

На правах рукописи



ДОВЖЕНКО

Алексей Павлович

**ХЕМО- И ТЕРМОЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ СЕНСОРЫ НА ОСНОВЕ
ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ, ПОСТРОЕННЫХ ИЗ
(ТИА)КАЛИКС[4]АРЕНОВЫХ КОМПЛЕКСОВ ЛАНТАНОИДОВ**

1.4.4. Физическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Казань – 2024

Работа выполнена на кафедре физической химии Химического института им. А.М. Бутлерова Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет» и в 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».

Научный руководитель:

Заиров Рустэм Равилевич

кандидат химических наук, доцент

Официальные оппоненты:

Мартынов Александр Германович,

доктор химических наук, профессор РАН,
ведущий научный сотрудник лаборатории новых
физико-химических проблем, Институт
физической химии и электрохимии им. А.Н.
Фрумкина Российской академии наук, г. Москва

Селиванова Наталья Михайловна,

доктор химических наук, доцент,
профессор кафедры Физической и коллоидной
химии Казанского национального
исследовательского технологического
университета, г. Казань

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное
учреждение науки Институт неорганической
химии им. А.В. Николаева Сибирского отделения
Российской академии наук, г. Новосибирск

Защита состоится 19 февраля 2025 года в 14 часов на заседании диссертационного совета 24.1.225.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук» по адресу: 420088, г. Казань, ул. Академика Арбузова, д. 8, ИОФХ им. А.Е. Арбузова – обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН, большой конференц-зал.

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

Отзывы на автореферат просим присылать по адресу: 420088, г. Казань, ул. Академика Арбузова, д. 8, ИОФХ им. А.Е. Арбузова - обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН, учёному секретарю диссертационного совета, e-mail: toropchina@iopc.ru

Автореферат разослан «24» декабря 2024 г.

Учёный секретарь диссертационного
совета кандидат химических наук



А.В. Торопчина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. В последние годы разработка и применение функциональных наноматериалов с сенсорными свойствами приобретает всё большую значимость. Разработка новых сенсоров является критически важным этапом для развития отрасли оперативной диагностики и контроля процессов в биологии, медицине и экологии. Новые контрастные агенты позволяют улучшить визуализацию внутриклеточных процессов, внутренних органов и тканей, что способствует более раннему обнаружению заболеваний и повышает эффективность дальнейшего лечения. В экологии сенсоры применяют для обнаружения и отслеживания загрязнений, а также мониторинга состояния природных ресурсов, что необходимо для своевременного запуска мероприятий по защите окружающей среды. Инновации в области функциональных сенсорных материалов способствуют развитию как фундаментального, так и прикладного направления в области высокочувствительного анализа, что обеспечивает устойчивое развитие соответствующих отраслей.

Особое место в области развития функциональных наноматериалов занимают соединения лантаноидов. Выдающиеся парамагнитные свойства $Gd(III)$ позволяют использовать соединения на его основе для усиления контраста при проведении магнитно-резонансной томографии. Наличие электронных переходов на внутренних экранированных 4f-орбиталях обуславливают наличие у лантаноидов уникальных фотофизических характеристик, которые включают в себя характерные спектры эмиссии, длительные времена люминесценции (от микросекунд до миллисекунд), а также большие значения Стоксова сдвига. В совокупности данные свойства позволяют легко выделять их люминесценцию от сигналов фоновых компонентов и эффективно использовать в качестве хемо- и термолюминесцентных сенсоров.

Вследствие запрета f-f электронных переходов по Лапорту, ионы лантаноидов обладают достаточно низкой эффективностью возбуждения, в связи с чем для сенсбилизации их люминесценции, а также для снижения токсичности лантаноидов как тяжёлых элементов используют лиганды-антенны. Наибольший интерес в области координационной химии лантаноидов вызывают производные 1,3-дикетона, которые благодаря эффективному переносу энергии лиганд-металл и возможности модификации углеродного скелета не только надёжно хелатируют металлы с образованием шестичленного цикла, но и эффективно сенсбилизуют люминесценцию лантаноидов в видимой и ближней ИК-области. Иммобилизация 1,3-дикетонных функциональных групп на подходящих макромолекулярных платформах является распространённой стратегией для получения более совершенных лигандов, образующих с лантаноидами стабильные комплексы. Высокий интерес в данной области вызывают каликс[4]ареновые и тиакаликс[4]ареновые производные, которые объединяют в себе функции стабильного каркаса, легко модифицируемого функциональными группами для связывания ионов металлов и регулирования триплетного уровня лиганда, а также функции хромофорного заместителя с высоким коэффициентом экстинкции, что усиливает сенсбилизацию люминесценции лантаноидов.

При этом большинство комплексов лантаноидов с каликс- и тиакаликс[4]ареновыми лигандами являются нерастворимыми в воде соединениями, что ограничивает их использование в водных средах. Включение данных комплексов в состав гидрофильных полиэлектролитных наночастиц создает предпосылки для их химической и коллоидной стабилизации, что является многообещающей основой для их дальнейшего применения в качестве люминесцентных и магнитно-релаксометрических контрастных агентов и сенсоров.

Степень разработанности темы.

В литературе представлено не мало способов конвертации комплексов лантаноидов с каликс[4]ареновыми и тиакаликс[4]ареновыми лигандами в гидрофильное состояние, среди которых можно выделить функционализацию каликс[4]ареновой платформы полярными ($-\text{SO}_3^-$, $-\text{NR}_3^+$) группами, а также введение комплексов в состав силикатных или полиэлектролитных наночастиц. Однако, большинство из представленных способов подразумевают изменение структуры используемых лигандов, что ключевым образом влияет на их люминесцентную хемо- и термочувствительность. На данный момент известно крайне ограниченное количество комплексов лантаноидов, конвертированных в форму гидрофильных наночастиц без изменения структуры используемого лиганда. Более того, подобные способы конвертации, как правило, сопряжены с эффектами агрегации комплексов, обусловленных гидрофобными взаимодействиями, что придаёт каждому из рассматриваемых случаев индивидуальность. Вопрос влияния структуры используемых комплексов и входящих в их состав лигандов на коллоидные и фотофизические характеристики образующихся наночастиц недостаточно изучен и требует рассмотрения на большем количестве примеров.

Целью настоящей работы является создание полиэлектролитных наночастиц на основе комплексов лантаноидов с каликс[4]ареновыми и тиакаликс[4]ареновыми лигандами, обладающих оптимальными коллоидными и фотофизическими характеристиками, для использования в качестве хемо- и термолюминесцентных сенсоров и контрастных агентов. Для достижения указанной цели были сформулированы следующие задачи:

1. Синтезировать полиэлектролитные наночастицы с включением комплексов трехвалентных лантаноидов (Eu, Tb, Gd, Sm) с каликс[4]ареновыми и тиакаликс[4]ареновыми лигандами, в том числе гетеролантаноидные наночастицы. Выявить корреляции между структурой лигандов и коллоидными характеристиками наночастиц на основе их комплексов с ионами лантаноидов;

2. Разработать люминесцентный нанотермометр, обладающий двумя каналами эмиссии в красной области электромагнитного спектра, для радиометрического определения температуры с минимальным интерферирующим воздействием биологического фона;

3. Создать высокочувствительные люминесцентные наноразмерные хемосенсоры на основе тербиевых полиэлектролитных наночастиц;

4. С использованием комплексов Gd^{3+} с производными каликс[4]аренов синтезировать коллоиды, обладающие высокими магнитно-релаксационными характеристиками;

5. За счет люминесценции полиэлектролитных наночастиц выявить их проникновение в клетки, оценить воздействие на жизнедеятельность клеток и показать возможность использования коллоидов в качестве внутриклеточных термолюминесцентных сенсоров.

Научная новизна. ♦ На серии новых каликсареновых лигандов: каликс[4]арены, функционализированные двумя бензоилацетонными группами по нижнему ободу, бис- и тетра-1,3-дикетон каликс[4]арены в конформации 1,3-альтернат, а также бром- и *трет*-бутилзамещённые тиакаликс[4]арены - впервые получены лантаноидные (Eu, Tb, Gd, Sm) полиэлектролитные наночастицы и изучены их коллоидные характеристики. Продемонстрировано, что лиганды с длинноцепочечными гидрофобными заместителями склонны к самоорганизации, что приводит к неуправляемой агрегации их комплексов с ионами лантаноидов в процессе перевода в состав полиэлектролитных коллоидов в

отличие от остальных лигандов с более короткими гидрофобными заместителями, образующих сферические наночастицы в процессе синтеза.

❖ Продемонстрирован эффект частичного дехелатирования каликс[4]ареновых комплексов лантаноидов при переводе в состав полиэлектролитных коллоидов, который сопровождается образованием второй компоненты экспоненты в кинетике затухания люминесценции Ln^{3+} .

❖ Для каликс[4]аренов, функционализированных по нижнему ободу бензоилацетонными хелатными центрами, впервые продемонстрирована их способность сенсифицировать люминесценцию ионов Eu^{3+} и Sm^{3+} в области 560 – 720 нм.

❖ Установлены механизмы термоиндуцированного тушения люминесценции комплексов лантаноидов с каликс- и тиакаликс[4]аренами в среде ДМФА и в составе полиэлектролитных наночастиц.

❖ Впервые получены гетерометаллические наночастицы с включением изоструктурных комплексов Eu^{3+} и Sm^{3+} с лигандами на основе бисбензоилацетонзамещённых по нижнему ободу каликс[4]аренов, функционирующие в качестве радиометрического термолюминесцентного термометра с высокой чувствительностью ($S_I = 4,02 \% \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$).

❖ Обнаружены высокие релаксометрические характеристики комплексов Gd^{3+} с бис- и тетра-1,3-дикетонзамещёнными по верхнему ободу каликс[4]ареновыми лигандами в составе полиэлектролитных наночастиц ($r_1 = 20,8$, $r_2 = 24,7 \text{ мМ}^{-1}\text{с}^{-1}$) в сопоставлении с аналогичными коллоидами на основе тиакаликс[4]ареновых комплексов Gd^{3+} ($r_1 = 2,5$, $r_2 = 3,8 \text{ мМ}^{-1}\text{с}^{-1}$).

❖ Впервые продемонстрирована интернализация полиэлектролитных наночастиц на основе комплексов Tb^{3+} с дибром-, тетрабром-, тетра-*трет*-бутилзамещёнными тиакаликс[4]ареновыми лигандами в клетки M-HeLa с сохранением высоких показателей термолюминесцентной чувствительности $S_I = 4,48 \% \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$.

Теоретическая и практическая значимость. Серия комплексных соединений лантаноидов с циклофановыми лигандами каликс[4]аренового ряда была конвертирована в гидрофильное состояние с использованием метода замены растворителя с последующей стабилизацией полиэлектролитными анионами. Выявлена взаимосвязь типа «структура-свойство» между коллоидными, люминесцентными и магнитно-релаксометрическими свойствами полученных наночастиц и структурой лигандного окружения ионов лантаноидов. Показано, что коллоидная устойчивость полученных наночастиц, стабильность во времени их люминесцентных и магнитно-релаксометрических свойств в водных растворах и в многокомпонентных системах является предпосылкой их аналитического и биомедицинского применения. Получен весомый набор данных по чувствительности люминесцентного отклика лантаноидных коллоидов в зависимости от температуры и рассчитаны относительные чувствительности для каждой из систем. В работе также рассмотрены механизмы хемо- и термоиндуцированного тушения люминесценции комплексов лантаноидов в среде ДМФА и в составе полиэлектролитных коллоидов в корреляции с предполагаемой структурой и известными триплетными уровнями лигандов.

Достигнутые значения относительной чувствительности люминесцентного сигнала от температуры достигают $8,32 \% \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$ в растворах ДМФА для комплексов $\text{Eu}(\text{III})$ и $6,04 \% \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$ в водных растворах, что находится на уровне лучших литературных примеров и открывает путь к применению в биомедицинских целях. Полученные в рамках данной работы полиэлектролитные коллоиды могут быть использованы в роли внутриклеточных

рациометрических термолюминесцентных сенсоров для мониторинга внутриклеточных процессов, что имеет перспективу для использования в качестве внутриклеточного термометра. Также они обладают высоким потенциалом для использования в качестве люминесцентных хемосенсоров в области экологического мониторинга экотоксикантов. Стабилизированные в составе полиэлектролитных наночастиц комплексы Gd^{3+} могут быть использованы в магнитно-резонансной томографии как контрастные агенты высокой эффективности и низкой цитотоксичности.

Для решения поставленных задач были использованы методы динамического рассеяния света (ДРС), электрофоретического рассеяния света (ЭРС), просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ), криогенной просвечивающей электронной микроскопии (крио-ПЭМ), атомно-силовой микроскопии (АСМ), люминесцентной спектрофотометрии, магнитно-релаксационной спектроскопии, атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой (АЭС-ИСП), спектрофотометрии, проточной цитофлуориметрии, флуоресцентной микроскопии.

Положения, выносимые на защиту:

❖ Комплексы лантаноидов с производными каликс[4]аренов и тиакаликс[4]аренов переводятся в гидрофильное состояние за счет включения в состав полиэлектролитных наночастиц. Результирующие коллоиды обладают высокими фотофизическими и магнитно-релаксационными параметрами.

❖ Высокая термолюминесцентная чувствительность комплексов Eu^{3+} и низкая термолюминесцентная чувствительность комплексов Sm^{3+} с бисбензоилацетон функционализированными по нижнему ободу каликс[4]ареновыми лигандами позволяет создавать на их основе рациометрические термолюминесцентные сенсоры с высокой чувствительностью ($S_I = 4,01 \% \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$).

❖ Включение комплексов Gd^{3+} с лигандами на основе каликс[4]аренов с бис- и тетракис-1,3-дикетонными заместителями по верхнему ободу в состав полиэлектролитных наночастиц позволяет получить стабильные в водной среде коллоиды с высокими характеристиками релаксационности ($r_1 = 20,8, r_2 = 24,7 \text{ мМ}^{-1}\text{с}^{-1}$).

❖ Комплексы Tb^{3+} с бис- и тетракис-1,3-дикетонзамещёнными по верхнему ободу каликс[4]аренами в конформации 1,3-альтернат в роли лигандов обладают люминесцентной хемосенсорикой на присутствие пестицида глифосат с высоким пределом обнаружения (1,97 нМ) в присутствии природных интерферентов.

❖ Коллоидная стабильность и высокая термолюминесцентная чувствительность ПСС-коллоидов на основе комплексов Tb^{3+} с дибром-, тетрабром-, тетра-*трет*-бутилзамещёнными тиакаликс[4]ареновыми лигандами позволяет использовать их в роли внутриклеточных термолюминесцентных сенсоров с низкой цитотоксичностью.

Степень достоверности результатов. Точность и достоверность полученных результатов подтверждается многократной воспроизводимостью экспериментальных данных, полученных с использованием современных физических методов исследования.

Апробация работы. Результаты диссертационной работы были представлены и апробированы на конференциях: 10-й Форум молодых исследователей ХимБиоSeasons (Калининград, 2024); VII Российский день редких земель (Казань, 2022); Международная конференция молодых ученых «Менделеев 2021» (Санкт-Петербург, 2021); 27-я Международная научная конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2020» (Москва, 2020); 26-я международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2019» (Москва, 2019), а также представлены в тезисах 11 докладов в материалах Всероссийских и Международных конференций.

Публикации. Основное содержание диссертационного исследования изложено в 5 публикациях в рецензируемых международных журналах, рекомендованных ВАК РФ, индексируемых в библиографических базах данных, а также 11 тезисах докладов на Всероссийских и Международных конференциях.

Объем и структура работы. Работа выполнена в объёме 154 страницы и содержит 53 рисунка, 21 таблицу, 168 ссылок на литературные источники и состоит из введения, трех основных глав, заключения, списка цитируемой литературы и приложения.

Соответствие диссертации паспорту специальности. Диссертационная работа по содержанию и научной новизне соответствует пунктам 1 и 4 паспорта специальности 1.4.4. Физическая химия.

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 ДРС и ЭРС, оптической спектрофотометрии, люминесцентной спектроскопии, ядерной магнитной релаксации, подготовлены образцы для проведения экспериментов ПЭМ, крио-ПЭМ, АСМ, АЭС-ИСП, проточной цитофлуорометрии, флуоресцентной микроскопии.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **введении** диссертационной работы сформулирована актуальность темы, определены цель и задачи, продемонстрированы теоретическая и практическая значимость полученных результатов, представлены основные положения, выносимые на защиту, а также сведения об апробации работы на конференциях.

В **первой главе** представлен обзор литературы и рассмотрены основные свойства люминесценции лантаноидов и их комплексов. Приведены основные принципы их люминесцентной хемо- и термочувствительности и основы теории усиления парамагнитной релаксации протонов воды в присутствии соединений Gd(III). Также продемонстрированы способы перевода комплексов лантаноидов в форму гидрофильных наночастиц и использования в качестве люминесцентных сенсоров и контрастных агентов.

Особое внимание в разделе 1.4 уделено объектам исследования – комплексам лантаноидов (Eu^{3+} , Sm^{3+} , Tb^{3+} , Gd^{3+}) с каликс[4]ареновыми и тиакаликс[4]ареновыми лигандами. Было продемонстрировано, что используемые каликс- и тиакаликс[4]ареновые лиганды (Таблица 1) образуют с лантаноидами в среде ДМФА комплексы в стехиометрии 2:2. Исключение составляют комплексы лантаноидов с классическими каликс[4]аренами с 1,3-дикетонными заместителями по верхнему ободу в конформации конус, для которых преимущественно сохраняется стехиометрия 1:1. Также было показано, что бензоилзамещённые каликс[4]арены эффективно сенсбилизируют люминесценцию Eu^{3+} и Sm^{3+} в то время как каликс[4]арены с 1,3-дикетонными заместителями и тиакаликс[4]арены более эффективно сенсбилизируют люминесценцию Tb^{3+} . Более подробно фотофизические свойства данных комплексов в среде рассматриваются в корреляции с люминесцентными свойствами полиэлектролитных наночастиц на их основе в следующих главах.

Вторая глава представляет собой экспериментальную часть, в которой указаны коммерческие реагенты и соединения, предоставленные коллегами, детализированы методики синтеза полиэлектролитных наночастиц, а также описаны используемые методы исследования.

В третьей главе представлен обзор полученных результатов, рассматривается общая методика синтеза полистиролсульфонат (ПСС) стабилизированных коллоидов, а также характеристика коллоидных, магнитно-релаксометрических и фотофизических свойств полученных систем. В данной главе проводится анализ механизмов люминесцентной хемо- и термочувствительности, возможности интернализации наночастиц в клетки и использования в качестве внутриклеточных нанотермометров.

Таблица 1 – Используемые в данной работе комплексы лантаноидов, их оптимизированные структуры, а также структурные формулы лигандов.

№	Комплексы	Структурные формулы лигандов	Структурные формулы комплексов
1.	Eu(Ia)		 $[\text{Eu}_2(\text{Ib})_2(\text{DMF})_8]^{2+}$
2.	Eu(Ib)		
3.	Eu(Ic)		
4.	Sm(Ia)		
5.	Sm(Ib)		
6.	Sm(Ic)		
7.	Tb(IIa)	 $\text{R} = \text{C}_9\text{H}_{19}$	 $[\text{Tb}(\text{IIb})]^+$
8.	Tb(IIb)		
9.	Tb(IIc)		
10.	Gd(IIc)		
11.	Tb(IIIa)	 $\text{IIIa: } n = 1$ $\text{IIIb: } n = 9$	 $[\text{Tb}_2(\text{IIIa})_2(\text{H}_2\text{O})_8]^{2+}$
12.	Tb(IIIb)		
13.	Tb(IIIc)		
14.	Tb(IVa)		 $[\text{Tb}_2(\text{IVa})_2(\text{H}_2\text{O})_4]^{2+}$
15.	Tb(IVb)		
16.	Tb(IVc)		
17.	Tb(IVd)		
18.	Gd(IVa)		
19.	Gd(IVc)		
20.	Gd(IVd)		

Синтез и коллоидные свойства ПСС-коллоидов с включением (тия)каликс[4]ареновых комплексов лантаноидов

В рамках данной работы ПСС-наночастицы на основе каликс[4]ареновых комплексов лантаноидов были получены с использованием методики переосаждения комплексов из органического растворителя в водный раствор. Данная методика была разработана Заировым Р.Р. в научной группе профессора Мустафиной А.Р.

В качестве субстратов в данном синтезе выступают растворы комплексов лантаноидов в среде ДМФА или ДМСО (Таблица 1). Данные растворители не только эффективно растворяют лиганды как в свободной, так и в комплексной форме, но и полностью смешиваются с водой, что позволяет эффективно осаждать комплексы в водной среде полиэлектролита.

В среде органического растворителя (ДМФА) комплексы частично дехелатируются, благодаря чему в процессе смешения растворителей ДМФА-вода образующиеся наноагрегаты комплексов обладают положительным зарядом. Полистиролсульфонат, обладая отрицательно заряженными сульфонатными группами, адсорбируется на осаждающиеся ядра комплекса и образует гидрофильную оболочку, которая обеспечивает коллоидную устойчивость образующейся системы. Полиэлектролитные коллоиды отделяются от водорастворимых примесей (солей лантаноидов, ТЭА и др.) методом центрифугирования и замены супернатанта (Рисунок 1).

Таким образом была получена серия ПСС-стабилизированных коллоидов на основе комплексов Eu^{3+} , Sm^{3+} , Tb^{3+} , Gd^{3+} с каликс[4]ареновыми и тиакаликс[4]ареновыми лигандами (Таблица 2).

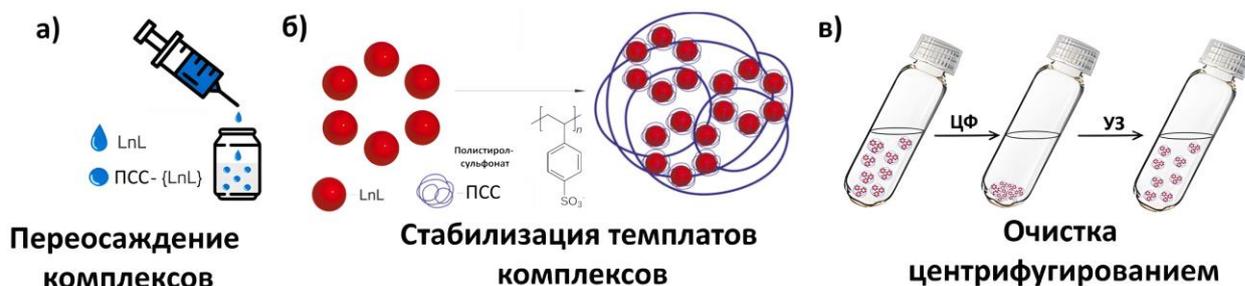


Рисунок 1 - Схема синтеза полиэлектролитных наночастиц методом переосаждения в водном растворе ПСС.

Ядра комплексов Eu^{3+} и Sm^{3+} с лигандами Ia-c в составе ПСС-наночастиц после высушивания сохраняют свою индивидуальность, а их размер составляет 2-10 нм, согласно ПЭМ-изображениям (Рисунок 2а-в). При этом на АСМ-изображении можно увидеть агрегаты цилиндрической формы с диаметром около 100 и длиной до 500 нм (Рисунок 2г). Образование данных форм может являться следствием слияния отрицательно заряженных ПСС-частиц под воздействием неравномерного распределённых положительно заряженных ядер комплексов. Данные динамического и электрофоретического рассеяния для ПСС-коллоидов демонстрируют сопоставимые с данными АСМ характеристики среднего гидродинамического диаметра наночастиц (75 – 145 нм), и высокие показатели электрокинетического потенциала (более -47 мВ), что обеспечивает их коллоидную стабильность (Таблица 2). Низкие значения индекса полидисперсности доказывают преимущественно мономодальное распределение частиц по размерам.

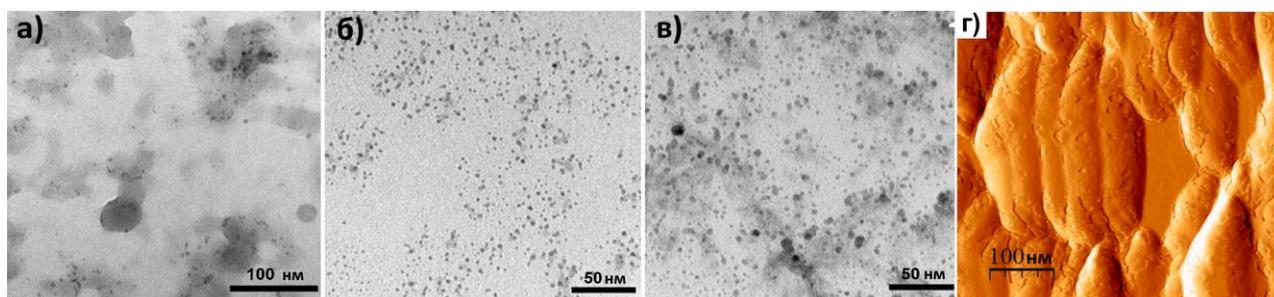


Рисунок 2 – ПЭМ-изображения для систем ПСС- $\{\text{Eu(Ia)}\}$ (а), ПСС- $\{\text{Eu(Ib)}\}$ (б), ПСС- $\{\text{Eu(Ic)}\}$ (в), АСМ-изображение системы ПСС- $\{\text{Eu(Ib)}\}$ (г).

Таблица 2 – Значения гидродинамического диаметра (d), индекса полидисперсности (PDI) и электрокинетического потенциала (Zp) для ПСС-коллоидов на основе комплексов Eu^{3+} и Sm^{3+} с лигандами Ia, Ib, Ic.

№	Система	d, нм	PDI	Zp, мВ
1	ПСС- $\{\text{Eu}(\text{Ia})\}$	145±3	0,20 ±0,03	-49±1
2	ПСС- $\{\text{Eu}(\text{Ib})\}$	76±1	0,17±0,02	-55±5
3	ПСС- $\{\text{Eu}(\text{Ic})\}$	113±2	0,16±0,01	-49±1
4	ПСС- $\{\text{Sm}(\text{Ia})\}$	97±1	0,24±0,01	-50±2
5	ПСС- $\{\text{Sm}(\text{Ib})\}$	122±5	0,29±0,01	-47±1
6	ПСС- $\{\text{Sm}(\text{Ic})\}$	86±2	0,17±0,02	-58±2

Отличительной особенностью комплексов на основе классических каликс[4]аренов ($\text{Ln}(\text{IIa-c})$) с заместителями по верхнему ободу является их стехиометрия 1:1 в среде ДМФА. ПСС-коллоиды на их основе (ПСС- $\{\text{Tb}(\text{IIa-c})\}$) отличаются более высокими показателями среднего гидродинамического диаметра (от 125 до 200 нм) (Таблица 3) и размерами на ПЭМ изображениях (Рисунок 3а) (от 10 до 30 нм).

Наночастицы на основе комплексов Tb^{3+} с каликс[4]аренами в конформации 1,3-альтернат ($\text{Tb}(\text{IIIa-c})$) отличаются гидродинамическим диаметром в пределах 100 нм и электрокинетическим потенциалом около -30 мВ (Таблица 3). Исключение составляет комплекс $\text{Tb}(\text{IIIb})$, склонный к самоорганизации процессе в стабилизации ПСС-полиэлектролитом. Это обуславливается наличием объёмных углеводородных заместителей, за счёт чего данные коллоиды в водной среде образуют нитевидные структуры с гидродинамическим диаметром более 1000 нм. Комплекс тербия с классическим каликс[4]ареном в конформации конус ($\text{Tb}(\text{IIa})$), в отличие от 1,3-альтернат аналога, не образует сложноорганизованных низкоразмерных структур, однако наночастицы на его основе характеризуются более высоким значением гидродинамического диаметра, до 200 нм, что также может являться следствием проявления гидрофобного эффекта.

Тиакаликс[4]ареновые лиганды (IVa-d) отличаются от своих аналогов способом координации. Атомы серы принимают участие и способствуют координации лантаноида к тиакаликсаренам через фенольные группы нижнего обода. Более эффективная димеризация комплексов $\text{Tb}(\text{IVa-d})$ в среде ДМФА способствует получению на их основе наночастиц с более высокими значениями электрокинетического потенциала – от -46 до -67 мВ и гидродинамическим диаметром от 81 до 125 нм (Таблица 3).

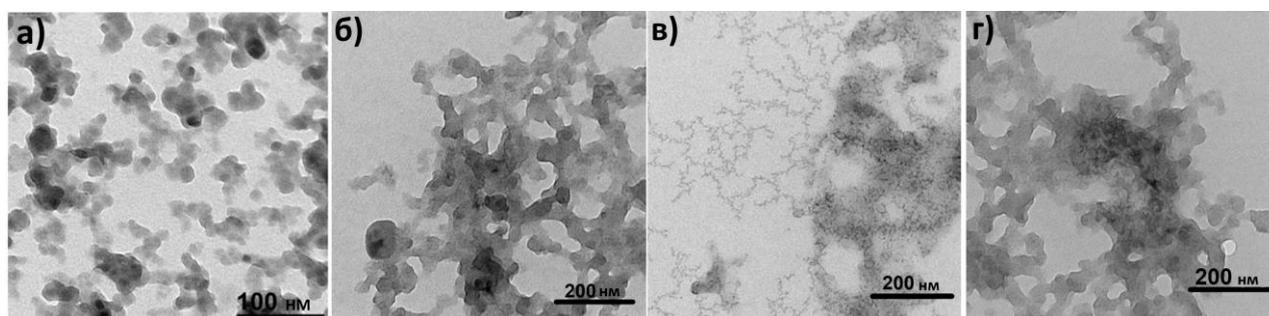


Рисунок 3 – ПЭМ-изображения для систем ПСС- $\{\text{Tb}(\text{IIIb})\}$ (а), ПСС- $\{\text{Tb}(\text{IIIa})\}$ (б), ПСС- $\{\text{Tb}(\text{IIIb})\}$ (в), ПСС- $\{\text{Tb}(\text{IIIc})\}$ (г).

Таблица 3 – Значения гидродинамического диаметра, индекса полидисперсности (PDI) и электрокинетического потенциала (Zp) для ПСС-коллоидов на основе комплексов Tb с лигандами IIa-c, IIIa-c, IVa-d.

№	Система	d, нм	PDI	Zp, мВ
1.	ПСС-{Tb(IIa)}	200 ± 11	0,19 ± 0,03	-35,9 ± 0,4
2.	ПСС-{Tb(IIb)}	193 ± 1	0,17 ± 0,01	-27 ± 1
3.	ПСС-{Tb(IIc)}	125,3 ± 0,5	0,20 ± 0,01	-37 ± 3
4.	ПСС-{Tb(IIIa)}	100 ± 4	0,25 ± 0,01	-28,4 ± 0,5
5.	ПСС-{Tb(IIIb)}	1126 ± 351	0,325 ± 0,15	-32,6 ± 0,5
6.	ПСС-{Tb(IIIc)}	75 ± 2	0,22 ± 0,01	-27,7 ± 0,3
7.	ПСС-{Tb(IVa)}	100 ± 1	0,22 ± 0,02	-59 ± 1
8.	ПСС-{Tb(IVb)}	125 ± 1	0,12 ± 0,01	-46 ± 2
9.	ПСС-{Tb(IVc)}	83 ± 2	0,24 ± 0,01	-68 ± 1
10.	ПСС-{Tb(IVd)}	81 ± 1	0,19 ± 0,01	-57 ± 1

Исследование люминесцентных свойств, хемо- и термолюминесцентной сенсорики, а также возможности использования наночастиц в качестве МРТ и люминесцентных контрастных агентов произведено по группам в зависимости от потенциальной области использования с учётом проявляемых в среде ДМФА фотофизических характеристик и самой структуры комплексов.

Радиометрические термолюминесцентные сенсоры на основе комплексов Eu^{3+} и Sm^{3+} в составе ПСС-коллоидов

Лиганды Ia-c обладают относительно низкими значениями энергии триплетного уровня, благодаря чему разница в энергии триплетного уровня данных каликс[4]аренов L(T1) и резонансного уровня лантаноидов Eu^{3+} (5D_0) и Sm^{3+} ($^4G_{5/2}$) составляет 3200-3800 см^{-1} , что позволяет сенсibilизировать их люминесценцию (Рисунок 4а,б). Люминесценция данных комплексов характеризуется моноэкспоненциальной кинетикой затухания и временем жизни возбуждённого состояния около 250 мкс для Eu и 28 мкс для Sm (Рисунок 4в).

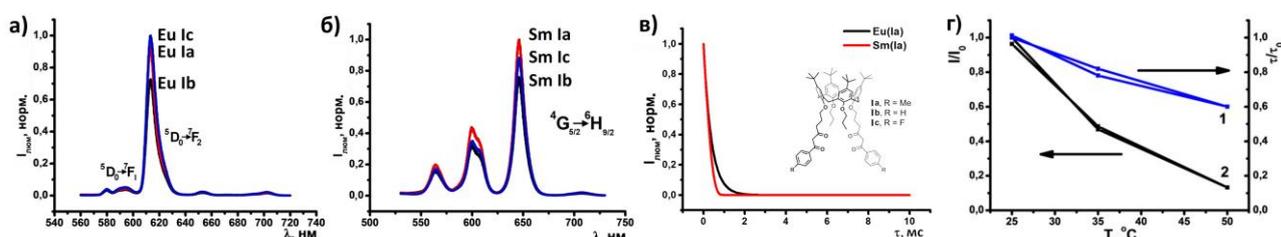


Рисунок 4 – Спектры люминесценции (а,б) и кинетика затухания люминесценции (в) для комплексов европия (а) и самария (б) с лигандами L = Ia, Ib, Ic в среде ДМФА, $C(\text{LnL}) = 0,45 \text{ мМ}$, $\lambda_{\text{ex}} = 380 \text{ нм}$), нормализованная интенсивность люминесценции (2) и время жизни возбуждённого состояния (1) комплекса Eu(Ib) в цикле нагрева и охлаждения (г).

Комплексы Eu обладают независимым от лигандного окружения магнитно-дипольным переходом при 595 нм, что позволяет с использованием упрощённых расчётов Джадда-Оффельта оценить их теоретические времена жизни согласно формуле:

$$\frac{1}{\tau_{\text{теор.}}} = 14,65 n^3 \frac{I(^5D_0 \rightarrow ^7F_J)}{I(^5D_0 \rightarrow ^7F_1)}$$

где, $I(^5D_0-^7F_1)$ – интегральная интенсивность всех пиков люминесценции и пика при 595 нм ($I(^5D_0-^7F_1)$) для комплексов Eu^{3+} , n – показатель преломления среды.

Соотношение теоретических ($t_{теор.}$) и экспериментальных ($t_{эксп.}$) времён затухания позволяет рассчитать внутренний квантовый выход люминесценции комплексов ($\Phi_{вн.}$). В случае комплексов Eu^{3+} его значения лежат в диапазоне 22- 25% (Таблица 4), а для Sm они составляют около 0,9%, что можно объяснить наличием у Sm низких по энергии электронных уровней, определяющих полосы излучения в БИК-области, из-за чего излучение Sm больше подвержено эффектам стока энергии на колебательные уровни -ОН и -СН-групп. Данные факторы тушения люминесценции для комплексов Sm являются первостепенными, чем обуславливается их низкая термолюминесцентная чувствительность (S_I), в то время как люминесценция комплексов Eu^{3+} обладает достаточно высоким откликом к изменению температуры с чувствительностью до 8,3 % $^{\circ}C^{-1}$ (Рисунок 4г, Таблица 4). Наибольшей термолюминесцентной чувствительностью обладает комплекс Eu с п-метилбисбензоилацетонзамещённым каликс[4]ареном, для которого колебания метильных групп увеличивают излучательные потери энергии. Значительные изменения времен жизни возбуждённого состояния комплексов Eu в процессе нагрева (до 40%) демонстрируют высокий вклад динамического тушения и безызлучательных потерь, обусловленных усилением колебательного движения лигандного окружения.

Таблица 4 – Характеристики люминесценции комплексов Eu^{3+} и Sm^{3+} .

	Eu(Ia)	Eu(Ib)	Eu(Ic)
$I(^5D_0-^7F_1)$	2,61	2,22	3,29
$I(^5D_0-^7F_2)$	49,24	40,13	57,30
$t_{теор.}$ (мкс)	1070	1120	1160
$t_{эксп.}$ (мкс)	267	247	282
$\Phi_{вн.}$ (%)	24,9	22,1	24,3
S_I (35 $^{\circ}C$), % $^{\circ}C^{-1}$	8,32	6,82	7,37
	Sm(Ia)	Sm(Ib)	Sm(Ic)
$t_{теор.}$ (мкс)*	3000	3000	3000
$t_{эксп.}$ (мкс)	28,0	27,6	28,8
$\Phi_{вн.}$ (%)	0,9	0,9	0,9
S_I (35 $^{\circ}C$), % $^{\circ}C^{-1}$	0,55	0,40	0,79

*Использованы средние значения теоретического времени жизни возбуждённого состояния комплекса изданных в литературе Inorganic Chem. Com. 2008. Vol. 11, № 10. P. 1284–1287; Inorganica Chimica Acta. 2013. Vol. 406. P. 279–284.

Соотношение пиков люминесценции лантаноидов позволяет оценить симметрию и силу лигандного поля. После перевода комплексов из среды ДМФА в состав полиэлектролитных наночастиц они сохраняют свои свойства люминесценции, однако симметрия лигандного поля увеличивается (соотношение пиков уменьшается), что, вероятно, является следствием замены молекул растворителя на молекулы H_2O (Таблица 5). Изменяются и времена жизни возбуждённого состояния комплексов. Кинетика затухания люминесценции комплексов в составе ПСС наночастиц характеризуется биэкспоненциальной функцией. Образование второй экспоненты обуславливается присутствием комплексов в частично дехелатированной форме на поверхности наночастиц и в незаряженной форме внутри ядра. При этом значения внутреннего квантового выхода

комплексов Eu^{3+} и Sm^{3+} после перевода в состав ПСС частиц остались на уровне 22-25 и 0,8% соответственно, а термолюминесцентная чувствительность комплексов Eu^{3+} достигает 5-6 % $^{\circ}\text{C}^{-1}$.

Таблица 5 – Характеристики люминесценции ПСС-коллоидов на основе комплексов Eu^{3+} и Sm^{3+} .

	ПСС- $\{\text{Eu}(\text{Ia})\}$	ПСС- $\{\text{Eu}(\text{Ib})\}$	ПСС- $\{\text{Eu}(\text{Ic})\}$
R ($I_{612\text{нм}}/I_{595\text{нм}}$)	12,0	12,9	13,1
t_{теор.} (мкс)	1430	1350	1330
t_{эсп.} (мкс)	310	330	310
Φ_{вн.} (%)	21,7	24,4	23,3
S₁ (35 $^{\circ}\text{C}$), % $^{\circ}\text{C}^{-1}$	5,43	6,04	5,72
	ПСС- $\{\text{Sm}(\text{Ia})\}$	ПСС- $\{\text{Sm}(\text{Ib})\}$	ПСС- $\{\text{Sm}(\text{Ic})\}$
R ($I_{648\text{нм}}/I_{565\text{нм}}$)	5,4	5,0	4,8
t_{теор.} (мкс)*	3000	3000	3000
t_{эсп.} (мкс)	19,6	19,3	20,6
Φ_{вн.} (%)	0,7	0,6	0,7
S₁ (35 $^{\circ}\text{C}$), % $^{\circ}\text{C}^{-1}$	0,37	0,50	0,38

Высокая термолюминесцентная чувствительность комплексов Eu^{3+} и низкая термолюминесцентная чувствительность аналогичных комплексов Sm^{3+} , делают возможным создание на их основе радиометрического термолюминесцентного сенсора. Изоструктурные комплексы $\text{Eu}(\text{Ib})$ и $\text{Sm}(\text{Ib})$ были объединены в растворе ДМФА в пропорции 1:8, соответственно, и использованы для синтеза гетерометаллических ПСС-коллоидов ПСС- $\{\text{Eu}(\text{Ib})\text{-Sm}(\text{Ib})\}$. Коллоидные характеристики гетерометаллических наночастиц соответствуют свойствам их монометаллических аналогов. В сухом виде ядра их комплексов обладают размерами от 3 до 6 нм, тогда как их коллоиды обладают средним гидродинамическим диаметром $d \approx 75$ нм и $Z\eta \approx -53,2$ мВ. Термолюминесцентная чувствительность отношения пиков люминесценции Eu и Sm составила до 4 % $^{\circ}\text{C}^{-1}$ в диапазоне температур от 20 до 50 $^{\circ}\text{C}$. Данные изменения спектров воспроизводятся в течение пяти циклов нагрева и охлаждения, также, как и значения гидродинамического диаметра и электрокинетического потенциала.

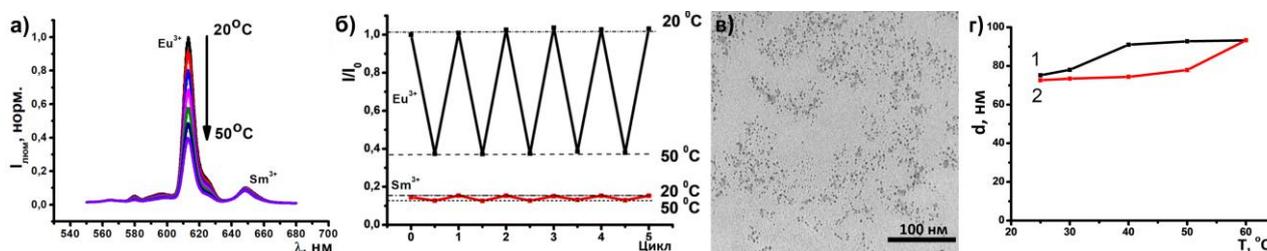


Рисунок 5 - Нормализованные спектры эмиссии (а), интенсивность люминесценции при длинах волн эмиссии Eu^{3+} (612 нм) и Sm^{3+} (648 нм) в пяти циклах нагрева-охлаждения (б), ПЭМ изображение (в) и изменения гидродинамического диаметра в одном цикле нагрева (1) и охлаждения (2) (г) для коллоидной системы ПСС- $\{\text{Eu}(\text{Ib})\text{-Sm}(\text{Ib})\}$.

Таким образом, гетерометаллические ПСС-наночастицы на основе комплексов $\text{Eu}(\text{Ib})$ и $\text{Sm}(\text{Ib})$ демонстрируют возможность потенциального использования в качестве высокочувствительного радиометрического термолюминесцентного сенсора, биосовместимого и устойчивого в диапазоне температур активной жизнедеятельности

организмов 25 – 50 °С, позволяющего проводить мониторинг температуры по люминесцентному отклику безотносительно концентрации самих комплексов по соотношению пиков люминесценции Eu(III) (612 нм) и Sm(III) (648 нм).

ПСС-коллоиды на основе комплексов Tb³⁺ с каликс[4]аренами в конформации 1,3-альтернат в роли люминесцентных хемо- и термосенсоров

Ацетилацетоновые заместители у каликс[4]аренов в конформации конус (Tb(IIa-c)) и 1,3-альтернат (Tb(IIIa-c)) позволяют сенсibilизировать люминесценцию Tb³⁺, которая характеризуется специфичным для данного лантаноида спектром как в растворе ДМФА, так и в составе ПСС-наночастиц (Рисунок 6а,б). Сопоставляя две формы организации данных систем можно отметить, что комплекс Tb³⁺ с каликс[4]ареном в конформации конус оказался более чувствительным к присутствию молекул H₂O, что выражается в падении его интенсивности люминесценции относительно других комплексов после конвертации. Каждый из рассматриваемых комплексов обладает термолюминесцентной чувствительностью в среде ДМФА, но наиболее выдающимися характеристиками обладает комплекс Tb(IIIa) ($S_1 = 5,12 \% \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$), что делает ПСС-коллоиды на его основе более перспективными к рассмотрению.

Термолюминесцентная чувствительность коллоидов ПСС-Tb(IIIa) достигает 4,67 %·°C⁻¹ (Рисунок 6г). Для данной системы при повышении температуры зарегистрировано двукратное уменьшение времени жизни возбуждённого состояния, что свидетельствует о значительном вкладе в тушение люминесценции фактора увеличения безызлучательных переходов энергии с резонансного уровня лантаноида.

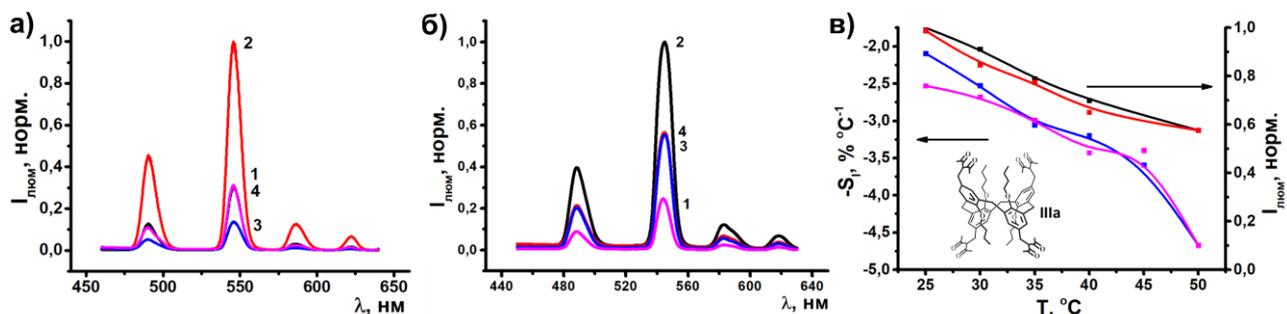


Рисунок 6 – Спектры эмиссии комплексов Tb(IIa) (1), Tb(IIIa) (2), Tb(IIIb) (3), Tb(IIIc) (4) в среде ДМФА (а) и в составе ПСС-коллоидов (б) ($\lambda_{\text{ex}} \sim 333 \text{ нм}$); нормализованная интенсивность люминесценции и термолюминесцентная чувствительность ПСС- $\{\text{Tb(IIIa)}\}$ (в).

ПСС-коллоиды на основе комплексов Tb³⁺ были испытаны в роли люминесцентных сенсоров на пестициды класса глифосат. Было определено, что на хемосенсорику влияет структура используемых лигандов. Для ПСС-коллоидов на основе комплексов Tb с объёмными углеводородными заместителями наблюдается крайне слабый люминесцентный отклик на присутствие пестицида. В отсутствие подобных заместителей ионы Tb³⁺ более доступны для координации с глифосатом, который способствует увеличению безызлучательных переходов и выводу Tb³⁺ из комплексной формы в среду растворителя. Для коллоидов на основе комплексов Tb(IIIa) предел обнаружения данного пестицида (концентрация глифосата, достаточная для возникновения аналитического сигнала, равного трём стандартным отклонениям интенсивности фоновой люминесценции) в нейтральной среде трис-буфера достигает 2 нМ (Рисунок 7).

Селективность аналитического сигнала зависит от структурных особенностей чувствительных центров люминесценции. Использование ПСС-коллоидов с включением

комплексов Tb^{3+} в качестве сенсоров позволяет ограничить ряд мешающих субстратов с плохой хелатирующей способностью, примерами которых являются гидрокарбонат, глицин, аланин и фталевая кислота. Люминесцентный отклик, оценка которого проводилась по изменению относительной интенсивности люминесценции I/I_0 , при стократном избытке указанных соединений составляет не более 6%, что практически не превышает стандартное отклонение (Таблица 6).

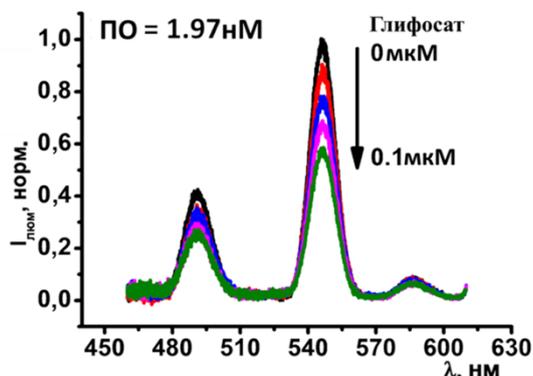


Рисунок 7 - Люминесцентная чувствительность системы ПСС- $\{Tb(IIIa)\}$ к присутствию глифосата.

Таблица 6 - Влияние мешающих реагентов на люминесценцию ПСС- $\{Tb(IIIa)\}$.

Интерферент	$(I_0 - I)/I_0, \%$
Глицин	4,47
Аланин	6,12
Фталат калия	4,59
$NaHCO_3$	1,13

Предел количественного определения (ПКО) пестицида глифосат, который рассчитывается как концентрация аналита, в присутствии которой аналитический сигнал составляет десять стандартных отклонений интенсивности фоновой люминесценции, для разработанной методики с использованием ПСС-коллоидов составляет 1,1 мкг/кг, что более чем в 10 раз ниже предельно допустимой концентрации (25 мкг/кг), установленной Европейским агентством по безопасности пищевых продуктов (EFSA). В зависимости от типа продукта, согласно EFSA 2015 года, допустимая концентрация глифосата может варьироваться в пределах от 25 до 2000 мкг/кг. Таким образом, методика люминесцентного анализа с использованием ПСС- $\{Tb(IIIa)\}$ коллоидов позволяет успешно проводить определение содержания глифосата в водных растворах в наномолекулярном диапазоне концентраций, что в будущем можно использовать для контроля качества продуктов питания, сельскохозяйственных культур и воды.

Парамагнитные МРТ-релаксометрические контрастные агенты на основе ареновых комплексов Gd^{3+} в составе ПСС-коллоидов

Наночастицы на основе лантаноидов могут использоваться не только в роли люминесцентных сенсоров, но и в роли магнитно-релаксометрических контрастных агентов, благодаря усилению магнитной релаксации протонов воды в присутствии ионов Gd^{3+} . Внедрение ионов $Gd(III)$ в наноструктуры усиливает продольную релаксацию протонов воды за счет замедления вращательного движения аддукта $Gd^{3+}-H_2O$.

Как было отмечено, каликсарены в конформации конус образуют с лантаноидами комплексы с стехиометрией 1:1. Менее экранированная координационная сфера лантаноида способствует поддержанию скорости обмена молекул растворителя в координационной сфере и делает данную платформу более перспективной для создания Gd -содержащих релаксометрических агентов. В сопоставлении с ними также рассматриваются биядерные комплексы Gd^{3+} с тиакаликс[4]ареновыми лигандами, где координационная сфера лантаноида экранирована сильнее.

Для адекватной оценки релаксационных характеристик ПСС коллоидов на основе комплексов Gd были определены точные концентрации лантаноида в составе наночастиц и с использованием изоструктурных комплексов Tb^{3+} определены числа гидратации (q).

Точная концентрация ионов Gd^{3+} в составе наночастиц оценивалась с помощью АЭС-ИСП анализа. Для ПСС-коллоидов на основе триакаликс[4]ареновых комплексов $Gd(IVb)$ концентрация ионов Gd^{3+} составила 0,62 - 0,68 мМ, что довольно близко к теоретическому значению концентрации при отсутствии потерь ($C_{Gd} = 0,75$ мМ), тогда как для коллоидов ПСС- $\{Gd(IIIc)\}$ концентрация $C_{Gd,исп}$ составила 0,29 мМ (Таблица 7). В данном случае значительное количество Gd^{3+} вытесняется в виде свободного аква-иона на стадии синтеза и осаждения ПСС-коллоидов.

Спектры люминесценции для ПСС-коллоидов на основе комплексов Tb^{3+} с каликс- и триакаликс[4]ареновыми лигандами отличаются соотношением интенсивностей пиков (Рисунок 8а,в). Для ПСС- $\{Tb(IIIc)\}$ $I_{543}/I_{489} \approx 1,7$, а для ПСС- $\{Tb(IVb)\} \approx 2,5$, что отражает различные способы координации лигандов к лантаноиду. Времена жизни возбуждённого состояния ПСС-коллоидов, рассчитанные по кривым затухания люминесценции (Рисунок 8б,г), подтверждают различие в координации ионов лантаноидов и позволяют оценить их числа гидратации по уравнению Хоррокса:

$$q = A_{Ln}(\tau_{H_2O}^{-1} - \tau_{D_2O}^{-1}),$$

где $A_{Tb} = \text{const} = 4,2$, $\tau_{(H_2O)}$ и $\tau_{(D_2O)}$ – времена жизни возбуждённого состояния комплекса в H_2O и D_2O соответственно. Так, для каликс[4]аренового комплекса $Tb(IIIc)$ в составе ПСС-наночастиц число гидратации q составило 4,4, в то время как для триакаликс[4]аренового комплекса $q = 2,1$ (Таблица 7).

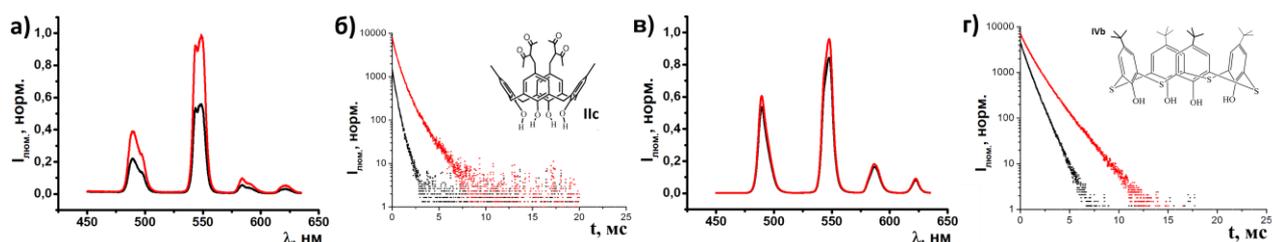


Рисунок 8 - Спектры эмиссии (а, в) и кинетика затухания люминесценции (б, г) водных коллоидов ПСС- $\{Tb(IIIc)\}$ (а, б) и ПСС- $\{Tb(IVb)\}$ (в, г) в H_2O (черного цвета) и D_2O (красного цвета).

Скорость парамагнитной релаксации ($1/T_{1,2}$) протонов воды в присутствии коллоидов ПСС- $\{Gd(IVa-c)\}$ и ПСС- $\{Gd(IIIb,c)\}$ оценивалась при 20,8 МГц. Релаксивность коллоидов r_1 и r_2 определялась как коэффициент линейной аппроксимации зависимости $1/T_{1,2}$ от C_{Gd} (Таблица 7). Можно отметить, что релаксивность системы ПСС- $\{Gd(IIIc)\}$ значительно выше релаксивности аналогичных коллоидов на основе триакаликс[4]ареновых комплексов Gd . Более того, значения релаксации коллоидов ПСС- $\{Gd(IIIc)\}$ даже выше значений аналогичных ПСС-коллоидов на основе комплексов $Gd(IIIb)$ с каликс[4]ареновыми лигандами, содержащими четыре 1,3-дикетонные группы в верхнем ободе, в то время как показатели релаксации ПСС- $\{Gd(IVa-c)\}$ ниже релаксации молекулярных комплексов Gd^{3+} .

Таблица 7 – Концентрация Gd^{3+} , число гидратации и релаксивность r_1 и r_2 коллоидов ПСС- $\{Gd(IVa-c)\}$ и ПСС- $\{Gd(IIIb,c)\}$ при 20,8 МГц и 25 °С.

	$C_{Gd,исп}$, мМ	q	r_1 (мМ ⁻¹ с ⁻¹)	r_2 (мМ ⁻¹ с ⁻¹)
ПСС- $\{Gd(IIIb)\}$	$0,27 \pm 0,02$	-	$12,6 \pm 0,5$	$15,3 \pm 0,5$
ПСС- $\{Gd(IIIc)\}$	$0,29 \pm 0,01$	4,4	$20,8 \pm 0,5$	$24,7 \pm 0,5$
ПСС- $\{Gd(IVa)\}$	$0,68 \pm 0,03$	1,7	$2,6 \pm 0,1$	$3,6 \pm 0,1$
ПСС- $\{Gd(IVb)\}$	$0,64 \pm 0,12$	2,1	$2,5 \pm 0,1$	$3,8 \pm 0,1$
ПСС- $\{Gd(IVc)\}$	$0,62 \pm 0,08$	1,9	$1,8 \pm 0,1$	$2,7 \pm 0,1$
Омнискан			4,19	6,18

Можно предположить, что доступность Gd^{3+} к молекулам растворителя является определяющим фактором для рассматриваемых систем. Тиакаликс[4]ареновые лиганды, образуя комплексы с преимущественной стехиометрией 2:2, сильнее экранируют Gd^{3+} , тогда как каликс[4]ареновые комплексы менее устойчивы в процессе синтеза ПСС-наночастиц, но при этом обеспечивают достаточно высокую скорость обмена координированных и свободных молекул растворителя, в результате чего наблюдаются достаточно высокие значения парамагнитной релаксации данных систем – до $\tau_1 = 20,8 \text{ мМ}^{-1} \text{ с}^{-1}$. Данные значения в 5 раз превосходят характеристики коммерчески доступного МРТ контрастного агента на основе молекулярного комплекса Gd «Омнискан» и демонстрируют перспективы использования ПСС-коллоидов в данной области.

Комплексы Tb^{3+} с тиакаликс[4]ареновыми лигандами в составе ПСС-коллоидов в роли внутриклеточных термолюминесцентных сенсоров

Тиакаликс[4]арены ранее зарекомендовали себя как эффективные лиганды-антенны для Tb^{3+} в среде ДМФА, в частности комплексы Tb^{3+} с бромзамещёнными тиакаликс[4]ареновыми лигандами обладают чувствительной к температуре люминесценцией, что делает их многообещающей основой для создания термолюминесцентных сенсоров. Обладая стехиометрией 2:2, тиакаликс[4]ареновые комплексы $Tb(IVa-d)$ эффективно стабилизируются в составе ПСС-коллоидов, образуя высокоустойчивые наночастицы с мономодальным распределением по размерам, высокими значениями электрокинетического потенциала (до -67 мВ) и интенсивной люминесценцией в зелёной области спектра (Рисунок 9).

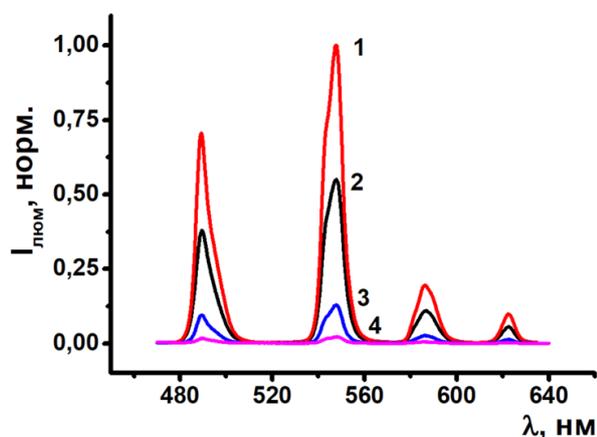


Рисунок 9 - Спектры возбуждения и эмиссии коллоидов ПСС- $\{Tb(IVn)\}$ ($n = a (1), b(2), c (3), d (4)$).

Особенности комплексообразования Tb^{3+} с тиакаликс[4]аренами способствуют более сильному экранированию металла от молекул растворителя. Рассчитанные по уравнению Хоррокса числа гидратации ($q \approx 2$) подтверждают сохранение стехиометрии комплексов 2:2 после перевода в состав ПСС-наночастиц (Таблица 8). Более высокое значение q , рассчитанное для системы ПСС- $\{Tb(IVd)\}$, коррелирует с более низким временем жизни возбуждённого состояния τ_{cp} , что в совокупности можно объяснить нарушением стехиометрии комплекса в процессе синтеза ПСС-наночастиц и увеличением вклада более гидратированной мономерной формы комплекса.

Температурно-индуцированные изменения люминесценции тиакаликс[4]ареновых комплексов тербия согласуются с вероятностью обратного переноса энергии между лигандом и металлом и коррелируют с расположением триплетного уровня лиганда. ПСС-коллоиды на основе комплексов Tb с ди- и тетрабромзамещёнными тиакаликс[4]аренами обладают более высокой термолюминесцентной чувствительностью, до $6,24 \% \text{ К}^{-1}$ в диапазоне температур $20-60 \text{ }^\circ\text{C}$, что согласуется с более низкой энергией триплетного уровня лиганда (Таблица 8).

Таблица 8 - Люминесцентные характеристики комплексов Tb³⁺ с тиакаликс[4]ареновыми лигандами в составе ПСС коллоидов.

	$I_{\text{люм}}(545\text{нм})/$ $I_{\text{люм}}(489\text{нм})$	$t_{\text{ср}}, \text{мс}$	$S_I, \% \text{ } ^\circ\text{C}$	q
ПСС-{Tb(IVa)}	1,53	1,14	1,5	1,7
ПСС-{Tb(IVb)}	1,52	0,76	1,2	2,2
ПСС-{Tb(IVc)}	1,43	0,77	3,5	1,9
ПСС-{Tb(IVd)}	1,23	0,48	6,2	3,0

Обращая внимание на особенности температурно-индуцированных изменений люминесценции, можно отметить их неполную обратимость, выражающуюся как в интенсивности люминесценции, так и в показателях средней времени жизни возбуждённого состояния (Рисунок 10). Анализ содержания Tb³⁺ в растворах супернатанта, полученных после цикла нагревания-охлаждения ПСС-коллоидов, показал присутствие тербия в свободной форме аква-ионов в количестве 1-1,89% относительно его общего содержания в коллоидах (Таблица 9), что не сопоставимо с тушением 20-40% люминесценции комплексов Tb³⁺ в составе изучаемых коллоидов.

Дополнительные исследования фотостабильности ПСС-коллоидов в условиях постоянного облучения эффективной длиной волны возбуждения подтвердили склонность рассматриваемых систем к фотодеградации, которая усиливается при увеличении содержания бром заместителей (Рисунок 11а,б). Можно предположить о протекании процессов фотоокисления фенольных групп и фотокаталитического замещения бром заместителей у тиакаликс[4]ареновых лигандов присутствующими в воде анионами хлора. Эффекты термоиндуцированного нарушения координационного окружения Tb³⁺ также могут присутствовать. Различный вклад температурных и фотоиндуцированных процессов деградации комплексов в составе ПСС-наночастиц является причиной наблюдаемых различий в их температурном отклике.

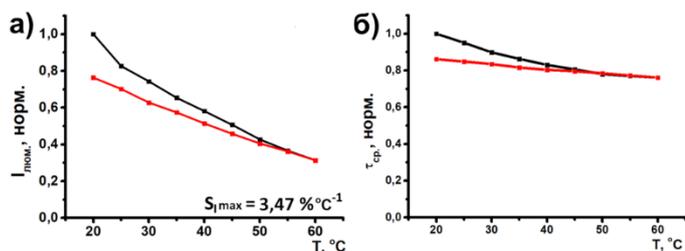


Рисунок 10 - Нормализованная интенсивность люминесценции (а) и средние времена жизни (б), при температуре 20 – 60 °С для ПСС-{Tb(IVc)}.

Таблица 9 – Данные АЭС-ИСП о потерях Tb³⁺ в процессе синтеза и после циклов нагрева-охлаждения.

	Потери при синтезе, %	Потери после цикла 25 – 50 °С, %
ПСС-{Tb(IVa)}	3,04	1,55
ПСС-{Tb(IVb)}	3,32	1,88
ПСС-{Tb(IVc)}	3,26	0,12
ПСС-{Tb(IVd)}	3,62	0,27

Система с наибольшей температурной чувствительностью и обратимостью люминесценции ПСС-{Tb(IVc)} была исследована в более узком интервале температур 30 – 45 °С при циклическом нагревании и охлаждении (Рисунок 11в). В данном физиологическом диапазоне температур коллоиды демонстрируют менее выраженную деградацию люминесценции. На протяжении пяти циклов нагрева-охлаждения наблюдается воспроизведение значений термолюминесцентной чувствительности (S_I) при 35 °С (Рисунок 11г), а также сохранение интенсивности люминесценции основного пика Tb³⁺ на приемлемом уровне, что позволяет использовать ПСС-{Tb(IVc)} для периодического мониторинга температуры.

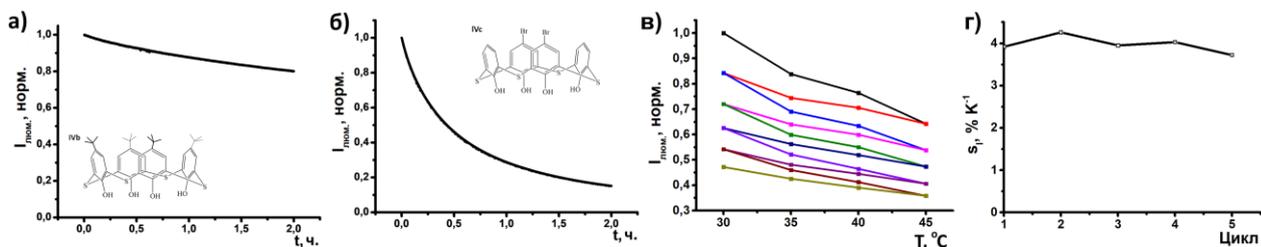


Рисунок 11 - Кинетика затухания люминесценции коллоида PSS- $\{Tb(IVb)\}$ и PSS- $\{Tb(IVc)\}$ при облучении $\lambda_{ex} = 363$ нм, интенсивность люминесценции в диапазоне 30-45 °C (v) и значения S_1 при 40 °C (г) в пяти циклах нагрева–охлаждения для PSS- $\{Tb(IVc)\}$.

Для коллоидов PSS- $\{Tb(IVc)\}$ были проведены исследования по интернализации в клетки линии M-Hela методом проточной цитометрии. Полученные данные показывают постепенный рост клеточной интернализации (пропорционально росту измеренной интенсивности люминесценции) при увеличении времени инкубации от одного до восьми часов (Рисунок 12a). Также исследована цитотоксичность PSS- $\{Tb(IVc)\}$ по отношению к трём клеточным линиям: M-HeLa, Chang liver и HSF (клетки фибробластов кожи). Значения IC_{50} для данных клеточных линий составляют 380, 300 и 340 мкМ соответственно, что доказывает их низкую токсичность (Рисунок 12б).

Возможность с использованием данных наночастиц отслеживать изменения температуры была экспериментально продемонстрирована с помощью флуоресцентной микроскопии клеточной линии M-HeLa после инкубации с PSS- $\{Tb(IVc)\}$ (Рисунок 12в). Температурное тушение в диапазоне температур 30 - 40 °C наблюдается невооруженным глазом и составляет $4,48\% \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$ при $T = 35 \text{ } ^\circ\text{C}$, что доказывает возможность использования полученных систем в качестве внутриклеточных люминесцентных термометров.

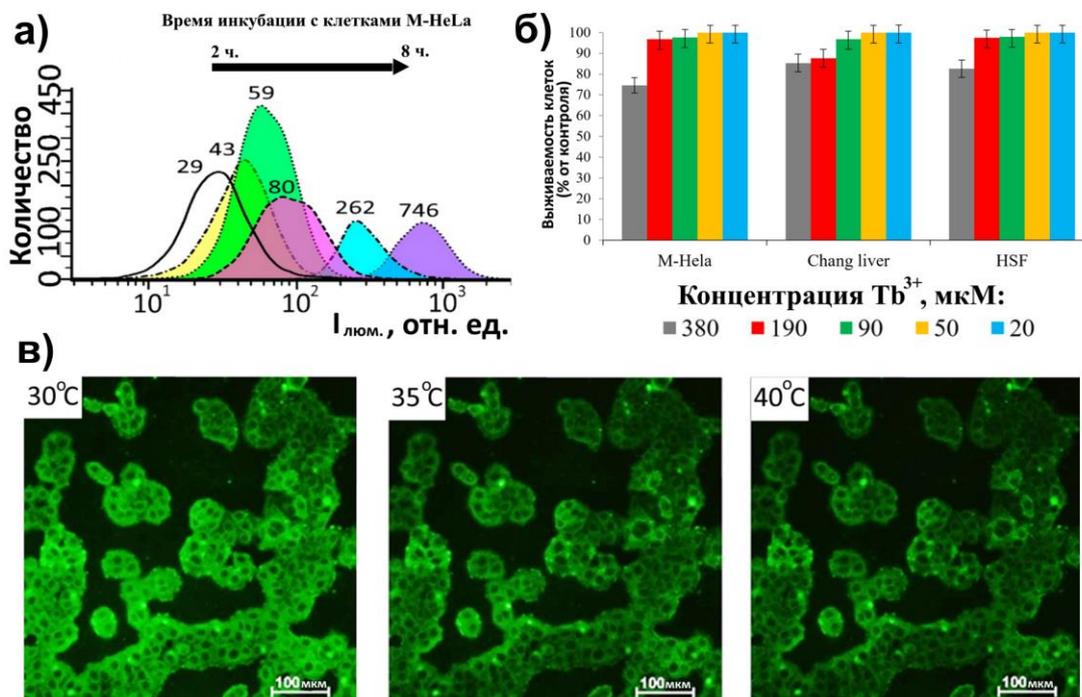


Рисунок 12 - Данные проточной цитофлуорометрии клеток M-HeLa после инкубации с PSS- $\{Tb(IVc)\}$ (a), жизнеспособность линии клеток M-HeLa, Chang liver и HSF в присутствии PSS- $\{Tb(IVc)\}$ (б), изображения флуоресцентной микроскопии клеток M-HeLa, подсвеченных PSS- $\{Tb(IVc)\}$, снятые при температурах 30 °C, 35 °C, 40 °C.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Синтезированы полистиролсульфонат (ПСС) покрытые наночастицы, состоящие из полиэлектролитной оболочки и ядра, составленного из комплексов лантаноидов (Eu, Tb, Gd, Sm) с каликс[4]ареновыми и тиакаликс[4]ареновыми лигандами. Для люминесцентных комплексов Ln^{3+} с лигандами на основе бисбензоилацетон функционализированных по нижнему ободу каликс[4]аренов, бис- и тетра-1,3-дикетон производных каликс[4]аренов в конформации 1,3-альтернат, а также с лигандами на основе дибром-, *трет*-бутилзамещённых тиакаликс[4]аренов – люминесцентные полиэлектролитные коллоиды получены впервые.

2. Продемонстрировано, что в отличие от традиционных сферических наночастиц, комплексы тербия с каликсаренами в конформации 1,3-альтернат с встроенными длинноцепочечными фрагментами в процессе синтеза полиэлектролитных коллоидов формируют нитевидные агрегаты.

3. На основе двух изоструктурных комплексов лантаноидов с бисбензоилацетонзамещёнными каликс[4]ареновыми лигандами, впервые получен радиометрический люминесцентный нанотермометр с чувствительностью на уровне ($S_I = 4,01 \% \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$) за счет комбинирования в составе ядра наночастицы европиевого и самариевого комплексов, обладающих высокой ($S_I = 6,82 \% \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$) и низкой ($S_I = 0,9 \% \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$) термолюминесцентной чувствительностью, соответственно, в растворах ДМФА в диапазоне температур 25-50 $^\circ\text{C}$.

4. На основе комплексов Tb^{3+} с бис- и тетракис-1,3-дикетонзамещёнными каликс[4]аренами в конформации 1,3-альтернат в роли лигандов были получены термо- и хемолюминесцентные наноразмерные сенсоры с термолюминесцентной чувствительностью $S_I = 4,67 \% \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$ и высокой хемолюминесцентной чувствительностью к пестициду глифосат с пределом обнаружения в воде в присутствии естественных интерферентов до 1,97 нМ в нейтральной среде.

5. Получены ПСС-наночастицы, содержащие в своем составе комплексы Gd^{3+} с бис- и тетракис-1,3-дикетонзамещёнными каликс[4]аренами в конформации конус, характеризующиеся высокими показателями релаксивности ($r_1 = 20,8 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$), которые в 5 раз превышают характеристики коммерческого молекулярного контрастного агента Омнискан.

6. На примере комплексов Tb^{3+} с ди- и тетрабромзамещёнными тиакаликс[4]ареновыми лигандами в составе ПСС-коллоидов, продемонстрирована возможность их использования в качестве внутриклеточных термолюминесцентных сенсоров. Доказана низкая цитотоксичность ПСС-наночастиц по отношению к клеточным линиям M-Nela, Chang liver, HSF и эффективная интернализация ПСС-наночастиц в клетки M-Nela. Доказано сохранение термолюминесцентного отклика комплексов Tb^{3+} с дибромзамещённым каликс[4]ареновым лигандом после их интернализации в клетки с чувствительностью $S_I = 4,48 \% \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$ при $T = 35 \text{ } ^\circ\text{C}$.

Перспективы дальнейшей разработки темы.

Полученные данные по конвертации серии комплексов лантаноидов в гидрофильное состояние, а также выявленные корреляции между структурой комплексов и коллоидными, люминесцентными характеристиками образующихся наночастиц станут основой для дальнейшего направленного синтеза функциональных полиэлектролитных наносистем. Синтезированные наночастицы на основе комплексов Eu, Sm, Tb, Gd обладают высоким потенциалом использования в качестве контрастных агентов для клеточной визуализации, радиометрических люминесцентных нанотермометров, люминесцентных хемосенсоров и МРТ-контрастных агентов.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для размещения материалов диссертаций:

1. Elistratova J.G. Tb(III) complexes with nonyl-substituted calix[4]arenes as building blocks of hydrophilic luminescent mixed polydiacetylene-based aggregates / B.S. Akhmadeev, R.R. Zairov, **A.P. Dovzhenko**, S.N. Podyachev, S.N. Sudakova, V. Syakaev, R. Jelinek, S. Kolusheva, A.R. Mustafina // *Journal of Molecular Liquids*. – 2018. – V. 268. – P. 463–470.
2. Zairov R.R. Terbium(III)-thiacalix[4]arene nanosensor for highly sensitive intracellular monitoring of temperature changes within the 303–313 K range / **A.P. Dovzhenko**, A.S. Sapunova, A.D. Voloshina, K.A. Sarkanich, A.G. Daminova, I.R. Nizameev, D.V. Lapaev, S.N. Sudakova, S.N. Podyachev, K.A. Petrov, Alberto Vomiero, A.R. Mustafina // *Sci Rep*. – 2020. – V. 10. – P. 20541.
3. Zairov R. Paramagnetic Relaxation Enhancement in Hydrophilic Colloids Based on Gd(III) Complexes with Tetrathia- and Calix[4]arenes / R. Zairov, S. Pizzanelli, **A.P. Dovzhenko**, I. Nizameev, A. Orekhov, N. Arkharova, S.N. Podyachev, S. Sudakova, A.R. Mustafina, L. Calucci // *J. Phys. Chem. C*. – 2020. – Vol. 124, № 7. – P. 4320–4329.
4. Zairov R.R. Rational design of efficient nanosensor for glyphosate and temperature out of terbium complexes with 1,3-diketone calix[4]arenes / **A.P. Dovzhenko**, S.N. Podyachev, S.N. Sudakova, A.N. Masliy, V.V. Syakaev, G.S. Gimazetdinova, I.R. Nizameev, D.L. Lapaev, Y.H. Budnikova, A.M. Kuznetsov, O.G. Sinyashin, A.R. Mustafina // *Sensors and Actuators B: Chemical*. – 2022. – V. 350. – P. 130845.
5. Zairov R.R. Role of PSS-based assemblies in stabilization of Eu and Sm luminescent complexes and their thermoresponsive luminescence / **A.P. Dovzhenko**, S.N. Podyachev, S.N. Sudakova, T.A. Kornev, A.E. Shvedova, A.N. Masliy, V.V. Syakaev, I.S. Alekseev, I.M. Vatsouro, G.Sh. Mambetova, D.V. Lapaev, I.R. Nizameev, F. Enrichi, A.M. Kuznetsov, V.V. Kovalev, A.R. Mustafina // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. – 2022. – V. 217. – P. 112664.

Тезисы докладов:

1. **Довженко А.П.** ПСС-стабилизированные комплексы Eu^{3+} и Sm^{3+} в роли внутриклеточных контрастных агентов с термолюминесцентным откликом / А.П. Довженко, Т.А. Корнев, В.А. Васильев, Р.Р. Заиров // Форум молодых исследователей ХимБиоSeasons. – Калининград, 2024. – P. 225.
2. Заиров Р.Р. Ln(III) Chelates Nanoparticles as Alternatives to Organic Fluorescent Dyes in Thermo- And Chemosensing / Р.Р. Заиров, **А.П. Довженко**, А.Р. Мустафина // 13th International Advances in Applied Physics & Materials Science Congress & Exhibition. – Фетхие, Турция, 2023. – P.42.
3. Заиров Р.Р. Lanthanide Chelate Nanoparticles as Luminescent Sensors / Р.Р. Заиров, **А.П. Довженко**, Д.А. Татаринov, С.Н. Подъячев, А.Р. Мустафина // 10th international congress on biomaterials & biosensors «BIOMATSEN 2023». – Олудениз, Турция 2023. – P. 17.
4. Заиров Р.Р. Lanthanide chelate nanoparticles for luminescence applications / Р.Р. Заиров, **А.П. Довженко**, Д.А. Татаринov, С.Н. Подъячев, А.Р. Мустафина // New Emerging Trends in Chemistry Conference (NewTrendsChem-2023). – Ереван, Армения, 2023. – P. 338.
5. Заиров Р.Р. Lanthanide chelates in colloidal state as promising luminescent biosensors and prospective MRI contrast agents / Р.Р. Заиров, **А.П. Довженко**, Д.А. Татаринov, С.Н. Подъячев, А.Р. Мустафина // 12th International Advances in Applied Physics

& Materials Science Congress & Exhibition (APMAS) Convention Centre of the Liberty Hotels Luĳia. – Олудениз, Турция 2023. – Р. 198.

6. **Довженко А.П.** Single excited dual band luminescent hybrid carbon dots–terbium chelate nanothermometer / А.П. Довженко, Р.Р. Заиров, А.Р. Мустафина // VII Российский день редких земель. – Казань, 2022. – Р. 6.

7. Заиров Р.Р. Lanthanide Chelate Nanoparticles as Luminescent Sensors / Р.Р. Заиров, **А.П. Довженко**, Д.А. Татаринов, А.Р. Мустафина // Международная конференция PACIFICHEM 2021 «Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS) for the Benefit of the Global Community». – 2021. – Р. 162.

8. **Довженко А.П.** Hybrid systems based on carbon quantum dots and terbium complexes with thiacalix[4]arene ligands as luminescent ratiometric nanothermometers / А.П. Довженко, Р.Р. Заиров, А.Р. Мустафина // Международная конференция молодых ученых «Менделеев 2021». – Санкт-Петербург, 2021. – Р. 93.

9. **Довженко А.П.** Функциональные полиэлектролитные наночастицы на основе комплексов Gd(III) в роли контрастных агентов, усиливающих парамагнитную релаксацию протонов молекул воды / А.П. Довженко, Р.Р. Заиров // 27-я Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2020». – Москва, 2020. – Р. 231.

10. **Довженко А.П.** Люминесцентные свойства полиэлектролитных наночастиц на основе комплексов лантаноидов(III) с тиакаликс[4]ареновыми лигандами / А.П. Довженко, Р.Р. Заиров // 26-я международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2019» – Москва, 2019. – Р. 350.

11. Заиров Р.Р. Функциональные коллоиды на основе комплексов лантаноидов(III) с новыми макроциклическими лигандами / Р.Р. Заиров, **А.П. Довженко**, С.Н. Подъячев, А.Р. Мустафина // Всероссийская конференция “V Российский день редких земель” – Нижний Новгород, 2019. – Р. 27.