

POLITECHNIKA ŚLĄSKA
WYDZIAŁ CHEMICZNY
KATEDRA TECHNOLOGII CHEMICZNEJ
ORGANICZNEJ I PETROCHEMII

mgr inż. Dawid Janasik

ROZPRAWA DOKTORSKA

Przełączniki molekularne jako środki kontrastowe ^{19}F MRI

Molecular switches as ^{19}F MRI contrast agents

Promotor: dr hab. inż. Tomasz Krawczyk, prof. PŚ

Gliwice 2024

Spis treści

Wykaz publikacji stanowiących pracę doktorską.....	3
Wykaz zastosowanych skrótów.....	4
Streszczenie w języku polskim	5
Streszczenie w języku angielskim.....	6
1. Wstęp.....	7
1.1. Obrazowanie rezonansem magnetycznym	7
1.1.1. Fluorowane cząsteczki	9
1.1.2. Polimery	10
1.1.3. Emulsje.....	11
1.1.4. Kapsułki	12
1.1.5. Inne.....	12
1.2. Inteligentne sondy do ¹⁹ F MRI.....	13
1.2.1. Wykrywanie aktywność enzymatycznej	13
1.2.2. Wykrywanie środowiska redukującego.....	14
1.2.3. Wykrywanie zmian pH.....	15
1.2.4. Wykrywanie specyficznych jonów.....	16
1.3. Przełączniki molekularne	17
2. Cel i zakres pracy	20
3. Omówienie wyników	21
3.1. Geneza wykorzystania przełączników molekularnych jako środków kontrastowych.....	21
3.2. Obrazowanie gradientu pH wykorzystując zmiany przesunięcia chemicznego	23
3.3. Projekt i synteza przełącznika z kompleksem paramagnetycznym.....	25
3.4. Obrazowanie gradientu pH przez zmiany czasów relaksacji	27
3.5. Zmiana pH aktywacji	28
3.6. Rozpuszczalność	30
4. Podsumowanie i wnioski.....	32
5. Bibliografia.....	34
Dorobek naukowy	44
Kopie publikacji wraz z materiałami dodatkowymi	46

Wykaz publikacji stanowiących pracę doktorską

- [1] **Janasik, D.**; Krawczyk, T. ¹⁹F MRI Probes for Multimodal Imaging. Chem. Eur. J. 2022, 28, e202102556. **IF₂₀₂₂=4,3. MNiSW=140 pkt.**
- [2] **Janasik, D.**; Jasiński, K.; Węglarz, W. P.; Nemeč, I.; Jewula, P.; Krawczyk, T. Ratiometric pH-Responsive ¹⁹F Magnetic Resonance Imaging Contrast Agents Based on Hydrazone Switches. Anal. Chem. 2022, 94 (8), 3427–3431. **IF₂₀₂₂=7,4. MNiSW=140 pkt.**
- [3] **Janasik, D.**; Szreder, J.; Jasiński, K.; Węglarz, W. P.; Krawczyk, T. Hydrazone molecular switches with paramagnetic center as ¹⁹F magnetic resonance imaging relaxation enhancement agents for pH imaging. ACS Sensors. 2023, 8, 5, 1971–1979. **IF₂₀₂₂=8,9. MNiSW=140 pkt.**
- [4] **Janasik, D.**; Imielska, P.; Krawczyk, T. Tuning the pH of Activation of Fluorinated Hydrazone-Based Switches — A Pathway to Versatile ¹⁹F Magnetic Resonance Imaging Contrast Agents. ACS Sensors. 2023, 8, 2, 721–727. **IF₂₀₂₂=8,9. MNiSW=140 pkt.**

Łączny IF=29,5, średni IF=7,4, łącznie 560 pkt MNiSW.

Wykaz zastosowanych skrótów

- ATP** - Adenozynotrifosforan
- BRW** - teoria Bloch–Redfield–Wangsnessa
- CA** - Środek Kontrastowy (*ang. Contrast Agent*)
- CT** - Tomografia Komputerowa (*ang. Computed Tomography*)
- FLASH** - *ang. Fast Low-Angle Shot*
- GSH** - Glutation
- MOF** - *ang. Metal–Organic Frameworks*
- MRI** - Obrazowanie Rezonansem Magnetycznym (*ang. Magnetic Resonance Imaging*)
- NMR** - Spektroskopia Magnetycznego Rezonansu Jądrowego (*ang. Nuclear Magnetic Resonance*)
- PEG** - Glikol polietylenowy
- PET** - Tomografia Emisyjna Pozytonowa (*ang. Positron Emission Tomography*)
- PFCE** - Eter Perfluoro-15-Koronowy
- PFOB** - Bromek Perfluorooktylu
- PLGA** - Kopolimer Kwasu Mlekowego i Glikolowego
- PRE** - Paramagnetyczne Wzmocnienie Relaksacji (*ang. Paramagnetic Relaxation Enhancement*)
- RARE** - *ang. Rapid Acquisition Relaxation Enhanced*
- RF** - Częstotliwość Radiowa (*ang. Radio Frequency*)
- SNR** - Stosunek Sygnału do Szumu (*ang. Signal-to-Noise Ratio*)
- SPECT** - Tomografia Emisyjna Pojedynczych Fotonów (*ang. Single Photon Emission Computed Tomography*)
 - T₁** - Czas Relaksacji Podłużnej
 - T₂** - Czas Relaksacji Poprzecznej
- TEA** - Trietyloamina (*ang. Triethylamine*)
- TFA** - Kwas Trifluorooctowy (*ang. Trifluoroacetic Acid*)

Streszczenie w języku polskim

Współczesna diagnostyka medyczna korzysta z różnorodnych technik, takich jak tomografia komputerowa, ultrasonografia czy rezonans magnetyczny (MRI). Te metody, należące do diagnostyki obrazowej, pozwalają uzyskać trójwymiarowy obraz badanych części ciała lub całego organizmu. Rezonans magnetyczny, będący nieinwazyjną techniką diagnostyczną tkanek miękkich, charakteryzuje się doskonałą rozdzielczością przestrzenną. Zwykle wykorzystuje się w nim właściwości magnetyczne jąder wodoru. Jednak ze względu na dużą zawartość wody w tkankach miękkich, często trudno jest odróżnić poszczególne tkanki lub wykryć zmiany patologiczne.

Obecnie poszukuje się możliwości obrazowania wybranych zjawisk na poziomie komórkowym, a nie tylko zmian anatomicznych. Aby to osiągnąć, konieczne jest opracowanie środków kontrastowych, które byłyby aktywne tylko w obecności konkretnego enzymu lub w określonym zakresie pH charakterystycznym dla zmian nowotworowych. ^{19}F MRI jest atrakcyjny do powyższych zastosowań ze względu na jego wysoką czułość oraz brak naturalnego tła w organizmie. Fluor-19 nie występuje w ludzkim ciele, więc każdy wykryty sygnał pochodzi wyłącznie z wprowadzonego środka kontrastowego.

Rozprawa doktorska stanowi cykl czterech powiązanych tematycznie publikacji, które obejmują: i) przegląd literatury z zakresu najnowszych osiągnięć w projektowaniu sond ^{19}F MRI; ii) badania modelowego przełącznika hydrazonowego do obrazowania gradientu pH przez ^{19}F MRI; iii) włączenie paramagnetyków do struktury przełącznika; iv) zmianę pH przełączania. Opracowano hydrazonowe środki kontrastowe, które pod wpływem zmian pH ulegają izomeryzacji E/Z. W rezultacie zmieniają właściwości magnetyczne, które mogą być łatwo obserwowane w zakresie ^1H i ^{19}F spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR). Opracowano metody modyfikacji kluczowych właściwości przełącznika, takich jak właściwości magnetyczne NMR czy rozpuszczalność. Udało się zaprojektować i otrzymać sondy działające w wyniku zmiany przesunięć chemicznych sygnału NMR oraz sondy działające pod wpływem zmiany czasu relaksacji. Ostatecznie udowodniono skuteczność sond, uzyskując rzeczywiste obrazy ^{19}F MRI monitorujące gradient pH.

Słowa kluczowe: Przełączniki molekularne, fluor, rezonans magnetyczny, kompleksy paramagnetyczne

Streszczenie w języku angielskim

Modern medical diagnostics utilize a variety of techniques, such as computed tomography, ultrasonography, and magnetic resonance imaging (MRI). These imaging methods enable the acquisition of three-dimensional images of specific body parts or the entire organism. MRI, a non-invasive diagnostic technique for soft tissues, is characterized by excellent spatial resolution and typically relies on the magnetic properties of hydrogen nuclei. However, due to the high water content in soft tissues, it can often be challenging to distinguish between different tissues or detect pathological changes.

Current research aims to image specific cellular processes rather than just anatomical changes. To achieve this, it is necessary to develop contrast agents that are only active in the presence of a specific enzyme or within a particular pH range, typical of cancerous changes. ^{19}F MRI is particularly attractive for these applications due to its high sensitivity and the absence of natural background in the body. Since fluorine-19 is not naturally present in the human body, any detected signal originates exclusively from the introduced contrast agent.

This doctoral dissertation consists of a series of four thematically linked publications that include: i) a literature review on the latest advancements in the design of ^{19}F MRI probes; ii) studies of a model hydrazone switch for imaging pH gradients via ^{19}F MRI; and iii) the incorporation of paramagnetic agents into the switch structure; iv) the shift in pH of switching. Hydrazone-based contrast agents were developed, which undergo E/Z isomerization in response to pH changes. As a result, their magnetic properties, easily detectable via ^1H and ^{19}F NMR, change accordingly. Methods for modifying key switch properties, such as NMR magnetic characteristics and solubility, were developed. Probes were successfully designed to function through changes in NMR chemical shifts as well as relaxation times. Ultimately, the probes' efficacy was demonstrated by obtaining real ^{19}F MRI images that monitor pH gradients.

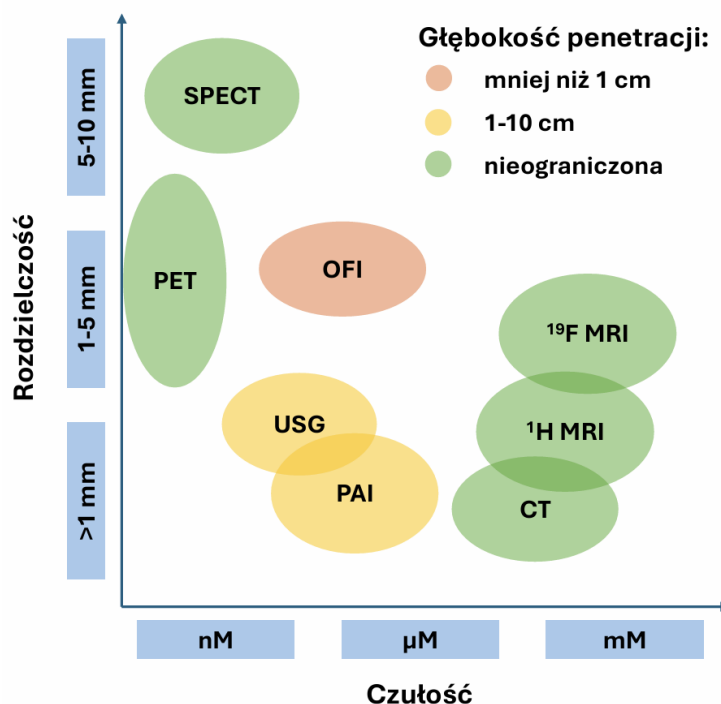
Key words: Molecular switches, fluorine, magnetic resonance, paramagnetic complexes

1. Wstęp

1.1. Obrazowanie rezonansem magnetycznym

Obrazowanie kliniczne stało się niezbędnym narzędziem w analizie biochemicznej, umożliwiając badania procesów fizjologicznych wewnątrz organizmu.^[1,5,6] W ciągu ostatnich 40 lat obrazowanie metodą rezonansu magnetycznego (MRI) stało się jedną z najbardziej popularnych metod diagnostycznych. Jest to głównie zasługa nieinwazyjnej natury tej metody, jak i zdolności do nieograniczonej penetracji oraz wysokiej rozdzielczości przestrzennej obrazu (nawet na poziomie milimetra).^[7,8] MRI wykorzystującym protony (¹H MRI) dominuje zarówno w dziedzinie klinicznej, jak i badawczej. Jest to wynikiem wszechobecności wody, która stanowi od 65% do 90% masy organizmów żywych. Zróżnicowane właściwości relaksacyjne protonów wody umożliwiają szczegółową wizualizację zarówno zjawisk fizjologicznych, jak i anatomii. Niestety, podobieństwo tkanek pod względem właściwości i stężenia wody może obniżać kontrast i powodować artefakty obrazowania.^[9,10] Aby zwiększyć efektywność MRI stosuje się środki kontrastujące (CAs), które przyspieszają procesy relaksacji i poprawiają widoczność wybranych tkanek oraz struktur w organizmie.^[9,11,12]

W ciągu ostatnich dwóch dekad zauważalnie wzrosło zainteresowanie heteronuklearnym MRI, wykorzystującym atomy takie jak ¹⁹F^[13–16], ²³Na^[17–20], ³¹P^[21–25], ¹²⁹Xe^[26–30], ¹³C^[31,32] i ³He^[33,34]. Spośród wymienionych, ¹⁹F MRI wydaje się być jednym z najbardziej obiecujących. Wynika to z: 100% udziału izotopu ¹⁹F, spinu +1/2 oraz współczynnika żyromagnetycznego równego 40.08 MHz T⁻¹ (nieco niższy niż 42.6 MHz T⁻¹ dla ¹H).^[14,35–37] Dodatkowo wykazuje on doskonałą czułość, która odpowiada 83% czułości ¹H. Przy założeniu, że szum próbki koreluje z częstotliwością Larmora, stosunek sygnału do szumu (SNR) dla ¹⁹F wynosi około 89% tego, co obserwuje się w przypadku ¹H.^[38] ¹⁹F wykazuje szeroki zakres przesunięć chemicznych przekraczający 350 ppm, co umożliwia ortogonalne obrazowanie dla wielu znaczników jednocześnie.^[1,39] Co istotne, endogenne atomy fluoru występują w ciele ludzkim tylko w śladowych ilościach, zazwyczaj poniżej 10⁻⁶ M, głównie gromadząc się w zębach i kościach.^[40] W rezultacie, MRI z wykorzystaniem ¹⁹F, przy wprowadzeniu egzogennych jąder fluoru, uznawane jest za środek obrazowania o zerowym tle.^[1,40] Ta charakterystyczna cecha pozwala na analizy ilościowe, wykorzystując liniową zależność między zawartością ¹⁹F a intensywnością sygnału.^[41,42]



Rysunek 1. Porównanie różnych metod obrazowania pod względem czułości, rozdzielczości i głębokości penetracji.^[1]

Wdrożenie ¹⁹F MRI do diagnostyki medycznej nie jest jednak proste. Na początku istniały istotne problemy związane głównie z brakiem dedykowanych skanerów, które w większości były zaprojektowane z myślą o jednokanałowym obrazowaniu ¹H.^[1,42] Problem rozwiązuje się ręcznym dostosowaniem częstotliwości radiowej (RF), aby zoptymalizować stosunek sygnału do szumu (SNR). Dzięki postępom w cewkach RF dwukanałowych dla ¹H/¹⁹F oraz odpowiednim dodatkowym urządzeniom (np. wzmacniaczom, przełącznikom nadawczo-odbiorczym i mocy radiowej), obecnie możliwe jest przeprowadzanie obrazowania z użyciem ¹⁹F na większości standardowych skanerów MRI. Wymaga to jedynie modyfikacji oprogramowania.^[1,41,43,44]

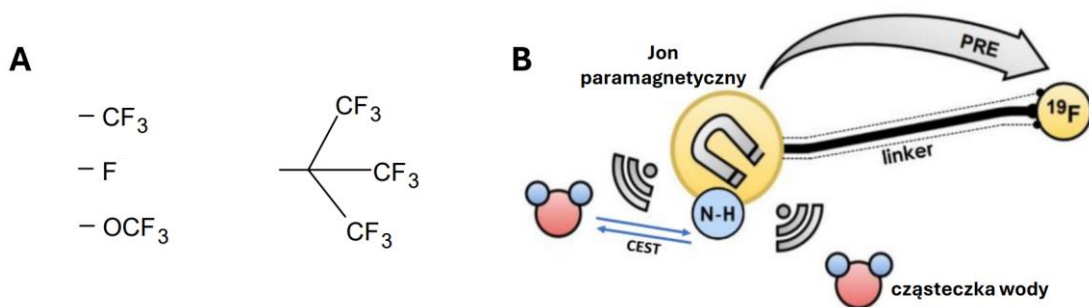
Innym problemem i wyzwaniem jest łączenie niskich dawek środków kontrastowych fluoru z ich niską skutecznością relaksacji podłużnej, co stanowi krytyczny problem czułości i wymaga wydłużonego czasu akwizycji. Zwiększenie siły pola magnetycznego jest bezpośrednim rozwiązaniem, ale nie jest to ani ekonomicznie, ani technicznie realistyczne.^[14,16,45] Z tego powodu poszukuje się i ulepsza różne sekwencje ultra-szybkich impulsów, takich jak szybkie echo spinowe (RARE) czy sekwencja echa gradientowego ze

spoilerem (FLASH).^[12,42,45] Znacząco skracają one czasy akwizycji i częściowo rekompensują niskie stężenia środków kontrastowych fluoru.

W metodzie ^{19}F MRI kluczowym elementem jest środek kontrastowy, stanowiący źródło sygnału. Powinien spełniać następujące kryteria: 1) wysoka zawartość fluoru, aby zapewnić silny sygnał ^{19}F ; 2) wiele chemicznie równoważnych atomów ^{19}F wykazujących pojedynczy, ostry i intensywny sygnał przy tym samym przesunięciu chemicznym; 3) prosta synteza i wygodne zastosowanie; 4) stabilność chemiczna i biologiczna; 5) minimalna toksyczność; 6) rozpuszczalność w wodzie, aby ułatwić zastosowania biomedyczne i wydalanie; 7) krótki czas relaksacji podłużnej (T_1) i poprzecznej (T_2), aby zwiększyć efektywność akwizycji sygnału.^[1,6,11,35,36,39,42,46-49] Niestety, trudne jest spełnienie wszystkich siedmiu wymagań. W praktyce wykorzystuje się te kryteria do projektowania sond dostosowanych do specyficznych potrzeb. Ze względu na budowę środki kontrastowe ^{19}F MRI można podzielić na fluorowane cząsteczki, polimery i nanoemulsje. Bardziej złożone układy to nanocząstki i kapsułki.

1.1.1. Fluorowane cząsteczki

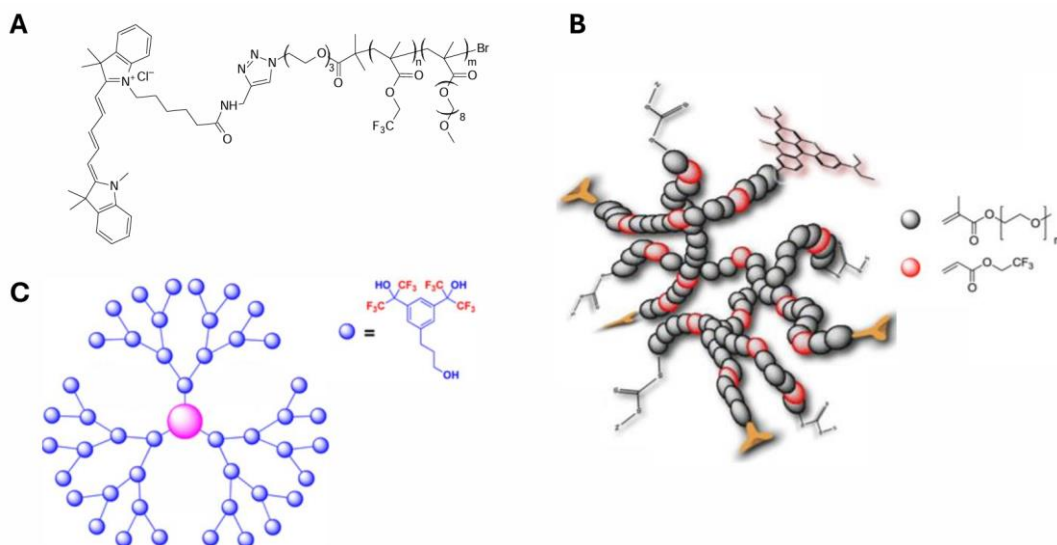
Dla małowczątkowych środków kontrastowych ^{19}F MRI najczęściej stosowana jest grupa $-\text{CF}_3$ ^[2-4,50,51] jako źródło sygnału. Innymi źródłami mogą być grupy $-\text{F}$, $-\text{OCF}_3$ czy $-\text{C}(\text{CF}_3)_3$.^[1] Budowa takich sond zależy od ich zastosowania. Z reguły są to powszechnie znane związki modyfikowane grupami fluorowymi. Mogą to być perfluorowęglowodory,^[52-54] etery koronowe,^[55,56] leki,^[35] związki aktywne enzymatycznie^[57] czy kompleksy metali.^[58-61] Korzystając z tej strategii, można próbować przenieść udane przykłady z innych technik obrazowania, takich jak obrazowanie fluorescencyjne, do MRI z ^{19}F .^[1,62,63] Rozszerza to nie tylko rodzaje cząsteczek zawierających ^{19}F , ale także stymuluje rozwój sond MRI z ^{19}F , zwłaszcza tych wielofunkcyjnych używanych w obrazowaniu multimodalnym. Małowczątkowe środki kontrastowe muszą charakteryzować się dużą zawartością fluoru co obniża rozpuszczalność takich sond. Dodatkowym problemem jest stosunkowo wąski zakres przesunięcia chemicznego jąder ^{19}F w grupach $-\text{CF}_3$ i ich pochodnych, co ogranicza wielospektralne MRI z ^{19}F . Z tego powodu niezbędna jest odpowiednia optymalizacja strukturalna w połączeniu z wydajnymi sekwencjami obrazowania.



Rysunek 2. A) Najpopularniejsze grupy funkcyjne jako źródła fluoru; B) Poglądowy rysunek fluorowanej cząsteczki do zastosowań jako kontrast ¹⁹F MRI.^[1]

1.1.2. Polimery

Środki kontrastowe do ¹⁹F MRI na bazie polimerów charakteryzują się wysoką zawartością fluoru przy zachowaniu dobrej rozpuszczalności.^[64] Łańcuchy polimerowe mogą być w formie liniowej,^[65–68] rozgałęzionej^[69–74] lub dendrymerycznej.^[39,75–78] Jednostkami budulcowymi są zazwyczaj fluorowane etery, akrylany, amidy czy alkohole.^[51,66,67,79–81] Duża liczba dostępnych monomerów umożliwia wiele kombinacji. Dodatkowo, stosunkowo łatwa funkcjonalizacja może modyfikować kluczowe właściwości polimerów. Wadą materiałów polimerowych jako środków kontrastowych jest ich dyspersyjność, która musi być zminimalizowana w celu osiągnięcia podobnych właściwości farmakokinetycznych całej próbki.

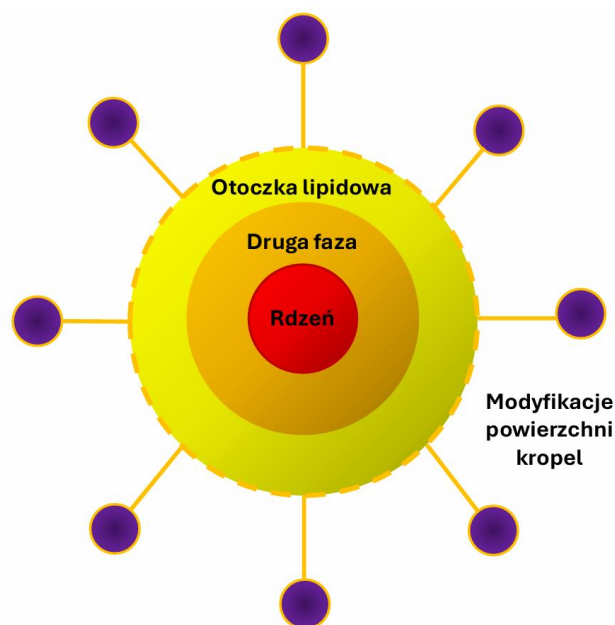


Rysunek 3. A) Przykład fluorowanego kopolimeru liniowego;^[82] B) przykład fluorowanego rozgałęzionego polimeru;^[83] C) przykład struktury dendrymerycznej.^[84]

1.1.3. Emulsje

Naśladowanie naturalnych emulsji tłuszcz-woda jest prostym sposobem przygotowania rozpuszczalnych w wodzie środków kontrastowych ^{19}F . W przeciwieństwie do naturalnych emulsji o rozmiarach mikrometrów, perfluorowęglowodory są zazwyczaj otrzymywane w postaci nanoemulsji.^[65,85] Schemat emulsji do obrazowania ^{19}F MRI przedstawiono na rysunku 4. Średni rozmiar nanokropel osiąga 150 nm, gdzie możliwa jest również dalsza funkcjonalizacja powierzchni za pomocą ligandów czy znaczników. Nanoemulsje są bardzo stabilne, a okres ich przydatności sięga od 2 do 3 miesięcy przy wysokiej odporności na zmiany pH i zawartość soli.^[86-89]

Nanoemulsje najczęściej są przygotowywane poprzez wirowanie perfluorowęglowodoru, dodatków i środka powierzchniowo czynnego w rozpuszczalniku wodno-organicznym, a następnie homogenizację siłami ścinającymi.^[86,87] Inne procedury obejmują nawodnienie cienkiej warstwy składników organicznych przez sonikację lub mikrofluidyzację.^[88,89] Stosując te metody można otrzymać cząstki składające się z ciekłego rdzenia eteru perfluoro-15-koronowego (PFCE) lub bromku perfluorooktylu (PFOB) otoczonego warstwą zewnętrzną lipidów lub środków powierzchniowo czynnych.^[86,89-94] W niektórych przypadkach rdzeń zamyka się przez drugą hydrofobową fazę węglowodorów, co prowadzi do otrzymania emulsji 3-fazowej.^[87,88]



Rysunek 4. Generalna struktura kropli nanoemulsji środków kontrastowych ^{19}F MRI.^[1]

1.1.4. Kapsułki

Problem rozpuszczalności związków fluorowych można rozwiązać oddzieleniem fazy fluorowej od fazy wodnej za pomocą powłoki hydrofilowej. W tym celu najchętniej stosuje się polimery hydrofilowe, ponieważ mogą zamknąć w swojej strukturze związki hydrofobowe przy zachowaniu ich natywnej rozpuszczalności. Synteza takich kapsułek jest stosunkowo prosta i ogranicza się do wymieszania monomerów i powolnej polimeryzacji. Najczęściej używane są polimery znane z zastosowań medycznych, takie jak kopolimer kwasu mlekowego i glikolowego (PLGA)^[95-98] lub poliamidów cukrowych.^[99,100] Ponadto, w celu zwiększenia bioselektywności można je modyfikować grupami funkcyjnymi (kwas foliowy czy przeciwciała).^[97,99] Wielkość stosowanych kapsułek zależy od metody syntezy i użytego polimeru. W przypadku kapsułek ich średnica oscyluje w granicach od 50 do 2000 nm. W środku kapsułki można zamknąć popularne już środki kontrastowe do obrazowania ¹⁹F MRI, jak PFOB czy PFCE.^[96,97,100,101]

1.1.5. Inne

Pozostałe strategie opierają się o modyfikowane nanocząsteczek, których powierzchnia może być dowolnie modyfikowana. Struktura nanocząstek może być otrzymana na bazie krzemionki^[102-105] lub na bazie różnych metali i ich kompozytów.^[106-111] Nanocząstki krzemionkowe charakteryzują się dużą porowatością co umożliwia ich zastosowanie jako dodatkowy nośnik leków i terapeutyków. Nanocząstki na bazie metali są z kolei bardziej stabilne chemicznie jak i mechanicznie. Metalami tutaj mogą być Pd, Mn, Ca, Mg, Cu, Au, Ag, Al czy Fe. Każdy rodzaj nanocząstki z uwagi na zastosowany metal wykazuje inne właściwości. Mogą to być właściwości magnetyczne jak w przypadku Fe czy Cu,^[112,113] właściwości utleniająco/redukujące jak w przypadku Mn i Fe,^[114-116] czy właściwości stabilnego nośnika jak w przypadku Au i Pd.^[117,118] Powierzchnia nanocząstek może być modyfikowana tak samo jak w przypadku emulsji czy polimerów. Dodatkowo z racji wysokiej stabilności nanocząstek, mogą być one modyfikowane grupami aktywnymi w specyficznych środowiskach jak niskie pH czy redox.^[115] Pozwala to na otrzymywanie platform o skomplikowanych i wielozadaniowych układach, które są zdolne do raportowania zmian wieloma technikami obrazowymi.

1.2. Inteligentne sondy do ^{19}F MRI

Wizualizacja warunków biologicznych na poziomie molekularnym jest bardzo ważna z punktu widzenia nowoczesnej i spersonalizowanej medycyny. Oprócz przyczyniania się do wcześniejszej i dokładniejszej diagnozy, pomaga ona również zrozumieć i usystematyzować czynniki molekularne, leżące u podstaw procesów fizjologicznych i patologicznych.^[119,120] W rezonansie magnetycznym, kontrasty opierają się zarówno na efekcie relaksacji kompleksami metali (środki T_1/T_2), jak i na zjawisku paramagnetycznego transferu nasycenia chemicznego. W obu przypadkach można zaprojektować reaktywne sondy molekularne MRI, które raportują o różnych biomarkerach. "Inteligentne" sondy ^{19}F są projektowane do aktywacji przez bodźce takie jak środowisko chemiczne (np. kwasowość, redoks i obecność jonów metali), cząsteczki biologiczne (np. enzymy, specyficzne białka i przeciwciała) oraz egzogenne zjawiska fizyczne (np. ciepło i światło).^[1,42,119,120]

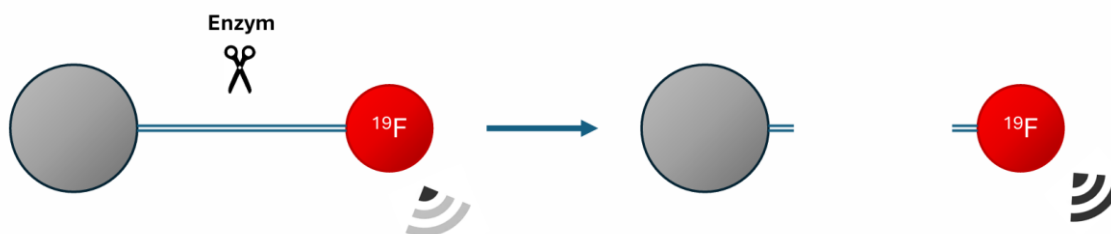
Opracowano dwie główne strategie aktywacji opierające się na regulacji relaksacji jąder ^{19}F . W pierwszej strategii jądra fluoru są związane z paramagnetycznymi lub superparamagnetycznymi jonami metali (ligand, nanocząstki) za pomocą grup funkcyjnych reagujących na bodźce. Dzięki silnemu efektowi paramagnetycznego wzmocnienia relaksacji (PRE) indukowanemu przez modulatory magnetyczne, zarówno T_1 , jak i T_2 są znacząco skracane. Po rozerwaniu linkera (lub innych mechanizmach separacji między jądrami ^{19}F a modulatorami magnetycznymi) w obecności określonego bodźca, efekt PRE zanika, a sygnały MRI z ^{19}F zmieniają swoje właściwości.

Inna strategia opiera się na odwracalnej zmianie konfiguracji fluorowanych sond. Jądra fluoru w tych kontrastach wykazują ograniczony ruch molekularny, co skutkuje skróconymi czasami relaksacji tych atomów. Po zmianie konfiguracji wywołanej przez określony bodziec, czasy relaksacji wracają do normy, co prowadzi do aktywacji sygnałów MRI z ^{19}F .^[42]

1.2.1. Wykrywanie aktywność enzymatycznej

Enzymy odgrywają kluczową rolę w układach biologicznych, działając jako biologiczne katalizatory i organizując większość funkcji w biologii komórkowej i molekularnej.^[121,122] W różnych procesach chorobowych można zaobserwować zwiększoną aktywność enzymów na powierzchni komórek, co oferuje potencjalne cele dla nieinwazyjnego wykrywania aktywności enzymatycznej.^[123] Projektowanie sond reagujących na enzymy wymaga spełnienia wysokiej

specyficzności reakcji enzymatycznych, zapewniając, że zmiana sygnału MR może być przypisana do konkretnego zdarzenia molekularnego. Zazwyczaj stosuje się fluorowane substraty reakcji enzymatycznych lub ich mimetyki. Z drugiej strony badane układy powinny wykazywać wysoką aktywność katalityczną, aby umożliwić modulację właściwości generujących kontrast przez aktywowany czynnik obecny w stężeniach mikro- do milimolowych. Strategia projektowania środków kontrastowych tego typu to połączenie nośnika sygnału odpowiednim linkerem do grupy paramagnetycznej. Aktywny enzymatycznie linker rozpada się w obecności odpowiednich enzymów i uwalnia sygnał ^{19}F NMR. Linkerami są peptydy lub cukry, jak i długołańcuchowe konstrukcje z charakterystycznym wiązaniem w swojej strukturze (np. estry czy etery).^[57,124–134] Odpowiednio zaprojektowanymi sondami można badać aktywność takich enzymów jak: kaspazy, proteazy, anhydrazy, hydrolazy czy fosfatazy.

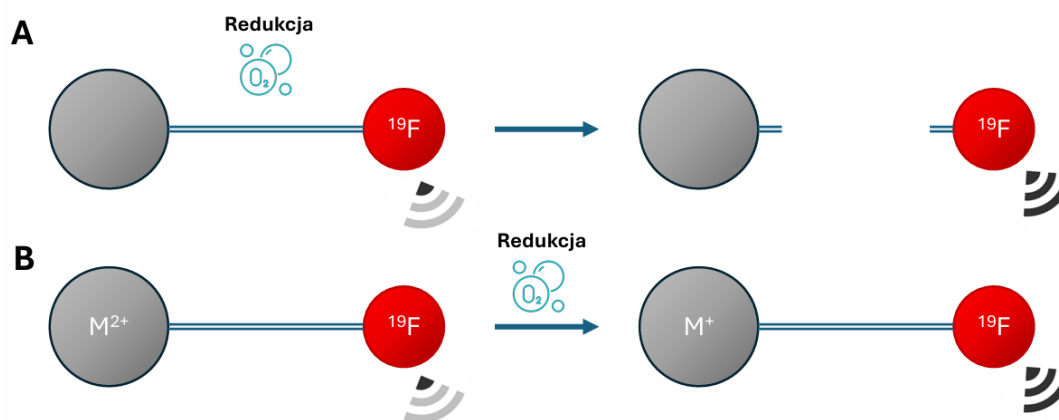


Rysunek 5. Mechanizm działania środków kontrastowych czułych na obecność enzymów. Sygnał ^{19}F jest uwalniany po rozcięciu linkera.

1.2.2. Wykrywanie środowiska redukującego

Ze względu na panujący stres oksydacyjny, w komórkach nowotworowych może dochodzić do zwiększonej produkcji antyoksydantów w mikrośrodowisku guza. Wspiera to rozwój nowotworu przez neutralizację reaktywnych form tlenu.^[135,136] Wśród redukcyjnych biomarkerów szczególną rolę odgrywa glutation (GSH) jako główny czynnik redukujący w komórkach nowotworowych. Stężenie GSH w środowisku guza jest około 4-10 razy wyższe niż w zdrowych tkankach.^[137] W związku z tym, środki kontrastowe reagujące na GSH stały się szczególnie atrakcyjnymi nośnikami do celowanego dostarczania leków do guzów i terapii raka. W obrazowaniu środowiska oksydacyjno-redukcyjnego $^1\text{H}/^{19}\text{F}$ głównie wykorzystuje się sondy, które pod wpływem reakcji redoks rozpadają się i uwalniają sygnał. Rzadziej stosuje się sondy, które działają na zasadzie zmiany stopnia utlenienia jonu paramagnetycznego w kompleksie. Najczęściej spotykane funkcjonalne wiązania chemiczne reagujące na GSH

obejmują disulfidy, diselenki, ditelurki, tioetery, wiązania koordynacyjne i inne. Struktury środków kontrastowych ^{19}F MRI tego typu mogą być oparte o polimery, kapsułki, struktury metaloorganiczne (MOF) czy kompleksy metali paramagnetycznych.^[44,68,138–148]



Rysunek 6. Mechanizm aktywacji środków kontrastowych reagujących na środowisko redukujące:

A) rozerwanie linkera; B) redukcja jonu paramagnetycznego.

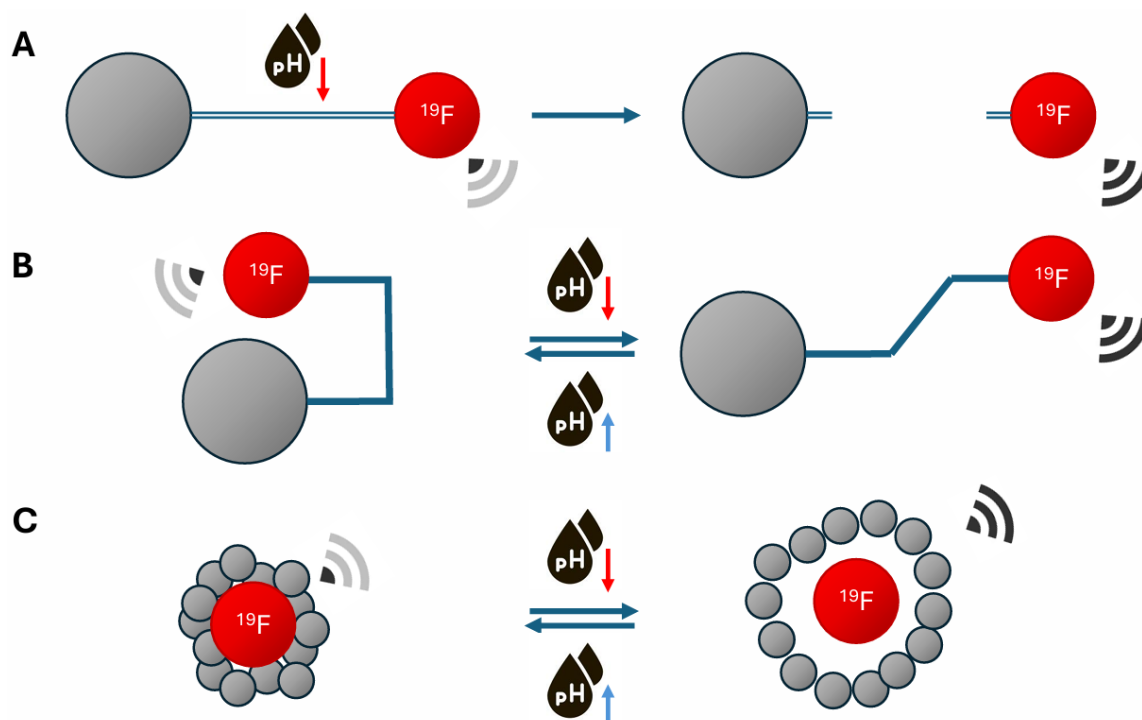
1.2.3. Wykrywanie zmian pH

Jako kluczowy parametr fizjologiczny, pH odgrywa istotną rolę w utrzymaniu homeostazy komórkowej i tkankowej. Wartość pH w tkankach jest precyzyjnie regulowana w zakresie 7,2–7,4.^[149,150] W eukariotycznych komórkach, pH przedziałów wewnątrzkomórkowych, takich jak pęcherzyki endocytarne, jest starannie dostrajane i bezpośrednio wpływa na transport błonowy, cykl receptorów, katabolizm lizosomalny oraz wnikanie wirusów do komórek. Na poziomie molekularnym, gradient pH w poprzek błony mitochondrialnej jest niezbędny do syntezy nośników energii. Poza normalnymi efektami fizjologicznymi, pH jest zaangażowane w różne procesy patologiczne, w tym nowotwory, stany zapalne i infekcje. Na przykład, miejsca zapalne, pierwotne nowotwory i guzy przerzutowe wykazują niższe wartości pH od zdrowych tkanek.^[1,135,149,151–153]

Lokalne pH w tkance zapalnej spada z 7,4 do 6,2 w ciągu 60 godzin od początku stanu zapalnego. W mikrośrodowisku guza, komórki nowotworowe manifestują „odwrócony” gradient pH, charakteryzujący się normalnym lub nieco wyższym pH cytoplazmatycznym oraz obniżonym pH zewnątrzkomórkowym (pH = 6,4). Zjawisko to jest przypisywane aktywnej glikolizie komórek nowotworowych w warunkach bogatych w tlen, co jest cechą metaboliczną charakteryzującą się zwiększonym pobieraniem glukozy. Co za tym idzie intensywną glikolizą oraz podwyższonym poziomem metabolitów kwasu mlekowego.^[43,135,154] Prowadzi to do

zauważalnie niższego pH wewnątrzkomórkowego. Ta nierównowaga pH jest uznawana za wspólną cechę tkanek nowotworowych. Biorąc pod uwagę powyższe, systemy wykrywania reagujące na pH, wykorzystujące pH jako sygnał wyzwalający, mają ogromne znaczenie dla obrazowania chorób i leczenia powiązanych zaburzeń.

Środki kontrastowe aktywowane na skutek zmian pH można opisać podobnie do środków reagujących na środowisko redukujące. Projektowanie ich wymaga odpowiednich linkerów, które przy obniżonym pH ulegają różnym przemianom i aktywują sygnał MRI. Mogą to być: hydrazony, estry, etery, aminy i amidy. Ostatnie postępy w tym obszarze obejmują nanożele na bazie glikolu polietylenowego (PEG) zawierające perfluorowęglowodory, nanoporowate cząsteczki krzemionki oraz kopolimery. Działanie takich kontrastów opiera się na zmianie objętości i upakowania układu, degradacji połączenia chemicznego lub na odwracalnej zmianie konfiguracji układu.^[80,155–166] Są to na przykład przełączniki molekularne, które są przedmiotem tej rozprawy doktorskiej.

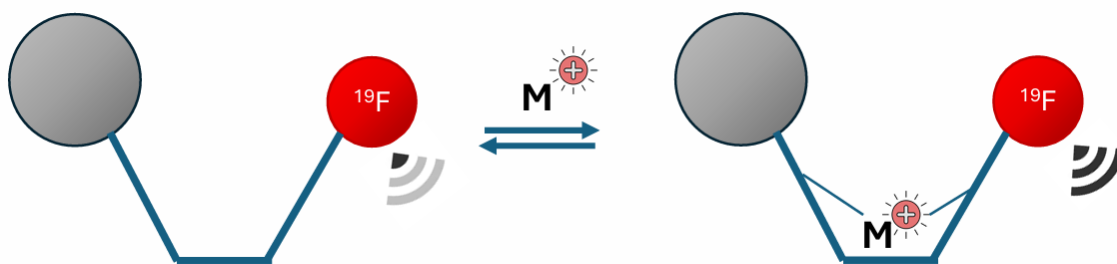


Rysunek 7. Mechanizm aktywacji sygnału ^{19}F dla sond reagujących na zmiany pH: A) rozpad wiązania linkera; B) odwracalna zmiana konfiguracji; C) odwracalna zmiana objętości i upakowania układu.

1.2.4. Wykrywanie specyficznych jonów

Bodźce takie jak jony, temperatura i światło dostarczają cennych wskazówek do projektowania inteligentnych sond MRI ^{19}F , mających zastosowanie w celowanej diagnostyce

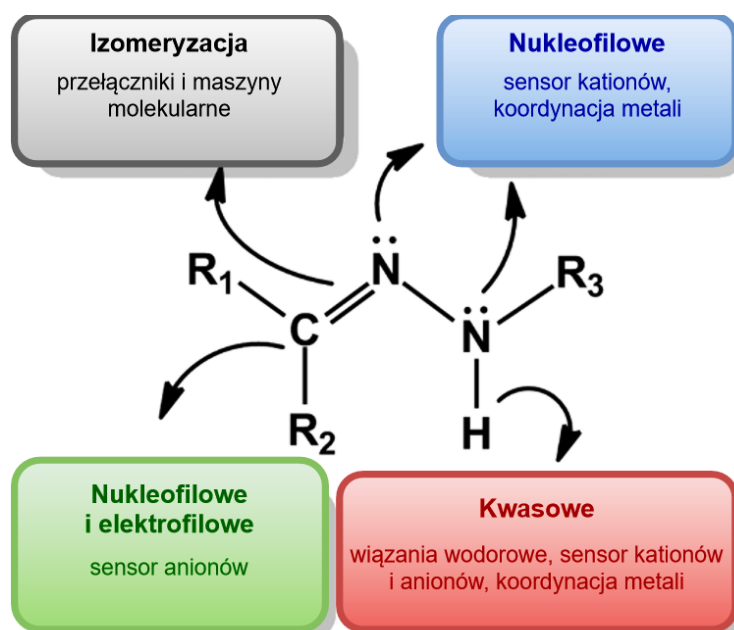
i dostarczaniu leków.^[167–171] Jony odgrywają kluczową rolę w różnych funkcjach komórkowych i szlakach sygnalizacyjnych, a ich deregulacja jest często związana z początkiem i postępem chorób. Z tego powodu monitorowanie przestrzennych zmian stężeń jonów w sposób nieinwazyjny może pomóc w diagnozowaniu chorób i ocenie reakcji na leczenie. Sondy ^{19}F MRI reagujące na stężenie jonów opierają się o kopolimery, peptydy lub struktury kompleksujące. Każda struktura w kontakcie z jonami zmienia swoje właściwości magnetyczne co powoduje kontrast obrazowania. Najczęściej badanymi jonami są Ca^{2+} , Na^+ , Zn^{2+} i Fe^{2+} .^[170–179]



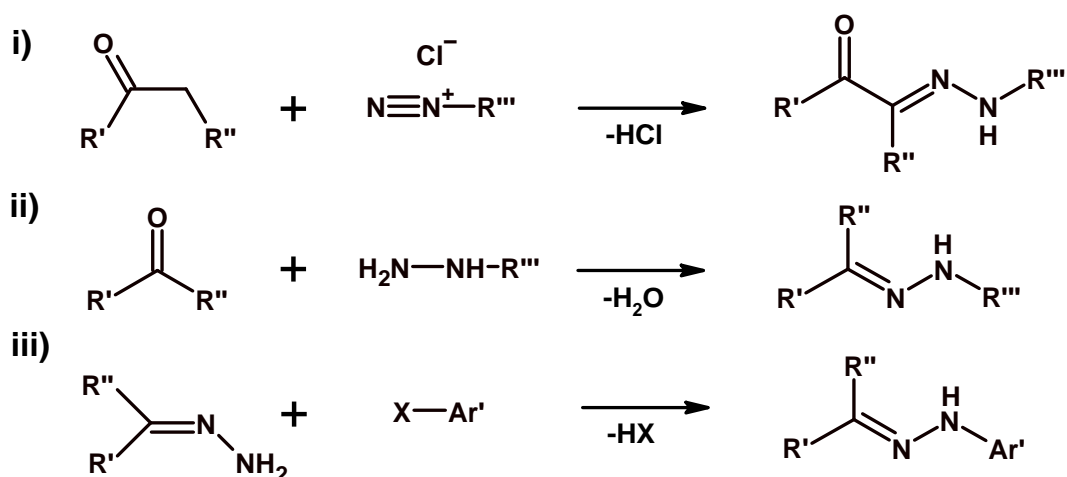
Rysunek 8. Mechanizm aktywacji kontrastów ^{19}F poprzez koordynację jonu.

1.3. Przełączniki molekularne

Przełącznik molekularny można określić jako cząsteczkę, którą można manipulować, aby przechodziła z jednego stanu do drugiego pod wpływem bodźców elektrycznych, chemicznych lub optycznych.^[180] Gdy przełącznik molekularny absorbuje zewnętrzną energię danego bodźca, na który jest zaprojektowany reagować, jego konfiguracja elektronowa ulega zmianie, co skutkuje wykrywalnym sygnałem.^[180–184] Rodzaje przejść, jakim może ulegać przełącznik molekularny, obejmują izomeryzację cis \rightarrow trans/trans \rightarrow cis, otwieranie/zamykanie pierścienia oraz procesy wewnątrzcząsteczkowego transferu protonu. Co najważniejsze, przełączniki molekularne charakteryzują się tym, że ich przejście jest odwracalne i powtarzalne. Ze względu na mechanizm przejścia pomiędzy stanami oraz budowę, przełączniki molekularne można podzielić na: układy typu gospodarz gość;^[185–188] fotochromowe przełączniki molekularne;^[189–191] katenany i rotaksany;^[192,193] przełączniki polimerowe i żelowe; białka i kwasy nukleinowe.^[180] Obszary zastosowań przełączników molekularnych to: materiały światłoczułe, optyczne zapisywanie i przetwarzanie informacji (nośniki holograficzne),^[194,195] optoelektronika, dostarczanie leków czy nanotechnologia w produkcji światłowodów.^[181,196]



Rysunek 9. Struktura hydrazonu z opisem wpływu budowy na właściwości.



Rysunek 10. Sposoby otrzymywania hydrazonów: i) reakcja Japp - Klingemann'a; ii) sprzężenie hydrazyny; iii) substytucja halogenku arylowego.

W tej pracy skupiono się głównie na przełącznikach hydrazonowych, które są szeroko stosowane w chemii supramolekularnej i kombinatorycznej jak i w syntezie organicznej.^[197,198] Właściwości hydrazonów pozwalają na zastosowanie ich jako materiały półprzewodnikowe, sensory pH i światła, czy barwniki.^[199–202] Do najważniejszych zalet tych związków można zaliczyć prostą syntezę i dużą stabilność wobec hydrolizy. W ich strukturze występuje charakterystyczna grupa -C=N-N- co nadaje im szereg właściwości: i) iminowy węgiel, który ma charakter elektrofilowy i nukleofilowy; ii) nukleofilowa część iminowa z azotem typu

amina; iii) izomeria konfiguracyjna z uwagi na podwójne wiązanie; iv) kwasowy proton N-H.^[197,198,203–205] Hydrazony można otrzymać poprzez substytucję halogenków aryłowych, sprzężanie hydrazyn z ketonami czy aldehydami, oraz poprzez reakcję Japp - Klingemann'a (sprzężanie soli diazoniowej z β -ketoestrami lub β -ketokwasami).^[197,203,204,206–208]

2. Cel i zakres pracy

Celem pracy doktorskiej było opracowanie i ocena przydatności hydrazonowych przełączników molekularnych zawierających grupy fluoroorganiczne do obrazowania zmian pH metodą ^{19}F MRI. Badania pozwoliły na określenie skuteczności tych przełączników i optymalizację ich właściwości do specyficznych potrzeb diagnostycznych.

Podczas prac podjęto się:

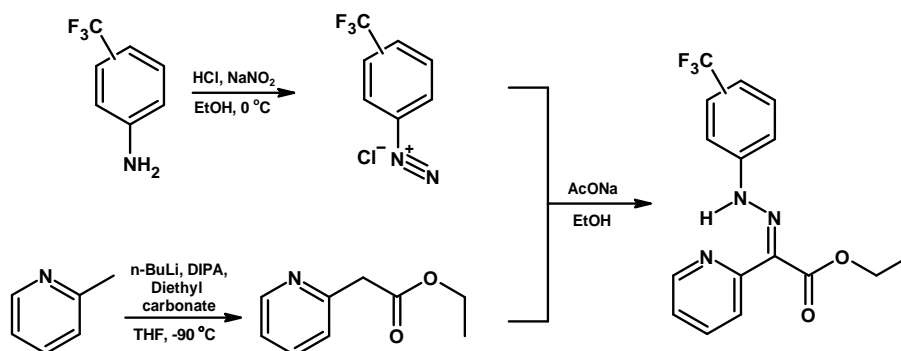
- i) przeglądu literaturowego omawiającego rozwój w dziedzinie multimodalnych sond ^{19}F MRI w połączeniu z obrazowaniem fluorescencyjnym, ^1H MRI, metodami ultrasonograficznymi, tomografią komputerową oraz pozytonową tomografią emisyjną. Strategie projektowania multimodalnych sond ^{19}F MRI zostały opisane w kontekście ich struktury, właściwości fizykochemicznych, biokompatybilności oraz jakości uzyskanych obrazów;^[1]
- ii) projektu, syntezy i zbadania modelowych, hydrazonowych przełączników molekularnych jako wskaźników pH. Modyfikacja cząsteczki hydrazonu grupą $-\text{CF}_3$ pozwoliła na śledzenie gradientu pH za pomocą zmiany przesunięć chemicznych sygnałów ^{19}F NMR/MRI i ^1H NMR;^[2]
- iii) projektu i syntezy przełączników opartych na hydrazonach z paramagnetycznym centrum do obrazowania pH za pomocą ^{19}F MRI. Mechanizm aktywacji sond opiera się na stopniowym wzroście czasów relaksacji T_1 i T_2 wraz ze spadkiem pH. Dokonano wyboru najbardziej odpowiedniego izomeru przełącznika jak i jonu paramagnetycznego;^[3]
- iv) ustalenia zależności pomiędzy strukturą przełączników hydrazonowych a ich właściwościami, gdzie zauważono liniową zależność między stałymi podstawnikowymi Hammetta a pH przełączenia.^[4]

3. Omówienie wyników

3.1. Geneza wykorzystania przełączników molekularnych jako środków kontrastowych

Większość sond do obrazowania pH za pomocą ^{19}F MRI działa na zasadzie nieodwracalnych procesów, co wymaga użycia sygnału referencyjnego do ilościowego określenia stężenia. Zaproponowany w tej pracy przełącznik molekularny ma na celu rozwiązać ten problem przez zastosowanie hydrazonowych przełączników molekularnych. Najważniejszą zaletą jest odwracalny mechanizm działania, co umożliwi obrazowanie pH niezależnie od stężenia.

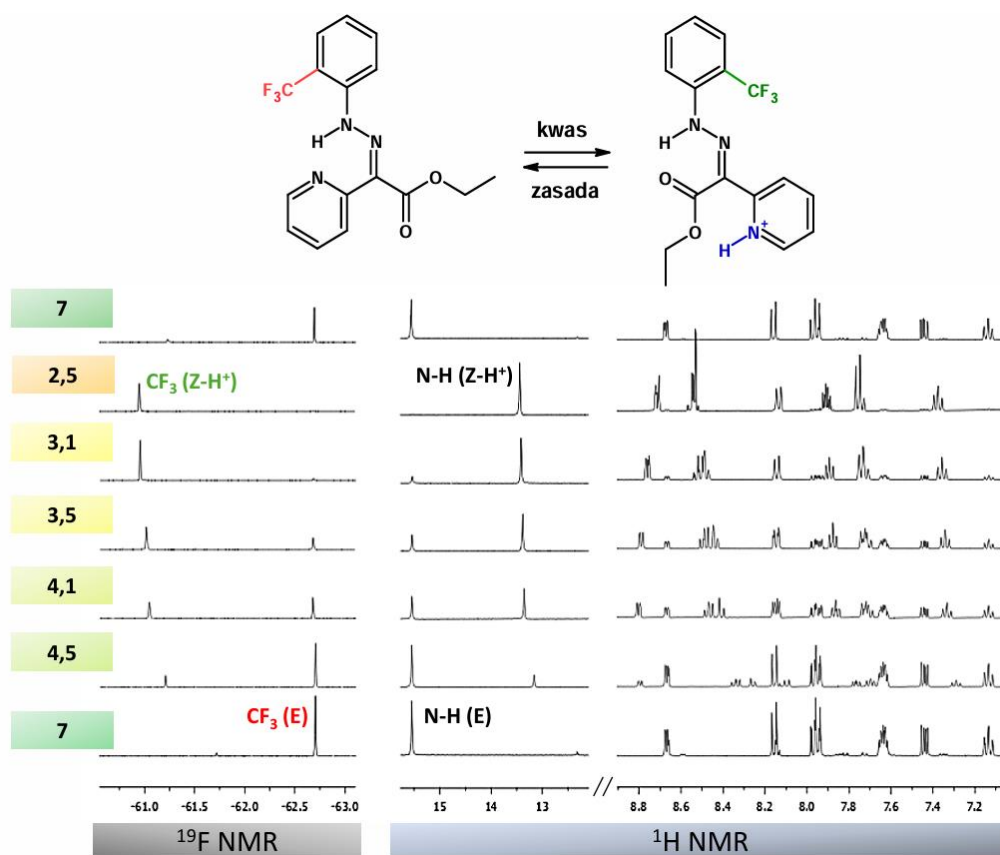
Przełączniki przedstawione w niniejszej pracy (rysunek 11) opierają się na strukturze przełącznika hydrazonowego prof. Aprahamiana.^[203] Zachowana została część hydrazonowa z pierścieniem pirydylowym i estrem etylowym. Było to podyktowane mechanizmem procesu przełączenia, gdzie dla aktywacji przez pH zarówno grupa z azotem pirydylowym, jak i z estrem etylowym jest niezbędna do tworzenia odpowiednich wiązań wodorowych. W celu otrzymania przełączników zmodyfikowano pierścień fenyłowy przez wprowadzenie grupy $-\text{CF}_3$ w pozycje orto, meta i para. Synteza hydrazonów polega na sprzęganiu odpowiednio fluorowanej soli diazoniowej z estrem pirydylowym (wydajność 55-65%).^[2]



Rysunek 11. Ogólna ścieżka syntezy fluorowanych, hydrazonowych przełączników molekularnych 1 (*o*- CF_3), 2 (*m*- CF_3) i 3 (*p*- CF_3).^[2]

Otrzymane związki zbadano pod kątem właściwości magnetycznych istotnych dla środka kontrastowego MRI. Widma ^1H NMR przełączników molekularnych (rysunek 12) w CD_3CN , oprócz oczekiwanych sygnałów aromatycznych i alifatycznych, wykazują charakterystyczny rezonans N–H. Na widmie obserwuje się singlet w okolicy 15 ppm. Wskazuje to, że azot pirydyny tworzy wiązanie wodorowe z protonem hydrazonowym N–H. Dokładne przyjrzenie

się widmom ^1H NMR ujawnia niewielki sygnał w okolicach 12 ppm. Pochodzi on od konfiguracji Z hydrazonów. Wynika to z większej siły wiązania wodorowego N-H---N w stosunku do N-H---O. Dodatkowo, wyniki są zgodne z krystalografią rentgenowską.^[2] Tak więc w układzie są obecne 2 izomery E i Z, gdzie E jest bardziej stabilny i jego udział zazwyczaj mieści się w przedziale 90-99%. Widma ^{19}F NMR także wskazują na obecność 2 izomerów w układzie, gdzie zaobserwować można 2 sygnały przy -63 ppm. Stosunek pól powierzchni pod sygnałami odpowiada stosunkowi pików 15 i 12 ppm z widma ^1H NMR.^[2]

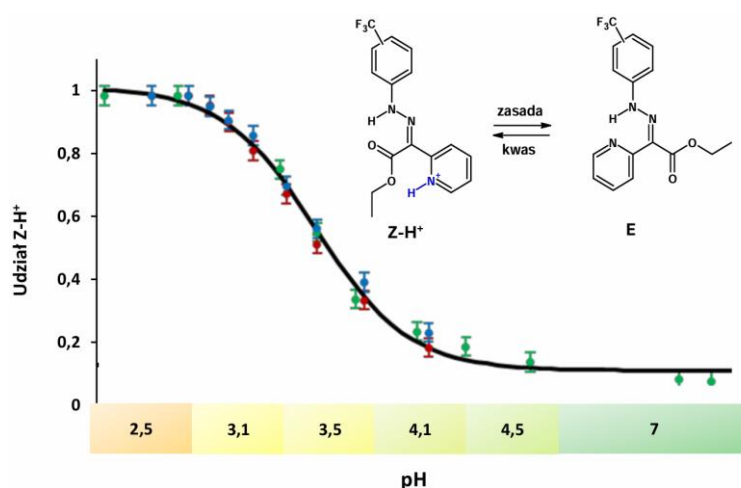


Rysunek 12. Izomeryzacja E/Z hydrazonowych przelączników molekularnych monitorowana technikami ^{19}F i ^1H NMR na przykładzie zakwaszania roztworu związku 1.^[2]

Zmiana pH poprzez dodanie kwasu trifluorooctowego (TFA) do roztworów hydrazonów 1-E, 2-E i 3-E w CD_3CN powoduje protonowanie azotu pirydylowego. Wiąże się to ze zmianą koloru roztworu z jasnożółtego na pomarańczowy oraz z istotnymi zmianami w widmach ^1H NMR i ^{19}F NMR (rysunek 12). Po pierwsze, sygnały protonów hydrazonowych N-H o wartości 15 ppm zanikają, a pojawiają się sygnały przy około 13 ppm. Wskazuje to na obrót wokół wiązania C=N (izomeryzacja E/Z) oraz na to, że proton hydrazonowy N-H tworzy wiązanie wodorowe z grupą karbonylową podjednostki estru. Po drugie, sygnały protonów

pirydylowych przesuwają się w kierunku wyższych wartości przesunięcia chemicznego, co jest typowe dla protonowanych pierścieni pirydyny. Na widmach ^{19}F NMR zauważyć można podobną sytuację - sygnały izomeru E znikają i pojawiają się nowe sygnały formy Z-H^+ . Sygnały ^{19}F NMR są ostrzejsze (8 Hz) niż sygnały rejestrowane przez ^1H NMR (25 Hz) (szerokość w połowie wysokości piku). Po dodaniu 1,6 równoważników trietyloaminy (TEA) do roztworu CD_3CN Z-H^+ kolor roztworu zmienia się z powrotem na jasnożółty. Widma ^1H NMR i ^{19}F NMR zarejestrowane bezpośrednio po dodaniu TEA, pokazują całkowity zanik Z-H^+ i powrót do układu E/Z, z przewagą E.

Po obliczeniu udziału izomeru Z-H^+ na podstawie powierzchni sygnałów odpowiadających formom E i Z-H^+ możliwe było pokazanie wpływu pH na izomeryzację badanych przełączników (rysunek 13). Niezależnie od położenia podstawnika $-\text{CF}_3$, izomeryzacja zachodzi między pH 3 a 4. Przedstawioną zależność można wykorzystać do określenia pH roztworu na podstawie widma ^1H czy ^{19}F NMR.



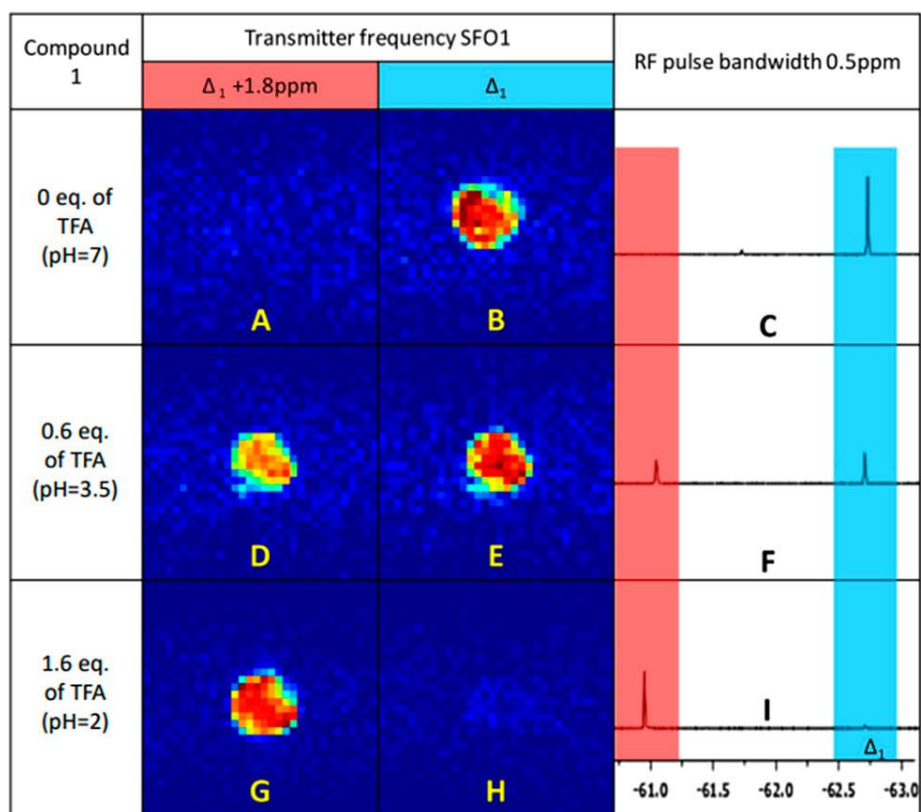
Rysunek 13. Ilościowy wykres opisujący proces aktywacji hydrazonowych przełączników molekularnych 1 (czerwony), 2 (zielony) i 3 (niebieski). [2]

3.2. Obrazowanie gradientu pH wykorzystując zmiany przesunięcia chemicznego

Kolejnym etapem badań było praktyczne wykorzystanie otrzymanych przełączników do obrazowania pH przy pomocy rezonansu magnetycznego ^{19}F . W tym celu podjęta została współpraca z grupą badawczą prof. Władysława Węglarza i dr Krzysztofa Jasińskiego z IFJ PAN w Krakowie. Ze względu na to, że w warunkach rezonansu informacja o przesunięciu chemicznym jest wykorzystywana także do uzyskania informacji przestrzennej, istotne było aby przełącznik charakteryzował się jak największą różnicą przesunięć

chemicznych sygnałów ^{19}F pomiędzy formami Z- H^+ i E. Z tego względu najbardziej odpowiedni okazał się związek 1 (izomer orto) zmieniający swoje przesunięcie o 1,8 ppm podczas przełączania, przy czym czasy relaksacji T_1 i T_2 nie ulegały zmianie. Takie zachowanie znacznie upraszcza procedurę obrazowania, ponieważ należy uwzględnić jedynie zmiany przesunięć chemicznych.

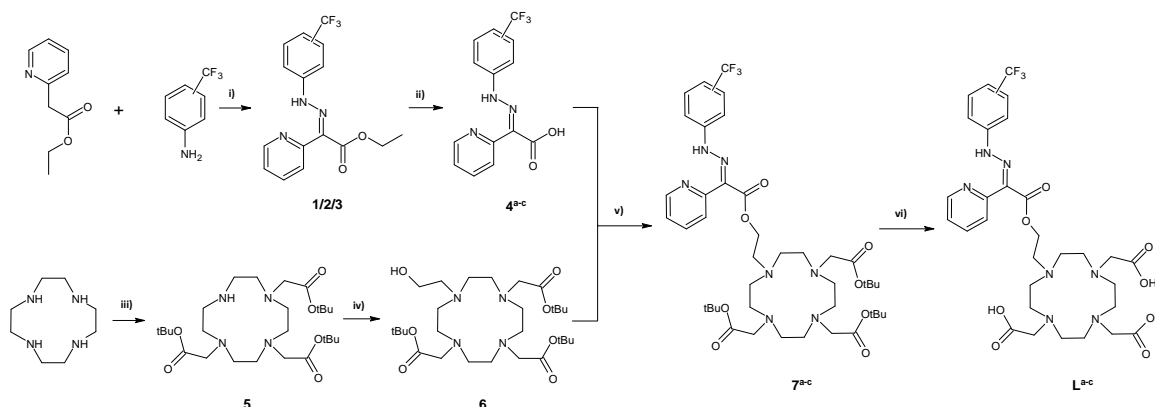
Obrazy pozyskano przy odpowiedniej częstotliwości impulsów wzbudzających RF i szerokości pasma 0,5 ppm, aby pokryć częstotliwości rezonansowe izomerów (rysunek 14 C,E,I). Czas pozyskiwania obrazu wynosi 15 minut dla sekwencji FLASH oraz zaledwie 2 minuty dla sekwencji RARE. Dodatkowo, możliwe jest zwiększenie szerokości pasma impulsów RF w obrazowaniu MR w celu określenia obecności izomeru Z i pokrycia całego zakresu przesunięć chemicznych zależnych od pH.



Rysunek 14. Obrazowanie ^{19}F MRI związku 1 w CH_3CN : (A,D,G) Impuls wzbudzający RF przy -60,9 ppm z szerokością pasma 0,5 ppm; (B,E,H) Impuls wzbudzający RF przy -62,7 ppm z szerokością pasma 0,5 ppm; (C,F,I) odpowiadające widma ^{19}F NMR.^[2]

3.3. Projekt i synteza przełącznika z kompleksem paramagnetycznym

Ze względu na stosunkową małą różnicę przesunięć chemicznych izomeryzacji związków 1, 2 i 3 postanowiono zbadać możliwość opracowania przełącznika, który nie wykazywałby zmian przesunięcia chemicznego, a jedynie zmiany czasu relaksacji. W ten sposób można wykorzystać popularne procedury analogiczne jak w ^1H MRI, co mogłoby zapewnić spójność i większą skuteczność diagnostyczną. Zaproponowane rozwiązanie polega na wprowadzeniu jonu paramagnetycznego do przełącznika, który będzie modyfikował czas relaksacji fluoru poprzez PRE. W tym celu przeprowadzono hydrolizę związku 1 i estyfikację uzyskanego kwasu z modyfikowanym cyklenem według schematu 15. Hydroliza estru 7^b (z grupą $-\text{CF}_3$ w pozycji meta) za pomocą kwasu trifluorooctowego lub HCl prowadzi do uzyskania pożądanego produktu. Otrzymany ligand L^b jest stabilny w zakresie pH między 2 a 3 przez co najmniej 1 tydzień.



Rysunek 15. Synteza liganda L opartego o modyfikowany przełącznik molekularny z grupą $-\text{CF}_3$ i pierścieniem do kompleksowania jonów paramagnetycznych. i) HCl , EtOH , NaOAc , 0°C , 8 h; ii) KOH , MeOH , 35°C , 2 h; iii) $\text{BrCH}_2\text{COOtBu}$, Na_2CO_3 , CH_3CN , 0°C , 24 h; iv) $\text{BrCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, K_2CO_3 , CH_3CN , 7 days; v) DCC , DMAP , CH_2Cl_2 , 14 dni; vi) TFA/HCl , $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{water}$, 24 h. ^[3]

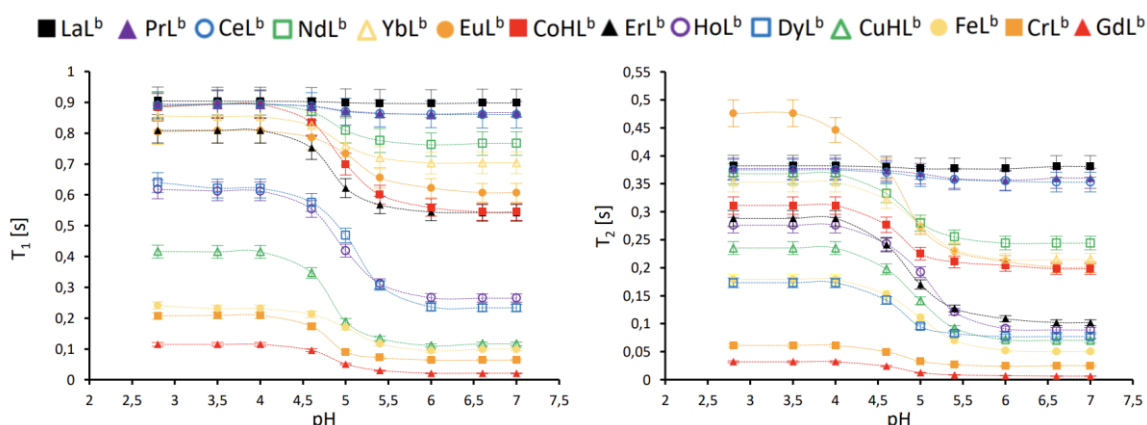
Istnieją trzy możliwe warianty liganda L , z grupą $-\text{CF}_3$ w pozycji orto (L^a), meta (L^b) lub para (L^c). Wykorzystując geometryczną optymalizację TPSSh/ECP(LCRECP)/6-31G(d) odpowiednich kompleksów $\text{Gd(III)} L^{a-c}$, oszacowano zmiany odległości fluor-paramagnetyk ($^{19}\text{F}-\text{M}$) podczas izomeryzacji E/Z każdego potencjalnego przełącznika. Porównując izomer meta z innymi wariantami, stwierdzono, że zmiany odległości $^{19}\text{F}-\text{M}$ były największe. Ponadto, przesunięcie chemiczne sygnału ^{19}F w izomerze meta oryginalnego przełącznika zmieniało się tylko o 0,1 ppm po zakwaszeniu, w przeciwieństwie do 1,8 i 0,8 ppm odpowiednio dla izomerów orto i para. Dalsze badania były prowadzone tylko dla izomeru meta (L^b), ponieważ

oferuje on największe potencjalne zmiany czasów relaksacji wywołane efektem PRE i stabilną pozycję sygnału ^{19}F , umożliwiając śledzenie pojedynczego, wąskiego rezonansu ^{19}F w celach obrazowania.

Wyboru najbardziej odpowiedniego jonu paramagnetycznego dokonano za pomocą obliczeń teoretycznych opartych na teorii Bloch–Redfield–Wangsnessa (BRW), uwzględniając jedynie oddziaływania dipolowe elektron–jądro i Curie. Jest to uzasadnione przeglądem dostępnych danych dotyczących czasów relaksacji ^{19}F dla paramagnetycznych kompleksów pochodnych cyklenu. Obliczenia pokazały, że największe różnice w czasach relaksacji spowodowane izomeryzacją występują w kompleksach Gd(III), Ho(III), Dy(III), Er(III), Cu(II) lub Cr(III). To zagadnienie było przedmiotem publikacji Design Principles of Responsive Relaxometric ^{19}F Contrast Agents: Evaluation from the Point of View of Relaxation Theory and Experimental Data, której jestem współautorem i nie została uwzględniona w niniejszym cyklu.^[209]

Wyniki przewidywań teoretycznych zweryfikowano eksperymentalnie dla wybranych jonów metali. Uzyskane kompleksy dobrze rozpuszczały się w wodzie (przynajmniej 30 mg/mL). Wprowadzenie kompleksu paramagnetycznego do struktury przełącznika rozwiązało problem niedostatecznej rozpuszczalności w środowisku wodnym przełączników 1-3, a tym samym umożliwiło szczegółowe badania zmian czasów relaksacji pod wpływem pH w buforowanych roztworach wodnych. W każdym przypadku roztwór kompleksu zakwaszono przez dodanie TFA, aby uzyskać dziewięć wartości pH (7,0, 6,6, 6,0, 5,4, 5,0, 4,4, 4,0, 3,5, 2,8), jak pokazano na rysunku 16.

Z wyjątkiem referencyjnego kompleksu z lantanem o własnościach diamagnetycznych (rysunek 16, czarne kwadraty) i wolnego liganda L^b ($T_1=908 \pm 27$ ms i $T_2=370 \pm 14$ ms), zaobserwowano stopniowy wzrost czasów relaksacji T_1 i T_2 wraz ze spadkiem pH. Oznacza to, że grupa $-\text{CF}_3$ oddala się od centrum paramagnetycznego podczas izomeryzacji E/Z w zakresie pH od 5,5 do 4,0. Najlepsze wyniki T_1 zaobserwowano dla kompleksów Dy(III) L^b i Ho(III) L^b ($\Delta T_1=407 \pm 27$ i 353 ± 20 ms, odpowiednio), a T_2 dla kompleksów Eu(II) L^b i Er(III) L^b ($\Delta T_2=270 \pm 11$ i 186 ± 8 ms, odpowiednio). W odniesieniu do względnych zmian czasów relaksacji, które są bardziej istotne z punktu widzenia obrazowania, Gd(III) L^b wykazuje najlepsze właściwości, tj. $450 \pm 26\%$ wzrost T_1 i $430 \pm 5\%$ wzrost T_2 podczas izomeryzacji.



Rysunek 16. Wykres zmian czasów relaksacji T_1 i T_2 pod wpływem zmian pH dla różnych kompleksów paramagnetycznych ligandu L^b .^[3]

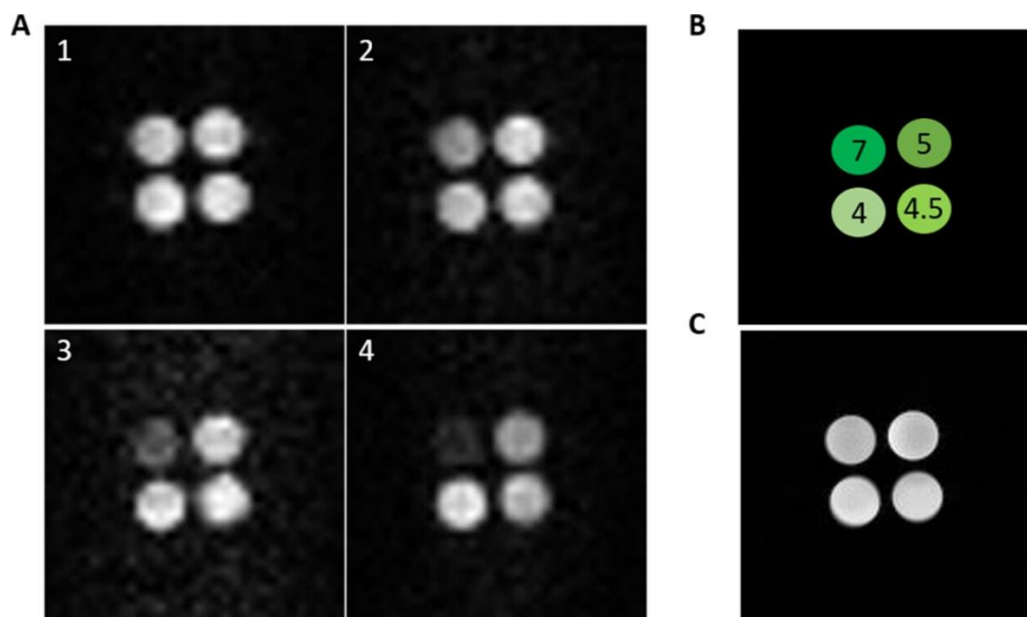
$Gd(III)L^b$ wykazuje najmniejsze czasy relaksacji (110 ms dla T_1 i 50 ms dla T_2), co pozwala na najszybsze pozyskiwanie sygnału. Niewielkim minusem kompleksu $Gd(III)L^b$ jest niski stosunek T_2/T_1 , co prowadzi do poszerzenia linii. Stosunek ten jest podobny (0,3–0,4) dla większości innych kompleksów, z wyjątkiem $Fe(III)L^b$, gdzie osiągnął on wartość 0,8.

Odwracalność przejścia zbadano poprzez wielokrotne zakwaszanie roztworu kompleksu $Ho(III)L^b$ do $pH=3$ za pomocą TFA i neutralizację za pomocą NaOH. Kompleks zachowuje stabilność po 15 cyklach. Kompleks wytrąca się przy $pH>12$, jednak tak wysokie pH znacznie wykracza poza spodziewane, typowe warunki pracy sondy od 4 do 7 jednostek pH.

3.4. Obrazowanie gradientu pH przez zmiany czasów relaksacji

Przydatność kompleksu $Gd(III)L^b$ jako potencjalnego środka kontrastowego MRI ^{19}F została przebadana we współpracy z IFJ PAN. Ponownie wykorzystano skaner MRI 9,4 T. Jako fantom wykorzystano cztery próbki zawierające roztwór o stężeniu 10 mM $Gd(III)L^b$ o pH 7,0, 5,0, 4,5 i 4,0. Liczbę powtórzeń ustawiono tak, aby czas akwizycji dla każdego obrazu wynosił około 60 min, przy 19 000, 1125, 1125 i 4500 powtórzeniach odpowiednio dla obrazów A1, A2, A3 (FLASH) i A4 (RARE). Widoczna jest silna korelacja między pH a kontrastem MRI, szczególnie dla sekwencji RARE ze względu na dominującą rolę czasu relaksacji poprzecznego T_2 . Relacja między pH a kontrastem MRI FLASH nie jest tak oczywista jak dla obrazów RARE, ponieważ obrazy FLASH są wrażliwe zarówno na T_1 , jak i stosunek T_2/T_1 . Dane przedstawione na rysunku 16 pokazują, że zmiany pH mają porównywalny wpływ na wartości T_1 i T_2 tych

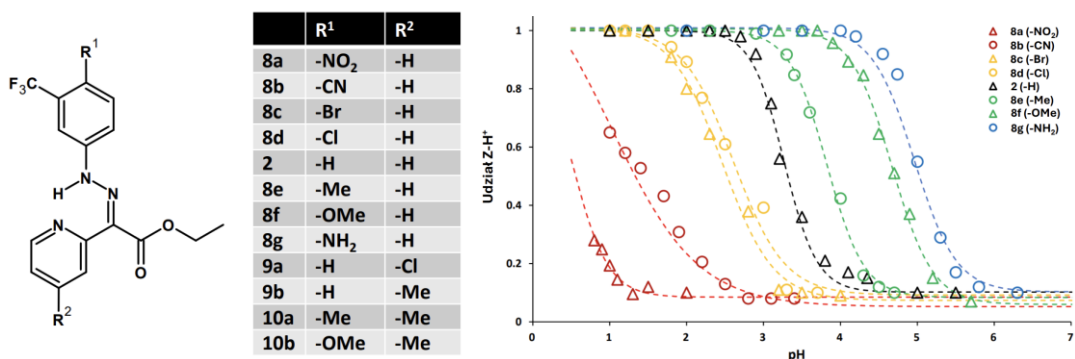
kompleksów. W rezultacie stosunek T_2/T_1 pozostaje stabilny niezależnie od pH, co prowadzi do obrazów, które głównie podkreślają kontrast T_2 .



Rysunek 17. (A) Obrazowanie rezonansu magnetycznego ^{19}F gradientu pH (pH 7,0, 5,0, 4,5, 4,0) 10 mM Gd(III)L^b : 1, 2 (T_1) i 3 (T_2) obrazy pozyskane metodą Fast Low Angle Shot (FLASH); 4 (T_2) obraz uzyskany metodą Rapid Acquisition with Relaxation Enhancement (RARE). (B) Rozmieszczenie próbek w aparaturze. (C) Obrazowanie MRI ^1H . Pole widzenia: 25 mm^2 , akwizycja macierzy: 32 .^[3]

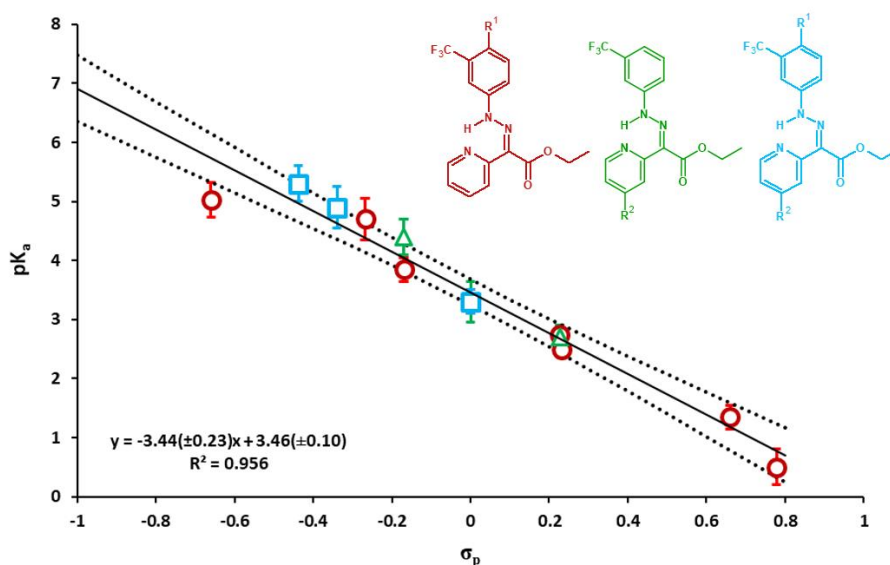
3.5. Zmiana pH aktywacji

Zakres pH, w którym dochodzi do izomeryzacji różni się od pożądanego w kontekście zastosowań związanych z obrazowaniem nowotworów (6,1-7,4). Z tego powodu interesujące było sprawdzenie możliwości modyfikacji pH aktywacji przełączników. W tym celu otrzymano trzy serie związków o ogólnej strukturze przedstawionej na rysunku 18. Położenie grupy $-\text{CF}_3$ w pozycji meta pierścienia fenyłowego wynika z większej dostępności odpowiednich anilin. Związki 8a–8g zawierają podstawniki w pierścieniu fenyłowym, 9a i 9b w pierścieniu pirydynowym, podczas gdy 10a i 10b zawierają podstawniki w obu pierścieniach. Pozwoliło to na ocenę wpływu wybranych podstawników na pK_a przełączników molekularnych w zależności od ich stałej Hammetta oraz pozycji.



Rysunek 18. Struktura modyfikowanych przełączników molekularnych do badań zmian pH aktywacji. Krzywe miareczkowania serii związków 8a-8g ilustrujące zmiany wpływu pH na izomeryzację przełączników.^[4]

Na podstawie krzywych miareczkowania ¹⁹F NMR obliczono pK_a każdego przełącznika, przyjmując pK_a = pH, gdy [Z-H⁺]/([Z-H⁺]+[E]) = 0,5. W tym celu korzystano z funkcji regresji wiążącej pH z udziałem obu izomerów. Dane pozwoliły na określenie wpływu podstawników na pK_a. Zależność pomiędzy stałymi podstawników Hammeta a pK_a jest liniowa z nieistotnymi statystycznie różnicami między seriami (rysunek 19).



Rysunek 19. Wykres zmian pK_a przełączników molekularnych 2, 8a-8g (czerwony), 2, 9a, 9b (zielony), 2, 10a, 10b (niebieski) w zależności od stałej Hammeta podstawników.^[4]

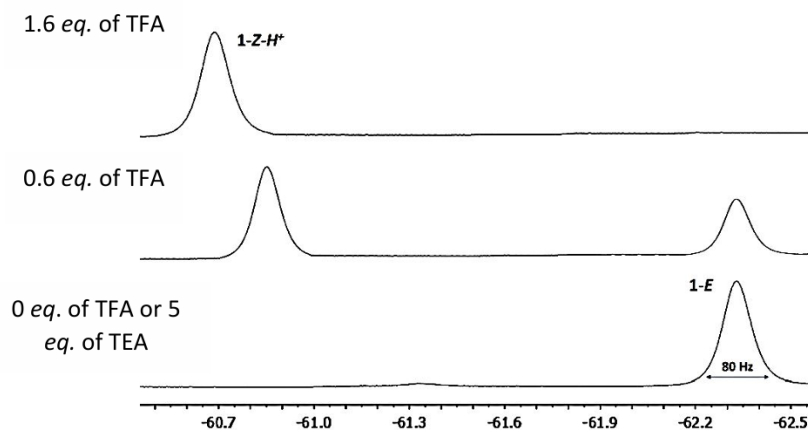
Różnice między badanymi substancjami można wyjaśnić innym wpływem podstawników w pierścieniu pirydylowym czy fenylowym na zasadowość azotu pirydylowego. W obu przypadkach częściowy ładunek ujemny na azocie pirydylowym wzrasta wraz z charakterem elektrodonorowym podstawników (niezależnie od ich pozycji). Jest to skutkiem rezonansu między oboma pierścieniami poprzez fragment HN=N=C-C-N. Efekt ten można ująć ilościowo

za pomocą obliczeń DFT.^[4] Jeśli podstawnik znajduje się w pierścieniu pirydylowym, teoretyczny ładunek zmienia się bardziej dynamicznie z wartością stałej Hammetta niż w przypadku podstawienia pierścienia fenylowego.^[4]

Dodatkowo, oceniono wpływ stałych indukcyjnych pola (σ_F) i stałych rezonansowych (σ_R) podstawników na pK_a przełączników. Dla związków 8a-8g efekt rezonansowy był o 60% silniejszy niż efekt indukcyjny ($pK_a = -4,5\sigma_R - 2,8\sigma_F + 3,3$), podczas gdy dla serii 9 oba efekty były porównywalne ($pK_a = -4,0\sigma_R - 3,5\sigma_F + 3,6$).

3.6. Rozpuszczalność

Rozpuszczalność opracowanych środków kontrastowych stanowiła istotne wyzwanie w kontekście ich potencjalnych zastosowań. Zazwyczaj od środka kontrastowego oczekuje się rozpuszczalności bądź stabilności w fazie wodnej (jak dla nanoemulsji) tak, aby mógł być podany dożylnie. W przypadku przełączników 1-3 są one rozpuszczalne w rozpuszczalnikach organicznych jak acetonitryl czy metanol, ale nie w wodzie. Aby rozwiązać ten problem, zaproponowano zastosowanie emulsji w oleju rzepakowym. Do tego celu użyto metody sonikacji z wodą i surfaktentem Pluronic 127. Otrzymana emulsja wykazuje podobne cechy w eksperymentach ^{19}F NMR i ^{19}F MRI jak roztwór związku 1 w acetonitrylu, z wyjątkiem szerszych sygnałów 80 Hz w porównaniu do 8 Hz.



Rysunek 18. Widma ^{19}F NMR dla procesu przełączenia związku 1 w emulsji.^[2]

Inne podejście poprawy rozpuszczalności obejmuje wprowadzenie do pierścienia fenylowego hydrofilowej grupy funkcyjnej. Udało się to zrobić przy okazji badania wpływu podstawników na pH przełączenia, modyfikując przełącznik grupą $-NH_2$ (związek 8g) lub $-CN$

(związek 8b). Tym sposobem uzyskano zwiększenie rozpuszczalności w wodzie do poziomu odpowiednio 6,0 mg/ml i 2,5 mg/ml w porównaniu ze związkami 1,2 i 3 (rozpuszczalność w wodzie ~0 mg/ml).^[4]

Najlepszą metodą poprawy rozpuszczalności było wprowadzenie kompleksu metali z pochodną cyklenu w miejsce grupy etylowej (kompleksy L^b). Takie przełączniki są dobrze rozpuszczalne w wodzie na poziomie 30 mg/mL, co jest wystarczające dla potrzeb diagnostyki obrazowej.^[3]

4. Podsumowanie i wnioski

W ramach pracy doktorskiej przeprowadzono badania nad serią hydrazonowych przełączników molekularnych zawierających fluor, które mogą pełnić rolę inteligentnych środków kontrastowych do obrazowania metodą ^{19}F MRI. Wyniki wskazują, że umożliwiają one wizualizację pH na skutek izomeryzacji E/Z przy użyciu ^{19}F NMR, ^1H NMR, UV–VIS i ^{19}F MRI w niskim stężeniu (mM) z krótkim czasem akwizycji. Możliwe jest to w środowisku wodnym lub w rozpuszczalnikach organicznych oraz w emulsji wodnej, zależnie od rozpuszczalności danego przełącznika.

Obrazowanie rezonansem magnetycznym przy pomocy przełączników jest możliwe zarówno w oparciu o zmiany przesunięcia chemicznego jak i o zmiany czasów relaksacji sygnałów ^{19}F NMR. Pierwsza metoda zależy od struktury danego przełącznika i różnicy w przesunięciach chemicznych formy podstawowej i aktywowanej (im większa tym lepiej). Dla związku 1 zaobserwowano największą zmianę przesunięć chemicznych o 1,8 ppm, co pozwoliło na zobrazowanie gradientu pH ^{19}F MRI w zakresie 2-4. Ograniczeniem w tym przypadku jest konieczność skanowania w wąskich zakresach przesunięcia chemicznego, co wydłuża czas akwizycji.

Drugi sposób obrazowania wymaga wprowadzenia grupy paramagnetycznej w niewielkiej odległości od grupy $-\text{CF}_3$. Pozwala to na obserwację zmian czasów relaksacji T_1 i T_2 spowodowanych efektem PRE jonów metali, wynikającym z izomeryzacji E/Z indukowanej zmianami pH. Procesowi towarzyszą tylko minimalne zmiany przesunięcia chemicznego grupy $-\text{CF}_3$ w ^{19}F NMR. Dla tej metody czasy akwizycji są dłuższe niż dla obrazowania opartego o zmiany przesunięcia chemicznego (60 minut zamiast 15 min). Przy odległości metal - grupa $-\text{CF}_3$ zmieniającej się w zakresie 9–13 Å najbardziej odpowiednim kompleksem do obrazowania MR okazał się Gd(III)L^b , który wykazywał zmiany czasów relaksacji o ponad 400% w zakresie pH 4–6. Przeprowadzono również obliczenia teoretyczne bazujące na teorii BRW dla innych jonów metali, które zostały zweryfikowane eksperymentalnie, potwierdzając wiarygodność przewidywań teoretycznych.

Przedstawione związki opisano także pod kątem kluczowych właściwości do zastosowań w ^{19}F MRI. Ustalono ogólną zależność między stałymi Hammetta a pK_a przełączników, co pozwala na projektowanie przełączników dla pożądanego zakresu pH. Odnosnie zakresu fizjologicznego (5.5-7) wymaga to 1-2 podstawników w pierścieniach o łącznym sigma około -0,8 dla przełączników modyfikowanych grupą $-\text{CF}_3$. Zbadano rozpuszczalność związków,

gdzie dla hydrazonów 1,2 i 3 niska rozpuszczalność wymusza zastosowanie układu emulsji lub modyfikacji cząsteczki hydrofilowymi grupami funkcyjnymi (np. $-\text{NH}_2$). Dla kompleksów metali L^b nie ma potrzeby poprawy rozpuszczalności w wodzie (rozpuszczalność na poziomie 30 mg/ml).

Dalsze badania powinny obejmować poprawę właściwości proponowanych sond ^{19}F MRI pod kątem ich rzeczywistego zastosowania w klinicznym obrazowaniu. Wymaga to opracowania sposobu ich dostarczania (np. kapsułki, polimery czy nanocząstki) oraz zbadania toksyczności. Kolejnym aspektem jest sprawdzenie innych źródeł fluoru np. poprzez modyfikację przełączników grupami fluorowymi: $-\text{F}$, $-\text{OCF}_3$ czy $-\text{SF}_5$. Pozwoli to na wybranie najlepszego układu jak i na obrazowanie wielokolorowe, ze względu na zróżnicowane regiony przesunięć chemicznych sygnałów. Zagadnienie to jest obecnie zgłębiane w ramach projektu PRELUDIUM. Dodatkowo, należy zwiększyć udział atomów fluoru (np. grupami $-\text{C}(\text{CF}_3)_3$) w cząsteczce, co pozwoli na używanie kontrastu w mniejszych stężeniach. Niesie to ryzyko pogorszenia rozpuszczalności, co można jednak zniwelować modyfikując cząsteczki dodatkowymi grupami funkcyjnymi, jak PEG czy jednostki cukrowe.

5. Bibliografia

- [1] D. Janasik, T. Krawczyk, *Chemistry – A European Journal* **2022**, *28*.
- [2] D. Janasik, K. Jasiński, W. P. Węglarz, I. Nemeč, P. Jewula, T. Krawczyk, *Anal Chem* **2022**, *94*, 3427.
- [3] D. Janasik, K. Jasiński, J. Szreder, W. P. Węglarz, T. Krawczyk, *ACS Sens* **2023**, *8*, 1971.
- [4] D. Janasik, P. Imielska, T. Krawczyk, *ACS Sens* **2023**, *8*, 721.
- [5] R. Weissleder, M. J. Pittet, *Nature* **2008**, *452*, 580.
- [6] J. P. B. O'Connor, E. O. Aboagye, J. E. Adams, H. J. W. L. Aerts, S. F. Barrington, A. J. Beer, R. Boellaard, S. E. Bohndiek, M. Brady, G. Brown, D. L. Buckley, T. L. Chenevert, L. P. Clarke, S. Collette, G. J. Cook, N. M. Desouza, J. C. Dickson, C. Dive, J. L. Evelhoch, C. Faivre-Finn, F. A. Gallagher, F. J. Gilbert, R. J. Gillies, V. Goh, J. R. Griffiths, A. M. Groves, S. Halligan, A. L. Harris, D. J. Hawkes, O. S. Hoekstra, E. P. Huang, B. F. Hutton, E. F. Jackson, G. C. Jayson, A. Jones, D. M. Koh, D. Lacombe, P. Lambin, N. Lassau, M. O. Leach, T. Y. Lee, E. L. Leen, J. S. Lewis, Y. Liu, M. F. Lythgoe, P. Manoharan, R. J. Maxwell, K. A. Miles, B. Morgan, S. Morris, T. Ng, A. R. Padhani, G. J. M. Parker, M. Partridge, A. P. Pathak, A. C. Peet, S. Punwani, A. R. Reynolds, S. P. Robinson, L. K. Shankar, R. A. Sharma, D. Soloviev, S. Stroobants, D. C. Sullivan, S. A. Taylor, P. S. Tofts, G. M. Tozer, M. Van Herk, S. Walker-Samuel, J. Wason, K. J. Williams, P. Workman, T. E. Yankeelov, K. M. Brindle, L. M. McShane, A. Jackson, J. C. Waterton, *Nat Rev Clin Oncol* **2017**, *14*, 169.
- [7] R. Kumar, P. Gautam, Ritambhara, S. Vijayaraghavalu, G. C. Shukla, M. Kumar, *Clin Epidemiol Glob Health* **2020**, *8*, 1119.
- [8] H. Kobayashi, M. R. Longmire, M. Ogawa, P. L. Choyke, *Chem Soc Rev* **2011**, *40*, 4626.
- [9] J. Wahsner, E. M. Gale, A. Rodríguez-Rodríguez, P. Caravan, *Chem Rev* **2019**, *119*, 957.
- [10] E. Terreno, D. D. Castelli, A. Viale, S. Aime, *Chem Rev* **2010**, *110*, 3019.
- [11] P. Caravan, J. J. Ellison, T. J. McMurry, R. B. Lauffer, *Chem Rev* **1999**, *99*, 2293.
- [12] O. Maxouri, Z. Bodalal, M. Daal, S. Rostami, I. Rodriguez, L. Akkari, M. Srinivas, R. Bernards, R. Beets-Tan, *BJR|Open* **2023**, *5*.
- [13] N. V. Anisimov, O. S. Pavlova, A. G. Agafonnikova, A. V. Kosenkov, D. V. Fomina, *Appl Magn Reson* **2019**, *50*, 17.
- [14] O. S. Pavlova, N. V. Anisimov, L. L. Gervits, M. V. Gulyaev, V. N. Semenova, Y. A. Pirogov, V. Y. Panchenko, *Magn Reson Med* **2020**, *84*, 2117.
- [15] D. V. Volkov, M. V. Gulyaev, A. V. Kosenkov, D. N. Silachev, N. V. Anisimov, A. P. Chernyaev, Y. A. Pirogov, *Appl Magn Reson* **2018**, *49*, 71.

- [16] M. V. Gulyaev, N. V. Anisimov, N. E. Ustyuzhanina, A. S. Dmitrenok, A. S. Shashkov, D. V. Yashunsky, L. L. Gervits, Y. A. Pirogov, N. E. Nifantiev, *Mendeleev Communications* **2016**, *26*, 24.
- [17] P. A. Bottomley, *NMR Biomed* **2016**, *29*, 187.
- [18] L. O. Poku, M. Phil, Y. Cheng, K. Wang, X. Sun, *Journal of Magnetic Resonance Imaging* **2021**, *53*, 995.
- [19] M. Hammon, S. Grossmann, P. Linz, C. Kopp, A. Dahlmann, R. Janka, A. Cavallaro, M. Uder, J. Titze, *Acad Radiol* **2015**, *22*, 1181.
- [20] T. Wilferth, L. V. Gast, R. W. Stobbe, C. Beaulieu, B. Hensel, M. Uder, A. M. Nagel, *Magn Reson Imaging* **2019**, *63*, 280.
- [21] J.-H. Lee, R. A. Komoroski, W.-J. Chu, J. A. Dudley, **2012**, pp. 115–160.
- [22] G. J. Kemp, M. Meyerspeer, E. Moser, *NMR Biomed* **2007**, *20*, 555.
- [23] A. Santos-Díaz, M. D. Noseworthy, *Biomed Signal Process Control* **2020**, *60*, 101967.
- [24] C. Ma, B. Clifford, Y. Liu, Y. Gu, F. Lam, X. Yu, Z. P. Liang, *Magn Reson Med* **2017**, *78*, 419.
- [25] G. J. Kemp, R. E. Ahmad, K. Nicolay, J. J. Prompers, *Acta Physiologica* **2015**, *213*, 107.
- [26] H. Marshall, N. J. Stewart, H. F. Chan, M. Rao, G. Norquay, J. M. Wild, *Prog Nucl Magn Reson Spectrosc* **2021**, *122*, 42.
- [27] M. S. Freeman, K. Emami, B. Driehuys, *Phys Rev A* **2014**, *90*.
- [28] K. Qing, K. Ruppert, Y. Jiang, J. F. Mata, G. W. Miller, Y. M. Shim, C. Wang, I. C. Ruset, F. W. Hersman, T. A. Altes, J. P. Mugler, *Journal of Magnetic Resonance Imaging* **2014**, *39*, 346.
- [29] F. W. Hersman, I. C. Ruset, S. Ketel, I. Muradian, S. D. Covrig, J. Distelbrink, W. Porter, D. Watt, J. Ketel, J. Brackett, A. Hope, S. Patz, *Acad Radiol* **2008**, *15*, 683.
- [30] J. M. Wild, F. V. Gleeson, S. Svenningsen, J. T. Grist, L. C. Saunders, G. J. Collier, M. Sharma, S. Tchernier, A. Mozaffaripour, A. M. Matheson, G. Parraga, *Journal of Magnetic Resonance Imaging* **2024**, *59*, 1120.
- [31] O. Arponen, P. Wodtke, F. A. Gallagher, R. Woitek, *Eur J Radiol* **2023**, *167*.
- [32] M. M. Chaumeil, J. A. Bankson, K. M. Brindle, S. Epstein, F. A. Gallagher, M. Grashei, C. Guglielmetti, J. D. Kaggie, K. R. Keshari, S. Knecht, C. Laustsen, A. B. Schmidt, D. Vigneron, Y. F. Yen, F. Schilling, *Mol Imaging Biol* **2024**, *26*, 222.
- [33] K. K. Gast, A. Biedermann, A. Herweling, W. G. Schreiber, J. Schmiedeskamp, E. Mayer, C. P. Heussel, K. Markstaller, H. U. Kauczor, B. Eberle, *Eur Radiol* **2008**, *18*, 530.
- [34] H. Middleton, R. D. Black, B. Saam, G. D. Cates, G. P. Cofer, R. Guenther, W. Happer, L. W. Hedlund, G. Alan Johnson, K. Juvan, J. Swartz, *Magn Reson Med* **1995**, *33*, 271.
- [35] W. Wolf, C. A. Presant, V. Waluch, *Adv Drug Deliv Rev* **2000**, *41*, 55.

- [36] I. Tirotta, V. Dichiarante, C. Pigliacelli, G. Cavallo, G. Terraneo, F. B. Bombelli, P. Metrangolo, G. Resnati, *Chem Rev* **2015**, *115*, 1106.
- [37] N. Anisimov, D. Volkov, M. Gulyaev, O. Pavlova, Y. Pirogov, *J Phys Conf Ser* **2016**, *677*, 012005.
- [38] A. H. Schmieder, S. D. Caruthers, J. Keupp, S. A. Wickline, G. M. Lanza, *Engineering* **2015**, *1*, 475.
- [39] Y. B. Yu, *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol* **2013**, *5*, 646.
- [40] J. C. Knight, P. G. Edwards, S. J. Paisey, *RSC Adv* **2011**, *1*, 1415.
- [41] M. H. Cho, S. H. Shin, S. H. Park, D. K. Kadayakkara, D. Kim, Y. Choi, *Bioconjug Chem* **2019**, *30*, 2502.
- [42] X. Zhu, P. Zhang, D. Liu, L. Tao, J. Du, X. Gao, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **2024**, *172*, 117607.
- [43] G. L. Davies, I. Kramberger, J. J. Davis, *Chemical Communications* **2013**, *49*, 9704.
- [44] H. Chen, X. Tang, X. Gong, D. Chen, A. Li, C. Sun, H. Lin, J. Gao, *Chemical Communications* **2020**, *56*, 4106.
- [45] F. Schmid, C. Höltnke, D. Parker, C. Faber, *Magn Reson Med* **2013**, *69*, 1056.
- [46] S. Kathiravan, *The Smart Computing Review* **2013**, *3*.
- [47] M. Rogosnitzky, S. Branch, *BioMetals* **2016**, *29*, 365.
- [48] E. Terreno, D. D. Castelli, A. Viale, S. Aime, *Chem Rev* **2010**, *110*, 3019.
- [49] K. Kikuchi, *Chem Soc Rev* **2010**, *39*, 2048.
- [50] C. Masuda, Z. Maki, S. Morikawa, M. Morita, T. Inubushi, Y. Matsusue, S. Yamagata, H. Taguchi, Y. Doi, N. Shirai, K. Hirao, I. Tooyama, *Neurosci Res* **2006**, *56*, 224.
- [51] J. Maki, C. Masuda, S. Morikawa, M. Morita, T. Inubushi, Y. Matsusue, H. Taguchi, I. Tooyama, *Biomaterials* **2007**, *28*, 434.
- [52] H. K. Lee, O. Nalcioglu, R. B. Buxton, *Magn Reson Med* **1991**, *21*, 21.
- [53] L. Wu, F. Liu, S. Liu, X. Xu, Z. Liu, X. Sun, *Int J Nanomedicine* **2020**, *15*, 7377.
- [54] T. Wu, A. Li, K. Chen, X. Peng, J. Zhang, M. Jiang, S. Chen, X. Zheng, X. Zhou, Z.-X. Jiang, *Chemical Communications* **2021**, *57*, 7743.
- [55] U. Nöth, S. P. Morrissey, R. Deichmann, S. Jung, H. Adolf, A. Haase, J. Lutz, *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol* **1997**, *25*, 243.
- [56] C. Constantinides, M. L. Maguire, L. Stork, E. Swider, M. Srinivas, C. A. Carr, J. E. Schneider, *Journal of Magnetic Resonance Imaging* **2017**, *45*, 1659.
- [57] A. Keliris, I. Mamedov, G. E. Hagberg, N. K. Logothetis, K. Scheffler, J. Engelmann, *Contrast Media Mol Imaging* **2012**, *7*, 478.
- [58] P. Harvey, I. Kuprov, D. Parker, *Eur J Inorg Chem* **2012**, *2012*, 2015.
- [59] J. S. Enriquez, M. Yu, B. S. Bouley, D. Xie, E. L. Que, *Dalton Transactions* **2018**, *47*, 15024.

- [60] G. L. Davies, A. Brown, O. Blackburn, M. Tropiano, S. Faulkner, P. D. Beer, J. J. Davis, *Chemical Communications* **2015**, *51*, 2918.
- [61] J. Blahut, K. Bernásek, A. Gálisová, V. Herynek, I. Císařová, J. Kotek, J. Lang, S. Matějková, P. Hermann, *Inorg Chem* **2017**, *56*, 13337.
- [62] E. Kaplan, A. K. Prashanth, C. Brennan, L. Sirovich, *Opt Photonics News* **2000**, *11*, 26.
- [63] J. Zhao, J. Chen, S. Ma, Q. Liu, L. Huang, X. Chen, K. Lou, W. Wang, *Acta Pharm Sin B* **2018**, *8*, 320.
- [64] M. Zalewski, D. Janasik, A. Kapała, M. Minoshima, F. Sugihara, W. Raj, J. Pietrasik, K. Kikuchi, T. Krawczyk, *Macromol Chem Phys* **2022**, 223.
- [65] G. A. Mountain, B. J. Jelier, C. Bagia, C. M. Friesen, J. M. Janjic, *J Fluor Chem* **2014**, *162*, 38.
- [66] M. Zalewski, D. Janasik, A. Kapała, M. Minoshima, F. Sugihara, W. Raj, J. Pietrasik, K. Kikuchi, T. Krawczyk, *Macromol Chem Phys* **2022**, 2200027.
- [67] N. R. B. Boase, I. Blakey, K. J. Thurecht, *Polym Chem* **2012**, *3*, 1384.
- [68] C. Fu, S. Herbst, C. Zhang, A. K. Whittaker, *Polym Chem* **2017**, *8*, 4585.
- [69] Q. Zhu, F. Qiu, B. Zhu, X. Zhu, *RSC Adv* **2013**, *3*, 2071.
- [70] A. Saadati, M. Hasanzadeh, F. Seidi, *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* **2021**, 142.
- [71] K. Wang, H. Peng, K. J. Thurecht, S. Puttick, A. K. Whittaker, *Polym Chem* **2016**, *7*, 1059.
- [72] W. Du, A. M. Nyström, L. Zhang, K. T. Powell, Y. Li, C. Cheng, S. A. Wickline, K. L. Wooley, *Biomacromolecules* **2008**, *9*, 2826.
- [73] N. R. B. Boase, I. Blakey, B. E. Rolfe, K. Mardon, K. J. Thurecht, *Polym Chem* **2014**, *5*, 4450.
- [74] K. J. Thurecht, I. Blakey, H. Peng, O. Squires, S. Hsu, C. Alexander, A. K. Whittaker, *J Am Chem Soc* **2010**, *132*, 5336.
- [75] X. Liu, Y. Yuan, S. Bo, Y. Li, Z. Yang, X. Zhou, S. Chen, Z. X. Jiang, *European J Org Chem* **2017**, 2017, 4461.
- [76] D. K. Kölmel, M. Nieger, S. Bräse, *RSC Adv* **2015**, *5*, 36762.
- [77] W. Yu, Y. Yang, S. Bo, Y. Li, S. Chen, Z. Yang, X. Zheng, Z. X. Jiang, X. Zhou, *Journal of Organic Chemistry* **2015**, *80*, 4443.
- [78] S. Mignani, J. Rodrigues, H. Tomas, A. M. Caminade, R. Laurent, X. Shi, J. P. Majoral, *Sci China Mater* **2018**, *61*, 1367.
- [79] H. Vu-Quang, M. S. Vinding, D. Xia, T. Nielsen, M. G. Ullisch, M. Dong, N. C. Nielsen, J. Kjems, *Carbohydr Polym* **2016**, *136*, 936.
- [80] E. Gianolio, R. Napolitano, F. Fedeli, F. Arena, S. Aime, *Chemical Communications* **2009**, 6044.
- [81] B. E. L. Hirst, J. K. Wold, **1955**, *III*, 1493.

- [82] J. D. Wallat, A. E. Czapar, C. Wang, A. M. Wen, K. S. Wek, X. Yu, N. F. Steinmetz, J. K. Pokorski, *Biomacromolecules* **2017**, *18*, 103.
- [83] B. E. Rolfe, I. Blakey, O. Squires, H. Peng, N. R. B. Boase, C. Alexander, P. G. Parsons, G. M. Boyle, A. K. Whittaker, K. J. Thurecht, *J Am Chem Soc* **2014**, *136*, 2413.
- [84] W. Yu, Y. Yang, S. Bo, Y. Li, S. Chen, Z. Yang, X. Zheng, Z. X. Jiang, X. Zhou, *Journal of Organic Chemistry* **2015**, *80*, 4443.
- [85] M. M. Kaneda, S. Caruthers, G. M. Lanza, S. A. Wickline, *Ann Biomed Eng* **2009**, *37*, 1922.
- [86] J. M. Janjic, P. Shao, S. Zhang, X. Yang, S. K. Patel, M. Bai, *Biomaterials* **2014**, *35*, 4958.
- [87] S. K. Patel, M. J. Patrick, J. A. Pollock, J. M. Janjic, *J Biomed Opt* **2013**, *18*, 101312.
- [88] C. E. O'Hanlon, K. G. Amede, M. R. O'Hear, J. M. Janjic, C. E. O'hanlon, K. G. Amede, M. R. O'hear, J. M. Janjic, C. E. O'Hanlon, K. G. Amede, M. R. O'Hear, J. M. Janjic, *J Fluor Chem* **2012**, *137*, 27.
- [89] P. K. Bae, J. Jung, B. H. Chung, *Nano Converg* **2014**, *1*, 6.
- [90] P. Bouvain, V. Flocke, W. Krämer, R. Schubert, J. Schrader, U. Flögel, S. Temme, *Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine* **2019**, *32*, 133.
- [91] P. K. Bae, J. Jung, S. J. Lim, D. Kim, S.-K. Kim, B. H. Chung, *Mol Imaging Biol* **2013**, *15*, 401.
- [92] P. K. Bae, B. H. Chung, *Nano Converg* **2014**, *1*, 23.
- [93] J. M. Janjic, M. Srinivas, D. K. K. Kadayakkara, E. T. Ahrens, *J Am Chem Soc* **2008**, *130*, 2832.
- [94] Y. T. Lim, Y.-W. Noh, J.-H. Cho, J. H. Han, B. S. Choi, J. Kwon, K. S. Hong, A. Gokarna, Y.-H. Cho, B. H. Chung, *J Am Chem Soc* **2009**, *131*, 17145.
- [95] M. Srinivas, L. J. Cruz, F. Bonetto, A. Heerschap, C. G. Figdor, I. J. M. de Vries, *Biomaterials* **2010**, *31*, 7070.
- [96] A. Gálisová, V. Herynek, E. Swider, E. Sticová, A. Pátiková, L. Kosinová, J. Kříž, M. Hájek, M. Srinivas, D. Jiráček, *Mol Imaging Biol* **2019**, *21*, 454.
- [97] H. Vu-Quang, M. S. Vinding, T. Nielsen, M. G. Ullisch, N. Chr. Nielsen, J. Kjems, *Nanomedicine* **2016**, *12*, 1873.
- [98] Z. Wang, X. Yue, Y. Wang, C. Qian, P. Huang, M. Lizak, G. Niu, F. Wang, P. Rong, D. O. Kiesewetter, Y. Ma, X. Chen, *Adv Healthc Mater* **2014**, *3*, 1326.
- [99] C. Guo, M. Xu, S. Xu, L. Wang, *Nanoscale* **2017**, *9*, 7163.
- [100] Y. Zhang, Q. Ma, Y. Yan, C. Guo, S. Xu, L. Wang, *Anal Chem* **2020**, *92*, 15679.
- [101] Y. Li, H. Zhang, C. Guo, G. Hu, L. Wang, *Anal Chem* **2020**, *92*, 11739.
- [102] I. Gorelikov, A. L. Martin, M. Seo, N. Matsuura, *Langmuir* **2011**, *27*, 15024.

- [103] A. L. Lee, C. T. Gee, B. P. Weegman, S. A. Einstein, A. R. Juelfs, H. L. Ring, K. R. Hurley, S. M. Egger, G. Swindlehurst, M. Garwood, W. C. K. Pomerantz, C. L. Haynes, *ACS Nano* **2017**, *11*, 5623.
- [104] T. Nakamura, F. Sugihara, H. Matsushita, Y. Yoshioka, S. Mizukami, K. Kikuchi, *Chem Sci* **2015**, *6*, 1986.
- [105] M. Bouchoucha, R. B. van Heeswijk, Y. Gossuin, F. Kleitz, M.-A. A. Fortin, *Langmuir* **2017**, *33*, 10531.
- [106] T. Cyrus, D. R. Abendschein, S. D. Caruthers, T. D. Harris, V. Glattauer, J. A. Werkmeister, J. A. M. Ramshaw, S. A. Wickline, G. M. Lanza, *J Cardiovasc Magn Reson* **2006**, *8*, 535.
- [107] A. Mali, E. L. Kaijzel, H. J. Lamb, L. J. Cruz, *Journal of Controlled Release* **2021**, *338*, 870.
- [108] K. Li, Y. Liu, Z. Shengmin, Y. Xu, J. Jianshuai, F. Yin, Y. Hu, B. Han, S. Ge, Z. Li, W. Yong, *Int J Mol Med* **2017**, *39*, 1505.
- [109] J. B. Vines, J.-H. Yoon, N.-E. Ryu, D.-J. Lim, H. Park, *Front Chem* **2019**, *7*.
- [110] G. M. Lanza, P. M. Winter, A. M. Neubauer, S. D. Caruthers, F. D. Hockett, S. A. Wickline, *Curr Top Dev Biol* **2005**, *70*, 57.
- [111] P. Mishra, K. S. Ojha, A. Khare, *J Appl Spectrosc* **2018**, *85*, 743.
- [112] J. Cui, R. Jiang, C. Guo, X. Bai, S. Xu, L. Wang, *J Am Chem Soc* **2018**, *140*, 5890.
- [113] G. Hu, N. Li, J. Tang, S. Xu, L. Wang, *ACS Appl Mater Interfaces* **2016**, *8*, 22830.
- [114] X. Tang, X. Gong, J. Ming, D. Chen, H. Lin, J. Gao, *Anal Chem* **2020**, *92*, 16293.
- [115] H. Zhou, M. Qi, J. Shao, F. Wang, X. Li, Z. Zhou, S. Yang, H. Yang, *J Organomet Chem* **2021**, *933*, 121652.
- [116] C. Zhang, L. Li, F. Y. Han, X. Yu, X. Tan, C. Fu, Z. P. Xu, A. K. Whittaker, *Small* **2019**, *15*, 1902309.
- [117] M. Şologan, F. Padelli, I. Giachetti, D. Aquino, M. Boccalon, G. Adami, P. Pengo, L. Pasquato, *Nanomaterials* **2019**, *9*, 879.
- [118] Z. Guo, M. Chen, C. Peng, S. Mo, C. Shi, G. Fu, X. Wen, R. Zhuang, X. Su, T. Liu, N. Zheng, X. Zhang, *Biomaterials* **2018**, *179*, 134.
- [119] M. H. Cho, S. H. Shin, S. H. Park, D. K. Kadayakkara, D. Kim, Y. Choi, *Bioconjug Chem* **2019**, *30*, 2502.
- [120] J. Hu, S. Liu, *Sci China Chem* **2018**, *61*, 1110.
- [121] R. A. Moats, S. E. Fraser, T. J. Meade, *Angewandte Chemie (International Edition in English)* **1997**, *36*, 726.
- [122] D. H. Juers, B. W. Matthews, R. E. Huber, *Protein Science* **2012**, *21*, 1792.
- [123] A. P. Soleimany, S. N. Bhatia, *Trends Mol Med* **2020**, *26*, 450.

- [124] M. R. Baranowski, A. Nowicka, A. M. Rydzik, M. Warminski, R. Kasprzyk, B. A. Wojtczak, J. Wojcik, T. D. W. Claridge, J. Kowalska, J. Jemielity, *Journal of Organic Chemistry* **2015**, *80*, 3982.
- [125] S. Mizukami, H. Matsushita, R. Takikawa, F. Sugihara, M. Shirakawa, K. Kikuchi, *Chem Sci* **2011**, *2*, 1151.
- [126] H. Matsushita, S. Mizukami, Y. Mori, F. Sugihara, M. Shirakawa, Y. Yoshioka, K. Kikuchi, *ChemBioChem* **2012**, *13*, 1579.
- [127] M. Buzhor, L. Avram, L. Frish, Y. Cohen, R. J. Amir, *J Mater Chem B* **2016**, *4*, 3037.
- [128] H. Wang, K. R. Raghupathi, J. Zhuang, S. Thayumanavan, *ACS Macro Lett* **2015**, *4*, 422.
- [129] S. Mizukami, R. Takikawa, F. Sugihara, Y. Hori, H. Tochio, M. Wälchli, M. Shirakawa, K. Kikuchi, *J Am Chem Soc* **2008**, *130*, 794.
- [130] K. Tanaka, N. Kitamura, K. Naka, Y. Chujo, *Chemical Communications* **2008**, 6176.
- [131] S. Mizukami, R. Takikawa, F. Sugihara, M. Shirakawa, K. Kikuchi, *Angewandte Chemie International Edition* **2009**, *48*, 3641.
- [132] K. Tanaka, N. Kitamura, Y. Chujo, *Bioconjug Chem* **2011**, *22*, 1484.
- [133] T. Sakamoto, Y. K. Shimizu, J. Sasaki, H. Hayakawa, K. Fujimoto, *Bioorg Med Chem Lett* **2011**, *21*, 303.
- [134] J.-X. X. Yu, V. D. Kodibagkar, L. Liu, Z. Zhang, J. Magnusson, Y. Liu, L. Liu, J. Magnusson, Y. Liu, *Chem Sci* **2013**, *4*, 2132.
- [135] J. Y. He, Q. Li, H. X. Xu, Q. Y. Zheng, Q. H. Zhang, L. Di Zhou, C. Z. Wang, C. S. Yuan, *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* **2023**, 162.
- [136] D. F. Quail, J. A. Joyce, *Nat Med* **2013**, *19*, 1423.
- [137] L. Kennedy, J. K. Sandhu, M.-E. Harper, M. Cuperlovic-Culf, *Biomolecules* **2020**, *10*, 1429.
- [138] M. Yu, B. S. Bouley, D. Xie, J. S. Enriquez, E. L. Que, *J Am Chem Soc* **2018**, *140*, 10546.
- [139] L. A. Basal, M. D. Bailey, J. Romero, M. M. Ali, L. Kurenbekova, J. Yustein, R. G. Pautler, M. J. Allen, *Chem Sci* **2017**, *8*, 8345.
- [140] N. Kitamura, T. Hiraoka, K. Tanaka, Y. Chujo, *Bioorg Med Chem* **2012**, *20*, 4668.
- [141] T. Nakamura, H. Matsushita, F. Sugihara, Y. Yoshioka, S. Mizukami, K. Kikuchi, *Angewandte Chemie - International Edition* **2015**, *54*, 1007.
- [142] D. Xie, T. L. King, A. Banerjee, V. Kohli, E. L. Que, *J Am Chem Soc* **2016**, *138*, 2937.
- [143] D. Xie, S. Kim, V. Kohli, A. Banerjee, M. Yu, J. S. Enriquez, J. J. Luci, E. L. Que, *Inorg Chem* **2017**, *56*, 6429.
- [144] R. T. Kadakia, D. Xie, D. Martinez, M. Yu, E. L. Que, *Chemical Communications* **2019**, *55*, 8860.

- [145] P. Huang, W. Guo, G. Yang, H. Song, Y. Wang, C. Wang, D. Kong, W. Wang, *ACS Appl Mater Interfaces* **2018**, *10*, 18532.
- [146] M. Zheng, Y. Wang, H. Shi, Y. Hu, L. Feng, Z. Luo, M. Zhou, J. He, Z. Zhou, Y. Zhang, D. Ye, *ACS Nano* **2016**, *10*, 10075.
- [147] Y. Yuan, S. Ge, H. Sun, X. Dong, H. Zhao, L. An, J. Zhang, J. Wang, B. Hu, G. Liang, *ACS Nano* **2015**, *9*, 5117.
- [148] C. Fu, J. Tang, A. Pye, T. Liu, C. Zhang, X. Tan, F. Han, H. Peng, A. K. Whittaker, *Biomacromolecules* **2019**, *20*, 2043.
- [149] M. Certo, C. H. Tsai, V. Pucino, P. C. Ho, C. Mauro, *Nat Rev Immunol* **2021**, *21*, 151.
- [150] S. Hajjar, X. Zhou, *Trends Immunol* **2023**, *44*, 807.
- [151] C. A. Wagner, P. H. Imenez Silva, *Nat Immunol* **2022**, *23*, 991.
- [152] G. Angelovski, *Acc Chem Res* **2017**, *50*, 2215.
- [153] R. van der Meel, E. Sulheim, Y. Shi, F. Kiessling, W. J. M. Mulder, T. Lammers, *Nat Nanotechnol* **2019**, *14*, 1007.
- [154] C. Zhang, K. Yan, C. Fu, H. Peng, C. J. Hawker, A. K. Whittaker, *Chem Rev* **2022**, *122*, 167.
- [155] M. Oishi, S. Sumitani, Y. Nagasaki, *Bioconjug Chem* **2007**, *18*, 1379.
- [156] J. C. Metcalfe, T. R. Hesketh, G. A. Smith, *Cell Calcium* **1985**, *6*, 183.
- [157] X. Huang, G. Huang, S. Zhang, K. Sagiya, O. Togao, X. Ma, Y. Wang, Y. Li, T. C. Soesbe, B. D. Sumer, M. Takahashi, A. D. Sherry, J. Gao, *Angewandte Chemie International Edition* **2013**, *52*, 8074.
- [158] T. Frenzel, S. Koßler, H. BAUER, U. Niedballa, H. J. Weinmann, S. KOLER, H. BAUER, U. Niedballa, H. J. Weinmann, *Invest Radiol* **1994**, *29*, S220.
- [159] C. J. Deutsch, J. S. TAYLOR, *Ann N Y Acad Sci* **1987**, *508*, 33.
- [160] P. K. Senanayake, A. M. Kenwright, D. Parker, S. K. Van Der Hoorn, *Chemical Communications* **2007**, 2923.
- [161] K. Wang, H. Peng, K. J. Thurecht, S. Puttick, A. K. Whittaker, *Polym Chem* **2013**, *4*, 4480.
- [162] A. M. Kenwright, I. Kuprov, E. De Luca, D. Parker, S. U. Pandya, P. K. Senanayake, D. G. Smith, *Chemical Communications* **2008**, 2514.
- [163] S. Chen, Y. Yang, H. Li, X. Zhou, M. Liu, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 283.
- [164] A. T. Preslar, F. Tantalitti, K. Park, S. Zhang, S. I. Stupp, T. J. Meade, *ACS Nano* **2016**, *10*, 7376.
- [165] C. Guo, S. Xu, A. Arshad, L. Wang, *Chemical Communications* **2018**, *54*, 9853.
- [166] C. Zhang, L. Li, F. Y. Han, X. Yu, X. Tan, C. Fu, Z. P. Xu, A. K. Whittaker, *Small* **2019**, *15*, 1.

- [167] C. Zhang, R. J. P. Sanchez, C. Fu, R. Clayden-Zabik, H. Peng, K. Kempe, A. K. Whittaker, *Biomacromolecules* **2019**, *20*, 365.
- [168] R. Iima, S. Takegami, A. Konishi, S. Tajima, N. Minematsu, T. Kitade, *AAPS PharmSciTech* **2018**, *19*, 2679.
- [169] D. Ling, M. J. Hackett, T. Hyeon, *Nat Mater* **2014**, *13*, 122.
- [170] C. Zhang, S. S. Moonshi, H. Peng, S. Puttick, J. Reid, S. Bernardi, D. J. Searles, A. K. Whittaker, *ACS Sens* **2016**, *1*, 757.
- [171] Q. Peng, Y. Yuan, H. Zhang, S. Bo, Y. Li, S. Chen, Z. Yang, X. Zhou, Z. X. Jiang, *Org Biomol Chem* **2017**, *15*, 6441.
- [172] P. Harvey, K. H. Chalmers, E. De Luca, A. Mishra, D. Parker, *Chemistry - A European Journal* **2012**, *18*, 8748.
- [173] P. Kadjane, C. Platas-Iglesias, P. Boehm-Sturm, V. Truffault, G. E. Hagberg, M. Hoehn, N. K. Logothetis, G. Angelovski, *Chemistry - A European Journal* **2014**, *20*, 7351.
- [174] A. Sarkar, I. E. Biton, M. Neeman, A. Datta, *Inorg Chem Commun* **2017**, *78*, 21.
- [175] A. T. Preslar, L. M. Lilley, K. Sato, S. Zhang, Z. K. Chia, S. I. Stupp, T. J. Meade, *ACS Appl Mater Interfaces* **2017**, *9*, 39890.
- [176] A. Li, X. Tang, X. Gong, H. Chen, H. Lin, J. Gao, *Chemical Communications* **2019**, *55*, 12455.
- [177] G. Gambino, T. Gambino, R. Pohmann, G. Angelovski, *Chemical Communications* **2020**, *56*, 3492.
- [178] A. Bar-Shir, A. A. Gilad, K. W. Y. Chan, G. Liu, P. C. M. Van Zijl, J. W. M. Bulte, M. T. McMahon, *J Am Chem Soc* **2013**, *135*, 12164.
- [179] A. Bar-Shir, N. N. Yadav, A. A. Gilad, P. C. M. Van Zijl, M. T. McMahon, J. W. M. Bulte, *J Am Chem Soc* **2015**, *137*, 78.
- [180] M. B.L. Feringa, *Molecular Switches*, WileyVCH, **2001**.
- [181] J. D. Harris, M. J. Moran, I. Aprahamian, *Proc Natl Acad Sci U S A* **2018**, *115*, 9414.
- [182] O. Fitzmaurice, M. Bartkowski, S. Giordani, *Front Chem* **2022**, *10*.
- [183] H. Audi, Y. Viero, N. Alwhaibi, Z. Chen, M. Iazykov, A. Heynderickx, F. Xiao, D. Guérin, C. Krzeminski, I. M. Grace, C. J. Lambert, O. Siri, D. Vuillaume, S. Lenfant, H. Klein, *Nanoscale* **2020**, *12*, 10127.
- [184] M. Jeong, J. Park, S. Kwon, *European J Org Chem* **2020**, *2020*, 7254.
- [185] J.-P. Desvergne, H. Bouas-Laurent, *J Chem Soc Chem Commun* **1978**, 403.
- [186] S. Shinkai, T. Nakaji, Y. Nishida, T. Ogawa, O. Manabe, *J Am Chem Soc* **1980**, *102*, 5860.
- [187] S. Shinkai, T. Nakaji, T. Ogawa, K. Shigematsu, O. Manabe, *J Am Chem Soc* **1981**, *103*, 111.

- [188] I. Yamashita, M. Fujii, T. Kaneda, S. Misumi, T. Otsubo, *Tetrahedron Lett* **1980**, *21*, 541.
- [189] G. T. Carroll, M. G. M. Jongejan, D. Pijper, B. L. Feringa, *Chem Sci* **2010**, *1*, 469.
- [190] B. L. Feringa, R. A. van Delden, N. Koumura, E. M. Geertsema, *Chem Rev* **2000**, *100*, 1789.
- [191] A. Mammanna, G. T. Carroll, B. L. Feringa, In *Comprehensive Chiroptical Spectroscopy*, Wiley, **2012**, pp. 289–316.
- [192] R. A. Bissell, E. Córdova, A. E. Kaifer, J. F. Stoddart, *Nature* **1994**, *369*, 133.
- [193] A. C. Benniston, A. Harriman, *Angewandte Chemie International Edition in English* **1993**, *32*, 1459.
- [194] L. N. Lucas, J. Van Esch, R. M. Kellogg, B. L. Feringa, *Tetrahedron Lett* **1999**, *40*, 1775.
- [195] A. J. Myles, N. R. Branda, *Macromolecules* **2003**, *36*, 298.
- [196] S. Erbas-Cakmak, D. A. Leigh, C. T. McTernan, A. L. Nussbaumer, *Chem Rev* **2015**, *115*, 10081.
- [197] X. Su, T. Lessing, I. Aprahamian, *Beilstein Journal of Organic Chemistry* **2012**, *8*, 872.
- [198] I. Aprahamian, *Chemical Communications* **2017**, *53*, 6674.
- [199] H. Qian, S. Pramanik, I. Aprahamian, *J Am Chem Soc* **2017**, *139*, 9140.
- [200] X. Guo, B. Shao, S. Zhou, I. Aprahamian, Z. Chen, *Chem Sci* **2020**, *11*, 3016.
- [201] L.-Q. Zheng, S. Yang, J. Lan, L. Gyr, G. Goubert, H. Qian, I. Aprahamian, R. Zenobi, *J Am Chem Soc* **2019**, *141*, 17637.
- [202] R. Lygaitis, V. Getautis, J. V. Grazulevicius, *Chem Soc Rev* **2008**, *37*, 770.
- [203] X. Su, I. Aprahamian, *Chem Soc Rev* **2014**, *43*, 1963.
- [204] S. M. Landge, E. Tkatchouk, D. Benítez, D. A. Lanfranchi, M. Elhabiri, W. A. Goddard, I. Aprahamian, *J Am Chem Soc* **2011**, *133*, 9812.
- [205] X. Su, M. Lökov, A. Kütt, I. Leito, I. Aprahamian, *Chemical Communications* **2012**, *48*, 10490.
- [206] P. Vicini, M. Incerti, P. La Colla, R. Loddo, *Eur J Med Chem* **2009**, *44*, 1801.
- [207] H. Harry. Szmant, C. M. Harmuth, *J Am Chem Soc* **1964**, *86*, 2909.
- [208] X. Su, I. Aprahamian, *Org Lett* **2011**, *13*, 30.
- [209] M. Zalewski, D. Janasik, A. Wierzbicka, T. Krawczyk, *Inorg Chem* **2022**, *61*, 19524.

Dorobek naukowy

I. Artykuły naukowe opublikowane w czasopiśmie naukowym, które w roku opublikowania artykułu w ostatecznej formie było ujęte w ministerialnym wykazie czasopism naukowych i recenzowanych materiałów z konferencji międzynarodowych

1. **Janasik, D.**; Imielska, P.; Krawczyk, T. Tuning the pH of Activation of Fluorinated Hydrazone-Based Switches – A Pathway to Versatile ^{19}F Magnetic Resonance Imaging Contrast Agents. *ACS Sensors* 2023, 8, 2, 721–727. MEiN=140, IF₂₀₂₂=8,9;
2. **Janasik, D.**; Jasiński, K.; Węglarz, W. P.; Nemeč, I.; Jewula, P.; Krawczyk, T. Ratiometric pH-Responsive ^{19}F Magnetic Resonance Imaging Contrast Agents Based on Hydrazone Switches. *Anal. Chem.* 2022, 94 (8), 3427–3431. MEiN=140, IF₂₀₂₂=7,4;
3. Zalewski, M.; **Janasik, D.**; Wierzbicka, A.; Krawczyk, T. Design Principles of Responsive Relaxometric ^{19}F Contrast Agents: Evaluation from the Point of View of Relaxation Theory and Experimental Data. *Inorg. Chem.* 2022, 61 (48), 19524–19542. MEiN=140, IF₂₀₂₃=4,3;
4. **Janasik, D.**; Krawczyk, T. ^{19}F MRI Probes for Multimodal Imaging. *Chem. – A Eur. J.* 2021. MEiN=140, IF₂₀₂₂=4,3;
5. Zalewski, M.; **Janasik, D.**; Kapała, A.; Minoshima, M.; Sugihara, F.; Raj, W.; Pietrasik, J.; Kikuchi, K.; Krawczyk, T. pH-Sensitive Polymethacrylates as Potential Contrast Agents in ^{19}F MRI. *Macromol. Chem. Phys.* 2022, 2200027. MEiN=70, IF₂₀₂₃=2,5;
6. **Janasik, D.**; Szreder, J.; Jasiński, K.; Węglarz, W. P.; Krawczyk, T. Hydrazone molecular switches with paramagnetic center as ^{19}F magnetic resonance imaging relaxation enhancement agents for pH imaging. *ACS Sensors* 2023, 8, 5, 1971–1979. MEiN=140, IF₂₀₂₂=8,9;
7. Janasik, P.; Motyka, R.; Chulkin, P.; Czichy, M.; **Janasik, D.**; Vella, J.; Tollemache, C.; Travas-Sejdic, J.; Lapkowski, M. Electropolymerization and characterization of a new ambipolar perimidine polymer with a perylene core. *Electrochim. Acta* 2014, 487, 144115. MEiN=100, IF₂₀₂₃=5,5.

II. Rozdziały w monografiach naukowych, które w roku opublikowania w ostatecznej formie były ujęte w ministerialnym wykazie wydawnictw

1. **Janasik, D.** Multimodalne sondy do obrazowania rezonansem magnetycznym $^1\text{H}/^{19}\text{F}$. Balon Barbara (red.): *Interdyscyplinarne Badania Młodych Naukowców*, 2023, ISBN 978-83-7880-905-0, 178-190. MEiN=20 pkt;
2. **Janasik, D.** Fluorowy rezonans magnetyczny w połączeniu z optycznym obrazowaniem fluorescencyjnym. Bonek Mirosław, Barteczko Natalia, Balon Barbara (red.): *Interdyscyplinarne Badania Młodych Naukowców*. 2021, ISBN 978-83-65138-29-3, 56-70. MEiN=20 pkt.

III. Wystąpienia konferencyjne

1. **Janasik, D.** Hydrazone switches for T₁ and T₂ weighted ¹⁹F MRI, VIII International Interdisciplinary Conference of Doctoral Students of Technical Universities – InterTechDoc'2023, Ustroń, 19-20.04.2023;
2. **Janasik, D.** Ratiometric pH-Responsive ¹⁹F Magnetic Resonance Imaging Contrast Agents Based on Hydrazone Switches, OPEN READINGS 65th Scientific Conference for Students of Physics and Natural Sciences, Wilno, 15-18-0.3.2022;
3. **Janasik, D.** ¹⁹F NMR signal control using a hydrazone molecular switch, VI International Interdisciplinary Conference of Doctoral Students of Technical Universities – InterTechDoc'2021, Ustroń, 21-23.07.2021;
4. **Janasik, D.** Molecular Switches for ¹⁹F MRI, Symposium of Young Scientists at the Faculty of Physics, Warszawa, 30.08-3.09.2021;
5. **Janasik, D.;** Krawczyk, T.; Stando, G. Recovery of acetonitrile from solvents solutions used in liquid chromatography, Science Beyond Disciplines, 8th edition of the Conference for Young Scientists, Chorzów, 19.09.2019;
6. **Janasik, D.** Intelligent Contrast Agents for ¹⁹F MRI, 2nd Pomeranian Student Chemical Symposium, Gdańsk, 20-21.03.2021;
7. **Janasik, D.** Fluorinated Hydrazone Molecular Switches in pH-Sensitive Imaging, 8th Symposium of Chemistry Doctoral Students, Łódź, 24.09.2021;
8. **Janasik, D.;** Janasik, P.; Czichy, M.; Łapkowski, M. Electropolymerization and Characterization of a New Perinone n-type Polymer with a Perylene Core, International Conference on Science and Technology of Synthetic Electronic Materials, Drezno, 23-28.06.2024.

IV. Staże naukowe

1. Jewuła, P.; Neugebauer, P. Czechy, Brno University of Technology, Central European Institute of Technology, 29.02.2020-30.06.2020;
2. Jewuła, P.; Neugebauer, P. Czechy, Brno University of Technology, Central European Institute of Technology, 08.07.2019-30.09.2019;
3. Szymański, W. Holandia, University of Groningen, 30.10.2023-02.02.2024.

Kopie publikacji wraz z materiałami dodatkowymi