

УДК 546.719:54-386

А. В. Сліпкань^{1,2}, М. І. Харлова^{1,2}, О. В. Штеменко², Н. І. Штеменко^{1,2}¹ НТУ «Дніпровська політехніка», пр. Дмитра Яворницького, 19, м. Дніпро, 49005, Україна² ДВНЗ «Український державний хіміко-технологічний університет», пр. Гагаріна, 8, м. Дніпро, 49005, Україна, email: n.kolesova1993@gmail.com

ФЛУОРЕСЦЕНТНІ НАНОЧАСТКИ НАВАНТАЖЕНІ СПОЛУКАМИ РЕНІЮ ТА ЇХ БІОСУМІСНІСТЬ З ЕРИТРОЦИТАМИ

Метою роботи було синтезувати флуоресцентні наночастки на основі цирконій гідрофосфату (ZrP), які містять дихлоротетра- μ -ізобутират диренію(III) (I), і флуоресцентні наноліпосоми на основі фосфатидилхоліну, які містять флуоресцентний бромотрикарбоніл-5(1,2,3-триметоксibenzen)-3(піридин-2-іл)-1,2,4-триазолреній(I) (II) та з'ясувати їх біосумісність і токсичність щодо еритроцитів людини і мишей. Наночастки на основі ZrP, що містили I, (ZrP-I-RB) і ліпосоми, що містили II (PLIP), було синтезовано та показано їх флуоресцентні властивості. Показано біосумісність отриманих наночастинок з еритроцитами людини і миші та їх не токсичність, що підтверджено збереженням морфологічних форм клітин, що поглинули флуоресцентну речовину. Клітини з різним біохімічним складом еритроцитарної мембрани виявляли різну здатність до накопичення синтезованих наночастинок, що показано фіксуванням різної швидкості флуоресцентного забарвлення у процесі інкубації клітин з отриманими наночастиками. Зроблено висновок про перспективність подальших досліджень, спрямованих на синтез флуоресцентних нанокомпозитів на основі сполук ренію і дослідження механізмів їх взаємодії з біологічними об'єктами різної складності з метою подальшого їх впровадження у медичну практику.

Ключові слова: сполуки ренію(I), сполуки ренію(III), наночастки, еритроцити.

Кластерні сполуки ренію(III) мають цілий спектр біологічної активності, який включає антиканцерогенні, антиоксидантні, гепато-, нефро-, гемато-стабілізуючі властивості, що узагальнено у огляді [1]. У цій і інших роботах показано доцільність використання нано-технологічних підходів для ефективного використання цих сполук у біологічних моделях, а саме, доведено, що ліпосомні форми введення кластерних сполук ренію(III) є більш ефективними, ніж не інкапсульовані сполуки, а у деяких експериментах є єдиними можливими для застосування формами введення сполук задля подолання негативних наслідків патологічних станів. Поряд з ліпосомними формами, ми вважаємо перспективними для медичної практики синтезовані нами тверді наночастки на основі цирконій гідрофосфату[2]. Відомо, що трикарбонілі ренію є флуоресцентними сполуками, які проявляють протипухлинну активність та можуть використовуватися при діагностуванні онкозахворювань [3].

Однією з актуальних завдань сучасних медичної і біонеорганічної хімії є синтез наночастинок подвійного призначення, які б володіли одночасно біологічною активністю і могли б слугувати діагностичними реагентами. Це актуальне завдання може бути вирішене шляхом синтезу флуоресцентних наночастинок, що містять

вищеназвані сполуки ренію, причому флуоресцентними властивостями можуть володіти як самі сполуки ренію, так і поверхня наночастки.

Еритроцити (червонокривці, red blood cells, RBC) – клітини, які використовуються для визначення біосумісності наночасток; внаслідок доступності, еритроцити є об'єктами для з'ясування механізмів неспецифічного транспорту новосинтезованих речовин у живу клітину, оскільки еритроцитарна мембрана позбавлена ендочитарного біохімічного комплексу (endocytic machinery); також розглядається можливість застосування еритроцитів у якості транспортних клітин для доставки лікарських засобів [4,5]. Отже, метою роботи було синтезувати флуоресцентні наночастки на основі цирконій гідрофосфату, що містять кластерну сполуку ренію(III) з наступною модифікацією поверхні а також синтезувати флуоресцентні ліпосоми, що містять флуоресцентний трикарбоніл ренію(I) та перевірити їх біосумісність на еритроцитах людини і миші.

Матеріали та методи. Дихлоротетра- μ -ізобутират диренію(III) (I) синтезували за методом [6]. Бромотрикарбоніл-5(1,2,3-триметоксибензен)-3(піридин-2-іл)-1,2,4-триазолреній(I) (II) було синтезовано за методом [7]. Наночастки цирконій гідрофосфату (**ZrP-I**), навантажені дихлоротетра- μ -карбоксилатами диренію(III) синтезували за методом [2]. Реактиви, що використовувались, було придбано в Sigma Aldrich, розчинники були марки ЧДА.

Для дослідження використовували еритроцити донорської крові IV(AB) Rh⁺ групи, отримані на станції переливання крові (Дніпро), які відмивали 0,85%-им розчином NaCl шляхом трикратного центрифугування по 5 хвилин при 3000 g кожне. Під час відмивки еритроцитів співвідношення еритроцитарна маса : фізіологічний розчин складало 1:3. В експерименті було використано кров клінічно здорової миші лінії ICR (CD-1), та кров миші, яка мала спонтанну пухлину молочної залози, взяті у віварії Агро-економічного університету (Дніпро).

Синтез флуоресцентних наночасток цирконій гідрофосфату, навантажених I, проводили за методом [8] з модифікаціями. Для цього наважку наночасток перемішували в 15 мл (3-амінопропіл)триетоксисилан (APTES) протягом 6 годин, після чого наночастки тричі промивали етиловим спиртом та сушили 4 години за температури 50°C. Після цього 1 мг родаміну Б (**RB**) розчиняли в 5 мл дистильованої води з додаванням 250 μ л 0,4 М розчину N-гідроксисукциніміду (NHS) та 1-етил-3-(3-диметиламінопропіл)карбодіїмід (EDC). Розчин перемішували на магнітній мішалці зі швидкістю 100 об/хв. протягом 6 годин, після чого додавали ZrP*APTES. Після перемішування наночастки промивали водою та сушили при 60°C протягом 24 годин. Отримані флуоресцентні наночастки **ZrP-I-RB** фіксували за допомогою флуоресцентного мікроскопу Granum R40 при збільшенні 400x.

Синтез флуоресцентних наноліпосом (Пліп), навантажених II. Наноліпосомні форми комплексної сполуки II було отримано методом гідратації тонкої плівки (the thin-film hydration method) [9] з модифікацією. Було приготовано хлороформний розчин 10 мг II й лецитину та перенесено у круглодонну колбу об'ємом 50 мл. Далі розчинник випаровували за допомогою роторного випарювача (температура води у водяній бані 45°C, вакуум та швидкість обертання 90 об/хв). Сигналом закінчення випаровування було повне зникнення розчинника та його запаху й утворення плівки на стінках колби. Отриману плівку ресуспензую-

вали в 10 мл 0,85 % NaCl шляхом збовтування до отримання ліпосомної суспензії. Люмінесцентне випромінювання **Пліп** фіксували за допомогою флуоресцентного мікроскопу Granum R40 при збільшенні 400х.

Взаємодія ZrP-I-RB і Пліп з еритроцитами людини і миші. Для проведення аналізу 0,3 мл відмитих еритроцитів доводили фізіологічним розчином до 3 мл. Кожну пробу інкубували при 37°C протягом 0, 30 та 90 хв з 50 мкл наночасток з кінцевою концентрацією 10^{-6} - 10^{-7} моль/л для еритроцитів крові людини та 10^{-8} моль/л для еритроцитів крові мишей. Контрольна проба містила 0,3 мл еритроцитарної маси доведеної фізіологічним розчином до 3 мл та 50 мкл фізіологічного розчину. По закінченні часу інкубації проби центрифугували і виготовляли мазки.

Для приготування еритроцитарної маси мишей використовували свіжу мишачу кров, яку отримували шляхом декапітації під ефірним наркозом і негайно змішували зі стандартним глюкозо-цитратним консервуючим розчином у співвідношенні 4:1. Кров центрифугували протягом 10 хв при 1500 g, плазму та верхній шар видаляли, а еритроцити двічі відмивали шляхом ресуспендування у подвійному об'ємі ізотонічного фосфатного буфера, центрифугували та видаляли надосадовий розчин.

Результати та обговорення. У результаті синтезу **ZrP-I-RB** наночасток було отримано конгломерати флуоресцентних наночасток, які при УФ-опроміненні мали яскравий жовто-червоний колір (рис. 1):

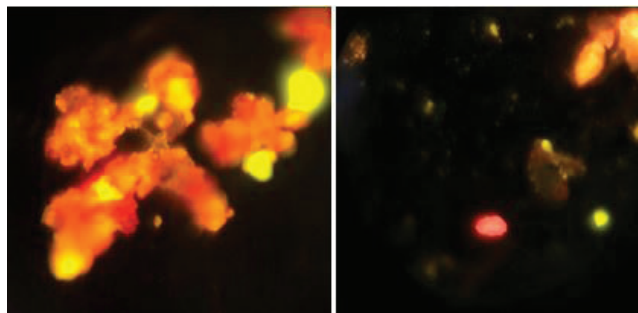


Рис. 1. Агломерати наночасток **ZrP-I-RB** при УФ-випромінюванні із збільшенням 400х.

Fig. 1. Agglomerates of nanoparticles **ZrP-I-RB** under UV radiation, x 400.

Завдяки хімічній модифікації на поверхні **ZrP-I** утворився шар, що містить флуоресцентну речовину. Згідно нашим даним розмір таких наночасток 100-200 нм [2], проте нами було показано, що ці наночастки мають схильність до агломерації [10]. Припусткову структуру отриманих наночасток представлено на рис. 2.

Приєднання модифікуючих наночастки речовин відбувається через гідроксиди фосфатних груп, що знаходяться на поверхні наночасток. Кластерна сполука ренію(III) з ізобутиратними лігандами знаходиться між площинами ZrP, відстань 13,87 нм [2].

Отримані нами ліпосоми мають розмір 100-150 нм [9] і утворюють прозорий розчин, який при денному світлі не має забарвлення (рис. 3.)

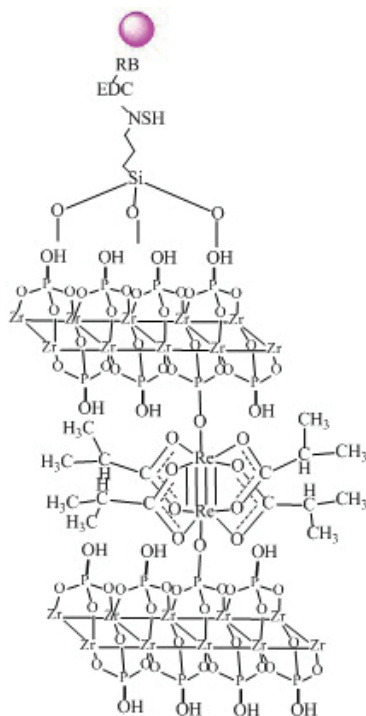


Рис. 2. Будова наночасток композиту **ZrP-I-RB**.

NHS – N-гідроксисукцинімід; EDC – 1-етил-3-(3-диметиламінопропіл)карбодіїмід;
 $C_9H_{18}O_3Si$ – залишок АРТЕS; **RB** – родамін Б

Fig. 2. Structure of **ZrP-I-RB** nanoparticles.

NHS – N-hydroxysuccinimide; EDC - 1-Ethyl-3- (3-dimethylaminopropyl) carbodiimide;
 $C_9H_{18}O_3Si$ – APTES residue; RB - rhodamine B

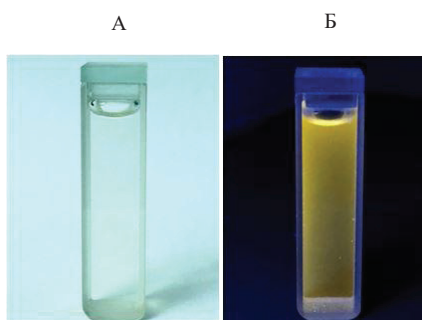


Рис.3. Наноліпосоми системи **Пліп** у фізіологічному розчині при денному світлі (А) та при УФ-випромінюванні (Б).

Fig. 3 Nanoliposomes of **Пліп** in physiological solution in daylight (A) and at UV radiation (B).

Проте, при УФ-випромінюванні вони мають яскравий жовтий колір, притаманний флуоресцентним наночасткам, що містять трикарбоніли ренію(I) [11].

Отже, нами отримані флуоресцентні наночастки, які містять I і II. При цьому, нами модифікована поверхня твердих наночастинок з цирконій гідрофосфатом флуоресцентною речовиною, а також отримано ліпосоми з рідкою ліпідною оболонкою, де флуоресцентна речовина знаходиться всередині капсули, тобто, використано обидва вищезазначених підходи для синтезу флуоресцентних наночастинок.

Еритроцити людини при інкубації **ZrP-I-RB** наночастками через 5 хвилин після початку експерименту не поглинали флуоресцентні частинки (рис. 4: 1,2Б) ні в концентрації наночастинок 10^{-6} М, ні 10^{-7} М (рис. 4).

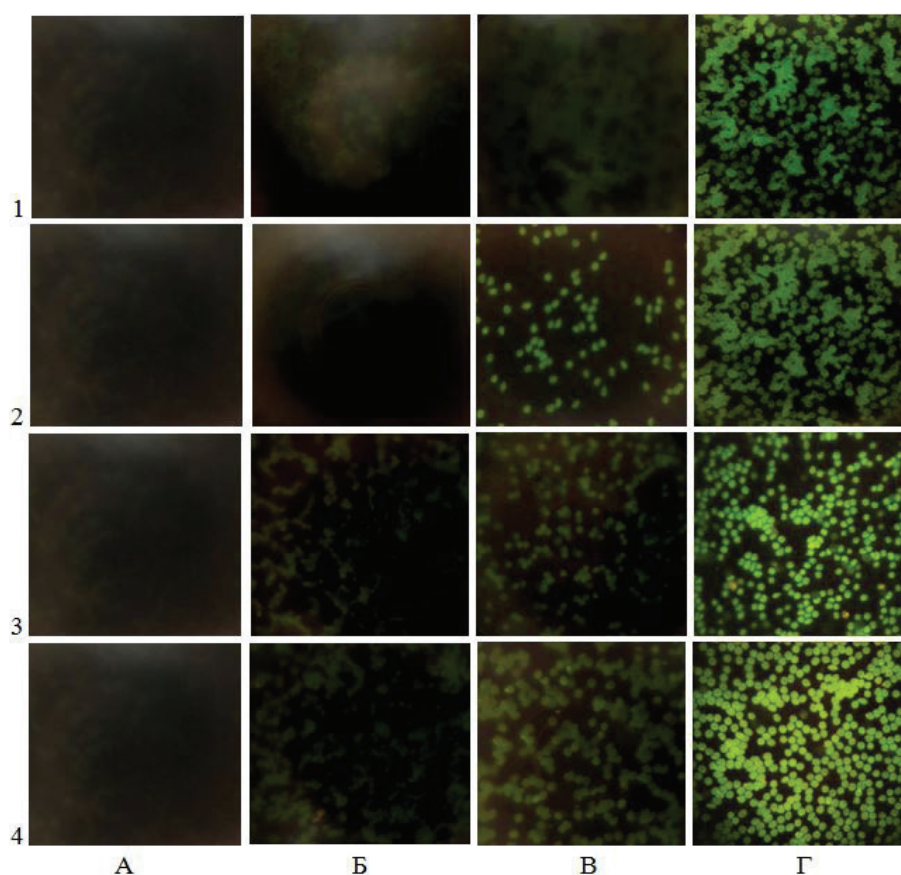


Рис. 4. Флуоресцентні знімки еритроцитів людини у експерименті з інкубацією з **ZrP-I-RB** (1, 2) і **IIIip** (3, 4) у кінцевих концентраціях наночастинок $1 \cdot 10^{-7}$ М (1, 3) та $1 \cdot 10^{-6}$ М (2, 4); 0, 5, 30, 90 хвилин інкубації (відповідно А, Б, В, Г).

Fig. 4. Fluorescent images of human erythrocytes in experiment with incubation with **ZrP-I-RB** (1, 2) and **IIIip** (3, 4) in the final concentrations $1 \cdot 10^{-7}$ M (1, 3) and $1 \cdot 10^{-6}$ M (2, 4) nanosheets (2, 4); 0, 5, 30, 90 minutes of incubation (A, B, C, D respectively).

Помітне поглинання **ZrP-I-RB** починалося при концентрації 10^{-6} М через 30 хвилин (рис. 4: 1В) інкубації, а для концентрації 10^{-7} М і 10^{-6} М було виявлено інтенсивне поглинання через 90 хвилин (рис. 4: 1,2 Г). Отже, для наночасток **ZrP-I-RB** показано біосумісність з еритроцитами людини і залежність поглинання від концентрації: із збільшенням концентрації наночасток процес накопичення флуоресцентної речовини відбувається більш інтенсивно. Слід відмітити, що морфологічні форми еритроцитів у цьому експерименті практично не змінюються, що свідчить про нетоксичність **ZrP-I-RB** наночасток. **Пліп** накопичувався в еритроцитах людини вже через 5 хвилин (рис. 4: 3,4Б), через 30 хвилин спостерігалось суттєве флуоресцентне забарвлення, яке практично не відрізняється як для концентрації **Пліп** 10^{-7} М (рис. 4: 3В), так і для концентрації **П ліп** 10^{-6} М (рис. 4: 4В), і було дуже інтенсивним для обох концентрацій через 90 хвилин інкубації (рис. 4: 3,4 Г). Взаємодія еритроцитів людини з флуоресцентними ліпосомами, отриманими нами, теж не призводила до суттєвих морфологічних форм клітин, що також свідчило про біосумісність і нетоксичність **Пліп**.

Еритроцити миші вже через 1 хвилину накопичували флуоресцентні частки (рис. 5, Б), а через 90 хвилин були яскраво забарвлені (рис. 5, В).

Порівняння з експериментом, представленим на рис. 4, дозволяє зробити наступний висновок: еритроцити миші більш проникнені щодо часток **ZrP-I-RB** і **Пліп**, ніж еритроцити людини, що виявляється у більшій швидкості флуоресцентного забарвлення у процесі інкубації.

Слід особливо відмітити, що флуоресцентні іміджи еритроцитів миші здорової (рис. 5: 1,3) і миші з патологією (рис. 5: 2,4) мають відмінності за інтенсивністю забарвлення, що свідчить про залежність швидкості проникнення отриманих нами наночасток від біохімічного складу еритроцитарних мембран. Це спостереження підтверджується відомими фактами про те, що еритроцити людини і миші відрізняються наявністю деяких мембранних білків [4,12,13] і про те, що розвиток пухлин призводить до суттєвих змін процесу еритропоезу [13,14,15].

Різна швидкість проникнення **ZrP-I-RB** і **Пліп** у клітини, що залежить від стану біологічних мембрани, тобто, вибіркового транспортування в залежності від біохімічного складу мембран, показана нами, свідчить про перспективність використання отриманих нами наночасток у медицині для діагностики і лікування.

Висновки. Отже, вперше було отримано флуоресцентні наночастки, які містять комплексні сполуки ренію(I) та ренію(III). Для твердих наночасток показано біосумісність з еритроцитами і залежність поглинання від концентрації: із збільшенням концентрації наночасток процес накопичення флуоресцентної речовини відбувається більш інтенсивно. Було виявлено, що морфологічні форми еритроцитів у цьому експерименті практично не змінюються, що свідчить про нетоксичність ново-синтезованих наночасток. Еритроцити миші, а особливо еритроцити миші з онкопатологією, проявляють більшу здатність до накопичення синтезованих наночасток, ніж еритроцити людини, що виявляється у більшій швидкості флуоресцентного забарвлення у процесі інкубації і свідчить про вибіркового накопичення в залежності від стану біологічної мембрани і можливість використання наночасток на основі сполук ренію для лікування і діагностики захворю-

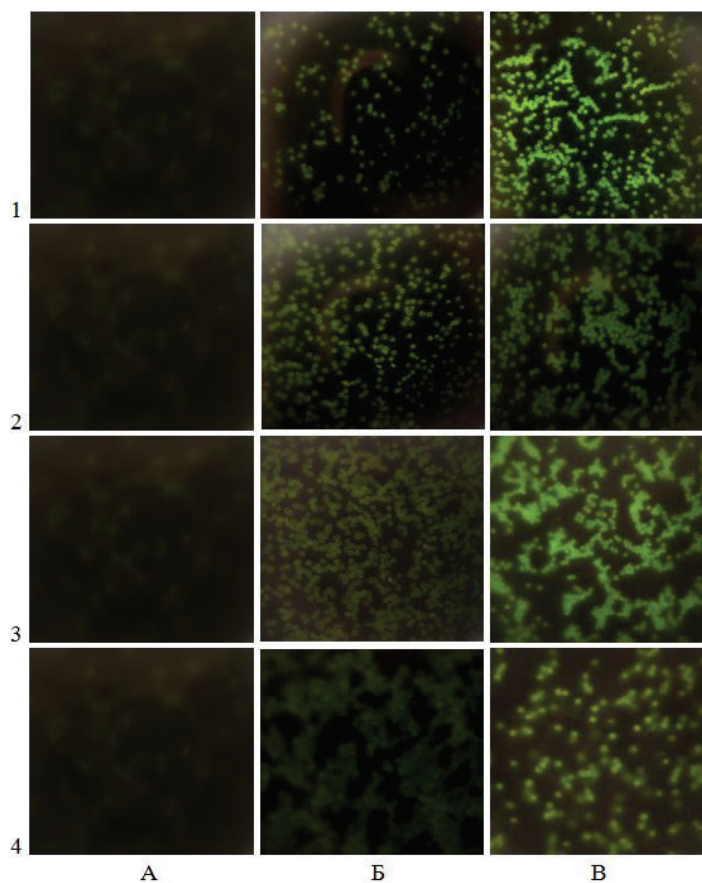


Рис. 5. Флуоресцентні іміжки еритроцитів мишей у експерименті з інкубацією з **ZrP-I-RB** (1 – здорової миші; 2 – миші з патологією) і **Plip** (3 – здорової миші, 4 – миші з патологією); 0, 1, 90 хвилин інкубації (відповідно А, Б, В).

Fig. 5. Fluorescent images of mouse erythrocytes in experiment with incubation with **ZrP-I-RB** (1 – healthy mouse; 2 mice with pathology) and **Plip** (3 – healthy mouse, 4 – mouse with pathology); 0, 1, 90 minutes of incubation (A, B, C respectively).

вань. Отримані результати свідчать про перспективність подальших досліджень, спрямованих на синтез флуоресцентних наноконструкцій на основі сполук ренію і дослідження механізмів їх взаємодії з біологічними об'єктами різної складності.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Shtemenko A.V., Shtemenko N.I.* Rhenium–platinum antitumor systems // Ukr. Biochem. J. – 2017. – Vol. 89, N 2. – P. 5–30. <https://doi.org/10.15407/ubj89.02.005>.
2. *Сліпкань А.В., Китова Д.Є, Штеменко О.В.* Наночастки цирконій гідрофосфату як форма упаковки для дигалогенотетра- μ -карбоксилатів диренію(III) // Укр. хім. журн. – 2017. – Т 83, № 7-8. – С. 35-41.

3. Marker S.C., MacMillan S.N., Zipfel W.R., Li Z., Ford P.C., Wilson J.J. Photoactivated in vitro anticancer activity of rhenium(I) tricarbonyl complexes bearing water-soluble phosphines // *Inorg. Chem.* – 2018. – Vol. 3, N 57. – P.1311-1331. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.7b02747>
4. Pan D.C., Myerson J.W., Brenner J.S., Patel P.N., Anselmo A.C., Mitragotri S., Muzykantov V. Nanoparticle properties modulate their attachment and effect on carrier red blood cells // *Sci. Rep.* – 2018. – N 8. – P. 1615-1627. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19897-8>
5. Treuel L., Jiang X., Nienhaus U.G. New views on cellular uptake and trafficking of manufactured nanoparticles // *J. R. Soc. Interface.* – 2013. – Vol. 82, N 10. – P.1-14. <http://dx.doi.org/10.1098/rsif.2012.0939>
6. Shtemenko A.V., Chifotides H.T., Yegorova D.E., Shtemenko N.I., Dunbar K.R. Synthesis and X-ray crystal structure of the dirhenium complex $Re_2(i-C_3H_7COO)_4Cl_2$ and its interactions with the DNA purine nucleobases // *J. Inorg. Biochem.* – 2015. – Vol. 153. – P.114-120. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2015.06.012>
7. Kharlova M.I., Piletska K.O., Domasevitch K.V., Shtemenko A.V. Crystal structure of bromido-fac-tricarbonyl[5-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-3-(pyridin-2-yl)-1H-1,2,4-triazole- κ^2N^2, N^3]rhenium(I) methanol monosolvate // *Acta Crystallogr.* – 2017. – N 73. – P. 484-487. <https://doi.org/10.1107/S2056989017003371>
8. Kalita H., Kumar B.N., Konar S., Tantubay S., Mahto M.K., Mandal M., Pathak A. Sonochemically synthesized biocompatible zirconium phosphate nanoparticles for pH sensitive drug delivery application // *Mater. Sci. Eng: C.* – 2016. – Vol. 60. – P.84-91. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.11.010>
9. Li Z., Shtemenko N.I., Yegorova D.Y., Babiy S.O., Brown A.J., Yang T., Shtemenko A.V., Dunbar K.R. Liposomes loaded with a dirhenium compound and cisplatin: preparation, properties and improved in vivo anticancer activity // *J. Liposome Res.* – 2015. – Vol. 1, N 25. – P. 78-87. <https://doi.org/10.3109/08982104.2014.954127>
10. Slipkan A., Shtemenko N., Bray R., Obarska-Pempkowiak H., Shtemenko A. Aggregation properties of some zirconium phosphate loaded with dirhenium(III) complexes // *Voprosy khimii i khimicheskoi tekhnologii.* – 2018. – N 6. – P.72-76. <https://doi.org/10.32434/0321-4095-2018-121-6-72-76>
11. Piletska K., Domasevitch K., Gusev A., Shul'gin V., Shtemenko A. fac-Tricarbonyl rhenium(I) complexes of triazole-based ligands: Synthesis, X-ray structure and luminescent properties // *Polyhedron.* – 2015. – Vol. 102. – P.699-704. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2015.10.030>
12. Namdee K., Carrasco-Teja M., Fish M.B., Charoenphol P., Eniola-Adefeso O. Effect of Variation in hemorheology between human and animal blood on the binding efficacy of vascular-targeted carriers // *Sci. Rep.* – 2015. – N 5. – P.11631-11645. <https://doi.org/10.1038/srep11631>
13. Bian Y., Kim K., Ngo T., Kim I., Bae O., Lim K., Chung J. Silver nanoparticles promote procoagulant activity of red blood cells: a potential risk of thrombosis in susceptible population // *Part. Fibre Toxicol.* – 2019. – N 16. – P.9-23. <https://doi.org/10.1186/s12989-019-0292-6>
14. Babu E.P., Subastri A., Suyavaran A., Premkumar K., Sujatha V., Aristatile B., Alshammari G.M., Dharuman V., Thirunavukkarasu C. Size dependent uptake and hemolytic effect of zinc oxide nanoparticles on erythrocytes and biomedical potential of zno-ferulic acid conjugates // *Sci. Rep.* – 2017. – N 7. – P. 4203-4215. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-04440-y>
15. Avsievich T., Popov A., Bykov A., Meglinski I. Mutual interaction of red blood cells influenced by nanoparticles // *Sci. Rep.* – 2019. – N 9. – P. 5147-5153. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41643-x>

Стаття надійшла до редакції 13.05.2019

А. В. Слипкань^{1,2}, М. И. Харлова^{1,2}, А. В. Штеменко², Н. И. Штеменко^{1,2}

¹ НТУ «Дніпровська політехніка», пр. Дмитрия Яворницького, 19, г. Дніпро, 49005, Україна

² ГВУЗ «Український державний хіміко-технологічний університет», пр. Гагарина, 8, г. Дніпр, 49005, Україна
email: n.kolesova1993@gmail.com

ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ НАГРУЖЕННЫЕ СОЕДИНЕНИЯМИ РЕНИЯ И ИХ БИОСОВМЕСТИМОСТЬ С ЭРИТРОЦИТАМИ

Применение нанотехнологий в современной медицине является актуальным направлением исследований. Как кластерные соединения рения(III), так и трикарбонилы рения(I) имеют целый спектр биологической активности. Эритроциты являются

удобной моделью для исследования биосовместимости и токсичности нанокомпози- тов. И так, целью работы был синтез флуоресцентных наночастиц на основе цирко- ний гидрофосфата(ZrP), которые содержат дихлоротетра- μ -изобутират дирения(III) (I), и флуоресцентных нанолипосом на основе фосфатидилхолина, содержащие флу- оресцентный бромотрикарбонил-5(1,2,3-триметоксибензен)-3(пиридин-2-ил)-1,2,4- триазолрений(I) (II) и выяснить их биосовместимость и токсичность на эритроцитах человека и мышей. Флуоресцентные наночастицы на основе ZrP, содержащие I было синтезировано путем модификации поверхности наночастиц родамином-Б (ZrP-I-RB). Липосомы, содержащие II, было синтезировано с фосфатидилхолином методом гидра- тации тонких пленок (Плип). Оба вида наночастиц имели флуоресцентные свойства. Флуоресцентные имиджеи эритроцитов человека и мыши в эксперименте с инкубацией с ZrP-I-RB и Плип в конечных концентрациях наночастиц $1 \cdot 10^{-6}$ М, $1 \cdot 10^{-7}$ М и $1 \cdot 10^{-8}$ М показали, что синтезированные наночастицы являются биосовместимыми с эритро- цитами и через 1-5-30-90 минут эффективно поглощаются клетками. Эффективность поглощения, которая измерялась зависимостью интенсивности окраски от времени инкубации клеток с наночастицами определенной конечной концентрации зависела от биохимического состава эритроцитарной мембраны, который отличается в эритроци- тах человека и мыши и в эритроцитах здоровой мыши и мыши со спонтанной опу- холью. Полученные результаты дают основания для дальнейших исследований флу- оресцентных наночастиц нагруженных соединениями рения с целью их внедрения в медицинскую практику в качестве средств двойного назначения – лечение и визуали- зации патологических клеток.

Ключевые слова: соединения рения(I), соединения рения(III), наночастицы, эритро- цити.

A. V. Slipkan^{1,2}, M. I. Kharlova^{1,2}, A. V. Shtemenko², N. I. Shtemenko^{1,2}

¹National Technical University Dnipro Politechnic, Dmitry Yavornytskyi Ave., 19, Dnipro, 49005, Ukraine

²Ukrainian State University of Chemical Technology, Gagarin Av. 8, Dnipro, 49005, Ukraine

email: n.kolesova1993@gmail.com

FLUORESCENT NANOPARTICLES LOADED WITH RHENIUM COMPOUNDS AND THEIR BIOCOMPATIBILITY WITH ERYTHROCYTES

The use of nanotechnology in modern medicine is a contemporary area of research. Both rhenium(III) cluster compounds and rhenium(I) tricarbonyls have a whole spectrum of biological activity. Red blood cells are a convenient model for studying of the biocompatibility and toxicity of nanocomposites. Thus, the purpose of the work was synthesis of fluorescent nanoparticles based on zirconium phosphate (ZrP), which contain dichlorotetra- μ -isobutirate dirhenium(III) (I), and phosphatidylcholine-based nanoliposomes containing fluorescent bromotricarbonyl-5(1,2,3-trimethoxybenzene)-3(pyridin-2-yl)-1,2,4-triazolrhenium(I) (II) and to find out their biocompatibility and toxicity humans and mouse erythrocytes. Fluorescent ZrP-based nanoparticles containing I were synthesized by modifying the surface of nanoparticles with rhodamine-B (ZrP-I-RB). Liposomes containing II were synthesized with phosphatidylcholine using the thin film hydration method (Illip). Both types of nanoparticles had fluorescent properties. Fluorescent images of human and mouse erythrocytes in experiment with incubation with ZrP-I-RB and Illip in final concentrations of nanoparticles $1 \cdot 10^{-6}$ M, $1 \cdot 10^{-7}$ M and $1 \cdot 10^{-8}$ M showed that the synthesized nanoparticles were biocompatible with erythrocytes and after 1-5-30 -90 minutes effectively was absorbed by the cells. The absorption efficiency, which was measured by the dependence of the fluorescent intensity from the time of incubation of cells with nanoparticles of the certain final concentration,

depended on the biochemical composition of the erythrocyte membrane, which differs in human and mouse erythrocytes and in healthy mice and mice with a spontaneous tumor. The obtained results shows importance of the further studies of fluorescent nanoparticles loaded with rhenium compounds with the aim to introduce them into medical practice as dual-purpose medicines for treatment and visualization of pathological cells.

Keywords: rhenium(I) compounds, rhenium(III) compounds, nanoparticles, erythrocytes.

REFERENCES

1. Shtemenko A.V., Shtemenko N.I. *Rhenium–platinum antitumor systems*. Ukr. Biochem. J., 2017, vol. 89, no 2, pp. 5-30. <https://doi.org/10.15407/ubj89.02.005>.
2. Slipkan A.V., Kitova D.E., Shtemenko A.V. *Nanoparticles of zirconium phosphate as a form of packaging for dihalogenatetra- μ -carboxylates of dirhenium(III)*. Ukr. Chem. J., 2017, vol. 83, no 7-8, pp. 35-41.
3. Marker S.C., MacMillan S.N., Zipfel W.R., Li Z., Ford P.C., Wilson J.J. *Photoactivated in vitro anticancer activity of rhenium(I) tricarbonyl complexes bearing water-soluble phosphines*. Inorg. Chem., 2018, vol. 3, no 57, pp. 1311-1331. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.7b02747>
4. Pan D.C., Myerson J.W., Brenner J.S., Patel P.N., Anselmo A.C., Mitragotri S., Muzykantov V. *Nanoparticle properties modulate their attachment and effect on carrier red blood cells*. Sci. Rep., 2018, no 8, pp. 1615-1627. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19897-8>
5. Treuel L., Jiang X., Nienhaus U.G. *New views on cellular uptake and trafficking of manufactured nanoparticles*. J. R. Soc. Interface, 2013, vol. 82, no 10, pp. 1-14. <http://dx.doi.org/10.1098/rsif.2012.0939>
6. Shtemenko A.V., Chifotides H.T., Yegorova D.E., Shtemenko N.I., Dunbar K.R. *Synthesis and X-ray crystal structure of the dirhenium complex $Re_2(i-C_3H_7COO)_4Cl_2$ and its interactions with the DNA purine nucleobases*. J. Inorg. Biochem., 2015, vol. 153, pp. 114-120. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2015.06.012>
7. Kharlova M.I., Piletska K.O., Domasevitch K.V., Shtemenko A.V. *Crystal structure of bromido-fac-tricarbonyl[5-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-3-(pyridin-2-yl)-1H-1,2,4-triazole- κ^2N^2,N^3]rhenium(I) methanol monosolvate*. Acta Crystallogr., 2017, no 73, pp. 484-487. <https://doi.org/10.1107/S2056989017003371>
8. Kalita H., Kumar B.N., Konar S., Tantubay S., Mahto M.K., Mandal M., Pathak A. *Sonochemically synthesized biocompatible zirconium phosphate nanoparticles for pH sensitive drug delivery application*. Mater. Sci. Eng.: C, 2016, vol. 60, pp. 84-91. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.11.010>
9. Li Z., Shtemenko N.I., Yegorova D.Y., Babiy S.O., Brown A.J., Yang T., Shtemenko A.V., Dunbar K.R. *Liposomes loaded with a dirhenium compound and cisplatin: preparation, properties and improved in vivo anticancer activity*. J. Liposome Res., 2015, vol. 1, no 25, pp. 78-87. <https://doi.org/10.3109/08982104.2014.954127>
10. Slipkan A., Shtemenko N., Bray R., Obarska-Pempkowiak H., Shtemenko A. *Aggregation properties of some zirconium phosphate loaded with dirhenium(III) complexes*. Voprosy khimii i khimicheskoi tekhnologii, 2018, no 6, pp. 72-76. <https://doi.org/10.32434/0321-4095-2018-121-6-72-76>
11. Piletska K., Domasevitch K., Gusev A., Shulgin V., Shtemenko A. *fac-Tricarbonyl rhenium(I) complexes of triazole-based ligands: Synthesis, X-ray structure and luminescent properties*. Polyhedron, 2015, vol. 102, pp. 699-704. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2015.10.030>
12. Namdee K., Carrasco-Teja M., Fish M.B., Charoenphol P., Eniola-Adefeso O. *Effect of Variation in hemorheology between human and animal blood on the binding efficacy of vascular-targeted carriers*. Sci. Rep., 2015, no 5, pp. 11631-11645. <https://doi.org/10.1038/srep11631>
13. Bian Y., Kim K., Ngo T., Kim I., Bae O., Lim K., Chung J. *Silver nanoparticles promote procoagulant activity of red blood cells: a potential risk of thrombosis in susceptible population*. Part. Fibre Toxicol., 2019, no 16, no. 9-23. <https://doi.org/10.1186/s12989-019-0292-6>
14. Babu E.P., Subastri A., Suyavaran A., Premkumar K., Sujatha V., Aristatile B., Alshammari G.M., Dharuman V., Thirunavukkarasu C. *Size dependent uptake and hemolytic effect of zinc oxide nanoparticles on erythrocytes and biomedical potential of zno-ferulic acid conjugates*. Sci. Rep., 2017, no 7, pp. 4203-4215. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-04440-y>
15. Avsievich T., Popov A., Bykov A., Meglinski I. *Mutual interaction of red blood cells influenced by nanoparticles*. Sci. Rep., 2019, no 9, pp. 5147-5153. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41643-x>