

## Мембранотропные и релаксационные свойства водорастворимых производных гадолинийсодержащего эндометаллофуллера\*

И. И. Файнгольд,<sup>а\*</sup> Д. А. Полетаева,<sup>а</sup> Р. А. Котельникова,<sup>а</sup> А. Б. Корнев,<sup>а</sup>  
П. А. Трошин,<sup>а</sup> И. Е. Кареев,<sup>а</sup> В. П. Бубнов,<sup>а</sup> В. С. Романова,<sup>б</sup> А. И. Котельников<sup>а</sup>

<sup>а</sup>Институт проблем химической физики Российской академии наук,  
Российская Федерация, 142432 Черноголовка Московской обл., просп. Академ. Семенова, 1.  
Факс: (496) 522 3507. E-mail: ifaingold@mail.ru

<sup>б</sup>Институт элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова Российской академии наук,  
Российская Федерация, 119991 Москва, ул. Вавилова, 28.  
Факс: (495) 135 6549

В работе изучены мембранотропные и релаксационные свойства новых водорастворимых производных гадолинийсодержащего эндометаллофуллера (ПГЭМФ). Локализацию ПГЭМФ в мембране и вызываемые ими структурные изменения мембран определяли по кинетике затухания флуоресценции пирена. Показано, что ПГЭМФ эффективно взаимодействуют с молекулами пирена в структуре модельных мембран, изменяя их микровязкость. Методом импульсного ядерного магнитного резонанса на ядрах <sup>1</sup>H выявлено, что в ряду исследуемых ПГЭМФ гидроксированный эндометаллофуллерен Gd@C<sub>82</sub>(OH)<sub>-30</sub> имеет наибольший коэффициент релаксации ( $R_1 = 7.390 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$ ), что в 3.6 раза превосходит по эффективности коммерческий препарат «магневист». Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования исследуемых ПГЭМФ в качестве малотоксичных контрастирующих веществ для магнитно-резонансной томографии.

**Ключевые слова:** производные гадолинийсодержащего эндометаллофуллера, флуоресценция, фосфатидилхолиновые липосомы, ЯМР-релаксация.

Значительное место среди современных наноматериалов занимают структуры на основе фуллеренов и эндометаллофуллеренов (ЭМФ). В мире активно развиваются исследования по созданию водорастворимых производных фуллеренов (ПФ), которые обладают высокой биосовместимостью и проявляют широкий спектр биологической активности<sup>1–3</sup>. Ранее в работах<sup>4–6</sup> на примере восьми N-(моногидрофуллеренил)аминокислот изучены и количественно охарактеризованы мембранотропные свойства аминокислотных производных фуллера C<sub>60</sub> (АПФ). Показано, что АПФ являются тушителями возбужденного триплетного состояния эритрозина в водном растворе и в составе липосом. Определены константы скорости тушения фосфоресценции эритрозина в водных растворах и в составе фосфолипидных мембран. Выявлена стереоспецифичность мембранотропных свойств энантиомеров АПФ, их способность проникать через фосфолипидные мембраны липосом и клеток эритроцитов. Установлено, что L-энантиомеры АПФ проникают во внутренний объем липосом, а D-энантиомеры АПФ — нет.

Эндоэдральные металлофуллерены (M@C<sub>2n</sub>, где M = Y, Gd, La, Ce) — это класс углеродных наномате-

риалов, перспективных для практического применения в смежных областях химии, биологии и фармакологии<sup>7–10</sup>. Наиболее очевидна возможность использования ЭМФ в качестве спиновых меток в биологии<sup>7,11</sup>. Биомедицинские исследования направлены на использование ЭМФ, содержащих радиоактивные нуклиды, в качестве радиопрепаратов<sup>7,12</sup>. Уникальные физико-химические свойства сфероидов фуллера дают возможность функционализировать металлофуллерены различными группами для придания им необходимых свойств (например, растворимость в водных средах), а также для обеспечения их направленной доставки к опухолям<sup>13</sup>.

Для проведения магнитно-резонансной томографии (МРТ) используются контрастные вещества (КВ), обладающие релаксационными (парамагнитными) свойствами. Они влияют на скорость релаксации протонов воды и тем самым повышают контрастность изображения при МРТ. В клинической практике нашли применение КВ, содержащие хелатные комплексы гадолиния («Магневист», «Омнискан», «Гадовист» и др. аналоги). Недостатком данных препаратов является токсичность, обусловленная возможным появлением в организме свободного иона гадолиния<sup>14</sup>. Эндометаллофуллерены, содержащие внутриуглеродного каркаса парамагнитный атом гадолиния, представляют собой перспективный класс малотоксичных контрастирующих веществ для МРТ. <sup>8,15–17</sup>

\* По материалам «Первой Российской конференции по медицинской химии» («MedChem Russia-2013») с международным участием (8–12 сентября 2013 г., Москва).

Однако доступность чистых ЭМФ с гадолинием ограничена. Существующие методы синтеза и традиционные методы выделения ЭМФ из сажи позволяют получать экстракты с низким содержанием ЭМФ, что существенно усложняет процесс хроматографического разделения ЭМФ и делает его трудоемким<sup>8–10</sup>. До сих пор чистые ЭМФ (96–99%) получены только в миллиграммовых количествах. Проблема синтеза чистых ЭМФ в препаративных количествах все еще не решена. Поэтому в настоящей работе, впервые предложен новый подход к синтезу контрастных веществ на основе стабильных анионных комплексов в виде *N,N*-диметилформамидных экстрактов, обогащенных ЭМФ Gd@C<sub>82</sub>, задача получения которых в граммовых количествах была успешно решена нами ранее<sup>18–20</sup>.

Настоящая работа посвящена изучению мембранотропных и релаксационных свойств водорастворимых производных гадолинийсодержащего эндометаллофуллера.

### Экспериментальная часть

Эндометаллофуллерен Gd@C<sub>82</sub> был получен электродуговым методом и выделен из сажи селективной двухстадийной экстракцией с применением растворителей разной полярности и химической природы (*o*-дихлорбензол и *N,N*-диметилформамид)<sup>19,21</sup>. По данным<sup>22</sup> масс-спектрометрии, оптической спектроскопии и элементного анализа ДМФА-экстракт Gd@C<sub>82</sub> практически не содержит «пустых» фуллеренов и представляет собой смесь анионов ЭМФ<sup>20</sup>, основным компонентом которой является Gd@C<sub>82</sub> (~80 мол.%), кроме того, в экстракте содержатся Gd@C<sub>80</sub> и Gd<sub>2</sub>@C<sub>80</sub> в незначительных количествах<sup>22</sup>.

**Гидроксильное производное ЭМФ Gd@C<sub>82</sub>(OH)<sub>30</sub> (ПГЭМФ 1)** синтезировано методом высокотемпературного хлорирования Gd@C<sub>82</sub> с использованием пентахлорида фосфора в качестве реагента. Реакцию проводили в условиях, аналогичных описанным в работе<sup>23</sup>. Согласно данным элементного анализа полученное хлорпроизводное имело брутто-состав Gd@C<sub>82</sub>Cl<sub>20</sub>. Омыление хлорпроизводного Gd@C<sub>82</sub>Cl<sub>20</sub> проводили путем его обработки водным раствором Et<sub>4</sub>NOH (2%, 100 экв.) при комнатной температуре в течение 2 ч по методике, описанной для галогенидов [60]фуллера<sup>24</sup>. Фильтрацию полученного раствора, упаривание на роторном испарителе и последующее промывание остатка ацетоном и метанолом для удаления избытка основания и хлорида тетраэтиламмония позволили получить гидроксильное производное брутто-состава Gd@C<sub>82</sub>(OH)<sub>30</sub>.

**Gd@C<sub>82</sub>Cl<sub>20</sub>**. Найдено (%): С, 52.94; Cl, 38.47. Gd@C<sub>82</sub>Cl<sub>20</sub>. Вычислено (%): С, 53.20; Cl, 38.30. ИК-спектр (KBr, ν/см<sup>-1</sup>): 516 (сл), 598 (сп), 694 (сп), 742 (сп), 820 (сп), 840 (сп), 902 (сп), 970 (с), 1124 (оч.с), 1148 (оч.с), 1198 (оч.с), 1346 (с), 1378 (с).

**Gd@C<sub>82</sub>(OH)<sub>30</sub> (1)**. Найдено (%): С, 59.28; Н, 1.90; О, 29.34. Gd@C<sub>82</sub>(OH)<sub>30</sub>. Вычислено (%): С, 59.60; Н, 1.83; О, 29.05. ИК-спектр (KBr, ν/см<sup>-1</sup>): 620 (сп), 784 (сл), 870 (сл), 1002 (сп), 1046 (с), 1122 (с), 1410 (оч.с), 1600 (оч.с), 3406 (оч.с).

**Синтез водорастворимых ПГЭМФ 2–4** проводили в два этапа. На первом этапе применяли впервые разработанный нами общий метод синтеза аминокислотных и пептидных производных фуллеренов путем непосредственного присоединения аминокислоты или пептида к фуллерену по аминогруппе с образованием монофункционального производ-

ного со свободной карбоксильной группой и активным атомом водорода на фуллереновом каркасе<sup>25</sup>. Затем полученное монопроизводное подвергали дальнейшей селективной модификации путем введения соответствующих заместителей по активному атому водорода<sup>26</sup>.

**Приготовление суспензии фосфатидилхолиновых липосом.** Готовили раствор фосфатидилхолина в этаноле, концентрация фосфолипида составляла 40 мг·мл<sup>-1</sup>. Затем 5 мл раствора помещали в круглодонную колбу, растворитель удаляли в вакууме с помощью роторного испарителя. Получали молочно-белую фосфолипидную пленку на внутренней поверхности колбы, которую переносили в буфер трис-НСl (рН 7.2, 0.02 М) путем встряхивания в течение 10–20 мин при комнатной температуре, конечный объем суспензии фосфатидилхолиновых липосом (ФХЛ) составлял 5 мл. Молочно-белую суспензию ФХЛ хранили при комнатной температуре в атмосфере аргона для предотвращения денатурации фосфолипидных везикул. Далее суспензию ФХЛ подвергали ультразвуковой обработке на ультразвуковом гомогенизаторе «Sonopuls HD3100» в течение 10 мин в атмосфере аргона при температуре 4 °С. Перед работой суспензию ФХЛ разбавляли в 100 раз буфером трис-НСl (рН 7.2, 0.02 М) и хранили в атмосфере аргона при 4 °С не более 1 суток<sup>27</sup>.

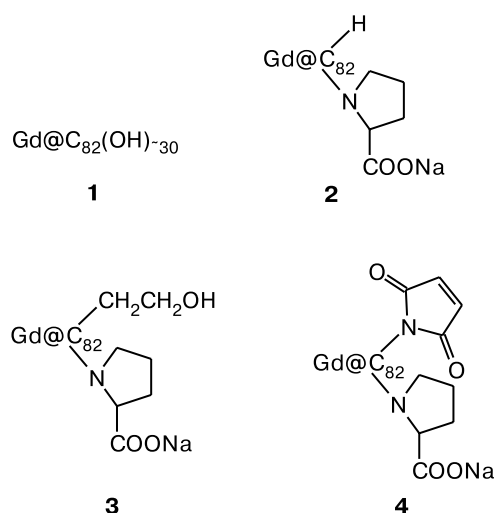
**Регистрация тушения флуоресценции люминесцентного зонда пирена при действии ПГЭМФ.** Гидрофобный люминесцентный зонд пирен использовали для исследования медленных диффузионных процессов в структуре липосом. В кювету помещали 2 мл суспензии ФХЛ, содержащей пирен в концентрации 10<sup>-5</sup> моль·л<sup>-1</sup>. К раствору добавляли аликвоты ПГЭМФ по 10 мкл. Уменьшение интенсивности флуоресценции пирена при длине волны 475 нм регистрировали на спектрофлуориметре «Cary-Eclipse» фирмы «Varian» (длина волны возбуждения 337 нм).

**ЯМР-релаксация водных растворов ПГЭМФ.** Водные растворы исследуемых ПГЭМФ помещали в стандартные ЯМР-ампулы с внешним диаметром 5 мм. Времена (T<sub>1</sub>) спин-решеточной релаксации на ядре <sup>1</sup>H измеряли с использованием стандартной импульсной последовательности π–τ–π/2 на ЯМР спектрометре «Bruker AVANCE III 500» (500 МГц). Время τ устанавливали из условия >5T<sub>1</sub>. Длина π/2 импульса составляла 13 мкс. Все измерения проводили при комнатной температуре 22±2 °С<sup>28</sup>.

### Обсуждение полученных результатов

В работе изучены следующие водорастворимые ПГЭМФ: гидроксильрованный эндометаллофуллеренилгадолиний (1), натриевая соль *N*-(моногидроэндометаллофуллеренилгадолиний)-*L*-пролина (2), натриевая соль *N*-[(2-гидроксиэтил)эндометаллофуллеренилгадолиний]-*L*-пролина (3), натриевая соль *N*-[(*N*-малеимидил)эндометаллофуллеренилгадолиний]-*L*-пролина (4).

**Исследование мембранотропных свойств ПГЭМФ.** Гидрофобный люминесцентный зонд пирен локализуется в области жирнокислотных остатков фосфолипидов<sup>29</sup> и обладает рядом особенностей, позволяющих получать информацию о структуре и состоянии гидрофобной области фосфолипидных мембран. Время жизни возбужденного синглетного состояния пирена составляет ~100 нс, что позволяет исследовать медленные диффузионные процессы в структуре модельных или биологических мембран<sup>30</sup>.

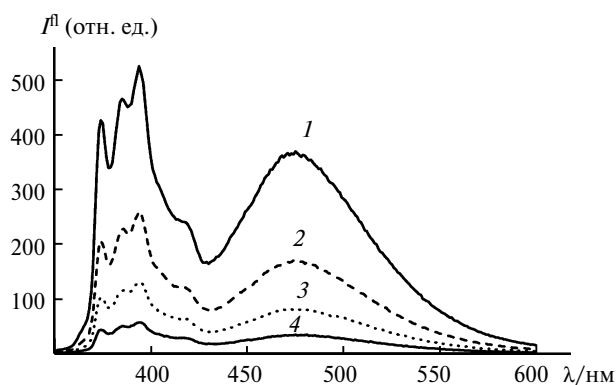


Возбужденные молекулы пирена способны образовывать комплексы с невозбужденными молекулами пирена — так называемые эксимеры. Спектр флуоресценции эксимера сдвинут в длинноволновую область по сравнению с мономером. Методом протонного магнитного резонанса показано, что пирен при введении в структуру мембран локализуется в области гидрофобных углеводородных цепей фосфолипидов<sup>31</sup>. Различные случаи статического и динамического тушения пирена в эксимерной и мономерной форме другими молекулами в мембране могут дать ценную информацию о структуре мембран и мембранотропности изучаемых соединений.

При введении пирена в структуру липосом регистрировали спектр флуоресценции пирена, аналогичный описанному в работе<sup>32</sup>. Спектр флуоресценции пирена состоит из нескольких пиков в диапазоне длин волн 350–400 нм, которые относятся к мономерной форме пирена, и широкого пика в диапазоне 430–500 нм, соответствующего эксимерной форме пирена.

При титровании пирена исследуемыми ПГЭМФ наблюдали эффективное тушение флуоресценции пирена и изменение соотношения между пиками мономера (394 нм) и эксимера (475 нм) (рис. 1). Это указывает на эффективное взаимодействие ПГЭМФ с возбужденными молекулами пирена как в мономерной, так и в эксимерной форме. Учитывая, что тушение флуоресценции пирена наблюдается уже при концентрациях ПГЭМФ в диапазоне  $10^{-6}$ – $10^{-5}$  моль·л<sup>-1</sup>, можно сделать вывод, что тушение происходит не за счет динамических взаимодействий, а в результате образования долгоживущих комплексов {ПГЭМФ·пирен}, при этом пирен находится как в мономерной, так и в эксимерной форме. В этом случае для анализа экспериментальных данных можно использовать константу равновесия  $K_p$  комплекса {ПГЭМФ·пирен}. Значения  $K_p$ , определенные для исследуемых соединений, приведены в таблице 1.

Как видно из таблицы 1, значения констант  $K_p$  лежат в диапазоне  $1 \cdot 10^5$ – $3 \cdot 10^5$  л·моль<sup>-1</sup>. Такие величины констант равновесия указывают на эффективное взаимодействие ПГЭМФ с молекулами пирена.



**Рис. 1.** Спектр флуоресценции пирена ( $C = 1 \cdot 10^{-5}$  моль·л<sup>-1</sup>) в ФХЛ (1) и тушение флуоресценции пирена в суспензии липосом водорастворимым ПГЭМФ 1 в концентрации  $5 \cdot 10^{-6}$  (2),  $1 \cdot 10^{-5}$  (3) и  $2.5 \cdot 10^{-5}$  моль·л<sup>-1</sup> (4). Аналогичные спектры флуоресценции были получены при добавлении ПГЭМФ 2–4 в суспензию липосом со встроенным пиреном.

**Таблица 1.** Константы взаимодействия\* ( $K_p$ ) люминесцентного зонда пирена и водорастворимых производных Gd@C<sub>82</sub>

| ПГЭМФ | $K_p \cdot 10^{-5} / \text{л} \cdot \text{моль}^{-1}$ |           |
|-------|---|-----------|
|       | $K_{394}$   | $K_{475}$ |
| 1     | 1.46  | 1.66      |
| 2     | 1.85  | 1.80      |
| 3     | 1.15  | 1.48      |
| 4     | 2.26  | 1.89      |

$K_{394}$ ,  $K_{475}$  — константы равновесия комплексов {ПГЭМФ·пирен}, содержащих пирен в мономерной и эксимерной формах соответственно.

Вероятно, взаимодействие пирена с ПГЭМФ в значительной степени осуществляется за счет прямого комплексообразования ароматической структуры пирена со сфероидом ЭМФ или его аддендами именно в гидрофобной зоне мембраны.

Наблюдаемые различия в значениях  $K_p$  для исследуемых ПГЭМФ при взаимодействии с пиреном могут быть объяснены как частичным участием аддендов в комплексообразовании, так и различной степенью проникновения фуллеренового ядра в гидрофобную область мембраны.

Из сказанного выше следует, что взаимодействие ПГЭМФ с пиреном как в мономерной, так и в эксимерной форме должно отражать мембранотропность ПГЭМФ с точки зрения их способности проникать в гидрофобную зону мембраны или транспортироваться через липидный бислой.

**Оценка изменения вязкости мембран фосфатидилхолиновых липосом по степени эксимеризации пирена.** Флуоресцентные зонды уже более сорока лет используются для изучения изменений вязкости клеточных мембран<sup>31</sup>. Известно, что пирен имеет достаточно продолжительное время жизни возбуж-

денного синглетного состояния по сравнению с другими зондами (~100 нс), что позволяет следить за медленными процессами, происходящими в мембране<sup>33</sup>.

Как отмечено выше, в спектре флуоресценции пирена, встроенного в мембрану фосфатидилхолиновых липосом, обнаруживаются три пика (в области 370–400 нм), характерные для мономерной формы пирена, и один пик (в области 460–480 нм), характерный для эксимера пирена — димера, состоящего из одной возбужденной и одной невозбужденной молекул зонда. Процесс образования эксимера зависит от вязкости среды. Чем выше вязкость среды, тем меньше скорость движения молекул и, соответственно, меньше вероятность столкновения молекул и образования комплекса за время жизни возбужденного состояния. Таким образом, флуоресценция эксимера наблюдается в среде с низкой вязкостью, а в вязкой среде основной вклад в спектр флуоресценции вносят мономеры пирена.

Определяя интенсивность флуоресценции при соответствующих длинах волн (коэффициент эксимеризации пирена  $F_{475}/F_{394}$ ), можно оценить микровязкость среды. Согласно результатам исследований (рис. 2) микровязкость мембран фосфатидилхолиновых липосом при действии исследуемых ПЭМФ 2 и 4 снижается: значения коэффициента эксимеризации пирена возрастают от  $0.70 \pm 0.01$  до  $0.90 \pm 0.03$ . При действии ПЭМФ 1 значение коэффициента эксимеризации пирена снизилось до  $0.61 \pm 0.01$ , а в случае ПЭМФ 3 изменения оказались недостоверными.

Таким образом, исследования показали, что производные  $Gd@C_{82}$  способны встраиваться в мембрану фосфатидилхолиновых липосом, изменяя ее микровязкость.

**Оценка острой токсичности ПЭМФ *in vivo*.** Оценку острой токсичности проводили по классической методике<sup>34</sup> на мышцах-гибридах  $BDF_1$  (масса 18–20 г), которым однократно внутривенно вводили водные растворы ПЭМФ в дозах от 10 до 1000  $мг \cdot кг^{-1}$ . Каждую дозу испытывали на шести животных. Срок последующего наблюдения составил 14 суток, в течение

которых учитывали изменение массы тела животных, сроки гибели и количество павших животных от каждой введенной дозы. В течение 14 суток эксперимента гибели животных не отмечено, в связи с чем установить  $LD_{50}$  не представилось возможным. Это позволяет считать ПЭМФ нетоксичными веществами в испытанном диапазоне доз.

Поскольку ПЭМФ в дозе до 1000  $мг \cdot кг^{-1}$  не привели к смерти животных, можно сделать вывод, что  $LD_{50} > 1000 \text{ мг} \cdot \text{кг}^{-1}$  и согласно ГОСТ 12.1.007-76 можно отнести исследуемые ПЭМФ к IV классу токсичности (малотоксичные вещества)<sup>35</sup>.

**Релаксационные свойства водных растворов ПЭМФ.** Общая теория релаксации в разбавленных растворах парамагнитных веществ была разработана Блумбергом в 1950-х годах<sup>36,37</sup>. Согласно этой теории<sup>37</sup> скорость спин-решеточной (протонной) релаксации под влиянием парамагнитных веществ описывается уравнением (1)

$$1/T_1 = 1/T_0 + R_1[C], \quad (1)$$

где  $(1/T_0)$  и  $(1/T_1)$  — скорости протонной релаксации в отсутствие и в присутствии парамагнетика соответственно;  $R_1$  — коэффициент релаксации или «релаксивность»<sup>38</sup>;  $[C]$  — концентрация парамагнетика, ммоль  $\cdot л^{-1}$ .

Коэффициент релаксации  $R$  — это величина, обратная времени спин-решеточной релаксации:  $R_1 = 1/T_1$ . В нашей работе в присутствии катиона  $Gd^{III}$  скорость спин-решеточной релаксации согласно уравнению (1) будет следующей:

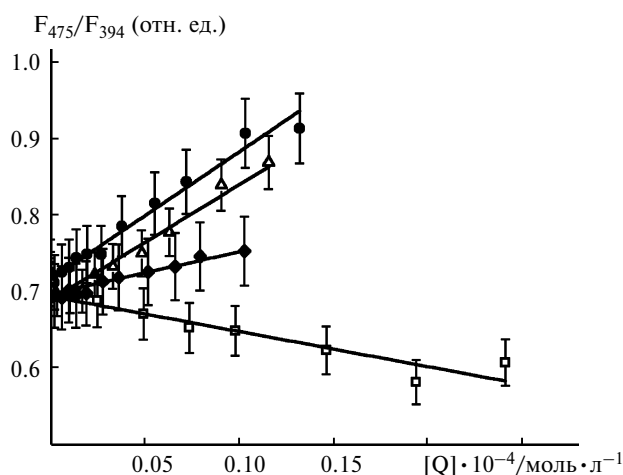
$$1/T_1 = 1/T_0 + R_1[Gd], \quad (2)$$

где  $[Gd]$  — концентрация парамагнитного катиона.

Парамагнитная релаксация протонов воды происходит из-за диполь-дипольных взаимодействий между ядерными спинами и флуктуирующим локальным магнитным полем ПЭМФ, которое создается благодаря наличию спина у неспаренных электронов  $Gd^{III}$ .<sup>37</sup>

Релаксационные свойства ПЭМФ определяются способностью атомов гадолиния взаимодействовать со сфероидом фуллерена и тем самым снижать времена релаксации контактирующих с соединением протонов водной среды и получать более четкие изображения в МРТ.

Релаксационную способность ПЭМФ оценивали по их влиянию на время спин-решеточной релаксации протонов воды методом ЯМР на частоте 500 МГц при напряженности магнитного поля 11.7 Тл. Была получена зависимость скорости спин-решеточной релаксации водных растворов ПЭМФ 4 и клинического препарата «Магневист» от концентрации исследуемых соединений (рис. 3). Аналогичные зависимости получены при определении скорости спин-решеточной релаксации водных растворов ПЭМФ 1–3. Были рассчитаны коэффициенты релаксации ( $R_1$ ) для водных растворов ПЭМФ гадолиния и «магневиста» (табл. 2). Значение коэффициента релаксации определяется как тангенс угла наклона



**Рис. 2.** Зависимость значений коэффициента эксимеризации пирена ( $F_{475}/F_{394}$ ) от концентрации  $[Q]$  исследуемых водорастворимых производных эндометаллофуллеренов 1–4.

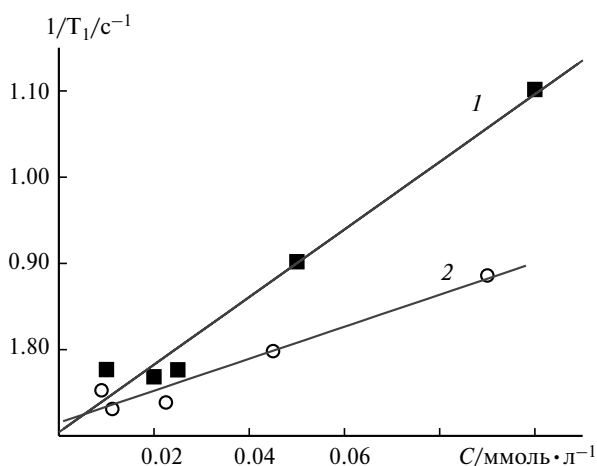


Рис. 3. Зависимость скорости релаксации протонов воды от концентрации ПГЭМФ 4 (1) и препарата «магневист» (2).

прямой, описывающей изменение скорости протонной релаксации ПГЭМФ и «магневиста» от их концентрации (см. рис. 3).

Как показали исследования, ПЭМФ 1–4 имеют высокие коэффициенты релаксации и могут быть использованы в качестве эффективных контрастных веществ для МРТ. При этом в ряду изучаемых соединений водорастворимое производное 1 имеет наибольший коэффициент релаксации ( $R = 7.390 \text{ мл} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$ ), что в 3.6 раза превосходит по эффективности традиционно используемый в томографии коммерчески доступный аминный комплекс Gd «Магневист».

Таким образом, в настоящей работе исследованы мембранотропные и релаксационные свойства новых водорастворимых ПГЭМФ. Установлена способность ПГЭМФ проникать в гидрофобную область мембраны или транспортироваться через липидный бислой, изменяя при этом микровязкость мембраны. Токсикологические исследования *in vivo* показали, что ПГЭМФ малотоксичные соединения.

Производные гадолинийсодержащего эндометаллофуллера продемонстрировали хорошую эффективность в качестве КВ для МРТ и компьютерной томографии. Гадолинийсодержащий эндометаллофуллерен  $\text{Gd}@C_{82}(\text{OH})_{-30}$  имеет наибольший коэф-

фициент релаксации ( $R = 7.390 \text{ мл} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$ ) и превосходит по эффективности влияния на скорость протонной релаксации традиционно используемый в томографии коммерчески доступный аминный комплекс Gd «Магневист» в 3.6 раза.

Полученные результаты свидетельствуют о перспективности создания на основе водорастворимых производных эндометаллофуллеренов нового класса высокоэффективных и слабotoксичных контрастных веществ, используемых в МРТ, для диагностики опухолевых процессов.

Авторы выражают благодарность А. В. Черняку (ИПХФ РАН) за помощь в выполнении ЯМР-экспериментов, Н. П. Коноваловой (ИПХФ РАН) за предоставленные результаты токсикологических исследований водорастворимых производных  $\text{Gd}@C_{82}$  и А. Г. Буяновской (ИНЭОС РАН) за проведение элементного анализа полученных образцов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проекты № 12-04-31678 мол\_а, № 12-03-33031 мол\_а\_вед, № 13-03-01291-а и № 14-08-00824-а), Президиума Российской академии наук (программа фундаментальных исследований «Основы фундаментальных исследований нанотехнологий и наноматериалов») и Совета по грантам при Президенте Российской Федерации (программа государственной поддержки молодых ученых-кандидатов наук МК-6177.2013.3).

#### Список литературы

1. E. Nakamura, H. Isobe, *J. Acc. Chem. Res.*, 2003, **36**, 807.
2. S. Bosi, T. Da Ros, G. Spalluto, M. Prato, *J. Med. Chem.*, 2003, **38**, 913.
3. M. Satoh, I. Takayanagi, *J. Pharmacol. Sci.*, 2006, **100**, 516.
4. R. A. Kotelnikova, A. I. Kotelnikov, G. N. Bogdanov, V. S. Romanova, E. F. Kuleshova, Z. N. Parnes, M. E. Vol'pin, *FEBS Lett.*, 1996, **389**, 111.
5. Д. А. Полетаева, Р. А. Котельникова, Д. В. Мищенко, А. Ю. Рыбкин, А. В. Смолина, И. И. Файнгольд, П. А. Трошин, А. Б. Корнев, Е. А. Хакина, А. И. Котельников, *Рос. нанотехнологии*, 2012, **7**, № 5–6, 64 [*Nanotechnologies in Russia (Engl. Transl.)*, 2012, **7**, 302].
6. Г. Н. Богданов, Р. А. Котельникова, Е. С. Фрог, В. Н. Штолько, В. С. Романова, Ю. Н. Бубнов, *Докл. АН*, 2004, **396**, 401 [*Dokl. Biochem. Biophys. (Engl. Transl.)*, 2004, **396**, 165].
7. J. Meng, X. Liang, X. Chen, Y. Zhao, *Integr. Biol.*, 2013, **5**, 43.
8. D. Yang, Y. Zhao, H. Guo, Y. Li, P. Tewary, G. Xing, W. Hou, J. J. Oppenheim, N. Zhang, *ACS Nano*, 2010, **4**, 1178.
9. A. A. Popov, S. Yang, L. Dunsch, *Chem. Rev.*, 2013, **113**, 5989.
10. X. Lu, L. Feng, T. Akasaka, S. Nagase, *Chem. Soc. Rev.*, 2012, **41**, 7723.
11. А. Н. Тихонов, *Соросовский образоват. журн.*, 1998, **1**, 8.
12. T. Wharton, L. J. Wilson, *Bioorg. Med. Chem.*, 2002, **10**, 3545.
13. J. Wang, F. Gu, T. Ding, X. Liu, G. Xing, Y. Zhao, N. Zhang, Y. Ma, *Oncol. Lett.*, 2010, **1**, 771.
14. Пат. РФ 2396207; *Бюл. изобрет.*, 2010, № 22; www.fips.ru.

Таблица 2. Коэффициенты релаксации ( $R_1$ ) водорастворимых производных  $\text{Gd}@C_{82}$  в сравнении с хелатным комплексом гадолиния «Магневист», применяемым в качестве контрастного вещества в МРТ

| ПГЭМФ       | $R_1/\text{л} \cdot \text{ммоль}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$ |
|-------------|--|
| 1           | 7.390  |
| 2           | 1.890  |
| 3           | 1.514  |
| 4           | 2.182  |
| «Магневист» | 2.041  |

15. M. Mikawa, H. Kato, M. Okumura, M. Narazaki, Y. Kanazawa, N. Miwa, H. Shinohara, *Bioconjugate Chem.*, 2001, **12**, 510.
16. H. Kato, Y. Kanazawa, M. Okumura, A. Taninaka, T. Yokawa, H. Shinohara, *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, **125**, 4391.
17. S. Zhang, D. Sun, X. Li, F. Pei, S. Liu, *Fullerene Sci. Technol.*, 1997, **5**, 1635.
18. И. Е. Кареев, В. П. Бубнов, Э. Б. Ягубский, *Изв. АН. Сер. хим.*, 2007, 2067 [I. E. Kareev, V. P. Bubnov, E. B. Yagubskii, *Russ. Chem. Bull. (Int. Ed.)*, 2007, **56**, 2140].
19. V. P. Bubnov, E. E. Laukhina, I. E. Kareev, V. K. Koltover, T. G. Prokhorova, E. B. Yagubskii, Y. P. Kozmin, *Chem. Mater.*, 2002, **14**, 1004.
20. I. E. Kareev, V. P. Bubnov, E. E. Laukhina, A. F. Dodonov, V. I. Kozlovski, E. B. Yagubskii, *Fullerenes, Nanotubes, Carbon Nanostruct.*, 2004, **12**, 65.
21. И. Е. Кареев, В. П. Бубнов, Д. Н. Федутин, *Журн. теорет. физики*, 2009, **79**, № 11, 134 [*Tech. Phys.*, 2009, **54**, 1695].
22. И. Е. Кареев, В. П. Бубнов, Э. Б. Ягубский, *Изв. АН. Сер. хим.*, 2008, 1457 [I. E. Kareev, V. P. Bubnov, E. B. Yagubskii, *Russ. Chem. Bull. (Int. Ed.)*, 2008, **57**, 1486].
23. P. A. Troshin, A. Łapiński, A. Bogucki, M. Połomska, R. N. Lyubovskaya, *Carbon*, 2006, **44**, 2770
24. P. A. Troshin, A. S. Astahova, R. N. Lyubovskaya. *Fullerenes, Nanotubes, Carbon Nanostruct.*, 2005, **13**, 331.
25. M. E. Vol'pin, V. S. Romanova, Z. N. Parnes, *Mol. Mater.*, 1996, **7**, 53.
26. Пат. РФ 2462473, *Бюл. изобрет.*, 2012, № 21, www1.fips.ru.
27. N. Van Rooijen, A. Sanders, *J. Immunol. Methods*, 1994, **174**, 83.
28. Т. Фаррар, Э. Беккер, *Импульсная и фурье-спектроскопия ЯМР*, Мир, Москва, 1973, 166 с. [T. Farrar, E. Becker, *Pulse and Fourier Transform NMR. Introduction to Theory and Methods*, Acad. Press, New York—London, 1971, 115 pp.].
29. Ю. А. Владимиров, Г. Е. Добрецов, *Флуоресцентные зонды в исследовании биологических мембран*, Наука, Москва, 1980, 320 с.
30. F. Podo, J. K. Blasie, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1977, **74**, 1032.
31. J. M. Vanderkooi, J. B. Callis, *Biochemistry*, 1974, **13**, 4000.
32. U. Cogan, M. Shinitzky, G. Weber, T. Nishida, *J. Biochem.*, 1973, **12**, 521.
33. S. C. Wallace, J. K. Thomas, *Radiat. Res.*, 1973, **54**, 49.
34. *Модели и методы экспериментальной онкологии*, под ред. А. Д. Тимофеевского, Медгиз, Москва, 1960, 246 с.
35. *Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности*: ГОСТ 12.1.007-76, 2 с.
36. N. Bloembergen, E. M. Purcell, R. V. Pound, *Phys. Rev.*, 1948, **73**, 679.
37. А. А. Богданов, Дис. докт. биол. наук, Московский гос. ун-т им. М. В. Ломоносова, Москва, 2009, 272.
38. R. D. Bolskar in *Medicinal Chemistry and Pharmacological Potential of Fullerenes and Carbon Nanotubes*, Eds F. Cataldo, T. Da Ros, Springer Sci., 2008, p. 157.

Поступила в редакцию 25 ноября 2013;  
после доработки — 30 апреля 2014