

На правах рукописи

АХМАДЕЕВ БУЛАТ САЛАВАТОВИЧ

**НАНОРАЗМЕРНЫЕ КОНТРАСТНЫЕ АГЕНТЫ НА ОСНОВЕ
КОМПЛЕКСОВ ГАДОЛИНИЯ С КЕПЛЕРАТАМИ И
ГЕКСАРЕНИЕВЫМИ КЛАСТЕРАМИ**

02.00.04 – физическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Казань – 2020

Работа выполнена на кафедре физической химии Химического института им. А.М. Бутлерова Казанского (Приволжского) федерального университета и в лаборатории физико-химии супрамолекулярных систем Института органической и физической химии им. А.Е. Арбузова – обособленного структурного подразделения Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук»

Научный руководитель: доктор химических наук, доцент
Мустафина Асия Рафаэлевна

Официальные оппоненты: доктор химических наук, профессор
Штыков Сергей Николаевич,
Саратовский национальный исследовательский
государственный университет имени Н.Г.
Чернышевского, профессор кафедры
аналитической химии и химической экологии

доктор химических наук, доцент
Селиванова Наталья Михайловна
Казанский национальный исследовательский
технологический университет,
профессор кафедры физической и коллоидной
химии

Ведущая организация: Институт физической химии и электрохимии им.
А.Н. Фрумкина РАН

Защита диссертации состоится **28 декабря 2020 года в 14 часов 30 минут** на заседании диссертационного совета Д 022.004.02 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук» по адресу: 420088, г. Казань, ул. Акад. Арбузова, д. 8, ИОФХ им. А.Е. Арбузова – обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН, конференц-зал.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ИОФХ им. А.Е. Арбузова – обособленного структурного подразделения ФИЦ КазНЦ РАН и на сайте www.iopc.ru.

Отзывы на автореферат в двух экземплярах просим присылать по адресу: 420088, г. Казань, ул. Акад. Арбузова, д. 8, ИОФХ им. А.Е. Арбузова, ученому секретарю совета, e-mail: toropchina@iopc.ru

Автореферат разослан «11» ноября 2020 года.

Учёный секретарь
диссертационного совета,
кандидат химических наук

Торопчина А.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Магнитно-резонансная томография является широко известным методом неинвазивной диагностики заболеваний и патологий. Для усиления контраста в МР-изображениях используют молекулярные парамагнитные контрастные агенты на основе комплексов гадолиния, многие из которых уже коммерчески доступны. Причем, чем выше магнитно-релаксационные характеристики или так называемая релаксивность ионов гадолиния в составе контрастных агентов, тем лучший контрастный эффект можно получить на их основе.

Степень разработанности темы. Токсичность ионов гадолиния и низкая релаксивность коммерческих контрастных агентов на основе комплексов гадолиния ограничивает их широкое использование. Согласно литературным данным создание гадолиний содержащих контрастных агентов на основе наночастиц позволяет многократно увеличить их эффективность и понизить токсичность. Однако агрегация в наночастицы является необходимым, но не достаточным условием высоких значений релаксивности. В свою очередь, достаточными условиями высокой релаксивности являются высокое гидратное число ионов гадолиния и быстрый обмен между внутрисферными молекулами воды и массой раствора, а также доступность ионов гадолиния для взаимодействия с молекулами воды. Последние факторы трудно достижимы для наночастиц на основе оксидов и нерастворимых солей гадолиния. Более перспективным методологическим подходом к созданию контрастных агентов является оптимизация структуры и размеров лигандного окружения ионов гадолиния для создания «больших комплексов» в качестве строительных блоков наночастиц с одновременным сохранением наибольшего количества молекул воды в составе координационной сферы ионов гадолиния.

Стремительное развитие координационной химии гексаядерных кластеров и полиоксометаллатов позволяет рассматривать их как перспективные лиганды для ионов гадолиния. Это определило выбор ряда гексаядерных кластеров с апикальными лигандами способными координировать ионы гадолиния, а также кеплератов - гигантских производных полиоксометаллатов в качестве лигандов для ионов гадолиния с целью создания наноразмерных контрастных агентов. Помимо оптимизации структуры лигандного окружения для достижения поставленной цели должны быть оптимизированы коллоидные характеристики создаваемых агрегатов, а также их коллоидная и химическая стабильность как предпосылки низкой цитотоксичности и стабильности магнитно-релаксационных характеристик в плазме крови.

Научная новизна работы заключается в том, что:

- Установлена корреляция между структурой связывающих фрагментов на поверхности кеплератов для ионов гадолиния и магнитной релаксивности при комплексообразовании ионов гадолиния с кеплератами в растворах.

- Показано, что высокие значения релаксивности обусловлены замедлением вращательного и поступательного движения ионов гадолиния с сохранением как внутрисферных молекул воды, так и скорости их обмена за счет координации акваионов гадолиния внешними порами кеплератов.

- Найдено, что максимальная релаксивность достигается для комплексов с кеплератами Mo_{132} и $\text{W}_{72}\text{Mo}_{60}$ при координации ионов Gd^{3+} порами Mo_9O_9 и $\text{W}_3\text{Mo}_6\text{O}_9$. На основе сопоставительного анализа как магнитной релаксивности, так и химической окислительной деградации комплексов гадолиния с варьируемой стехиометрией от 1:1 до 10:1 с кеплератами различной структуры было установлено, что комплекс Gd^{3+} с $\text{W}_{72}\text{Mo}_{60}$ со стехиометрией 1:1 является оптимальным с точки зрения магнитной релаксивности и химической стабильности.

- Установлено, что агрегация кеплератов и их комплексов с Gd^{3+} является важнейшим фактором, управляющим их магнитной релаксивностью. Агрегация, в свою очередь, управляется стехиометрическим соотношением Gd :кеплерат, а также взаимодействием кеплератов с противоионами.

- На примере комплексообразования Gd^{3+} с анионными гексарениевыми кластерами показана зависимость магнитно-релаксационных характеристик Gd^{3+} -содержащих коллоидов не только от их размеров, но и от степени их кристалличности, которая, в свою очередь, определяется природой халькогенидов Q^{2-} кластерного ядра $\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}^{2+}$.

- Выявлена роль гидрофильной стабилизации Gd^{3+} -содержащих нанокolloидов в их магнитной релаксивности, химической стабилизации кластерных и кеплератных лигандов, а также в минимизации процессов вымывания ионов Gd^{3+} в буферных растворах бычьего альбумина, моделирующих плазму крови.

- На основании данных по цитотоксичности, химической и коллоидной стабильности, магнитной релаксивности, измеренной, в том числе, на медицинском томографе оценена перспективность разработанных нанокolloидов для использования в качестве контрастных агентов.

Целью работы является создание наночастиц на основе комплексов гадолиния с гексарениевыми кластерами и кеплератами с функциональными характеристиками, оптимальными для использования в качестве контрастных агентов в ЯМР томографии. Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

- Получение обладающих магнитно-релаксационными свойствами наночастиц на основе комплексов гадолиния с гексарениевыми кластерами и кеплератами.

- Выявление корреляций структура-свойство в ряду различных по структуре гексаядерных кластеров и кеплератов с целью определения оптимального лиганда, обеспечивающего эффективное комплексообразование с ионами Gd^{3+} , и приводящего к образованию наночастиц с высокими магнитно-релаксационными характеристиками последних.

- Установление влияния эффектов агрегации наночастиц на магнитно-релаксационные характеристики ионов Gd^{3+} , а также выявлена роль триблок сополимеров в гидрофильной стабилизации наночастиц.

- Оптимизация структуры лигандов, мольного соотношения лиганд: Gd^{3+} , размеров образующихся наночастиц для достижения баланса высоких магнитно-релаксационных характеристик с коллоидной и химической стабильностью, в том числе в растворах, моделирующих плазму крови, а также с низкой цитотоксичностью.

Теоретическая и практическая значимость. Выявленные в данной работе фундаментальные корреляции «структура-свойство» демонстрируют потенциал металлоксидных наноструктур кеплератов и гексаядерных кластеров для создания высокорелаксивных контрастных агентов в магнитно-резонансной томографии. В работе также показано, что оптимизация размера и морфологии Gd^{3+} -содержащих нанокolloидов наряду со структурой лигандов позволяет управлять магнитной релаксивностью коллоидов. Практическая значимость работы заключается в том, что оптимизация структуры лигандов и морфологии нанокolloидов направлена не только на создание высоких магнитно-релаксационных характеристик, но и на минимизацию их цитотоксичности за счет увеличения химической стабильности комплексов Gd^{3+} с кеплератами и кластерами в растворах, моделирующих плазму крови.

Методология и методы исследования. Для решения поставленных задач были использованы методы: магнитной-релаксационной спектроскопии, люминесцентной спектроскопии, динамического рассеяния света, спектроскопии поглощения, малоуглового рентгеновского рассеяния и трансмиссионной электронной микроскопии.

Положения, выносимые на защиту

- Структурные особенности кеплератов, в частности структура внешних пор в качестве связывающих сайтов ионов гадолиния для эффективной координации последних как необходимая предпосылка высоких значений продольной и поперечной магнитной релаксивности.

- Влияние процессов агрегации комплексов Gd^{3+} с кеплератами на магнитно-релаксационные характеристики ионов Gd^{3+} -агрегатов и химическую стабильность соответствующих комплексов.

- Мольное соотношение Gd^{3+} :кеплерат и взаимодействие с противоионами как основные факторы, управляющие агрегацией комплексов Gd^{3+} с кеплератами.

- Комплекс Gd^{3+} с кеплератом определенной структуры ($W_{72}Mo_{60}$) со стехиометрией 1:1, обеспечивающий оптимальный баланс высокой магнитной релаксивности и химической стабильности.

- Агрегация комплексов Gd^{3+} с анионными гексарениевыми кластерами как основная причина образования высокорелаксивных коллоидов, магнитно-релаксационные характеристики которых зависят от размеров и степени кристалличности наночастиц, влияние природы халькогенидов Q^{2-} кластерного ядра $\{Re_6Q_8\}^{2+}$ на размер агрегатов.

- Роль агрегатов триблок сополимеров в качестве гидрофильных стабилизаторов коллоидов на основе комплексов Gd^{3+} с кластерами и кеплератами. Влияние гидрофильной стабилизации триблок сополимерами как агрегированных, так и молекулярных комплексов Gd^{3+} с кластерами и кеплератами на химическую стабильность комплексов в буферных растворах бычьего альбумина, моделирующих плазму крови.

Степень достоверности результатов. Достоверность результатов подтверждается многократной воспроизводимостью экспериментальных данных, полученных с помощью современных физических методов исследования.

Апробация результатов. Основные результаты диссертационной работы были обсуждены на конференциях: 5^{ая} Конференция по неорганической химии, 5th EUCHEMS (Москва, 2019); Первый русско-китайский воркшоп по органической и супрамолекулярной химии (Казань, 2018); Вторая научная школа для молодых ученых «Дизайн магнетоактивных соединений» (Иркутск, 2017); Международный семинар по соединениям включениям ISIC-16 (Казань, 2017); «Супрамолекулярные стратегии в химии, биологии и медицине: фундаментальные проблемы и перспективы» (Казань, 2019);

Публикации. На основе диссертационной работы было опубликовано 6 статей в журналах, рекомендуемых ВАК РФ, и тезисы 5 докладов в материалах международных конференций.

Объем и структура работы. Работа изложена на 119 страницах, содержит 41 рисунок, 2 схемы и 5 таблиц, а также 129 библиографических ссылок. Диссертационная работа состоит из введения, трех глав, основных результатов и выводов, списка сокращений и списка литературы. В первой главе представлен литературный обзор по магнитно-релаксационным свойствам гадолиния и его комплексов. Рассмотрены различные платформы для создания контрастных агентов, в частности наноразмерный подход. Вторая глава посвящена объектам исследования, методам получения наночастиц и методам исследования. Глава 3 посвящена обсуждению полученных результатов. В ней рассмотрены процессы комплексообразования и коллоидообразования гексаядерных кластеров и сферических полиоксометаллатов с ионами гадолиния. После 3 главы следуют основные результаты и выводы по проделанной работе, список сокращений и список литературы.

Личный вклад автора заключается в анализе литературных данных по теме диссертации, в постановке целей и задач исследования, проведении и обсуждении экспериментов, формулировке выводов и написании статей. Диссертантом лично выполнены эксперименты методами динамического рассеяния света, спектроскопии электронного поглощения, ядерной магнитной релаксации, люминесцентной спектроскопии, и подготовлены образцы для проведения экспериментов ПЭМ, МУРР, РСА и АЭС.

Работа выполнена совместно на кафедре физической химии Химического института им. А.М. Бутлерова Федерального государственного автономного

образовательного учреждения высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет» и лаборатории физико-химии супрамолекулярных систем Института органической и физической химии им. А.Е. Арбузова – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук»

Автор выражает огромную благодарность и признательность научному руководителю д.х.н. Мустафиной Асие Рафаэлевне за руководство, помощь и поддержку на всех этапах работы. Автор благодарен коллективу лаборатории Физико-химии супрамолекулярных систем ИОФХ им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН, а именно к.х.н. Елистратовой Ю.Г. за помощь в освоении приборной базы и методов получения наночастиц, к.х.н. Заирову Р.Р. за проведение магнитно-релаксационных экспериментов в Италии. Автор признателен зав. кафедры неорганической химии, д.х.н., профессору Амирову Р.Р. за обсуждение результатов (Химический факультет К(П)ФУ); д.х.н. Губайдуллину А.Т. за проведение и обсуждение особенно важных экспериментов по МУРР и РСА (ИОФХ им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН); д.х.н. М.Н. Соколову и к.х.н. Кореневу В.С за предоставленные образцы кеплератов (Институт неорганической химии им. А.В. Николаева РАН); д.х.н. Брылеву К.А. за предоставленные образцы кластеров (Институт неорганической химии им. А.В. Николаева РАН); к.х.н. Низамееву И.Р. за проведение экспериментов по трансмиссионной электронной микроскопии (ИОФХ им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН); к.х.н. Холину К.В. за проведение экспериментов по атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой (ИОФХ им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН); Сапуновой А.С. и к.б.н. Волошиной А.Д. за проведение экспериментов по изучению цитотоксичности коллоидных растворов (ИОФХ им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН); к.ф.-м.н. Исмаеву И.Э. за проведение экспериментов на медицинском МР томографе (КНИТУ-КАИ им. А. Н. Туполева); Лючии Калучи за проведение полевых зависимостей (институт химии металлорганических соединений, Италия).

Отдельную благодарность за всестороннюю помощь соискатель выражает заведующему кафедры, д.х.н., профессору Соломонову Б.Н. и коллективу кафедры физической химии Химического института им. А.М. Бутлерова КФУ.

Диссертационная работа выполнена при финансовой поддержке Министерством науки и высшего образования Российской Федерации (постановление правительства Российской Федерации №220, грант №14.Y26.31.0019) и Российского научного фонда (№ 17-13-01013).

Контрастные агенты на основе гексарениевых кластеров с цианидными апикальными группами $[R_6Q_8(CN)_6]^{4-}$, (Q=S, Se, Te)

Согласно литературным данным гексарениевые кластеры способны координировать ионы гадолиния посредством атомов азота апикальных цианидных групп. На основе комплексов гадолиния с гексарениевыми кластерами

$[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{CN})_6]^{4-}$ ($\text{Q}=\text{S}^{2-}$, Se^{2-} и Te^{2-}) впервые были получены коллоидные наночастицы, стабилизированные триблок сополимером F-127. ПЭМ-изображения высушенных коллоидов $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{CN})_6]_y$ ($\text{Q}=\text{S}^{2-}$ и Se^{2-}) выявили частицы диаметром 3-5 нм (рис.1). Полученные коллоиды стабильны в течении как минимум 66 часов. Исключением оказались теллуридные наночастицы: большой размер агрегатов и низкая стабильность препятствовали их дальнейшему рассмотрению в качестве контрастного агента.

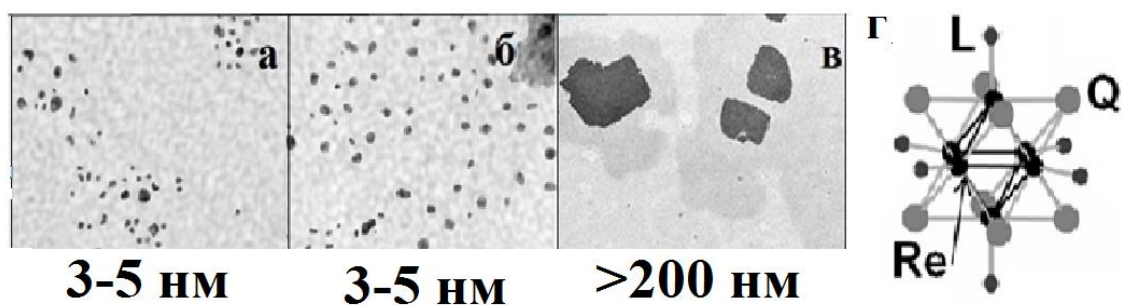


Рисунок 1. ПЭМ-изображения высушенных коллоидов $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{CN})_6]_y$; $\text{Q}=\text{S}^{2-}$ (а); Se^{2-} (б); Te^{2-} (в). Г - структура кластера $[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{L})_6]^{x-}$.

Спектры порошковой рентгеновской дифракции (ПРД) солей $\text{Na}_4[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{CN})_6]$ и коллоидов $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{CN})_6]_y$ выявили сходство их кристаллической упаковки (рис.2). Сравнение спектров ПРД высушенных коллоидов $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{CN})_6]_y$ выявило увеличение кристалличности в ряду $\text{Se}^{2-} > \text{S}^{2-} > \text{Te}^{2-}$. Низкая степень кристалличности частиц $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{S}_8\}(\text{CN})_6]_y$ и $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{Se}_8\}(\text{CN})_6]_y$, по-видимому, является результатом многофазной природы коллоидов. Отсутствие пиков в области больших углов указывает на отсутствие упорядоченности молекулярных блоков в элементарной ячейке и малый размер кристаллитов. Меньшая степень кристалличности $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{Se}_8\}(\text{CN})_6]_y$ проявляется в нескольких пиках в диапазоне углов $10-15^\circ$, а так же уменьшении интенсивности пиков с увеличением угла. Спектры ПРД $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{Te}_8\}(\text{CN})_6]_y$ указывают на высокую степень кристалличности. Принимая во внимание зависимость полуширины пиков от размера кристаллитов, более широкие пики коллоидов $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{Se}_8\}(\text{CN})_6]_y$ по сравнению с $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{CN})_6]_y$ ($\text{Q} = \text{S}^{2-}$ или Te^{2-}) можно объяснить меньшим размером их коллоидных частиц, что согласуется с данными ДРС и ПЭМ.

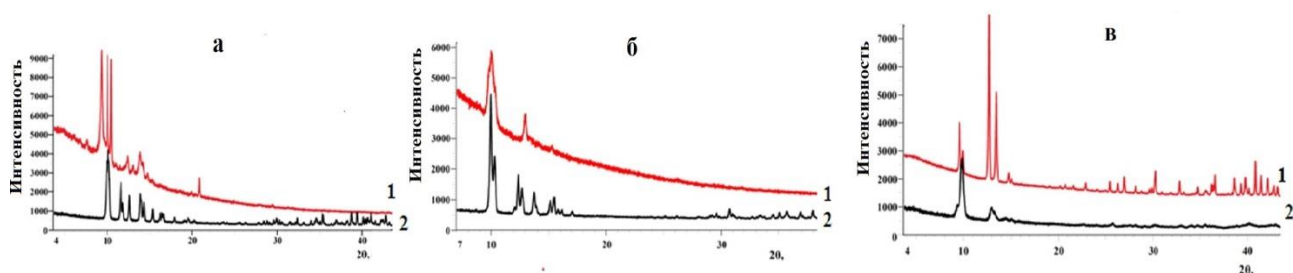


Рисунок 2. Спектры порошковой рентгеновской дифракции высушенных коллоидов (1) $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{CN})_6]_y$ и соответствующих кластеров (2): а - S^{2-} ; б - Se^{2-} ; в - Te^{2-} .

Значения продольной (r_1) и поперечной (r_2) релаксивности для коллоидов $Gd_x[Re_6Q_8(CN)_6]_y$ ($Q = S^{2-}$ или Se^{2-}) оказались больше в 3 раза, чем для коммерческих контрастных агентов (табл.1), что связано с замедлением вращения комплексов вследствие агрегации комплексов Gd^{3+} в наночастицы. Наименьшие значения $r_1=7.4 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ и $r_2=8.0 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ были получены для коллоидов на основе $Gd_x[Re_6Te_8(CN)_6]_y$, что является следствием больших размеров частиц. Увеличение напряженности поля от 0.47 до 1.41 и 1.5 Тл привело к двукратному понижению r_1 коллоидов на основе $Gd_x[Re_6Se_8(CN)_6]_y@F-127$ (табл.1); для коллоидов $Gd_x[Re_6S_8(CN)_6]_y$ наблюдается менее выраженное снижение r_1 . Кроме того, увеличение напряженности привело к увеличению соотношения r_2/r_1 , что является характерным для наноразмерных комплексов $Gd(III)$. Причина различия величин r_2/r_1 для частиц $Gd_x[Re_6S_8(CN)_6]_y$ и $Gd_x[Re_6Se_8(CN)_6]_y$ заключается в большей намагниченности, наблюдаемой в более высоких полях для $Gd_x[Re_6Se_8(CN)_6]_y$. В свою очередь, намагниченность $Gd_x[Re_6Se_8(CN)_6]_y$ согласуется с их большей ориентационной подвижностью в коллоидах вследствие наименьшей степени упорядоченности, выявленной по данным порошковой рентгеновской дифракции (рис.2).

Таблица 1. Значения r_1 , r_2 и r_2/r_1 , измеренные на релаксometре Bruker NMR (0.47 Тл и 1.41 Тл) и медицинском МР-томографе (1.5 Тл), для Омнискана и коллоидов.

	$Gd_x[Re_6S_8(CN)_6]_y$			$Gd_x[Re_6Se_8(CN)_6]_y$			Омнискан	
	$r_1, \text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$	$r_2, \text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$	r_2/r_1	$r_1, \text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$	$r_2, \text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$	r_2/r_1		
0.47 Т	15.1	17.10	1.1	15.2	16.5	1.1	4.19	6.18
1.41 Т	10.62	14.27	1.2	6.73	10.46	1.2		
1.5 Т	11.21	13.14	1.3	6.68	7.99	1.6		

Наличие кластерного ядра $[Re_6Q_8(CN)_6]^{4-}$ в составе наночастиц обуславливает их люминесцентные свойства (рис.3). В коллоидах и растворах кластеров наблюдалось уменьшение люминесценции в ряду $Se^{2-} > S^{2-} > Te^{2-}$. Сравнение спектров растворов кластеров и коллоидов выявило увеличение интенсивности при переходе в коллоидную форму, что, по-видимому, связано с экранирующим эффектом триблок сополимера F-127.

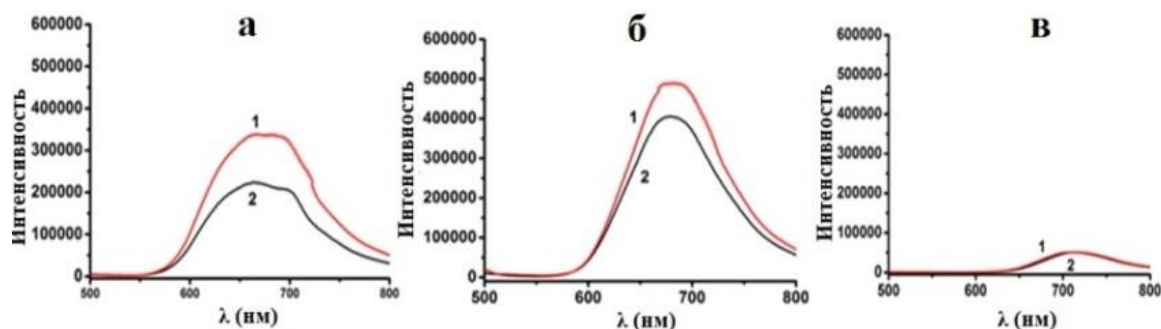


Рисунок 3. Спектры коллоидов $Gd_x[Re_6Q_8(CN)_6]_y$ (1) и соответствующих водных растворов кластеров (2): $Q=S^{2-}$ (а), Se^{2-} (б) и Te (в)

Контрастные агенты на основе кластеров с сульфитными апикальными группами $[\text{Re}_6\text{Q}_8(\text{SO}_3)_6]^{10-}$, (Q=S, Se)

Для изучения влияния природы апикальной группы в работе использовали впервые синтезированные гексарениевые кластеры $[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{SO}_3)_6]^{10-}$, где $\text{Q}=\text{S}^{2-}$ и Se^{2-} . Высокий отрицательный заряд кластеров и наличие сульфитных групп, способных координировать ионы, предопределяет образование комплексов различной стехиометрии. Для определения комплекса оптимальной стехиометрии были получены зависимости $1/(T_1C)$ при различных соотношениях $\text{Gd}:\text{Re}_6$ (рис.4). При соотношениях $\text{Gd}:\text{Re}_6$ намного меньших 2:1, в разбавленных «истинных» растворах (без образования коллоидов), значения релаксивностей $r_{1(2)}$ значительно выше, чем для акваиона гадолиния, что связано с замедлением вращения комплекса. По-видимому, комплексообразование Gd^{3+} с кластером сопровождается их самосборкой в агрегаты, хотя ионов гадолиния недостаточно для компенсации заряда кластера (-10). Данный факт можно объяснить участием противоионов Na^+ в образовании агрегатов. При соотношении $\text{Gd}:\text{Re}_6=2:1$ наблюдалось коллоидообразование, дальнейшее увеличение соотношения $\text{Gd}:\text{Re}_6$ приводило к накоплению свободных Gd^{3+} (aq.) (рис.4).

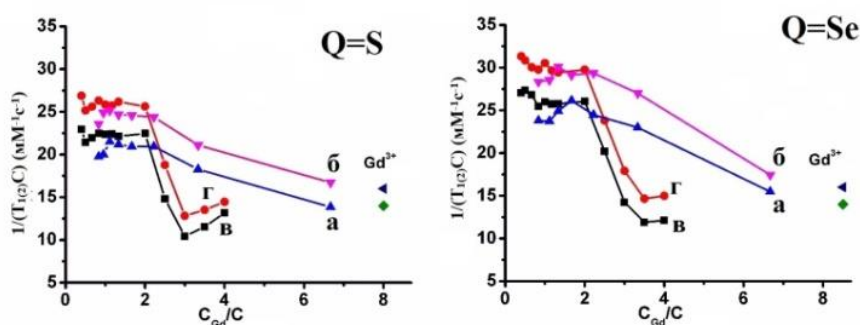


Рисунок 4. Зависимости $1/(T_1C)$ (а,в) и $1/(T_2C)$ (б,г) от $C_{\text{Gd}}/C_{\text{кластер}}$ для коллоидов $\text{Na}_x\text{Gd}_y[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{SO}_3)_6]$ а/б: $C_{\text{Gd}} = 0.1$ mM, $C_{\text{кластер}} = 0.066-0.67$ mM; в/г: $C_{\text{Gd}} = 0.045-1.2$ mM, $C_{\text{кластер}} = 0.3$ mM, $C_{\text{F-127}} = 0.12$ mM.

Соотношения $\text{Gd}:\text{Re}_6$, полученные методом АЭС для выделенных частиц на основе $[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{SO}_3)_6]^{10-}$, составили 1:3.4 ($\text{Q}=\text{S}^{2-}$) и 1:2.9 ($\text{Q}=\text{Se}^{2-}$), что близко к используемому соотношению 2:1 и указывает на участие ионов Na^+ в коллоидообразовании. Таким образом «общая формула» частиц $\text{Na}_x\text{Gd}_y[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{SO}_3)_6]$, где $x \sim 1$, $y \sim 3$.

ПЭМ-изображения высушенных коллоидов выявили частицы размером 35-72 нм и 57-171 нм для сульфидных и селенидных частиц, что согласуется с данными ДРС, которые выявили агрегаты размером 30-140 нм и 30-190 нм для $\text{Na}_x\text{Gd}_y[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{SO}_3)_6]$, где $\text{Q}=\text{S}^{2-}$ и Se^{2-} соответственно (рис.5). Полидисперсность частиц, выявленная данными методами, предопределяет разные параметры

когерентного рассеяния, которые обуславливают полукристаллическую природу наночастиц.

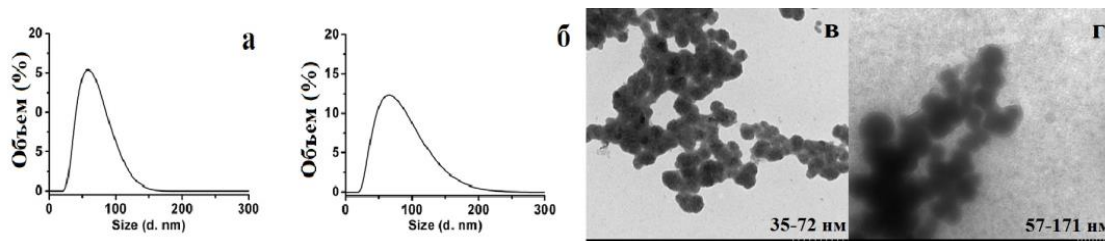


Рисунок 5. Распределение размеров по объему и ПЭМ-изображения коллоидов Na_xGd_y $[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{SO}_3)_6]$ ($C_{\text{Gd}}=0.06$ мМ, $C_{\text{кл}}=0.3$ мМ и $C_{\text{F-127}}=0.12$ мМ): $\text{Q}=\text{S}^{2-}$ (а,в) и $\text{Q}=\text{Se}^{2-}$ (б,г)

Несмотря на большие размеры частиц, значения релаксивностей r_1 , полученные для $\text{Na}_x\text{Gd}_y[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{SO}_3)_6]$, где $\text{Q}=\text{S}^{2-}$ или Se^{2-} , составили 21.0 и 25.9 $\text{мМ}^{-1}\text{с}^{-1}$ соответственно, что практически в 5 раз эффективнее коммерческих контрастных агентов (рис.6). Таким образом, изменение апикальных групп привело к изменению морфологии частиц и, как следствие, к существенному увеличению релаксивности.

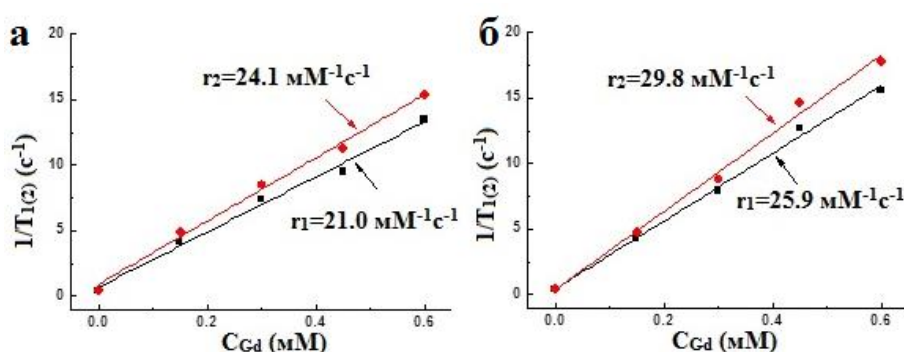


Рисунок 6. Профили зависимостей $1/T_{1(2)}$ от концентрации Gd^{3+} , измеренные для коллоидов на основе Na_xGd_y $[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{SO}_3)_6]@\text{F-127}$, где $\text{Q}=\text{S}^{2-}$ (а) или Se^{2-} (б).

Наличие кластерного ядра $[\text{Re}_6\text{Q}_8(\text{SO}_3)_6]^{10-}$ в составе коллоидов привело к наличию люминесцентных свойств. Как в коллоидах, так и в растворах соответствующих кластеров, интенсивность люминесценции уменьшалась от Se^{2-} к S^{2-} (рис.7). Перевод кластера в коллоидные частицы привел к незначительному увеличению интенсивности эмиссии.

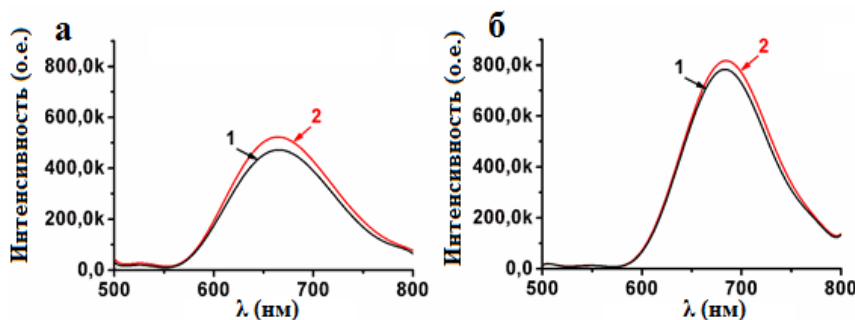


Рисунок 7. Спектры люминесценции растворов солей $[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{SO}_3)_6]$ (1) и коллоидов $\text{Na}_x\text{Gd}_y[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{SO}_3)_6]$ (2): а – $\text{Q}=\text{S}^{2-}$; б – $\text{Q}=\text{Se}^{2-}$.

Новые контрастные агенты на основе комплексов Gd^{3+} с кеплератами

Впервые для создания наноразмерных контрастных агентов были использованы кеплераты, представляющие собой сферические полиоксометаллаты с 20 порами на поверхности (рис.8).

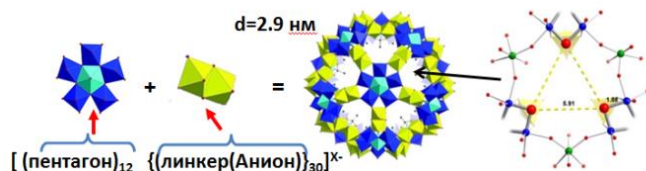


Рисунок 8. Структура кеплерата $[(\text{Mo})\text{Mo}_5\text{O}_{21}(\text{H}_2\text{O})_6]_{12}\{\text{Mo}_2\text{O}_4(\text{OAc})\}_{30}]^{4-}(\text{Mo}_{132})$

Коллоидообразование наблюдалось при соотношении $Gd:\text{Mo}_{132}=11.4:1$. Триблок сополимеры F-127, F-68 и P-123 использовали для предотвращения процессов деградации коллоидов, которые оценивали с помощью УФ-вид спектроскопии. Кривые значений $A/A_0 - t(\text{время})$, измеренные для водных коллоидов $Gd_x(\text{Mo}_{132})_y$ и $Gd_x(\text{Mo}_{132})_y$, стабилизированных триблок сополимерами, выявили увеличение стабильности по сравнению с коллоидами без стабилизаторов (рис.9).

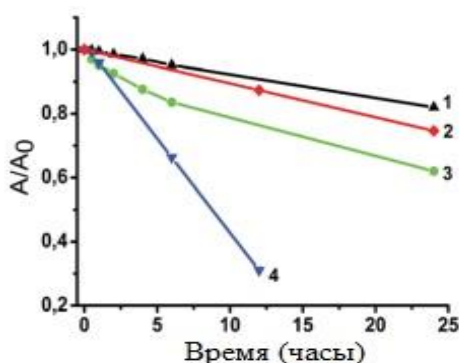


Рисунок 9. Зависимости A/A_0 от времени для коллоидов $Gd_x(\text{Mo}_{132})_y$: 1-3 – стабилизированные триблок сополимерами: F-127 (1); F-68 (2); P-123 (3); без стабилизатора (4).

В свою очередь ПЭМ-изображения выявили частицы с диаметром не более 5.4 нм, что является оптимальным для создания контрастных агентов. Коллоиды на основе $Gd_x(\text{Mo}_{132})_y$ (1:11.4) обладали рекордно высокими значениями релаксивностей, которые практически в 20 раз больше чем у коммерческих контрастных агентов (рис. 10). С учетом литературных данных результаты можно объяснить координацией Gd^{3+} внешними порами $\{\text{Mo}_9\text{O}_9\}$ кеплератов, обеспечивающей замедленное вращение гадолиниевых центров с сохранением гидратной оболочки Gd^{3+} .

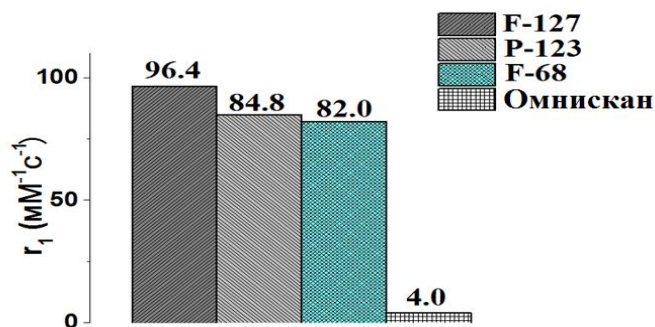


Рисунок 10. Значения релаксивности r_1 , измеренные для $Gd_x(\text{Mo}_{132})_y$ -коллоидов, стабилизированных F-127, P-123, F-68 и Омнискана

Наибольшую релаксивность проявили коллоиды $Gd_x(Mo_{132})_y$, стабилизированные F-127, что, по-видимому, связано с гидрофильным слоем, обеспечивающим оптимальную скорость обмена молекул воды. Измерения релаксивности коллоидов $Gd_x(Mo_{132})_y@F-127$ на медицинском МР-томографе выявили релаксивности $r_1=84.5\text{мМ}^{-1}\text{с}^{-1}$ и $r_2=154.0\text{мМ}^{-1}\text{с}^{-1}$

Изучение структурных факторов комплексообразования кеплератов с ионами Gd^{3+}

Следующий этап работы заключался в изучении влияния размера пор и природы анионов на комплексообразование кеплератов. Для этого были измерены значения $1/(T_{1(2)}C)$ при различных соотношениях $Gd:Kp$ для кеплератов: $Mo_{132}(OAc)$, $Mo_{132}(HPO_4)$ и $Mo_{132}(\mu-S)$.

Таблица 2. Структуры кеплератов

$Mo_{132}(OAc)$	$[\{ Mo_6O_{21}(H_2O)_6 \}_{12} \{ Mo_2O_4(CH_3COO) \}_{30}]^{42-}$
$Mo_{132}(HPO_4)$	$[\{ Mo_6O_{21}(H_2O)_6 \}_{12} \{ Mo_2O_4(HPO_4) \}_{30}]^{72-}$
$Mo_{132}(\mu-S, OAc)$	$[\{ Mo_6O_{21}(H_2O)_6 \}_{12} \{ Mo_2O_2S_2(CH_3COO) \}_{30}]^{42-}$

Поскольку профили $1/(T_{1(2)}C)$ симбатны, на рисунке 11 и в дальнейшем будут приведены зависимости только для $1/(T_1C)$ при различных соотношениях $Gd:Kp$. В случае кеплератов $Mo_{132}(OAc)$ и $Mo_{132}(HPO_4)$ с одинаковым размером пор наибольшие значения $1/(T_1C)$ наблюдались при соотношении 1:1, при этом они равны между собой, что указывает на образовании комплексов близкой стехиометрии. Отличие кеплерата с гидрофосфатным анионом прослеживается в интервале соотношений $Gd:Kp=3:1\sim 8:1$: для $Mo_{132}(HPO_4)$ наблюдается более выраженное понижение релаксивности. Связывающая способность HPO_4^{2-} и более высокий заряд, по-видимому, приводят к дополнительному связыванию Gd^{3+} с потерей координационных молекул воды. В итоге, это приводит к понижению общей релаксивности. Стоит отметить, общая связывающая способность кеплератов $Mo_{132}(OAc)$ и $Mo_{132}(HPO_4)$ не коррелирует с их зарядами, что указывает на частичное замещение противоионов гадолинием.

Кеплераты $Mo_{132}(OAc)$ и $Mo_{132}(\mu-S)$ обладают разными порами: $\{Mo_9O_9\}$ и $\{Mo_9O_6S_3\}$. Значения $1/(T_1C)$ для $Mo_{132}(\mu-S)$ значительно ниже, чем для $Mo_{132}(OAc)$, что указывает на большую долю «квазисвободных» акваионов Gd^{3+} в растворах $Mo_{132}(\mu-S)$ (рис.11). По-видимому, меньший размер и электронодонорность пор $\{Mo_9O_6S_3\}$ по сравнению с $\{Mo_9O_9\}$ приводит к менее эффективному связыванию Gd^{3+} с кеплератами.

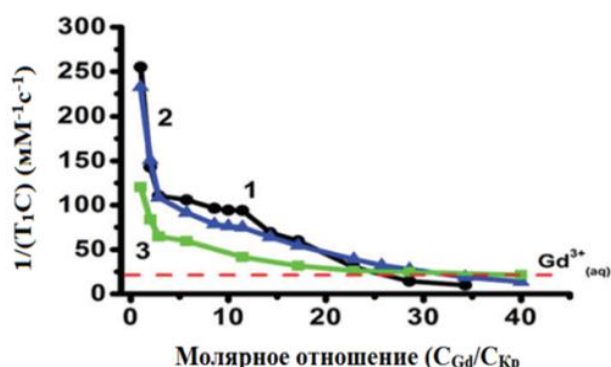


Рисунок 11. Профили зависимостей $1/(T_1C)$ от соотношения C_{Gd}/C_{Kp} при постоянной концентрации кепплератов (0.007 мМ) и варьируемой концентрации Gd^{3+} для: 1 – $Mo_{132}(OAc)$; 2 – $Mo_{132}(HPO_4)$; 3 – $Mo_{132}(\mu-S)$.

Количество гадолиния, необходимое для перевода кепплератов в коллоиды, коррелировало с их зарядами: $Gd_x\{Mo_{132}(OAc)\}_y$ (11.4:1), $Gd_x\{Mo_{132}(HPO_4)\}_y$ (14.3:1) и $Gd_x\{Mo_{132}(\mu-S)\}_y$ (5.7:1). Плюроник F-127 использовали для предотвращения окисления коллоидов, которое оценивали с помощью УФ-вид спектроскопии. Профили $A/A_0 - t$ (время), измеренные для водных растворов кепплератов и соответствующих им коллоидов, выявили увеличение стабильности до 2 суток (рис.12). Кроме того, данные динамического рассеяния света коллоидов выявили предотвращение агрегации коллоидов при использовании F-127.

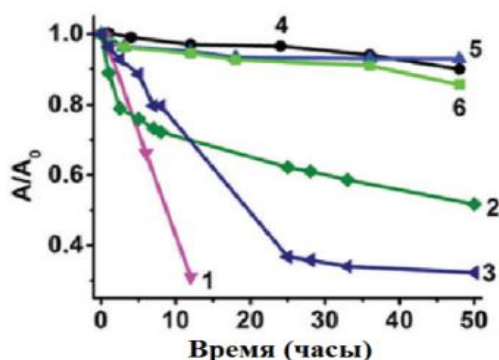


Рисунок 12. Значения A/A_0 (455 нм) как функция времени для растворов: 1 – 0.007 мМ $Mo_{132}(OAc)$; 2 – 0.007 мМ $Mo_{132}(HPO_4)$; 3 – 0.007 мМ $Mo_{132}(\mu-S)$; 4,5,6 – коллоиды $Gd_x\{Mo_{132}(OAc)\}_y$ (11.4:1) (4), $Gd_x\{Mo_{132}(HPO_4)\}_y$ (14.3:1) (5) и $Gd_x\{Mo_{132}(\mu-S)\}_y$ (5.7:1) (6), стабилизированные F-127.

Наибольшее значение $r_{1(2)}$ было получено для $Mo_{132}(OAc)$. Замещение анионов кепплерата CH_3COO^- на HPO_4^{2-} приводило к падению общей релаксивности, что связано с накоплением низкорелаксирующих Gd^{3+} -центров. Более низкие $r_{1(2)}$ коллоидов на основе $Mo_{132}(\mu-S)$ свидетельствуют о менее эффективной координации ионов Gd^{3+} порами $\{Mo_9O_6S_3\}$, что обусловлено изменением их размера и электронодонорности за счет замещения атомов кислорода на серу (рис.13).

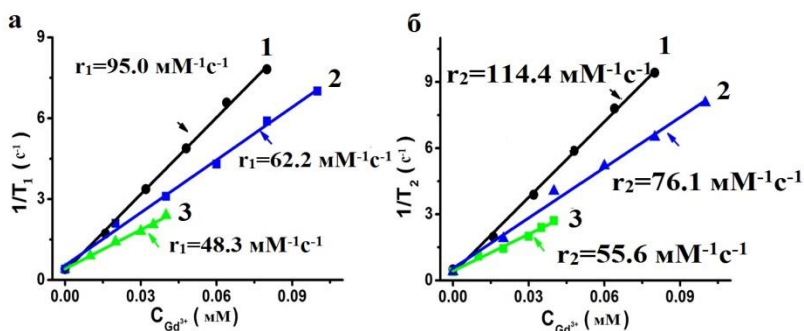


Рисунок 13. Зависимости $1/T_1$ (а) и $1/T_2$ (б) от концентрации Gd^{3+} , измеренные для: 1 – $Gd_x(Mo_{132}(OAc))_y$; 2 – $Gd_x(Mo_{132}(HPO_4))_y$; 3 – $Gd_x(Mo_{132}(\mu-S))_y$.

Измерение величин $1/(T_{1(2)}C)$ для частиц в буферном растворе и буферном растворе БСА (рис.14) обнаружило существенное понижение для коллоидов на основе $\text{Mo}_{132}(\text{OAc})$ и $\text{Mo}_{132}(\text{HPO}_4)$, что свидетельствует о частичном высвобождении ионов гадолиния с пор кепплератов и накоплении низкорелаксирующих акваионов Gd^{3+} ($r_{1(2)}$ 14-16 $\text{мМ}^{-1}\text{с}^{-1}$). Причиной понижения $1/(T_{1(2)}C)$ является ионный обмен $\text{Gd}^{3+}/\text{Na}^{+}$ и конкурирующее связывание Gd^{3+} с анионами HPO_4^{2-} буферного раствора (рис.14). Изучение жизнеспособности клеточных линий Wi-38 и печени, инкубированных в присутствии коллоидных частиц, не выявил значительного цитотоксического эффекта (рис.14). Таким образом, используемые соотношения оптимальны для минимизации выхода токсичных молекул кепплерата и ионов Gd^{3+} из коллоидов в раствор.

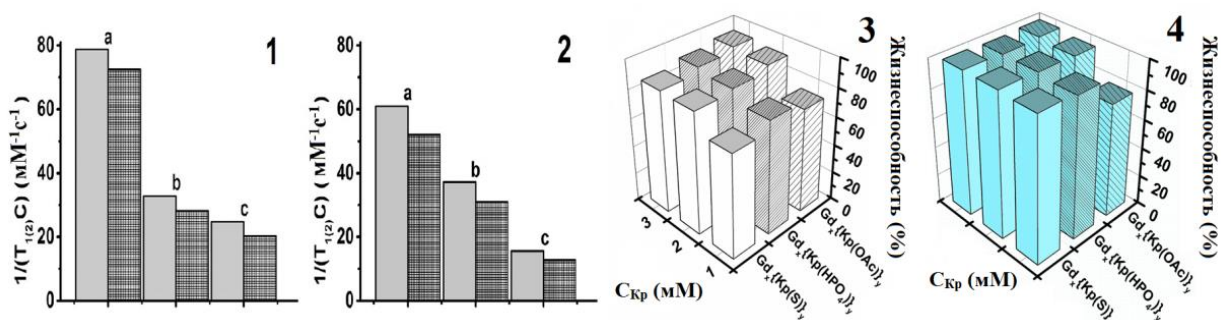


Рисунок 14 . Значения $1/(T_2C)$ (серый блок) и $1/(T_1C)$ (темно-серый блок) измеренные в водном растворе (a), буферном растворе (b) и буферном растворе БСА (c) для коллоидов: 1 – $\text{Gd}_x(\text{Mo}_{132})_y$; 2 – $\text{Gd}_x(\text{Kp}_2)_y$. Жизнеспособность клеток Wi-38 и (3) и печени (4), инкубированных с коллоидами при различных концентрациях кепплерата.

Поведение коллоидных растворов $\text{Gd}_x(\text{Mo}_{132}(\text{OAc}))_y$ и $\text{Gd}_x(\text{Mo}_{132}(\text{HPO}_4))_y$ в полях различной частоты

Для исследования комплексов гадолиния часто прибегают к анализу зависимости магнитно-релаксационных параметров от частоты переменного магнитного поля. В работе были получены зависимости $1/(T_1C)$ от частоты поля для растворов кепплератов $\text{Mo}_{132}(\text{OAc})$ и $\text{Mo}_{132}(\text{HPO}_4)$ при их постоянной концентрации и варьируемой концентрации гадолиния в среде F-127. Приведенные на рисунке зависимости $1/(T_1C)$ от частоты поля для комплексов $\text{Gd}_x[\text{Mo}_{132}(\text{OAc})]$ при различных соотношениях $\text{Gd}:\text{Kp}$ (от 1:1 до 11:1) достаточно близки между собой, что говорит о возможности координации до 11 ионов гадолиния без потери в релаксационных свойствах. В соответствии с работами А. Мюллера, для $\text{Gd}_x[\text{Mo}_{132}(\text{OAc})]$ в координации $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{O})_8]^{3+}$ участвуют минимум 11 из 20 возможных пор $\{\text{Mo}_9\text{O}_9\}$. Увеличение соотношения $\text{Gd}:\text{Kp}$ для комплексов $\text{Gd}_x[\text{Mo}_{132}(\text{HPO}_4)]_y$ приводило к постепенному понижению $1/(T_1C)$. Данный факт свидетельствует о накоплении в системе низкорелаксирующих комплексов Gd^{3+} при увеличении соотношения $\text{Gd}:\text{Kp}$. В свою очередь наблюдаемое уменьшение максимального значения $1/(T_1C)$ при

высоких частотах свидетельствует о накоплении комплексов с коротким временем вращения. Было обнаружено, что при увеличении соотношения Gd:Kp происходило накопление свободных ионов $[Gd(H_2O)_8]^{3+}$.

Для расчета корреляционных времен использовали литературные параметры. Связывание ионов гадолиния с кеплератом $Mo_{132}(OAc)$ в среде F-127 приводило к существенному увеличению времени вращения (0.3-0.7 нс против ≈ 30 пс). Для коллоидных растворов $Gd_x[Mo_{132}(HPO_4)]$ были обнаружены близкие значения времени вращения. Расчеты системы $Gd_x[Mo_{132}(HPO_4)]$ при различных соотношениях Gd:Kp позволили выявить, что $Mo_{132}(HPO_4)$ способен координировать до трех ионов гадолиния посредством пор. Дальнейшее увеличение соотношения Gd:Kp приводит к накоплению в системе низкорелаксирующих $Gd^{3+}(aq)$. Высокий отрицательный заряд $Mo_{132}(HPO_4)$ приводит к сильному взаимодействию с противоионами, и, как следствие, агрегации частиц, вследствие которой часть пор $\{Mo_9O_9\}$ не способна координировать Gd^{3+} .

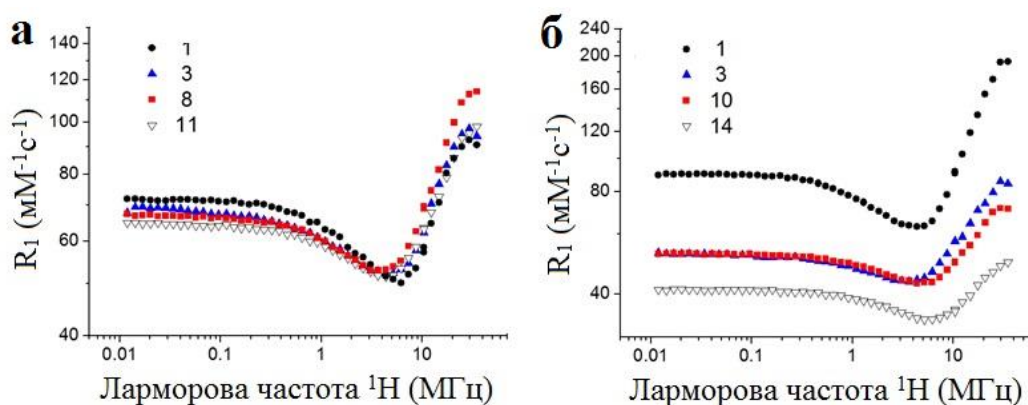


Рисунок 15. Зависимости $1/(T_1C)$ от частоты поля для $Gd_x[Mo_{132}(OAc)]_y$ (а) и $Gd_x[Mo_{132}(HPO_4)]_y$ (б) при постоянной концентрации кеплератов (0.007 мМ), триблок сополимера F-127 (0.4 мМ) и варьируемой концентрации Gd^{3+} .

Контрастные агенты на основе гетерометаллических кеплератов

Следующий этап работы заключался в изучении структурных особенностей гетерометаллических кеплератов $W_{72}Mo_{60}$, $Mo_{72}V_{30}$ и $Mo_{72}Fe_{30}$.

Таблица 3. Структуры гетерометаллических кеплератов

$W_{72}Mo_{60}$	$[W_6O_{21}(OAc)_{0.5}]_{12}\{Mo_2O_4(OAc)\}_{30}]^{48-}$
$Mo_{72}V_{30}$	$[\{Mo(Mo)_5O_{21}(H_2O)_5(SO_4)_{0.16}\}_{12}\{VO(H_2O)\}_{20}\{VO\}_{10}(\{KSO_4\}_5)_2\}]^{24-}$
$Mo_{72}Fe_{30}$	$[\{(Mo_6O_{21})_{12}\{Fe\}_{30}(OAc)_{12}\{Mo_2O_7(H_2O)\}_2\{H_2Mo_2O_8(H_2O)\}(H_2O)_{91}\}]$

С этой целью были получены зависимости $1/(T_{1(2)}C)$ при различных соотношениях Gd:Kp. Значения $1/(T_1C)$ для $Mo_{72}V_{30}$ и $Mo_{72}Fe_{30}$ на всем интервале соотношений Gd:Kp значительно ниже, чем для $W_{72}Mo_{60}$ (рис.16). Разница в

значениях $1/(T_1C)$ связана с более низкой комплексообразующей способностью пор меньшего размера $\{Mo_3V_3O_6\}$ и $\{Mo_3Fe_3O_6\}$. В случае $W_{72}Mo_{60}$, как и в случае $Mo_{132}(OAc)$, наибольшие значения $1/(T_1C)$ достигаются при соотношении $Gd:Kp=1:1$. По-видимому, более высокие значения характерны для «молекулярных комплексов», поскольку агрегация наблюдается при соотношениях $Gd:Kp>6:1$. Увеличение соотношения $Gd:Kp$ приводило к понижению значений $1/(T_1C)$ и при соотношении 6:1 наблюдалось образование коллоидного раствора, что ниже соотношения 16:1, необходимого для нейтрализации заряда кеплерата -48 . Этот факт указывает на участие противоионов NH_4^+ в нейтрализации отрицательного заряда $Gd_x[W_{72}Mo_{60}]_y$, что способствует коллоидообразованию. Увеличение соотношения $Gd:Kp$ выше 9:1 приводит к уменьшению $1/(T_1C)$, поэтому соотношение 9:1 является оптимальным с точки зрения релаксивности. Таким образом, $W_{72}Mo_{60}$ является оптимальным лигандом для Gd^{3+} , поэтому в дальнейшем рассмотрены коллоиды $Gd_x[W_{72}Mo_{60}]_y$ (9:1) и «молекулярные комплексы» $Gd_x[W_{72}Mo_{60}]_y$ (1:1).

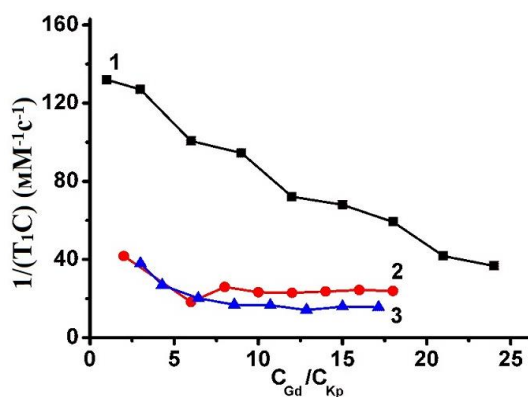


Рисунок 16. Зависимость $1/(T_1C)$ от соотношения $Gd:Kp$ при постоянной концентрации кеплерата (0.007 мМ) и варьируемой концентрации гадолиния, измеренные в растворе F-127 (0.32 мМ) (0.007 мМ): 1 – $W_{72}Mo_{60}$, 2 – $Mo_{72}V_{30}$ и 3 – $Mo_{72}Fe_{30}$.

Окислительную деградацию $W_{72}Mo_{60}$ оценивали путем отслеживания изменений спектров поглощения с течением времени. Результаты выявили незначительную деградацию $W_{72}Mo_{60}$ в течение трех дней. Кроме того, ионный фон и комплексообразование с ионами гадолиния не приводили к понижению стабильности. Таким образом, по сравнению $Mo_{132}(OAc)$ $W_{72}Mo_{60}$ более стабилен.

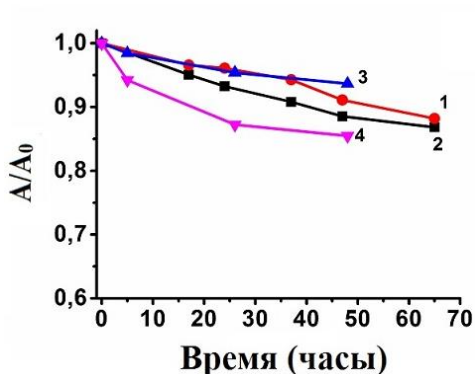


Рисунок. 17 Профили $A/A_0(380 \text{ нм}) - t(\text{время})$ для водных растворов (1) $W_{72}Mo_{60}$ (0.007 мМ), (2) $W_{72}Mo_{60}$ и Gd^{3+} (0.007 мМ), (3) $W_{72}Mo_{60}$ и Gd^{3+} (0.063 мМ) и (4) $W_{72}Mo_{60}$ в буфере Дульбекко

Зависимости $1/(T_1C)$ от соотношений $Gd:Kp$ не обнаружили влияние триблок-сополимера: их концентрация и структура практически не повлияли на $1/(T_1C)$. При

соотношении Gd:Kp 1:1 значения $1/(T_1C)$, измеренные в водном растворе и растворе триблок сополимеров, равны (рис.18). Увеличение соотношения Gd:Kp в отсутствии триблок сополимера приводило к существенному понижению $1/(T_1C)$, что связано с агрегацией комплексов, в результате которой поры не способны координировать Gd^{3+} . Более высокие значения $1/(T_1C)$ в растворах триблок-сополимеров указывают на наличие в системе частиц меньшего размера (рис.18). Таким образом, триблок сополимеры предотвращают неконтролируемый процесс агрегации комплексов.

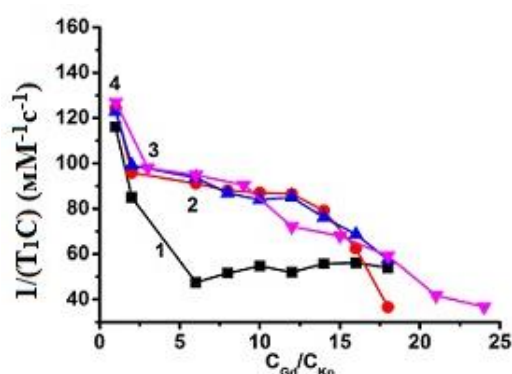


Рисунок 18. Зависимости $1/(T_1C)$ от C_{Gd}/C_{Kp} , измеренные при различных концентрациях Gd^{3+} и постоянной концентрации $W_{72}Mo_{60}$ (0.007 мМ): без стабилизатора (1); стабилизированные триблок сополимером F-68 (2), F-127 (3) и P-123 (4).

ПЭМ-изображения высушенных коллоидов $Gd_x[W_{72}Mo_{60}]_y$ (9:1) выявили частицы со средним диаметром 5 нм (рис.19). В свою очередь измерения ДРС показали, что размер агрегатов покрытых триблок-сополимерами, составляет 20 нм, 50 и 70 нм для F-68, P-123 и F-127 соответственно (рис.19). Стоит отметить, что методом ДРС определяются размеры частиц с внешним гидрофильным слоем. Таким образом, триблок сополимеры ограничивают неконтролируемый рост частиц посредством их включения в гидрофильные агрегаты.

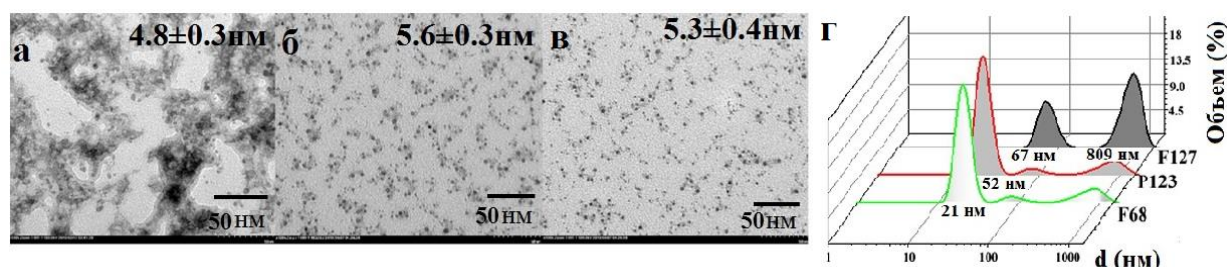


Рисунок 19. ПЭМ-изображения и распределение размеров по объему (Г) высушенных коллоидов $Gd_x[W_{72}Mo_{60}]_y$ (9:1), стабилизированных (а) F-127, (б) F-68 и (в) P-123.

Значения релаксивностей $r_{1(2)}$, измеренные для коллоидов $Gd_x[W_{72}Mo_{60}]_y$ (9:1), стабилизированных различными триблок сополимерами, составляют 79-89 $mM^{-1}s^{-1}$, что подтверждает незначительное влияние природы триблок сополимеров на релаксивность (рис.20). С учетом размеров и величин $r_{1(2)}$, можно сказать, что размер агрегатов $Gd_x[W_{72}Mo_{60}]_y$ (9:1), стабилизированных триблок-сополимерами, не влияет

на релаксивность. Следовательно, образование смешанных агрегатов не ограничивает гидратацию Gd^{3+} -центров.

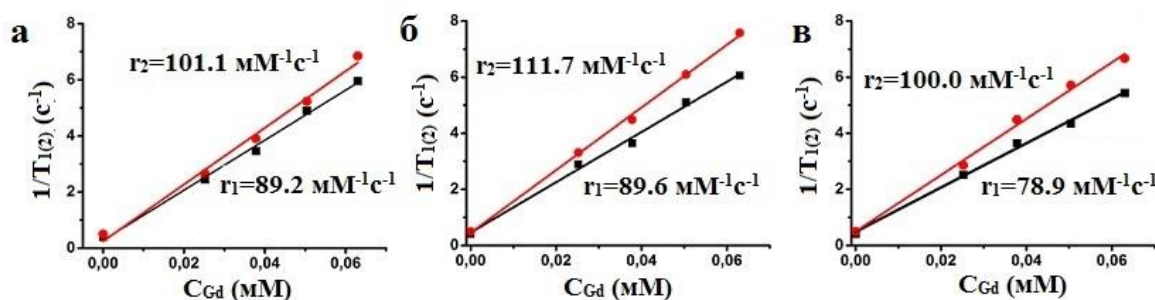


Рисунок 20. Зависимости $1/T_{1(2)}$ от концентрации Gd^{3+} для коллоидов (0.007 $W_{72}Mo_{60}$ и 0.063 mM Gd^{3+}), стабилизированных (а) F-127, (б) F-68 и (в) P-123.

По сравнению с коллоидами $Gd_x[W_{72}Mo_{60}]_y$ (9:1), «молекулярные комплексы» $Gd_x[W_{72}Mo_{60}]_y$ (1:1), стабилизированные триблок сополимером, имеют более высокие релаксивности, которые находятся в пределах $103\text{--}108\text{ M}^{-1}s^{-1}$. Структура триблок сополимера незначительно влияет на релаксивность. Стоит отметить, что методом ДРС в растворах $Gd_x[W_{72}Mo_{60}]_y$ (1:1) были обнаружены частицы с диаметром $d=3$ нм, что подтверждает наличие «молекулярных комплексов» и отсутствие агрегации в этих условиях.

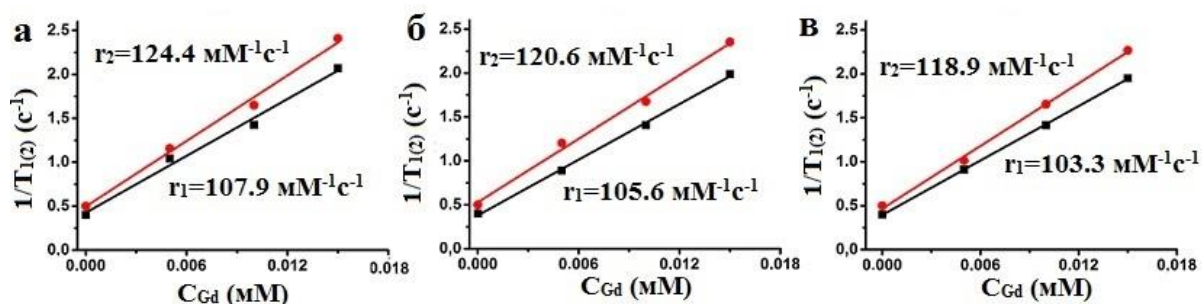


Рисунок 21. Зависимости $1/T_{1(2)}$ от концентрации Gd^{3+} для растворов (0.015 mM $W_{72}Mo_{60}$ и 0.015 mM Gd^{3+}), стабилизированных (а) F-127, (б) F-68 и (в) P-123. $C_{F-127}=0.24$ mM, $C_{F-68}=0.16$ mM и $C_{P-123}=0.34$ mM

Измерение $1/(T_{1(2)}C)$ в буферном растворе и буферном растворе БСА выявило значительное понижение $1/(T_{1(2)}C)$ для коллоидов $Gd_x[W_{72}Mo_{60}]_y$ (9:1). Для «молекулярных комплексов» $Gd_x[W_{72}Mo_{60}]_y$ (1:1) понижение меньше. По-видимому, понижение $1/(T_{1(2)}C)$ связано с замещением ионов Gd^{3+} ионами Na^+ и Ca^{2+} буфера, что сопровождается высвобождением низкорелаксирующих Gd^{3+} . Таким образом, «молекулярные комплексы» $Gd_x[W_{72}Mo_{60}]_y$ (1:1) более стабильны, чем коллоидные растворы.

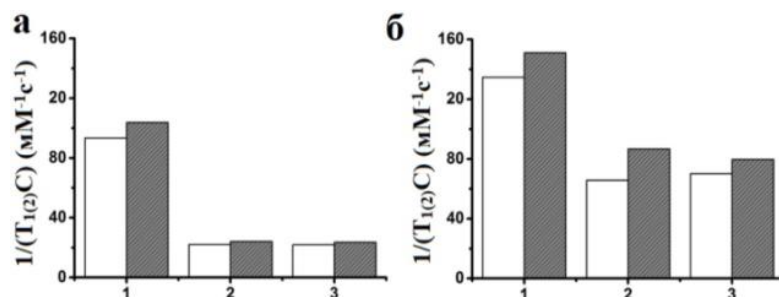


Рисунок 22. Значения $1/(T_1C)$ (белый блок) и $1/(T_2C)$ (серый блок), измеренные для: (а) коллоидов с $0.007 \text{ mM } W_{72}Mo_{60}$ и $0.063 \text{ mM } Gd^{3+}$; (б) растворы $W_{72}Mo_{60}$ (0.015 mM) и $0.015 \text{ mM } Gd^{3+}$, стабилизированные триблок сополимером P-123 (0.34 mM) (1) в отсутствии и (2) присутствии раствора Дульбекко, (3) и в присутствии БСА в растворе Дульбекко

Изучение жизнеспособности клеток Wi-38 и печени в присутствии «молекулярных комплексов» $Gd_x[W_{72}Mo_{60}]_y(1:1)$, стабилизированных триблок сополимерами, не выявило существенного цитотоксического эффекта при данных концентрациях, необходимых для достижения высоких значений $1/T_{1(2)}$ в МР-томографии.

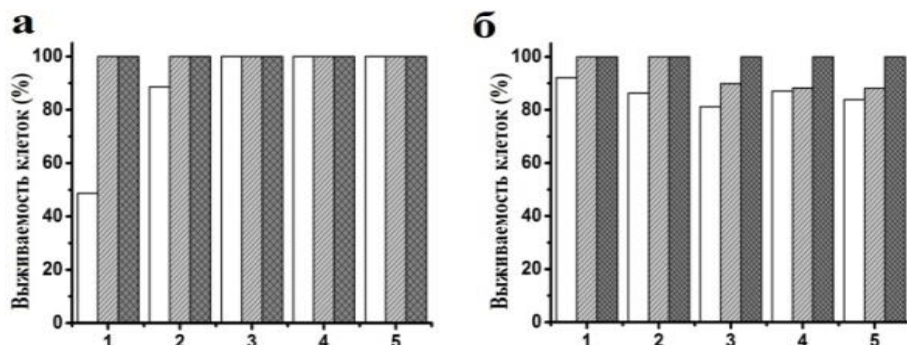


Рисунок 23. Жизнеспособность клеточных линий печени (а) и легкого (б), инкубированных с различными растворами, полученных путем последовательного разбавления в 2, 4, 8 раз: 1 – $W_{72}Mo_{60}$ (0.007 mM); 2 – $W_{72}Mo_{60}$ (0.007 mM), Gd^{3+} (0.063 mM), F-127 (0.12 mM); 3, 4, 5 – $W_{72}Mo_{60}$ (0.01 mM) и (3) Gd^{3+} (0.01 mM) при 0.12 mM F-127, (4) P-123 и (5) F-68

Значения r_1 и r_2 , измеренные на медицинском МР-томографе, для «молекулярных комплексов» $Gd_x[W_{72}Mo_{60}]_y@P-123 (1:1)$ составили 101.3 и $205.1 \text{ mM}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ соответственно. В тех же самых концентрационных условиях коммерческий контрастный агент Omniscan практически не проявил контрастирующий эффект

Закключение

- 1) Впервые на основе комплексов Gd^{3+} с гексарениевыми кластерами и сферическими полиоксометаллатами (кеплератами) получены наночастицы с магнитно-релаксационными характеристиками, превышающими характеристики коммерческих контрастных агентов в 3-20 раз, и обеспечивающими эффективный контрастный эффект в ЯМР томографии.
- 2) Установлено, что комплексообразование Gd^{3+} с гексарениевыми кластерами приводит к образованию коллоидов с люминесцентными и магнитно-

релаксационными свойствами. Последние, в свою очередь, зависят не только от размера наночастиц, но и от степени их кристалличности, определяемой природой халькогенида Q^{2-} кластерного ядра $\{Re_6Q_8\}^{2+}$.

- 3) Впервые выявлены структурные особенности комплексообразования кепплератов с ионами Gd^{3+} , приводящие к высокой магнитной релаксивности последних. Показано, что координация акваионов гадолиния порами на поверхности кепплератов приводит к замедлению их поступательного и вращательного движения с сохранением внутрисферных молекул воды. В свою очередь, размер и структура пор кепплератов определяют эффективность связывания ионов гадолиния и, как следствие, магнитно-релаксационные свойства. В частности, установлено, что максимальная релаксивность достигается для комплексов с кепплератами Mo_{132} и $W_{72}Mo_{60}$.
- 4) На основе сопоставительного анализа установлено, что оптимальным условием для высокой магнитной релаксивности является образование ультра-малых наночастиц размером 3-6 нм. Оптимальное мольное соотношение Gd :лиганд, приводящее к высоко-релаксивным наночастицам определяется величиной отрицательного заряда кластеров и кепплератов.
- 5) На основе сравнительного анализа магнитной релаксивности и окислительной деградации комплексов гадолиния варьируемой стехиометрией от 1:1 до 10:1 с кепплератами различной структуры было установлено, что комплекс Gd^{3+} с кепплератом $W_{72}Mo_{60}$ со стехиометрией 1:1 является оптимальным с точки зрения магнитной релаксивности и химической стабильности.
- 6) Установлено, что гидрофильная стабилизация триблок сополимерами как агрегированных, так и молекулярных комплексов Gd^{3+} с кластерами и кепплератами способствует стабилизации данных лигандов и препятствует вымыванию ионов Gd^{3+} в буферных растворах бычьего альбумина, моделирующих плазму крови.

Основное содержание работы изложено в следующих работах:

- 1) Brylev, K.A. $[\{Re_6Q_8\}(SO_3)_6]^{10-}$ ($Q = S$ or Se) – the most highly charged octahedral cluster complexes: facile synthesis and characterization properties / K.A. Brylev, B. S. Akhmadeev, J.G. Elistratova, I. R. Nizameev, A.T. Gubaidullin, K.V. Kholin, I. V. Kashnik, N. Kitamura, S.-J. Kim, Y. V. Mironov, A. R. Mustafina // Inorg. Chem. – 2019. – V. 58. – P. 15889-15897.
- 2) Pizzanelli, S. Trapping of $Gd(III)$ Ions by Keplerate Polyanionic Nanocapsules in Water: A 1H Fast Field Cycling NMR Relaxometry Study/ S. Pizzanelli, R. Zairov, M. Sokolov, M. C. Mascherpa, B. Akhmadeev, A. Mustafina, L. Calucci // J. Phys. Chem. C. – 2019. – V. 123. – P. 18095-18102.
- 3) Elistratova, J. Aqueous solutions of triblock copolymers used as the media affecting the magnetic relaxation properties of gadolinium ions trapped by metal-oxide nanostructures / Elistratova J., Akhmadeev, B., Korenev V., Sokolov M., Nizameev I., Ismaev I., Kadirov M., Sapunova A., Voloshina A., Amirov R., Mustafina A. // J. Mol. Liq. – 2019. – V. 296. – P. 111821.

- 4) Elistratova, J. Self-assembly of Gd^{3+} -bound keplerate polyanions into nanoparticles as a route for synthesis of positive MRI contrast agents of the structure on the magnetic relaxivity/ J. Elistratova, B. Akhmadeev, V. Korenev, M. Sokolov, I. Nizameev, A. Gubaidullin, A. Voloshina, A. Mustafina // *Soft Matter*. – 2018. – V. 14. – P. 7916-7925.
- 5) Elistratova, J. Structure optimization for enhanced luminescent and paramagnetic properties of hydrophilic nanomaterial based on heterometallic Gd-Re complexes/ J. Elistratova, B. Akhmadeev, A. Gubaidullin, M. Shestopalov, A. Solovieva, K. Brylev, K. Kholin, I. Nizameev, I. Ismaev, M. Kadirov, A. Mustafina // *Mater. Des.* – 2018. – V. 146. – P. 49-56.
- 6) Elistratova, J. Nanoscale hydrophilic colloids with high relaxivity and low cytotoxicity based on Gd(III) complexes with Keplerate polyanions / J. Elistratova, B. Akhmadeev, A. Gubaidullin, V. Korenev, M. Sokolov, I. Nizameev, A. Stepanov, I. Ismaev, M. Kadirov, A. Voloshina and A. Mustafina // *New J. Chem.* – 2017. – V. 41. – P. 5271-5275.
- 7) Ахмадеев, Б.С. Водные растворы триблок сополимеров как среда, влияющая на магнитно-релаксационные свойства гадолиний содержащих комплексов кеплератов // Б.С. Ахмадеев, Ю.Г. Елистратова, В.С. Корнев, М.Н. Соколов, И.Р. Низамеев, И.Э. Исмаев, М.К. Кадиров, А.С. Сапунова, А.Д. Волошина, Р.Р. Амиров, А.Р. Мустафина // Тезисы докладов Школы-конференции для молодых ученых «Супрамолекулярные стратегии в химии, биологии и медицине: фундаментальные проблемы и перспективы». – Казань, Россия. – 2019. – 104.
- 8) Akhmadeev, B. Inorganic ligands as the basis for effective contrast agents / B. Akhmadeev, J. Elistratova, M. Sokolov, I. Nizameev, A. Gubaidullin, K. Brylev, A. Voloshina, A. Mustafina // *Book of abstract of 5th EUCHEMS inorganic chemistry conference*. – Moscow, Russia. – 2019. – P. 143.
- 9) Akhmadeev, B. Structural features of the keplerate polyanions as main factor affecting design and synthesis of positive MRI contrast agents from their Gd^{3+} complexes / B. Akhmadeev, J. Elistratova, A. Stepanov, V. Korenev, M. Sokolov, A. Voloshina, I. Nizameev, A. Mustafina // *Book of abstract of 1st Russian-chinese workshop on organic and supramolecular chemistry*. – Kazan, Russia. – 2018. – P. 52.
- 10) Akhmadeev, B. Nanoparticulate Gd(III) contrast agents based on polyanionic Mo_{132} type keplerate / Akhmadeev B., J. Elistratova, A. Stepanov, V. Korenev, M. Sokolov, A. Gubaidullin, A. Voloshina, I. Nizameev, A. Mustafina // *Book of abstract of XVIth International seminar on inclusion compounds and IIIrd Youth School on supramolecular and coordination chemistry*. – Kazan, Russia. – 2017. – P. 65.
- 11) Akhmadeev, B. Nanoparticulate gadolinium contrast agents based on polyanionic Mo_{132} type keplerate and cyanide clusters: comparison and analysis / Akhmadeev B., J. Elistratova, A. Stepanov, V. Korenev, M. Sokolov, A. Gubaidullin, A. Voloshina, I. Nizameev, A. Mustafina // *Book of abstract of 2nd Scientific school for young scientists «design and magnetoactive compounds»*. – Irkutsk, Russia. – 2017. – P. 1