

**Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный
университет» и Институт органической и физической химии им А.Е.
Арбузова – обособленное структурное подразделение Федерального
государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный
исследовательский центр «Казанский научный центр Российской
Академии Наук»**

На правах рукописи

АХМАДЕЕВ БУЛАТ САЛАВатович

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

02.00.04 – ФИЗИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата химических наук

Научный руководитель:

доктор химических наук

Мустафина Асия Рафаэлевна

Казань – 2020

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР.....	12
1.1 Магнитно-релаксационные свойства Gd^{3+} и молекулярных комплексов..	12
1.2 Наноразмерный подход к созданию контрастных агентов.....	19
1.2.1 Контрастные агенты на основе органических макромолекул.....	20
1.2.2 Контрастные агенты на основе мицелл и везикул.....	22
1.2.3 Агрегация комплексов гадолиния как способ получения наноразмерных контрастных агентов с высокой релаксивностью.....	24
1.2.3.1 Наноразмерные контрастные агенты на основе Gd_2O_3	25
1.2.3.2 Наноразмерные контрастные агенты на основе полиоксометаллатов	30
1.2.4 Наноразмерные контрастные агенты на основе оксида графена.....	32
1.2.5 Силикатные наночастицы как контрастные агенты.....	33
1.4 Физико-химические свойства используемых лигандов.....	36
1.4.1 Гексарениевые кластеры.....	36
1.4.2 Сферические полиоксометаллаты (кеплераты).....	37
ГЛАВА 2 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ.....	39
2.1 Методы и приборы.....	39
2.2 Синтез и реагенты.....	41
ГЛАВА 3 ОБУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	43
3.1.1. Контрастные агенты на основе гексарениевых кластеров с цианидными апикальными группами $[R_6Q_8(CN)_6]^{4-}$, (Q=S, Se, Te).....	43
3.1.1.1 Синтез и описание коллоидных растворов на основе комплексов $Gd_x[Re_6Q_8(CN)_6]_y$	43
3.1.1.2. Функциональные свойства с коллоидов $Gd_x[Re_6Q_8(CN)_6]_y$	47
3.1.2. Контрастные агенты на основе кластеров с сульфитными апикальными группами $[R_6Q_8(SO_3)_6]^{10-}$, (Q=S, Se).....	52
3.2.1 Новые контрастные агенты с высокой релаксивностью и низкой цитотоксичностью.....	59

3.2.2. Изучение структурных факторов комплексообразования кеплератов с ионами Gd^{3+}	66
3.2.2.1 Комплексообразование кеплератов различной структуры с Gd^{3+}	66
3.2.2.2 Стабилизация комплексов Gd^{3+} с кеплератами в водных растворах ..	70
3.2.2.3 Оценка размеров кеплератов и их комплексов с Gd^{3+} в высушенном виде и растворе	72
3.2.2.4 Магнитная релаксация, стабильность в буферных растворах белкой и цитотоксичность синтезированных коллоидов.....	76
3.2.2.5 Поведение коллоидных растворов $Gd_x(Mo_{132}(OAc))_y$ и $Gd_x(Mo_{132}(HPO_4))_y$ в полях различной частоты	80
3.2.3 Контрастные агенты на основе гетерометаллических кеплератов	87
3.2.3.1 Влияние структурных эффектов на магнитную релаксацию комплексов гадолиния с гетерометаллическими кеплератами	87
3.2.3.2 Влияние структуры триблок сополимера на магнитную релаксивность и коллоидные свойства комплексов гадолиния с $W_{72}Mo_{60}$	92
3.2.3.3 Преимущества «молекулярных форм» о сравнении с наночастицами с точки зрения применимости для МРТ	98
ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ	101
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	103
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	104
ПРИЛОЖЕНИЕ	120

ВВЕДЕНИЕ

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

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

Стремительное развитие координационной химии гексаядерных кластеров и полиоксометаллатов позволяет рассматривать их как перспективные лиганды ионов гадолиния. Это определило выбор ряда

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

Научная новизна работы заключается в том, что:

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

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

- Найдено, что максимальная релаксивность достигается для комплексов с кеплератами Mo_{132} и $W_{72}Mo_{60}$ при координации ионов Gd^{3+} порами Mo_9O_9 и $W_3Mo_6O_9$. На основе сопоставительного анализа как магнитной релаксивности, так и химической окислительной деградации комплексов гадолиния с варьируемой стехиометрией от 1:1 до 10:1 с кеплератами различной структуры было установлено, что комплекс Gd^{3+} с $W_{72}Mo_{60}$ со стехиометрией 1:1 является оптимальным с точки зрения магнитной релаксивности и химической стабильности.

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

соотношением Gd:кеплерат, а также взаимодействием кеплератов с противоионами.

- На примере комплексообразования Gd^{3+} с анионными гексарениевыми кластерами показана зависимость магнитно-релаксационных характеристик Gd^{3+} -содержащих коллоидов не только от их размеров, но и от степени их кристалличности, которая, в свою очередь, определяется природой халькогенидов Q^{2-} кластерного ядра $\{Re_6Q_8\}^{2+}$.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Положения, выносимые на защиту

- Структурные особенности кеплератов, в частности структура внешних пор в качестве связывающих сайтов ионов гадолиния для

эффективной координации последних как необходимая предпосылка высоких значений продольной и поперечной магнитной релаксивности.

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

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

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

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

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

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

Апробация результатов. Основные результаты диссертационной работы были обсуждены на конференциях: 5^{ая} Конференция по неорганической химии, 5th EUCHEMS (Москва, 2019); Первый русско-китайский воркшоп по органической и супрамолекулярной химии (Казань,

2018); Вторая научная школа для молодых ученых «Дизайн магнетоактивных соединений» (Иркутск, 2017); Международный семинар по соединениям включениям ISIC-16 (Казань, 2017); «Супрамолекулярные стратегии в химии, биологии и медицине фундаментальные проблемы и перспективы» (Казань, 2019);

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

Объем и структура работы. Работа изложена на 119 страницах содержит 41 рисунок, 2 схемы и 5 таблиц, а также 129 библиографических ссылок. Объем приложения 6 страниц. Диссертационная работа состоит из введения, трех глав, основных результатов и выводов, списка сокращений и списка литературы. В первой главе представлен литературный обзор по магнитно-релаксационным свойствам гадолиния и его комплексов. Рассмотрены различные платформы для создания контрастных агентов, в частности наноразмерный подход. Вторая глава посвящена объектам исследования, методам получения наночастиц и методам исследования. Глава 3 посвящена обсуждению полученных результатов. В ней рассмотрены процессы комплексообразования и коллоидообразования гексаядерных кластеров и сферических полиоксометаллатов с ионами гадолиния. После 3 главы следуют основные результаты и выводы по проделанной работе, список сокращений, список литературы и приложение.

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

Работа выполнена совместно на кафедре физической химии Химического института им. А.М. Бутлерова Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет и в лаборатории физико-химии супрамолекулярных систем Института органической и физической химии им. А.Е. Арбузова – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук»

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

РАН); к.ф.-м.н. Исмаеву И.Э. за проведение экспериментов на медицинском МР томографе (КНИТУ-КАИ им. А. Н. Туполева); Лючии Калучи за проведение полевых зависимостей (институт химии металлоорганических соединений, Италия).

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

Диссертационная работа выполнена при финансовой поддержке Министерством науки и высшего образования Российской Федерации (постановление правительства Российской Федерации №220, грант №14.У26.31.0019) и Российского научного фонда (№ 17-13-01013).

Глава 1 Литературный обзор

1.1 Магнитно-релаксационные свойства Gd^{3+} и молекулярных комплексов

Магнитная резонансная томография – широко распространенный неинвазивный метод визуализации различных органов и тканей. В его основе лежит процесс возбуждения протонов 1H сочетанием электромагнитных волн в постоянном магнитном поле с последующим детектированием отклика. Разное содержание протонов 1H , химический состав, скорость диффузии, наличие парамагнитных соединений приводят к контрасту тканей и органов в томографических изображениях. Для улучшения диагностической картины используют контрастные вещества, основная роль которых заключается в ускорении релаксации протонов воды, и, как следствие, увеличении контраста между тканями и органами [1]. В настоящее время различают позитивные (T_1) и негативные (T_2) контрастные агенты.

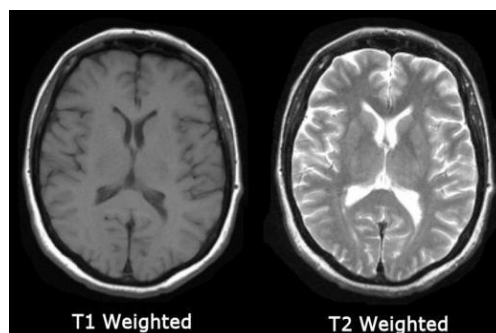


Рисунок 1. T_1 - и T_2 - изображения головного мозга, полученные с помощью МР томографа

Для создания контрастных агентов используют катионы переходных и редкоземельных металлов, которые имеют неспаренные электроны на d- и f-орбиталях соответственно [2]. Большое количество неспаренных электронов обуславливает высокий магнитный момент. Наиболее эффективными парамагнитными ионами являются Fe^{2+} и Mn^{2+} (5 неспаренных электронов на

d-орбитали, $S=5/2$) и Gd^{3+} (7 неспаренных электронов на f-орбитали, $S=7/2$). Применение аква комплексов данных металлов затруднено их высоким токсичным эффектом на живые организмы[3]. В частности, свободные ионы Gd^{3+} взаимодействуют с кальциевыми каналами и белками; Gd^{3+} аккумулируется в печени, селезенке, почках и костях, поэтому в контрастировании используют молекулярные комплексы. С точки зрения применения позитивные T_1 -контрастные вещества распространены в большей степени благодаря более высокому отношению сигнал/шум [4].

Большое распространение получили комплексы на основе Gd^{3+} благодаря наличию наиболее эффективного магнитного момента (7.9μ) и долгой электронной релаксацией (10^{-8} – 10^{-9} с) [5]. Гадолиний-содержащие контрастные агенты (ГСКА) являются наиболее успешным примером использования неорганических медицинских препаратов наряду с противораковыми соединениями на основе платины и радиофармацевтическими препаратами технеция-99, используемыми для визуализации сердца и костей. Важным аспектом использования ГСКА является диагностическая и прогностическая информацией, которую невозможно получить другими неинвазивными методами. Ярким примером является использование контрастных агентов для выявления нарушения гематоэнцефалического барьера. При нормальном функционировании организма ГСКА не могут преодолевать гематоэнцефалический барьер, однако при таких патологиях, как рассеянный склероз, первичный, метастатический рак или инсульт, контрастные вещества проникают, тем самым вызывая усиление контраста мозга. Кроме того, была обнаружена повышенная проницаемость ГСКА в клетки раковых опухолей, в частности, при выявлении рака молочной железы.

Несомненным достоинством использования ГСКА является быстродействующий эффект контрастирования. В отличие от использования радиофармпрепаратов, где перед визуализацией проходит некоторое время, в случае МРТ диагностирования ГСКА вводится в пациента уже в сканере, а

диагностическое изображение появляется в течение нескольких минут. Этот практический аспект обеспечивает большую пропускную способность пациентов и облегчает рабочий процесс на практике. В отличие от радиофармпрепаратов, используемых в ядерной медицине, ГСКА являются стабильными и не нуждаются в синтезе по требованию.

Присутствие в системе парамагнитного компонента приводит к значительному увеличению скоростей ядерной релаксации, что связано с его флуктуирующим магнитным полем, сила которого влияет на способность ускорять процессы релаксации. В основе процесса ускорения продольной r_1 (спин-спиновой) и поперечной r_2 (спин-решеточной) релаксации лежит взаимодействие протонов ^1H с локальным магнитным полем катиона металла, при котором происходит отвод энергии от системы ядерных спинов к ее окружению (спин-решеточная релаксация) или перераспределение энергии между ядерными спинами (спин-спиновая релаксация). Основными механизмами данных процессов является диполь-дипольное, скалярное, электрон-ядерное и квадрупольное взаимодействия.

При наличии парамагнитных катионов или комплексов скорость релаксации складывается из двух величин:

$$\left(\frac{1}{T_1}\right)_{obs} = \left(\frac{1}{T_i}\right)_d + \left(\frac{1}{T_i}\right)_p \quad (1.1)$$

$(1/T_{1(2)})_{obs}$ – наблюдаемая для системы скорость релаксация; $(1/T_{1(2)})_d$ – диамагнитный вклад (скорость релаксации в отсутствие парамагнитного катиона); $(1/T_{1(2)})_p$ - парамагнитный вклад (скорость релаксации в присутствии парамагнитного катиона).

При отсутствии концентрационных эффектов (агрегация, седиментация и т.п.) и постоянной температуре зависимость скорость релаксации (1.1) от концентрации парамагнетика линейна. Тангенс угла наклона данной зависимости (изменение скорости релаксации на единицу концентрации) является индивидуальной характеристикой парамагнитного комплекса, обозначается как релаксивность (размерность $\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$). В русскоязычной

литературе известно под названием «коэффициент релаксационной эффективности». Далее в работе для удобства будет использован термин «релаксивность», поскольку в настоящее время большое количество работ по контрастным агентам издается на английском языке. Свободный постоянный член является индивидуальной характеристикой раствора.

$$\left(\frac{1}{T_1}\right)_{obs} = \left(\frac{1}{T_i}\right)_d + R_i C_M \quad (1.2)$$

Где r_1 и r_2 – значения продольной и поперечной релаксивностей, $R_{1(2)}$ – релаксивность при определенной концентрации, C – концентрация парамагнетика.

Релаксивность включает в себя такие параметры как: внутрисферная релаксация и внешнесферная релаксация. Некоторые авторы отдельно выделяют релаксацию во второй координационной сфере. Таким образом, общая релаксивность может быть представлена уравнением:

$$\left(\frac{1}{T_1}\right)_p = \left(\frac{1}{T_1}\right)_{is} + \left(\frac{1}{T_1}\right)_{os} \quad (1.3)$$

Внутрисферная релаксация $(r_i)_{is}$ определяется скоростью обмена молекулами воды между первой координационной сферой парамагнетика и толщей раствора. Вклад описывается уравнением:

$$(r_i)_{is} = \frac{f_m q}{(T_{im} + \tau_m)} = \frac{P_m}{(T_{im} + \tau_m)}, \quad (1.4)$$

где f_m – мольная доля парамагнетика, q – количество молекул H_2O , приходящихся на один парамагнитный ион, T_{im} – время релаксации протонов воды первой координированной сферы, τ_m – время жизни молекул воды первой координационной сферы парамагнетика, P_m – мольная доля релаксирующих ядер в молекулах координационной воды.

Необходимые значения величин времен релаксации протонов $1/T_{1m}$ и $1/T_{2m}$ определяются уравнением Соломона-Бломбергена:

$$\frac{1}{T_{1m}} = \frac{2}{15} \frac{\gamma_I^2 g^2 S(S+1) \beta^2}{r^6} \left[\frac{7\tau_c}{(1 + \omega_S^2 \tau_c^2)} + \frac{3\tau_c}{(1 + \omega_I^2 \tau_c^2)} \right] + \frac{2}{3} S(S+1) \left(\frac{A}{\hbar} \right)^2 \left[\frac{\tau_e}{(1 + \omega_S^2 \tau_c^2)} \right] \quad (1.5)$$

$$\frac{1}{T_{2m}} = \frac{1}{15} \frac{\gamma_I^2 g^2 S(S+1) \beta^2}{r^6} \left[\frac{13\tau_c}{(1+\omega_S^2 \tau_c^2)} + \frac{7\tau_c}{(1+\omega_I^2 \tau_c^2)} \right] + \frac{1}{3} S(S+1) \left(\frac{A}{\hbar} \right)^2 \left[\tau_e + \frac{\tau_e}{(1+\omega_S^2 \tau_c^2)} \right] \quad (1.6)$$

где γ_I – гиромагнитное отношение протона, g – электронный фактор, S – электронный спин иона, β – магнетон Бора, r – расстояние от иона металла до протона, ω_S и ω_I – ларморовы частоты прецессии электрона и протона, A/\hbar – константа электронно-ядерного сверхтонкого взаимодействия, τ_c и τ_e – корреляционные времена диполь-дипольного и скалярного механизмов релаксации. Корреляционные времена, в свою очередь, определяются по уравнениям 1.5 и 1.6:

$$\tau_c^{-1} = \tau_s^{-1} + \tau_m^{-1} + \tau_r^{-1} \quad (1.7)$$

$$\tau_e^{-1} = \tau_s^{-1} + \tau_m^{-1} \quad (1.8)$$

где τ_s – время релаксации электронного спина, τ_m – время жизни молекулы воды в первой координационной сфере парамагнитного иона (время обмена воды), τ_r – время вращательного движения частицы, содержащей парамагнитные ионы с координированными молекулами воды (время переориентации).

Однако теория Соломона-Бломбергена не смогла в полной мере описать зависимости спин-спиновой (продольной) и спин-решеточной (поперечной) релаксивностей от напряженности магнитного поля, поэтому теория была развита совместно с Морганом. Электронная релаксация рассматривалась как результат модуляции расщепления в нулевом поле:

$$\frac{1}{T_{1e}} = B \left[\frac{\tau_v}{1+\omega_S^2 \tau_v^2} + \frac{4\tau_v}{1+4\omega_S^2 \tau_v^2} \right] \quad (1.6)$$

В свою очередь, внешнесферная релаксация зависит от расстояния наибольшего сближения протонов воды и парамагнетика, коэффициентов их взаимной диффузии и электронной спиновой релаксации [6].

В простейшем случае без учета электростатических взаимодействий общая протонная релаксация описывается уравнением [7,8]:

$$\left(\frac{1}{T_1}\right)_p = \left(\frac{1}{T_1}\right)_{is} + \left(\frac{1}{T_1}\right)_{2nd} + \left(\frac{1}{T_1}\right)_{os} \quad (1.7)$$

$(1/T_{1(2)})_p$ -общая протонная релаксация; $(1/T_{1(2)})_{is}$ - внутрисферная релаксивность, $(1/T_{1(2)})_{os}$ - внешнесферная релаксация; $(1/T_{1(2)})_{2nd}$ – релаксация во второй координационной сфере.

Теория Соломона-Бломбергена-Моргана достаточно точно описывает поведение молекулярных комплексов парамагнетиков. В соответствии с уравнениями 1.4-1.8 на релаксивность влияют такие величины как скорость обмена воды, количество молекул воды в координационной сфере, скорость вращения комплекса, и расстояние между ионом металла и протоном. Таким образом, для получения высокорелаксивных комплексов необходима оптимизация таких параметров, как корреляционное время вращательного движения, скоростей водного обмена и электронной релаксации.

Поскольку использование акваионов гадолиния невозможно в виду их высокой токсичности, для создания контрастных агентов используют полидентантные лиганды, которые обеспечивают термодинамически и кинетически стабильные комплексы[9].

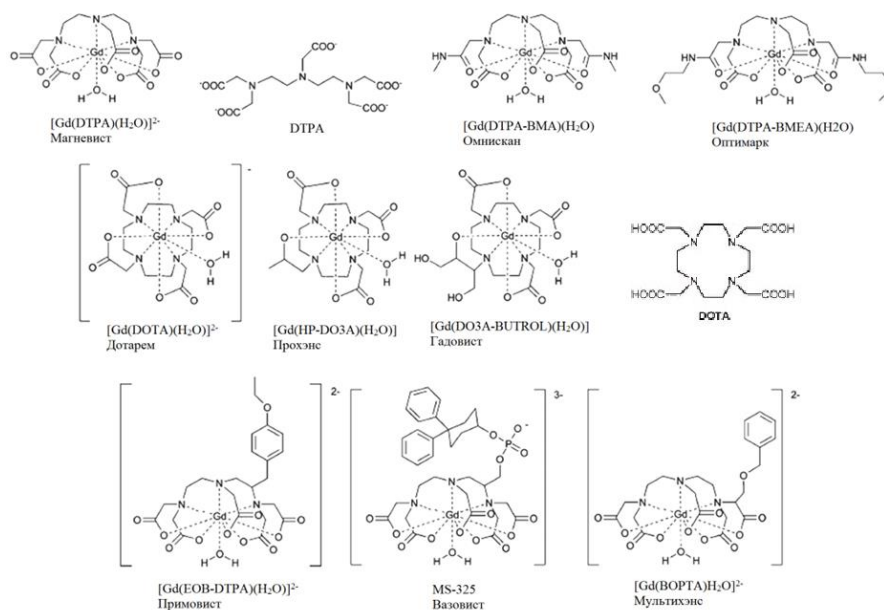


Рисунок 2. Коммерческие контрастные агенты, используемые в МР-томографии [10]

В настоящее время в МР томографии активно используются 9 контрастных агентов: Магневист, Омнискан, Оптимарк, Дотарем, Гадовист, МультиХэнс, Прохэнс, Эовист и Аблавар[10]. Магневист, Дотарем, Омнискан, Проханс, Гадовист и Оптимарк используются как неспецифические внеклеточные агенты. Примовист и Мультихэнс аккумулируются в печени, поэтому часто используются для ее визуализации. Вазовист можно использовать в ангиографии, поскольку он может взаимодействовать с сывороткой крови человека[11].

Таблица 1. Значения параметров релаксивности (r_1), константы обмена (k_{ex}), корреляционного времени вращения (τ_r), гидратного числа (q) и применяемой концентрации для коммерческих контрастных агентов [9]

	формула	год	r_1	k_{ex}	τ_R	q	C
Gd		-	14	804	41	8	-
Магневист	[Gd(DTPA)]	1988	4.3	3.30	58	1	0.1
Омнискан	[Gd(DTPA-BMA)]	1993	4.6	0.45	66	1	0.1
Прохэнс	[Gd(HP-DO3A)]	1992	4.4	-	-	1	0.1
ОптиМарк	[Gd(DTPA-BMEA)]	1999	5.2	-	88	1	0.1
Гадовист	[Gd(DO3A-BT)]	1998	5.3	-	-	1	0.1
Мультиханс	[Gd(BOPTA)]	2004	6.7	3.45	88	1	0.1
Примовист	[Gd(EOB-DTPA)]	2008	8.2	3.60	178	1	0.025

Использование полидентантных лигандов, таких как DOTA, DTPA и их производных, для создания контрастных агентов обусловлено необходимостью жесткой координации Gd^{3+} для минимизации токсического и цитотоксического эффекта. Однако это привело к тому, что в координационной сфере Gd есть только одна молекула воды. Кроме того, по сравнению с акваионом Gd уменьшились значения скоростей обмена молекул воды и времени вращения комплекса. В конечном итоге значения релаксивностей для данных комплексов не превышают $5 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$. Поэтому

были предприняты попытки по увеличению релаксивности различными методами.

Использование в качестве лиганда производных ДТРА, таких EOD-ДТРА и ДТРА-ДСНР и ВОРТА привело к уменьшению скоростей вращения комплекса. При этом остальные параметры остались практически на прежнем уровне. Именно поэтому удалось увеличить релаксивность до $6.7-33.4 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$. Увеличение релаксивности позволило понизить концентрацию контрастного вещества в 3-4 раза (таблица 1), что минимизирует цитотоксический эффект.

Таким образом, вследствие быстрой скорости вращения и малой степени гидратации, молекулярные коммерческие контрастные агенты обладают низкой релаксивностью. Используемые, как следствие, высокие концентрации ГСКА, обуславливают токсический эффект, который остается обсуждаемой проблемой в настоящее время [12]. Одним из способов понижения токсичности является уменьшение концентрации Gd^{3+} благодаря высокой релаксивности Gd^{3+} -содержащих контрастных агентов. Для создания таких эффективных контрастных агентов необходим компромисс между жестким связыванием ионов гадолиния, увеличением степени гидратации и уменьшением скорости вращения комплекса. Оптимальным подходом к решению поставленных проблем является переход от молекулярных комплексов Gd^{3+} к различным агрегатам на их основе или так называемый «наноразмерный подход».

1.2 Наноразмерный подход к созданию контрастных агентов

Несмотря на огромное количество фундаментальных и прикладных работ, посвященных наноразмерным контрастным агентам, общепринятая теория для описания магнитных свойств наночастиц отсутствует. Однако, с учетом теории Соломона-Бломбергена-Моргана, успешно применяемой для молекулярных комплексов, выделяют несколько факторов, способствующих

увеличению релаксивности наночастиц: увеличение количества молекул воды во внутренней сфере ионов Gd^{3+} , быстрый обмен внутрисферной воды с массой раствора и замедление вращения комплекса.

1.2.1 Контрастные агенты на основе органических макромолекул

Как было показано, в предыдущей главе, комплексы гадолиния с маленькими молекулярными хелатирующими лигандами, такими как DOTA и DTPA (рисунок 2) обладают низкой релаксивностью и практически отсутствующей специфичностью по отношению к различным органам. Поэтому во второй половине 20 века были предприняты попытки создания контрастных агентов на основе макромолекул, мицелл, других органических высокомолекулярных соединений [13].

Одним из наиболее изученных и перспективных направлений является конъюгация уже существующих комплексов гадолиния с различными биосовместимыми макромолекулами. Как правило, для этого использовали хелаты DTPA и DOTA, модифицированные дополнительными функциональными группами, используемыми для конъюгации с макромолекулами. Присоединение хелатов $Gd(III)$ к макромолекулам приводило к замедлению вращения гадолиниевых центров и, соответственно, к увеличению релаксивности.

Успешными носителями, применяемыми для конъюгации с комплексами гадолиния, являются различные белки. Связывание с ними приводит к двум противодействующим эффектам: увеличение релаксивности за счет увеличения корреляционного времени вращения и уменьшение релаксивности за счет замедления скорости обмена координированных молекул воды. В результате значения релаксивности часто ниже ожидаемых [14]. Оган и др. синтезировали контрастный агент на основе альбумина, который ковалентно конъюгировали с комплексами Gd -DTPA. Размер полученных агрегатов Albumin-(Gd -DTPA)₉ составил 6 нм. Значения

релаксивности оказались более чем в 20 раз эффективнее Gd-DTPA и составили $101 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$. При этом, увеличение количества связанных Gd-DTPA, приходящихся на макромолекулу белка, приводило к повышению релаксивности. Полученный контрастный агент оказался эффективным для обследования опухоли груди, саркомы и простаты [15].

Помимо биологических объектов, были попытки синтезировать контрастные агенты на основе синтетических биосовместимых полимеров, таких как полиэтиленгликоль [16], полилизин [17] посредством ковалентной модификации полимеров с комплексами Gd^{3+} . Для конъюгации комплексов Gd-DTPA и Gd-DOTA применяли и полиэтиленгликоли (ПЭГ). В работе Т. Дессера [18] использовали линейные полимеры Gd-DTPA-PEG различной молекулярной массы. Было обнаружено, что агрегаты разной массы (кД 10.8-83.4) обладают практически одинаковой релаксивностью $6 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$. М. Спаногге [19] и др. использовали полилизин различной молекулярной массы в качестве носителя для комплексов Gd-DTPA. Стоит отметить, что результаты так же выявили отсутствие корреляции между релаксивностью и молекулярной массой. Авторы работы [20] также считают, что длина молекулярных цепей полимерных носителей не влияет на релаксивность, хотя значения релаксивностей для полученных агрегатов оказались в 2.5 раза выше, чем для комплекса Gd-DTPA, и составили $11.7 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$.

Линейный полисахарид, декстран, также был использован для создания контрастных агентов [21]. Для модификации были использованы Gd-DTPA и Gd-DOTA. К преимуществам создания КА на основе декстранов можно отнести дешевизну, хорошую биосовместимость и простотой синтез. Релаксивность r_1 декстрана, конъюгированного с хелатами Gd, составила $10.5 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ (0.25 Тл и $37 \text{ }^\circ\text{C}$), что более чем в два раза выше, чем у Gd-DTPA. Было обнаружено, что релаксирующая способность декстрана, конъюгированного с комплексами Gd-DTPA, не изменяется с молекулярной массой.

Поверхностная модификация дендримеров обеспечивает возможность применения в биомедицине. В настоящее время известно большое количество контрастных агентов на основе поли(пропиленимин)а (PPI), поли(амидоамин)а (PAMAM) и поли(лизин)а PLL. Наиболее изученным являются контрастные агенты на основе PAMAM, конъюгированных дендримеров [22]. Значения релаксивности для таких КА превышают коммерческие контрастные агенты и находятся в интервале $15-40 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$.

Синтезированный Лангерейсом Gd-DTPA-PPI [23] обладал релаксивностью $r_1=19.7 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$. Полученные агрегаты эффективны при проведении МРТ печени, почек и опухолей [24]. Было обнаружено, что мицеллы PAMAM-(Gd-DTPA) с диаметром $d=5 \text{ nm}$ преимущественно проникают в опухолевую ткань, нежели в здоровую, при этом скорость проникновения существенно понижается с увеличением размера [22].

1.2.2 Контрастные агенты на основе мицелл и везикул

Другим методом создания контрастных агентов является перевод комплексов Gd^{3+} в мицелярную и везикулярную форму [25]. При этом необходимо связывание ионов гадолиния (комплексов гадолиния) на поверхности мицелл/везикул. Внедрение комплексов в оболочку или во внутреннюю полость, как правило, приводит к уменьшению скорости обмена координационной воды, тем самым уменьшая релаксивность [26]

А. Пагото и др. получили мицеллы смешанного состава в качестве контрастных агентов. Комплексы Gd-DOTA были модифицированы пришивкой алкильного хвоста $\text{C}_{18}\text{H}_{37}$, который позволял им встраиваться в мицеллы на основе производных фосфолипидов за счет гидрофобного взаимодействия. Таким образом, были получены агрегаты с диаметром 20 нм ($\text{PDI}=0.2$) и продольной релаксивностью $39 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$. Расчеты корреляционных времен показали, что причиной высокой релаксивности служит существенное увеличение времени вращения комплекса [27].

Магнитоактивные амфифильные пептиды представлены в работе С. Булла [28]. Комплексы Gd-DOTA были конъюгированы с пептидами KK-LL-CCCC-K-C₁₆(1) и KGRGDS-K-LLL-AAA-K-C₁₆(2), что привело к образованию наночастиц длиной более 200 нм. Полученные агрегаты обладали релаксивностью 14.7-22.8 мМ⁻¹с⁻¹, что, по мнению авторов, также связано с замедлением вращения комплекса. Разницу в релаксивностях авторы объясняют различной гибкостью пептидов (2) и (1).

По аналогии, А. Гош и сотрудники [29] получили агрегаты на основе других пептидов, которые в зависимости от концентрации и pH раствора образуют мицеллы или наночастицы, декорированные комплексами Gd-DO3A. Оптимальные агрегаты PA5, представляющие собой наночастицы при pH=4 (l > 100 нм) и мицеллы (d=15 нм) при pH=10, обладали релаксивностью 8.3 мМ⁻¹с⁻¹ и 6.6 мМ⁻¹с⁻¹ соответственно. Увеличение релаксивности при переходе от сферических мицелл к нановолокнам, вероятно, происходит из-за более медленного вращения, соответствующего объектам с большей молекулярной массой (нановолокнам).

С. Лорент и др. [30] модифицировали комплексы Gd-DTPA насыщенными алкильными заместителями различной длины (C₁₂-C₁₈). Полученные комплексы встраивали в фосфолипидные везикулы. Неоднозначное увеличение релаксивности в ряду C₁₂<C₁₄<C₁₆ связано с разным соотношением комплексов Gd-DTPA-R внутри бислоя и на поверхности везикул. Увеличение гидрофобного фрагмента до C₁₆, что соответствует длине фосфолипида, приводит к накоплению комплексов, расположившихся внутри полости. Таким образом, «общее время обмена молекул воды во внутренней сфере» уменьшается, что приводит к понижению релаксивности в ряду C₁₂<C₁₄<C₁₆, несмотря на увеличение времени вращения комплекса. Увеличение релаксивности для Gd-DTPA-C₁₈ связано с увеличением доли ионов Gd на поверхности везикул.

Таким образом, при создании контрастных агентов на основе органических макромолекул авторы часто сталкиваются с

противодействующими эффектами. Связывание комплексов Gd^{3+} с макромолекулами с одной стороны приводит к увеличению релаксивности за счет замедления скорости вращения, с другой частично экранирует комплексы Gd внутри агрегатов, что понижает скорость обмена молекул воды во внутренней сфере и, соответственно, релаксивность. Подводя итог приведенным данным, следует отметить, что для создания оптимальных контрастных агентов необходим баланс между данными эффектами.

1.2.3 Агрегация комплексов гадолиния как способ получения наноразмерных контрастных агентов с высокой релаксивностью

В последние десятилетия наноматериалы, содержащие ионы Gd^{3+} , были широко изучены. В их основе лежит общий принцип образования наноконплексов с замедленным вращением парамагнитных центров и сохранением оптимального количества координационной воды и скорости обмена [31]. К наиболее перспективным можно отнести: (1) образование наночастиц на основе соединений (комплексов, солей, оксидов и пр.) парамагнетика (рис 3. а, б, в) и (2) функционализация наночастиц катионами или комплексами парамагнетиков (рис. 2 в, г и д). Для улучшения агрегационной устойчивости и бисовместимости прибегают к гидрофилизации частиц [32].

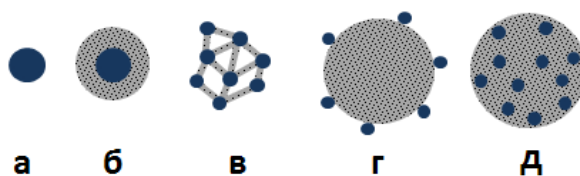


Схема 1. Типы морфологий наночастиц, используемых для получения наноразмерных контрастных агентов: а, б, в – наночастиц на основе соединения парамагнетика; поверхностная функционализация (г) и допирование (д) наночастиц соединениями парамагнетиков.

Первый подход в значительной степени основан на синтезе наночастиц, состоящих из стехиометрических и нестехиометрических соединений гадолиния, таких как Gd_2O_3 [33], $Na(K)GdF_4$ [34] и др. Кроме того, сюда можно отнести образование наночастиц посредством образования металлоорганических структур [35].

Второй подход основан на использовании наноразмерного носителя для парамагнитных комплексов и ионов, при котором происходит замедление скорости вращения парамагнетика при связывании с «жестким» носителем, в отличие от «мягких» носителей в виде полимеров и мицелл. Различают два основных подхода: допирование соединений Gd^{3+} внутрь наночастиц или связывание парамагнетиков на поверхности наночастиц. В качестве носителей используют силикатные наночастицы (SNP) [36], золотые наночастицы (AuNP) [37], квантовые точки [38] и другие.

1.2.3.1 Наноразмерные контрастные агенты на основе Gd_2O_3

Наиболее часто коммерческим контрастным агентам (молекулярным хелатным комплексам Gd) противопоставляются наночастицы на основе оксида гадолиния [39]. В литературе известны различные методики получения данных наночастиц: полиольный метод [40], гидротермальный метод [41], золь-гель метод [42], импульсная лазерная абляция [43], метод с использованием матрицы [44], механохимические методы [45]. Метод получения, используемые прекурсоры и гидрофилизаторы влияют на морфологию частиц, их размер и магнитно-релаксационные свойства (таблица 1). Одним и тем же методом могут быть получены наночастицы разной морфологии и размера. В зависимости от подхода к синтезу наночастиц Gd_2O_3 можно получить одномерные, двумерные и трехмерные наноструктуры: пленки, волокна, трубки, стержни, пластины, полые наночастицы и др. Морфология полученных частиц определяет не только

физические и химические свойства, но также их оптические, каталитические, электронные и магнитные свойства[46].

Метод получения	морфология	Размер	r_1	ссылка
Гидролиз и конденсация	Сферические	4-5	6.9	52
Импульсная лазерная абляция		3.8	9.76	49
гидротермальный			5.1	50
Полиоольный		19.8	36.2	60
матричный	Полые наносферы	200	2.78	53
Электроспиннинг	наностержни	80 нм	-	54

Таблица 2. Сравнение параметров наночастиц Gd_2O_3 при использовании различных методов получения.

Наиболее эффективный способ увеличить количество парамагнитных центров в единице объема – использование нанокристаллов и ультрамалых нанокристаллов Gd_2O_3 , поскольку они обладают наибольшим соотношением поверхности к объему, таким образом, обеспечивая эффективное взаимодействие Gd^{3+} с молекулами воды. Поэтому частицы другой морфологии (нанофибрилы, наносферы и др) реже используются для создания контрастных агентов.

Как правило, наночастицы Gd_2O_3 получают полиоольным методом. Однако в таком случае частицы содержат примеси диэтиленгликоля, что препятствует их использованию в качестве ГСКА, поскольку диэтиленгликоль токсичен [47]. В связи с этим в последнее время разрабатываются другие методы [48], обеспечивающие больший выход и меньшую токсичность.

Наночастицы Gd_2O_3 ($d=3.8-50$ нм) были успешно синтезированы с помощью лазерной абляции. Поверхность металла, погруженного в водный раствор диэтиленгликоля, подвергалась воздействию лазерного пучка света

с изменяемой частотой. Вязкость диэтиленгликоля выступила в качестве фактора, препятствующего росту наночастиц при облучении. Наибольшее значение релаксивности $9.76 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ были получены для частиц с $d=3.8 \text{ нм}$. По мнению авторов, это связано с оптимальным значением соотношения площади к объему [49]. Кроме того больший размер наночастиц по сравнению с молекулярными комплексами привел к замедленному вращению.

Джа Йанг Парк и др использовали различные прекурсоры для получения нанокристаллов Gd_2O_3 гидротермальным методом [50]. Для данных частиц была обнаружена тенденция к более высоким релаксивностям при уменьшении размера частиц от 30 нм до 1-2,5 нм [50]. Таким образом, были получены наночастицы с релаксивность $r_1=9.9 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$. Аналогичные результаты были получены в работе Сакаи [51]. Расчеты показали, что увеличение размера наночастиц с 18 до 66 нм приводит к понижению эффективного магнитного момента. Как следствие, наибольшее значения релаксивностей было обнаружено при наименьшем размере в 18 нм.

Мария Арен и др. получили наночастицы оксида гадолиния методом используемым для получения квантовых точек [52]. Полученные частицы сферической морфологии обладали размером 4-5 нм, что является благоприятным для создания контрастных агентов. В отличии от предыдущей работы [51] значение релаксивности составило $6.9 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$. По всей видимости, это связано с ограниченной доступностью молекул воды к ионам Gd^{3+} внутри наночастиц, что затрудняет обмен молекул воды внутренней сферы ионов гадолиния с молекулами в массе раствора.

Наименьшее значение релаксивности $2.78 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ было получено для полых сфер Gd_2O_3 . Для их получения использовали углеродные точки в качестве матрицы с последующим вымыванием [53]. Полученные частицы обладали огромным размером $d=200-250 \text{ нм}$, в результате которого часть ионов гадолиния, по-видимому, была скрыта от молекул воды.

Одним из методов, применяемых для получения нановолокон оксида гадолиния является электроспиннинг. Тонкие волокна получают из жидкости, которая непрерывно растягивается в электрическом поле. При этом морфология и диаметр волокон зависят от типа материала, условий эксплуатации, влажности и температуры [54]. Другим методом получения наностержней оксида гадолиния является олеатный, при котором изначально происходит образование нанокристаллов Gd_2O_3 . При дальнейшей термической обработке происходит сшивание частиц в нановолокна. Сравнение времен релаксации полученных волокон с гадовистом выявило более эффективный контрастный эффект.

Пайк и др. использовали метод термического разложения для получения нанопластин из оксида гадолиния в присутствии ионов лития. Использование ионов натрия приводило к образованию ультратонких нанодисков [55]. Для полученных систем значения релаксивности составили $r_1=1.41 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ и $r_2=140 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ (9.4 Т). Причиной такой разницы является уменьшение спектральной плотности частиц при высоких магнитных полях, что приводит к менее эффективной диполь-дипольной релаксации и, соответственно, уменьшению r_1 . В свою очередь, поперечная релаксивность (r_2), в полях высокого напряжения увеличивается из-за усиления локальных магнитных полей нанопластин Gd_2O_3 в результате их намагниченности в сильных полях. Поэтому данные частицы рассматривали в качестве T_2 -агентов,

Аналогичным методом были получены сверхтонкие наностержни Gd_2O_3 , допированные Tb, Yb, Er. Наличие магнитных и люминесцентных свойств синтезированных наностержней ($d=25 \text{ nm}$, $l=188 \text{ nm}$) открывают возможность их дальнейшего использования в качестве бимодальных оптических и магнитно-релаксационных визуализаторов. [56]

Поэтому для увеличения биосовместимости и предотвращения агрегационных процессов прибегают к гидрофилизации наночастиц различными методами [57]. В некоторых случаях использование

гидрофилизатора приводит к увеличению релаксивности за счет предотвращения процессов агрегации. Поверхностное покрытие позволяет пришивать различные функциональные группы. В качестве гидрофилизатора могут быть использованы полимеры (природного и синтетического происхождения), поверхностно активные вещества (ПАВ) и др. Полимерные покрытия включают полиэтиленгликоль (PEG), поли(молочно-гликолевую) кислоту (PLGA), дендримеры, декстран, триблок сополимеры и др. В некоторых случаях в качестве покрытия используют золото и кремний [58].

Использование полимера PMVEMA для покрытия ультрамалых наночастиц привело к увеличению коллоидной стабильности и биосовместимости [60]. Частицы показали очень высокие значения продольной спиновой релаксивности протонов воды, равное $36.2 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$, что практически в 8 раз превышает коммерческие контрастные агенты.

Полиэтиленгликоль (PEG) широко используется для покрытия наночастиц благодаря таким свойствам, как гидрофильность и низкая токсичность. PEG предотвращает опсонизацию, что увеличивает циркуляцию наночастиц в крови живых организмов вследствие уменьшения их поглощения фагоцитами [61]. Ультрамалые наночастицы оксида гадолиния, покрытые PEG, со средним диаметром частиц от 1 до 3 нм обладают высокой релаксивностью r_1 по сравнению с коммерческими комплексами гадолиния.

Декстран представляет собой биополимер, синтезируемый некоторыми бактериями. Наночастицы Gd_2O_3 , покрытые декстраном, можно использовать для селективного накопления в печени и почках [62] и мультимодальной визуализации. Декстран может увеличить растворимость, предотвращает агрегацию частиц и улучшает релаксивность [63]

Мерико и другие показали увеличение биосовместимости и релаксивности ($54 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$) при использовании дендримеров качестве гидрофилизатора.

1.2.3.2 Наноразмерные контрастные агенты на основе полиоксометаллатов

В последние десятилетия координационная химия многоядерных комплексов 4d- и 5d- металлов, в частности полиоксометаллатов, привлекает все большее внимание, благодаря возможности их применения в качестве биосенсоров и контрастных веществ. Уникальная структура и высокий отрицательный заряд полиоксометаллатов делают их оптимальными лигандами для комплексообразования с ионами лантанидов.

Полиоксометаллаты (ПОМ) это структуры на основе оксидов металлов, которые обладают функциональными возможностями в различных областях науки и техники, таких как катализ, электроника и с магнетизм. Интерес к использованию ПОМ для создания контрастных агентов, связан с тем, что: 80% ПОМ обладают противовирусной и анти-ВИЧ активностью [64]; ПОМ обладают селективностью по отношению к клеткам печени и почек [65]; ПОМ являются мультидентантными жесткими основаниями Пирсона, которые могут образовывать стабильные магнитно-активные комплексы с Gd^{3+} . Как правило, для создания контрастных агентов используют $[GdW_{10}O_{36}]^{9-}$, $[Gd(PW_{11}O_{39})_2]^{11-}$, $[Gd(BW_{11}O_{39})_2]^{15-}$ $Gd(CuW_{11}O_{39})_2]^{17-}$ и др [66-68].

Чжунфэн Ли и др. получили контрастные агенты $[Gd(BW_{11})_2]$ и $Gd(CuW_{11})_2$ с релаксивностью $17.2 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ и $19.9 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ [69]. Как считают авторы, это связано с замедлением скорости вращения комплекса вследствие высокой молекулярной массы лиганда и более короткого расстояния между внутрисферной молекулой воды и Gd^{3+} , в свою очередь, обусловленным большим отрицательным зарядом ПОМ. К такому же выводу пришли Чжунфэн Фенг и др. [70], которые синтезировали комплексы $Gd_2P_2W_{18}O_{62}$ и $K_{15}[(GdO)_3(PW_9O_{34})_2]$, значения релаксивностей для которых составили $28.4 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ и $11.2 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ соответственно. Однако, в отличие от предыдущей работы, комплексы $Gd_2P_2W_{18}O_{62}$ выпадают в осадок в присутствии белка

сыворотки крови, что препятствует их дальнейшему применению. Для контрастного агента $K_{15}[(GdO)_3(PW_9O_{34})_2]$ была обнаружена специфичность по отношению к клеткам печени.

Зачастую при создания контрастных агентов на основе ПОМ прибегают к гидрофиллизации комплекса различными поверхностно активными веществами [71], триблок сополимерами [72] и др. Симин Джанг и др [73] синтезировали парамагнитный комплекс $K_{13}[Gd(SiW_{11}O_{39})_2]$, в котором ион Gd^{3+} координирован между двумя кластерными единицами $[SiW_{11}O_{39}]^{8-}$, образуя сэндвич-подобную структуру. Полученные комплексы покрыли двумя типами катионных дендримеров. При этом, релаксивность $K_{13}[Gd(SiW_{11}O_{39})_2]$ зависела от природы катионного дендимера, точнее от размера смешанных агрегатов, образующихся в результате включения сэндвич-структур в мицелярную оболочку. В частности, увеличение релаксивности с 16 до 20 $mM^{-1}s^{-1}$ связано с замедлением вращения комплекса ввиду увеличения размера смешанных мицеллярных агрегатов от 215 до 250 нм [74]. Стоит отметить, что в данном случае используемые дендримеры не нарушали обмен координационной воды Gd^{3+} с молекулами воды в растворе.

К аналогичным результатам пришли Вэньцян Чай и др. [75]. Полимер ПГСМ использовали для покрытия комплексов $[GdW_{10}O_{36}]^{9-}$. Сравнение T_1 -контрастных изображений водных растворов комплекса $[GdW_{10}O_{36}]^{9-}$ и его мицелл также выявили увеличение релаксивности, связанное с увеличением размера частиц и, как следствие, замедление вращения комплекса. Гидрофильные цепи полимера могут позволить внешним молекулам воды свободно проникать во внутреннюю часть мицелл, тем самым увеличивая релаксивность от 4.6 $mM^{-1}s^{-1}$ до 13.7 $mM^{-1}s^{-1}$.

Однако, использование различных гидрофиллизаторов не всегда приводит к позитивным результатам. Инлинь Ван и др [76] использовали катионный ПАВ для образования смешанных мицелл с $K_{13}[Gd(SiW_{11}O_{39})_2]$. Полученные агрегаты обладали высокой релаксивностью (61 $mM^{-1}s^{-1}$) в очень узком интервале концентраций от 0 до 4×10^{-4} мМ. Дальнейшее увеличение

концентрации приводило к агрегации и понижению релаксивности вплоть до $2.3 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$, что меньше, чем для коммерческих контрастных агентов. При агрегации доступ молекул воды к большей части Gd^{3+} ограничивается, и, как следствие, падает скорость обмена внутрисферных молекул воды и релаксивность соответствующих ионов гадолиния.

Юань Юн и др [77] использовали бычий сывороточный альбумин (БСА) в качестве гидрофильного носителя для комплексов $[\text{GdW}_{10}\text{O}_{36}]$. Несмотря на оптимальный размер агрегатов $\text{GdW}_{10}\text{O}_{36}@\text{BSA}$ ($d=3.5 \text{ нм}$), использование БСА привело к относительно небольшому увеличению релаксивности с $4.6 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ до $9.6 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$. Вероятно, это связано с противодействующим действием двух факторов: (1) замедлением вращения гадолиниевых центров и (2) понижением скорости обмена молекул внутрисферной воды вследствие связывания комплекса с белком.

1.2.4 Наноразмерные контрастные агенты на основе оксида графена

В последние десятилетия для создания контрастных агентов используют оксид графена (GO). Наличие кислородсодержащих функциональных групп и полостей позволяет оксиду графена легко координировать ионы Gd^{3+} . Однако, некоторые авторы прибегают к модификации GO различными методами.

Р. Амиров и др. [78] изучили комплексообразование оксида графена с ионами гадолиния с помощью релаксометрии. Проведенное исследование позволило «просканировать» поверхность оксида графена с использованием Gd^{3+} в качестве зондов. Была, в частности, обнаружена область поверхности GO, обеспечивающая так называемое «жесткое связывание Gd^{3+} », приводящее к увеличению r_2 до $100 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$. Было показано, что добавление в систему ионов натрия и цезия приводило к понижению релаксивности, что связано с высвобождением ионов гадолиния [79].

А. Гиззатов и др [80] показали, что использование нанолент на основе оксида графена с карбоксифенолятными группами в отсутствие гидрофилизатора приводит к увеличению релаксивности Gd^{3+} до $r_1=70 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$. Большой (280 нм) размер ГО и поверхностная координация приводит к тому, что происходит замедление вращения гадолиниевых центров при сохранении их гидратации.

В работе Сяньян Рен ионы Gd^{3+} координировали на поверхности частиц ($d=220\text{ нм}$) оксида графена. Большой размер наночастиц, способствующий замедленному вращению, и эффективное поверхностное связывание ионов гадолиния привело к увеличению релаксивности до $63.8 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$, что в 14 раз эффективнее магневиста [81].

Джанг и др для создания контрастного агента использовали ультрамалые частицы оксида графена. Первоначально частицы покрыли ПЭГ, который, в свою очередь модифицировали конъюгацией с комплексами DOTA. Полученные агрегаты образовали микроразмерные комплексы с гадолинием. Значения релаксивности составило $14.2 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$, что всего лишь в 3 раза эффективнее гадовиста. Несмотря на большой размер, обеспечивающий замедленное вращение комплекса, затрудненный доступ молекул воды к гадолиевым центрам является фактором, лимитирующим их магнитно-релаксационные характеристики [82].

1.2.5 Силикатные наночастицы как контрастные агенты

Особую нишу в нанохимии занимает силикатная матрица. Силикатные наночастицы выступают в качестве носителей или платформ для различных молекул с люминесцентными и магнитными свойствами. Одновременное допирование силикатных наночастиц люминофорами и парамагнетиками позволяет получать наночастицы с двойными свойствами. При этом возможно синтетически направленное концентрирование молекул ли наночастиц в ядре или оболочке силикатных наночастиц. Легкая

поверхностная модификация частиц открывает возможности их применения в биомедицине.

А.Кабрэра и др. [83] использовали силикатную матрицу в качестве платформы для наночастиц $Gd(H_2O)_4[Fe(CN)_6]$. Средний размер наночастиц составил 111 нм, толщина силикатного слоя составила 6-10 нм. Полученные частицы рассматривались как двойные T_1 - и T_2 -контрастные агенты благодаря парамагнитному эффекту Gd^{3+} . Значения релаксивностей составили $r_1=13.1 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ и $r_2=66.6 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ соответственно.

Большое количество работ посвящено покрытию наночастиц Gd_2O_3 силикатной оболочкой для создания двойных T_1 - и T_2 -контрастных агентов [84-86]. Например, в работе [87] наночастицы Gd_2O_3 допировали в область ядра силикатных наносфер, поверхность которых модифицировали гиалуроновой кислотой. Полученные силикатные частицы обладали релаксивностью не более $11 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$, хотя томографические изображения полученные введением дисперсий наночастиц в кроликов выявили их специфическую направленность на лимфосистему. Особый интерес представляет работа Джинчанга Уина [88], представляющая силикатные наночастицы с $d=90$ нм, покрыты слоем Gd_2O_3 различной толщины (1.5-20 нм). Было обнаружено, что наибольшее значение релаксивности $30 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ наблюдается при толщине Gd_2O_3 слоя порядка 1.5 нм. При этом, релаксивность падает с ростом толщины оксидного слоя. По мнению авторов, это связано с оптимальным соотношением площади оксидной пленки к ее объему, которое способствует наибольшей концентрации ионов Gd^{3+} на поверхности.

Для создания новых и эффективных контрастных агентов хелатные комплексы Gd пришивают на поверхности силикатных наночастиц. Благодаря поверхностному связыванию комплексов Gd, происходит замедление скорости вращения и увеличение доступности молекул воды к комплексам Gd, что в целом увеличивает релаксивность. Ф. Карниати [89] модифицировали силикатную поверхность наночастиц ($d=100$ нм)

комплексами Gd-DOTAGA сшиванием по аминок группам. Полученные частицы оказались в 10 раз эффективнее омнискана ($r_1=45.7 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$). Расчет магнитно-релаксационных характеристик показали, что это связано с замедленным вращением гадолиниевых центров. Кэтрин и др. [90] получили силикатные частиц, покрытые гадолиниевыми комплексами диэтилентриамин тетрауксусной кислоты. Значения релаксационности для комплексов составили $28.8 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ при 3Т и $10.2 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ при 9.4 Т.

Интересной альтернативой поверхностной модификации силикатных наночастиц парамагнитными комплексами Gd^{3+} является допирование последних в поверхностный слой силикатных сфер. Такой синтетический подход был продемонстрирован в работе Федоренко и привел к релаксационности $50 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ [91].

Таким образом, из представленного обзора литературы становится ясным, что для создания высокоэффективных контрастных агентов необходимо использование лигандов, которые обеспечат для ионов гадолиния замедленное вращение комплекса с минимальным уменьшением количества молекул воды в координационной сфере и скорости их обмена. Для достижения данных параметров необходимо применение «наноразмерного подхода». В соответствие с литературными данными, реализация данного подхода возможна за счет двух основных методик: (1) агрегации соединений или комплексов гадолиния с образованием наночастиц и (2) «жесткое связывание» ионов Gd^{3+} на поверхности наноразмерных лигандов, обеспечивающих замедление поступательного и вращательного движения ионов в составе комплексов. Как следует из литературных данных первый подход реализован в основном на оксидах и нерастворимых солях гадолиния, есть удачные примеры агрегации комплексов [40-45], в том числе гетерометаллических комплексов, в которых лигандами выступают гексацианоферрат-анионы [92]. В таких гетерометаллических структурах ионы гадолиния координируются по атомам азота циано-групп. Причем, гексарениевые кластеры могут образовывать полимерные структуры с

ионами лантанидов. Однако, в литературе на момент начала данной работы не было данных по магнитно-релаксационным характеристикам ионов гадолиния при их координации с циано-группами гексарениевых кластеров с шестью циано-группами в апикальных позициях (подробное описание их структуры будет дано в следующем подразделе).

Для осуществления второго методического подхода были впервые использованы сферические наноразмерные полиоксометаллаты (кеплераты). Их уникальная структура, которая также будет подробно описана в следующем подразделе является причиной различных типов координации ионов лантанидов, которые могут оказаться предпосылкой различных магнитно-релаксационных характеристик ионов гадолиния.

1.3 ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЛИГАНДОВ ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В РАБОТЕ

1.4.1 Гексарениевые кластеры

Ярким примером использования соединений d-металлов являются гексаядерные кластеры. Кластерные комплексы с общей формулой $[\{\text{Re}_6(\mu_3\text{-Q})_8\}(\text{L})_6]^{4-}$ ($\text{Q} = \text{S}^{2-}$, Se^{2-} или Te^{2-} ; $\text{L}=\text{CN}^-$, SO_3^{2-}) имеют большое распространение в медицине, благодаря прочному ядру $\{\text{Re}_6(\mu_3\text{-Q})_8\}^{2+}$, и специфическим фотофизическим свойствам [93]. Эти свойства делают кластерные комплексы перспективной основой для создания клеточных и рентгеноконтрастных средств. Тем не менее, кластерные гексарениевые комплексы должны быть инкапсулированы в супрамолекулярные агрегаты или наночастицы для необходимой биосовместимости и проникающей способности в клетки [94,95].

Октаэдрические кластеры рения $[\{\text{Re}_6(\mu_3\text{-Q})_8\}(\text{L})_6]^{4-}$ ($\text{Q} = \text{S}^{2-}$, Se^{2-} или Te^{2-}) способны образовывать комплексы и координационные полимеры с лантанидами [95-98] за счет координации апикальными анионами, в частности атомом азота цианид-аниона и кислородами сульфит-аниона. Как

правило, взаимодействие водных растворов кластеров с лантанидами приводит к образованию комплексов состава 1:1, при этом в структуру входит дополнительный однозарядный катион (Na или K).

1.4.2 Сферические полиоксометаллаты (Кеплераты)

Научной группой А. Мюллера был обнаружен новый класс полиоксометаллатов, получивших название кеплераты [99]. Они представляют собой полые сферические анионы с 20 порами. В структуре выделяют 12 пятиугольных фрагментов $\{(M^{VI})M^{VI}_5O_{21}(H_2O)_6\}$ ($M = Mo$ или W), которые связаны между собой 30-ю мостиковыми фрагментами (линкерами). В качестве линкеров выступают биядерные фрагменты, такие как $\{M_2O_4(L)\}$ и $\{M_2O_2S_2(L)\}$ ($M = Mo^V, W^V$), и мооядерные фрагменты $VO^{2+}[100,101]$, $Fe^{3+}[102,103]$, $Cr^{3+}[104,105]$. В биядерных фрагментах присутствуют анионы : SO_4^{2-} , HPO_4^{2-} , OAc^- , $H_2PO_2^{2-}$ и различные органические кислоты[106]. Существуют кеплераты со смешанными анионами.

Общая формула кеплератов выглядит как $\{(M^{VI})M^{VI}_5O_{21}(H_2O)_6\}_{12}\{линкер\}_{30}^{x-}$. В настоящее время все кеплераты выделены в виде кристаллических натриевых (калиевых), аммонийных или смешанных солей [107]. Кеплераты растворимы в полярных растворителях. В водной среде ведут себя как сильные электролиты и диссоциируют с образованием макроаниона и катионов.

Отличительной чертой кеплератов является наличие кристаллизационной воды во внутренней полости, которая имеет луковичную структуру. Доступ к ней осуществляется посредством 20 пор, размер которых зависит от структуры линкера (рисунок 3). Так в случае димолибденовых мостиков Mo_2O_4 диаметр поры составляет порядка 0.8 нм, в случае мооядерными линкерами 0.6 нм. Стоит отметить, что поры кеплератов являются «дышащими» [108], т.е. сфера кеплерата может

раскрываться, впуская тем самым, различные органические молекулы и ионы во внутреннюю полость.

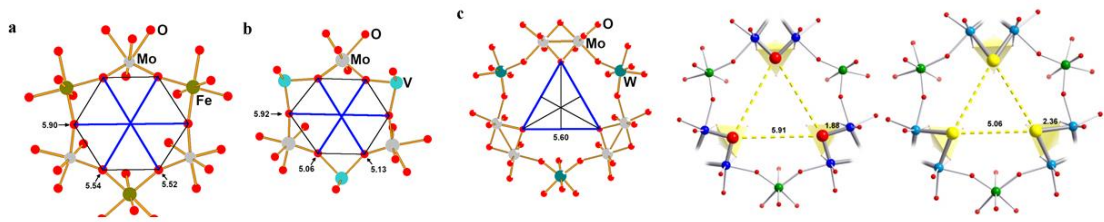


Рисунок. 3 Размер пор кеплератов: а – $\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}$; б – $\text{Mo}_{72}\text{V}_{30}$; в – $\text{W}_{72}\text{Mo}_{60}$; д – $\text{Mo}_{132}(\text{OAc})$; е – $\text{Mo}_{132}(\text{S})$.

Наличие высокого отрицательного заряда и анионов позволяет кеплератам координировать различные катионы [109-112]. В частности, известно, что анионы, расположенные внутри кеплератной сферы (например, SO_4^{2-}), играют значительную роль в связывании ионов металлов, в то время как другой способ связывания через атомы кислорода пор $\{\text{Mo}_9\text{O}_9\}$ позволяет связывать акваионы на поверхности кеплератов за счет водородных связей.

Глава 2 Экспериментальная часть

2.1 Методы и приборы

Измерения динамического рассеяния света (ДРС) проводили с помощью анализатора частиц Malvern Mastersize 2000. В качестве источника света использовали He-Ne-лазер, работающий на длине волны 633 нм и излучающий вертикально поляризованный свет. Автокорреляционные функции были проанализированы с помощью программного обеспечения Malvern DTS и методов кумулянтного разложения второго порядка. Эффективный гидродинамический радиус рассчитывали по соотношению Эйнштейна – Стокса: $D = kBT / 6\pi\eta R_H$, где D - коэффициент диффузии, kB - постоянная Больцмана, T - абсолютная температура, η - вязкость. Коэффициент диффузии измеряли не менее трех раз для каждого образца. Средняя ошибка в этих экспериментах составляет примерно 4%.

Для определения времен спин-решеточной (продольной, T_1) и спин-спиновой (поперечной, T_2) релаксации молекул воды в присутствии гадолиний содержащих коллоидов использовали метод протонной ядерной магнитной релаксации. Эксперименты проводили на ЯМ-релаксометре Bruker MQ20 Minispec при 25 °C и напряженностях поля 0.47 Тл (19.65 МГц) и 1.41 Тл (60.00 МГц). Времена поперечной релаксации T_2 протонов молекул воды измеряли с помощью импульсной последовательности Карра – Перселла – Мейбума – Гилла. Время продольной релаксации T_1 протонов молекул воды определяли с помощью импульса обратной инверсии. Для определения T_1 был использован классический метод инверсии-восстановления с использованием последовательности импульсов $180^\circ - t - 90^\circ$. Относительное отклонение измерения времен спин-решеточной и спин-спиновой релаксации не превышает 3%. Продольные и поперечные релаксивности $\tau_{1(2)}$ определяли графическим способом как тангенс угла наклона линейной зависимости $1/T_{1(2)}$ от концентрации ионов гадолиния.

УФ-вид спектры были получены на спектрофотометре Specord 50 plus.

Измерения времен продольной релаксации (T_1) при различных ларморовских частотах (0.01-35 МГц) проводили с помощью ЯМР-релаксометра SpinMaster FFC-2000 FFC. Поляризуемое и детектируемое поля составляли 0.60 и 0.50 Тл (время переключения 3 мс, длительность 90° -импульса 9.8 мкс). Ошибки профилей зависимостей R_1 не превышала 1%.

Изображения ПЭМ были получены с использованием Hitachi HT7700 (напряжение 100 кВ).

Влияние коллоидов на жизнеспособность клеток определяли с помощью флуоресцентного анализа с использованием многофункциональной системы Cytell Cell Imaging (GE Healthcare Life Science, Швеция) с приложением Cell Viability BioApp. Процент жизнеспособности клеток определяли с использованием флуоресценции интактных клеток в качестве контроля (100%). Эксперимент повторяли трижды в отдельные дни.

Спектры люминесценции регистрировали на спектрофлуориметре FL3-221-NIR (Horiba Jobin Yvon) при длине волны возбуждения 350 нм и ширине щели 5 нм как для возбуждения, так и для излучения.

Содержание Gd и Re в коллоидах были определены с помощью эмиссионной спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (ICP-OES) модели iCAP 6300 DUO от компании Varian Thermo Scientific.

Измерения порошковой дифракции рентгеновских лучей (ПРД) выполнялись на дифрактометре Bruker D8 Advance, оборудованном приставкой Vario и линейным PSD Vantec.

Дифрактометр Bruker D8 Avance, оснащенный приставкой Vario (40 кВ) и монохроматором Йохансона (λ Cu $K_{\alpha 1}$ 1.5406 Å), использовали для получения порошковых рентгеновских дифрактограмм.

Дифрактограммы малоуглового рентгеновского рассеяния (МУРР) были получены на приборе МУРР Bruker AXS Nanostar с CuK_α (λ 1.5418 Å, 2.2 кВт). Измерения жидких образцов проводили в стеклянных капиллярах толщиной 2 мм.

2.1. Синтез и реагенты

В работе использовали коммерческие реагенты: $\text{Gd}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (99,9 мас.%), триблок сополимеры F-127, F-68 и P-123 (Sigma Aldrich), раствор Дульбека (Sigma Aldrich), Omniscan (GE Healthcare), бийй сывороточный альбумин Sigma Aldrich). Вещества использовали без дополнительной очистки.

Кеплераты и гексарениевые кластеры были синтезированы в соответствии с ранее опубликованными работами коллегами из СО РАН []. ИК- и Рамановские спектры, подтверждающие структуру кеплератов, приведены в приложении (рисунки П.1-3).

Культуры клеток легкого эмбриона человека (WI-38) и печени были получены из института цитологии РАН.

Для получения коллоидов $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{CN})_6]_y @ \text{F-127}$ ($\text{Q}=\text{S}^{2-}, \text{Se}^{2-}, \text{Te}^{2-}$) готовили водные растворы $\text{Na}_4[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{CN})_6]$ (2.5 мМ), $\text{Gd}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (2,5 мМ) и F-127 (0,107 мМ). Синтез осуществляли путем одновременного добавления соответствующего раствора $\text{Na}_4[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{CN})_6]$ (0.5 мл) и $\text{Gd}(\text{NO}_3)_3$ (0.5 мл) с помощью шприцевого насоса (0.5 мл / мин.) к раствору триблок сополимера F-127 при интенсивном перемешивании магнитной мешалкой. Конечные концентрации $C_{\text{Gd}} = 0.3$ мМ, $C_{\text{кластер}} = 0.3$ мМ и $C_{\text{F-127}} = 0.12$ мМ.

Коллоиды $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{SO}_3)_6]_y @ \text{F-127}$ ($\text{Q}=\text{S}^{2-}, \text{Se}^{2-}$) получали приливанием раствора $\text{Gd}(\text{NO}_3)_3$ 0.3 мл (10 мМ) к 4.7 мл водному раствору кластера $\text{Na}_{10}[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{SO}_3)_6]$ (2 мМ) и триблок сополимера F-127 (0,151 мМ) с помощью шприцевого насоса со скоростью 0.1 мл/мин. Конечные концентрации $C_{\text{Gd}} = 0.6$ мМ, $C_{\text{кластер}} = 0.3$ мМ и $C_{\text{F-127}} = 0.12$ мМ.

$\text{Gd}_x\{\text{Mo}_{132}(\text{OAc})\}_y$: Коллоиды были синтезированы смешиванием 9.85 мл водных растворов триблок-сополимера F-127 (0.325 мМ), 0.07 мл $\text{Mo}_{132}(\text{OAc})$ (1 мМ) и 0.08 мл $\text{Gd}(\text{NO}_3)_3$ (10 мМ).

Gd_x{Mo₁₃₂(HPO₄)_y}: Коллоиды были синтезированы путем смешивания 9.83 мл водных растворов триблок-сополимера F-127 (0.325 мМ), 0.07 мл Mo₁₃₂(HPO₄) (1 мМ) и 0.1 мл Gd(NO₃)₃ (10 мМ) при перемешивании.

Gd_x(Mo₁₃₂(S))_y: Коллоиды синтезировали смешиванием 9.91 мл водных растворов триблок-сополимера F-127 (0.323 мМ), 0.07 мл Mo₁₃₂(S) (1 мМ) и 0.04 мл Gd(NO₃)₃ (10 мМ) при перемешивании. рН коллоидов составлял 4.7.

Gd_x(W₇₂Mo₆₀)_y: Коллоиды были синтезированы путем смешивания 9.83 мл водных растворов триблок-сополимера F-127 (0.325 мМ), 0.07 мл W₇₂Mo₆₀ (1 мМ) и 0.056 мл Gd(NO₃)₃ (10 мМ) при перемешивании.

Молекулярные комплексы **Gd_x(W₇₂Mo₆₀)_y** при соотношении 1:1 были получены смешиванием водных растворов триблок-сополимера 9.7 мл F-127 (0.309 мМ), 0.15 мл W₇₂Mo₆₀ (1 мМ) и 0.15 мл Gd(NO₃)₃ (1 мМ) при перемешивании. рН коллоидов составлял 4.68–4.73.

Глава 3 Обсуждение результатов

3.1.1 Контрастные агенты на основе гексарениевых кластеров с цианидными апикальными группами $[\text{Re}_6\text{Q}_8(\text{CN})_6]^{x-}$, (Q=S, Se, Te)

3.1.1.1 Синтез и описание коллоидных растворов на основе комплексов $\text{Gd}_x[\text{Re}_6\text{Q}_8(\text{CN})_6]_y$

Гексарениевые халькогенидные кластеры $[\text{Re}_6\text{Q}_8(\text{CN})_6]^{4-}$ (Q=S²⁻, Se²⁻, Te²⁻), содержащие цианидные группы в апикальных позициях образуют комплексы с ионами лантанидов за счет координации последних по атомам азота цианидов [97]. Гексаядерные кластеры значительно уступают по размерам кеплератам. Однако, по литературным данным [95,96] их комплексообразования с ионами лантанидов индуцирует супрамолекулярную упаковку по принципу “metal organic framework” (MOF). Более того, комплексообразование двух хорошо растворимых заряженных компонентов приводит к помутнению растворов за счет образования электронейтральных комплексов.

В нашей работе [113] были представлены коллоидные растворы на основе комплексов гадолини с кластерами $[\text{Re}_6\text{Q}_8(\text{CN})_6]^{4-}$. Для того чтобы остановить агрегацию образующихся коллоидных частиц и ограничить их размеры были оптимизированы концентрационные условия и pH. Триблок сополимер F-127 был использован для стабилизации полученных коллоидных частиц. Было обнаружено, что значение pH оказывает большое влияние на состав наночастиц. В частности, данные оптической эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой (ICP-OES) для наночастиц, полученных при смешении $\text{Gd}(\text{NO}_3)_3$ и $\text{Na}_4[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{CN})_6]_y$ при pH=8 (молярное соотношение 1:1), выявили высокое содержание Gd по сравнению с Re (pH=6). Это связано с одновременным протеканием частичного гидролиза Gd^{3+} и комплексообразования с кластерами. Для частиц,

полученных при $\text{pH}=6$, было обнаружено следующее соотношение $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{CN})_6]_y$, где $x = 4$ и $y = 3$ (табл. П.1).

На рисунке 4 приведены распределения по объему размеров частиц коллоидных растворов $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{CN})_6]_y$, полученных методом динамического рассеяния света. Были обнаружены агрегаты размером 20, 5 и 30 нм для коллоидов $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{CN})_6]_y$, где $\text{Q}=\text{S}^{2-}$, Se^{2-} и Te^{2-} соответственно. Узкое распределение по объему размеров частиц в случае $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{Se}_8\}(\text{CN})_6]_y$ говорит о лучшей стабильности коллоидного раствора.

Для определения размеров «твердых» коллоидных частиц были получены ПЭМ-изображения высушенных коллоидов (рис. 4). Диаметр частиц для коллоидов $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{CN})_6]_y$ ($\text{Q} = \text{S}^{2-}, \text{Se}^{2-}$) составил 2-6 нм, что является оптимальным для создания контрастных агентов на основе Gd^{3+} . Для $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{Te}_8\}(\text{CN})_6]_y$ были обнаружены частицы большего размера (более 200 нм). Отличие размеров частиц для $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{Te}_8\}(\text{CN})_6]_y$, полученных методами ДРС и ПЭМ, свидетельствует об агрегации частиц, которая приводит к появлению агломератов большего размера.

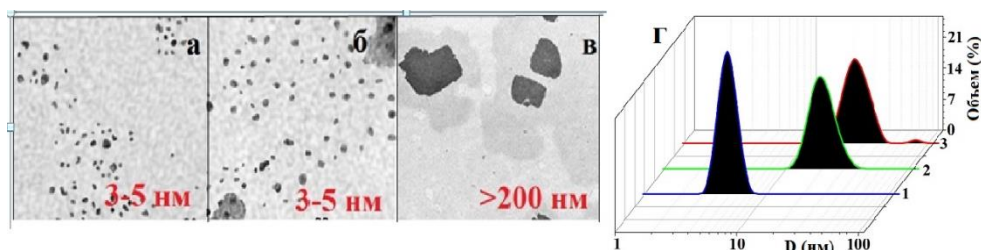


Рисунок 4. ПЭМ-изображения коллоидов $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{S}_8\}(\text{CN})_6]_y$ (a) и $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{Se}_8\}(\text{CN})_6]_y$ (b), стабилизированных F-127.

Хорошо известно, что кластерное ядро $[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{CN})_6]^{4-}$ подвержено окислению кислородом в водных растворах. Для выявления данного процесса регистрировали спектры поглощения коллоидов в разные промежутки времени после их синтеза (рис. 5). В спектрах поглощения водных коллоидов $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{CN})_6]_y$ ($\text{Q} = \text{S}^{2-}, \text{Se}^{2-}$) не было обнаружено

заметных изменений даже спустя 66 часов (рис. 5). Однако спектральные данные для $Gd_x[\{Re_6Te_8\}(CN)_6]_y$ (рис. 5) указывают на существенные изменения после 48 часов, что, по-видимому, свидетельствует об окислении $[\{Re_6Te_8\}(CN)_6]^{4-}$ до $[\{Re_6Te_8\}(CN)_6]^{3-}$. Таким образом, гидрофильные коллоиды на основе $Gd_x[\{Re_6Te_8\}(CN)_6]_y$ подвергаются окислению и агрегации, что препятствует их дальнейшему использованию. Поэтому с учетом более высокой химической стабильности и коллоидных свойств, практический интерес представляют $Gd_x[\{Re_6Q_8\}(CN)_6]_y$ ($Q = S^{2-}, Se^{2-}$).

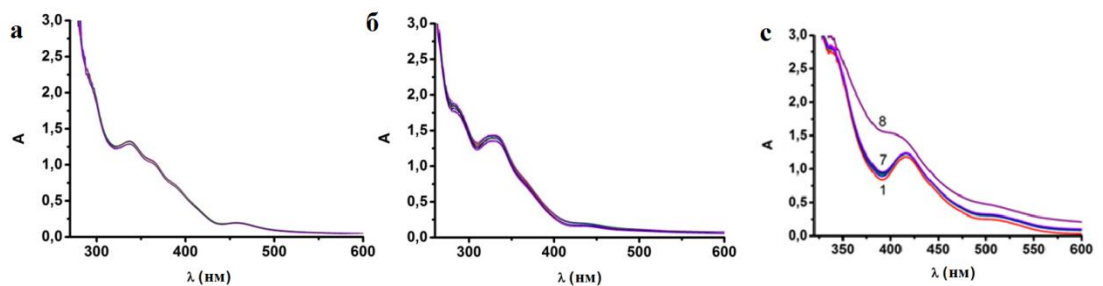


Рисунок 5. УФ – вид спектры коллоидов на основе $Gd_x[\{Re_6Q_8\}(CN)_6]_y$, измеренные в разное время после их синтеза: 1–7 в течение 48 ч после синтеза; 8 через 66 ч: $Q=S^{2-}$ (а), Se^{2-} (б) и Te^{2-} (с).

На рисунке 6 приведены спектры порошковой рентгеновской дифрактографии (ПРД) высушенных коллоидных растворов $Gd_x[\{Re_6Q_8\}(CN)_6]_y$ и соответствующих им натриевых солей. Измерения проводили с целью выявления кристалличности осажденных наноразмерных частиц. В литературе известны рентгеновские монокристаллические данные для некоторых комплексов лантаноидов с гексарениевыми кластерами [15–22]. Однако, для коллоидных растворов $Gd_x[\{Re_6Q_8\}(CN)_6]_y$ соответствия между полученными и литературными данными, доступными в базах данных (ICSD и CSD), не были обнаружены. Сравнение спектров выявило некоторое сходство между кристаллической упаковкой в $Gd_x[\{Re_6Q_8\}(CN)_6]_y$ и $Na_4[\{Re_6Q_8\}(CN)_6]$, однако стоит отметить разницу между параметрами элементарной ячейки и степенью их совершенства. Данные хорошо согласуются с опубликованными структурами, в которых были обнаружены

некоторые изоструктурные особенности кластерных анионов $[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{CN})_6]^{4-}$ в комплексе с различными катионами металлов. Выявленные тенденции весьма ожидаемы, учитывая как структурную жесткость кластерных единиц, так и сходство в способе координации ионов металлов через апикальные CN^- .

Сравнение спектров ПРД для высушенных коллоидов $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{CN})_6]_y$ с различными халькогенидами ($\text{Q} = \text{S}^{2-}$, Se^{2-} или Te^{2-}) показало, что степень кристалличности увеличивается ряду $\text{Se} > \text{S} > \text{Te}$ (рис. 6), для соответствующих натриевых солей получена обратная тенденция. Низкая степень кристалличности, обнаруженная для частиц $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{S}_8\}(\text{CN})_6]_y$ и $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{Se}_8\}(\text{CN})_6]_y$, по-видимому, является результатом влияния нескольких факторов. В качестве возможной причины следует отметить многофазную природу коллоидов $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{S}_8\}(\text{CN})_6]_y$, о чем свидетельствует большое количество мешающих пиков с разной полушириной. Вероятно, происходит смешивание $\text{Gd}_4[\{\text{Re}_6\text{S}_8\}(\text{CN})_6]_3$ с $\text{NaGd}[\{\text{Re}_6\text{S}_8\}(\text{CN})_6]$, что объясняет многофазную природу коллоидов. Отсутствие значимых пиков в области больших углов для высушенных коллоидов указало на отсутствие упорядоченности молекулярных блоков в элементарной ячейке и малый размер кристаллитов. Меньшая степень кристалличности $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{Se}_8\}(\text{CN})_6]_y$ проявляется в нескольких пиках в диапазоне углов 2θ 10–15 °, (рис. 6) и уменьшении интенсивности пиков с увеличением угла. Эта тенденция выявляет различие в упаковке комплексов $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{S}_8\}(\text{CN})_6]_y$ и $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{Se}_8\}(\text{CN})_6]_y$ в коллоидных частицах. Следует также отметить, что порошковая дифрактограмма $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{Se}_8\}(\text{CN})_6]_y$ выглядит как жидкокристаллическая фаза с упорядочением по одной из кристаллографических осей, при этом нельзя исключить примесь нескольких фаз.

Рентгеновские спектры высушенных коллоидов $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{Te}_8\}(\text{CN})_6]_y$ (рис. 6 с) указывает на высокую степень кристалличности. Принимая во внимание то, что полуширина пиков в ПРД сильно зависит от размера

кристаллитов, более широкие пики коллоидов $Gd_x[\{Re_6Se_8\}(CN)_6\}_y$ по сравнению с $Gd_x[\{Re_6Q_8\}(CN)_6\}_y$ ($Q = S^{2-}$ или Te^{2-}) можно объяснить наименьшим размером коллоидных частиц. Данный факт хорошо согласуется со значениями размеров, полученными по данным ДРС и ПЭМ (рис. 4).

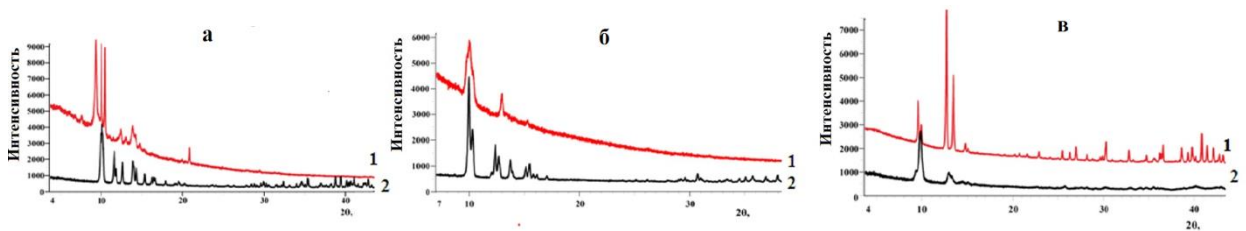


Рисунок 6. Спектры порошковой рентгеновской дифрактографии высушенных коллоидов(1) $Gd_x[\{Re_6Q_8\}(CN)_6\}_y$ и соответствующих кластеров (2): а - S^{2-} ; б - Se^{2-} ; в - Te^{2-}

3.1.1.2 Функциональные свойства коллоидов $Gd_x[Re_6Q_8(CN)_6\}_y$

Измерения магнитной релаксации проводились в широком диапазоне концентрации Gd^{3+} для синтезированных коллоидов при $pH \sim 6.1-6.4$. На рисунке 7 приведены концентрационные зависимости скоростей продольной и поперечной релаксации ($1/T_1$ и $1/T_2$ соответственно) для коллоидов $Gd_x[\{Re_6Q_8\}(CN)_6\}_y@F-127$, которые позволили оценить значения релаксивностей r_1 и r_2 .

Полученные результаты показали зависимость значений r_1 и r_2 от природы входящего в состав халькогена. Наименьшие значения r_1 и r_2 были получены для коллоидов на основе $Gd_x[\{Re_6Te_8\}(CN)_6\}_y$ (рис. 7), что является следствием больших размеров частиц, выявленных по данным ДРС и ПЭМ (рис.4). Большой размер частиц приводит к тому, что большая часть гадолиния находится внутри частиц, вследствие чего «общая скорость» обмена молекул воды понижается. Значения продольной и поперечной релаксивностей r_1 и r_2 для коллоидов на основе $Gd_x[\{Re_6Q_8\}(CN)_6\}_y$ ($Q = S^{2-}$

или Se^{2-}) оказались больше в 3 раза, чем для коммерческих контрастных агентов. Более высокие значения релаксивностей коллоидных растворов, несомненно, связаны с переводом гадолиния в наночастицы, при котором происходит замедление вращения комплексов.

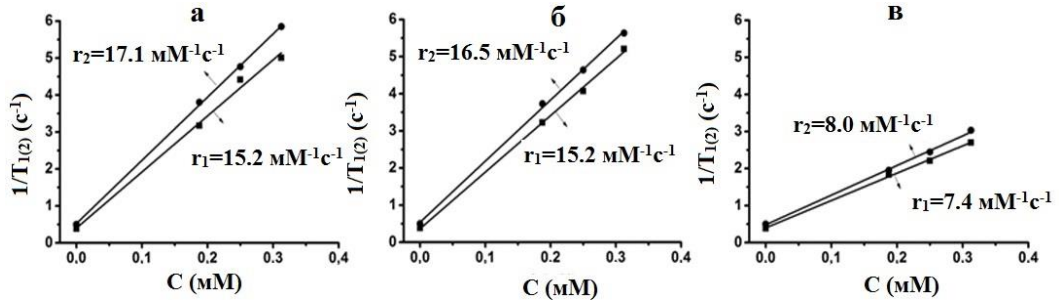


Рисунок. 7 Зависимости скоростей $1/T_1$ и $1/T_2$ от концентрации Gd^{3+} для коллоидов $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{CN})_6]_y@F-127$, где $\text{Q} = \text{S}^{2-}$ (а), Se^{2-} (б) и Te^{2-} (в).

Хорошо известно, что значения продольной и поперечной релаксации молекулярных комплексов или коллоидов, содержащих Gd^{3+} , коррелируют с их контрастирующей способностью на T_1 - и T_2 - МРТ-изображениях. Для изучения контрастирующей способности коллоидов $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{CN})_6]_y@F-127$ ($\text{Q}=\text{S}^{2-}$ и Se^{2-}) и их сравнения с коммерческим контрастным агентом (Omniscan), пробирки, содержащие коллоиды и Omniscan в аналогичных концентрациях Gd^{3+} , были просканированы на медицинском МР-томографе при 1.5 Т (рис. П4). В таблице 3 приведены значения r_1 , r_2 и r_1/r_2 коллоидов $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{CN})_6]_y@F-127$ ($\text{Q}=\text{S}^{2-}$ и Se^{2-}) и Омнискана, измеренные на релаксометре при 0.47 Т, 1.41 Т, и 1.5 Т (МР-томограф).

Таблица 3. Значения r_1 , r_2 и r_2/r_1 , измеренные на релаксометре Bruker NMR (0.47 Тл и 1.41 Тл) и медицинском МР-томографе (1.5 Тл) для Омнискана и коллоидных растворов [113].

	$\text{Gd}_x[\text{Re}_6\text{S}_8(\text{CN})_6]_y$		
	$r_1, \text{mM}^{-1}\text{c}^{-1}$	$r_2, \text{mM}^{-1}\text{c}^{-1}$	r_2/r_1
0.47 Т	15.1	17.10	1.1
1.41 Т	10.62	14.27	1.2
1.5 Т	11.21	13.14	1.3

$Gd_x[Re_6Se_8(CN)_6]_y$			
	$r_1, \text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$	$r_2, \text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$	r_2/r_1
0.47 T	15.2	16.5	1.1
1.41 T	6.73	10.46	1.2
1.5 T	6.68	7.99	1.6
Омнискан			
0.47 T	4.19	6.18	

Коллоиды $Gd_x[\{Re_6Se_8\}(CN)_6]_y@F-127$ демонстрируют практически двукратное уменьшение релаксивностей r_1 и r_2 при росте напряженности магнитного поля от 0.47 до 1.41 и 1.5 Тл. Менее выраженное снижение наблюдается для коллоидов $Gd_x[\{Re_6S_8\}(CN)_6]_y$ при тех же напряженностях поля. Таким образом, значения r_1 и r_2 , измеренные при 0.47 Тл показывают незначительную разницу между коллоидами $Gd_x[\{Re_6Se_8\}(CN)_6]_y@F-127$, где $Q = S^{2-}$ и Se^{2-} .

Увеличение намагниченности поля приводит к появлению разницы между данными коллоидами. При 0.47 Тл значения r_2/r_1 для обоих коллоидных растворов равны и составляют 1.1, увеличение намагниченности поля до 1.5Тл приводит к расхождению значений r_2/r_1 для коллоидов $Gd_x[\{Re_6Q_8\}(CN)_6]_y@F-127$ ($Q=S^{2-}$ и Se^{2-}) и соответствуют 1.2 и 1.6. Таким образом, значения r_2/r_1 имеют тенденцию к увеличению с ростом напряженности поля, что нехарактерно для молекулярных и характерно для наноразмерных комплексов Gd^{3+} [114]. В своем обзоре Караван [2] считает, что одной из наиболее вероятных причин роста значения r_2/r_1 является намагниченность коллоидов, создающая собственные неоднородные локальные магнитные поля, оказывающие влияние на парамагнетизм ионов гадолиния в составе коллоидов. В рамках данного предположения, причина различия величин r_2/r_1 заключается в большей намагниченности коллоидов, наблюдаемой в более высоких полях, для $Gd_x[\{Re_6Se_8\}(CN)_6]_y@F-127$ по сравнению с $Gd_x[\{Re_6Q_8\}(CN)_6]_y@F-127$. В свою очередь, большее магнитное упорядочение молекулярных комплексов $Gd_x[\{Re_6Se_8\}(CN)_6]_y@F-127$ вполне согласуется с их большей ориентационной подвижностью в данных

коллоидах вследствие наименьшей степени упорядоченности, выявленной по данным ПРД. Из этого следует, что коллоиды на основе $Gd_x[\{Re_6S_8\}(CN)_6\}_y@F-127$ обеспечивают лучшие свойства для МРТ, чем их аналоги с $Q = Se^{2-}$ или Te^{2-} .

Наличие кластерного ядра $[Re_6Q_8(CN)_6]^{4-}$ в составе коллоидов приводит к тому, что, наряду с магнитными свойствами, они обладают люминесценцией. На рисунке 8 приведены спектры люминесценции коллоидных растворов $Gd_x[\{Re_6Q_8\}(CN)_6\}_y@F-127$ ($Q = S^{2-}$, Se^{2-} или Te^{2-}) и соответствующих им натриевых солей при одинаковой концентрации кластера. Сравнение спектров водных растворов и коллоидов выявило увеличение интенсивности при переходе в коллоидную форму, что, скорее всего, связано с экранирующим эффектом триблок сополимера F-127, и, как следствие, с уменьшением вклада безызлучательной потери энергии через молекулы кислорода и воды.

Как в растворах солей, так и в коллоидах, интенсивность люминесценции уменьшается в ряду $Se^{2-} > S^{2-} > Te^{2-}$. Аналогичный результат был получен Такаши Йошимура [115] для растворов солей в ацетонитриле. Понижение интенсивности люминесценции при переходе от S(Se) к Te связано с более высоким расположением НОМО. Однако, разница для кластеров $[\{Re_6Q_8\}(CN)_6\}_y$ ($Q=S$ или Se) по-прежнему не ясна.

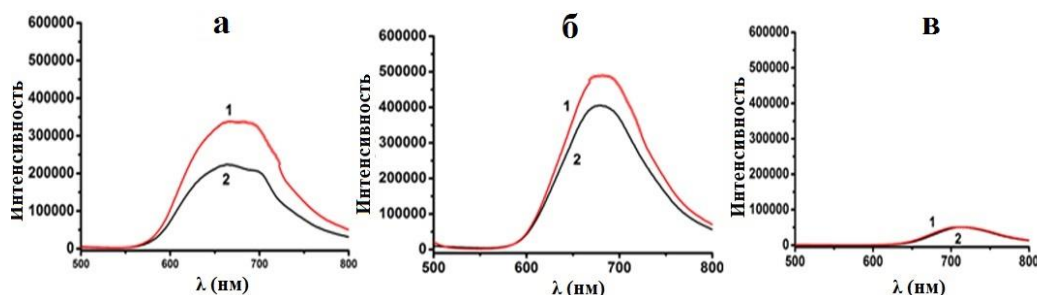


Рисунок 8. Спектры люминесценции стабилизированных F-127 коллоидов на основе $Gd_x[\{Re_6Q_8(CN)_6\}_y$ (кривая 1) и соответствующих водных растворов $[\{Re_6Q_8\}(CN)_6]^{4-}$ с такой же концентрацией (кривая 2), где $Q = S^{2-}$ (а), Se^{2-} (б) или Te^{2-} (в).

Ионный фон и белки плазмы крови могут оказывать влияние на контрастный эффект комплексов и наночастиц ионов гадолиния, поэтому значения $1/T_2$ были измерены в модельных жидкостях. Было изучено влияние MES-буфера и раствора БСА (до 0,9 г/л) в MES-буфере на скорости магнитной релаксации $Gd_x[\{Re_6S_8\}(CN)_6\}_y$. Полученные результаты (рис. 9) показали незначительное влияние буфера и БСА на релаксирующую способность коллоидов.

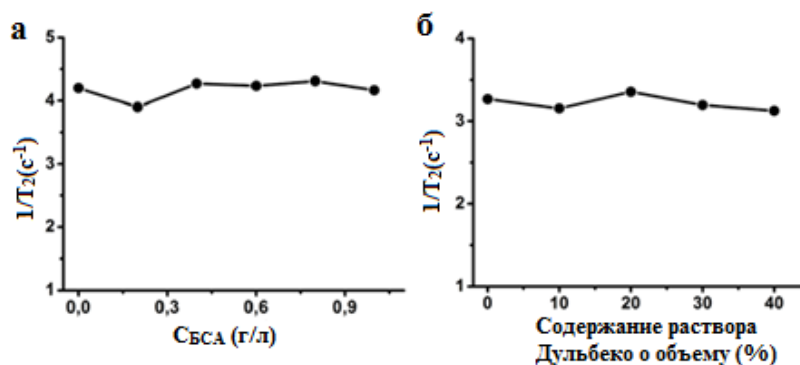


Рисунок 9. а - Значения $1/T_2$, измеренные для коллоидов $Gd_x[\{Re_6S_8\}(CN)_6\}_y@F-127$ при различных концентрациях БСА в MES-буфере при pH=6.8. ($C_{Gd} = 0,25$ мМ). б - Значения $1/T_2$ коллоидов, измеренные при различных объемных содержаниях раствора Дульбекко при pH=7.0 ($C_{Gd} = 0.19$ мМ).

Контрастные агенты должны обладать низкой цитотоксичностью и оптимальной биосовместимостью, поэтому был измерен цитотоксический эффект коллоидов $Gd_x[\{Re_6S_8\}(CN)_6\}_y$ на линию клеток Нер-2. Как следует из полученных данных (рис.10) цитотоксический эффект не превышает ранее опубликованных результатов для $Na_4[\{Re_6S_8\}(CN)_6]$ [11,49]. Этот результат подтверждает прочное связывание ионов Gd^{3+} с лигандами на основе кластеров, что исключает их вклад в общую цитотоксичность коллоидов $Gd_x[\{Re_6S_8\}(CN)_6\}_y@F-127$.

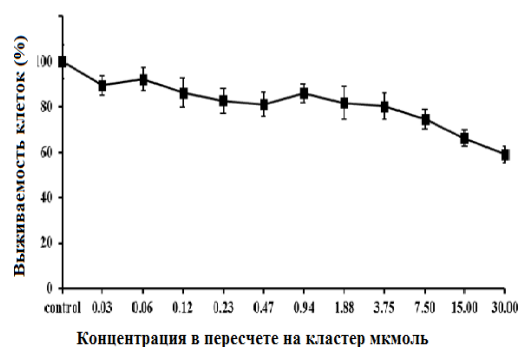


Рисунок 10. Жизнеспособность клеток Нер-2, инкубированных в присутствии коллоидов $Gd_x[\{Re_6S_8\}(CN)_6\]_y@F-127$, определенная с помощью анализа МТТ.

3.1.2. Контрастные агенты на основе кластеров с сульфитными апикальными группами $[R_6Q_8(SO_3)_6]^{10-}$, (Q=S, Se)

В предыдущей главе был раскрыт потенциал использования координации ионов гадолиния по атомам азота апикальных цианидов гексарениевых кластеров $[\{Re_6Q_8\}(CN)_6]^{4-}$ для формирования контрастных агентов. При этом было показано влияние природы халькогена (S, Se и Te), входящего в состав гексарениевых кластеров $[\{Re_6Q_8\}(CN)_6]^{4-}$, на морфологию, структуру, стабильность и функциональные свойства коллоидов. В ряду многих известных гексарениевых кластерных комплексов только новые гексарениевые кластеры с сульфитными апикальными группами $[\{R_6Q_8\}(SO_3)_6]^{10-}$ (Q=S и Se) можно рассматривать в качестве перспективной основы формирования гадолиний-содержащих наночастиц, поскольку структура сульфитных апикальных лигандов создает предпосылки координации ионов гадолиния. Основные результаты, посвященные коллоидам на основе $[\{R_6Q_8\}(SO_3)_6]^{10-}$, опубликованы в работе [116].

Следует заметить, что высокий отрицательный заряд данных кластеров и наличие шести апикальных лигандов, способных координировать катионы, создает возможности для образования комплексов различной стехиометрии.

Поэтому, для изучения комплексообразования кластеров были получены зависимости $1/(T_{1(2)}C)$ при различных соотношения $Gd:Re_6$, измеренные в водном растворе и растворе триблок сополимера F-127. На рисунке 11 (а и б) приведены зависимости $1/(T_{1(2)}C)$ от соотношения $Gd:Re_6$ при постоянной концентрации гадолиния и варьируемой концентрации кластера (в дальнейшем для обозначения данной системы использовали а/б). Видно, что с ростом концентрации кластера наблюдается увеличение значений $1/(T_{1(2)}C)$, которые доходят до уровня насыщения и практически не изменяются в пределах отношений $Gd:Re_6$ от $\sim 1:1$ до $\sim 2:1$. Поскольку эти значения значительно больше, чем значения $r_{1(2)}$, соответствующие акваионам Gd^{3+} (на рисунке 1 $r_{1(2)}$ акваионов обозначены зеленым ромбом и фиолетовым треугольником), наблюдаемая зависимость указывает на связывание кластеров с ионами Gd^{3+} , при котором происходит замедление вращения связываемых ионов. Такое возможно только, если процесс самосборки комплексов происходит одновременно с процессом комплексообразования. Причем, увеличение значений $1/(T_{1(2)}C)$ наблюдается при низких концентрациях кластера и ионов гадолиния (Рис.11 а, б) в так называемых «истинных» растворах, в которых не наблюдалось помутнения.

На рисунке 11 (в и г) приведены зависимости $1/(T_{1(2)}C)$ от соотношения $Gd:Re_6$ при постоянной концентрации кластера и варьируемой концентрации гадолиния, которые изучали с целью выявления условий агрегации (в дальнейшем в/г). Измерения проводили в растворе триблок сополимера F-127 (0.12 мМ) для гидрофильной стабилизации образующихся коллоидов. Стоит отметить, что в интервале соотношений $Gd:Re_6$ 1:1-2:1 значения $1/(T_{1(2)}C)$, измеренные в условиях системы в/г, как и в условиях а/б, достигают одинакового уровня насыщения, дальнейшее изменения в соотношения приводит к выявлению разницы между условиями.

В частности, увеличение значений $1/(T_{1(2)}C)$ при уменьшении отношений $Gd:Re_6$ от 1:1 до 0.15:1 указывает на изменение в окружении ионов Gd^{3+} . Учитывая тот факт, что концентрация кластеров в условиях в/г

намного больше, чем в условиях системы а/б, результат можно объяснить самосборкой анионных агрегатов, образованных Gd^{3+} и $[\{Re_6Q_8\}(SO_3)_6]^{10-}$, чему несомненно способствуют катионы натрия. Подобный эффект противоионов уже будет описан в главе, посвященной кеплератам. Таким образом, можно предположить, что равновесие кластеров и их агрегатов является причиной образования $(Gd_x[\{Re_6Q_8\}(SO_3)_6]_y)^{n-}$ со стехиометрией ($x = 1$ и $y \geq 1$). Это предположение объясняет увеличение $1/(T_{1(2)}C)$.

Увеличение соотношения $Gd:Re_6$ свыше 2.5:1 так же приводило к выявлению различию систем а/б и в/г. На рисунке 11 видно, что увеличение соотношения $Gd:Re_6$ свыше 2.5:1 приводит к более резкому уменьшению значений $1/(T_{1(2)}C)$ для системы с/д по сравнению с а/б, что указывает на различие в связывании ионов Gd^{3+} водорастворимыми агрегатами $Gd-Re_6$ (а/б) и коллоидами $Gd-Re_6$ в системе в/г. Действительно, для системы с/д наблюдалось помутнение раствора при соотношении $Gd:Re_6 > 1:1$, что является следствием образования твердых коллоидных частиц, которые были выявлены на ПЭМ-изображениях высушенных коллоидов (рис. 12). В свою очередь измерения динамического рассеяния света подтвердили наличие коллоидов в условиях в/г (рис. 11 а, б). Таким образом, более резкое снижение значений $1/(T_{1(2)}C)$ до уровня $r_{1(2)}$ акваионов гадолиния в условиях в/г, по-видимому, связано со слабым замещением ионов Na^+ в составе коллоидных частиц ионами гадолиния. Это приводит к накоплению свободных ионов Gd^{3+} с меньшей релаксивностью и, как следствие, к понижению общей релаксивности системы. В условиях системы а/б наблюдается плавное понижение значений $1/(T_{1(2)}C)$, что указывает на большой вклад процесса ионного обмена.

Содержание как Re, так и Gd в высушенных коллоидах анализировали с помощью метода ICP-OES. Молярные отношения $Gd:Re$ составили 1:3.4 и 1:2.9 для кластеров $\{Re_6S_8\}$ и $\{Re_6Se_8\}$ соответственно, что достаточно близко к используемому соотношению 2:1 ($Gd:Re_6$). Следовательно, состав коллоидных частиц можно обозначить формулой $Na_xGd_y[\{Re_6Q_8\}(SO_3)_6]$, где

$y < 3$ и $x > 1$. Данный факт указывает на участие ионов натрия в нейтрализации заряда комплексов гадолиния, что, в свою очередь, способствует их переход в наноразмерные частицы. Также стоит отметить, что неравновесные условия в коллоидной системе в/г является еще одной важной причиной различия профилей, полученных в условиях а/б и в/г.

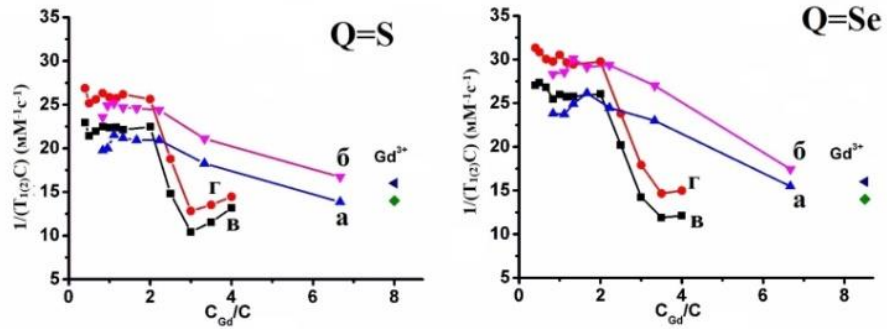


Рисунок 11. Зависимости $1/(T_1C)$ (а, в) и $1/(T_2C)$ (б, г) от соотношения $C_{Gd}/C_{\text{кластер}}$ для коллоидов $Na_xGd_y[\{Re_6Q_8\}(SO_3)_6]$ а/б: $C_{Gd} = 0.1$ мМ, $C_{\text{кластер}} = 0.066-0.67$ мМ; в/г: $C_{Gd} = 0.045-1.2$ мМ, $C_{\text{кластер}} = 0.3$ мМ, $C_{F-127} = 0.12$ мМ.

Метод динамического рассеяния света использовали для определения размеров агрегатов в водных растворах (рис. 12). Для коллоидов $Na_xGd_y[\{Re_6S_8\}(SO_3)_6]$ @F-127 было обнаружено распределение по размеру в пределах 30-140 нм с низким показателем полидисперсности ($PDI \sim 0.13$). В свою очередь коллоиды $Na_xGd_y[\{Re_6Se_8\}(SO_3)_6]$ @F-127 характеризуются более широким распределением по размеру (30–190 нм) и большим значением PDI ($\sim 0,18$). ПЭМ-изображения высушенных коллоидных растворов $Na_xGd_y[\{Re_6Q_8\}(SO_3)_6]$ @F-127 ($Q=S^{2-}$ и Se^{2-}) выявили частицы размером 35-72 нм и 57-171 нм для производных $\{Re_6S_8\}$ и $\{Re_6Se_8\}$, соответственно. Учитывая предыдущую главу, посвященную коллоидным наночастицам на основе кластера $[\{Re_6Q_8\}(CN)_6]^{4-}$, можно сказать, что природа халькогенидов в составе кластерного остова $[\{R_6Q_8\}(SO_3)_6]^{10-}$ также влияет на размер коллоидных частиц.

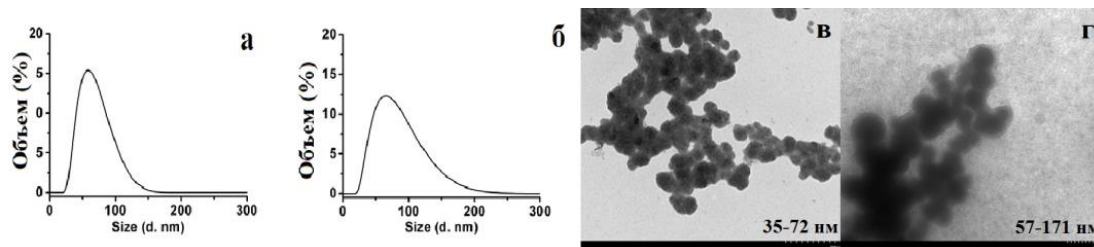


Рисунок 12. Распределение размеров по объему (а, б) водных растворов и ПЭМ-изображения (в, г) высушенных коллоидов $\text{Na}_x\text{Gd}_y[\{\text{Re}_6\text{S}_8\}(\text{SO}_3)_6]$ (а, с) и $\text{Na}_x\text{Gd}_y[\{\text{Re}_6\text{Se}_8\}(\text{SO}_3)_6]$ (б, д), соответственно ($C_{\text{Gd}}=0.06$ мМ, $C_{\text{кластер}}=0.3$ мМ и $C_{\text{F-127}}=0.12$ мМ).

Высушенные коллоиды были охарактеризованы порошковой дифракцией рентгеновских лучей (рис. 13). Диаграммы ПРД высушенных коллоидов (рис. 13) выявили полукристаллическую природу частиц, обусловленную разными характеристиками когерентного рассеяния, возникающего на больших или меньших кристаллических частиц в образцах. Это, в свою очередь, хорошо согласуется с распределением по размерам, полученным по данным ДРС и ПЭМ. Стоит отметить, что ПРД высушенных коллоидов $\text{Na}_x\text{Gd}_y[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{SO}_3)_6]$ не выявляют присутствия исходных кластеров.

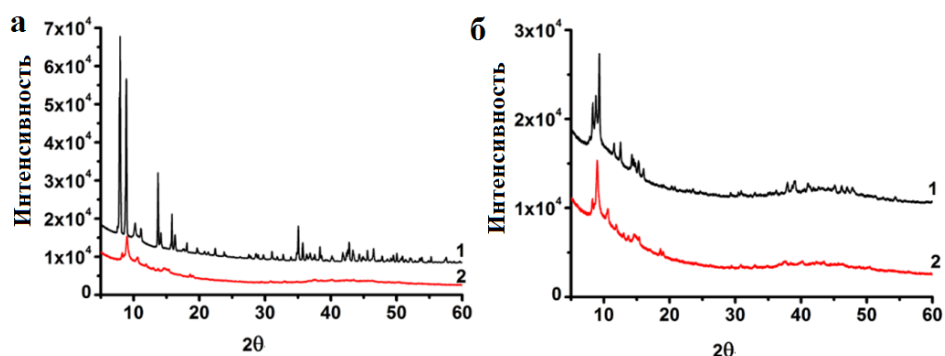


Рисунок 13. Рентгенограммы соединений $\text{Na}_{10}[\{\text{Re}_6\text{S}_8\}(\text{SO}_3)_6]$ (1а) и $\text{Na}_{10}[\{\text{Re}_6\text{Se}_8\}(\text{SO}_3)_6]$ (1б), а также высушенных коллоидов $\text{Na}_x\text{Gd}_y[\{\text{Re}_6\text{S}_8\}(\text{SO}_3)_6]$ (2а) и $\text{Na}_x\text{Gd}_y[\{\text{Re}_6\text{Se}_8\}(\text{SO}_3)_6]$ (2б)

Анализ спектральных данных коллоидов выявил изменение спектра по истечению 72 часов, тогда как в водных растворах кластеров оно

практически не меняется (рис. 14). Принимая во внимание возможность акватации апикальных позиций со временем вследствие лабильности апикальных лигандов, эти изменения объясняются замещением сульфитных лигандов на молекулы H_2O .

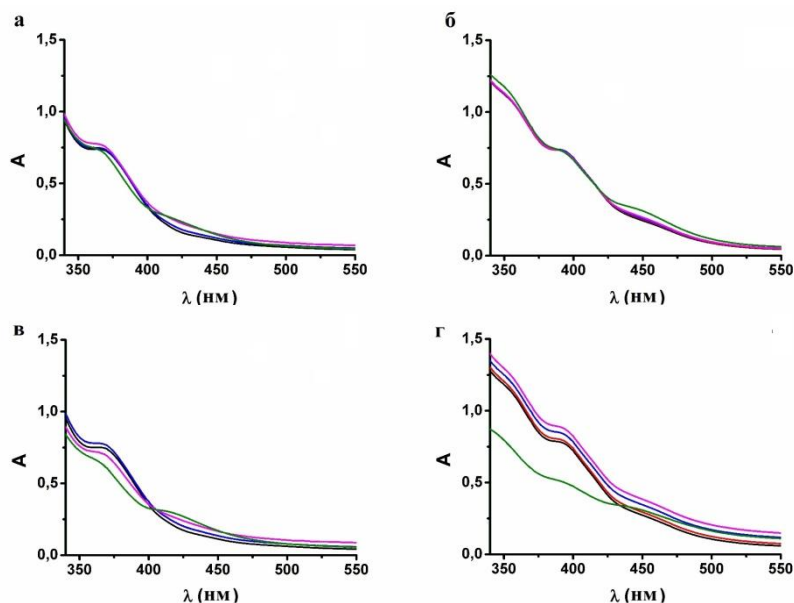


Рисунок 14. УФ-видимые спектры водных растворов $[\{\text{Re}_6\text{S}_8\}(\text{SO}_3)_6]^{10-}$ (а) и $[\{\text{Re}_6\text{Se}_8\}(\text{SO}_3)_6]^{10-}$ (б) и водных коллоидов $\text{Na}_x\text{Gd}_y\{\text{Re}_6\text{S}_8(\text{SO}_3)_6\}$ (в) и $\text{Na}_x\text{Gd}_y[\{\text{Re}_6\text{Se}_8\}(\text{SO}_3)_6]_y$ (г), измеренные в течении 72 часов.

Существенное парамагнитное усиление магнитной релаксации протонов воды в водных коллоидах на основе $\text{Na}_x\text{Gd}_y[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{SO}_3)_6]$ является результатом двух процессов: комплексообразования и самосборки комплексов. Результаты (рис. 15) показывают, что значения продольной и поперечной релаксации для коллоидов, стабилизированных триблок сополимером, $\text{Na}_x\text{Gd}_y[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{SO}_3)_6]@ \text{F-127}$, находятся в пределах $r_1=21.0-25.9 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ и $r_2=24.1-29.8 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ для $\{\text{Re}_6\text{S}_8\}$ и $\{\text{Re}_6\text{Se}_8\}$ соответственно. Коллоидные частицы оказались значительно эффективнее коммерчески доступных контрастных агентов и наночастиц на основе $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{CN})_6]_y$. Таким образом, изменение апикальных групп привело к изменению морфологии частиц и, как следствие, к увеличению релаксивности.

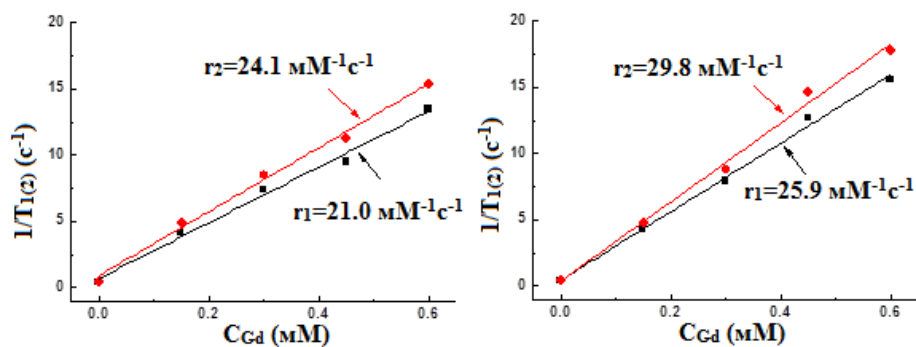


Рисунок 15. Профили зависимостей $1/T_1$ и $1/T_2$ от концентрации Gd^{3+} , измеренные при $25\text{ }^{\circ}C$ и 20 Гц для коллоидов на основе $Na_xGd_y[\{Re_6Q_8\}(SO_3)_6]$, стабилизированных F-127 ($Q = S$ (a) или Se (b); $C(Gd^{3+}) = 0.6\text{ mM}$, $C([\{Re_6Q_8\}(SO_3)_6]^{10-}) = 0.3\text{ mM}$ и $C(F-127) = 0.12\text{ mM}$).

Наличие кластерного ядра $[Re_6Q_8(SO_3)_6]^{10-}$ в составе коллоидов приводит к тому, что, наряду с магнитными свойствами, они обладают люминесценцией. Более того, ранее обнаруженные тенденции для наночастиц на основе $[\{Re_6Q_8\}(CN)_6]^{4-}$, практически не изменились (рис. 16): (1) интенсивность люминесценции так же оказалась выше для коллоидов на основе $[\{Re_6Se_8\}(SO_3)_6]$, (2) перевод кластеров $[\{Re_6Q_8\}(SO_3)_6]$ в наночастицы привел к увеличению интенсивности люминесценции. Таким образом, коллоиды $Na_xGd_y[\{Re_6Q_8\}(SO_3)_6]@F-127$ можно рассматривать как перспективную основу для разработки двойных флуоресцентно-парамагнитных контрастных агентов.

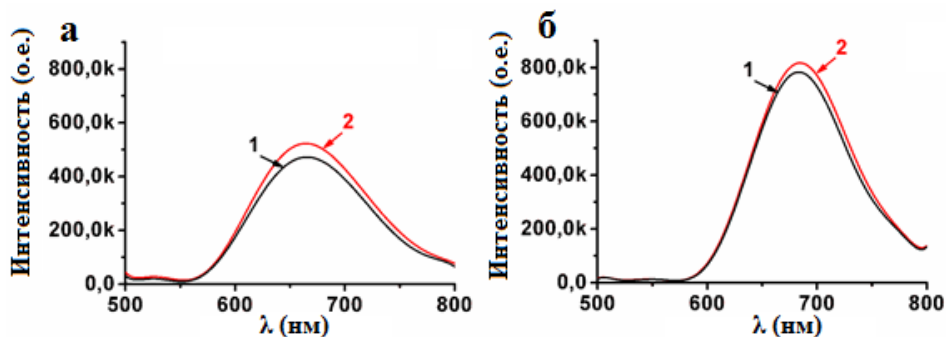


Рисунок 16. Спектры люминесценции растворов солей $Na_{10}[\{Re_6Q_8\}(SO_3)_6]$ (1) и коллоидов $Na_xGd_y[\{Re_6Q_8\}(SO_3)_6]$ (2): a – $Q=S^{2-}$; b – $Q=Se^{2-}$.

3.2.1 Новые контрастные агенты с высокой релаксивностью и низкой токсичностью

Выбор в качестве лиганда для координации ионов гадолиния кеплерата $[\{(Mo)Mo_5O_{21}(H_2O)_6\}_{12}\{Mo_2O_4(OAc)\}_{30}]^{42-}$ (Mo_{132}) обусловлен прежде всего тем, что его комплексы с ионами металлов наиболее подробно описаны в литературе [109-112]. Результаты по использованию Mo_{132} для создания контрастных агентов опубликованы в нашей работе [118].

Добавление Gd^{3+} к раствору Mo_{132} приводило к незамедлительному выпадению осадка, элементный анализ которого выявил атомное соотношение для $Mo:Gd = 9.3:1$, которое с учетом полной нейтрализации можно выразить как $Gd_{14}[\{Mo_6O_{21}(H_2O)_6\}_{12}\{Mo_2O_4(OAc)\}_{30}]$. Таким образом, нейтрализация заряда является движущей силой для образования коллоидных частиц $Gd_x(Mo_{132})_y$. Непрерывное добавление Gd^{3+} к водному раствору $(NH_4)_{42}Mo_{132}$ при интенсивном перемешивании в определенных концентрационных условиях (0.007 и 0.08 мМ для Кр и Gd^{3+}) приводило к образованию коллоидов. Методом динамического рассеяния света (рис. П5) в растворе $Gd_x(Mo_{132})_y$ были обнаружены частицы с $d=200\pm 10$ нм ($PDI=0.06$) и отрицательным электрокинетическим потенциалом ($z = -22\pm 1$ мВ). Оставшийся поверхностный заряд частиц на основе $Gd_x(Mo_{132})_y$ недостаточен для стабилизации коллоидов, что является причиной их агрегации с последующим выпадением в осадок через несколько часов. Анализ спектров порошковой рентгеновской дифракции (ПРД) высушенных образцов коллоидов выявил полукристаллическое состояние компонентов.

Кроме седиментации коллоиды на основе комплексов гадолиния с кеплератом $Gd_x(Mo_{132})_y$ имеют склонность к довольно быстрой окислительной деградации в водных разбавленных растворах [87]. Деградацию оценивали с помощью УФ-видимой спектроскопии при длине волны полосы поглощения (455 нм), характерной для Mo_{132} в водных

растворах (рис. П6). Значения A/A_0 при 455 нм, измеренные для водных коллоидов $Gd_x(Mo_{132})_y$ как функция от времени (рис. 17), показывают, что практически полный распад кеплератов происходит в течении 12 часов (рис.17 кривая 4). Одним из успешных способов увеличения коллоидной и окислительной стабильности комплексов в составе коллоидов является их включение в агрегаты ПАВ или водорастворимых полимеров.

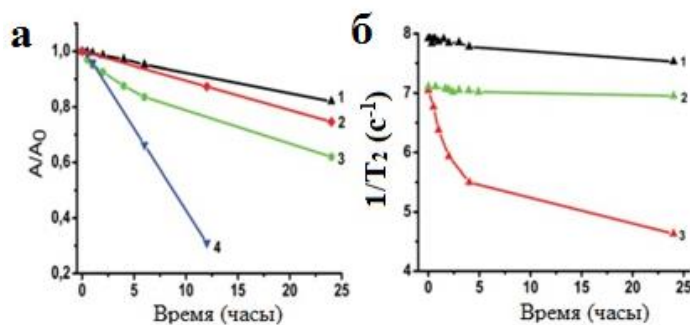


Рисунок 17. (а) Профили зависимостей A/A_0 от времени для коллоидов $Gd_x(Mo_{132})_y$: 1-3 – стабилизированных триблок сополимерами: F-127 (1); F-68 (2); P-123 (3); без стабилизатора (4). (б) Профили зависимостей $1/T_2$ от времени для коллоидов $Gd_x(Mo_{132})_y$: 1-3 – стабилизированных триблок сополимерами: F-127 (1); F-68 (2); P-123 (3); без стабилизатора (4).

Для стабилизации полученных коллоидов $Gd_x(Mo_{132})_y$ (0.007 и 0.08 мМ для Mo_{132} и Gd^{3+}) использовали триблок-сополимеры (плюроники): $(PEO)_{100}-(PPO)_{65}-(PEO)_{100}$ (F-127), $(PEO)_{75}-(PPO)_{30}-(PEO)_{75}$ (P-123) и $(PEO)_{20}-(PPO)_{70}-(PEO)_{20}$ (F-68). Выбор был основан на следующих факторах: все триблок сополимеры (плюроники) обладали низкой цитотоксичностью и образовывали мицеллы при комнатной температуре; разное соотношение PEO к PPO позволяет изучать влияния структуры триблок сополимеров на стабилизацию коллоидов; плюроник P-123 в литературе часто используется как эффективный стабилизатор для полиоксометаллатов; F-127 является стабилизатором при создании лекарственных препаратов.

Значения критической мицеллярной концентрации (ККМ) составляют 0.025, 0.55 мМ и 0.48-1.4 мМ [119] для P-123, F-127 и F-68 соответственно.

Концентрации триблок-сополимеров были оптимизированы с целью повышения стабильности коллоидов $Gd_x(Mo_{132})_y$. На рисунке 17 приведены кривые значений $A/A_0 - t$, измеренные для водных коллоидов $Gd_x(Mo_{132})_y$ и $Gd_x(Mo_{132})_y$, стабилизированных триблок-сополимерами. Результаты показали, что для достижения приемлемо медленной деградации $Gd_x(Mo_{132})_y$ в течение 24 часов, требуется определенная концентрация триблок-сополимера, зависящая от его природы. Необходимая концентрация F-127 составила 0.08 мМ, что не превышает соответствующее значение ККМ. Напротив, более высокая концентрация P-123 (0.5 мМ) требуется для аналогичной степени стабильности, в то время как для разложение $Gd_x(Mo_{132})_y$ все еще значительно в присутствии 0.12 мМ F-68.

Согласно литературным данным мицеллы, образуемые триблок-сополимерами, проявляются в измерениях ДРС как агрегаты размером 15 ± 5 нм [72]. В растворе коллоидов $Gd_x(Mo_{132})_y@P-123$ были обнаружены агрегаты с диаметром 25 ± 5 нм, в то время как агрегаты большего размера (50 ± 7 нм) появляются в коллоидах $Gd_x(Mo_{132})_y@F-127$ и $Gd_x(Mo_{132})_y@F-68$. Следует понимать, что полученные размеры относятся к гидратированному внешнему гидрофильному слою вокруг частиц на основе $Gd_x(Mo_{132})_y$ в соответствии с морфологией ядро-оболочка коллоидов (Схема 2). Измерения малоуглового рентгеновского рассеяния (МУРР) в водных растворах P-123 (0.5 мМ) и $Gd_x(Mo_{132})_y@P-123$ выявили наличие заметных корреляционных пиков, которые указывают на присутствие взаимодействующих агрегатов (рис. П7). Увеличение интенсивности МУРР с увеличением концентрации Gd(III) указывает на формирование микрогетерогенной фазы в результате комплексообразования ионов Gd^{3+} с кеплератами. Анализ графика Гинье выявил радиус инерции R_g , который в дальнейшем был использован для расчета средних радиусов R_{NP} мицелл P-123 и коллоидов $Gd_x(Mo_{132})_y@P-123$ в предположении их сферической формы.

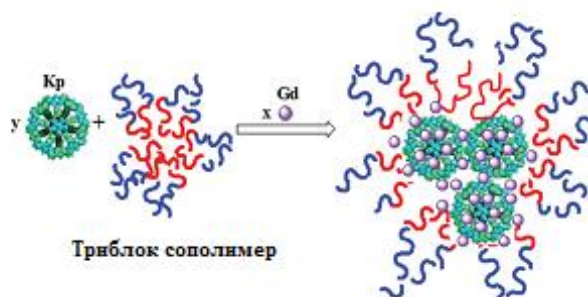


Схема 2. Образование коллоидных агрегатов на основе $Gd_x(Mo_{132})_y$, стабилизированных триблок сополимером.

Значения радиуса R_{NP} для мицелл P-123 и коллоидов $Gd_x(Mo_{132})_y@P-123$ составили 119.3 и 127.7 Å соответственно, что хорошо согласуется с размерами, полученными с помощью метода ДРС ($d_{миц}=23.8$ нм и $d_{кол}=25.5$ нм против $d_{миц}=15\pm 5$ и $d_{кол}=25\pm 5$ нм по данным ДРС). Тем не менее, на измерения ДРС и МУРР влияет внешнее гидрофильное покрытие твердых наночастиц, а также их агрегация. Поэтому для высушенных коллоидных растворов $Gd_x(Mo_{132})_y$ были получены ПЭМ-изображения, которые выявили частицы с размером не более 5.4 нм (рис. 18).

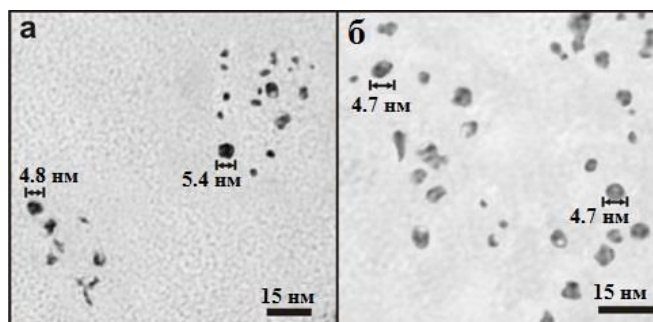


Рисунок 18. ПЭМ-изображения высушенных коллоидных растворов на основе $Gd_x(Mo_{132})_y@F-127$ (а) и $Gd_x(Mo_{132})_y@F-68$ (б)

Хорошо известно [109], что диаметр наночастиц 1–5 нм является оптимальным для высокой продольной релаксивности контрастных агентов (КА), поскольку он обеспечивает замедленное вращение гадолиниевых центров и оптимальное соотношение объема наночастицы к ее площади.

Последнее предопределяет хорошую доступность для молекул воды к ионам Gd^{3+} [114].

В связи с этим для коллоидных растворов, стабилизированных различными триблок сополимерами, были измерены скорости продольной и поперечной магнитной релаксации, которые представлены в виде зависимости от концентрации Gd^{3+} . Значения релаксации r_1 и r_2 рассчитывались по изменению скорости релаксации на единицу концентрации Gd^{3+} (определением тангенса угла наклона).

Для коллоидов на основе $Gd_x(Mo_{132})_y$ (1:11) были получены рекордно высокие значения r_1 и r_2 , которые больше ныне известных в литературе (рис. 19). Результаты можно объяснить как прочным связыванием Gd^{3+} полианионами Mo_{132} , обеспечивающим замедленное вращение, так и эффективной гидратацией парамагнитных ионов. Кроме того, структура триблок-сополимеров также влияет на значения $r_{1(2)}$. В частности, $Gd_x(Mo_{132})_y@F-127$ проявили самую высокую релаксирующую способность, в то время как для P-123 и F-68 значения $r_{1(2)}$ оказались меньше. Принимая во внимание незначительную разницу в размерах наночастиц $Gd_x(Mo_{132})_y$ на ПЭМ-изображениях коллоидов, стабилизированных F-127 и F-68 (рис.17), можно предположить, что толщина гидрофильной оболочки влияет на скорость обмена воды между внутренней сферой Gd^{3+} и раствором. Более высокие значения r_1 и r_2 $Gd_x(Mo_{132})_y@F-127$ по сравнению с другими коллоидами указывают на оптимальное отношение времен вращения и обмена молекулами воды в внутренней сфере, достигаемые за счет применения F- 127. Таким образом, можно предположить, что только F-127 обеспечивает гидрофильную оболочку оптимальной толщины для частиц на основе $Gd_x(Mo_{132})_y$, необходимую для лучшей релаксирующей способности.

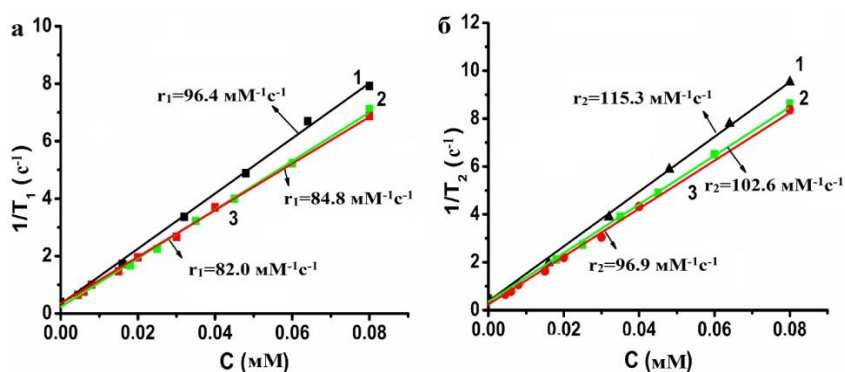


Рисунок 19. Профили зависимостей $1/T_1$ (а) и $1/T_2$ (б) от концентрации Gd^{3+} , измеренные для коллоидов $Gd_x(Mo_{132})_y$, стабилизированных триблок сополимерами: F-127(1), P-123(2) и F-68(3)

Скорости магнитной релаксации отслеживали в течение 25 часов с целью выявить влияние деградации, вызванной временем, и коллоидной нестабильности на релаксирующую способность коллоидов (рис. 17 б). Окислительная деградация коллоидов $Gd_x(Mo_{132})_y$ происходит быстрее всего в присутствии F-68 (рис. 17 а), что хорошо согласуется с уменьшением релаксирующей способности $Gd_x(Mo_{132})_y@F-68$ через 25 часов (рис. 17 б). Тем не менее, скорости релаксации остаются практически неизменными для $Gd_x(Mo_{132})_y$, стабилизированных триблок сополимерами F-127 и P-123, в то время как их УФ-видимые спектры действительно показали заметное разрушение кеплератов. Таким образом, некоторая часть Mo_{132} разрушаются в течение 25 часов, хотя это разрушение не сказывается на связывание ионов гадолиния и скорости их вращения, т.е. частично разрушенный кеплерат остается в составе агрегатов.

Стабильность коллоидов $Gd_x(Mo_{132})_y@F-127$ позволила измерить значения $1/(T_1C)$ и $1/(T_2C)$ на медицинском МР-томографе при 1.5 Тл и 25 С, которые оказались равными $r_1=84.5$ и $r_2=154$ $mM^{-1}s^{-1}$ соответственно. Принимая во внимание хорошо известную тенденцию к уменьшению r_1 и увеличению r_2 с ростом напряженности магнитного поля [89], измеренные значения коррелируют со значениями, полученными при 0.47 Тл (рис. 19), и,

таким образом, удовлетворяют предпосылкам для хорошего контрастного эффекта в T_1 -взвешенных МРТ-изображениях.

Очевидно, что для применения в качестве КА для МРТ живых тканей коллоиды на основе $Gd_x(Mo_{132})_y$ должны обладать низкой цитотоксичностью. Цитотоксичность свободных кеплератов достаточно высока из-за токсичности молибдатов, образующихся при их разрушении [120]. В нашем случае замедленное разрушение коллоидов приводит к незначительному высвобождению токсичных молибдатов, что является основной причиной низкой цитотоксичности коллоидов, хотя токсичность триблок сополимеров также может вносить вклад в общую цитотоксичность коллоидов. Однако ингибирующие концентрации (IC50) F-68 и F-127 (8 и 4.8 мМ соответственно [121,122]) указывают на их незначительный вклад в цитотоксичность в условиях применяемых концентраций, в то время как более высокая цитотоксичность P-123 (IC50 = 0.9 мМ) может ухудшить жизнеспособность клеток в присутствии коллоидов, стабилизированных P-123. На рисунке 20 показана жизнеспособность клеток WI-38 VA 13 в присутствии коллоидов с концентрациями Gd^{3+} 0.08, 0.04 и 0.02 мМ, что, в свою очередь, соответствует высоким значениям $1/T_1$ и $1/T_2$. (Рис. 18). Результаты (рис. 20) указывают на очень низкую цитотоксичность синтезированных коллоидов, стабилизированных F-68 и F-127, в то время как в случае коллоидов, стабилизированных P-123, наблюдается небольшое увеличение цитотоксичности, что связано с более высоким вкладом P-123 в общую цитотоксичность системы.

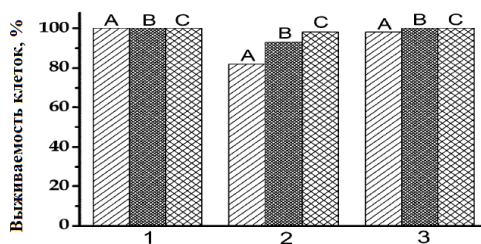


Рисунок 20. Выживаемость клеток трахеи в присутствии коллоидов $Gd_x(Mo_{132})_y$, стабилизированных триблок сополимерами F-127(1), P-123(2) и F-68(3) при различных концентрациях Gd^{3+} : 0.08 (A), 0.04(B), 0.02(c) мМ

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

3.2.2.1 Комплексообразование кеплератов различной структуры с Gd^{3+}

Как было показано ранее, связывание ионов гадолиния с кеплератом $Mo_{132}(OAc)$ приводило к существенному увеличению релаксивностей r_1 и r_2 гадолиния с 14 и 16 до 95 и 114 $mM^{-1}s^{-1}$, благодаря комплексообразованию с последующей агрегацией и образованием коллоидов. Для изучения влияния структурных факторов кеплератов $Mo_{132}(OAc)$, $Mo_{132}(HPO_4)$ и $Mo_{132}(\mu-S, OAc)$ были измерены значения $1/(T_{1(2)}C)$ при постоянной концентрации кеплерата и варьируемой концентрации гадолиния. Результаты, обсуждаемые в этой главе, опубликованы в статье [123].

Таблица 4. Структуры кеплератов, используемых в работе

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

На рисунке 21 приведены графики зависимостей $1/(T_{1(2)}C)$ от соотношения концентраций $Gd:Kp$, которые использовали для определения магнитной релаксации, приходящихся на ионы Gd^{3+} . Наибольшие значения релаксивностей для всех кеплератов выявили при соотношении $Gd:Kp=1:1$. Этот факт указывает на то, что наибольшая магнитная релаксивность является результатом комплексообразования кеплератов с Gd^{3+} при эквимольном соотношении. Дальнейшее уменьшение скоростей продольной и поперечной скоростей $1/(T_{1(2)}C)$ с увеличением содержания Gd^{3+} симбатно для $Mo_{132}(OAc)$ и $Mo_{132}(HPO_4)$ (зависимости 1 и 2 на рисунке 21). На рисунке 21 для зависимостей 1 и 2 хорошо заметны 3 точки излома. В

интервале соотношения Gd:Кр от 0 до 1:3 наблюдается резкое снижение значений $1/(T_{1(2)}C)$, после чего следует более плавное снижение, достигающее уровня насыщения при 1:8. После соотношения Gd:Кр=11:1 следует дальнейшее уменьшение $1/(T_{1(2)}C)$. Таким образом, для $Mo_{132}(OAc)$ и $Mo_{132}(HPO_4)$ наблюдаются 3 точки излома при соотношениях Gd:Кр при 3:1, 8:1 и 11:1. Стоит отметить, что в интервале соотношения 3:1 - 8:1 наблюдается большее понижение $1/(T_{1(2)}C)$ для $Mo_{132}(HPO_4)$. Для $Mo_{132}(\mu-S)$ значения $1/(T_{1(2)}C)$ существенно ниже значений, наблюдаемых для $Mo_{132}(OAc)$ и $Mo_{132}(HPO_4)$. Более того, зависимости $1/(T_{1(2)}C)$, измеренные при различных соотношениях Gd: $Mo_{132}(\mu-S)$, имеют единственную точку излома при соотношении 3:1, после которой наблюдается плавное понижение.

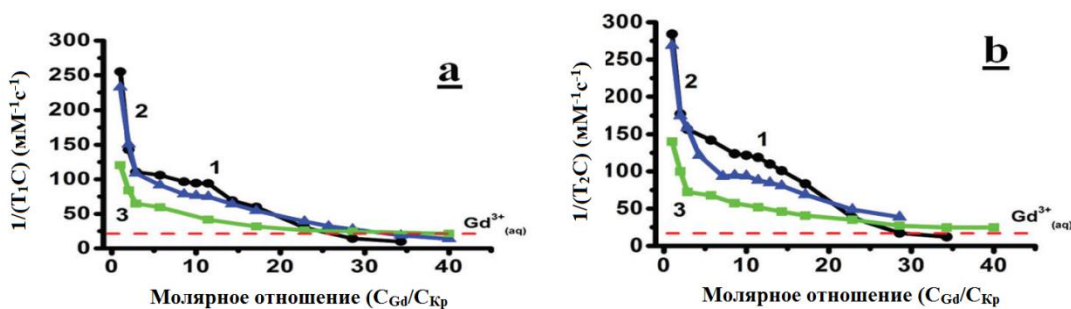


Рисунок 21. Профили зависимостей $1/(T_{1(2)}C)$ от молярного соотношения C_{Gd}/C_{Kp} при постоянной концентрации кеплератов (0.007 мМ) и варьируемой концентрации Gd^{3+} для: 1 – $Mo_{132}(OAc)$; 2 – $Mo_{132}(HPO_4)$; 3 – $Mo_{132}(\mu-S)$.

Из литературы [109-112] хорошо известно, что кеплераты могут координировать катионы, как на поверхности, так и во внутренней полости. Связывание ионов металлов во внутренней полости кеплерата в основном обусловлено координационной способностью анионов, в нашем случае это CH_3COO^- и HPO_4^{2-} . Таким образом, координация внутри кеплератной сферы сопровождается частичной дегидратацией внутренней сферы ионов металлов [109-112], что должно быть причиной уменьшения значений скоростей

релаксации $1/(T_{1(2)}C)$ согласно теории Соломона – Бломбергена – Моргана [114].

Хорошо известно, что измеряемые скорости продольной и поперечной релаксации молекулярных комплексов Gd^{3+} , главным образом, зависят от внутрисферного вклада $r_{1(2)}^{IS}$, определяемого взаимодействием ионов Gd^{3+} с молекулами воды во внутренней координационной сфере. Уравнение (3) демонстрирует взаимосвязь между релаксивностью воды внутри сферы $r_{1(2)}^{IS}$ с гидратным числом (q), временами релаксации $T_{1(2)}$ протонов координированных молекул воды внутренней сферы ($T_{1(2)m}$) и время жизни молекул воды (t_m). В свою очередь, $1/T_{1(2)m}$ является функцией корреляционного времени, которая в случае комплексов Gd^{3+} определяется динамикой вращения (τ_r^{-1}) комплексов в растворе [114]. Таким образом, связывание Gd^{3+} с гигантскими сферическими кеплератами замедляет вращение ионов Gd^{3+} , что является причиной увеличения значений r_1 и r_2

Сравнение профилей зависимости $1/(T_{1(2)}C)$ для $Mo_{132}(OAc)$, $Mo_{132}(HPO_4)$ и $Mo_{132}(\mu-S)$, обладающих одинаковым пентагоном и разными линкерами, позволило изучить структурные зависимости. Согласно литературным данным [109-112], ионы металлов в комплексе с кеплератами можно разделить на частично дегидратированные ионы металлов, координированные внутри кеплерата, и гидратированные ионы, связанные в порах $\{Mo_9O_9\}$. Для удобства, в дальнейшем будут обозначаться как внутренняя и внешняя координированные.

На рисунке 21 хорошо видно, что наибольшие значения $1/(T_{1(2)}C)$ наблюдаются при эквимольном соотношении ($Gd: Kp=1:1$). Это указывает на достижение оптимальных значений времен вращение комплекса, времен нахождения молекул воды во внутренней сфере Gd^{3+} , и высокую степень гидратации Gd^{3+} . Дальнейшее уменьшение значений $1/(T_{1(2)}C)$ указывает на изменение вышеуказанных параметров при увеличении концентрации ионов Gd^{3+} .

В структуре обоих кеплератов $\text{Mo}_{132}(\text{OAc})$ и $\text{Mo}_{132}(\text{HPO}_4)$ есть 20 пор $\{\text{Mo}_9\text{O}_9\}$, способных связывать ионы Gd^{3+} с сохранением гидратной оболочки. По-видимому, при соотношении $\text{Gd}:\text{Kp}=1:1$ такое связывание наиболее вероятно. Это является причиной максимальной магнитной релаксивности. Дальнейшее увеличение стехиометрии с 1: 1 до 3: 1, по-видимому, приводит к более глубокой инкапсуляции акваионов Gd^{3+} в поры Mo_9O_9 , что, в свою очередь, понижает скорость обмена молекул воды.

Существенное отклонение между кривыми 1 и 2 на рисунке 21 возникает, когда отношение $\text{Gd}:\text{Kp}$ превышает 3: 1. Это показывает реальную разницу в сродстве Gd^{3+} для $\text{Mo}_{132}(\text{OAc})$ и $\text{Mo}_{132}(\text{HPO}_4)$. Уменьшение более выражено для $\text{Mo}_{132}(\text{HPO}_4)$. Причиной тому является разница в заряде и структуре анионов, заполняющих внутреннюю полость этих двух кеплератов. Более высокий заряд и связывающая способность HPO_4^{2-} по сравнению с CH_3COO^- , приводит, по-видимому, к более сильному связыванию Gd^{3+} с фосфатом. Однако нельзя забывать о том, что нейтрализация заряда комплексов кеплератов по мере увеличения количества связанных ионов Gd^{3+} сопровождается их агрегацией. В свою очередь агрегация является еще одним фактором, влияющим на релаксивность.

Следовательно, наблюдаемая разница в значениях скоростей релаксации $1/(T_{1(2)}C)$ при увеличении соотношения $\text{Gd}:\text{Kp}$ 3:1-8:1 указывает на появление вклада внутрисферной координации ионов Gd^{3+} для $\text{Mo}_{132}(\text{HPO}_4)$ посредством HPO_4^{2-} . Такое связывание приводит к накоплению ионов Gd^{3+} с частично дегидратированной оболочкой.

Как уже упоминалось (рис. 21), значения релаксивностей $1/(CT_{1(2)})$ достигают уровней насыщения при аналогичных отношениях $\text{Gd}:\text{Kp}$ (от 8: 1 до 11: 1) для обоих кеплератов. Этот факт указывает на то, что оба кеплерата, по-видимому, образуют комплексы с аналогичной стехиометрией, несмотря на различие заряда. При насыщении кеплератов $\text{Mo}_{132}(\text{OAc})$ и $\text{Mo}_{132}(\text{HPO}_4)$ гадолинием наблюдается разница в релаксивностях. Дальнейшее понижение значений релаксивностей $1/(T_{1(2)}C)$ для обоих кеплератов при соотношениях

больших 11:1 является результатом накопления «квазисвободных» акваионов Gd^{3+} со значениями r_1 и r_2 , значительно меньшими, чем у ионов Gd^{3+} , прочно связанных с кеплератами. Уменьшение релаксивностей более выражено для $Mo_{132}(OAc)$, чем для $Mo_{132}(HPO_4)$. Добавление к раствору $Mo_{132}(OAc)$ Gd^{3+} в более чем 11-кратном молярном избытке приводит к помутнению раствора, что свидетельствует об осаждении электронейтрального комплекса со стехиометрией 12:1. Для $Mo_{132}(HPO_4)$ уменьшение релаксивностей более плавное и охватывает более широкий диапазон отношений Gd: Кр.

Это различие можно объяснить более высоким отрицательным зарядом и большей связывающей способностью $Mo_{132}(HPO_4)$. Тем не менее общая связывающая способность кеплератов $Mo_{132}(OAc)$ и $Mo_{132}(HPO_4)$ с Gd^{3+} не коррелирует с их зарядами, что указывает на неполное замещение противоионов аммония лантанидом. Этот факт согласуется с данными рентгеновского исследования, показывающими только частичное замещение NH_4^+ ионами Ln^{3+} во внутренней полости производного кеплерата с линкерами $\{Mo_2O_4(SO_4)\}$ [109-112].

Внутренние полости $Mo_{132}(OAc)$ и $Mo_{132}(\mu-S)$ обладают одними и теми же анионами CH_3COO^- , однако, поры $\{Mo_9O_9\}$ и $\{Mo_9O_6S_3\}$ обладают разной координационной емкостью по отношению к ионам Gd^{3+} . Более низкие значения релаксивностей $1/(T_{1(2)}C)$ при различных соотношениях Gd:Кр указывают на большую долю «квазисвободных» акваионов Gd^{3+} в растворах $Mo_{132}(\mu-S)$ с порами $\{Mo_9O_6S_3\}$ при том же соотношении Gd:Кр. Это указывает на менее эффективное связывание Gd^{3+} с «более мягкими» и менее основными порами $\{Mo_9O_6S_3\}$.

3.2.2.2 Стабилизация комплексов Gd^{3+} с кеплератами в водных растворах

Высокая магнитная релаксация протонов воды в водных растворах Gd^{3+} , связанных с $Mo_{132}(OAc)$ и $Mo_{132}(HPO_4)$, благоприятствует к созданию

положительных T_1 -контрастных агентов на их основе. Однако к контрастным агентам предъявляются жесткие условия: высокая стабильность и низкая цитотоксичность.

К сожалению, водные растворы кеплератов при собственном $pH=4.5-5.0$ подвергаются окислительной деградации, которая приводит к образованию токсичных молибдатов [120]. В предыдущей главе было показано, что данный эффект можно минимизировать за счет «самосборки» комплексов $Gd_x\{Mo_{132}(OAc)\}_y$ с последующей коллоидной стабилизацией.

Перевод гадолиний содержащих комплексов на основе кеплератов в коллоиды представляет эффективный способ повышения химической стабильности при условии, что размер коллоидных частиц остается достаточно малым (2–6 нм) [114] для обеспечения высокой магнитной релаксации коллоидов.

Процесс окислительной деградации выявляли путем измерения спектров поглощения во времени и оцениванием интенсивности полосы при 455 нм (рис. П9). На рисунке 22 а представлена зависимость A/A_0 от времени. Результаты выявили разницу в химической стабильности кеплератов с различной структурой. Наименьшей стабильностью обладает $Mo_{132}(OAc)$, но его перевод в коллоидное состояние при насыщении Gd^{3+} (11.4:1) с последующим значительно повышает стабильность. Зависимости интенсивности поглощения при 455 нм от времени (рисунок 22 а), измеренные для коллоидов, образованных при соотношении $Mo_{132}(OAc):Gd=11.4:1$ и различных концентрациях триблок сополимера F-127 указывают на то, что стабильность коллоидов может быть дополнительно увеличена при 0.32 мМ F-127. Для перевода $Mo_{132}(HPO_4)$ в коллоидное состояние требуется большее количество Gd^{3+} , чем для $Mo_{132}(OAc)$. Данный факт естественно связан с зарядом $Mo_{132}(HPO_4)^{-72}$, что требует большего количества связанных ионов Gd^{3+} для нейтрализации. Оптимальное соотношение $Gd:Mo_{132}(HPO_4)$ оказалось равным 14.3:1. Подобные факторы были приняты во внимание при оптимизации условий

концентрирования для образования комплекса с $\text{Mo}_{132}(\mu\text{-S})$. Соотношение $\text{Gd}:\text{Mo}_{132}(\mu\text{-S})$ снизили до 5.7:1, не уменьшая при этом стабильность, поскольку $\{\text{Mo}_2\text{O}_2\text{S}_2\}$ менее склонен к окислению, чем $\{\text{Mo}_2\text{O}_4\}$. Рисунок 21 показывает, что коллоиды на основе кеплератов стабильны как минимум в течение двух суток.

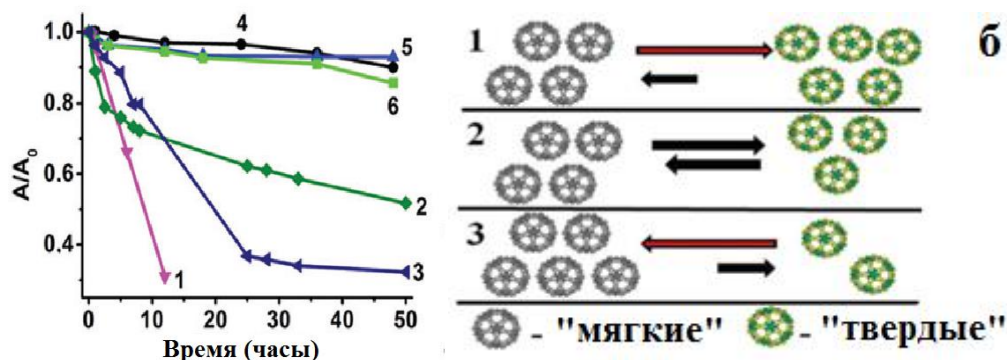


Рисунок 22. (а) Значения A/A_0 (455 нм) как функция времени для растворов: 1 – 0.007 мМ $\text{Mo}_{132}(\text{OAc})$; 2 – 0.007 мМ $\text{Mo}_{132}(\text{HPO}_4)$; 3 – 0.007 мМ $\text{Mo}_{132}(\mu\text{-S})$; 4,5,6 – коллоиды, стабилизированные триблок сополимером F-127, на основе кеплератов $\text{Mo}_{132}(\text{OAc})$ (4), $\text{Mo}_{132}(\text{HPO}_4)$ (5) и $\text{Mo}_{132}(\mu\text{-S})$ (6), связанных с гадолинием в количестве 0.08 мМ, 0.1 мМ и 0.04 мМ соответственно.

3.2.2.3 Оценка размеров кеплератов и их комплексов с Gd^{3+} в высушенном виде и растворе.

Размер кеплератов (29.4 Å) и их высокая электронная плотность являются причинами, по которым для изучения размера кеплератов в растворе метод малоуглового рассеяния рентгеновских лучей (МУРР) более корректен, чем ДРС. Более того, быстрая деградация кеплератов в разбавленных растворах накладывает условие проводить измерения в довольно концентрированных (1 мМ) растворах, где межмолекулярные взаимодействия и явления агрегации ограничивают точную оценку размера методом ДРС. $\text{Mo}_{132}(\text{OAc})$ был выбран для измерений методом МУРР,

поскольку его гадолиниевые комплексы Gd^{3+} демонстрируют самую высокую релаксирующую способность по сравнению с $Mo_{132}(HPO_4)$ и $Mo_{132}(\mu-S)$. Измерения МУРР выполняли в водных концентрированных растворах $Mo_{132}(OAc)$ при pH 4.5–5.0 и после подкисления уксусной кислотой с вычитанием рассеяния растворителя. Интеграция двумерных изображений рассеяния рентгеновских лучей привела к появлению одномерных кривых малоуглового рассеяния (рис. 23) для подкисленного и неподкисленного растворов кеплератов, которые похожи между собой. Наблюдаемое рассеяние характерно для монодисперсных наночастиц без заметной агрегации. Снижение интенсивности в области наименьших значений волнового вектора свидетельствует о слабом взаимодействии кеплератных полианионов в чистой воде, тогда как увеличение интенсивности в этом конкретном диапазоне наблюдается в подкисленном растворе. Это различие можно объяснить усилением межмолекулярных взаимодействий и последующей агрегацией кеплерата из-за нейтрализации заряда вследствие взаимодействия с противоионами в подкисленных растворах $Mo_{132}(OAc)$. Тем не менее, обе кривые очень похожи в широком диапазоне значений волнового вектора. Дальнейшая аппроксимация данных малоуглового рассеяния в глобулярной модели с помощью программы PRIMUS58 (рис. 23 б) дала значения $p(r)$, которые представляют собой расстояние между частицами как функцию распределения (рис. 23 в). Аппроксимация данных с помощью Фурье-анализа позволила более точно рассчитать радиус. Более того, такой подход дал возможность минимизировать эффекты межчастичного вмешательства из-за процессов агрегации [100]. Аппроксимация данных для $Mo_{132}(OAc)$ (1 мМ) в водном растворе дала следующие параметры, рассчитанные в обратном (0) и реальном пространстве: радиусы инерции $R_g = 13.03 \text{ \AA}$ и $R_g = 13.02 \pm 0.01 \text{ \AA}$, интенсивности при нулевом угле $I(0)' = 1153$ и $I(0) = 1153 \pm 1$. Объемы, занимаемые гидратированными частицами в растворе, были определены с

использованием инвариантной асимптотики Порода и дали значение, близкое к 10106 \AA^3 .

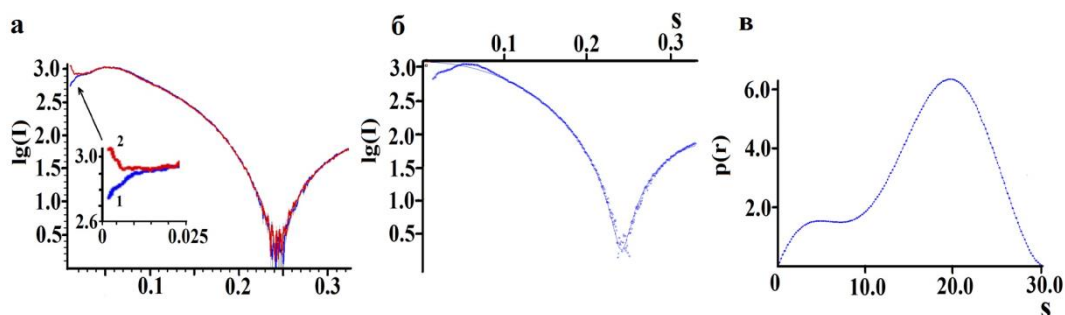


Рисунок 23. Профили интенсивности МУРР при 23°C в логарифмической шкале для раствора Mo_{132} (1) в водном и подкисленном растворе(2);б – Описание профиля интенсивности,в – рассчитанные расстояния как функции $p(r)$ для водного раствора $\text{Mo}_{132}(\text{OAc})$.

Стоит отметить, что распределение интенсивности МУРР для водных растворов $\text{Mo}_{132}(\text{OAc})$ и соответствующая функция $p(r)$, типичны для наноструктуры ядро-оболочка. Эта тенденция хорошо согласуется с данными рентгеновского исследования [124], показывающими, что кеплераты представляют собой отрицательно заряженные капсулы, построенные из атомов молибдена и кислорода, в то время как их полости преимущественно заполнены молекулами воды и анионами, которые вместе обеспечивают меньшую электронную плотность, чем поверхность кеплератов. Подобная подгонка данных для подкисленных растворов 1 (рис. П10) приводит к следующим параметрам, вычисленным в обратном (0) и реальном пространстве: радиус инерции, $R_g' = 13,33 \text{ \AA}$ и $R_g = 13,25 \pm 0,02 \text{ \AA}$, интенсивности при нулевом угле $I(0) = 1210$ и $I(0) = 1219 \pm 4$, наиболее характерный размер частицы $D_{\text{max}} = 32,1 \text{ \AA}$.

Таким образом, значения R_{g0} и R_g , вычисленные в обратном (0) и реальном пространстве, как правило, довольно близки друг к другу и в случае модели сферической формы соответствуют среднему эффективному радиусу частиц $16.8\text{--}17.2 \text{ \AA}$ (диаметр $3.3\text{--}3.4 \text{ нм}$). Согласованность этих

значений с максимальным размером части (около 3.2 нм) свидетельствует о сферической форме кеплерата в растворе. Более того, полученный размер хорошо согласуется с размером, обнаруженным по рентгеновским данным.

Хорошо известно, что метод динамического рассеяния света (ДРС) является достаточно точным инструментом для анализа гидрофильных коллоидов. В предыдущей главе была показана хорошая корреляция между значениями размеров, полученными с помощью МУРР и ДРС. Таким образом, измерения ДРС были выполнены для выявления размера агрегатов в водных растворах: Gd-Mo₁₃₂(OAc) (соотношение 11.4:1), Gd:Mo₁₃₂(HPO₄) (соотношение 14.3:1) и Gd:Mo₁₃₂(μ-S) (соотношение 5.7:1). Полученное распределение по размерам, представленное на рисунке 24, выявило агрегаты со средним размером 100, 200 и 30 нм для кеплератов Mo₁₃₂(OAc), Mo₁₃₂(HPO₄) и Mo₁₃₂(μ-S) соответственно. Стабилизация коллоидов триблок сополимером F-127 (0.32 мМ) привело к значительному уменьшению размера, что также показано на рисунке 24. Тем не менее, разница в мутности растворов с разными кеплератами заметна невооруженным глазом (рис. 24). Следует отметить, что комплексы Gd³⁺ с кеплератами находятся в равновесии со своими агрегатами в синтезированных водных коллоидах. Более того, равновесие между агрегированными и «мономерными» комплексами зависит как от отношения Gd³⁺ к кеплерату, так и от природы кеплерата. В частности, равновесие в основном смещается в сторону агрегированных комплексов, которые можно рассматривать как «твердые» компоненты коллоидов на основе Кр. Более низкие соотношения, применяемые в коллоидном синтезе для Mo₁₃₂(HPO₄) и Mo₁₃₂(μ-S), смещают равновесие в сторону «мономерных» комплексов, которые можно обозначить как «мягкие» компоненты. Таким образом, разница в мутности коллоидов (рис. 24) хорошо согласуется с долей «жесткого» и «мягкого» компонентов коллоидов для каждого случая, что схематично представлено на рисунке 22 б.

Стоит отметить, что средний размер частиц, полученный методом ДРС в коллоидах, стабилизированных F-127, показывает размер гидратированного

внешнего слоя коллоидных частиц, в то время как внутренний размер агрегированных комплексов по данным ДРС неизвестен. Размер твердых агрегатов на основе комплексов кеплератов можно получить при помощи ПЭМ-изображений высушенных образцов. Для всех коллоидных растворов были выявлены сверхмалые размеры частиц, в частности, для кеплератов $\text{Mo}_{132}(\text{OAc})$ и $\text{Mo}_{132}(\text{HPO}_4)$ размеры варьируются от 1 до 5 нм, а наибольший размер для $\text{Mo}_{132}(\mu\text{-S})$ составляет 2.5 нм.

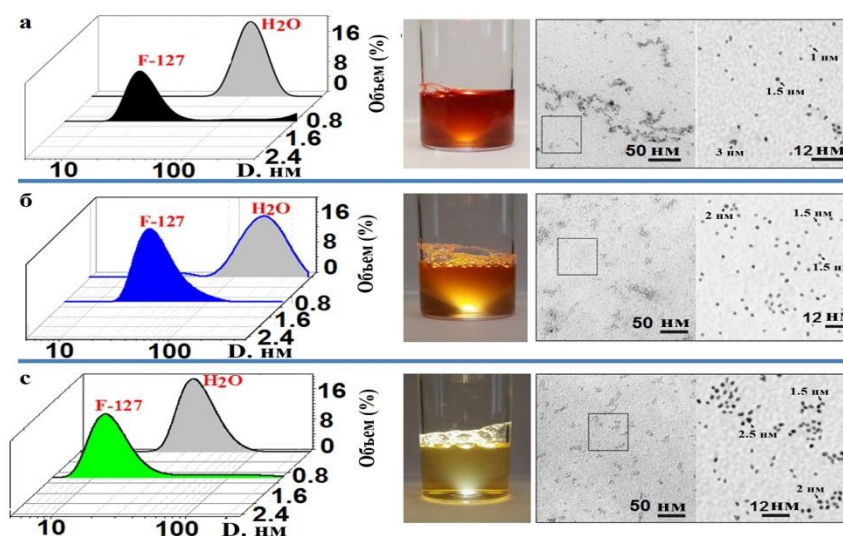


Рисунок 24. Слева направо: распределение по объему размеров частиц, полученных методом ДРС; фотография и ПЭМ-изображения высушенных коллоидов: а – $\text{Gd}_x(\text{Mo}_{132}(\text{OAc}))_y$; б – $\text{Gd}_x(\text{Mo}_{132}(\text{HPO}_4))_y$; с – $\text{Gd}_x(\text{Mo}_{132}(\mu\text{-S}))_y$.

3.2.2.4. Магнитная релаксация, стабильность в буферных растворах белков и цитотоксичность синтезированных коллоидов.

На рисунке 25 представлены скорости магнитной релаксации синтезированных коллоидов при различных концентрациях Gd^{3+} . Значения релаксации τ_1 и τ_2 рассчитывали определением тангенса угла наклона приведенных зависимостей. Наибольшие значения продольной τ_1 и поперечной τ_2 релаксаций были получены для $\text{Mo}_{132}(\text{OAc})$. Замещение в структуре кеплерата ацетатного аниона CH_3COO^- на гидрофосфатный HPO_4^{2-}

приводило к дополнительному связыванию ионов Gd^{3+} с частично дегидратированной координационной сферой. Более низкая релаксирующая способность коллоидов на основе $Mo_{132}(\mu-S)$ указывает на менее эффективную координацию ионов Gd^{3+} порами $\{Mo_9O_6S_3\}$ по сравнению с $\{Mo_9O_9\}$, что вероятно обусловлено изменением их размера.

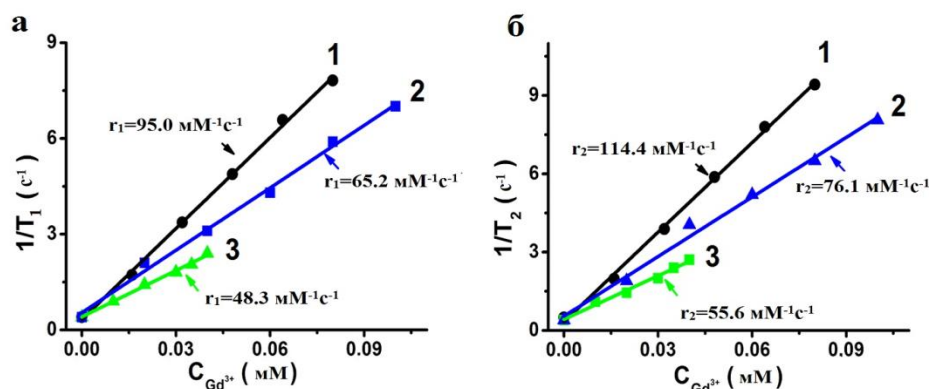


Рисунок 25. Зависимости $1/T_1$ (a) и $1/T_2$ (b) от концентрации Gd^{3+} , измеренные для: 1 – $Gd_x(Mo_{132}(OAc))_y$; 2 – $Gd_x(Mo_{132}(HPO_4))_y$; 3 – $Gd_x(Mo_{132}(\mu-S))_y$.

Для дальнейшего биомедицинского применения коллоиды на основе Gd^{3+} должны обладать стабильностью в плазме крови и низкой токсичностью. В работе использовали буферные растворы (раствор Дульбекко) бычьего сывороточного альбумина (БСА), который выступает в качестве простейшей модели плазмы крови. На рисунке 26 приведены значения $1/(T_{1(2)}C)$ синтезированных коллоидов, измеренные как в растворах БСА на основе буфера Дульбекко, так и в буферах Дульбекко. Результаты показывают наиболее выраженное снижение $1/(T_{1(2)}C)$ для коллоидов на основе $Mo_{132}(OAc)$ и $Mo_{132}(HPO_4)$ (около 50%), в то время как снижение незначительное (около 10%) для коллоидов на основе $Mo_{132}(\mu-S)$. Наблюдаемое снижение значений $1/(T_{1(2)}C)$ свидетельствует об уменьшении концентрации связанных с кеплератом ионов гадолиния и об увеличении количества акваионов гадолиния, имеющих почти на порядок более низкую

релаксивность (14 и $16 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$). Стоит отметить более резкое снижение $1/(T_{1(2)}C)$ для коллоидов в растворе Дульбекко без БСА (рис. 26).

Уменьшение скорости магнитной релаксации (рис. 26) указывает на деградацию комплексов Gd^{3+} -кеплерат в растворах DPBS. В частности, возможен как ионный обмен $\text{Gd}^{3+}/\text{Na}^{+}$ из-за большого избытка ионов натрия, так и конкурирующее связывание Gd^{3+} с гидрофосфатами в растворах DPBS. Поскольку коллоиды на основе различных кеплератов находятся в равновесии с молекулярными комплексами кеплератов с Gd^{3+} , степень деградации молекулярных комплексов в основном определяется их термодинамической стабильностью.

Взаимодействие как «жестких», так и «мягких» компонентов коллоидов с ионным фоном в буферных растворах и с молекулами БСА, по-видимому, влияет на равновесие между ними. Агрегация коллоидных частиц в буферных растворах - хорошо известная причина снижения их магнитно-релаксационных свойств, в то время как взаимодействие с БСА может улучшить коллоидную стабильность.

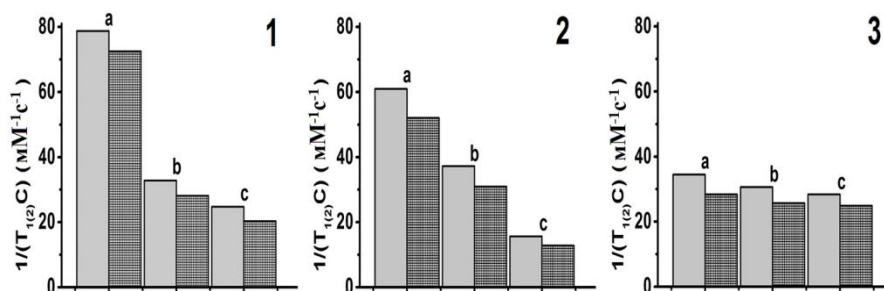


Рисунок 26. Значения $1/(T_2C)$ (серый блок) и $1/(T_1C)$ (темно-серый блок) измеренные в водном растворе (a), растворе Дульбекко (b) и растворе БСА в буфере Дульбекко (c) для коллоидов: 1 – $\text{Gd}_x(\text{Mo}132)_y$; 2 – $\text{Gd}_x(\text{Kp}_2)_y$; 3 – $\text{Gd}_x(\text{Kp}_3)_y$.

Влияние синтезированных коллоидов на жизнеспособность клеток зависит от нескольких факторов, в том числе от собственной токсичности кеплератов и ионов Gd^{3+} . Цитотоксичность коллоидов оценивали путем

измерения жизнеспособности двух клеточных линий, а именно Wi-38 и клеток печени при разных концентрациях коллоидов. Результаты, представленные на рисунке 27, показывают жизнеспособность клеток при инкубации с различными количествами коллоидов в течение 24 часов. Обнаружено, что цитотоксический эффект коллоидов увеличивается при увеличении концентрации (рис. 27). Это, в свою очередь, указывает на ограниченную концентрацию коллоидов, при которой цитотоксический эффект незначителен в применяемых условиях инкубации. Тем не менее, высокие значения r_1 и r_2 коллоидов на основе $Gd_x(Mo_{132}(OAc))_y$ (рис. 25) являются предпосылкой для значительного контрастирующего эффекта даже при их низких концентрациях. Также стоит отметить, что цитотоксический эффект аналогичен для коллоидов на основе $Gd_x(Mo_{132}(OAc))_y$, $Gd_x(Mo_{132}(HPO_4))_y$ и $Gd_x(Mo_{132}(\mu-S))_y$, хотя для них характерны разные соотношения Gd: кеплерат. Этот результат подтверждает, что соотношения оптимальны для минимизации выхода токсичных молекул кеплерата и ионов Gd^{3+} из коллоида в раствор.

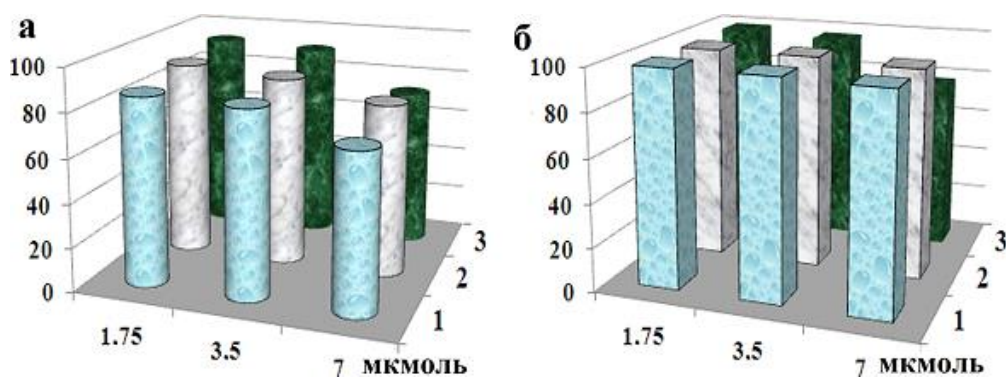


Рисунок 27. Жизнеспособность клеточных линий легкого эмбриона человека (а) и печени (б), инкубированных с коллоидами $Gd_x(Mo_{132}(OAc))_y$ (серый блок), $Gd_x(Mo_{132}(HPO_4))_y$ (белый блок) и $Gd_x(Mo_{132}(\mu-S))_y$ (темно-серый блок) при различных концентрациях кеплерата.

3.2.2.5 Поведение коллоидных растворов $Gd_x(Mo_{132}(OAc))_y$ и $Gd_x(Mo_{132}(HPO_4))_y$ в полях различной частоты.

Для фундаментального исследования молекулярных и наноразмерных комплексов гадолиния часто прибегают к анализу зависимости магнитно-релаксационных параметров в зависимости от частоты переменного магнитного поля. Большинство релаксометров дают возможность оценки магнитно-релаксационных параметров при двух частотах, в то время как оборудованием, позволяющим оценивать частотные профили значений $1/T_{1(2)}$ оснащены только отдельные научные центры, один из которых находится в Италии (г. Бари). В соответствии с уравнением Б-П-С [114] такие параметры, как количество молекул воды, скорость обмена молекул воды, время вращения комплекса и релаксация электронного спина определяют амплитуду и форму частотных профилей $1/T_{1(2)}$, получаемых для комплексов гадолиния. В результате частотные профили $1/T_{1(2)}$ представляют мощный инструмент для выявления основных механизмов ответственных за магнитно-релаксационные характеристики изучаемых комплексов.

Основные результаты данной работы опубликованы в статье [125]. Для более глубокого изучения комплексообразования были измерены зависимости $1/T_1$ от частоты поля для растворов кеплератов $Mo_{132}(OAc)$ и $Mo_{132}(HPO_4)$ при варьируемой концентрации гадолиния и постоянной концентрации кеплератов. Измерения проводились в растворе триблок сополимера F-127. На рисунке 28 приведены зависимости $1/T_1$, профиль которых, в соответствии с литературными данными, характеризует комплексы Gd^{3+} с медленным вращением: область постоянства при низких частотах (0.01-0.3 МГц), дисперсия в диапазоне 0.3-6 МГц и широкий подъем при высоких частотах с максимумом на границе или за пределами наблюдаемой области частот (≥ 35 МГц).

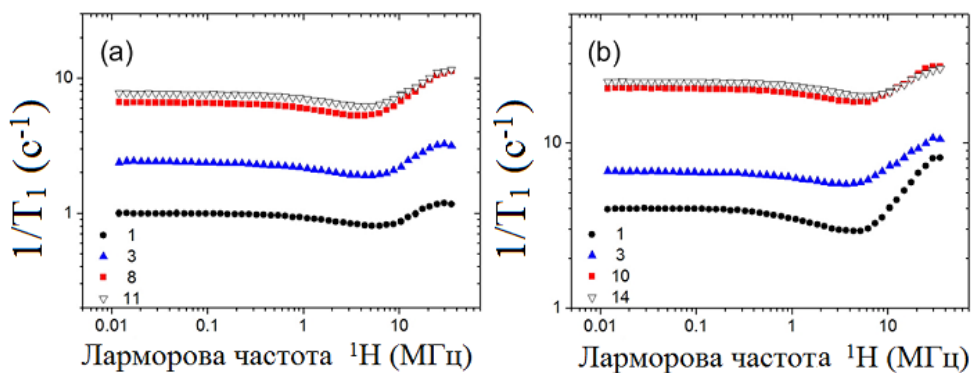


Рисунок 28. Зависимости $1/(T_1)$ от частоты поля для $\text{Gd}_x[\text{Mo}_{132}(\text{OAc})]_y$ (a) и $\text{Gd}_x[\text{Mo}_{132}(\text{HPO}_4)]_y$ (b) при постоянной концентрации кеплератов (0.007 мМ), триблок сополимера F-127 (0.4 мМ) и варьируемой концентрации Gd^{3+} .

На рисунке 29 приведены зависимости $1/(T_1C)$ от частоты поля для комплексов $\text{Gd}_x[\text{Mo}_{132}(\text{OAc})]_y$ при различных соотношениях Gd:Kp (от 1:1 до 11:1), которые оказались практически идентичными. Данный факт говорит о том, что каждая сфера кеплерата может координировать до 11 ионов гадолиния без потери в релаксационных свойствах. Небольшая разница, наблюдаемая для значений $1/(T_1C)$ (рис. 29), по-видимому, связана с приготовлением растворов. Следует отметить, что в соответствии с работами А.Мюллера, для $\text{Gd}_x[\text{Mo}_{132}(\text{OAc})]_y$ наблюдается образование комплекса, при котором $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{O})_8]^{3+}$ координирован посредством пор $\{\text{Mo}_9\text{O}_9\}$, при этом не происходит образование комплексов с отличающимися магнитными свойствами. Стоит отметить, что координация происходит за счет 11 пор из 20 возможных.

Постепенное увеличение соотношения Gd:Kp (от 1:1 до 14:1, $C_{\text{Kp}}=\text{const}$) для комплексов $\text{Gd}_x[\text{Mo}_{132}(\text{HPO}_4)]_y$ приводило к уменьшению релаксивностей на всем диапазоне частот поля, кроме того, наблюдалось уменьшение максимального значения $1/(T_1C)$ при высоких частотах относительно низкочастотных значений. Данный факт свидетельствует о том, что в системах $\text{Gd}_x[\text{Mo}_{132}(\text{HPO}_4)]_y$ при различных соотношениях Gd:Kp существуют комплексы с разной релаксивностью. Отдельно стоит отметить, что понижение максимального значения r_1 при высоких частотах поля

свидетельствует, по-видимому, о накоплении центров Gd^{3+} с быстрым временем вращения. Изучение полевых зависимостей $Gd_x(Мо_{132}(HPO_4))_y$ на качественном уровне позволило предположить, что при увеличении соотношения Gd:Кр происходило накопление свободных ионов $[Gd(H_2O)_8]^{3+}$.

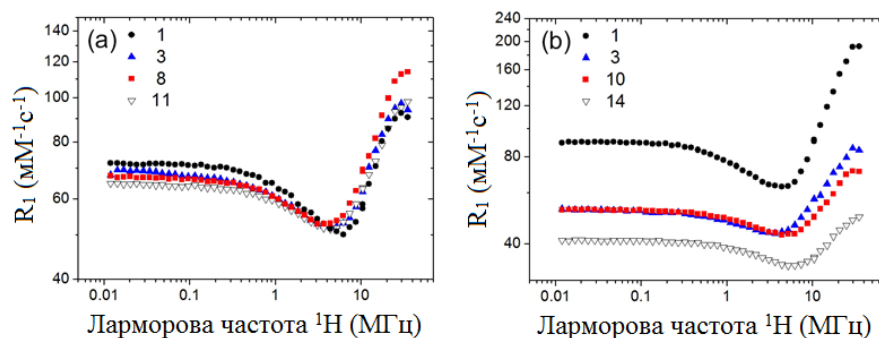


Рисунок 29. Зависимости $1/(T_1C)$ от частоты поля для $Gd_x[Mo_{132}(OAc)]_y$ (a) и $Gd_x[Mo_{132}(HPO_4)]_y$ (b) при постоянной концентрации кеплератов (0.007 мМ), триблок сополимера F-127 (0.4 мМ) и варьируемой концентрации Gd^{3+} .

Значения продольной (r_1) и поперечной (r_2) релаксивностей растворов $Gd_x[Mo_{132}(OAc)]_y$ и $Gd_x[Mo_{132}(HPO_4)]_y$ при различных соотношениях Gd:Кр привели к аналогичному выводу (таблица 4). Релаксивность определяли как тангенс угла наклона концентрационных зависимостей $1/T_{1(2)}$ изначальных растворов и полученных их последовательным разбавлением (рис. П11). Из приведенных в таблице 4 данных видно, что увеличение соотношения Gd:Кр в растворах $Gd_x[Mo_{132}(HPO_4)]_y$ приводит к существенному понижению значений r_1 (с 133 ± 5 $мМ^{-1}с^{-1}$ до 57 ± 5 $мМ^{-1}с^{-1}$) и r_2 (с 157 ± 5 $мМ^{-1}с^{-1}$ до 68 ± 5 $мМ^{-1}с^{-1}$), т.е. происходит накопление низкорелаксирующих центров Gd^{3+} , что естественно связать с накоплением акваионов Gd^{3+} . В случае $Gd_x[Mo_{132}(OAc)]_y$ значения r_1 и r_2 остаются на одинаковом уровне в изученном интервале соотношений Gd:Кр.

Таблица 4. Значения продольной (r_1) и поперечной (r_2) релаксивности, измеренные при 20.8 МГц, для $Gd_x[Mo_{132}(OAc)]$ и $Gd_x[Mo_{132}(HPO_4)]$

x	r_1 (мм ⁻¹ с ⁻¹)	r_2 (мм ⁻¹ с ⁻¹)
$Gd_x[Mo_{132}(OAc)]_y$		
1	113±5	140±5
3	94±5	113±5
8	110±5	135±5
11	90±5	110±5
$Gd_x[Mo_{132}(HPO_4)]$		
1	133±5	157±5
3	72±2	85±2
10	57±5	68±5

Следующий этап работы заключался в измерении фундаментальных параметров, влияющих на внешнесферную и внутрисферную релаксацию. Использование температурного метода определения корреляционных времен было затруднено агрегацией и выпадением в осадок растворов $Gd_x[Mo_{132}(OAc)]@F-127$ и $Gd_x[Mo_{132}(HPO_4)]@F-127$ при температуре свыше 38° С. Поэтому для определения параметров τ_R , τ_m , τ_v , and Δ^2 были использованы литературные данные, часто используемые для подобных расчетах [2]. В частности, для вклада расчета внешнесферной релаксации были использованы литературные параметры, такие как расстояние наибольшего сближения между молекулами воды и ионами Gd^{3+} $a_{GdH} = 3,1 \text{ \AA}$ и константа диффузии воды при 25°С $D_{GdH} = 2,3 \cdot 10^{-9} \text{ м}^2\text{с}^{-1}$. Для расчета внутрисферной релаксации были использованы значения расстояния Gd^{3+} - H_2O $r_{GdH} = 3,05 \text{ \AA}$ и количество воды в координационной сфере $q = 8$.

На основе используемых параметров были хорошо воспроизведены зависимости $1/(T_1C)$ для $Gd_x[Mo_{132}(OAc)]$, полученные при всех соотношениях Gd:Kp. Методом статистической аппроксимации было обнаружено, что наибольший вклад в релаксивность связан с механизмом

внутрисферной релаксации, вклад внешнесферной релаксации составляет менее 10% (рис. П12). С учетом приведенных выше предположений получены были получены τ_R , τ_m , τ_v и Δ^2 , представленные в таблице 5. Значение корреляционного времени вращения $Gd_x[Mo_{132}(OAc)]$ при всех соотношениях Gd:Kp находилось в пределах 0.3-0.7 наносекунд, что указывает на соответствующее замедление реориентационного движения акваиона относительно свободного акваиона в растворе триблок сополимера F-127 ($\tau_R \cong 30$ пикосекунд). Естественно связать наблюдаемые закономерности с координацией ионов $[Gd(H_2O)_8]^{3+}$ с большими анионами кеплератов ($d=2.9$ нм) посредством пор $\{Mo_9O_9\}$. Стоит отметить, что времена вращения (τ_R) оказались значительно ниже ожидаемых значений, которые были получены на основе уравнения Стокса-Эйнштейна для вращательного движения сферических кеплератов диаметром 3 нм. Это свидетельствует о присутствии «собственного вращения» ионов гадолиния. Координация акваиона $[Gd(H_2O)_8]^{3+}$ ($\tau_m \cong 1$ нс) с кеплератом, наряду с увеличением времени вращения, привела к уменьшению времени жизни ($\tau_m \cong 40 \div 100$ нс) молекул воды в координационной сфере Gd^{3+} (таблица 5). Параметры τ_v и Δ^2 , характеризующие электронную релаксацию, практически одинаковы при различных соотношениях Gd:Kp для $Gd_x[Mo_{132}(OAc)]$.

Заметная агрегация в растворах $Gd_x[Mo_{132}(HPO_4)]$, приводящая к накоплению свободного акваиона $[Gd(H_2O)_8]^{3+}$ при увеличении соотношения Gd:Kp приводила к недостаточной воспроизводимости при больших значениях Gd:Kp. Поэтому, для моделирования была выбрана зависимость $1/(T_1C)$, полученная для образца $Gd_x[Mo_{132}(HPO_4)]$ при $x=1$. Для моделирования были использованы те же литературные данные [], что и для $Gd_x[Mo_{132}(OAc)]$. Параметры τ_m , τ_v и Δ^2 , полученные для $Gd_x[Mo_{132}(HPO_4)]$ при Gd:Kp=1:1 (таблице 5) очень похожи на параметры, найденные для $Gd_x[Mo_{132}(OAc)]$ за исключением времени вращения τ_R , которое оказалось больше.

Таблица 5. Оптимальные параметры, полученные при аппроксимации зависимостей $1/(T_1C)$, для $Gd_x[Mo_{132}(OAc)]$ и $Gd_x[Mo_{132}(HPO_4)]$ при различных соотношениях Gd:Kp.

x	τ_R	τ_m	τ_v	Δ^2
$Gd_x[Mo_{132}(OAc)]$				
1	0.4-0.7	40-100	30	$(1.9-2.1) \times 10^{19}$
3	0.3-0.5	40-100	28	$(3.0-3.3) \times 10^{19}$
8	0.4-0.6	40-100	30	$(2.8-3.4) \times 10^{19}$
11	0.4-0.6	40-100	30-32	$(2.6-3.5) \times 10^{19}$
$Gd_x[Mo_{132}(HPO_4)]$				
1	0.9-1	60-100	26	$(3.0-3.3) \times 10^{19}$

Для изучения $Gd_x[Mo_{132}(HPO_4)]$ при больших соотношениях ($x=3, 10$ и 14) использовали модель, которая предусматривает существование в растворе два типа ионов $[Gd(H_2O)_8]^{3+}$, один из которых координирован порами $\{Mo_9O_9\}$ кеплерата, другой находится в растворе в свободном состоянии.

Методом математическо подгонки были получены экспериментальные кривые $1/(T_1C)$ $Gd_x[Mo_{132}(HPO_4)]$, которые рассматривали как суммарный результат собственной зависимости $1/(T_1C)$ $Gd_x[Mo_{132}(HPO_4)]$ и свободного $[Gd(H_2O)_8]^{3+}$ в F-127 с мольной долей свободного иона, равной 0.53, 0.60 и 0.77 для $x = 3, 10$ и 14 соответственно. На рисунке 30 с приведен пример моделирование для $Gd_x[Mo_{132}(HPO_4)]$ при Gd:Kp=14:1.

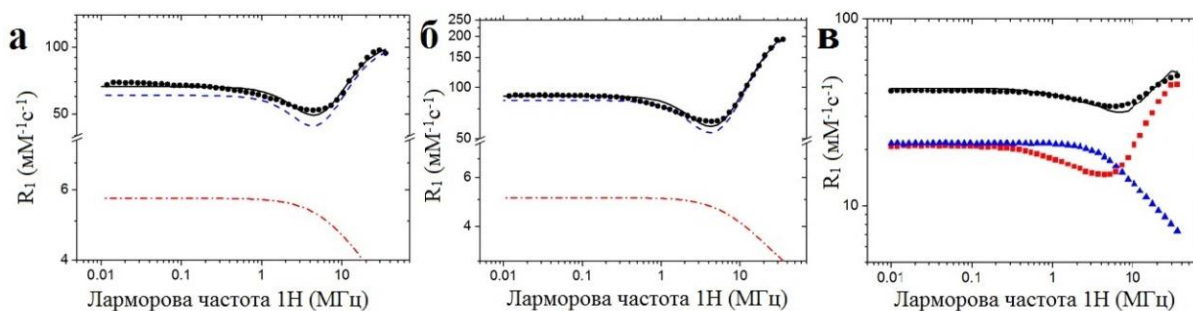


Рисунок 30. Экспериментальные (кружки) и рассчитанные (черная линия) зависимости $1/(T_1C)$ от частоты поля для: а - $Gd_x[Mo_{132}(OAc)]$ ($Gd:Kp=3:1$); б - $Gd_x[Mo_{132}(HPO_4)]$ ($Gd:Kp=1:1$). Пунктирные синие и красные линии - вклад внутрисферной и внешнесферной релаксации в $1/(T_1C)$. в - Экспериментальные (кружки) и рассчитанные (черная линия) зависимости $1/(T_1C)$ от частоты поля, полученные для $Gd_x[Mo_{132}(HPO_4)]$ ($Gd:Kp=14:1$). Рассчитанная зависимость $1/(T_1C)$ представлена как результат зависимости $Gd_x[Mo_{132}(HPO_4)]$ (красная линия) и свободных $[Gd(H_2O)_8]^{3+}$ (синяя линия).

Таким образом, несмотря на грубый приблизительный анализ, можно констатировать, что увеличение соотношения $Gd:Kp$ от 1:1 приводит к смещению равновесия в сторону образования свободного иона. Было обнаружено, что в среднем 1-2 и 3-4 иона координируются кеплератом $Mo_{132}(HPO_4)$ при соотношениях $Gd:Kp$ 3:1, 10:1 и 14:1 соответственно. В отличие от него кеплерат $Mo_{132}(OAc)$ способен координировать не менее 11 ионов $[Gd(H_2O)_8]^{3+}$ с сохранением магнитно-релаксационных характеристик.

Наблюдаемые различия не могут быть объяснены с точки зрения заряда. Фактически, более отрицательный заряд лиганда HPO_4^{2-} должен был способствовать притяжению и захвату положительных ионов $[Gd(H_2O)_8]^{3+}$, что в конечном итоге приводило к постепенному и плавному понижению релаксивности. Однако, в нашем случае было обнаружено резкое понижение релаксивности. Вероятно, противоионы NH_4^+ , сильнее притягиваются кеплератами и проникают во внутреннюю полость, что препятствует взаимодействию ионов $[Gd(H_2O)_8]^{3+}$ с порами $\{Mo_9O_9\}$. Подобное поведение

наблюдалось для кеплератов с сульфатными группами SO_4^{2-} , для которых методом порошковой рентгеновской дифрактографии было обнаружено лишь частичное замещение NH_4^+ [111].

Более того, противоионы NH_4^+ могут образовывать слой на поверхности кеплератов, что ослабляет притяжение между макроанионом $\text{Mo}_{132}(\text{HPO}_4)$ и ионами $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{O})_8]^{3+}$. Фактически, противоионы, как было показано ранее, играют фундаментальную роль в супрамолекулярной химии сферической кеплератов [123] и их агрегативном поведении в разбавленных растворах.

3.2.3. Контрастные агенты на основе гетерометаллических кеплератов.

3.2.3.1 Влияние структурных эффектов на магнитную релаксацию комплексов гадолиния с гетерометаллическими кеплератами.

Ранее уже упоминалась возможность модификации заряда и размера кеплератов, структуры и размера их внешних пор за счет варьирования состава структурных блоков кеплератов, а именно пентагонов и линкеров. В частности, замена ионов молибдена на вольфрам в пентагонах, а также замена линкеров $\text{Mo}_2\text{O}_4^{2+}$ на VO^{2+} или Fe^{3+} позволяет существенно модифицировать перечисленные выше параметры за счет перехода от гомоядерных кеплератов Mo_{132} к $\text{W}_{72}\text{Mo}_{60}$, $\text{Mo}_{72}\text{V}_{30}$ и $\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}$. Структурное изучение данных кеплератов опубликовано в нашей статье [126].

Для изучения влияния структурных особенностей кеплератов на магнитно-релаксационные характеристики образуемых ими комплексов с ионами гадолиния были измерены скорости продольной ($1/T_1$) и поперечной ($1/T_2$) релаксации водных растворов кеплератов $\text{W}_{72}\text{Mo}_{60}$, $\text{Mo}_{72}\text{V}_{30}$ и $\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}$ при их постоянной концентрации и различных концентрациях Gd^{3+} в присутствии триблок сополимер F-127 (рис.31).

Таблица 5. Структуры кеплератов.

$W_{72}Mo_{60}$	$[W_6O_{21}(OAc)_{0,5}]_{12}\{Mo_2O_4(OAc)\}_{30}]^{48-}$
$Mo_{72}V_{30}$	$[\{Mo(Mo)_5O_{21}(H_2O)_3\}_{10}\{Mo(Mo)_5O_{21}(H_2O)_3(SO_4)\}_2\{VO(H_2O)\}_{20}\{VO\}_{10}(\{KSO_4\}_5)_2\}]^{24-}$
$Mo_{72}Fe_{30}$	$[\{(Mo_6O_{21})_{12}\{Fe\}_{30}(OAc)_{12}\{Mo_2O_7(H_2O)\}_2\{H_2Mo_2O_8(H_2O)\}(H_2O)_{91}\}]$

Значение скоростей $1/T_1$ и $1/T_2$, измеренные для водных растворов всех кеплератов при концентрации 0.007 мМ ($0.43-0.45 \text{ с}^{-1}$), в отсутствие Gd^{3+} близки к значениям, характерным для чистой воды ($0.4-0.5 \text{ с}^{-1}$), что говорит о том, что они не усиливают магнитную релаксацию протонов воды. Профили зависимостей $1/T_1$ и $1/T_2$ близки к линейной для $Mo_{72}V_{30}$ и $Mo_{72}Fe_{30}$ (рисунок 14, а и б); для $Mo_{72}V_{30}$ наблюдается отклонение от линейности. В свою очередь многократный избыток Gd^{3+} , добавляемый к раствору $Mo_{72}Fe_{30}$ не приводит к помутнению раствора, что косвенно указывает на отсутствие комплексообразования. В то время как для растворов $W_{72}Mo_{60}$ и $Mo_{72}V_{30}$ наблюдается помутнение при добавлении Gd^{3+} .

На рисунке 31 (с и d) приведены зависимости релаксивностей $1/(T_{1(2)}C)$ от соотношения Gd:Кр при постоянной концентрации кеплератов и варьируемой концентрации гадолиния. Хорошо заметны различия в комплексообразующей способности, в частности, значения релаксивностей для $Mo_{72}V_{30}$ и $Mo_{72}Fe_{30}$ значительно ниже значений для $W_{72}Mo_{60}$. Принимая во внимание отмеченную ранее роль внешних пор в связывании ионов гадолиния, разница в значениях $1/(T_{1(2)}C)$ связана с более низкой комплексообразующей способностью пор меньшего размера $\{Mo_3V_3O_6\}$ и $\{Mo_3Fe_3O_6\}$ кеплератов $Mo_{72}V_{30}$ и $Mo_{72}Fe_{30}$ по сравнению с порами $\{W_3Mo_6O_9\}$ $W_{72}Mo_{60}$ (рис. 4). Влияние пор на связывание ионов Gd^{3+} было продемонстрировано на примере производных кеплерата $Mo_{132}(OAc)$, содержащих линкеры $\{Mo_2O_4(OAc)\}$ или $\{Mo_2O_2S_2(OAc)\}$, в которых поры с различной структурой $\{Mo_9O_9\}$ и $\{Mo_9O_6S_3\}$ проявляли совершенно разное сродство к ионам Gd. Как и в случае $Mo_{132}(OAc)$ и $Mo_{132}(HPO_4)$, наибольшие

значения $1/(T_{1(2)}C)$ достигаются при соотношении концентраций Gd:Kp=1:1. По-видимому, данные значения характерны для «молекулярных комплексов», поскольку агрегация (помутнение) наблюдается при больших соотношениях, а именно превышающих 6: 1 (рис. П13)

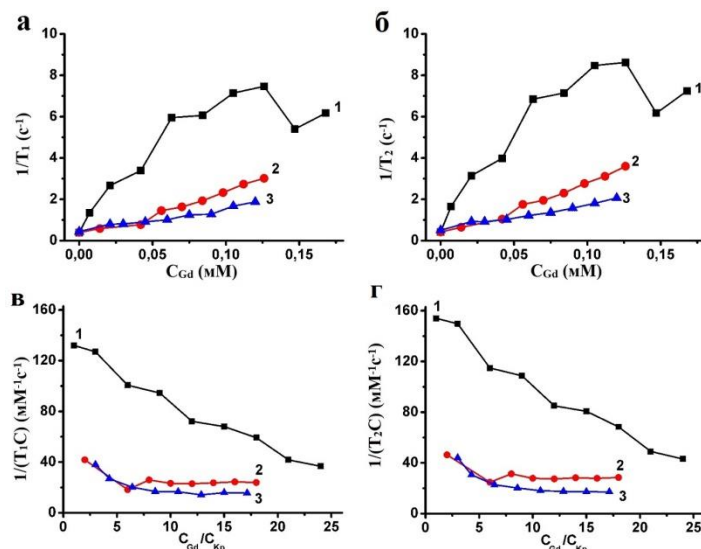


Рисунок 31. Профили зависимостей (а) $1/T_1$, (б) $1/T_2$, (в) $1/(T_1C_{Gd})$ и (г) $1/(T_2C_{Gd})$ от соотношения Gd:Kp при постоянной концентрации кеплерата (0.007 мМ) и варьируемой концентрации гадолиния, измеренные в растворе триблок сополимера F-127 (0.32 мМ): 1 – $W_{72}Mo_{60}$, 2 – $Mo_{72}V_{30}$ и 3 – $Mo_{72}Fe_{30}$.

Тем не менее, профили зависимостей $1/(T_{1(2)}C)$ от отношения Gd:Kp, построенные для $W_{72}Mo_{60}$, аналогичны таковым для $Mo_{72}V_{30}$ и $Mo_{72}Fe_{30}$ (рис. 31 в, г). В частности, наибольшие значения $1/(T_{1(2)}C)$ были получены при соотношении Gd:Kp= 1:1, что указывает на важность молярной стехиометрии 1:1 для достижения высокой релаксивности. Последовательное увеличение отношения Gd:Kp приводило к понижению значений $1/(T_{1(2)}C)$. Наблюдаемое понижение данных величин естественно связать с ограниченным количеством внешних пор, ответственных за связывание ионов гадолиния кеплератов, что при определенных соотношениях Gd:Kp приводит к насыщению кеплератов ионами гадолиния. Концентрационные условия насыщения кеплератов $W_{72}Mo_{60}$ и $Mo_{72}V_{30}$ совпадает с появлением мутности растворов (рис. П13). Для кеплерата $Mo_{72}Fe_{30}$ по мере увеличения отношения

Gd:Kp происходило непрерывное понижение $1/(T_{1(2)}C)$ до уровня свободных акваионов Gd^{3+} , и помутнения не наблюдалось (рис. П13). Естественно предположить большую роль заряда кеплератных полианионов в связывании катионов. Однако, даже нейтральный $Mo_{72}Fe_{30}$ связывает ионы гадолиния в соотношении 1:1, что проявляется в повышенных значениях $1/(T_{1(2)}C)$ (рис. 31). Тем не менее, небольшой вклад электростатического притяжения ограничивает дальнейшее связывание с ионами Gd^{3+} , большинство из которых остаются свободными.

Гадолиниевые комплексы кеплерата $W_{72}Mo_{60}$ агрегируют с образованием коллоидных систем при соотношении Gd:Kp выше 6:1, что намного ниже соотношения 16:1, необходимого для нейтрализации заряда -48 (рис. П13). Этот факт указывает на то, что комплексообразование с ионами гадолиния приводит к частичной нейтрализации заряда кеплератов, поэтому естественно предположить, что взаимодействие комплексов с противоионами $[(CH_3)_2NH_2]^+$ является фактором, способствующим образованию коллоидных форм. При этом, с ростом соотношения Gd:Kp выше 9:1 происходит уменьшение $1/(C \cdot T_{1(2)})$, поэтому соотношение 9:1 является оптимальным с точки зрения релаксивности, соответственно, в дальнейшем изучали коллоиды данного состава, обозначенные как $Gd_x[W_{72}Mo_{60}]_y$ (9:1).

Из всего вышеописанного следует, что кеплерат $W_{72}Mo_{60}$ является оптимальным лигандом для Gd^{3+} , поскольку достигаются самые высокие значения $1/(T_{1(2)}C)$. В то же время, $W_{72}Mo_{60}$ уступает Mo_{132} (глава 3.2.2) с точки зрения значений $1/(T_{1(2)}C)$, измеренных в одинаковых концентрационных условиях. Подобно комплексам $Mo_{132}(OAc)$ с ионами гадолиния, самые высокие значения $1/(T_{1(2)}C)$ с $W_{72}Mo_{60}$ достигаются при молярном соотношении 1:1. Поэтому для сравнения в работе изучили «молекулярные комплексы состава 1:1, которые в дальнейшем будем обозначать как $Gd_x[W_{72}Mo_{60}]_y$ (1:1). Следует отметить, что высокие значения $1/(T_{1(2)}C)$ не являются единственным фактором, необходимым для

использования комплекса в качестве контрастного агента. Как было отмечено ранее, достаточно быстрая окислительная деградация может быть фактором, препятствующим биомедицинскому применению молекулярных комплексов Gd^{3+} с кеплератами.

Окислительную деградацию $W_{72}Mo_{60}$ оценивали путем отслеживания изменений спектров поглощения с течением времени (рис. П14). Результаты (рис. 32 с) указывают на незначительную деградацию $W_{72}Mo_{60}$ в течение трех дней при pH 4.5–5.0 (рис. 2). Таким образом, в одних и тех же условиях $W_{72}Mo_{60}$ более стабилен, чем $Mo_{132}(OAc)$, что хорошо согласуется с различиями в электронной структуре кеплератов, отмеченных в литературе []. Более высокая стабильность $W_{72}Mo_{60}$ по сравнению с $Mo_{132}(OAc)$ предопределяет его последующее изучение из всего ряда для создания контрастных агентов. Поэтому нами были получены комплексы $W_{72}Mo_{60}$ с Gd^{3+} , стабилизированные триблок сополимерами. Стоит отметить, что ни комплексообразование с ионами гадолиния, ни сильный ионный фон в виде буфера не приводит к существенному понижению стабильности (рисунок 32).

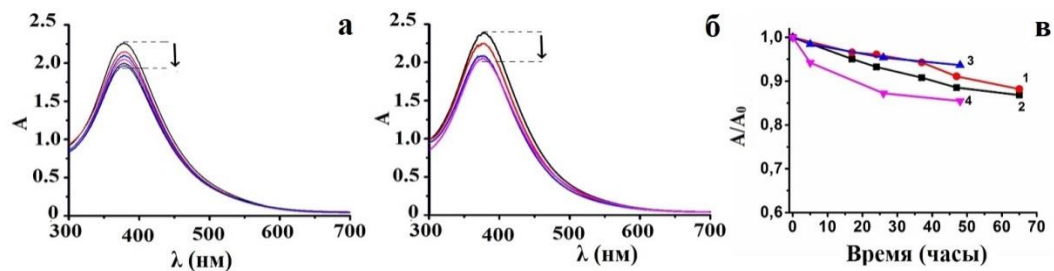


Рисунок 32. УФ-Вид спектры $W_{72}Mo_{60}$ (0,007 мМ) в водном растворе (а) и в буфере Дульбекко (б), отслеживаемые в течение 65 и 48 часов соответственно. (в) A/A_0 (380 нм) как функция времени (от 0 до 65 ч) для водных растворов (1) $W_{72}Mo_{60}$ (0.007 мМ), (2) $W_{72}Mo_{60}$ и Gd^{3+} (0.007 мМ), (3) $W_{72}Mo_{60}$ и Gd^{3+} (0.063 мМ) и (4) $W_{72}Mo_{60}$ в буфере Дульбекко.

3.2.3.2 Влияние структуры триблок-сополимера на магнитную релаксивность и коллоидные свойства комплексов гадолиния с $W_{72}Mo_{60}$

Согласно литературным данным на агрегацию триблок сополимеров влияет соотношение гидрофильных полиэтиленоксидных (PEO) и гидрофобных полипропиленоксидных (PPO) фрагментов. Для того, чтобы выявить роль агрегационного поведения триблок-сополимеров в стабилизации изучаемых комплексов $W_{72}Mo_{60}$ были выбраны: (PEO)₁₀₀-(PPO)₆₅ (PEO)₁₀₀ (F-127), (PEO)₇₅-(PPO)₃₀-(PEO)₇₅ (F-68) и (PEO)₂₀-(PPO)₇₀-(PEO)₂₀ (P-123). Триблок-сополимеры в применяемом концентрационном интервале не оказали существенного влияния на профиль зависимости $1/(T_{1(2)}C)$ от соотношений Gd:кеплерат (Рис. 33). Их структура и концентрация практически не влияла на значения $1/(T_{1(2)}C)$. Уменьшение $1/(T_{1(2)}C)$ при увеличении отношения Gd:Кр с 1:1 до 6:1 с выходом значений $1/(T_{1(2)}C)$ на предел (рисунок 33) происходило как в присутствии триблок сополимеров, так и без них. Полученные результаты свидетельствует о том, что используемые концентрации триблок сополимеров не оказывают существенного влияния на стабильность комплексов $Gd_x[W_{72}Mo_{60}]_y$. Более того, сравнительный анализ значений $1/(T_{1(2)}C)$ при различных соотношениях Gd: кеплерат, измеренных как в водных растворах $W_{72}Mo_{60}$ (0.007 мМ), так и в растворах триблок сополимеров, не выявил специфический эффект триблок-сополимеров. Однако, в случае водных растворов $Gd_x[W_{72}Mo_{60}]_y$ в отсутствии триблок сополимера наблюдалось более значительное понижение релаксивностей, что естественно объяснить протеканием неуправляемых процессов агрегации. В соответствии с литературными данными. образование агрегатов размером более 10 нм существенно ограничивает гидратацию центров Gd^{3+} , что является причиной снижения значений $1/(T_{1(2)}C)$ в водных растворах без триблок-сополимеров. Таким образом, триблок-сополимеры предотвращают неконтролируемый процесс агрегации комплексов. Более высокие значения $1/(T_{1(2)}C)$ в присутствии триблок-

сополимеров указывает на наличие в системе коллоидных частиц меньшего размера, которые характеризуются более высокой релаксирующей способностью, возникающей из-за более эффективной гидратации Gd^{3+} .

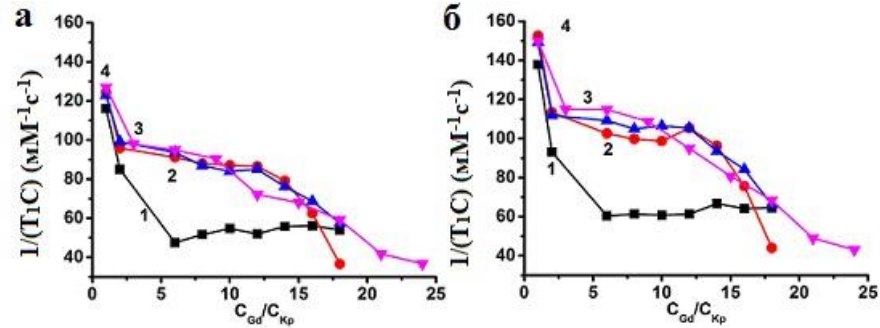


Рисунок 33. Зависимости (а) $1/(T_1C)$ и (б) $1/(T_2C)$ от соотношений C_{Gd}/C_{Kp} , измеренные при различных концентрациях Gd^{3+} и постоянной концентрации $W_{72}Mo_{60}$ (0.007 мМ): без стабилизатора (1); стабилизированные триблок сополимером F-68 (2), F-127 (3) и P-123 (4).

На следующем этапе исследования было необходимо подтвердить влияние размера частиц на релаксивность путем анализа коллоидных свойств комплексов в растворах триблок-сополимеров. Измерения ДРС показали, что размер агрегированных комплексов $Gd_x[W_{72}Mo_{60}]_y$ (9:1), покрытых триблок-сополимерами, составляет 20 нм, 50 и 70 нм для систем, стабилизированных F-68, P-123 и F-127 соответственно (рис. 34). Наибольший вклад более крупных агрегатов был обнаружен в коллоидах, стабилизированных F-127 (рис. 34).

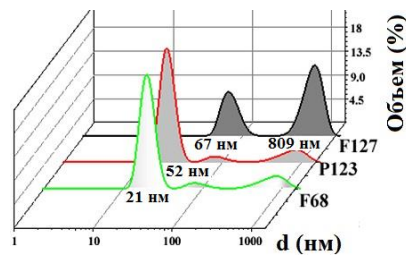


Рисунок 34. Распределение размеров по объему, полученное методом ДРС, для коллоидов $Gd_x[W_{72}Mo_{60}]_y$ (9:1), стабилизированных триблок сополимерами F-127, F-68 и P-123.

ПЭМ-изображения высушенных коллоидов (рис. 35) показали, что средний размер «твердых ядер» для всех систем составляет приблизительно 5 нм, что характеризует размер агрегированных комплексов, в то время как размеры, выявленные методом ДРС, определяются внешним гидрофильным слоем смешанных агрегатов, образующихся за счет самосборки триблок сополимеров вокруг агрегатов. Стоит отметить, что агрегационное поведение таких гидрофильных коллоидов является еще одним фактором, влияющим на размер. Таким образом, триблок сополимеры ограничивают неконтролируемый рост наноразмерных частиц, который происходит в водном растворе в их отсутствие, посредством включения наноразмерных частиц в гидрофильные агрегаты. Структура триблок сополимеров влияет на размер гидрофильных смешанных агрегатов, что демонстрируют ДРС данные на рисунке 34.

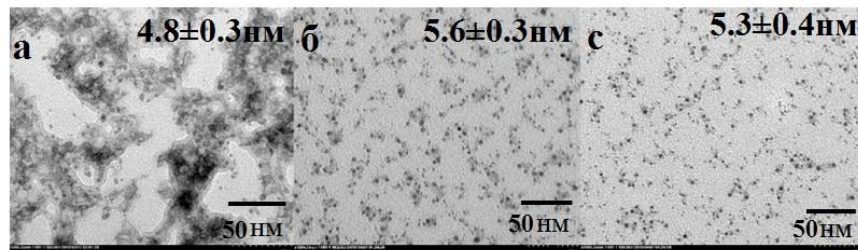


Рисунок 35. ПЭМ-изображения высушенных коллоидов $Gd_x[W_{72}Mo_{60}]_y$ (9:1), стабилизированных (а) F-127, (б) F-68 и (с) P-123.

На рисунке 36 приведены зависимости $1/(T_{1(2)}C)$ от концентрации Gd^{3+} для коллоидных растворов $Gd_x[W_{72}Mo_{60}]_y$ (9:1), стабилизированных различными триблок сополимерами. Следует отметить, что значения τ_1 и τ_2 коллоидов находятся в пределах 79-89 и 100-111 $mM^{-1}s^{-1}$ соответственно (рисунок 33), что количественно подтверждает незначительное влияние природы триблок сополимеров на релаксирующую способность коллоидов. Таким образом, размер гидрофильных смешанных агрегатов $Gd_x[W_{72}Mo_{60}]_y$ (9:1), стабилизированных триблок-сополимерами, не влияет на значения τ_1 и

r_2 . Следовательно, образование смешанных агрегатов независимо от их размера не ограничивает гидратацию Gd^{3+} -центров.

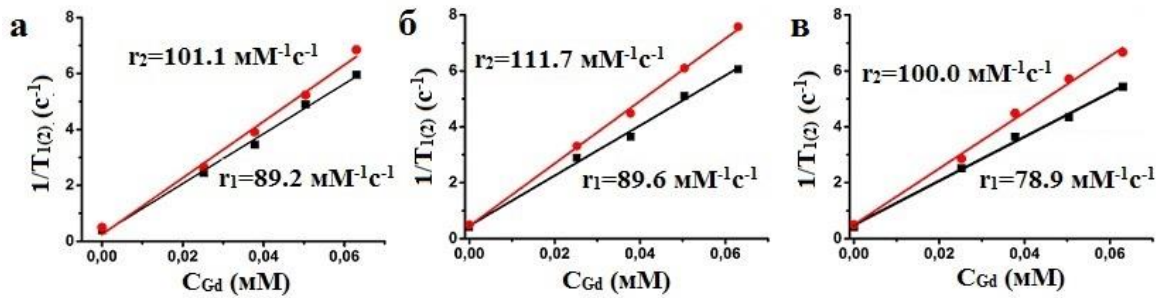


Рисунок 36. Зависимости $1/T_{1(2)}$ от концентрации Gd^{3+} для коллоидов ($0.007 W_{72}Mo_{60}$ и $0.063 \text{ mM } Gd^{3+}$), стабилизированных (а) F-127, (б) F-68 и (в) P-123.

Как упоминалось выше, комплекс $Gd_x[W_{72}Mo_{60}]_y$ (1:1), стабилизированный триблок сополимером, имеет более высокую магнитную релаксивность по сравнению с коллоидами $Gd_x[W_{72}Mo_{60}]_y$ (9:1). В отличие от коллоидов, образующихся при соотношении 9:1, для которых выявлено незначительное влияние структуры триблок сополимера на значения $1/(T_{1(2)}C)$, аналогичные значения, измеренные в истинных растворах, приготовленных при соотношениях 1:1, не обнаруживают зависимость от их структуры. Эта тенденция подтверждается значениями $r_{1(2)}$ для комплексов $Gd_x[W_{72}Mo_{60}]_y$ (1:1), полученными из линейных зависимостей $1/T_{1(2)}$ от C_{Gd} (рис. 37). Значения r_1 и r_2 находятся в пределах 103–108 и 118–124 $\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ соответственно.

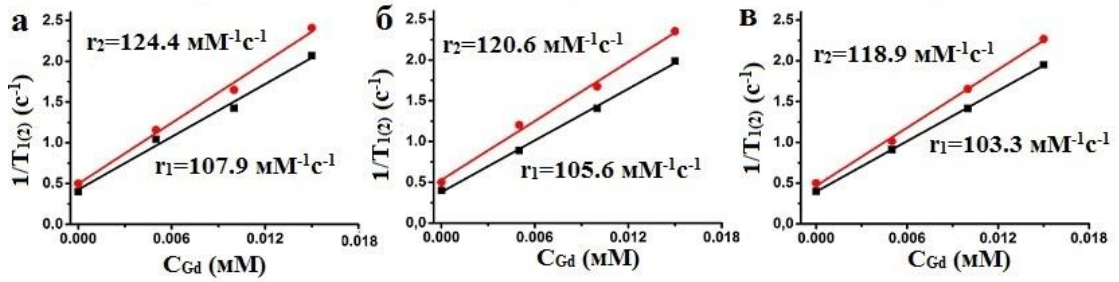


Рисунок 37. Зависимости $1/T_{1(2)}$ от концентрации Gd^{3+} для растворов ($0.015 \text{ mM W}_{72}\text{Mo}_{60}$ и 0.015 mM Gd^{3+}), стабилизированных (а) F-127, (б) F-68 и (в) P-123. $C_{\text{F-127}}=0.24 \text{ mM}$, $C_{\text{F-68}}=0.16 \text{ mM}$ и $C_{\text{P-123}}=0.34 \text{ mM}$

В водном растворе для комплекса $\text{Gd}_x[\text{W}_{72}\text{Mo}_{60}]_y$ (1:1) методом ДРС были обнаружены частицы с диаметром $d=3 \text{ нм}$. Этот факт подтверждает «молекулярную форму» комплексов 1: 1 в растворах, поскольку диаметр кеплерата по данным МУРР [109] равен 2.9 \AA . В свою очередь, в водных растворах триблок сополимеров были обнаружены агрегаты с диаметром 5, 6 и 17 нм соответственно для F-68, F-127 и P-123. Наблюдаемые размеры хорошо согласуются с литературными данными об агрегационном поведении триблок-сополимеров [122]. Размеры частиц, обнаруженных в растворах F-68 и F-127, следует относить, по-видимому, к молекулярной форме, поскольку значения ККМ для F-68 (1.4 mM) и F-127 (0.8 mM) превышают экспериментально используемые концентрации. В соответствии с литературными данными, величина ККМ для P-123 (0.052 mM) ниже, чем используемая концентрация (0.12 и 0.32 mM), поэтому обнаруживаемый размер в растворах P-123 следует отнести к мицеллярным агрегатам.

Сравнение размеров агрегатов триблок сополимеров в водном растворе и в растворе комплексов $\text{Gd}_x[\text{W}_{72}\text{Mo}_{60}](1:1)$ выявило различие между ними. Так, присутствие $\text{Gd}_x[\text{W}_{72}\text{Mo}_{60}](1:1)$ в растворах P-123 практически не влияет на или даже уменьшает размер мицеллярных агрегатов. Однако, в случае F-127 и F-68 появляются крупные агрегаты ($240\text{-}270 \text{ нм}$). Хорошо известно, что на агрегационное поведение триблок-сополимеров сильно влияет ионный фон. Эффект ионного фона обусловлен сродством катионов к РЕО

фрагментам триблок сополимеров. Соответственно, данный эффект более выражен для солей двух- и трех-зарядных ионов d- и f-металлов [128, 129], что проявляется в образовании композитных агрегатов ламеллярного типа. Связывание противоионов $[(\text{CH}_3)_2\text{NH}_2]^+$ с ПЕО-фрагментами F-68 или F-127 с последующим электростатическим притяжением отрицательно заряженных кеплератов или их гадолиниевых комплексов 1:1 можно считать основной причиной образования крупных агрегатов, выявляемых методом ДРС (Рис. 38).

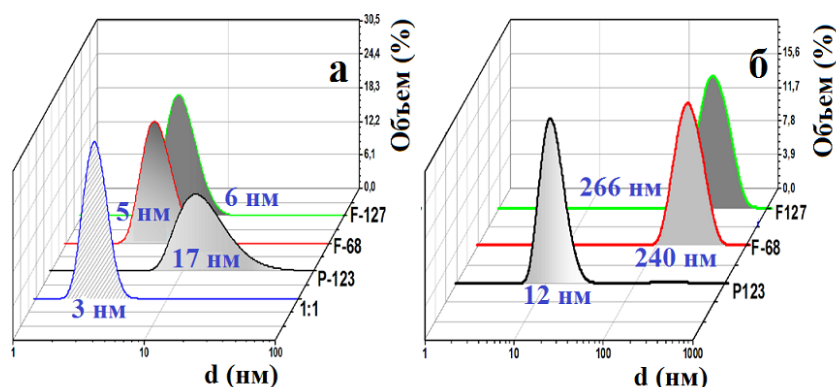


Рисунок 38. Распределение размеров по объему, измеренное в: (а) растворах комплекса 1:1 и растворах триблок сополимеров; (б) растворах, содержащие как триблок-сополимеры, так и гадолиниевый комплекс 1: 1, где $W_{72}\text{Mo}_{60}$ (0.007 мМ), F-127 (0.24 мМ), F-68 (0.16 мМ) и P-123 (0.34 мМ).

Эффективная агрегация P-123 с комплексами кеплератов $W_{72}\text{Mo}_{60}$ указывает на незначительное взаимодействие комплекса с мицеллами или его расположение внутри мицелл. Однако данные магнитной релаксации (рис. 3б) указывают на то, что взаимодействие комплексов гадолиния 1:1 с молекулами триблок-сополимера или их агрегатами не ограничивает гидратацию центров Gd^{3+} . Так, для комплексов $\text{Gd}_x[\text{W}_{72}\text{Mo}_{60}](1:1)$, стабилизированных триблок сополимерами F-68, F-127 и P-123, были получены значения продольной релаксации r_1 на уровнях 108, 106 и 103 $\text{мМ}^{-1}\text{с}^{-1}$ соответственно.

3.2.3.3 Преимущества «молекулярных форм» по сравнению с наночастицами с точки зрения применимости для МРТ

Химическая стабильность кеплерата $W_{72}Mo_{60}$ в буфере DPBS при pH=6.8 (рис. 32) и высокая магнитная релаксация комплекса $Gd_x[W_{72}Mo_{60}]_y$ (1:1) делают его перспективным для контрастных агентов МРТ. Однако связывание ионов Gd^{3+} должно быть достаточно прочным, чтобы минимизировать высвобождение ионов Gd^{3+} . Для изучения этого эффекта были измерены значения $1/(T_{1(2)}C)$ для стабилизированных триблок сополимерами «молекулярных комплексов» $Gd_x[W_{72}Mo_{60}]_y$ (1:1) и коллоидов $Gd_x[W_{72}Mo_{60}]_y$ (9:1) в буферных растворах Дульбекко, и буферных растворах БСА в растворе Дульбекко. Значения представлены на рисунке 39 вместе со значениями $1/(C_{Gd} \cdot T_{1(2)})$, измеренными в водном растворе. Результаты (рис. 39) показывают, что $1/(T_{1(2)}C)$ значительно уменьшаются в буферных растворах для коллоидов $Gd_x[W_{72}Mo_{60}]_y$ (9:1), в то время как уменьшение намного меньше для «молекулярных комплексов» $Gd_x[W_{72}Mo_{60}]_y$ (1:1). Это можно объяснить замещением ионов Gd^{3+} ионами Na^+ и Ca^{2+} буфера, сопровождаемое высвобождением Gd^{3+} . Наблюдаемый факт указывает на то, что высвобождение ионов Gd^{3+} из комплекса $Gd_x[W_{72}Mo_{60}]_y$ (1:1) в буферных растворах менее выражено, чем для коллоидов при соотношении 9:1. Соответственно, молекулярные комплексы $W_{72}Mo_{60}$ с гадолинием более стабильные.

Хорошо известно, что БСА может влиять на релаксацию комплексов гадолиния из-за способности белка связываться с ионами Gd^{3+} во внутренней или внешней сферах. Незначительное влияние БСА на значения $1/(T_{1(2)}C)$ комплексов $Gd_x[W_{72}Mo_{60}]_y$ (1:1) и $Gd_x[W_{72}Mo_{60}]_y$ (9:1) (рис. 39) указывает на их стабильность, что, в свою очередь, является фактором, способствующим их биомедицинской применимости.

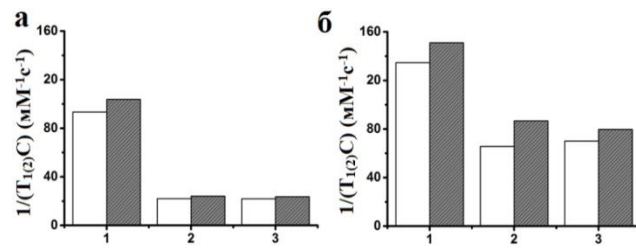


Рисунок 38. Значения $1/(T_1C)$ (белый блок) и $1/(T_2C)$ (серый блок), измеренные для: (а) коллоидов с 0.007 мМ $W_{72}Mo_{60}$ и 0.063 мМ Gd^{3+} ; (б) растворы $W_{72}Mo_{60}$ (0,015 мМ) и 0,015 мМ Gd^{3+} , стабилизированные триблок соолимеом P-123 (0.34 мМ) (1) в отсутствие и (2) присутствие раствора Дульбекко, (3) и в присутствии БСА в растворе Дульбекко.

Низкая цитотоксичность - еще одно условие, необходимое для биомедицинской применимости комплексов. Цитотоксический эффект «молекулярных комплексов» $Gd_x[W_{72}Mo_{60}]_y(1:1)$, стабилизированных триблок сополимерами, оценивали путем измерения жизнеспособности клеток двух линий, а именно клеток легкого (Wi 38) и печени человека. На рисунке 40 приведены результаты, которые показывают незначительное снижение жизнеспособности клеток в условиях концентраций, необходимых для достижения высоких значений $1/T_{1(2)}$ для использования в МР-томографии.

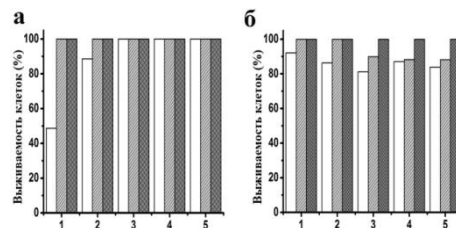


Рисунок 40. Жизнеспособность клеточных линий печени (а) и легкого (б), инкубированных с различными растворами, полученных путем разбавления в 2 раза (белый блок), 4 раза (серый блок) и 8 раз (темно-серый блок): 1 – $W_{72}Mo_{60}$ (0.007 мМ); 2 – $W_{72}Mo_{60}$ (0.007 мМ), Gd^{3+} (0.063 мМ), F-127 (0.12 мМ); 3, 4, 5 – $W_{72}Mo_{60}$ (0.01 мМ) и (3) Gd^{3+} (0.01 мМ) при 0.12 мМ F-127, (4) P-123 и (5) F-68

Для определения контрастной способности были измерены значения r_1 и r_2 «молекулярных комплексов» $Gd_x[W_{72}Mo_{60}]_y@P-123$ (1:1), на медицинском МР томографе при 1.5 Тл. Измерения проводились в ампулах, заполненных раствором комплекса при различной степени его разбавления.

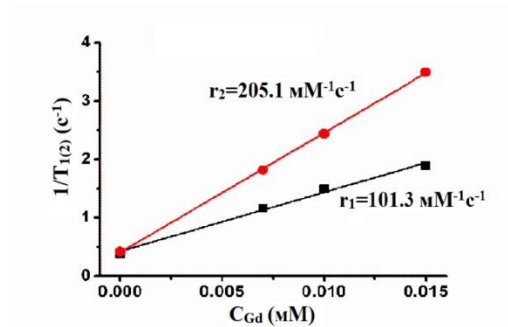


Рисунок 41. Значения $1/T_1$ (черная линия) и $1/T_2$ (красная линия), измеренные с помощью медицинского МР-томографа (1.5 Т) при различных концентрациях гадолиния для $Gd_x[W_{72}Mo_{60}]_y@P-123$ (1:1)

Линейная зависимость значений $1/T_{1(2)}$ от концентрации ионов Gd^{3+} позволила оценить значения r_1 и r_2 , которые составили 101.3 и 205.1 $мМ^{-1} \cdot с^{-1}$ соответственно (рис. 41). В тех же самых концентрационных условиях коммерческий контрастный агент Omniscan практически не проявил релаксирующий эффект, поскольку обладает низкими значениями r_1 и r_2 (4.2 и 6.2 $мМ^{-1} \cdot с^{-1}$ соответственно). В соответствии с литературными данными, увеличение отношения r_2/r_1 , достигаемое за счет увеличения напряженности магнитного поля, является отличительной чертой наночастиц от молекулярных комплексов. Таким образом, увеличение отношения r_2/r_1 за счет увеличения магнитного поля от 0.47 до 1.5 указывает на то, что $Gd_x[W_{72}Mo_{60}]_y@P-123$ (1:1) взаимодействуют с магнитным полем как наночастицы, что вполне согласуется с их размерами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

- 1) Впервые на основе комплексов Gd^{3+} с гексарениевыми кластерами и сферическими полиоксометаллатами (кеплератами) получены наночастицы с магнитно-релаксационными характеристиками, превышающими характеристики коммерческих контрастных агентов в 3-20 раз, и обеспечивающими эффективный контрастный эффект в ЯМР томографии.
- 2) Установлено, что комплексообразование Gd^{3+} с гексарениевыми кластерами приводит к образованию коллоидов с люминесцентными и магнитно-релаксационными свойствами. Последние, в свою очередь, зависят не только от размера наночастиц, но и от степени их кристалличности, определяемой природой халькогенида Q^{2-} кластерного ядра $\{Re_6Q_8\}^{2+}$.
- 3) Впервые выявлены структурные особенности комплексообразования кеплератов с ионами Gd^{3+} , приводящие к высокой магнитной релаксивности последних. Показано, что координация акваионов гадолиния порами на поверхности кеплератов приводит к замедлению их поступательного и вращательного движения с сохранением внутрисферных молекул воды. В свою очередь, размер и структура пор кеплератов, определяют эффективность связывания ионов гадолиния и, как следствие магнитно-релаксационные свойства. В частности, установлено, что максимальная релаксивность достигается для комплексов с кеплератами Mo_{132} и $W_{72}Mo_{60}$.
- 4) На основе сопоставительного анализа установлено, что оптимальным условием для высокой магнитной релаксивности является образование ультра-малых наночастиц размером 3-6 нм. Оптимальное мольное соотношение Gd :лиганд, приводящее к высоко-релаксивным наночастицам определяется величиной отрицательного заряда кластеров и кеплератов.

- 5) На основе сравнительного анализа магнитной релаксивности и окислительной деградации комплексов гадолиния варьируемой стехиометрией от 1:1 до 10:1 с кеплератами различной структуры было установлено, что комплекс Gd^{3+} с кеплератом $W_{72}Mo_{60}$ со стехиометрией 1:1 является оптимальным с точки зрения магнитной релаксивности и химической стабильности.
- 6) Установлено, что гидрофильная стабилизация триблок сополимерами как агрегированных, так и молекулярных комплексов Gd^{3+} с кластерами и кеплератами способствует стабилизации данных лигандов, и препятствует вымыванию ионов Gd^{3+} в буферных растворах бычьего альбумина, моделирующих плазму крови.

Список сокращений

ГСКА – гадолиний содержащие контрастные агенты

ПЭМ - просвечивающий электронный микроскоп

ДРС – динамическое рассеяние света

МУРР – малоугловое рассеяние света

БСА – бычий сывороточный альбумин

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] Pintaske, J. Relaxivity of gadopentetate dimeglumine (Magnevist), gadobutrol (gadovist), and gadobenate dimeglumine (MultiHance) in human Blood plasma at 0.2, 1.5, and 3 Tesla /J. Pintaske, P. Martirosian, H. Graf, G. Erb, K.-P. Lodemann, C. D. Claussen, F. Schick // Invest Radiol. – 2006. – V. 41. – P.213-221.
- [2] Schule, D. Metal-Based MRI Contrast Agents / Schule D. and P Caravan, Athinoula A. Martinos // Comprehensive Inorganic Chemistry II
- [3] Ferrucci, J. T. Gd-DOTA: characterization of a new paramagnetic complex / J. C. Bousquet, S. Saini, D. D. Stark, P. F. Hahn, M. Nigam, J. Wittenberg and J. T. Ferrucci// Radiology. – 1998. – V. 166. – P. 694– 698.
- [4] Rinck, Peter A. (2017). "Chapter 13 – Contrast Agents". Magnetic Resonance in Medicine (11th ed.). European Magnetic Resonance Forum. Retrieved 2020-07-31.
- [5] Hermann, P. Gadolinium(III) complexes as MRI contrast agents: ligand design and properties of the complexes / P. Hermann, J. Kotek, V. Kubcek, I. Lukes // Dalton Trans. – 2008. – P. 3027–3047
- [6] Fries, P.H. Belorizky E. J.Phys. (paris) 1978 V.39 P.-1263-1265
- [7] Kruk, D. Joint analysis of ESR lineshapes and ^1H NMRD profiles of DOTA-Gd derivatives by means of the slow motion theory / D. Kruk, J. Kowalewski, D. S. Tipikin, J. H. Freed, M. Mościcki, A. Mielczarek, M. Port // The J. Chem. Phys. – 2011. – V.134. – P. 24508.
- [8] Hwang, L.-P. Electron spin resonance studies of anisotropic rotational reorientation and slow tumbling in liquid and frozen media. III. Perdeuterated 2,2,6,6-tetramethyl-4-piperidone N-oxide and an analysis of fluctuating torques / L.-P. Hwang, J. H. Freed / J. Phys. Chem. – 1975. – V. 63. – P. 4017 – 4025.
- [9] Caravan, P. Gadolinium(III) Chelates as MRI Contrast Agents: Structure, Dynamics, and Applications / P. Caravan, J.J. Ellison, T. J. McMurry, and R. B. Lauffer // Chem. Rev. – 1999. – V.99. – P. 2293–2352

- [10] Blumfield, E. Gadolinium-based contrast agents — review of recent literature on magnetic resonance imaging signal intensity changes and tissue deposits, with emphasis on pediatric patients / E. Blumfield, E. David W. Swenson, R. S. Iyer, A. L. Stanescu // *Pediatr. Radiol.* – 2019. – V. 49. – P. 448–457
- [11] Goyen, M. Gadofosveset-enhanced magnetic resonance angiography / M. Goyen // *Vasc Health Risk Manag.* – 2008. – V. 4. – P. 1-9
- [12] Ramalho, J. Gadolinium-Based Contrast Agent Accumulation and Toxicity: An Update / J. Ramalho, R.C. Semelka, M. Ramalho, R.H. Nunes, M. AlObaidy, M. Castillo // *AJNR Am J Neuroradio.* – 2016. – V.37. – P. 1192-1198.
- [13] Hailon, H. Recent Advances of Bioresponsive Nano-Sized Contrast Agents for Ultra-High-Field Magnetic Resonance Imaging / Hailon, H. // *Front Chem.* – 2020. – V.8. – P.203 - 223.
- [14] Diaferia, C. Peptide-based building blocks as structural elements for supramolecular Gd-containing MRI contrast agents / C. Diaferia , E.Gianolio, A. Accardo Carlo// *J. Pep. Sci.*-2019,-V.25.-P.31-57.
- [15] Schmiedl, U. Macromolecular contrast media—enhanced MRI estimates of microvascular permeability correlate with histopathologic tumor grade/ U. Schmiedl, M. Ogan, H. Paaanen, M. Marotti, L.E. Crooks, C. Brito, C. Brasch // *Radiology.*-1998,-V.162.-P. 205-210
- [16] Wendland, M.F. Inversion-recovery EPI of bolus transit in rat myocardium using intravascular and extravascular gadolinium-based MR contrast-media-dose effects on peak signal enhancement. / MF Wendland, M . Saeed, , K. Lauerma, N . Derugin, J. Varadarajan J, A.D. Watson, C.B. Higgins // *Magn. Reson. Med.*-1994,-V. 32.-P.319–329.
- [17] Zu, G. Functional Hyperbranched Polylysine as Potential Contrast Agent Probes for Magnetic Resonance Imaging / G. Zu, M. Liu, K. Zhang, S. Hong, J. Dong, Y. Cao, B. Jiang, L. Luo, R. Pei // *Biomacromolecules.* – 2016. – V. 13. – P.2302.

- [18] Desser, T.S. Dynamics of tumor imaging with Gd-DTPA polyethylene-glycol polymers-dependence on molecular-weight/ T.S. Desser, D.L. Rubin, H.H. Muller, F. Qing, S. Khodor, G. Zanazzi, S.W. Young, D.L. Ladd, J.A. Wellons, K.E. Kellar // *J. Magn. Reson. Imaging.*-1994,-V.4-P.467–472.
- [19] Spanogh, M. Proton relaxation enhancement by means of serum albumin and poly-l-lysine labeled with DTPA-Gd³⁺: Relaxivities as a function of molecular weight and conjugation efficiency/ M.Spanogh, D.Lanen, R.Dommissie, A.Van der Linden, F.Alderweireldt // *J. Magn. Reson. Imaging.*-1992,-V.10-P.913-917
- [20] Pajaanen, H. Proton relaxation enhancement of albumin, immunoglobulin G, and fibrinogen labeled with Gd-DTPA / H. Pajaanen, T. Reisto, I. Hemmill, . Komu, P. Niemi, M. Kormano // *Magn. Reson. Med.* – 1990. – V. – P. 38-43.
- [21] Rebizak, R. Polymeric conjugates of Gd³⁺-diethylenetriaminepentaacetic acid and dextran. 2. Influence of spacer arm length and conjugate molecular mass on the paramagnetic properties and some biological parameters/ Rebizak R, Schaefer M, Dellacherie E. // *Bioconjugate Chem.*-V.9-P.-94–99.
- [22] Sato, N. Pharmacokinetics and enhancement patterns of macromolecular MR contrast agents with various sizes of polyamidoamine dendrimer cores. / N. Sato H. Kobayashi, A. Hiraga, T. Saga, K. Togashi, J. Konishi, M.W. Brechbiel // *Magn. Reson. Med.*-2001,-V.46-P.1169–1173.
- [23] Langereis, S. Multivalent contrast agents based on gadolinium-diethylenetriaminepentaacetic acid-terminated poly(propylene imine) dendrimers for magnetic resonance imaging./ Langereis S., de Lussanet Q.G., van Genderen M.H.P., Backes W.H.// *Macromolecules.*-2004,-V.37-P.3084–3091
- [24] Langereis, S. Evaluation of Gd(III)DTPA-terminated poly(propylene imine) dendrimers as contrast agents for MR imaging./ Langereis S., de Lussanet Q.G., van Genderen M.H.P., Meijer E.W. Beets-Tan R.G.H, Griffioen A.W., van Engelshoven // *NMR Biomed.*-2006,-V.19.-P.133–141.
- [25] Botta, M. Relaxivity Enhancement in Macromolecular and Nanosized Gd^{III}-Based MRI Contrast Agents / M.Botta, and L. Tei // *Eur. J. Inorg. Chem.*-2012,-P.1945–1960

- [26] Tilcock, C. Liposomal Gd-DTPA-preparation and characterization of relaxivity/ Tilcock C., Unger E., Cullis P., Macdougall P. // *Radiology*. – 1989. – V.171. – P. 7–80.
- [27] Pagoto, A. Paramagnetic phospholipid-based micelles targeting VCAM-1 receptors for the MRI visualization of inflammation/ A. Pagoto, R. Stefania, F. Garello, G. Digilio, S.Aime, and E. Terreno // *Bioconjug. Chem.* – 2016. – V.27. – P.1921.
- [28] Bull, S.R. Self-Assembled Peptide Amphiphile Nanofibers Conjugated to MRI Contrast Agents/ S.R. Bull, M. O. Guler, R.E. Bras, T.J. Meade and S. I. // *Nano Lett.* – 2005. – V. 5. – P. 1–4.
- [29] Ghosh, A. Fine-Tuning the pH Trigger of Self-Assembly / A.Ghosh, M. Haverick, K. Stump, X. Yang, M. F. Tweedle, and J. E. Goldberger// *J. Am. Chem. Soc.* – 2012. – V.134. – P. 3647–3650.
- [30] Laurent, S. Relaxivities of paramagnetic liposomes: on the importance of the chain type and the length of the amphiphilic complex/. Laurent, L. Vander Elst, Co.Thirifays, R.N. Muller// *Eur Biophys J.* – 2008. – V. 37. – P. 1007–1014.
- [31] Wahsner, J. Chemistry of MRI Contrast Agents: Current Challenges and New Frontiers / J.Wahsner, E. M. Gale, A. Rodríguez-Rodríguez, and P. Caravan // *Chem. Rev.* – 2019. – V. 119. – P. 957–1057.
- [32] Lobato, N.C.C. Characterization and Chemical Stability of Hydrophilic and Hydrophobic Magnetic Nanoparticles / N.C.C. Lobato, M. B. Mansura, A. de M. Ferreira // *Mat. Res.* – 2017. – V. 20. – P. 736 – 746.
- [33] Ahmad, M.W., Potential dual imaging nanoparticle: Gd₂O₃ nanoparticle / M.W. Ahmad, W. Xu, S. J. Kim, J. Su Baek, Y. Chang, J. E. Bae // *Sci.Rep.* – 2015. – V.5.
- [34] Hou, Y. NaGdF₄ nanoparticle-based molecular probes for magnetic resonance imaging of intraperitoneal tumor xenografts *in vivo* / R. Qiao, F. Fang, X. Wang, C. Dong, K. Liu, C. Liu, Z. Liu, H. Lei, F. Wang, M. Gao// *ACS Nano.* – 2012. – V. 7. – P.330–338.

- [35] Wang, G.D. Gd and Eu Co-Doped Nanoscale Metal–Organic Framework as a T₁–T₂ Dual-Modal Contrast Agent for Magnetic Resonance Imaging / G.D. Wang, H.Chen, W. Tang, D. Lee, and J. Xie //Tomography. – 2016. – V. 3. – P. 179–187.
- [36] Carniato, F. Gd-Based mesoporous silica nanoparticles as MRI probes / F. Carniato, L. Tei, M. Botta // Eur. J. Inorg. Chem. – 2018. – P. 4936–4954
- [37] Matthew, F.J.N. DNA-gadolinium-gold nanoparticles for in vivo T₁ MR imaging of transplanted human neural stem cells / F.J. N. Matthew , W. Rotz, H.Ghuman, K.W. MacRenaris, T. J. Meade, M. Modo // Biomaterials. – 2016. –V. 77. – P.291–306.
- [38] Xiao, F. Facile synthesis of Silicon quantum dot-Gadolinium: A potential fluorescent/T₁-T₂ multimodal imaging agent / F. Xia, Y. Xiaoa, F. Chena, X. Liua, C. Line, J. Chenc, Y. Wub / Talanta. – 2019. – V. 199. – P. 336–346.
- [39] Bridot, J.-L. Hybrid gadolinium oxide nanoparticles combining imaging and therapy. / J.-L. Bridot // J. Mater. Chem.–2009. – V.19. – P.2328–2335.
- [40] Trinh, L. H., Facile Synthesis of Ultrafine Gd₂O₃ Nanoparticles by Polyol Microwave Method / L. H. Trinh, T. T. Hoa, N. V. Hieu, N. D. Cuong // J. Electron. Mat. – 20017. – V.46. – P. 3484–3490.
- [41] Liu, G. Hydrothermal synthesis of spherical and hollow Gd₂O₃:Eu³⁺ phosphors / Liu, G. Gu. Hong, J.Wang, X. Dong // J. Alloys and Compd. – 2007. – V. 432. – P. 200 – 2004.
- [42] Murilloa, A.G. F-127-Assisted Sol-Gel Synthesis of Gd₂O₃:Eu³⁺ Powders and Films / A. G. Murillo , V.H. C. Calderon , F. de J. C. Romo, D. Y. Medina Velazquez // Mater. Res. – 2019 – V.22 – P. 1 – 6.
- [43] Zhan-Yun, H. Single-Step Fabrication of Gd₂O₃@SiO₂ Nanoparticles for use as MRI Contrast Agents by Pulsed Laser Ablation in Liquid / H. Zhan-Yun, L. Li, S. Yuan-Zhi, C. Di-Hu// Chin. Phys. Lett. – 2013. – V. 30.
- [44] V. G. Ilves Properties of the amorphous-nanocrystalline Gd₂O₃ powder prepared by pulsed electron beam evaporation / V. G. Ilves, S. Yu. Sokovnin, S. A. Uporov, M. G. Zuev // Phys Solid State. – 2013. – V.55. – P.1262–1271.

- [45] Tsuzuki, T. Mechanochemical synthesis of nanoparticles / T. Tsuzuki, P. G. McCormick // *J Mat.Sci.* – 2004. – V.39. – P. 5143–5146.
- [46] Xia, Y. Shape-controlled synthesis of metal nanocrystals: simple chemistry meets complex physics / Y. Xia, Y. Xiong, B. Lim, S. E. Skrabalak // *Angew Chem Int Ed Engl.* – 2009. – V.48. – P. 60-103.
- [47] Peng, X.M. Characteristics of patients with liver disease intravenously exposed to diethylene glycol in China 2006 / X.M. Peng, M.X. Huang, L. Gu, B.L. Lin, G.H. Chen // *Clin Toxicol.* – 2006. – V. 47. – P. 124–131.
- [48] Feldmann, C. Polyol-Mediated Preparation of Nanoscale Oxide Particles / C. Feldmann and H. O. Jungk // *Angew.Chem. Int. Ed.* – 2001. – V.5 – P. 359.
- [49] Luo, N. High longitudinal relaxivity of ultra-small gadolinium oxide prepared by microsecond laser ablation in diethylene glycol / N. Luo, X. Tian, J. Xiao, W. Hu, C. Yang, L. Li, and D. Chen // *J. Appl. Phys.* – 2013. – V. 113. – P.164306.
- [50] Park, J.Y. Paramagnetic Ultrasmall Gadolinium Oxide Nanoparticles as Advanced T₁ MRI Contrast Agent: Account for Large Longitudinal Relaxivity, Optimal Particle Diameter, and In Vivo T₁ MR Images Park J. Y., Baek M.J., Sook E. Yongmin C. and Gang Ho L. // *ACS Nano.* – 2009. – V. 3. – P.3663–3669
- [51] Sakai, N. Synthesis of Gd₂O₃ nanoparticles for MRI contrast agents / N Sakai, Zhu L., Kurokawa A., Takeuchi H., Yano S., Yanoh T., Wada N., Taira S., and Ichiyanagi Y. // *J. of Physics.* – 2012. – V. 355.
- [52] Aren, M.A. simple polyol-free synthesis route to Gd₂O₃ nanoparticles for MRI applications: an experimental and theoretical study / Maria A., Linnéa S., Soderlind F., Mathieu L., Kauczor J., Norman P., Käll P.-O., Uvdal K. // *J. Nanopart. Res.* – 2012. – V. 14. – P.1006.
- [53] Jinchang, Y. MRI relaxivity enhancement of gadolinium oxide nanoshells with a controllable shell thickness/ Jinchang Y., Deqi Ch., Yu Zhang, Chaorui L., Lizhi L. and Yuanzhi Sh. // *Phys.Chem.Chem.Phys.*, - 2018,-V. 20,-P. 10038
- [54] Wu, H. Electrospun Metal Nanofiber Webs as High-Performance Transparent Electrode / H. Wu, L. Hu, M. W. Rowell, D. Kong, J. J. Cha, J. R. Mc

Donough, J. Zhu, Y. Yang, M. D. McGehee, and Y. Cui // *Nano Lett.* – 2010. – V.10. – P.4242.

[55] Paik, T. Designing Tripodal and Triangular Gadolinium Oxide Nanoplates and Self-Assembled Nanofibrils as Potential Multimodal Bioimaging Probes / T. Paik, T. R. Gordon, A. M. Prantner, H. Yun, and C. B. Murray // *ACS Nano.* – 2013. – V.7. – P. 2850.

[56] Das, G.K. Gadolinium Oxide Ultranarrow Nanorods as Multimodal Contrast Agents for Optical and Magnetic Resonance Imaging / G.K. Das, B. C. Heng, S.-C. Ng, T. White, J. S. C. Loo, L. D'Silva, P. Padmanabhan, K.K. Bhakoo, S.T. Selvan, T.T.Y.Tan // *Langmuir.* – 2010. – V. 26. – P. 8959–8965.

[57] Gamucci, O. Biomedical Nanoparticles: Overview of Their Surface Immune-Compatibility / O. Gamucci, A. Bertero, M. Gagliardi, and G. Bardi // *Coatings.* – 2014. – V.4. – P.139.

[58] He, K. pH-Responsive polyelectrolyte coated gadolinium oxide-doped mesoporous silica nanoparticles ($Gd_2O_3@MSNs$) for synergistic drug delivery and magnetic resonance imaging enhancement K. He, J. Li, Y. Shen, Y.Yu / *J. Mater. Chem. B.* – 2019. – V. 7. – P. 6840-6854.

[59] Hu, F. Facile synthesis of ultras-small PEGylated iron oxide nanoparticles for dual-contrast T_1 - and T_2 -weighted magnetic resonance imaging /F. Hu, Q. Jia // *Nanotechnology.* – 2011. –V.22. – P.245604.

[60] Ahmad, M. Y. In Vivo Positive Magnetic Resonance Imaging Applications of Poly(methyl vinyl ether-alt-maleic acid)-coated Ultra-small Paramagnetic Gadolinium Oxide Nanoparticles / M. Y.Ahmad, W Ahmad, H. Yue 1, S. L. Ho, J. A. Park,K.-H. Jung, H. Cha, S. Marasini, A. G., S. Liu,T. Tegafaw, K.-S. Chae, Y. Chang, G.H. Lee // *Molecules.* – 2020. – V. 25. – P. 1159-1172.

[61] Suk, J.S. PEGylation as a strategy for improving nanoparticle-based drug and gene delivery / J. S. Suk, Q. Xu, N. Kim, J. Hanes, L. M. Ensigna // *Adv Drug Deliv Rev.* – 2016. – V. 99. – P. 28-51.

- [62] McDonald, M. A. Investigations into the physicochemical properties of dextran small particulate gadolinium oxide nanoparticles and / M. A. McDonald, K. L. Watkin // *Academic Radiol.* – 2006. – V. 13. – P. 421.
- [63] Shubayev, V. I. Magnetic nanoparticles for theragnostics / V. I. Shubayev, T. R. Pisanic, II, and S. Jin // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2009 – V.61. – P.467.
- [64] C.L. Hill, M.S. Weeks, R.F. Schinazi, F. Paymond, *J. Med. Chem.* 33 (1990) 2767–2772
- [65] Bijelic, A. Polyoxometalates as Potential Next-Generation Metallodrugs in the Combat Against Cancer / A. Bijelic, M. Aureliano, A. Rompel // *Angew Chem Int Ed Engl.* – 2019. – V. 58. – P. 2980–2999.
- [66] Li, Z. The gadolinium complexes with polyoxometalates as potential MRI contrast agents / Z. Li, W. Li, X. Li, F. Pei, Y. Li, H. Lei // *Magn Reson Imaging.* – 2007. – V. 3. – P. 412 – 419.
- [67] Sun, G. Investigation of sandwiched gadolinium (III) complexes with tungstosilicates as potential MRI contrast agents / G. Sun, J. Feng, H. Wu, F. Pei, K. Fang, H. Lei // *Magn. Reson. Imaging.* – 2004. – V. 22. – P. 421–426
- [68] Feng, J. An evaluation of gadolinium polyoxometalates as possible MRI contrast agent / J. Feng, X. Li, X. Li, F. Pei, M. Liu // *Magn. Reson. Imaging.* – 2006. – V.5. – P. 407-419.
- [69] Li, Z. The gadolinium complexes with polyoxometalates as potential MRI contrast agents / Z. Li, W. Li, X. Li, F. Pei, Y. Li, H. Lei // *Magn. Reson. Imaging.* – 2007. – V. 25. – P. 412–417.
- [70] Feng, J. Comparison between GdDTPA and two gadolinium polyoxometalates as potential MRI contrast agents / J. Feng, G. Sun, F. Pei, M. L. // *J. Inorg. Biochem.* – 2002. – V. 92. – P. 193–199.
- [71] Nisar, A. Surfactant-encapsulated polyoxometalate building blocks: controlled assembly and their catalytic properties / A. Nisar, X. Wang // *Dalton Trans.* – 2012. – V. 41. – P. 9832–9845.

- [72] Tan, J. Morphology Evolution of Stimuli-Responsive Triblock Copolymer Modulated by Polyoxometalates / J. Tan, D. Chong, Y. Zhou, R. Wang, X. Wan, J. Zhang / *Langmuir*. – 2018. – V. 34. – P. 8975–8982
- [73] Zhang, S. Biocompatible supramolecular dendrimers bearing a gadolinium-substituted polyanionic core for MRI contrast agents / S. Zhang, Y. Zheng, D.-Yi Fu, W. Li, Y. Wu, B. Li and L. Wu J. // *Mater. Chem. B*. – 2017. – V.5. – P.4035.
- [74] Chai, D.W. Hybrid Assemblies based on a gadolinium-containing polyoxometalate and a cationic polymer with spermine side chains for enhanced MRI contrast agents / W. Chai, S. Wang, H. Zhao, G. Liu, K. Fischer, H. Li, L. Wu, M. Schmidt // *Chem. Eur. J.* – 2013. – V.19. – P. 13317 – 13321.
- [75] Chai, W. Structurally dependent self-assembly and luminescence of polyoxometalate-cored supramolecular star polymers / W. Chai, S. Wang, H. Zhao, G. Liu, K. Fischer, H. Li, L. Wu and M. Schmidt // *Chem. Eur. J.* – 2013. – V .19. – P.13317 – 13321
- [76] Wang, Y. Structurally dependent self-assembly and luminescence of polyoxometalate-cored supramolecular star polymers / Y. Wang, S. Zhou, D.Kong, H. Yang, W. Chai, U. Kortzd and L. Wu // *Dalton Trans.* – 2012. – V.41. – P.10052.
- [77] Yong, Y. Gadolinium polytungstate nanoclusters: a new theranostic with ultrasmall size and versatile properties for dual-modal MR/CT imaging and photothermal therapy/radiotherapy of cancer / Yong Y., Liangjun Zhou, S. Zhang, Liang Yan, Z. Gu, G.Zhang, Y. Zhao // *NPG Asia Mater.* – 2016. – V. 8. – P. 273 – 284.
- [78] Amirov, R.R. Distribution of Gd(III) ions at the graphene oxide/water interface / R. R. Amirov, J. Shayimova, A.t M. Dimiev // *J. Colloid Interface Sci.* – 2008. – V. 527. – P. 222–229.
- [79] Amirov, R.R. Analysis of competitive binding of several metal cations by graphene oxide reveals the quantity and spatial distribution of carboxyl groups on its surface / R. R. Amirov, J. Shayimova, Z. Nasirova, A. Solodov, A. M. Dimiev // *Phys.Chem.Chem.Phys.* – 2018. – V. 20. – P. 2320.

- [80] Gizzatov, A. Enhanced MRI relaxivity of aquated Gd³⁺ ions by carboxyphenylated water-dispersed graphene nanoribbon / A. Gizzatov, V.Keshishian, A. Guven, A. M. Dimiev, F. Qu, R. Muthupillai, P. Decuzzi, R. G. Bryant, J. M. Tour and L. J. Wilson // *Nanoscale*. – 2014. – V. 6. – P. 3059.
- [81] Ren, X. Easy preparation of an MRI contrast agent with high longitudinal relaxivity based on gadolinium ions-loaded graphene oxide / X. Ren, X. Jing, L. Liu, L. Guo, M. Zhangc and Y. Li // *RSC Adv*. – 2014. – V.4. – P.53987.
- [82] Zhanga, M. Ultrasmall graphene oxide based T₁ MRI contrast agent for in vitro and in vivo labeling of human mesenchymal stem cells / M. Zhanga, X. Liua, J. Huang, L. Wanga, H. Shena, Y. Luoc, Z.Lia, H. Zhanga, Z. Denga, Z. Zhanga // *Nanomed Nanotechnol*. – 2018. – V. 14 – P.2475–2483.
- [83] Cabrera-García, A., Engineered contrast agents in a single structure for T₁–T₂ dual magnetic resonance imaging / A. Cabrera-García, E. Checa-Chavarria, J. Pacheco-Torres,c Á. Bernabeu-Sanz, A. Vidal-Moya, E. Rivero-Buceta, a G. Sastre, E. Fernández and P. Botella // *Nanoscale*. – 2018. – V. 10. – P.6349/
- [84] Zelenak, V. Fe₂O₃ and Gd₂O₃ nanoparticles loaded in mesoporous silica: insights into influence of NPs concentration and silica dimensionality / V. Zelenak, A. Zelenakova, O. Kapusta, P. Hrubovcak, V. Girman and J. Bednarcik // *RSC Adv*.- 20019. – V.9. – P. 3679-3687.
- [85] Xiao, L. Gd₂O₃-doped silica @ Au nanoparticles for in vitro imaging cancer biomarkers using surface-enhanced Raman scattering panel / L. Xiao, X. Tian, S. Harihar, Q. Li, L. Lid, D. R.Welch, A.Zhou // *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc*. – 2017. – V. 15. – P. 218–225.
- [86] Aldalbahi, A. Mesoporous silica modified luminescent Gd₂O₃:Eu nanoparticles: physicochemical and luminescence properties / A. Aldalbahi, M. Rahaman, A. A. Ansari // *J. Sol-Gel Sci. Technol*. – 2019. – V.89. – P. 785-795.
- [87] Zhanga, Y. A versatile theranostic nanoplatform based on mesoporous silica / Y. Zhanga, J.Chengc, N.Lia, R.Wanga, G. Huangd, J. Zhub, D. Hea // *Mater. Sci. Eng. C*. – 2019. – V. 98. – P. 560–571.

- [88] Yin, J. MRI relaxivity enhancement of gadolinium oxide nanoshells with a controllable shell thickness / J. Yin, D. Chen, Y. Zhang, C. Li, L. Liud, Y. Shao // *Phys.Chem.Chem.Phys.* – 2018. – V. 20. –P. 10038 – 10048.
- [89] Carniato, F. Gd-Based Mesoporous Silica Nanoparticles as MRI Probes F. / Carniato, L. Tei, M. Botta // *Eur. J. Inorg. Chem.* – 2018. – V.6. – P.4936–4954
- [90] Ashour, R.M. DTPA-Functionalized Silica Nano- and Microparticles for Adsorption and Chromatographic Separation of Rare Earth Elements / R. M. Ashour, M. Samouhos, E. P. Legaria, M. Svard, J. Hogblom, K. Forsberg, M. Palmlof, V.G. Kessler, G. A. Seisenbaeva, A.C. Rasmuson // *ACS Sustainable Chem. Eng.* – 2018. – V. 6. – P. 6889–6900.
- [91] Grechkina, S.V. Tuning the non-covalent confinement of Gd(III) complexes in silica nanoparticles for high T_1 -weighted MR imaging capability / S.V. Grechkina, S.V. Fedorenko, A.R. Mustafina, R.R. Amirov, S.E. Soloveva, *Colloid Surface B.* – 2017. – V. 149. – P. 243-249.
- [92] Perera, V.S. Biocompatible Nanoparticles of $\text{KGd}(\text{H}_2\text{O})_2[\text{Fe}(\text{CN})_6]\cdot\text{H}_2\text{O}$ with Extremely High T_1 -Weighted Relaxivity Owing to Two Water Molecules Directly Bound to the Gd(III) Center / V. S. Perera, L. D. Yang, J. Hao, G. Chen, B.O. Erokwu, C.A. Flask, P. Y. Zavalij, J.P. Babilion, S. D. Huang // *Langmuir.* – 2014. – V.30. – P. 12018–12026.
- [93] Elistratova, J.G. Sensing activity of cholinesterases through a luminescence response of the hexarhenium cluster complex $[\text{Re}_6\text{S}_8(\text{OH})_6]^{4-}$ / J.G. Elistratova, A.R. Mustafina, K.A. Brylev, K.A. Petrov, M.A. Shestopalov, Y.V. Mironov, V.M. Babaev, I.K. Rizvanov, P. Masson, O.G. // *Analyst.*-2016.-V.141.-P.4204–4210
- [94] Choi, S.-J. Cellular uptake and cytotoxicity of octahedral rhenium cluster complexes/ S.-J. Choi, K.A. Brylev, J.-Z. Xu, Y.V.Mironov, V.E. Fedorov, Y.S. Sohn, S.-J.Kim, J.-H. Choy // *J. Inorg. Biochem.*-2008.-V.102.-P. 1991–1996.
- [95] Naumov, N.G. Glycerol as Ligand: The Synthesis, Crystal Structure, and Properties of Compounds $[\text{Ln}_2(\text{H}_2\text{L})_2(\text{H}_3\text{L})_4][\text{Re}_6\text{Q}_8(\text{CN})_6]$, Ln = La, Nd, Gd, Q =

S, Se N. G. Naumov, M. S. Tarasenko, A. V. Virovets, Y. Kim, S.-J. Kim, V.E. Fedorov // *Eur. J. Inorg. Chem.* – 2006. – P. 298–303.

[96] Tarasenko, M.S. Structure of coordination polymers $\text{Cs}_5[\{\text{Ln}(\text{H}_2\text{O})_4(\text{C}_2\text{H}_6\text{O})\}\{\text{Re}_6\text{Se}_8(\text{CN})_6\}_2]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Ln = La, Nd) / M.S. Tarasenko, N. G. Naumov, N. V. Kuratieva // *J. Struct Chem.* – 2015. – V. 56. – P. 1143-1147

[97] Artemkina, S. B. New polymeric structure of rhenium octahedral chalcocyanide complex: Ln^{3+} -derived network with one-dimensional channels / S. B. Artemkina, N.G. Naumov, A.V. Virovets, S. A. Gromilov, D. Fenske, V.E. Fedorov// *Inorg. Chem. Commun.* – 2001. – V.4. – P. 423–426.

[98] Artemkina, S.B. 3D-Coordination Cluster Polymers $[\text{Ln}(\text{H}_2\text{O})_3\text{Re}_6\text{Te}_8(\text{CN})_6]\cdot n\text{H}_2\text{O}$ (Ln^{3+} , La^{3+} , Nd^{3+}): Direct Structural Analogy with the Mononuclear $\text{LnM}(\text{CN})_6\cdot n\text{H}_2\text{O}$ Family / S. B. Artemkina, N. G. Naumov, A. V. Virovets, V.E. Fedorov // *Eur. J. Inorg. Chem.* – 2005. – P. 142 – 146.

[99] Muller, A. Organizational forms of matter: an inorganic super fullerene and keplerate based on molybdenum oxide / Muller A., Krickemeyer E., Bogge H., Schmidtman M., Peters F. // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* – 1998. – V.37. – P. 3359–3363.

[100] Khoshyan, A. Aerobic $\{\text{Mo}_{72}\text{V}_{30}\}$ nanocluster-catalysed heterogeneous one-pot tandem synthesis of benzimidazoles / A. Khoshyan, M. Pourtahmasb, F. Feizpour, M. Jafarpour, A. Rezaeifard // *Appl Organometal Chem.* – 2019. – V.33. – P. 4638.

[101] Kistler, M.L. Molybdenum-oxide based unique polyprotic nanoacids showing different deprotonations and related assembly processes in solution M. L. Kistler, T. Liu, P. Gouzerh, A.M. Todea, A. Muller // *Dalton Trans.* – 2009. – V.3 – P. 5094–5100.

[102] Muller, A. Formation of a “less stable” polyanion directed and protected by electrophilic internal surface functionalities of a capsule in growth: $[\{\text{Mo}_6\text{O}_{19}\}^{2-} \subset \{\text{Mo}^{\text{VI}}_{72}\text{Fe}^{\text{III}}_{30}\text{O}_{252}(\text{ac})_{20}(\text{H}_2\text{O})_{92}\}]^{4-}$ / A. Muller, A. M. Todea, H. Bogge, J. van Slageren, M. Dressel, A. Stammlera and M. Rusu // *Chem. Commun.* – 2006. – V. 20 – P. 3066–3068.

- [103] Jung, J. K. Proton NMR in the giant paramagnetic molecule $\{\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}\}$ / J.K. Jung, D. Procissi, R. Vincent, B. J. Suh, F. Borsa, P. Kogerler, C. Schröder, M. Luban // *J. Appl.* – 2002. – V.91. – P. 7388–7391.
- [104] Rezaeifar, A. $\{\text{Mo}_{72}\text{Cr}_{30}\}$ nanocluster as a novel self-separating catalyst for hydrogen peroxide olefin epoxidation / A. Rezaeifar, M. Jafarpour, R. Haddad, F. Feizpour // *Cat Com.* – 2017. – V.95. – P. 88–91.
- [105] Kistler, M.L. Molybdenum-oxide based unique polyprotic nanoacids showing different deprotonations and related assembly processes in solution / M.L.Kistler, T. Liu, P. Gouzerh, A.M. Todea, A. Muller // *A (2009) Dalton.* – 2009. – V. 26. – P. 5094 – 5100.
- [106] Awada, M. Synthesis and Characterizations of Keplerate Nanocapsules Incorporating L- and D-Tartrate Ligands/ M. Awada, S. Floquet, J. Marrot, M. Haouas, S, P. Morcillo, C. B, Gandon, V. Coeffard, C. Greck, E. Cadot // *J Clust Sci.* – 2017. – V. 28. – P. 799–812.
- [107] Schäffer, C. Spontaneous self-assembly of a giant spherical metal-oxide Keplerate: addition of one building block induces “immediate” formation of the complementary one from a constitutional dynamic library / C. Schäffer, A. M. Todea, a P. Gouzerh, A. Müller // *Chem. Commun.* – 2012. – V. 48. – P. 350-352.
- [108] Muller, A. From linking of metal-oxide building blocks in a dynamic library to giant clusters with unique properties and towards adaptive chemistry / A. Muller and P. Gouzerh // *Chem. Soc. Rev.* – 2012. – V.41. – P. 7431–7463.
- [109] Muller, A. En route to coordination chemistry under confined conditions in a porous capsule: Pr^{3+} with different coordination shells / A. Muller, Y. Zhou, L. Zhang, H. Bogge, M. Schmidtman, M. Dressel, J. Slageren // *Chem. Commun.* – 2004. – V.18. – P. 2038–2039.
- [110] Muller, A. “Gating” the Pores of a Metal Oxide Based Capsule: After Initial Cation Uptake Subsequent Cations Are Found Hydrated and Supramolecularly Fixed above the Pores / A. Muller, Y. Zhou, H. Bogge, M. Schmidtman, T. Mitra, E. Haupt and A. Berkle // *Angew. Chem., Int. Ed.* – 2006. – V. 45. – P. 460–465.

- [111] Zhang, L. A Supramolecular Derivative of a Nanoporous Molybdenum Oxide Based Inorganic Keplerate with Self-Defocusing Nonlinear Optical Properties / L. Zhang, Y. Zhou, R. Han // *Eur. J. Inorg. Chem.* – 2010. – P. 2471–2475.
- [112] Rubcic, M. Molecular recognition of Ca²⁺ cations by internal and external receptors/interfaces in a spherical porous molybdenum-oxide capsule: unusual coordination scenarios/ M. Rubcic, V. Korenev, L. Toma, H. Bogge, V. Fedin and A. Muller // *Inorg. Chem. Front.* – 2014. – V.1. – P. 740–744.
- [113] Elistratova, J. Structure optimization for enhanced luminescent and paramagnetic properties of hydrophilic nanomaterial based on heterometallic Gd-Re complexes / J. Elistratova, B. Akhmadeev, A. Gubaidullin, M. Shestopalov, A. Solovieva, K. Brylev, K. Kholin, I. Nizameev, I. Ismaev, M. Kadirov, A. Mustafina // *Mat&Des.* – 2018. – V.146. – P. 49-56.
- [114] Caravan, P. Influence of molecular parameters and increasing magnetic field strength on relaxivity of gadolinium- and manganese-based T₁ contrast agents / P. Caravan, C. T. Farrar, L. Frullano, R. Uppal // *Contrast Media Mol. Imaging.* – 2009. – V.4. – P. 89–100.
- [115] Yoshimura, T. Unusual capping chalcogenide dependence of the luminescence quantum yield of the hexarhenium(III) cyano complexes [Re₆(μ-E)₈(CN)₆]⁴⁻, E²⁻ = Se²⁻ > S²⁻ > Te²⁻ / T. Yoshimura, Ishizaka S., Sasaki Y., Kim H.-B., Kitamura N., Naumov N.G., Sokolov M.N., Fedorov V.E // *Chem. Lett.* – 1999. – V.10. – P. 1121-1122.
- [116] Brylev, K.A. [{Re₆Q₈}(SO₃)₆]¹⁰⁻ (Q = S or Se) – the most highly charged octahedral cluster complexes: facile synthesis and characterization properties / K.A. Brylev, B. S. Akhmadeev, J.G. Elistratova, I. R. Nizameev, A.T. Gubaidullin, K.V. Kholin, I. V. Kashnik, N. Kitamura, S.-J. Kim, Y. V. Mironov, A. R. Mustafina // *Inorg. Chem.* – 2019. – V. 58. – P. 15889-15897.
- [117] Vorotnikov, Y. A. Hexaazide octahedral molybdenum cluster complexes: Synthesis, properties and the evidence of hydrolysis / Y. A. Vorotnikov, O.A. Efremova, I.N. Novozhilov, V.V. Yanshole, N.V. Kuratieva, K.A. Brylev, N.

Kitamura, Y.V. Mironov, M.A. Shestopalov // *J. Mol.Struct.* – 2017. – V. 1134. – P. 237–243.

[118] Elistratova, J. Nanoscale hydrophilic colloids with high relaxivity and low cytotoxicity based on Gd(III) complexes with Keplerate polyanions / J. Elistratova, B. Akhmadeev, A. Gubaidullin, V. Korenev, M. Sokolov, I. Nizameev, A. Stepanov, I. Ismaev, M. Kadirov, A. Voloshina and A. Mustafina // *New J. Chem.* – 2017. – V. 41. – P. 5271-5275.

[119] Wanka, G. The aggregation behavior of poly-(oxyethylene)-poly-(oxypropylene)-poly-(oxyethylene)-block-copolymers in aqueous solution / G. Wanka, H. Hoffmann, W. Ulbricht // *Colloid Polym. Sci.* – 1990. – V. 268. – P. 101–117.

[120] Fotios, M.V. Molybdate modulates mitogen and cyclosporin responses of human peripheral blood lymphocytes / M.V. Fotios, D. Andreas, T. Ekaterini // *J. Trace Elem. Med. Biol.* – 2011. – V.25. – P.138–142.

[121] Exner, A.A. Enhancement of carboplatin toxicity by Pluronic block copolymers / A. A. Exner, T. M. Krupka, K. Scherrer, J. M. Teets, J. Controlled Release. – 2005. – V. 106. – P. 188–197.

[122] Chen, Y.C. Pluronic block copolymers: novel functions in ultrasound-mediated gene transfer and against cell damage / Y.C. Chen, H. D. Liang, Q. P. Zhang, M. K. Blomley, Q. L. Lu // *Ultrasound Med. Biol.* – 2006. – V. 32. – P. 131–137.

[123] Elistratova, J. Self-assembly of Gd³⁺-bound keplerate polyanions into nanoparticles as a route for synthesis of positive MRI contrast agents of the structure on the magnetic relaxivity/ J. Elistratova, B. Akhmadeev, V. Korenev, M. Sokolov, I. Nizameev, A. Gubaidullin, A. Voloshina, A. Mustafina // *J. Soft Matter.* – 2018. – V. – P. 7916-7925.

[124] Muller, A. Porous Capsules Allow Pore Opening and Closing That Results in Cation Uptake / A. Muller, L. Toma, H. Bogge, C. Schaffer, A. Stammeler // *Angew. Chem.* – 2005. – V. 117. – P. 7935 –7939.

- [125] Pizzanelli, S. Trapping of Gd(III) Ions by Keplerate Polyanionic Nanocapsules in Water: A ^1H Fast Field Cycling NMR Relaxometry Study /S. Pizzanelli, R. Zairov, M. Sokolov, M. C. Mascherpa, B. Akhmadeev, A. Mustafina, L. Calucci // *J. Phys. Chem. C.* – 2019. – V. 123. – P. 18095-18102.
- [126] Elistratova, J. Aqueous solutions of triblock copolymers used as the media affecting the magnetic relaxation properties of gadolinium ions trapped by metal-oxide nanostructures / J. Elistratova, B. Akhmadeev, V. Korenev, M. Sokolov, I. Nizameev, I. Ismaev, M. Kadirov, A. Sapunova, A. Voloshina, R. Amirov, A. Mustafina // *Journal of Mol. Liq.* – 2019. – V. 296. – P.111821.
- [127] Bridot, J.-L. Hybrid gadolinium oxide nanoparticles: multimodal contrast agents for in vivo imaging / J.-L. Bridot, A.-C. Faure, S. Laurent, C. Riviere, C. Billotey, B. Hiba, M. Janier, V. Josserand, J.-L. Coll, L. Vander Elst, R. Muller, S. Roux, P. Perriat, O. Tillement, // *J. Am. Chem. Soc.* – 2007. – V. 129. – P. 5076 – 5084.
- [128] Elistratova, J. The effect of temperature induced phase transitions in aqueous solutions of triblock copolymers and Triton X-100 on the EPR, magnetic relaxation and luminescent characteristics of Gd(III) and Eu(III) ions / J. Elistratova, A. Mustafina, A. Litvinov, V. Burilov, A. Khisametdinova, V. Morozov, R. Amirov, Y. Burilova, D. Tatarinov, M. Kadirov, V. Mironov, A.I. Konovalov // *Colloids Surf., A.* – 2013. – V. 422. – P. 126–135.
- [129] Liu, T. Formation of a salt-polymer complex in L64/water/ CdCl_2 systems / T. Liu, Yi Xie, D. Liang, Sh Zhou, Ch Jassal, M. McNab, Ch Hall, Ch-L. Chuang, B. Chu // *Langmuir.* – 1998. – V. 14. – P. 7539 – 7542.

ПРИЛОЖЕНИЕ

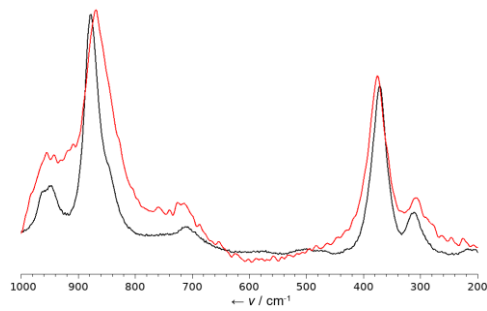


Рисунок П.1. Рамановские спектры кеплерата $\text{Mo}_{132}(\text{OAc})$ в растворе (черная линия) и в твердом виде (красная линия)

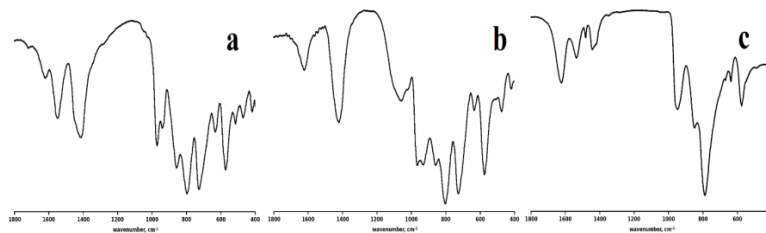


Рисунок П.2. Ик-спектры кеплератов: а – $\text{Mo}_{132}(\text{OAc})$, б – $\text{Mo}_{132}(\text{PO}_4)$, с – $\text{Mo}_{132}(\mu\text{-S})$.

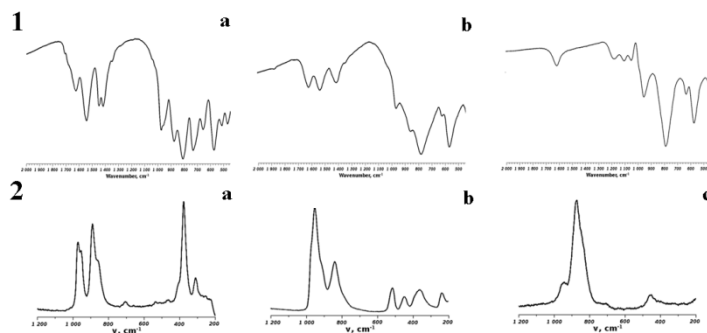


Рисунок П.3. ИК-(1) и Рамановские спектры (2): а - $\text{W}_{72}\text{Mo}_{60}$; б – $\text{Mo}_{72}\text{F}_{30}$; с – $\text{Mo}_{72}\text{V}_{30}$.

Таблица П1. Содержание Re и Gd в коллоидах 1) $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{S}_8\}(\text{CN})_6]_y$ при pH=6, 2) $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{S}_8\}(\text{CN})_6]_y$ при pH = 8; 3) $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{Se}_8\}(\text{CN})_6]_y$ при pH = 8

Образец	Содержание мг/л, $\pm 10\%$		Gd : Re(молярное соотношение)
	Re(221,426 nm)	Gd(335,047 nm)	
1	55.2	12.9	0.26
2	18.2	25.5	1.65
3	19.9	32.9	1.95

Таблица П2. Состав коллоидов $\text{Na}_x\text{Gd}_y[\{\text{Re}_6\text{S}_8\}(\text{SO}_3)_6]$ по данным АЭС.

	Элементный состав, мг/л, $\pm 10\%$	
	Gd (335.047 нм)	Re (221.426 нм)
$\text{Na}_x\text{Gd}_y[\{\text{Re}_6\text{S}_8\}(\text{SO}_3)_6]$	9.25	37.4
$\text{Na}_x\text{Gd}_y[\{\text{Re}_6\text{Se}_8\}(\text{SO}_3)_6]$	17.1	57.8

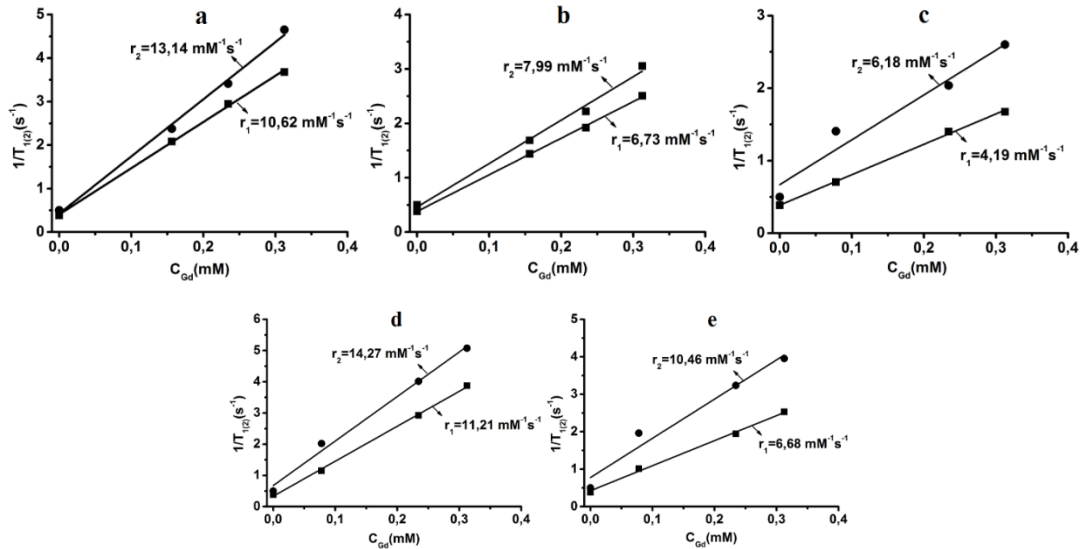


Рисунок П4. Зависимости $1/T_1$ и $1/T_2$ от концентрации Gd(III), измеренные при 25 °С, 1.41 Тл и 60 Гц для коллоидов $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{CN})_6]_y$, стабилизированных F-127, и Омнискана на приборе Bruker NMR: а) Q=S; б) Q=Se; с) – Омнискан. d) и е) Зависимости $1/T_1$ и $1/T_2$ от концентрации Gd(III), измеренные на медицинском томографе (1.5 Тл) для коллоидов $\text{Gd}_x[\{\text{Re}_6\text{Q}_8\}(\text{CN})_6]_y$, стабилизированных F-127: d) Q=S; е) Q=Se

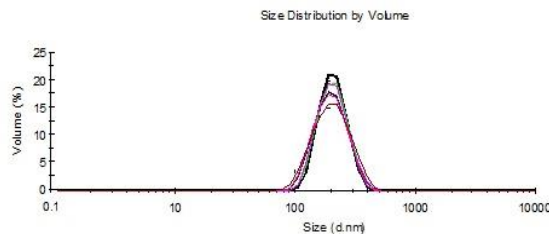


Рисунок П5. Распределение по объему, полученное методом ДРС для коллоидов $\text{Gd}_x(\text{Kp})_y$ ($\square = -22 \pm 1 \text{ mV}$).

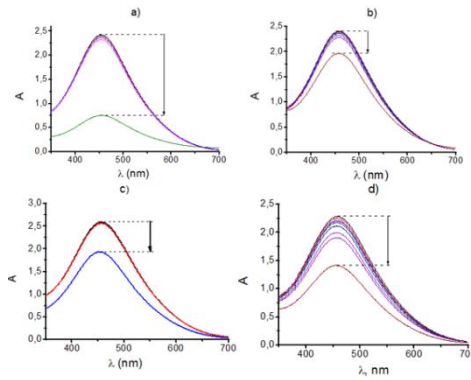


Рисунок П6. УФ-спектры коллоидного раствора $Gd_x(Kp)_y$ (0.007 мМ $Mo_{132}(OAc)$ и 0.08 мМ Gd^{3+}), измеренные в течении 24 часов: (а) без стабилизатора; (b) F-127 (0.08 мМ);(c) P-123 (0.5 мМ);(d) F-68 (0.12 мМ).

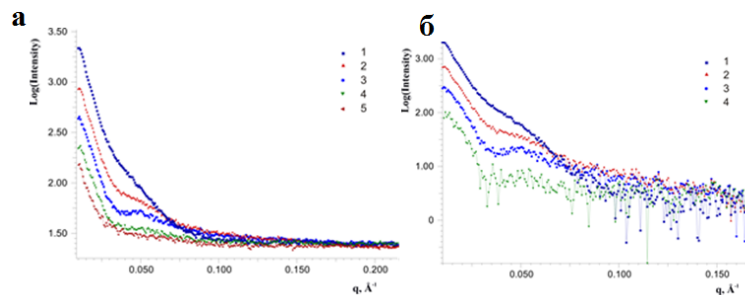


Рисунок П7. Спектры малоуглового рентгеновского рассеяния раствора кеплерата Mo_{132} и коллоидов $Gd_x(Mo_{132}(OAc))_y@P-123$ до (а) и после вычитания рассеяния воды(б): $Mo_{132}(OAc)$ (0.01мМ), P-123 (0.5мМ), $Gd(NO_3)_3$ (0.06мМ) (1); $Mo_{132}(OAc)$ (0.01мМ), P-123 (0.5мМ), $Gd(NO_3)_3$ (0.03мМ) (2); $Mo_{132}(OAc)$ (0.01мМ), P-123 (0.5мМ), $Gd(NO_3)_3$ (0.015мМ) (3); раствор P-123(0.5 мМ) (4); вода (5).

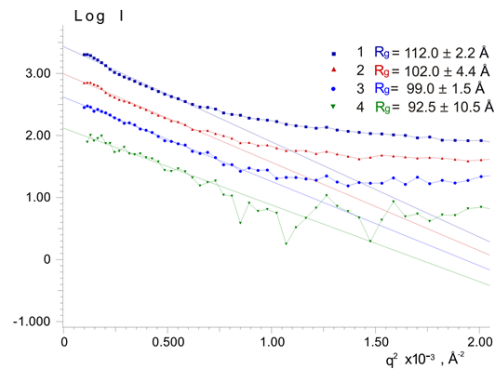


Рисунок П8. Профили $\log I - q^2$ малоуглового рассеяния.

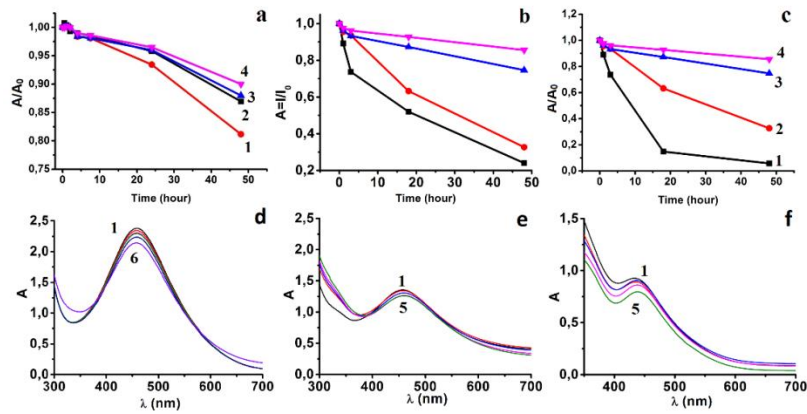


Рисунок П9. Деградация коллоидов, изучаемая отслеживанием A/A_0 для F-127-стабилизированных систем (1 – 0.08 мМ F-127, 2 – 0.16 мМ F-127, 3 – 0.24 мМ F-127, 4 – 0.32 мМ F-127): а – 0.007 мМ $\text{Mo}_{132}(\text{OAc})$, 0.08 мМ Gd^{3+} ; 0.007 мМ $\text{Mo}_{132}(\text{PO}_4)$, 0.1 мМ Gd^{3+} ; с - 0.007 мМ $\text{Mo}_{132}(\text{S})$, 0.04 мМ Gd^{3+} . 1-5(6) УФ-вид спектры водный коллоидов $\text{Gd}_x(\text{Mo}_{132})_y$, отслеживаемые в течении 50 часов: d – 0.007 мМ $\text{Mo}_{132}(\text{OAc})$, 0.08 мМ Gd^{3+} , 0.32 мМ F-127; е - 0.007 мМ $\text{Mo}_{132}(\text{HPO}_4)$, 0.1 мМ Gd^{3+} , 0.32 мМ F-127; f - 0.007 мМ $\text{Mo}_{132}(\text{S})$, 0.04 мМ Gd^{3+} , 0.32 мМ F-127

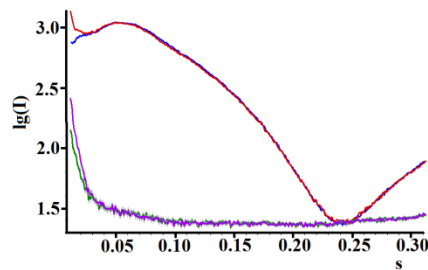


Рисунок П10. Профили $\lg(I)$ - s для 1 мМ $\text{Mo}_{132}(\text{OAc})$: в водном растворе (синяя линия) и в подкисленном растворе (красная линия)

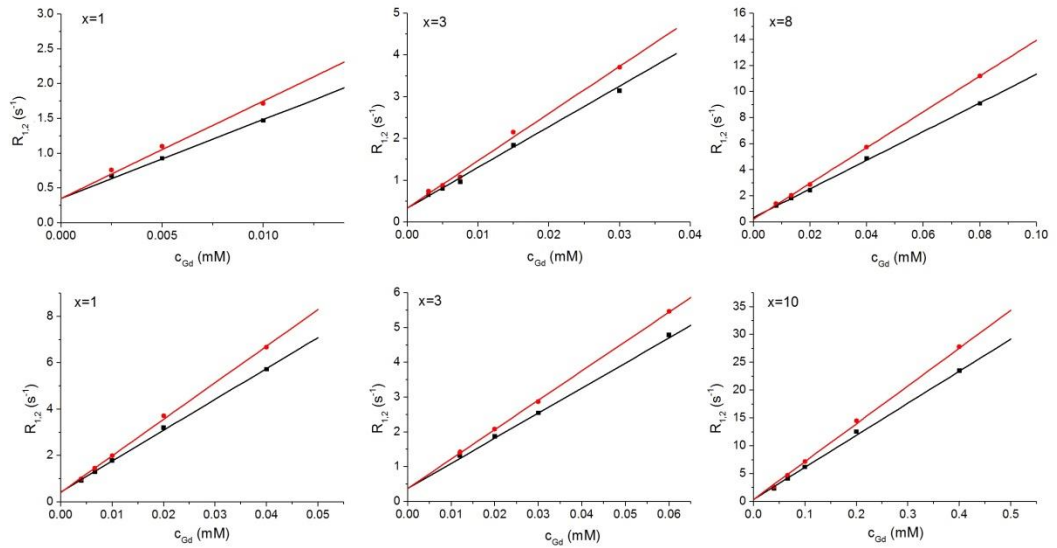


Рисунок П11. Зависимости R_1 (черная линия) и R_2 (красная линия) от концентрации Gd^{3+} для образцов $Gd_x(Mo_{132}(OAc))$, где $x = 1, 3, 8$ и для образцов $Gd_x(Mo_{132}(HPO_4))$, где $x = 1, 3, 10$.

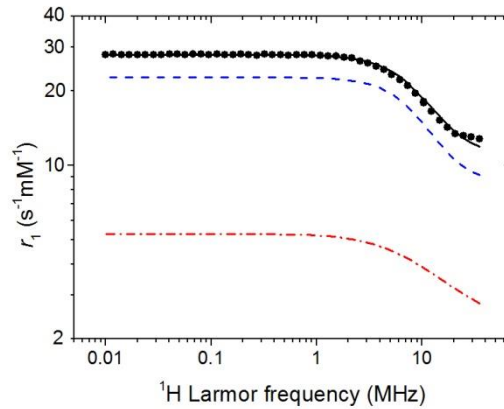


Рисунок П12. Экспериментальная (точки) и расчетная (черная линия) зависимость r_1 в водном растворе F-127 (0.3 mM): синие и красные пунктирные линии представляют внутрисферный и внешнесферный вклад соответственно.

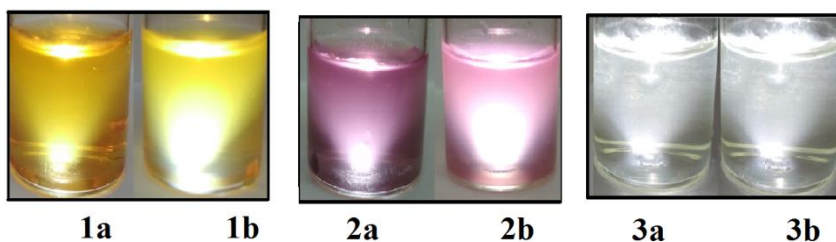


Рисунок П13. Фотографии растворов кеплатов и гадолиний содержащих коллоидных растворов, стабилизированных F-127 (0.32 мМ): 1a – 0.007мМ $W_{72}Mo_{60}$; 1b - 0.007мМ $W_{72}Mo_{60}$, 0.042 мМ Gd; 2a – 0.007 мМ $Mo_{72}V_{30}$; 2b - 0.007 мМ $Mo_{72}V_{30}$, 0.042 мМ Gd; 3a – 0.007 мМ $Mo_{72}V_{30}$; 3b - 0.007 мМ $Mo_{72}Fe_{30}$, 0.126 мМ Gd.

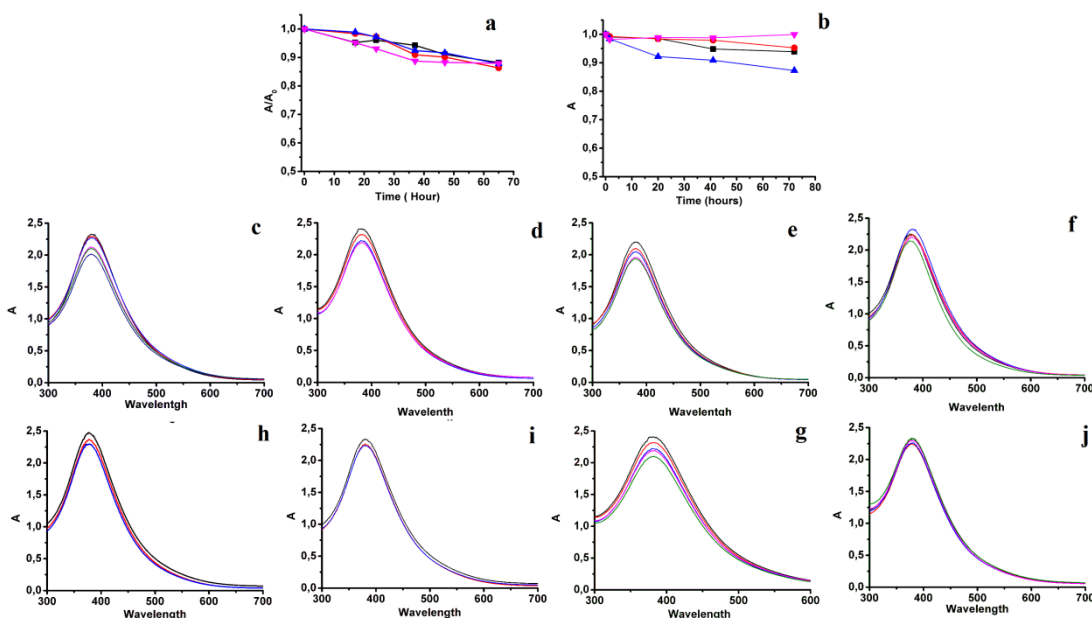


Рис. П14 a,b – Зависимости A/A_0 (380 нм) – t(время) для водных растворов (0.007 мМ $W_{72}Mo_{60}$, 0.007 мМ Gd) и коллоидов (0.007 мМ $W_{72}Mo_{60}$, 0.063 мМ Gd): без стабилизатора (черная линия), стабилизированная F-127 (красная линия), F-68 (синяя линия), P-123 (розовая линия). УФ-вид спектры водного раствора (0.007 мМ $W_{72}Mo_{60}$, 0.007 мМ Gd) без стабилизатора (c), стабилизированного F-127 (d), F-68 (e), P-123 (f). УФ-вид спектры коллоидных растворов (0.007 мМ $W_{72}Mo_{60}$, 0.063 мМ Gd) без стабилизатора (g), стабилизированные F-127 (h), F-68 (i), P-123 (j). ($C_{F-127}=0.32$ мМ), ($C_{F-68}=0.24$ мМ), ($C_{P-123}=0.12$ мМ).