

На правах рукописи



ПРОНИНА Екатерина Валерьевна

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

1.4.1. Неорганическая химия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Новосибирск – 2022

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт неорганической химии им. А.В. Николаева Сибирского отделения Российской академии наук (ИНХ СО РАН)

Научный руководитель:

доктор химических наук, ведущий научный сотрудник
Шестопалов Михаил Александрович

Официальные оппоненты:

доктор химических наук, член-корреспондент РАН,
заведующий кафедрой неорганической химии
Шевельков Андрей Владимирович
ФГАОУ ВО «Московский государственный университет
имени М.В. Ломоносова», г. Москва

кандидат химических наук, младший научный сотрудник
Ахмадеев Булат Салаватович
Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова –
обособленное структурное подразделение Федерального государственного
бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр
«Казанский научный центр Российской академии наук»», г. Казань

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт
«Международный томографический центр» Сибирского отделения Российской
академии наук, г. Новосибирск

Защита состоится «12» октября 2022 г. в 10.00 час.
на заседании диссертационного совета 24.1.086.01
на базе ИНХ СО РАН
по адресу: просп. Академика Лаврентьева, 3, г. Новосибирск, 630090

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИНХ СО РАН
и на сайте организации по адресу:

<http://www.niic.nsc.ru/institute/dissertatsionnyj-sovet/>

Автореферат разослан «05» июля 2022 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор химических наук, доцент



А.С. Потапов

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

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 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. 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. 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 $\text{Na}_2[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{RS})_6]$ ($\text{M} = \text{Mo}, \text{W}$; $\text{R} = \text{Ph}$ (фенил), Bn (бензил) и $4\text{-}^t\text{BuBn}$ (4-(трет-бутил)бензил)). 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 тиоферролат-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 (ДМСО 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 является 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 $[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_6](\text{NO}_3)_4$ ($\text{M} = \text{Mo}, \text{W}$) 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 атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой (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 гортани человека). Цитотоксичность образцов 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 лам-

па 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» (Жи-ф-сюр-Иветт, Франция, 2018), Международная конференция «XXVII International Conference on Coordination and Bioinorganic Chemistry» (Смоленце, 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 и литературных данных. 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).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во *введении* обоснована актуальность темы, поставлена цель и определены задачи исследования, сформулированы научная новизна, практическая значимость работы и положения, выносимые на защиту.

Первая глава диссертации представляет собой обзор литературы в области химии водорастворимых/вододиспергируемых галогенидных октаэдрических кластерных комплексов молибдена и вольфрама и материалов на их основе, а также химии неорганических люминофоров (квантовых точек и апковерсионных наночастиц), стабилизированных полисахаридами.

В первой части литературного обзора описаны современные исследования, посвященные водорастворимым/вододиспергируемым октаэдрическим галогенидным кластерным комплексам молибдена и вольфрама и исследованию их биологических свойств. Было продемонстрировано, что 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. Во второй части литературного обзора показано, что водорастворимые полисахариды и их производные являются эффективными стабилизирующими матрицами для квантовых точек и апковерсионных наночастиц. 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 диссертация.

Во *второй главе* приведен перечень применяемого в работе оборудования и реактивов. Для выполнения работы использовалось следующее основное оборудование: монокристалльные дифрактометры Bruker D8 VENTURE, Bruker DUO и Bruker-Nonius X8 Apex; порошковый дифрактометр Philips APD 1700 с использованием $\text{CuK}\alpha$ излучения, CHNS анализаторы EuroVector EA3000 и Vario MICRO cube; ИК Фурье спектрометр VERTEX 80; спектрометр UV-Vis-NIR Agilent Cary 60; высокоразрешающий ICP-AES спектрометр iCAP-6500 (Thermo Scientific) с распылительной камерой циклонного типа и распылителем «SeaSpray»; энергодисперсионный анализатор Hitachi TM3000 TableTop SEM с приставкой Bruker QUANTAX 70 EDS; масс-спектрометр сверхвысокого разрешения Bruker maXis 4G; ЯМР спектрометр Bruker Advance 500; термовесы TG 209 F1 Iris (NETZSCH); спектрофлуориметр Cary Eclipse (Agilent) и Fluoromax-4, оснащенный дуговой ксеноновой (безозоновой) лампой мощностью 150 Вт, фотоумножителем R928P, интегрирующей сферой Quanta-φ и монохроматором; просвечивающий электронный микроскоп Libra 120 (Zeiss); анализатор частиц ZetaSizer Nano-ZS; гельпроникающий хроматограф Agilent LC 1200; фотометр Multiskan FC (Thermo Scientific); цитофлуориметр CytoflexS (Beckman Coulter).

Далее в данной главе приведены методы получения и характеристики новых октаэдрических иодидных кластерных комплексов молибдена и вольфра-

ма, а также их стабилизация в водном растворе функционализированными декстранами. Кроме того, указаны детали проведения биологических анализов, таких как МТТ-тест, конфокальная лазерная сканирующая микроскопия, точная цитофлуориметрия и оценка фотоиндуцированной токсичности.

Третья глава посвящена полученным результатам и их обсуждению. Глава разделена на три части. Первые две части посвящены синтезу, характеристике и изучению стабильности в водном растворе новых кластерных комплексов с RS^- и ДМСО-лигандами. Для комплексов с ДМСО-лигандами исследованы биологические свойства. Третья часть посвящена получению, характеристике и исследованию биологических свойств материалов на основе комплексов и функционализированных декстранов.

Кластерные комплексы с тиолигандами

Для получения новых тиокомплексов в качестве исходного соединения в данной работе был выбран комплекс $Na_2[\{M_6I_8\}(OMe)_6]$ ($M = Mo, W$), а в качестве пролигандов – тиофенол (PhSH), бензилмеркаптан (BnSH) и 4-(трет-бутил)бензилмеркаптан (4-^tBuBnS). Синтез проводили в растворе абсолютного метанола в присутствии избытка пролиганда в запаянной стеклянной ампуле при 100 °С в течение 24 часов. Таким образом, было получено 6 новых шести-замещенных кластерных комплексов $Na_2[\{M_6I_8\}(RS)_6]$. Выход реакций для кластерных комплексов вольфрама составляет 21-53 %, а для кластерных комплексов молибдена он выше и находится в диапазоне 58-68 %. Результаты элементных анализов (ЭДС и CHNS-анализа), ИК-спектроскопии и масс-спектрометрии подтверждают замещение терминальных лигандов OMe^- на RS^- .

При обработке реакционной смеси Bu_4NI происходит замещение катиона Na^+ на Bu_4N^+ и образуются соли $(Bu_4N)_2[\{M_6I_8\}(RS)_6]$ ($M = Mo, W, R = Ph, Bn, 4-^tBuBn$), для которых были определены кристаллические структуры (рис. 1).

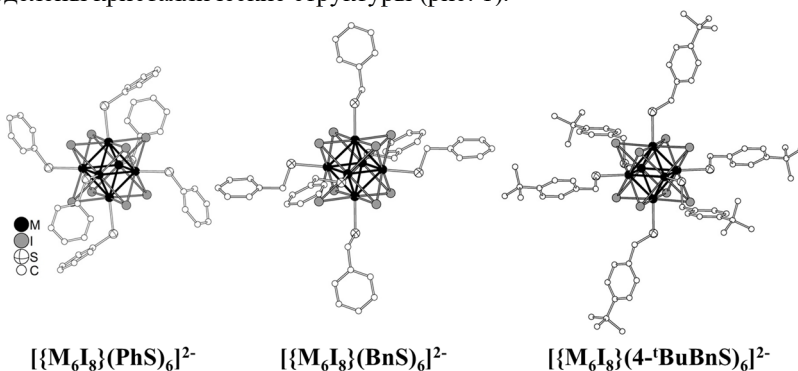


Рис. 1. Строение анионов $[\{M_6I_8\}(RS)_6]^{2-}$ ($M = Mo, W; R = Ph, Bn, 4-^tBuBn$).

Все полученные комплексы растворимы в органических растворителях, в то время как в воде растворимы только натриевые соли комплексов с PhS^- и VnS^- лигандами.

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

На примере комплекса $\text{Na}_2\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6$ с помощью ^1H ЯМР и ИК-спектроскопии было показано, что в растворе ацетона тиолиганды окисляются до сульфенатов (RSO^-) и сульфинатов (RSO_2^-).

При выдерживании комплекса в ацетоне при дневном свете на спектрах люминесценции наблюдается смещение максимума эмиссии в более коротковолновую область. Интересно отметить, что облучение растворов УФ лампой ускоряет этот процесс (рис. 2). Проведя дополнительные эксперименты, мы обнаружили, что сдвиг максимума эмиссии происходит только при выдерживании раствора комплекса в присутствии кислорода при облучении. Вероятно, в этом случае кластерный комплекс фотосенсибилизирует процесс генерации синглетного кислорода, который в свою очередь окисляет тиол в составе кластерного комплекса.

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

Согласно данным масс-спектрометрии в свежеприготовленном водном растворе комплекса $\text{Na}_2\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6$ содержатся формы только с тиофенолят-лигандами. Однако, при выдерживании этого раствора в течение 24 часов, образуется форма с одной гидроксогруппой $[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_5(\text{OH})]^{2-}$, а также формы с окисленными тиофенолят-ионами $[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_{6-x}(\text{PhSO})_x]^{2-}$ ($x = 2, 4$). При более длительном выдерживании комплекса в водном растворе происходит выпадение в осадок полностью гидролизованного аквагидроксо-комплекса состава $[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{H}_2\text{O})_2(\text{OH})_4] \cdot 14\text{H}_2\text{O}$, что было подтверждено данными РСА.

На электронных спектрах поглощения кластерного комплекса в аэрированном водном растворе со временем наблюдается снижение интенсивности сигнала ($\lambda = 301$ нм), в то время как в деаэрированном растворе спектр не меняется. Следовательно, в отсутствии кислорода данный комплекс не подвергается гидролизу. Вероятно, только окисленные тиолиганды замещаются на воду и/или гидроксид-ионы.

Таким образом, проведенное детальное исследование комплекса $\text{Na}_2\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6$ дает фундаментальные знания о поведении тиокластеров в

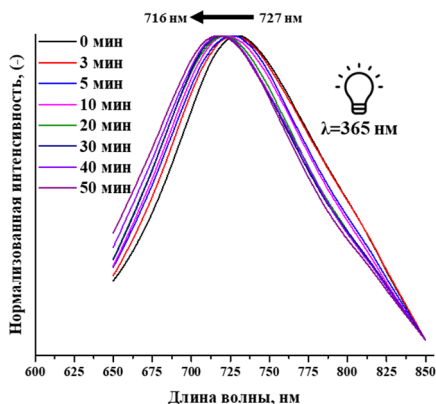


Рис. 2. Спектры люминесценции $\text{Na}_2\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{PhS})_6$ в ацетоне при облучении лампой с длиной волны 365 нм в зависимости от времени.

органических растворителях и водном растворе. 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.

Кластерные комплексы с ДМСО-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 образуются новые комплексы $[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_6](\text{NO}_3)_4$ ($\text{M} = \text{Mo}$ (**7**) выход 97%; W (**8**) выход 94%). Для комплекса (**7**) была определена кристаллическая структура методом РСА (рис. 3). Для соединения (**8**) не удалось получить кристаллы, пригодные для РСА, однако, по данным РФА комплексы (**7**) и (**8**) изоструктурны. Состав полученных соединений также был подтвержден с помощью ИК-спектроскопии, CHNS анализа и ЭДС.

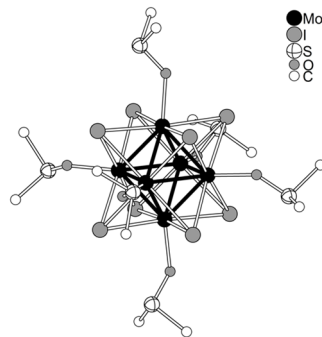


Рис. 3. Строение кластерного катиона $[\{\text{Mo}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_6]^{4+}$.

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

Оба комплекса проявляют яркую красную (в случае молибдена) / оранжевую (в случае вольфрама) люминесценцию (табл. 1).

Т а б л и ц а 1.

Фотофизические характеристики $[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_6](\text{NO}_3)_4$ ($\text{M} = \text{Mo}, \text{W}$).

	M = Mo			M = W		
	$\lambda_{эм}$, нм	$\tau_{эм}$, мкс	$\Phi_{эм}$	$\lambda_{эм}$, нм	$\tau_{эм}$, мкс	$\Phi_{эм}$
$(\text{Bu}_4\text{N})_2[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{NO}_3)_6]$	666	$\tau_1=96$ $\tau_2=26$	0,26	660	7	0,04
$[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_6](\text{NO}_3)_4$	681	$\tau_1=66,6$ $\tau_2=164,7$	0,19	631	$\tau_1=21,8$ $\tau_2=311,1$	0,18

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.

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

Полученные комплексы $[\{\text{M}_6\text{I}_8\}(\text{DMSO})_6](\text{NO}_3)_4$ растворимы в воде, однако со временем из водных растворов выпадает нерастворимый аморфный осадок. Опираясь на данные ИК-спектроскопии и ЭДС ($\text{M}:\text{I}:\text{S}=6,0:8,2:0$), можно

сделать предположение, что в воде образуются известные аквагидроксиокомплексы $[\{M_6I_8\}(H_2O)_2(OH)_4] \cdot nH_2O$.

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. 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 (рис. 4). Отношение интегралов сигналов ДМСО в растворе D_2O связано со степенью гидролиза ($x = I_{\text{ДМСО-с}} / (I_{\text{ДМСО-с}} + I_{\text{ДМСО-к}})$, где интегральные интенсивности протонов свободных и координированных молекул ДМСО обозначены как $I_{\text{ДМСО-с}}$ и $I_{\text{ДМСО-к}}$ соответственно). Для расчета эффективных констант скорости ($k_{\text{эфф}}$) кинетику гидролиза аппроксимировали как реакцию первого порядка.

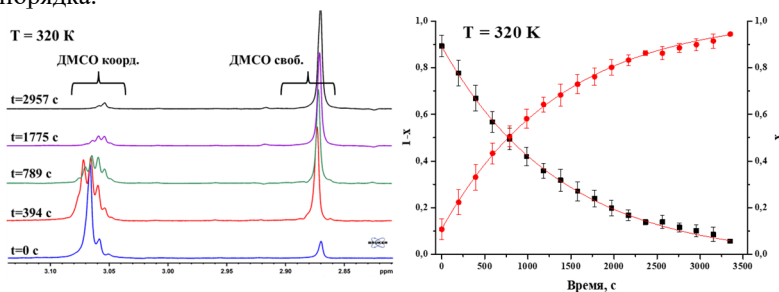


Рис. 4. Фрагмент 1H ЯМР в D_2O (слева) и кинетическая кривая гидролиза (справа) при 320 К для $[\{Mo_6I_8\}(DMSO)_6](NO_3)_4$.

Полученные константы использовали для определения энергии активации (E_a) по уравнению Аррениуса (табл. 2). Согласно экспериментальным данным, для каждой температуры константа скорости гидролиза комплекса молибдена выше на 1-2 порядка константы для (8). Энергия активации для комплекса (8) выше, чем для (7) примерно на 27 кДж/моль. Следовательно, комплекс вольфрама более устойчив к гидролизу чем молибденовый аналог.

Т а б л и ц а 2.

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

	Т, К	$k_{\text{эфф}} \cdot 10^6, \text{с}^{-1}$	$E_a, \text{кДж} \cdot \text{моль}^{-1}$
(7)	300	78 ± 2	86 ± 4
	320	720 ± 20	
	340	3900 ± 400	
(8)	300	$1,35 \pm 0,04$	$109,9 \pm 0,1$
	320	21 ± 1	
	340	240 ± 10	

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

Было принято решение в первую очередь провести биологические исследования для наиболее гидролитически устойчивого комплекса –

$[W_6I_8](DMSO)_6(NO_3)_4$. Цитотоксичность на клетках линии Нер-2 (клетки рака гортани человека) оценивали для свежеприготовленного и выдержанного 4 или 7 дней водных растворов кластерного комплекса (8). Согласно полученным данным, гидролизованные формы обладают более высокой темновой цитотоксичностью в сравнении с исходным комплексом с ДМСО-лигандами (рис. 5). Это связано с тем, что выдержанный раствор кластера лучше проникает в клетки в сравнении со свежеприготовленным (данные проточной цитофлуориметрии).

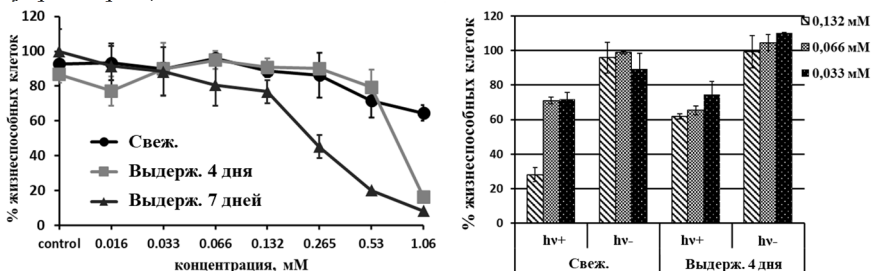


Рис. 5. Темновая цитотоксичность (8), время инкубации 48 часов (слева); фотоиндуцированная цитотоксичность (8), время инкубации 4 часа (справа).

Для исследования фотоиндуцированной цитотоксичности клетки обрабатывали свежеприготовленным и выдержанным 4 дня водным раствором (8) с нетоксичной концентрацией, 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) свежеприготовленный раствор проявляет ярко выраженную фототоксичность – после облучения количество жизнеспособных клеток составляет 28 ± 4 % (рис. 5).

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 фотодинамической терапии. 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.

Поведение $[Mo_6I_8](DMSO)_6(NO_3)_4$ в питательной среде

На примере (8) 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, 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 $[Mo_6I_8](DMSO)_6(NO_3)_4$ в питательной среде. Для проведения

этого эксперимента мы использовали свежеприготовленный (частично гидролизованные формы) и выдержанный 4 дня (полностью гидролизованные формы) водный раствор комплекса.

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 результатам ЭДС и CHNS анализа в полученных осадках кластерное ядро Mo_6I_8 сохраняется, а другие элементы, которые входят в состав компонентов питательной среды (сера, фосфор, углерод и азот) не обнаружены. Согласно данным ПЭМ в обоих случаях образуются наночастицы одинакового размера ($d \sim 80$ нм).

В ходе медленной встречной диффузии водного раствора (7) и питательной среды были получены монокристаллы, параметры которых соответствуют уже известным аквагидрохсокомплексам $\{[\text{Mo}_6\text{I}_8\{\text{(H}_2\text{O)}_2(\text{OH})_4\}] \cdot 2\text{H}_2\text{O} (\text{АН} \cdot 2\text{H}_2\text{O})$ и $\{[\text{Mo}_6\text{I}_8\{\text{(H}_2\text{O)}_2(\text{OH})_4\}] \cdot 14\text{H}_2\text{O} (\text{АН} \cdot 14\text{H}_2\text{O})$. Стоит отметить, что рост кристаллов занимает не менее 5 дней, и за это время свежеприготовленный раствор комплекса становится выдержанным. Согласно литературным данным $\text{АН} \cdot 14\text{H}_2\text{O}$ обладает более яркой люминесценцией с максимумом эмиссии, смещенным в синюю область, по сравнению с $\text{АН} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Таким образом, изучение люминесцентных свойств для образцов, полученных в питательной среде, позволит достоверно определить их состав.

Для свежеприготовленного раствора комплекса в питательной среде со временем наблюдалось уменьшение интенсивности люминесценции наряду со сдвигом максимума излучения с 645 до 705 нм (рис. 6). Такое поведение соответствует постепенному гидролизу комплекса (7) с последующим осаждением в виде $\text{АН} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (максимум эмиссии для $\text{АН} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 705 нм). В случае выдержанного раствора интенсивность люминесценции увеличивалась со сдвигом с 705 до 690 нм. Вероятно, в этом случае в питательной среде моментально образуются наночастицы $\text{АН} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, которые затем медленно преобразуются в более люминесцентную форму $\text{АН} \cdot 14\text{H}_2\text{O}$ (рис. 6).

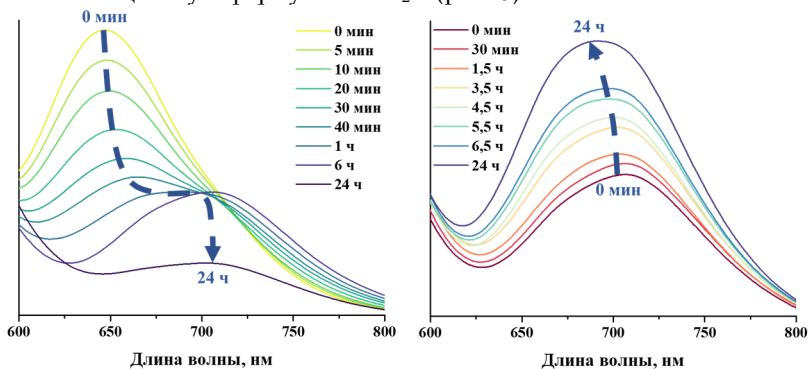


Рис. 6. Изменение спектра эмиссии свежеприготовленного (слева) и выдержанного (справа) водного раствора (7) в питательной среде.

Механизм превращений в питательной среде можно представить следующим образом (рис. 7): выдержанный раствор (7) содержит в своем составе только полностью гидролизованные формы комплекса и моментально выпадает в осадок в виде $\text{АН}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, а затем медленно переходит в форму $\text{АН}\cdot 14\text{H}_2\text{O}$. В случае свежеприготовленного раствора (7) для выпадения в осадок аквагидроксо формы $\text{АН}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ необходимо пройти через лимитирующую стадию замещения терминальных ДМСО-лигандов. Дальнейшее превращение $\text{АН}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ в $\text{АН}\cdot 14\text{H}_2\text{O}$ не происходит, так как спустя 24 часа наблюдается агрегация наночастиц, которая предотвращает трансформацию осадков. Следовательно, предварительное выдерживание комплекса (7) в растворе является важным этапом для получения люминесцентных наночастиц, поскольку позволяет пропустить лимитирующую стадию замещения лигандов.

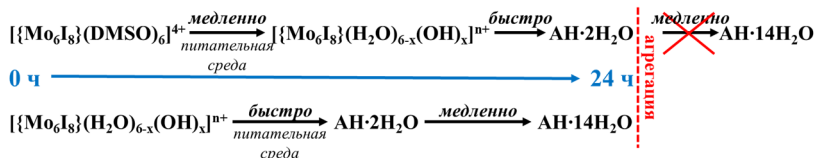


Рис. 7. Схематичное представление процессов, происходящих в питательной среде для свежеприготовленного и выдержанного водных растворов (7).

Биологические исследования для $\text{[Mo}_6\text{I}_8\text{](DMSO)}_6\text{](NO}_3\text{)}_4$

Детально изучив поведение $\text{[Mo}_6\text{I}_8\text{](DMSO)}_6\text{](NO}_3\text{)}_4$ в питательной среде, мы перешли к исследованию его цитотоксичности на клетках линии Нер-2. Как видно на рисунке 8 свежеприготовленный раствор комплекса (7) приводит к снижению жизнеспособности клеток. Вероятно, в этом случае происходит высвобождение лигандов ДМСО, и, следовательно, рост локальной концентрации ДМСО и NO_3^- внутри клеток и их гибель. 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.

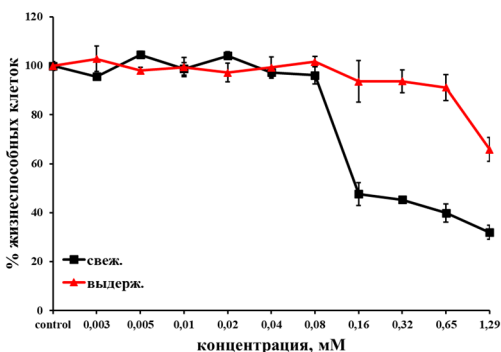


Рис. 8. Темновая цитотоксичность (7), инкубация 24 часа.

Клеточное проникновение кластерного комплекса (7) оценивали с помощью ИСП-АЭС. 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), в то время как для выдержанного раствора (7) это значение выше (28,6 мкг молибдена в 10^6 клеток). Как и вольфрамовый аналог, свежеприготовленный раствор комплекса молиб-

дена, содержащий в основном негидролизованые/частично гидролизованые формы молекулярного комплекса, обладает низкой способностью проникать через клеточную мембрану. В случае выдержанного раствора (7) образуются наночастицы АН, которые хорошо проникают в клетки.

Таким образом, несмотря на высокую скорость гидролиза, использование свежеприготовленного или выдержанного водного раствора $[\{Mo_6I_8\}(DMSO)_6](NO_3)_4$ оказывает значительное влияние на биологические свойства кластерного комплекса. В обоих случаях в питательной среде происходит образование наноразмерных частиц аквагидроксокомплекса. 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 является способность слабо люминесцентного $АН \cdot 2H_2O$ трансформироваться в более люминесцентную форму $АН \cdot 14H_2O$, что реализуется при использовании выдержанного раствора (7). Так, например, 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.

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 далее.

Стабилизация кластерных комплексов декстранами и их производными

Функционализация декстранов

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. Кроме того, гидроксильные группы можно легко химически модифицировать, например, с помощью реакции окисления. В качестве окислительного агента было решено использовать пероксид водорода (H_2O_2), так как он является экологически чистым окислителем.

Для функционализации были выбраны 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, выливали смесь в чашку Петри и выдерживали при 100 °С до полного высыхания. Окисленные декстраны обозначили как OxDexQ(n) (где $n = 1, 2, 3$ - обозначения используемой концентрации перокси-

да водорода – 2,0 М, 3,4 М или 5,0 М соответственно). В ходе окисления образуются альдегидные, карбоксильные группы, а также пероксикислоты $-C(O)OOH$ (рис. 9), что было подтверждено различными физико-химическими методами анализа (ЯМР-, ИК- и электронная спектроскопия). Количественно определив содержания функциональных групп, было установлено, что концентрация окислителя и молекулярная масса исходного декстрана оказывают влияние на состав окисленного полимера (рис. 10).

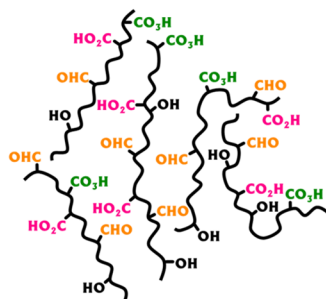


Рис. 9. Схематическое представление OxDexQ(n)

С помощью гель-проникающей хроматографии была определена молекулярная масса полимеров OxDexQ(n). Окисление декстрана приводит к частичному разрушению полимерной цепи, что связано с разрушением гликозидных (CH_2-O-CH) связей между глюкопиранозными

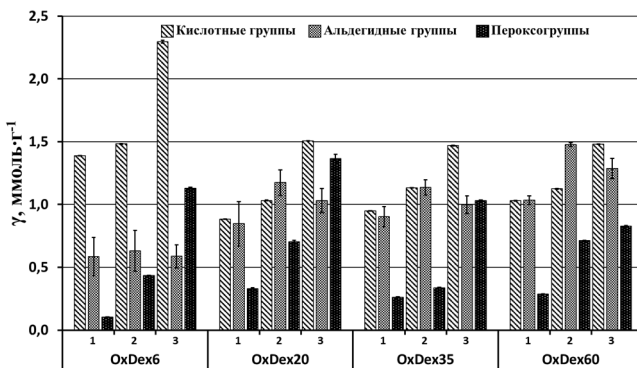


Рис. 10. Содержание различных функциональных групп в ммоль на грамм полимера в OxDexQ(n).

кольцами с образованием окисленных концевых групп. 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.

Исследование биологических свойств окисленных декстранов

Поскольку окисленный декстран в контексте нашей работы рассматривается как стабилизирующий агент для создания функциональных материалов, которые могут быть использованы в биомедицине, то необходимо оценить влияние окисленных групп в составе полимера на его цитотоксические показатели.

Для исследования цитотоксичности клетки линии Нер-2 инкубировали с декстранами с диапазоном концентраций 0,039–20 мг/мл в течение 24 часов. Было показано, что все полимеры DexQ приводят к заметному усилению про-

лиферации клеток, в то время как токсичность OxDexQ(n) оказалась весьма высокой: наименьшее значение IC_{50} (концентрации полумаксимального ингибирования) составило всего $0,21 \pm 0,02$ мг/мл (для OxDex6(2)). Высокая цитотоксичность связана с присутствием органических пероксидов. Для разрушения пероксогрупп водные растворы OxDexQ(n) обрабатывали раствором NaOH до pH=7, при этом образуются натриевые соли окисленного декстрана (NaOxDexQ(n)), которые проявляют низкую токсичность во всем диапазоне исследуемых концентраций.

Полученный мультифункциональный полимер является отличным кандидатом для стабилизации кластерных комплексов с ДМСО-лигандами в водном растворе, что будет рассмотрено далее.

Включение комплексов в функционализированные декстраны

Для стабилизации кластерных комплексов $[\{M_6I_8\}(DMSO)_6](NO_3)_4$ ($M = Mo, W$) в водном растворе были выбраны декстраны с молекулярной массой 6 кДа (Dex6) и 60 кДа (Dex60), а также натриевые соли окисленных декстранов NaOxDexQ(n) ($Q = 6, 60, n = 1, 3$). Различные молекулярные массы и разное содержание альдегидных и кислотных групп выбранных полимеров позволяют выявить параметры, влияющие на стабилизацию кластерных комплексов.

Для получения водорастворимых материалов $M^x@DexQ$ и $M^x@NaOxDexQ(n)$ (где $x = 5$ и 100 для DexQ и $x = 5, 20, 50$ 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) кластерный комплекс и декстран растворяли в ДМСО и перемешивали 24 часа при комнатной температуре. Полученный материал $M^x@DexQ$ или $M^x@NaOxDexQ(n)$ выделяли из реакционной смеси путем осаждения избытком этанола. Предполагается, что при взаимодействии полимера и кластерного комплекса альдегидные и/или кислотные группы декстрана могут связываться с кластерным ядром, или терминальные лиганды кластерного комплекса могут образовывать водородные связи с полимером (рис. 11).

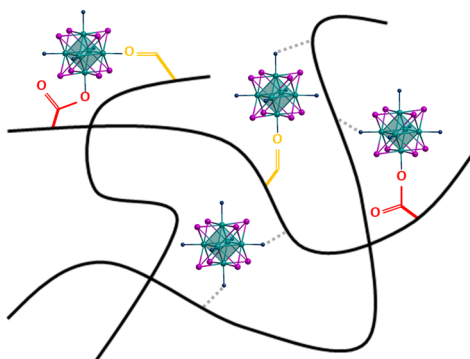


Рис. 11. Схематичное представление взаимодействия кластерного комплекса и окисленного декстрана

Предполагается, что при взаимодействии полимера и кластерного комплекса альдегидные и/или кислотные группы декстрана могут связываться с кластерным ядром, или терминальные лиганды кластерного комплекса могут образовывать водородные связи с полимером (рис. 11).

Для всех выделенных образцов было определено содержание молибдена и вольфрама с помощью ИСП-АЭС (рис. 12). Согласно полученным данным в окисленные декстраны включается больше комплекса, чем в исходные полимеры. В случае комплекса молибдена степень окисленности (общее содержание альдегидных и кислотных групп) и молекулярная масса исходных декстранов не оказывает значительного влияния на включение комплекса. В случае

комплекса вольфрама 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.

С помощью ИСП-АЭС в 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 выступают в роли лигандов.

Стабильность материалов на основе декстранов в питательной среде

Для оценки эффективности декстранов как стабилизирующих агентов мы исследовали поведение полученных образцов в питательной среде. В случае образцов на основе немодифицированных декстранов, 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. Наиболее эффективным стабилизирующим агентом проявил себя NaOxDex60(1) – декстран с наибольшим содержанием альдегидных групп и наибольшей молекулярной массой среди окисленных полимеров. Использование этого декстрана позволяет получать материалы на основе комплексов молибдена и вольфрама, стабильные в питательной среде вплоть до 23 часов и 6 дней соответственно.

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 $NaBH_3CN$ для восстановления альдегидных групп, при этом карбоксильные группы не претерпевают изменений. Образец на основе полученного полимера и $[\{Mo_6I_8\}(DMSO)_6](NO_3)_4$ стабилен в питательной среде только в течение 3 часов, что значительно ниже, чем для материалов на основе NaOxDex60(1).

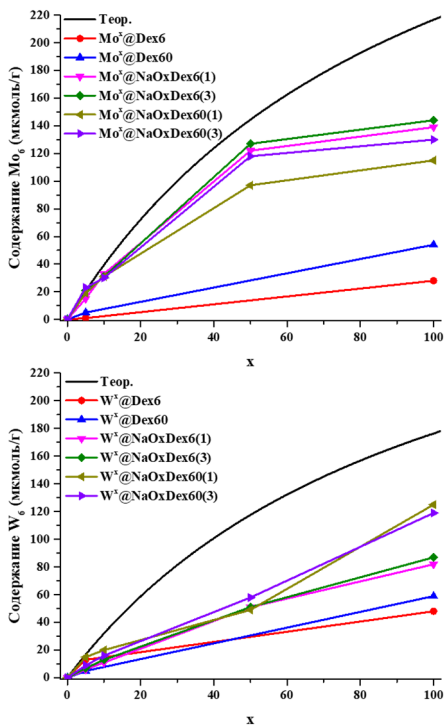


Рис. 12. Содержание M_6 ($M = Mo, W$) в полученных материалах.

Следовательно, наличие альдегидных групп в окисленном полимере действительно является важным фактором для 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 ($x = 50, 100$).

Люминесцентные свойства материалов на основе декстранов

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 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. Что касается люминесцентных свойств в растворе, то в деаэрированном растворе фосфатного буфера 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 %.

Биологические исследования материалов на основе декстранов

Для биологических исследований был выбран наиболее стабильный материал – $W^{100}@NaOxDex60(1)$. После 0,5, 2 и 5 часов инкубации с клетками линии Нер-2 материал не проявляет цитотоксического эффекта, в то время как после 14 и более часов инкубации жизнеспособность клеток значительно снижается. Используя данные о содержании кластерного комплекса в материале (ИСП-АЭС), можно перевести IC_{50} в единицы ммоль(кластерного ядра)/л (табл. 3). 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.

Согласно данным проточной цитофлуориметрии с увеличением времени инкубации увеличивается клеточное проникновение (после 5 часов инкубации материал проникает в 3,5 % клеток, в то время как после 14 часов это значения возрастает до 30 % и выходит на плато).

Для исследования фотоиндуцированной цитотоксичности клетки инкубировали с водным раствором $W^{100}@NaOxDex60(1)$ с нетоксичной концентрацией и облучали светом ($\lambda = 400–800$ нм) в течение 30 минут. Согласно полученным данным материал проявляет слабовыраженный фототоксический эффект – количество жизнеспособных клеток снижается до 67 %.

Значение IC_{50} (в ммоль (кластерное ядро)/л) для $W^{100}@NaOxDex60(1)$ в сравнении с (8) 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
(8) (свеж.)	–	–	>1,06	–	>1,06	>1,06
(8) (выдерж. 4 дня)	–	–	0,94±0,3*	–	0,89±0,01	0,85±0,07
(8) (выдерж. 7 дней)	–	–	–	–	–	0,24±0,01

– эксперимент не проводили; * Время инкубации 6 ч.

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 темную цитотоксичность комплекса. Полученный материал проникает в клетки, в связи с чем его можно рассматривать как агент для биовизуализации.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

- Предложены методики и оптимизированы условия синтеза иодидных октаэдрических кластерных комплексов молибдена и вольфрама с тиолигандами $Na_2[\{M_6I_8\}(RS)_6]$ ($M = Mo, W$; $R = Ph, Bn$ и 4-^iBuBnS). На примере $Na_2[\{Mo_6I_8\}(PhS)_6]$ 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 H_2O/OH^- . Установлено, что наличие кислорода и облучение светом играют ключевую роль в процессе окисления.
- Показано, что при взаимодействии $(Bu_4N)_2[\{M_6I_8\}(NO_3)_6]$ ($M = Mo, W$) с диметилсульфоксидом происходит замещение терминальных лигандов NO_3^- , и образуются новые комплексы $[\{M_6I_8\}(DMSO)_6](NO_3)_4$. 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.
- Установлено, что добавление свежеприготовленного и выдержанного в течение 4 дней водного раствора $[\{Mo_6I_8\}(DMSO)_6](NO_3)_4$ в питательную среду приводит к формированию различных продуктов, а именно $АН \cdot 2H_2O$ и $АН \cdot 14H_2O$ соответственно ($АН - [\{Mo_6I_8\}(H_2O)_2(OH)_4]$). Предложен ме-

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

Основное содержание диссертации изложено в следующих работах:

1. 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.
2. 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.
3. 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.

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 ИСП-АЭС, 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. Еделевой Марии Владимировне (НИОХ СО РАН) за проведение характеристики полимерных материалов методом гелепроникающей 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.

ПРОНИНА Екатерина Валерьевна

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

Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата химических наук
Изд. лиц. ИД № 04060 от 20.02.2001.

Подписано к печати и в свет 22.06.2022.

Формат 60×84/16. Бумага № 1. Гарнитура “Times New Roman”

Печать оперативная. Печ. л. 1,2. Уч.-изд. л. 1,1. Тираж 100. Заказ № 96

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт неорганической химии им. А.В. Николаева СО РАН
Просп. Акад. Лаврентьева, 3, Новосибирск, 630090