

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ НЕОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ ИМЕНИ А.В. НИКОЛАЕВА
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
МИНОБРНАУКИ РОССИИ

На правах рукописи

ПРОНИНА Екатерина Валерьевна

**ВОДОРАСТВОРИМЫЕ ОКТАЭДРИЧЕСКИЕ ИОДИДНЫЕ КЛАСТЕРНЫЕ
КОМПЛЕКСЫ МОЛИБДЕНА И ВОЛЬФРАМА И ИХ СТАБИЛИЗАЦИЯ
ФУНКЦИОНАЛИЗИРОВАННЫМИ ДЕКСТРАНАМИ**

1.4.1. Неорганическая химия

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Научный руководитель:
доктор химических наук
Шестопалов Михаил Александрович

Новосибирск – 2022

Список сокращений	5
Введение.....	8
1. Обзор литературы	15
1.1. Октаэдрические кластерные комплексы молибдена и вольфрама	15
1.1.1. Водорастворимые октаэдрические кластерные комплексы молибдена и вольфрама	16
1.1.2. Включение кластерных комплексов в полимерные матрицы	20
1.2. Природные полисахариды как стабилизирующие матрицы	25
1.2.1. Водорастворимые полисахариды	25
1.2.2. Стабилизация квантовых точек полисахаридами	30
1.2.2.1. Покрытие QD полимером (гидрофобное взаимодействие)	33
1.2.2.2. Покрытие QD полимером (электростатическое взаимодействие).....	35
1.2.2.3. Присоединение полимера к лиганду.....	39
1.2.2.4. Замещение лигандов на полимер	41
1.2.2.5. Использование полимера в качестве темплата для синтеза QD.....	46
1.2.3. Стабилизация апконверсионных наночастиц полисахаридами	53
1.2.3.1. Покрытие UCNP полимером (гидрофобное взаимодействие)	55
1.2.3.2. Присоединение полимера к лиганду.....	57
1.2.3.3. Замещение лигандов на полимер	60
1.2.3.4. Модификация «частиц без лигандов».....	60
1.2.3.5. Использование полимера в качестве темплата для синтеза UCNP.....	62
1.3. Заключение.....	66
2. Экспериментальная часть	67
2.1. Измерительные приборы	67
2.2. Кластерные комплексы	68
2.2.1. Кластерные комплексы с тиолигандами	68
2.2.2. Кластерные комплексы с DMSO-лигандами.....	71
2.3. Полисахариды декстраны	72

2.3.1.	Исходные реагенты	72
2.3.2.	Окисление декстрана	72
2.3.3.	Количественное определение функциональных групп	72
2.3.4.	Синтез натриевой соли окисленного декстрана (NaOxDexQ(n))	73
2.3.5.	Определение вязкости полимера	73
2.3.6.	Присоединение флуоресцеин-изотиоцианата к полимеру	74
2.4.	Материалы на основе кластерных комплексов и декстранов	74
2.4.1.	Получение $M^x@DexQ$ и $M^x@NaOxDexQ(n)$	74
2.4.2.	Восстановление альдегидных групп в окисленном декстране	74
2.4.3.	Получение $M^x@Dex60(1)-Red$	74
2.4.4.	Исследование стабильности материалов в питательной среде	74
2.5.	Биологические исследования	75
2.5.1.	Оценка цитотоксичности, МТТ-тест	75
2.5.2.	Оценка клеточного проникновения, проточная цитофлуориметрия (FACS).....	75
2.5.3.	Содержание молибдена в клетках, ИСП-АЭС	76
2.5.4.	Оценка фотоиндуцированной цитотоксичности.....	76
2.5.5.	Изучение распределения частиц в клетке, ПЭМ.....	76
2.5.6.	Оценка клеточного проникновения, конфокальная лазерная сканирующая микроскопия (КЛСМ).....	76
2.5.7.	Определение уровня генерации АФК в живых клетках.....	77
3.	Результаты и обсуждение.....	78
3.1.	Кластерные комплексы с тиолигандами	78
3.1.1.	Поведение $Na_2[Mo_6I_8](PhS)_6$ в ацетоне.....	83
3.1.2.	Поведение $Na_2[Mo_6I_8](PhS)_6$ в воде	85
3.2.	Кластерные комплексы с DMSO-лигандами	87
3.2.1.	Люминесцентные свойства $[Mo_6I_8](DMSO)_6(NO_3)_4$	89
3.2.2.	Кинетика гидролиза $[Mo_6I_8](DMSO)_6(NO_3)_4$	90
3.2.3.	Биологические исследования для $[W_6I_8](DMSO)_6(NO_3)_4$	93

3.2.4.	Поведение $[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_6](\text{NO}_3)_4$ в питательной среде	98
3.2.5.	Биологические исследования для $[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_6](\text{NO}_3)_4$	101
3.3.	Стабилизация кластерных комплексов декстранами и их производными	105
3.3.1.	Функционализация декстранов	105
3.3.1.1.	Окисление декстранов	106
3.3.1.2.	Физические свойства окисленных декстранов	107
3.3.1.3.	Состав окисленных декстранов	109
3.3.1.4.	Исследование биологических свойств окисленных декстранов	112
3.3.2.	Включение кластерных комплексов в функционализированные декстраны	116
3.3.2.1.	Стабильность материалов на основе декстранов в питательной среде	119
3.3.2.2.	Люминесцентные свойства материалов на основе декстранов	122
3.3.2.3.	Биологические исследования материалов на основе декстранов	123
	Заключение	127
	Основные результаты и выводы	128
	Список литературы	129
	Благодарности	151
	Приложение	152

Список сокращений

Bn – бензил

BSA (*bovine serum albumin*) – бычий сывороточный альбумин

Bu – бутил

CMC (*carboxymethyl cellulose*) – карбоксиметилцеллюлоза

CMCh (*carboxymethyl chitosan*) – карбоксиметилхитозан

Dex (*dextran*) – декстран

DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle Medium*) – модифицированная по способу Дульбекко питательная среда

DOX (*doxorubicin*) – доксорубицин

EDC (*1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide*)

–1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид

EPI (*epirubicin*) – эпирубицин

Et – этил

FA (*folic acid*) – фолиевая кислота

FACS (*fluorescence-activated cell sorter*) – проточная цитофлуориметрия

FITC (*fluorescein isothiocyanate*) – флуоресцеин изотиоцианат

HA (*hyaluronic acid*) – гиалуроновая кислота

HSA (*human serum albumin*) – человеческий сывороточный альбумин

HEC (*hydroxyethyl cellulose*) – 2-гидроксиэтилцеллюлоза

HeLa (клетки рака шейки матки)

Her-2 – клетки рака гортани человека

HPC (*hydroxypropyl cellulose*) – 3-гидроксипропилцеллюлоза

IC₅₀ (*half maximal inhibitory concentration*) – концентрация полумаксимального ингибирования

LD₅₀ (*median lethal dose*) – полуметальная доза

Lyz (*lysozyme*) – лизоцим

Me – метил

NHS (*N-hydroxysuccinimide*) – N-гидроксисукцинимид

OA (*oleic acid*) – олеиновая кислота

PAA (*polyacrylamide*) – полиакриламид

PBS (*phosphate buffered saline*) – фосфатный буфер

Ph – фенил

PHEMA (*poly(2-hydroxyethyl methacrylate)*) – полигидроксиэтилметакрилат

PLGA (*poly(lactic-co-glycolic acid)*) – поли(молочная-ко-гликолевая кислота)

PMPD (*poly(m-phenylenediamine)*) – поли(м-фенилендиамин)

PS – полистирола

PSS – полистиролсульфонат натрия

QD (*quantum dots*) – квантовые точки

SA (*sodium alginate*) – альгинат натрия

SOC (*N-succinyl-N-octyl chitosan*) – N-сукцинил-N-октилхитозан

TH (*tetracycline hydrochloride*) – тетрациклин гидрохлорид

ТОРО (*trioctylphosphine oxide*) – триоктилфосфиноксид

UCNP (*upconversion nanoparticles*) – апконверсионные наночастицы

АФК – активные формы кислорода

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

ГПХ - гельпроникающая хроматография

ДМСО или DMSO – диметилсульфоксид

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИК – инфракрасное излучение

ИСП-АЭС – атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой

КЛСМ – конфокальная лазерная сканирующая микроскопия

МТТ-тест – колориметрический тест для оценки метаболической активности клеток

НЧ – наночастицы

ПЭМ – просвечивающая электронная микроскопия

РСА – рентгеноструктурный анализ

РФА – рентгенофазовый анализ

ТГА – термогравиметрический анализ

ТГФ – тетрагидрофуран

УФ – ультрафиолетовое излучение

ФДТ – фотодинамическая терапия

ФТТ – фототермическая терапия

ЭДС – энергодисперсионная рентгеновская спектроскопия

ЭСП – электронные спектры поглощения

ЯМР – ядерный магнитный резонанс

Введение

Актуальность темы

В настоящее время химия октаэдрических галогенидных кластерных комплексов молибдена и вольфрама активно развивается. Особый интерес к данному классу соединений вызван тем, что они проявляют яркую люминесценцию в красной и ближней инфракрасной областях спектра при ультрафиолетовом или рентгеновском облучении, способны фотосенсибилизировать процесс генерации синглетного кислорода, а также имеют высокую фотостабильность. Благодаря этому кластерные комплексы обладают огромным потенциалом для применения в различных областях, таких как оптоэлектроника, фотокатализ, фотовольтаика (создание солнечных батарей) и др. Кроме того, они могут быть использованы в биомедицине в качестве компонентов антибактериальных материалов, агентов для биовизуализации и фотодинамической терапии. Однако, подавляющее большинство известных комплексов либо не растворимы в воде, либо подвергаются гидролизу, что препятствует их применению в живых системах.

Синтез новых водорастворимых кластеров позволит расширить немногочисленный список таких соединений, а детальное изучение полученных комплексов в водном растворе позволит определить ключевые факторы, влияющие на гидролитическую стабильность, и даст более глубокое понимание процесса гидролиза. Эти фундаментальные знания впоследствии позволят направленно подходить к получению водорастворимых кластерных комплексов. Наряду с этим включение в биосовместимые матрицы является эффективным подходом для стабилизации наноразмерных объектов, включая нестабильные комплексы, в водном растворе. В данной работе в качестве таких матриц было предложено использовать природный полисахарид декстран и его окисленные производные. Исследование композитных материалов на основе кластерных комплексов и водорастворимых полимеров позволит не только оценить эффективность стабилизирующего агента, а также изучить влияние матрицы на фотофизические характеристики люминофора. Кроме того, изучение биологических свойств чистых комплексов и материалов на их основе даст дополнительную информацию о возможности применения этого класса соединений в биомедицинском контексте.

Таким образом, развитие химии октаэдрических галогенидных кластерных комплексов молибдена и вольфрама и создание материалов на их основе является действительно актуальной задачей. Исходя из этого, можно с высокой долей уверенности утверждать, что данная диссертационная работа поможет раскрыть потенциал применения таких комплексов.

Степень разработанности темы исследования

Впервые в координационную химию понятие кластерного комплекса ввел американский химик-неорганик, профессор Франк Альберт Коттон в 1964 году [1]. Начиная с этого времени

кластерная химия непрерывно развивается, что подтверждается большим количеством публикаций. По мере развития данной области авторы работ пытались перейти от исключительно синтетических исследований к применению кластерных комплексов. Новым рубежом развития кластерной химии можно считать 2013 год, так как именно в это время появились первые работы, демонстрирующие прикладные возможности комплексов [2]. В настоящее время тренд, направленный на развитие потенциала кластерных комплексов, набирает обороты, о чем говорит большое количество современных публикаций с прикладной направленностью.

При рассмотрении кластерных комплексов с точки зрения применения в областях биологии и медицины авторы столкнулись с рядом трудностей. Дело в том, что известно ограниченное количество водорастворимых галогенидных кластерных комплексов молибдена, большинство из которых обладает низкой стабильностью в водном растворе. Кроме того, на момент начала выполнения данной диссертационной работы не было ни одного примера водорастворимого кластерного комплекса вольфрама такого типа. Для увеличения стабильности комплексов исследователи широко используют подход, заключающийся во включении кластеров в матрицы различной природы. Безусловно, для применения в живых системах водорастворимые матрицы имеют ряд неоспоримых преимуществ, однако в настоящий момент известно всего несколько примеров таких работ, часть из которых выполнена при участии автора диссертации.

Накопленный опыт в ходе изучения биологических свойств кластерных комплексов и материалов на их основе подтверждает перспективность данного направления исследования, однако, оставляет открытыми еще очень много вопросов. В настоящее время кластерная химия преодолела большой путь и сейчас находится на стадии перехода от фундаментальных знаний к этапу практического применения. Развитие этой области является актуальной задачей, на что и направлена данная диссертационная работа.

Целью диссертационной работы является поиск новых водорастворимых октаэдрических иодидных кластерных комплексов молибдена и вольфрама и их стабилизация в водном растворе путем включения в полисахарид декстран и его производные.

В рамках достижения данной цели решались следующие задачи:

- синтез новых водорастворимых кластерных комплексов молибдена и вольфрама $[\{M_6I_8\}L_6]^n$ с различными терминальными лигандами L;
- включение кластерных комплексов в предварительно функционализированную полимерную матрицу;
- подробная характеристика полученных соединений с использованием различных аналитических и спектроскопических методов анализа (РСА, ЯМР-, ИК- и электронная спектроскопия, масс-спектрометрия, элементный анализ и др.);

- исследование стабильности полученных комплексов и материалов на их основе в водном растворе и/или растворе питательной среды;
- изучение люминесцентных свойств и определение фотофизических показателей (квантовый выход, времена жизни и максимум эмиссии люминесценции) для полученных образцов;
- исследование биологических свойств кластерных комплексов и материалов на их основе (темновая и фотиндуцированная цитотоксичность, клеточное проникновение).

Научная новизна работы

Новизна диссертационной работы обусловлена тем, что в результате ее выполнения разработаны методики синтеза новых водорастворимых кластерных комплексов и способы их стабилизации в водном растворе производными декстрана. Так, в ходе выполнения работы была получена серия кластерных комплексов с тиолигандами $\text{Na}_2[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{RS})_6]$ ($\text{M} = \text{Mo}, \text{W}$; $\text{R} = \text{Ph}, \text{Bn}$ и $4\text{-}^t\text{BuBnS}$). На примере $\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$ было детально изучено поведение тиокомплексов в ацетоне и воде. Установлено, что в присутствии кислорода тиофенолят-лиганды подвергаются окислению до сульфенатов и сульфинатов, которые в свою очередь легко замещаются на $\text{H}_2\text{O}/\text{OH}^-$. Без стадии окисления полученные комплексы не подвергаются гидролизу.

Показано, что при взаимодействии $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{NO}_3)_6]$ ($\text{M} = \text{Mo}, \text{W}$) с диметилсульфоксидом (**DMCO** или **DMSO**) образуются новые водорастворимые люминесцентные комплексы $[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_6](\text{NO}_3)_4$. Стоит отметить, что это первый пример водорастворимого галогенидного кластерного комплекса вольфрама. Для полученных соединений было проведено детальное исследование кинетики гидролиза, согласно которому кластер вольфрама являются более стабильным в сравнении с молибденовым аналогом.

В ходе биологических исследований было выявлено, что различная скорость гидролиза кластерных комплексов молибдена и вольфрама с ДМСО-лигандами оказывает различное влияние на жизнеспособность клеток. Кроме того, состав форм комплекса в водном растворе, который напрямую связан со временем его выдержки, играет ключевую роль в определении биологических показателей. Так, свежеприготовленный водный раствор $[\{\text{W}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_6](\text{NO}_3)_4$ проявляет фотоиндуцированную цитотоксичность, в то время как выдерживание комплекса в растворе приводит к увеличению его темновой цитотоксичности. Для комплекса молибдена наблюдается противоположная ситуация. Стоит отметить, что это первый и единственный пример опубликованной работы, в которой изучались биологические свойства октаэдрического галогенидного кластерного комплекса вольфрама.

Разработан метод функционализации полисахарида декстрана, в ходе которого образуется полимер, содержащий в своем составе альдегидные, кислотные и пероксогруппы. На основе мультифункционального декстрана получены водорастворимые кластер-содержащие материалы.

Включение $[\{M_6I_8\}(DMSO)_6](NO_3)_4$ ($M = Mo, W$) в модифицированный полисахарид приводит к значительному увеличению стабильности комплексов в водном растворе и питательной среде.

Результаты данной работы являются существенным вкладом не только в фундаментальные знания о кластерной химии, но и демонстрируют прикладные возможности таких комплексов и материалов на их основе.

Теоретическая и практическая значимость работы

В результате работы значительно расширено число водорастворимых октаэдрических иодидных кластерных комплексов молибдена и вольфрама. Данные, полученные в ходе изучения поведения новых комплексов в воде и питательной среде, дают понимание о процессах, происходящих в растворе. Отличия в гидролитической стабильности оказывают влияние на биологические свойства кластеров. Это в свою очередь открывает возможность рассматривать различные формы комплексов перспективными агентами для применения в различных областях биологии и медицины, в частности для биовизуализации, фотодинамической или химиотерапии. Покрытие функционализированными полисахаридами значительно увеличивает стабильность кластерных комплексов в водном растворе и питательной среде.

Методология и методы исследования

Методология исследования включает в себя разработку метода синтеза новых октаэдрических галогенидных кластерных комплексов молибдена и вольфрама, выделение их в виде индивидуальных соединений, получение монокристаллов, изучение состава, строения и физико-химических свойств. Для достоверной характеристики соединений был использован набор физико-химических методов анализа: элементный анализ (CHNS, ЭДС, ИСП-АЭС), рентгеноструктурный анализ, спектроскопия ядерного магнитного резонанса, инфракрасная спектроскопия, масс-спектрометрия высокого разрешения с распылением в электрическом поле, электронная спектроскопия поглощения.

Модификацию полисахарида декстрана проводили путем обработки пероксидом водорода. При взаимодействии кластерных комплексов $[\{M_6I_8\}(DMSO)_6](NO_3)_4$ ($M = Mo, W$) с функционализированными полисахаридами в растворе ДМСО были получены кластер-содержащие гибридные материалы. Степень включения металлокомплекса в полимер определяли с помощью ИСП-АЭС. С помощью ЯМР- и электронной спектроскопии была исследована стабильность полученных комплексов/материалов в ацетоне, водном растворе или питательной среде. Спектры люминесценции для полученных соединений регистрировались при помощи чувствительного к красному свету детектора. Квантовые выходы определены с использованием системы измерения абсолютных квантовых выходов фотолюминесценции, содержащей интегрирующую сферу.

При проведении биологических исследований использовались раковые клетки линий **Нер-2** (клетки рака шейки матки). Цитотоксичность материалов изучалась с использованием **МТТ-теста**. Визуализацию клеток проводили с использованием методов просвечивающей электронной микроскопии (**ПЭМ**), конфокальной лазерной сканирующей микроскопии (**КЛСМ**). Проникновение соединений в клетку изучали методом проточной цитофлуориметрии (**FACS**). Для определения фотоиндуцированной цитотоксичности использовалась лампа с длиной волны 400–800 нм, а жизнеспособность клеток после облучения определяли методом **МТТ**.

В ходе работы контроль достоверности результатов выполнялся проведением перекрестных анализов. Достоверность оценки цитотоксических эффектов соединений подтверждена тремя сходящимися данными.

Положения, выносимые на защиту:

- методы синтеза 8 октаэдрических галогенидных кластерных комплексов молибдена и вольфрама, 6 из которых охарактеризованы с помощью рентгеноструктурного анализа;
- получение материалов на основе кластерных комплексов $[\{M_6I_8\}(DMSO)_6](NO_3)_4$ ($M = Mo, W$) и функционализированных декстранов;
- результаты исследования всех полученных соединений с помощью различных аналитических и спектроскопических методов анализа (РСА, ЯМР-, ИК- и электронная спектроскопия, масс-спектрометрия, элементный анализ и др.);
- результаты исследования стабильности полученных комплексов и материалов на их основе в водном растворе и в питательной среде;
- результаты изучения люминесцентных свойств и определения фотофизических показателей для полученных образцов;
- результаты исследования биологических свойств кластерных комплексов и материалов на их основе, таких как темновая и фотоиндуцированная цитотоксичность, клеточное проникновение, люминесцентная визуализация внутри клетки, генерация активных форм кислорода внутри клетки.

Личный вклад автора

Автор принимал участие в постановке цели и задач исследования, анализе литературных данных по теме диссертации, выполнении экспериментальных исследований и обработке полученных данных, обсуждении результатов работы и формулировке выводов. Диссертантом были лично выполнены синтезы всех указанных в экспериментальной части соединений и материалов, определены физические свойства и состав окисленных полимеров, проведены исследования фотофизических характеристик образцов, а также обработка данных, полученных

на клеточных культурах. Подготовка статей и тезисов докладов осуществлялась совместно с научным руководителем и соавторами работ.

Апробация работы

Результаты работы были представлены на международных и российских конференциях: IV Школа-конференция молодых учёных «Неорганические соединения и функциональные материалы» ICFM-2017 (Новосибирск, 2017), Байкальская школа конференция БШКХ-2017 (Иркутск, 2017), Международный семинар «CLUSPOM-2018» (Жиф-сюр-Иветт, Франция, 2018), Международная конференция «XXVII International Conference on Coordination and Bioinorganic Chemistry» (Смоленице, Словакия, 2019), XXI менделеевский съезд по общей и прикладной химии (Санкт-Петербург, 2019), XVII Международная конференция «Спектроскопия координационных соединений» (Краснодар, 2020).

Публикации

По теме диссертационной работы опубликовано 3 статьи в международных журналах, которые входят в перечень индексируемых в международной системе научного цитирования Web of Science. В материалах российских и зарубежных конференций опубликованы тезисы 11 докладов.

Степень достоверности результатов исследований

Достоверность представленных результатов основывается на высоком методическом уровне проведения работы, согласованности экспериментальных данных с данными других исследований. Корректность полученных результатов подтверждается их воспроизводимостью. Признание результатов работы мировым научным сообществом подтверждается наличием публикаций по результатам выполненной работы в рецензируемых журналах различного уровня и высокой оценкой на российских и международных конференциях.

Соответствие специальности 1.4.1. Неорганическая химия

Диссертационная работа соответствует п. 1 «Фундаментальные основы получения объектов исследования неорганической химии и материалов на их основе», п. 5 «Взаимосвязь между составом, строением и свойствами неорганических соединений. Неорганические наноструктурированные материалы», п. 7 «Процессы комплексообразования и реакционная способность координационных соединений, Реакции координированных лигандов» специальности 1.4.1. Неорганическая химия.

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 186 страницах, основной текст работы содержит 66 рисунков и 10 таблиц. Работа состоит из введения, литературного обзора, экспериментальной части, описания полученных результатов и их обсуждения, заключения, выводов, списка цитируемой

литературы (250 наименования) и приложений на 35 страницах, в которых приведены дополнительные данные по диссертационной работе.

Диссертационная работа выполнялась в соответствии с программой фундаментальных научных исследований ИНХ СО РАН по приоритетному направлению V.44. «Фундаментальные основы химии», программа ФНИ СО РАН V.44.4. «Развитие научных основ направленного синтеза новых неорганических и координационных соединений и функциональных материалов на их основе», базовый проект лаборатории V.44.4.1. Синтез, строение и функциональные свойства новых супрамолекулярных и комплексных соединений, в том числе координационных полимеров (№ 0300–2019–0013). Кроме того, работа была выполнена в рамках проектов РФФИ (18–33–00209, 18–33–20061, 20–33–90087_Аспиранты). Также результаты исследований были поддержаны стипендией Правительства Российской Федерации (2019 г.) и стипендией им. М.В. Остроградского (2021).

1. Обзор литературы

1.1. Октаэдрические кластерные комплексы молибдена и вольфрама

В общем виде октаэдрические галогенидные кластерные комплексы молибдена и вольфрама можно описать формулой $[\{M_6X_8\}L_6]^n$, где $M = Mo$ или W , $X =$ галоген (Cl, Br, I), $L =$ лиганд. В кластерах данного типа присутствует октаэдр из шести атомов металла, вписанный в куб из восьми атомов галогена так, что каждый из атомов галогена связан с тремя атомами металла, т.е. является μ_3 -мостиковым лигандом. Структура $\{M_6X_8\}^{4+}$ называется кластерным ядром и является основой октаэдрических галогенидных кластерных комплексов. Также к каждому атому металла координирован один органический/неорганический лиганд L (рис. 1.1) [3]. Кластерное ядро таких соединений чаще всего стабильно, а терминальные лиганды лабильны, что позволяет легко модифицировать комплексы и варьировать вместе с этим их свойства [4].

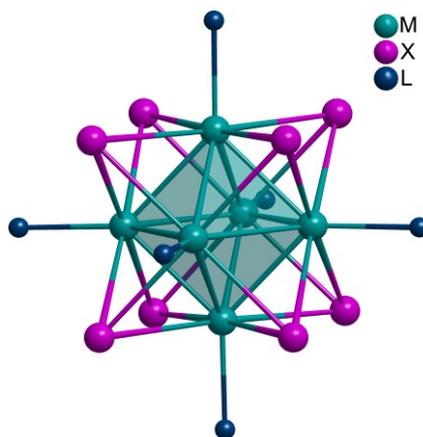


Рис. 1.1. Строение кластерного комплекса $[\{M_6X_8\}L_6]^n$.

Кластерные комплексы проявляют люминесценцию в видимой и ближней инфракрасной областях при ультрафиолетовом или рентгеновском облучении [5-12]. Люминесценция кластерных комплексов характеризуется высокими значениями квантового выхода (вплоть до 88 %) и времен жизни люминесценции (несколько сотен микросекунд) [5, 13-23]. Более того, соединения с кластерным ядром $\{M_6X_8\}^{4+}$ способны фотосенсибилизировать процесс генерации синглетного кислорода (1O_2): при облучении светом кластерный комплекс переходит в возбужденное триплетное состояние, которое способно взаимодействовать с молекулярным кислородом в триплетном состоянии, что приводит к образованию возбужденной высокоактивной синглетной формы кислорода [5, 7, 15, 21, 24-26].

Благодаря своим свойствам кластерные комплексы могут найти применение во многих областях, таких как оптоэлектроника [27-31], фотокатализ [32-38], фотовольтаика (создание солнечных батарей) [39-42]. Кроме того, они могут быть использованы в биологии и медицине в

качестве антибактериальных материалов [23, 34, 43-47], агентов для биовизуализации [48-50] и фотодинамической терапии [10, 20, 49-54]. Для реального применения в биомедицине необходимо, чтобы кластерные комплексы были растворимы и стабильны в водном растворе при физиологических условиях ($\text{pH} = 7,4$), устойчивы к воздействию окружающей среды, сохраняли свои фотофизические свойства, а также являлись биосовместимыми и не оказывали токсического влияния.

1.1.1. Водорастворимые октаэдрические кластерные комплексы молибдена и вольфрама

В настоящее время существует всего несколько примеров водорастворимых октаэдрических галогенидных кластерных комплексов молибдена и вольфрама. Так, в работе [55] были получены водорастворимые комплексы молибдена с азидными и роданидными терминальными лигандами $\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{N}_3)_6]$ и $\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{NCS})_6]$ соответственно. Водные растворы полученных соединений демонстрируют красную люминесценцию и фотосенсибилизируют процесс генерации синглетного кислорода. Однако со временем комплексы подвергаются частичному гидролизу в воде с образованием моногидроксо форм $[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}\text{L}_5\text{OH}]^{2-}$ ($\text{L} = \text{N}_3^-$ или NCS^-), которые остаются в растворе и не выпадают в осадок. Гидролиз приводит к изменению люминесцентных свойств этих соединений, в то время как квантовый выход фотосенсибилизации синглетного кислорода остается на прежнем уровне. Однако согласно биологическим исследованиям на клетках линии HeLa (клетки раки шейки матки) и HEK 293T (эмбриональные клетки почки человека), комплексы с азидными и роданидными терминальными лигандами проявляют относительно высокую токсичность и не проникают в клетки. Другим примером является кластерный комплекс молибдена $\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}\text{L}_6]$, в котором в качестве терминальных лигандов (L) выступает 2-[2-(2-метокси)этокси]ацетат (рис. 1.2) [12]. Введение таких лигандов обеспечивает увеличение растворимости комплекса в воде, что позволяет приготовить растворы с высокой концентрацией (вплоть до 200 мг/мл). Полученный комплекс в растворе **PBS** (фосфатный буфер, $\text{pH}=7,4$) проявляет фотолюминесценцию с максимумом эмиссии 685 нм, а также способен фотосенсибилизировать процесс генерации синглетного кислорода, однако со временем наблюдается смещение максимума эмиссии в более длинноволновую область и снижение квантового выхода люминесценции (23 % для свежеприготовленного деаэрированного раствора и 7 % для выдержанного 3 дня деаэрированного раствора). В растворе происходит гидролиз комплекса, и с помощью масс-спектрометрии была зафиксирована форма, в которой один терминальный лиганд замещен на молекулу воды. Дальнейшее замещение лигандов на $\text{OH}^-/\text{H}_2\text{O}$ на масс-спектрах не наблюдается, так как гидролизованный комплекс выпадает в осадок. Впервые в этой работе была продемонстрирована рентгенолюминесценция кластерного

комплекса в водном растворе. Авторы определили нетоксичную концентрацию комплекса (концентрация, при которой жизнеспособность клеток более 80 %), а также изучили клеточное проникновение на клетках линии Нер-2 (клетки рака гортани человека) и MRC-5 (фибробласты легких человека). Оказалось, что гидролиз комплекса способствует клеточному проникновению, так как с увеличением времени инкубации наблюдается увеличение этого показателя. Кластерный комплекс демонстрирует рентген-индуцированную цитотоксичность по отношению к раковым клеткам Нер-2, в то время как на здоровых клетках MRC-5 цитотоксического эффекта не наблюдалось. На примере этого соединения была впервые определена острая токсичность для октаэдрических галогенидных кластерных комплексов молибдена *in vivo* на мышах (LD_{50} (полулетальная доза) = 390 ± 30 мг/кг), а также установлено, что он оказывает токсическое действие на почки, вероятно, связанное с образованием агрегатов гидролизованного комплекса. Полученное низкое значение LD_{50} не позволяет рассматривать кластерный комплекс в качестве рентгеноконтрастного препарата, но он может найти применение как агент для рентген-индуцируемой ФДТ, так как для неё не требуется высокая концентрация препарата.

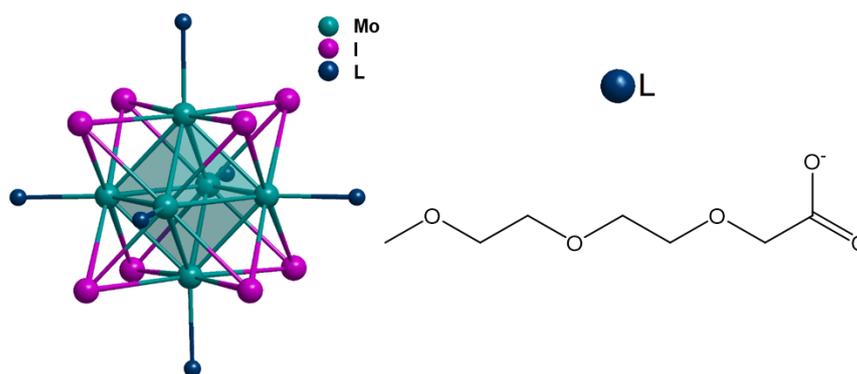
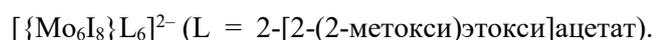


Рис. 1.2. Схематичное представление структуры кластерного аниона



В работе М. Амела-Кортес был получен водорастворимый комплекс молибдена $K_2[\{Mo_6Br_8\}(CN)_6]$ [56]. Однако, авторам не удалось получить монокристаллы пригодные для рентгеноструктурного анализа для подтверждения структуры комплекса. Вероятно, данный комплекс стабилен в водном растворе, так как цианид-ионы являются лигандами сильного поля и обычно прочно связаны с металлом, но авторы не проводили такие исследования. Только в 2020 году А. С. Пронин и соавторы получили серию кластерных комплексов молибдена и вольфрама $Cs_{1,3}Na_{0,7}[\{Mo_6I_8\}(CN)_6]$, $\text{транс}-(Bu_4N)_2[\{Mo_6I_8\}(CN)_4(MeO)_2]$ и $\text{транс}-(Bu_4N)_2[\{W_6I_8\}(CN)_2(MeO)_4]$, структура которых была подтверждена методом РСА [57]. Данные комплексы демонстрируют яркую красную фотолюминесценцию с характерными временами жизни порядка 100 микросекунд. Кластеры с цианидными и цианометилатными терминальными лигандами растворимы в воде (стоит отметить, что кристаллы $Cs_{1,3}Na_{0,7}[\{Mo_6I_8\}(CN)_6]$ получены

из водного раствора) и остаются стабильными в водном растворе в течении как минимум одного месяца. Таким образом, вышеописанные цианидный и цианометилатные комплексы являются первыми примерами водорастворимых и стабильных галогенидных кластерных комплексов молибдена и вольфрама. Однако, отсутствие биологических исследований, не позволяет оценить их потенциал для применения в биомедицинских областях.

Помимо водорастворимых кластерных комплексов были исследованы комплексы, которые образуют устойчивые дисперсии в водном растворе. В нескольких работах был использован эффект узо (спонтанное эмульгирование) для получения наночастиц кластеров [10, 58]. Для этого кластерный комплекс растворяли в растворителе, который смешивается с водой, например, в ТГФ, а затем быстро добавляли в воду при интенсивном перемешивании. При этом образуются наночастицы (НЧ) комплекса, так как он не растворим в воде (рис. 1.3).



Рис. 1.3. Схема синтеза наночастиц кластерных комплексов (эффект узо).

С помощью такого метода были получены НЧ кластерного комплекса $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{OCOCF}_3)_6]$, размер которых составляет 180 ± 80 нм [10]. Согласно полученным данным в ходе образования частиц не происходит замещение терминальных лигандов кластеров на $\text{OH}^-/\text{H}_2\text{O}$. Наночастицы кластера проявляют яркую фотолюминесценцию с максимумом эмиссии 665 нм и квантовым выходом 64 %. Спустя 6 дней квантовый выход люминесценции снижается до 41 %, что свидетельствует об изменении состава комплекса. Авторы предполагают, что гидролиз происходит только на поверхности НЧ и не оказывает значительного влияния на способность фотосенсибилизировать процесс генерации синглетного кислорода. Кроме того, полученные наночастицы фотосенсибилизируют процесс генерации $^1\text{O}_2$ под воздействием рентгеновского облучения. В ходе исследования биологических свойств на клетках линии HeLa (клетки рака шейки матки) было установлено, что наночастицы кластера прикрепляются к клеточным мембранам, не проявляют темную цитотоксичность при микромолярных концентрациях, но обладают высокой фототоксичностью при облучении синим светом (концентрация полумаксимального ингибирования (IC_{50}) = 0,16 мкМ). Кроме того, при рентгеновском облучении также наблюдается снижение пролиферации клеток, что позволяет рассматривать НЧ кластерных комплексов в качестве потенциальных агентов для рентген-индуцированной ФДТ.

В серии работ К. Киракси были получены кластерные комплексы молибдена, которые нерастворимы в воде, однако, при добавлении небольшого количества раствора комплекса в ДМСО в воду образуют устойчивые дисперсии [20, 21, 53]. В работе [21] были получены комплексы $\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{OPhH})_6]$ и $\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{OPhPh}_2)_6]$ (рис. 1.4) и исследована стабильность их водных дисперсий. Так, комплекс с фенилфосфинатными терминальными лигандами со временем гидролизуется, в то время как комплекс с дифенилфосфинатными терминальными лигандами не претерпевает никаких изменений. Вероятно, это связано со стерическими затруднениями – лиганд с двумя гидрофобными фенильными группами лучше экранирует связь Mo-O, тем самым защищая ее от гидролиза. Оба комплекса обладают низкой темновой токсичностью по отношению клетками линии HeLa, проявляют фотоиндуцированную токсичность, а также способны проникать в клетки. Биологические свойства в совокупности с высокой стабильностью делают $\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{OPhPh}_2)_6]$ перспективным агентом для фотодинамической терапии.

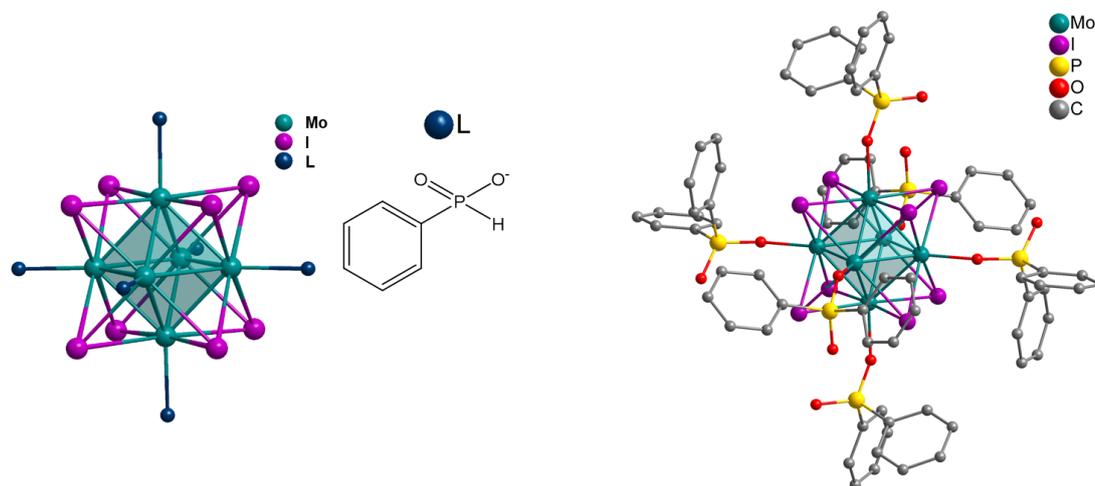


Рис. 1.4. Схематичное представление структуры кластерного аниона $[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{OPhH})_6]^{2-}$ (слева) и структура кластерного аниона $[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{OPhPh}_2)_6]^{2-}$ (справа).

Расширив серию соединений, авторы получили высоколюминесцентные комплексы $\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}\text{L}_6]$, в которых в качестве терминальных лигандов (L) выступают 4'-карбоксибензо-15-краун-5 или холат ионы (рис. 1.5) [20]. Данные комплексы образуют устойчивые дисперсии в воде, однако спустя сутки происходит частичный гидролиз кластеров – один терминальный лиганд замещается на $\text{OH}^-/\text{H}_2\text{O}$. Выдерживание комплексов в водном растворе в течении 10 дней не приводит к изменению фототоксичности.

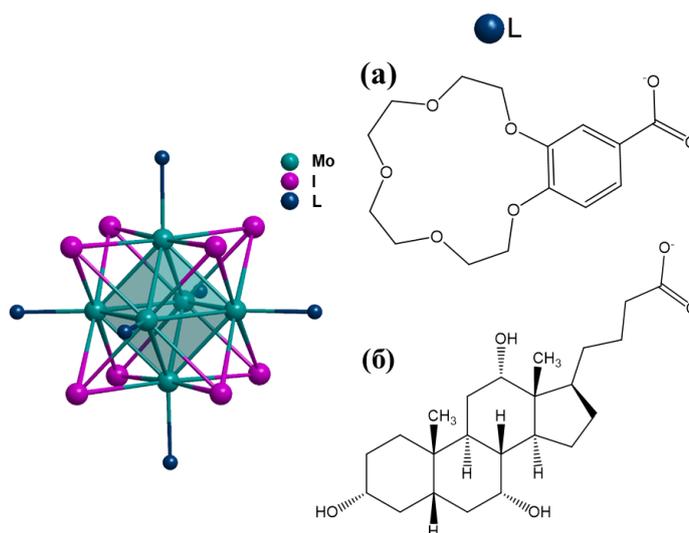


Рис. 1.5. Схематичное представление структур кластерных анионов $[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}\text{L}_6]^{2-}$ (L = 4'-карбокисбензо-15-краун-5 ион (а) или холат ион (б)).

Помимо анионных были получены и катионные кластерные комплексы молибдена $[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{OCOC}_4\text{H}_8\text{PPh}_3)_6]\text{Br}_4$ и $[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{OCOC}_5\text{H}_4\text{NMe})_6]\text{Cl}_4$ [53]. Как и в предыдущих работах данные комплексы не растворимы в воде, а их водные дисперсии со временем гидролизуются. В ходе биологических исследований было установлено, что оба комплекса не обладают темновой токсичностью по отношению к клеткам линии HeLa. В отличие от $[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{OCOC}_4\text{H}_8\text{PPh}_3)_6]\text{Br}_4$, комплекс $[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{OCOC}_5\text{H}_4\text{NMe})_6]\text{Cl}_4$ проникает в клетки, что подчеркивает влияние апикальных лигандов на клеточное проникновение, и проявляет фотоиндуцированную токсичность. Кроме того, кластер $[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{OCOC}_5\text{H}_4\text{NMe})_6]\text{Cl}_4$ проявляет фотоиндуцированную антибактериальную активность по отношению к грамположительным бактериям энтерококк (*E. Faecalis*) и золотистый стафилококк (*S. aureus*).

Таким образом, количество комплексов, для которых были проведены биологические исследования в индивидуальном виде, крайне мало. Кроме того, как было показано выше, практически все они подвергаются гидролизу.

1.1.2. Включение кластерных комплексов в полимерные матрицы

Один из способов защиты комплексов от гидролиза, который может протекать как в растворе, так и в сухом виде, является их включение в матрицы различной природы. Условно данные материалы можно разделить на нерастворимые в воде и водорастворимые. Использование нерастворимых матриц подразумевает создание гетерогенных систем, «дисперсий», обладающих свойствами индивидуальных компонентов. Для получения подобных материалов могут быть использованы как неорганические соединения (например, SiO_2 [2, 48, 50, 59-63], металл-органические координационные полимеры [54, 64, 65] и др.), так и органические

полимеры (например, поли(молочная-ко-гликолевая кислота) [51, 52, 66], полистирол [7, 13, 34, 43, 67, 68] и др.). Далее будет рассмотрено несколько примеров таких работ.

В ряде исследований в качестве биосовместимой матрицы был использован диоксид кремния SiO_2 [2, 48, 50, 59-63]. В результате иммобилизации кластерных комплексов $\text{Cs}_2[\{\text{Mo}_6\text{X}_8\}\text{X}_6]$ ($\text{X} = \text{Cl}, \text{Br}, \text{I}$) в SiO_2 образуются люминесцентные и легко диспергируемые в воде материалы, которые могут найти применение в качестве агентов для биовизуализации [61, 62]. В работе 2013 года был детально изучен способ связывания кластера с матрицей [2]. Согласно полученным данным, во время реакции происходит частичный гидролиз кластера и образуются как ковалентная связь (Mo-O-Si), так и водородные связи между внешними лигандами комплекса и концевыми OH -группами диоксида кремния ($\text{Mo-OH}_2 \cdots \text{O(H)-Si}$). Также в работе впервые были проведены исследования биологических свойств $\text{Cs}_2[\{\text{Mo}_6\text{X}_8\}\text{X}_6]@\text{SiO}_2$, согласно которым данный материал обладает низкой цитотоксичностью по отношению к клетками линии *Caco-2* (клетки аденокарциномы толстой кишки человека) и *MRC-5* (фибробласты легкого человека). При включении $\text{Cs}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{C}_2\text{F}_5\text{COO})_6]$ в диоксид кремния образуются частицы, обладающие более ярко-выраженными люминесцентными свойствами [48]. В этом случае поверхность частиц $\text{Cs}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{C}_2\text{F}_5\text{COO})_6]@\text{SiO}_2$ была модифицирована трансферрином, что привело к увеличению биосовместимости и клеточного проникновения. В работе [50] были получены материалы на основе наночастиц диоксида кремния и $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{NO}_3)_6]$. Полученные образцы проявляют фотоиндуцированную цитотоксичность, а показатели полумаксимального ингибирования наночастиц находятся примерно на одном уровне со значениями Радахлорина (в настоящее время Радахлорин используется для флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии злокачественных опухолей). Продолжив работу, авторы конъюгировали наночастицы $\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}@\text{SiO}_2$ с наноантителами *C7b* (антитела ламы, специфичны к рецептору *HER2*) [63]. Согласно биологическим исследованиям *in vitro* и *in vivo*, наночастицы $\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}@\text{SiO}_2$ обладают селективным проникновением как в клетки линии *SKBR3* (рак молочной железы человека, клетки которого обладают гиперэкспрессией к рецептору *HER2*), так и в опухоль, выращенную с использованием данных клеток, а также демонстрируют противоопухолевую активность под действием видимого света.

Одним из примеров органической матрицы для включения кластерных комплексов является поли(молочная-ко-гликолевая кислота) (**PLGA**). В работе [51] были получены наночастицы на основе $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{Mo}_6\text{Br}_8\}\text{Br}_6]$ и **PLGA**. Данные наночастицы стабильны в водном растворе при комнатной температуре в течении 4 недель, поскольку размер частиц за это время существенно не изменяется. Кластерный комплекс не образует с полимером химические связи и, следовательно, способен высвободиться из матрицы. Высвобождение комплекса играет

ключевую роль в процессе фотосенсибилизации синглетного кислорода, так как, находясь внутри матрицы, кластер защищен от облучения светом. В ходе работы было показано, что водная суспензия полученных наночастиц оказывает фототоксический эффект по отношению к раковым клеткам линии A2780 (клетки рака яичников). Расширив серию, авторы получили наночастицы на основе $Cs_2[\{Mo_6Br_8\}Br_6]$ или $Cs_2[\{Mo_6I_8\}(OOC_2F_5)_6]$ и PLGA [52, 66]. В ходе исследования было установлено, что при хранении водных суспензии в холодильнике они остаются стабильными в течении 3 месяцев. Несмотря на стабильность наночастиц, кластерный комплекс с бромидными терминальными лигандами гидролизуется, в то время как $Cs_2[\{Mo_6I_8\}(OOC_2F_5)_6]$ не претерпевает никаких изменений внутри матрицы. Кроме того, наночастицы на основе $Cs_2[\{Mo_6I_8\}(OOC_2F_5)_6]$ обладают наиболее выраженным фототоксическим эффектом, что позволяет рассматривать данный материал как перспективный агент для фотодинамической терапии.

В другой серии работ в качестве органической матрицы был использован полистирол. А. Белтран и соавторы сорбировали кластерные комплексы молибдена на поверхность полистирола (PS), функционализированного положительно заряженными группами триметиламмония, которые в свою очередь выступают в роли катиона для кластерного комплекса $[\{Mo_6I_8\}(CH_3COO)_6]^{2-}$ (рис. 1.6) [34].

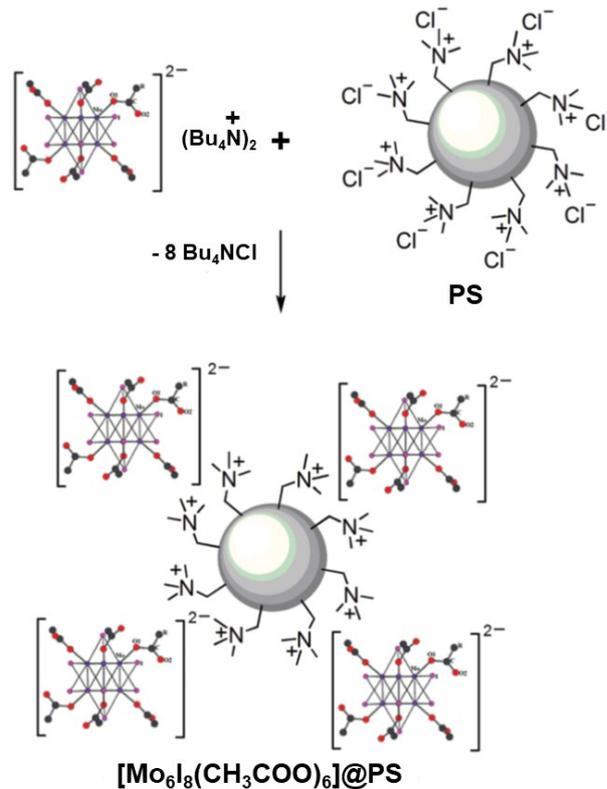


Рис. 1.6. Схема получения $[Mo_6I_8(CH_3COO)_6]@PS$ [34].

Материал $[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{CH}_3\text{COO})_6]@\text{PS}$ показал себя как эффективный агент для фотодинамической терапии по отношению к колониям бактерий золотистого стафилококка (*Staphylococcus Aureus*). В продолжении данной работы авторы изучили влияние морфологии органической матрицы на противомикробную активность [43]. Так, для сравнения были выбраны макропористый полимер и полимер в виде геля, которые отличаются друг от друга только степенью сшивки и пористостью структур. В ходе работы было обнаружено, что материал на основе макропористого полимера обладает большей эффективностью фотоиндуцированной антибактериальной активности.

Что касается водорастворимых матриц, то в настоящее время опубликовано всего три работы, в которых использовали водорастворимые полимеры для стабилизации кластерных комплексов молибдена. Так, в [69] были использованы трехблочные сополимеры, на основе полиэтиленоксида (PEO) и полипропиленоксида (PPO) в различных соотношениях. В качестве кластерных комплексов были выбраны $[\text{K}(\text{diglyme})(\text{CH}_3\text{CN})]_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}\text{I}_6]$ и $[\text{K}_2(\text{diglyme})(\text{CH}_3\text{CN})]_5[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}\text{I}_6]$. Данные комплексы растворимы в воде, однако очень быстро гидролизуются и выпадают в осадок. При добавлении в раствор трехблочного сополимера $(\text{PEO})_{13}(\text{PPO})_{30}(\text{PEO})_{13}$ кластерный комплекс остается стабильным в растворе в течение как минимум одного дня, и замещение терминальных лигандов не происходит. Связывание полимера с ионами калия является движущей силой для образования супрамолекулярного аддукта кластер-полимер. В присутствии протонированного дифлоксацина (антибиотика широкого спектра) наблюдается усиление интенсивности люминесценции материала кластер-полимер за счет переноса энергии с дифлоксацина на комплекс. Такое поведение позволяет рассматривать данный материал как сенсор на дифлоксацин.

В другой работе в качестве стабилизирующей матрицы был использован полистиролсульфонат натрия (PSS). Так, путём пропитки полимера PSS раствором кластерного комплекса $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{Mo}_6\text{X}_8\}(\text{NO}_3)_6]$ в ацетоне была получена серия водорастворимых материалов $\{\text{Mo}_6\text{X}_8\}@\text{PSS}$ (где X = Cl, Br, I) [70]. В ходе реакции происходит замещение терминальных NO_3^- лигандов на сульфогруппы PSS. Материал с иодом в кластерном ядре проявляет наилучшие люминесцентные свойства в сравнении с бромидным и хлоридным аналогами. Все образцы стабильны в водном растворе, проявляют низкую темновую токсичность по отношению к клеткам линии Нер-2 и HeLa (рак шейки матки человека), а $\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}@\text{PSS}$ проявляет умеренную фотоиндуцированную токсичность по отношению к клеткам линии HeLa. Однако полученные материалы практически не проникают в клетки ввиду большой молекулярной массы полимера (2,2 МДа).

В работе [71] был получен конъюгат на основе двухцепочечной ДНК человека и кластерного комплекса вольфрама $[\{\text{W}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_6](\text{NO}_3)_4$. Для синтеза такого конъюгата

горячий водный раствор расплавленной ДНК (расплавленная ДНК – это термически расплетенная ДНК) смешивали с водным раствором кластерного комплекса, а затем полученный продукт высаживали избытком этанольного раствора ацетата натрия. Предполагается, что при использовании расплавленной ДНК кластерный комплекс (исходный или частично гидролизанный) взаимодействует с азотистыми основаниями, образуя ковалентные и/или водородные связи с донорными атомами азота гетероциклов. Полученный конъюгат обладает высокой стабильностью в водной среде и низкой цитотоксичностью в отсутствие облучения. В то же время при рентгеновском облучении наблюдается значительное снижение клеточной пролиферации. Кроме того, ДНК в составе образца обеспечивает селективное проникновение образца в раковые стволовые клетки. В ходе исследований *in vivo* было показано, что один сеанс радиотерапии раковых стволовых клеток, инкубированных с конъюгатом, приводит к чрезвычайно низкой скорости роста опухоли у мышей.

Стоит отметить, что две последние работы (получение материалов на основе PSS и ДНК) были выполнены при участии автора, однако не вошли в состав диссертации.

Таким образом, включение кластерных комплексов в матрицы различной природы действительно является эффективным подходом для стабилизации люминофоров в водном растворе. Однако использование водорастворимых полимеров развито не широко. В контексте биомедицинских применений материалы, растворимые в воде, имеют ряд неоспоримых преимуществ в сравнении с нерастворимыми, а именно – низкую вероятность закупорки сосудов при внутривенном введении, более глубокое проникновение в ткани, более равномерное распределение препарата в ткани и др.

Из многообразия полимеров можно выделить полисахариды, которые зарекомендовали себя как эффективные стабилизаторы для различных наноразмерных соединений. Среди природных полимеров встречаются как нерастворимые в воде, так и водорастворимые. Принимая во внимание преимущества водорастворимых стабилизирующих агентов для применения в областях биологии и медицины, мы остановили свой выбор на водорастворимых полисахаридах и им будет посвящена следующая глава.

1.2. Природные полисахариды как стабилизирующие матрицы

1.2.1. Водорастворимые полисахариды

Полисахариды представляют собой класс биополимеров, которые состоят из простых моносахаридных звеньев (рис. 1.7). Моносахариды связаны между собой гликозидными связями, которые могут быть образованы с любой из гидроксильных групп моносахарида, что придает полисахаридам способность формировать как линейные, так и разветвленные полимеры. Природные полисахариды получают из различных источников, таких как водоросли (альгиновая кислота), растения (пектин, целлюлоза, крахмал), микроорганизмы (декстран) и животные (хитозан, гиалуроновая кислота) [72].

Полисахариды могут содержать в своем составе большое количество функциональных групп, таких как амины, сульфаты и карбоновые кислоты. Различия в составе моносахаридов, разветвленности цепи и молекулярной массе определяют их физические и химические свойства [73]. Наличие различных функциональных групп позволяет легко модифицировать полимеры и получать производные полисахаридов с заданными свойствами (например, высокой растворимостью, способностью прочно связываться с лекарственными препаратами, адресной доставкой и т.д.). Ввиду природного происхождения полисахариды являются высокостабильными, биоразлагаемыми, а также обладают низкой токсичностью и высокой биосовместимостью [74]. Кроме того, данные полимеры получают из возобновляемых ресурсов, что обеспечивает их относительно низкую стоимость. Благодаря всем этим преимуществам такие полимеры находят широкое применение в областях биологии и медицины.

Как уже отмечалось выше, для применения в биомедицинском контексте водорастворимые материалы имеют ряд преимуществ. Поэтому далее будут рассмотрены наиболее распространенные водорастворимые полисахариды.

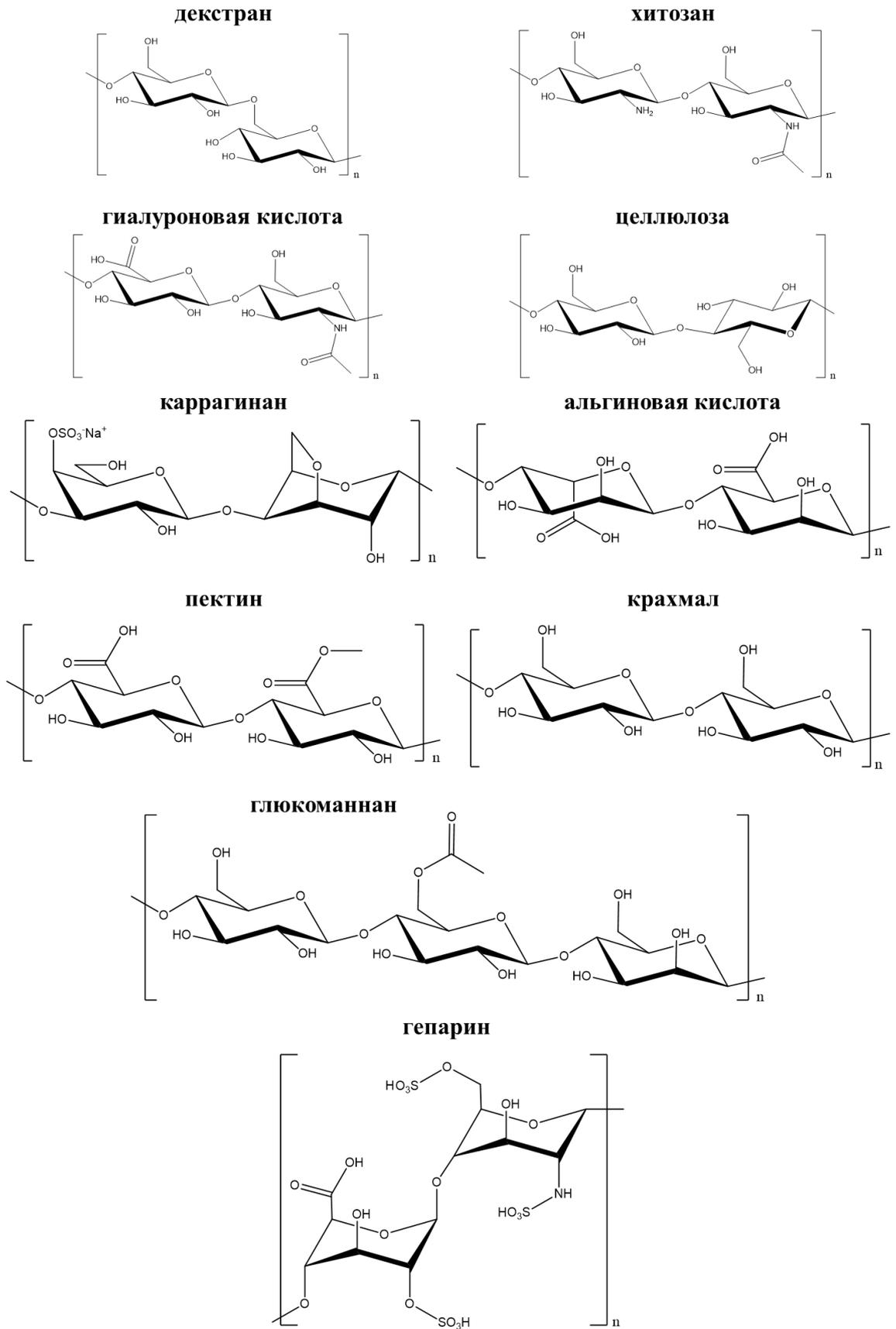


Рис. 1.7. Примеры строения распространённых полисахаридов.

Декстран

Декстран представляет собой разветвленный полимер глюкозы, основную цепь которого составляют D-глюкопиранозные звенья, связанные α -1,6-гликозидными связями (примерно 95 %), а α -1,3-гликозидные связи образуют боковые цепи (рис. 1.7). Декстран получают при культивировании уксуснокислых бактерий (например, *Leuconostoc mesenteroides*) и сахарозы [75]. Полисахарид обладает высокой растворимостью в воде, а также является биоразлагаемым и биосовместимым. В настоящее время препараты на основе декстранов нашли широкое применение в медицине. Водные растворы декстранов используют в качестве плазмозамещающих препаратов (полиглюкин ($M_w = 50-70$ кДа) и реополиглюкин ($M_w = 30-40$ кДа)), комплекс железо-декстран назначают для лечения железодефицитной анемии. Также показана эффективность применения гидрогелей на основе декстрана для регенерации кожных покровов при ожогах [76] и в качестве биосовместимого биоразлагаемого хирургического клея, останавливающего кровотечение [77].

Хитозан

Хитозан содержит в своем составе глюкозамин и N-ацетил-D-глюкозамин, связанные β -1,4-гликозидными связями (рис. 1.7). Хитозан получают путем частичного или полного щелочного деацетилирования хитина. Хитин является природным полисахаридом, содержащимся, в частности, в панцире ракообразных, кутикуле насекомых и клеточных стенках грибов, и является вторым по распространенности природным полимером после целлюлозы [78]. Хитозан растворим в воде только при кислом pH, при этом происходит протонирование аминогрупп, что приводит к переходу полимера в катионную форму. Ограниченная растворимость хитозана может быть преодолена путем химической модификации. Например, карбоксиметилирование хитозана приводит к образованию N-карбоксиметилхитозана (CMCh), который растворим в воде в широком диапазоне pH [79]. Хитозан является биосовместимым и биоадгезивным полимером, то есть при набухании может прилипать к коже или слизистым оболочкам. Такие свойства позволяют использовать его в качестве перевязочных или гемостатических (останавливающих кровь) материалов, а также для создания лекарственных препаратов, поступающих в организм через слизистые оболочки [80, 81]. Хитозан нашел широкое применение в сельском хозяйстве как биопестицид [82]. В настоящее время во многих странах он продается в качестве пищевой добавки для снижения веса и уровня холестерина [83].

Гиалуроновая кислота

Гиалуроновая кислота представляет собой линейный полисахарид, состоящий из чередующихся дисахаридных мономеров, а именно α -1,4-D-глюкуроновой кислоты и β -1,3-N-ацетил-D-глюкозамина (рис. 1.7). Этот природный полианионный полисахарид является основным компонентом внеклеточного матрикса соединительных тканей. Коммерчески

доступную гиалуроновую кислоту получают из различных источников, например, путем экстракции из пуповины младенца, петушиного гребня, синовиальной жидкости или путем культивирования бактерий *Streptococci* [84]. К преимуществам данного полисахарида можно отнести отсутствие токсичности, биосовместимость и мукоадгезию (адгезия к поверхности слизистых тканей), благодаря чему он нашел широкое применение в областях биологии и медицины. Гиалуроновая кислота является хорошим кандидатом для адресной доставки лекарств, так как ее рецептор (CD44) сверхэкспрессируется в некоторых типах раковых клеток [85, 86]. В настоящий момент гиалуроновую кислоту можно встретить в составе многих коммерчески доступных препаратов. Лекарства на основе гиалуроновой кислоты назначают для смазки и механической поддержки суставов при остеоартрите, вязкие гели полисахарида используют для заживления ран или при установке искусственного хрусталика, а капли, содержащие гиалуроновую кислоту, применяют для лечения синдрома «сухого глаза». В косметологии огромной популярностью пользуются инъекции гиалуроновой кислоты для разглаживания морщин и увлажнения кожи [73, 87].

Целлюлоза

Целлюлоза представляет собой линейный гомополисахарид, состоящий из β -1,4-связанных глюкопиранозных звеньев (рис. 1.7). Гидроксильные группы целлюлозы могут образовывать большое количество водородных связей внутри одной цепи (внутримолекулярные водородные связи) или между различными цепями (межмолекулярные водородные связи) полимера. Из-за сильных водородных связей чистая целлюлоза нерастворима в воде. Целлюлоза является наиболее распространенным природным полимером, а ее запасы считаются неисчерпаемыми, поэтому она легко доступна и имеет низкую стоимость. Основным источником этого полисахарида являются растения: в кустарниках содержится 30 % целлюлозы, в лесах - 40-50 %, в лубяных растениях (лен) - 65-70 %, в хлопковых волокнах - свыше 90 % [88].

В настоящее время большое внимание уделяется водорастворимым производным полимера – эфирам целлюлозы. Эфиры целлюлозы могут быть получены различными способами, например, с помощью реакции Вильямсона путем взаимодействия полисахарида с алкилгалогенидами в присутствии сильного основания. Такой подход чаще всего используется для введения карбоксильных групп (синтез карбоксиметилцеллюлозы (СМС)) или гидроксильных групп (синтез 3-гидроксипропилцеллюлозы (НРС) и 2-гидроксиэтилцеллюлозы (НЕС)) [89]. Карбоксиметилцеллюлоза является широко коммерчески доступным производным целлюлозы и благодаря биосовместимости и низкой стоимости находит применение во многих областях. Так, например, СМС используется как эмульгатор/стабилизатор в фармацевтике и при производстве косметики, а также является пищевой добавкой (E466). В медицине

карбоксиметилцеллюлоза может выступать как носитель для доставки лекарств или использоваться для создания перевязочного материала [90].

Другие водорастворимые полимеры

Помимо декстрана, хитозана, гиалуроновой кислоты и целлюлозы к водорастворимым полисахаридам относятся глюкоманнан, каррагинан, альгиновая кислота, крахмал, гепарин, пектин и многие другие, в состав которых входят различные моносахара и функциональные группы (рис. 1.7). Такие полимеры широко доступны, биосовместимы, стабильны, что делает их предметом многочисленных исследований.

Полисахариды зарекомендовали себя как эффективные стабилизирующие агенты для различных наночастиц, а гибридные материалы на их основе могут быть использованы во многих областях биологии и медицины. В следующих разделах литературного обзора будет детально рассмотрено использование полисахаридов для стабилизации неорганических люминофоров, а именно квантовых точек и апконверсионных наночастиц.

1.2.2. Стабилизация квантовых точек полисахаридами

Квантовые точки (от англ. quantum dots (QD)) представляют собой полупроводниковые наноматериалы с размером 1-10 нм. Яркими представителями квантовых точек являются халькогениды металлов II и III групп (например, CdS и ZnS), а также тройные халькогениды индия (например, Ag-In-S). В последнее десятилетие наблюдается большой интерес ученых к исследованию квантовых точек, так как они обладают уникальными оптическими свойствами, такими как люминесценция с высоким квантовым выходом, широкий спектр поглощения (от видимого до ближнего ИК диапазона), узкий и симметричный спектр эмиссии (рис. 1.8).

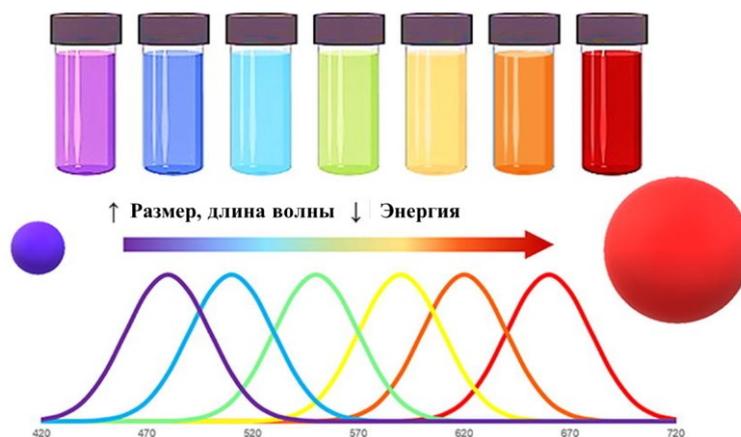


Рис. 1.8. Зависимость длины волны люминесценции QD от размера частиц.

Дело в том, что при переходе от объемного вещества к наноразмерным частицам возникает так называемый эффект размерного квантования. Другими словами, при уменьшении размера частиц энергетический спектр вещества из непрерывного превращается в дискретный, а ширина запрещенной зоны увеличивается (рис. 1.9). Таким образом, спектр эмиссии напрямую зависит от размера частиц [91, 92]. Благодаря оптическим свойствам, которые могут быть настроены в зависимости от размера QD, а также фотостабильности, квантовые точки могут найти и находят применение во многих областях, например, в электронике (светодиодные дисплеи (LED)) [93], фотовольтаике (элементы солнечных ячеек) [94] и биомедицине (биологические маркеры, агенты для биовизуализации, биосенсоры) [95].

Самым распространённым и простым методом синтеза QD является коллоидный метод, суть которого заключается в получении квантовых точек путем осаждения катионов металлов M^{n+} (где $M = Cd, Zn, In$ и др.) из раствора. Путем варьирования параметров реакции, таких как температура, концентрация реагентов, соотношение анионных и катионных частиц, растворитель, можно получать QD, необходимого размера и состава.

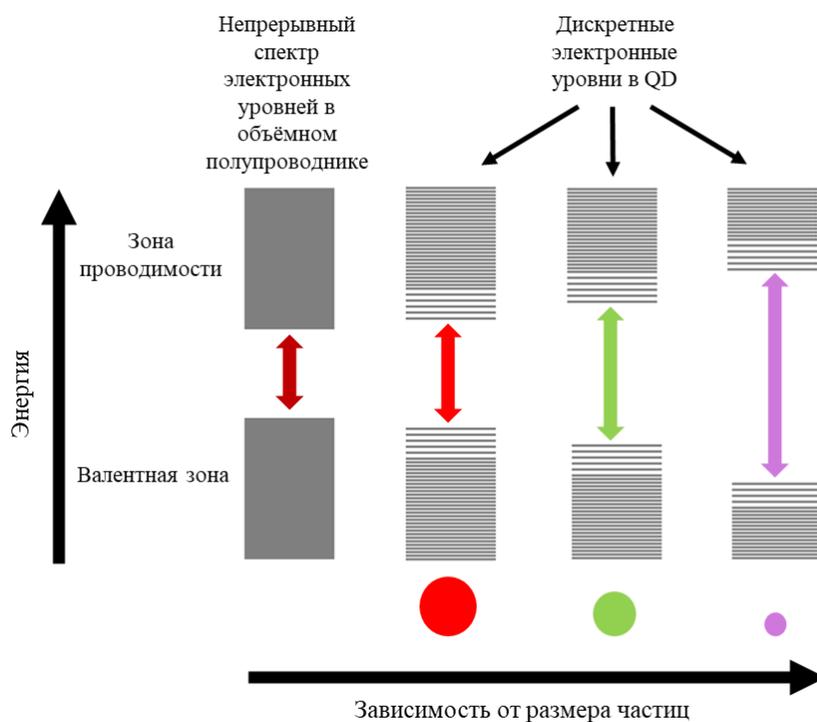


Рис. 1.9. Схематическая иллюстрация строения энергетических уровней в полупроводниковом материале в зависимости от размера частиц.

Помимо размера на люминесцентные свойства квантовых точек также влияет наличие дефектов, степень кристалличности и наличие металлов-допантов в системе. Кроме того, еще одним важным компонентом QD является поверхностное покрытие, которое «экранирует» поверхность квантовой точки от агрессивного воздействия окружающей среды и определяет способность квантовых точек к диспергированию в различных растворителях [92].

Как уже было сказано выше, квантовые точки могут найти применение в области биомедицины в качестве агентов для биовизуализации, люминесцентных меток или биосенсоров. Для реального применения необходимо, чтобы квантовые точки обладали низкой токсичностью, были устойчивы в воде, а также сохраняли свои уникальные свойства. Наиболее популярными, а, следовательно, наиболее изученными являются кадмиевые квантовые точки (CdS, CdSe и CdTe). Однако из-за наличия тяжелого металла в составе они крайне токсичны, ввиду чего их необходимо покрывать защитным слоем, например, биосовместимой оболочкой (полимерами, мицеллами и др.). В последний годы широко развивается химия бинарных (ZnS) и тройных (AgInS, CuInS, AgInS/ZnS) QD без кадмия (“cadmium-free quantum dot”). QD такого состава относят к нетоксичным, «зеленым» наночастицам [96].

Помимо токсичности тяжелых металлов еще одним ограничителем для использования QD в биомедицине является то, что большинство из них не образует устойчивых дисперсий в воде. Дело в том, что QD (по большей части кадмиевые) как правило получают в высококипящих

органических растворителях при повышенной температуре с использованием небольших гидрофобных молекул (например, триоктилфосфиноксида или гексадециламина) в качестве стабилизаторов поверхности, которые также называют лигандами [97]. При переводе таких QD в водную среду они агрегируют, что приводит к снижению квантового выхода люминесценции. Существует два основных подхода для перевода QD в водный раствор [98]: (1) замещение/покрытие гидрофобных покрытий QD водорастворимыми поверхностно-активными веществами, полимерами, мицеллами и лигандами; (2) прямой синтез QD в водном растворе с использованием водорастворимых стабилизаторов. Однако, наиболее часто используемые стабилизаторы для синтеза квантовых точек в водном растворе, такие как меркаптоуксусная кислота или цетилтриметиламмония бромид, токсичны и не являются биоразлагаемыми [99]. Кроме того, они не обеспечивают длительную стабильность в водном растворе ввиду деградации, фотолиза или окисления [99].

Таким образом, ввиду токсичности металлов или низкой стабильности в водном растворе необходимо покрывать поверхность QD различными молекулами стабилизаторами. Для достижения данной цели широко используются природные полисахариды, к преимуществам которых можно отнести биосовместимость и низкую токсичность. Полимер пассивирует поверхность, обеспечивая коллоидную и оптическую стабильность наночастиц в воде и снижая токсичность QD (рис. 1.10). Кроме того, в структуру полимера могут быть введены функциональные группы или биомолекулы для придания адресной доставки, что очень важно при использовании материалов в качестве агентов для биовизуализации или люминесцентных меток.

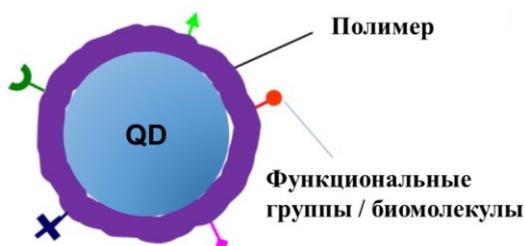


Рис. 1.10. Схематичное изображение QD, покрытых полимером.

В настоящий момент можно выделить 4 основных стратегии получения вододиспергируемого материала QD/полимер (рис. 1.11) [97]: (а) покрытие QD полимером (гидрофобное или электростатическое взаимодействие); (б) присоединение полимера к лиганду на поверхности; (в) замещение лигандов на полимер; (г) использование полимера в качестве темплата для синтеза QD. Далее подробно будут рассмотрены каждый из подходов для синтеза материалов на основе QD и водорастворимых полисахаридов.

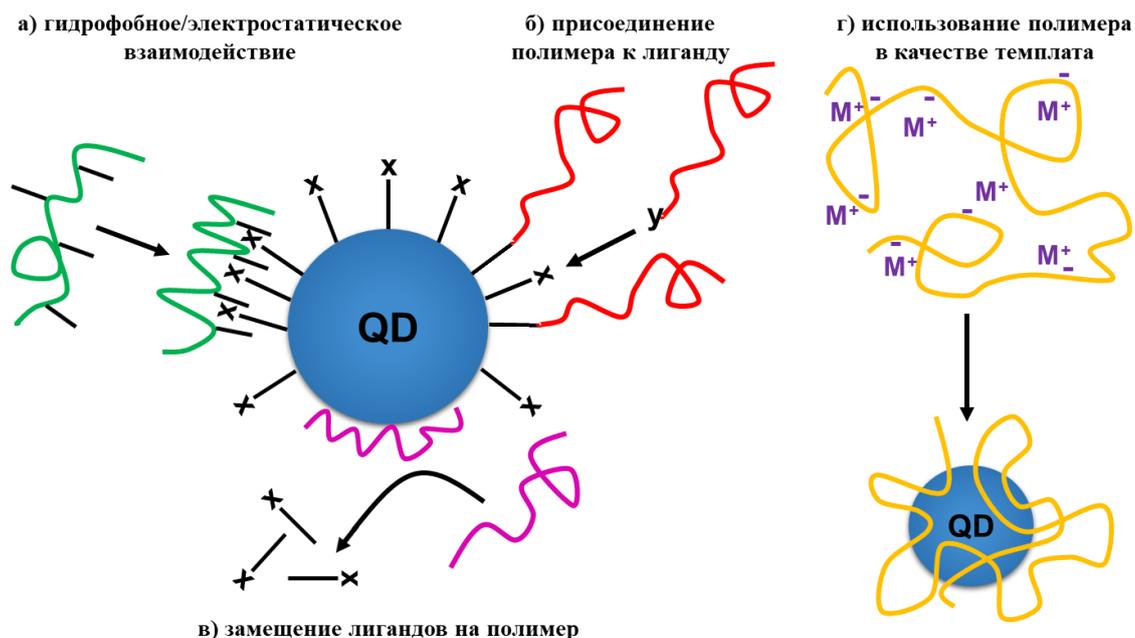


Рис. 1.11. Схематичное изображение основных стратегий получения материала QD/полимер: гидрофобное/электростатическое взаимодействие (а), присоединение полимера к лиганду (б), замещение лигандов на полимер (в), использование полимера в качестве темплата (г).

1.2.2.1. Покрытие QD полимером (гидрофобное взаимодействие)

Как уже было сказано выше, большинство высоко люминесцентных квантовых точек синтезируют в неполярных органических растворителях и, следовательно, QD имеют гидрофобную поверхность. Для перевода в водный раствор и одновременно для сохранения оптических свойств QD покрывают амфифильными полимерами (полимеры, которые обладают одновременно гидрофильными и гидрофобными свойствами), при этом гидрофобный фрагмент полимера взаимодействует с гидрофобной поверхностью QD.

Так, в работе [100] квантовые точки CdSe/ZnS, покрытые триоктилфосфиноксидом (ТОРО), были переведены в водный раствор с использованием амфифильного полисахарида. Для получения амфифильного полимера полисахарид альгинат натрия был окислен с помощью периодата натрия до 2,3-диальдегида, а затем к нему был присоединен гидрофобный фрагмент – октиламин. Гидрофобные фрагменты модифицированного альгината натрия (октилы) «интеркалируются» в гидрофобный слой на поверхности QD (рис. 1.12). Данное взаимодействие приводит к фазовому переносу гидрофобных квантовых точек из органических растворителей в водный раствор за счет гидрофильной основы полимера (альгината натрия). Стоит отметить, что покрытие QD полимером не приводит к изменению люминесцентных свойств. Полученный материал имеет отрицательный заряд на поверхности и самостоятельно не проникает в клетки, что было показано на клетках линии ВНК-21 (фибробласты почек хомяка). Однако, отрицательно заряженные QD/полимер и вирус денге в присутствии поликатионного соединения полибрена

способны образовывать комплекс, который проникает в клетки (на снимках конфокального микроскопа наблюдается зеленая люминесценция). При добавлении комплекса QD/полимер-вирус к клеткам, содержащим аллофиоцианин (противовирусное средство), интенсивность люминесценции заметно уменьшается. Таким образом, полученный QD/полимер-вирус может выступать как диагностический зонд для быстрого и эффективного скрининга лекарственных препаратов.

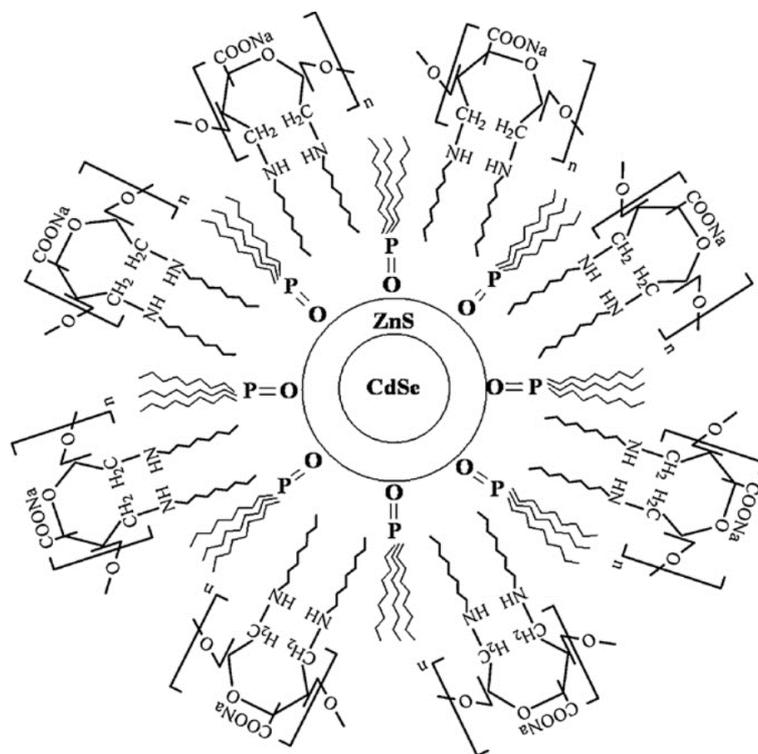


Рис. 1.12. Схематичное изображение квантовых точек CdSe/ZnS, покрытых амфифильным полимером альгинат-октиламино (гидрофобное взаимодействие) [100].

В серии работ З. Хатун и др. [101, 102] были получены материалы на основе кадмиевых квантовых точек, стабилизированных ТОРО, и низкомолекулярного гепарина. Для создания полимера, который образует мицеллы в водном растворе, к гепарину была присоединена дезоксихолевая (желчная) кислота. Она не только выступает в роли гидрофобного фрагмента итогового полимера, но и способствует всасыванию материала QD-полимер в тонком кишечнике. Согласно данным МТТ-теста, полученные образцы не проявляют цитотоксического эффекта по отношению к клеткам линии Сасо-2 (клетки аденокарциномы толстого кишечника). В ходе экспериментов на мышах было установлено, что пероральное введение QD-полимер в организм способствует равномерному распределению визуализирующего агента по всем органам, а спустя 72 часа наблюдается полное исчезновение люминесценции, что свидетельствует о выведении квантовых точек из организма. Кроме того, было установлено, что кадмий не накапливается в органах и быстро выводится из организма.

Как уже было отмечено выше, одним из преимуществ полисахаридов является возможность присоединения молекул для придания направленной доставки, что и было продемонстрировано в работах [103-106]. Рассмотрим поподробней статью Д. Денг и др. [103]. В данном исследовании авторы получили тройные квантовые точки $\text{CuInS}_2/\text{ZnS}$. Интересно отметить, что при получении этих квантовых точек 1-додекантиол был одновременно использован как источник серы и как стабилизирующий агент. Такой способ синтеза позволяет получить индиевые QD с яркой люминесценцией (квантовый выход люминесценции достигает 80 %), настраиваемой в широком диапазоне (от желтого до ближнего инфракрасного региона). Хитозан, последовательно модифицированный по второму положению янтарной кислотой, а затем октаналем, представляет собой амфифильный полимер, который самопроизвольно формирует сферические мицеллы с гидрофобным ядром и гидрофильной оболочкой. Полученные мицеллы были модифицированы фолиевой кислотой. Гидрофобные квантовые точки (1-додекантиол на поверхности) за счет гидрофобного взаимодействия включаются в мицеллы на основе хитозана (степень включения QD в мицеллы может достигать 20 % от загрузки QD). После перевода квантовых точек в воду посредством включения в мицеллы происходит снижение интенсивности люминесценции QD на 40 %. Но в виду того, что исходные квантовые точки имеют высокие показатели квантового выхода люминесценции, то при включении QD в мицеллы эмиссия остается достаточно на высоком уровне. Кроме того, при выдерживании образцов в водном растворе в течении 3-5 дней не происходит заметного тушения эмиссии. Согласно исследованиям, проведенным *in vitro* и *in vivo*, материал QD-полимер не обладает токсичностью при исследуемых концентрациях ($C[\text{QD}] \sim 10$ мкг/мл для исследований *in vitro*, ~ 8 мкг/г веса животного - *in vivo*), а наличие фолиевой кислоты обеспечивает адресную доставку мицелл в клетки, у которых есть специфичность к рецептору фолиевой кислоты (Bel-7402 – клетки рака печени). Таким образом, полученный материал может рассматриваться как биозонд для оценки эффективности адресной доставки мицелл в опухоли.

1.2.2.2. Покрытие QD полимером (электростатическое взаимодействие)

Следующий способ покрытия квантовых точек полимером заключается в использование полиэлектролитов (полимеров, мономерные звенья которых способны к электролитической диссоциации в растворе) для стабилизации квантовых точек в водном растворе. Данные полимеры покрывают поверхность QD за счет электростатического взаимодействия. В качестве преимуществ данного подхода можно выделить отсутствие сильных химических изменений на поверхности квантовых точек, что позволяет избежать образования структурных дефектов и изменения электронных состояний материала.

Наиболее распространенные стабилизирующие агенты в водном растворе, такие как меркаптоуксусная или меркаптопропионовая кислоты, образуют на поверхности QD отрицательный заряд за счет карбоксильных групп. Среди полисахаридов можно выделить наиболее часто используемый полиэлектролит – хитозан. Аминогруппы, входящие в состав данного полимера, протонируются в кислой среде, и образуется положительно заряженный хитозан. Использование хитозана в качестве стабилизирующего полиэлектролита было продемонстрировано во многих работах [107-112]. Данный подход способствует увеличению стабильности квантовых точек в водном растворе и снижает их токсичность. Кроме того, В. Гормейд и др. [110] продемонстрировали, что в отличие от исходных квантовых точек материал QD-хитозан проникает в клетки линии NIH3T3 (эмбриональные фибробласты мыши). Дело в том, что клеточная мембрана имеет отрицательный заряд и происходит отталкивание анионных квантовых точек. В то же время использование положительно заряженного полимера в качестве покрытия способствует клеточному проникновению, что в свою очередь открывает возможность использовать полученный материал для клеточной биовизуализации.

Для многих биомедицинских применений важно не только клеточное проникновение исследуемого материала, но и также его адресная доставка. Для обеспечения адресной доставки к материалам зачастую присоединяют специальные биомолекулы, что было показано в предыдущем разделе «Покрытие QD полимером (гидрофобное взаимодействие)» [103-106]. В работах [113, 114] использовался аналогичный подход: материал, полученный за счет электростатического взаимодействия квантовых точек Mn:ZnS и хитозана, модифицированного фолиевой кислотой, проникает только в клетки, проявляющие сверхэкспрессию рецептора фолиевой кислоты. Однако, так как некоторые полисахариды сами по себе обладают специфичностью к некоторым рецепторам, то для адресной доставки присоединение биомолекул к полимеру не является обязательным условием.

Так, в работе [115] была использована гиалуроновая кислота (НА), которая обеспечивает адресную доставку в клетки, проявляющие сверхэкспрессию рецептора CD44. Что касается квантовых точек, то для перевода в водный раствор гидрофобное покрытие CdSe/CdS/ZnS, состоящее из олеиламина, олеиновой кислотой и триоктилфосфина, было замещено на молекулы N-(2-аминоэтил)-6,8-димеркаптооктанамида, которые содержат в своем составе дитиол для стабилизации поверхности QD и первичный амин для придания положительного заряда поверхности. Электростатическое взаимодействие между квантовыми точками с положительно заряженной поверхностью и гиалуроновой кислотой с отрицательно заряженными карбоксильными группами приводит к образованию коллоида, стабильного в течении нескольких недель без образования агрегатов (рис. 1.13). В ходе работы было показано, что добавление НА к QD приводит к уменьшению их цитотоксичности по отношению к клеткам

линии HeLa (клетки рака шейки матки) и фибробластам кожи человека. Кроме того, QD-НА проникает в клетки линии HeLa, которые имеют сверхэкспрессию рецептора НА, и не проникает в фибробласты кожи человека, которые использовались как отрицательный контроль. Стоит отметить, что исходные квантовые точки проникают в обе клеточные линии. Избирательное проникновение материала может быть использовано для визуализации раковых клеток, а также для визуализации лимфатических сосудов, поскольку гиалуроновая кислота может быть доставлена в них с помощью рецепторов лимфатических сосудов (LYVE-1). С использованием QD-НА авторам удалось визуализировать лимфатические сосуды *in vivo* в течение суток. Использование таких визуализирующих агентов позволит наблюдать за прогрессированием опухоли в реальном времени *in vivo*, а также проводить скрининг противоопухолевых препаратов.

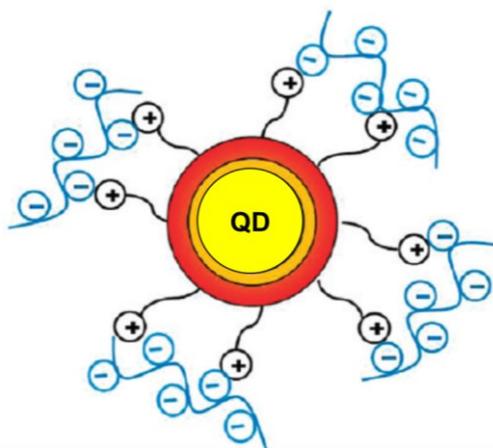


Рис. 1.13. Схематичное изображение квантовых точек, покрытых гиалуроновой кислотой (электростатическое взаимодействие).

Материалы на основе квантовых точек и полисахаридов могут выступать в роли флуоресцентных сенсоров. Так, в [116] был получен материал CdS-СМС (СМС – карбоксиметилцеллюлоза), с помощью которого можно просто и эффективно определять бычий сывороточный альбумин *in vitro*, а в [117] показано, что конъюгат CdSe/CdS-хитозан-ХО (ХО - индикатор ксиленовый оранжевый) является селективным сенсором на ионы Pb²⁺.

Наиболее интересной работой является [118], в которой был разработан эффективный сенсор для определения Zn²⁺ *in vivo*. Очень важно контролировать содержание ионов цинка в клетках, так как хорошо известно, что он является ключевым регуляторным фактором в клетках предстательной железы, а также в развитии и прогрессировании рака простаты. Квантовые точки с отрицательным поверхностным зарядом за счет стабилизирующего агента (меркаптоуксусной кислоты) связываются с карбоксиметилхитозаном (СМCh) посредством электростатического взаимодействия, что приводит к снижению их токсичности и увеличению биосовместимости. При добавлении к водной дисперсии QD-полимер раствора с ионами цинка происходит усиление

фотолюминесценции. Дело в том, что CMCh может селективно абсорбировать Zn^{2+} путем взаимодействия атомов металла с атомами кислорода и азота полимерной цепи с образованием сшитых полимеров (рис. 1.14). В свою очередь поверхность квантовых точек содержит много дефектов, которые являются центрами безызлучательной рекомбинации. Добавление ионов цинка в систему приводит к пассивации поверхности за счет сшивки полимера, что в свою очередь приводит к усилению фотолюминесценции. В результате исследований, проведенных *in vivo*, было установлено, что полученный материал является селективным и чувствительным наносенсором для определения содержания Zn^{2+} в клетках.

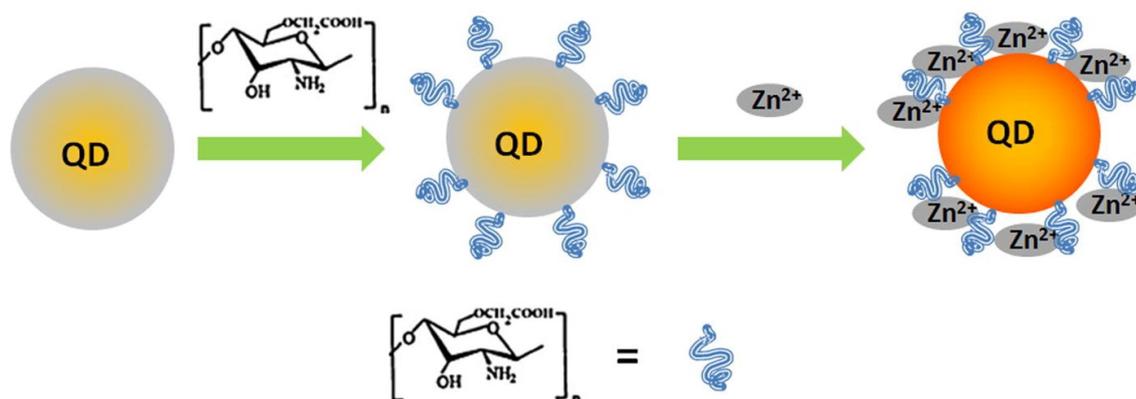


Рис. 1.14. Схематическое представление механизма обнаружения Zn^{2+} с помощью QD-CMCh [118].

В продолжении работы авторы разработали сенсор на лизоцим (Lyz), работающий по типу «включение-выключение» люминесценции [119]. Лизоцим представляет собой относительно небольшой белок, состоящий всего из 129 аминокислот. Повышенное содержание лизоцима в моче и сыворотке крови может выступать индикатором лейкемии (рака крови) или менингита, в связи с чем разработка надежного и чувствительного метода для определения Lyz является актуальной задачей. Лизоцим может распознавать N-ацетилглюкозамины (мономерные фрагменты хитозана) и гидролизовать гликозидные связи, что приводит к разрушению полимера. Как уже было показано выше, при добавлении раствора с ионами цинка к QD-карбоксиметилхитозан происходит усиление интенсивности люминесценции («включение» люминесценции). При добавлении в систему Lyz наблюдается снижение интенсивности эмиссии – «выключение» люминесценции. Это связано с тем, что лизоцим гидролизует хитозан, что в свою очередь приводит к высвобождению Zn^{2+} с поверхности QD-карбоксиметилхитозан. Кроме того, Lyz способен образовывать комплекс с квантовыми точками, что приводит к снижению люминесценции системы. Полученный материал проявил себя как сверхчувствительный наносенсор к лизоциму, который обладает высокой селективностью и является удобным для реального анализа. Данный образец был успешно апробирован в качестве сенсора для определения концентрации лизоцима в сыворотке крови человека.

1.2.2.3. Присоединение полимера к лиганду

Следующий метод покрытия квантовых точек полимером основан на ковалентном связывании функциональных групп полимера с поверхностью QD. В работе [120] были получены гибридные нанозонды для визуализации, состоящие из суперпарамагнитного оксида железа (SPIO) и квантовых точек $\text{AgInS}_2/\text{ZnS}$. Для этого SPIO, покрытый декстраном, обрабатывали периодатом натрия, что приводит к окислению полимера до 2,3-диальдегида декстрана. Затем к коллоидному раствору SPIO добавили $\text{AgInS}_2/\text{ZnS}$, покрытые глутатионом (глутатион представляет собой трипептид γ -глутамилцистеинилглицин). В ходе данной реакции происходило ковалентное связывание полимера с поверхностью QD за счет образования основания Шиффа между альдегидными группами полисахарида и аминогруппой глутатиона, которое далее восстанавливали боргидридом натрия.

Помимо реакции образования основания Шиффа для ковалентного присоединения полимера к поверхности квантовых точек используют реакцию взаимодействия карбоксильной группы и аминогруппы, что приводит к образованию соответствующего амида карбоновой кислоты [121, 122]. Для активации карбоксильной группы применяют 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид (EDC) и N-гидроксиsuccинимид (NHS) или N-гидроксисульфосукцинимид (сульфо-NHS). Так, например, в [121] сначала были получены квантовые точки CdTe, стабилизированные глутатионом (GSH), который обеспечивает наличие карбоксильных групп на поверхности QD. Далее полученные частицы обрабатывали раствором EDC/NHS, а затем добавляли полимер с аминогруппами – аминодекстран (DA-NH₂) (рис. 1.15). Ковалентное связывание CdTe с аминодекстраном приводит к получению биосовместимого материала с высоким квантовым выходом люминесценции (80 %). В [122] $\text{CuInS}_2/\text{ZnS}$ квантовые точки, покрытые 11-меркаптоундекановой кислотой, аналогичным образом ковалентно связывали с гликоль-хитозаном. Полученный материал проявил себя как эффективный агент для биовизуализации *in vivo*.

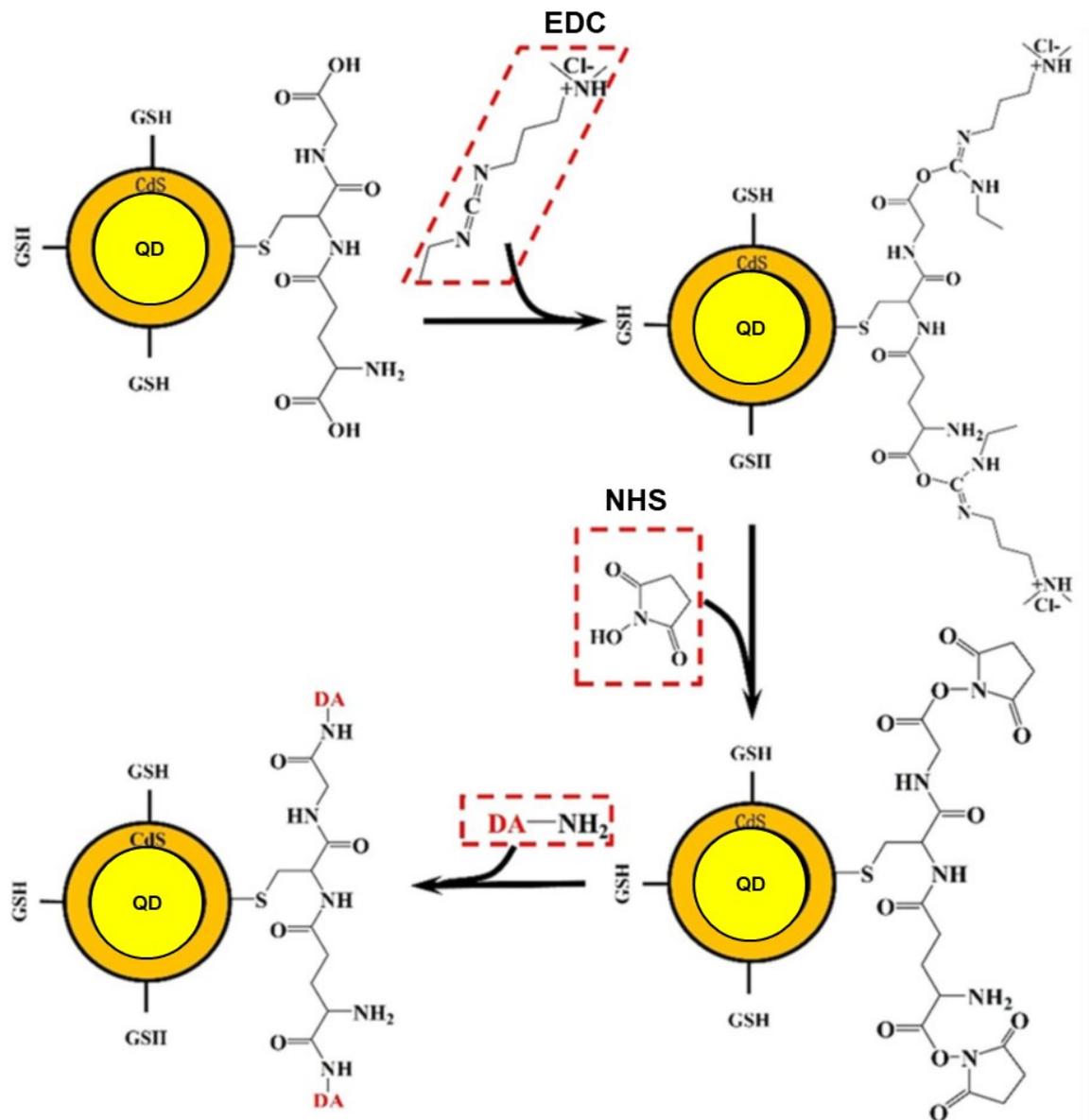


Рис. 1.15. Схема реакции ковалентного связывания квантовых точек и аминодекстрана [121].

В работе [123] также использовалась реакция образования амида карбоновой кислоты, но при этом ковалентное связывание происходило между аминогруппами на поверхности квантовых точек и карбоксильными группами стабилизирующего полимера – гиалуроновой кислоты (HA) (рис. 1.16). Для синтеза AgMn:In₂S₃/ZnS квантовых точек использовали глутатион, который является источником не только карбоксильных, но и аминогрупп на поверхности наночастиц. В ходе *in vitro* экспериментов было продемонстрировано, что QD-HA не оказывают токсического эффекта на клетки линии V16F1 (клетки меланомы мыши) и HeLa (клетки раки шейки матки). Полимер обеспечивает адресную доставку люминесцентного образца в клетки V16F1, которые обладают сверхэкспрессией рецептора CD44, что позволяет рассматривать материал как агент для биовизуализации.

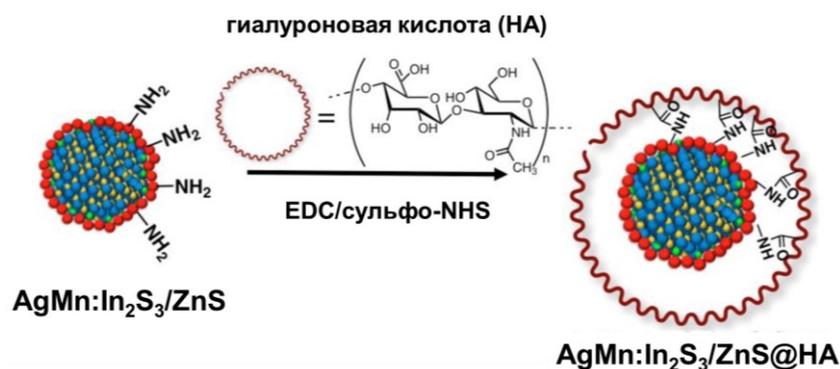


Рис. 1.16. Схематичное изображение ковалентного связывания квантовых точек и гиалуроновой кислоты [123].

1.2.2.4. Замещение лигандов на полимер

Замещение лигандов на полимер широко используется многими исследовательскими группами для модификации поверхности квантовых точек. В ходе таких реакций происходит замена лигандов, введенных во время синтеза квантовых точек, на функциональные группы полимера. Наиболее часто используют полимеры с функциональными группами, такими как тиольные, амина, фосфино и карбокси группы, которые могут пассивировать поверхность QD сильнее, чем исходные лиганды.

Во многих работах было показано, что замещение лигандов на природные полисахариды приводит к увеличению люминесцентных свойства квантовых точек, а также к повышению их стабильности в водном растворе [124-129]. Так, например, обработка водной дисперсии квантовых точек CdTe/CdS, стабилизированных меркаптоуксусной кислотой, водным раствором карбоксиметилхитозана (CMCh) приводит к стабилизации QD полимером за счет хелатирования амидной и карбоксильной группами [129]. Полученный QD-CMCh имеет узкий спектр люминесценции с максимумом эмиссии на 530 нм, а квантовый выход люминесценции достигает 75 %. При выдерживании исходных квантовых точек и QD-CMCh в водном растворе было обнаружено, что в обоих случаях в первые 10 дней интенсивность люминесценции увеличивается почти на 60 % и остается неизменной в течение примерно 30 дней. Увеличение интенсивности люминесценции объясняется фотоокислением ненасыщенных атомов теллура, на которых происходит безызлучательная рекомбинация. Со временем в случае квантовых точек, стабилизированных меркаптоуксусной кислотой, начинает выпадать осадок, и через 4 месяца люминесценция полностью исчезает, что свидетельствует об их агрегации. Вместе с тем QD-CMCh остаются стабильны в растворе более 10 месяцев, что говорит об эффективной стабилизирующей способности карбоксиметилхитозана. На примере клеток линии MDCK (клетки почки собаки) была продемонстрирована возможность применения полученного

материала в качестве визуализирующего агента, поскольку он проникает в клетки, не вызывая каких-либо видимых повреждений и не подавляя их рост. Продолжив исследования, авторы предложили использовать CdS-CMCh как сенсор на Hg^{2+} [130]. Ртуть является одним из наиболее опасных и широко распространенных загрязнителей, поэтому определение содержания ртути в окружающей среде и биологических пробах является важной задачей. Метод определения основан на том, что при добавлении ионов ртути к раствору квантовых точек наблюдается тушение флуоресценции, что вероятно связано с переносом электронов между Hg^{2+} и поверхностью QD. Авторам удалось успешно провести эксперименты по качественному и количественному определению ионов ртути в клетках линии MDCK.

Материалы на основе квантовых точек могут быть использованы не только как сенсоры на тяжелые металлы. В работе [131] был разработан метод определения иодата с помощью квантовых точек CdS, покрытых карбоксиметилцеллюлозой. Йод является важным микроэлементом, и самым простым и эффективным средством борьбы с его дефицитом является добавление KIO_3 в поваренную соль. Поэтому определение содержания иодат иона в поваренной соли является важной задачей. Предложенный метод основан на тушении люминесценции QD в присутствии иона IO_3^- . Авторы предложили следующий механизм тушения люминесценции: сначала CdS окисляются иодатом калия (ур. 1), что приводит к уменьшению размера частиц, а, следовательно, и смещению спектра флуоресценции в синюю область; в результате происходит изменение структуры поверхности QDs и соответственно тушение флуоресценции.



Добавление в раствор различных анионов (NO_3^- , NO_2^- , Cl^- , Br^- , BrO_3^- и CH_3COO^-) не приводит к значительному изменению люминесцентных свойств, что говорит о высокой селективности данного метода. Также, используя этот метод, можно косвенно определить количество иодид иона, путем предварительного окисления I^- до IO_3^- с помощью брома. Таким образом, разработанный метод является высоко селективным, чувствительным, удобным и простым способом для определения иодата, а также общего количества йода в поваренной соли.

В группе Г. Р. Бардажи была проведена серия работ, посвященных определению содержания действующего вещества в лекарственных препаратах [132-135]. Рассмотрим наиболее подробно статью, в которой квантовые точки CdTe/ZnS, покрытые каррагинаном, выступали в роли люминесцентного наносенсора на эпирубицин (EPI) [135]. Эпирубицин представляет собой антрациклиновый антибиотик, который широко используется для лечения различных видов рака. Как и в вышеописанных работах, при добавлении детектируемого вещества к коллоидному раствору квантовых точек наблюдалось уменьшение интенсивности люминесценции. Для определения механизма тушения люминесценции была определена константа тушения Штерна-Фольмера при различных температурах с помощью уравнения

Штерна-Фольмера (ур. 2), где F_0 и F интенсивности флуоресценции в отсутствии и в присутствии тушителя (EPI) соответственно, $[Q]$ - концентрация тушителя (EPI) и K_{SV} – константа тушения Штерна-Фольмера.

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{SV}[Q] \quad (2)$$

Полученные значения K_{SV} уменьшаются с повышением температуры, что указывает на то, что тушение люминесценции CdTe/ZnS-каррагенан при взаимодействии с EPI происходит по статическому механизму, то есть флуорофор и тушитель образуют нелюминесцентный комплекс. Полученный наносенсор CdTe/ZnS-каррагенан имеет хорошую селективность к эпирубицину, так как при добавлении различных ионов и биомолекул, которые обычно присутствуют в большинстве коммерческих препаратов (L-цистеин, фталевая кислота, доксорубин, сульфат калия, нитрат кальция и др.), не происходит значительных изменений интенсивности люминесценции. Разработанный метод был использован для определения эпирубина в коммерческом препарате. Полученные результаты близки со значениями, полученными с помощью ВЭЖХ (высокоэффективной жидкостной хроматографии), что говорит о высокой точности предложенного метода.

Для более прочного связывания полисахарида с поверхностью квантовых точек к полимерам присоединяют функциональные группы. Так, коммерчески доступный аминодекстран предварительно функционализировали тиогруппами с помощью реагента Труата (тиолирующий агент, который реагирует с первичными аминами) [136]. Что касается квантовых точек, то были использованы CdSe/ZnS, стабилизированные ТОРО. Так как эти QD не образуют устойчивых дисперсий в воде, то сначала ТОРО был заменен на меркаптоуксусную кислоту для перевода наночастиц в водную среду, а затем меркаптоуксусная кислота была заменена на тиодекстран (**Dex-SH**). Стоит отметить, что в отсутствие полисахарида квантовые точки выпадали в осадок из водного раствора, в то время как CdSe/ZnS-Dex-SH оставался стабильным в широком диапазоне pH, в питательной среде, а также в насыщенном растворе NaCl. Кроме того, было показано, что конъюгирование CdSe/ZnS-Dex-SH со стрептавидином (белком, который избирательно связывается с биотином) приводит к специфичному связыванию наночастиц только с поверхностью клеток, обработанных биотином, что открывает возможность использования данного материала в качестве биовизуализирующего агента.

В группе Г. Р. Бардажи была выполнена большая серия работ, посвященная модификации полисахаридов с использованием реакции радикальной полимеризации. Для этого к водному раствору полимера (глюкоманнана, каррагинана, альгината натрия или крахмала) добавляли персульфат аммония – инициатор радикальной полимеризации. При нагревании до 80 °C персульфат разлагается с образованием сульфат анион-радикалов, которые в свою очередь

образуют радикалы на полисахариде. Далее к полученному раствору добавляли виниловые мономеры (например, акриловую кислоту, акриламид, 2-диметиламиноэтилметакрилат или гидроксиэтилметакрилат), что приводило к их полимеризации и присоединению к полисахариду (рис. 1.17). Полученные таким образом полимеры использовали для покрытия квантовых точек [98, 137-147].

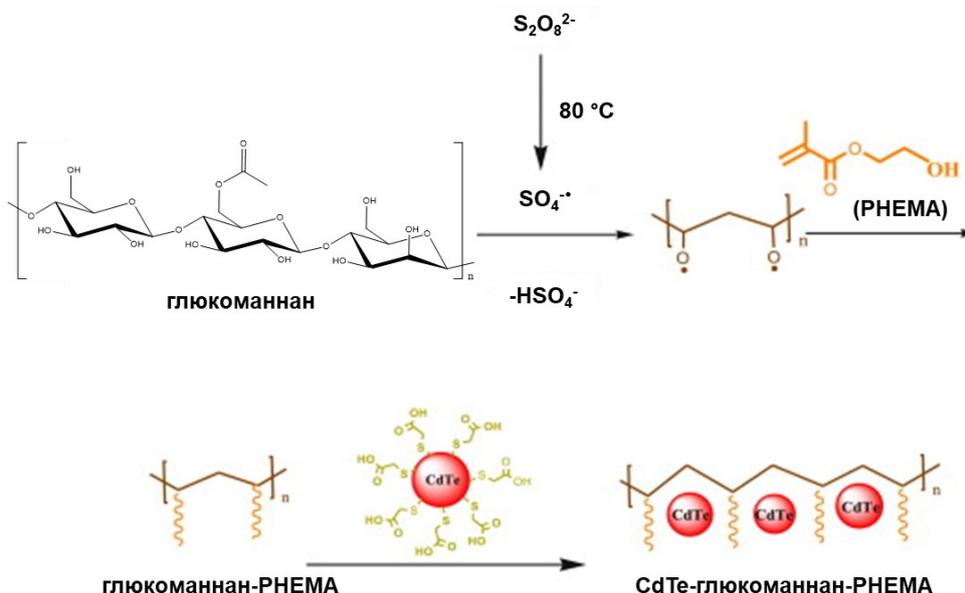


Рис. 1.17. Схематичное изображение модификации полисахаридов с использованием реакции радикальной полимеризации; покрытие квантовых точек полученными полимерами [140].

В работе [140] к гликоманнану был присоединен полигидроксиэтилметакрилат (**РНЕМА**), который затем использовали для покрытия квантовых точек CdTe (рис. 1.17). При этом происходит высвобождение стабилизирующего агента – меркаптоуксусной кислоты, а гидроксильные группы полимера за счет наличия неподеленной пары электронов хелатируют поверхность квантовых точек. Покрытие модифицированным полисахаридом приводит к значительному увеличению интенсивности люминесценции QD, а квантовый выход люминесценции увеличивается с 29 % до 46 %. Полученный материал стабилен в воде, и спустя 150 дней интенсивность люминесценции остается на достаточно высоком уровне. Таким образом, гликоманнан-РНЕМА является эффективным стабилизирующим агентом, так как предотвращает агрегацию частиц и препятствует тушению их люминесценции в водном растворе в течении длительного времени.

В [145] в качестве стабилизирующего агента использовали окисленный крахмал, модифицированный поли-2-диметиламиноэтилметакрилатом. Как и в предыдущих работах, при покрытии квантовых точек CdTe/ZnS функциональные (гидроксильные, карбоксильные и amino) группы полимера хелатируют поверхность QD, что приводит к ее пассивации, а это, в свою очередь, способствует увеличению интенсивности люминесценции. Авторы предлагают

использовать этот материал как сенсор на тетрациклин гидрохлорид (**ТН**, антибиотик, широко используемый для лечения бактериальных заболеваний). При добавлении тетрациклин гидрохлорида к водному коллоиду QD-полимер происходит тушение люминесценции. Это, вероятно, связано с фотоиндуцированным переносом электронов: в растворе образуется комплекс между QD-полимер и ТН, и происходит перенос энергии с QD-полимер на тетрациклин. Авторы работы продемонстрировали, что полученный наносенсор обладает селективностью по отношению к ТН, так как в присутствии аминокислот, ионов металлов и соединений, имеющих схожее строение с тетрациклином (окситетрациклина, гентамицина, хлортетрациклина), не наблюдалось изменение люминесцентных свойств. Кроме того, был успешно проведен эксперимент по определению ТН в реальных образцах (в моче, сыворотке крови и физиологическом растворе).

Поскольку квантовые точки, образующие устойчивые дисперсии в водном растворе, имеют большой потенциал для биомедицинских применений, необходимо изучать взаимодействие QD с биологическими молекулами. Среди биомакромолекул можно выделить альбумин, который является основным транспортным белком в крови и выполняет множество физиологических функций. В связи с этим было исследовано взаимодействие квантовых точек с человеческим сывороточным альбумином (**HSA**) и бычьим сывороточным альбумином (**BSA**) [146]. Для этого CdTe QD были покрыты полимером на основе альгината натрия (**SA**) и полиакриламида (**ПАА**). Взаимодействие между QD-SA-ПАА и альбумином детектировали по тушению люминесценции триптофана (аминокислоты, которая содержится в HSA и BSA) ($\lambda_{em} \sim 350$ нм) и усилению люминесценции квантовых точек ($\lambda_{em} \sim 530$ нм). По уравнению Штерна-Фольмера (ур. 2) была определена константа тушения (K_{SV}) люминесценции при различных температурах. Полученные значения K_{SV} уменьшаются с повышением температуры, откуда следует, что тушение люминесценции происходит по статическому механизму (между флуорофором и тушителем образуется нелюминесцентный комплекс). По уравнениям 3-5 были определены константа связывания (K_a), количество сайтов связывания на HSA или BSA (n), а также термодинамические параметры (энтальпия (ΔH) и энтропия (ΔS) реакции, энергия Гиббса (ΔG)) реакции связывания QD-SA-ПАА и HSA или BSA. Согласно полученным данным $n = 1$, а значения всех термодинамических параметров меньше нуля, откуда следует, что реакция связывания QD-SA-ПАА и HSA или BSA проходит самопроизвольно, а Ван-дер-Ваальсовы взаимодействия и водородные связи играют ключевую роль в этом процессе. Понимание точного механизма взаимодействия квантовых точек с биомолекулами вносит большой вклад в исследование фармакокинетических свойств QD, что в свою очередь открывает возможность для разработки лекарств и скрининговых систем на их основе.

$$\log \frac{F_0 - F}{F} = \log K_a + n \log[Q] \quad (3)$$

$$\ln K_a = -\frac{\Delta H}{RT} + \frac{\Delta S}{R} \quad (4)$$

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (5)$$

Из литературы известно, что квантовые точки обладают антибактериальной активностью [148, 149]. Среди вероятных механизмов воздействия выделяют следующие: (1) разрушение клеточной мембраны; (2) высвобождение токсичных металлов (Cd^{2+}) внутри клетки; (3) генерация свободных радикалов и АФК (активных форм кислорода) при облучении светом. Для CdTe квантовых точек, стабилизированных каррагинаном, сшитым с поли-2-диметиламиноэтилметакрилатом, было показано, что они не проявляет цитотоксического эффекта по отношению к клеткам линии НТВ 5637 (клетки эпителия мочевого пузыря человека) в диапазоне исследуемых концентраций (вплоть до 12 мкг/мл) и могут рассматриваться как биосовместимые [147]. В то же время QD-полимер ингибирует рост бактерий *B. Licheniformis* (почвенные бактерии) и *E. Coli* (бактерии кишечной палочки), что позволяет рассматривать полученный материал как антибактериальный агент.

1.2.2.5. Использование полимера в качестве темплата для синтеза QD

Последний способ получения композита QD-полисахарид основан на использовании полимера в качестве темплата для прямого синтеза квантовых точек. Для этого получают полимеры, содержащие ионы металлов, а затем ионы металлов с помощью реакции осаждения переводят в QD. С помощью данного метода можно выращивать квантовые точки внутри полимера, а полимер в свою очередь выступает в качестве защитной оболочки для QD в водном растворе.

Такой подход довольно популярен, о чем говорит большое количество публикаций [150-161]. К его преимуществам можно отнести то, что он позволяет получать квантовые точки в водном растворе *in situ* без использования сложных синтетических манипуляций. Кроме того, в литературе такой подход иногда называют «зеленым», так как он не требует использования токсичных реагентов и растворителей. Координация квантовых точек к полисахариду приводит к усилению их оптических свойств, а также к повышению стабильности и биосовместимости.

Рассмотрим подробнее способ получения квантовых точек *in situ* на примере работы [153]. К раствору хитозана (хитозан предварительно растворили в 1 % уксусной кислоте) добавляют соль кадмия (например, $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$). При этом ионы Cd^{2+} координируются к функциональным группам ($-\text{NH}_2$ или $-\text{OH}$) хитозана, и образуется супрамолекулярное соединение $\text{Cd}^{2+}@$ хитозан. Затем к полученному раствору добавляют сульфид натрия, что приводит к образованию

квантовых точек CdS, стабилизированных полисахаридом (рис. 1.18). Стоит отметить, что для образования QD небольшого размера необходимо добавлять сульфид-ион быстро.

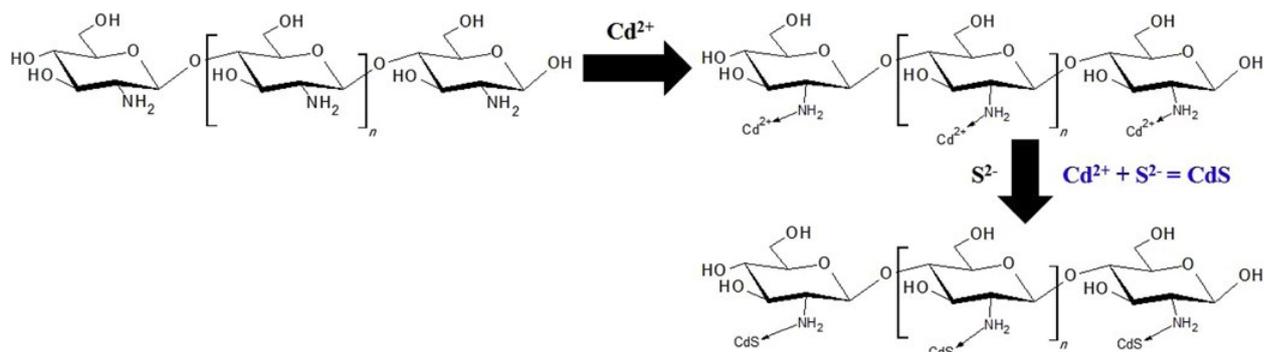


Рис. 1.18. Схематичное изображение синтеза квантовых точек CdS *in situ* в присутствии хитозана.

Авторы обнаружили, что интенсивность люминесценции полученного материала линейно уменьшается с увеличением концентрации пероксида водорода в растворе, а значит QD-хитозан может рассматриваться как сенсор на H_2O_2 . Определение содержания пероксида водорода имеет важное значение во многих областях, таких как промышленность, охрана окружающей среды и т.д. Механизм тушения люминесценции квантовых точек при взаимодействии с H_2O_2 до конца не ясен. Авторы предполагают, что окисление ядра CdS пероксидом водорода приводит к агрегации и потери кристалличности QD, что схематично изображено на рисунке 1.19.

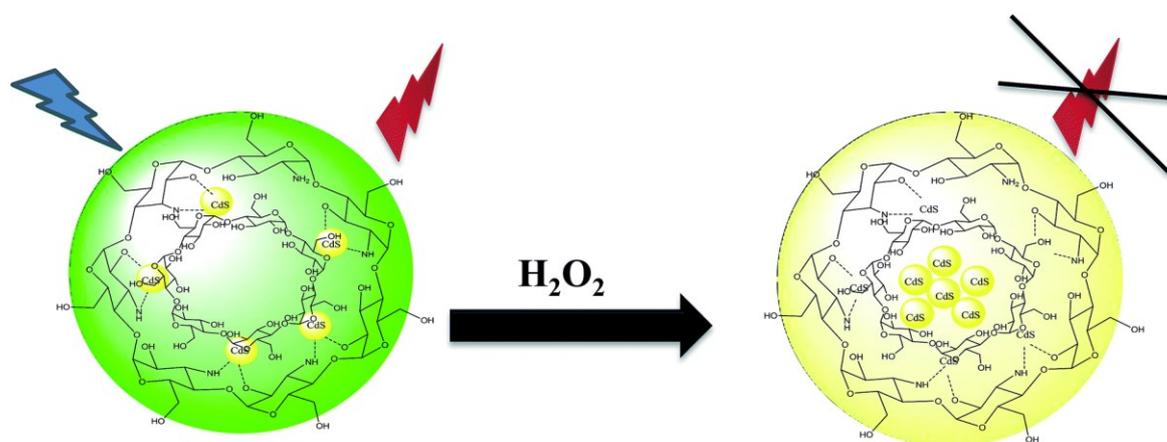


Рис. 1.19. Схематичное представление предполагаемого механизма тушения люминесценции квантовых точек при взаимодействии с H_2O_2 [153].

Кроме того, было показано, что полученный QD-хитозан является сенсором на ионы Cu^{2+} и Mn^{2+} , при этом в случае меди происходит тушение люминесценции, а в случае марганца, наоборот – усиление. Вероятно, ионы металлов могут координироваться к хитозану (например, посредством электростатических взаимодействий), что в свою очередь оказывает влияние на люминесцентные свойства QD.

Способность ионов металлов связываться с полисахаридами позволила разработать большое количество селективных наносенсоров [154, 162-164]. Так, например, в [154] был разработан наносенсор на ионы Cr^{3+} . Для этого были получены квантовые точки CdS в присутствии полисахарида пектина. Благодаря наличию карбоксильных групп в структуре полимера полученный CdS-пектин может взаимодействовать с ионами металлов. В ходе работы авторы изучали влияние различных ионов (K^+ , Cu^{2+} , Cr^{3+} , Ba^{2+} , Ca^{2+} , Cd^{2+} , Hg^{2+} , Mg^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Al^{3+} , Fe^{3+}) на люминесцентные свойства QD, однако, только в присутствии Cr^{3+} наблюдались значимые изменения фотофизических характеристик, что говорит о селективности сенсора. Кроме того, при изучении влияния различных анионов, было обнаружено что в присутствии иона $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ также снижается интенсивность люминесценции. Авторы предполагают, что в данной ситуации $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ может выступать в роли окислителя. Разработанный наносенсор был успешно использован для определения Cr^{3+} и $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ в реальных образцах, а именно в плазме крови и водопроводной воде.

Аналогичным способом были получены цинковые квантовые точки: ионы Zn^{2+} , связанные с $-\text{NH}_2$ или $-\text{OH}$ группами хитозана, взаимодействуют с S^{2-} , формируя ядро квантовых точек ZnS, а затем происходит рост наночастиц, стабилизированных полисахаридом (рис. 1.20) [165]. Полученный ZnS-хитозан является сенсором на бисфенол А (2,2-бис(4-гидроксифенил)пропан, ВРА): при увеличении концентрации бисфенола А происходит снижение интенсивности люминесценции. Бисфенол А широко используется для производства поликарбоната и эпоксидной смолы, однако, является эндокринным разрушителем и оказывает негативное влияние на здоровье человека. Таким образом, необходимо контролировать наличие ВРА в воде, а также в материалах, которые контактируют с пищевыми продуктами. Авторы предполагают следующий механизм тушения люминесценции: ВРА связывается с поверхностью ZnS QD за счет образования водородной связи между $-\text{OH}$ ВРА и $-\text{NH}_2/-\text{OH}$ хитозана (рис. 1.20), хитозан частично отсоединяется от поверхности квантовых точек, что в свою очередь приводит к изменению оптических свойств QD. Разработанный метод был апробирован для определения содержания ВРА в реальных образцах, например, в контейнерах для разогревания пищи в микроволновой печи. Для этого водный раствор, содержащий фрагменты анализируемого образца, нагревали в микроволновой печи в течение 10 минут. Затем полученный раствор отфильтровывали и анализировали с помощью наносенсора ZnS-хитозан. Данный метод проявил себя как простой, быстрый и высокочувствительный, что делает его перспективным кандидатом для быстрого скрининга бисфенола А.

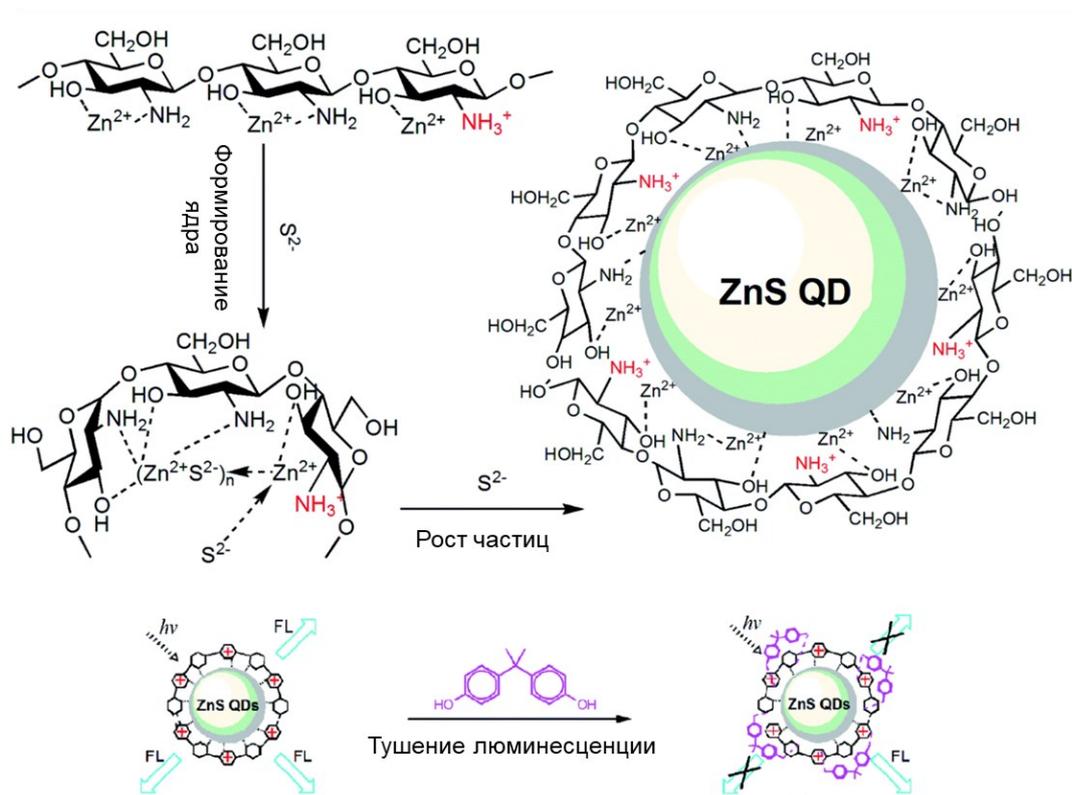


Рис. 1.20. Схематичное изображение синтеза квантовых точек ZnS *in situ* в присутствии хитозана и механизма тушения люминесценции QD [165].

Помимо детектирования тяжелых металлов [154, 162-164], других загрязнителей [165] или лекарственных препаратов [155] материалы на основе квантовых точек и полисахаридов могут найти применение как биосенсоры на вирусы [156] и бактерии [157, 166-168]. В [168] проводились исследования сенсорных свойств CdS-хитозан (материал получен по схеме, представленной на рис. 1.18) на патогенные бактерии *S. aureus* (золотистый стафилококк) и *P. aeruginosa* (синегнойная палочка). Стоит отметить, что покрытие QD хитозаном приводит к значительному увеличению их стабильности (при выдерживании в воде в течении 1 месяца не наблюдалось агрегации), а также к снижению токсичности в сравнении с контрольным образцом (CdS, стабилизированные меркаптопропионовой кислотой), что очень важно при детекции живых организмов. При добавлении к коллоиду квантовых точек бактерий наблюдается увеличение интенсивности люминесценции. Данное явление авторы объясняют агрегацией QD на мембранах бактерий (от англ. AIEE – Aggregation-induced Emission Enhancement). Для более точного объяснения взаимодействия квантовых точек и мембран бактерий были определены константа связывания (K_a по уравнению 3) и термодинамические параметры (ΔH , ΔS , ΔG по уравнениям 4-5). Отрицательное значение ΔG говорит о том, что связывание мембран бактерий с CdS-хитозан является спонтанным. Положительное значение ΔS указывает на то, что взаимодействие обусловлено гидрофобными взаимодействиями, а отрицательное значение ΔH – на образование водородных связей. Кроме того, возможно образование электростатических

взаимодействий между положительно заряженным хитозаном и отрицательно заряженными мембранами бактерий. Таким образом, хитозан связывается с бактериями за счет различных взаимодействий (гидрофобных, электростатических и образования водородных связей), которые дополняют и усиливают друг друга. Результаты исследования показали, что разработанный сенсор на бактерии имеет много преимуществ, среди которых можно выделить быстроту определения, высокую чувствительность, стабильность в течение длительного времени, прямое детектирование и хорошую биосовместимость.

Квантовые точки, полученные в присутствии полисахаридов, зарекомендовали себя как агенты для биовизуализации, поскольку наночастицы полученные таким способом стабильны в воде в течении длительного времени, обладают низкой токсичностью, но при этом хорошо проникают в клетки [99, 158, 169-171]. В серии работ А. А. П. Мансур и др. были получены квантовые точки, в ходе синтеза которых карбоксиметилцеллюлоза (СМС) выступала в роли темплата [96, 172, 173]. СМС является рН-чувствительным полимером – с увеличением рН депротонируются карбоксильные группы, образуя при этом отрицательно заряженный полиэлектролит. Предполагается, что стабилизация квантовых точек полимером будет осуществляться следующим образом: (i) электростатическое взаимодействие между катионом металла на поверхности QD и отрицательно заряженными группами полисахарида; (ii) коллоидная стабилизация за счет стерических затруднений и/или электростатических отталкиваний отрицательно заряженных групп СМС; (iii) кроме того, гидроксильные группы полисахарида могут участвовать в пассивации QD. Было исследовано влияние рН на образование квантовых точек ZnS и рост наночастиц [96]. При кислом рН (рН=3,5) образуются более крупные наночастицы в сравнении с QD, полученными при щелочном рН (рН=10,5). Это связано с тем, что при протонировании карбоксильных групп уменьшается катионное притяжение Zn^{2+} , что в свою очередь приводит к формированию более крупных частиц. Водные коллоиды полученных материалов стабильны более 12 месяцев, нетоксичны по отношению к различным здоровым (НЕК 293Т – эмбриональные клетки почки человека) и раковым (U-87 MG - глиобластома головного мозга человека) клеткам. Кроме того, ZnS-СМС лучше проникает в раковые клетки, чем в здоровые, что в перспективе может найти применение для биовизуализации опухолей.

Для того, чтобы увеличить клеточное проникновение, а также придать адресность доставке, в [161, 174] использовали классический метод, а именно присоединение к полимеру антител. В отличии от этого в [175, 176] использовали другие биомолекулы – к карбоксиметилцеллюлозе присоединяли аминокислоты (цистеин или полиаргинин). Для создания материалов на основе $AgInS_2$ и СМС, модифицированной аминокислотами, использовали две стратегии: (i) синтез квантовых точек в присутствии СМС с последующим присоединением аминокислот; (ii) предварительная модификация СМС аминокислотами, которая затем используется как

темплат для синтеза квантовых точек. Вторая стратегия оказалась менее эффективной, так как в этом случае образуются QD с низкой интенсивностью люминесценции. Вероятно, предварительная функционализация полисахарида влияет на образование ядра квантовых точек и рост наночастиц, что сказывается на их поверхности, а, следовательно, и на оптических свойствах QD. Использование первой стратегии также приводит к снижению фотолюминесценции в сравнении с AgInS₂-СМС, однако, она остается на достаточно высоком уровне. Функционализация СМС аминокислотами приводит к значительному снижению дзета потенциала поверхности частиц (-18 мВ в случае цистеина и -25 мВ в случае полиаргинина) в сравнении с исходным образцом (-52 мВ), что увеличивает клеточное проникновение, так как мембрана клетки имеет отрицательный заряд. Помимо снижения дзета потенциала, на клеточное проникновение влияет наличие в материале аминокислот. Так, в случае присоединения аргинина, полученный наноконъюгат проникает в клетки как пептиды, обеспечивая быстрое насыщение клеток. Как и в работе, описанной выше [96], все образцы на основе AgInS₂ и СМС проникают лучше в раковые клетки (НЕК 293Т), чем в здоровые (U-87 MG). Таким образом, синтезированные материалы являются перспективными наноплатформами для потенциальных биомедицинских применений.

В следующем примере были получены водорастворимые квантовые точки ZnS, допированные ионами Cu²⁺ [160]. Для этого раствор ацетата цинка и ацетата меди в присутствии стабилизирующего агента (хитозана) обрабатывали сульфидом натрия. Полученные QD проявляют слабую эмиссию на 420 нм, однако после обработки восстановителем (например, NaBH₄, глутатионом или аскорбиновой кислотой) появляется люминесценция на 540 нм с квантовым выходом 10 %. С другой стороны, обработка окислителем (K₂S₂O₈) приводит к тому, что люминесценция вновь пропадает. Изменение люминесцентных свойств связано с восстановлением (Cu²⁺ → Cu⁺) или окислением (Cu⁺ → Cu²⁺) допанта. Полученные данные натолкнули авторов на мысль исследовать влияние клеточной среды на люминесцентные свойства Cu-ZnS-хитозан. При обработке клеток HeLa (клетки рака шейки матки) и НЕК 293 (эмбриональные клетки почки человек) коллоидом квантовых точек наблюдалась зеленая люминесценция, что связано с присутствием глутатиона в клетках, который выступает в роли восстановителя. В то же время обработка клеток пирогаллолом (генератором активных форм кислорода) приводила к значительному снижению интенсивности люминесценции. Таким образом, настройка излучательной способности QD при помощи окислительно-восстановительных реакций может рассматриваться как новый способ диагностики и терапии.

Нанозонды на основе квантовых точек и полисахаридов могут быть использованы как эффективные доставщики противораковых лекарств, что неоднократно было продемонстрировано в литературе [159, 173, 177]. Однако, существует несколько сообщений о

том, что QD сами по себе могут рассматриваться как фотосенсибилизаторы для фотодинамической терапии (ФДТ) [178, 179]. При обработке водного раствора гиалуроновой кислоты с CdCl_2 раствором теллурид ионов были получены CdTe квантовые точки [179]. При инкубации раковых клеток HepG2 (клетки гепатомы человека) с коллоидом полученных наночастиц в диапазоне исследуемых концентраций (до 32 мкМ) цитотоксический эффект не наблюдается. В то же время при облучении светом ($\lambda_{\text{ex}} = 374$ нм) значительно снижается жизнеспособность клеток (концентрация полумаксимального ингибирования $\text{IC}_{50} = 3,6$ мкМ). Такое поведение связано с тем, что при облучении квантовые точки способствуют выработке внутриклеточных АФК. Стоит отметить, что CdTe-НА не проявляет цитотоксического эффекта по отношению к здоровым клеткам BRL 3A (клетки печени крысы) как в темноте, так и при облучении. Такое отличие связано с различным клеточным проникновением CdTe-НА в здоровые и раковые клетки, за счет сверхэкспрессии рецептора CD44, что было подробно описано выше. Таким образом, полученный материал проявляет фотоиндуцированную цитотоксичность и обладает адресной доставкой, что позволяет рассматривать его как агент для ФДТ.

Исходя из всего вышесказанного, следует, что полисахариды являются эффективными матрицами для стабилизации квантовых точек в водном растворе. Кроме того, покрытие полимером способствует снижению цитотоксичности QD, а также в некоторых случаях придает адресную доставку гибриднему материалу. Возможность настраивать различные параметры (люминесцентные свойства, размер частиц, дзета потенциал и др.) позволяет получать многофункциональные наноматериалы с заданными свойствами, что, несомненно, важно для применения во многих областях.

1.2.3. Стабилизация апконверсионных наночастиц полисахаридами

Апконверсионные наночастицы (от англ. Upconversion nanoparticles (UCNP)) – это частицы, которые посредством апконверсии фотонов способны поглощать длинноволновое излучение (области ИК и ближнего ИК) и испускать фотоны с более короткими длинами волн (УФ, видимая и ближняя ИК области спектра) (рис. 1.21). Данный феномен является примером нелинейного оптического процесса, который также называют антистоксовой люминесценцией. Дело в том, что при возбуждении происходит последовательное поглощение двух и более фотонов, энергия которых суммируется, а излучается один фотон с большей энергией [180, 181]. Явление апконверсионной люминесценции наблюдается в неорганических кристаллах, допированных трехвалентными ионами лантаноидов Ln^{3+} . Тетрафторориттриат натрия (NaYF_4) является одним из лучших материалов-носителей для создания апконверсионных наночастиц, так как обладает низкой энергией фононов (тепловых колебаний кристаллической решетки), соответствующим положением энергетических уровней и достаточно высоким поглощением в ИК области спектра. Поэтому далее будут рассмотрены апконверсионные наночастицы только на основе NaYF_4 . Выбор допантов играет важное значение в настройке длины волны излучаемого света и его интенсивности. Цвет излучения может быть достаточно точно настроен: УФ, видимый (синий, зеленый, красный) или ближний ИК.

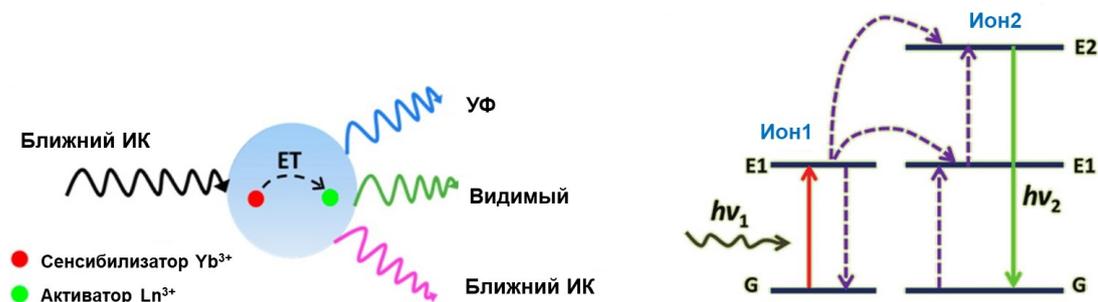


Рис. 1.21. Схематичное изображение возбуждения UCNPs (слева) и переноса энергии между ионами сенсбилизатора и активатора (справа).

Обычно в качестве допантов используют два разных иона лантаноидов (Ln^{3+}), которые выступают в качестве сенсбилизатора и активатора. Низкоэнергетическое излучение ближнего ИК диапазона возбуждает сенсбилизатор, энергия которого каскадно передается активатору. Суммирование энергии нескольких квантов возбуждения приводит к тому, что активатор излучает свет с более высокой длиной волны (рис. 1.21). Наиболее часто в роли сенсбилизатора выступает иттербий (Yb^{3+}), так как он обладает высоким коэффициентом поглощения и широким спектром возбуждения. В качестве активаторов используют ионы Ln^{3+} со ступенчатым расположением уровней энергии, такие как Er^{3+} , Tm^{3+} и Ho^{3+} [180, 181].

Благодаря таким свойствам как настраиваемое излучение с большим антистоксовым сдвигом и узким спектром, а также высокой фотостабильности, UCNP могут найти применение в фотокатализе [182], сенсорике [183, 184] и многих других областях. Использование ближнего ИК излучения в качестве источника возбуждения обеспечивает глубокое проникновение света в ткани и низкую аутофлуоресценцию клеток или тканей. Благодаря этому UCNP перспективны в контексте биомедицинского применения в качестве агентов для визуализации *in vitro* и *in vivo* [185-190], фототермической и фотодинамической терапии [187, 191, 192], а также доставки лекарств [190, 193]. Для реального биомедицинского применения необходимо, чтобы UCNP имели гидрофильное покрытие и образовывали устойчивые дисперсии в водном растворе при физиологическом pH, а также проявляли низкую токсичность.

В настоящее время наиболее широко используемыми методами получения UCNP являются термическое разложение, сольво/гидротермальный синтез и соосаждение. В большинстве этих методов UCNP получают в гидрофобных растворителях, таких как олеиламин, 1-октадецен или олеиновая кислота, которые одновременно выступают в роли стабилизирующих лигандов. В связи с этим апконверсионные частицы имеют гидрофобную поверхность, и, следовательно, для применения в биомедицинских областях необходимо перевести UCNP в водную среду. Химия «водорастворимых» апконверсионных наночастиц развита намного меньше, чем химия квантовых точек. Несмотря на это, существует большое количество работ, в которых продемонстрирована эффективность использования водорастворимых биосовместимых полисахаридов для стабилизации апконверсионных наночастиц, а большинство предложенных методов для получения вододиспергируемых материалов повторяет те, что уже были рассмотрены выше для системы QD/полисахарид. В настоящий момент разработано несколько стратегий получения материалов UCNP/полисахарид (рис. 1.22): (а) покрытие UCNP полимером (гидрофобное взаимодействие); (б) присоединение полимера к лиганду; (в) замещение лигандов на полимер; (г) модификация «частиц без лигандов»; (д) использование полимера в качестве темплата для синтеза UCNP.

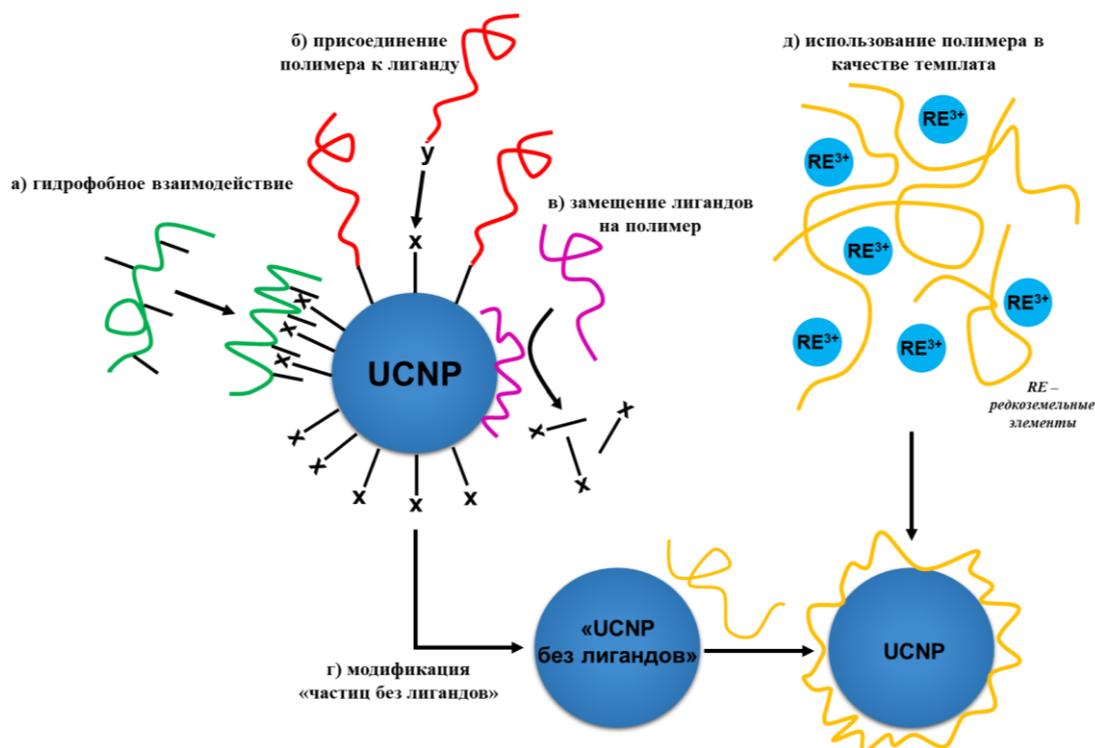


Рис. 1.22. Схематичное изображение основных стратегий получения материала UCNP/полимер: гидрофобное взаимодействие (а), присоединение полимера к лиганду (б), замещение лигандов на полимер (в), модификация «частиц без лигандов» (г); использование полимера в качестве темплата (д).

1.2.3.1. Покрытие UCNP полимером (гидрофобное взаимодействие)

Для перевода в водную среду гидрофобные UCNP покрывают амфифильными полимерами. В этом случае гидрофобная часть полимера взаимодействует с гидрофобными лигандами на поверхности частиц, а гидрофильная часть обеспечивает диспергируемость материала в воде. При этом полимер напрямую не взаимодействует с поверхностью наночастиц, что способствует сохранению люминесцентных свойств UCNP.

В [192] был получен материал на основе апконверсионных наночастиц $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Er}$ и амфифильного хитозана (N-сукцинил-N-октилхитозана) (SOC), который способен образовывать частицы по типу ядро-оболочка. UCNP связываются с полимером за счет гидрофобного взаимодействия между группами олеиновой кислоты на поверхности наночастиц и октильными группами хитозана. В то же время гидрофильные группы хитозана обеспечивают вододиспергируемость полученного материала (рис. 1.23). Эмиссия апконверсионных наночастиц перекрывается со спектром возбуждения многих известных фотосенсибилизаторов, благодаря чему UCNP совместно с фотосенсибилизатором могут быть использованы как агенты для фотодинамической терапии глубоко залегающих тканевых опухолей, однако, большинство известных фотосенсибилизаторов гидрофобны. В данной работе в качестве фотосенсибилизатора использовали фталоцианин цинка (ZnPc), который также, как и UCNP включили в амфифильный

хитозан за счет гидрофобного взаимодействия. Стоит отметить, что благодаря такому способу взаимодействия, удалось включить большое количество фотосенсибилизатора, а именно 10 %. Полученные частицы ZnPc-хитозан-UCNP обладают высокой фотостабильностью, а также эффективно фотосенсибилизируют процесс генерации синглетного кислорода под воздействием ближнего инфракрасного излучения (рис. 1.23). Композитный материал проявляет низкую темновую цитотоксичность во всем диапазоне исследуемых концентраций UCNP (вплоть до 800 мкг/мл) по отношению к клеткам линии MCF-7 (клетки аденокарциномы молочной железы человека), в то время как при облучении наблюдается снижение жизнеспособности клеток до 20 %. Материал ZnPc-SOC-UCNP проникает в клетки, а его компоненты ZnPc и UCNP солюкализованы в цитоплазме клеток. Помимо фотоиндуцированной активности *in vitro* была продемонстрирована противоопухолевая активность полученного материала *in vivo* на мышах, привитых опухолью S180 (эпителиальная опухоль мышей). Для этого через 3 и 24 часа после введения раствора ZnPc-SOC-UCNP (33 мг UCNP на кг) в опухолевую ткань облучали светом с длиной волны 980 нм в течение 15 минут. Согласно полученным данным спустя 14 дней наблюдалось уменьшение размера опухоли на 76 % по сравнению с контрольной группой мышей. Продолжив свои исследования, авторы придали композитному материалу адресную доставку за счет модификации амфифильного хитозана фолиевой кислотой [191]. Адресная доставка обеспечивает избирательное накопление препарата в опухоли, тем самым увеличивая эффективность фотодинамической терапии глубоко залегающих тканевых опухолей.

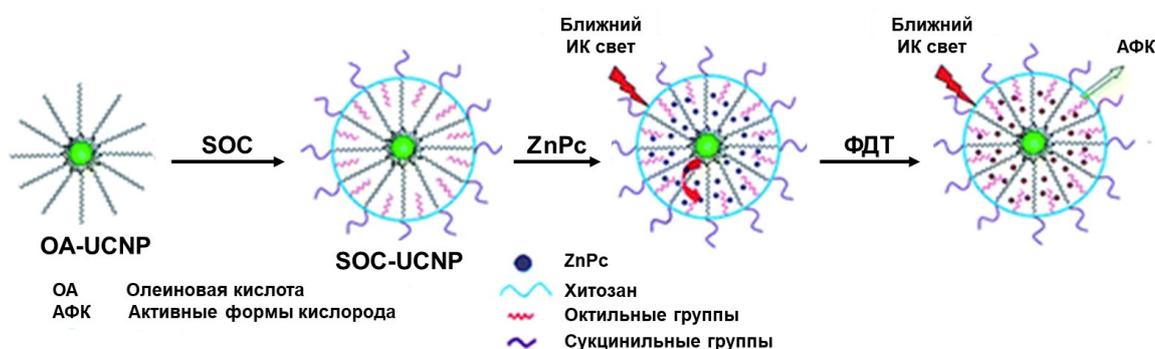


Рис. 1.23. Схематичное изображение гидрофобного взаимодействия UCNP/амфифильного полимера и фотосенсибилизации АФК [192].

Получив положительные результаты при использовании ZnPc-хитозан-UCNP в качестве агента для ФДТ для лечения рака, авторы решили изучить его эффективность в роли ФДТ-агента для борьбы с бактериальными инфекциями [194]. Согласно полученным результатам *in vitro* ZnPc-хитозан-UCNP обладает широким спектром действия в том числе по отношению к бактериям, имеющим резистентность к антибактериальным препаратам. В качестве резистентных бактерий использовался штамм золотистого стафилококка (MRSA), устойчивый к антибиотику метициллину. Для изучения антибактериальной активности *in vivo* мышей

инфицировали MRSA, что привело к образованию абсцесса (гнойному воспалению) кожи. При обработке инфицированных тканей раствором ZnPc-хитозан-UCNP и последующим облучением светом с длиной волны 660 или 980 нм наблюдалось уменьшение объема абсцесса у мышей в сравнении с контрольной группой. Кроме того, чтобы продемонстрировать эффективность именно ближнего ИК облучения, авторы покрывали абсцесс кусочком свиной ткани толщиной 1 см, имитируя инфекцию глубоких тканей, и облучали светом с длиной волны 660 или 980 нм. При переходе от поверхностной инфекции к инфекции глубоко залегающих тканевых опухолей при облучении светом с длиной волны 660 нм наблюдалось снижение антибактериальной активности, в то время как при облучении светом с длиной волны 980 нм изменение антибактериальной активности не происходит. Таким образом, материалы на основе апконверсионных наночастиц и фотосенсибилизаторов могут быть использованы как агенты для ФДТ для лечения рака или бактериальных инфекций глубоких слоев кожи.

1.2.3.2. Присоединение полимера к лиганду

Следующий метод взаимодействия полимера и апконверсионных наночастиц основан на ковалентном связывании стабилизирующего лиганда и полисахарида. Наиболее часто такое связывание осуществляют посредством реакции образования амида карбоновой кислоты. Для этого в качестве полимера выбирают полисахариды с аминогруппами (хитозан) [186, 187, 193, 195-197] или карбоксильными группами (гиалуроновая кислота) [185, 198], которые ковалентно связываются с карбоксильными или аминогруппами на поверхности UCNP.

Поверхность апконверсионных наночастиц $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Er}$ модифицировали полиаллиламином, а затем UCNP конъюгировали с гиалуроновой кислотой (НА) посредством активации карбонильной группы с помощью EDC/сульфо-NHS (рис. 1.24) [185]. Авторы предлагают использовать полученный материал как «on-off» татуировку, что и продемонстрировали на мышах. Для этого достаточно нанести материал UCNP-НА в виде определенного рисунка на кожу животного и смыть через 40 минут. При облучении светом с длиной волны 980 нм на обработанном участке кожи проявляется рисунок. Стоит отметить, что наличие гиалуроновой кислоты в составе образца способствует его более глубокому проникновению в ткани (вплоть до 100 мкм), что открывает возможность для создания визуализирующих препаратов с неинвазивной трансдермальной доставкой.

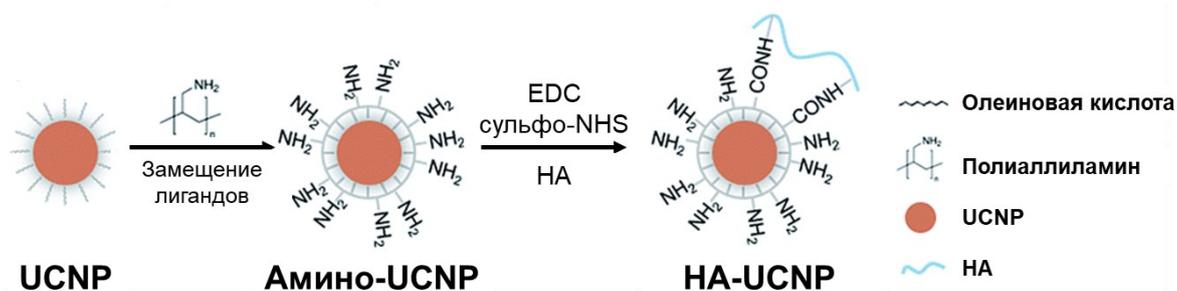


Рис. 1.24. Схематическое изображение ковалентного связывания UCNP и гиалуроновой кислоты [185].

В другой работе авторы использовали карбоксиметилхитозан, который содержит большое количество амина и карбоксильных групп в своем составе [186]. Карбоксильные группы полисахарида образуют ковалентные связи с аминогруппами на поверхности UCNP (НЧ стабилизированы полиэтиленимином) и аминогруппами пептида ϵ (RGDyK), в то время как аминогруппы хитозана связываются с карбоксильными группами фотосенсибилизатора – пиррофеофорбида (Ppa). Полученные таким образом наночастицы хорошо диспергируются в воде, обладают высокой стабильностью при различных pH и биосовместимостью. Как уже было сказано выше, большинство фотосенсибилизаторов плохо растворимы в воде и легко агрегируют при физиологических условиях. Связывание пиррофеофорбида с хитозаном предотвращает самоагрегацию Ppa, а конечный продукт UCNP-хитозан-Ppa обладает более высокой интенсивностью люминесценции, чем чистый фотосенсибилизатор, а также способен фотосенсибилизировать процесс генерации синглетного кислорода при облучении ближним инфракрасным светом. Наличие пептида ϵ (RGDyK) обеспечивает адресную доставку к раковым клеткам, так как он имеет высокое сродство к рецепторам интегрина. После инкубации клеток с низкой экспрессией интегрина (MCF-7 – клетки аденокарциномы молочной железы человека) с UCNP-хитозан-Ppa- ϵ (RGDyK) и последующим облучением светом их жизнеспособность не изменилась, в то время как случае клеток с высокой экспрессией интегрина (U87-MG - клетки глиобластомы человека) жизнеспособность снизилась на 30-50 %. Таким образом, полученные апконверсионные наночастицы обладают адресной доставкой к интегрин-позитивным клеточным линиям и могут быть одновременно использованы как агенты для визуализации опухоли и для ФДТ.

Для увеличения эффективности противораковой терапии необходимо комбинировать препараты с различными механизмами действия, например, агенты для фотодинамической и фототермической (ФТТ) терапии. В [187] в качестве агента для ФТТ был использован слоистый дихалькогенид молибдена MoS₂, который обладает высокой поглощающей способностью в области ближнего ИК, а в качестве агента для ФДТ – UCNP NaYF₄:Yb,Er, стабилизированные полиакриловой кислотой. На первом этапе был приготовлен гомогенный и водорастворимый

MoS₂-хитозан, далее к которому ковалентно присоединяли UCNP посредством реакции образования амида карбоновой кислоты между аминогруппами полисахарида и карбоксильными группами на поверхности UCNP. Для придания адресной доставки к MoS₂-хитозан-UCNP аналогичным способом присоединяли фолиевую кислоту (FA). Загрузку фотосенсибилизатора ZnPc проводили за счет гидрофобного связывания с поверхностью MoS₂. Такой подход позволяет достичь большой загрузки ZnPc (11 %), а также предотвращает высвобождение фотосенсибилизатора. При облучении водного раствора MoS₂-хитозан-UCNP-ZnPc-FA лазером 808 нм (мощность 1,2 В/см²) в течение 6 минут раствор нагревался до 55,3 °С, что демонстрирует способность полученного материала эффективно переводить энергию в тепло. Кроме того, полученные наночастицы при облучении светом с длиной волны 980 нм фотосенсибилизируют процесс генерации синглетного кислорода. Модельные эксперименты *in vitro* показали, что MoS₂-хитозан-UCNP-ZnPc-FA является биосовместимым, а фолиевая кислота обеспечивает адресную доставку препарата только к клеткам обладающими сверхэкспрессией рецепторов фолата. Дальнейшие эксперименты *in vitro* и *in vivo* показали, что комбинирование ФДТ и ФТТ оказывает синергетический эффект при терапии рака, а люминесценция UCNP позволяет использовать данный препарат для визуализации опухоли. Таким образом, полученный наноматериал может быть рассмотрен как новый класс тераностических агентов, то есть использоваться одновременно в терапии и диагностике.

В другой работе авторы создали многокомпонентный материал на основе ковалентно связанных UCNP и хитозана, черной соли Руссена (RBS) и доксорубина (DOX) [193]. Черная соль Руссена представляет собой комплекс следующего состава NH₄[Fe₄S₃(NO)₇], который связывается с положительно заряженными –NH₃ группами хитозана за счет электростатического взаимодействия. При облучении ближним ИК светом UCNP поглощают фотоны и преобразуют их в видимый свет, а RBS в свою очередь поглощает видимый свет и выделяет NO-радикал посредством фотохимической реакции. NO-радикал является высоко реакционноспособной частицей и обладает противоопухолевой активностью. Включение доксорубина в материал происходит за счет взаимодействия с гидрофобными группами олеиновой кислоты, которые выступают в роли стабилизирующих лигандов UCNP. Полученный материал чувствителен к изменению pH: при pH=7,0 DOX удерживается в наносферах за счет сильного гидрофобного взаимодействия, а при понижении pH происходит протонирование аминогрупп хитозана и положительно заряженные цепи хитозан-олеиновая кислота отталкиваются друг от друга, что приводит к высвобождению DOX. Такая pH-зависимость материала играет важную роль в химиотерапии, так как препарат может высвободиться только в кислой среде, что соответствует pH раковых клеток. При облучении многокомпонентного материала UCNP-хитозан-RBS-DOX ближним ИК светом образуются NO-радикалы, причем их количество можно регулировать,

изменяя мощность излучения. Что касается доксорубицина, то при нейтральном $\text{pH}=7,4$ высвобождается небольшое количество DOX, в то время как при $\text{pH}=5,0$ за 30 часов высвобождается 45 % препарата. Согласно исследованиям *in vivo* и *in vitro* использование двух противораковых агентов, доксорубицина и NO-радикалов, приводит к возникновению синергетического эффекта, что еще раз подтверждает необходимость комбинировать препараты с различными механизмами воздействия.

1.2.3.3. Замещение лигандов на полимер

Другой подход, направленный на создание вододиспергируемых апконверсионных наночастиц, заключается в замещении лигандов на поверхности UCNP на природные полисахариды [199, 200]. Для осуществления данного подхода необходимо, чтобы функциональные группы полимера имели более сильное сродство к неорганическому ядру НЧ, чем лиганд, который он вытесняет.

Для введения альдегидных групп в состав полимера альгинат натрия был окислен периодатом натрия [199]. В качестве апконверсионных наночастиц использовались $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$, стабилизированные олеиновой кислотой. К этанольному раствору окисленного альгината натрия добавляли раствор циклогексана с UCNP, при этом происходит замещение олеиновой кислоты на полисахарид. Выделенные наночастицы хорошо диспергируются в воде, а полученный коллоид остается стабильным более 180 дней. Замещение лигандов не приводит к изменению положения максимума эмиссии, однако, наблюдается снижение интенсивности люминесценции, что может быть связано с безызлучательной дезактивацией возбужденных состояний наночастиц при взаимодействии с молекулами воды и водорастворимыми лигандами. В ходе исследований на клетках линии HeLa (клетки раки шейки матки) было установлено, что полученный материал не токсичен и способен проникать в клетки. Аналогичным образом была произведена замена олеиновой кислоты на полисахарид карбоксиметилхитозан [200]. Полученный материал UCNP-хитозан при изменении pH и ионной силы водного раствора остается стабильным и не подвергается агрегации. Полисахарид не только стабилизирует наночастицы, но и обеспечивает низкую токсичность, а также клеточное проникновение (результаты *in vitro* и *in vivo* исследований). Таким образом, описанные в этом разделе материалы UCNP/полисахарид могут найти применение в качестве люминесцентных меток.

1.2.3.4. Модификация «частиц без лигандов»

Основная идея модификации «частиц без лигандов» заключается в том, что на первом этапе происходит удаление лиганда с поверхности НЧ и образуются «голые» UCNP (рис. 1.25). Такой подход используют для апконверсионных наночастиц, покрытых олеиновой кислотой (ОА). Для

этого UCNP-OA обрабатывают кислотой (например, соляной или молочной), что приводит к протонированию олеиновой кислоты и её последующему высвобождению. Благодаря сильному координационному потенциалу Ln^{3+} возникает уникальная возможность для модификации поверхности различными функциональными группами $-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{OH}$, которая недоступна при использовании других методов [188-190, 201].

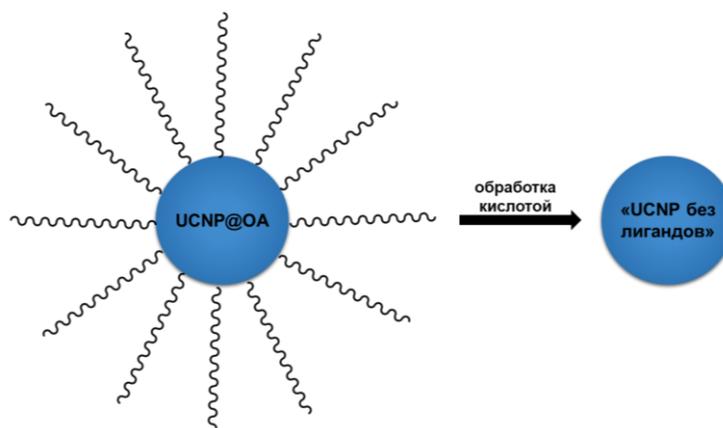


Рис. 1.25. Схематичное изображение получения «UCNP без лигандов».

Так, например, положительно заряженные «голые» UCNP покрывали гиалуроновой кислотой с полимеризуемыми фрагментами (структура полимера представлена на рисунке 1.26) [201]. Гиалуроновая кислота связывается с поверхностью наночастиц через карбоксильные группы, однако это связывание обратимое, и при дополнительной промывке образца наблюдалось снижение содержания полимера на поверхности UCNP. Для предотвращения данной проблемы авторы предложили полимеризовать гиалуроновую кислоту под воздействием УФ-света (рис. 1.26). Сшивка НА приводит к стабильному покрытию UCNP, и десорбции полимера не наблюдалось. Стоит отметить, что для данной реакции были подобраны условия, чтобы избежать образования геля. Полученные частицы хорошо диспергируются в воде без образования крупных агрегатов и остаются стабильными в питательной среде в течение нескольких месяцев. Кроме того, использование гиалуроновой кислоты обеспечивает биосовместимость в диапазоне концентраций 10–500 мкг/мл и адресную доставку к клеткам с высокой экспрессией рецепторов CD44 (MDA-MB 231 - клетки аденокарциномы молочной железы человека).

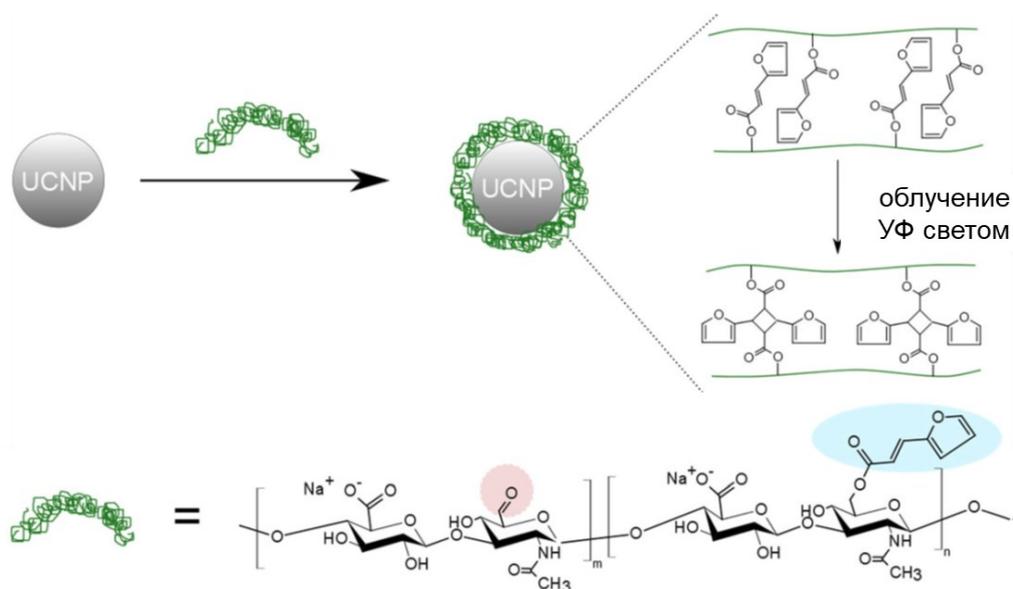


Рис. 1.26. Схематичное изображение покрытия «голых» UCNP модифицированный гиалуроновой кислотой с последующей сшивкой полимера [201].

Как уже было сказано выше, разработка препаратов для тераностики является актуальной задачей. В связи с этим создаются материалы на основе визуализирующих агентов и терапевтических препаратов. Существует несколько работ, где «голые» UCNP стабилизировали полисахаридами, а затем добавляли действующее вещество – доксорубин [189, 190]. Так, например, в нанокapsулы ацетата целлюлозы помещали «голые» UCNP, что обеспечивало диспергирование апконверсионных наночастиц в воде, а также длительную стабильность в фосфатном буфере с $\text{pH}=7,4$ с сохранением люминесцентных свойств [190]. Далее в нанокapsулы загружали доксорубин, который сорбируется на поверхности полимера за счет слабых электростатических взаимодействий. При кислом pH (pH раковых клеток) доксорубин протонируется и переходит в водорастворимую форму, что способствует его высвобождению с поверхности полимера. Так, за 72 часа при $\text{pH}=7,4$ высвобождается 21 % препарата, в то время как при pH равном 5,5 и 3,6 это значение увеличивается до 43 % и 47 % соответственно. Визуализирующая способность UCNP и pH -зависимое высвобождение доксорубина дает возможность рассматривать полученные нанокapsулы на основе ацетата целлюлозы как новые тераностические платформы.

1.2.3.5. Использование полимера в качестве темплата для синтеза UCNP

Модификация поверхности уже готовых апконверсионных наночастиц является эффективным способом для перевода их в водный раствор, однако это многостадийные синтезы, которые требуют много времени. Таким образом, разработка простого одностадийного способа синтеза вододиспергируемых UCNP является актуальной задачей.

В [202] в одну стадию были получены наночастицы $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Tm,Er}$, стабилизированные карбоксиметилхитозаном. Для этого в раствор вода/этиленгликоль/этанол добавляли карбоксиметилхитозан, $\text{Y}(\text{NO}_3)_3$, $\text{Yb}(\text{NO}_3)_3$, $\text{Tm}(\text{NO}_3)_3$, $\text{Er}(\text{NO}_3)_3$ и NaF , а затем всю смесь помещали в автоклав и выдерживали в течение 24 часов при 190°C . Полученные частицы имеют сферическую форму и узкое распределение по размеру, средний размер равен ~ 320 нм. UCNP-хитозан хорошо диспергируется в воде, а также люминесцирует при возбуждении светом длиной волны 980 нм. Чтобы продемонстрировать потенциальное биоприменение полученных наночастиц авторы провели модельные эксперименты *in vitro*. UCNP-хитозан не проявляет цитотоксичность по отношению к клетками линии HeLa (клетки рака шейки матки) в диапазоне исследуемых концентраций (0-200 мкг/мл). При дополнительной конъюгации с фолиевой кислотой (FA) UCNP-хитозан проникает в клетки, так как FA специфично связывается с белками на их поверхности. Благодаря низкой токсичности и специфичному клеточному проникновению данный материал является перспективным агентом для биовизуализации. В другой работе в качестве стабилизирующего агента использовали гиалуроновую кислоту (HA) [183, 203]. Для этого в раствор вода/диэтиленгликоль/этанол добавляли HA, $(\text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{COO})_3\text{RE}$ ($\text{RE} = \text{Y}_{0,49}\text{Yb}_{0,20}\text{Gd}_{0,30}\text{Tm}_{0,01}$), NaCl и NH_4F , полученный раствор помещали в автоклав и выдерживали при 160°C в течение 24 часов (рис. 1.27). В начальный момент времени все компоненты системы находятся в растворе за исключением $(\text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{COO})_3\text{RE}$. При повышении температуры $(\text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{COO})_3\text{RE}$ разлагается, при этом высвобождаются ионы RE^{3+} , которые вступают в реакцию с ионами Na^+ и F^- на границе раздела фаз между твердым телом и жидкостью. В то же время диэтиленгликоль и гиалуроновая кислота выступают в качестве стабилизирующих агентов и связываются с RE^{3+} с помощью COO^- и OH^- групп. Полученные *in situ* UCNP-HA имеют сферическую форму со средним размером ~ 25 нм. При интенсивном облучении лазером с длиной волны 980 нм в течение 180 мин не наблюдалось изменения люминесценции, что говорит о фотостабильности образца. Кроме того, водная дисперсия UCNP-HA стабильна в течение длительного времени (не менее двух недель), причем изменение ионной силы или pH раствора никак не влияют на этот показатель. Благодаря наличию иона Gd^{3+} в составе данный материал является контрастным веществом для МРТ-визуализации, а гиалуроновая кислота обеспечивает адресную доставку препарата в клетки.

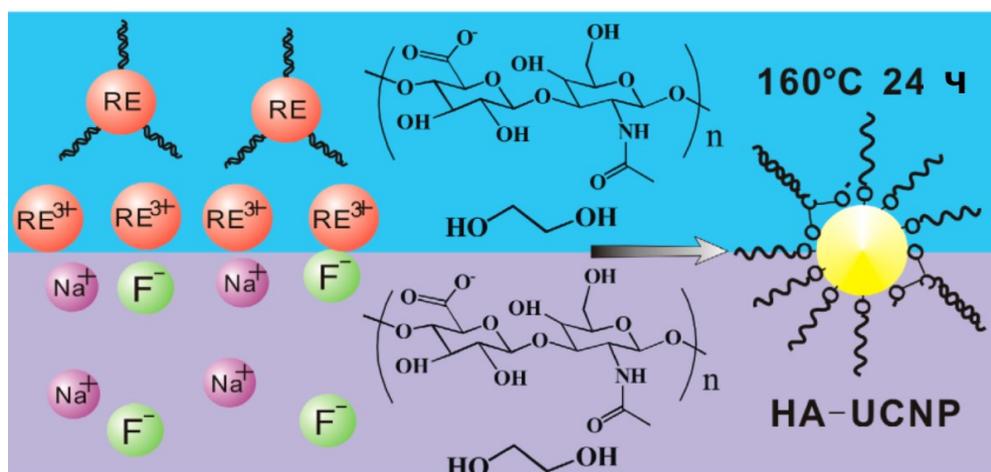


Рис. 1.27. Схематичное изображение синтеза UCNP-HA *in situ* [203].

Помимо адресной доставки материалы на основе гиалуроновой кислоты могут быть использованы как наносенсоры на гиалуронидазу. Гиалуронидаза представляет собой семейство ферментов, способных разрушать HA, избыточная экспрессия которых связана со многими раковыми заболеваниями. Поэтому количественное определение гиалуронидазы имеет большое значение для клинической диагностики и терапии рака на ранней стадии. В [183] был разработан сверхчувствительный наносенсор для обнаружения гиалуронидазы, который состоит из UCNP-HA (полученный по методике, описанной в предыдущей работе) и электронобогатого поли(м-фенилендиамина) (PMPD). PMPD связывается с UCNP-HA посредством образования ковалентных связей (аминогруппы PMPD и карбоксильные группы HA образуют амид карбоновой кислоты), что приводит к тушению люминесценции апконверсионных наночастиц. При взаимодействии с гиалуронидазой происходит расщепление цепи гиалуроновой кислоты, и люминесцентный фрагмент UCNP-HA высвобождается (рис. 1.28). Разработанный наносенсор является селективным и сверхчувствительным, предел обнаружения гиалуронидазы составляет 0,6 нг/мл. Авторы определили концентрацию гиалуронидазы в образцах сыворотки крови человека, используя UCNP-HA-PMPD и коммерчески доступный набор для определения гиалуронидазы. Результаты, полученные с помощью обоих методов, не отличаются, что говорит об эффективности UCNP-HA-PMPD для определения гиалуронидазы в сложных биологических образцах.

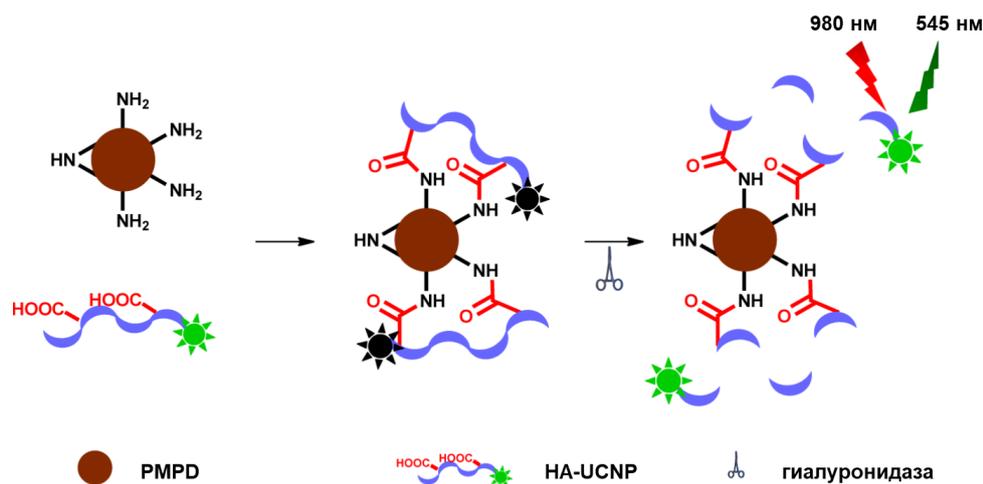


Рис. 1.28. Схематичное представление работы наносенсора UCNP-HA-PMPD для обнаружения гиалуронидазы [183].

Покрытие апконверсионных наночастиц водорастворимыми полисахаридами является эффективной стратегией для получения вододиспергируемых и устойчивых в водном растворе UCNP. Полимер в составе композитного материала обеспечивает биосовместимость и адресную доставку, выполняет роль «контейнера» для фотосенсибилизатора или лекарственного препарата. Благодаря этому, многофункциональные материалы UCNP-полисахарид могут найти применение во многих областях биологии и медицины как диагностические и терапевтические агенты.

1.3. Заключение

Наноразмерные объекты, такие как октаэдрические галогенидные кластерные комплексы молибдена и вольфрама, квантовые точки и апконверсионные наночастицы благодаря своим выдающимся оптическим свойствам могут найти применение во многих областях. Для реального применения в биомедицине необходимо, чтобы они являлись водорастворимыми/вододиспергируемыми, а также устойчивыми в водном растворе при физиологических условиях. Включение кластерных комплексов в полимерные матрицы способствует предотвращению гидролиза и обеспечивает растворимость/диспергируемость в водном растворе, при этом использование водорастворимых полимеров в данном контексте имеет неоспоримые преимущества. В литературном обзоре показано, что водорастворимые полисахариды и их производные являются эффективными стабилизирующими матрицами для квантовых точек и апконверсионных наночастиц. Кроме того, использование биосовместимых полимеров значительно снижает цитотоксичность люминофоров, а в ряде случаев обеспечивает адресную доставку. Таким образом, создание материалов на основе октаэдрических галогенидных кластерных комплексов молибдена и вольфрама и водорастворимых полисахаридов является верным шагом для стабилизации кластеров в водном растворе, чему и посвящена данная диссертационная работа.

2. Экспериментальная часть

2.1. Измерительные приборы

Рентгеноструктурный анализ. Рентгеноструктурный анализ монокристаллов проводили на автоматических дифрактометрах Bruker D8 VENTURE, Bruker DUO и Bruker-Nonius X8 Apex. Во всех случаях использовалось излучение Mo-K α ($\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$) с графитовым монохроматором.

Рентгенографические исследования. Порошковые диффрактограммы регистрировали на автоматическом дифрактометре Philips APD 1700 с использованием CuK α ($\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$) излучения, графитового монохроматора и внутреннего кремниевого стандарта. Напряжение на аноде 40 кВ, сила тока – 35 мА. Съемка велась по точкам. Для регистрации диффрактограмм был использован следующий режим съемки: шаг 0,05°; накопление 2 с, диапазон съемки 5–60°. Расчет теоретической диффрактограммы осуществлялся при помощи бесплатного программного обеспечения Powder Cell for Windows v.2.4 (PCW).

Элементный анализ. Содержание легких элементов (C, H, N, S) определяли на приборе EuroVector EA3000 и Vario MICRO cube. Исследование содержания тяжелых элементов проводили с использованием атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-АЭС) на высокоразрешающем спектрометре iCAP-6500 (Thermo Scientific) с распылительной камерой циклонного типа и распылителем «SeaSpray». Соотношение тяжелых элементов определяли методом энергодисперсионного элементного анализа (ЭДС) с помощью настольного сканирующего микроскопа Hitachi TM3000 TableTop SEM на оборудовании Bruker QUANTAX 70 EDS.

Электронные спектры поглощения. Электронные спектры поглощения (ЭСП) в диапазоне 200–800 нм регистрировали для растворов соединений в соответствующем растворителе на спектрометре Agilent Cary 60.

Люминесцентные измерения. Спектры люминесценции записывали на спектрофлюориметре Cary Eclipse (Agilent). Для измерения времени жизни и квантового выхода люминесценции использовали спектрофлюориметр Fluoromax-4, оснащенный дуговой ксеноновой (безозоновой) лампой мощностью 150 Вт, фотоумножителем R928P, интегрирующей сферой Quanta-ф и монохроматором. Для проведения измерений при различных концентрациях растворенного кислорода растворы насыщали кислородом, воздухом или аргоном.

Инфракрасная спектроскопия. ИК-спектры в диапазоне 4000–400 см⁻¹ записывали для образцов в виде таблеток с бромидом калия на Фурье-спектрометре VERTEX 80.

Термогравиметрический анализ. Термогравиметрический анализ (ТГА) проводили на термовесах TG 209 F1 Iris (NETZSCH) в интервале температур 25–600 °С и скоростью нагрева

10 К/мин в токе гелия (30 мл/мин). Температуру разложения ($T_{d\max}$) определяли как температуру максимальной скорости потери массы, т. е. максимум на дифференциальной термогравиметрической кривой.

Спектроскопия ядерного магнитного резонанса. ^1H ЯМР-спектры растворов в соответствующем дейтерированном растворителе регистрировали на спектрометре Bruker Avance III 500. В качестве стандарта использовали тетраметилсилан.

Масс-спектрометрия. Электроспрей-ионизационную масс-спектрометрию (ESI-MS) проводили на масс-спектрометре сверхвысокого разрешения Bruker maXis 4G.

Просвечивающая электронная микроскопия. Размер и морфологию частиц определяли с помощью просвечивающего электронного микроскопа (ПЭМ) Libra 120 (Zeiss, Germany).

Фотонная корреляционная спектроскопия. Спектры динамического рассеяния света записывали для растворов соединений в соответствующем растворителе на анализаторе частиц ZetaSizer Nano-ZS.

Гельпроникающая хроматография. Молекулярную массу (M_w) полимеров определяли на гельпроникающем хроматографе Agilent LC 1200 с хроматографической колонкой PL-aquagel-ОН Mixed C и детектором показателя преломления. В качестве элюента использовали 0,7 % водный раствор NaN_3 , скорость потока 1 мл/мин. Калибровку проводили с использованием стандартов полиэтиленгликоль/полиэтиленоксид (Agilent). Полимеры растворяли в деионизированной воде (4 мг/мл) и выдерживали в течение 24 часов перед анализом для обеспечения полного растворения.

2.2. Кластерные комплексы

Исходные реагенты

Кластерные комплексы $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{NO}_3)_6]$ и $\text{Na}_2[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{OMe})_6]$ ($\text{M} = \text{Mo}, \text{W}$) были получены по опубликованным методикам [11, 13, 18, 204]. Все неупомянутые реактивы и растворители использовали в коммерчески доступной форме квалификации не ниже ч.д.а.

2.2.1. Кластерные комплексы с тиолигандами

Синтез $\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$ и $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$ (1):

$\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{OMe})_6]$ (100 мг, 0,055 ммоль) растворяли в 1 мл абсолютного метанола и добавляли PhSH (120 мкл, 1,2 ммоль), помещали в стеклянную ампулу, запаивали и выдерживали при 100 °С в течение 24 часов. Далее раствор прикапывали к диэтиловому эфиру (10 мл) при интенсивном перемешивании, оранжевый осадок отделяли от раствора путём центрифугирования (6000 об/мин в течение 3 минут) и промывали диэтиловым эфиром несколько раз. Полученный порошок сушили на воздухе при комнатной температуре. Выход 86 мг (68 %). По данным ЭДС соотношение элементов в образце составляет $\text{Mo}:\text{I}:\text{S} = 6,0:8,0:6,3$.

ESI-MS: вычислено для $[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]^{2-}$ m/z 1122,92, найдено 1122,87 (рис. 3.2). ^1H ЯМР ($\text{Me}_2\text{CO}-d_6$): δ 6,83 (t, 1H, p-Ph), δ 6,98 (t, 2H, m-Ph), δ 7,24 (d, 2H, o-Ph) (рис. 3.3).

Для получения $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$ к реакционной смеси добавляли Bu_4NI (40 мг, 0,11 ммоль) и выделяли из раствора аналогично $\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$. Кристаллы $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$, пригодные для рентгеноструктурного анализа, получены посредством медленной диффузии диэтилового эфира в раствор кластерного комплекса в метаноле. Выход 93 мг (62 %) Вычислено для $\text{C}_{68}\text{H}_{102}\text{I}_8\text{Mo}_6\text{N}_2\text{S}_6$: C 29,8; H 3,7; N 1,0; S 7,0; найдено: C 29,9; H 4,2; N 1,0; S 7,0.

Поведение $\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$ в ацетоне

Раствор кластерного комплекса $\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$ в ацетоне ($C = 4,3$ mM) выдерживали при дневном свете или облучали УФ лампой с длиной волны 365 нм. Через определенные промежутки времени записывали спектры люминесценции и ЭСП (для записи ЭСП из раствора кластерного комплекса в ацетоне отбирали аликвоту и высаживали диэтиловым эфиром, а затем перерастворяли в ацетонитриле). Аналогичные эксперименты проводили для деаэрированного или выдержанного в темноте раствора кластерного комплекса.

Поведение $\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$ в воде

Для аэрированного и деаэрированного водного раствора кластерного комплекса $\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$ ($C = 1,2 \cdot 10^{-5}$ M) записывали ЭСП от времени.

Синтез $\text{Na}_2[\{\text{W}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$ и $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{W}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$ (2):

Получен аналогично (1) из $\text{Na}_2[\{\text{W}_6\text{I}_8\}(\text{OMe})_6]$ (100 мг, 0,043 ммоль) и PhSH (100 мкл, 1,0 ммоль) в абсолютном метаноле (1 мл). Выход 64 мг (53 %). По данным ЭДС соотношение элементов в образце составляет $\text{W}:\text{I}:\text{S} = 6,0:8,8:6,2$. ESI-MS: вычислено для $[\{\text{W}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]^{2-}$ m/z 1386,65, найдено 1386,51 (рис. 3.2). ^1H ЯМР ($\text{Me}_2\text{CO}-d_6$): δ 6,79 (t, 1H, p-Ph), δ 7,02 (t, 2H, m-Ph), δ 7,12 (d, 2H, o-Ph) (рис. 3.3).

$(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{W}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$ получен аналогично $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$. Кристаллы, пригодные для рентгеноструктурного анализа, получали посредством медленной диффузии диэтилового эфира в раствор кластерного комплекса в метаноле. Выход 81 мг (45 %). Вычислено для $\text{C}_{68}\text{H}_{102}\text{I}_8\text{N}_2\text{S}_6\text{W}_6$: C 25,0; H 3,2; N 0,9; S 5,9; найдено: C 26,6; H 3,1; N 1,0; S 5,9.

Синтез $\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{BnS})_6]$ и $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{BnS})_6]$ (3):

Получен аналогично (1) из $\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{OMe})_6]$ (100 мг, 0,055 ммоль) и BnSH (130 мкл, 1,1 ммоль) в абсолютном метаноле (1 мл). Выход 78 мг (59 %). По данным ЭДС соотношение элементов в образце составляет $\text{Mo}:\text{I}:\text{S} = 6,0:7,4:5,1$. ESI-MS: вычислено для $[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{BnS})_6]^{2-}$ m/z 1165,00, найдено 1164,92 (рис. П1). ^1H ЯМР ($\text{Me}_2\text{CO}-d_6$): δ 3,78 (d, 2H, CH_2) δ 7,04 (t, 1H, p-Ph), δ 7,15 (t, 2H, m-Ph), δ 7,38 (d, 2H, o-Ph) (рис. П3).

$(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{BnS})_6]$ получен аналогично $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$. Кристаллы, пригодные для рентгеноструктурного анализа, получены посредством медленной диффузии диэтилового эфира в раствор кластерного комплекса в метаноле. Выход 65 мг (42 %). Вычислено для $\text{C}_{74}\text{H}_{114}\text{I}_8\text{Mo}_6\text{N}_2\text{S}_6$: C 31,4; H 4,1; N 1,0; S 6,8; найдено: C 31,5; H 4,0; N 1,0; S 6,7.

Синтез $\text{Na}_2[\{\text{W}_6\text{I}_8\}(\text{BnS})_6]$ и $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{W}_6\text{I}_8\}(\text{BnS})_6]$ (4):

Получен аналогично (1) из $\text{Na}_2[\{\text{W}_6\text{I}_8\}(\text{OMe})_6]$ (100 мг, 0,043 ммоль) и BnSH (100 мкл, 0,85 ммоль) в абсолютном метаноле (1 мл). Выход 40 мг (32 %). По данным ЭДС соотношение элементов в образце составляет W:I:S = 6,0:9,6:6,7. ESI-MS: вычислено для $[\{\text{W}_6\text{I}_8\}(\text{BnS})_6]^{2-}$ m/z 1428,73, найдено 1428,58 (рис. П1). ^1H ЯМР ($\text{Me}_2\text{CO}-d_6$): δ 3,89 (d, 2H, CH_2) δ 7,04 (t, 1H, p-Ph), δ 7,14 (t, 2H, m-Ph), δ 7,37 (d, 2H, o-Ph) (рис. П3).

$(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{W}_6\text{I}_8\}(\text{BnS})_6]$ получен аналогично $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$. Кристаллы, пригодные для рентгеноструктурного анализа, получены посредством медленной диффузии диэтилового эфира в раствор кластерного комплекса в метаноле. Выход 39 мг (25 %). Вычислено для $\text{C}_{74}\text{H}_{114}\text{I}_8\text{N}_2\text{S}_6\text{W}_6$: C 26,6; H 3,4; N 0,8; S 5,7; найдено: C 24,8; H 3,2; N 0,9; S 6,0.

Синтез $\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(4\text{-}^t\text{BuBnS})_6]$ и $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(4\text{-}^t\text{BuBnS})_6]$ (5):

Получен аналогично (1) из $\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{OMe})_6]$ (100 мг, 0,055 ммоль) и $4\text{-}^t\text{BuBnSH}$ (200 мкл, 1,1 ммоль) в абсолютном метаноле (1 мл). Выход 87 мг (58 %). По данным ЭДС соотношение элементов в образце составляет Mo:I:S = 6,0:8,5:6,0. ESI-MS: вычислено для $[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(4\text{-}^t\text{BuBnS})_6]^{2-}$ m/z 1333,32, найдено 1333,60 (рис. П1). ^1H ЯМР ($\text{Me}_2\text{CO}-d_6$): δ 1,26 (s, 9H, CH_3), δ 3,76 (d, 2H, CH_2), δ 6,81 (t, 1H, p-Ph), δ 7,19 (t, 2H, m-Ph), δ 7,30 (d, 2H, o-Ph) (рис. П4).

$(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(4\text{-}^t\text{BuBnS})_6]$ получен аналогично $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$. Кристаллы, пригодные для рентгеноструктурного анализа, получены посредством медленной диффузии диэтилового эфира в раствор кластерного комплекса в метаноле. Выход 61 мг (35 %). Вычислено для $\text{C}_{98}\text{H}_{162}\text{I}_8\text{Mo}_6\text{N}_2\text{S}_6$: C 37,2; H 5,2; N 0,9; S 6,1; найдено: C 37,5; H 4,8; N 0,8; S 5,9.

Синтез $\text{Na}_2[\{\text{W}_6\text{I}_8\}(4\text{-}^t\text{BuBnS})_6]$ и $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{W}_6\text{I}_8\}(4\text{-}^t\text{BuBnS})_6]$ (6):

Получен аналогично (1) из $\text{Na}_2[\{\text{W}_6\text{I}_8\}(\text{OMe})_6]$ (100 мг, 0,043 ммоль) и $4\text{-}^t\text{BuBnSH}$ (160 мкл, 0,88 ммоль) в абсолютном метаноле (1 мл). Выход 29 мг (21 %). По данным ЭДС соотношение элементов в образце составляет W:I:S = 6,0:8,4:6,5. ESI-MS: вычислено для $[\{\text{W}_6\text{I}_8\}(4\text{-}^t\text{BuBnS})_6]^{2-}$ m/z 1597,05, найдено 1596,74 (рис. П1). ^1H ЯМР ($\text{Me}_2\text{CO}-d_6$): δ 1,25 (s, 9H, CH_3), δ 3,80 (d, 2H, CH_2), δ 6,81 (t, 1H, p-Ph), δ 6,94 (t, 2H, m-Ph), δ 7,22 (d, 2H, o-Ph) (рис. П4).

$(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{W}_6\text{I}_8\}(4\text{-}^t\text{BuBnS})_6]$ получен аналогично $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$. Кристаллы, пригодные для рентгеноструктурного анализа, получены посредством медленной диффузии диэтилового эфира в раствор кластерного комплекса в метаноле. Выход 30 мг (15 %). Вычислено для $\text{C}_{98}\text{H}_{162}\text{I}_8\text{N}_2\text{S}_6\text{W}_6$: C 32,0; H 4,4; N 0,8; S 5,2; найдено: C 32,3; H 4,0; N 1,0; S 5,1.

2.2.2. Кластерные комплексы с DMSO-лигандами

Синтез $[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_6](\text{NO}_3)_4$ (7):

$(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{NO}_3)_6]$ 300 мг (0,122 ммоль) растворяли в 3 мл ДМСО, помещали в стеклянную ампулу, запаивали и выдерживали при 100 °С в течение 48 ч. Далее раствор прикапывали к ацетону (150 мл) при интенсивном перемешивании, оранжевый осадок отделяли от раствора путём центрифугирования (6000 об/мин в течение 3 минут), промывали ацетоном несколько раз. Полученный порошок сушили на воздухе при комнатной температуре. Выход 274 мг (97 %). По данным ЭДС соотношение элементов в образце составляет Mo:I:S = 6,0:7,9:6,1. Вычислено для $\text{C}_{12}\text{H}_{36}\text{I}_8\text{N}_4\text{O}_{18}\text{S}_6\text{Mo}_6$: C 6,2; H 1,6; N 2,4; S 8,3; найдено: C 6,3; H 1,7; N 2,3; S 8,1. ИК спектр содержит характерное колебание сульфогруппы ($\nu(\text{SO}) = 938 \text{ см}^{-1}$). Кристаллы комплекса, пригодные для рентгеноструктурного анализа, были получены посредством медленной диффузии ацетона в раствор кластерного комплекса в ДМСО.

Синтез $[\{\text{W}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_6](\text{NO}_3)_4$ (8):

Получен аналогично (7) из $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{W}_6\text{I}_8\}(\text{NO}_3)_6]$ (300 мг, 0,101 ммоль) в ДМСО (3 мл). Выход 270 мг (94 %). По данным ЭДС соотношение элементов в образце составляет W:I:S = 6,0:8,1:5,9. Вычислено для $\text{C}_{12}\text{H}_{36}\text{I}_8\text{N}_4\text{O}_{18}\text{S}_6\text{W}_6$: C 5,1; H 1,3; N 2,0; S 6,8; найдено: C 5,3; H 1,4; N 2,0; S 6,7. ИК спектр содержит характерное колебание сульфогруппы ($\nu(\text{SO}) = 932 \text{ см}^{-1}$).

Кинетика гидролиза $[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_6](\text{NO}_3)_4$

Для насыщенных растворов (7) и (8) (5 мМ) в D_2O записывали ^1H ЯМР-спектры. Растворы термостатировали при 300,0, 320,0 или 340,0 К ($\pm 0,2$ К) и регистрировали спектры каждые 30 минут, 3 минуты, 47 секунд для (7) и каждые 24 часа, 60 минут, 15 минут для 8. Степень гидролиза была рассчитана по формуле $x = I_{\text{ДМСО-с}} / [I_{\text{ДМСО-с}} + I_{\text{ДМСО-к}}]$, где $I_{\text{ДМСО-с}}$ и $I_{\text{ДМСО-к}}$ соответствующие интегралы протонов свободных и координированных молекул ДМСО.

Эксперименты для $[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_6](\text{NO}_3)_4$ в питательной среде

100 мкл 12,9 мМ свежеприготовленного и выдержанного 4 дня водного раствора (7) добавляли к 900 мкл питательной среды DMEM без красителя. Осадки, образовавшиеся сразу в случае выдержанного раствора и через 6 часов в случае свежеприготовленного раствора, собирали и анализировали. По данным ЭДС и CHNS соотношение элементов в обоих образцах составляет Mo:I = 6,0:8,1 и не содержится S, P, C и N. Для свежеприготовленного и выдержанного 4 дня водного раствора (7) ($C \sim 0,066$ мМ) в питательной среде без красителя DMEM записывали спектры люминесценции от времени.

2.3. Полисахариды декстраны

2.3.1. Исходные реагенты

В качестве источника декстрана использовали лекарственные препараты Полиглюкин фирмы «Биохимик» и Реополиглюкин фирмы «Белмедпрепараты», которые представляют собой водные растворы 0,9 % хлорида натрия и декстрана с молекулярными массами 30-40 кДа (Dex35) и 50-70 кДа (Dex60) соответственно. Полимеры выделяли из раствора путем выпаривания воды из препаратов при 95°C. Декстраны с молекулярными массами 6 кДа (Dex6) и 20 кДа (Dex20) приобретены в Alfa Aesar. Для сравнения с образцами Dex35 и Dex60, к Dex6 и Dex20 добавляли эквивалентное количество NaCl (13,6 мг на 100 мг полимера). В качестве окислителя использовали 30 % водный раствор пероксида водорода.

2.3.2. Окисление декстрана

250 мг DexQ (где Q это молекулярная масса декстрана и составляет 6, 20, 35 и 60 кДа) растворяли в 2,5 мл воды и добавляли 0,65, 1,3 или 2,6 мл пероксида водорода (конечная концентрация 2,0 М, 3,4 М или 5,0 М). Полученный раствор выливали в чашку Петри и выдерживали при 100 °С до полного высыхания (1,5 часа). **Осторожно! При нагревании H₂O₂ разлагается с образованием кислорода, что является взрывоопасным. Необходимо проводить синтез в открытом сосуде, а также использовать защитный экран и средства индивидуальной защиты (например, защитные очки).** Окисленные декстраны обозначили как OxDexQ(n) (где n = 1, 2, 3 - обозначения используемой концентрации пероксида водорода – 2,0 М, 3,4 М или 5,0 М соответственно).

2.3.3. Количественное определение функциональных групп

Предварительно перед всеми анализами (кроме определения содержания пероксогрупп) все образцы дополнительно сушили при пониженном давлении при 90 °С в течение 2 часов. Для всех образцов все эксперименты повторяли пять раз. Содержание окисленных групп (γ) представлено в ммоль на грамм полимера.

Содержание альдегидных (-НС=О) групп

Содержание альдегидных групп определяли с помощью обратного титрования по модифицированной методике [205], которая основана на количественном взаимодействии альдегидных групп с гидроксиламином с образованием оксима. 300 мг OxDexQ(n) растворяли в 60 мл H₂O, добавляли 2 капли раствора тимолового синего в качестве рН индикатора, и подкисляли 0,1 М раствором HCl до рН = 2,8 (при этом цвет индикатора становился оранжевым). Затем к раствору декстрана добавляли 16,0 мл 0,7 М NH₂OH и цвет индикатора менялся на желтый ввиду увеличения рН. Полученный раствор перемешивали в течение 4 часов при комнатной температуре. Далее избыток гидроксилamina оттитровывали 0,100 М HCl до рН = 2,8

(оранжевый цвет индикатора). Аналогичный эксперимент проводили для исходных декстранов. Содержание альдегидных групп рассчитывали по уравнению 6

$$\gamma = \frac{(V_b - V_s) \cdot C_{HCl}}{m} \quad (6),$$

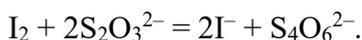
где V_b - объем HCl, затраченный для титрования исходного декстрана DexQ (в литрах), V_s - объем HCl, затраченный для титрования OxDexQ(n) (в литрах), $C_{HCl} = 0,1$ М, m – масса образца (в граммах).

Содержание карбоксильных (–COOH и –C(O)OON) групп

Для определения содержания карбоксильных групп использовали модифицированную методику [205]. 200 мг OxDexQ(n) растворяли в 10 мл H₂O, обрабатывали 5 мл 0,5 М ацетатом кальция и с помощью воды доводили объем раствора до 50,0 мл. Полученный раствор перемешивали в течение 2 часов при комнатной температуре. При этом карбоксильные группы окисленного полимера (более сильная кислота) реагируют с ацетатом кальция (солью более слабой кислоты) и выделяется уксусная кислота (более слабая кислота). Затем выделившуюся кислоту оттитровывали 50,0 мМ NaOH, используя фенолфталеин в качестве кислотно-основного индикатора.

Содержание пероксо-групп (-O-O-)

Для определения содержания пероксо-групп использовали йодометрическое титрование [206]. 50 мг OxDexQ(n) растворяли в 5 мл H₂O, добавляли 350 мкл уксусной кислоты и 250 мг NaI и интенсивно перемешивали. При этом раствор приобретал желтый цвет. Выделившийся йод оттитровывали 1,00 мМ Na₂S₂O₃ до полного обесцвечивания. Содержание пероксо-групп рассчитывали по следующему уравнению реакции:



2.3.4. Синтез натриевой соли окисленного декстрана (NaOxDexQ(n))

Водный раствор OxDexQ(n) (100 мг в 1 мл H₂O) обрабатывали 0,5М NaOH до pH = 7. После раствор прикапывали к этанолу (10 мл) при интенсивном перемешивании, белый осадок отделяли от раствора путём центрифугирования (16000 об/мин в течение 3 минут), промывали 3 раза этанолом и сушили на воздухе. Выход ~ 100 %.

2.3.5. Определение вязкости полимера

Значения относительной вязкости η_r определяли с использованием капиллярного вискозиметра. Измерения проводили для водных растворов полимеров с концентрацией 20 мг/мл при 25°C. Для каждого образца измерения повторяли 3 раза. $\eta_r = t/t_0$, где η_r - коэффициент вязкости, t - среднее время истечения раствора с образцом, t_0 - среднее время истечения чистого растворителя (воды).

2.3.6. Присоединение флуоресцеин-изотиоцианата к полимеру

Присоединение флуоресцентной метки к полимеру проводили по методике, описанной в [207]. Для этого 100 мг DexQ или NaOxDexQ(n) растворяли в 15 мл безводного ДМСО и добавляли 240 мкл раствора FITC (флуоресцеин изотиоцианата) в ДМСО с концентрацией 10 мг/мл (6,2 мкмоль), 9 мкл 10 % раствора триэтиламина в ДМСО (0,65 ммоль). Полученный раствор перемешивали в течение 24 часов при комнатной температуре. Продукт реакции (DexQ-FITC или NaDexQ(n)-FITC соответственно) высаживали из раствора путем добавления избытка ацетона (150 мл) и полученный желтый полимер промывали 3 раза ацетоном. Для дополнительной очистки от несвязанного FITC образец перерастворяли в 1 мл H₂O и высаживали с помощью ацетона (10 мл). Такую процедуру повторяли дважды.

2.4. Материалы на основе кластерных комплексов и декстранов

2.4.1. Получение M^x@DexQ и M^x@NaOxDexQ(n)

Все эксперименты проводили при комнатной температуре. Синтез M^x@DexQ и M^x@NaOxDexQ(n) (где x = 5 и 100 для DexQ и x = 5, 10, 50 и 100 для NaOxDexQ(n) – это загрузка кластерного комплекса [$\{M_6I_8\}(DMSO)_6\](NO_3)_4$ (M = Mo или W) в мг на 100 мг полимера) проводили следующим образом: 100 мг декстрана растворяли в 4 мл безводного ДМСО, добавляли 50, 100, 500 или 1000 мкл (для x = 5, 10, 50 или 100 соответственно) раствора кластерного комплекса в осушенном ДМСО с концентрацией 100 мг/мл и с помощью ДМСО доводили объем до 5 мл. Полученный раствор перемешивали в течение 24 часов. Затем реакцию смесь добавляли к 25 мл этанола при перемешивании, при этом происходило выпадение оранжевого осадка, который отделяли от раствора с помощью центрифугирования (16000 об/мин в течение 5 минут) и промывали этанолом несколько раз, пока раствор не перестанет окрашиваться. Для дополнительной очистки образец перерастворяли в 1 мл H₂O, высаживали этанолом (10 мл), промывали этанолом несколько раз и сушили на воздухе.

2.4.2. Восстановление альдегидных групп в окисленном декстрани

OxDex60(1) (500 мг) растворяли в 5 мл воды, добавляли 500 мг NaBH₃CN и перемешивали в течение 24 часов. Затем восстановленный Dex60(1)-Red высаживали из раствора избытком ацетона (50 мл). Осадок отделяли от раствора с помощью центрифугирования (16000 об/мин в течение 3 минут), промывали 3 раза ацетоном и 1 раз этанолом и сушили на воздухе.

2.4.3. Получение M^x@Dex60(1)-Red

Mo¹⁰⁰@Dex60(1)-Red получен аналогично M^x@DexQ и M^x@NaOxDexQ(n) (п. 2.4.1).

2.4.4. Исследование стабильности материалов в питательной среде

Для исследования стабильности в питательной среде 10 мг M^x@DexQ, M^x@NaOxDexQ(n) (M = Mo, W, x = 5, 10, 50 и 100, Q = 6, 20, 35 и 60) или Mo¹⁰⁰@Dex60(1)-Red растворяли в 50 мкл

воды и добавляли к 450 мкл питательной среды DMEM без красителя (полученная концентрация образца соответствует максимальной концентрации при исследовании биологических свойств). Затем из полученного раствора отбирали 30 мкл, разбавляли в 200 раз водой и записывали ЭСП в зависимости от времени. Растворы материалов в питательной среде хранили в темноте. Перед каждой записью спектра все образцы центрифугировали (16000 об/мин в течение 3 минут).

2.5. Биологические исследования

Клеточные культуры

Клетки рака гортани человека (Нер-2) покупали в Государственном научном центре вирусологии и биотехнологии «Вектор» и культивировали в питательной среде EMEM и DMEM в соотношении 1:1 с фетальной бычьей сывороткой (10 %) во влажной атмосфере (5 % CO₂ и 95 % воздуха) при 37 °С.

2.5.1. Оценка цитотоксичности, МТТ-тест

Клетки Нер-2 высевали в 96-луночные планшеты с концентрацией $5-7 \times 10^3$ клеток/лунка, а затем инкубировали в течение 24 часов в атмосфере 5 % CO₂ при 37 °С. Клетки обрабатывали водным раствором образца с указанной в каждом случае концентрацией и инкубировали в течение определенного времени при тех же условиях. Затем в каждую лунку добавляли 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолийбромид (МТТ) до конечной концентрации 250 мкг/мл и инкубировали в течение 4 часов. Образованный формазан растворяли в ДМСО (100 мкл). Оптическую плотность измеряли с помощью фотометра Multiskan FC (Thermo Scientific, USA) на длине волны 570 нм. Эксперимент повторяли три раза в разные дни. Индекс пролиферации рассчитывали как экспериментальное значение оптической плотности (ОП) $\times 100 / \text{ОП}_{\text{контроль}}$.

2.5.2. Оценка клеточного проникновения, проточная цитофлуориметрия (FACS)

Клетки Нер-2 высевали в 6-луночные планшеты с концентрацией 10×10^4 клеток/лунка, а затем инкубировали в течение 24 часов в атмосфере 5 % CO₂ при 37 °С. Водный раствор образца с указанной в каждом случае концентрацией добавляли к клеткам и инкубировали в течение определенного времени при тех же условиях. Затем клетки трипсинизировали и ресуспендировали в фосфатном буфере (PBS) с фетальной бычьей сывороткой (10 %). Суспензию клеток анализировали на цитофлуориметре CytoflexS (Beckman Coulter, USA). Использовали источник возбуждения с длиной волны 375 нм и фильтр эмиссии на 695 нм для визуализации кластерных комплексов и источник возбуждения с длиной волны 495 нм и фильтр эмиссии на 519 нм для визуализации полимера, модифицированного FITC.

2.5.3. Содержание молибдена в клетках, ИСП-АЭС

Клетки Нер-2 с концентрацией 2×10^6 клеток на 5 мл питательной среды высевали в чашку Петри с диаметром 100 мм и инкубировали в течение 24 часов в атмосфере 5 % CO_2 при 37 °С. Затем водный раствор образца с указанной в каждом случае концентрацией добавляли в чашку Петри и инкубировали в течение определенного времени при тех же условиях. Далее клетки промывали 3 раза стерильным фосфатным буфером, трипсинизировали и центрифугировали (1000 об/мин в течение 5 минут). После центрифугирования подсчитывали количество клеток в каждом образце. Полученную клеточную суспензию доводили до объема 300 мкл в стерильном буфере так, чтобы каждый образец содержал по 2 миллиона клеток. Содержание молибдена в полученных суспензиях определяли с помощью атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-АЭС) на высокоразрешающем спектрометре iCAP-6500 (Thermo Scientific) с распылительной камерой циклонного типа и распылителем «SeaSpray».

2.5.4. Оценка фотоиндуцированной цитотоксичности

Клетки Нер-2 высевали в 96-луночные планшеты с концентрацией $5-7 \times 10^3$ клеток/луночка, а затем инкубировали в течение 24 часов в атмосфере 5 % CO_2 при 37 °С. Клетки обрабатывали водным раствором образца с указанной в каждом случае концентрацией (использовалась концентрация ниже темновой цитотоксичности) и инкубировали в течение определенного времени при тех же условиях. После этого клетки облучали лампой L8253 (Hamamatsu, 400–800 нм, 220 мВ/см²) на расстоянии 20 см в течение 30 минут. Клетки, культивируемые в среде без комплекса, использовали как отрицательный контроль.

2.5.5. Изучение распределения частиц в клетке, ПЭМ

Клетки Нер-2 культивировали с водным раствором образца с указанной в каждом случае концентрацией в течение 24 часов. Затем клетки трипсинизировали и промывали PBS. Клетки фиксировали 2 % глутаральдегидом в PBS в течение 2 ч. После этого к фиксированным клеткам добавляли 1 % раствор OsO_4 в PBS (1 мл) и оставляли на 1 час. Далее клетки центрифугировали (1000 об/мин в течение 5 минут) для образования гранул на дне микропробирки. Ультратонкие срезы (70 нм) были получены с использованием ультрамикротомы Leica EM UC7 и помещены на медные сеточки. Образцы изучали с использованием просвечивающего электронного микроскопа Libra 120 (Zeiss).

2.5.6. Оценка клеточного проникновения, конфокальная лазерная сканирующая микроскопия (КЛСМ)

Клетки Нер-2 высевали в 96-луночные планшеты с концентрацией 10×10^6 клеток/луночка, а затем инкубировали в течение 24 часов в атмосфере 5 % CO_2 при 37 °С. Затем культуральную среду заменяли свежей средой, содержащей водный раствор образца с указанной в каждом случае концентрацией, и далее инкубировали в течение 24 часов. Далее клетки дважды промывали PBS

и фиксировали в 4 % параформальдегиде. Ядра клеток подкрашивали флуоресцентным красителем Hoechst 33342 или DAPI (Sigma-Aldrich), а цитоскелет – Alexa Fluore-532 phalloidin. Клетки визуализировали с помощью IN Cell Analyzer 2200 instrument (GE Healthcare, U.K.) или Zeiss LSM 710 (Carl Zeiss Inc., Jena, Germany).

2.5.7. Определение уровня генерации АФК в живых клетках

Клетки Нер-2 высевали в 96-луночные планшеты с концентрацией 7×10^3 клеток/луночка, а затем инкубировали в течение 24 часов в атмосфере 5 % CO₂ при 37 °С. Затем культуральную среду заменяли свежей средой, содержащей водный раствор образца с указанной в каждом случае концентрацией, и далее инкубировали в течение 24 часов. Клетки, культивируемые в среде без образца или с H₂O₂ (100 мкМ), использовали в качестве отрицательного и положительного контроля соответственно. Далее клетки инкубировали с 10 мкМ 5(6)-карбокситетракарбокси-2',7'-дихлорфлуоресцеин диацетата (DCFH-DA, Sigma-Aldrich) в HEPES (4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновой кислота) в течение 5 минут при 37 °С и затем облучали галогеновой лампой (500 Вт, $\lambda \geq 400$ нм) в течение 15 минут. Ядра клеток подкрашивали флуоресцентным красителем Hoechst 33342. Для автоматической флуоресцентной визуализации использовали IN Cell Analyzer 2200 (GE Healthcare, UK) с 200-кратным увеличением. Полученные изображения использовались для анализа интенсивности флуоресценции DCFH-DA с использованием программного обеспечения IN Cell Investigator (GE Healthcare, UK). Данные представляют собой усредненную интенсивность флуоресценции DCFH-DA.

3. Результаты и обсуждение

Приведенный обзор литературы демонстрирует огромный потенциал применения неорганических люминофоров в областях биологии и медицины. Однако, отсутствие водорастворимости/вододиспергируемости, низкая гидролитическая стабильность ограничивают их использование в живых системах. Один из способов решения данной проблемы – включение наноразмерных объектов в матрицы различной природы. Благодаря таким свойствам как биосовместимость, простота модификации, относительно низкая стоимость водорастворимые полисахариды являются отличными кандидатами на роль стабилизирующих агентов. На примере квантовых точек и апконверсионных наночастиц было показано, что природные полимеры являются эффективными стабилизирующими матрицами.

Данная работа посвящена октаэдрическим иодидным кластерным комплексам молибдена и вольфрама и материалам на их основе. Благодаря таким свойствам, как люминесценция и способность фотосенсибилизировать процесс генерации синглетного кислорода, они могут найти применение во многих областях биологии и медицины. Как было отмечено в литературном обзоре, в настоящее время известно ограниченное количество водорастворимых комплексов данного типа. В ходе выполнения диссертационной работы был получен ряд новых водорастворимых кластеров, который расширил список этих соединений [208]. Для дополнительной стабилизации в водном растворе полученные комплексы включали в полимерную матрицу. В качестве такой матрицы было предложено использовать природный водорастворимый полисахарид декстран и его функционализированные производные. Для модификации полимера был разработан простой и экологически безопасный метод окисления, который позволяет в один шаг получить мультифункциональный полисахарид [209]. Все полученные комплексы и материалы на их основе были подробно изучены набором современных физико-химических методов, а также особое внимание было уделено изучению люминесцентных свойств, гидролитической стабильности в водном растворе, в том числе в питательной среде, а также исследованию биологической активности [208, 210].

В приложении в таблице П1 представлен список всех полученных кластерных комплексов. Рассмотрим более подробно полученные результаты.

3.1. Кластерные комплексы с тиолигандами

В литературе широко известно, что молибден и в меньшей степени вольфрам обладают сродством к сере [211]. В связи с этим предполагается, что при получении кластерных комплексов с тиолигандами будет образовываться прочная связь металл-сера, которая будет препятствовать замещению терминальных лигандов в водном растворе. В настоящее время известно всего несколько примеров комплексов октаэдрических кластерных молибдена с

тиолигандами, а именно $[\{\text{Mo}_6\text{Cl}_8\}(\text{RS})_6]^{2-}$ ($\text{R} = \text{Ph}$, Bn (бензил), Et и Bu) [212, 213] и $[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{SC}_6\text{F}_4\text{H})_6]^{2-}$ [214]. В работе 2021 года была получена серия соединений с полифторированными ароматическими тиолами $[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{SAr}^f)_6]^{2-}$ ($\text{M} = \text{Mo}$ или W ; $\text{SAr}^f = p\text{-SC}_6\text{F}_4\text{-C}_6\text{F}_5$, $p\text{-SC}_6\text{F}_4\text{Cl}$ и $p\text{-SC}_6\text{F}_4\text{CF}_3$) [215]. Стоит отметить, что это первые примеры кластерных комплексов вольфрама с тиолигандами. Во всех этих работах кластерные комплексы выделяли в виде солей тетрабутиламмония (Bu_4N^+) или бис(трифенилфосфин)иминия (PPN^+), в связи с чем данные соединения являются не растворимыми в воде и, следовательно, исследования их гидролитической стабильности не проводились.

Для получения новых тиокомплексов в качестве исходного соединения в данной работе был выбран комплекс с легкоуходящими метилатными терминальными лигандами – $\text{Na}_2[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{OMe})_6]$ ($\text{M} = \text{Mo}$, W), а в качестве пролигандов – тиофенол (PhSH), бензилмеркаптан (BnSH) и 4-(трет-бутил)бензилмеркаптан ($4\text{-}^t\text{BuBnS}$). Синтез проводили в растворе абсолютного метанола в присутствии избытка пролиганда (соотношение кластер: $\text{RSH} = 1:20$ по молям) в запаянной стеклянной ампуле при $100\text{ }^\circ\text{C}$ в течение 24 часов. В ходе реакции происходит замещение терминальных лигандов и образуется комплекс с шестью тиолигандами. Таким образом было получено 6 новых шестизамещенных кластерных комплексов $\text{Na}_2[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{RS})_6]$ ($\text{M} = \text{Mo}$, W ; $\text{R} = \text{Ph}$, Bn , $4\text{-}^t\text{BuBn}$).

При обработке реакционной смеси тетрабутиламмонием йодистым (Bu_4NI) происходит замещение катиона Na^+ на Bu_4N^+ и образуются тетрабутиламмонийные соли $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{RS})_6]$ ($\text{M} = \text{Mo}$, $\text{R} = \text{Ph}$ (**1**), Bn (**3**), $4\text{-}^t\text{BuBn}$ (**5**); $\text{M} = \text{W}$, $\text{R} = \text{Ph}$ (**2**), Bn (**4**), $4\text{-}^t\text{BuBn}$ (**6**)). Путем диффузии паров диэтилового эфира в раствор кластерного комплекса в метаноле были получены монокристаллы для комплексов (**1**), (**2**), (**4–6**), пригодные для РСА.

Согласно данным рентгеноструктурного анализа кластерные комплексы (**1**), (**2**), (**4–6**), являются типичными примерами октаэдрических галогенидных комплексов типа $[\{\text{M}_6\text{I}_8\}\text{L}_6]^n$ ($\text{M} = \text{Mo}$, W), содержащих 24 кластерных скелетных электрона и имеющих 12 двухэлектронных связей металл–металл. К каждой грани металлокластера M_6 координирован тригонально-пирамидальным образом μ_3 -мостиковый лиганд I^- , дополнительно каждый атом металла через атом серы координирован одним терминальным лигандом L ($\text{L} = \text{PhS}^-$, BnS^- , $4\text{-}^t\text{BuBnS}^-$) (рис. 3.1). Основные кристаллографические характеристики и детали рентгеноструктурного эксперимента представлены в приложении в таблицах П2–П3.

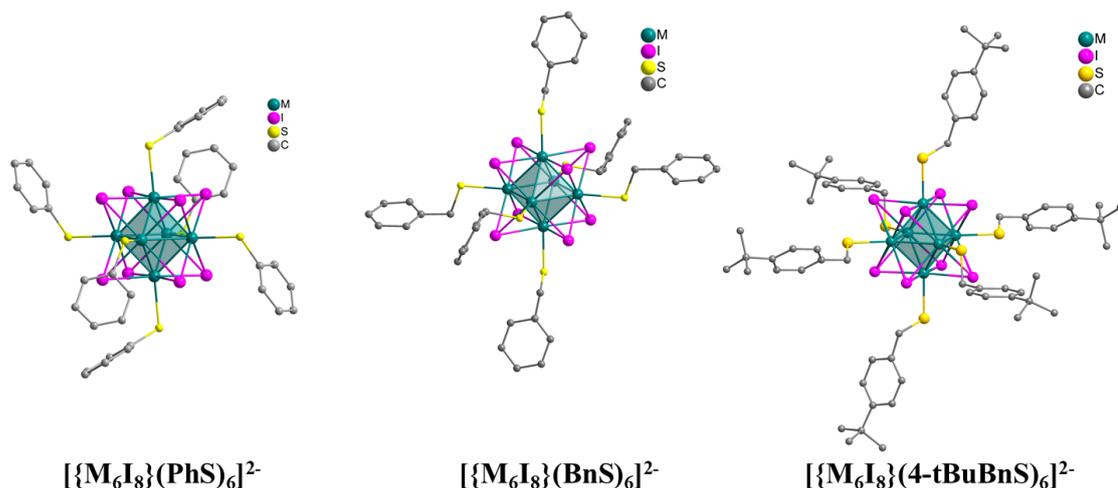


Рис. 3.1. Структура анионов $[\{M_6I_8\}(RS)_6]^{2-}$ ($M = Mo, W$; $R = Ph, Bn, 4-tBuBn$).

Соединения **(1)** и **(2)** кристаллизуются в моноклинной сингонии (Пр. гр. $P2_1/n$). Независимая часть обеих структур содержит половину кластерного аниона $[\{M_6I_8\}(PhS)_6]^{2-}$ и один катион Bu_4N^+ , центры кластерных анионов лежат в центре инверсии.

Соединение **(3)** кристаллизуется в триклинной сингонии (Пр. гр. $P-1$). Независимая часть структур содержит две половины кластерных анионов $[\{Mo_6I_8\}(BnS)_6]^{2-}$, два катиона Bu_4N^+ и две сольватных молекулы метанола с заселенностями 0,25 и 0,5, центры кластерных анионов совпадают с центром инверсии.

Для соединения **(4)** не удалось получить хорошие монокристаллы, пригодные для РСА, однако была получена модель кристаллической структуры с $R_1 = 0,18$, согласно которой комплекс **(4)** изоструктурен комплексу **(3)**.

Соединения **(5)** и **(6)** кристаллизуются в триклинной сингонии (Пр. гр. $P-1$). Независимая часть обеих структур содержит половину кластерного аниона $[\{M_6I_8\}(4-tBuBnS)_6]^{2-}$, один катион Bu_4N^+ и по одной сольватной молекуле метанола и диэтилового эфира, центры кластерных анионов совпадают с центром инверсии.

Геометрия кластерного ядра во всех полученных соединениях в целом аналогична геометрии ранее описанных октаэдрических иодидных кластерных комплексов молибдена и вольфрама [15, 25, 57, 216]. В частности, длины связей $Mo-Mo$ и $Mo-I$ находятся в диапазонах от 2,686(9) до 2,689(8) Å и от 2,780(9) до 2,785(10) Å соответственно, не проявляя зависимости от типа терминальных лигандов. В комплексах вольфрама длины связей $W-W$ и $W-I$ также не зависят от терминальных лигандов, однако, в сравнении с комплексами молибдена наблюдается небольшое укорочение связей металл–металл (~ на 0,01 Å) и удлинение связей металл–йод (~ на 0,02 Å). Расстояния $M-S$ лежат в интервале 2,505(4)–2,531(11) Å и хорошо согласуются с литературными данными для известных комплексов с тиолигандами [214, 215]. Можно отметить, что длина связи $M-S$ укорачивается на ~0,03 Å при переходе от комплексов с лигандами PhS^- к

комплексам с BnS^- и $4\text{-}^t\text{BuBnS}^-$. Средние значения основных длин связей в полученных анионах приведены в таблице 1. Для сравнения также указаны расстояния для ранее описанных тиокомплексов $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{SC}_{12}\text{F}_9)_6]$ ($\text{M} = \text{Mo}, \text{W}$) [215]. Углы M-S-C в полученных соединениях находятся в диапазоне от $107,25(15)^\circ$ до $112,40(17)^\circ$ и также хорошо согласуются с указанными для тиокомплексов $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{SC}_{12}\text{F}_9)_6]$ ($\text{M} = \text{Mo}, \text{W}$) [215].

Т а б л и ц а 1.

Средние значения длин связей в комплексах с тиолигандами

Соединение	Металл	M–M, Å	M–I, Å	M–S, Å
$(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$	Mo	2,689(8)	2,780(13)	2,531(11)
	W	2,673(9)	2,803(14)	2,530(13)
$(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{BnS})_6]$	Mo	2,688(9)	2,780(9)	2,508(14)
$(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(4\text{-}^t\text{BuBnS})_6]$	Mo	2,686(9)	2,785(10)	2,505(4)
	W	2,679(9)	2,809(12)	2,504(3)
$(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{SC}_{12}\text{F}_9)_6]$ [215]	Mo	2,682(1)	2,776(8)	2,531(5)
	W	2,674(10)	2,799(8)	2,550(6)

Из реакционной смеси комплексы выделяли в виде натриевых солей, так как ожидалось, что они будут растворимы в воде. Выход реакций для кластерных комплексов вольфрама составляет 21-53 %, а для кластерных комплексов молибдена он выше и находится в диапазоне 58-68 %. Увеличение времени реакции или загрузки пролиганда не приводило к значительным изменениям выхода реакции. Результаты элементных анализов (ЭДС и CHNS-анализа) подтверждают замещение терминальных лигандов OMe^- на RS^- . Для комплексов были записаны масс-спектры в ацетонитриле, согласно которым основная форма в растворе соответствует кластерному комплексу с шестью тиолигандами (рис. 3.2, П1). На ИК-спектрах полученных образцов присутствуют колебания тиолиганда (рис. 3.2, П2), за исключением колебания S–H группы ($\sim 2560 \text{ см}^{-1}$), которое пропадает при координации тиосоединения к кластеру.

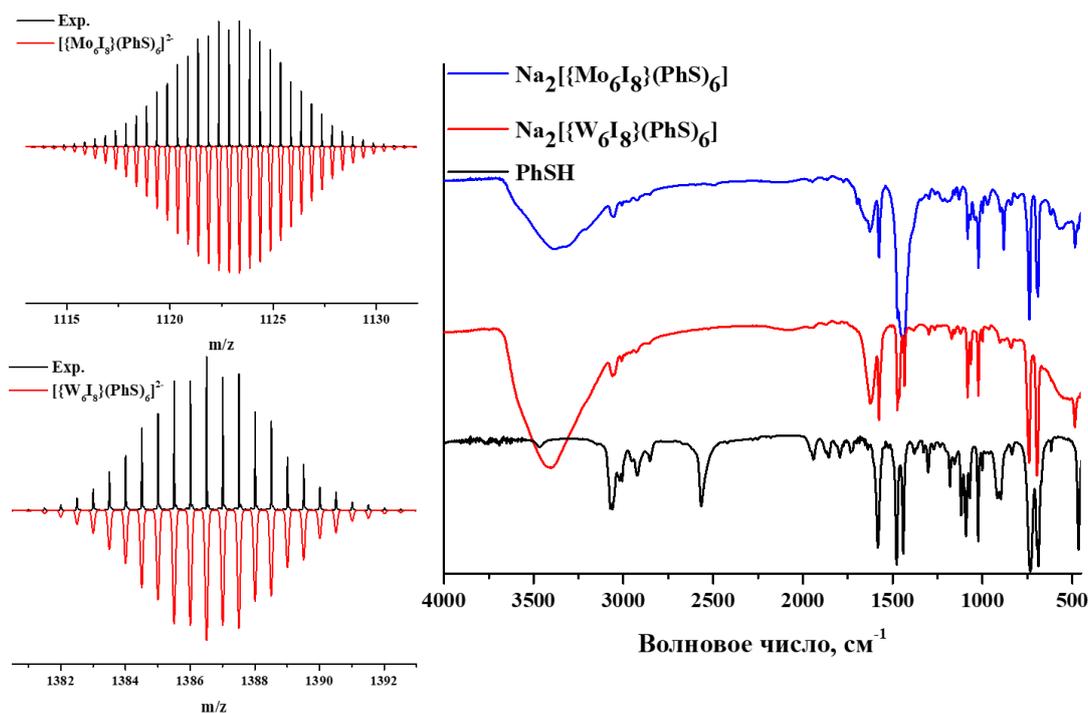


Рис. 3.2. Масс-спектры $\text{Na}_2[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$ ($\text{M} = \text{Mo}, \text{W}$), записанные в ацетонитриле (слева); ИК-спектры PhSH и $\text{Na}_2[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$ ($\text{M} = \text{Mo}, \text{W}$) (справа).

Ввиду симметричности кластерного аниона на ^1H ЯМР-спектрах комплексов в $\text{Me}_2\text{CO}-d_6$ наблюдается только один набор сигналов, относящийся к тиолигандам. Относительно исходного тиосоединения при его координации к металлу происходит сдвиг сигналов в область более сильного поля, при этом соотношение интегральных интенсивностей протонов сохраняется (рис. 3.3, ПЗ-П4).

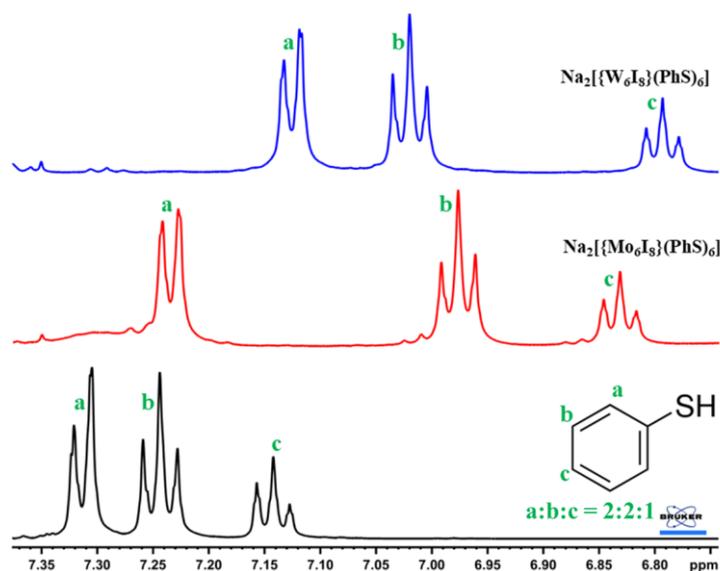


Рис. 3.3. ^1H ЯМР-спектры PhSH и $\text{Na}_2[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$ ($\text{M} = \text{Mo}, \text{W}$) в $\text{Me}_2\text{CO}-d_6$.

Все полученные комплексы растворимы в органических растворителях, таких как метанол, ацетон, ацетонитрил, ДМСО и др., в то время как в воде растворимы только комплексы PhS^- и

BnS⁻ лигандами. Комплексы Na₂[{M₆I₈}(4-^tBuBnS)₆] (M = Mo, W) не растворимы в воде, что, вероятно, связано с высокой гидрофобностью третбутильной группы.

3.1.1. Поведение Na₂[{Mo₆I₈}(PhS)₆] в ацетоне

В ходе характеристики комплексов мы обнаружили, что со временем в растворе (как в органических растворителях, так и в воде) с образцами происходят некоторые изменения. В связи с этим было принято решение уделить особое внимание изучению поведения тиокомплексов в растворе на примере кластерного комплекса Na₂[{Mo₆I₈}(PhS)₆]. Для начала было исследовано поведение данного комплекса в органических растворителях, в качестве которого был выбран ацетон. Так, на ¹H ЯМР-спектре Na₂[{Mo₆I₈}(PhS)₆] (в Me₂CO-d₆) со временем все три сигнала координированного тиолиганда почти полностью пропадают, и образуются новые – в области более слабого поля (рис. 3.4). Стоит отметить, что новый набор сигналов не соответствует свободному тиофенолу, а, следовательно, высвобождение тиофенола не происходит. Из литературы известно, что тиолы (RS⁻) способны окисляться до сульфенатов (RSO⁻) и сульфинатов (RSO₂⁻) [217, 218], в том числе тиолы, координированные к металлу [219-221]. Вероятно, новые сигналы на 7,25-7,55 м.д. соответствуют окисленным формам тиофенолят-ионов, координированных к металлокластеру. Что касается уже известных тиокластерных комплексов, то соединения с полифторированными ароматическими тиолами [{M₆I₈}(SAr^f)₆]²⁻ стабильны на воздухе [215]. В то же время в работе [212] авторы указали, что [{Mo₆Cl₈}(RS)₆]²⁻ (R = Ph, Bn (бензил), Et и Bu) легко окисляются на воздухе, однако, подробное исследование этого процесса не проводили.

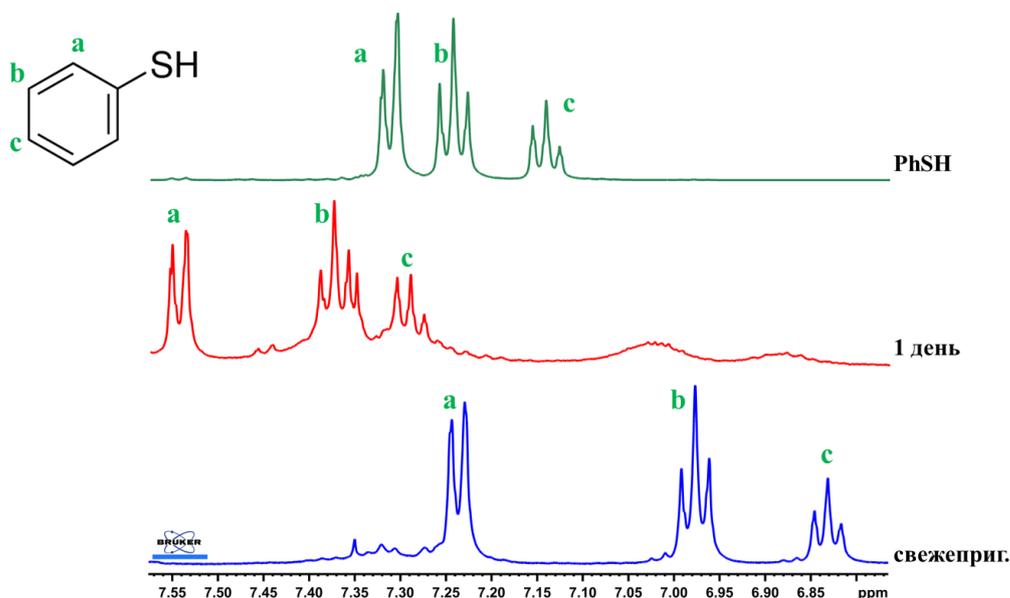


Рис. 3.4. ¹H ЯМР-спектры Na₂[{Mo₆I₈}(PhS)₆] в Me₂CO-d₆ от времени.

Со временем из раствора Na₂[{Mo₆I₈}(PhS)₆] в ацетоне начинает выпадать осадок, но раствор также остается окрашен. Для осадка и комплекса, высаженного из раствора диэтиловым

эфиром, были записаны ИК-спектры. На рисунке 3.5 видно, что в сравнении с исходным комплексом у формы, выделенной из раствора, появляются колебания SO группы, а в осадке, выпавшем в ацетоне, появляются колебания SO₂ группы. Таким образом, можно предположить, что в растворе ацетона образуются формы комплексов, содержащих в качестве терминальных лигандов сульфенаты (RSO⁻) и сульфинаты (RSO₂⁻).

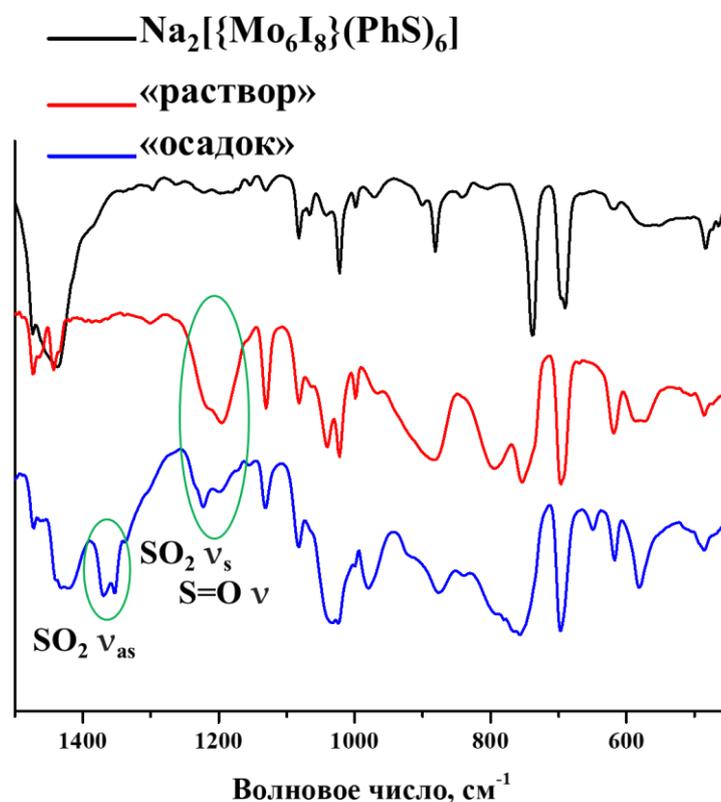


Рис. 3.5. ИК-спектры $\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$ и форм из раствора и осадка (диапазон 450-1500 cm^{-1}).

При выдерживании $\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$ в ацетоне при дневном свете на ЭСП комплекса наблюдается изменение формы спектра (рис. П5) (изменение интенсивности поглощения связано с выпадением образца из раствора). Для записи ЭСП из раствора кластерного комплекса в ацетоне отбирали аликвоту и высаживали диэтиловым эфиром, а затем перерастворяли в ацетонитриле, так как ацетонитрил является оптически прозрачным растворителем в УФ-области. На спектрах люминесценции наблюдается смещение максимума эмиссии на 11 нм в более коротковолновую область (рис. 3.6). Интересно отметить, что при облучении растворов УФ лампой с длиной волны 365 нм происходят аналогичные изменения, только намного быстрее – вместо 24 часов требуется 50 минут (рис. 3.6, П5).

Для более детального изучения процесса окисления тиофенолят-ионов мы провели несколько дополнительных экспериментов. Так, было обнаружено, что при облучении УФ лампой в течение 10 минут деаэрированного раствора $\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$ в ацетоне максимум эмиссии остается неизменным (727 нм), в то время как в присутствии кислорода при облучении

эмиссии сдвигается на 9 нм в коротковолновую область (рис. П6). Следовательно, наличие кислорода играет ключевую роль в окислении тиофенолят-лигандов. Вместе с тем выдерживание раствора комплекса в темноте, но с доступом кислорода в течение суток также не приводит к значительным изменениям спектра люминесценции. Вероятно, в присутствии кислорода при облучении кластерный комплекс фотосенсибилизирует процесс генерации синглетного кислорода [5, 7, 21], который обладает высоким окислительным потенциалом, а он в свою очередь окисляет тиол в составе кластерного комплекса до сульфенатов (RSO^-), а затем до сульфинатов (RSO_2^-).

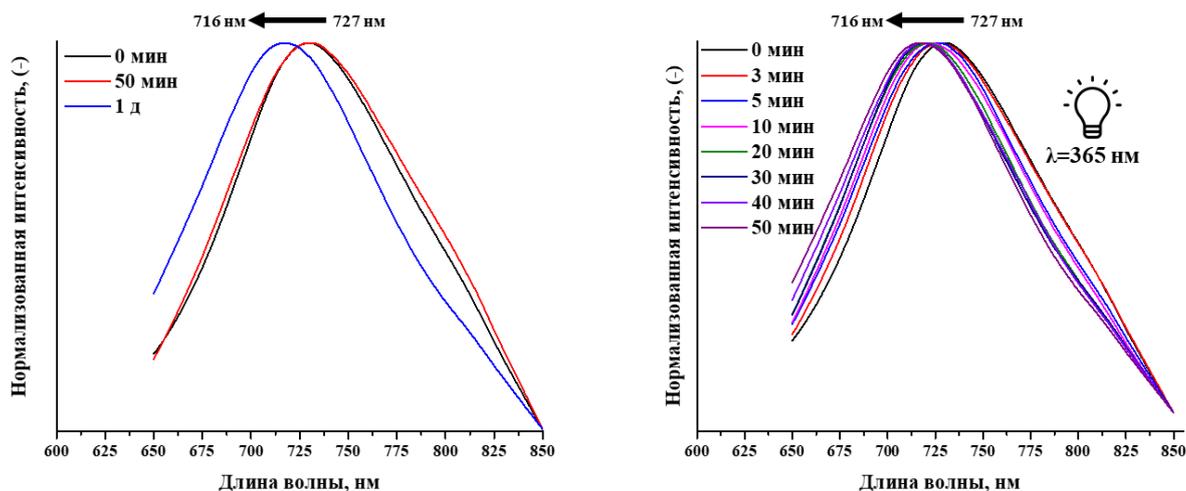


Рис. 3.6. Спектры люминесценции $\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$ в ацетоне без облучения (слева) и с облучением лампой с длиной волны 365 нм (справа) в зависимости от времени.

3.1.2. Поведение $\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$ в воде

Как было отмечено в литературном обзоре, большинство водорастворимых кластерных комплексов молибдена и вольфрама со временем подвергаются гидролизу (происходит замещение терминальных лигандов на $\text{H}_2\text{O}/\text{OH}^-$). В связи с этим было принято решение исследовать стабильность $\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$ в водном растворе. Согласно данным масс-спектрометрии в свежеприготовленном растворе содержатся формы кластерного комплекса только с тиофенолят-лигандами (рис. 3.7). Однако, при выдерживании этого раствора 24 часа, образуется форма с одной гидроксогруппой $[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_5(\text{OH})]^{2-}$, а также формы с окисленными тиофенолят-ионами $[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_{6-x}(\text{PhSO})_x]^{2-}$ ($x = 2, 4$) (рис. 3.7). Со временем из раствора комплекса выпадает осадок. Согласно данным ЭДС спустя два дня в осадок выпадает частично гидролизованный комплекс – на кластерное ядро $\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}^{4+}$ приходится 4 атома серы (или 4 тиолиганда), а при более длительном выдерживании (2 недели) в водном растворе образуется полностью гидролизованный комплекс. Нам удалось получить монокристалл, параметры кристаллической структуры которого соответствует известному 14-водному аквагидроксикомплексу $[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{H}_2\text{O})_2(\text{OH})_4] \cdot 14\text{H}_2\text{O}$ [222]. Основываясь на данных масс-

спектрометрии, ЭДС и РСА, можно сделать предположение, что в воде одновременно происходит два конкурирующих процесса, а именно окисление тиолигандов и замещение тиолигандов на молекулы воды и гидроксогруппы, с преобладанием последнего.

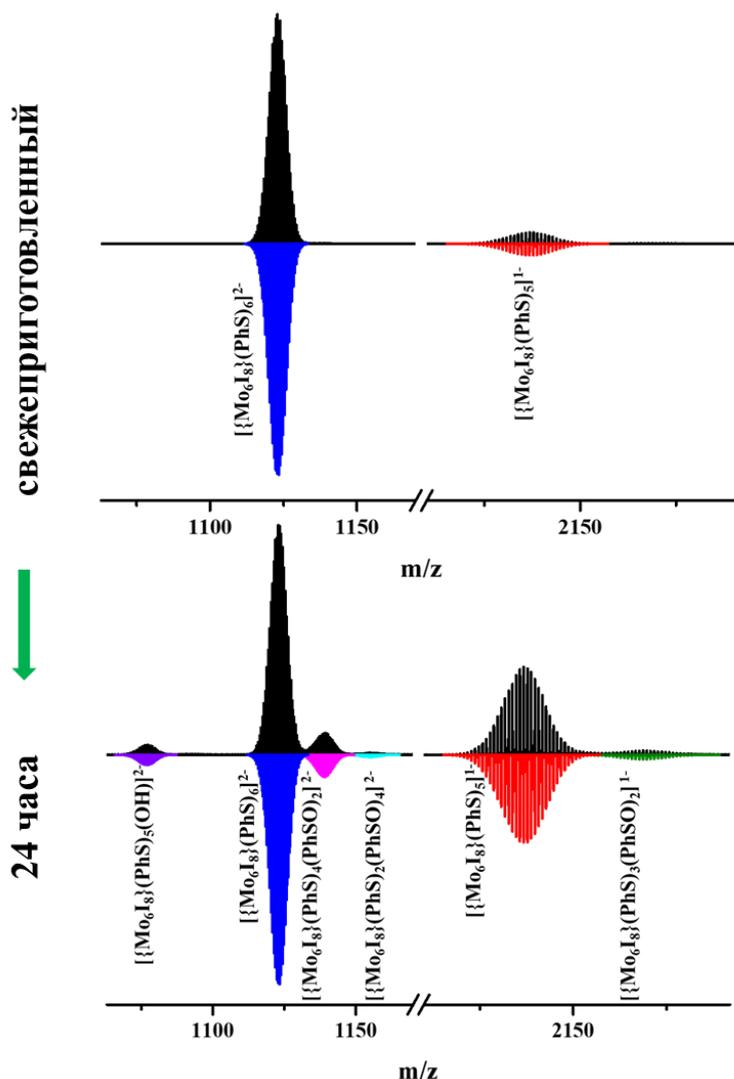


Рис. 3.7. Масс-спектры $\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$ в воде от времени. Экспериментальные данные черного цвета, а симулированные формы цветные.

На электронных спектрах поглощения кластерного комплекса в аэрированном водном растворе со временем наблюдается снижение интенсивности сигнала ($\lambda = 301 \text{ nm}$), в то время как в деаэрированном растворе спектр не меняется (рис. 3.8). Следовательно, в отсутствие кислорода данный комплекс не подвергается гидролизу. Вероятно, только окисленные тиолиганды замещаются на воду и/или гидроксид-ионы. В литературе описана аналогичная ситуация для тиокомплекса рутения: исходный комплекс стабилен в водном растворе, однако после окислении пероксидом водорода подвергается гидролизу [219].

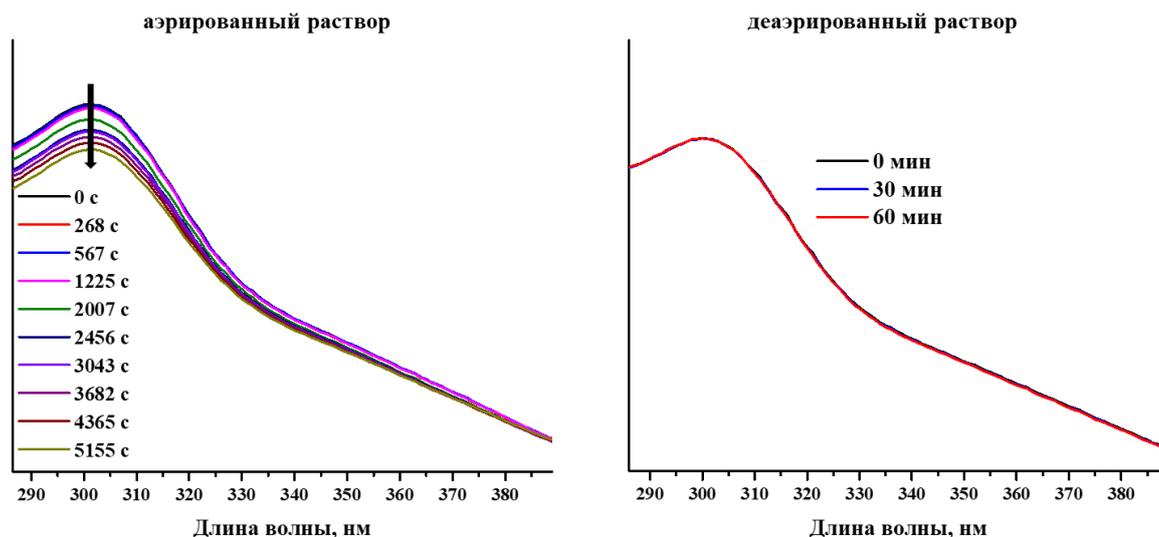


Рис. 3.8. ЭСП $\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$ в воде от времени в аэрированном (слева) и в деаэрированном (справа) растворе.

Таким образом, детальное исследование кластерного комплекса $\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$ в органических растворителях и водном растворе дает фундаментальные знания о поведении тиокластеров. Полученные данные являются важной и полезной базой для изучения химии кластерных комплексов, в которых реализуется связь M–S между кластерным ядром и тиолигандом.

Поскольку кластерный комплекс $\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$ в питательной среде моментально выпадает в осадок, то было принято решение не проводить для него биологические исследования.

3.2. Кластерные комплексы с DMSO-лигандами

Продолжив работу, направленную на поиск новых водорастворимых кластерных комплексов молибдена и вольфрама, мы обнаружили, что при взаимодействии $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{NO}_3)_6]$ ($\text{M} = \text{Mo}, \text{W}$) с диметилсульфоксидом (ДМСО или DMSO) образуются новые комплексы $[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_6](\text{NO}_3)_4$ ($\text{M} = \text{Mo}$ (**7**), W (**8**)). Выбор исходного кластерного комплекса обусловлен тем, что $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{NO}_3)_6]$ благодаря наличию лабильных NO_3^- лигандов является удобным прекурсором для синтеза новых октаэдрических комплексов и материалов на их основе [13, 50, 70, 223]. Данные ИК-спектроскопии, CHNS анализа и ЭДС подтверждают, что в ходе реакции происходит замещение терминальных лигандов NO_3^- на ДМСО. Так, на ИК-спектре присутствует характерный сигнал колебания некоординированной NO_3^- группы ($\sim 1370 \text{ см}^{-1}$). Сигнал на $\sim 930\text{--}940 \text{ см}^{-1}$ соответствует колебанию S–O группы ДМСО, который заметно сдвинут в область больших волновых чисел по сравнению со свободным ДМСО (1005 см^{-1}), ввиду координации к металлу через атом кислорода (рис. 3.9) [224]. Также следует отметить, что в отличие от исходного соединения полученные комплексы с лигандами ДМСО оказались растворимы в H_2O .

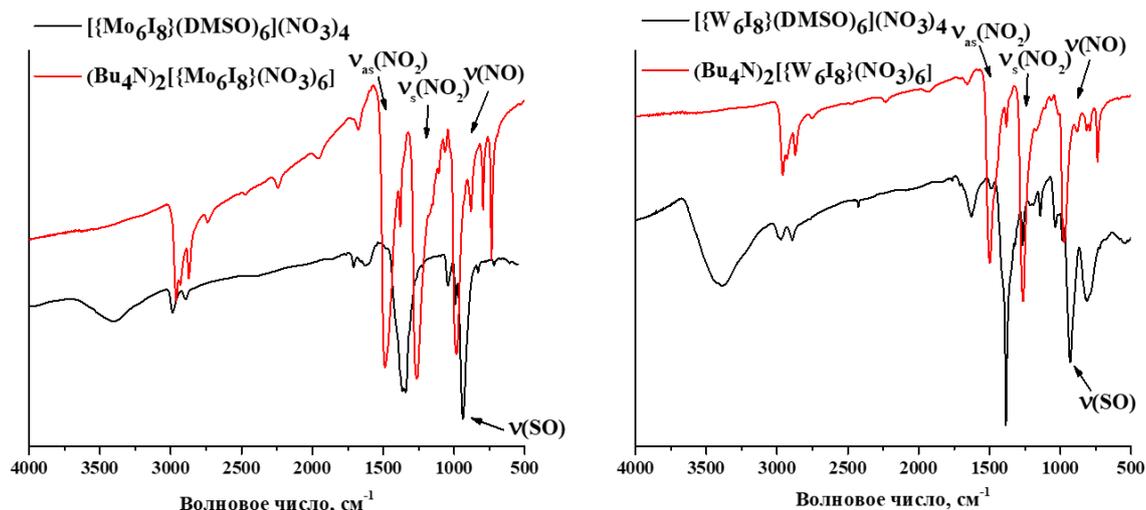


Рис. 3.9. ИК-спектры $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\text{M}_6\text{I}_8](\text{NO}_3)_6$ и $[\text{M}_6\text{I}_8](\text{DMSO})_6(\text{NO}_3)_4$ ($\text{M} = \text{Mo}$ (слева), $\text{M} = \text{W}$ (справа)).

Для комплекса (7) монокристаллы, пригодные для РСА, были получены посредством медленной диффузии ацетона в раствор кластерного комплекса в ДМСО. Согласно рентгеноструктурному анализу комплекс кристаллизуется в тригональной сингонии (пространственная группа $P\bar{3}1c$) в виде сольвата $[\text{Mo}_6\text{I}_8](\text{DMSO})_6(\text{NO}_3)_4 \cdot \text{Me}_2\text{CO}$ (основные кристаллографические характеристики и детали рентгеноструктурного эксперимента представлены в приложении в таблице П4). Структура кластерного катиона $[\text{Mo}_6\text{I}_8](\text{DMSO})_6^{4+}$ представлена на рисунке 3.10.

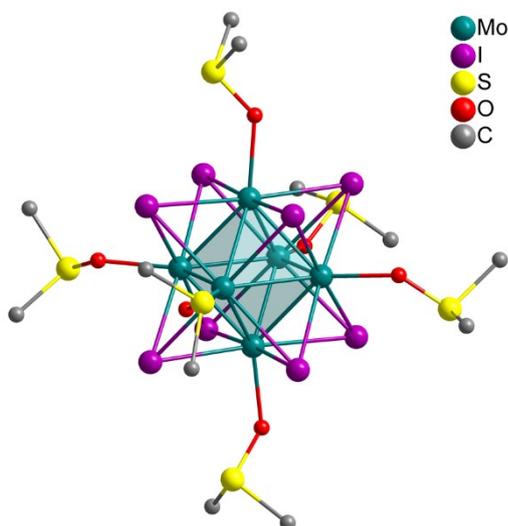


Рис. 3.10. Структура кластерного катиона $[\text{Mo}_6\text{I}_8](\text{DMSO})_6^{4+}$.

Геометрические параметры $\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}^{4+}$ аналогичны таковым в структуре кластерного ядра исходного комплекса [13]. Металлический остов представляет собой октаэдр Mo_6 с длинами связей $\text{Mo}-\text{Mo}$ от 2,6430(5) до 2,6591(5) Å. Над каждой треугольной гранью октаэдра расположен μ_3 -мостиковый I-лиганд, длины связей $\text{Mo}-\text{I}$ лежат в диапазоне 2,7736(4) – 2,7836(4) Å. В свою очередь каждый атом Mo дополнительно координирован молекулой ДМСО через атом кислорода (длина $\text{Mo}-\text{O}$ составляет 2,133(6) – 2,154(6) Å). Для соединения (8) не удалось получить

кристаллы, пригодные для РСА. Однако, порошковые дифрактограммы комплексов (7) и (8) совпадают, и, следовательно, они являются изоструктурными (рис. П7).

3.2.1. Люминесцентные свойства $[\{M_6I_8\}(DMSO)_6](NO_3)_4$

Для полученных комплексов были изучены люминесцентные свойства в твердом теле и в водном растворе. Спектры эмиссии представлены на рисунке 3.11, а время жизни, квантовый выход люминесценции и максимум эмиссии – в таблице 2. Ввиду быстрого гидролиза кластерного комплекса молибдена, что будет детально рассмотрено в следующей главе, исследование в водном растворе (H_2O или D_2O) проводили только для комплекса вольфрама. Оба комплекса проявляют ярко-красную (в случае молибдена) / оранжевую (в случае вольфрама) люминесценцию (рис. П8). Замена лигандов NO_3^- на ДМСО по-разному влияет на люминесценцию комплексов молибдена и вольфрама в твердом теле. Для (7) наблюдается смещение максимума эмиссии в длинноволновую область, увеличение времени жизни и уменьшение квантового выхода люминесценции. В то же время для (8) максимум эмиссии смещается в коротковолновую область, время жизни и квантовый выход люминесценции увеличиваются. В водном растворе происходит значительное снижение люминесцентных характеристик кластерного комплекса вольфрама. Это может быть связано с гидролизом комплекса и образованием аквагидроксо формы, так как в литературе показано, что аквагидроксокомплексы октаэдрических кластеров проявляют слабую люминесценцию [11]. Кроме того, в растворе может реализовываться безызлучательная дезактивация комплекса молекулами воды. Так, например, в H_2O время жизни и квантовый выход люминесценции ниже, чем в D_2O , что подтверждает более эффективную безызлучательную дезактивацию в H_2O .

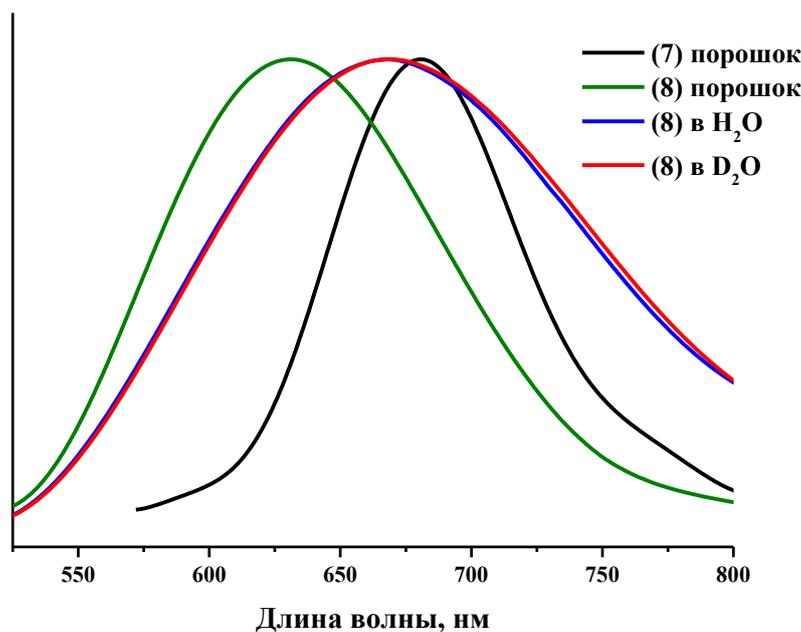


Рис. 3.11. Спектры люминесценции $[\{M_6I_8\}(DMSO)_6](NO_3)_4$ ($M = Mo, W$) для порошков и в H_2O/D_2O (отнормированные). Длина волны возбуждения 355 нм.

Фотофизические характеристики $[\{M_6I_8\}(DMSO)_6](NO_3)_4$ (M = Mo, W).

		M = Mo			M = W		
		$\lambda_{эм}, \text{нм}$	$\tau_{эм}, \text{мкс}$	$\Phi_{эм}$	$\lambda_{эм}, \text{нм}$	$\tau_{эм}, \text{мкс}$	$\Phi_{эм}$
$(Bu_4N)_2[\{M_6I_8\}(NO_3)_6]$	порошок	666 ^a	$\tau_1=96^a$ $\tau_2=26^a$	0,26 ^a	660 ^b	7 ^b	0,04 ^b
$[\{M_6I_8\}(DMSO)_6](NO_3)_4$	порошок	681	$\tau_1=66,6$ $\tau_2=164,7$	0,19	631	$\tau_1=21,8$ $\tau_2=311,1$	0,18
	в H ₂ O (свеж.)	–	–	–	668	$\tau_1 = 6,61$ $\tau_2 = 185$	0,02
	в D ₂ O (свеж.)	–	–	–	668	$\tau_1 = 8,35$ $\tau_2 = 401$	0,04
$[\{M_6I_8\}(OH)_4(H_2O)_2] \cdot nH_2O$	порошок	– ^b	– ^b	– ^b	700 ^b	5 ^b	<001 ^b

a – [13], б – [11]

3.2.2. Кинетика гидролиза $[\{M_6I_8\}(DMSO)_6](NO_3)_4$

Растворимость полученных комплексов $[\{M_6I_8\}(DMSO)_6](NO_3)_4$ в воде вероятно связана с большим зарядом кластерного катиона, а также с высокой гидрофильностью противоионов. Однако, со временем из водных растворов выпадает аморфный осадок (рис. П9), который ни в чем не растворим. Опираясь на данные ИК-спектроскопии (рис. П10) и ЭДС (M:I:S=6,0:8,2:0), можно сделать предположение, что в воде происходит замещение ДМСО-лигандов и образуется аквагидроксо формы кластерного комплекса $[\{M_6I_8\}(H_2O)_2(OH)_4] \cdot xH_2O$, которые были описаны ранее [11, 59, 225]. Аналогичная ситуация наблюдалась для комплекса (1) с тиолигандами – при длительном выдерживании в водном растворе были получены монокристаллы, параметры которых соответствуют $[\{Mo_6I_8\}(H_2O)_2(OH)_4] \cdot 14H_2O$ [222] (п. 3.1.2).

Для того, чтобы определить в каких формах находятся комплексы в водном растворе, мы провели серию экспериментов, а именно для комплексов (7) и (8) с помощью масс-спектрометрии изучили (i) свежеприготовленный водный раствор, (ii) свежеприготовленный водный раствор с добавлением 1 % ДМСО и (iii) водный раствор, выдержанный в течение 4 дней. Полученные спектры демонстрируют большое разнообразие форм, которые могут быть описаны одной общей формулой $[\{M_6I_8\}(DMSO)_{6-x}(H_2O)_z(OH)_y(NO_3)_{k-y}]_{4-k}$ (M = Mo, W, x = 0-6, z = 0-10, y = 0-3, k = 0-3). Состав форм в растворе напрямую связан со временем его выдержки. В свежеприготовленном растворе (7) присутствуют как полностью гидролизованные формы, так и формы, содержащие 1–6 молекул ДМСО, а в выдержанном 4 дня растворе содержатся в основном полностью гидролизованные формы (рис. 3.12, П12, табл. П5, П7). В то же время в обоих растворах (8) (свежеприготовленном и выдержанном 4 дня) основные формы содержат ДМСО-

лиганды, а, следовательно, комплекс вольфрама более устойчив к гидролизу (рис. 3.12, П14, табл. П8, П10). Значительное отличие в реакционной способности металлокомплексов молибдена и вольфрама ранее было отмечено в нескольких работах [226-229]. Примечательно, что добавление 1 % ДМСО в свежеприготовленный водный раствор увеличивает долю форм с ДМСО-лигандами (рис. П11, П13, табл. П6, П9), а, следовательно, процесс гидролиза является обратимым.

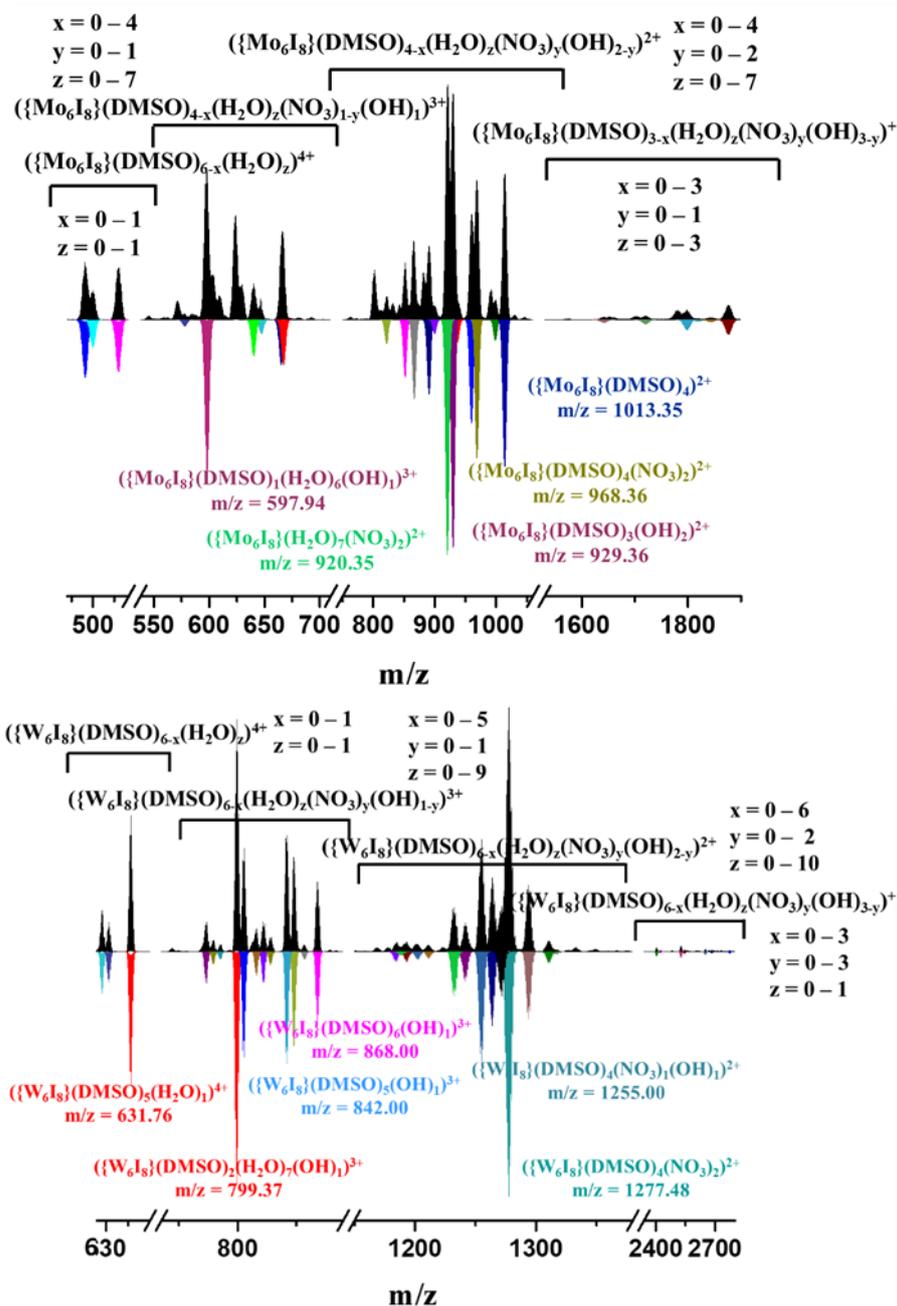


Рис. 3.12. Масс – спектры для свежеприготовленного водного раствора (7) (сверху) и (8) (снизу).

Экспериментальные данные черного цвета, а симулированные формы цветные.

Детальное исследование кинетики гидролиза проводили в условиях реакции псевдопервого порядка в насыщенном растворе D_2O с использованием ^1H ЯМР-спектроскопии при температуре 300, 320 и 340 К. Действительно, на ^1H ЯМР спектрах наблюдаются сигналы, относящиеся к

координированным и некоординированным молекулам ДМСО. Со временем интегральная интенсивность сигнала, координированного ДМСО, уменьшается, что свидетельствует об его замещении, а форма сигнала приобретает вид мультиплета, что связано с изменением симметрии комплекса и неэквивалентностью протонов (рис. 3.13). Таким образом, отношение интегралов сигналов ДМСО в растворе D₂O связано со степенью гидролиза по уравнению 7. Интегральные интенсивности протонов свободных и координированных молекул ДМСО обозначены как $I_{\text{ДМСО-с}}$ и $I_{\text{ДМСО-к}}$ соответственно. На рисунке 3.13 приведен пример кинетической кривой при 300 К для (7). Аналогичные эксперименты проводили при 320 и 340 К (рис. П15-П21).

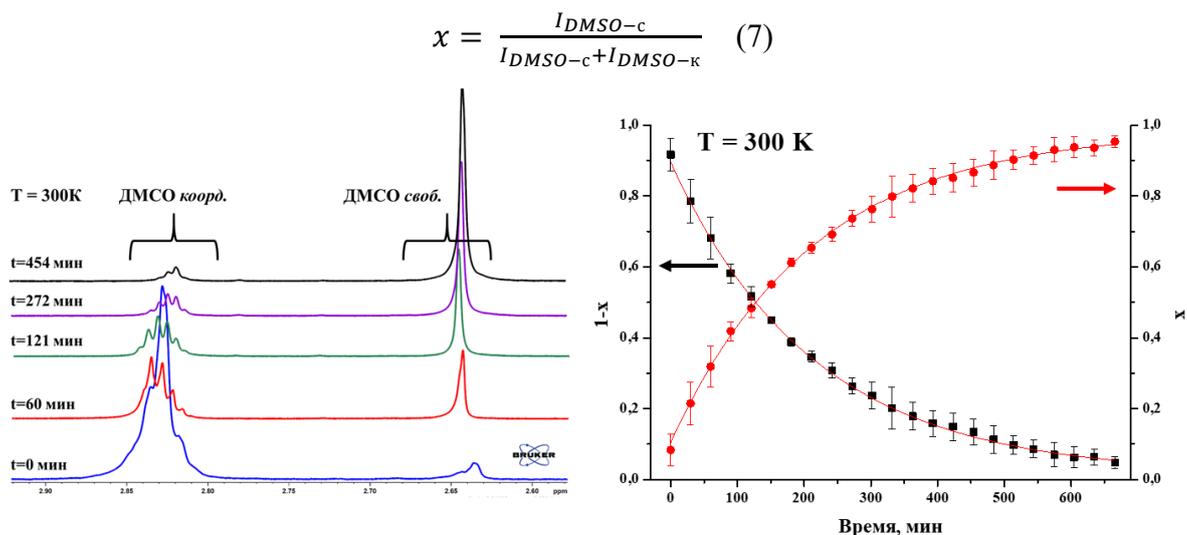


Рис. 3.13. Фрагмент ¹H ЯМР в D₂O (слева) и кинетическая кривая гидролиза (справа) при 300 К для $[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_6](\text{NO}_3)_4$.

Для расчета эффективных констант скорости (k_{eff}) мы сделали несколько допущений: (i) молекулы ДМСО замещаются только на D₂O ввиду избытка последнего (рис. 3.14); (ii) скорость замещения лигандов $[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_{6-n}(\text{D}_2\text{O})_n]^{4+}$ ($n = 0-5$) не зависит от n ; (iii) вклад обратной реакции пренебрежимо мал. Кинетику гидролиза аппроксимировали как реакцию первого порядка по уравнению 8. Данный эксперимент проводили при 300, 320 и 340 К, а полученные эффективные константы скорости гидролиза использовали для определения предэкспоненциального множителя (k_0) и энергии активации (E_a) по уравнению Аррениуса (уравнение 9), а также энтропии (ΔS^\ddagger) и энтальпии (ΔH^\ddagger) переходного состояния по уравнению Эйринга (уравнение 10) (рис. П20-21). Полученные результаты представлены в таблице 3. Согласно экспериментальным данным, для каждой температуры константа скорости гидролиза комплекса молибдена выше на 1-2 порядка, чем для комплекса вольфрама, что согласуется с результатами масс-спектрометрии. Энергия активации для комплекса (8) выше, чем для (7) примерно на 27 кДж/моль. Следовательно, связь W-DMSO сильнее, чем Mo-DMSO, что объясняет более высокую стабильность (8).

Рис. 3.14. Схема реакции гидролиза $[\{M_6I_8\}(DMSO)_6](NO_3)_4$.

$$1 - x = \exp^{-k_{eff}t} \quad (8)$$

$$k_{eff} = k_0 \times \exp\left(\frac{-E_a}{RT}\right) \quad (9)$$

$$k_{eff} = \frac{k_B T}{h} \times \exp\frac{\Delta S^\ddagger}{R} \times \exp\frac{-\Delta H^\ddagger}{RT} \quad (10),$$

где R – универсальная газовая постоянная, k_B – константа Больцмана, h – постоянная Планка.

Т а б л и ц а 3.

Кинетические параметры гидролиза $[\{M_6I_8\}(DMSO)_6](NO_3)_4$.

	T, К	$k_{eff} \cdot 10^6, c^{-1}$	$t_{1/2}$	$E_a, кДж моль^{-1}$	$k_0 \cdot 10^{-10}, c^{-1}$	$\Delta H^\ddagger, Дж К^{-1} моль^{-1}$	$\Delta S^\ddagger, Дж моль^{-1}$
(7)	300	78 ± 2	$2,5 \pm 0,1$ ч	86 ± 4	$7,6 \pm 0,5$	84 ± 4	-44 ± 3
	320	720 ± 20	$16,0 \pm 0,4$ мин				
	340	3900 ± 400	$3,0 \pm 0,3$ мин				
(8)	300	$1,35 \pm 0,04$	$5,9 \pm 0,2$ д	$109,9 \pm 0,1$	1899 ± 2	107 ± 1	$(-30,0 \pm 0,5) \cdot 10^{-2}$
	320	21 ± 1	$9,6 \pm 0,5$ ч				
	340	240 ± 10	48 ± 2 мин				

Известно, что замещение, идущее по ассоциативному механизму, характеризуется отрицательной энтальпией переходного состояния, а для диссоциативного механизма эта величина положительная [230]. Для (7) рассчитанное значение энтропии переходного состояния составляет -44 ± 3 кДж/моль, и гидролиз, вероятно, идет по ассоциативному механизму. Для (8) это значение близко к 0, следовательно, гидролиз может идти как по диссоциативному, так и по ассоциативному механизму.

$ML_nX + Y \rightarrow ML_nXY, ML_nXY \rightarrow ML_nY + X$ ассоциативный механизм

$ML_nX \rightarrow ML_n + X, ML_n + Y \rightarrow ML_nY$ диссоциативный механизм

3.2.3. Биологические исследования для $[\{W_6I_8\}(DMSO)_6](NO_3)_4$

Гидролиз металлокомплексов препятствует их применению во многих областях. Однако, для большинства противоопухолевых препаратов на основе переходных металлов, таких как цисплатин (цис-диамминдихлороплатина(II)) или RAPTА (класс металлоорганических соединения Ru(II) с ареном, хлоридом и 1,3,5-триаза-7-фосфаадамманом в качестве лигандов), гидролиз играет ключевую роль в механизме действия лекарства. На основании кинетических

данных мы оценили время полупревращения для $[\{Mo_6I_8\}(DMSO)_6](NO_3)_4$ в водном растворе при физиологической температуре (37 °C). Для комплекса молибдена это значение невелико и равно всего 52 минуты, а для комплекса вольфрама – 34 часа, что больше, чем стандартное время для клеточного поглощения. Таким образом, было принято решение для начала провести биологические исследования для $[\{W_6I_8\}(DMSO)_6](NO_3)_4$ и оценить влияние гидролиза на темновую и фотоиндуцированную цитотоксичность.

Влияние свежеприготовленного и выдержанного 4 или 7 дней при комнатной температуре водных растворов кластерного комплекса **(8)** на жизнеспособность клеток линии Нер-2 (клетки рака гортани человека) оценивали с помощью МТТ-теста в диапазоне концентраций 0,016–1,06 мМ после 6, 24 и 48 часов инкубации (рис. 3.15). Для свежеприготовленного раствора **(8)** при увеличении времени инкубации с 6 до 48 часов темновая цитотоксичность увеличивалась. Однако, во всех случаях концентрация полумаксимального ингибирования не достигалась (IC_{50}) в диапазоне исследуемых концентраций, то есть $IC_{50} > 1,06$ мМ (рис. 3.15(a), табл. 4). Выдержанные растворы проявляли более высокий цитотоксический эффект и значение IC_{50} после 48 часов инкубации равно $0,85 \pm 0,07$ мМ для раствора, выдержанного 4 дня, и $0,24 \pm 0,01$ мМ для раствора, выдержанного 7 дней (рис. 3.15(б-в), табл. 4). Таким образом, гидролизованные формы обладают более высокой темновой цитотоксичностью в сравнении с исходным комплексом с ДМСО-лигандами. Для водорастворимого кластерного комплекса молибдена $Na_2[\{Mo_6I_8\}L_6]$ ($L = 2$ -[2-(2-метокси)этокси]ацетат) значения IC_{50} находятся на том же уровне и составляют $0,36 \pm 0,06$ мМ и $0,42 \pm 0,06$ мМ для клеток линии Нер-2 и MRC-5 (фибробласты легких человека) соответственно [12]. В то же время для комплексов $Na_2[\{Mo_6I_8\}(NCS)_6]$ и $Na_2[\{Mo_6I_8\}(N_3)_6]$ показатель концентрации полумаксимального ингибирования на порядок ниже по отношению к клетками линии HeLa (клетки рака шейки матки) и HEK 293T (эмбриональные клетки почки человека) [55]. Стоит отметить, что комплекс с роданидными терминальными лигандами продемонстрировал схожее поведение с **(8)**: при увеличении времени инкубации с 24 до 72 часов с клетками линии HeLa цитотоксичность увеличивается (IC_{50} уменьшается с 33 до 18 мкМ). Вероятно, увеличение токсичности при увеличении времени инкубации связано с образованием частично гидролизованной формы комплекса $[\{Mo_6I_8\}(NCS)_5(OH)]^{2-}$.

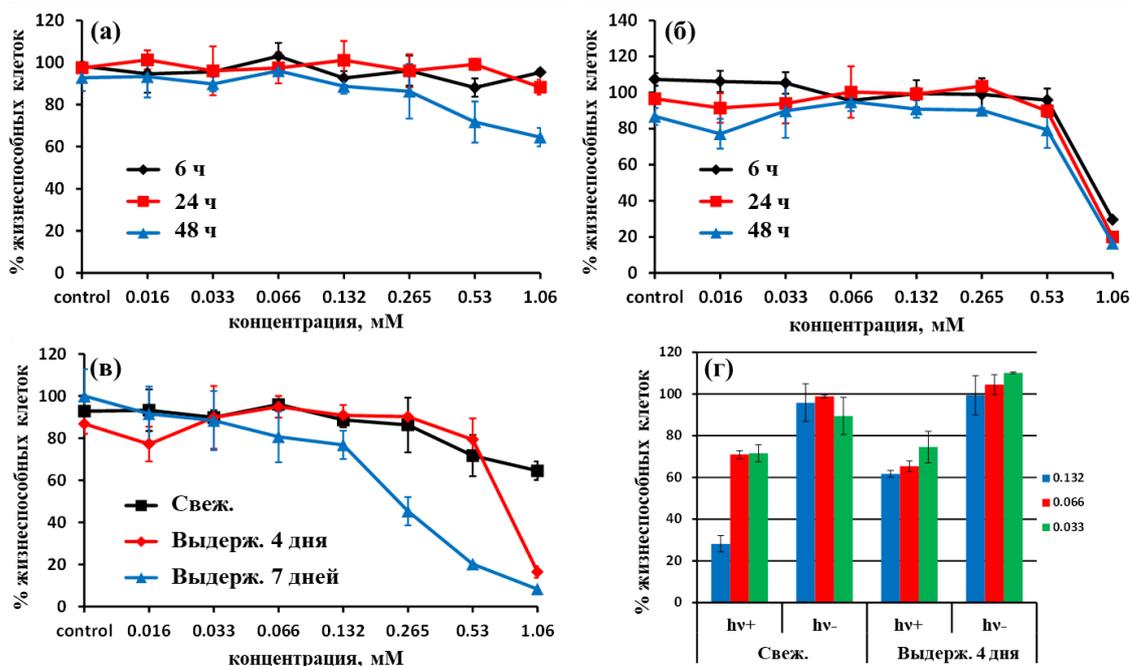


Рис. 3.15. Темновая и фотоиндуцированная цитотоксичность (8) на клетках линии Нер-2. (а) цитотоксичность свежеприготовленного раствора после 6, 24 и 48 часов инкубации; (б) цитотоксичность выдержанного 4 дня раствора после 6, 24 и 48 часов инкубации; (в) цитотоксичность свежеприготовленного, выдержанного 4 или 7 дней растворов после 48 часов инкубации; (г) фотоиндуцированная цитотоксичность свежеприготовленного и выдержанного 4 дня растворов.

Т а б л и ц а 4.

Значения IC_{50} для свежеприготовленного и выдержанного 4 и 7 дней растворов (8).

Образец/время инкубации	IC_{50} , мМ		
	6 ч	24 ч	48 ч
Свеж.	>1,06	>1,06	>1,06
Выдерж. 4 дня	0,94±0,03	0,89±0,01	0,85±0,07
Выдерж. 7 дней	-	-	0,24±0,01

Для исследования фотоиндуцированной цитотоксичности клетки обрабатывали свежеприготовленным и выдержанным 4 дня водным раствором (8) с концентрацией 0,033, 0,066 и 0,132 мМ (нетоксичные концентрации для обоих растворов), инкубировали 4 часа, а затем облучали светом ($\lambda = 400-800$ нм) в течение 30 минут. Согласно полученным данным при самой высокой концентрации кластерного комплекса (0,132 мМ) растворы проявляют ярко выраженную фототоксичность: после облучения количество жизнеспособных клеток для свежеприготовленного раствора составляет 28 ± 4 %, а для выдержанного раствора – 62 ± 2 % (рис. 3.15(г)).

Для того, чтобы подтвердить, что фотоиндуцированная цитотоксичность вызвана образованием активных форм кислорода (АФК) (включая синглетный кислород), был проведен дополнительный эксперимент с использованием флуоресцентного зонда 5(6)-карбокси-2',7'-дихлорфлуоресцеин диацетата (DCFH-DA) для определения АФК внутри клеток. Клетки линии Нер-2 предварительно инкубировали со свежеприготовленным и выдержанным 4 дня водным раствором (8) с концентрацией 0,25 мМ, а затем с DCFH-DA и измеряли интенсивность люминесценции клеток (рис. П22-23). Клетки, культивируемые в среде без образца или с H_2O_2 , использовали в качестве отрицательного и положительного контроля соответственно. Согласно полученным данным при облучении светом в случае отрицательного и положительного контроля уровень внутриклеточных АФК не изменялся. В случае с кластерным комплексом без облучения содержание АФК было на уровне отрицательного контроля, в то время как при облучении это значение увеличивалось. Стоит отметить, что для свежеприготовленного раствора (8) уровень АФК на 50 % выше, чем для выдержанного 4 дня раствора (8), что согласуется с результатами фотоиндуцированной цитотоксичности (рис. 3.15(д)).

Гидролиз кластерного комплекса увеличивает его темновую цитотоксичность, что вероятно связано с различной способностью $[\{\text{W}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_6](\text{NO}_3)_4$ и его гидролизованных форм проникать в клетки. Для оценки клеточного проникновения с помощью проточной цитофлуориметрии клетки инкубировали со свежеприготовленным и выдержанным 4 дня водным раствором (8) с нетоксичной концентрацией (0,132 мМ) в течение 15 минут или 4 часов. Согласно полученным результатам выдержанный 4 дня раствор кластера лучше проникает в клетки в сравнении со свежеприготовленным (рис. 3.16(а)). Действительно, несмотря на тот факт, что гидролиз комплекса приводит к образованию металлокластера с менее интенсивной люминесценцией [11], в случае с выдержанным раствором комплекса уже через 15 минут инкубации с клетками наблюдалась более заметная эмиссия в сравнении со свежеприготовленным раствором образца. На изображениях, полученных с помощью конфокальной лазерной сканирующей микроскопии (КЛСМ), видно, что выдержанный 4 дня в водном растворе кластерный комплекс ($C = 0,132$ мМ, время инкубации 24 часа) локализуется в окооядерном пространстве (рис. 3.16(б-г)). Согласно изображениям, полученным с помощью просвечивающего электронного микроскопа (ПЭМ) кластерные комплексы находятся внутри клеток в виде наночастиц с размером меньше 40 нм (рис. П24). Для сравнения, размер одного кластерного комплекса с лигандами составляет не более 1 нм. Исследование с помощью фотонной корреляционной спектроскопии подтвердило наличие в растворе наночастиц со средним размером 20 нм. Вероятно, в растворе частично или полностью гидролизованные

кластерные комплексы связываются между собой прочными межмолекулярными водородными связями.

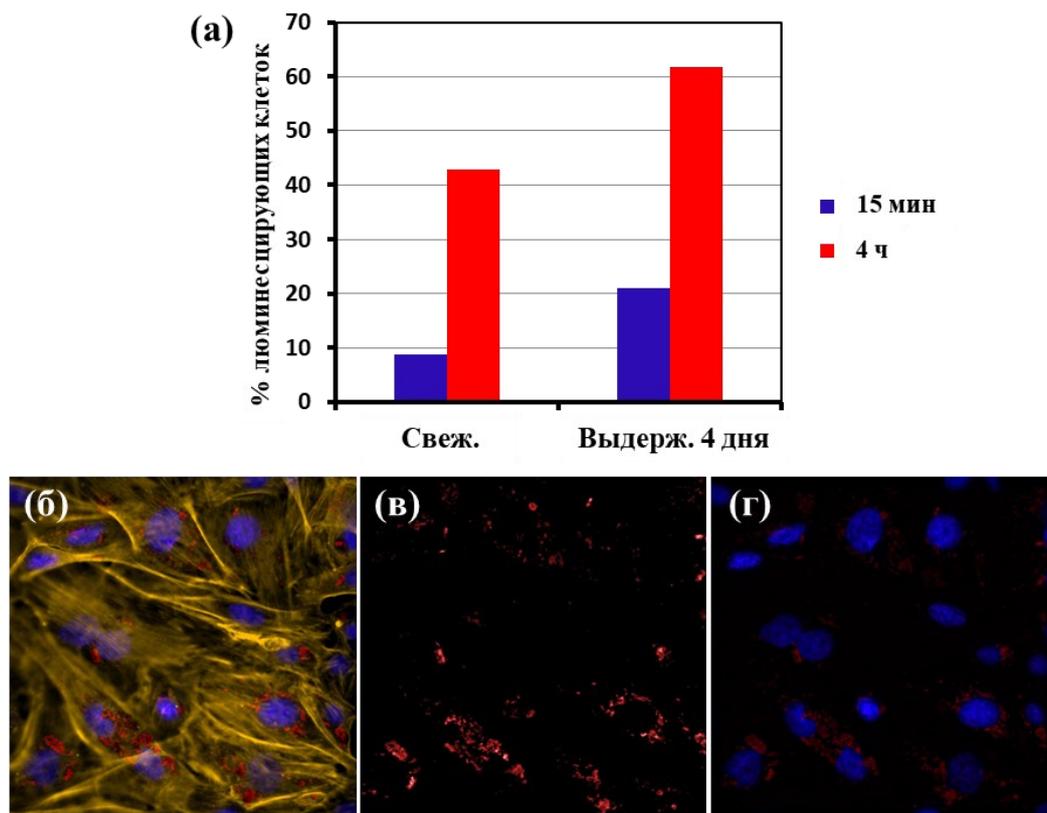


Рис. 3.16. Процент люминесцирующих клеток после инкубации со свежеприготовленным и выдержанным 4 дня водным раствором (8) (а). Изображения КЛСМ (б, в, г) клеток Нер-2, инкубированных с выдержанным 4 дня в водном растворе (8). Ядра клеток подкрашивали флуоресцентным красителем Hoechst 33342 (синий), цитоскелет – Phalloidin (желтый), люминесценция комплекса (8) красного цвета.

Возвращаясь к данным проточной цитофлуориметрии, можно сделать вывод, что наночастицы (выдержанный 4 дня в водном растворе комплекс) легче проникают в клетки, чем негидролизированный комплекс (свежеприготовленный раствор комплекса). Вероятно, это связано с различными механизмами проникновения наночастиц и молекулярного комплекса в клетки. На рисунке П24 видно, что наночастицы кластера расположены внутри одномембранной визикулы, а также в эндоплазматическом ретикулуме (ЭПР). ЭПР отвечает за накопление экзогенных и эндогенных молекул и ионов, и перегрузка ЭПР наночастицами комплекса может привести к его расширению с последующей гибелью клеток.

Таким образом, кластерный комплекс $[\{W_6I_8\}(DMSO)_6](NO_3)_4$ обладает яркой люминесценцией и проявляет фотоиндуцированную цитотоксичность, а, следовательно, может быть использован в качестве агента для визуализации и/или ФДТ. В то же время в ходе гидролиза увеличивается темновая цитотоксичность комплекса, что позволяет рассматривать его как

цитостатический препарат. Такие особенности комплекса могут быть полезны для разработки тераностических и/или мультимодальных терапевтических агентов на его основе.

3.2.4. Поведение $[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_6](\text{NO}_3)_4$ в питательной среде

На примере $[\{\text{W}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_6](\text{NO}_3)_4$ было показано, что комплекс с ДМСО-лигандами и его гидролизованная форма обладают различными биологическими свойствами. Несмотря на то, что молибденовый аналог обладает меньшей стабильностью в водном растворе (время полупревращения при 37 °С составляет 52 минуты), изучение влияния комплекса (7) и продуктов его гидролиза на жизнеспособность клеточных линий является интересной задачей. Прежде чем переходить непосредственно к исследованию биологических свойств мы решили смоделировать условия биологического эксперимента, а именно изучить поведение $[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_6](\text{NO}_3)_4$ в питательной среде. Дело в том, что рН питательной среды выше водного раствора (рН=7,4 – питательная среда, рН~5–6 – дистиллированная вода), и в ее составе содержатся различные соли и органические соединения, что может оказывать влияние на поведение комплекса. Для проведения этого эксперимента свежеприготовленный (частично гидролизованные формы $[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_{6-x-y}(\text{H}_2\text{O})_x(\text{OH})_y]^{(4-y)+}$) и выдержанный 4 дня (полностью гидролизованные формы $[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{H}_2\text{O})_{6-y}(\text{OH})_y]^{(4-y)+}$, $y = 0-3$) водный раствор с максимальной концентрацией комплекса ($C = 12,9$ мМ) добавляли к питательной среде DMEM без красителя (10:90 % по объему, $C = 1,29$ мМ) и регистрировали изменения (рис. 3.17).

При добавлении выдержанного раствора в питательную среду наблюдалось мгновенное выпадение осадка, в то время как для свежеприготовленного – раствор мутнел через 1 час, а полное осаждение комплекса происходило через 6 часов. По данным ЭДС и CHNS в полученных осадках соотношение молибдена к иоду составляет 6,0:8,1, а сера, фосфор, углерод и азот не обнаружены. Исходя из этих данных можно сказать, что происходит полное замещение ДМСО-лигандов, но вместе с тем кластерное ядро не связывается с различными органическими соединениями, содержащимися в питательной среде, а также не образуются нерастворимые соли комплекса с неорганическими ионами. Вероятней всего, в таких условиях происходит образование нерастворимых аквагидроксикомплексов $[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{H}_2\text{O})_2(\text{OH})_4] \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ($\text{AH} \cdot n\text{H}_2\text{O}$), как и в случае $\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$ и $[\{\text{W}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_6](\text{NO}_3)_4$. Согласно данным ПЭМ в обоих случаях при добавлении в питательную среду образуются наночастицы одинакового размера ($d \sim 80$ нм) (рис. П25).

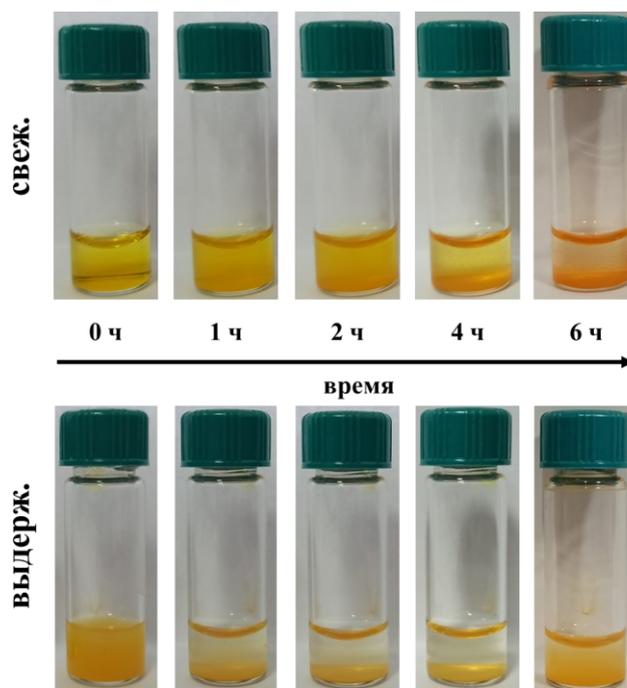


Рис. 3.17. Фотографии свежеприготовленного и выдержанного водного раствора (7) в питательной среде от времени.

Для того, чтобы достоверно подтвердить состав полученных осадков, мы попытались получить кристаллический продукт путем медленной диффузии водного раствора (7) и питательной среды в Н-образной трубке. Стоит отметить, что рост кристаллов занимает не менее 5 дней, и за это время свежеприготовленный раствор комплекса становится выдержанным. По данным РСА в результате этого эксперимента образуется два типа кристаллов, параметры которых соответствуют уже известным аквагидрокомплексам $[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{H}_2\text{O})_2(\text{OH})_4]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ($\text{AH}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$) и $[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{H}_2\text{O})_2(\text{OH})_4]\cdot 14\text{H}_2\text{O}$ ($\text{AH}\cdot 14\text{H}_2\text{O}$) [222]. Согласно литературным данным $\text{AH}\cdot 14\text{H}_2\text{O}$ обладает более яркой люминесценцией с максимумом эмиссии, смещенным в синюю область, по сравнению с $\text{AH}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ [225]. Таким образом, изучение люминесцентных свойств для образцов, полученных в питательной среде, позволит достоверно определить их состав.

Для свежеприготовленного и выдержанного 4 дня водного раствора (7) ($C \sim 0,066 \text{ mM}$) в питательной среде записывали спектры люминесценции в течение 24 часов (рис. 3.18). Перед записью каждого спектра, растворы встряхивали, чтобы получить суспензию. Для свежеприготовленного раствора со временем наблюдалось уменьшение интенсивности люминесценции наряду с батохромным сдвигом максимума излучения с 645 до 705 нм. Такое поведение соответствует постепенному гидролизу комплекса (7) с последующим осаждением в виде $\text{AH}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (максимум эмиссии для $\text{AH}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 705 нм). В случае выдержанного раствора интенсивность люминесценции увеличивалась с гипсохромным сдвигом с 705 до 690 нм. Принимая во внимание эти данные, мы предполагаем, что при добавлении выдержанного

раствора в питательную среду моментально выпадает в осадок $\text{АН}\cdot 2\text{Н}_2\text{О}$, который затем медленно преобразуется в более люминесцентный комплекс $\text{АН}\cdot 14\text{Н}_2\text{О}$.

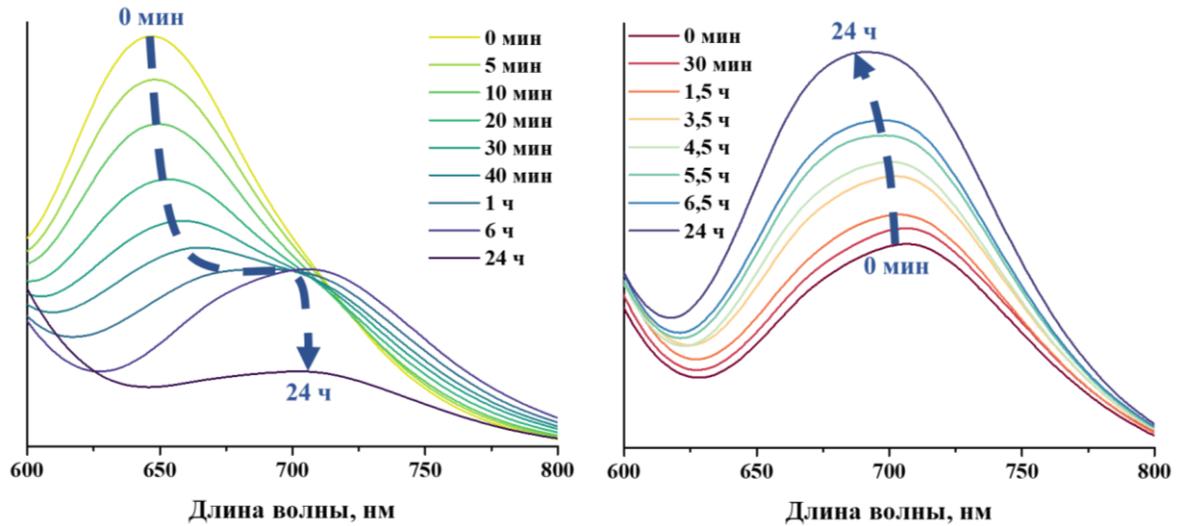


Рис. 3.18. Изменение спектра эмиссии свежеприготовленного (слева) и выдержанного (справа) водного раствора (7) в питательной среде.

Механизм превращений в питательной среде можно представить следующим образом: выдержанный раствор (7) содержит в своем составе только полностью гидролизованные формы комплекса и моментально выпадает в осадок в виде $\text{АН}\cdot 2\text{Н}_2\text{О}$, а в случае свежеприготовленного раствора (7) для выпадения в осадок аквагидроксо формы необходимо пройти через лимитирующую стадию замещения терминальных ДМСО-лигандов (рис. 3.19). С другой стороны, превращение свежесаженного $\text{АН}\cdot 2\text{Н}_2\text{О}$ в $\text{АН}\cdot 14\text{Н}_2\text{О}$ является очень медленным процессом. Кроме того, спустя 24 часа наблюдается агрегация наночастиц, которая предотвращает дальнейшую трансформацию осадков. Следовательно, предварительное выдерживание комплекса (7) в растворе является важным этапом для получения люминесцентных наночастиц, поскольку позволяет пропустить лимитирующую стадию замещения лигандов.

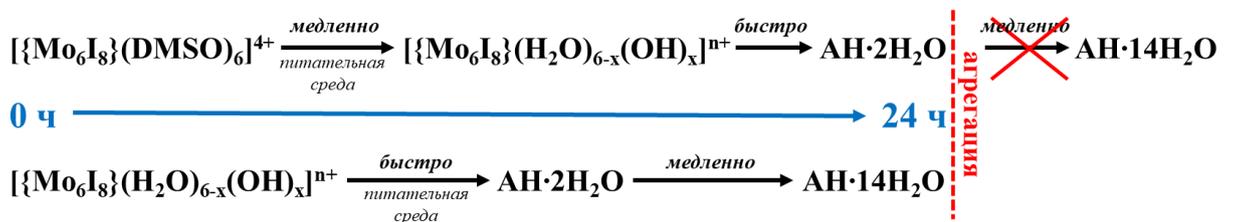


Рис. 3.19. Схематичное представление процессов, происходящих в питательной среде для свежеприготовленного и выдержанного водных растворов (7).

3.2.5. Биологические исследования для $\{Mo_6I_8\}(DMSO)_6(NO_3)_4$

Детально изучив поведение $\{Mo_6I_8\}(DMSO)_6(NO_3)_4$ в питательной среде, мы перешли к исследованию биологических свойств. Влияние свежеприготовленного и выдержанного 4 дня водных растворов кластерного комплекса (7) на жизнеспособность клеток линии Нер-2 (клетки рака гортани человека) оценивали с помощью МТТ – теста в диапазоне концентрации 0,003–1,29 мМ после 2, 5, 10 и 24 часов инкубации (рис. 3.20).

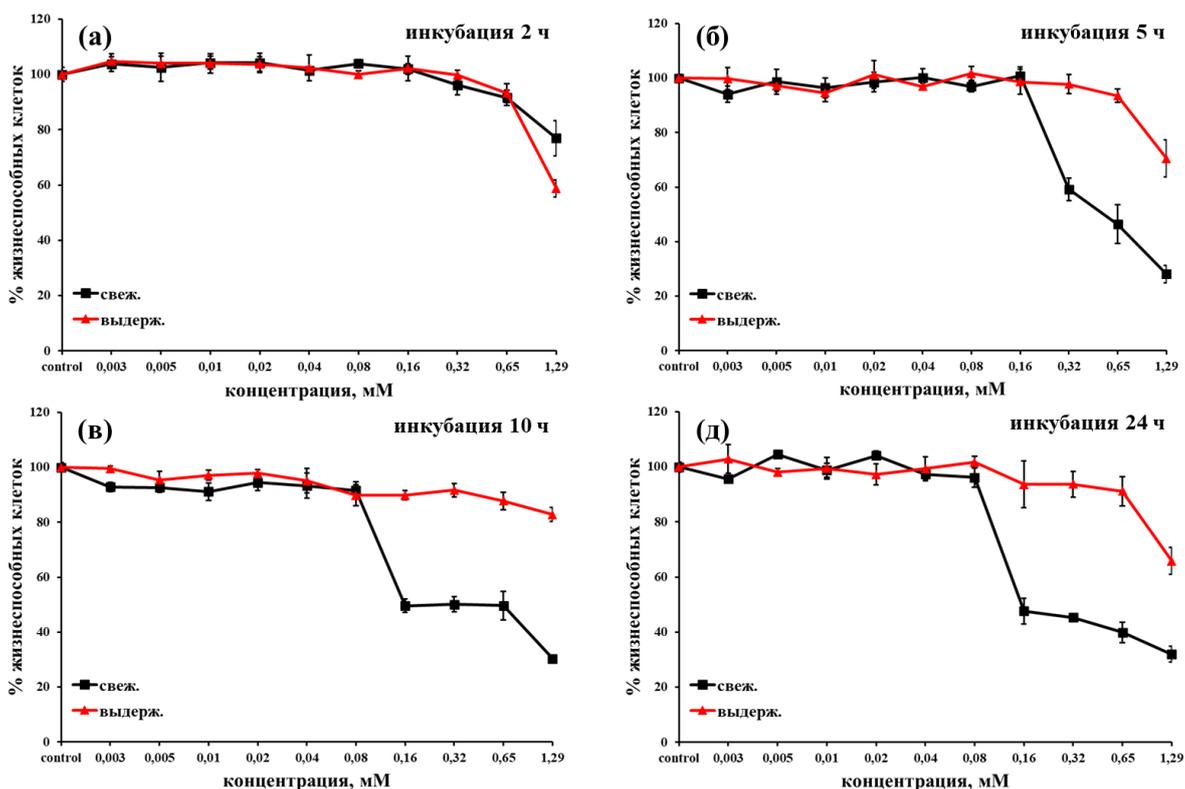


Рис. 3.20. Темновая цитотоксичность свежеприготовленного и выдержанного 4 дня водного раствора (7) на клетках линии Нер-2.

Свежеприготовленный раствор (7) после 2 часов инкубации не проявляет цитотоксического эффекта, в то время как после 5 часов инкубации цитотоксичность возрастает ($IC_{50} = 0,47$ мМ) и после 10 часов – выходит на плато ($IC_{50} = 0,20$ мМ) (табл. 5). Для выдержанного раствора (7) значение IC_{50} не достигается в диапазоне всех исследуемых концентраций в независимости от времени инкубации, а концентрация вплоть до 0,65 мМ является полностью нетоксичной. Такая ситуация противоположна тому, что наблюдалось для комплекса вольфрама (п. 3.2.3). Вероятно, различие в токсичности комплексов напрямую связано с их гидролитической стабильностью, а именно со скоростью высвобождения ДМСО-лигандов и NO_3^- ионов. Благодаря более высокой стабильности вольфрамового кластерного комплекса высвобождение ДМСО-лигандов и NO_3^- ионов происходит медленно, что и объясняет низкую токсичность свежеприготовленного раствора (8). В свою очередь, добавление выдержанного раствора в питательную среду вызывает быстрое высвобождение лигандов ДМСО, и, следовательно, рост локальной концентрации

ДМСО и NO_3^- внутри клеток и их гибель. Что касается свежеприготовленного раствора кластерного комплекса молибдена, то он обладает низкой токсичностью после 2 часов инкубации (аналогично свежеприготовленному раствору (8)), а с увеличением времени инкубации токсичность возрастает (аналогично выдержанному раствору (8)). В то же время выдержанный раствор (7) обладает низкой токсичностью, так как кластерный комплекс уже находится в полностью гидролизованной форме, а общая концентрация ДМСО и NO_3^- невысока для цитотоксического эффекта.

Т а б л и ц а 5.

Значения IC_{50} для свежеприготовленного и выдержанного 4 дня растворов (7).

Образец/время инкубации	IC_{50} , мМ			
	2 ч	5 ч	10 ч	24 ч
Свеж.	>1,29	0,47±0,04	0,20±0,01	0,19±0,02
Выдерж.	>1,29	>1,29	>1,29	>1,29

Клеточное проникновение кластерного комплекса (7) оценивали с помощью проточной цитофлуориметрии (FACS) и ИСП-АЭС. Для этого свежеприготовленный и выдержанный 4 дня водные растворы (7) ($C = 0,08$ мМ) культивировали с клетками линии Нер-2 в течение 2 и 24 часов. Согласно данным FACS после 2 часов инкубации в случае свежеприготовленного раствора кластер проникает в 5,10 % клеток, а в случае выдержанного – в 11,79 % клеток. После 24 часов инкубации это значение увеличивается и составляет 8,43 % и 19,33 % соответственно (рис. 3.21). Таким образом, по результатам FACS выдержанный раствор лучше проникает в клетки, а увеличение времени инкубации приводит к более высокому накоплению комплекса в клетках в обоих случаях.

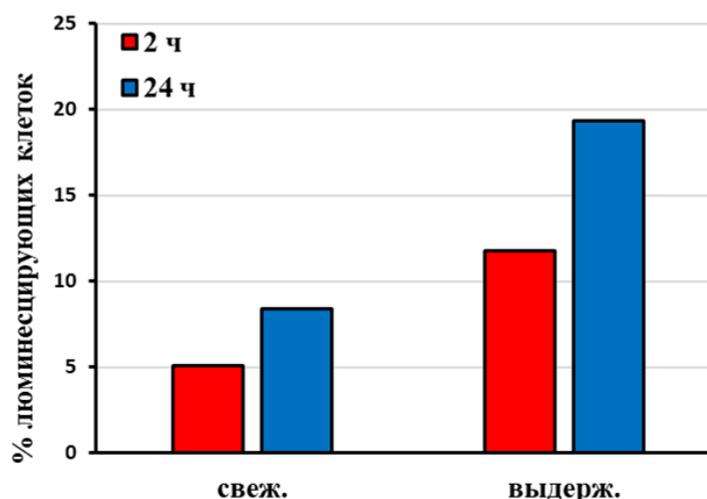


Рис. 3.21. Процент люминесцирующих клеток линии Нер-2 после инкубации со свежеприготовленным и выдержанным 4 дня водным раствором (7).

Но стоит отметить, что с помощью FACS возможно детектировать только люминесцентную форму кластерного комплекса. Поскольку некоторые аквагидроксокомплексы обладают слабой эмиссией, мы определили содержание молибдена в клетках с помощью ИСП-АЭС, чтобы получить более корректные данные о проникновении (табл. П11). Согласно полученным данным, в случае свежеприготовленного раствора (7) содержание молибдена в клетках после 2 часов инкубации было очень низким (1,6 мкг молибдена в 10^6 клеток), а после 24 часов инкубации это значение увеличилось (10,5 мкг молибдена в 10^6 клеток). В свою очередь, для выдержанного раствора (7) наибольшее содержание молибдена в клетках было обнаружено после 2 часов инкубации (28,6 мкг молибдена в 10^6 клеток), а через 24 часа наблюдалось небольшое снижение (18,3 молибдена в 10^6 клеток), что свидетельствует о выведении комплекса из клеток. Скорее всего, как и вольфрамовый аналог, свежеприготовленный раствор комплекса молибдена, содержащий в основном негидролизованые/частично гидролизованные формы молекулярного комплекса, обладает низкой способностью проникать через клеточную мембрану. Со временем молекулярные формы гидролизованного комплекса переходят в наночастицы АН (быстрее наночастицы АН образуются в выдержанном растворе) и проникают в клетки. Это предположение подтверждается повышенным накоплением молибдена в клетках после 24 часов инкубации для свежеприготовленного раствора комплекса. По-видимому, в отличие от $\{W_6I_8\}(DMSO)_6(NO_3)_4$, негидролизованые/частично гидролизованные формы молекулярного комплекса в свежеприготовленном растворе (7), несмотря на низкое проникновение, проявляют высокую цитотоксичность из-за высокой локальной концентрации ДМСО и NO_3^- . С другой стороны, не смотря на высокую скорость проникновения наночастиц АН, они более инертны и не оказывают заметного цитотоксического эффекта. Интересно отметить, что, согласно данным ИСП-АЭС, содержание молибдена в случае выдержанного раствора (7) со временем уменьшается, в то время как данные FACS указывали на увеличение люминесценции клеток. Это связано с изменением люминесцентных свойств комплекса с течением времени, что было продемонстрировано ранее (рис. 3.21). Сначала наночастицы $АН \cdot 2H_2O$ проникают в клетки, а затем переходят в более люминесцентную форму $АН \cdot 14H_2O$ наряду с постепенным выведением из клеток.

Следующим этапом работы было исследование фотоиндуцированной цитотоксичности свежеприготовленного и выдержанного 4 дня водного раствора кластерного комплекса $\{Mo_6I_8\}(DMSO)_6(NO_3)_4$. Для этого клетки обрабатывали раствором (7) с нетоксичной концентрацией (0,02–0,08 мМ для свежеприготовленного раствора и 0,02–0,65 мМ для выдержанного раствора), инкубировали 2, 5, 10 или 24 часа, а затем облучали светом ($\lambda = 400–800$ нм) в течение 30 минут (рис. 3.22, П26-П27). Свежеприготовленный раствор (7) не проявляет фотоиндуцированную цитотоксичность вне зависимости от времени инкубации во всем

диапазоне исследуемых концентраций. В то же время для выдержанного раствора (7) наблюдается выраженная зависимость фотоиндуцированной цитотоксичности от времени инкубации. Например, после 2 часов инкубации фототоксичность наблюдается при использовании комплекса с концентрацией 0,08–0,65 мМ, в то время как после 24 часов инкубации этот диапазон значительно расширяется до 0,02–0,65 мМ (рис. 3.22). В свою очередь, при максимальной концентрации 0,65 мМ фототоксичность с увеличением времени инкубации увеличивается незначительно, и после 24 часов инкубации процент жизнеспособных клеток достигает 50 %. В целом, наблюдаемые эффекты согласуются с ранее предложенным механизмом гидролиза (рис. 3.19) и данными о проникновении в клетки (таблица П11): увеличение количества фотоактивного $\text{AN} \cdot 14\text{H}_2\text{O}$ с течением времени приводит к увеличению фототоксических концентраций, в то время как выведение образца из клеток, способствующее снижению концентрации кластеров внутри клеток, не приводит к усилению фотоиндуцированного эффекта. Как было показано в п. 3.2.3 для $\{[\text{W}_6\text{I}_8](\text{DMSO})_6](\text{NO}_3)_4$ наблюдаются диаметрально противоположные эффекты, что связано с различной гидролитической стабильностью (7) и (8), а также с различным составом и фотофизическими свойствами продуктов гидролиза.

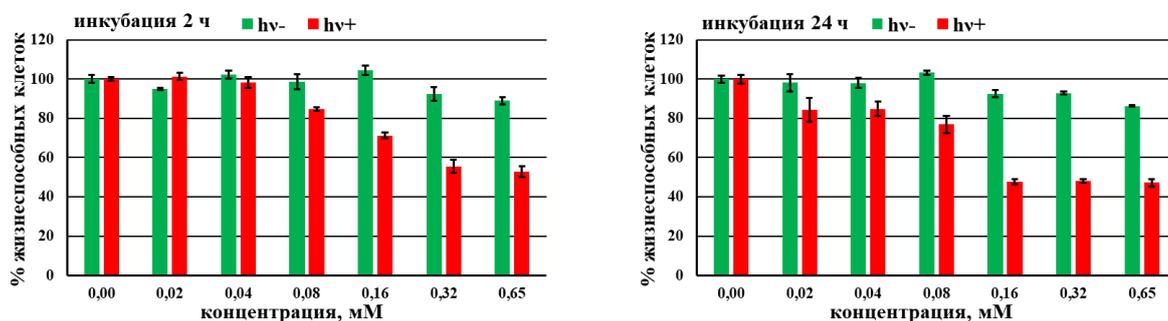


Рис. 3.22. Фотоиндуцированная цитотоксичность выдержанного 4 дня раствора (7) на клетках линии Нер-2.

Таким образом, несмотря на высокую скорость гидролиза, использование свежеприготовленного или выдержанного водного раствора $\{[\text{Mo}_6\text{I}_8](\text{DMSO})_6](\text{NO}_3)_4$ оказывает значительное влияние на биологические свойства кластерного комплекса. В обоих случаях в питательной среде происходит образование наноразмерных частиц аквагидроксикомплекса. Однако, процессы превращений в питательной среде отличаются – в случае выдержанного раствора кластерный комплекс уже преодолел стадию замещения терминальных лигандов. Ключевым моментом в различии биологических свойств (клеточного проникновения, темновой и фотоиндуцированной цитотоксичности) является способность слабо люминесцентного $\text{AN} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ трансформироваться в более люминесцентную форму $\text{AN} \cdot 14\text{H}_2\text{O}$, что реализуется при использовании выдержанного раствора (7). Так, например, для свежеприготовленного раствора

при увеличении времени инкубации увеличивается темновая цитотоксичность, в то время как во всех случаях фотоиндуцированная цитотоксичность не проявляется. В свою очередь, выдержанный раствор не оказывает цитостатического эффекта в исследуемом диапазоне концентраций (до 1,29 мМ), но действует как умеренный фотодинамический агент, снижающий жизнеспособность клеток до 50 % при облучении светом. Увеличение времени инкубации позволяет снизить концентрацию выдержанного раствора для достижения такого же фототоксического эффекта.

Детальное исследование поведения кластерных комплексов $[\{M_6I_8\}(DMSO)_6](NO_3)_4$ ($M = Mo, W$) в водном растворе и/или в питательной среде, а также изучение влияния гидролиза на биологические свойства образцов является важным шагом на пути к разработке препаратов на их основе, которые смогут найти применение в биомедицине. Несмотря на это, низкая стабильность комплексов в водном растворе накладывает ряд ограничений. В связи с этим было предложено стабилизировать $[\{M_6I_8\}(DMSO)_6](NO_3)_4$ с помощью полимерной матрицы, что будет рассмотрено в следующей главе.

3.3. Стабилизация кластерных комплексов декстранами и их производными

3.3.1. Функционализация декстранов

Природные водорастворимые полисахариды находят широкое применение для стабилизации неорганических люминесцентных наноразмерных соединений в водном растворе, что подробно описано в литературном обзоре. В поиске подходящего стабилизирующего агента мы остановили свой выбор на декстране. Выбор данного полимера обусловлен тем, что декстран широко используется в биомедицине благодаря биосовместимости, низкой токсичности и относительно низкой стоимости [231, 232]. Наличие большого количества гидроксильных групп ($-OH$) в составе декстрана обеспечивает связывание с металлоцентрами [233-235]. Кроме того, гидроксильные группы можно легко химически модифицировать [236]. Так, например, при окислении декстрана могут образовываться альдегидные ($-HC=O$) и/или карбоксильные ($-COOH$) группы, которые могут более прочно связываться с металлоцентрами, в том числе с кластерными комплексами. В настоящее время для окисления декстрана используют периодат-ион (IO_4^-) [232], галогены (например, Br_2) [237] или реагент Фентона (H_2O_2 в присутствии ионов Fe^{2+} или Cu^{2+}) [238] (табл. П12). Согласно литературным данным при взаимодействии декстрана с реагентом Фентона образуются как альдегидные, так и карбоксильные группы [239], в то время как окисление периодат-ионом приводит к разрыву глюкопиранозного кольца и образованию только альдегидных групп [236, 240]. При использовании брома основным продуктом окисления являются кетоны, а карбоксильные

группы образуются в следовом количестве в результате побочной реакции [241]. Однако, все вышеперечисленные реакции модификации декстрана нельзя назвать полностью «зелеными», из-за использования потенциально опасных или токсичных реагентов, необходимости дополнительно очищать продукт реакции и утилизировать отходы. Таким образом, разработка простого, одноступенчатого и экологически безопасного метода окисления декстрана является актуальной задачей.

3.3.1.1. Окисление декстранов

В поиске окислительного агента мы остановили свой выбор на перексиде водорода (H_2O_2), так как он является экологически чистым окислителем [242]. В этой работе использовали полисахариды декстраны DexQ с различной молекулярной массой ($Q = 6, 20, 35$ и 60 кДа). Окисление проводили следующим образом: водные растворы декстранов обрабатывали H_2O_2 с различной концентрацией ($2,0$ М, $3,4$ М или $5,0$ М), выливали смесь в чашку Петри и выдерживали при 100 °С до полного высыхания. Стоит отметить, что данную реакцию проводили в отсутствие каких-либо катализаторов и конечный продукт не требовал дополнительной очистки, так как при повышенной температуре происходит полное разрушение окислителя до безвредных кислорода и воды. Таким образом, предложенный метод окисления декстрана удовлетворяет большинству из 12 принципов зеленой химии [243]. В ходе работы было получено 12 образцов, которые были обозначены как OxDexQ(n), где Q – это молекулярная масса исходного декстрана, а n = 1, 2 или 3 – обозначения для концентрации пероксида водорода – $2,0$ М, $3,4$ М или $5,0$ М соответственно.

Гидроксильные группы декстрана могут окисляться пероксидом водорода до альдегидных и карбоксильных групп, а также, могут образовываться пероксогруппы ($-OO-$), например, в виде пероксокислот $-C(O)OOH$ (рис 3.23-3.24). Чтобы проверить наличие пероксогрупп, мы провели качественную реакцию: к водному раствору декстрана добавили йодид натрия, разбавленную серную кислоту и хлороформ. В ходе данной реакции слой хлороформа окрашивался в розовый цвет, что свидетельствует об окислении иодид иона пероксогруппами с образованием йода. Наличие пероксогрупп в структуре декстрана можно рассматривать как уникальную особенность этих полимеров, имеющую огромную прикладную значимость. В настоящее время органические пероксиды привлекают большое внимание исследователей: благодаря их высокой окислительной токсичности, они могут найти ряд биомедицинских применений в качестве противомаларийных и антибактериальных агентов, антигельминтных и противоопухолевых препаратов [244, 245].



Рис 3.23. Возможный путь окисления гидроксильных групп декстрана пероксидом водорода.

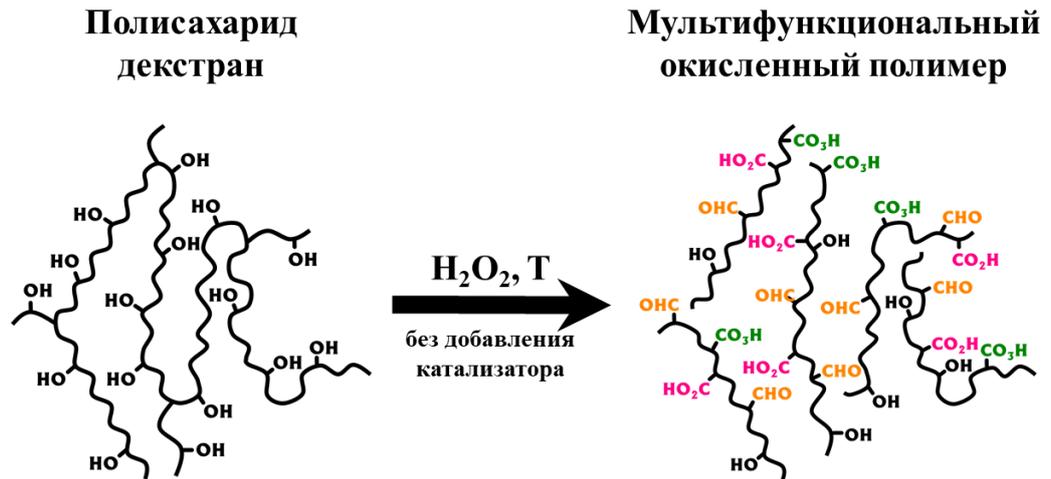


Рис 3.24. Схематичное представление окисления декстрана пероксидом водорода без добавления катализатора.

Так как пероксиды не стабильны в нейтральной или слабощелочной среде, то для разрушения пероксогрупп водные растворы OxDexQ(n) обрабатывали раствором гидроксида натрия до pH=7, при этом образуются натриевые соли окисленного декстрана (NaOxDexQ(n)). Качественная реакция на присутствие пероксогрупп для NaOxDexQ(n) была отрицательной. Таким образом, пероксогруппы могут быть легко удалены.

3.3.1.2. Физические свойства окисленных декстранов

При окислении свободных гидроксильных групп высока вероятность параллельного протекания процесса разрушения гликозидных ($\text{CH}_2\text{-O-CH}$) связей между глюкопиранозными кольцами с образованием окисленных концевых групп, что должно приводить к закономерному уменьшению молекулярной массы полимеров. В связи с этим с помощью гель-проникающей хроматографии мы определили молекулярную массу полимеров OxDexQ(n) (рис. 3.25, табл. П13). Как и ожидалось, окисление декстрана приводит к частичному разрушению полимерной цепи. Так, например, молекулярная масса OxDexQ(1) находится в диапазоне от 3,8 до 14,0 кДа и зависит от исходной молекулярной массы (Q) декстрана. С другой стороны, окисление в более жестких условиях (OxDexQ(2) и OxDexQ(3)) приводит к образованию полимеров с близкими значениями молекулярной массы (вне зависимости от исходной молекулярной массы полимера) 3,9-4,5 кДа. Измерения относительной вязкости образцов показали, что при окислении вязкость водных растворов полимеров несколько снижается, что вероятно связано с уменьшением молекулярной массы при окислении (рис. 3.25, табл. П13). Вязкость натриевых солей декстранов NaOxDexQ(n) практически не отличается от вязкости OxDexQ(n).

В литературе известен только один пример работы, в которой сообщалось об уменьшении молекулярной массы декстрана при обработке H_2O_2 (выводы сделаны на основании данных о снижении вязкости полимеров водных растворов) (табл. П12) [246]. Ввиду того, что точный механизм окисления неизвестен, нельзя однозначно сказать, почему деполимеризация декстрана останавливается при достижении молекулярной массы порядка 4 кДа. Мы предполагаем, что в большей степени окислению с последующим разрушением гликозидной связи ($\text{CH}_2\text{-O-CH}$) подвержены боковые цепи полимера. Действительно, степень разветвленности декстрана составляет порядка 5 %, а значит на каждую цепь полимера с молекулярной массой 3,2 кДа приходится минимум одна боковая цепь (если считать, что боковая цепь содержит одно глюкопиранозное кольцо). Реально это значение немного выше, так как боковые цепи могут содержать два или три кольца, и находится в том же диапазоне, что и Q , определенные для $\text{OxDexQ}(3)$.

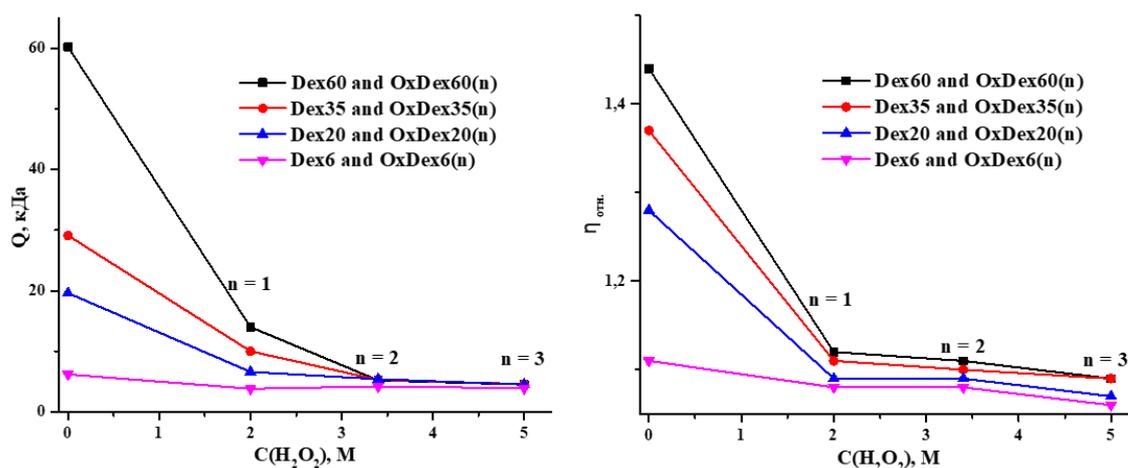


Рис. 3.25. Изменение молекулярной массы (слева) и вязкости растворов (справа) полимеров в зависимости от количества пероксида водорода, использованного для окисления.

Что касается термической стабильности полимеров, то исходные декстраны начинают разлагаться при температурах выше 250 °С, в то время как $\text{OxDexQ}(n)$ и $\text{NaOxDexQ}(n)$ имеют несколько ступеней разложения и первые из них появляются в диапазоне температур ~100–250 °С (рис. П28). Вероятно, разложение окисленных полимеров при более низких температурах связано с дегидратацией и разрушением новых функциональных групп, в то время как разложение при более высоких температурах связано с разложением основной цепи полимера и карбонизацией. Наличие пероксогрупп не оказывает значительного влияния на термическую стабильность полимеров, так как кривые ТГ для окисленных декстранов и их натриевых солей практически идентичны (рис. П28). Для всех полимеров была определена температура разложения ($T_{d \text{ max}}$, температура, при которой достигается максимальная скорость потери массы). Окисление декстранов приводит к снижению $T_{d \text{ max}}$ (кроме Dex35 и Dex60), что свидетельствует

о некотором уменьшении термической стабильности полимеров, в то время как перевод в натриевые соли окисленного декстрана не оказывает значительного влияния на этот показатель (табл. П13).

3.3.1.3. Состав окисленных декстранов

На электронных спектрах поглощения окисленных полимеров наблюдается увеличение оптической плотности на 200 нм, а также появление широкой полосы поглощения с максимумом на 270 нм (рис. П29). Согласно литературным данным, появление данной полосы может быть объяснено появлением С=О групп. На ИК-спектрах (рис. 3.26, П30) появляется полоса на 1730 см^{-1} , которая также может быть отнесена к колебаниям С=О группы в составе альдегидных и карбоксильных групп. После перевода окисленного декстрана в натриевую соль интенсивность колебания на 1730 см^{-1} существенно снижается и появляется новое колебание на 1608 см^{-1} , соответствующее группе COO^- . Такое смещение колебаний весьма характерно для пары кислота/соль.

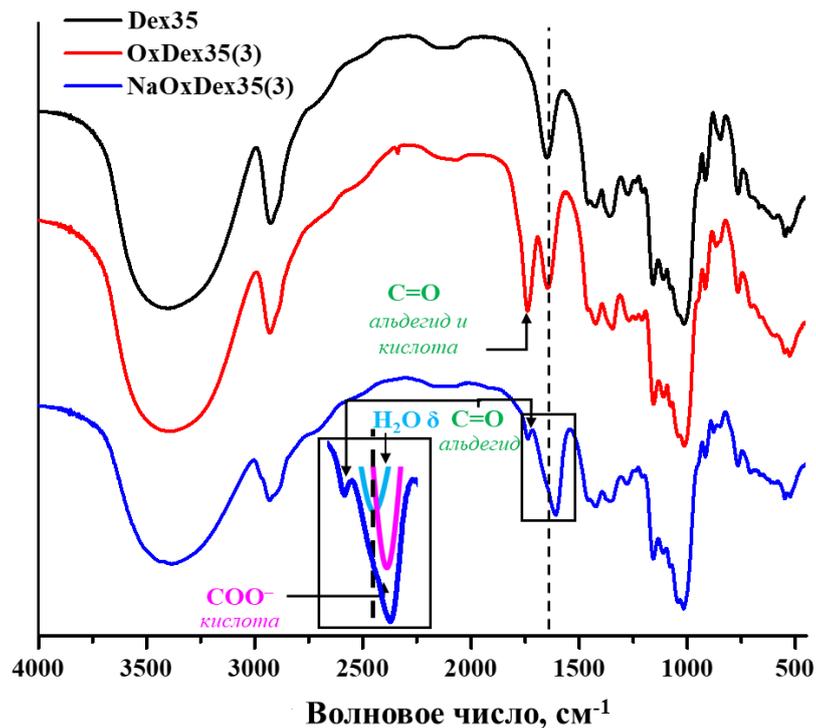


Рис. 3.26. ИК-спектры Dex35 и его производных.

Далее для полимеров были записаны ^1H и ^{13}C ЯМР спектры в ДМСО- d_6 . Чтобы отличить сигналы подвижных протонов $-\text{OH}$ от протонов групп $-\text{CH}$ для OxDex60(3) были записаны ^1H ЯМР спектры при 25 и 50 °С. Для нативного декстрана все сигналы были соотнесены в соответствии с литературными данными [236, 240, 247]. При переходе от нативного декстрана к OxDex60(3) или NaOxDex60(3) интенсивность сигналов гидроксильных групп уменьшалась, а форма пика становилась менее структурированной, что, по-видимому, связано с появлением

большого количества новых соседних групп, в то время как сигналы протонов СН остались практически неизменными (рис. 3.27). Эти данные в совокупности с интегрированием сигналов протонов свидетельствуют о незначительном разрушении глюкопиранозных колец и преимущественно сохранении полимерной структуры декстранов. В то же время для всех окисленных образцов наблюдается сигнал протона на 9,64 м.д., соответствующий альдегиду. Данный сигнал имеет низкую интенсивность, что, вероятно, может быть связано с образованием полуацеталей. Таким образом, количественно определить содержание альдегидных групп путем интегрирования сигнала протонов невозможно. На ^{13}C ЯМР спектре OxDexQ(3) (Q = 6 или 60) в сравнении с нативными декстранами на 170-180 м.д. и 163 м.д. появляются сигналы, относящиеся к $-\text{COOH}$ и $-\text{C}(\text{O})\text{OOH}$ группам соответственно (рис. П31), в то время как сигналы альдегидных групп не удалось идентифицировать.

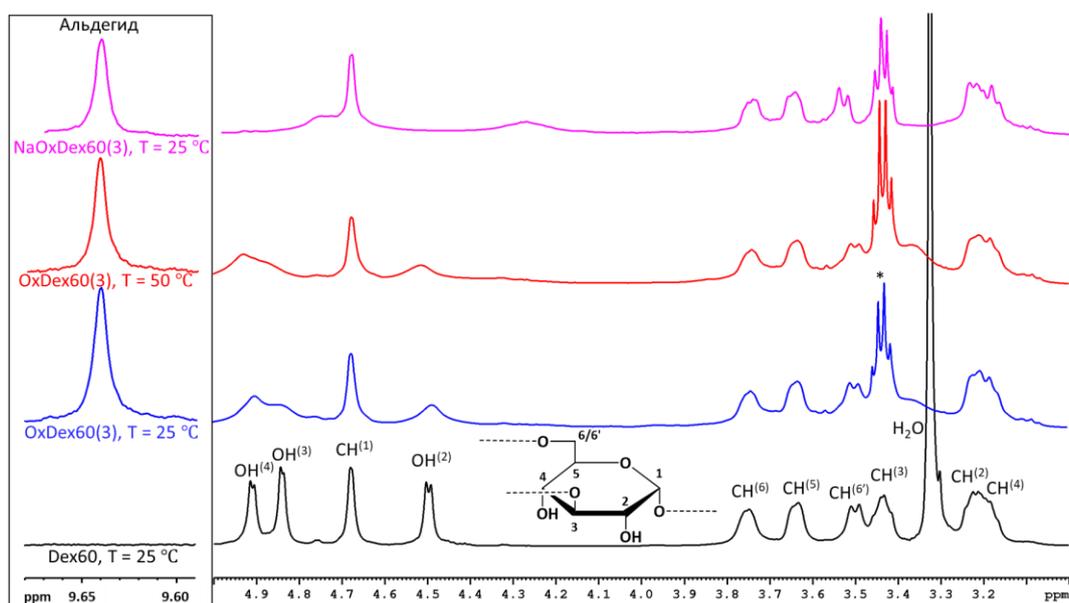


Рис. 3.27. ^1H ЯМР спектры Dex60 и его производных в DMSO-d_6 . Вставка области с сигналом альдегидной группы приведена в масштабе 1:50. (*) отмечен сигнал CH_2 группы этанола.

Следующим этапом работы было количественное определение содержания функциональных групп. Количественное определение альдегидных групп (рис. 3.28, табл. П14) проводили методом обратного титрования: раствор декстрана обрабатывали избытком гидроксилamina, при этом образовывался соответствующий оксим ($-\text{C}=\text{N}-\text{OH}$), а избыток гидроксилamina оттитровывали соляной кислотой. Аналогичный эксперимент проводили для исходных декстранов. Из полученных данных было выявлено несколько зависимостей. Так, при окислении декстранов в одинаковых условиях (с использованием одинакового количества пероксида водорода) содержание альдегидных групп в образцах возрастало с увеличением молекулярной массы исходного полимера. С другой стороны, если рассматривать серию образцов одного полимера, то содержание альдегидных групп напрямую зависит от

концентрации пероксида водорода: увеличивается от образца (1) к (2) и уменьшается от образца (2) к (3). Данное явление вероятно связано с доокислением альдегидных групп до карбоксильных.

Для определения содержания кислотных групп (карбоксильных и пероксо) (рис. 3.28, табл. П14) OxDexQ(n) обрабатывали избытком ацетата кальция, при этом образуется соль более сильной кислоты (окисленного декстрана) и выделяется более слабая кислота (уксусная кислота), а затем уксусную кислоту оттитровывали гидроксидом натрия в присутствии фенолфталеина. На основе полученных данных можно сделать вывод, что увеличение концентрации H_2O_2 приводит к последовательному увеличению кислотных групп в окисленном декстране. Стоит отметить, что «кислотность» OxDex6 была самой высокой.

Содержание пероксогрупп было определено обратным йодометрическим титрованием (рис. 3.28, табл. П14). Из полученных данных видно, что увеличение концентрации окислителя приводит к заметному увеличению содержания пероксогрупп в OxDexQ и их количество превышает 1 ммоль/г для OxDexQ(3) (M=6, 20 и 35), что сравнимо с концентрацией пероксогрупп в PBS-4 (твердый перборат натрия тетрагидрат, компонент антибактериальных средств для промывания глаз и рта).

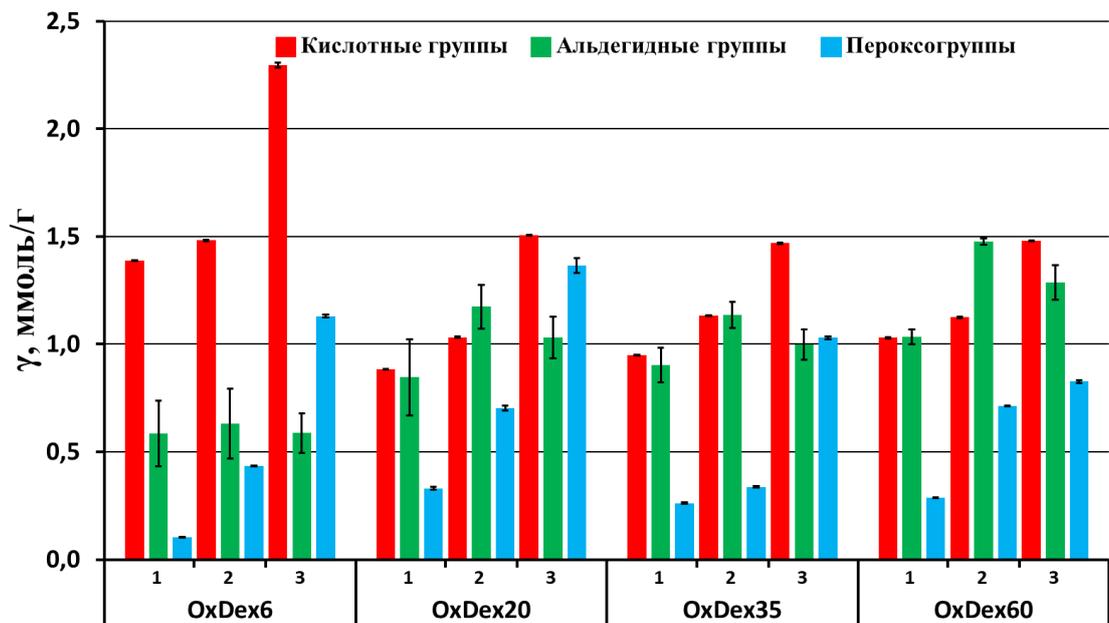


Рис. 3.28. Содержание различных функциональных групп в ммоль на грамм полимера после окисления декстрана.

В целом увеличение концентрации H_2O_2 приводит к последовательному увеличению суммарного содержания альдегидных и кислотных групп (т.е. степени окисленности) в полимерах всех молекулярных масс. Более того, можно сделать вывод, что окисление пероксидом водорода имеет выраженный ступенчатый характер, так как число альдегидных

групп сначала увеличивалось с увеличением H_2O_2 , а затем уменьшалось при более высокой концентрации, что объясняется дальнейшим окислением до кислотных групп.

Что касается влияния молекулярной массы на окисление, то более сильному окислению (наибольшее содержание карбоксильных групп) подвергается декстран с наименьшей молекулярной массой (6 кДа). Так как в ходе окисления Dex6 молекулярная масса почти не изменяется, то можно предположить, что в основном окисление происходит на свободных группах $-\text{СНОН}$, а не на гликозидных связях. В случае окисления полимеров с более высокой молекулярной массой происходит два конкурирующих процесса, а именно окисление гликозидных связей и свободных гидроксильных групп. Об этом свидетельствует сильное снижение молекулярной массы, а также тот факт, что содержание альдегидных групп растет с увеличением молекулярной массы исходного полимера, в то время как количество карбоксильных групп оставалось неизменным независимо от молекулярной массы исходного полимера.

По сравнению с другими окислителями окисление декстрана H_2O_2 позволяет получать полимеры с большим разнообразием функциональных групп (табл. П12). Так, например, содержание карбоксильных групп значительно превышает значения, полученные при окислении с помощью реагента Фентона. Кроме того, ранее не сообщалось об образовании пероксогрупп при окислении декстрана. С точки зрения молекулярных масс в нашем случае наблюдается схожая тенденция деполимеризации, как и в случае с реагентом Фентона (молекулярная масса может быть уменьшена в 10 раз). В то же время при окислении периодат-ионами молекулярная масса окисленного полимера составляет примерно 78–98 % от исходной.

3.3.1.4. Исследование биологических свойств окисленных декстранов

Окисленный декстран в контексте нашей работы рассматривается как стабилизирующий агент для создания функциональных материалов, которые могут быть использованы в биомедицине. В связи с этим необходимо оценить влияние окисленных групп в составе полимера на его цитотоксические показатели. Исследование цитотоксичности окисленных декстранов и их натриевых солей проводили на модельной линии раковых клеток Нер-2 (клетки рака гортани человека).

Для исследования цитотоксичности клетки инкубировали с декстранами с диапазоном концентраций 0,039–20 мг/мл в течение 24 часов. Результаты МТТ-теста для OxDexQ(n) и NaOxDexQ(n) в сравнении с исходными декстранами представлены на рис. 3.29, П32-П33, а значения IC_{50} приведены в таблице 6. Было показано, что все полимеры DexQ кроме Dex6 приводят к заметному усилению пролиферации клеток, в то время как токсичность OxDexQ(n) оказалась весьма высокой: наименьшее значение IC_{50} составило всего $0,21 \pm 0,02$ мг/мл (для

OxDex6(2)). При переходе от OxDex6(n) к OxDex60(n) наблюдалась тенденция снижения токсичности. Что касается NaOxDexQ(n), то они проявляют низкую токсичность во всем диапазоне исследуемых концентраций. Несмотря на отсутствие пролиферации клеток, значения IC₅₀ для натриевых солей как минимум в 25 раз больше для соответствующих окисленных декстранов. Более высокая токсичность OxDexQ(n) в сравнении с NaOxDexQ(n), вероятно, обусловлена выделением пероксида водорода и свободных радикалов в слабощелочной питательной среде. Таким образом, существует принципиальная возможность настройки токсичности окисленного декстрана путем обработки полимера щелочным раствором, что может найти применение в разных областях.

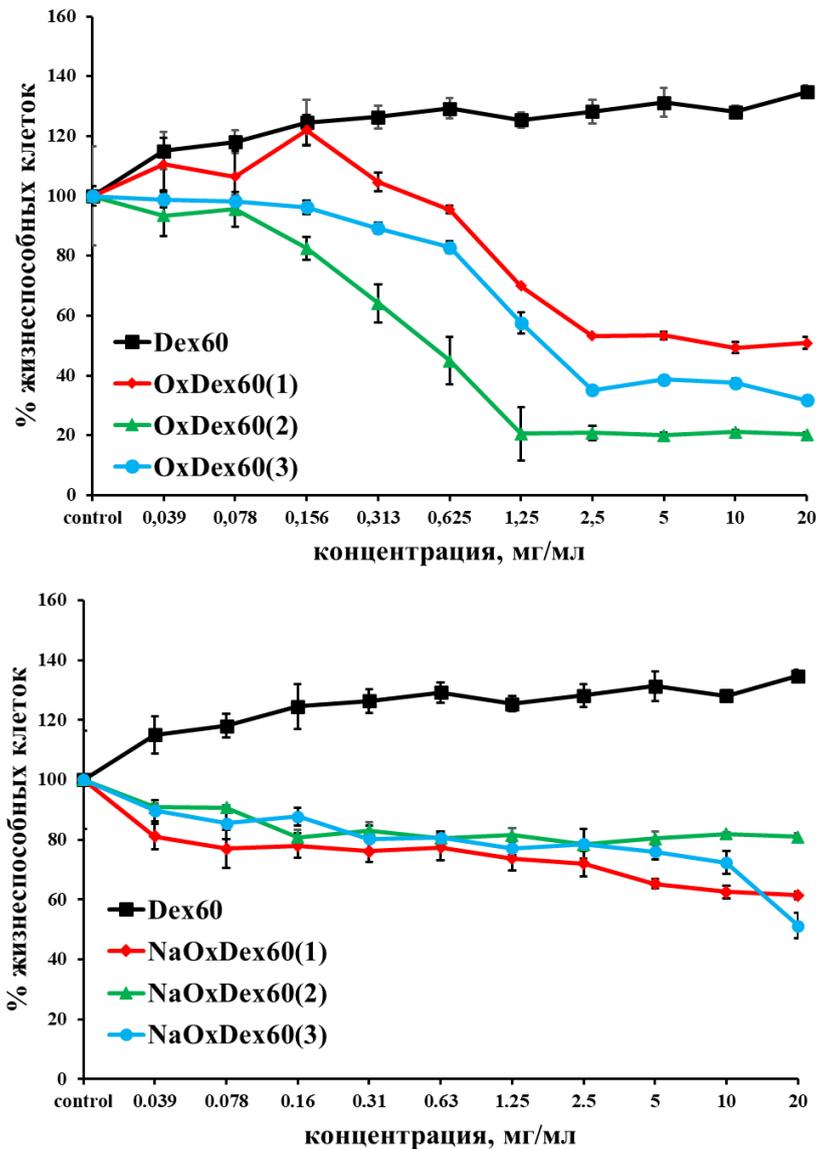


Рис. 3.29. Цитотоксичность окисленных декстранов (OxDex60(n)) (сверху) и натриевых солей окисленных декстранов (NaOxDex60(n)) (снизу) на клетках линии Hep-2.

Значения IC_{50} для исходных декстранов и их окисленных производных.

Q	IC_{50} , мг/мл			n
	DexQ	OxDexQ(n)	NaOxDexQ(n)	
6	>20	0,36±0,09	13,7±0,5	1
		0,21±0,02	5,2±0,9	2
		0,43±0,04	12,0±0,6	3
20	>20	0,67±0,09	12±2	1
		0,44±0,08	14,7±0,6	2
		0,31±0,04	14,9±0,4	3
35	>20	0,36±0,03	>20	1
		0,24±0,04	8,5±0,2	2
		0,50±0,05	13±2	3
60	>20	6,0±0,2	>20	1
		0,53±0,05	>20	2
		1,4±0,2	>20	3

В литературе известно, что декстран проникает в клетки посредством неспецифического жидкофазного эндоцитоза (пиноцитоза) [248]. Благодаря этому декстран, модифицированный FITC (флуоресцеин изотиоцианатом), широко используется в качестве жидкофазного люминесцентного маркера для изучения проникновения веществ в клетку посредством пиноцитоза (пиноцитоз – это захват клеточной поверхностью жидкости с содержащимися в ней веществами). Чтобы изучить клеточное проникновение окисленных декстранов с помощью флуоресцентной проточной цитометрии и конфокальной микроскопии, полимеры предварительно функционализировали FITC. Для данных исследований мы выбрали Dex6, Dex60, NaOxDex6(n) и NaOxDex60(n), так как эти образцы наиболее различаются с точки зрения молекулярной массы и содержания окисленных групп. Клетки инкубировали с образцами ($C = 2$ мг/мл) в течение 18 часов. Согласно данным проточной цитометрии (рис. 3.30) DexQ-FITC проникает примерно в 60 % клеток, а NaOxDexQ(n)-FITC не менее чем в 70 % клеток. Таким образом, окисление полимера приводит к увеличению клеточного проникновения и NaOxDexQ-FITC является более эффективным флуоресцентным маркером по сравнению с DexQ-FITC.

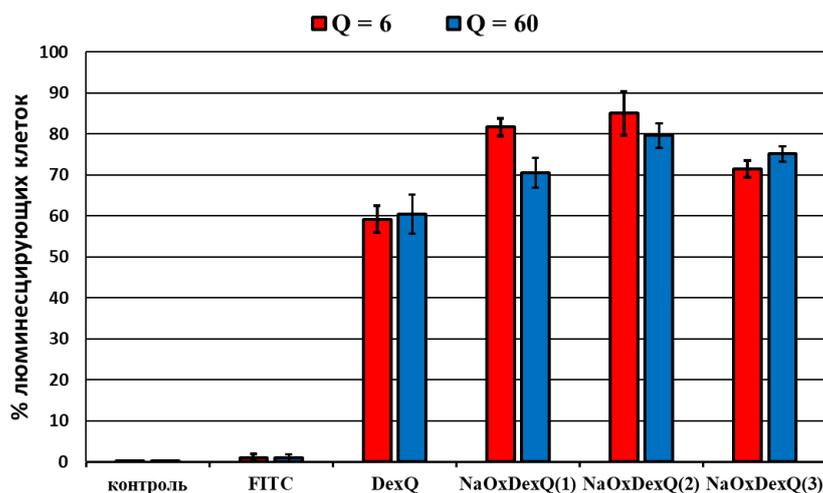


Рис. 3.30. Процент люминесцирующих клеток линии Нер-2 после инкубации с FITC и декстранами, модифицированными FITC.

По данным конфокальной микроскопии (рис. 3.31) декстран-FITC локализован в клетках в неких глобулярных структурах, вероятнее всего в везикулах. Везикулы с декстраном распределены по всей цитоплазме и, в частности, вокруг ядра, однако сквозь ядерную мембрану они не проникают. Согласно полученным данным, можно предположить, что окисленный декстран проникает в клетки по тому же механизму, что и исходный полимер, т.е. пиноцитозом.

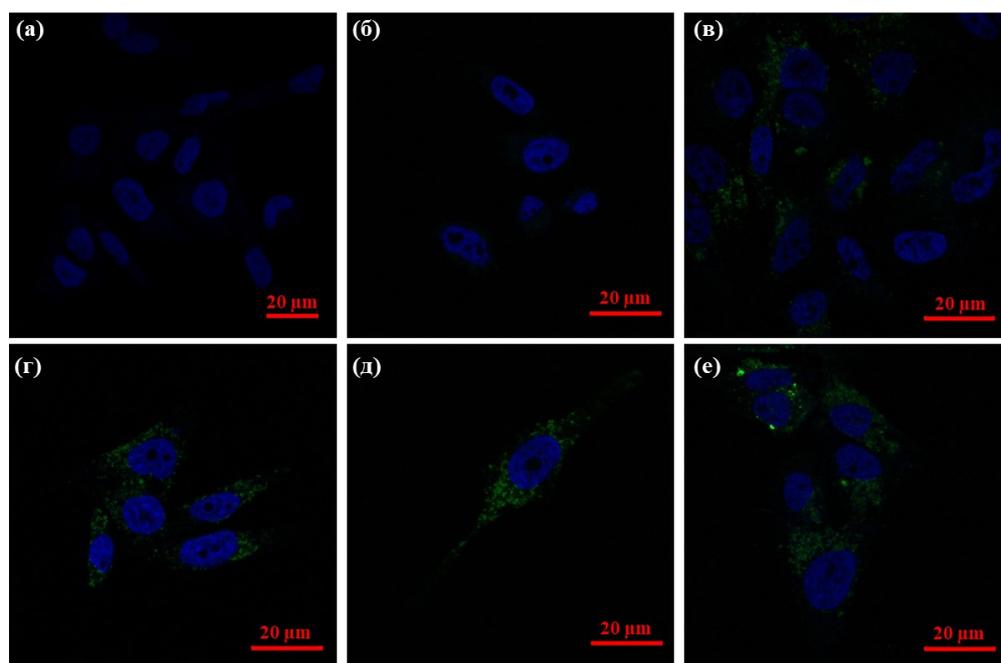


Рис. 3.31. Изображения, полученные с помощью конфокальной микроскопии, демонстрирующие клеточное поглощение и распределение полимеров в клетках Нер-2: (а) – контроль, (б) – FITC, (в) – Dex60-FITC, (г) – NaOxDex60(1)-FITC, (д) – NaOxDex60(2)-FITC, (е) – NaOxDex60(3)-FITC. Ядра клеток подкрашивали флуоресцентным красителем DAPI (синий), люминесценция FITC зеленого цвета.

Таким образом, мы разработали простой и экологически безопасный метод модификации декстрана с помощью пероксида водорода при повышенной температуре. В ходе окисления образуются альдегидные, карбоксильные групп и пероксогруппы, а молекулярная масса полимеров уменьшается. Содержание различных функциональных групп и конечная молекулярная масса в окисленном декстране могут быть настроены путем варьирования концентрации H_2O_2 , а также молекулярной массой исходного полисахарида. Кроме того, пероксогруппы могут быть легко удалены в щелочной среде с получением ионного нетоксичного полимера. Полученный мультифункциональный полимер является отличным кандидатом для стабилизации ранее полученных кластерных комплексов $[\text{M}_6\text{I}_8](\text{DMSO})_6(\text{NO}_3)_4$ ($\text{M} = \text{Mo}, \text{W}$) в водном растворе, что будет рассмотрено далее.

3.3.2. Включение кластерных комплексов в функционализированные декстраны

Для стабилизации кластерных комплексов $[\text{M}_6\text{I}_8](\text{DMSO})_6(\text{NO}_3)_4$ ($\text{M} = \text{Mo}, \text{W}$) в водном растворе были выбраны декстраны с молекулярной массой 6 (Dex6) кДа и 60 (Dex60) кДа, а также натриевые соли окисленных декстранов – $\text{NaOxDexQ}(n)$ ($Q = 6, 60, n = 1, 3$). Выбранные полимеры имеют различные молекулярные массы, а также различное содержание альдегидных и кислотных групп. Такое отличие между декстранами позволит выявить параметры, влияющие на стабилизацию кластерных комплексов.

Для получения водорастворимых материалов $\text{M}^x@\text{DexQ}$ и $\text{M}^x@\text{NaOxDexQ}(n)$ (где $x = 5$ и 100 для DexQ и $x = 5, 20, 50$ и 100 для $\text{NaOxDexQ}(n)$ – это загрузка кластерного комплекса $[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_6](\text{NO}_3)_4$ ($\text{M} = \text{Mo}$ или W) в мг на 100 мг полимера) кластерный комплекс и декстран растворяли в ДМСО, и полученный раствор перемешивали 24 часа при комнатной температуре. Полученный материал $\text{M}^x@\text{DexQ}$ или $\text{M}^x@\text{NaOxDexQ}(n)$ выделяли из реакционной смеси путем осаждения избытком этанола.

На ИК-спектрах полученных образцов нет значительных изменений в сравнении с декстраном/окисленным декстраном, что свидетельствует о сохранении структуры полимера. Небольшие изменения наблюдаются в области колебаний функциональных групп 1600-1740 cm^{-1} для окисленных полимеров (рис. 3.32, табл. П15): уменьшается интенсивность колебания $\text{C}=\text{O}$ группы (1736 cm^{-1}), а также происходит смещение и изменение формы сигнала COO^- группы (1610 cm^{-1}), давая новый сигнал на 1636 cm^{-1} . Вероятно, сигнал на 1636 cm^{-1} – это комбинация близко расположенных сигналов, а именно H_2O δ , свободной COO^- группы и координированных $\text{C}=\text{O}$ и COO^- групп. Действительно, согласно литературным данным, сигнал $\text{C}=\text{O}$ при координации к металлу смещается в область меньших волновых чисел [249, 250]. На ИК-спектрах не наблюдается сигналов, относящихся к кластерным комплексам. Это связано с тем, что степени включения комплекса недостаточно для детектирования с помощью ИК-спектроскопии ввиду её низкой чувствительности.

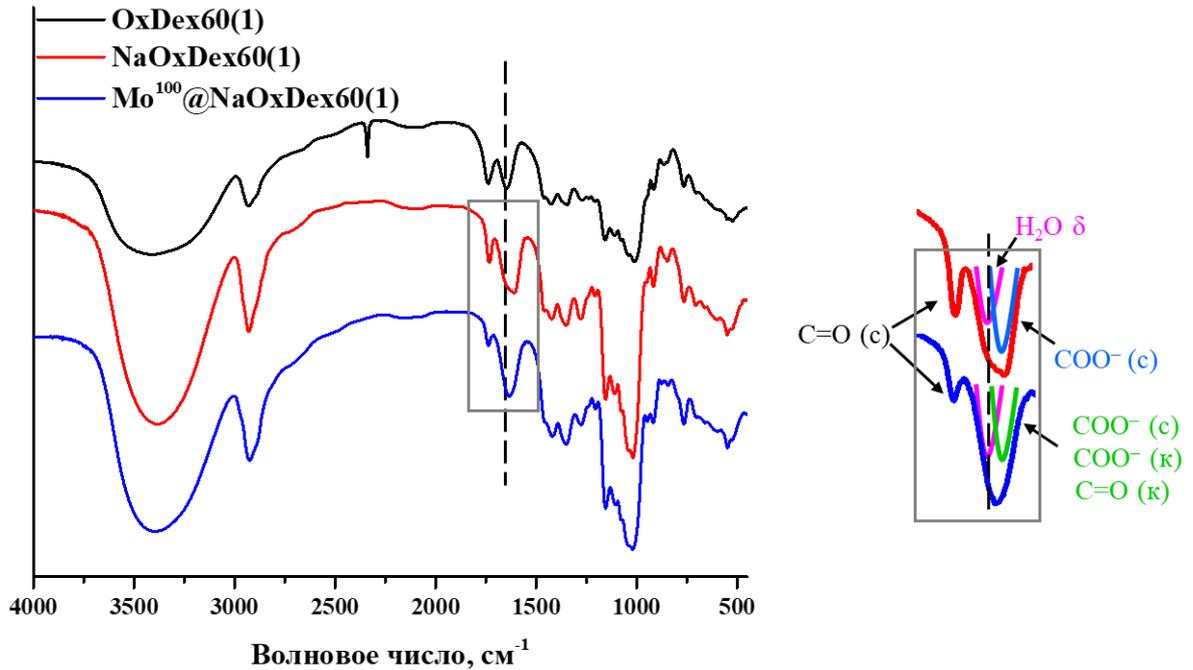


Рис. 3.32. ИК-спектры OxDex60(1), NaOxDex60(1) и Mo¹⁰⁰@NaOxDex60(1). Справа вынесен фрагмент ИК-спектра в области 1600–1740 см⁻¹; (с) и (к) обозначают свободные и координированные группы соответственно.

Для всех полученных материалов было определено содержание молибдена и вольфрама с помощью атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой (табл. П16). На основе полученных данных был построен график зависимости содержания M₆ в мкмоль на грамм материала от загрузки кластера (x) (рис. 3.33). Так же была построена теоретическая кривая содержания молибдена и вольфрама в полученных материалах при 100 % включении кластерного комплекса.

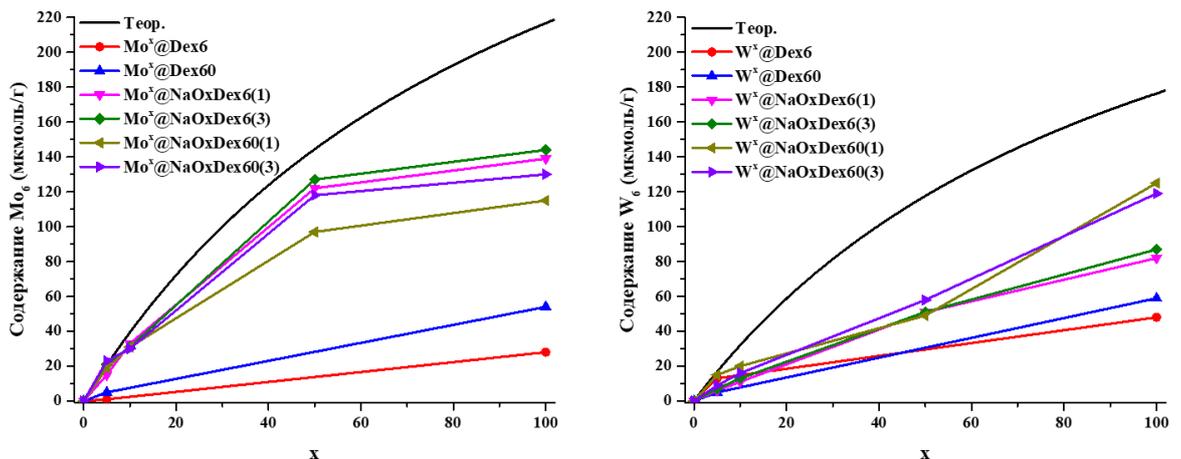


Рис. 3.33. Содержание M₆ (M = Mo, W) в полученных материалах, данные ИСП-АЭС.

Для начала рассмотрим образцы на основе кластерного комплекса молибдена. Если сравнивать между собой нативные Dex6 и Dex60, то в более высокомолекулярный полимер

включается в 2 раза больше кластерного комплекса. Как и ожидалось, в окисленные декстраны включается больше комплекса, чем в исходные полимеры. Интересно отметить, что в случае образцов $\text{Mo}^x@NaOxDex6(n)$ и $\text{Mo}^x@NaOxDex60(n)$ для $x = 5$ и 10 реальное содержание молибдена близко к теоретическому. Для образцов с высокой загрузкой комплекса ($\text{Mo}^{50}@NaOxDexQ(n)$ и $\text{Mo}^{100}@NaOxDexQ(n)$) содержание молибдена ниже в сравнении с теорией. Стоит отметить, что для обоих типов окисленных декстранов содержание молибдена находится на одном уровне, что свидетельствует о предельном насыщении полимера. В образцах $\text{Mo}^x@NaOxDex6(n)$ ($x = 50$ и 100 , $n = 1$ и 3) и $\text{Mo}^x@NaOxDex60(n)$ ($x = 50$ и 100 , $n = 1$ и 3) количество включенного комплекса близко. Следовательно, можно сделать вывод, что степень окисленности (общее содержание альдегидных и кислотных групп) и молекулярная масса исходных декстранов не оказывает значительного влияния на включение комплекса.

В случае $[\{W_6I_8\}(DMSO)_6](NO_3)_4$ в декстраны Dех6 и Dех60 включается одинаковое количество кластерного комплекса (молекулярная масса полимера не оказывает влияния). Что касается образцов на основе окисленных полимеров, то в них содержание вольфрама линейно растет с увеличением загрузки кластерного комплекса (x). В условиях данного эксперимента предельное насыщение декстранов не достигается, а, следовательно, содержание кластерного комплекса вольфрама теоретически может быть увеличено. В материалах с разной степенью окисленности полимера содержание вольфрама не отличается. Таким образом, как и в случае $[\{Mo_6I_8\}(DMSO)_6](NO_3)_4$ степень окисленности не оказывает значительного влияния на включение комплекса. При $x = 5, 10$ и 50 содержание вольфрама не отличается для $NaOxDex6(n)$ и $NaOxDex60(n)$, однако при $x = 100$ в более высокомолекулярный полимер включается больше комплекса. В $NaOxDex60(n)$ содержится почти в 2 раза больше альдегидных групп, чем в $NaOxDex6(n)$, и можно предположить, что именно альдегидные группы выступают в качестве лигандов для кластерного комплекса вольфрама.

Стоит отметить, что при максимальной загрузке кластерного комплекса ($x = 100$) в $NaOxDex60(n)$ содержание молибдена и вольфрама по молям в материалах одинаково (содержание M_6 находится в диапазоне 115-130 мкмоль/г). При синтезе материалов использовались массовые загрузки комплексов, а, следовательно, по молям количество вольфрама, вводимого в реакцию, было меньше, чем молибдена. Это объясняет тот факт, почему в случае $[\{W_6I_8\}(DMSO)_6](NO_3)_4$ не наблюдалось насыщение окисленного декстрана как в случае $[\{Mo_6I_8\}(DMSO)_6](NO_3)_4$.

С помощью ИСП-АЭС в полученных материалах было определено содержание серы. В среднем на кластерное ядро $\{M_6I_8\}$ приходится 3–4 молекулы ДМСО. Вероятно, при взаимодействии с полимером происходит частичный гидролиз комплекса и/или функциональные группы декстранов (карбокисильные и преимущественно альдегидные) выступают в роли

лигандов. Согласно данным ГПХ, для полученных материалов не наблюдается значительных изменений молекулярной массы в сравнении с чистыми полимерами, а, следовательно, не происходит «сшивание» полимера.

3.3.2.1. Стабильность материалов на основе декстранов в питательной среде

Для оценки эффективности декстранов как стабилизирующих агентов для полученных материалов были записаны электронные спектры поглощения в воде от времени. В случае материалов на основе исходных полимеров со временем происходит снижение поглощения, в то время как в случае окисленных декстранов не наблюдается значительных изменений поглощения и формы спектров в течение 13 дней (рис. 3.34). Ввиду высокой стабильности образцов на основе NaOxDexQ(n) в водном растворе в течение длительного времени было невозможно сделать выводы о влиянии функциональных групп и молекулярной массы полимеров на стабилизирующие свойства декстранов, а также выбрать наиболее эффективные из них.

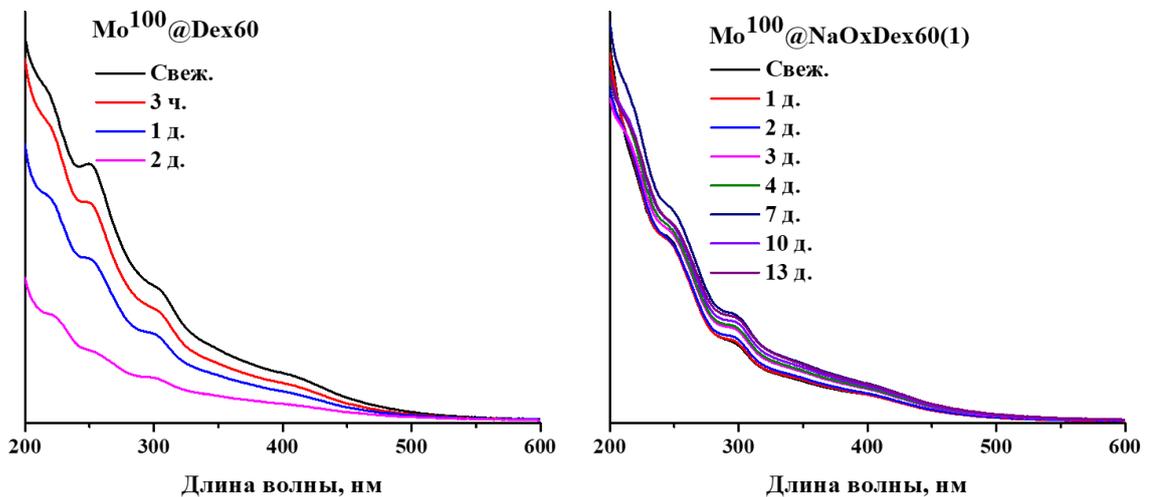


Рис. 3.34. ЭСП водных растворов материалов $\text{Mo}^{100}\text{@Dex60}$, $\text{Mo}^{100}\text{@NaOxDex60(1)}$ от времени.

В п. 3.2.4 было показано, что при добавлении водного раствора $[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_6](\text{NO}_3)_4$ в питательную среду раствор мутнеет, а спустя 6 часов комплекс полностью выпадает в осадок. Для кластерного комплекса вольфрама наблюдается аналогичная ситуация. Таким образом, исследование стабильности материалов на основе кластерных комплексов и декстранов в условиях близких к физиологическим (в питательной среде) является удобным инструментом для выявления закономерностей, оценки эффективности полимера как стабилизатора, а также отбора наиболее перспективных образцов для биомедицинских применений. В случае образцов на основе DexQ, как и для исходных комплексов, в питательной среде наблюдается выпадение осадка, что свидетельствует о низкой стабилизирующей эффективности нативных полимеров. В то же время использование NaOxDexQ(n) позволяет значительно повысить стабильность комплексов в питательной среде (рис. П37). Для более детального сравнения образцов на основе

окисленных декстранов с точки зрения гидролитической стабильности для них были записаны электронные спектры поглощения в зависимости от времени. Поскольку в питательной среде происходит несколько параллельных процессов (например, высвобождение комплекса из матрицы и/или гидролиз комплекса), и нельзя достоверно определить формы, в которых находится кластер в растворе, то описать эти процессы кинетическими уравнениями и определить кинетические параметры не представляется возможным. Поэтому для сравнения устойчивости материалов мы определили время, за которое на ЭСП наблюдается полное исчезновение сигнала относящийся к кластерному комплексу (293 нм для (7) и 319 нм для (8)) (табл. 7).

При сравнении материалов $M^{100}@NaOxDexQ(n)$ в рамках одного металла было установлено, что образцы на основе $NaOxDex60(n)$ более стабильны, чем образцы на основе $NaOxDex6(n)$ (рис. П34-П36, табл. 7). Основное отличие данных полимеров заключается в содержании альдегидных групп – в $NaOxDex60(3)$ их в 2 раза больше в сравнении с $NaOxDex6(3)$. Вероятно, именно альдегидные группы в большей степени отвечают за стабилизацию кластерных комплексов. Ввиду низкой стабильности, образцы на основе окисленного декстрана с исходной молекулярной массой 6 кДа были исключены из последующих экспериментов. Для всей серии материалов на основе высокомолекулярного полимера $NaOxDex60(n)$ были проведены эксперименты в питательной среде для оценки влияния степени окисленности декстрана на стабильность образцов. В случае материалов на основе кластерного комплекса молибдена явно видно, что «слабо» окисленные полимеры лучше стабилизируют комплексы в сравнении с «сильно» окисленными аналогами. Помимо различного содержания окисленных групп, молекулярная масса «слабо» окисленного декстрана выше. На фоне высокой стабильности вольфрамовых материалов не удалось зафиксировать значимую разницу в стабилизирующих свойствах «слабо» и «сильно» окисленных декстранов.

Из всего вышесказанного можно сделать вывод, что наиболее эффективным стабилизирующим агентом является $NaOxDex60(1)$ – декстран с наибольшим содержанием альдегидных групп и наибольшей молекулярной массой среди окисленных полимеров. Использование этого декстрана позволяет получать материалы, стабильные в питательной среде вплоть до 23 часов для молибдена и 6 дней для вольфрама.

Время, в течение которого материалы стабильны в питательной среде.

	x	5	10	50	100
Mo^x@	Dex6	–	–	–	–*
	NaOxDex6(1)	–	–	–	≤ 13 ч
	NaOxDex6(3)	–	–	–	≤ 7 ч
	Dex60	–	–	–	–*
	NaOxDex60(1)	≤ 13 ч	≤ 23 ч	≤ 23 ч	≤ 23 ч
	NaOxDex60(3)	≤ 9 ч	≤ 13 ч	≤ 13 ч	≤ 16 ч
W^x@	Dex6	–	–	–	–*
	NaOxDex6(1)	–	–	–	≤ 54 ч
	NaOxDex6(3)	–	–	–	≤ 54 ч
	Dex60	–	–	–	–*
	NaOxDex60(1)	≤ 4 д	≤ 4 д	≤ 4 д	≤ 6 д
	NaOxDex60(3)	≤ 4 д	≤ 4 д	≤ 4 д	≤ 6 д

– эксперимент не проводили; –* не удалось провести эксперимент, ввиду быстрого выпадения образца в осадок.

Выше было выдвинуто предположение, что альдегидные группы играют ключевую роль при стабилизации кластерных комплексов. Для того, чтобы точно убедиться в этом, окисленный декстран OxDex60(1) обрабатывали NaBH₃CN для восстановления альдегидных групп, при этом карбоксильные группы не претерпевают изменений. Полученный полимер обозначен как Dex60(1)-Red. Согласно данным титрования на альдегидные группы в ходе данной реакции восстанавливается 40 % C=O групп. В восстановленный декстран Dex60(1)-Red включали кластерный комплекс [Mo₆I₈](DMSO)₆(NO₃)₄ и визуально оценивали стабильность в питательной среде (рис. П38). Полученный образец стабилен в питательной среде только в течении 3 часов, что значительно ниже, чем для материалов на основе NaOxDex60(1). Следовательно, наличие альдегидных групп в окисленном полимере действительно является важным фактором для эффективной стабилизации комплекса в питательной среде.

Ввиду того, что окисленный декстран NaOxDex60(1) проявил себя как наиболее эффективный стабилизирующий агент, далее было решено проводить исследования для материалов на его основе с высокой загрузкой кластерных комплексов (x = 50, 100).

3.3.2.2. Люминесцентные свойства материалов на основе декстранов

Включение кластерных комплексов в матрицу приводит к изменению люминесцентных свойств, что неоднократно было продемонстрировано в литературе [13, 68, 70]. В связи с чем для полученных материалов были записаны спектры люминесценции, а также определены квантовые выходы люминесценции в порошке и в растворе фосфатного буфера (PBS) (табл. 8). Стоит отметить, что для исходного кластерного комплекса молибдена не удалось изучить люминесценцию в растворе ввиду его быстрого гидролиза и выпадения в осадок. Все материалы $M^x@NaOxDex60(1)$ ($M = Mo, W; x = 50, 100$) проявляют типичную для кластерных комплексов люминесценцию с широким спектром эмиссии. Квантовый выход люминесценции для порошков находится в диапазонах 6–7 % и 2–6 % для образцов на основе комплекса молибдена и вольфрама соответственно. Безусловно, в сравнении с $[M_6I_8](DMSO)_6(NO_3)_4$ наблюдается снижение квантового выхода люминесценции, что, вероятно, связано с частичным изменением лигандного окружения комплекса в полимере. Кроме того, при включении кластерного комплекса вольфрама в полимер наблюдается сильный сдвиг максимума эмиссии в красную область, что также подтверждает изменение лигандного окружения. Что касается люминесцентных свойств в растворе, то в деаэрированном PBS для обоих кластерных комплексов квантовые выходы люминесценции материалов находятся в диапазоне 2–4 %, однако в аэрированном растворе люминесценция тушится и квантовый выход составляет менее 1 %. При выдерживании материалов в растворе наблюдается снижение интенсивности люминесценции, но даже через 8 дней сохраняется заметная эмиссия (рис. 3.35). Аналогичная ситуация наблюдалась для материалов на основе кластерных комплексов молибдена и полистиролсульфоната натрия (PSS): включение кластерных комплексов $(Bu_4N)_2[M_6X_8](NO_3)_6$ ($X = Cl, Br, I$) в PSS приводит к снижению квантового выхода люминесценции, а также происходит тушение эмиссии в аэрированном водном растворе [70].

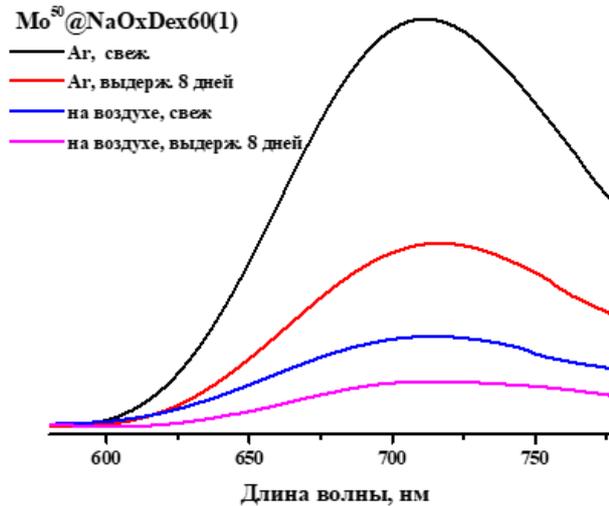


Рис. 3.35. Спектры люминесценции $\text{Mo}^{50}\text{@NaOxDex60(1)}$ в PBS в атмосфере аргона и на воздухе для свежеприготовленного и выдержанного 8 дней раствора. Длина волны возбуждения 355 нм.

Т а б л и ц а 8.

Фотофизические характеристики материалов $\text{M}^x\text{@NaOxDex60(1)}$ ($\text{M} = \text{Mo}, \text{W}$, $x = 50, 100$) в порошке и в растворе PBS.

	x	Порошок		в PBS, свеж.			в PBS, выдерж. 8 дней		
		$\Phi_{\text{эм}}$	$\lambda_{\text{эм}}, \text{нм}$	$\Phi_{\text{эм}}$		$\lambda_{\text{эм}}, \text{нм}$	$\Phi_{\text{эм}}$		$\lambda_{\text{эм}}, \text{нм}$
				Ar	возд.		Ar	возд.	
$\text{Mo}^x\text{@NaOxDex60(1)}$	50	0,07	685	0,04	0,01	712	0,03	0,01	717
	100	0,06	685	0,02	0,01	715	0,02	0,01	715
$\text{W}^x\text{@NaOxDex60(1)}$	50	0,03	740	0,03	0,01	745	0,01	0,01	755
	100	0,06	740	0,03	0,01	751	0,01	0,01	740

3.3.2.3. Биологические исследования материалов на основе декстранов

Несмотря на то, что включение в декстран значительно увеличивает стабильность кластерного комплекса молибдена $[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_6](\text{NO}_3)_4$ в водном растворе, в питательной среде стабильность осталась невысокой. В связи с этим было принято решение проводить биологические исследования только для материала на основе кластерного комплекса вольфрама – $\text{W}^{100}\text{@NaOxDex60(1)}$.

Для исследования цитотоксичности клетки линии Нер-2 инкубировали с материалом $W^{100}@NaOxDex60(1)$ в диапазоне концентраций 0,039-20 мг/мл в течение 0,5, 2, 5, 14, 24 и 48 часов. Результаты МТТ - теста представлены на рис. 3.36, а значения IC_{50} приведены в таблице 9. После 0,5, 2 и 5 часов инкубации материал не проявляет цитотоксического эффекта, в то время как после 14 и более часов инкубации клеточная жизнеспособность значительно снижается. После 48 часов инкубации было достигнуто значение концентрации полумаксимального ингибирования ($IC_{50} = 8,3$ мМ) (табл. 9).

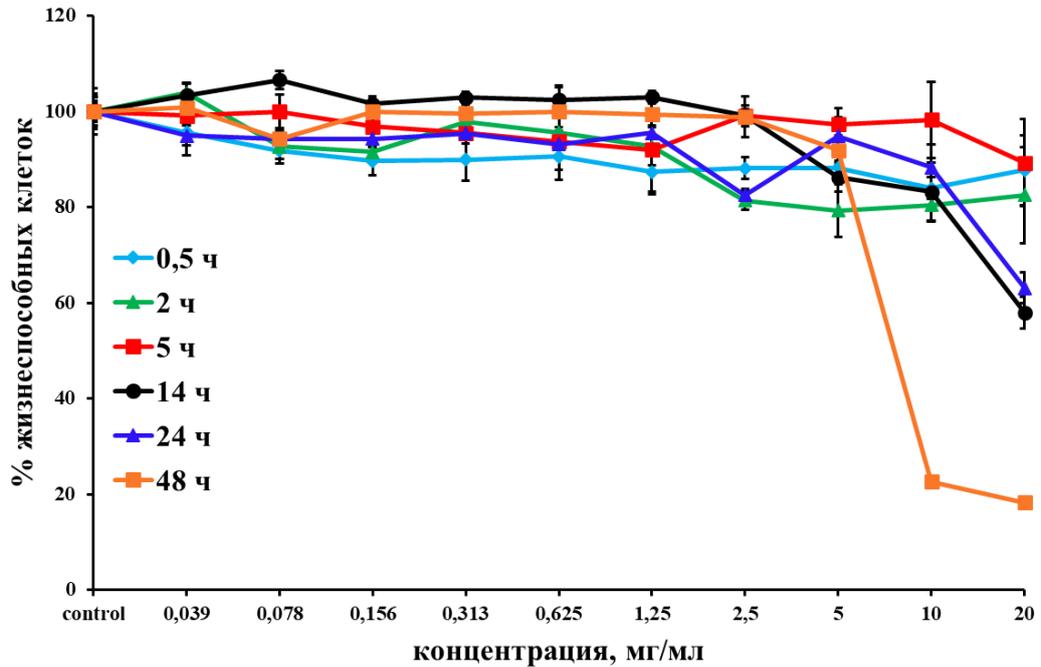


Рис. 3.36. Темновая цитотоксичность $W^{100}@NaOxDex60(1)$ на клетках линии Нер-2.

Т а б л и ц а 9.

Значение IC_{50} (в мг/мл) для $W^{100}@NaOxDex60(1)$ в зависимости от времени инкубации.

Время инкубации, ч					
0,5	2	5	14	24	48
>20	>20	>20	>20	>20	8,3±0,1

Используя данные о содержании кластерного комплекса в материале (ИСП-АЭС), можно перевести концентрации полумаксимального ингибирования в единицы ммоль(кластерного ядра)/л (табл. 10). Однако, стоит помнить, что в ходе выделения материала из реакционной смеси кластерный комплекс, вероятно, частично гидролизует. Таким образом, в составе материала комплекс находится в промежуточном состоянии, и его следует сравнивать с выдержанными 4 или 7 дней водными растворами $[\{W_6I_8\}(DMSO)_6](NO_3)_4$. Согласно полученным результатам покрытие полисахаридом позволяет исследовать кластер в более широком диапазоне

концентраций (вплоть до 2,50 ммоль (кластерное ядро)/л)). Кроме того, полимер значительно снижает цитотоксичность комплекса.

Т а б л и ц а 10.

Значение IC_{50} (в ммоль (кластерное ядро)/л) для $W^{100}@NaOxDex60(1)$ в сравнении с $[W_6I_8](DMSO)_6(NO_3)_4$ в зависимости от времени инкубации.

Образец	Время инкубации, ч					
	0,5	2	5	14	24	48
$W^{100}@NaOxDex60(1)$	>2,50	>2,50	>2,50	>2,50	>2,50	1,04±0,01
$[W_6I_8](DMSO)_6(NO_3)_4$ (свеж.)	–	–	>1,06	–	>1,06	>1,06
$[W_6I_8](DMSO)_6(NO_3)_4$ (выдерж. 4 дня)	–	–	0,94±0,03*	–	0,89±0,01	0,85±0,07
$[W_6I_8](DMSO)_6(NO_3)_4$ (выдерж. 7 дней)	–	–	–	–	–	0,24±0,01

– эксперимент не проводили; * Время инкубации 6 ч.

Для оценки клеточного проникновения с помощью проточной цитофлуориметрии клетки инкубировали с водным раствором $W^{100}@NaOxDex60(1)$ с нетоксичной концентрацией (5 мг/мл) в течение 5, 14, 24 и 48 часов. Согласно полученным результатам после инкубации 5 часов материал проникает в 3,5 % клеток, в то время как после 14 часов это значения возрастает до 30 % и выходит на плато (рис. 3.37). Полученные данные о проникновении образца согласуются с результатами о цитотоксичности: после 5 часов инкубации клеточное проникновение невысоко, а, следовательно, нет влияния на жизнеспособность клеток; после 14 часов инкубации клеточное проникновение значительно увеличивается, а вместе с ним и темновая цитотоксичность.

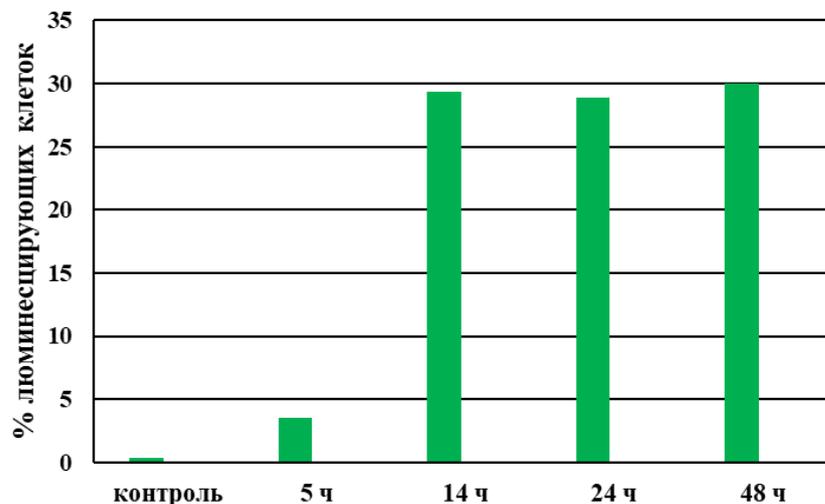


Рис. 3.37. Процент люминесцирующих клеток линии Her-2 после инкубации с $W^{100}@NaOxDex60(1)$.

Для исследования фотоиндуцированной цитотоксичности клетки обрабатывали водным раствором $W^{100}@NaOxDex60(1)$ с нетоксичной концентрацией (5 мг/мл), инкубировали 4 часа, а затем облучали светом ($\lambda = 400\text{--}800$ нм) в течение 30 минут. Согласно полученным данным материал на основе кластерного комплекса вольфрама и окисленного декстрана проявляет слабовыраженный фототоксический эффект – количество жизнеспособных клеток снижается до 67 % (рис. 3.38).

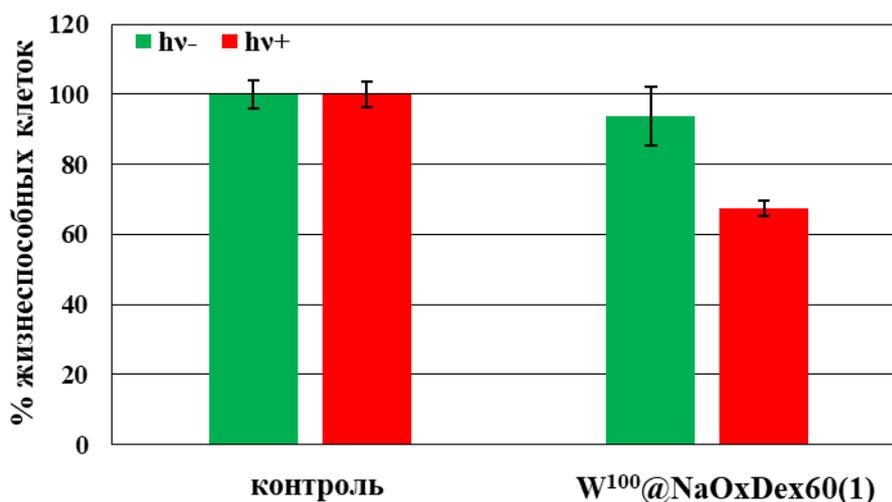


Рис. 3.38. Фотоиндуцированная цитотоксичность $W^{100}@NaOxDex60(1)$ на клетках линии Hep-2.

Таким образом, в ходе выполнения работы была получена серия люминесцентных материалов на основе кластерных комплексов $[\{M_6I_8\}(DMSO)_6](NO_3)_4$ ($M = Mo, W$) и окисленных декстранов. Включение кластеров в водорастворимые полимеры приводит к значительной стабилизации комплексов в водном растворе, в том числе и в питательной среде. Показано, что наличие альдегидных групп в составе окисленного полисахарида играет важную роль для связывания с кластерным комплексом. Биологические исследования $W^{100}@NaOxDex60(1)$ показали, что покрытие декстраном снижает темновую цитотоксичность комплекса. Полученный материал проникает в клетки, в связи с чем его можно рассматривать как агент для биовизуализации.

Заключение

В рамках настоящей работы получена серия кластерных комплексов с тиолигандами $\text{Na}_2[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{RS})_6]$ ($\text{M} = \text{Mo}, \text{W}$; $\text{R} = \text{Ph}, \text{Bn}$ и $4\text{-}^t\text{BuBnS}$). На примере $\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$ было показано, что в растворе (в ацетоне или в воде) тиофенолят-лиганды окисляются до сульфенатов (RSO^-) и сульфинатов (RSO_2^-), которые в свою очередь легко замещаются на $\text{H}_2\text{O}/\text{OH}^-$. Кроме того, выявлено, что наличие кислорода и облучение светом играют ключевую роль в процессе окисления тиолигандов.

Показано, что при взаимодействии $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{NO}_3)_6]$ ($\text{M} = \text{Mo}, \text{W}$) с диметилсульфоксидом происходит замещение терминальных NO_3^- лигандов и образуются новые фотолюминесцентные комплексы $[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_6](\text{NO}_3)_4$. Полученные соединения растворимы в воде, однако со временем ДМСО-лиганды замещаются на воду. В ходе исследования была детально изучена гидролитическая стабильность комплексов, а также определены кинетические параметры гидролиза. Согласно полученным результатам, кластерный комплекс вольфрама более стабилен в водном растворе, чем комплекс молибдена.

В ходе исследования установлено, что различная гидролитическая стабильность кластерных комплексов молибдена и вольфрама влияет на их биологические свойства. Кроме того, использование свежеприготовленного или выдержанного несколько дней водного раствор кластера также играет важную роль в определении биологической активности соединений, так как время выдержки напрямую определяет состав форм комплекса в растворе. Показано, что различные формы комплексов могут проявлять как темновую, так и фотоиндуцированную цитотоксичность, а также обладают различным клеточным проникновением.

Разработан метод функционализации полисахарида декстрана альдегидными, кислотными и пероксогруппами. Включение кластерных комплексов $[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_6](\text{NO}_3)_4$ ($\text{M} = \text{Mo}, \text{W}$) в мультифункциональные декстраны приводит к образованию водорастворимых материалов. Покрытие полисахаридами значительно увеличивает стабильность кластеров в водном растворе, в том числе в питательной среде. Биологические исследования $\text{W}^{100}@\text{NaOxDex60}(1)$ показали, что покрытие декстраном снижает темновую цитотоксичность комплекса.

Таким образом, представленная работа вносит значительный вклад в развитие химии водорастворимых октаэдрических галогенидных кластерных комплексов молибдена и вольфрама, а также демонстрирует возможность их потенциального применения в областях биологии и медицины.

Основные результаты и выводы

- 1) Предложены методики и оптимизированы условия синтеза иодидных октаэдрических кластерных комплексов молибдена и вольфрама с тиолигандами $\text{Na}_2[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{RS})_6]$ ($\text{M} = \text{Mo}, \text{W}$; $\text{R} = \text{Ph}, \text{Bn}$ и $4\text{-}^t\text{BuBnS}$). На примере $\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$ показано, что в растворе (в ацетоне или в воде) тиофенолят-лиганды окисляются до сульфенатов (RSO^-) и сульфинатов (RSO_2^-), которые в свою очередь замещаются на $\text{H}_2\text{O}/\text{OH}^-$. Установлено, что наличие кислорода и облучение светом играют ключевую роль в процессе окисления.
- 2) Показано, что при взаимодействии $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{NO}_3)_6]$ ($\text{M} = \text{Mo}, \text{W}$) с диметилсульфоксидом происходит замещение терминальных лигандов NO_3^- , и образуются новые комплексы $[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_6](\text{NO}_3)_4$. Полученные соединения растворимы в воде, однако со временем гидролизуются. Детально изучена гидролитическая стабильность комплексов и определены кинетические параметры гидролиза. Согласно полученным результатам, кластерный комплекс вольфрама более стабилен в водном растворе, чем молибденовый аналог.
- 3) Установлено, что добавление свежеприготовленного и выдержанного в течение 4 дней водного раствора $[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_6](\text{NO}_3)_4$ в питательную среду приводит к формированию различных продуктов, а именно $\text{AH}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ и $\text{AH}\cdot 14\text{H}_2\text{O}$ соответственно ($\text{AH} - [\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{H}_2\text{O})_2(\text{OH})_4]$). Предложен механизм превращений, протекающих в питательной среде, согласно которому предварительное выдерживание комплекса в растворе является важным этапом для получения люминесцентных наночастиц, поскольку позволяет пропустить лимитирующую стадию замещения лигандов.
- 4) Показано, что различная гидролитическая стабильность $[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_6](\text{NO}_3)_4$ ($\text{M} = \text{Mo}, \text{W}$) и состав форм комплекса в растворе оказывают влияние на клеточную жизнеспособность. Свежеприготовленный водный раствор кластерного комплекса вольфрама проявляет фотоиндуцированную цитотоксичность, в то время как выдерживание комплекса в растворе приводит к увеличению его темновой цитотоксичности. Для комплекса молибдена наблюдается противоположная ситуация. Это первый и единственный пример работы, в которой проведены исследования биологических свойств октаэдрического галогенидного кластерного комплекса вольфрама.
- 5) Показано, что включение $[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_6](\text{NO}_3)_4$ ($\text{M} = \text{Mo}, \text{W}$) в модифицированные полисахариды приводит к значительному увеличению стабильности кластерных комплексов в водном растворе, в том числе в питательной среде. На примере материала на основе кластерного комплекса вольфрама показано, что покрытие декстраном снижает темновую цитотоксичность комплекса.

Список литературы

1. Cotton F.A., Curtis N.F. Some new derivatives of the octa- μ_3 -chlorohexamolybdate (II), $[\text{Mo}_6\text{Cl}_8]^{4+}$, ion // *Inorg. Chem.* – 1965. – V. 4. – P. 241-244.
2. Aubert T., Cabello-Hurtado F., Esnault M.A., Neaime C., Lebret-Chauvel D., Jeanne S., Pellen P., Roiland C., Le Polles L., Saito N., Kimoto K., Haneda H., Ohashi N., Grasset F., Cordier S. Extended investigations on luminescent $\text{Cs}_2[\text{Mo}_6\text{Br}_{14}]\text{@SiO}_2$ nanoparticles: physico-structural characterizations and toxicity studies // *J. Phys. Chem. C* – 2013. – V. 117, No. 39. – P. 20154-20163.
3. Sheldon J.C. Chloromolybdenum(II) compounds // *J. Chem. Soc.* – 1960. – P. 1007-1014.
4. Braack P., Simsek M.K., Preetz W. Synthesis, crystal structures, and vibrational spectra of $[(\text{Mo}_6\text{X}^{i8}\text{Y}^{a6})]^{2-}$; $\text{X}^i = \text{Cl}, \text{Br}$; $\text{Y}^a = \text{NO}_3, \text{NO}_2$ // *Z. Anorg. Allg. Chem.* – 1998. – V. 624, No. 3. – P. 375-380.
5. Mikhaylov M.A., Sokolov M.N. Molybdenum iodides - from obscurity to bright luminescence // *Eur. J. Inorg. Chem.* – 2019. – V. 2019, No. 39-40. – P. 4181-4197.
6. Dierre B., Costuas K., Dumait N., Paofai S., Amela-Cortes M., Molard Y., Grasset F., Cho Y.J., Takahashi K., Ohashi N., Uchikoshi T., Cordier S. Mo_6 cluster-based compounds for energy conversion applications: comparative study of photoluminescence and cathodoluminescence // *Sci. Technol. Adv. Mater.* – 2017. – V. 18, No. 1. – P. 458-466.
7. Kirakci K., Kubat P., Fejfarova K., Martincik J., Nikl M., Lang K. X-ray inducible luminescence and singlet oxygen sensitization by an octahedral molybdenum cluster compound: a new class of nanoscintillators // *Inorg. Chem.* – 2016. – V. 55, No. 2. – P. 803-809.
8. Maverick A.W., Najdzionek J.S., Mackenzie D., Nocera D.G., Gray H.B. Spectroscopic, electrochemical, and photochemical properties of molybdenum(II) and tungsten(II) halide clusters // *J. Amer. Chem. Soc.* – 1983. – V. 105, No. 7. – P. 1878-1882.
9. Fujii S., Tanioka E., Sasaki K., Horiguchi T., Akagi S., Kitamura N. Proton-switched emission behavior of hexanuclear molybdenum(II) clusters bearing terminal pyridine carboxylate ligands // *Eur. J. Inorg. Chem.* – 2020. – V. 2020, No. 31. – P. 2983-2989.
10. Kirakci K., Zelenka J., Rumlova M., Martincik J., Nikl M., Ruml T., Lang K. Octahedral molybdenum clusters as radiosensitizers for X-ray induced photodynamic therapy // *J. Mater. Chem. B* – 2018. – V. 6, No. 26. – P. 4301-4307.
11. Evtushok D.V., Melnikov A.R., Vorotnikova N.A., Vorotnikov Y.A., Ryadun A.A., Kuratieva N.V., Kozyr K.V., Obedinskaya N.R., Kretov E.I., Novozhilov I.N., Mironov Y.V., Stass D.V., Efremova O.A., Shestopalov M.A. A comparative study of optical properties and X-ray induced luminescence of octahedral molybdenum and tungsten cluster complexes // *Dalton Trans.* – 2017. – V. 46, No. 35. – P. 11738-11747.

12. Kirakci K., Pozmogova T.N., Protasevich A.Y., Vavilov G.D., Stass D.V., Shestopalov M.A., Lang K. A water-soluble octahedral molybdenum cluster complex as a potential agent for X-ray induced photodynamic therapy // *Biomater. Sci.* – 2021. – V. 9, No. 8. – P. 2893-2902.
13. Efremova O.A., Shestopalov M.A., Chirtsova N.A., Smolentsev A.I., Mironov Y.V., Kitamura N., Brylev K.A., Sutherland A.J. A highly emissive inorganic hexamolybdenum cluster complex as a handy precursor for the preparation of new luminescent materials // *Dalton Trans.* – 2014. – V. 43, No. 16. – P. 6021-6025.
14. Sokolov M.N., Mihailov M.A., Peresyphkina E.V., Brylev K.A., Kitamura N., Fedin V.P. Highly luminescent complexes $[\text{Mo}_6\text{X}_8(\text{n-C}_3\text{F}_7\text{COO})_6]^{2-}$ (X = Br, I) // *Dalton Trans.* – 2011. – V. 40, No. 24. – P. 6375-6377.
15. Mikhailov M.A., Brylev K.A., Abramov P.A., Sakuda E., Akagi S., Ito A., Kitamura N., Sokolov M.N. Synthetic tuning of redox, spectroscopic, and photophysical properties of $\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}^{4+}$ core cluster complexes by terminal carboxylate ligands // *Inorg. Chem.* – 2016. – V. 55, No. 17. – P. 8437-8445.
16. Circu V., Molard Y., Amela-Cortes M., Bentaleb A., Barois P., Dorcet V., Cordier S. From mesomorphic phosphine oxide to clustomesogens containing molybdenum and tungsten octahedral cluster cores // *Angew. Chem. Int. Ed.* – 2015. – V. 54, No. 37. – P. 10921-10925.
17. Riehl L., Seyboldt A., Strobele M., Enseling D., Justel T., Westberg M., Ogilby P.R., Meyer H.J. A ligand substituted tungsten iodide cluster: luminescence vs. singlet oxygen production // *Dalton Trans.* – 2016. – V. 45, No. 39. – P. 15500-15506.
18. Hummel T., Strobele M., Schmid D., Enseling D., Justel T., Meyer H.J. Characterization of $\text{A}_x[\text{W}_6\text{I}_{14}]$ as key compounds for ligand-substituted $\text{A}_2[\text{W}_6\text{I}_8\text{L}_6]$ clusters // *Eur. J. Inorg. Chem.* – 2016. No. 31. – P. 5063-5067.
19. Molard Y. Clustomesogens: liquid crystalline hybrid nanomaterials containing functional metal nanoclusters // *Acc. Chem. Res.* – 2016. – V. 49, No. 8. – P. 1514-1523.
20. Kirakci K., Zelenka J., Krizova I., Ruml T., Lang K. Octahedral molybdenum cluster complexes with optimized properties for photodynamic applications // *Inorg. Chem.* – 2020. – V. 59, No. 13. – P. 9287-9293.
21. Kirakci K., Demel J., Hynek J., Zelenka J., Rumlova M., Ruml T., Lang K. Phosphinate apical ligands: a route to a water-stable octahedral molybdenum cluster complex // *Inorg. Chem.* – 2019. – V. 58, No. 24. – P. 16546-16552.
22. Akagi S., Fujii S., Kitamura N. A study on the redox, spectroscopic, and photophysical characteristics of a series of octahedral hexamolybdenum(II) clusters: $[\{\text{Mo}_6\text{X}_8\}\text{Y}_6]^{2-}$ (X, Y = Cl, Br, or I) // *Dalton Trans.* – 2018. – V. 47, No. 4. – P. 1131-1139.
23. Vorotnikova N.A., Alekseev A.Y., Vorotnikov Y.A., Evtushok D.V., Molard Y., Amela-Cortes M., Cordier S., Smolentsev A.I., Burton C.G., Kozhin P.M., Zhu P., Topham P.D., Mironov Y.V.,

- Bradley M., Efremova O.A., Shestopalov M.A. Octahedral molybdenum cluster as a photoactive antimicrobial additive to a fluoroplastic // *Mater. Sci. Eng. C* – 2019. – V. 105. – P. 110150.
24. Kirakci K., Kubat P., Langmaier J., Polivka T., Fuciman M., Fejfarova K., Lang K. A comparative study of the redox and excited state properties of $(n\text{Bu}_4\text{N})_2[\text{Mo}_6\text{X}_{14}]$ and $(n\text{Bu}_4\text{N})_2[\text{Mo}_6\text{X}_8(\text{CF}_3\text{COO})_6]$ ($\text{X} = \text{Cl}, \text{Br}, \text{or I}$) // *Dalton Trans.* – 2013. – V. 42, No. 19. – P. 7224-7232.
25. Efremova O.A., Vorotnikov Y.A., Brylev K.A., Vorotnikova N.A., Novozhilov I.N., Kuratieva N.V., Edeleva M.V., Benoit D.M., Kitamura N., Mironov Y.V., Shestopalov M.A., Sutherland A.J. Octahedral molybdenum cluster complexes with aromatic sulfonate ligands // *Dalton Trans.* – 2016. – V. 45, No. 39. – P. 15427-15435.
26. Jackson J.A., Newsham M.D., Worsham C., Nocera D.G. Efficient singlet oxygen generation from polymers derivatized with hexanuclear molybdenum clusters // *Chem. Mater.* – 1996. – V. 8, No. 2. – P. 558-564.
27. Garreau A., Massuyeau F., Cordier S., Molard Y., Gautron E., Bertoncini P., Faulques E., Wery J., Humbert B., Bulou A., Duvail J.L. Color control in coaxial two-luminophore nanowires // *ACS Nano* – 2013. – V. 7, No. 4. – P. 2977-2987.
28. Amela-Cortes M., Garreau A., Cordier S., Faulques E., Duvail J.L., Molard Y. Deep red luminescent hybrid copolymer materials with high transition metal cluster content // *J. Mater. Chem. C* – 2014. – V. 2, No. 8. – P. 1545-1552.
29. Prevot M., Amela-Cortes M., Manna S.K., Lefort R., Cordier S., Folliot H., Dupont L., Molard Y. Design and integration in electro-optic devices of highly efficient and robust red-NIR phosphorescent nematic hybrid liquid crystals containing $[\text{Mo}_6\text{I}_8(\text{OCOC}_n\text{F}_{2n+1})_6]^{2-}$ ($n=1, 2, 3$) canoclusters // *Adv. Funct. Mater.* – 2015. – V. 25, No. 31. – P. 4966-4975.
30. Robin M., Kuai W., Amela-Cortes M., Cordier S., Molard Y., Mohammed-Brahim T., Jacques E., Harnois M. Epoxy based ink as versatile material for inkjet-printed devices // *ACS Appl. Mater. Interfaces* – 2015. – V. 7, No. 39. – P. 21975-21984.
31. Bigeon J., Huby N., Amela-Cortes M., Molard Y., Garreau A., Cordier S., Beche B., Duvail J.L. Efficient active waveguiding properties of Mo_6 nano-cluster-doped polymer nanotubes // *Nanotechnology* – 2016. – V. 27, No. 25. – P. 255201.
32. Kumar P., Kumar S., Cordier S., Paofai S., Boukherroub R., Jain S.L. Photoreduction of CO_2 to methanol with hexanuclear molybdenum $[\text{Mo}_6\text{Br}_{14}]^{2-}$ cluster units under visible light irradiation // *RSC Adv.* – 2014. – V. 4, No. 20. – P. 10420-10423.
33. Barras A., Cordier S., Boukherroub R. Fast photocatalytic degradation of rhodamine B over $[\text{Mo}_6\text{Br}_8(\text{N}_3)_6]^{2-}$ cluster units under sun light irradiation // *Appl. Catal., B* – 2012. – V. 123-124. – P. 1-8.

34. Beltran A., Mikhailov M., Sokolov M.N., Perez-Laguna V., Rezusta A., Revillo M.J., Galindo F. A photobleaching resistant polymer supported hexanuclear molybdenum iodide cluster for photocatalytic oxygenations and photodynamic inactivation of *Staphylococcus aureus* // *J. Mater. Chem. B* – 2016. – V. 4, No. 36. – P. 5975-5979.
35. Feliz M., Puche M., Atienzar P., Concepcion P., Cordier S., Molard Y. In situ generation of active molybdenum octahedral clusters for photocatalytic hydrogen production from water // *ChemSusChem* – 2016. – V. 9, No. 15. – P. 1963-1971.
36. Feliz M., Atienzar P., Amela-Cortes M., Dumait N., Lemoine P., Molard Y., Cordier S. Supramolecular anchoring of octahedral molybdenum clusters onto graphene and their synergies in photocatalytic water reduction // *Inorg. Chem.* – 2019. – V. 58, No. 22. – P. 15443-15454.
37. Ivanova M.N., Vorotnikov Y.A., Plotnikova E.E., Marchuk M.V., Ivanov A.A., Asanov I.P., Tsygankova A.R., Grayfer E.D., Fedorov V.E., Shestopalov M.A. Hexamolybdenum clusters supported on exfoliated h-BN nanosheets for photocatalytic water purification // *Inorg. Chem.* – 2020. – V. 59, No. 9. – P. 6439-6448.
38. Nguyen T.K.N., Matsui Y., Shirahata N., Dumait N., Cordier S., Grasset F., Ohashi N., Uchikoshi T. Zn-Al layered double hydroxide-based nanocomposite functionalized with an octahedral molybdenum cluster exhibiting prominent photoactive and oxidation properties // *Appl. Clay Sci.* – 2020. – V. 196. – P. 105765.
39. Zhao Y., Lunt R.R. Transparent luminescent solar concentrators for large-area solar windows enabled by massive Stokes-shift nanocluster phosphors // *Adv. Energy Mater.* – 2013. – V. 3, No. 9. – P. 1143-1148.
40. Khlifi S., Bignon J., Amela-Cortes M., Dumait N., Loas G., Cordier S., Molard Y. Switchable two-dimensional waveguiding abilities of luminescent hybrid nanocomposites for active solar concentrators // *ACS Appl. Mater. Interfaces* – 2020. – V. 12, No. 12. – P. 14400-14407.
41. Renaud A., Nguyen T.K.N., Grasset F., Raissi M., Guillon V., Delabrouille F., Dumait N., Jouan P.Y., Cario L., Jobic S., Pellegrin Y., Odobel F., Cordier S., Uchikoshi T. Preparation by electrophoretic deposition of molybdenum iodide cluster-based functional nanostructured photoelectrodes for solar cells // *Electrochim. Acta* – 2019. – V. 317. – P. 737-745.
42. Renaud A., Jouan P.Y., Dumait N., Ababou-Girard S., Barreau N., Uchikoshi T., Grasset F., Jobic S., Cordier S. Evidence of the ambipolar behavior of Mo₆ cluster iodides in all-inorganic solar cells: a new example of nanoarchitectonic concept // *ACS Appl. Mater. Interfaces* – 2022. – V. 14, No. 1. – P. 1347-1354.
43. Felip-Leon C., del Valle C.A., Perez-Laguna V., Millan-Lou M.I., Miravet J.F., Mikhailov M., Sokolov M.N., Rezusta-Lopez A., Galindo F. Superior performance of macroporous over gel type

- polystyrene as a support for the development of photo-bactericidal materials // *J. Mater. Chem. B* – 2017. – V. 5, No. 30. – P. 6058-6064.
44. Vorotnikova N.A., Bardin V.A., Vorotnikov Y.A., Kirakci K., Adamenko L.S., Alekseev A.Y., Meyer H.J., Kubat P., Mironov Y.V., Lang K., Shestopalov M.A. Heterogeneous photoactive antimicrobial coatings based on a fluoroplastic doped with an octahedral molybdenum cluster compound // *Dalton Trans.* – 2021. – V. 50, No. 24. – P. 8467-8475.
45. Kirakci K., Nguyen T.K.N., Grasset F., Uchikoshi T., Zelenka J., Kubat P., Ruml T., Lang K. Electrophoretically deposited layers of octahedral molybdenum cluster complexes: a promising coating for mitigation of pathogenic bacterial biofilms under blue light // *ACS Appl. Mater. Interfaces* – 2020. – V. 12, No. 47. – P. 52492-52499.
46. Lopez-Lopez N., Resta I.M., de Llanos R., Miravet J.F., Mikhaylov M., Sokolov M.N., Ballesta S., Garcia-Luque I., Galindo F. Photodynamic inactivation of *Staphylococcus aureus* biofilms using a hexanuclear molybdenum complex embedded in transparent polyHEMA Hydrogels // *ACS Biomater. Sci. Eng.* – 2020. – V. 6, No. 12. – P. 6995-7003.
47. Hummel T., Dutczak D., Alekseev A.Y., Adamenko L.S., Shestopalov M.A., Mironov Y.V., Enseling D., Justel T., Meyer H.J. Photodynamic properties of tungsten iodide clusters incorporated into silicone: $A_2[M_6I_8L_6]@silicone$ // *RSC Adv.* – 2020. – V. 10, No. 37. – P. 22257-22263.
48. Neaime C., Amela-Cortes M., Grasset F., Molard Y., Cordier S., Dierre B., Mortier M., Takei T., Takahashi K., Haneda H., Verelst M., Lechevallier S. Time-gated luminescence bioimaging with new luminescent nanocolloids based on $[Mo_6I_8(C_2F_5COO)_6]^{2-}$ metal atom clusters // *Phys. Chem. Chem. Phys.* – 2016. – V. 18, No. 43. – P. 30166-30173.
49. Elistratova J., Mukhametshina A., Kholin K., Nizameev I., Mikhailov M., Sokolov M., Khairullin R., Miftakhova R., Shammass G., Kadirov M., Petrov K., Rizvanov A., Mustafina A. Interfacial uploading of luminescent hexamolybdenum cluster units onto amino-decorated silica nanoparticles as new design of nanomaterial for cellular imaging and photodynamic therapy // *J. Colloid Interface Sci.* – 2019. – V. 538. – P. 387-396.
50. Solovieva A.O., Vorotnikov Y.A., Trifonova K.E., Efremova O.A., Krasilnikova A.A., Brylev K.A., Vorontsova E.V., Avrorov P.A., Shestopalova L.V., Poveshchenko A.F., Mironov Y.V., Shestopalov M.A. Cellular internalisation, bioimaging and dark and photodynamic cytotoxicity of silica nanoparticles doped by $\{Mo_6I_8\}^{4+}$ metal clusters // *J. Mater. Chem. B* – 2016. – V. 4, No. 28. – P. 4839-4846.
51. Brandhonneur N., Hatahet T., Amela-Cortes M., Molard Y., Cordier S., Dollo G. Molybdenum cluster loaded PLGA nanoparticles: an innovative theranostic approach for the treatment of ovarian cancer // *Eur. J. Pharm. Biopharm.* – 2018. – V. 125. – P. 95-105.

52. Dollo G., Boucaud Y., Amela-Cortes M., Molard Y., Cordier S., Brandhonneur N. PLGA nanoparticles embedding molybdenum cluster salts: influence of chemical composition on physico-chemical properties, encapsulation efficiencies, colloidal stabilities and *in vitro* release // *Int. J. Pharm.* – 2020. – V. 576. – P. 119025.
53. Kirakci K., Zelenka J., Rumlova M., Cvacka J., Ruml T., Lang K. Cationic octahedral molybdenum cluster complexes functionalized with mitochondria-targeting ligands: photodynamic anticancer and antibacterial activities // *Biomater. Sci.* – 2019. – V. 7, No. 4. – P. 1386-1392.
54. Cheplakova A.M., Solovieva A.O., Pozmogova T.N., Vorotnikov Y.A., Brylev K.A., Vorotnikova N.A., Vorontsova E.V., Mironov Y.V., Poveshchenko A.F., Kovalenko K.A., Shestopalov M.A. Nanosized mesoporous metal-organic framework MIL-101 as a nanocarrier for photoactive hexamolybdenum cluster compounds // *J. Inorg. Biochem.* – 2017. – V. 166. – P. 100-107.
55. Kirakci K., Kubat P., Kucerakova M., Sicha V., Gbelcova H., Lovecka P., Grznarova P., Ruml T., Lang K. Water-soluble octahedral molybdenum cluster compounds $\text{Na}_2[\text{Mo}_6\text{I}_8(\text{N}_3)_6]$ and $\text{Na}_2[\text{Mo}_6\text{I}_8(\text{NCS})_6]$: syntheses, luminescence, and *in vitro* studies // *Inorg. Chim. Acta* – 2016. – V. 441. – P. 42-49.
56. Amela-Cortes M., Cordier S., Naumov N.G., Meriadec C., Artzner F., Molard Y. Hexacyano octahedral metallic clusters as versatile building blocks in the design of extended polymeric framework and clustomesogens // *J. Mater. Chem. C* – 2014. – V. 2, No. 46. – P. 9813-9823.
57. Pronin A.S., Yarovoy S.S., Gayfulin Y.M., Ryadun A.A., Brylev K.A., Samsonenko D.G., Eltsov I.V., Mironov Y.V. Cyanide complexes based on $\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}^{4+}$ and $\{\text{W}_6\text{I}_8\}^{4+}$ cluster cores // *Molecules* – 2020. – V. 25, No. 24. – P. 5796.
58. Sciortino F., Cuny J., Grasset F., Lagrost C., Lemoine P., Moreac A., Molard Y., Takei T., Cordier S., Chevance S., Gauffre F. The Ouzo effect to selectively assemble molybdenum clusters into nanomarbles or nanocapsules with increased HER activity // *Chem. Commun.* – 2018. – V. 54, No. 95. – P. 13387-13390.
59. Vorotnikov Y.A., Efremova O.A., Vorotnikova N.A., Brylev K.A., Edeleva M.V., Tsygankova A.R., Smolentsev A.I., Kitamura N., Mironov Y.V., Shestopalov M.A. On the synthesis and characterisation of luminescent hybrid particles: Mo_6 metal cluster complex/ SiO_2 // *RSC Adv.* – 2016. – V. 6, No. 49. – P. 43367-43375.
60. Nerambourg N., Aubert T., Neaime C., Cordier S., Mortier M., Patriarche G., Grasset F. Multifunctional hybrid silica nanoparticles based on $[\text{Mo}_6\text{Br}_{14}]^{2-}$ phosphorescent nanosized clusters, magnetic $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ and plasmonic gold nanoparticles // *J. Colloid Interface Sci.* – 2014. – V. 424. – P. 132-140.
61. Grasset F., Dorson F., Cordier S., Molard Y., Perrin C., Marie A.M., Sasaki T., Haneda H., Bando Y., Mortier M. Water-in-oil microemulsion preparation and characterization of $\text{Cs}_2[\text{Mo}_6\text{X}_{14}]\text{@SiO}_2$

phosphor nanoparticles based on transition metal clusters (X = Cl, Br, and I) // *Adv. Mater.* – 2008. – V. 20, No. 1. – P. 143-148.

62. Grasset F., Dorson F., Molard Y., Cordier S., Demange V., Perrin C., Marchi-Artzner V., Haneda H. One-pot synthesis and characterizations of bi-functional phosphor-magnetic @SiO₂ nanoparticles: controlled and structured association of Mo₆ cluster units and γ -Fe₂O₃ nanocrystals // *Chem. Commun.* – 2008. No. 39. – P. 4729-4731.

63. Vorotnikov Y.A., Novikova E.D., Solovieva A.O., Shanshin D.V., Tsygankova A.R., Shcherbakov D.N., Efremova O.A., Shestopalov M.A. Single-domain antibody C7b for address delivery of nanoparticles to HER2-positive cancers // *Nanoscale* – 2020. – V. 12, No. 42. – P. 21885-21894.

64. Buzek D., Hynek J., Kucerakova M., Kirakci K., Demel J., Lang K. Mo^{II} cluster complex-based coordination polymer as an efficient heterogeneous catalyst in the Suzuki-Miyaura coupling reaction // *Eur. J. Inorg. Chem.* – 2016. No. 28. – P. 4668-4673.

65. Dybtsev D., Serre C., Schmitz B., Panella B., Hirscher M., Latroche M., Llewellyn P.L., Cordier S., Molard Y., Haouas M., Taulelle F., Ferey G. Influence of [Mo₆Br₃F₆]²⁻ cluster unit inclusion within the mesoporous solid MIL-101 on hydrogen storage performance // *Langmuir* – 2010. – V. 26, No. 13. – P. 11283-11290.

66. Brandhonneur N., Boucaud Y., Verger A., Dumait N., Molard Y., Cordier S., Dollo G. Molybdenum cluster loaded PLGA nanoparticles as efficient tools against epithelial ovarian cancer // *Int. J. Pharm.* – 2021. – V. 592. – P. 120079.

67. Vorotnikova N.A., Edeleva M.V., Kurskaya O.G., Brylev K.A., Shestopalov A.M., Mironov Y.V., Sutherland A.J., Efremova O.A., Shestopalov M.A. One-pot synthesis of {Mo₆I₈}⁴⁺-doped polystyrene microspheres via a free radical dispersion copolymerisation reaction // *Polym. Int.* – 2017. – V. 66, No. 12. – P. 1906-1912.

68. Vorotnikova N.A., Efremova O.A., Tsygankova A.R., Brylev K.A., Edeleva M.V., Kurskaya O.G., Sutherland A.J., Shestopalov A.M., Mironov Y.V., Shestopalov M.A. Characterization and cytotoxicity studies of thiol-modified polystyrene microbeads doped with [Mo₆X₈](NO₃)₆]²⁻ (X=Cl, Br, I) // *Polym. Adv. Technol.* – 2016. – V. 27, No. 7. – P. 922-928.

69. Elistratova J., Mikhailov M., Burirov V., Babaev V., Rizvanov I., Mustafina A., Abramov P., Sokolov M., Konovalov A., Fedin V. Supramolecular assemblies of triblock copolymers with hexanuclear molybdenum clusters for sensing antibiotics in aqueous solutions *via* energy transfer // *RSC Adv.* – 2014. – V. 4, No. 53. – P. 27922-27930.

70. Svezhentseva E.V., Solovieva A.O., Vorotnikov Y.A., Kurskaya O.G., Brylev K.A., Tsygankova A.R., Edeleva M.V., Gyrylova S.N., Kitamura N., Efremova O.A., Shestopalov M.A., Mironov Y.V., Shestopalov A.M. Water-soluble hybrid materials based on {Mo₆X₈}⁴⁺ (X = Cl, Br, I) cluster complexes and sodium polystyrene sulfonate // *New J. Chem.* – 2017. – V. 41, No. 4. – P. 1670-1676.

71. Pozmogova T.N., Sitnikova N.A., Pronina E.V., Miroshnichenko S.M., Kushnarenko A.O., Solovieva A.O., Bogachev S.S., Vavilov G.D., Efremova O.A., Vorotnikov Y.A., Shestopalov M.A. Hybrid system $\{W_6I_8\}$ -cluster/dsDNA as an agent for targeted X-ray induced photodynamic therapy of cancer stem cells // *Mater. Chem. Front.* – 2021. – V. 5, No. 20. – P. 7499-7507.
72. Liu Z.H., Jiao Y.P., Wang Y.F., Zhou C.R., Zhang Z.Y. Polysaccharides-based nanoparticles as drug delivery systems // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2008. – V. 60, No. 15. – P. 1650-1662.
73. Malafaya P.B., Silva G.A., Reis R.L. Natural-origin polymers as carriers and scaffolds for biomolecules and cell delivery in tissue engineering applications // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2007. – V. 59, No. 4-5. – P. 207-233.
74. Raemdonck K., Martens T.F., Braeckmans K., Demeester J., De Smedt S.C. Polysaccharide-based nucleic acid nanoformulations // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2013. – V. 65, No. 9. – P. 1123-1147.
75. BeMiller J.N., *Dextran* // in *Encyclopedia of food sciences and nutrition*, 2nd ed., ed. Caballero B., Academic Press, Oxford, 2003, pp. 1772–1773.
76. Sun G.M., Zhang X.J., Shen Y.I., Sebastian R., Dickinson L.E., Fox-Talbot K., Reinblatt M., Steenbergen C., Harmon J.W., Gerecht S. Dextran hydrogel scaffolds enhance angiogenic responses and promote complete skin regeneration during burn wound healing // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* – 2011. – V. 108. – P. 20976-20981.
77. Balakrishnan B., Soman D., Payanam U., Laurent A., Labarre D., Jayakrishnan A. A novel injectable tissue adhesive based on oxidized dextran and chitosan // *Acta Biomater.* – 2017. – V. 53. – P. 343-354.
78. Liu L., Pan X., Zhang W., *Natural polymer bioconjugate systems* // in *Chemistry of bioconjugates*, ed. Narain R., John Wiley & Sons, 2014, pp. 133–145.
79. An N.T., Thien D.T., Dong N.T., Dung P.L. Water-soluble N-carboxymethylchitosan derivatives: preparation, characteristics and its application // *Carbohydr. Polym.* – 2009. – V. 75, No. 3. – P. 489-497.
80. Pillai C.K.S., Paul W., Sharma C.P. Chitin and chitosan polymers: chemistry, solubility and fiber formation // *Prog. Polym. Sci.* – 2009. – V. 34, No. 7. – P. 641-678.
81. George M., Abraham T.E. Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: alginate and chitosan - a review // *J. Control. Release* – 2006. – V. 114, No. 1. – P. 1-14.
82. Hassan O., Chang T. Chitosan for eco-friendly control of plant disease // *Asian J. Plant Pathol.* – 2017. – V. 11, No. 2. – P. 53-70.
83. Preuss H.G., Kaats G.R. Chitosan as a dietary supplement for weight Loss: a review // *Curr. Nutr. Food Sci.* – 2006. – V. 2, No. 3. – P. 297-311.
84. Liao Y.-H., Jones S.A., Forbes B., Martin G.P., Brown M.B. Hyaluronan: pharmaceutical characterization and drug delivery // *Drug Deliv.* – 2005. – V. 12, No. 6. – P. 327-342.

85. Aßmann V., Kern H.F., Elsässer H.P. Differential expression of the hyaluronan receptors CD44 and RHAMM in human pancreatic cancer cells // *Clin. Cancer Res.* – 1996. – V. 2, No. 9. – P. 1607-1618.
86. Li H., Guo L., Li J.W., Liu N., Qi R., Liu J. Expression of hyaluronan receptors CD44 and RHAMM in stomach cancers: relevance with tumor progression // *Int. J. Oncol.* – 2000. – V. 17, No. 5. – P. 927-932.
87. Kadajji V.G., Betageri G.V. Water soluble polymers for pharmaceutical applications // *Polym. J.* – 2011. – V. 3, No. 4. – P. 1972-2009.
88. Ioelovich M. Cellulose as a nanostructured polymer: a short review // *Bioresources* – 2008. – V. 3, No. 4. – P. 1403-1418.
89. Perez S., Samain D. Structure and engineering of celluloses // *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* – 2010. – V. 64. – P. 25-116.
90. Rahman M.S., Hasan M.S., Nitai A.S., Nam S., Karmakar A.K., Ahsan M.S., Shiddiky M.J.A., Ahmed M.B. Recent developments of carboxymethyl cellulose // *Polym. J.* – 2021. – V. 13, No. 8. – P. 1345.
91. Wagner A.M., Knipe J.M., Orive G., Peppas N.A. Quantum dots in biomedical applications // *Acta Biomater.* – 2019. – V. 94. – P. 44-63.
92. Bera D., Qian L., Tseng T.K., Holloway P.H. Quantum dots and their multimodal applications: a review // *Materials* – 2010. – V. 3, No. 4. – P. 2260-2345.
93. Coe-Sullivan S., Liu W., Allen P., Steckel J.S. Quantum dots for LED downconversion in display applications // *ECS J. Solid State Sci. Technol.* – 2013. – V. 2, No. 2. – P. R3026-R3030.
94. Badawy W.A. A review on solar cells from Si-single crystals to porous materials and quantum dots // *J. Adv. Res.* – 2015. – V. 6, No. 2. – P. 123-132.
95. Zhou J., Yang Y., Zhang C.Y. Toward biocompatible semiconductor quantum dots: from biosynthesis and bioconjugation to biomedical application // *Chem. Rev.* – 2015. – V. 115, No. 21. – P. 11669-11717.
96. Caires A.J., Mansur A.A.P., Carvalho I.C., Carvalho S.M., Mansur H.S. Green synthesis of ZnS quantum dot/biopolymer photoluminescent nanoprobe for bioimaging brain cancer cells // *Mater. Chem. Phys.* – 2020. – V. 244. – P. 122716.
97. Shen L. Biocompatible polymer/quantum dots hybrid materials: current status and future developments // *J. Funct. Biomater.* – 2011. – V. 2, No. 4. – P. 355-372.
98. Bardajee G.R., Hooshyar Z. Optical properties of water soluble CdSe quantum dots modified by a novel biopolymer based on sodium alginate // *Spectrochim. Acta, Part A* – 2013. – V. 114. – P. 622-626.

99. Chen L., Liu Y., Lai C., Berry R.M., Tam K.C. Aqueous synthesis and biostabilization of CdS@ZnS quantum dots for bioimaging applications // *Mater. Res. Express* – 2015. – V. 2, No. 10. – P. 105401.
100. Wang C.H., Hsu Y.S., Peng C.A. Quantum dots encapsulated with amphiphilic alginate as bioprobe for fast screening anti-dengue virus agents // *Biosens. Bioelectron.* – 2008. – V. 24, No. 4. – P. 1012-1019.
101. Khatun Z., Nurunnabi M., Cho K.J., Lee Y.K. Oral delivery of near-infrared quantum dot loaded micelles for noninvasive biomedical imaging // *ACS Appl. Mater. Interfaces* – 2012. – V. 4, No. 8. – P. 3880-3887.
102. Khatun Z., Nurunnabi M., Lee D.Y., Kim Y.J., Byun Y., Cho K.J., Lee Y.K. Optical imaging, biodistribution and toxicity of orally administered quantum dots loaded heparin-deoxycholic acid // *Macromol. Res.* – 2015. – V. 23, No. 7. – P. 686-695.
103. Deng D., Chen Y., Cao J., Tian J., Qian Z., Achilefu S., Gu Y. High-quality CuInS₂/ZnS quantum dots for *in vitro* and *in vivo* bioimaging // *Chem. Mater.* – 2012. – V. 24, No. 15. – P. 3029-3037.
104. Deng D., Qu L., Zhang J., Ma Y., Gu Y. Quaternary Zn-Ag-In Se quantum dots for biomedical optical imaging of RGD-modified micelles // *ACS Appl. Mater. Interfaces* – 2013. – V. 5, No. 21. – P. 10858-10865.
105. Wang J., Deng T., Deng D.W., Zhang R., Gu Y.Q., Zha X.M. Quaternary alloy quantum dots with widely tunable emission - a versatile system to fabricate dual-emission nanocomposites for bio-imaging // *RSC Adv.* – 2016. – V. 6, No. 59. – P. 53760-53767.
106. Zhao M., Chen Y., Han R., Luo D., Du L., Zheng Q., Wang L., Hong Y., Liu Y., Sha Y. A facile synthesis of biocompatible, glycol chitosan shelled CdSeS/ZnS QDs for live cell imaging // *Colloids Surf. B* – 2018. – V. 172. – P. 752-759.
107. Fei X., Yu M., Zhang B., Cao L., Yu L., Jia G., Zhou J. The fluorescent interactions between amphiphilic chitosan derivatives and water-soluble quantum dots // *Spectrochim. Acta, Part A* – 2016. – V. 152. – P. 343-351.
108. Tan W.B., Zhang Y. Surface modification of gold and quantum dot nanoparticles with chitosan for bioapplications // *J. Biomed. Mater. Res. A* – 2005. – V. 75a, No. 1. – P. 56-62.
109. Tan W.B., Jiang S., Zhang Y. Quantum-dot based nanoparticles for targeted silencing of HER2/neu gene via RNA interference // *Biomaterials* – 2007. – V. 28, No. 8. – P. 1565-1571.
110. Ghormade V., Gholap H., Kale S., Kulkarni V., Bhat S., Paknikar K. Fluorescent cadmium telluride quantum dots embedded chitosan nanoparticles: a stable, biocompatible preparation for bio-imaging // *J. Biomater. Sci., Polym. Ed.* – 2015. – V. 26, No. 1. – P. 42-56.

111. Wang C.X., Wang L.X., Yang W.L. Preparation and characterization of functional inorganic/organic composite microspheres via electrostatic interaction // *J. Colloid Interface Sci.* – 2009. – V. 333, No. 2. – P. 749-756.
112. Dogan U., Kasap E., Cetin D., Suludere Z., Boyaci I.H., Turkyilmaz C., Ertas N., Tamer U. Rapid detection of bacteria based on homogenous immunoassay using chitosan modified quantum dots // *Sens. Actuators, B* – 2016. – V. 233. – P. 369-378.
113. Bwatanglang I.B., Mohammad F., Yusof N.A., Abdullah J., Hussein M.Z., Alitheen N.B., Abu N. Folic acid targeted Mn:ZnS quantum dots for theranostic applications of cancer cell imaging and therapy // *Int. J. Nanomedicine* – 2016. – V. 11. – P. 413-428.
114. Bwatanglang I.B., Mohammad F., Yusof N.A., Mohammed N.E., Abu N., Alitheen N.B., Abdullah J., Hussein M.Z., Abba Y., Nordin N., Zamberi N.R. Histological analysis of anti-cancer drug loaded, targeted Mn:ZnS quantum dots in metastatic lesions of 4T1 challenged mice // *J. Mater. Sci. Mater. Med.* – 2017. – V. 28, No. 9. – P. 138.
115. Bhang S.H., Won N., Lee T.J., Jin H., Nam J., Park J., Chung H., Park H.S., Sung Y.E., Hahn S.K., Kim B.S., Kim S. Hyaluronic acid-quantum dot conjugates for *in vivo* lymphatic vessel imaging // *ACS Nano* – 2009. – V. 3, No. 6. – P. 1389-1398.
116. Cui M., Xin Y., Song R., Sun Q., Wang X., Lu D. Fluorescence sensor for bovine serum albumin detection based on the aggregation and release of CdS QDs within CMC // *Cellulose* – 2020. – V. 27. – P. 1621–1633.
117. Zhao Q., Rong X., Chen L., Ma H., Tao G. Layer-by-layer self-assembly xylenol orange functionalized CdSe/CdS quantum dots as a turn-on fluorescence lead ion sensor // *Talanta* – 2013. – V. 114. – P. 110-116.
118. Ma Q., Lin Z.H., Yang N., Li Y., Su X.G. A novel carboxymethyl chitosan-quantum dot-based intracellular probe for Zn²⁺ ion sensing in prostate cancer cells // *Acta Biomater.* – 2014. – V. 10, No. 2. – P. 868-874.
119. Song Y., Li Y., Liu Z., Liu L., Wang X., Su X., Ma Q. A novel ultrasensitive carboxymethyl chitosan-quantum dot-based fluorescence "turn on-off" nanosensor for lysozyme detection // *Biosens. Bioelectron.* – 2014. – V. 61. – P. 9-13.
120. Koktysh D., Bright V., Pham W. Fluorescent magnetic hybrid nanoprobe for multimodal bioimaging // *Nanotechnology* – 2011. – V. 22, No. 27. – P. 275606.
121. Li Z., Dergham A., McCulloch H., Qin Y., Yang X., Zhang J., Cao X. Facile synthesis of Gd-doped CdTe quantum dots with optimized properties for optical/MR multimodal imaging // *J. Biol. Inorg. Chem.* – 2017. – V. 22, No. 8. – P. 1151-1163.

122. Kim E.M., Lim S.T., Sohn M.H., Jeong H.J. Facile synthesis of near-infrared CuInS₂/ZnS quantum dots and glycol-chitosan coating for *in vivo* imaging // J. Nanopart. Res. – 2017. – V. 19, No. 7. – P. 251.
123. Lai P.Y., Huang C.C., Chou T.H., Ou K.L., Chang J.Y. Aqueous synthesis of Ag and Mn co-doped In₂S₃/ZnS quantum dots with tunable emission for dual-modal targeted imaging // Acta Biomater. – 2017. – V. 50. – P. 522-533.
124. Varghese R.J., Parani S., Remya V.R., Maluleke R., Thomas S., Oluwafemi O.S. Sodium alginate passivated CuInS₂/ZnS QDs encapsulated in the mesoporous channels of amine modified SBA 15 with excellent photostability and biocompatibility // Int. J. Biol. Macromol. – 2020. – V. 161. – P. 1470-1474.
125. Baruah S., Warad H.C., Chindaduang A., Tumcharern G., Dutta J. Studies on chitosan stabilised ZnS:Mn²⁺ nanoparticles // J. Bionanoscience – 2008. – V. 2, No. 1. – P. 42-48.
126. Liu C., Liu Y., Deng H., Tang S., Cao Y.C. High quantum yield and well-dispersed quantum dots luminescent composite through sodium carboxymethyl starch // Luminescence – 2019. – V. 34, No. 2. – P. 200-204.
127. Arunan R., Joseph P., Sivakumar M., Daniel S.C.G.K. One pot aqueous synthesis of L-histidine amino acid capped Mn: ZnS quantum dots for dopamine sensing // Curr. Nanosci. – 2020. – V. 16, No. 1. – P. 71-78.
128. Ha P.T., Le T.T.H., Ung T.D.T., Do H.D., Doan B.T., Mai T.T.T., Pham H.N., Hoang T.M.N., Phan K.S., Bui T.Q. Properties and bioeffects of magneto-near infrared nanoparticles on cancer diagnosis and treatment // New J. Chem. – 2020. – V. 44, No. 40. – P. 17277-17288.
129. He Z., Zhu H., Zhou P. Microwave-assisted aqueous synthesis of highly luminescent carboxymethyl chitosan-coated CdTe/CdS quantum dots as fluorescent probe for live cell imaging // J. Fluoresc. – 2012. – V. 22, No. 1. – P. 193-199.
130. He Z., Zhou P., Zhu H. Study of the interactivity between mercury and cellular system labeled with carboxymethyl chitosan-coated quantum dots and its application in a real-time *in-situ* detection of mercury // Spectrochim. Acta, Part A – 2015. – V. 139. – P. 179-183.
131. Tang C.R., Su Z.H., Lin B.G., Huang H.W., Zeng Y.L., Li S.A., Huang H., Wang Y.J., Li C.X., Shen G.L., Yu R.Q. A novel method for iodate determination using cadmium sulfide quantum dots as fluorescence probes // Anal. Chim. Acta – 2010. – V. 678, No. 2. – P. 203-207.
132. Hooshyar Z., Bardajee G.R. Fluorescence enhancement of glutathione capped CdTe/ZnS quantum dots by embedding into cationic starch for sensitive detection of rifampicin // Spectrochim. Acta, Part A – 2017. – V. 173. – P. 144-150.
133. Bardajee G.R., Hooshyar Z., Soleyman R. Nanocomposites of sodium alginate biopolymer and CdTe/ZnS quantum dots for fluorescent determination of amantadine // J. Polym. Res. – 2017. – V. 24, No. 8. – P. 128.

134. Bardajee G.R., Sharifi M., Mahmoodian H. Novel CMC-CdTe/ZnS QDs nanosensor for the detection of anticancer drug Epirubicin // *J. Fluoresc.* – 2021. – V. 31, No. 3. – P. 651-658.
135. Bardajee G.R., Zamani M., Sharifi M., Mahmoodian H. Preparation of novel fluorescence nanosensor κ C - CdTe/ZnS quantum dots for high accurate detection of Epirubicin // *Mater. Today Commun.* – 2021. – V. 26. – P. 101874.
136. Wilson R., Spiller D.G., Beckett A., Prior I.A., See V. Highly stable dextran-coated quantum dots for biomolecular detection and cellular imaging // *Chem. Mater.* – 2010. – V. 22, No. 23. – P. 6361-6369.
137. Bardajee G.R., Mizani F., Rostami I., Hooshyar Z., Minabian F.M. The surface modification of CdSe-TGA quantum dots with multidentate biopolymer ligand based on salep: an easy route for enhancing fluorescence intensity // *Nano* – 2013. – V. 8, No. 2. – P. 1350012.
138. Bardajee G.R., Hooshyar Z., Jafarpour F. Antibacterial and optical properties of a new water soluble CdSe quantum dots coated by multidentate biopolymer // *J. Photochem. Photobiol. A* – 2013. – V. 252. – P. 46-52.
139. Bardajee G.R., Hooshyar Z. CdTe quantum dots embedded in multidentate biopolymer based on salep: characterization and optical properties // *J. Chem.* – 2013. – V. 2013. – P. 202061.
140. Bardajee G.R., Hooshyar Z., Mizani F. Improving optical properties of CdTe quantum dots by a new multidentate biopolymer based on salep // *Mater. Sci. Semicond. Process.* – 2014. – V. 19. – P. 89-94.
141. Bardajee G.R., Hooshyar Z. Synthesis and fluorescent properties investigation of CdSe quantum dots embedded in a biopolymer based on poly((2-dimethylaminoethyl) methacrylate) grafted onto κ -Carrageenan // *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* – 2011. – V. 387, No. 1-3. – P. 92-98.
142. Bardajee G.R., Hooshyar Z., Norouzi S., Moallem S.A. Preparation and characterization of water-soluble and highly fluorescent biopolymer-conjugated CdS quantum dots // *Curr. Nanosci.* – 2012. – V. 8, No. 3. – P. 361-366.
143. Bardajee G.R., Hooshyar Z. Highly fluorescent water-soluble CdTe quantum dots: coating by a natural biopolymer based on kappa-carrageenan in water // *Micro Nano Lett.* – 2012. – V. 7, No. 7. – P. 667-670.
144. Bardajee G.R., Hooshyar Z., Rostami. Hydrophilic alginate based multidentate biopolymers for surface modification of CdS quantum dots // *Colloids Surf. B* – 2011. – V. 88, No. 1. – P. 202-207.
145. Elmizadeh H., Soleimani M., Faridbod F., Bardajee G.R. Fabrication and optimization of a sensitive tetracycline fluorescent nanosensor based on oxidized starch polysaccharide biopolymer-capped CdTe/ZnS quantum dots: Box-Behnken design // *J. Photochem. Photobiol. A* – 2018. – V. 367. – P. 188-199.

146. Bardajee G.R., Hooshyar Z. Probing the interaction of a new synthesized CdTe quantum dots with human serum albumin and bovine serum albumin by spectroscopic methods // *Mater. Sci. Eng. C* – 2016. – V. 62. – P. 806-815.
147. Bardajee G.R., Hooshyar Z., Rezanezhad H., Guerin G. Optical properties of water-soluble CdTe quantum dots passivated by a biopolymer based on poly((2-dimethylaminoethyl) methacrylate) grafted onto κ -carrageenan // *ACS Appl. Mater. Interfaces* – 2012. – V. 4, No. 7. – P. 3517-3525.
148. Rajendiran K., Zhao Z., Pei D.S., Fu A. Antimicrobial activity and mechanism of functionalized quantum dots // *Polym. J.* – 2019. – V. 11, No. 10. – P. 1670.
149. Lu Z.S., Li C.M., Bao H.F., Qiao Y., Toh Y.H., Yang X. Mechanism of antimicrobial activity of CdTe quantum dots // *Langmuir* – 2008. – V. 24, No. 10. – P. 5445-5452.
150. Hassan M.L., Fadel S.M., Moorefield C., Newkome G.R. Dendronized cellulose nanocrystals as templates for preparation of ZnS and CdS quantum dots // *J. Macromol. Sci.* – 2014. – V. 51, No. 9. – P. 743-749.
151. Singh A., Guleria A., Kunwar A., Neogy S., Rath M.C. Saccharide capped CdSe quantum dots grown *via* electron beam irradiation // *Mater. Chem. Phys.* – 2017. – V. 199. – P. 609-615.
152. Mansur A.A.P., Mansur H.S. Quantum dot/glycol chitosan fluorescent nanoconjugates // *Nanoscale Res. Lett.* – 2015. – V. 10. – P. 172.
153. Abdelhamid H.N., Wu H.F. Synthesis and multifunctional applications of quantum nanobeads for label-free and selective metal chemosensing // *RSC Adv.* – 2015. – V. 5, No. 62. – P. 50494-50504.
154. Ahmed K.B.A., Pichikannu A., Veerappan A. Fluorescence cadmium sulfide nanosensor for selective recognition of chromium ions in aqueous solution at wide pH range // *Sens. Actuators, B* – 2015. – V. 221. – P. 1055-1061.
155. Tawfik S.M., Huy B.T., Sharipov M., Abd-Elaal A., Lee Y.I. Enhanced fluorescence of CdTe quantum dots capped with a novel nonionic alginate for selective optosensing of ibuprofen // *Sens. Actuators, B* – 2018. – V. 256. – P. 243-250.
156. Carvalho S.M., Mansur A.A.P., Carvalho I.C., Costa E.A., Guedes M.I.M.C., Kroon E.G., Lobato Z.I.P., Mansur H.S. Fluorescent quantum dots-zika virus hybrid nanoconjugates for biolabeling, bioimaging, and tracking host-cell interactions // *Mater. Lett.* – 2020. – V. 277. – P. 128279.
157. Abdelhamid H.N., Wu H.F. Selective biosensing of *Staphylococcus aureus* using chitosan quantum dots // *Spectrochim. Acta, Part A* – 2018. – V. 188. – P. 50-56.
158. Bratskaya S., Sergeeva K., Konovalova M., Modin E., Svirshchevskaya E., Sergeev A., Mironenko A., Pestov A. Ligand-assisted synthesis and cytotoxicity of ZnSe quantum dots stabilized by N-(2-carboxyethyl)chitosans // *Colloids Surf. B* – 2019. – V. 182. – P. 110342.

159. Mathew M.E., Mohan J.C., Manzoor K., Nair S.V., Tamura H., Jayakumar R. Folate conjugated carboxymethyl chitosan-manganese doped zinc sulphide nanoparticles for targeted drug delivery and imaging of cancer cells // *Carbohydr. Polym.* – 2010. – V. 80, No. 2. – P. 442-448.
160. Begum R., Sahoo A.K., Ghosh S.S., Chattopadhyay A. Recovering hidden quanta of Cu²⁺-doped ZnS quantum dots in reductive environment // *Nanoscale* – 2014. – V. 6, No. 2. – P. 953-961.
161. Mansur H.S., Mansur A.A.P., Soriano-Araujo A., Lobato Z.I.P., de Carvalho S.M., Leite M.D. Water-soluble nanoconjugates of quantum dot-chitosan-antibody for *in vitro* detection of cancer cells based on "enzyme-free" fluoroimmunoassay // *Mater. Sci. Eng. C* – 2015. – V. 52. – P. 61-71.
162. Borgohain R., Boruah P.K., Baruah S. Heavy-metal ion sensor using chitosan capped ZnS quantum dots // *Sens. Actuators, B* – 2016. – V. 226. – P. 534-539.
163. Lai S.J., Chang X.J., Fu C. Cadmium sulfide quantum dots modified by chitosan as fluorescence probe for copper (II) ion determination // *Microchim. Acta* – 2009. – V. 165. – P. 39-44.
164. Singh A., Guleria A., Neogy S., Rath M.C. UV induced synthesis of starch capped CdSe quantum dots: Functionalization with thiourea and application in sensing heavy metals ions in aqueous solution // *Arab. J. Chem.* – 2020. – V. 13, No. 1. – P. 3149-3158.
165. Cao X., Shen F., Zhang M., Bie J., Liu X., Luo Y., Guo J., Sun C. Facile synthesis of chitosan-capped ZnS quantum dots as an eco-friendly fluorescence sensor for rapid determination of bisphenol A in water and plastic samples // *RSC Adv.* – 2014. – V. 4, No. 32. – P. 16597-16606.
166. Wang X., Du Y., Li Y., Li D., Sun R. Fluorescent identification and detection of *Staphylococcus aureus* with carboxymethyl chitosan/CdS quantum dots bioconjugates // *J. Biomater. Sci., Polym. Ed.* – 2011. – V. 22, No. 14. – P. 1881-1893.
167. Baruah S., Ortinero C., Shipin O.V., Dutta J. Manganese doped zinc sulfide quantum dots for detection of *Escherichia coli* // *J. Fluoresc.* – 2012. – V. 22, No. 1. – P. 403-408.
168. Abdelhamid H.N., Wu H.F. Probing the interactions of chitosan capped CdS quantum dots with pathogenic bacteria and their biosensing application // *J. Mater. Chem. B* – 2013. – V. 1, No. 44. – P. 6094-6106.
169. de Carvalho S.M., Mansur A.A.P., Mansur H.S., Guedes M.I.M.C., Lobato Z.I.P., Leite M.F. *In vitro* and *in vivo* assessment of nanotoxicity of CdS quantum dot/aminopolysaccharide bionanoconjugates // *Mater. Sci. Eng. C* – 2017. – V. 71. – P. 412-424.
170. Gaynanova G.A., Bekmukhametova A.M., Kashapov R.R., Pavlov R.V., Vasilieva E.A., Lenina O.A., Nizameev I.R., Kadirov M.K., Ziganshin A.Y., Petrov K.A., Zakharova L.Y. The synthesis of CdSe quantum dots stabilized by polymers and polyelectrolyte capsules // *Surf. Innov.* – 2020. – V. 8, No. 1-2. – P. 38-45.
171. Jiang Z.C., Zhao C.B., Liu X.H. Synthesis of poly(ethylene glycol)-graft-chitosan and using as ligand for fabrication of water-soluble quantum dots // *Colloids Surf. B* – 2014. – V. 115. – P. 260-266.

172. Mansur A.A.P., de Carvalho F.G., Mansur R.L., Carvalho S.M., De Oliveira L.C., Mansur H.S. Carboxymethylcellulose/ZnCdS fluorescent quantum dot nanoconjugates for cancer cell bioimaging // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2017. – V. 96. – P. 675-686.
173. Mansur A.A.P., Caires A.J., Carvalho S.M., Capanema N.S.V., Carvalho I.C., Mansur H.S. Dual-functional supramolecular nanohybrids of quantum dot/biopolymer/chemotherapeutic drug for bioimaging and killing brain cancer cells *in vitro* // *Colloids Surf. B* – 2019. – V. 184. – P. 110507.
174. Mansur A.A.P., Mansur H.S., Soriano-Araujo A., Lobato Z.I.P. Fluorescent nanohybrids based on quantum dot-chitosan-antibody as potential cancer biomarkers // *ACS Appl. Mater. Interfaces* – 2014. – V. 6, No. 14. – P. 11403-11412.
175. Carvalho I.C., Mansur A.A.P., Carvalho S.M., Florentino R.M., Mansur H.S. L-cysteine and poly-L-arginine grafted carboxymethyl cellulose/Ag-In-S quantum dot fluorescent nanohybrids for *in vitro* bioimaging of brain cancer cells // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2019. – V. 133. – P. 739-753.
176. Carvalho I.C., Mansur H.S., Mansur A.A.P., Carvalho S.M., de Oliveira L.C.A., Leite M.D. Luminescent switch of polysaccharide-peptide-quantum dot nanostructures for targeted-intracellular imaging of glioblastoma cells // *J. Mol. Liq.* – 2020. – V. 304. – P. 112759.
177. Abdelhamid H.N., El-Bery H.M., Metwally A.A., Elshazly M., Hathout R.M. Synthesis of CdS-modified chitosan quantum dots for the drug delivery of Sesamol // *Carbohydr. Polym.* – 2019. – V. 214. – P. 90-99.
178. Liu L., Xiao L. Studies of the interaction of CS@ZnS:Mn with bovine serum albumin under illumination // *Appl. Surf. Sci.* – 2015. – V. 349. – P. 83-88.
179. Sun J., Guo Y., Zhu L., Yang L., Shi W., Wang K., Zhang H. Photodynamic therapy of human hepatoma using semiconductor quantum dots as sole photosensitizer // *Part. Part. Syst. Charact.* – 2017. – V. 34, No. 10. – P. 1600413.
180. Reddy K.L., Balaji R., Kumar A., Krishnan V. Lanthanide doped near infrared active upconversion nanophosphors: fundamental concepts, synthesis strategies, and technological applications // *Small* – 2018. – V. 14, No. 37. – P. 1801304.
181. Wu X., Chen G., Shen J., Li Z., Zhang Y., Han G. Upconversion nanoparticles: a versatile solution to multiscale biological imaging // *Bioconjugate Chem.* – 2015. – V. 26, No. 2. – P. 166-175.
182. Wu Y., Chan S.Y., Xu J., Liu X. Multiphoton upconversion materials for photocatalysis and environmental remediation // *Chem. Asian J.* – 2021. – V. 16, No. 18. – P. 2596-2609.
183. Wang Z., Li X., Song Y., Li L., Shi W., Ma H. An upconversion luminescence nanoprobe for the ultrasensitive detection of hyaluronidase // *Anal. Chem.* – 2015. – V. 87, No. 11. – P. 5816-5823.
184. Sun L.N., Peng H., Stich M.I.J., Achatz D., Wolfbeis O.S. pH sensor based on upconverting luminescent lanthanide nanorods // *Chem. Commun.* – 2009. No. 33. – P. 5000-5002.

185. Han S., Beack S., Jeong S., Hwang B.W., Shin M.H., Kim H., Kim S., Hahn S.K. Hyaluronate modified upconversion nanoparticles for near infrared light-triggered on-off tattoo systems // *RSC Adv.* – 2017. – V. 7, No. 24. – P. 14805-14808.
186. Zhou A., Wei Y., Wu B., Chen Q., Xing D. Pyropheophorbide A and c(RGDyK) comodified chitosan-wrapped upconversion nanoparticle for targeted near-infrared photodynamic therapy // *Mol. Pharm.* – 2012. – V. 9, No. 6. – P. 1580-1589.
187. Han J., Xia H., Wu Y., Kong S.N., Deivasigamani A., Xu R., Hui K.M., Kang Y. Single-layer MoS₂ nanosheet grafted upconversion nanoparticles for near-infrared fluorescence imaging-guided deep tissue cancer phototherapy // *Nanoscale* – 2016. – V. 8, No. 15. – P. 7861-7865.
188. Bogdan N., Rodriguez E.M., Sanz-Rodriguez F., de la Cruz M.C.I., Juarranz A., Jaque D., Sole J.G., Capobianco J.A. Bio-functionalization of ligand-free upconverting lanthanide doped nanoparticles for bio-imaging and cell targeting // *Nanoscale* – 2012. – V. 4, No. 12. – P. 3647-3650.
189. Tawfik S.M., Sharipov M., Huy B.T., Gerelkhuu Z., Biechele-Speziale D., Lee Y.I. Naturally modified nonionic alginate functionalized upconversion nanoparticles for the highly efficient targeted pH-responsive drug delivery and enhancement of NIR-imaging // *J. Ind. Eng. Chem.* – 2018. – V. 57. – P. 424-435.
190. Topel S.D., Balcioglu S., Ates B., Asilturk M., Topel O., Ericson M.B. Cellulose acetate encapsulated upconversion nanoparticles - a novel theranostic platform // *Mater. Today Commun.* – 2021. – V. 26. – P. 101829.
191. Cui S., Yin D., Chen Y., Di Y., Chen H., Ma Y., Achilefu S., Gu Y. *In vivo* targeted deep-tissue photodynamic therapy based on near-infrared light triggered upconversion nanoconstruct // *ACS Nano* – 2013. – V. 7, No. 1. – P. 676-688.
192. Cui S., Chen H., Zhu H., Tian J., Chi X., Qian Z., Achilefu S., Gu Y. Amphiphilic chitosan modified upconversion nanoparticles for *in vivo* photodynamic therapy induced by near-infrared light // *J. Mater. Chem.* – 2012. – V. 22, No. 11. – P. 4861-4873.
193. Tan L., Huang R., Li X., Liu S., Shen Y.M. Controllable release of nitric oxide and doxorubicin from engineered nanospheres for synergistic tumor therapy // *Acta Biomater.* – 2017. – V. 57. – P. 498-510.
194. Li S., Cui S., Yin D., Zhu Q., Ma Y., Qian Z., Gu Y. Dual antibacterial activities of a chitosan-modified upconversion photodynamic therapy system against drug-resistant bacteria in deep tissue // *Nanoscale* – 2017. – V. 9, No. 11. – P. 3912-3924.
195. Zhou A., Wei Y., Chen Q., Xing D. *In vivo* near-infrared photodynamic therapy based on targeted upconversion nanoparticles // *J. Biomed. Nanotech.* – 2015. – V. 11, No. 11. – P. 2003-2010.
196. Wei Y., Chen Q., Wu B., Xing D. Excitation-selectable nanoprobe for tumor fluorescence imaging and near-infrared thermal therapy // *J. Biomed. Nanotech.* – 2016. – V. 12, No. 1. – P. 91-102.

197. Chen Q., Wang X., Chen F., Zhang Q., Dong B., Yang H., Liu G., Zhu Y. Functionalization of upconverted luminescent NaYF₄: Yb/Er nanocrystals by folic acid-chitosan conjugates for targeted lung cancer cell imaging // *J. Mater. Chem.* – 2011. – V. 21. – P. 7661-7667.
198. Chen Z., Liu Z., Li Z., Ju E., Gao N., Zhou L., Ren J., Qu X. Upconversion nanoprobe for efficiently *in vitro* imaging reactive oxygen species and *in vivo* diagnosing rheumatoid arthritis // *Biomaterials* – 2015. – V. 39. – P. 15-22.
199. Cao C., Hong C., Li Y., Li G., Jiang G. A Long-term and stable surface modification method for lanthanide doped upconversion nanoparticles by oxidized alginate // *Z. Anorg. Allg. Chem.* – 2020. – V. 646, No. 19. – P. 1607-1610.
200. Xia A., Zhang X., Zhang J., Deng Y., Chen Q., Wu S., Huang X., Shen J. Enhanced dual contrast agent, Co²⁺-doped NaYF₄:Yb³⁺,Tm³⁺ nanorods, for near infrared-to-near infrared upconversion luminescence and magnetic resonance imaging // *Biomaterials* – 2014. – V. 35, No. 33. – P. 9167-9176.
201. Mrazek J., Kettou S., Matuska V., Svozil V., Huerta-Angeles G., Pospisilova M., Nesporova K., Velebny V. Photo-crosslinked hyaluronic acid coated upconverting nanoparticles // *J. Nanopart. Res.* – 2017. – V. 19, No. 2. – P. 44.
202. Li H., Wang L.Y. Preparation and upconversion luminescence cell imaging of *O*-carboxymethyl chitosan-functionalized NaYF₄:Yb³⁺/Tm³⁺/Er³⁺ nanoparticles // *Sci. Bull.* – 2013. – V. 58, No. 33. – P. 4051-4056.
203. Wang X., Chen J.T., Zhu H., Chen X., Yan X.P. One-step solvothermal synthesis of targetable optomagnetic upconversion nanoparticles for *in vivo* bimodal imaging // *Anal. Chem.* – 2013. – V. 85, No. 21. – P. 10225-10231.
204. Kirakci K., Fejfarova K., Kucerakova M., Lang K. Hexamolybdenum cluster complexes with pyrene and anthracene carboxylates: ultrabright red emitters with the antenna effect // *Eur. J. Inorg. Chem.* – 2014. – V. 2014, No. 14. – P. 2331-2336.
205. Ye Y., Ren H., Zhu S., Tan H., Li X., Li D., Mu C. Synthesis of oxidized β-cyclodextrin with high aqueous solubility and broad-spectrum antimicrobial activity // *Carbohydr. Polym.* – 2017. – V. 177. – P. 97-104.
206. Johnson R. M., Siddiqi I. W., *The determination of organic peroxides* // in monographs in organic functional group analysis, Pergamon, 1970, pp. 15–28.
207. Usov D., Sukhorukov G.B. Dextran coatings for aggregation control of layer-by-layer assembled polyelectrolyte Microcapsules // *Langmuir* – 2010. – V. 26, No. 15. – P. 12575-12584.
208. Svezhentseva E.V., Vorotnikov Y.A., Solovieva A.O., Pozmogova T.N., Eltsov I.V., Ivanov A.A., Evtushok D.V., Miroshnichenko S.M., Yanshole V.V., Eling C.J., Adawi A.M., Bouillard J.S.G., Kuratieva N.V., Fufaeva M.S., Shestopalova L.V., Mironov Y.V., Efremova O.A., Shestopalov M.A.

- From photoinduced to dark cytotoxicity through an octahedral cluster hydrolysis // *Chem. Eur. J.* – 2018. – V. 24, No. 68. – P. 17915-17920.
209. Pronina E.V., Vorotnikov Y.A., Pozmogova T.N., Solovieva A.O., Miroshnichenko S.M., Plyusnin P.E., Pishchur D.P., Eltsov I.V., Edeleva M.V., Shestopalov M.A., Efremova O.A. No catalyst added hydrogen peroxide oxidation of dextran: an environmentally friendly route to multifunctional polymers // *ACS Sustain. Chem. Eng.* – 2020. – V. 8, No. 13. – P. 5371-5379.
210. Pronina E.V., Pozmogova T.N., Vorotnikov Y.A., Ivanov A.A., Shestopalov M.A. The role of hydrolysis in biological effects of molybdenum cluster with DMSO ligands // *J. Biol. Inorg. Chem.* – 2022. – V. 27, No. 1. – P. 111-119.
211. Journal of the Less Common Metals Mitchell P.C.H. The chemistry and uses of molybdenum: introductory lecture // *J. Less Common Met.* – 1974. – V. 36, No. 1-2. – P. 3-11.
212. Szczepura L.F., Ketcham K.A., Ooro B.A., Edwards J.A., Templeton J.N., Cedeno D.L., Jircitano A.J. Synthesis and study of hexanuclear molybdenum clusters containing thiolate ligands // *Inorg. Chem.* – 2008. – V. 47, No. 16. – P. 7271-7278.
213. Schoonover J.R., Zietlow T.C., Clark D.L., Heppert J.A., Chisholm M.H., Gray H.B., Sattelberger A.P., Woodruff W.H. Resonance Raman spectra of $[M_6X_8Y_6]^{2-}$ cluster complexes (M = Mo, W; X, Y = Cl, Br, I) // *Inorg. Chem.* – 1996. – V. 35, No. 22. – P. 6606-6613.
214. Sokolov M.N., Mikhailov M.A., Virovets A.V., Brylev K.A., Bredikhin R.A., Maksimov A.M., Platonov V.E., Fedin V.P. Synthesis, structure, and luminescence of the octahedral molybdenum cluster $[Mo_6I_8(SC_6F_4H)_6]^{2-}$ // *Russ. Chem. Bull.* – 2013. – V. 62, No. 8. – P. 1764-1767.
215. Mironova A.D., Mikhaylov M.A., Maksimov A.M., Brylev K.A., Gushchin A.L., Stass D.V., Novikov A.S., Eltsov I.V., Abramov P.A., Sokolov M.N. Phosphorescent complexes of $\{Mo_6I_8\}^{4+}$ and $\{W_6I_8\}^{4+}$ with perfluorinated aryl thiolates featuring unusual molecular structures // *Eur. J. Inorg. Chem.* – 2022. – V. 2022, No. 7. – P. e202100890.
216. Petunin A.A., Evtushok D.V., Vorotnikova N.A., Kuratieva N.V., Vorotnikov Y.A., Shestopalov M.A. Hexasubstituted iodide tungsten cluster complexes with azide and isothiocyanate ligands // *Eur. J. Inorg. Chem.* – 2020. – V. 2020, No. 22. – P. 2177-2181.
217. Bergen L.A.H., Roos G., Proft F. From thiol to sulfonic acid: modeling the oxidation pathway of protein thiols by hydrogen peroxide // *J. Phys. Chem. A* – 2014. – V. 118, No. 31. – P. 6078-6084.
218. Schilter D. Thiol oxidation: a slippery slope // *Nat Rev Chem* – 2017. – V. 1, No. 2. – P.
219. Petzold H., Xu J., Sadler P.J. Metal and ligand control of sulfenate reactivity: arene ruthenium thiolato-mono-S-oxides // *Angew. Chem. Int. Ed.* – 2008. – V. 47, No. 16. – P. 3008-3011.
220. Silva M.R.E., Auvray T., Laramee-Milette B., Franco M.P., Braga A.A.C., Toma H.E., Hanan G.S. Unusual photooxidation of S-bonded mercaptopyrindine in a mixed ligand ruthenium(II) complex with terpyridine and bipyridine ligands // *Inorg. Chem.* – 2018. – V. 57, No. 9. – P. 4898-4905.

221. Sriskandakumar T., Petzold H., Bruijninx P.C.A., Habtemariam A., Sadler P.J., Kennepohl P. Influence of oxygenation on the reactivity of ruthenium-thiolato bonds in arene anticancer complexes: insights from XAS and DFT // *J. Amer. Chem. Soc.* – 2009. – V. 131, No. 37. – P. 13355-13361.
222. Mikhaylov M.A., Abramov P.A., Komarov V.Y., Sokolov M.N. Cluster aqua/hydroxocomplexes supporting extended hydrogen bonding networks. Preparation and structure of a unique series of cluster hydrates $[\text{Mo}_6\text{I}_8(\text{OH})_4(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ($n = 2, 12, 14$) // *Polyhedron* – 2017. – V. 122. – P. 241-246.
223. Vorotnikov Y.A., Efremova O.A., Novozhilov I.N., Yanshole V.V., Kuratieva N.V., Brylev K.A., Kitamura N., Mironov Y.V., Shestopalov M.A. Hexaazide octahedral molybdenum cluster complexes: synthesis, properties and the evidence of hydrolysis // *J. Mol. Struct.* – 2017. – V. 1134. – P. 237-243.
224. Diao T., White P., Guzei I., Stahl S.S. Characterization of DMSO coordination to palladium(II) in solution and insights into the aerobic oxidation catalyst, $\text{Pd}(\text{DMSO})_2(\text{TFA})_2$ // *Inorg. Chem.* – 2012. – V. 51, No. 21. – P. 11898-11909.
225. Marchuk M.V., Vorotnikova N.A., Vorotnikov Y.A., Kuratieva N.V., Stass D.V., Shestopalov M.A. Optical property trends in a family of $\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}$ aquahydroxo complexes // *Dalton Trans.* – 2021. – V. 50, No. 25. – P. 8794-8802.
226. Li J., Andrejic M., Mata R.A., Ryde U. A computational comparison of oxygen atom transfer catalyzed by dimethyl sulfoxide reductase with Mo and W // *Eur. J. Inorg. Chem.* – 2015. – V. 2015, No. 21. – P. 3580-3589.
227. Mikhailov M.A., Gushchin A.L., Gallyamov M.R., Virovets A.V., Sokolov M.N., Sheven D.G., Pervukhin V.V. Tosylate cluster complexes $(\text{Bu}_4\text{N})_2[\text{M}_6\text{I}_8(\text{O}_3\text{SC}_6\text{H}_4\text{CH}_3)_6]$ ($\text{M} = \text{Mo}, \text{W}$) // *Russ. J. Coord. Chem.* – 2017. – V. 43, No. 3. – P. 172-180.
228. Sung K.M., Holm R.H. Oxo transfer reactions mediated by bis(dithiolene)tungsten analogues of the active sites of molybdoenzymes in the DMSO reductase family: comparative reactivity of tungsten and molybdenum // *J. Amer. Chem. Soc.* – 2001. – V. 123, No. 9. – P. 1931-1943.
229. Pivovarov A.P. Decomposition of electron-excited molecules of molybdenum and tungsten phosphine hydride and phosphine nitrogen complexes // *Russ. Chem. Bull.* – 2008. – V. 57, No. 2. – P. 289-291.
230. Тоуб М., Берджесс Дж., *Механизмы неорганических реакций* // пер. с англ.—М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2012.
231. Marquez M., Du J., Edgren M., Nilsson S., Lennartsson L., Hiltunen J., Westlin J.E., Tammela T., Raitanen M., Laato M., Jonsson G., Holmberg A.R. Development of dextran derivatives with cytotoxic effects in human urinary bladder cancer cell lines // *Anticancer Res.* – 2002. – V. 22, No. 2a. – P. 741-744.

232. Maia J., Evangelista M. B., Gil H., Ferreira L., *Dextran-Based Materials for Biomedical Application* // in Carbohydrates Applications in Medicine; ed. Gil M. H., Research Signpost: Kerala, India, 2014, pp. 31–53.
233. Lanzkowsky, P. *Iron-Deficiency Anemia* // in Lanzkowsky's Manual of Pediatric Hematology and Oncology, 6th ed., eds. Lanzkowsky P., Lipton J. M., Fish J. D., Elsevier: United Kingdom, 2016, pp. 69–83.
234. Wong R.M., Gilbert D.A., Liu K., Louie A.Y. Rapid size-controlled synthesis of dextran-coated, ^{64}Cu -doped iron oxide nanoparticles // *ACS Nano* – 2012. – V. 6, No. 4. – P. 3461-3467.
235. Lee M., Lee H., Rao N.V., Han H.S., Jeon S., Jeon J., Lee S., Kwon S., Suh Y.D., Park J.H. Gold-stabilized carboxymethyl dextran nanoparticles for image-guided photodynamic therapy of cancer // *J. Mater. Chem. B* – 2017. – V. 5, No. 35. – P. 7319-7327.
236. Heinze T., Liebert T., Heublein B., Hornig S., *Functional Polymers Based on Dextran* // in Polysaccharides II; ed. Klemm, D., Springer: Berlin, 2006, pp. 199–291.
237. Harris J. M., Yalpani M., *Polymer-Ligands Used in Affinity Partitioning and Their Synthesis* // in Partitioning in Aqueous Two-Phase Systems: Theory, Methods, Uses, and Applications to Biotechnology; Walter, H.; eds. Brooks D. E., Fisher, D., Elsevier: USA, 1985, pp. 589–626.
238. Moody G.J. The action of hydrogen peroxide on carbohydrates and related compounds // *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* – 1964. – V. 19. – P. 149-179.
239. Ahrgren L., Belder A.N. Action of Fenton's reagent on dextran // *Starch* – 1975. – V. 27, No. 4. – P. 121-123.
240. Maia J., Carvalho R.A., Coelho J.F.J., Simoes P.N., Gil M.H. Insight on the periodate oxidation of dextran and its structural vicissitudes // *Polymer* – 2011. – V. 52, No. 2. – P. 258-265.
241. Larm O., Larsson K., Scholander E., Meyer B., Thiem J. Analysis of bromine-oxidized Dextran by ^{13}C -n.m.r. spectroscopy // *Carbohydr Res* – 1981. – V. 91, No. 1. – P. 13-20.
242. Goti A., Cardona F., *Hydrogen peroxide in green oxidation reactions: recent catalytic processes* // in Green chemical reactions. NATO science for peace and security series (series C: environmental security), eds. Tundo P., Esposito V., Springer Netherlands: Dordrecht, 2008, pp. 191–212.
243. Anastas P. T., Warner J. C., *Green chemistry: theory and practice* // Oxford University Press: New York, 1998.
244. Jefford C.W. Synthetic peroxides as potent antimalarials. News and views // *Curr. Top. Med. Chem.* – 2012. – V. 12, No. 5. – P. 373-399.
245. Dembitsky V.M. Bioactive peroxides as potential therapeutic agents // *Eur. J. Med. Chem.* – 2008. – V. 43, No. 2. – P. 223-251.
246. Levi I., E. L. Depolymerization of dextran by hydrogen peroxide // *Can. J. Biochem. Physiol.* – 1955. – V. 33, No. 3. – P. 448-452.

247. Purama R.K., Goswami P., Khan A.T., Goyal A. Structural analysis and properties of dextran produced by *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-640 // Carbohydr. Polym. – 2009. – V. 76, No. 1. – P. 30-35.
248. Swanson J., *Fluorescent Labeling of Endocytic Compartment* // in Methods in cell biology; eds. Wang Y.-L., Taylor D. L., Jeon K. W., Academic Press: San Diego, USA, 1988; Vol. 29, pp. 137–151.
249. Muller B., Vahrenkamp H. Zinc-aldehyde complexes with weakly coordinating anions // Eur. J. Inorg. Chem. – 1999. No. 1. – P. 117-127.
250. Nakamoto K., *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds: Part B: Applications in Coordination, Organometallic, and Bioinorganic Chemistry* // John Wiley & Sons: New York, 1997.

Благодарности

Автор выражает искреннюю благодарность научному руководителю д.х.н. Шестопалову Михаилу Александровичу за помощь в постановке цели и задач при выполнении работы и обсуждении полученных результатов, Центру коллективного пользования ИНХ СО РАН за проведение экспериментов по характеристике кластерных комплексов и материалов на их основе. Коллегам из ИНХ СО РАН: к.х.н. Троицкой Ирине Баязитовне за проведение CHNS анализа, к.х.н. Цыганковой Альфии Рафаэльевне за проведение элементного анализа АЭС-ИСП, к.х.н. Куратьевой Наталье Владимировне за проведение рентгеноструктурного анализа, Позмоговой Татьяне Николаевне за проведение биологических исследований, а также к.ф.-м.н. Яньшолу Вадиму Владимировичу (МТЦ СО РАН) за проведение масс-спектрометрических исследований, д. х. н. Еделева Марию Владимировну (НИОХ СО РАН) за проведение характеристики полимерных материалов методом гелипроникающей хроматографии и к.х.н. Ельцову Илье Владимировичу (НГУ) за запись и помощь в интерпретации ЯМР-спектров. Отдельная благодарность выражается к.х.н. Воротникову Юрию Андреевичу за неоценимую помощь в обсуждении результатов и поддержку на всех этапах выполнения работы.

Приложение

Т а б л и ц а П I.

Список полученных кластерных комплексов

№	Формула	Методы характеристики
(1)	$(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$	РСА, CHNS
	$\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$	ЭДС, ESI-MS, ЯМР, ИК
(2)	$(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{W}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$	РСА, CHNS
	$\text{Na}_2[\{\text{W}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$	ЭДС, ESI-MS, ЯМР, ИК
(3)	$(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{BnS})_6]$	РСА, CHNS
	$\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{BnS})_6]$	ЭДС, ESI-MS, ЯМР, ИК
(4)	$(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{W}_6\text{I}_8\}(\text{BnS})_6]$	CHNS
	$\text{Na}_2[\{\text{W}_6\text{I}_8\}(\text{BnS})_6]$	ЭДС, ESI-MS, ЯМР, ИК
(5)	$(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(4\text{-}^t\text{BuBnS})_6]$	РСА, CHNS
	$\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(4\text{-}^t\text{BuBnS})_6]$	ЭДС, ESI-MS, ЯМР, ИК
(6)	$(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{W}_6\text{I}_8\}(4\text{-}^t\text{BuBnS})_6]$	РСА, CHNS
	$\text{Na}_2[\{\text{W}_6\text{I}_8\}(4\text{-}^t\text{BuBnS})_6]$	ЭДС, ESI-MS, ЯМР, ИК
(7)	$[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_6](\text{NO}_3)_4$	РСА, РФА, CHNS, ЭДС, ESI-MS, ЯМР, ИК
(8)	$[\{\text{W}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_6](\text{NO}_3)_4$	РФА, CHNS, ЭДС, ESI-MS, ЯМР, ИК

Кластерные комплексы с тиолигандами

Т а б л и ц а П2.

Основные кристаллографические характеристики для комплексов молибдена с тиолигандами и детали рентгеноструктурного эксперимента

Параметр	1	3·(MeOH) _{0.75}	5·(Et ₂ O) ₂ (MeOH) ₂
Эмпирическая формула	C ₆₈ H ₁₀₂ I ₈ Mo ₆ N ₂ S ₆	C _{74.75} H ₁₁₇ I ₈ Mo ₆ N ₂ O _{0.75} S ₆	C ₁₀₈ H ₁₈₂ I ₈ Mo ₆ N ₂ O ₄ S ₆
Молекулярная масса	2730,72	2838,90	3355,75
Температура, К	150(2)	150(2)	150(2)
Сингония	Моноклинная	Триклинная	Триклинная
Пр,гр,	<i>P2₁/n</i>	<i>P-1</i>	<i>P-1</i>
<i>a</i> , Å	12,8570(4)	12,7748(17)	13,5055(5)
<i>b</i> , Å	25,9422(8)	16,252(2)	17,0282(6)
<i>c</i> , Å	12,8927(3)	23,570(3)	17,5409(7)
<i>α</i> , °		89,339(4)	103,6340(10)
<i>β</i> , °	96,9270(10)	88,706(4)	112,2870(10)
<i>γ</i> , °		88,729(4)	108,2910(10)
<i>V</i> , Å ³	4268,8(2)	4890,7(11)	3242,3(2)
<i>Z</i>	2	2	1
ρ _{выч} , г/см ³	2,124	1,928	1,719
μ, мм ⁻¹	3,932	3,436	2,608
F(000)	2592	2715	1648
Диапазон θ, °	от 1,57 до 26,02	от 1,25 до 25,86	от 1,38 до 30,51
Диапазон индексов	-15 ≤ <i>h</i> ≤ 15, -32 ≤ <i>k</i> ≤ 32, -15 ≤ <i>l</i> ≤ 9	-15 ≤ <i>h</i> ≤ 15 -19 ≤ <i>k</i> ≤ 19 -27 ≤ <i>l</i> ≤ 28	-19 ≤ <i>h</i> ≤ 19 -24 ≤ <i>k</i> ≤ 24 -25 ≤ <i>l</i> ≤ 25
Измеренных отражений	28217	77922	64285
Независимых отражений	8376 (R _{int} = 0,0321)	18780 (R _{int} = 0,0807)	19768 (R _{int} = 0,0391)
Наблюдаемых отражений	6611 [<i>I</i> > 2σ(<i>I</i>)]	11175 [<i>I</i> > 2σ(<i>I</i>)]	15680 [<i>I</i> > 2σ(<i>I</i>)]
Значение S-фактора по F ²	1,048	1,076	1,087
Число уточняемых параметров	410	843	621
<i>R_I</i> / <i>wR₂</i> (<i>I</i> > 2σ(<i>I</i>))	0,0279 / 0,0576	0,0872 / 0,2620	0,0318 / 0,0794
<i>R_I</i> / <i>wR_I</i> (все данные)	0,0445 / 0,0620	0,1363 / 0,2888	0,0458 / 0,0974
Δρ _{max} /Δρ _{min} (e·Å ⁻³)	1,139 / -0,675	3,879 / -1,530	1,320 / -1,473

Основные кристаллографические характеристики для комплексов вольфрама с тиолигандами и детали рентгеноструктурного эксперимента

Параметр	2	6·(Et₂O)₂(MeOH)₂
Эмпирическая формула	C ₆₈ H ₁₀₂ I ₈ N ₂ S ₆ W ₆	C ₁₀₈ H ₁₈₄ I ₈ N ₂ O ₄ S ₆ W ₆
Молекулярная масса	3258,17	3885,22
Температура, К	150(2)	150(2)
Сингония	Моноклинная	Триклинная
Пр,гр,	<i>P2₁/n</i>	<i>P-1</i>
<i>a</i> , Å	12,8500(6)	13,5167(3)
<i>b</i> , Å	25,7613(11)	17,0506(4)
<i>c</i> , Å	12,9403(4)	17,5058(4)
<i>α</i> , °		103,5470(10)
<i>β</i> , °	96,5940(10)	112,3260(10)
<i>γ</i> , °		108,3100(10)
<i>V</i> , Å ³	4255,3(3)	3243,26(13)
<i>Z</i>	2	1
$\rho_{\text{выч}}$, г/см ³	2,543	1,989
μ , мм ⁻¹	11,163	7,343
F(000)	2976	1842
Диапазон θ , °	от 2,12 до 26,37	от 1,50 до 30,53
	-16 ≤ <i>h</i> ≤ 16,	-19 ≤ <i>h</i> ≤ 19
Диапазон индексов	-32 ≤ <i>k</i> ≤ 31,	-24 ≤ <i>k</i> ≤ 24
	-12 ≤ <i>l</i> ≤ 16	-24 ≤ <i>l</i> ≤ 25
Измеренных отражений	31334	64108
Независимых отражений	8686 ($R_{\text{int}} = 0,0785$)	19798 ($R_{\text{int}} = 0,0437$)
Наблюдаемых отражений	5321 [<i>I</i> > 2σ(<i>I</i>)]	15692 [<i>I</i> > 2σ(<i>I</i>)]
Значение S-фактора по F ²	0,932	1,046
Число уточняемых параметров	405	621
R_1 / wR_2 (<i>I</i> > 2σ(<i>I</i>))	0,0450 / 0,0824	0,0348 / 0,0823
R_1 / wR_1 (все данные)	0,0954 / 0,0921	0,0495 / 0,0976
$\Delta\rho_{\text{max}}/\Delta\rho_{\text{min}}$ (e·Å ⁻³)	1,452 / -1,170	1,719 / -1,865

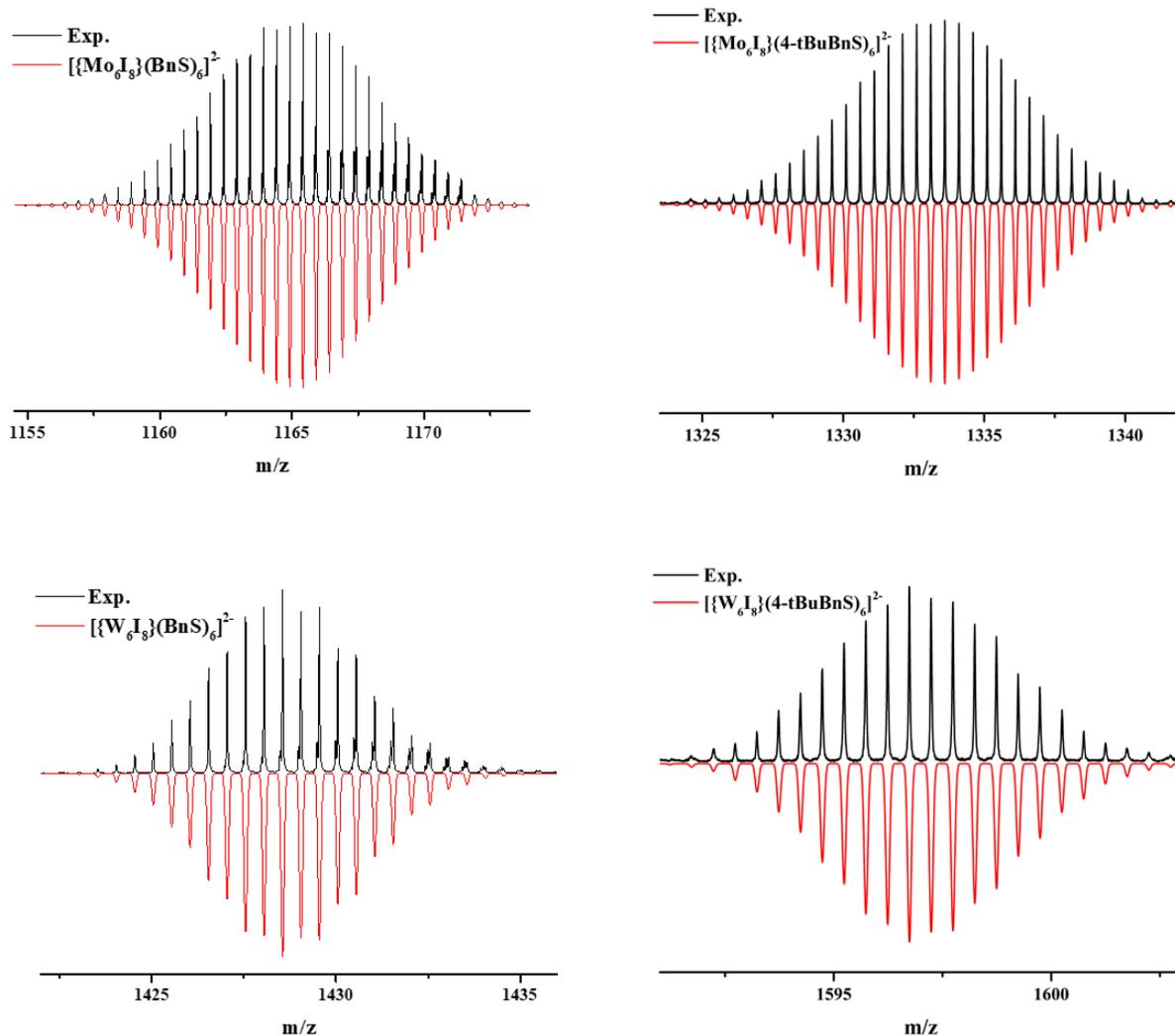


Рис. П1. Масс-спектры $\text{Na}_2[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{RS})_6]$ ($M = \text{Mo}, \text{W}$; $R = \text{Bn}, 4\text{-tBuBn}$), записанные в ацетонитриле.

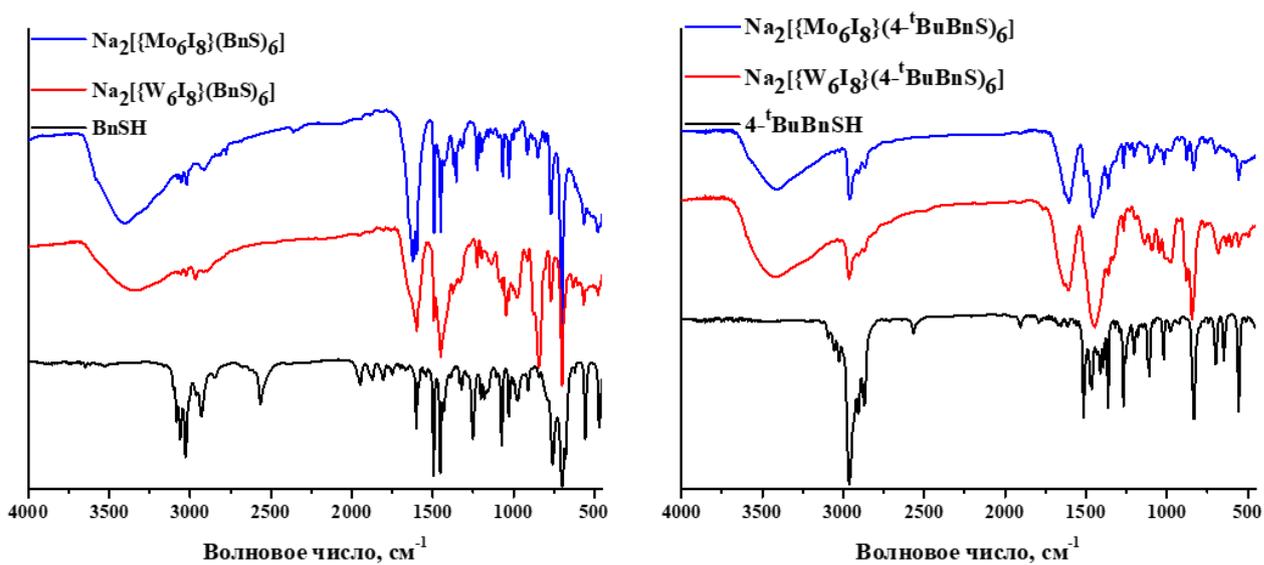


Рис. П2. ИК-спектры RSH и $\text{Na}_2[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{RS})_6]$ ($M = \text{Mo}, \text{W}$; $R = \text{Bn}, 4\text{-tBuBn}$).

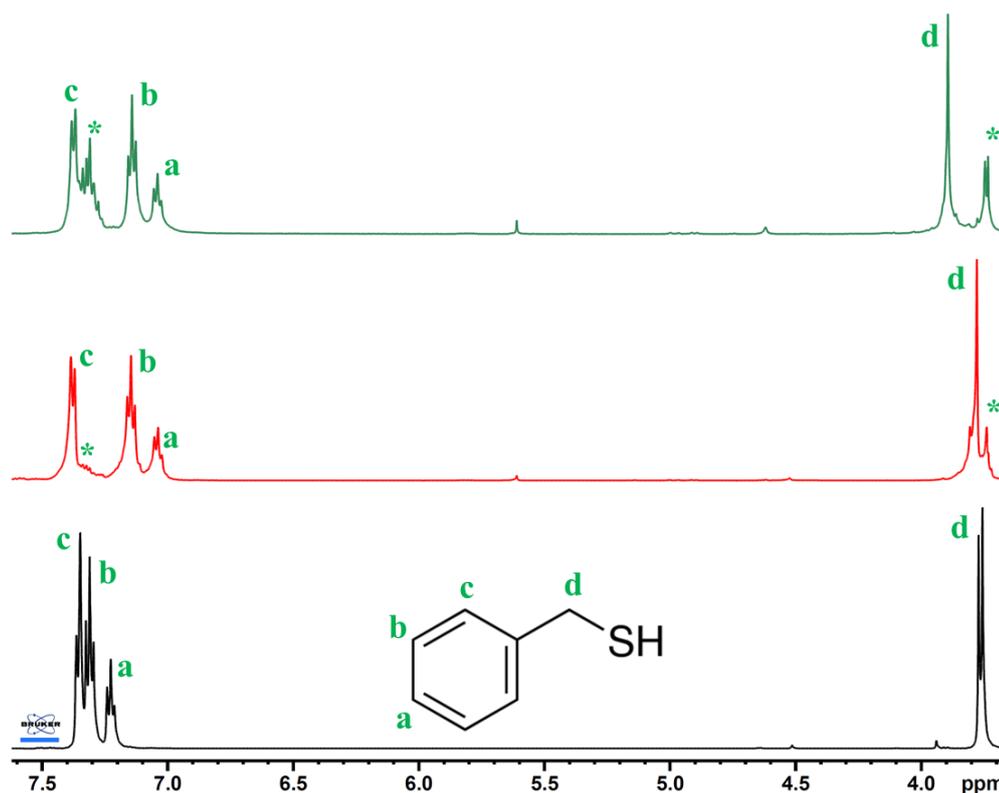


Рис. ПЗ. ^1H ЯМР-спектры BnSH и $\text{Na}_2[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{BnS})_6]$ ($\text{M} = \text{Mo}, \text{W}$) в $\text{Me}_2\text{CO}-d_6$. (*) отмечены сигналы свободного BnSH .

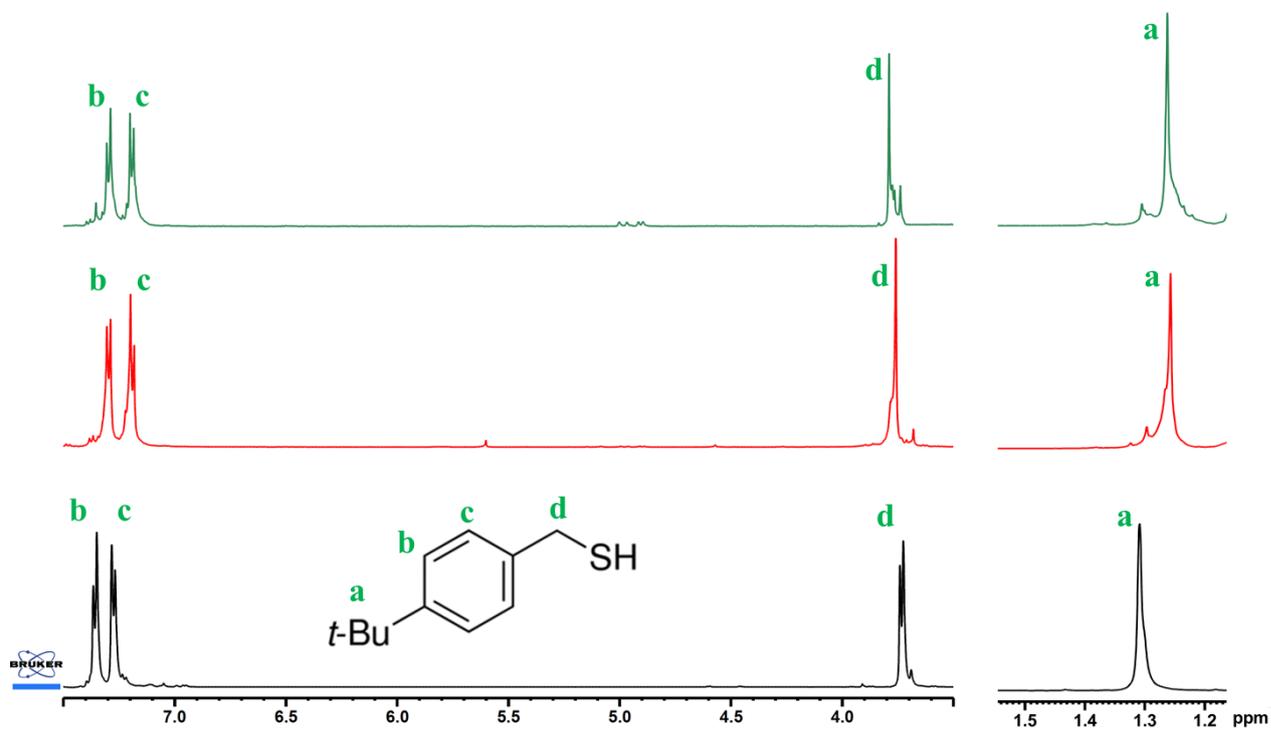


Рис. П4. ^1H ЯМР-спектры 4-tBuBnSH и $\text{Na}_2[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(4\text{-tBuBnS})_6]$ ($\text{M} = \text{Mo}, \text{W}$) в $\text{Me}_2\text{CO}-d_6$. Вставка области 1,2-1,5 м.д. с сигналом группы ^tBu приведена в масштабе 9:1.

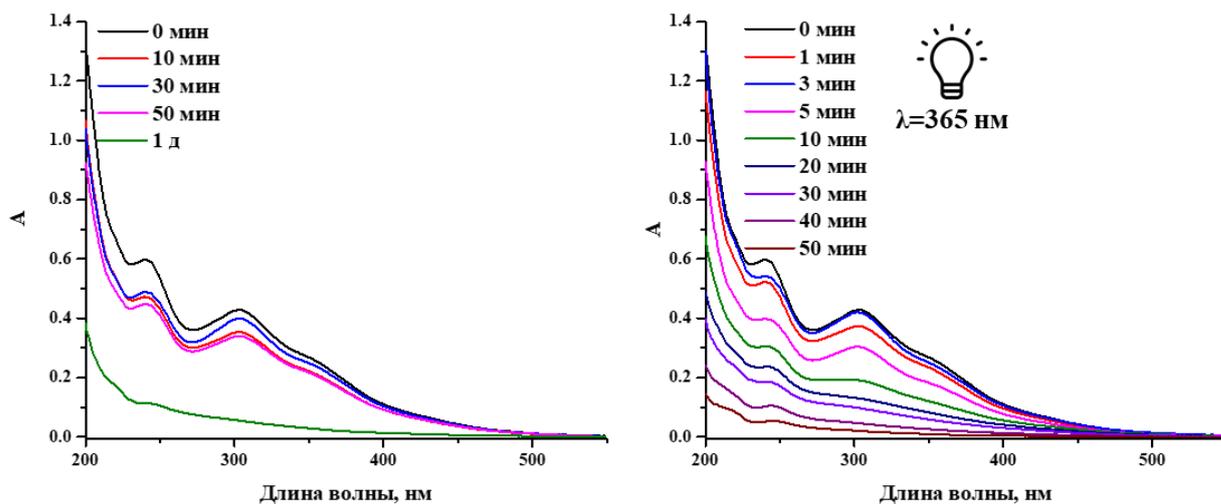


Рис. П5. ЭСП $\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$ в ацетонитриле без облучения (слева) и с облучением лампой с длиной волны 365 нм (справа) в зависимости от времени.

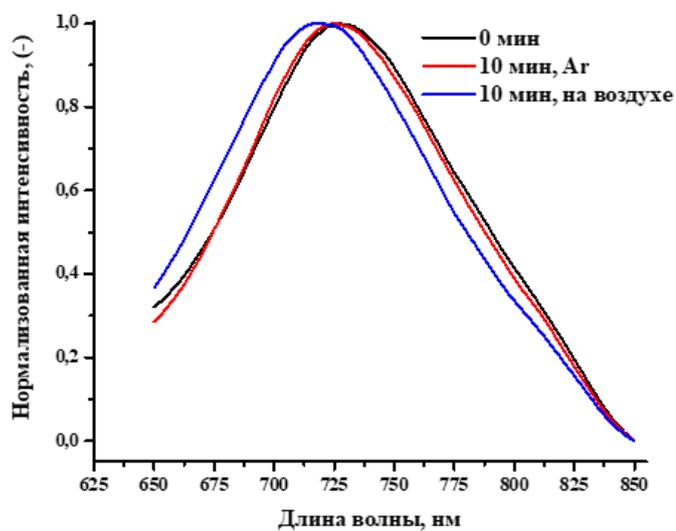


Рис. П6. Спектры люминесценции $\text{Na}_2[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6]$ в ацетоне в атмосфере аргона и на воздухе при облучении лампой с длиной волны 365 нм.

Кластерные комплексы с ДМСО-лигандами

Т а б л и ц а П4.

Основные кристаллографические характеристики $\{Mo_6I_8\}(DMCO)_6(NO_3)_4 \cdot Me_2CO$ и детали рентгеноструктурного эксперимента.

Параметр	
Эмпирическая формула	$C_{15}H_{42}I_8Mo_6N_4O_{19}S_6$
Молекулярная масса	2365,73
Сингония	Тригональная
Пр.гр.	$P \bar{3}1c$
$a, \text{Å}$	12,2158(4)
$c, \text{Å}$	20,2493(5)
$V, \text{Å}^3$	2616,88(14)
Z	2
$\rho_{\text{выч}}, \text{г/см}^3$	3,002
$\mu, \text{мм}^{-1}$	6,414
$F(000)$	2168
Диапазон $\theta, ^\circ$	от 1,92 до 30,52 $-17 \leq h \leq 17$
Диапазон индексов	$-17 \leq k \leq 17$ $-16 \leq l \leq 28$
Измеренных отражений	24224
Независимых отражений	24224 ($R_{\text{int}} = 0,0314$)
Число наблюдаемых отражений	2349 [$I > 2\sigma(I)$]
Значение S-фактора по F^2	1,068
Число уточняемых параметров	109
$R_1 / wR_2 (I > 2\sigma(I))$	0,0290 / 0,0715
R_1 / wR_1 (все данные)	0,0349 / 0,0749
$\Delta\rho_{\text{max}}/\Delta\rho_{\text{min}} (e \cdot \text{Å}^{-3})$	2,297 / -0,886

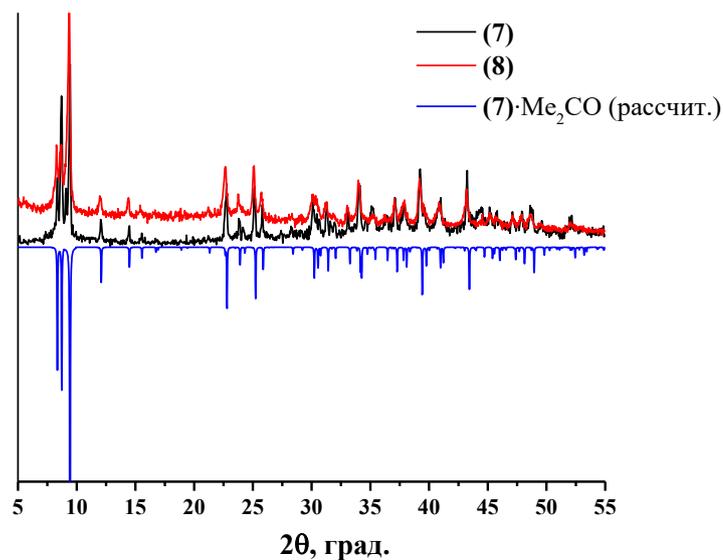


Рис. П7. Экспериментальные и рассчитанные порошковые дифрактограммы для $[\{M_6I_8\}(DMSO)_6](NO_3)_4$ ($M = Mo, W$).

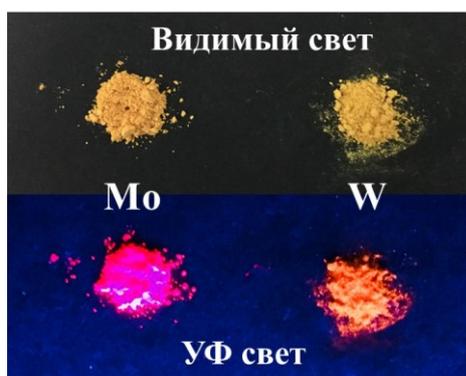


Рис. П8. Фотографии порошков комплексов $[\{M_6I_8\}(DMSO)_6](NO_3)_4$ ($M = Mo, W$) при видимом и УФ свете.

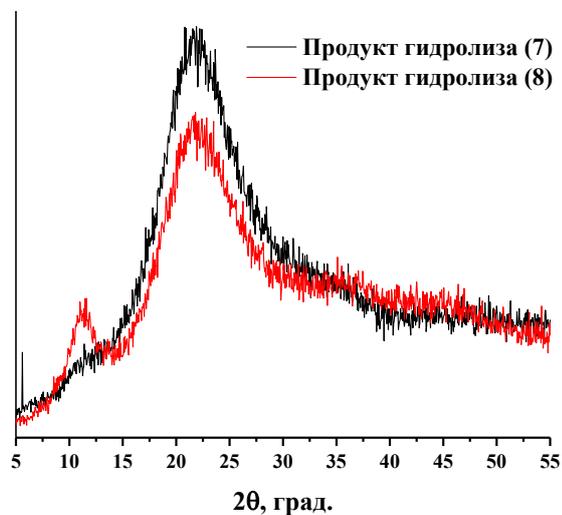


Рис. П9. Порошковые дифрактограммы для осадков, образовавшихся после полного гидролиза комплексов (7) и (8).

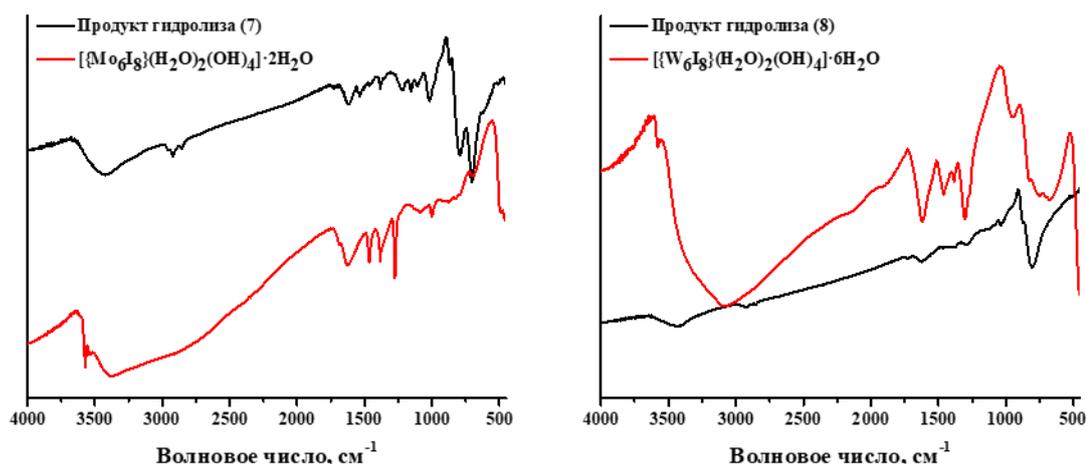


Рис. П10. ИК-спектры для осадков, образовавшихся после полного гидролиза комплексов (7) и (8) и $[M_6I_8(H_2O)_2(OH)_4] \cdot xH_2O$

Т а б л и ц а П5.

Формы кластера, обнаруженные в масс-спектре свежеприготовленного водного раствора (7).

Форма кластера	m/z	Форма кластера	m/z
$(\{Mo_6I_8\}(DMSO)_5)^{4+}$	495,44	$(\{Mo_6I_8\}(H_2O)_7(NO_3)_2)^{2+}$	920,35
$(\{Mo_6I_8\}(DMSO)_5(H_2O)_1)^{4+}$	499,94	$(\{Mo_6I_8\}(DMSO)_3(OH)_2)^{2+}$	929,36
$(\{Mo_6I_8\}(DMSO)_6)^{4+}$	514,94	$(\{Mo_6I_8\}(DMSO)_1(H_2O)_7(NO_3)_1(OH)_1)^{2+}$	936,86
$(\{Mo_6I_8\}(H_2O)_7(OH)_1)^{3+}$	577,94	$(\{Mo_6I_8\}(DMSO)_1(H_2O)_7(NO_3)_2)^{2+}$	959,36
$(\{Mo_6I_8\}(DMSO)_1(H_2O)_6(OH)_1)^{3+}$	597,94	$(\{Mo_6I_8\}(DMSO)_4(OH)_2)^{2+}$	968,36
$(\{Mo_6I_8\}(DMSO)_4(OH)_1)^{3+}$	640,24	$(\{Mo_6I_8\}(DMSO)_2(H_2O)_7(NO_3)_2)^{2+}$	998,36
$(\{Mo_6I_8\}(DMSO)_3(H_2O)_3(NO_3)_1)^{3+}$	647,25	$(\{Mo_6I_8\}(DMSO)_4(NO_3)_2)^{2+}$	1013,35
$(\{Mo_6I_8\}(DMSO)_3(H_2O)_6(NO_3)_1)^{3+}$	665,25	$(\{Mo_6I_8\}(OH)_3)^+$	1641,67
$(\{Mo_6I_8\}(DMSO)_4(H_2O)_2(NO_3)_1)^{3+}$	667,25	$(\{Mo_6I_8\}(DMSO)_1(OH)_3)^+$	1719,69
$(\{Mo_6I_8\}(OH)_2(H_2O)_1)^{2+}$	821,34	$(\{Mo_6I_8\}(DMSO)_2(OH)_3)^+$	1797,70
$(\{Mo_6I_8\}(DMSO)_1(OH)_2)^{2+}$	851,34	$(\{Mo_6I_8\}(DMSO)_1(H_2O)_3(NO_3)_1(OH)_2)^+$	1818,69
$(\{Mo_6I_8\}(OH)_2(H_2O)_6)^{2+}$	866,40	$(\{Mo_6I_8\}(DMSO)_2(NO_3)_1(OH)_2)^+$	1842,69

$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_2(\text{OH})_2)^{2+}$	890,35	$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_3(\text{OH})_3)^+$	1875,73
$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_2(\text{OH})_2(\text{H}_2\text{O})_1)^{2+}$	899,36		

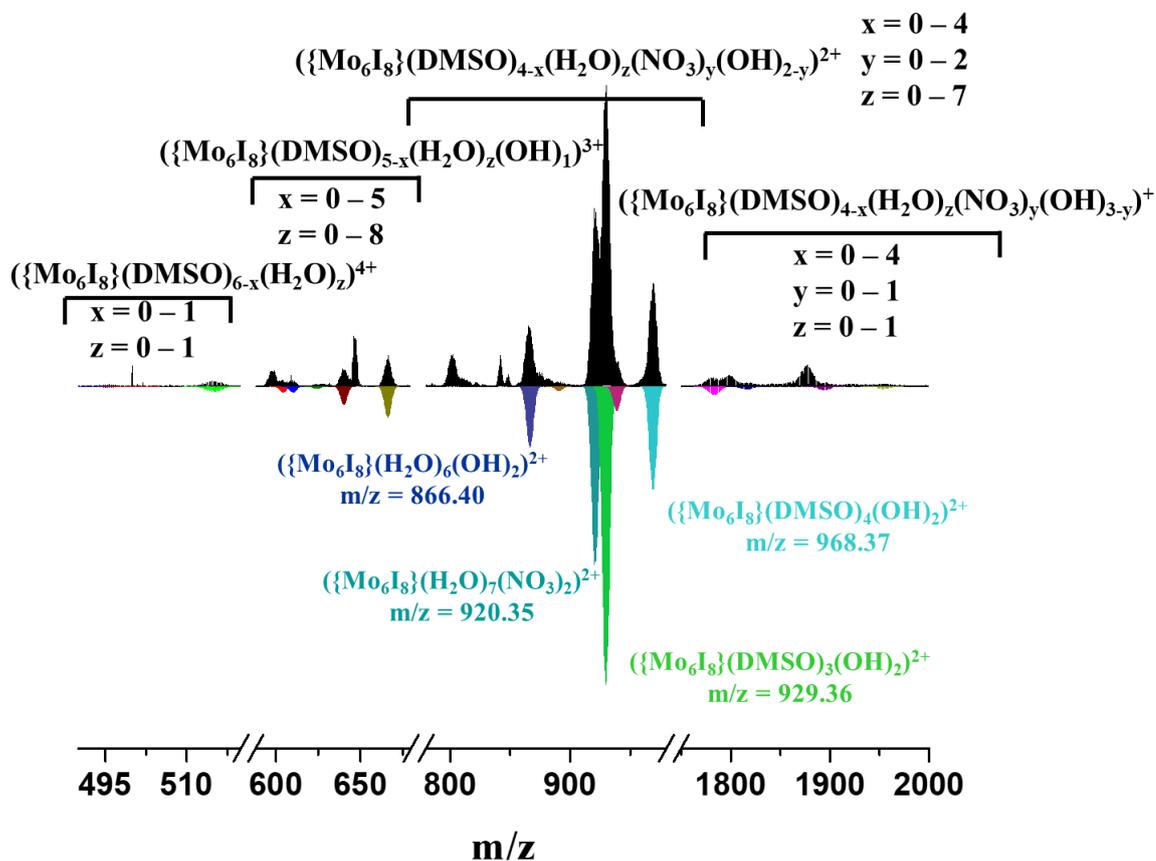


Рис. П11. Масс – спектр для свежеприготовленного водного раствора (7) с добавлением 1% ДМСО: экспериментальный спектр (черный) и симулированные формы (цветные).

Т а б л и ц а П6.

Формы кластера, обнаруженные в масс-спектре свежеприготовленного водного раствора (7) с добавлением 1% ДМСО.

Форма кластера	m/z	Форма кластера	m/z
$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_5)^{4+}$	495,44	$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{H}_2\text{O})_7(\text{NO}_3)_2)^{2+}$	920,35
$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_5(\text{H}_2\text{O})_1)^{4+}$	499,94	$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_3(\text{OH})_2)^{2+}$	929,36
$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_6)^{4+}$	514,94	$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_3(\text{H}_2\text{O})_1(\text{OH})_2)^{2+}$	938,36
$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_1(\text{H}_2\text{O})_7(\text{OH})_1)^{3+}$	603,94	$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_4(\text{OH})_2)^{2+}$	968,37
$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_1(\text{H}_2\text{O})_8(\text{OH})_1)^{3+}$	609,95	$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_1(\text{H}_2\text{O})_1(\text{NO}_3)_1)$	1782,76

		(OH) ₂ ⁺	
{Mo ₆ I ₈ } (DMSO) ₂ (H ₂ O) ₆ (OH) ₁ ³⁺	623,93	{Mo ₆ I ₈ } (DMSO) ₂ (H ₂ O) ₁ (OH) ₃ ⁺	1815,67
{Mo ₆ I ₈ } (DMSO) ₄ (OH) ₁ ³⁺	639,91	{Mo ₆ I ₈ } (DMSO) ₃ (H ₂ O) ₁ (OH) ₃ ⁺	1893,68
{Mo ₆ I ₈ } (DMSO) ₅ (OH) ₁ ³⁺	666,25	{Mo ₆ I ₈ } (DMSO) ₃ (NO ₃) ₁ (OH) ₂ ⁺	1920,71
{Mo ₆ I ₈ } (H ₂ O) ₆ (OH) ₂ ²⁺	866,40	{Mo ₆ I ₈ } (DMSO) ₄ (OH) ₃ ⁺	1954,68
{Mo ₆ I ₈ } (DMSO) ₂ (OH) ₂ ²⁺	890,35		

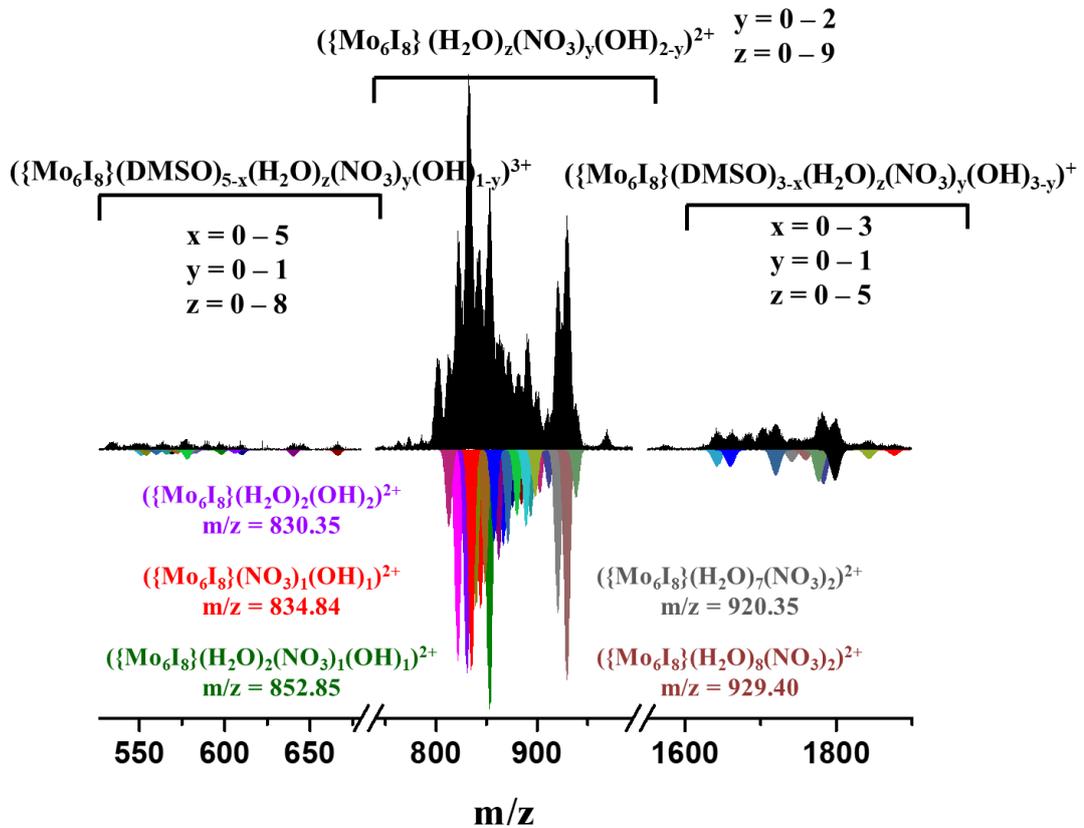


Рис. П12. Масс – спектр для выдержанного 4 дня водного раствора (7): экспериментальный спектр (черный) и симулированные формы (цветные).

Т а б л и ц а П7.

Формы кластера, обнаруженные в масс-спектре выдержанного 4 дня водного раствора (7).

Форма кластера	m/z	Форма кластера	m/z
$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\} (\text{NO}_3)_1)^{3+}$	550,89	$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\} (\text{H}_2\text{O})_1(\text{NO}_3)_2)^{2+}$	866,39
$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\} (\text{H}_2\text{O})_3(\text{OH})_1)^{3+}$	553,96	$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\} (\text{H}_2\text{O})_4(\text{NO}_3)_1(\text{OH})_1)^{2+}$	870,88

$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{H}_2\text{O})_4(\text{OH})_1)^{3+}$	559,91	$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{H}_2\text{O})_2(\text{NO}_3)_2)^{2+}$	875,37
$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{OH})_1)^{3+}$	565,91	$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{NO}_3)_1(\text{OH})_1)^{2+}$	879,85
$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{H}_2\text{O})_3(\text{NO}_3)_1)^{3+}$	568,90	$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{H}_2\text{O})_3(\text{NO}_3)_2)^{2+}$	884,36
$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{H}_2\text{O})_6(\text{OH})_1)^{3+}$	571,90	$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{H}_2\text{O})_6(\text{NO}_3)_1(\text{OH})_1)^{2+}$	888,86
$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{H}_2\text{O})_7(\text{OH})_1)^{3+}$	577,93	$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{H}_2\text{O})_4(\text{NO}_3)_2)^{2+}$	893,35
$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_1(\text{H}_2\text{O})_3(\text{OH})_1)^{3+}$	579,92	$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{H}_2\text{O})_7(\text{NO}_3)_1(\text{OH})_1)^{2+}$	897,84
$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_1(\text{H}_2\text{O})_1(\text{NO}_3)_1)^{3+}$	582,92	$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{NO}_3)_2)^{2+}$	902,33
$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_1(\text{H}_2\text{O})_6(\text{OH})_1)^{3+}$	597,92	$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{H}_2\text{O})_6(\text{NO}_3)_2)^{2+}$	911,34
$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_2(\text{H}_2\text{O})_3(\text{OH})_1)^{3+}$	605,91	$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{H}_2\text{O})_7(\text{NO}_3)_2)^{2+}$	920,35
$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_1(\text{H}_2\text{O})_8(\text{OH})_1)^{3+}$	609,94	$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{H}_2\text{O})_8(\text{NO}_3)_2)^{2+}$	929,40
$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_4(\text{OH})_1)^{3+}$	640,23	$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{H}_2\text{O})_9(\text{NO}_3)_2)^{2+}$	938,38
$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_5(\text{OH})_1)^{3+}$	666,26	$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{OH})_3)^+$	1641,68
$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{OH})_2)^{2+}$	812,36	$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{H}_2\text{O})_1(\text{OH})_3)^+$	1659,70
$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{H}_2\text{O})_1(\text{OH})_2)^{2+}$	821,34	$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_1(\text{OH})_3)^+$	1719,67
$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{H}_2\text{O})_2(\text{OH})_2)^{2+}$	830,35	$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{H}_2\text{O})_3(\text{NO}_3)_1(\text{OH})_2)^+$	1740,73
$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{NO}_3)_1(\text{OH})_1)^{2+}$	834,84	$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{H}_2\text{O})_4(\text{NO}_3)_1(\text{OH})_2)^+$	1758,68
$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{H}_2\text{O})_3(\text{OH})_2)^{2+}$	839,36	$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{NO}_3)_1(\text{OH})_2)^+$	1776,79
$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{H}_2\text{O})_1(\text{NO}_3)_1(\text{OH})_1)^{2+}$	843,86	$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_1(\text{H}_2\text{O})_1(\text{NO}_3)_1(\text{OH})_2)^+$	1782,89
$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{H}_2\text{O})_4(\text{OH})_2)^{2+}$	848,37	$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_2(\text{OH})_3)^+$	1797,65
$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{H}_2\text{O})_2(\text{NO}_3)_1(\text{OH})_1)^{2+}$	852,85	$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_2(\text{NO}_3)_1(\text{OH})_2)^+$	1842,70
$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{NO}_3)_2)^{2+}$	857,33	$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_3(\text{OH})_3)^+$	1875,74
$(\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{H}_2\text{O})_3(\text{NO}_3)_1(\text{OH})_1)^{2+}$	861,85		

Формы кластера, обнаруженные в масс-спектре свежеприготовленного водного раствора (8).

Форма кластера	m/z	Форма кластера	m/z
$(\{W_6I_8\}(DMSO)_5)^{4+}$	627,25	$(\{W_6I_8\}(H_2O)_9(NO_3)_2)^{2+}$	1202,48
$(\{W_6I_8\}(DMSO)_6)^{4+}$	646,76	$(\{W_6I_8\}(H_2O)_{10}(NO_3)_2)^{2+}$	1211,47
$(\{W_6I_8\}(DMSO)_5(H_2O)_1)^{4+}$	631,76	$(\{W_6I_8\}(DMSO)_4(OH)_2)^{2+}$	1232,50
$(\{W_6I_8\}(Me_2CO)_1(H_2O)_7(OH)_1)^{3+}$	773,36	$(\{W_6I_8\}(DMSO)_4(H_2O)_1(OH)_2)^{2+}$	1241,48
$(\{W_6I_8\}(Me_2CO)_1(H_2O)_8(OH)_1)^{3+}$	779,37	$(\{W_6I_8\}(DMSO)_4(NO_3)_1(OH)_1)^{2+}$	1255,00
$(\{W_6I_8\}(Me_2CO)_1(H_2O)_9(OH)_1)^{3+}$	785,37	$(\{W_6I_8\}(DMSO)_4(H_2O)_1(NO_3)_1(OH)_1)^{2+}$	1263,98
$(\{W_6I_8\}(Me_2CO)_1(DMSO)_1(H_2O)_7(OH)_1)^{3+}$	799,37	$(\{W_6I_8\}(DMSO)_5(OH)_2)^{2+}$	1271,49
$(\{W_6I_8\}(Me_2CO)_1(DMSO)_1(H_2O)_8(OH)_1)^{3+}$	805,37	$(\{W_6I_8\}(DMSO)_4(NO_3)_2)^{2+}$	1277,48
$(\{W_6I_8\}(DMSO)_4(OH)_1)^{3+}$	816,00	$(\{W_6I_8\}(DMSO)_5(NO_3)_1(OH)_1)^{2+}$	1293,98
$(\{W_6I_8\}(DMSO)_4(H_2O)_1(OH)_1)^{3+}$	822,00	$(\{W_6I_8\}(DMSO)_6(OH)_2)^{2+}$	1310,48
$(\{W_6I_8\}(DMSO)_4(H_2O)_2(OH)_1)^{3+}$	828,00	$(\{W_6I_8\}(DMSO)_5(NO_3)_2)^{2+}$	1316,49
$(\{W_6I_8\}(DMSO)_5(OH)_1)^{3+}$	842,00	$(\{W_6I_8\}(DMSO)_3(OH)_3)^+$	2403,99
$(\{W_6I_8\}(DMSO)_5(H_2O)_1(OH)_1)^{3+}$	848,00	$(\{W_6I_8\}(DMSO)_3(H_2O)_1(OH)_3)^+$	2421,96
$(\{W_6I_8\}(DMSO)_5(NO_3)_1)^{3+}$	857,00	$(\{W_6I_8\}(DMSO)_4(NO_3)_1(OH)_2)^+$	2527,00
$(\{W_6I_8\}(DMSO)_6(OH)_1)^{3+}$	868,00	$(\{W_6I_8\}(DMSO)_4(H_2O)_1(NO_3)_1(OH)_2)^+$	2544,97
$(\{W_6I_8\}(H_2O)_7(NO_3)_2)^{2+}$	1184,49	$(\{W_6I_8\}(DMSO)_5(NO_3)_2(OH)_1)^+$	2649,99
$(\{W_6I_8\}(H_2O)_{10}(NO_3)_1(OH)_1)^{2+}$	1189,03	$(\{W_6I_8\}(DMSO)_6(NO_3)_1(OH)_2)^+$	2682,98
$(\{W_6I_8\}(H_2O)_8(NO_3)_2)^{2+}$	1193,49	$(\{W_6I_8\}(DMSO)_6(NO_3)_3)^+$	2772,99

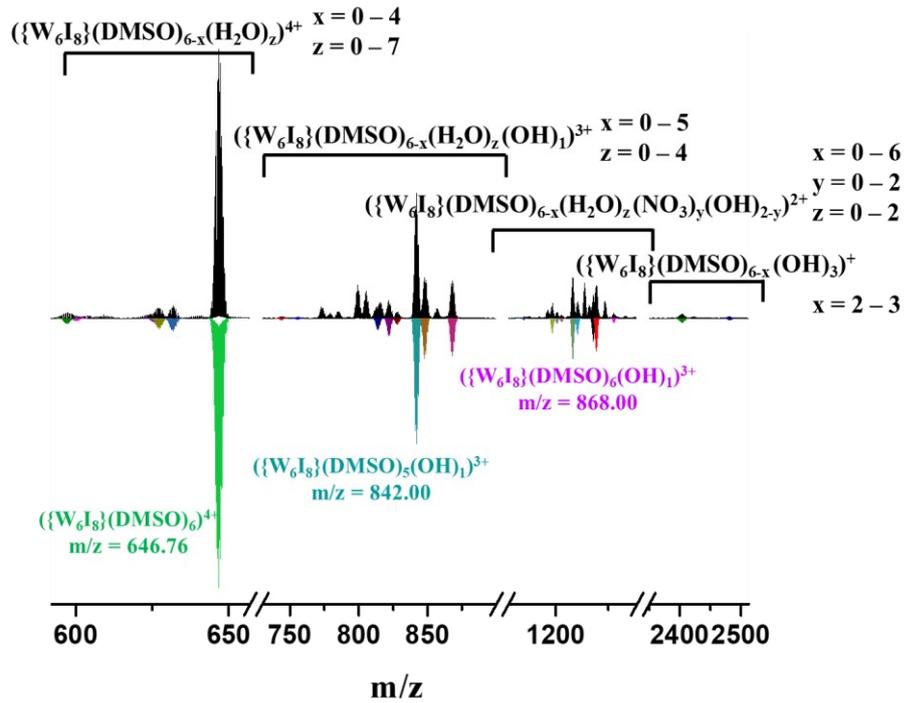


Рис. П13. Масс – спектр для свежеприготовленного водного раствора (8) с добавлением 1% ДМСО: экспериментальный спектр (черный) и симулированные формы (цветные).

Т а б л и ц а П9.

Формы кластера, обнаруженные в масс-спектре свежеприготовленного водного раствора (8) с добавлением 1% ДМСО.

Форма кластера	m/z	Форма кластера	m/z
$(\{W_6I_8\}(DMSO)_3(H_2O)_2)^{4+}$	597,27	$(\{W_6I_8\}(DMSO)_6(OH)_1)^{3+}$	868,00
$(\{W_6I_8\}(DMSO)_2(H_2O)_7)^{4+}$	600,27	$(\{W_6I_8\}(H_2O)_1(NO_3)_2)^{2+}$	1130,53
$(\{W_6I_8\}(DMSO)_4(H_2O)_4)^{4+}$	625,75	$(\{W_6I_8\}(H_2O)_2(NO_3)_2)^{2+}$	1139,46
$(\{W_6I_8\}(DMSO)_5)^{4+}$	627,25	$(\{W_6I_8\}(DMSO)_3(OH)_2)^{2+}$	1193,49
$(\{W_6I_8\}(DMSO)_5(H_2O)_1)^{4+}$	631,75	$(\{W_6I_8\}(DMSO)_3(H_2O)_1(OH)_2)^{2+}$	1202,48
$(\{W_6I_8\}(DMSO)_6)^{4+}$	646,76	$(\{W_6I_8\}(DMSO)_3(H_2O)_2(OH)_2)^{2+}$	1211,47
$(\{W_6I_8\}(DMSO)_1(H_2O)_1(OH)_1)^{3+}$	744,02	$(\{W_6I_8\}(DMSO)_4(OH)_2)^{2+}$	1232,50
$(\{W_6I_8\}(DMSO)_1(H_2O)_3(OH)_1)^{3+}$	756,03	$(\{W_6I_8\}(DMSO)_4(H_2O)_1(OH)_2)^{2+}$	1241,48
$(\{W_6I_8\}(DMSO)_3(H_2O)_4(OH)_1)^{3+}$	813,99	$(\{W_6I_8\}(DMSO)_5(OH)_2)^{2+}$	1271,49
$(\{W_6I_8\}(DMSO)_4(H_2O)_1(OH)_1)^{3+}$	822,00	$(\{W_6I_8\}(DMSO)_4(NO_3)_2)^{2+}$	1277,48

$(\{W_6I_8\}(DMSO)_4(H_2O)_2(OH)_1)^{3+}$	827,99	$(\{W_6I_8\}(DMSO)_6(OH)_2)^{2+}$	1310,47
$(\{W_6I_8\}(DMSO)_5(OH)_1)^{3+}$	842,00	$(\{W_6I_8\}(DMSO)_3(OH)_3)^+$	2403,98
$(\{W_6I_8\}(DMSO)_5(H_2O)_1(OH)_1)^{3+}$	847,99	$(\{W_6I_8\}(DMSO)_4(OH)_3)^+$	2481,96

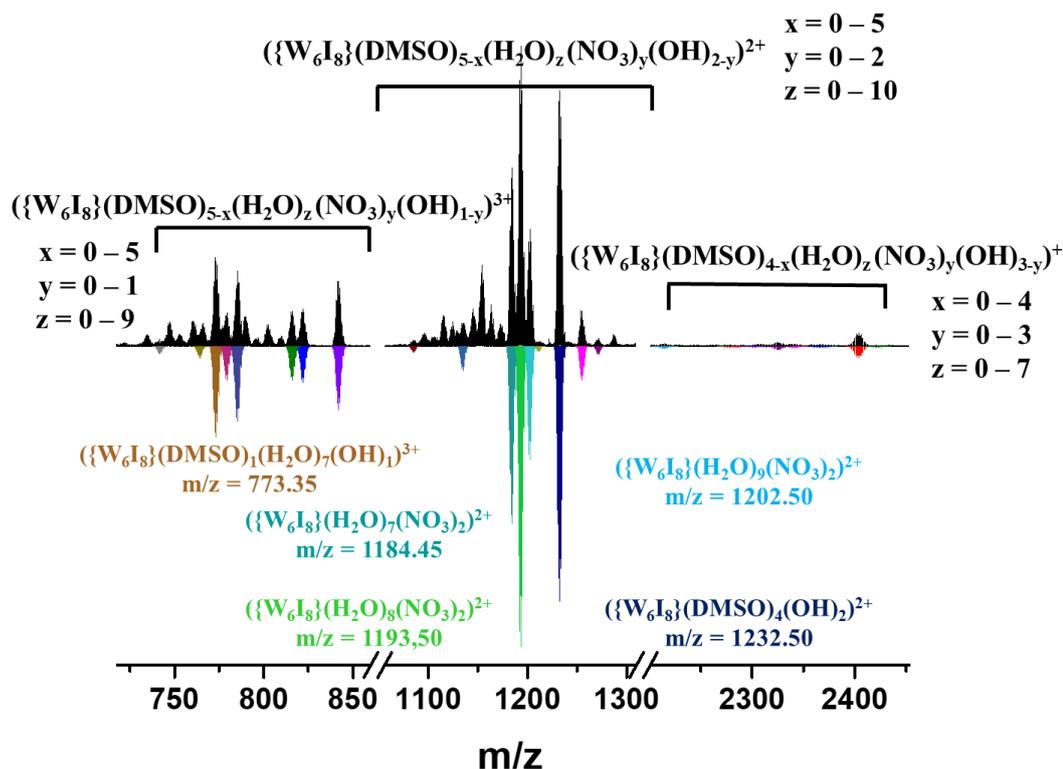


Рис. П14. Масс – спектр для выдержанного 4 дня водного раствора (8): экспериментальный спектр (черный) и симулированные формы (цветные).

Т а б л и ц а П10.

Формы кластера, обнаруженные в масс-спектре выдержанного 4 дня водного раствора (8).

Форма кластера	m/z	Форма кластера	m/z
$(\{W_6I_8\}(H_2O)_5(OH)_1)^{3+}$	741,69	$(\{W_6I_8\}(DMSO)_4(NO_3)_1(OH)_1)^{2+}$	1255,01
$(\{W_6I_8\}(Me_2CO)_1(H_2O)_3(NO_3)_1)^{3+}$	764,34	$(\{W_6I_8\}(DMSO)_5(OH)_2)^{2+}$	1271,49
$(\{W_6I_8\}(Me_2CO)_1(H_2O)_7(OH)_1)^{3+}$	773,35	$(\{W_6I_8\}(NO_3)_1(OH)_2)^+$	2215,00
$(\{W_6I_8\}(Me_2CO)_1(H_2O)_8(OH)_1)^{3+}$	779,35	$(\{W_6I_8\}(NO_3)_2(H_2O)_1(OH)_1)^+$	2277,96
$(\{W_6I_8\}(Me_2CO)_1(H_2O)_9(OH)_1)^{3+}$	785,38	$(\{W_6I_8\}(NO_3)_1(H_2O)_4(OH)_2)^+$	2286,95
$(\{W_6I_8\}(DMSO)_4(OH)_1)^{3+}$	816,00	$(\{W_6I_8\}(DMSO)_1(H_2O)_3(OH)_3)^+$	2301,98

$(\{W_6I_8\}(DMSO)_4(H_2O)_1(OH)_1)^{3+}$	822,00	$(\{W_6I_8\}(NO_3)_2(H_2O)_3(OH)_1)^+$	2314,00
$(\{W_6I_8\}(DMSO)_5(OH)_1)^{3+}$	842,01	$(\{W_6I_8\}(DMSO)_2(OH)_3)^+$	2325,98
$(\{W_6I_8\}(H_2O)_1(OH)_2)^{2+}$	1085,46	$(\{W_6I_8\}(NO_3)_1(H_2O)_7(OH)_2)^+$	2340,99
$(\{W_6I_8\}(H_2O)_4(NO_3)_1(OH)_1)^{2+}$	1135,00	$(\{W_6I_8\}(DMSO)_1(H_2O)_4(NO_3)_1(OH)_2)^+$	2365,02
$(\{W_6I_8\}(H_2O)_7(NO_3)_2)^{2+}$	1184,45	$(\{W_6I_8\}(DMSO)_2(NO_3)_1(OH)_2)^+$	2371,00
$(\{W_6I_8\}(H_2O)_8(NO_3)_2)^{2+}$	1193,50	$(\{W_6I_8\}(DMSO)_3(OH)_3)^+$	2404,02
$(\{W_6I_8\}(H_2O)_9(NO_3)_2)^{2+}$	1202,50	$(\{W_6I_8\}(DMSO)_3(H_2O)_1(OH)_3)^+$	2421,96
$(\{W_6I_8\}(H_2O)_{10}(NO_3)_2)^{2+}$	1211,50	$(\{W_6I_8\}(DMSO)_4(NO_3)_1(OH)_2)^+$	2527,00
$(\{W_6I_8\}(DMSO)_4(OH)_2)^{2+}$	1232,50		

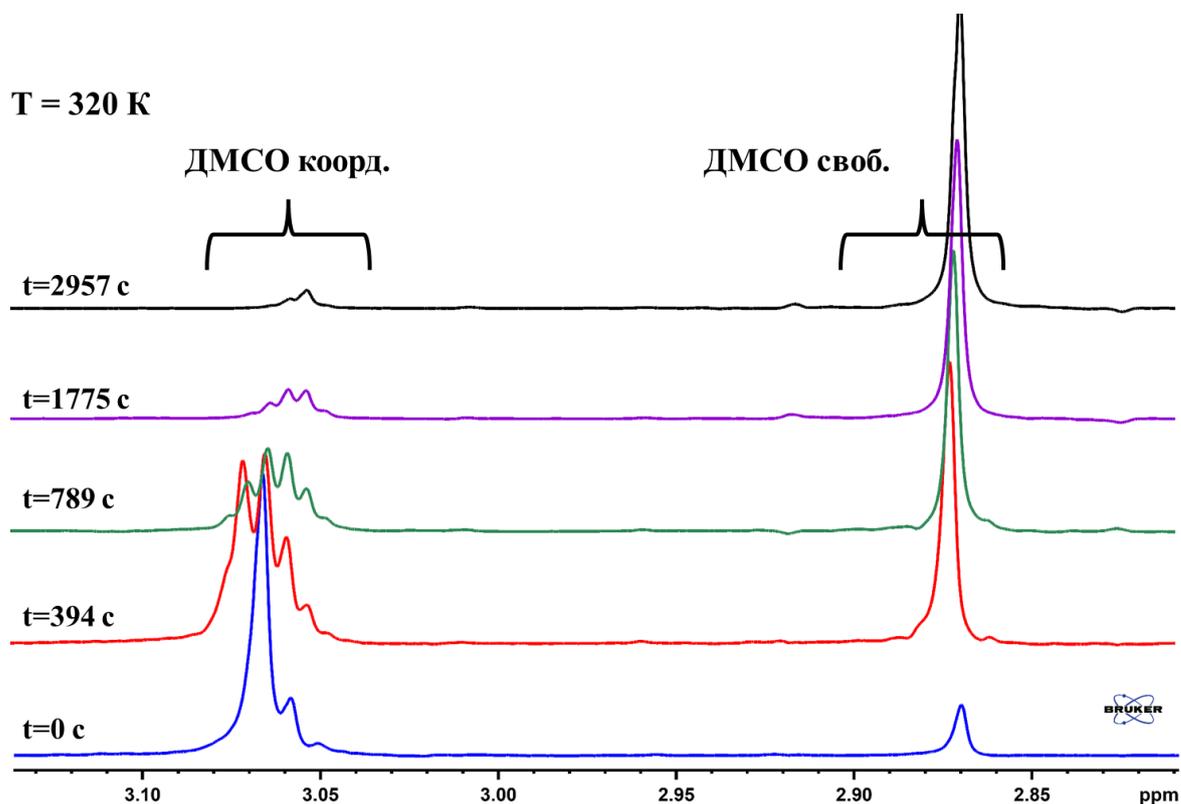
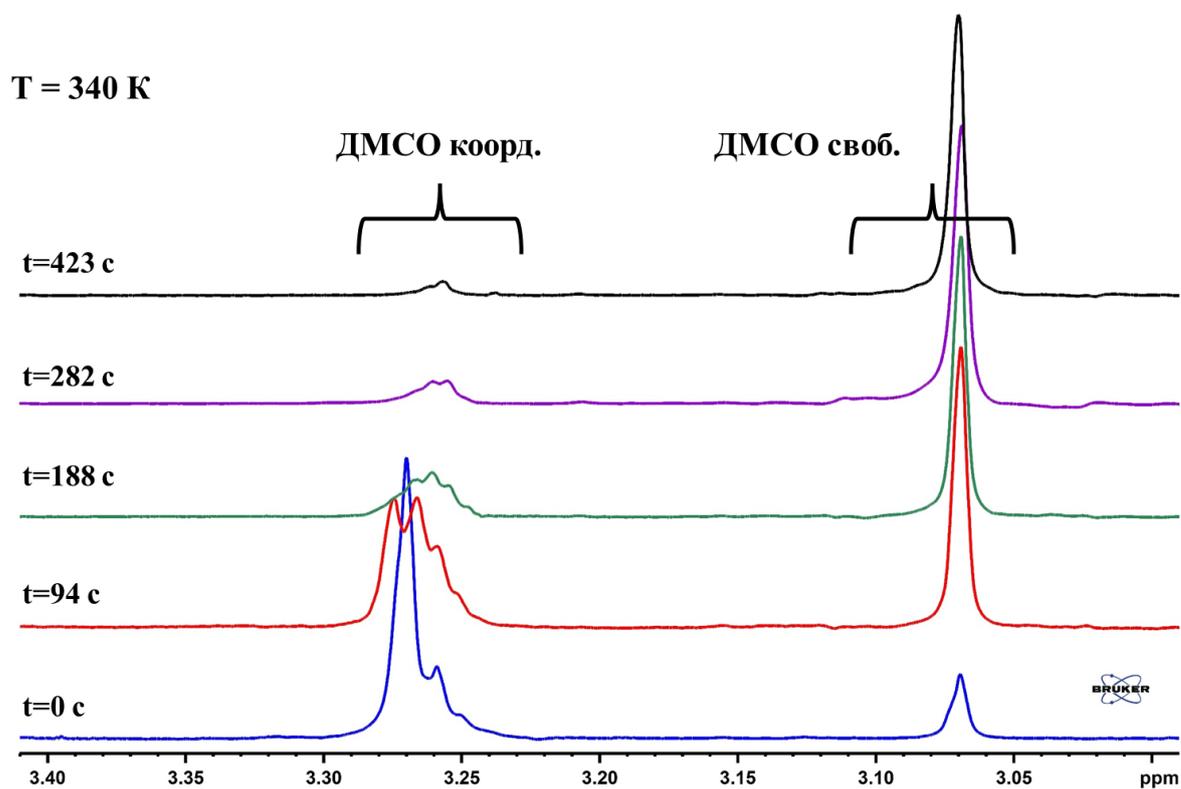
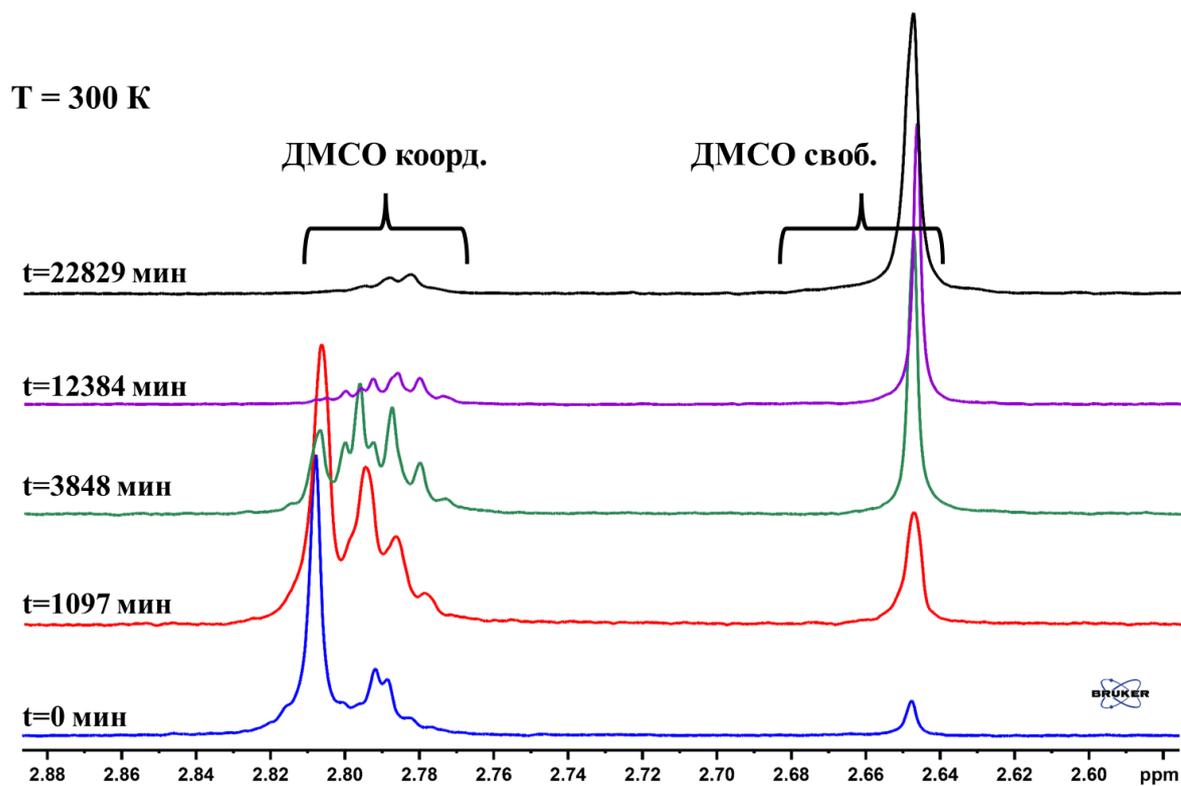
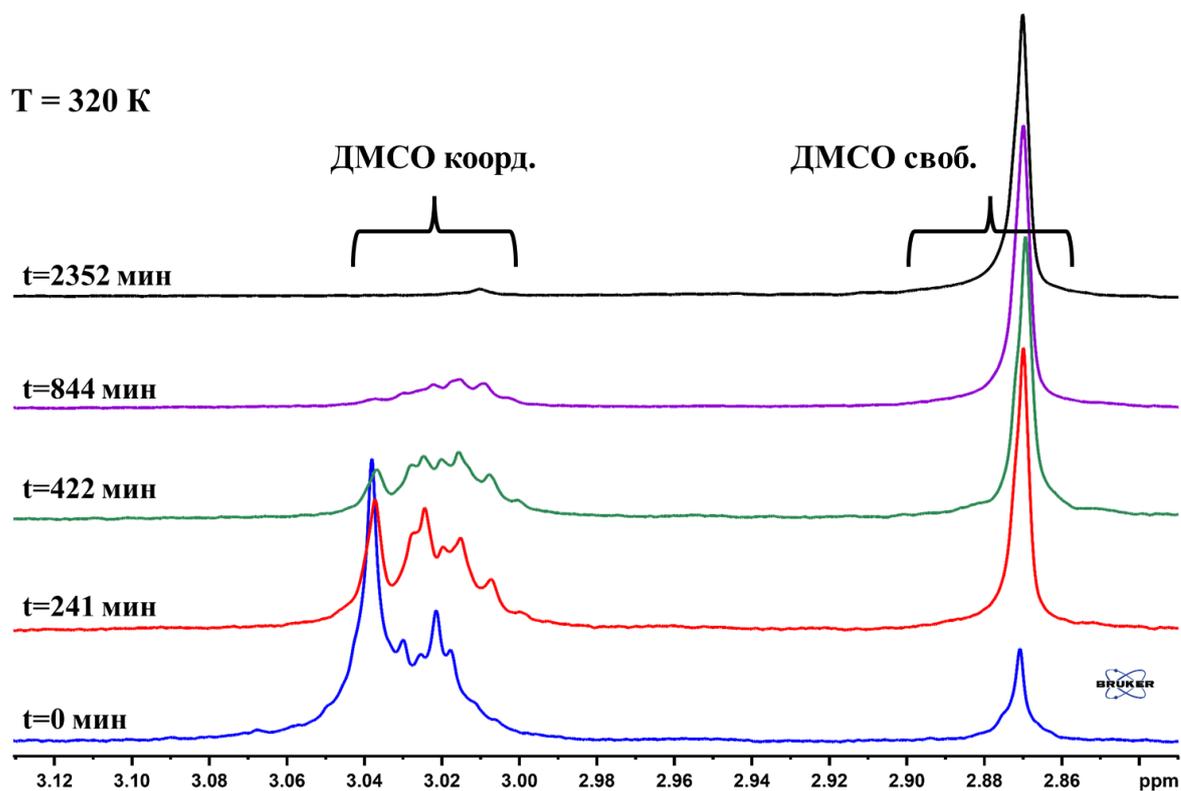
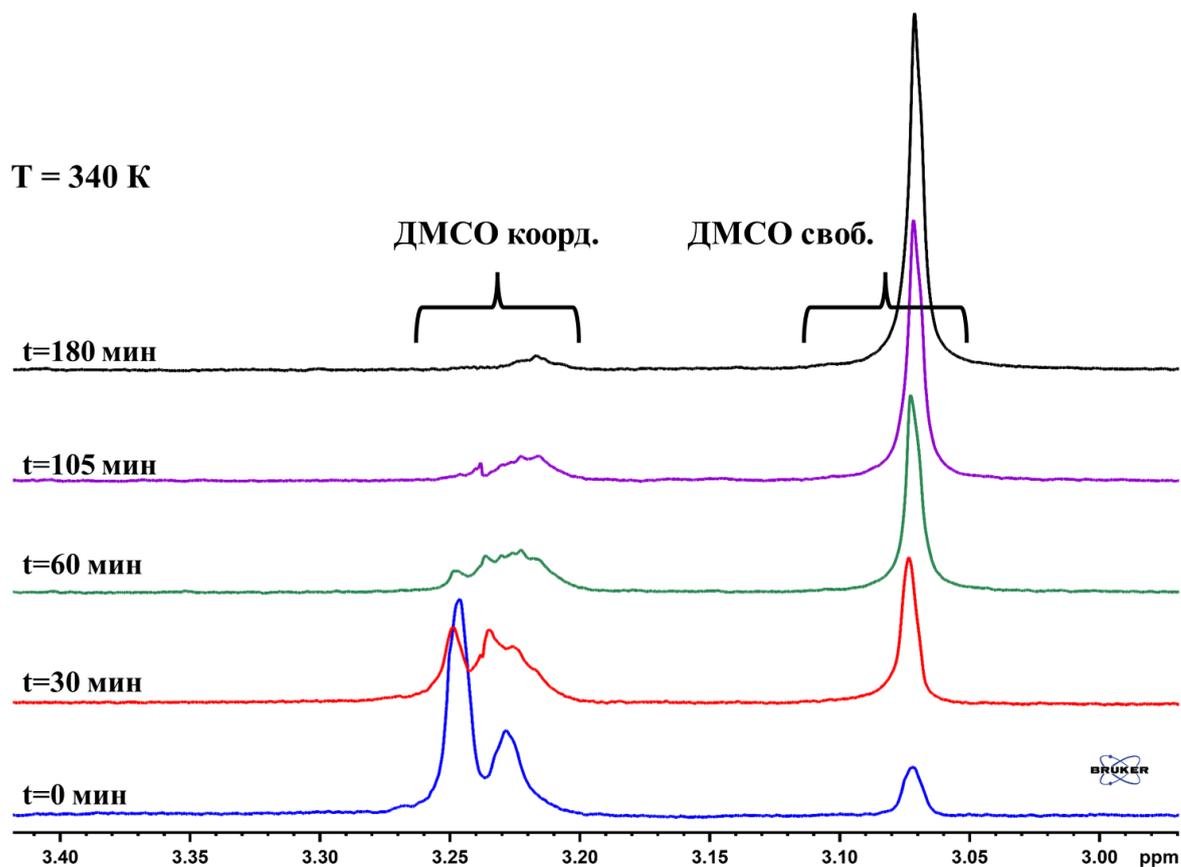


Рис. П15. Фрагмент 1H ЯМР в D_2O для (7) при 320 К.

Рис. П16. Фрагмент ^1H ЯМР в D_2O для (7) при 340 К.Рис. П17. Фрагмент ^1H ЯМР в D_2O для (8) при 300 К.

Рис. П18. Фрагмент ^1H ЯМР в D_2O для (8) при 320 К.Рис. П19. Фрагмент ^1H ЯМР в D_2O для (8) при 340 К.

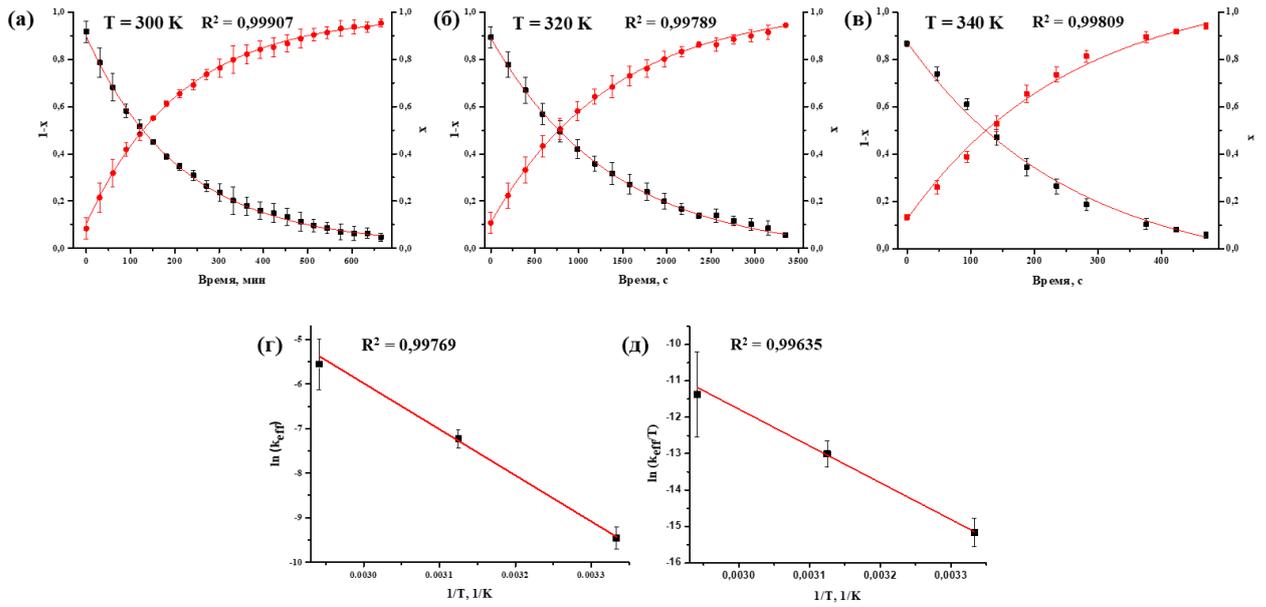


Рис. П20. Кинетические кривые гидролиза при 300 (а), 320 (б) и 340 К (в), зависимость k_{eff} от $1/T$ по уравнению Аррениуса (г) и зависимость k_{eff}/T от $1/T$ по уравнению Эйринга (д) для $[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_6](\text{NO}_3)_4$ в D_2O .

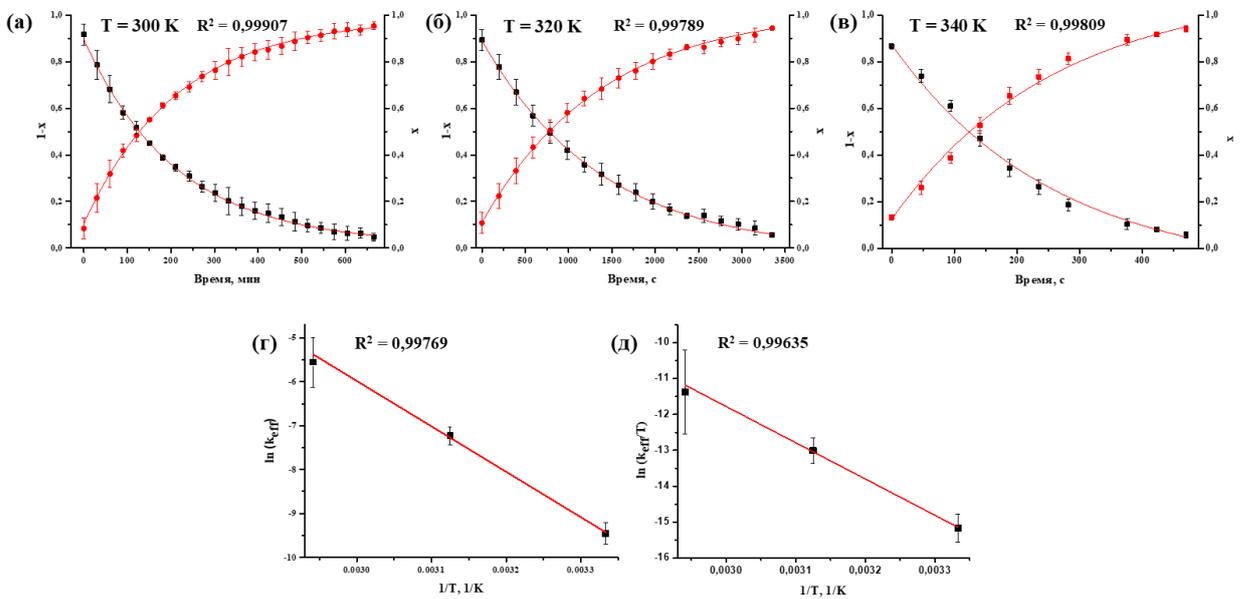


Рис. П21. Кинетические кривые гидролиза при 300 (а), 320 (б) и 340 К (в), зависимость k_{eff} от $1/T$ по уравнению Аррениуса (г) и зависимость k_{eff}/T от $1/T$ по уравнению Эйринга (д) для $[\{\text{W}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_6](\text{NO}_3)_4$ в D_2O .

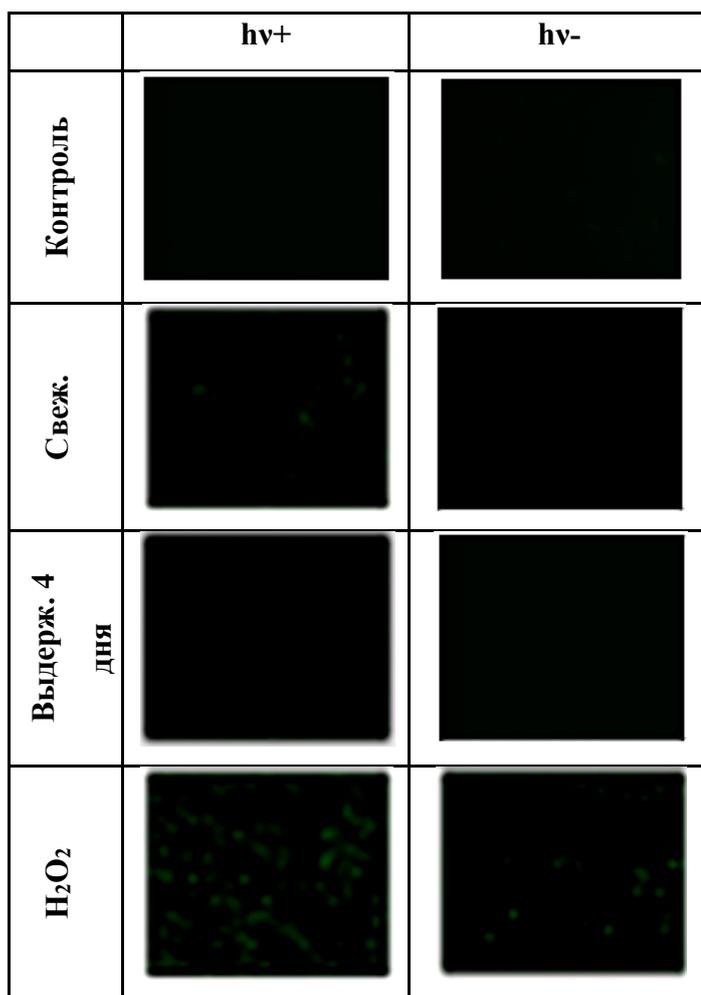


Рис. П22. Детектирование и количественное определение АФК внутри клеток Нер-2, инкубированных с H₂O₂, свежеприготовленным или выдержанным 4 дня раствором (8). Клетки окрашивали DCFH-DA.

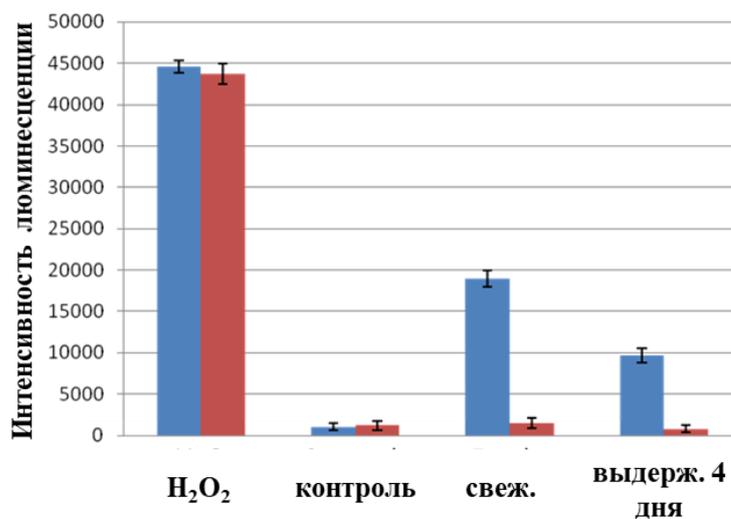


Рис. П23. Детектирование и количественное определение АФК внутри клеток Нер-2, инкубированных с H₂O₂ и свежеприготовленным и выдержанным 4 дня раствором (8) с (голубой столбец) и без облучения (красный столбец) светом.

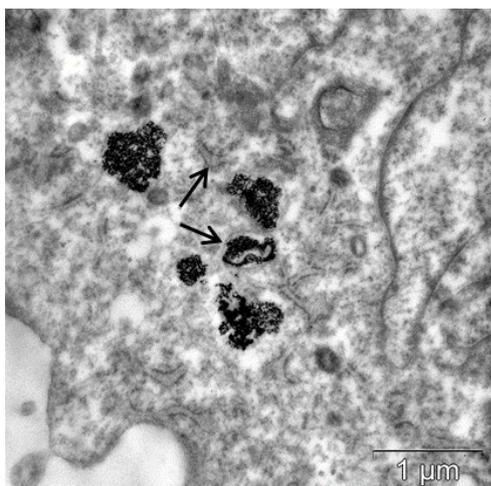


Рис. П24. Изображение, полученное с помощью ПЭМ, для клеток Нер-2, инкубированных с (8).
Стрелками указаны цистерны эндоплазматического ретикулума.

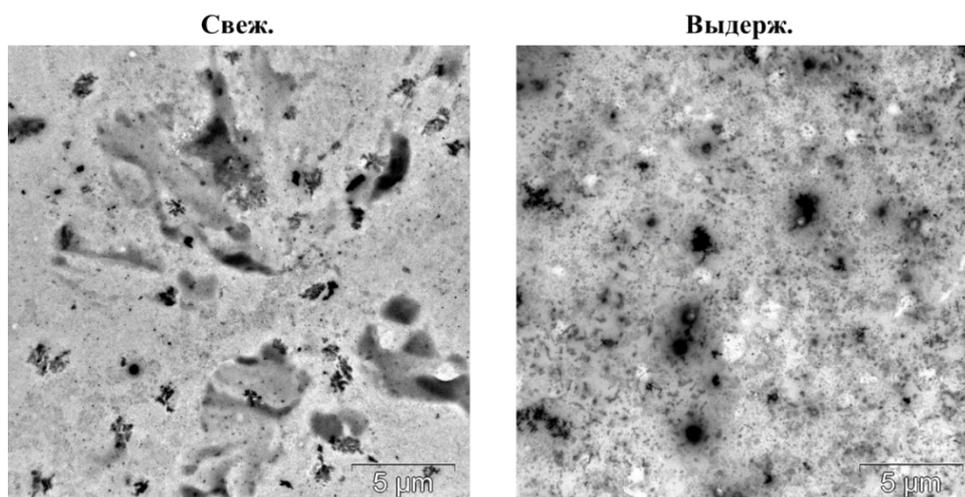


Рис. П25. Изображения, полученные с помощью ПЭМ, для осадков, которые образовались при добавлении свежеприготовленного (слева) и выдержанного (справа) водного раствора (7) в питательную среду.

Т а б л и ц а П11.

Содержание молибдена в клетках Нер-2 согласно данным ИСП-АЭС после инкубации со свежеприготовленным и выдержанным раствором (7).

Образец/время инкубации	Масса Мо (мкг) в 10 ⁶ клеток	
	(% от загруженного Мо)	
	2 ч	24 ч
контроль	0,008	
свеж.	1,6 (0,7%)	10,5 (4,7%)
выдерж.	28,6 (12,8%)	18,3 (8,2%)

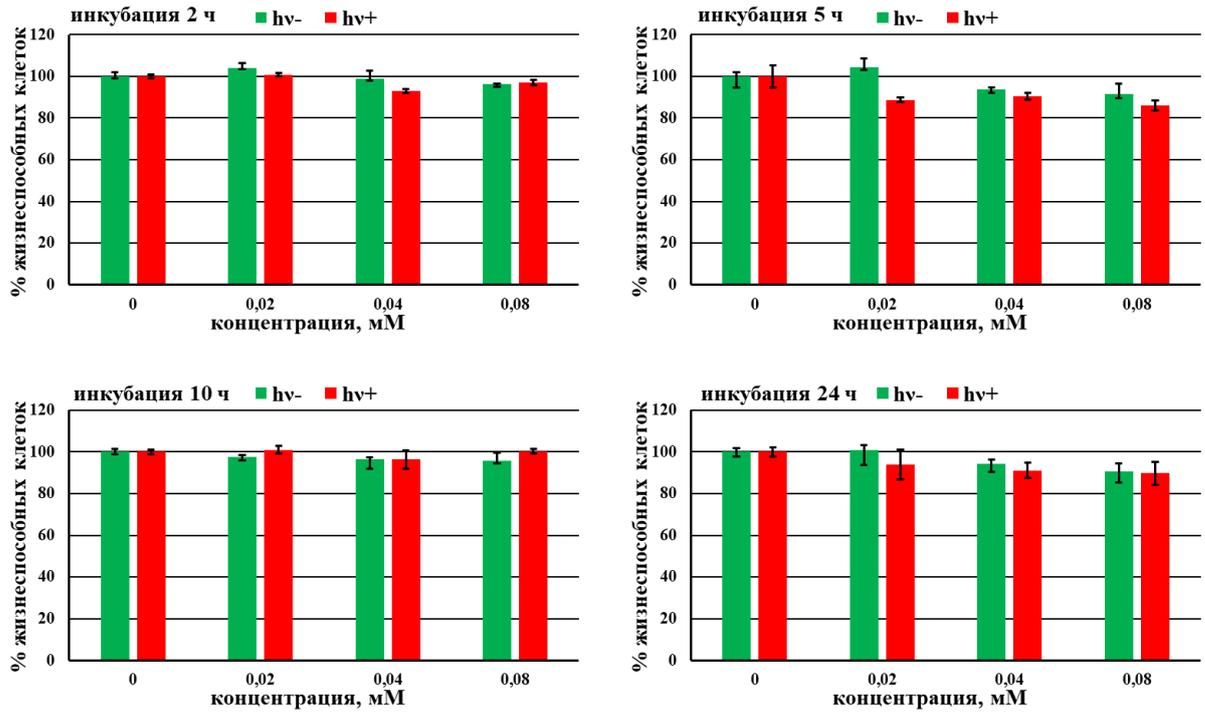


Рис. П26. Фотоиндуцированная цитотоксичность свежеприготовленного раствора (7) на клетках линии Нер-2.

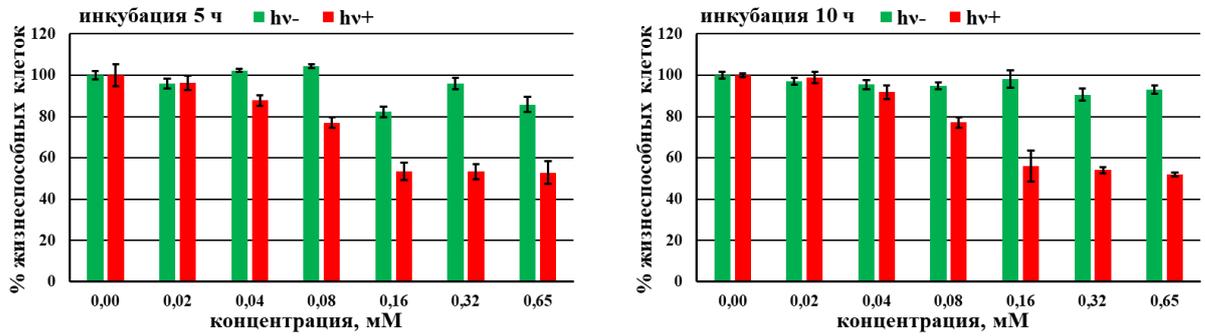


Рис. П27. Фотоиндуцированная цитотоксичность выдержанного 4 дня раствора (7) на клетках линии Нер-2.

Окисление декстранов

Т а б л и ц а П12.

Известные методы окисления декстранов и определенные параметры.

Окислитель	Условия	Q, кДа	Карбонильные группы	Карбоксильные группы	Пероксогруппы	Ссылка
H ₂ O ₂	C(H ₂ O ₂)=0,001-0,1 М; Т= 25, 100 или 109 °С	Не определен а. Вязкость водного раствора уменьшается.	–	–	–	[1]
	C(H ₂ O ₂)=2-5 М; Т= 100 °С	Начальная: 60-6 Конечная: 14-3,8	0,59-1,48 ммоль/г	0,883-2,3 ммоль/г	0,105-1,130 ммоль/г	наши данные
Реагент Фентона	H ₂ O ₂ (C=3,1×10 ⁻² -0,75 М) в присутствии Fe ²⁺ (C=2,5×10 ⁻² -0,2 М); постоянный рН; Т= 0 °С	Начальная: 110 Конечная: 2,2-11,7	D.S. [#] = 0,02-0,27 (соответствует 0,1-1,7 ммоль/г)*	D.S. [#] = 0,001-0,018 (соответствует 0,01-0,11 ммоль/г)*	–	[2]
Br ₂	рН=7; комн. темп.; 24-28 ч.	–	Вплоть до 50% колец (соответствует 3,1 ммоль/г)*	следовые количества	–	[3]
IO ₄ ⁻	0,15-3,1 М; комн. темп.	Начальная: 55 Конечная: 40-54	5-15% [§] (соответствует 0,3-0,9 ммоль/г)*	–	–	[4, 5]
	Мольное соотношение КЮ ₄ /глюкопиранозное кольцо 1:33 – 1:1; комн. темп.	Начальная: 40 Конечная: >30-32	1,5-52% ^{&} (соответствует 0,2-6,4 ммоль/г)*	–	–	[6]

[#] количество окисленных групп на 1 глюкопиранозное кольцо

* пересчитанные данные их статьи

[§] количество окисленных остатков на 100 глюкопиранозных колец[&] процент глюкопиранозных колец, содержащих по 2 альдегидные группы

Список литературы (к таблице П12)

1. Levi I., E. L. Depolymerization of dextran by hydrogen peroxide // *Can. J. Biochem. Physiol.* – 1955. – V. 33, No. 3. – P. 448-452.
2. Ahrgren L., Belder A.N. Action of Fenton's reagent on dextran // *Starch* – 1975. – V. 27, No. 4. – P. 121-123.
3. Harris J. M., Yalpani M., *Polymer-Ligands Used in Affinity Partitioning and Their Synthesis* // in *Partitioning in Aqueous Two-Phase Systems: Theory, Methods, Uses, and Applications to Biotechnology*; Walter, H.; eds. Brooks D. E., Fisher, D., Elsevier: USA, 1985, pp. 589–626.
4. Maia J., Ferreira L., Carvalho R., Ramos M.A., Gil M.H. Synthesis and characterization of new injectable and degradable dextran-based hydrogels // *Polymer* – 2005. – V. 46, No. 23. – P. 9604-9614.
5. Maia J., Ribeiro M.P., Ventura C., Carvalho R.A., Correia I.J., Gil M.H. Ocular injectable formulation assessment for oxidized dextran-based hydrogels // *Acta Biomater.* – 2009. – V. 5, No. 6. – P. 1948-1955.
6. Sokolsky-Papkov M., Domb A.J., Golenser J. Impact of aldehyde content on amphotericin β -dextran imine conjugate toxicity // *Biomacromolecules* – 2006. – V. 7, No. 5. – P. 1529-1535.

Физические параметры полимеров (Q – молекулярная масса, η_r – относительная вязкость, T_d – температура разложения).

		Параметры		
		Q, кДа	$\eta_{отн.}$	$T_{d \max}, ^\circ\text{C}$
Q	DexQ			
6		6,2	1,11	320
20		19,6	1,28	320
35		29,1	1,37	265
60		60,2	1,44	281
Q	n	OxDexQ(n)		
	1	3,8	1,08	311
6	2	4,2	1,08	309
	3	3,9	1,06	306
20	1	6,6	1,09	311
	2	5,4	1,09	313
	3	4,5	1,07	308
35	1	10,0	1,11	312
	2	5,3	1,10	312
	3	4,6	1,09	309
60	1	14,0	1,12	311
	2	5,2	1,11	308
	3	4,5	1,09	309
Q	n	NaOxDexQ(n)		
	1	-	1,09	303
6	2	-	1,09	306
	3	-	1,10	284
20	1	-	1,11	311
	2	-	1,12	310
	3	-	1,09	295
35	1	-	1,09	303
	2	-	1,13	305
	3	-	1,10	287
60	1	-	1,14	312
	2	-	1,11	313
	3	-	1,10	307

η_r – относительная вязкость полимера при 25 °С, $c = 20$ мг/мл.

$T_{d \max}$ – температура, при которой достигается максимальная скорость потери массы.

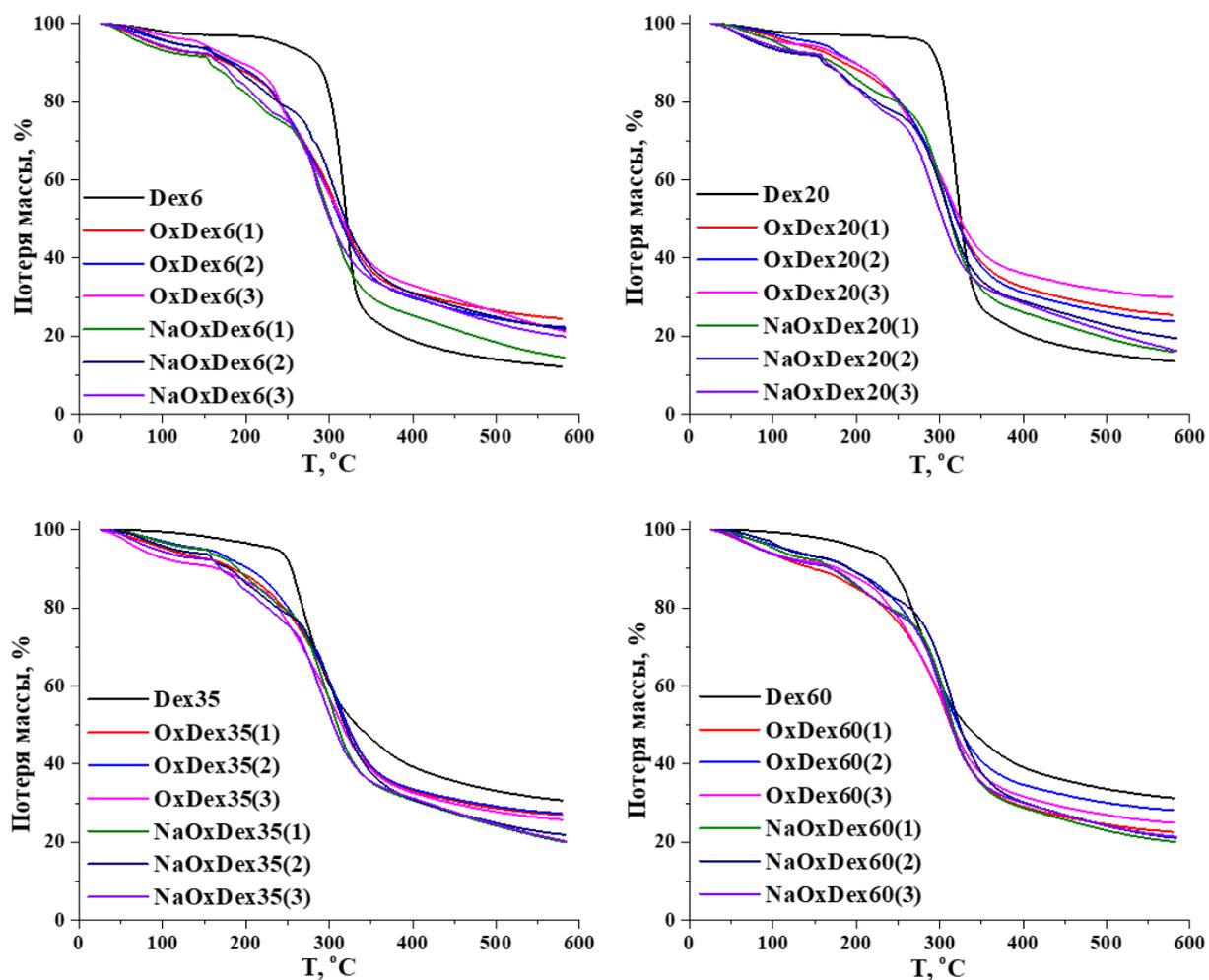


Рис. П28. Кривые потери массы для исходных декстранов (DexQ), окисленных декстранов (OxDexQ(n)) и их натриевых солей (NaOxDexQ(n)).

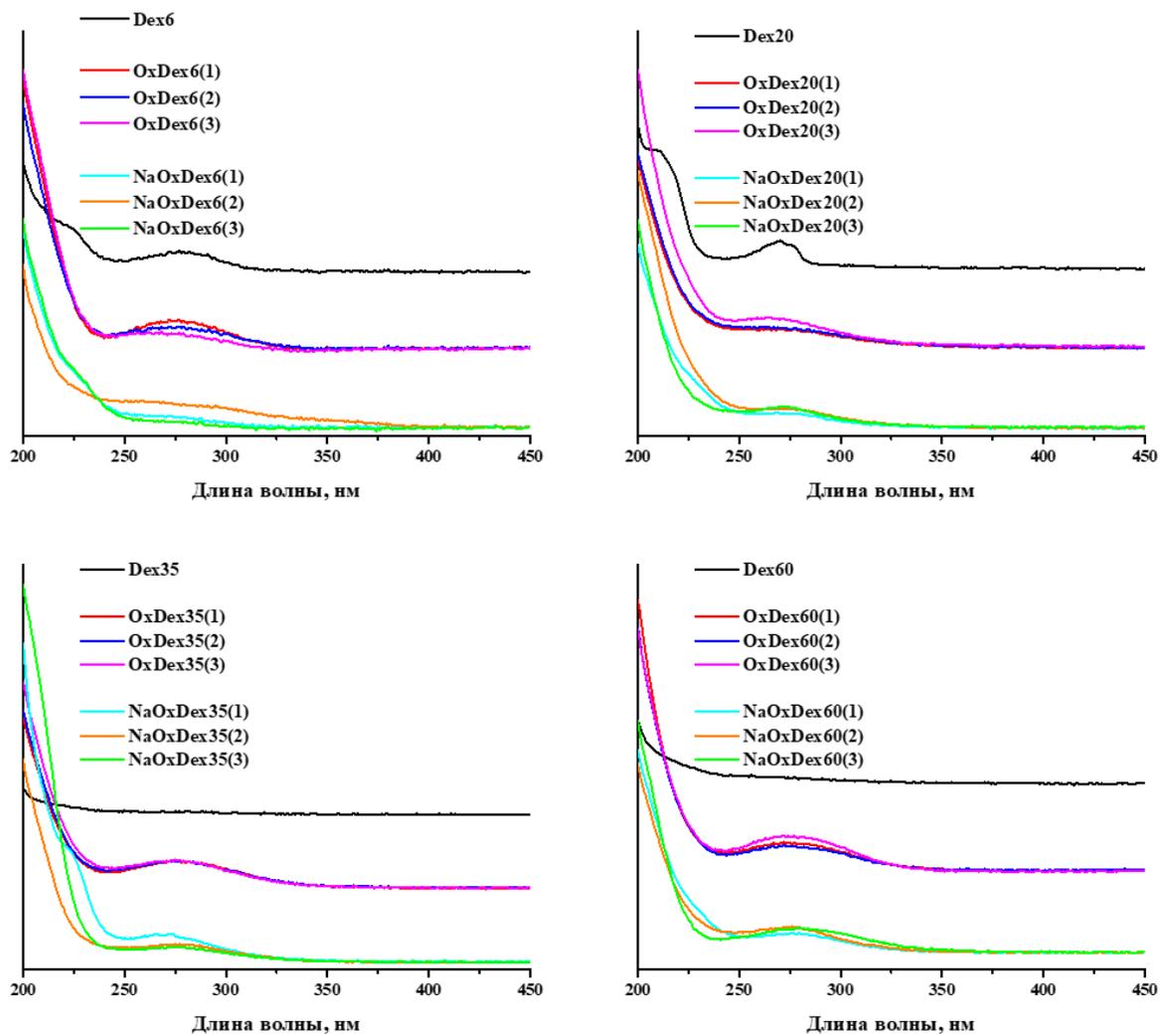


Рис. П29. Электронные спектры поглощения для водных растворов исходных декстранов (DexQ), окисленных декстранов (OxDexQ(n)) и их натриевых солей (NaOxDexQ(n)). Широкий сигнал в регионе 250-275 нм для Dex6 и Dex20 вероятно связан с карамелизацией или присутствием примесей в исходном полимере.

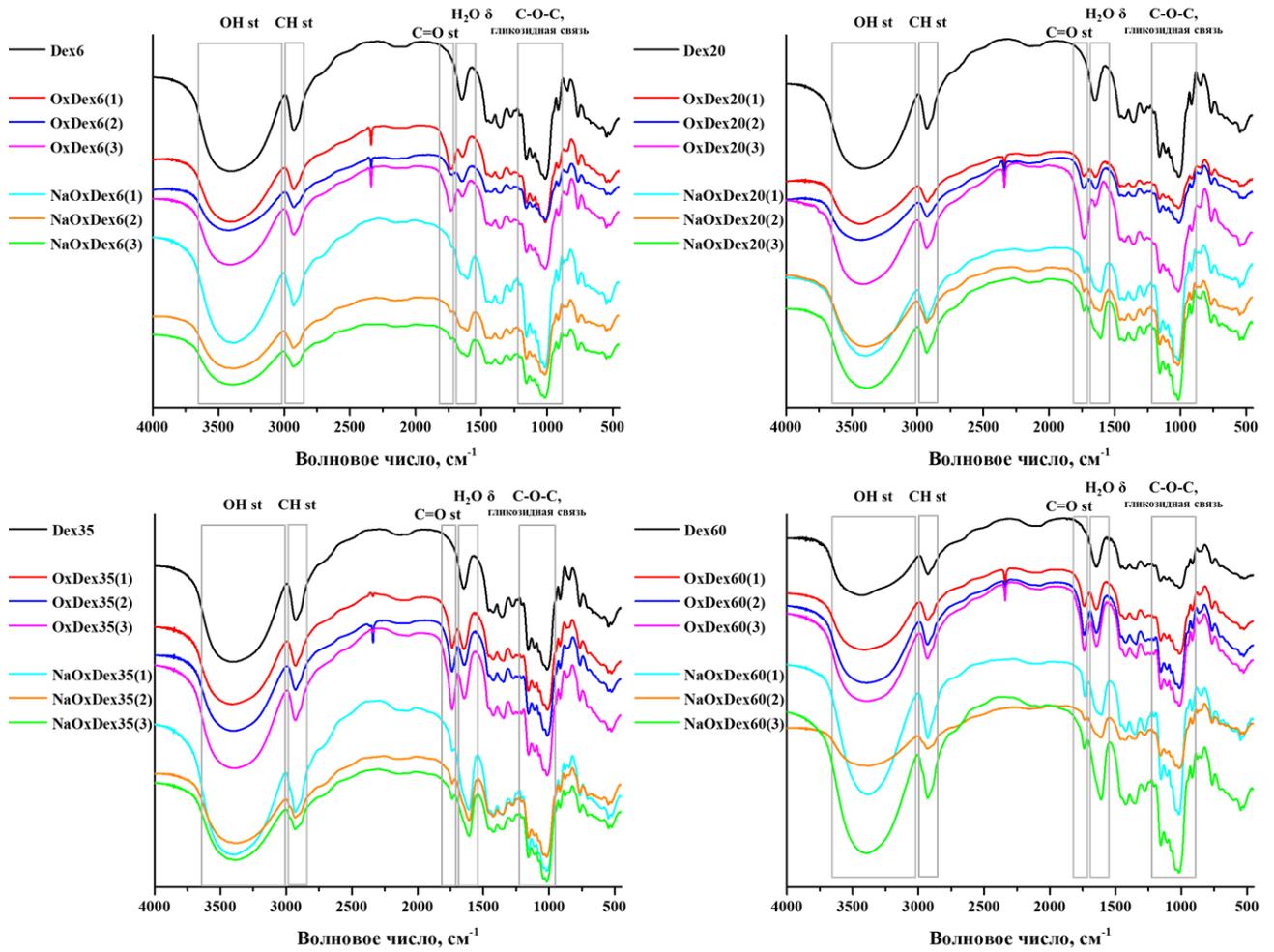


Рис. П30. ИК-спектры исходных декстранов (DexQ), окисленных декстранов (OxDexQ(n)) и их натриевых солей (NaOxDexQ(n)).

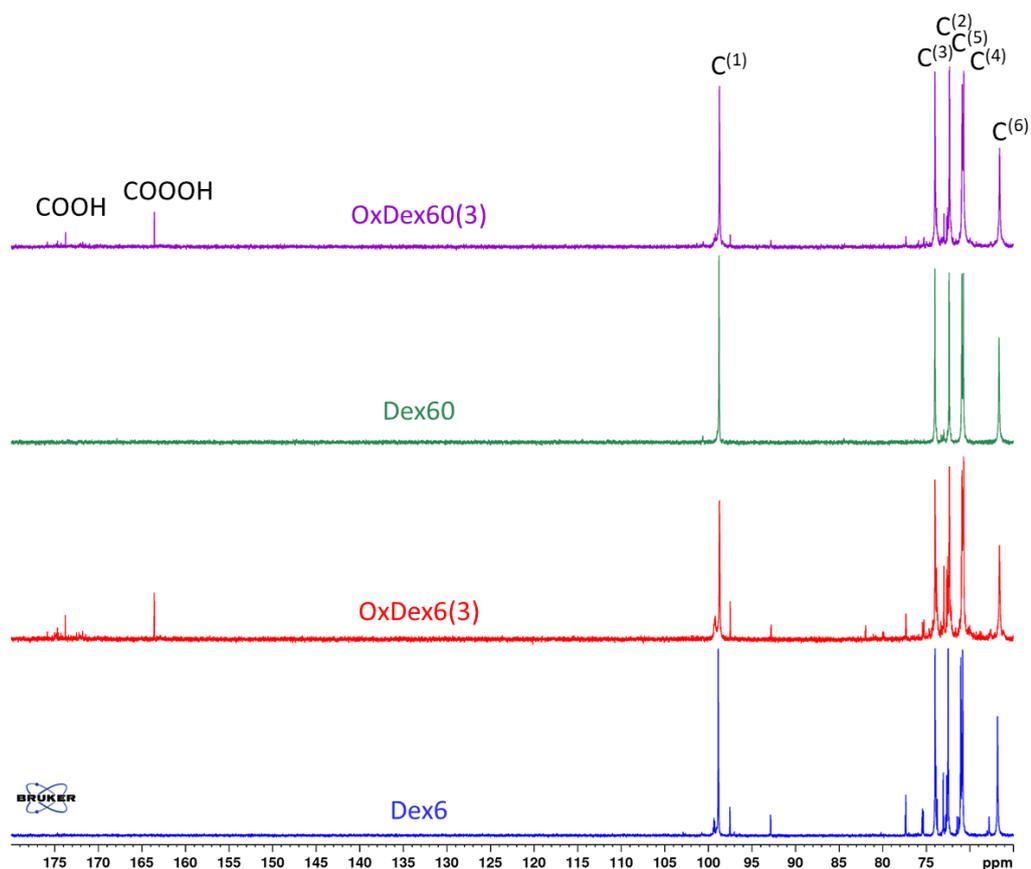


Рис. ПЗ1. ^{13}C -ЯМР спектры исходных (DexQ) и окислённых (OxDexQ(3)) декстранов в ДМСО- d_6 .

Т а б л и ц а П14.

Содержание различных функциональных групп в полимере после окисления.

DexQ(n)		Содержание окисленных групп, ммоль/г		
Q	n	Альдегидные группы	Кислотные группы	Пероксогруппы
	1	0,6±0,2	1,388±0,003	0,105±0,001
6	2	0,6±0,2	1,482±0,004	0,434±0,002
	3	0,59±0,09	2,30±0,01	1,130±0,006
	1	0,8±0,2	0,883±0,003	0,330±0,006
20	2	1,2±0,1	1,032±0,002	0,70±0,01
	3	1,0±0,1	1,506±0,003	1,36±0,03
	1	0,90±0,08	0,950±0,002	0,262±0,003
35	2	1,14±0,06	1,133±0,002	0,337±0,003
	3	1,00±0,07	1,469±0,003	1,030±0,007
	1	1,04±0,03	1,029±0,003	0,285±0,002
60	2	1,48±0,01	1,125±0,003	0,714±0,002
	3	1,29±0,08	1,480±0,002	0,826±0,006

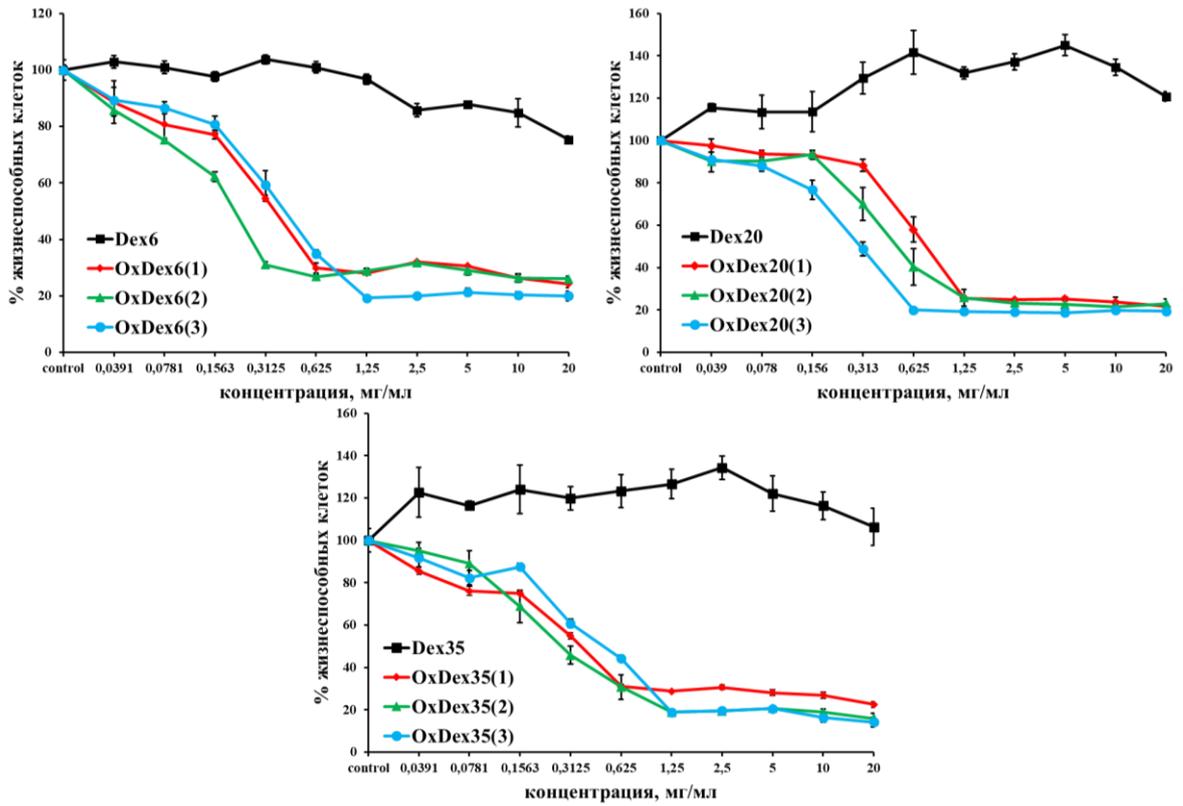


Рис. П32. Цитотоксичность исходных (DexQ) и окисленных (OxDexQ(n)) (Q = 6, 20, 35) декстранов на клетках линии Нер-2.

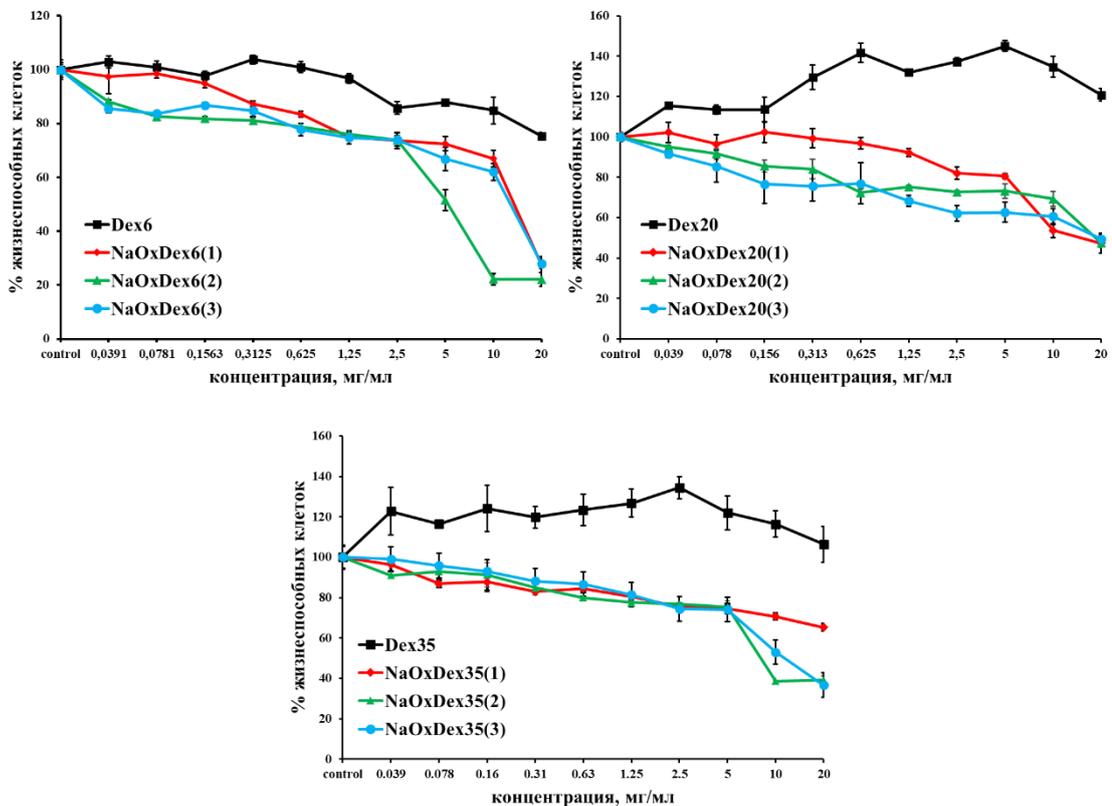


Рис. П33. Цитотоксичность исходных (DexQ) и натриевых солей окисленных (NaOxDexQ(n)) (Q = 6, 20, 35) декстранов на клетках линии Нер-2.

Материалы на основе кластерных комплексов и декстранов

Т а б л и ц а П15.

Соотнесение колебаний в области 1600-1740 см⁻¹ на ИК-спектре для OxDex60(1), NaOxDex60(1) и Mo¹⁰⁰@NaOxDex60(1).

Материал	Колебания на ИК-спектрах (область 1600-1740 см ⁻¹)	
	OxDex60(1)	1735,9 C=O (с), COOH (с)
NaOxDex60(1)	1732,0 C=O (с)	1610,5 H ₂ O δ, COO ⁻ (с)
Mo ¹⁰⁰ @NaOxDex60(1)	1735,9 C=O (с)	1635,6 H ₂ O δ, COO ⁻ (с), C=O (к), COO ⁻ (к)

(с) – свободная группа, (к) – координированная группа

Т а б л и ц а П16.

Содержание M₆ (M = Mo, W) (мкмоль/г) в полученных материалах, данные ИСП-АЭС.

x	5	10	50	100
Mo ^x @				
Dex6	1	-	-	28
NaOxDe6(1)	15	33	122	139
NaOxDe6(3)	21	31	127	144
Dex60	5	-	-	54
NaOxDe60(1)	19	31	97	115
NaOxDe60(3)	23	30	118	130
W ^x @				
Dex6	13	-	-	48
NaOxDe6(1)	6	11	51	82
NaOxDe6(3)	7	13	51	87
Dex60	5	-	-	59
NaOxDe60(1)	15	20	49	125
NaOxDe60(3)	9	16	58	119

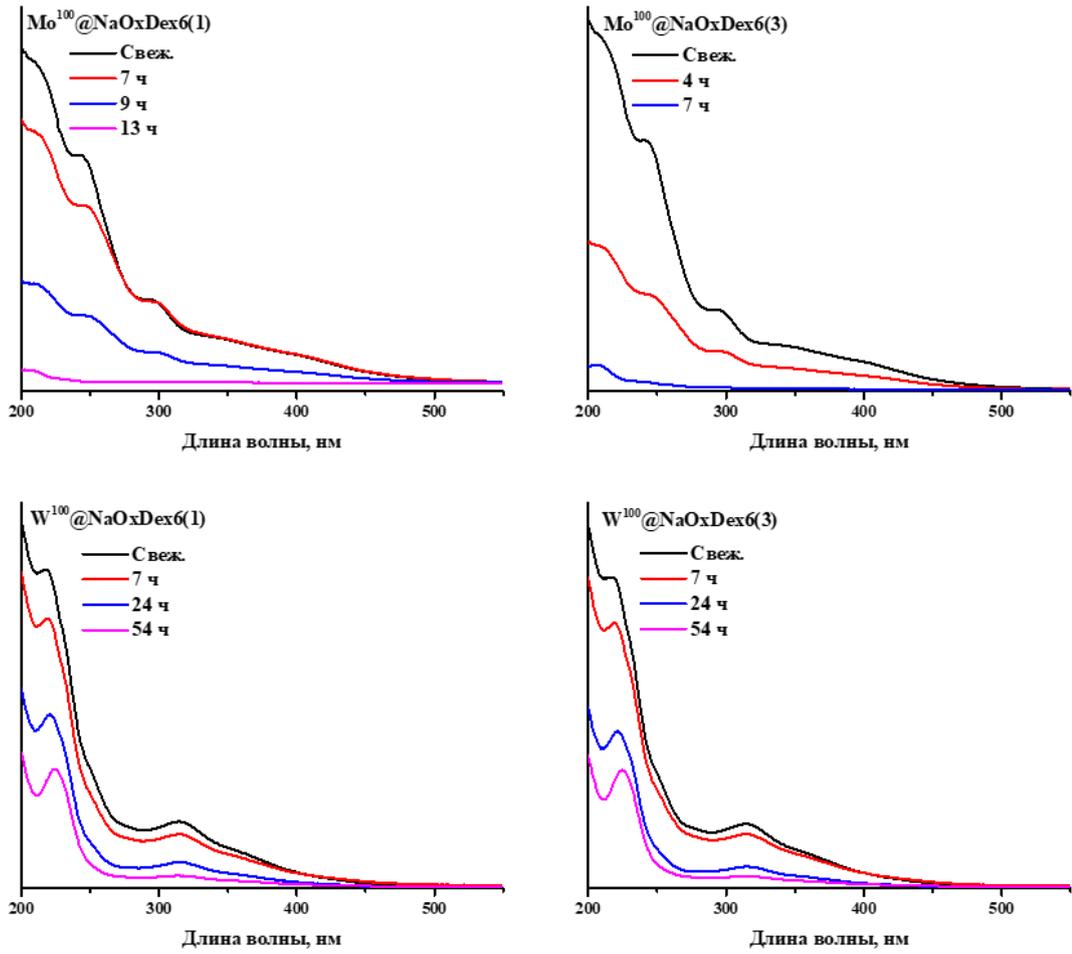


Рис. ПЗ4. ЭСП материалов $M^{100}@NaOxDex6(n)$ ($M = Mo, W, n = 1, 3$) в питательной среде от времени.

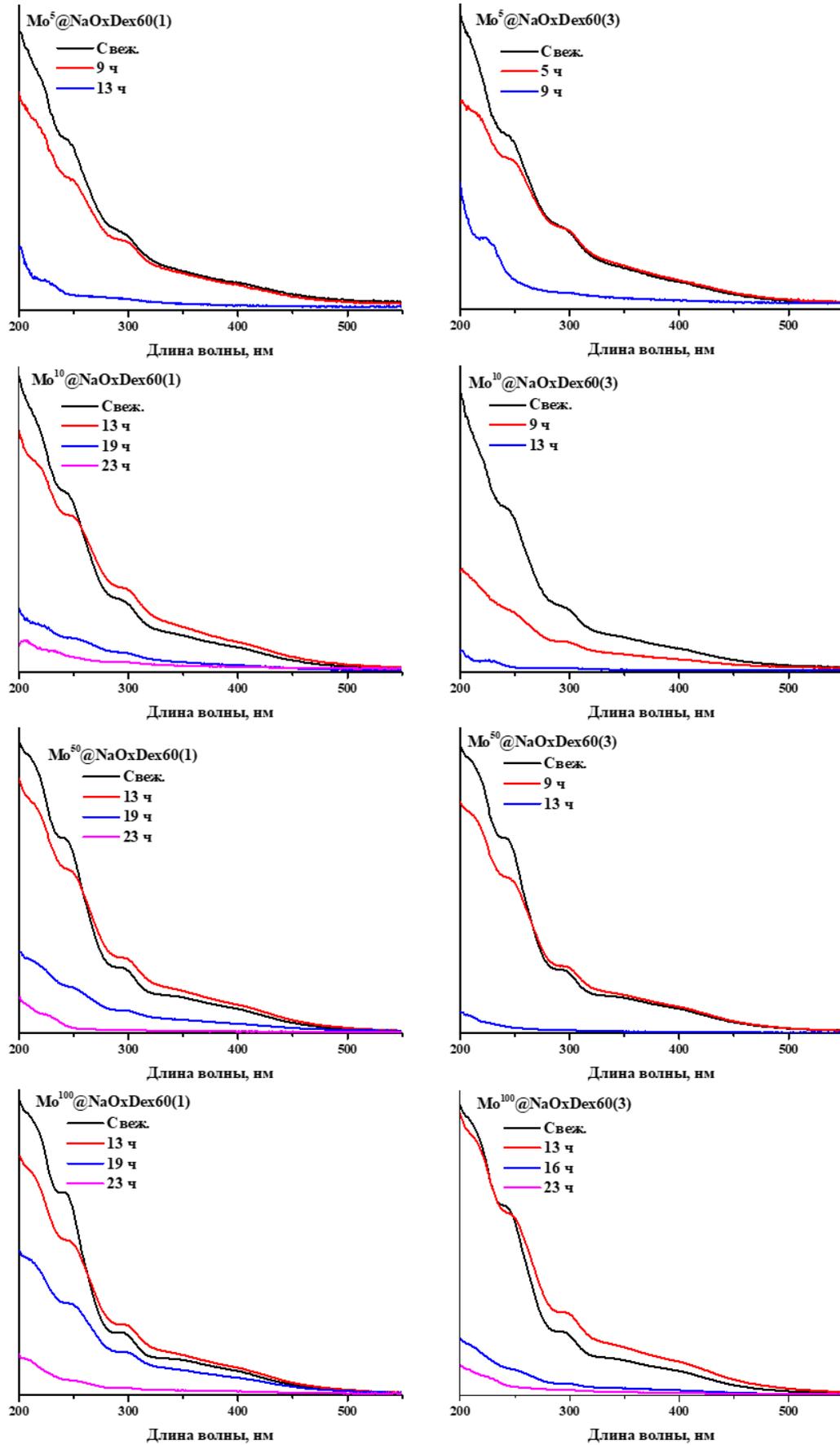


Рис. П35. ЭСП материалов $\text{Mo}^x@NaOxDex60(n)$ ($x = 5, 10, 50$ и $100, n = 1, 3$) в питательной среде от времени.

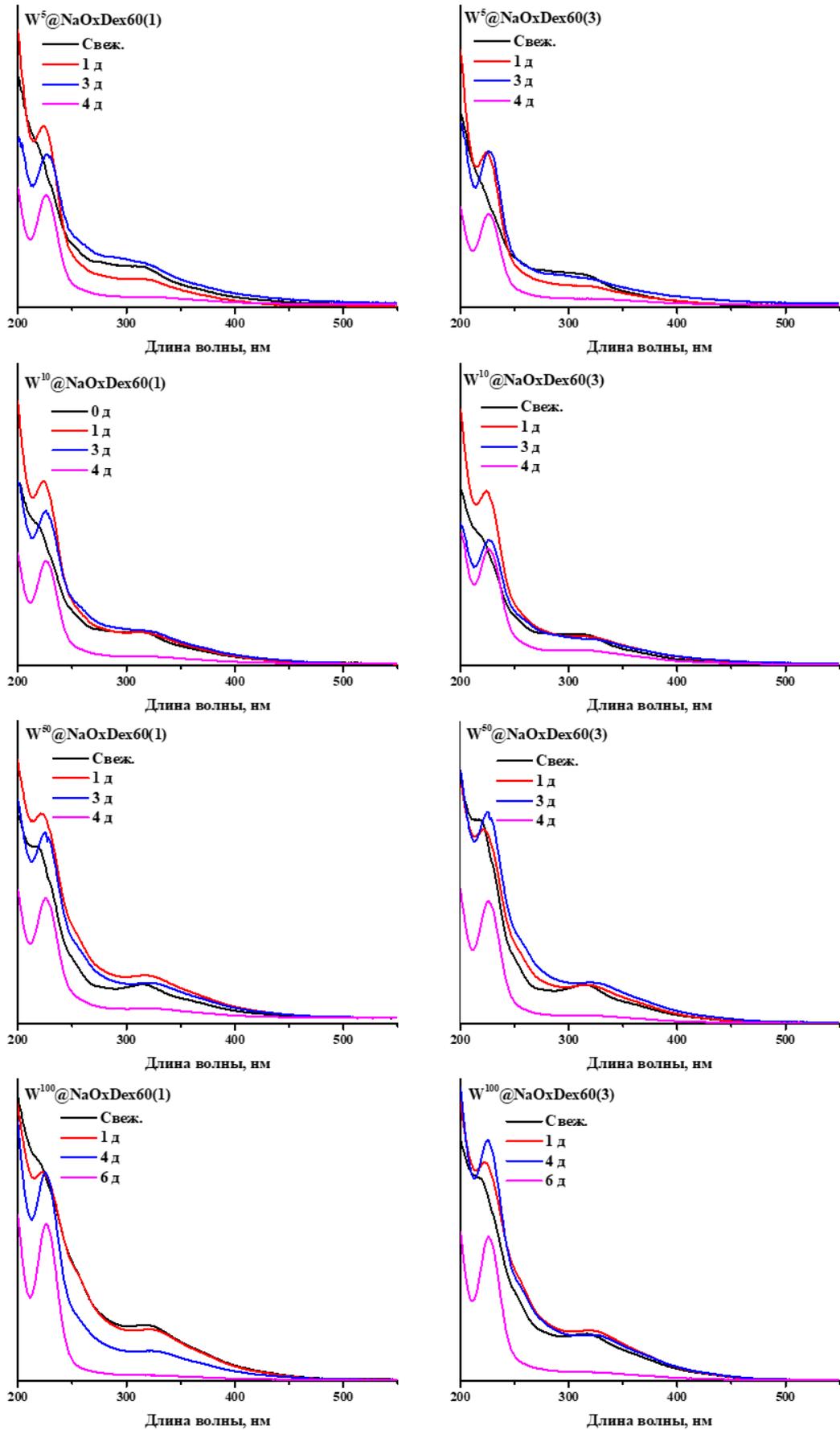


Рис. ПЗ6. ЭСП материалов $W^x@NaOxDex60(n)$ ($x = 5, 10, 50$ и 100 , $n = 1, 3$) в питательной среде от времени.

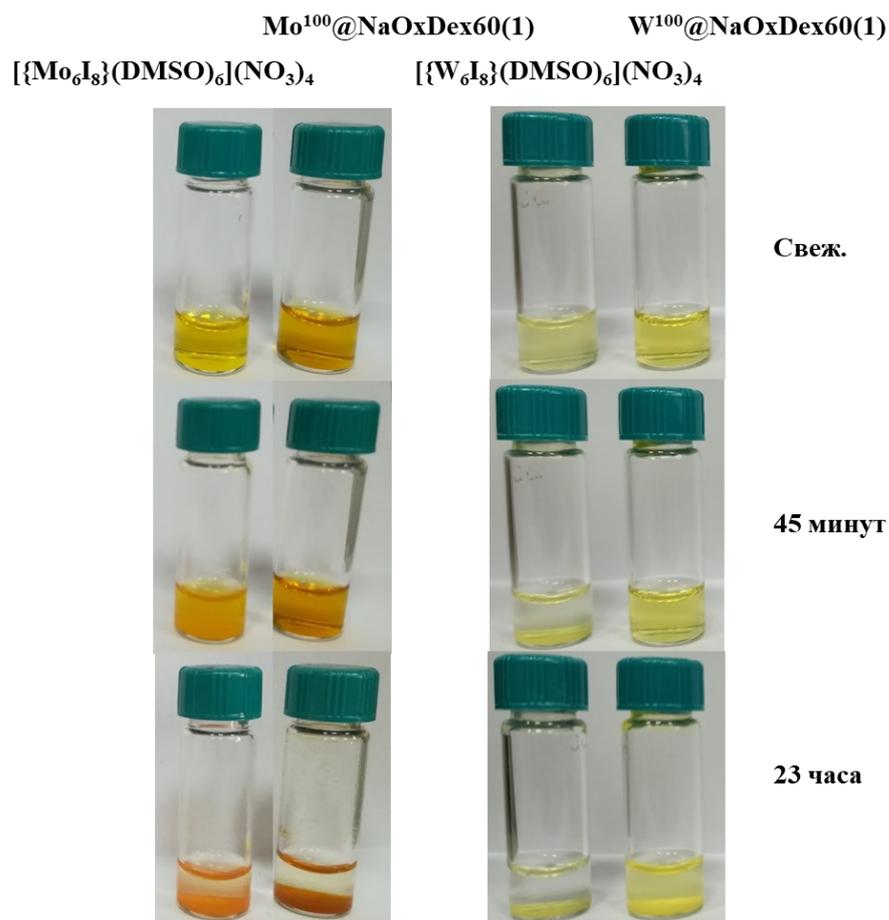


Рис. П37. Фотографии $[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_6](\text{NO}_3)_4$ и $\text{M}^{100}\text{@NaOxDex60(1)}$ ($\text{M} = \text{Mo}, \text{W}$) в питательной среде.

$\text{Mo}^{100}\text{@NaOxDex60(1)}$ $\text{Mo}^{100}\text{@Dex60(1)-Red}$

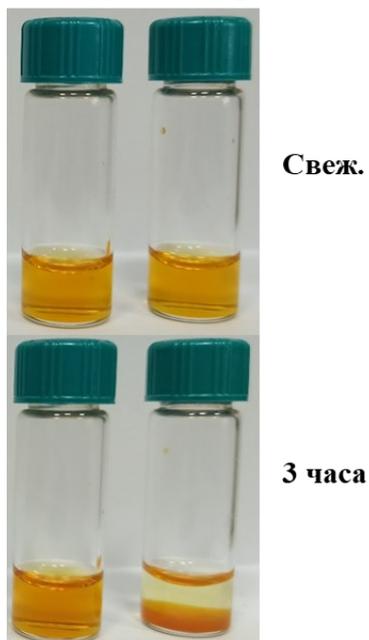


Рис. П38. Фотографии $\text{Mo}^{100}\text{@NaOxDex60(n)}$ и $\text{Mo}^{100}\text{@Dex60(1)-Red}$ в питательной среде.