

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **201890255** (13) **A1**

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

**(43)** Дата публикации заявки  
**2018.07.31**

**(22)** Дата подачи заявки  
**2016.07.08**

**(51)** Int. Cl. *A61K 9/107* (2006.01)  
*A61K 9/51* (2006.01)  
*A61K 31/26* (2006.01)  
*A61K 31/28* (2006.01)  
*A61K 47/28* (2006.01)

---

**(54) ПРИГОТОВЛЕНИЕ ЦИАНОМОСТИКОВЫХ МЕТАЛЛИЧЕСКИХ НАНОЧАСТИЦ В БИОСОВМЕСТИМОЙ ОБРАЩЕННОЙ МИЦЕЛЛЯРНОЙ СИСТЕМЕ IN SITU**

---

**(31)** 15306135.3

**(32)** 2015.07.09

**(33)** EP

**(86)** PCT/EP2016/066269

**(87)** WO 2017/005899 2017.01.12

**(71)** Заявитель:

**МЕДЗИС ФАРМА; САНТР  
НАСЪОНАЛЬ ДЕ ЛЯ РЕШЕРШ  
СЪЕНТИФИК; ЮНИВЕРСИТЕ ДЕ  
МОНПЕЛЬЕ (FR)**

**(72)** Изобретатель:

**Морель Жан-Клод, Компт Эльза, Лаво  
Сириль, Гари Янник, Гари Юлия, Лон  
Жером (FR)**

**(74)** Представитель:

**Фелицына С.Б. (RU)**

**(57)** Настоящее изобретение относится к способу получения in situ цианомостиковых координационных полимеров в виде металлических наночастиц в биосовместимой обращенной мицеллярной системе путем смешивания по меньшей мере двух обращенных мицеллярных систем, каждая из которых содержит по меньшей мере один солевой предшественник металла. Изобретение также относится к стабилизации этих наночастиц с использованием биосовместимой обращенной мицеллярной системы. Эта система принимает участие в синтезе как нанореактор, который включает, по меньшей мере, ацилглицерин, стерин, лецитин, этанол и воду для получения стабильных цианомостиковых металлических наночастиц без использования дополнительного стабилизирующего агента.

**A1**

**201890255**

**201890255**

**A1**

ПРИГОТОВЛЕНИЕ ЦИАНО-МОСТИКОВЫХ МЕТАЛЛИЧЕСКИХ  
НАНОЧАСТИЦ В БИОСОВМЕСТИМОЙ ОБРАЩЕННОЙ МИЦЕЛЛЯРНОЙ СИСТЕМЕ  
IN SITU

Настоящее изобретение относится к способу получения *in situ* циано-мостиковых координационных полимеров в виде металлических наночастиц в биосовместимой обращенной мицеллярной системе путем смешивания по меньшей мере двух обращенных мицеллярных систем, каждая из которых содержит по меньшей мере один солевой предшественник металла. Изобретение также относится к стабилизации этих наночастиц с использованием биосовместимой обращенной мицеллярной системы. Эта система принимает участие в синтезе как нанореактор, который содержит по меньшей мере ацилглицерин, стерин, лецитин, этанол и воду для получения стабильных циано-мостиковых металлических наночастиц без использования дополнительного стабилизирующего агента.

Предпосылки создания изобретения

Циано-мостиковые координационные полимеры относятся к важному семейству магнитных молекулярных материалов. Эти материалы демонстрируют спектр соединений, к которым проявляют широкий интерес из-за их магнетизма (Holmes, 1999), электро- и фотохромизма (Sato, 2003 и Sato, 2007), улавливания тяжелых металлов (Torad, 2012) и эффектов спин-кроссовера (Paranikolaou, 2007).

Одним из наиболее важных циано-мостиковых соединений является берлинская лазурь (упоминаемая как PB). PB содержит железо (III), связанное с анионами феррогексацианида, и была хорошо изучена с момента открытия Диппелем и Дисбахом в начале 1700-х годов. Первая структурная гипотеза постулирует присутствие интерстициальных ионов металла внутри кубической гранецентрированной элементарной ячейки (Keggin, 1936). Эта гипотеза приводит к элементарной ячейке, содержащей  $4/3$  формульной единицы  $Fe_4[Fe(CN)_6]_3$ , где 4 ферроцианида являются октаэдрическими, 4 железа (III) связаны с азотом цианида и  $4/3$  ионов трехвалентного железа распределены в восьмикратном промежуточном положении. Затем эту кубическую гранецентрированную элементарную ячейку подтвердили Ludi и Buser, однако они показали более сложную структуру со случайно распределенными вакансиями с помощью рентгеновских методов (Ludi, 1970 и Buser, 1972).

Центральное железо может быть заменено катионами переходных металлов с образованием родственных координационных полимеров на основе цианометаллата, известных как аналоги берлинской лазури (упоминаются как PBA). PBA могут быть

синтезированы традиционным смешиванием двух водных растворов, один из которых содержит анионы гексацианометаллатов  $[M'(CN)_6]^{q-}$ , а другой содержит переходные металлы-кислоты Льюиса  $M^{p+}$ , что приводит к образованию объемных соединений, содержащих нейтральные трехмерные сети  $M_p[M'(CN)_6]_q \cdot nH_2O$ .

Фактически эта формула не учитывает наличие внутренних вакансий и наличие катиона щелочного металла для уравнивания заряда аниона цианометаллата. Поэтому формулу следует записать как  $A_{4x}M_4[M'(CN)_6]_{4z} \square_{4(1-z)} \cdot nH_2O$ , где А представляет собой катион щелочного металла, а  $\square$  - вакансию (Verdaguer, 2004). В дополнение к приведенной выше формуле количество групп CN может варьироваться от 4 до 8 в зависимости от переходного металла, связанного с анионом цианометаллата. Определенные свойства циано-мостиковых координационных полимеров можно объяснить наличием этих вакансий, которые могут быть заполнены многими атомами в зависимости от диффузии адсорбции (Kaye, 2006).

Основное применение соединений РВ относится к выведению цезия. После аварии на Чернобыльской АЭС первые обработки заключались в пероральном введении контаминированным людям капсул РВ (от 3 до 10 граммов). Известные как Radiogardase<sup>®</sup>, соединения РВ представляют собой коллоидные частицы размером от 10 до 100 микрон в водной фазе. Частицы РВ остаются в пищеварительном тракте и поглощают цезий в свои промежуточные вакансии. Большое количество частиц РВ должно оставаться постоянным в пищеварительном тракте, чтобы ингибировать повторное поглощение цезия, который следует по пути калия (известному как энтерогепатическая циркуляция). При эквимольных концентрациях, атомы цезия связываются с частицами РВ со значительно более высокой эффективностью по сравнению с натрием и калием (в  $10^3$ - $10^4$  раз выше, согласно МАГАТЭ - Международное агентство по атомной энергии - 1997 г.). Кроме того, когда атомы цезия поглощаются промежуточными вакансиями РВ, нерастворимые частицы выделяются с мочой и калом согласно Агентству по охране здоровья НРА - 2010 г.

Однако использование больших количеств РВ может вызвать нежелательные побочные эффекты, такие как:

- низкая эффективность лечения детей (43%);
- гипокалиемия: проблемы с сердцем (Farina, 1991);
- тяжелый запор: опасная экспозиция цезия в просвете кишечника (Stevens, 1974);

и/или

- боль в животе (согласно FDA).

Таким образом, существует потребность в новой терапии, которая позволила бы

избежать этих побочных эффектов и улучшить лечение выведением для млекопитающих, не являющихся человеком или для людей, а более конкретно, для детей.

Недавно циано-мостиковые координационные полимеры были изучены в нанометровом масштабе. Исследования наночастиц значительно интенсифицировались из-за новых свойств кристаллов, отличающихся от объемных соединений (Klabunde, 2001 и Lagionova, 2009). Поскольку оптические, электрические, магнитные, химические и биомедицинские свойства наночастиц неорганических металлов сильно зависят от размера, формы, состава и структуры, большие усилия были посвящены соответствующим способам синтеза. Например, ПВ и РВА могут быть синтезированы с использованием новых способов, таких как полимерная защита (Li, 2006), Ленгмюр-Блоджетт (Wang, 2007), золь-гель (Guo, 1999) и ионные жидкости (Clavel, 2006). В частности, наночастицы, образовавшиеся в воде, нуждаются в длинноцепочечном полимере, защищающем их от роста и, таким образом, контролирующим их размер (Yamada, 2004 и Chelebaeva, 2008).

Применение обращенной мицеллярной системы является одним из способов получения наночастиц. Действительно, капли воды, содержащиеся в органической фазе, образуют гомогенную изотропную фазу и обеспечивают нанореакторы для синтеза различных неорганических наноструктур. Этот способ позволяет контролировать масштаб частиц и наноструктуру и обеспечивает ограничение прекурсоров для образования наночастиц, стабилизированных самой микроэмульсией (Pileni, 1997 и 2007 и Qi, 2006).

В общем, микроэмульсия представляет собой систему, состоящую из воды, масла и амфифильных соединений, которая является оптически изотропной и термодинамически стабильной жидкой фазой (Danielsson, 1981). Амфифильные соединения могут самоорганизовываться в огромное количество организованных структур в жидкости, таких как прямые и обращенные мицеллы, соответственно, микроэмульсии масло-в-воде (o/w) и вода-в-масле (w/o), пузырьки и лиотропные жидкие кристаллы. Другие соединения могут быть добавлены для образования микроэмульсий в зависимости от диапазона размеров и стабильности требуемых мицелл и называются дополнительными поверхностно-активными веществами (Saito, 1967). В случае синтеза наночастиц природа каждого компонента важна для создания стабильной системы.

Характеристики наночастиц, синтезированных методом реакции в микроэмульсии вода-в-масле, зависят от многих переменных, таких как содержание водной фазы, концентрация компонентов, характер растворителя, поверхностно-активное вещество и необходимое добавление дополнительного поверхностно-активного вещества для повышения стабильности и гомогенности микроэмульсии (Eastoe, 2006). Общий способ

синтеза наночастиц включает смешивание двух обращенных мицеллярных систем, содержащих металл-предшественник (Lopez-Quintela, 2003). Наночастицы образуются с помощью межмицеллярного обмена с разной скоростью в зависимости от концентрации соединений.

Из всех различных поверхностно-активных веществ, используемых в композициях микроэмульсии, наиболее популярными являются ионные поверхностно-активные вещества, такие как двухцепочечное поверхностно-активное вещество бис(2-этилгексил)сульфосукцинат натрия (упоминается как АОТ) бромид цетилтриметиламмония (упоминается как СТАВ) - и неионные полиэтиоксилированные поверхностно-активные вещества (Barnickel, 1990, Pileni, 1993 и Lopez-Quintela, 2003b).

В частности, Vaucher и коллеги (Vaucher, 2000) синтезировали наночастицы РВ в обращенной микроэмульсии, содержащей АОТ и изооктан. Небольшое количество эквимольной смеси  $(\text{NH}_4)_3[\text{Fe}(\text{C}_2\text{O}_4)_3]$  и  $(\text{NH}_4)_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  добавляли к микроэмульсии при комнатной температуре в темноте с образованием микроэмульсии вода-в-масле. Затем микроэмульсии подвергали воздействию дневного света для того, чтобы медленно фотовосстановить ионы оксалата и синтезировать наночастицы РВ. Главный момент заключается в определении различных факторов, которые контролируют размер кристаллов РВ. Авторы, таким образом, описывали изображения просвечивающей электронной микроскопии (упоминаемой как ТЕМ), демонстрирующие наличие кубических наночастиц РВ с диапазоном размеров от 12 до 54 нм.

Позже Li и коллеги (Li, 2004) осуществили синтез наночастиц РВ в обращенной микроэмульсии того же типа. Однако они использовали полимер для защиты наночастиц РВ, что позволяет лучше контролировать размер. Они продолжали использовать АОТ в изооктане, где, во-первых, к масляной фазе добавляли водный раствор  $\text{FeCl}_2$  и поливинилпирролидона (PVP), во-вторых, к другой масляной фазе добавляли водный раствор  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ . Затем равные объемы первых двух микроэмульсий смешивали. Результаты показали, что PVP действует как стерический стабилизатор для зарождения и роста РВ. Авторы охарактеризовали наночастицы с диапазоном размеров от 20 до 27 нм.

К сожалению, поверхностно-активные вещества АОТ и СТАВ вызывают высокую токсичность по отношению к водным организмам, живым объектам и загрязняют окружающую среду (Okumura, 1998). В обращенных мицеллярных системах не только поверхностно-активные вещества имеют токсичность, но и диспергирующие жидкости, такие как масла и углеводороды, не имеют биосовместимости, стимулирующей жизнедеятельность. Основные масла, используемые в обращенной мицеллярной системе, включают длинноцепочечные атомы углерода, такие как гексан, октан и декан (Fletcher,

1987, Atik, 1981, Pileni, 1997 и Eastoe, 2006).

Nesamony и коллеги (Nesamony, 2005) использовали фармацевтически приемлемые компоненты, такие как растворитель изопропилмиристрат (IPM) и поверхностно-активное вещество диоктилсульфосукцинат натрия (DOSS) с образованием нанокристаллов сульфадиазина серебра в микроэмульсии вода-в-масле для противомикробного применения. Готовят две обращенные мицеллярные фазы - первую, содержащую  $\text{AgNO}_3$ , и вторую, содержащую сульфамиазин натрия (NaSD) в водных каплях, и смешивают вместе для образования наночастиц сульфамиазина серебра (AgSD) при комнатной температуре. Авторы создали субмикронные наночастицы с концентрацией, большей, чем их растворимость. Однако эти наночастицы по своей природе нестабильны, и авторы предложили использовать приемлемый реагент для покрытия/кэпирования с целью ингибирования роста частиц.

Ma и коллеги (Ma, 2010) использовали амфифильную мицеллярную систему, которая включает липиды и полиэтиленгликоли с образованием инкапсулированного оксида железа марганца. На самом деле, нанокристаллы  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$  синтезируются отдельно в органической фазе при высокой температуре. Затем эти нанокристаллы диспергируют в фазе липидов и полиэтиленгликолей и смесь добавляли в воду с обработкой ультразвуком. Однако наночастицы инкапсулируются амфифильным липидным поверхностно-активным веществом без водной фазы в сердцевине мицелл и их вводят внутривенно.

Noritomi и коллеги (Noritomi, 2013) получали наночастицы серебра с использованием обращенных мицелл сложных эфиров сахарозы и жирных кислот, таких как алкилглюкозиды. Получение наночастиц заключается в смешивании равного объема двух обращенных мицеллярных фаз при комнатной температуре и при одинаковом содержании воды: первая фаза содержит  $\text{AgNO}_3$ , и вторая содержит гидразин или боргидрид натрия. Авторы наблюдали наночастицы со средним диаметром 14 нм, стабилизированные по меньшей мере один месяц при комнатной температуре. Однако в этой работе было показано значительное влияние множества параметров, таких как температура, содержание воды и тип реагентов, необходимое, чтобы синтезировать монодисперсные наночастицы с одинаковой формой и размером.

В приведенных выше документах подчеркивается влияние нескольких параметров на приготовление стабильных наночастиц в микроэмульсии. Это также подтверждает трудность получения стабильной обращенной мицеллярной системы в зависимости от желаемого характера наночастиц.

Кроме того, биосовместимые микроэмульсии, содержащие циано-мостиковые металлические наночастицы, до сих пор не были описаны. Такие наночастицы были

синтезированы другими способами в зависимости от конечных областей применения.

Например, Huang и коллеги (США 2010/0254912 А1) использовали РВ-наноматериалы, в качестве агентов для магнитно-резонансной томографии (упоминаемой как MRI), синтезированных в водных растворах, а также стабилизированных карбоновыми кислотами. Этот источник относится ко всем РВА и к применению легированных гадолинием наночастиц РВ. Синтез указанных наночастиц осуществляли медленным добавлением водного раствора, содержащего хлорид железа и хлорид гадолиния, в водный раствор гексацианоферрата. Два водных раствора содержат лимонную кислоту, которая используется в качестве карбоксильного поверхностного защитного агента для контроля размера наночастиц (диапазон размеров от 5 до 300 нм) и предотвращает агрегацию наночастиц.

Аналогичным образом, Pеггier и коллеги исследовали ядерным магнитным резонансом (упоминаемым как ЯМР) релаксацию наноразмерных циано-мостиковых частиц, синтезированных в водном растворе и стабилизированных соединением органических полимеров (Pеггier, 2013). Водный раствор  $K_3[M(CN)_6]$ , содержащий соответствующее количество стабилизатора, смешивали с раствором  $Ln(NO_3)_3 \cdot nH_2O$ , содержащим такое же количество стабилизатора. Используемые стабилизаторы содержат, в основном, полимеры PEG-типов, которые считаются биосовместимыми и позволяют образовывать циано-мостиковые металлические наночастицы с диапазоном размеров от 2 до 3,4 нм.

Недавно Zhu и коллеги (Zhu, 2015) изучили синтез Mn-допированного РВ с использованием ПЭГилированных соединений с целью изучения оптических и магнитных свойств. Они обнаружили, что присутствие Mn в РВ усиливает визуализацию опухолей.

В этих трех документах раскрываются биосовместимые органические соединения, подходящие для внутривенного введения с водным раствором.

Grandjean и коллеги (WO 2010/133689 А2) получали твердый гекса- и октацианометаллатный нанокompозитный материал в виде прививки на органической группе, химически связанной с пористыми ядрами пористой стеклянной среды. Авторы также использовали другую среду, такую как функционализированная поддерживаемая мембрана для прививки циано-мостиковых металлических наночастиц (WO 2014/049048 А1). Оба патента касаются извлечения цезия из загрязненных ядерных стоков и поэтому не могут быть легко перенесены на выведение из человека.

Вышеприведенные документы свидетельствуют о том, что стабилизирующие агенты необходимы для получения контролируемых по размеру циано-мостиковых металлических наночастиц или матриц, способных получать привитые циано-мостиковые

металлические наночастицы.

Таким образом, существует потребность в циано-мостиковых наночастицах металлов, полученных и стабилизированных в биосовместимой микроэмульсии, которая действует как реакторная среда.

Кроме того, среда должна позволять наночастицам переноситься в органические ткани.

Заявитель раскрывает применение обращенной мицеллярной системы на основе ацилглицеринов, фосфолипидов или сфинголипидов и катионов металлов в качестве активных веществ (WO 2011/117333). Указанные обращенные мицеллярные системы способны пересекать слизистую оболочку и клеточные мембраны и, таким образом, позволяют векторизовать катионы металлов в качестве активных ингредиентов в целевые сайты.

Фактически, применение нетоксичных циано-мостиковых металлических наночастиц в биосовместимой обращенной мицеллярной системе, способной к трансмукозальной доставке и/или способной к пероральному введению, до настоящего момента еще не существовало.

Заявитель неожиданно установил в данном документе, что наночастицы из циано-мостиковых металлов могут быть получены в обращенной мицеллярной системе и, таким образом, могут эффективно воздействовать на ткани или участки (например, желудочно-кишечный тракт), без необходимости в органических полимерах, выступающих в качестве стабилизирующих агентов или защитных агентов во время их подготовки и применения. Обращенная мицеллярная система действует как реакторная среда и как защитная оболочка для полученных *in situ* циано-мостиковых металлических наночастиц, позволяющая стабилизировать в течение шести месяцев. Затем обращенная мицеллярная система действует как вектор для доставки циано-мостиковых металлических наночастиц в искомые клетки и/или органы.

#### Сущность изобретения

Первой целью изобретения является способ получения биосовместимой обращенной мицеллярной системы, включающей циано-мостиковые металлические наночастицы, причем указанный способ включает следующую стадию, состоящую из:

смешивания (i) по меньшей мере одной биосовместимой обращенной мицеллярной системы, содержащей по меньшей мере один ацилглицерин, стерин, лецитин, этанол и водный раствор, содержащий по меньшей мере одну соль металла и воду,

с (ii) биосовместимой обращенной мицеллярной системой, содержащей по меньшей мере один ацилглицерин, стерин, лецитин, этанол и водный раствор,



содержащий цианометаллатную соль и воду.

Другой целью изобретения является биосовместимая обращенная мицеллярная система, содержащая по меньшей мере один ацилглицерин, стерин, лецитин, этанол, циано-мостиковые металлические наночастицы и воду, причем указанная система не содержит стабилизирующего агента. Более конкретно, циано-мостиковые металлические наночастицы, входящие в биосовместимую обращенную мицеллярную систему в соответствии с изобретением, преимущественно стабилизированы обращенной мицеллярной системой без необходимости в использовании конкретного стабилизирующего агента.

Другой целью изобретения является биосовместимая обращенная мицеллярная система, содержащая по меньшей мере один ацилглицерин, стерин, лецитин, этанол, циано-мостиковые металлические наночастицы и воду, причем указанная система не содержит стабилизирующего агента, и указанная биосовместимая обращенная мицеллярная система или содержащиеся в ней циано-мостиковые металлические наночастицы используются в качестве контрастного агента и/или в качестве диагностического агента.

Другой целью изобретения является биосовместимая обращенная мицеллярная система, содержащая по меньшей мере один ацилглицерин, стерин, лецитин, этанол, циано-мостиковые металлические наночастицы и воды, причем указанная система не содержит стабилизирующего агента, причем биосовместимая обращенная мицеллярная система или содержащиеся в ней циано-мостиковые металлические наночастицы используются для замещения и/или связывания радионуклидов и/или катионов металлов.

Другой целью изобретения является композиция, содержащая биосовместимые обращенные мицеллярные системы по изобретению.

#### Краткое описание чертежей

Фиг. 1. Схематический обзор стадий для *in situ* синтеза наночастиц PB в обращенной мицеллярной системе, НОВР означает гомогенную масляную фазу, MSP означает солевой предшественник металла, WP означает водную фазу, CMSP означает предшественник на основе соли цианометаллата, RMS означает обращенную мицеллярную систему и CBMNP означает циано-мостиковые металлические наночастицы.

Фиг. 2. Спектры FTIR (Fourier Transform InfraRed) (1) Fe(II)-CN-Fe(III) наночастиц (образец А) в обращенной мицеллярной системе и (2) предшественник ферроцианида (образец А6) в обращенной мицеллярной системе.

Фиг. 3. FTIR-спектры (1) предшественника ферроцианида (образец А6), (2)

наночастицы Fe(III)-CN- $\{Mn(II), Zn(II)\}$  (образец E), (3) Fe(III)-CN-Mn(II) (образец C) и (4) Fe(III)-CN-Zn(II) (образец B), все в обращенной мицеллярной системе.

Фиг. 4. УФ-видимые спектры (1) наночастиц PB (образец A), (2) предшественник ферроцианида (образец A6), (3) предшественник хлорида железа (образец A3), все в обращенной мицеллярной системе и (4) Образец A7.

Фиг. 5. Изображения ТЕМ (просвечивающая электронная микроскопия) образца A, содержащего наночастицы PB в обращенной мицеллярной системе.

Фиг. 6. Cs<sup>+</sup> изотерма обращенной мицеллярной системы, содержащей (1) *in situ* полученные наночастицы PB согласно настоящему изобретению, и (2) коммерческую PB.

Фиг. 7. Процент извлеченного Cs<sup>+</sup> через 4 дня по сравнению с исходной дозой Cs<sup>+</sup> 0,5 мг на крысу в моче и кале для 4 групп (в среднем по 4 крысы): необработанные, образец L гаваж, образец M буккальное введение и образец L ректальное введение с кумулятивной выводящей дозой PB 0-8-4-2 мг, соответственно (стандартная ошибка от среднего представлена планками погрешностей).

Фиг. 8. Процент эффективности выведения Cs<sup>+</sup> в сердце по сравнению с контрольными группами для 7 групп, обработанных через гаваж (на 5 крысах): образцы O, P, Q & R с кумулятивной выводящей дозой PB 4 - 8 - 16 - 80 мг на крысу, соответственно, и образцы S, T & U с кумулятивной выводящей дозой PB 4 - 8 - 16 мг на крысу, соответственно (стандартная ошибка от среднего представлена планками погрешностей).

Фиг. 9. Процент извлеченного Cs<sup>+</sup> через 2 и 4 дня по сравнению с Cs<sup>+</sup> начальной дозы 0,05 мг на крысу в кале для 9 групп (в среднем по 5 крыс): вода, образцы O, P, Q & R с кумулятивной выводящей дозой PB 4 - 8 - 16 - 80 мг на крысу, соответственно, и образцы N, S, T & U с кумулятивной выводящей дозой PB от 0 до 4 - 8 - 16 мг на крысу, соответственно (стандартная ошибка среднего представлена планками погрешностей).

Подробное описание изобретения

Первой целью изобретения является способ получения *in situ* циано-мостиковых координационных полимеров в виде наночастиц в биосовместимой обращенной мицеллярной системе.

Термин «циано-мостиковый координационный полимер» относится к повторению последовательной сборки металлического катиона M<sup>P+</sup> и цианометаллатных анионов [M'(CN)<sub>n</sub>]<sup>q-</sup>, полученных путем роста циано-мостиковой сети (содержащей лиганды CN) внутри обращенной мицеллярной системы. Как правило, указанные полимеры образуют сеть полимеров. Этот полимер называется координационным полимером, когда металлический предшественник M связан с другим металлическим предшественником M' через лиганд CN с образованием субъединицы M'-CN-M, причем такая субъединица

многократно повторяется в реакционной среде.

Настоящий способ включает следующую стадию, состоящую из:

смешивания (i) по меньшей мере одной биосовместимой обращенной мицеллярной системы, содержащей по меньшей мере один ацилглицерин, стерин, лецитин, этанол, водный раствор, содержащий по меньшей мере одну соль металла, в качестве предшественника, и воду,

с (ii) биосовместимой обращенной мицеллярной системой, содержащей по меньшей мере один ацилглицерин, стерин, лецитин, этанол, водный раствор, содержащий по меньшей мере одну соль цианометаллата, в качестве предшественника, и воду.

Согласно изобретению, соль металла относится к металлическому катиону, как правило, с хлоридным или азотным анионами в качестве противоанионов и молекулами воды. Предпочтительной является ситуация, когда противоанион представляет собой хлорид. Металлический катион ( $M^{p+}$ ) можно выбрать из числа переходных металлов и катионов лантанидов. Металлические катионы могут иметь один или несколько положительных зарядов ( $p+$ ),  $p$  обычно представляет собой целое число от 1 до 10, более конкретно  $p$  равно 2, 3, 4 или 5, а количество противоанионов и молекул воды зависит от количества положительных зарядов.

Катионы переходных металлов (упоминаемые как  $M$ ) могут быть выбраны среди всех существующих катионов переходных металлов. Катионы переходных металлов, используемых в соответствии с изобретением, представляют собой железо, цинк и марганец. Предпочтительно катион переходного металла, используемый в изобретении, представляет собой железо.

Катионы лантаноидов (также упоминаемые как  $M$ ) могут быть выбраны из всех существующих катионов лантанидов, включая гадолиний (Gd), тербий (Tb) или иттербий (Yb). Катион лантанидов, более конкретно используемый в соответствии с изобретением, представляет собой гадолиний.

Более конкретно, металлический катион ( $M^{p+}$ ) может представлять собой железо ( $Fe^{2+}$  или  $Fe^{3+}$ ), цинк ( $Zn^{2+}$ ), марганец ( $Mn^{2+}$ ) или гадолиний ( $Gd^{3+}$ ), который образует соответственно  $FeCl_2, 4H_2O$ ;  $FeCl_3, 6H_2O$ ;  $ZnCl_2, 4H_2O$ ;  $MnCl_2, 4H_2O$ ; или  $Gd(NO_3)_3, 6H_2O$ .

Водный раствор, содержащий по меньшей мере одну соль металла, может содержать одну, две или три соли металлов (т.е. одна соль металла или смесь солей металлов).

Согласно изобретению, цианометаллатная соль ( $Alk^+_x[M'(CN)_n]^{q-}$ ) относится к металлическому катиону ( $M'$ ), обычно с CN-лигандами и щелочными катионами ( $Alk^+$ ). Металлический катион ( $M'$ ) можно выбрать из катионов переходных металлов, которые

задают число CN-лигандов и связанных с ними катионов щелочных металлов,  $q$  обычно представляет собой целое число, равное  $x$ , более конкретно  $q$  равно 2, 3 или 4; и  $n$  обычно представляет собой целое число, более конкретно  $n$  равно 4, 6 или 8; и  $x$  обычно представляет собой целое число, более конкретно  $x$  равно 2, 3 или 4.

Более конкретно, металлический катион ( $M'$ ) может представлять собой железо ( $Fe^{2+}$  или  $Fe^{3+}$ ), кобальт ( $Co^{2+}$  или  $Co^{3+}$ ), никель ( $Ni^{2+}$ ), молибден ( $Mo^{4+}$ ,  $Mo^{5+}$ ) или вольфрам ( $W^{4+}$ ).  $M'$  предпочтительно представляет собой железо.

Катион щелочного металла ( $Alk^+$ ) может представлять собой литий ( $Li^+$ ), рубидий ( $Ru^+$ ), натрий ( $Na^+$ ), калий ( $K^+$ ) или цезий ( $Cs^+$ ) (в случае выведения). Катион натрия является более предпочтительным, когда циано-мостиковые металлические наночастицы предназначены для применения в медицинских и фармацевтических областях.

Формула  $Alk^+_x[M'(CN)_n]^{q-}$  может быть следующей:  $Na_4[Fe(CN)_6]$ ,  $Na_3[Fe(CN)_6]$ ,  $Na_2[Ni(CN)_4]$ ,  $Na_4[Mo(CN)_8]$  или  $Na_4[W(CN)_8]$ . В вышеприведенных формулах натрия можно заменить калием.

Соответственно, смешивание способа согласно изобретению позволяет синтезировать *in situ* циано-мостиковые металлические наночастицы в обращенной мицеллярной системе.

Как правило, количества солей металлов и цианометаллатных солей в биосовместимых обращенных мицеллярных системах (i) и (ii) могут меняться в значительной степени. Количество биосовместимых обращенных мицеллярных систем (i) и (ii), подлежащих смешиванию, также может варьироваться в значительной степени. В конкретных воплощениях смешивание указанных биосовместимых обращенных мицеллярных систем (i) и (ii) осуществляют таким образом, что соли металлов и цианометаллатные соли находятся в эквивалентных молярных количествах.

Согласно конкретным воплощениям изобретения (i) по меньшей мере одна биосовместимая обращенная мицеллярная система может содержать одну или несколько (например, 2 или 3) солей металлов.

В соответствии с другими воплощениями по меньшей мере одна биосовместимая обращенная мицеллярная система (i) может быть одной, двумя или тремя биосовместимыми обращенными мицеллярными системами, каждая из которых содержит соль металла, отличную от другой. Соответственно, биосовместимые обращенные мицеллярные системы (i), содержащие по меньшей мере одну соль металла, могут быть смешаны вместе с биосовместимыми обращенными мицеллярными системами, содержащими по меньшей мере одну соль цианометаллата (ii).

Термин «биосовместимая» система относится к совместимости с живыми

клетками, тканями, органами или системами; более конкретно, это относится к системе, которая не представляет риска получения травм, токсичности или отторжения иммунной системой млекопитающих и, более предпочтительно, человека.

Специалисты в данной области техники могут легко определить условия смешивания, в частности время и температуру. На практике температура может варьироваться от комнатной температуры (18-25°C) до 40°C при атмосферном давлении. Время для смешивания таково, чтобы получалась гомогенная обращенная мицеллярная система, а более конкретно-визуально прозрачная композиция.

В соответствии с конкретным воплощением перед смешиванием указанные (i) и (ii) биосовместимые обращенные мицеллярные системы могут быть получены способом, включающим следующие стадии:

- Стадия 1: отдельное приготовление водных растворов, каждый из которых содержит по меньшей мере один предшественник металла (то есть по меньшей мере один водный раствор содержит по меньшей мере одно солевое соединение металла, а другой водный раствор содержит по меньшей мере одну соль цианометаллата) путем растворения каждого предшественника металла в воде, предпочтительно деионизированной водой,

- Стадия 2: каждый из водных растворов, полученных на стадии 1, солюбилизирован в гомогенной фазе на масляной основе, содержащей по меньшей мере один ацилглицерин, стерин, лецитин и этанол и, необязательно, воду, с образованием гомогенной обращенной мицеллярной системы, где указанные гомогенные фазы на масляной основе предпочтительно являются одинаковыми (с точки зрения качества и количества, то есть тех же самых соединений в тех же количествах).

Согласно предпочтительному воплощению стадии 1 предшественники металлов растворяли в воде в соответствующих концентрациях, чтобы получить искомую конечную концентрацию наночастиц в обращенной мицеллярной системе. Таким образом, специалист в данной области техники будет оценивать количество растворяемых металлических предшественников для получения искомой конечной концентрации наночастиц. Водный раствор определяется как раствор, в котором растворитель является по существу водой. Слово «водный» определено как свойственный воде, относящийся к воде, аналогичный воде или растворенный в воде.

Более конкретно, обращенные мицеллярные системы, полученные на стадии 2, представляют собой биосовместимые обращенные мицеллярные системы (i) и (ii), которые затем смешиваются вместе в соответствии со способом по изобретению, предпочтительно количество по массе биосовместимых обращенных мицеллярных систем (i) совпадает с количеством биосовместимой обращенной мицеллярной системы (ii).

Указанные биосовместимые обращенные мицеллярные системы предпочтительно являются одинаковыми (с точки зрения качества и количества, т.е. одних и тех же соединений в тех же количествах), за исключением металлических предшественников, которые различны в каждой биосовместимой обращенной мицеллярной системе.

Более конкретно, смешивание в соответствии со способом по изобретению позволяет металлическим предшественникам взаимодействовать и, следовательно, индуцировать образование циано-мостиковых металлических наночастиц *in situ* в полученной обращенной мицеллярной системе.

Гомогенная фаза на основе масла по изобретению, используемая на стадии (2), может быть получена любым способом, известным в данной области техники. В частности, их можно получить следующим способом:

(a) вводят в контакт (i) ацилглицерин, предпочтительно диацилглицерин, (ii) лецитин, (iii) этанол (iv) стерин и (v) необязательно воду, предпочтительно очищенную воду,

(b) смесь, полученную на стадии (a), перемешивают при 40°C или ниже, и в течение времени, достаточного для образования гомогенной фазы на основе масла.

Параметры перемешивания, более конкретно продолжительность и скорость механического перемешивания, могут быть легко определены любым специалистом в данной области техники и зависят от условий эксперимента. На практике эти параметры таковы, чтобы получалась гомогенная фаза на основе масла; скорость определяется так, чтобы обеспечить формирование визуально прозрачной композиции, и продолжительность перемешивания такова, что перемешивание может быть остановлено через несколько минут (например, 2, 3, 4, 5 или 6 минут) после получения визуально прозрачной композиции.

Термин «гомогенная» или обращенная мицеллярная система относится к системе, которая визуально прозрачна.

На фиг. 1 представлен обзор получения *in situ* конкретных циано-мостиковых металлических наночастиц.

Как правило, способ по изобретению проводят от комнатной температуры (то есть от 18 до 25°C) до 40°C, если не указано иное.

Компоненты гомогенных масляных фаз или обращенных мицеллярных систем  
- Ацилглицерины

Ацилглицерины, используемые в обращенной мицеллярной системе или гомогенной масляной фазе согласно изобретению, могут быть выделены из большей части животных и более предпочтительно растений.

Ацилглицерины, используемые в соответствии с изобретением, включают моно-, ди- и триацилглицерины следующей формулы (I):  $\text{CH}_2(\text{OR}_1)\text{-CH}(\text{OR}_2)\text{-CH}_2(\text{OR}_3)$ ,

в которой:

- $\text{R}_1$  представляет собой ацильный остаток линейной или разветвленной ненасыщенной жирной кислоты, имеющей от 14 до 24 атомов углерода;
- $\text{R}_2$  представляет собой ацильный остаток линейной или разветвленной ненасыщенной жирной кислоты, имеющей от 2 до 18 атомов углерода, или атом водорода;
- $\text{R}_3$  представляет собой ацильный остаток линейной или разветвленной ненасыщенной жирной кислоты, имеющей от 14 до 24 атомов углерода, или атом водорода.

В соответствии с конкретным воплощением  $\text{R}_1$  или  $\text{R}_3$ , предпочтительно только один из  $\text{R}_1$  и  $\text{R}_3$ , в частности только  $\text{R}_1$ , представляют собой ацильный остаток олеиновой кислоты (C18:1[цис]-9).

В соответствии с конкретным аспектом  $\text{R}_2$  имеет 18 атомов углерода, предпочтительно  $\text{R}_2$  представляет собой остаток олеиновой кислоты (олеоильная группа), один из его позиционных изомеров по отношению к двойной связи (цис-6,7,9,11 и 13) или один из его изо-разветвленных изомеров.

В соответствии с другим конкретным аспектом  $\text{R}_1$  представляет собой олеоильную группу.

В соответствии с другим конкретным аспектом  $\text{R}_3$  представляет собой атом водорода.

В соответствии с другим конкретным аспектом  $\text{R}_2$  и  $\text{R}_3$  представляют собой атомы водорода.

Как правило, масло, содержащее высокую концентрацию олеиновой кислоты, будет выбрано в качестве полезного источника ацилглицеринов в соответствии с изобретением. Такое масло обычно содержит высокую долю ацилглицеринов, полезных в соответствии с изобретением.

В соответствии с конкретным аспектом изобретения предпочтительными ацилглицеринами являются глицерин 1-моноолеат и глицерин 1,2-диолеат.

Некоторые из них, и особенно те из них, которые считаются наиболее активными в искомым приложениях, также доступны на коммерческой основе. Например, моноолеат глицерина 40 содержит от 32 до 52% моноацилглицерина, от 30 до 50% диацилглицерина, от 5 до 20% триацилглицерина и является фармацевтически приемлемым (European Pharmacopoeia (8-е издание), USP 25/NF20 и Японский стандарт пищевых добавок).

Такой продукт, например, коммерчески доступен у компании Gattefossé под

названием Peseol<sup>®</sup>. В частности, Peseol<sup>®</sup> может содержать около 45,3 мас.% моноацилглицерина, около 44,5 мас.% диацилглицерина и около 8,6 мас.% триацилглицерина (ацильная фракция Peseol<sup>®</sup> в основном состоит из олеоила: обычно около 80% ацильного остатка - это олеольная фракция).

В соответствии с настоящим описанием масса ацилглицерина соответствует общей массе смеси, обычно содержащей ацилглицерин или смесь ацилглицеринов, с глицерином и жирными кислотами, полученными из указанного ацилглицерина(ов), такого как Peseol<sup>®</sup>, описанного выше.

Ацилглицерины являются природными соединениями и могут быть извлечены и/или получены из возобновляемых растительных источников. Поэтому их использование выгодно с точки зрения биосовместимости и экологических проблем по сравнению с синтетическими соединениями.

#### - Стерин

Гомогенная фаза на основе масла или обращенная мицеллярная система в соответствии с изобретением содержит по меньшей мере один стерин, предпочтительно природный стерин, такой как холестерин или фитостерин (растительные стерины). Ситостерин и холестерин являются предпочтительными стеринами, которые могут присутствовать в обращенной мицеллярной системе в соответствии с изобретением. Предпочтительно обращенная мицеллярная система включает ситостерин, такой как бета-ситостерин.

Ситостерин и холестерин являются коммерчески доступными. В частности, может использоваться коммерческий ситостерин, который извлекается из сои. В таком продукте на ситостерин обычно приходится от 50 до 80 мас.% продукта, и обычно находится в смеси с кампестерином и ситостанолом в соответствующих пропорциях в количестве 15% каждого. Также можно использовать коммерческий ситостерин, который извлекается из разновидности сосны, называемый талловым маслом.

#### - Лецитин

В настоящем изобретении термин лецитин относится к фосфатидилхолину. Фосфатидилхолин также известен как 1,2-диацил-глицеро-3-фосфохолин или PtdCho. Он состоит из холина, фосфатной группы, глицерина и двух жирных кислот. На самом деле это группа молекул, в которой состав жирных кислот варьируется от одной молекулы к другой. Фосфатидилхолин может быть получен из коммерческого лецитина, который содержит фосфатидилхолин в массовых фракциях от 20 до 98%. Лецитин, предпочтительно используемый в соответствии с изобретением, представляет собой Epikuron 200<sup>®</sup> (продается компанией Cargill) и содержит фосфатидилхолин в количестве



более 90%. Предпочтительно, лецитин, используемый в соответствии с изобретением, содержит более 92 мас.% фосфатидилхолина.

- Вода

Вода, пригодная для получения обращенной мицеллярной системы или гомогенной фазы на основе масла в соответствии с изобретением, предпочтительно является очищенной водой; более конкретно дистиллированной или деионизированной водой.

- Этанол

Этанол обычно представляет собой раствор этанол-вода, где количество этанола составляет от примерно 90% до 99 об.%. В более конкретном воплощении этанол представляет собой абсолютный или безводный спирт (который относится к этанолу с низким содержанием воды). Существуют различные сорта с максимальным содержанием воды от 1% до нескольких частей на миллион (ppm). Абсолютный этанол является предпочтительным.

- Другие компоненты

Гомогенная фазовая или обращенная мицеллярная система согласно изобретению может содержать любые дополнительные компоненты. В качестве примера дополнительного компонента можно привести спирты, отличные от этанола.

Гомогенная фаза на основе масла или обращенная мицеллярная система в соответствии с изобретением могут содержать по меньшей мере один спирт в дополнение к этанолу, как определено выше. Спирты, которые могут быть использованы в соответствии с изобретением, предпочтительно представляют собой линейные или разветвленные моноспирты с двумя-четырьмя атомами углерода. Примерами спиртов являются 1-пропанол, 2-пропанол, 2-метил-1-пропанол, изопропанол и любая их смесь. Полиолы, которые могут быть использованы в соответствии с изобретением, предпочтительно представляют собой глицерин и пропиленгликоль.

Количества компонентов гомогенной фазы на основе масла или обращенной мицеллярной системы могут быть адаптированы любым специалистом в данной области техники в зависимости от желаемых свойств фазы или системы, таких как, например, внешний вид, вязкость и/или концентрация активного агента.

В предпочтительном воплощении гомогенная фаза на основе масла или обращенная мицеллярная система не содержат липосомы.

В воплощении изобретения количества компонентов гомогенной фазы на масляной основе или обращенной мицеллярной системы регулируют таким образом, чтобы обращенные мицеллярные системы (i) или (ii) находились в форме жидкости. Специалист в данной области техники может адаптировать относительные количества ацилглицерина,

стерина, лецитина, этанола и воды в гомогенных масляных фазах или обращенных мицеллярных системах для получения жидкости с требуемыми свойствами, таких как, например, внешний вид, вязкость, и/или концентрацию активного агента.

Примеры количеств для различных компонентов биосовместимой обращенной мицеллярной системы, содержащей циано-мостики координативные полимеры, полученные в соответствии с изобретением, следующие:

Обращенная мицеллярная система может содержать от 1 до 30%, предпочтительно от 1 до 20%, в частности от 5 до 15% лецитина.

Обращенная мицеллярная система может содержать от 0,1 до 20%, предпочтительно от 1 до 20%, в частности от 5 до 15% воды.

Обращенная мицеллярная система может содержать от 5 до 20%, предпочтительно от 5 до 15% спиртов, включая этанол.

Обращенная мицеллярная система может содержать от 0,82 до 4,5% стерина.

Обращенная мицеллярная система может содержать от 30 до 90%, предпочтительно от 50 до 90% ацилглицерина.

Кроме того, количество полученных циано-мостики координативных полимеров более предпочтительно составляет от 0,4 до 10%, предпочтительно от 0,5 до 5%, более предпочтительно 1-2% по массе от общего количества воды и циано-мостики координативных полимеров в пределах системы.

Специалисты в данной области техники адаптируют количество компонентов в биосовместимых обращенных мицеллярных системах, содержащих предшественники и, следовательно, гомогенные фазы на масляной основе и водные растворы, содержащие предшественники металлов, для получения предпочтительных количеств, как указано выше.

Если не указано иное, процентные значения, используемые в настоящем изобретении, представляют собой массовые проценты по отношению к общей массе названных соединений или обращенной мицеллярной системы.

В настоящем изобретении термин «обращенная мицеллярная система» относится к системе с обращенной фазой, содержащей водную фазу, диспергированную в масляной фазе. Предпочтительно система с обращенной фазой включает обращенные или обращенные набухшие мицеллы, но они могут быть организованы в более упорядоченные изотропные структуры, такие как микроэмульсия вода-в-масле или анизотропные структуры, такие как кубические, гексагональные, слоистые организации.

Циано-мостики металлические наночастицы

Согласно способу изобретения, описанному выше, таким образом, получали циано-

мостиковые металлические наночастицы.

Другое воплощение изобретения относится к биосовместимой обращенной мицеллярной системе, содержащей по меньшей мере один ацилглицерин, стерин, лецитин, этанол, циано-мостиковые металлические наночастицы, воду, причем указанная биосовместимая обращенная мицеллярная система не содержит стабилизирующего агента. Более конкретно, биосовместимую обращенную мицеллярную систему можно получить по способу, подробно описанному в данном документе.

Как упоминалось выше, количества различных компонентов биосовместимой обращенной мицеллярной системы, содержащей циано-мостиковые координационные полимеры, более конкретно полученные в соответствии с изобретением, являются следующими:

Обращенная мицеллярная система может содержать от 1 до 30%, предпочтительно от 1 до 20%, в частности от 5 до 15% лецитина.

Обращенная мицеллярная система может содержать от 0,1 до 20%, предпочтительно от 1 до 20%, в частности от 5 до 15% воды.

Обращенная мицеллярная система может содержать от 5 до 20%, предпочтительно от 5 до 15% спиртов, включая этанол.

Обращенная мицеллярная система может содержать от 0,82 до 4,5% стерина.

Обращенная мицеллярная система может содержать от 30 до 90%, предпочтительно от 50 до 90% ацилглицерина.

Кроме того, количество полученных циано-мостиковых координационных полимеров более предпочтительно составляет от 0,4 до 10%, предпочтительно от 0,5 до 5%, более предпочтительно 1-2% от общего количества воды и циано-мостиковых координационных полимеров в пределах системы.

В соответствии с другим воплощением изобретение относится к композиции, содержащей биосовместимую обращенную мицеллярную систему по изобретению. Композиция более конкретно используется для лечения или диагностики, как описано ниже. В соответствии с конкретным воплощением изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей биосовместимую обращенную мицеллярную систему по изобретению в фармацевтически приемлемом носителе или подложке.

Более конкретно, циано-мостиковые металлические наночастицы, входящие в биосовместимую обращенную мицеллярную систему в соответствии с изобретением, преимущественно стабилизировались обращенной мицеллярной системой. Таким образом, циано-мостиковые металлические наночастицы, содержащиеся в нем, не требуют специального стабилизирующего агента.

Термин «стабилизирующий агент» относится к любому соединению, способному стабилизировать наночастицы, более конкретно их размер. Обычно стабилизирующим агентом являются полиэтиленгликоли (ПЭГ) или их производные, такие как ПЭГ-амин или полисахариды, такие как декстраны.

В настоящем изобретении термин «циано-мостиковые металлические наночастицы» относится к соединениям в форме наночастиц (размер наночастиц предпочтительно находится в диапазоне от 1 до 100 нм), включающим металлический катион  $M^{P+}$  и цианометаллатные анионы  $[M'(CN)_n]^{q-}$ , как определено выше.

Более конкретно, циано-мостиковые металлические наночастицы содержат  $M'$ -CN-M связи, такие как Fe(II)-CN-Fe(III), Fe(II)-CN-Zn(II), Fe(II)-CN-Mn(II), Fe(II)-CN-[Fe(III)Mn(II)] или Fe(II)-CN-[Mn(II)Zn(II)].

Количество CN-групп может варьироваться от 4 до 8, в зависимости от используемого катиона переходного металла. Например, число групп CN составляет 4 с никелем, 6 - с железом и 8 - с молибденом.

Термин «циано-мостиковые металлические наночастицы» также включает ПВ и любые РВА.

Термин «наночастицы» в соответствии с изобретением относится, в частности, к частицам, размер которых составляет от 0,5 до 20 нм, предпочтительно от 1 до 10 нм, более предпочтительно от 1 до 5 нм. Например, наночастицы ПВ в обращенных мицеллярных системах, приготовленные в соответствии с изобретением (см. образец А примеров), распознаются с помощью просвечивающей электронной микроскопии (упоминается как ТЕМ), что позволяет утверждать, что наночастицы ПВ согласно изобретению более конкретно имеют диаметр в диапазоне от 1 до 5 нм.

#### Области применения

Циано-мостиковые координационные полимеры обладают собственными вакансиями, которые могут обеспечить сорбцию ионных соединений. В зависимости от природы этих ионных соединений области применения довольно широки.

Одной из целей изобретения является связывание катионов радионуклидов в циано-мостиковых металлических наночастицах в органических тканях, что называется выведением.

В частности, можно рассмотреть вариант выведения цезия. Многие циано-мостиковые металлические наночастицы могут использоваться для выведения с различной эффективностью (Vincent, 2014). Традиционными циано-мостиковыми металлическими наночастицами являются ПВ, которые, как известно, эффективно выводят цезий (McCargar, 1988 и Henge, 2000). ПВ не всасывается при пероральном введении, а так

называемый Radiogardase<sup>®</sup> представляет собой коммерческий препарат для выведения цезия. При этом, как упоминалось ранее, частицы РВ остаются в желудочно-кишечном тракте, ожидая связывания атомов цезия, которые следуют по пути калия. Наночастицы РВ в обращенной мицеллярной системе в соответствии с изобретением могут значительно повысить, в частности, путем перорального введения, сорбцию цезия с меньшим количеством доз и, следовательно, предотвратить нежелательные побочные эффекты.

Соответственно, целью изобретения является биосовместимая обращенная мицеллярная система, содержащая циано-мостиковые металлические наночастицы в соответствии с настоящим изобретением, в которой биосовместимая обращенная мицеллярная система или циано-мостиковые металлические наночастицы, содержащиеся в ней, используются для замещения и/или связывания радионуклида и/или катиона металла.

Термины «катионы радионуклидов» и «катионы металлов» в настоящем изобретении относятся к любой химической форме указанных катионов радионуклидов и металлов. Например, катионы радионуклидов и/или металлов, которые замещаются и/или захватываются в соответствии с настоящим изобретением, могут быть в ионной форме, необязательно по меньшей мере с одним контр-анионом или в комплексе по меньшей мере с одним другим лигандом, сольватированными или в форме оксида, перед замещением или связыванием.

В соответствии с настоящим изобретением «замещение» и производные этого термина относятся к замене одного или нескольких атомов из циано-мостиковых металлических наночастиц одним или несколькими радионуклидами и/или металлическим катионом (катионами) в среде. Более конкретно, термин «замещение» используется для катионов гадолиния и марганца.

Согласно изобретению, «связывание» и производные этого термина относятся к захвату одного или нескольких атомов одной или несколькими вакансиями циано-мостиковых металлических наночастиц в среде. Более конкретно, термин «связывание» используется для катионов цезия и таллия.

Например, биосовместимая обращенная мицеллярная система по изобретению или содержащиеся в ней циано-мостиковые металлические наночастицы могут быть использованы для замещения катионом металла, что, таким образом, способствует выделению катиона металла, содержащегося в теле пациента. Указанный металлический катион может являться результатом, например, внешней интоксикации (воздействие катиона металла) или патогенеза, вызывающего накопление катионов в теле пациента.

Термин «выведение» используется в настоящем изобретении в связи с катионом

радионуклидов для того, чтобы обозначить устранение по меньшей мере части указанного радионуклидного катиона из тела пациента.

В одном воплощении биосовместимая обращенная мицеллярная система по изобретению или циано-мостиковые металлические наночастицы, входящие в нее в соответствии с изобретением, или композиция, содержащая ее, используются для выведения по меньшей мере одного радионуклидного катиона и/или лечения по меньшей мере одной интоксикации катионом металла организма пациента. В этом воплощении выведение или лечение интоксикации включает в себя замещение и/или связывание катиона металла и/или радионуклида с использованием биосовместимой обращенной мицеллярной системой по изобретению или содержащимися в ней циано-мостиковыми наночастицами металла и элиминирование и/или экскрецию замещенного и/или связанного катиона металла или радионуклида из организма пациента. В предпочтительном воплощении экскреция осуществляется через естественные пути, такие как моча или кал.

В настоящем изобретении термины лечения или выведения относятся к любому профилактическому и/или лечебному действию, которое способно подавлять или уменьшать длительность или интенсивность любого симптома из-за воздействия катиона радионуклида и/или металла или улучшать любым образом состояние здоровья или комфорт пациента.

В одном воплощении катион металла или радионуклида является токсичным для пациента, или количество указанного катиона металла или радионуклида, присутствующего у пациента, является токсичным.

Термин «радионуклидный катион» или катион радиоактивного нуклида относится к катиону атома с неустойчивым ядром, характеризующему избыточной энергией, доступной для передачи либо вновь возникающей частице излучения в ядре, либо посредством внутренней конверсии. Считается, что во время этого процесса радионуклидный катион подвергается радиоактивному распаду, что приводит к выбросу гамма-лучей и/или субатомных частиц, таких как альфа- или бета-частицы.

В зависимости от природы циано-мостиковых металлических наночастиц, входящих в обращенную мицеллярную систему, указанная система подходит для выведения катионов любого типа радионуклидов. Если радионуклидный катион является специфическим изотопом элемента, обращенная мицеллярная система не обязательно будет более избирательно замещать радиоактивный изотоп по сравнению с другими изотопами того же элемента.

В воплощениях изобретения катион радионуклидов выбирают из группы,

состоящей из плутония, например  $^{238}\text{Pu}$ ,  $^{239}\text{Pu}$  или  $^{240}\text{Pu}$ , америция, например  $^{241}\text{Am}$ , урана, например  $^{233}\text{U}$ ,  $^{234}\text{U}$ ,  $^{235}\text{U}$  или  $^{238}\text{U}$ , цезия, например  $^{134}\text{Cs}$ ,  $^{135}\text{Cs}$  или  $^{137}\text{Cs}$ , таллия, например  $^{201}\text{Tl}$  или  $^{204}\text{Tl}$ , индия, например  $^{111}\text{In}$ , стронция, например  $^{85}\text{Sr}$ ,  $^{89}\text{Sr}$  или  $^{90}\text{Sr}$ , молибдена, например  $^{99}\text{Mo}$  или  $^{100}\text{Mo}$ , свинца, например  $^{210}\text{Pb}$ , хрома, например  $^{51}\text{Cr}$ , полония, например  $^{210}\text{Po}$ , кобальта, например  $^{57}\text{Co}$ ,  $^{58}\text{Co}$  или  $^{60}\text{Co}$ , меди, например  $^{64}\text{Cu}$  или  $^{67}\text{Cu}$ , галлия, например  $^{67}\text{Ga}$ , технеция, например  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ , и продуктов их распада. Радионуклидный катион является, более предпочтительно, цезием, таллием или некоторыми катионами лантанидов.

Селективность обращенной мицеллярной системы в соответствии с изобретением при замещении или связывании катионов радионуклидов и/или металлов связана с селективностью катионов металлов в циано-мостиковых металлических наночастицах.

Соответственно, циано-мостиковые металлические наночастицы предпочтительно являются селективными в отношении двух основных атомов, таких как цезий ( $^{135}\text{Cs}$  или  $^{137}\text{Cs}$ ) и таллий ( $^{201}\text{Tl}$  или  $^{204}\text{Tl}$ ).

В качестве примера, известно, что РВ подходит для связывания цезия и/или таллия. Соответственно, когда циано-мостиковые металлические наночастицы, входящие в биосовместимую обращенную мицеллярную систему по изобретению, представляют собой наночастицы РВ, биосовместимая обращенная мицеллярная система по изобретению или содержащиеся в ней наночастицы РВ используются для захвата по меньшей мере одного из цезия или таллия.

Катион металла, который может быть замещен и/или связан циано-мостиковыми металлическими наночастицами в соответствии с изобретением, может представлять собой любой катион металла. Например, катион металла может представлять собой катион переходного металла, катион тяжелого металла, катион лантанида или катион щелочного металла.

В одном воплощении катион металла, который может быть замещен и/или связан, выбран из железа, алюминия, ртути, свинца, мышьяка, кадмия, цезия, меди, золота, бериллия, висмута, кобальта, хрома, никеля, протактиния, полония, серебра, платины, сурьмы, селена, олова, технеция, титана, цинка, марганца и таллия. В конкретном воплощении катион металла представляет собой цезий.

В одном воплощении биосовместимая обращенная мицеллярная система по изобретению или содержащиеся в ней циано-мостиковые металлические наночастицы или композиция, их содержащая, используются для уменьшения дозы кумулятивного излучения, доставляемой в ткани интернализированными катионами радионуклидов. Действительно, единственной возможностью является выведение катионов

радионуклидов путем их связывания, чтобы облегчить их выделение естественными способами, такими как моча или кал. В соответствии с конкретным воплощением изобретения биосовместимая обращенная мицеллярная система по изобретению или содержащиеся в ней циано-мостиговые металлические наночастицы или композиция, содержащая их, предназначены для снижения риска развития заболеваний из-за кумулятивной дозы облучения, передаваемой в ткани катионами радионуклидов.

В соответствии с конкретным воплощением биосовместимая обращенная мицеллярная система по изобретению или содержащиеся в ней циано-мостиговые металлические наночастицы или композиция, содержащая их, предназначены для лечения по меньшей мере одного заболевания, связанного с накоплением и/или передозировкой по меньшей мере одного радионуклидного катиона у пациента, нуждающегося в этом.

Заболевания (или патологии), связанные с накоплением и/или передозировкой по меньшей мере одного радионуклидного катиона, могут варьироваться в зависимости от радиационного воздействия (продолжительности и/или количества), могут включать желудочно-кишечные расстройства, такие как тошнота или рвота, симптомы, связанные, например, с предрасположенностью к инфекции или кровотечениям, неврологические расстройства или различные виды злокачественных новообразований (например, лейкозы или рак щитовидной железы).

Воздействие катионов радионуклидов и, таким образом, накопление и/или передозировка катионами радионуклидов могут иметь различное происхождение, например от поражения работников атомной отрасли при разрушении защитной оболочки перчаточной камеры, до контаминации множества людей широким распространением катионов радионуклидов в окружающей среде, таким как: инцидент/авария или стихийное бедствие, влияющие на исследовательские объекты, производственные объекты, объекты эксплуатации или хранения ядерных материалов, военный конфликт с применением ядерного оружия, оружие, содержащее радионуклидные катионы, террористический акт, направленный на эти объекты или характеризующийся взрывным устройством, рассеивающим катионы радионуклидов, называемым «грязная бомба».

Катионы интернализированных радионуклидов являются высокотоксичными и могут вызывать как острые, так и хронические лучевые поражения. Наиболее часто встречающиеся нуклиды в этих сценариях включают катионы актинидов, такие как америций, плутоний или уран, и катионы переходных металлов, такие как цезий или стронций. После интернализации в организме нуклид распределяется в различных тканях и/или органах (например, в легких, мышцах, кости и/или печени).

В конкретном воплощении циано-мостиговые металлические наночастицы,



входящие в биосовместимую обращенную мицеллярную систему по изобретению, представляют собой наночастицы РВ. Биосовместимая обращенная мицеллярная система согласно изобретению или наночастицы РВ, содержащаяся в ней, или композиция, содержащая ее, используется для выведения по меньшей мере одного из цезия или таллия или для лечения по меньшей мере одного заболевания, связанного с накоплением и/или передозировкой цезием или таллием у пациента, нуждающегося в этом.

Пациентом, которого нужно лечить, может быть любое млекопитающее, не являющееся человеком или человек, а более конкретно дети.

Другой целью изобретения является биосовместимая обращенная мицеллярная система по изобретению или содержащиеся в ней циано-мостиковые металлические наночастицы, или композиция, содержащая их, используется в качестве контрастного агента и/или в качестве диагностического агента.

Циано-мостиковые наночастицы металлов хорошо известны как контрастный агент для магнитно-резонансной томографии (MRI) и визуализирующий агент для сцинтиграфии. При доставке через слизистую может быть увеличено поглощение и/или качество циано-мостиковых металлических наночастиц внутри организма, что может улучшить качество изображений, полученных методами визуализации. В частности, для использования MRI были исследованы контрастный агент на основе марганца (Pan, 2011, Massaad, 2011 и Zhu, 2015) и контрастный агент на основе гадолиния (Mohs, 2007 и Zhou, 2013). Однако оба эти типа довольно токсичны при определенном уровне дозы, и вводимые количества должны быть уменьшены. Таким образом, применение циано-мостиковых металлических наночастиц, содержащих ионы  $Mn^{2+}$  и  $Gd^{3+}$  в обращенной мицеллярной системе, должно:

- (i) улучшить значения продольной релаксации, позволяющие вводить контрастный агент в более низких дозах и/или
- (ii) улучшить фармакокинетику за счет увеличения времени циркуляции в организме и/или
- (iii) уменьшить токсичность.

Кроме того, преимущество использования трансмукозальной системы заключается в прохождении через гематоэнцефалический барьер. Более конкретно, циано-мостиковые металлические наночастицы в обращенной мицеллярной системе действительно могут обеспечивать визуализацию мозга.

В зависимости от природы катиона металла, участвующего в циано-мостиковой металлической сети, соединения, представляющие магнитные свойства, интересные для способов визуализации (такие как MRI), могут быть сформированы в обращенной

мицеллярной системе.

В соответствии с конкретным воплощением циано-мостиговые металлические наночастицы, входящие в систему обращенной мицеллы по изобретению, представляют собой гадолиний- или марганец-замещенные (содержащие) наночастицы РВ и могут предпочтительно использоваться в качестве контрастного агента и/или в качестве диагностического агента.

Контрастным агентом может быть магнитный контрастный агент (например, как для MRI), средство визуализации для сцинтиграфии, спектроскопический контрастный агент или микроскопический контрастный агент. В этом отношении контрастный агент может использоваться как инструмент или агент для диагностики.

Другой задачей изобретения является способ визуализации по меньшей мере части по меньшей мере одного органа пациента, включающий введение биосовместимой обращенной мицеллярной системы по изобретению или циано-мостиговых металлических наночастиц, входящих в нее, или композиции, содержащей их. Указанный способ формирования изображения преимущественно дополнительно включает стадию обнаружения излучаемого излучения и/или сигнала и предпочтительно стадию формирования изображения посредством него.

Другой целью изобретения является использование биосовместимой обращенной мицеллярной системы по изобретению или содержащихся в ней циано-мостиговых металлических наночастиц или композиции, содержащей их, при получении композиции, которая должна использоваться в способе визуализации и/или диагностики.

Количество обращенной мицеллярной системы, которую нужно вводить для реализации способа формирования изображения, может быть легко адаптировано любым специалистом в данной области в зависимости от количества циано-мостиговых металлических наночастиц, области (областей) для визуализации с помощью данного способа визуализации, и используемой техники визуализации.

Способ визуализации может быть, например, сцинтиграфией или MRI. В одном воплощении способ визуализации представляет собой сцинтиграфию костей, почек, печени, головного мозга и/или легких. Термин «контрастный агент» относится в настоящем изобретении к агенту, который может быть преимущественно использован в способе визуализации для улучшения количества и/или качества испускаемого излучения и/или сигнала или изображения, сформированного из него.

Другим объектом изобретения является, таким образом, обращенная мицеллярная система для использования в качестве контрастного агента в соответствии с изобретением, где контрастный агент используется в сцинтиграфии и/или MRI.

Контрастный агент также может быть использован для изучения почечной перфузии и/или функции мочевыводящих путей или для определения скорости клубочковой фильтрации.

Способ визуализации согласно изобретению может быть частью диагностического способа для определения патологии, предпочтительно патологии визуализированной области, например патологии кости, почки, мозга и/или легкого. Термин «диагностический агент» относится в настоящем изобретении к агенту, который может быть преимущественно использован для определения наличия патологии или риска развития патологии, например патологии костей, почек, мозга и/или легких.

#### Введение обращенных мицеллярных систем

Обращенные мицеллярные системы согласно изобретению способны абсорбироваться через слизистую оболочку и векторизовать циано-мостиковые металлические наночастицы в защищенной форме в любые ткани и/или органы организма.

Обращенную мицеллярную систему можно вводить различными путями. В предпочтительном воплощении изобретения обращенную мицеллярную систему вводят местным, пероральным или трансмукозальным путем.

При использовании в данном документе термины «слизистая оболочка» и «слизистый» относятся к слизистой ткани, такой как респираторная, пищеварительная или генитальная ткань. «Трансмуккозальная доставка», «доставка в слизистую оболочку», «введение через слизистую оболочку» и аналогичные термины, используемые в данном документе, относятся к введению композиции через ткань слизистой оболочки. «Трансмуккозальная доставка», «доставка через слизистую оболочку», «введение через слизистую оболочку» и аналогичные термины включают, без ограничения указанным, доставку композиции через бронхи, десну, лингвальную, носовую, оральную, буккальную, пищеводную, вагинальную, ректальную и желудочно-кишечную слизистую ткань.

В конкретном воплощении введение слизистой оболочки происходит через с буккальную слизистую ткань.

Согласно другому воплощению обращенная мицеллярная система по изобретению может вводиться перорально для активного применения в желудочно-кишечном тракте. Более конкретно это подходит для частиц РВ по изобретению.

Обращенную мицеллярную систему можно вводить в соответствии с изобретением в любое время относительно воздействия и/или контаминации металлическим и/или радионуклидным катионом (катионами).

В одном воплощении обращенная мицеллярная система вводится превентивно, что означает до воздействия и/или контаминации радионуклеотидным и/или металлическим

катионом (катионами).

В другом воплощении обращенная мицеллярная система вводится в первый день, предпочтительно в первые часы, в частности в первые 20 минут, после воздействия и/или контаминации радионуклеотидным и/или металлическим катионом (катионами).

В другом воплощении обращенная мицеллярная система вводится более чем через 24 часов, предпочтительно более чем через 48 часов, в частности более чем через 96 часов, после окончания воздействия радионуклеотидным и/или металлическим катионом (катионами).

Обращенная мицеллярная система по изобретению может быть эффективной для выведения радионуклидного катиона, когда лечение начинается сразу через 1 час, 4 дня после и даже через 7 дней после контаминации, предпочтительно внутренней контаминации.

Практикующий специалист сможет адаптировать количество ежедневных введений, количество вводимых веществ, частоту введения и/или момент начала лечения в зависимости от количества активного агента, присутствующего в обращенной мицеллярной системе, и тип и интенсивность загрязнения катионом металла или радионуклида.

В воплощении, при котором биосовместимая обращенная мицеллярная система используется для лечения патологии, связанной с накоплением по меньшей мере одного катиона металла у пациента, нуждающегося в этом, патология не обязательно инициируется воздействием указанного катиона металла. Патология также может быть связана с хроническим воздействием катиона металла.

Биосовместимая обращенная мицеллярная система может иметь вид композиции, которая может дополнительно содержать фармацевтически приемлемый носитель.

Другой целью изобретения является фармацевтическая композиция, содержащая фармацевтически приемлемую подложку или носитель и биосовместимую обращенную мицеллярную систему по изобретению.

Термин «фармацевтически приемлемые подложка или носитель» относится к любому фармацевтически приемлемым эксципиенту, среде или носителю, хорошо известным специалисту в данной области техники. Могут также использоваться другие добавки, хорошо известные специалисту в данной области техники, такие как стабилизаторы, осушители, связующие вещества или буферы pH. Предпочтительные эксципиенты в соответствии с изобретением способствуют прилипанию готового продукта к слизистой оболочке.

Согласно конкретным воплощениям фармацевтическая композиция представляет

собой капсулу, каплет, аэрозоль, спрей, раствор, мягкую эластичную желатиновую капсулу или сироп.

В соответствии с изобретением термин «включает(включают)» или «включающий» может быть в целом интерпретирован так, что включены все конкретно упомянутые признаки и любые необязательные дополнительные и неуказанные признаки; его также можно интерпретировать более конкретно как выражение «состоит из», в которое включены только указанные признаки, если не указано иное.

Настоящее изобретение включает конкретные воплощения, как описано выше, и любую их комбинацию.

В настоящем изобретении процентные значения представляют собой массовые процентные значения, если не указано иное.

Термин «вокруг» или «около» относится к диапазону от  $\pm 10\%$  от значения.

Следующие примеры приведены только как иллюстративные, а не ограничивающие изобретение.

#### Примеры

Пример 1. Наночастицы гексацианометаллата переходного металла получали *in situ* и стабилизировали в обращенной мицеллярной системе

#### Получение Образца А

- А1: 0,11 г коммерчески доступного гексагидрата хлорида железа (III), с чистотой выше 97%, растворяли в 9,89 г воды для ВЭЖХ при комнатной температуре после 10 секунд перемешивания на вихревой мешалке.

- А2: 1,50 г коммерчески доступного лецитина, содержащего более 97% фосфатидилхолина, растворяли в 1,30 г абсолютного этанола при перемешивании с помощью магнитной мешалки при 300 об./мин. и комнатной температуре. Растворяли 0,25 г бета-ситостерина в смеси в тех же условиях. Затем добавляли 5,75 г Peseol<sup>®</sup> и перемешивание с магнитной мешалкой проводили при 700 об./мин. и 37°C с образованием маслянистой гомогенной фазы (или гомогенной фазы на основе масла).

- А3: 1,20 г А1 добавляли к 8,80 г А2 при комнатной температуре и смесь перемешивали в течение 10 секунд, чтобы получить изотропную и гомогенную обращенную мицеллярную фазу, содержащую первый предшественник РВ.

- А4: 0,15 г коммерчески доступного декагидрата гексацианоферрата натрия (II) с чистотой выше 99% растворяли в 9,85 г воды для ВЭЖХ при комнатной температуре после 10 секунд перемешивания на вихревой мешалке.

- А5: 1,50 г коммерчески доступного лецитина, содержащего более 97% фосфатидилхолина, растворяли в 1,30 г абсолютного этанола при перемешивании с

помощью магнитной мешалки при 300 об./мин. и комнатной температуре. Растворяли 0,25 г бета-ситостерина в смеси в тех же условиях. Затем добавляли 5,75 г Peseol<sup>®</sup> и проводили перемешивание магнитной мешалкой при 700 об./мин. и 37°C с образованием маслянистой гомогенной фазы.

- A6: 1,20 г A4 добавляли к 8,80 г A5 при комнатной температуре и смесь перемешивали на вихревой мешалке в течение 10 секунд для получения изотропной и гомогенной обращенной мицеллярной фазы, содержащей второй предшественник PB.

- A: 2,00 г A3 и 2,00 г A6 вместе встряхивали в течение 10 секунд при комнатной температуре, чтобы получить спонтанное образование наночастиц *in situ* PB.

Другая обращенная мицеллярная система без какого-либо активного соединения или предшественника была приготовлена следующим образом: 1,20 г воды для ВЭЖХ добавляли к 8,80 г A2 при комнатной температуре и смесь перемешивали на вихревой мешалке в течение 10 секунд для получения изотропной и гомогенной обращенной мицеллярной системы (образец A7).

#### Получение Образца B

- B1: 0,04 г коммерчески доступного тетрагидрата хлорида цинка с чистотой выше 98% растворяли в 9,96 г воды для ВЭЖХ при комнатной температуре после 10 секунд перемешивания на вихревой мешалке.

- B2: 1,50 г коммерчески доступного лецитина, содержащего более 97% фосфатидилхолина, растворяли в 1,30 г абсолютного этанола при перемешивании с помощью магнитной мешалки при 300 об./мин. и комнатной температуре. Растворяли 0,25 г бета-ситостерина в смеси в тех же условиях. Затем добавляли 5,75 г Peseol<sup>®</sup> и проводили перемешивание магнитной мешалкой при 700 об./мин. и 37°C с образованием маслянистой гомогенной фазы.

- B3: 1,20 г B1 добавляли к 8,80 г B2 при комнатной температуре и смесь перемешивали на вихревой мешалке в течение 10 секунд для достижения изотропной и гомогенной обращенной мицеллярной фазы, содержащей первый предшественник PBA.

- B4: 0,07 г коммерчески доступного гексацианоферрата калия (III) с чистотой выше 99% растворяли в 9,93 г воды для ВЭЖХ при комнатной температуре после 10 секунд перемешивания на вихревой мешалке.

- B5: 1,50 г коммерчески доступного лецитина, содержащего более 97% фосфатидилхолина, растворяли в 1,30 г абсолютного этанола при перемешивании с помощью магнитной мешалки при 300 об./мин. и комнатной температуре. Растворяли 0,25 г бета-ситостерина в смеси в тех же условиях. Затем добавляли 5,75 г Peseol<sup>®</sup> и проводили перемешивание магнитной мешалкой при 700 об./мин. и 37°C с образованием

маслянистой гомогенной фазы.

- В6: 1,20 г В4 добавляли к 8,80 г В5 при комнатной температуре и смесь перемешивали на вихревой мешалке в течение 10 секунд для получения изотропной и гомогенной обращенной мицеллярной фазы, содержащей второй предшественник РВА.

- В: 2,00 г В3 и 2,00 г В6 вместе встряхивали в течение 10 секунд при комнатной температуре, чтобы получить спонтанное образование наночастиц РВА *in situ*.

Получение Образца С

- С1: 0,06 г коммерчески доступного тетрагидрата хлорида марганца с чистотой выше 99% растворяли в 9,94 г воды для ВЭЖХ при комнатной температуре после 10 секунд перемешивания на вихревой мешалке.

- С2: 1,50 г коммерчески доступного лецитина, содержащего более 97% фосфатидилхолина, растворяли в 1,30 г абсолютного этанола при перемешивании с помощью магнитной мешалки при 300 об./мин. и комнатной температуре. Растворяли 0,25 г бета-ситостерина в смеси в тех же условиях. Затем добавляли 5,75 г Ресеол® и проводили перемешивание магнитной мешалкой при 700 об./мин. и 37°C с образованием маслянистой гомогенной фазы.

- С3: 1,20 г С1 добавили к 8,80 г С2 при комнатной температуре и смесь перемешивали на вихревой мешалке в течение 10 секунд для достижения изотропной и гомогенной обращенной мицеллярной фазы, содержащей первый предшественник РВА.

- С4: 0,07 г коммерчески доступного гексацианоферрата калия (III) с чистотой выше 99% растворяли в 9,93 г воды для ВЭЖХ при комнатной температуре после 10 секунд перемешивания на вихревой мешалке.

- С5: 1,50 г коммерчески доступного лецитина, содержащего более 97% фосфатидилхолина, растворяли в 1,30 г абсолютного этанола при перемешивании с помощью магнитной мешалки при 300 об./мин. и комнатной температуре. Растворяли 0,25 г бета-ситостерина в смеси в тех же условиях. Затем добавляли 5,75 г Ресеол® и проводили перемешивание магнитной мешалкой при 700 об./мин. и 37°C с образованием маслянистой гомогенной фазы.

- С6: 1,20 г С4 добавляли к 8,80 г С5 при комнатной температуре и смесь перемешивали в течение 10 секунд, чтобы получить изотропную и гомогенную обращенную мицеллярную фазу, содержащую второй предшественник РВА.

- С: 2,00 г С3 и 2,00 г С6 вместе встряхивали в течение 10 секунд при комнатной температуре, чтобы получить спонтанное образование наночастиц РВА *in situ*.

Получение образца D (5%)

- D1: 0,008 г коммерчески доступного тетрагидрата хлорида марганца с чистотой

выше 99% и 0,199 г коммерчески доступного гексагидрата хлорида железа (III), с чистотой выше 97%, растворяли в 9,793 г воды для ВЭЖХ при комнатной температуре после 10 секунд перемешивания на вихревой мешалке.

- D 2: 1,50 г коммерчески доступного лецитина, содержащего более 97% фосфатидилхолина, растворяли в 1,30 г абсолютного этанола при перемешивании с помощью магнитной мешалки при 300 об./мин. и комнатной температуре. Растворяли 0,25 г бета-ситостерина в смеси в тех же условиях. Затем добавляли 5,75 г Ресеол® и проводили перемешивание магнитной мешалкой при 700 об./мин. и 37°C с образованием маслянистой гомогенной фазы.

- D3: 1,20 г D1 добавляли к 8,80 г D2 при комнатной температуре и смесь перемешивали на вихревой мешалке в течение 10 секунд для получения изотропной и гомогенной обращенной мицеллярной фазы, содержащей первый предшественник РВА.

- D4: 0,317 г коммерчески доступного декагидрата гексацианоферрата натрия (II) с чистотой выше 99% растворяли в 9,683 г воды для ВЭЖХ при комнатной температуре после 10 секунд перемешивания на вихревой мешалке.

- D5: 1,50 г коммерчески доступного лецитина, содержащего более 97% фосфатидилхолина, растворяли в 1,30 г абсолютного этанола при перемешивании с помощью магнитной мешалки при 300 об./мин. и комнатной температуре. Растворяли 0,25 г бета-ситостерина в смеси в тех же условиях. Затем добавляли 5,75 г Ресеол® и проводили перемешивание магнитной мешалкой при 700 об./мин. и 37°C с образованием маслянистой гомогенной фазы.

- D6: 1,20 г D4 добавляли к 8,80 г D5 при комнатной температуре и смесь перемешивали с помощью вихревой мешалки в течение 10 секунд для достижения изотропной и гомогенной обращенной мицеллярной фазы, содержащей второй предшественник РВА.

- D (5%): 4,00 г D3 и 4,00 г D6 вместе встряхивали в течение 10 секунд при комнатной температуре, чтобы получить спонтанное образование наночастиц РВА in situ.

#### Получение образца D (10%)

- D1: 0,016 г коммерчески доступного тетрагидрата хлорида марганца с чистотой выше 99% и 0,188 г коммерчески доступного гексагидрата хлорида железа (III), с чистотой выше 97%, растворяли в 9,796 г воды для ВЭЖХ при комнатной температуре после 10 секунд перемешивания на вихревой мешалке,

- D2: 1,50 г коммерчески доступного лецитина, содержащего более 97% фосфатидилхолина, растворяли в 1,30 г абсолютного этанола при перемешивании с помощью магнитной мешалки при 300 об./мин. и комнатной температуре. Растворяли 0,25



г бета-ситостерина в смеси в тех же условиях. Затем добавляли 5,75 г Ресеол® и проводили перемешивание магнитной мешалкой при 700 об./мин. и 37°C с образованием маслянистой гомогенной фазы.

- D3: 1,20 г D1 добавляли к 8,80 г D2 при комнатной температуре и смесь перемешивали на вихревой мешалке в течение 10 секунд для получения изотропной и гомогенной обращенной мицеллярной фазы, содержащей первый предшественник РВА.

- D4: 0,317 г коммерчески доступного декагидрата гексацианоферрата натрия (II) с чистотой выше 99% растворяли в 9,683 г воды для ВЭЖХ при комнатной температуре после 10 секунд перемешивания на вихревой мешалке.

- D5: 1,50 г коммерчески доступного лецитина, содержащего более 97% фосфатидилхолина, растворяли в 1,30 г абсолютного этанола при перемешивании с помощью магнитной мешалки при 300 об./мин. и комнатной температуре. Растворяли 0,25 г бета-ситостерина в смеси в тех же условиях. Затем добавляли 5,75 г Ресеол® и проводили перемешивание магнитной мешалкой при 700 об./мин. и 37°C с образованием маслянистой гомогенной фазы.

- D6: 1,20 г D4 добавляли к 8,80 г D5 при комнатной температуре и смесь перемешивали с помощью вихревой мешалки в течение 10 секунд для достижения изотропной и гомогенной обращенной мицеллярной фазы, содержащей второй предшественник РВА.

- D (10%): 4,00 г D3 и 4,00 г D6 вместе встряхивали в течение 10 секунд при комнатной температуре, чтобы получить спонтанное образование наночастиц РВА in situ.

#### Получение образца D (25%)

- D1: 0,040 г коммерчески доступного тетрагидрата хлорида марганца с чистотой выше 99% и 0,157 г коммерчески доступного гексагидрата хлорида железа (III), с чистотой выше 97%, растворяли в 9,803 г воды для ВЭЖХ при комнатной температуре после 10 секунд перемешивания на вихревой мешалке.

- D2: 1,50 г коммерчески доступного лецитина, содержащего более 97% фосфатидилхолина, растворяли в 1,30 г абсолютного этанола при перемешивании с помощью магнитной мешалки при 300 об./мин. и комнатной температуре. Растворяли 0,25 г бета-ситостерина в смеси в тех же условиях. Затем добавляли 5,75 г Ресеол® и проводили перемешивание магнитной мешалкой при 700 об./мин. и 37°C с образованием маслянистой гомогенной фазы.

- D3: 1,20 г D1 добавляли к 8,80 г D2 при комнатной температуре и смесь перемешивали на вихревой мешалке в течение 10 секунд для получения изотропной и гомогенной обращенной мицеллярной фазы, содержащей первый предшественник РВА.

- D4: 0,317 г коммерчески доступного декагидрата гексацианоферрата натрия (II) с чистотой выше 99% растворяли в 9,683 г воды для ВЭЖХ при комнатной температуре после 10 секунд перемешивания на вихревой мешалке.

- D5: 1,50 г коммерчески доступного лецитина, содержащего более 97% фосфатидилхолина, растворяли в 1,30 г абсолютного этанола при перемешивании с помощью магнитной мешалки при 300 об./мин. и комнатной температуре. Растворяли 0,25 г бета-ситостерина в смеси в тех же условиях. Затем добавляли 5,75 г Ресеол<sup>®</sup> и проводили перемешивание магнитной мешалкой при 700 об./мин. и 37°C с образованием маслянистой гомогенной фазы.

- D6: 1,20 г D4 добавляли к 8,80 г D5 при комнатной температуре и смесь перемешивали с помощью вихревой мешалки в течение 10 секунд для достижения изотропной и гомогенной обращенной мицеллярной фазы, содержащей второй предшественник РВА.

- D (25%): 4,00 г D3 и 4,00 г D6 вместе встряхивали в течение 10 секунд при комнатной температуре, чтобы получить спонтанное образование наночастиц РВА in situ.

Получение образца D (50%)

- D1: 0,080 г коммерчески доступного тетрагидрата хлорида марганца с чистотой выше 99% и 0,105 г коммерчески доступного гексагидрата хлорида железа (III), с чистотой выше 97%, растворяли в 9,815 г воды для ВЭЖХ при комнатной температуре после 10 секунд перемешивания на вихревой мешалке.

- D2: 1,50 г коммерчески доступного лецитина, содержащего более 97% фосфатидилхолина, растворяли в 1,30 г абсолютного этанола при перемешивании с помощью магнитной мешалки при 300 об./мин. и комнатной температуре. Растворяли 0,25 г бета-ситостерина в смеси в тех же условиях. Затем добавляли 5,75 г Ресеол<sup>®</sup> и проводили перемешивание магнитной мешалкой при 700 об./мин. и 37°C с образованием маслянистой гомогенной фазы.

- D3: 1,20 г D1 добавляли к 8,80 г D2 при комнатной температуре и смесь перемешивали на вихревой мешалке в течение 10 секунд для получения изотропной и гомогенной обращенной мицеллярной фазы, содержащей первый предшественник РВА.

- D4: 0,317 г коммерчески доступного декагидрата гексацианоферрата натрия (II) с чистотой выше 99% растворяли в 9,683 г воды для ВЭЖХ при комнатной температуре после 10 секунд перемешивания на вихревой мешалке.

- D5: 1,50 г коммерчески доступного лецитина, содержащего более 97% фосфатидилхолина, растворяли в 1,30 г абсолютного этанола при перемешивании с помощью магнитной мешалки при 300 об./мин. и комнатной температуре. Растворяли 0,25

г бета-ситостерина в смеси в тех же условиях. Затем добавляли 5,75 г Ресеол® и проводили перемешивание магнитной мешалкой при 700 об./мин. и 37°C с образованием маслянистой гомогенной фазы.

- D6: 1,20 г D4 добавляли к 8,80 г D5 при комнатной температуре и смесь перемешивали с помощью вихревой мешалки в течение 10 секунд для достижения изотропной и гомогенной обращенной мицеллярной фазы, содержащей второй предшественник РВА.

- D (50%): 4,00 г D3 и 4,00 г D6 вместе встряхивали в течение 10 секунд при комнатной температуре, чтобы получить спонтанное образование наночастиц РВА in situ.

#### Получение образца D (75%)

- D1: 0,120 г коммерчески доступного тетрагидрата хлорида марганца с чистотой выше 99% и 0,052 г коммерчески доступного гексагидрата хлорида железа (III), с чистотой выше 97%, растворяли в 9,828 г воды для ВЭЖХ при комнатной температуре после 10 секунд перемешивания на вихревой мешалке.

- D2: 1,50 г коммерчески доступного лецитина, содержащего более 97% фосфатидилхолина, растворяли в 1,30 г абсолютного этанола при перемешивании с помощью магнитной мешалки при 300 об./мин. и комнатной температуре. Растворяли 0,25 г бета-ситостерина в смеси в тех же условиях. Затем добавляли 5,75 г Ресеол® и проводили перемешивание магнитной мешалкой при 700 об./мин. и 37°C с образованием маслянистой гомогенной фазы.

- D3: 1,20 г D1 добавляли к 8,80 г D2 при комнатной температуре и смесь перемешивали на вихревой мешалке в течение 10 секунд для получения изотропной и гомогенной обращенной мицеллярной фазы, содержащей первый предшественник РВА.

- D4: 0,317 г коммерчески доступного декагидрата гексацианоферрата натрия (II) с чистотой выше 99% растворяли в 9,683 г воды для ВЭЖХ при комнатной температуре после 10 секунд перемешивания на вихревой мешалке.

- D5: 1,50 г коммерчески доступного лецитина, содержащего более 97% фосфатидилхолина, растворяли в 1,30 г абсолютного этанола при перемешивании с помощью магнитной мешалки при 300 об./мин. и комнатной температуре. Растворяли 0,25 г бета-ситостерина в смеси в тех же условиях. Затем добавляли 5,75 г Ресеол® и проводили перемешивание магнитной мешалкой при 700 об./мин. и 37°C с образованием маслянистой гомогенной фазы.

- D6: 1,20 г D4 добавляли к 8,80 г D5 при комнатной температуре и смесь перемешивали с помощью вихревой мешалки в течение 10 секунд для достижения изотропной и гомогенной обращенной мицеллярной фазы, содержащей второй

предшественник РВА.

- D (75%): 4,00 г D3 и 4,00 г D6 вместе встряхивали в течение 10 секунд при комнатной температуре, чтобы получить спонтанное образование наночастиц РВА *in situ*.

Получение образца E

- E1: 0,06 г коммерчески доступного тетрагидрата хлорида марганца с чистотой выше 99% растворяли в 9,94 г воды для ВЭЖХ при комнатной температуре после 10 секунд перемешивания на вихревой мешалке.

- E2: 1,50 г коммерчески доступного лецитина, содержащего более 97% фосфатидилхолина, растворяли в 1,30 г абсолютного этанола при перемешивании с помощью магнитной мешалки при 300 об./мин. и комнатной температуре. Растворяли 0,25 г бета-ситостерина в смеси в тех же условиях. Затем добавляли 5,75 г Ресеол® и проводили перемешивание магнитной мешалкой при 700 об./мин. и 37°C с образованием маслянистой гомогенной фазы.

- E3: 1,20 г E1 добавляли к 8,80 г E2 при комнатной температуре и смесь перемешивали на вихревой мешалке в течение 10 секунд для получения изотропной и гомогенной обращенной мицеллярной фазы, содержащей первый предшественник РВА.

- E4: 0,04 г коммерчески доступного тетрагидрата хлорида цинка с чистотой выше 98% растворяли в 9,96 г воды для ВЭЖХ при комнатной температуре после 10 секунд перемешивания на вихревой мешалке.

- E5: 1,50 г коммерчески доступного лецитина, содержащего более 97% фосфатидилхолина, растворяли в 1,30 г абсолютного этанола при перемешивании с помощью магнитной мешалки при 300 об./мин. и комнатной температуре. Растворяли 0,25 г бета-ситостерина в смеси в тех же условиях. Затем добавляли 5,75 г Ресеол® и проводили перемешивание магнитной мешалкой при 700 об./мин. и 37°C с образованием маслянистой гомогенной фазы.

- E6: 1,20 г E4 добавляли к 8,80 г E5 при комнатной температуре и смесь перемешивали на вихревой мешалке в течение 10 секунд для получения изотропной и гомогенной обращенной мицеллярной фазы, содержащей первый предшественник РВА.

- E7: 0,07 г коммерчески доступного гексацианоферрата калия (III) с чистотой выше 99% растворяли в 9,93 г воды для ВЭЖХ при комнатной температуре после 10 секунд перемешивания на вихревой мешалке.

- E8: 1,50 г коммерчески доступного лецитина, содержащего более 97% фосфатидилхолина, растворяли в 1,30 г абсолютного этанола при перемешивании с помощью магнитной мешалки при 300 об./мин. и комнатной температуре. Растворяли 0,25 г бета-ситостерина в смеси в тех же условиях. Затем добавляли 5,75 г Ресеол® и проводили

перемешивание магнитной мешалкой при 700 об./мин. и 37°C с образованием маслянистой гомогенной фазы.

- E9: 1,20 г E7 добавляли к 8,8 г E8 при комнатной температуре и смесь перемешивали на вихревой мешалке в течение 10 секунд для достижения изотропной и гомогенной обращенной мицеллярной фазы, содержащей второй предшественник РВА.

- E: 2,00 г E3, 2,00 г E6 и 4,00 г E9 вместе встряхивали в течение 10 секунд при комнатной температуре, чтобы получить спонтанное образование наночастиц РВА in situ.

Пример 2. Наночастицы тетрацианометаллата переходного металла в обращенной мицеллярной системе

Получение образца F

- F1: 0,06 г коммерчески доступного гексагидрата хлорида железа (III), с чистотой выше 97%, растворяли в 9,94 г воды для ВЭЖХ при комнатной температуре после 10 секунд перемешивания на вихревой мешалке.

- F2: 1,50 г коммерчески доступного лецитина, содержащего более 97% фосфатидилхолина, растворяли в 1,30 г абсолютного этанола при перемешивании с помощью магнитной мешалки при 300 об./мин. и комнатной температуре. Растворяли 0,25 г бета-ситостерина в смеси в тех же условиях. Добавляли 5,75 г Ресеол® и проводили перемешивание магнитной мешалкой при 700 об./мин. и 37°C с образованием маслянистой гомогенной фазы.

- F3: 1,20 г F1 добавляли к 8,80 г F2 при комнатной температуре и смесь перемешивали в течение 10 секунд, чтобы получить изотропную и гомогенную обращенную мицеллярную фазу, содержащую первый предшественник РВА.

- F4: 0,07 г коммерчески доступного тетрацианониколата калия с чистотой выше 99% растворяли в 9,93 г воды для ВЭЖХ при комнатной температуре после 10 секунд перемешивания на вихревой мешалке.

- F5: 1,50 г коммерчески доступного лецитина, содержащего более 97% фосфатидилхолина, растворяли в 1,30 г абсолютного этанола при перемешивании с помощью магнитной мешалки при 300 об./мин. и комнатной температуре. Растворяли 0,25 г бета-ситостерина в смеси в тех же условиях. Добавляли 5,75 г Ресеол® и проводили перемешивание магнитной мешалкой при 700 об./мин. и 37°C с образованием маслянистой гомогенной фазы.

- F6: 1,20 г F4 добавляли к 8,80 г F5 при комнатной температуре и смесь перемешивали на вихревой мешалке в течение 10 секунд для получения изотропной и гомогенной обращенной мицеллярной фазы, содержащей второй предшественник РВА.

- F: 2,00 г F3 и 2,00 г F6 вместе встряхивают в течение 10 секунд при комнатной

температуре, чтобы получить спонтанное образование наночастиц РВА *in situ*.

Пример 3. Наночастицы октацианометаллата переходного металла в обращенной мицеллярной системе

Получение образца G

- G1: 0,11 г коммерчески доступного гексагидрата хлорида железа (III), с чистотой выше 97%, растворяли в 9,89 г воды для ВЭЖХ при комнатной температуре после 10 секунд перемешивания на вихревой мешалке.

- G2: 1,50 г коммерчески доступного лецитина, содержащего более 97% фосфатидилхолина, растворяли в 1,30 г абсолютного этанола при перемешивании с помощью магнитной мешалки при 300 об./мин. и комнатной температуре. Растворяли 0,25 г бета-ситостерина в смеси в тех же условиях. Добавляли 5,75 г Ресеол® и проводили перемешивание магнитной мешалкой при 700 об./мин. и 37°C с образованием маслянистой гомогенной фазы.

- G3: 1,20 г G1 добавляли к 8,80 г G2 при комнатной температуре и смесь перемешивали в течение 10 секунд для того, чтобы получить изотропную и гомогенную обращенную мицеллярную фазу, содержащую первый предшественник РВА.

- G4: 0,09 г молибдена или октацианида вольфрама растворяли в 9,91 г воды для ВЭЖХ при комнатной температуре после 10 секунд перемешивания на вихревой мешалке.

- G5: 1,50 г коммерчески доступного лецитина, содержащего более 97% фосфатидилхолина, растворяли в 1,30 г абсолютного этанола при перемешивании с помощью магнитной мешалки при 300 об./мин. и комнатной температуре. Растворяли 0,25 г бета-ситостерина в смеси в тех же условиях. Добавляли 5,75 г Ресеол® и проводили перемешивание магнитной мешалкой при 700 об./мин. и 37°C с образованием маслянистой гомогенной фазы.

- G6: 1,20 г G4 добавляли к 8,80 г G5 при комнатной температуре и смесь перемешивали в течение 10 секунд, чтобы получить изотропную и гомогенную обращенную мицеллярную фазу, содержащую второй предшественник РВА.

- G: 2,00 г G3 и 2,00 г G6 вместе встряхивают в течение 10 секунд при комнатной температуре, чтобы получить спонтанное образование наночастиц РВА *in situ*.

Пример 4. Наночастицы гексацианометаллата лантанида получали *in situ* и стабилизировали в обращенной мицеллярной системе

Получение образца H

- H1: 0,09 г коммерчески доступного гексагидрата нитрата гадолиния (III) с чистотой выше 99,9% растворяли в 9,91 г воды для ВЭЖХ при комнатной температуре после 10 секунд перемешивания на вихревой мешалке.

- Н2: 1,50 г коммерчески доступного лецитина, содержащего более 97% фосфатидилхолина, растворяли в 1,30 г абсолютного этанола при перемешивании с помощью магнитной мешалки при 300 об./мин. и комнатной температуре. Растворяли 0,25 г бета-ситостерина в смеси в тех же условиях. Затем добавляли 5,75 г Ресеол® и проводили перемешивание магнитной мешалкой при 700 об./мин. и 37°C с образованием маслянистой гомогенной фазы.

- Н3: 1,20 г Н1 добавляли к 8,80 г Н2 при комнатной температуре и смесь перемешивали на вихревой мешалке в течение 10 секунд для достижения изотропной и гомогенной обращенной мицеллярной фазы, содержащей первый предшественник РВА.

- Н4: 0,07 г коммерчески доступного гексацианоферрата калия с чистотой выше 99% растворяли в 9,93 г воды для ВЭЖХ при комнатной температуре после 10 секунд перемешивания на вихревой мешалке.

- Н5: 1,50 г коммерчески доступного лецитина, содержащего более 97% фосфатидилхолина, растворяли в 1,30 г абсолютного этанола при перемешивании с помощью магнитной мешалки при 300 об./мин. и комнатной температуре. Растворяли 0,25 г бета-ситостерина в смеси в тех же условиях. Затем добавляли 5,75 г Ресеол® и проводили перемешивание магнитной мешалкой при 700 об./мин. и 37°C с образованием маслянистой гомогенной фазы.

- Н6: 1,20 г Н4 добавляли к 8,80 г Н5 при комнатной температуре и смесь перемешивали на вихревой мешалке в течение 10 секунд для получения изотропной и гомогенной обращенной мицеллярной фазы, содержащей второй предшественник РВА.

- Н: 2,00 г Н3 и 2,00 г Н6 вместе встряхивали в течение 10 секунд при комнатной температуре, чтобы получить спонтанное образование наночастиц РВА *in situ*.

Пример 5. Визуальные наблюдения полученных *in situ* и стабилизированных циано-мостиковых металлических наночастиц в обращенной мицеллярной системе

После формирования *in situ* циано-мостиковых металлических наночастиц визуальные наблюдения показывают, что все образцы являются стабильными, гомогенными и изотропными. Наблюдается уникальная фаза и отсутствует мутность.

Пример 6. Характеризация с помощью FTIR образования наночастиц на основе циано-мостиковых металлов *in situ* в обращенной мицеллярной системе

Образцы А, В, С, D и Е могут быть охарактеризованы путем проведения измерений в инфракрасном спектре. Этот метод использовался для анализа валентных колебаний и связывающих колебаний связей М'-СN-М, которые являются сигнатурами образования наночастиц. В частности, валентные колебания СN наблюдаются в области волнового числа 2000 - 2100 см<sup>-1</sup>.

В случае образца А связи Fe(II)-CN-Fe(III) индуцируется один пик, а валентное колебание детектируется при  $2086 \text{ см}^{-1}$ , как сообщается Ghosh, 1974 и Ellis, 1981.

В случае образца В связи Fe(III)-CN-Zn(II) индуцируется единый широкий пик, и валентное колебание обнаруживается при  $2092 \text{ см}^{-1}$ , как сообщалось Denisova, 2009 и Vincent, 2014.

В случае образца С связи Fe(III)-CN-Mn(II) индуцируется тонкий пик, и валентное колебание обнаруживается при  $2071 \text{ см}^{-1}$ , как сообщалось Chugh, 2012.

Спектры FTIR показаны на фиг. 2 и 3.

Пример 7. Характеризация в УФ-видимом спектре полученных *in situ* и стабилизированных наночастиц РВ в обращенной мицеллярной системе

Образец А является единственным образцом, который может быть охарактеризован с помощью метода измерения в УФ-видимом спектре. Действительно, циано-мостиковые металлические наночастицы РВ поглощают в видимой области. Это связано с межклеточным переносом заряда между  $\text{Fe}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{3+}$  через связь CN при длине волны от 685 до 695 нм (Riter, 1998, Uemura, 2004). Спектры поглощения представлены на Фиг. 4.

Пример 8. Характеризация с помощью микроскопа полученных *in situ* и стабилизированных наночастиц РВ в обращенной мицеллярной системе

Образец А анализировали с помощью микроскопии (ТЕМ), чтобы выделить присутствие и структуру наночастиц. Микроскопические изображения показаны на фиг. 5. В условиях изобретения различимы частицы размером менее 5 нм. Частицы более 5 нм должны быть хорошо видны, поэтому имеющиеся наночастицы в образце А имеют диаметр от 1 до 5 нм.

Пример 9. Исследование адсорбции цезия *in vitro* с использованием коммерческих или *in situ* полученных РВ-наночастиц в обращенной мицеллярной системе

Исследование *in vitro* было достигнуто с использованием двух разных систем. Цель заключалась в сравнении эффективности поглощения цезия разными наночастицами РВ.

Первая тестируемая система является сравнительной и является суррогатом Radiogardase<sup>®</sup> с использованием доступного коммерческого РВ в обращенной мицеллярной системе.

Вторая тестируемая система содержит наночастицы РВ, полученные и стабилизированные в обращенной мицеллярной системе согласно изобретению.

Получение образца I

- 30,00 г коммерчески доступного лецитина, содержащего более 97% фосфатидилхолина, растворяли в 26,00 г абсолютного этанола при перемешивании с помощью магнитной мешалки при 300 об./мин. и комнатной температуре. Затем в этих же



условиях растворяли 5,00 г бета-ситостерина. Добавляли 129,00 г Ресеол<sup>®</sup> и проводили перемешивание магнитной мешалкой при 700 об./мин. и 37°C с образованием маслянистой гомогенной фазы. В конце концов, 10,00 г воды для ВЭЖХ добавляли для образования гомогенной обращенной мицеллярной системы. Затем 0,04 г коммерческого РВ диспергировали в гомогенной обращенной мицеллярной системе при комнатной температуре и перемешивали на вихревой мешалке.

#### Получение образца J

- J1: 0,11 г коммерчески доступного гексагидрата хлорида железа (III), с чистотой выше 97%, растворяли в 9,89 г воды для ВЭЖХ при комнатной температуре после 10 секунд перемешивания на вихревой мешалке.

- J2: 15,00 г коммерчески доступного лецитина, содержащего более 97% фосфатидилхолина, растворяли в 1300 г абсолютного этанола при перемешивании с помощью магнитной мешалки при 300 об./мин. и комнатной температуре. Растворяли 2,50 г бета-ситостерина в смеси в тех же условиях. Добавляли 64,50 г Ресеол<sup>®</sup> и проводили перемешивание магнитной мешалкой при 700 об./мин. и 37°C с образованием маслянистой гомогенной фазы.

- J3: 5,00 г J1 добавляли к 95,00 г J2 при комнатной температуре и смесь перемешивали на вихревой мешалке в течение 10 секунд для получения изотропной и гомогенной обращенной мицеллярной фазы, содержащей первый предшественник РВ.

- J4: 0,15 г коммерчески доступного гексацианоферрата натрия с чистотой выше 99% растворяли в 9,85 г воды для ВЭЖХ при комнатной температуре после 10 секунд перемешивания на вихревой мешалке.

- J5: 15,00 г коммерчески доступного лецитина, содержащего более 97% фосфатидилхолина, растворяли в 1300 г абсолютного этанола при перемешивании с помощью магнитной мешалки при 300 об./мин. и комнатной температуре. Растворяли 2,50 г бета-ситостерина в смеси в тех же условиях. Добавляли 64,50 г Ресеол<sup>®</sup> и проводили перемешивание магнитной мешалкой при 700 об./мин. и 37°C с образованием маслянистой гомогенной фазы.

- J6: добавляли 5,00 г J4 к 95,00 г J5 при комнатной температуре и смесь перемешивали в течение 10 секунд, чтобы получить изотропную и гомогенную обращенную мицеллярную фазу, содержащую второй предшественник РВ.

- J: 100,00 г J3 и 100,00 г J6 вместе встряхивали в течение 10 секунд при комнатной температуре, чтобы получить спонтанное образование наночастиц РВ *in situ*.

#### Получение цезийсодержащих образцов К

- K1: 0,4 моль.л<sup>-1</sup> из Cs<sup>+</sup> получали путем растворения 0,004 г CsCl с чистотой выше

99%, в 44,996 г воды для ВЭЖХ

- К2: 1,0 моль.л<sup>-1</sup> из Cs<sup>+</sup> получали растворением 0,008 г CsCl с чистотой выше 99%, в 44,992 г воды для ВЭЖХ

- К3: 2,0 моль.л<sup>-1</sup> из Cs<sup>+</sup> получали растворением 0,016 г CsCl с чистотой выше 99%, в 44,984 г воды для ВЭЖХ

- К4: 4,0 моль.л<sup>-1</sup> из Cs<sup>+</sup> получали растворением 0,034 г CsCl с чистотой выше 99%, в 44,966 г воды для ВЭЖХ

- К5: 6,0 моль.л<sup>-1</sup> из Cs<sup>+</sup> получали растворением 0,050 г CsCl с чистотой выше 99%, в 44,950 г воды для ВЭЖХ

Опыт состоял в контакте 24,00 г образцов I и J с 7,00 г каждого из пяти образцов К. Индуцировались двухфазные системы, которые непрерывно перемешивали в течение 24 часов в закрытых сосудах. После 24-часового перемешивания все двухфазные системы центрифугировали для восстановления водных фаз, содержащих оставшиеся ионы цезия. Затем концентрации цезия анализировали с использованием ионной хроматографии, чтобы показать сорбцию цезия для различных начальных концентраций Cs, так называемые изотермы, показанные на фиг. 6. Результаты показывают, что полученные *in situ* и стабилизированные наночастицы РВ более эффективны, чем коммерческий РВ для адсорбции цезия.

В следующей таблице 1 приведены примеры, подробно описанные выше.

Таблица 1

In situ синтез циано-мостиковых металлических наночастиц			
Образец	Первый предшественник(и)	Второй предшественник(и)	Короткая формула наночастиц
A	FeCl <sub>3</sub> , 6H <sub>2</sub> O	Na <sub>4</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ]·10H <sub>2</sub> O	Fe[Fe(CN) <sub>6</sub> ]
B	ZnCl <sub>2</sub> , 4H <sub>2</sub> O	K <sub>3</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ]	Zn[Fe(CN) <sub>6</sub> ]
C	MnCl <sub>2</sub> , 4H <sub>2</sub> O	K <sub>3</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ]	Mn[Fe(CN) <sub>6</sub> ]
D (5%)	5% MnCl <sub>2</sub> + 95% FeCl <sub>3</sub>	Na <sub>4</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ]·10H <sub>2</sub> O	MnFe[Fe(CN) <sub>6</sub> ]
D (10%)	10% MnCl <sub>2</sub> + 90% FeCl <sub>3</sub>	Na <sub>4</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ]·10H <sub>2</sub> O	MnFe[Fe(CN) <sub>6</sub> ]
D (25%)	25% MnCl <sub>2</sub> + 75% FeCl <sub>3</sub>	Na <sub>4</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ]·10H <sub>2</sub> O	MnFe[Fe(CN) <sub>6</sub> ]
D (50%)	50% MnCl <sub>2</sub> + 50% FeCl <sub>3</sub>	Na <sub>4</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ]·10H <sub>2</sub> O	MnFe[Fe(CN) <sub>6</sub> ]
D (75%)	75% MnCl <sub>2</sub> + 25% FeCl <sub>3</sub>	Na <sub>4</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ]·10H <sub>2</sub> O	MnFe[Fe(CN) <sub>6</sub> ]
E	50% MnCl <sub>2</sub> + 50% ZnCl <sub>2</sub>	K <sub>3</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ]	MnZn[Fe(CN) <sub>6</sub> ]
F	FeCl <sub>3</sub> , 6H <sub>2</sub> O	K <sub>2</sub> [Ni(CN) <sub>4</sub> ]	Fe[Ni(CN) <sub>6</sub> ]
G	FeCl <sub>3</sub> , 6H <sub>2</sub> O	[Mo or W](CN) <sub>8</sub>	Fe[Mo(CN) <sub>6</sub> ]
H	Gd(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> , 6H <sub>2</sub> O	K <sub>3</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ]	Gd[Fe(CN) <sub>6</sub> ]
In vitro исследование поглощения цезия на циано-мостиковых металлических наночастицах			
I			Fe [Fe(CN) <sub>6</sub> ] Коммерческая ПБ
J	FeCl <sub>3</sub>	Na <sub>4</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ]	Fe [Fe(CN) <sub>6</sub> ]
K	Водные растворы хлорида цезия		

Пример 10. *In vivo* изучение инкубации цезия с помощью *in situ* полученных циано-мостиковых металлических наночастиц РВ в обращенной мицеллярной системе

### Получение образца L

- L1: 0,17 г коммерчески доступного гексагидрата хлорида железа (III), с чистотой выше 97%, растворяли в 3,83 г воды для ВЭЖХ при комнатной температуре после 10 секунд перемешивания на вихревой мешалке.

- L2: 3,60 г коммерчески доступного лецитина, содержащего более 97% фосфатидилхолина, растворяли в 3,24 г абсолютного этанола при перемешивании с помощью магнитной мешалки при 300 об./мин. и комнатной температуре. Растворяли 0,90 г бета-ситостерина в смеси в тех же условиях. Добавляли 26,10 г Peseol® и проводили перемешивание магнитной мешалкой при 700 об./мин. и 37°C с образованием гомогенной фазы на основе масла.

- L3: 2,16 г L1 добавляли к 33,84 г L2 при комнатной температуре и смесь перемешивали на вихревой мешалке в течение 10 секунд для получения изотропной и гомогенной обращенной мицеллярной фазы, содержащей первый предшественник РВ.

- L4: 0,23 г коммерчески доступного декагидрата гексацианоферрата натрия (II) с чистотой выше 99% растворяли в 3,77 г воды для ВЭЖХ при комнатной температуре после 10 секунд перемешивания на вихревой мешалке.

- L5: 3,60 г коммерчески доступного лецитина, содержащего более 97% фосфатидилхолина, растворяли в 3,24 г абсолютного этанола при перемешивании с помощью магнитной мешалки при 300 об./мин. и комнатной температуре. Растворяли 0,90 г бета-ситостерина в смеси в тех же условиях. Добавляли 26,10 г Peseol® и проводили перемешивание магнитной мешалкой при 700 об./мин. и 37°C с образованием гомогенной фазы на основе масла.

- L6: 2,16 г L4 добавляли к 33,84 г L5 при комнатной температуре и смесь перемешивали с помощью вихревой мешалки в течение 10 секунд для получения изотропной и гомогенной обращенной мицеллярной фазы, содержащей второй предшественник РВ.

- L: 35,00 г L3 и 35,00 г L6 вместе встряхивали в течение 10 секунд при комнатной температуре, чтобы получить спонтанное образование наночастиц РВ in situ.

### Получение образца М

- M1: 0,34 г коммерчески доступного гексагидрата хлорида железа (III), с чистотой выше 97%, растворяли в 3,66 г воды для ВЭЖХ при комнатной температуре после 10 секунд перемешивания на вихревой мешалке.

- M2: 1,20 г коммерчески доступного лецитина, содержащего более 97% фосфатидилхолина, растворяли в 1,08 г абсолютного этанола при перемешивании с помощью магнитной мешалки при 300 об./мин. и комнатной температуре. Растворяли 0,30

г бета-ситостерина в смеси в тех же условиях. Добавляли 8,70 г Ресеол® и проводили перемешивание магнитной мешалкой при 700 об./мин. и 37°C с образованием гомогенной фазы на основе масла.

- М3: 0,72 г М1 добавляли к 11,28 г М2 при комнатной температуре и смесь перемешивали на вихревой мешалке в течение 10 секунд для получения изотропной и гомогенной обращенной мицеллярной фазы, содержащей первый предшественник РВ.

- М4: 0,45 г коммерчески доступного декагидрата гексацианоферрата натрия (II) с чистотой выше 99% растворяли в 3,55 г воды для ВЭЖХ при комнатной температуре после 10 секунд перемешивания на вихревой мешалке.

- М5: 1,20 г коммерчески доступного лецитина, содержащего более 97% фосфатидилхолина, растворяли в 1,08 г абсолютного этанола при перемешивании с помощью магнитной мешалки при 300 об./мин. и комнатной температуре. 0,30 г бета-ситостерина растворяли в смеси в тех же условиях. Добавляли 8,70 г Ресеол® и проводили перемешивание магнитной мешалкой при 700 об./мин. и 37°C с образованием гомогенной фазы на основе масла.

- М6: 0,72 г М4 добавляли к 11,28 г М5 при комнатной температуре и смесь перемешивали на вихревой мешалке в течение 10 секунд для получения изотропной и гомогенной обращенной мицеллярной фазы, содержащей второй предшественник РВ.

- М: 10,00 г М3 и 10,00 г М6 вместе перемешивали на вихревой мешалке в течение 10 секунд при комнатной температуре, чтобы получить спонтанное образование наночастиц РВ *in situ*.

#### Материалы и методы

После 3-дневной акклиматизации 16 неродственных крыс Sprague-Dawley в возрасте от 7 до 8 недель в начале обработки (т.е. 250 +/- 30 г массы тела) помещали в отдельные клетки для метаболизма, чтобы обеспечить разделенный сбор мочи и кала с постоянной температурой 22°C и ежедневную диету, содержащую грануляты А04С от S.A.F.E. и водопроводную воду *ad libitum*.

Все крысы были контаминированы с использованием внутрибрюшинного введения 500 мкг цезия. Обработку начинали через час после контаминации Cs (за исключением необработанных крыс группы А); крысам вводили в течение 4 дней образец L один раз в день (группа В) и два раза в день (группа D) или образец M два раза в день (группа С). Для трансбуккальных и ректальных путей крыс подвергали анестезии под газообразным изофлураном для обеспечения более воспроизводимого введения.

Мочу и кал для каждой крысы отдельно и кумулятивно собирали в течение 4 дней, а дозы цезия анализировали методом ICP-MS после минерализации.

Следующая таблица 2 показывает соответствующий план исследования этого исследования *in vivo*:

Таблица 2

Группы	A	B	C	D
Количество крыс	4	4	4	4
Идентификация агента для выведения		Образец L	Образец M	Образец L
Путь		желудочный зонд	буккальный	ректальный
Концентрация наночастиц РВ		1 мг/г	2 мг/г	1 мг/г
Доза на каждое введение		8 мг/кг	2 мг/кг	1 мг/кг
Продолжительность		один раз в день в течение 4 последовательных дней	два раза в день в течение 4 последовательных дней	два раза в день в течение 4 последовательных дней
Кумулятивная доза, получаемая крысой 250 г		8 мг	4 мг	2 мг

Процент извлеченного цезия в экскрементах для каждой группы показан на фиг. 7.

Эта фигура показывает, что наночастицы РВ, созданные в обращенной мицеллярной системе, усиливают экскрецию цезия в кал. В Le Gall et al. описаны близкие результаты эффективности при более низкой контаминации Cs и более высоких дозах РВ (Legall, 2006). Это говорит о том, что циано-мостиковые металлические наночастицы РВ, полученные *in situ* в соответствии с изобретением, позволяют улучшить выведение цезия при более низкой дозе РВ.

Пример 11. *In vivo* исследование выведения цезия с помощью приготовленных *in situ* циано-мостиковых металлических наночастиц РВ в обращенной мицеллярной системе по сравнению с коммерчески доступной РВ

#### Получение Образца N

- N1: 6,00 г коммерчески доступного лецитина, содержащего более 97% фосфатидилхолина, растворяли в 5,40 г абсолютного этанола при перемешивании с помощью магнитной мешалки при 300 об./мин. и комнатной температуре. Растворяли 1,50 г бета-ситостерина в смеси в тех же условиях. Добавляли к нему 43,50 г Peseol<sup>®</sup> и перемешивали на магнитной мешалке при 700 об./мин. и 37°C для образования гомогенной фазы на масляной основе.

- N: 3,60 г воды для ВЭЖХ добавляли к 56,40 г N1 при комнатной температуре и смесь перемешивали на вихревой мешалке в течение 10 секунд для достижения изотропной и гомогенной обращенной мицеллярной фазы без каких-либо активных ингредиентов.

#### Получение Образцов O, P, Q, R

- O, P, Q, R получали суспензией доступного коммерческого РВ в дистиллированной воде. Все образцы перемешивали на магнитной мешалке в течение 30 минут, чтобы получить суспензии РВ от 0,5 до 1 - 2 - 10 мг/г, соответственно.

#### Получение Образца S

- S1: 0,06 г коммерчески доступного гексагидрата хлорида железа (III) с чистотой выше 97% растворяли в 2,94 г воды для ВЭЖХ при комнатной температуре через 10 секунд перемешивания на вихревой мешалке.

- S2: 3,20 г коммерчески доступного лецитина, содержащего более 97% фосфатидилхолина, растворяли в 2,88 г абсолютного этанола при перемешивании с помощью магнитной мешалки при 300 об./мин. и комнатной температуре. Растворяли 0,80 г бета-ситостерина в смеси в тех же условиях. Добавляли 23,20 г Ресеол® и проводили перемешивание магнитной мешалкой при 700 об./мин. и 37°C с образованием гомогенной фазы на основе масла.

- S3: 1,92 г S1 добавляли к 30,08 г S2 при комнатной температуре и смесь перемешивали с помощью вихревой мешалки в течение 10 секунд для достижения изотропной и гомогенной обращенной мицеллярной фазы, содержащей первый предшественник РВ

- S4: 0,09 г коммерчески доступного декагидрата гексацианоферрата натрия (II) с чистотой выше 99% растворяли в 2,91 г воды для ВЭЖХ при комнатной температуре после 10 секунд перемешивания на вихревой мешалке.

- S5: 3,20 г коммерчески доступного лецитина, содержащего более 97% фосфатидилхолина, растворяли в 2,88 г абсолютного этанола при перемешивании с помощью магнитной мешалки при 300 об./мин. и комнатной температуре. Растворяли 0,80 г бета-ситостерина в смеси в тех же условиях. Добавляли 23,20 г Ресеол® и проводили перемешивание магнитной мешалкой при 700 об./мин. и 37°C с образованием гомогенной фазы на основе масла.

- S6: 1,92 г S4 добавляли к 30,08 г S5 при комнатной температуре и смесь перемешивали на вихревой мешалке в течение 10 секунд для получения изотропной и гомогенной обращенной мицеллярной фазы, содержащей второй предшественник РВ.

- S: 30,00 г S3 и 30,00 г S6 вместе встряхивали в течение 10 секунд при комнатной температуре, чтобы получить спонтанное образование наночастиц РВ in situ.

#### Получение Образца T

- T1: 0,12 г коммерчески доступного гексагидрата хлорида железа (III), степень чистоты выше 97% растворяли в 2,88 г воды для ВЭЖХ при комнатной температуре после

10 секунд перемешивания на вихревой мешалке.

- T2: 3,20 г коммерчески доступного лецитина, содержащего более 97% фосфатидилхолина, растворяли в 2,88 г абсолютного этанола при перемешивании с помощью магнитной мешалки при 300 об./мин. и комнатной температуре. Растворяли 0,80 г бета-ситостерина в смеси в тех же условиях. Добавляли 23,20 г Ресеол<sup>®</sup> и проводили перемешивание магнитной мешалкой при 700 об./мин. и 37°C с образованием гомогенной фазы на основе масла.

- T3: 1,92 г T1 добавляли к 30,08 г T2 при комнатной температуре и смесь перемешивали в течение 10 секунд для получения изотропной и гомогенной обращенной мицеллярной фазы, содержащей первый предшественник РВ

- T4: 0,18 г коммерчески доступного декагидрата гексацианоферрата натрия (II) с чистотой выше 99% растворяли в 2,82 г воды для ВЭЖХ при комнатной температуре после 10 секунд перемешивания на вихревой мешалке.

- T5: 3,20 г коммерчески доступного лецитина, содержащего более 97% фосфатидилхолина, растворяли в 2,88 г абсолютного этанола при перемешивании с помощью магнитной мешалки при 300 об./мин. и комнатной температуре. Растворяли 0,80 г бета-ситостерина в смеси в тех же условиях. Добавляли 23,20 г Ресеол<sup>®</sup> и проводили перемешивание магнитной мешалкой при 700 об./мин. и 37°C с образованием гомогенной фазы на основе масла.

- T6: 1,92 г T4 добавляли к 30,08 г T5 при комнатной температуре и смесь перемешивали в течение 10 секунд для получения изотропной и гомогенной обращенной мицеллярной фазы, содержащей второй предшественник РВ.

- T: 30,00 г T3 и 30,00 г T6 вместе перемешивали в течение 10 секунд при комнатной температуре, чтобы получить спонтанное образование наночастиц РВ in situ.

#### Получение Образца U

- U1: 0,24 г коммерчески доступного гексагидрата хлорида железа (III), степень чистоты выше 97% растворяли в 2,76 г воды для ВЭЖХ при комнатной температуре после 10 секунд перемешивания на вихревой мешалке.

- U2: 3,20 г коммерчески доступного лецитина, содержащего более 97% фосфатидилхолина, растворяли в 2,88 г абсолютного этанола при перемешивании с помощью магнитной мешалки при 300 об./мин. и комнатной температуре. Растворяли 0,80 г бета-ситостерина в смеси в тех же условиях. Добавляли 23,20 г Ресеол<sup>®</sup> и проводили перемешивание магнитной мешалкой при 700 об./мин. и 37°C с образованием гомогенной фазы на основе масла.

- U3: 1,92 г U1 добавляли к 30,08 г U2 при комнатной температуре и смесь

перемешивали с помощью вихревой мешалки в течение 10 секунд для достижения изотропной и гомогенной обращенной мицеллярной фазы, содержащей первый предшественник РВ

- U4: 0,36 г коммерчески доступного декагидрата гексацианоферрата натрия (II) с чистотой выше 99% растворяли в 2,64 г воды для ВЭЖХ при комнатной температуре после 10 секунд перемешивания на вихревой мешалке.

- U5: 3,20 г коммерчески доступного лецитина, содержащего более 97% фосфатидилхолина, растворяли в 2,88 г абсолютного этанола при перемешивании с помощью магнитной мешалки при 300 об./мин. и комнатной температуре. Растворяли 0,80 г бета-ситостерина в смеси в тех же условиях. Добавляли 23,20 г Ресеол® и проводили перемешивание магнитной мешалкой при 700 об./мин. и 37°C с образованием гомогенной фазы на основе масла.

- U6: 1,92 г U4 добавляли к 30,08 г U5 при комнатной температуре и смесь перемешивали с помощью вихревой мешалки в течение 10 секунд для достижения изотропной и гомогенной обращенной мицеллярной фазы, содержащей второй предшественник РВ.

- U: 30,00 г U3 и 30,00 г U6 вместе встряхивали в течение 10 секунд при комнатной температуре, чтобы получить спонтанное образование наночастиц РВ *in situ*.

#### Материалы и методы

После 3-дневной акклиматизации 45 неродственных крыс Sprague-Dawley в возрасте от 7 до 8 недель на начало обработки (то есть 250 +/- г массы тела) помещали в отдельные клетки для метаболизма, чтобы обеспечить отдельный сбор кала, при постоянной температуре 22 °DC и ежедневном рационе, содержащем грануляты АО4С от S.A.F.E. и водопроводную воду *ad libitum*.

Все крысы были контаминированы с помощью внутрибрюшинного введения 50 мкг цезия. Обработку начинали через три часа после контаминации Cs; крысам затем вводили перорально через желудочный зонд два раза в день в течение четырех последовательных дней дистиллированную воду (группа А), образец N (группа В), образец О (группа С), образец Р (группа D), образец Q (группа Е), образец R (группа F), образец S (группа G), образец T (группа H), образец U (группа I).

Кал каждой крысы отдельно и кумулятивно собирали в течение 48 ч (от 0 до 48 ч и от 48 до 96 ч). Сердца собирали после умерщвления в конце обработки.

Дозы цезия в кале и сердцах анализировали методом ICP-MS после минерализации.

Следующая таблица 3 обобщает исследовательский план этого исследования *in vivo*.



Таблица 3

Группы	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Количество Крыс	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Идентификация агента для выведения	Дистиллированная вода	Образец N	Образец O	Пример P	Пример Q	Образец R	Пример S	Образец T	Образец U
Путь	желудочный зонд								
Концентрация наночастиц РВ			0,5 мг/г	1 мг/г	2 мг/г	10 мг/г	0,5 мг/г	1 мг/г	2 мг/г
Доза на введение			2 мг/кг	4 мг/кг	8 мг/кг	40 мг/кг	2 мг/кг	4 мг/кг	8 мг/кг
Продолжительность	Два раза в день в течение 4 последовательных дней								
Кумулятивная доза, полученная при обработке крысой массой 250 г			4 мг	8 мг	16 мг	80 мг	4 мг	8 мг	16 мг

Процент эффективности выведения в сердцах для каждой группы показан на фиг. 8.

Продemonстрировано, что длительная обработка с помощью наночастиц РВ уменьшала удержание цезия в сердце по сравнению с контролем (эффективность 0%). Кроме того, в той же дозировке циано-мостиковые металлические наночастицы РВ *in situ*, полученные в соответствии с изобретением, обладают большей эффективностью (от 35 до 53%), чем доступная коммерческая РВ в суспензии в дистиллированной воде (от 9 до 12%).

Процент извлеченного цезия в кале для каждой группы показан на фиг. 9.

Подтверждено, что при той же дозировке выведение цезия более эффективно в случае циано-мостиковых металлических наночастиц РВ, полученных *in situ* в соответствии с изобретением, по сравнению с имеющейся коммерческой РВ в суспензии в дистиллированной воде.

Кроме того, скорость выведения цезия выше в течение 48 часов в случае циано-мостиковых металлических наночастиц РВ, полученных *in situ* в соответствии с изобретением, по сравнению с коммерчески доступной РВ в суспензии в дистиллированной воде.

Список процитированной литературы

S. S. Atik and J. K. Thomas (1981) Transport of photoreduced ions in water in oil microemulsions: movement of ions from one water pool to another. J. Am. Chem. Soc. 103, 3543-3550.

P. Barnickel and A. Wokaun (1990) Synthesis of Metal Colloids in Inverse

Microemulsions. *Molecular Physics*, Vol. 69, No. 1, pp. 1-9.

H. J. Buser and A. Ludi and W. Petter and D. Schwarzenbach (1972) Single crystal study of Prussian Blue :  $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2 \cdot 14\text{H}_2\text{O}$ . *J. C. S. Chem. Comm.*

E. Chelebaeva, Y. Guari, J. Larionova, A. Trifonov and C. Guerin (2008) Soluble Ligand-Stabilized Cyano-Bridged Coordination Polymer Nanoparticles. *Chem. Mater.*, 20, 1367-1375.

C. A. Chugh and D. Bharti (2012) *Open Journal of Synthesis Theory and Applications*, 1, 23-30.

G. Clavel, J. Larionova, Y. Guari and C. Guerin (2006) Synthesis of Cyano-Bridged Magnetic Nanoparticles Using Room- Temperature Ionic Liquids. *Chem. Eur. J.*, 12, 3798 – 3804.

I. Danielsson and B. Lindman (1981) The definition of microemulsion. *Colloids and Surface*, 3, 391-392.

T. A. Denisova, L. G. Maksimova, O. N. Leonidova, and N. A. Zhuravlev (2009) Physical and Chemical Properties of Zinc Cyanoferrates(II). *Russian Journal of Inorganic Chemistry*, 2009, Vol. 54, No. 1, pp. 6–12. © Pleiades Publishing, Ltd.

J. Eastoe, M. J. Hollamby and L. Hudson (2006) Recent advances in nanoparticle synthesis with reversed micelles. *Advances in Colloid and Interface Science*, 128–130, 5–15.

D. Ellis, M. Eckhoff and V. D. Neff (1981) Electrochromism in the Mixed-Valence Hexacyanides. 1. Voltammetric and Spectral Studies of the Oxidation and Reduction of Thin Films of Prussian Blue. *J. Phys. Chem.*, 85, 1225-1231.

R. Farina, CE Brandao-Mello and AR Oliveira (1991) Medical aspects of  $^{137}\text{Cs}$  decorporation: the Goiania radiological accident. *Health Phys.*;60:63-6.

P. D. I. Fletcher, A. M. Howe and B. H. Robinson (1987) The Kinetics of Solubilisate Exchange between Water Droplets of a Water-in-oil Microemulsion. *J. Chem. SOC., Faraday Trans. I*, 83, 985-1006.

S. N. Ghosh (1974) Infrared spectra of the prussian blue analogs. *J. inorg. nucl. Chem.*, Vol. 36, pp. 2465-2466. Pergamon Press.

Y. Guo and A. R. Guadalupe (1999) Chemically Derived Prussian Blue Sol-Gel Composite Thin Films. *Chem. Mater.*, 11, 135-140.

M. H. Hengé-Napoli, G. N. Stradling, D. M. Taylor (2000). Decorporation of Radionuclides from the Human Body. *Radiat Prot Dosim (Special Issue)*, 87(1). Commission of the European Communities Report EUR 19330.

J. D. Holmes, P. A. Bhargava, B. A. Korgel and K. P. Johnston (1999) Synthesis of Cadmium Sulfide Q Particles in Water-in- $\text{CO}_2$  Microemulsions. *Langmuir*, 15, 6613-6615.

S. S. Kaye and J. R. Long (2006) The role of vacancies in the hydrogen storage properties of Prussian blue analogues. *Catalysis Today* 120, 311–316.

J. F. Keggin and F. D. Miles (1936) Structures and Formulæ of the Prussian Blues and Related Compounds. *Nature* 137, 577-578.

K. J. Klabunde, editor. *Nanoscale Materials in Chemistry*, 1st edn. New York:Wiley Interscience, 2001.

J. Larionova, Y. Guari, C. Sangregorio and C. Guerin (2009) Cyano-bridged coordination polymer nanoparticles. *New J. Chem.*, 33, 1177–1190-1177.

B. Le Gall, F. Tran, D. Renault, J.-C. Wilk and E. Ansoborlo (2006) Comparison of Prussian blue and apple-pectin efficacy on  $^{137}\text{Cs}$  decorporation in rats, *Biochimie* 88, 1837-1841.

Z. Li, J. Zhang, T. Mu, J. Du, Z. Liu, B. Han and J. Chen (2004) Preparation of polyvinylpyrrolidone-protected Prussian blue nanocomposites in microemulsion, *Colloids and Surfaces A: Physiochem. Eng. Aspects* 243, 63-66.

M. Li, C. Deng, C. Chen, L. Peng, G. Ning, Q. Xie and S. Yao (2006) An Amperometric Hydrogen Peroxide Biosensor Based on a Hemoglobin-Immobilized Dopamine-Oxidation Polymer/Prussian Blue/Au Electrode. *Electroanalysis* 18, No. 22, 2210 – 2217.

M. A. Lopez-Quintela, J. Rivas, M. C. Blanco and C. Tojo (2003) Synthesis of nanoparticles in microemulsions. *Nanoscale Materials*, pp 135-155.

M. A. Lopez-Quintela (2003b) Synthesis of nanomaterials in microemulsions: formation mechanisms and growth control. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 8, 137–144.

A. Ludi, H.-U. Gudel and M. Ruegg (1970) The Structural Chemistry of Prussian Blue Analogs. A Single-Crystal Study of Manganese(II) Hexacyanocobaltate(III),  $\text{Mn}_3[\text{Co}(\text{CN})_6]_x\text{H}_2\text{O}$ . *Inorganic Chemistry*, Vol. 9, No. 10, 2225.

F. Ma, J. Lu, Z. Wang, J. Sun, Q. Gong, B. Song, H. Ai and Z. Gu (2010) Encapsulation of  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$  Nanoparticles with Amphiphilic PEG-Lipid Micelles as Novel MRI Probes. *International Journal of Magnetic Resonance Imaging* Vol. 02, No. 01, pp. 050-055.

C. A. Massaad and R. G. Pautler (2011) Manganese-Enhanced Magnetic Resonance Imaging (MEMRI). *Methods Mol Biol.*; 711: 145–174.

J. W. McCargar and V. D. Neff (1988) Thermodynamics of Mixed-Valence Intercalation Reactions: The Electrochemical Reduction of Prussian Blue. *J. Phys. Chem.*, 92, 3598-3604.

A. M. Mohs and Z.-R. Lu (2007) Gadolinium(III)-based blood-pool contrast agents for magnetic resonance imaging: status and clinical potential. *Expert Opin. Drug Deliv.*, 4(2):149-164.

J. Nesamony and W. M. Kolling (2005) IPM/DOSS/Water Microemulsions as Reactors for Silver Sulfadiazine Nanocrystal Synthesis. *Journal of pharmaceutical sciences*, Vol. 94, No.

6.

H. Noritomi, S. Miyagawa, N. Igari, H. Saito and S. Kato (2013) Application of Reverse Micelles of Alkyl Glucosides to Synthesis of Silver Nanoparticles. *Advances in Nanoparticles*, 2, 344-349.

Y. Okumura (1998) Organic Solvents and Surfactants for Toxicity Test Using Aquatic Organisms and Their Acceptable Concentrations. *Bulletin of the National Research Institute of Fisheries Science*, Vol. 11, No. 11, pp. 113- 134.

D. Pan, A. H. Schmieder, S. A. Wickline and G. M. Lanza (2011) Manganese-based MRI contrast agents: past, present and future. *Tetrahedron.*, 67(44): 8431–8444.

D. Papanikoalou, W. Kosaka, S. Margadonna, H. Kagi, S. Ohkoshi and K. Prassides (2007) Piezomagnetic Behavior of the Spin Crossover Prussian Blue Analogue CsFe[Cr(CN)<sub>6</sub>]. *J. Phys. Chem. C*, 111 (22), pp 8086–8091.

M. Perrier, S. Kenouche, J. Long, K. Thangavel, J. Larionova, C. Goze-Bac, A. Lascialfari, M. Mariani, N. Baril, C. Guerin, B. Donnadieu, A. Trifonov and Y. Guari (2013) Investigation on NMR Relaxivity of Nano-Sized Cyano-Bridged Coordination Polymers, *Inorg. Chem.*, 52, 13402-13414.

M. P. Pileni (1993) Reverse micelles as microreactors. *J. Phys. Chem.*, 97 (27), pp 6961–6973.

M. P. Pileni (1997) Nanosized particles made in colloidal assemblies. *Langmuir*, 13, 3266-3276.

M. P. Pileni (2007) Self-assembly of inorganic nanocrystals: Fabrication and collective intrinsic properties. *Acc. Chem. Res.*, 40, 685–693.

L. Qi (2006) Synthesis of inorganic nanostructure in reverse micelles. *Encyclopedia of Surface and Colloid Science*, Taylor & Francis.

R. E. Riter, E. P. Undiks and N. E. Levinger (1998) Impact of Counterion on Water Motion in Aerosol OT Reverse Micelles. *J. Am. Chem. Soc.*, 120, 6062-6067.

H. Saito and K. Shinoda (1967) The solubilization of hydrocarbons in aqueous phases of nonionic surfactants. *J. Colloid Interface Sci.* Vol.24, No.1, pp.10.

O. Sato, S. Hayami, Y. Einaga and Z. Gu (2003) Control of the Magnetic and Optical Properties in Molecular Compounds by Electrochemical, Photochemical and Chemical Methods. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 76, 443–470.

O. Sato (2007) Electrochromism and electrochemical magnetism in Ni–Fe Prussian blue. *Journal of Solid State Electrochemistry*, Vol. 11, Issue 6, pp 773-779.

W. Stevens, C. Van Peteghem, A. Heyndrickx and F. Barbier (1974) Eleven cases of thallium intoxication treated with Prussian blue, *Int. J. Clin. Pharmacol.*;10:1-22.

N. L. Torad, M. Hu, M. Imura, M. Naito and Y. Yamauchi (2012) Large Cs adsorption capability of nanostructured Prussian Blue particles with high accessible surface areas. *J. Mater. Chem.*, 22, 18261.

T. Uemura, M. Ohba and S. Kitagawa (2004) Size and Surface Effects of Prussian Blue Nanoparticles Protected by Organic Polymers. *Inorg. Chem.*, 43 (23), pp 7339–7345.

S. Vaucher, M. Li and S. Mann (2000) Synthesis of Prussian blue nanoparticles and nanocrystal superlattices in reverse microemulsions, *Angew. Chem.* 112, 1863–1866.

M. Verdaguer and G. Girolami (2004) *Magnetism: Molecules to Materials V*. Edited by J. S. Miller and M. Drillon, Wiley VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.

T. Vincent, C. Vincent, Y. Barre, Y. Guari, G. Le Saout and E. Guibal (2014) Immobilization of metal hexacyanoferrates in chitin beads for cesium sorption: synthesis and characterization. *J. Mater. Chem. A*, 2 10007.

G. Wang, J. Zhou and J. Li (2007) Layer-by-layer self-assembly aluminum Keggin ions/Prussian blue nanoparticles ultrathin films towards multifunctional sensing applications. *Biosensors and Bioelectronics*, 22, 2921–2925.

M. Yamada, M. Arai, M. Kurihara, M. Sakamoto and M. Miyake (2004) Synthesis and Isolation of Cobalt Hexacyanoferrate/Chromate Metal Coordination Nanopolymers Stabilized by Alkylamino Ligand with Metal Elemental Control. *J. Am. Chem. Soc.*, 126, 9482–9483.

Z. Zhou and Z. Lu (2013) Gadolinium-Based Contrast Agents for MR Cancer Imaging. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol.*; 5(1): 1–18.

W. Zhu, K. Liu, X. Sun, X. Wang, Y. Li, L. Cheng and Z. Liu (2015) Mn<sup>2+</sup> doped Prussian blue nanocubes for bimodal imaging and photothermal therapy with enhanced performance. *ACS Appl. Mater. Interfaces*.

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ получения биосовместимой обращенной мицеллярной системы, включающий циано-мостиковые металлические наночастицы, причем указанный способ включает следующую стадию, состоящую из:

(i) смешивания по меньшей мере одной биосовместимой обращенной мицеллярной системы, содержащей по меньшей мере один ацилглицерин, стерин, лецитин, этанол и водный раствор, содержащий по меньшей мере одну соль металла, в качестве предшественника, и воду,

с (ii) биосовместимой обращенной мицеллярной системой, содержащей по меньшей мере один ацилглицерин, стерин, лецитин, этанол и водный раствор, содержащий соль цианометаллата, в качестве предшественника, и воду.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что соль металла представляет собой катион с анионами хлорида или нитрата и молекулами воды, предпочтительно металлический катион ( $M^{P+}$ ) выбирают из катионов переходных металлов и лантанидов.

3. Способ по п. 2, отличающийся тем, что катион переходного металла выбирают из группы, состоящей из железа, цинка, марганца и их смеси.

4. Способ по п. 2, в котором катион переходного металла выбирают из группы, состоящей из гадолиния (Gd), тербия (Tb), иттербия (Yb) и их смеси.

5. Способ по любому из пп. 1-4, отличающийся тем, что металлическая соль представляет собой хлорид или нитрат металла, выбранный из группы, состоящей из  $FeCl_2$ ,  $4H_2O$ ;  $FeCl_3$ ,  $6H_2O$ ;  $ZnCl_2$ ,  $4H_2O$ ;  $MnCl_2$ ,  $4H_2O$ ;  $Gd(NO_3)_3$ ,  $6H_2O$ ; и их смеси.

6. Способ по любому из пп. 1-5, отличающийся тем, что соль цианометаллата имеет формулу:  $(Alk^+_x[M'(CN)_n]^{q-})$ , где  $M'$  представляет собой металлический катион с CN-лигандами, а  $Alk^+$  является щелочным катионом, металлический катион ( $M'$ ) представляет собой катион переходного металла, который задает число CN-лигандов и связанных с ними щелочных катионов,  $q$  представляет собой целое число, равное  $x$ , более конкретно  $q$  равно 2, 3 или 4; и  $n$  представляет собой целое число, более конкретно  $n$  равно 4, 6 или 8; и  $x$  представляет собой целое число, более конкретно  $x$  равно 2, 3 или 4.

7. Способ по п. 6, отличающийся тем, что металлический катион ( $M'$ ) представляет собой железо, кобальт, никель или молибден или вольфрам; предпочтительно  $M'$  представляет собой катион железа.

8. Способ по п. 6 или 7, отличающийся тем, что соль цианометаллата выбирают из группы, состоящей из:  $Na_4Fe(CN)_6$ ,  $Na_3Fe(CN)_6$ ,  $Na_2Ni(CN)_4$ ,  $Na_4Mo(CN)_8$  или  $Na_4W(CN)_8$ , натрий может быть заменен калием в вышеприведенных формулах.

9. Способ по любому из пп. 1-8, отличающийся тем, что перед стадией смешивания

биосовместимые обращенные мицеллярные системы (i) и (ii) получают способом, включающим следующие стадии:

Стадия 1: раздельное приготовление водных растворов, каждый из которых содержит по меньшей мере один предшественник металла, путем растворения каждого предшественника металла в воде, предпочтительно деионизированной воде,

Стадия 2: каждый из водных растворов, полученных на стадии 1, солюбилизируют в гомогенной фазе на масляной основе, содержащей по меньшей мере один ацилглицерин, стерин, лецитин и этанол и, необязательно, воду, с образованием гомогенной обращенной мицеллярной системы, где гомогенные фазы на масляной основе предпочтительно являются одинаковыми.

10. Биосовместимая обращенная мицеллярная система, содержащая по меньшей мере один ацилглицерин, стерин, лецитин, этанол, циано-мостиковые металлические наночастицы и воду, причем указанная система не содержит стабилизирующего агента.

11. Биосовместимая обращенная мицеллярная система, содержащая по меньшей мере один ацилглицерин, стерин, лецитин, этанол, циано-мостиковые металлические наночастицы и воду, причем указанная система не содержит стабилизирующего агента и отличается тем, что эта биосовместимая обращенная мицеллярная система или содержащиеся в ней циано-мостиковые металлические наночастицы предназначены для применения в качестве контрастного агента и/или в качестве диагностического агента.

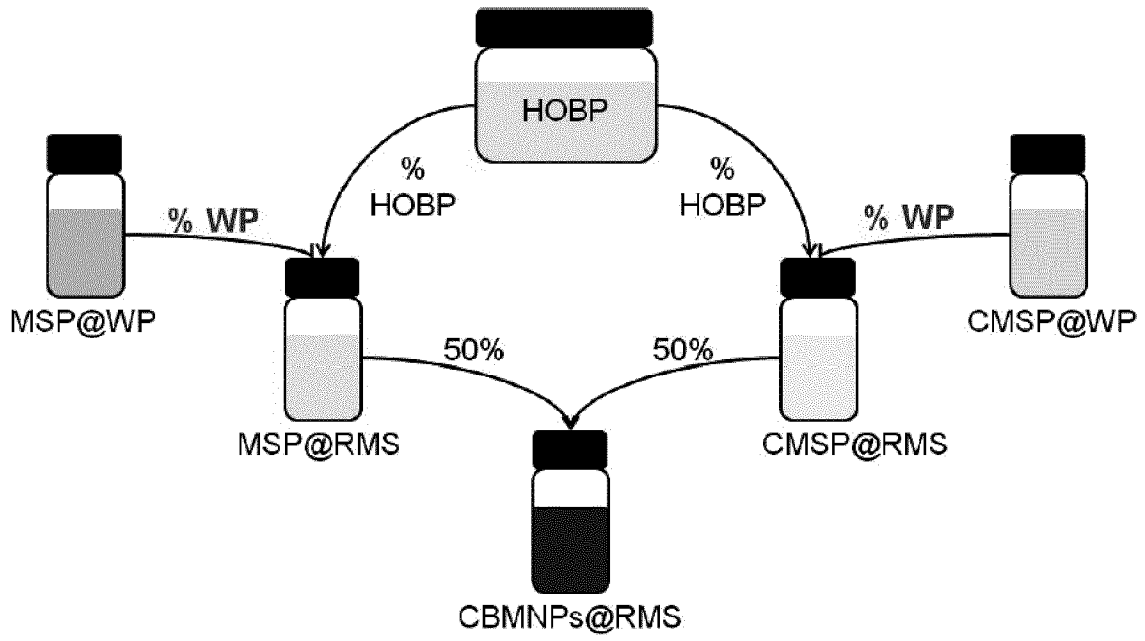
12. Биосовместимая обращенная мицеллярная система, содержащая по меньшей мере один ацилглицерин, стерин, лецитин, этанол, циано-мостиковые металлические наночастицы и воду, причем указанная система не содержит стабилизирующего агента и отличается тем, что эта биосовместимая обращенная мицеллярная система или содержащиеся в ней циано-мостиковые металлические наночастицы применяются для замещения и/или связывания катионов радионуклидов и/или металлов.

13. Биосовместимая обращенная мицеллярная система по любому из пп. 10-12, отличающаяся тем, что эта биосовместимая обращенная мицеллярная система получена способом по любому из пп. 1-9.

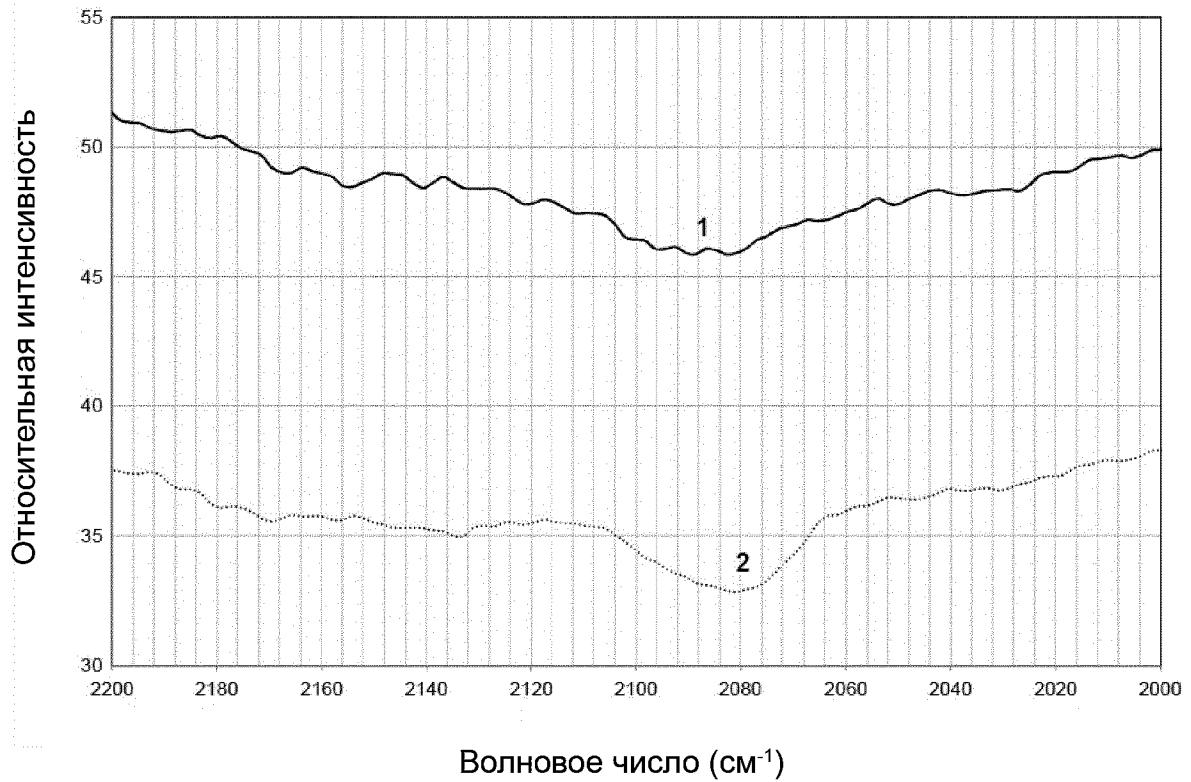
14. Композиция, содержащая биосовместимую обращенную мицеллярную систему по п. 10 или 13.

15. Фармацевтическая композиция, содержащая биосовместимую обращенную мицеллярную систему по п. 10 или 13 в фармацевтически приемлемом носителе или подложке.

1/5

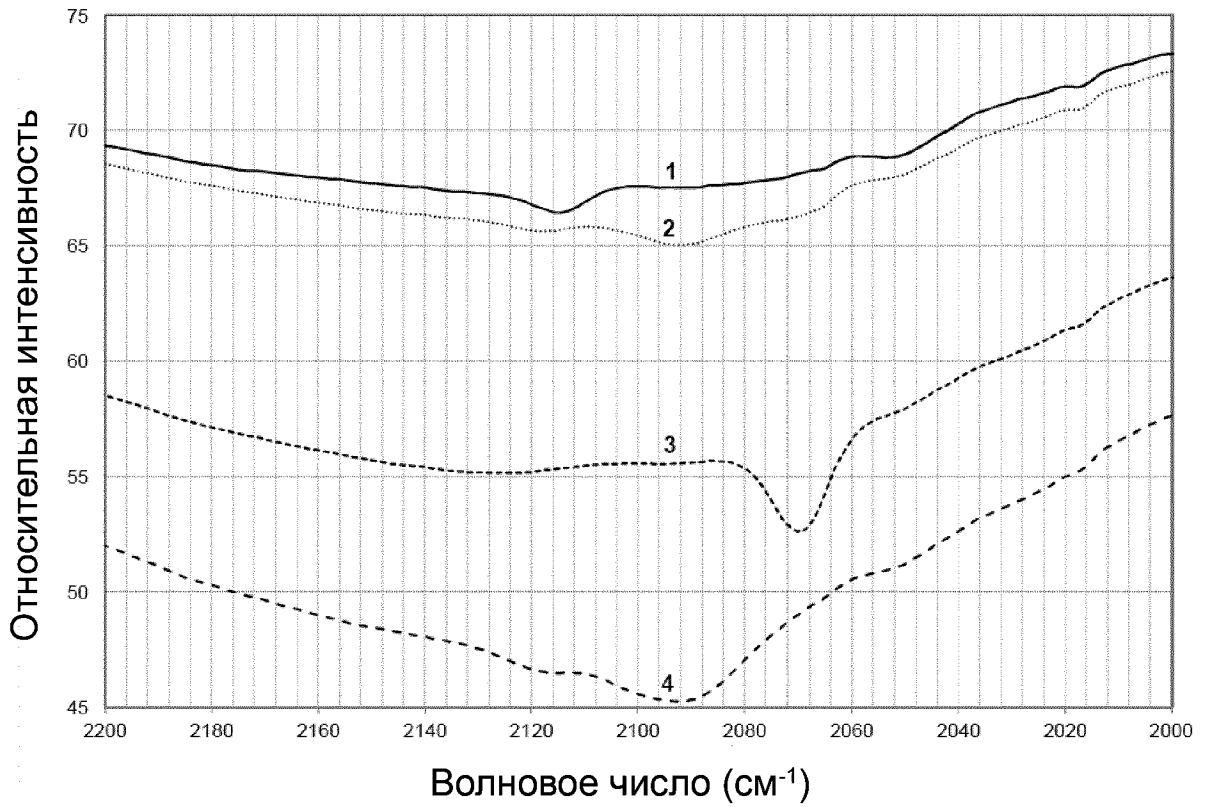


Фиг. 1

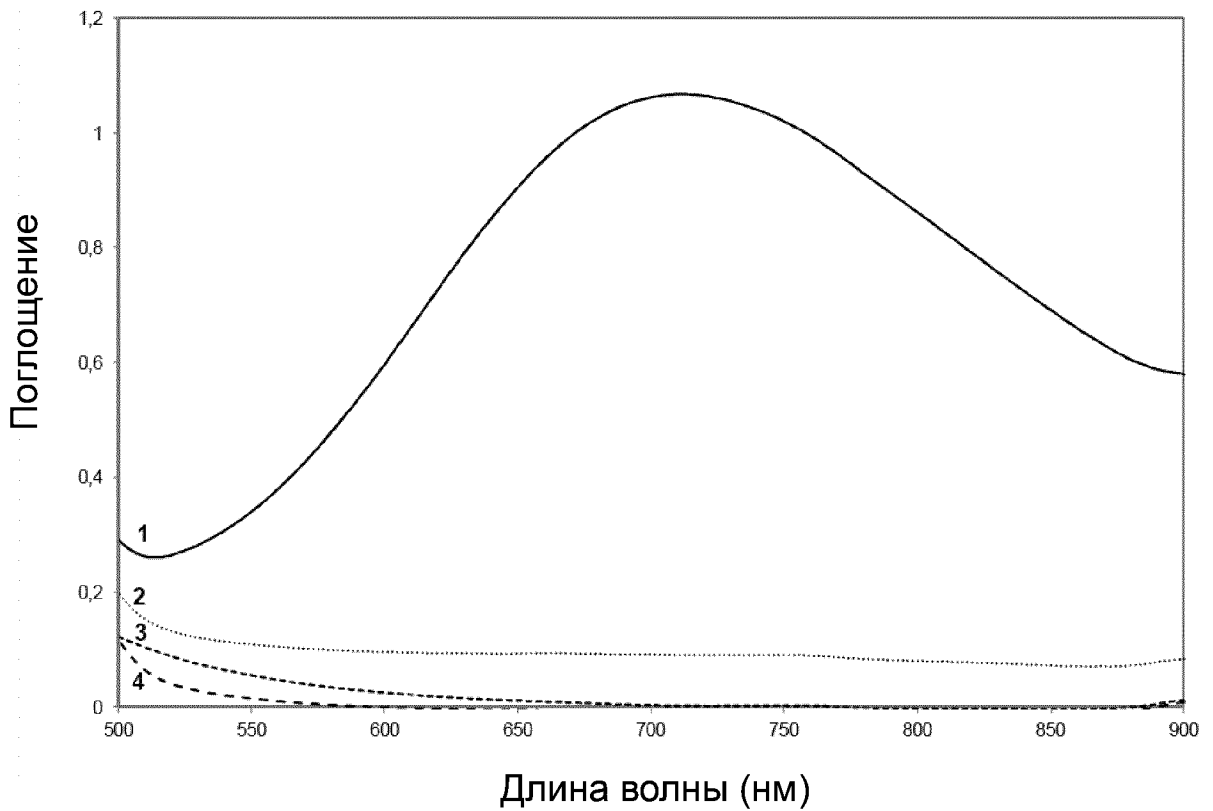


Фиг. 2

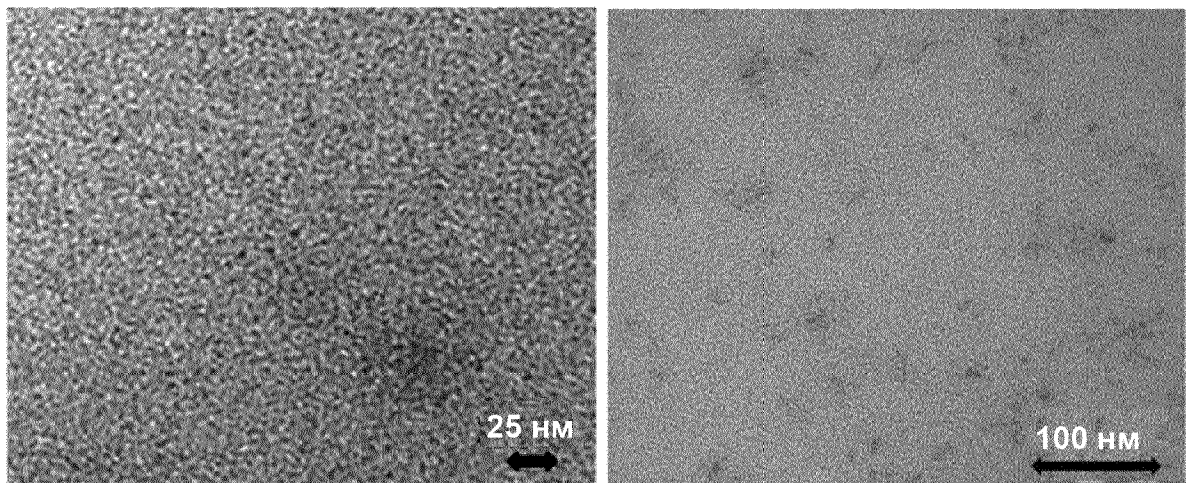




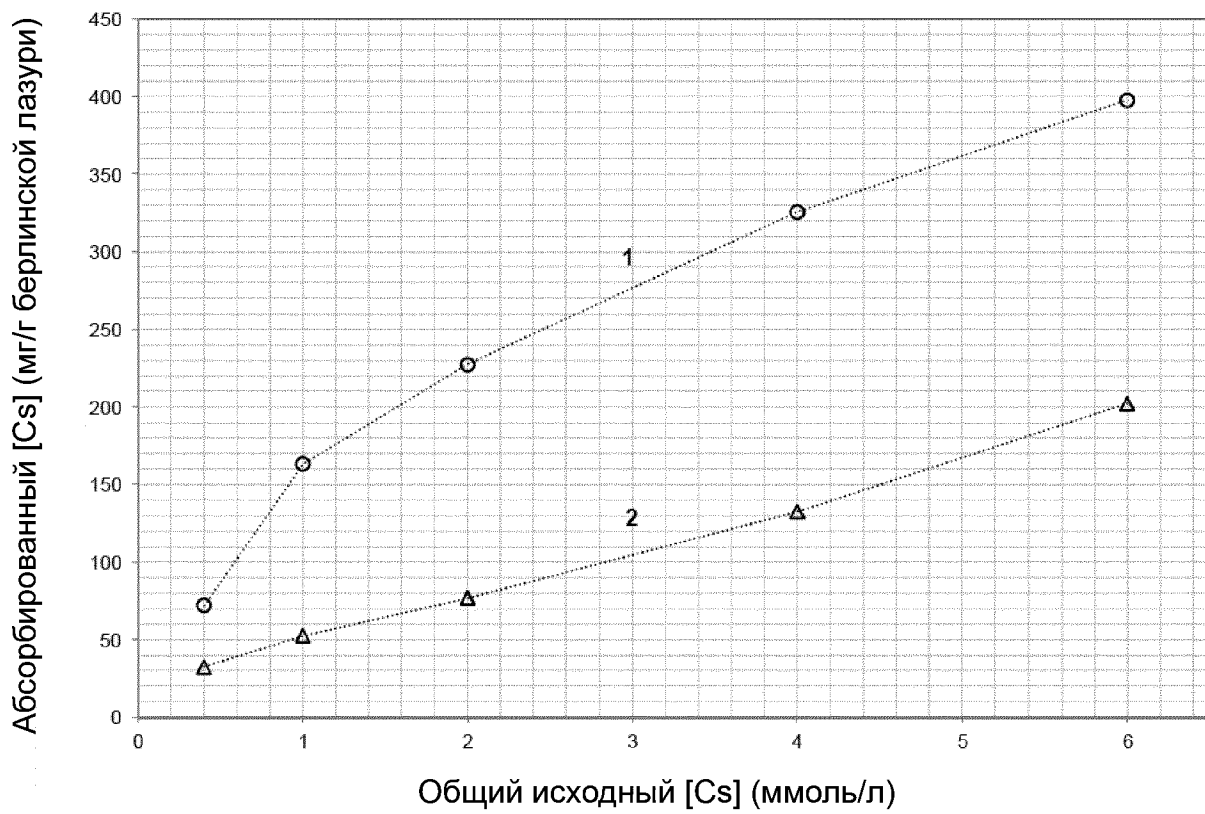
Фиг. 3



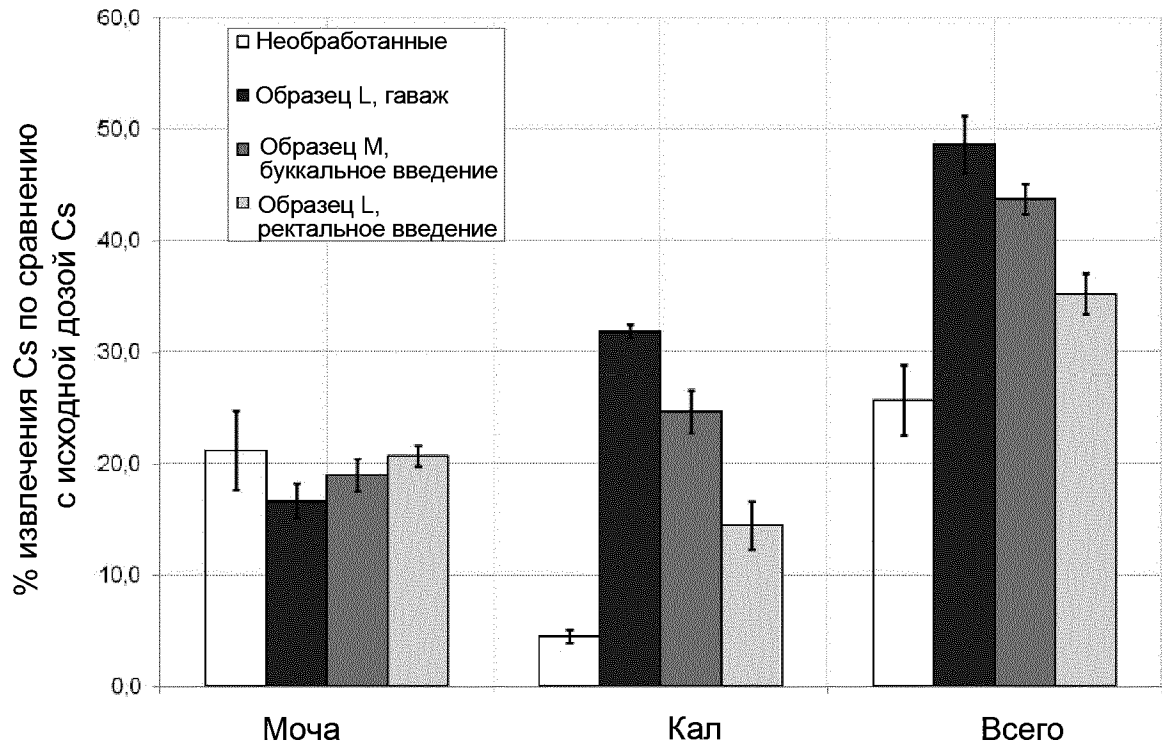
Фиг. 4



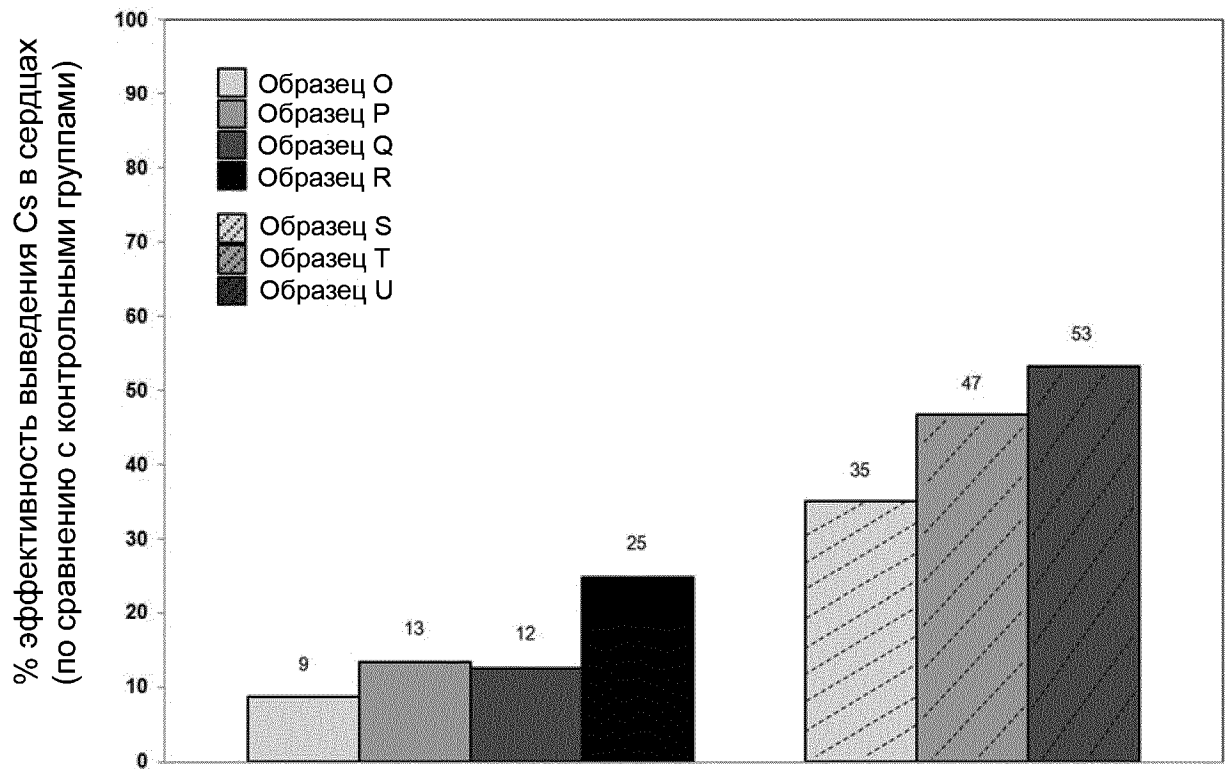
Фиг. 5



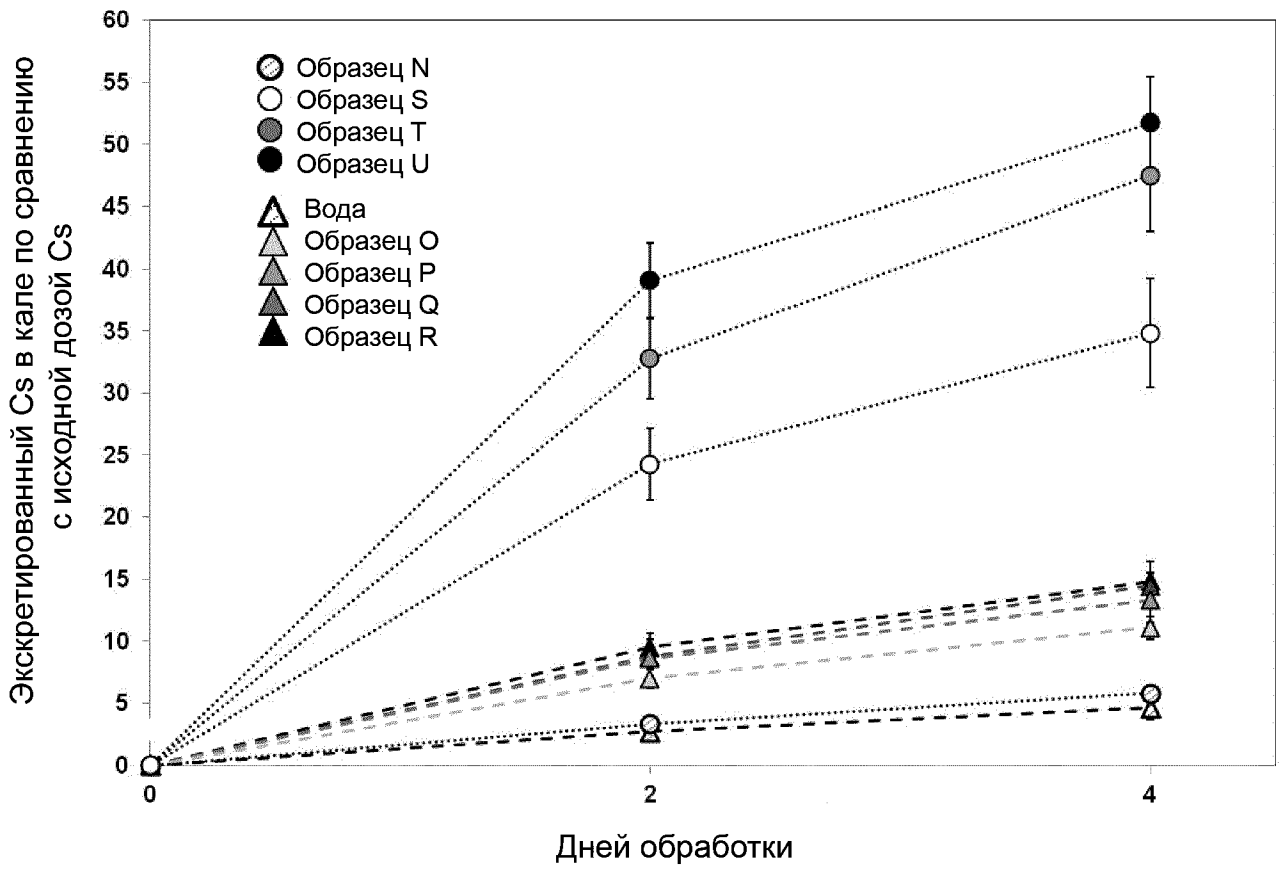
Фиг. 6



Фиг. 7



Фиг. 8



Фиг. 9