., Белова Л.О., Курилин А.Д. Карбофункциональные кремнийазотсодержащие органические соединения — исходное сырье в синтезе линейных и гетероциклических продуктов // *Вестник МИТХТ*. — 2009. — Т. 4, № 3. — С. 64–69.
14. Горбачук В.В., Якимов Л.С., Мостовая О.А. *и др.* Синтез гибридных органосиликатных частиц, содержащих протоноакцепторные (C(O), P(O)) и протонодонорные (NH) группы // *Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. «Естеств. науки»*. — 2010. — Т. 152, Кн. 1. — С. 38–50.
15. Kumar R., Roy I., Ohulchanskyy T.Y. *et al.* In vivo biodistribution and clearance studies using multimodal organically modified silica nanoparticles // *ACS Nano*. — 2010. — Vol. 4, № 2. — P. 699–708.
16. Ohulchanskyy T.Y., Roy I., Goswami L.N. *et al.* Organically modified silica nanoparticles with covalently incorporated photosensitizer for photodynamic therapy of cancer // *Nano Lett.* — 2007. — Vol. 7, № 9. — P. 2835–2842.
17. Selvestrel F., Moret F., Segat D. *et al.* Targeted delivery of photosensitizers: efficacy and selectivity issues revealed by multifunctional ORMOSIL nanovectors in cellular systems // *Nanoscale*. — 2013. — Vol. 5, № 13. — P. 6106–6116.
18. Singh S.P., Sharma M., Patel H., Gupta P.K. Extra cellular pH influences uptake and photodynamic action of pyropheophorbide-a entrapped in folate receptor targeted organically modified silica nanoparticle // *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* — 2014. — Vol. 11, № 2. — P. 156–164.
19. Singh S.P., Sharma M., Gupta P.K. Enhancement of phototoxicity of curcumin in human oral cancer cells using silica nanoparticles as delivery vehicle // *Lasers Med. Sci.* — 2014. — Vol. 29, № 2. — P. 645–652.
20. Bharali D.J., Klejbor I., Stachowiak E.K. *et al.* Organically modified silica nanoparticles: a nonviral vector for in vivo gene delivery and expression in the brain // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 2005. — Vol. 102, № 32. — P. 11539–11544.
21. Klejbor I., Stachowiak E.K., Bharali D.J. *et al.* ORMOSIL nanoparticles as a non-viral gene delivery vector for modeling polyglutamine induced brain pathology // *J. Neurosci. Methods*. — 2007. — Vol. 165, № 2. — P. 230–243.
22. Barandeh F., Nguyen P.L., Kumar R. *et al.* Organically modified silica nanoparticles are biocompatible and can be targeted to neurons in vivo // *PLoS One*. — 2012. — Vol. 7, № 1. — P. e29424.
23. Gunawardena S. Developing nanotherapies for neurodegenerative diseases: ORMOSIL and its potential in axonal transport // *Ther. Deliv.* — 2012. — Vol. 3, № 10. — P. 1189–1198.
24. Kumar R., Roy I., Ohulchanskyy T.Y. *et al.* Covalently dye-linked, surface-controlled, and bioconjugated organically modified silica nanoparticles as targeted probes for optical imaging // *ACS Nano*. — 2008. — Vol. 2, № 3. — P. 449–456.
25. Qian J., Wang D., Cai F. *et al.* Photosensitizer encapsulated organically modified silica nanoparticles for direct two-photon photodynamic therapy and in vivo functional imaging // *Biomaterials*. — 2012. — Vol. 33, № 19. — P. 4851–4860.
26. Kumar P., Roy I. Optically and magnetically doped ORMOSIL nanoparticles for bioimaging: synthesis, characterization, and in vitro studies // *RSC Advances*. — 2014. — Vol. 4, № 31. — P. 16181–16187.