

Московский государственный университет
имени М.В.Ломоносова

Химический факультет
Кафедра радиохимии

На правах рукописи

ЕГОРОВА БАЙИРТА ВЛАДИМИРОВНА

**КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ Ac^{3+} , Eu^{3+} , Lu^{3+} , Y^{3+} , Bi^{3+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} ПИРИДИН- И
ФЕНИЛ-СОДЕРЖАЩИМИ АЗАКРАУН-ЭФИРАМИ**

Специальность 02.00.14 – радиохимия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Научный руководитель:

Д.х.н. Калмыков С.Н.

Москва

2016

Содержание

Введение.....	3
1 Обзор литературы.....	7
1.1 Методы диагностики и терапии с использованием радионуклидов.....	7
1.2 Применяемые и перспективные радионуклиды для терапии и диагностики.....	9
1.3 Хелаторы для РФП.....	23
1.3.1 Н ₄ ДОТА и другие макроциклические хелаторы.....	25
1.3.2 Ациклические лиганды.....	39
2 Экспериментальная часть.....	47
2.1 Приготовление рабочих растворов.....	47
2.2 Потенциометрическое титрование.....	48
2.3 Определение констант устойчивости комплексов.....	48
2.4 Спектроскопия в УФ-видимом диапазоне спектра.....	50
2.5 Исследование структуры.....	51
2.6 Определение радиационной устойчивости.....	52
2.7 Определение цитотоксичности.....	52
3 Результаты и обсуждение.....	54
3.1 Протонирование лигандов.....	54
3.2 Комплексообразование лигандов с Cu ²⁺ , Pb ²⁺ , Bi ³⁺ , Y ³⁺ , La ³⁺ , Eu ³⁺ , Lu ³⁺ , Ac ³⁺	57
3.2.1 Комплексообразование с двухвалентными катионами.....	58
3.2.2 Комплексообразование с трёхвалентными катионами.....	63
3.3 Исследование структуры комплексных соединений.....	82
3.4 Кинетика комплексообразования азакраун лигандов, ДОТА и ДТРА.....	90
3.5 Радиационная стойкость лигандов.....	92
3.6 Цитотоксичность лигандов.....	96
Заключение.....	98
Список литературы.....	99

Введение

Актуальность темы исследования. Фотонное излучение, сопровождающее различные виды радиоактивного распада, дает возможность визуализации расположения поражённых тканей (даже при отсутствии структурных изменений, то есть на начальной стадии) и нарушения физиологических обменных процессов. Соответствующие методы однофотонной компьютерной эмиссионной томографии (ОФЭКТ) и позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) стали рутинными в медицинской диагностической практике. Для терапии раковых заболеваний используются корпускулярные излучения: альфа-, бета- частицы, электроны конверсии и Оже. Отличительной особенностью такого излучения по сравнению с рентгеновским и гамма-излучением является более высокая линейная передача энергии, которая обеспечивает множественные нерепарируемые разрывы ДНК, что приводит к гибели клеток.

В настоящее время активно исследуется применение многих радионуклидов металлов ($^{64,67}\text{Cu}$, $^{88,90}\text{Y}$, ^{89}Zr , ^{212}Pb , ^{177}Lu , $^{212,213}\text{Bi}$, ^{225}Ac и др.) с точки зрения расширения возможностей диагностики терапии процессов с различной фармакинетикой. Кроме того, открываются возможности тераностики социально-значимых заболеваний: либо используя радионуклиды с различными типами излучений (например, в случае ^{177}Lu β^- излучение используется для терапии, а γ -излучение для ОФЭКТ), либо изотопы одного элемента (^{64}Cu для ПЭТ, а ^{67}Cu для терапии). В связи с чем эти радионуклиды будут играть играют всё большую роль, как в диагностике, так и терапии.

Возможности как молекулярной визуализации, так и терапии онкологических заболеваний, основаны на адресной доставке радионуклида к поражённой ткани, что может быть достигнуто конъюгированием радионуклида к биологическим векторам - антителам, пептидам, модульным нанотранспортерам и пр., имеющим сродство к таким клеткам. Однако связывание радионуклидов металлов с векторами напрямую не обеспечивает стабильного в биологических средах соединения, в связи с чем в структуре радиофармпрепаратов (РФП) необходимо наличие бифункционального хелатора (БФХ). Он, с одной стороны, должен обладать возможностью ковалентного связывания с биологической молекулой, а с другой, образовывать устойчивое комплексное соединение с катионом. Поиск таких молекул обусловлен координационными свойствами катионов, степенью окисления и Пирсоновской жёсткостью, а также наличием донорных атомов кислорода, азота и др. в структуре лиганда. В настоящее время нашли применение

лиганды на основе H_4DOTA и H_5DTPA (рисунок 1). Однако, несмотря на высокую термодинамическую устойчивость, комплексообразование с макроциклическими лигандами требует либо повышенных температур, что чаще всего не приемлемо для биологических векторов, либо продолжительного времени реакции, что

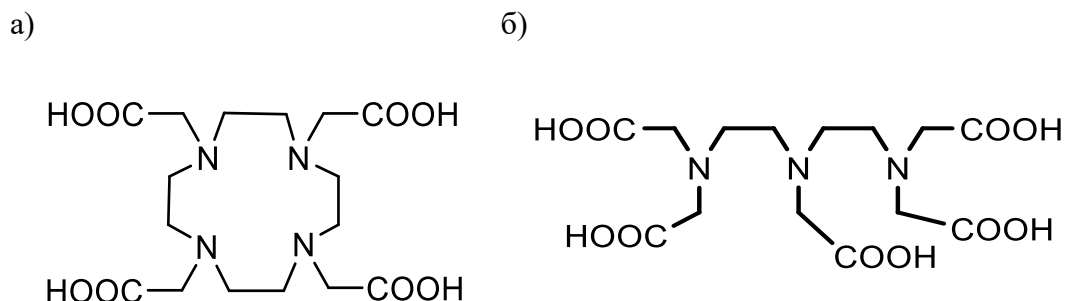


Рисунок 1.1. Формулы H_4DOTA (а) и H_5DTPA (б).

приводит к значительным потерям за счёт радиоактивного распада (например, $T_{1/2}(^{212}Bi)=60,6$ мин, $T_{1/2}(^{213}Bi)=45$ мин), а скорость диссоциации комплексов с ациклическими лигандами *in vivo* приводит к накоплению диссоциированных катионов в здоровых тканях (печени, почках, костях).

Целью данной работы является поиск эффективных лигандов для радионуклидов медицинского назначения ($^{64,67}Cu$, ^{212}Pb , ^{225}Ac , ^{213}Bi , ^{90}Y , ^{177}Lu) на основе арил-содержащих аза-краун эфиров и установление закономерностей образования соответствующих комплексных соединений и их структуры. Так как все рассматриваемые в данной работе лиганды получены впервые и ранее не исследовались, то в рамках работы решались следующие **задачи**:

- Определение констант протонирования новых азакраун-эфиров методом потенциометрического титрования;
- Исследование комплексообразования Cu^{2+} , Pb^{2+} , Ac^{3+} , Bi^{3+} , Eu^{3+} , Y^{3+} , Lu^{3+} с новыми азакраун-эфиром методами потенциометрического титрования и конкурирующих реакций осаждения, сорбции и экстракции с использованием радиоактивных меток;
- Исследование структуры комплексных соединений с использованием методов лазерной флуоресценции с временным разрешением (TRLIFS), спектроскопии протяжённой тонкой структуры рентгеновского поглощения (EXAFS) и квантово-химических расчётов;
- Установление закономерности строения – комплексообразующие свойства для ряда азакраун-эфиров;

- Оценка радиационной устойчивости и цитотоксичности наиболее эффективных арил-содержащих азакраун-эфиров по отношению к раковым клеткам и клеткам здоровых доноров;

Научная новизна работы заключается в следующих положениях, выносимых на защиту:

- Впервые проведено систематическое исследование новых арил-содержащих азакраун-эфиров и их комплексообразующих свойств по отношению к ряду трёх- и двухвалентных катионов радионуклидов медицинского назначения; показано, что наличие и число карбоксильных групп определяют образование комплексов и величину константы устойчивости комплексных соединений;
- Установлена прямая пропорциональность между протонированием новых азакраун-эфиров и константами образования комплексов с изученными катионами; было выявлено, что коэффициенты пропорциональности соответствуют «жесткости» катионов, а сама корреляция может быть использована для прогнозирования комплексообразующих свойств новых азакраун-эфиров;
- Показана радиационная устойчивость арил-содержащих азакраун-эфиров;
- Определены полулетальные концентрации арил-содержащих азакраун-эфиров по отношению как к раковым, так и здоровым клеткам крови.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Установленная в данной работе корреляция между протонированием лигандов и константами устойчивости комплексов с Cu^{2+} , Pb^{2+} и Bi^{3+} может быть использована для прогнозирования констант комплексообразования с Cu^{2+} , Pb^{2+} и Bi^{3+} при последующих поисковых исследованиях новых бифункциональных хелаторов.

Арил-содержащие азакраун-эфиры непригодны для использования в качестве хелаторов «жестких» катионов редкоземельных элементов (РЗЭ).

Арил-содержащие азакраун-эфиры с 5 и 6 гетероатомами в макроцикле образуют комплексы с катионами в течение одной минуты при комнатной температуре, а образуемые комплексы стабильны *in vivo*, по крайней мере, в течение 3-х суток.

Личный вклад автора состоит в критическом обзоре литературных данных; потенциометрическом титровании всех лигандов и их комплексов с катионами металлов; определении констант устойчивости комплексов с катионами висмута и актиния методом конкурирующих реакций, определении устойчивости комплексов методом ТСХ, в т.ч.

разработке соответствующих методик, проведении, обработке и интерпретации данных экспериментов по цитотоксичности; приготовлении образцов, анализе и обработке экспериментальных данных TRLIFS, EXAFS и масс-спектрометрии (с ионизацией в электроспрее – ESIMS – и матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией – МАЛДИ MS); непосредственном участии в квантово-химическом моделировании строения комплексов; обобщении и систематизации результатов; подготовке основных публикаций по выполненной работе.

Апробация результатов. Результаты работы были представлены в виде стендовых и устных докладов на следующих конференциях: Первый Российско-Североевропейский Симпозиум по Радиохимии (RNSR-2013) 2013, Москва, Россия; Первая Российская конференция по медицинской химии (MedChem Russia), 2013, Москва, Россия; 17-ая Радиохимическая конференция (RadChem), 2014, Марианске Лазне, Чехия; 9-ый Симпозиум по Мишенной Альфа-Терапии, 2015, Варшава, Польша; «Актуальные проблемы разработки, производства и применения радиофармацевтических препаратов» (Радиофарма-2015), 2015, Москва, Россия; VIII Всероссийская конференция по радиохимии «Радиохимия-2015», 2015, Железногорск, Россия; X Конференция молодых ученых, аспирантов и студентов ИФХЭ РАН «Физикохимия – 2015», 2015, Москва, Россия; 9-ая Международная конференция по ядерной химии и радиохимии (NRC9), 2016, Хельсинки, Финляндия.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ №№13-03-01304_a, 16-33-00642_мол_a и программы фундаментальных исследований президиума РАН «Фундаментальные исследования для разработки биомедицинских технологий».

Всего по материалам диссертации опубликовано 11 печатных работ: из них 3 статьи (2 из которых входят в перечень рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных ВАК) и 8 тезисов докладов в сборниках российских и международных конференций.

1 Обзор литературы

1.1 Методы диагностики и терапии с использованием радионуклидов.

Визуализация с использованием радионуклидов осуществляется за счёт гамма-излучения с высокой проникающей способностью. Однофотонная компьютерная томография (ОФЭКТ) обеспечивается гамма-квантами, испускаемыми собственно радионуклидами в процессе радиоактивного распада. Зачастую радиоактивные превращения сопровождаются появлением изомеров, и переход из метастабильного в основное состояние осуществляется понижением энергии ядра за счёт испускания гамма-квантов. Наиболее подходящей энергией гамма-излучения для визуализации является 70-360 кэВ [1]. Кванты с меньшей энергией рассеиваются и поглощаются в организме, а для слишком большой энергии уменьшается эффективность регистрации и создаётся высокая дозовая нагрузка на пациентов и медицинский персонал. Наиболее широко используемым радионуклидом для ОФЭКТ является ^{99m}Tc ввиду удобного периода полураспада (6 ч) и энергии гамма-излучения 140 кэВ, кроме того применяются ^{111}In , ^{201}Tl , ^{67}Ga , ^{131}I .

При позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) радионуклиды испускают β^+ -частицы, аннигиляция которых с электронами среды приводит к появлению двух гамма-квантов с энергией 511 кэВ, распространяющихся в противоположных направлениях под 180° . Детекторы томографа расположены по кольцу вокруг пациента и настроены на схему совпадений для детекторов, расположенных напротив друг друга, что значительно повышает пространственное разрешение при анализе изображения. В настоящее время для ПЭТ используются радионуклиды ^{11}C , ^{13}N и ^{15}O , с помощью которых метят вещества, принимающие участие в естественном метаболизме организма: вода, метионин. Чаще всего используется ^{18}F , который входит в состав самого распространённого ПЭТ-препарата – фтордезоксиглюкозы: F замещает OH в глюкозе благодаря близкому ионному радиусу. Кроме того, очень активно используются генераторные радионуклиды ^{68}Ga и ^{82}Rb . Так, для лечения рака простаты используют естественный протеин, специфичный к мембранам клеток рака простаты, меченый ^{68}Ga . Однако в этом случае для обеспечения прочного связывания с катионом необходимо наличие линкера – бифункционального хелатора – молекулы, с одной стороны удерживающей катион радионуклида и с другой стороны образующей связь с специфической макромолекулой-вектором. При таком подходе расширяется область применения радионуклидов для применения в ядерной медицине независимо от их химической формы, а также возможно

варьирование векторных молекул: пептидов, моноклональных антител, их фрагментов и пр.

В отличие от лучевой терапии, использующей внешние источники гамма излучения, направленная радионуклидная терапия основывается на воздействии корпускулярного излучения на клеточном уровне, что обеспечивает больший клинический отклик при меньшем поражении здоровых тканей. Разрушение ДНК ядер клеток достаточное условие её гибели, однако гамма излучение зачастую вызывает одонитевые повреждения ДНК, которые легко репарируются за счёт комплементарности второй. При этом корпускулярное излучение, характеризующееся высокой линейной передачей энергии, может приводить к нерепарируемым повреждениям молекулы ДНК и, соответственно, необратимой гибели клеток [2].

На рисунке 1.2 показано как энергия и тип излучения влияют на пробег частиц в воде [3], что близко к пробегу частиц в биологических тканях. Бета-излучение обладает пробегом в 100-1000 клеточных размеров, при этом большая часть энергии рассеивается в конце траектории, что может приводить к повреждению не только поражённых, но и окружающих здоровых тканей, особенно в случае микрометастазов, свободно циркулирующих раковых клеток и остаточных опухолевых образований после резекции. Альфа-частицы характеризуются высокой линейной передачей энергии, соответствующей малой длине свободного пробега в ткани - 5-10 клеточных размеров, что обеспечивает высокую локализацию ионизирующего излучения и, при попадании в ядро клетки, множественные двунитевые разрывы ДНК. Аналогично, Оже электроны ввиду низкой энергии имеют пробег от нескольких нанометров до микрометров, что меньше клеточного

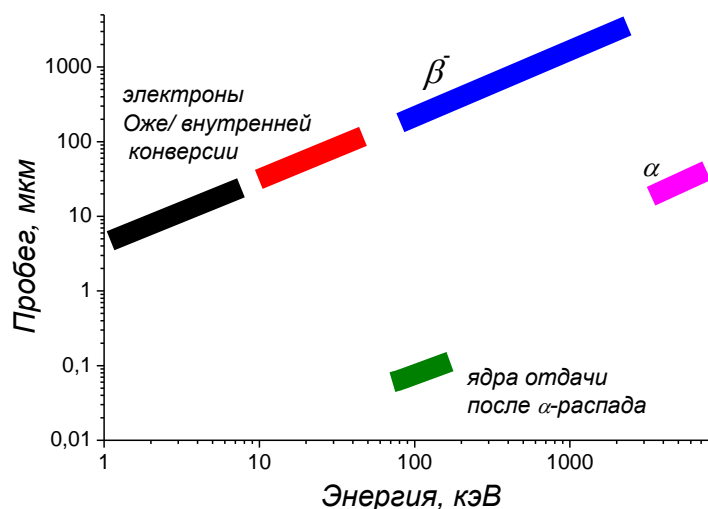


Рисунок 1.2 – Корреляция между типом и энергией частиц и длиной их пробега в воде [3-5].

размера и может обеспечить кластерное повреждение ДНК на молекулярном уровне при условии доставки Оже-излучателя непосредственно в ядро.

1.2 Применяемые и перспективные радионуклиды для терапии и диагностики

Вследствие разнообразия ядерных излучений, сопровождающих радиоактивный распад тех или иных радионуклидов, они могут быть применены для диагностики, терапии или тераностики, когда терапевтический эффект сопровождается возможностью молекулярной визуализации. Среди существующих РФП, большую часть составляют диагностические препараты с ^{99m}Tc , ^{67}Ga , ^{111}In , ^{123}I , ^{201}Tl для ОФЭКТ, ^{18}F , ^{11}C , ^{13}N , ^{68}Ga , ^{82}Rb для ПЭТ, в то время как среди терапевтических применяется пока лишь ограниченное число бета-излучателей: ^{32}P , ^{89}Sr , ^{90}Y , ^{131}I , ^{153}Sm , ^{177}Lu (таблица 1.1). Кроме того, в связи с большим терапевтическим потенциалом в настоящее время на различных стадиях лабораторных, доклинических и клинических исследований находится ряд препаратов с альфа- и Оже-излучающими радионуклидами: ^{64}Cu , ^{67}Ga , ^{211}At , ^{212}Pb , ^{212}Bi , ^{213}Bi , ^{225}Ac (таблица 1.1). Единственным зарегистрированным фармпрепаратом с альфа-излучателем является $^{223}\text{RaCl}_2$ (Xofigo, Bayer), который используется при лечении костных метастазов.

Среди используемых и потенциальных радионуклидов медицинского назначения много представителей группы редкоземельных элементов (РЗЭ). Радионуклиды РЗЭ различаются между собой периодами полураспада, а также типом и энергией излучения, при сохранении схожего химического поведения, включая координационные свойства. Ac^{3+} является близким химическим аналогом La^{3+} и, соответственно, проявляет схожие с РЗЭ химические свойства[6]. Близость химических свойств усложняет выделение радионуклидов РЗЭ в чистом виде при их получении, однако имеет и предсказательную силу: константы устойчивости и структуры комплексов РЗЭ незначительно различаются, то есть, охарактеризовав структуру комплекса с одним РЗЭ, возможно получить представление о связывании остальных. Все РЗЭ, за исключением церия, европия, самария и иттербия, устойчивы только в степени окисления +3 и представляют собой жёсткие Пирсоновские катионы. Ввиду лантанидного сжатия с увеличением порядкового номера уменьшается ионный радиус от 1,216 Å (К.Ч. = 9) для La^{3+} до 1,032 Å (К.Ч. = 9) для Lu^{3+} и соответственно растёт «жёсткость» катионов. В комплексных соединениях в растворах эти катионы традиционно проявляют координационное число 9, в некоторых случаях для тяжёлой подгруппы РЗЭ возможно К.Ч.= 8 [6].

Таблица 1.1 – Некоторые терапевтические и диагностические радионуклиды и их характеристики

Радионуклид	Период полураспада	Тип ($E_{\alpha, \beta_{\max}}$) излучения при распаде	Пробег в ткани	E_{γ} ($p > 10\%$)	литература
^{62}Cu	9,7 мин	98% β^+ (2900 кэВ) 2% ЭЗ	*	511 кэВ	[7]
^{64}Cu	12,7 ч	18% β^+ (1675 кэВ) 38% β^- (579 кэВ) 44% ЭЗ	β^- 2 мм	511 кэВ	[2]
^{67}Cu	61,8 ч	β^- (577 кэВ)	β^- 0,2-2 мм	93,3 кэВ 186 кэВ	[2, 8]
^{90}Y	2,7 д	β^- (2280 кэВ)	β^- 10-12 мм	-	[2]
^{149}Tb	165,8 ч	17% α (3967 кэВ), 7% β^+ (2451 кэВ), 76% ЭЗ	α 0,028 мм	165 кэВ 352 кэВ 389 кэВ 652 кэВ ...	[9]
^{153}Sm	46,3 ч	β^- (808 кэВ)	β^- 0,6 мм	103 кэВ	[10]
^{161}Tb	6,9 д	β^- (593 кэВ), электроны конверсии и Оже (0-40кэВ)	Оже $5 \cdot 10^{-4}$ $3 \cdot 10^{-2}$ мм	46 кэВ 49 кэВ 75 кэВ	[11]
^{166}Ho	26,8 ч	β^- (1855 кэВ)	β^- 3,8-8,7 мм	81 кэВ (6,7%)	[12]
^{177}Lu	6,7 д	β^- (498 кэВ)	β^- 2 мм	208 кэВ	[2]
^{211}At	7,2 ч	42% α (5870 кэВ), 58% ЭЗ	α 55-70 мкм	687 кэВ	[13]
^{212}Pb	10,64 ч	β^- (574кэВ)	-	239 кэВ	[14]
^{213}Bi	0,75 ч	2% α (5869 кэВ) 98% β^- (1427 кэВ)	α 50-100 мкм	440 кэВ	[2, 15]
^{225}Ac	9,9 д	α (5935 кэВ)	α 50-100 мкм	218 кэВ (Fr-221) 440 кэВ (Bi-213)	[2, 16]

*) информация в литературе отсутствует

Иттрий-90

^{90}Y доступен без носителя, который получают в изотопных генераторах $^{90}\text{Sr}/^{90}\text{Y}$. Он является «чистым» бета-излучателем, при распаде которого образуется стабильный ^{90}Zr . Отсутствие гамма излучения, с одной стороны, позволяет не изолировать пациента с введённым препаратом, с другой стороны, отсутствует возможность молекулярной визуализации радионуклида в организме. Для проведения дозиметрического исследования и молекулярной визуализации в организме возможно использование позитрон-излучающих изотопов иттрия - ^{86}Y и $^{85\text{m}}\text{Y}$ в составе РФП вместе с ^{90}Y . В ионной форме Y^{3+} накапливается в костях, замещая Ca^{2+} , что используется при паллиативном лечении метастазов в костях [17].

Относительно большой период полураспада ^{90}Y , равный 2,4 дня позволяет использовать его с моноклональными антителами, циркуляция которых в кровеносном русле до локализации в адресной ткани может протекать в течение 1-2 дней [2]. Препарат на основе конъюгата ^{90}Y с моноклональным антителом – Zevalin[®] (Biogen IDEC Pharmaceuticals) – один из первых радиоиммунотерапевтических препаратов,

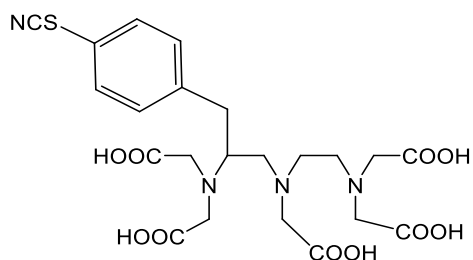


Рисунок 1.3 – Формула tiuxetan.

используемый при терапии не Ходжкинской лимфомы (2002 год [2]), который помимо радионуклида состоит из ibritumomab – химерного моноклонального антитела, использованного при создании терапевтического противоракового препарата Rituxan (Roche Pharmaceuticals), и tiuxetan – хелатора-линкера производного ДТРА (рисунок 1.3), который ковалентно связан с антителом и образующий устойчивый комплекс с Y^{3+} за счёт пяти карбоксильных групп и трёх аминогрупп.

Помимо препарата Zevalin, с ^{90}Y проводятся клинические испытания для терапии нейроэндокринных опухолей с использованием аналогов соматостатина – октапептидов DOTATOC, DOTATATE, содержащих производные DOTA – которые позволяют адресно доставлять радионуклид к клеткам нейроэндокринных опухолей. Сообщается о клинических испытаниях I/II стадий [18, 19], в которых показано, что ^{90}Y -DOTATOC, ^{90}Y -DOTATATE могут приводить к стабилизации болезни, либо к частичной ремиссии, что в совокупности повышает общую продолжительность жизни.

Самарий-153

^{153}Sm обладает бета-излучением с максимальной энергией 0,8 МэВ, что соответствует среднему пробегу в ткани около 0,6 мм [10]. Присутствие гамма-излучения с энергией 103 кэВ в схеме распада ^{153}Sm , даёт возможность визуализации распределения препарата в организме и расчёта дозиметрической нагрузки.

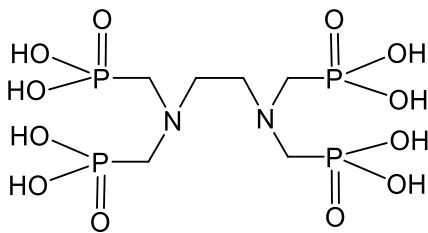
Небольшой пробег бета-излучения в ткани делает лечение локальным, а препарат с самарием-153 предпочтительным по сравнению с ^{90}Y -ЭДТМФ (рисунок 1.4), с точки зрения токсичности по отношению к костному мозгу. Наличие гамма-излучения даёт возможность одновременно с лечением проводить ОФЭКТ исследование, позволяющее отслеживать накопление препарата в очагах поражения, а при повторных введениях судить о динамике и результатах терапии. Небольшой период полураспада позволяет использовать высокие дозы препарата, что обеспечивает быстрый клинический эффект.

Самарий-153 получают облучением тепловыми нейтронами изотопно-обогащенного самария-152 в виде оксида по реакции $^{152}\text{Sm}(n,\gamma)^{153}\text{Sm}$. При распаде ^{153}Sm образуется стабильный ^{153}Eu . В течение 155 ч при потоке нейтронов $1,2 \cdot 10^{14} \text{ см}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ образуется ^{153}Sm с удельной активностью 222 ГБк/мг [1], что соответствует превращению лишь 1,5% исходного самария-152, а значит конечный препарат на 98,5% состоит из не радиоактивного самария-152, что существенно понижает его удельную радиоактивность.

Низкомолекулярный комплекс ^{153}Sm с фосфонатным аналогом ЭДТА – этилен диамин тетраметилен фосфонатом (ЭДТМФ) (рисунок 1.4а) – препарат Quadramet (Lantheus Medical Imaging, Inc.) используется при паллиативном лечении метастазов в костях [20].

В России в 2010 году зарегистрирован препарат ^{153}Sm -оксабифор (рисунок 1.4б), механизм действия которого аналогичен ^{153}Sm -ЭДТМФ [21]: радионуклид транспортируется в очаги с повышенной потребностью в минерализации, при этом несвязанный с костной тканью препарат быстро выводится почками из организма [20].

а)



б)

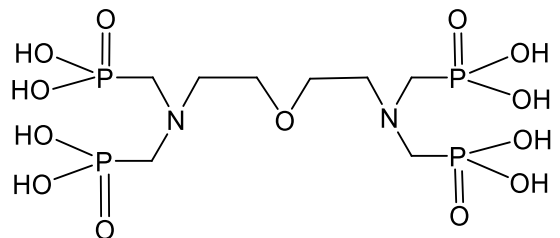


Рисунок 1.4 – Формулы ЭДТМФ (а) и оксабифора (б).

Тербий-149,161

^{149}Tb характеризуется сложной схемой распада (таблица 1.1, рисунок 1.5): с вероятностью $p=0,83$ происходят испускание позитрона и электронный захват с образованием ^{149}Gd , в результате α -распада ($p=0,17$) образуется ^{145}Eu (рисунок 1.5). Дочерние радионуклиды являются более долгоживущими по сравнению с ^{149}Tb , что составляет 33,3% поглощённой дозы на костный мозг (66,7% приходится на собственное излучение ^{149}Tb) без учёта выведения из организма и обуславливает их накопление в костях [22].

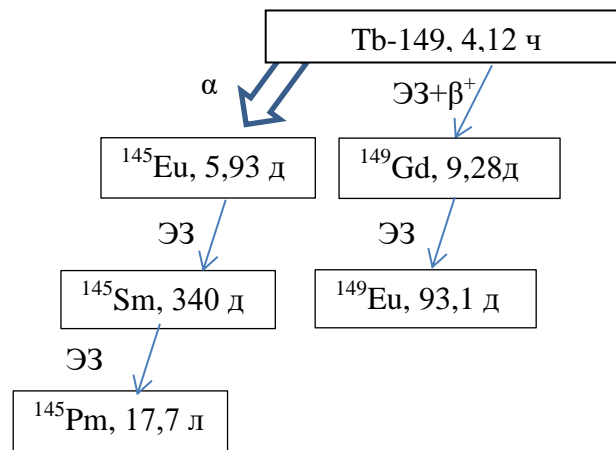


Рисунок 1.5 – Схема распада ^{149}Tb [23].

Получение Tb-149 является сложной химической задачей, что затрудняет его широкое применение. Для этого может быть использовано облучение оксидов РЗЭ лёгкими и тяжёлыми ионами, например, $^{152}\text{Gd}(\alpha,7n)^{149}\text{Dy} \rightarrow ^{149}\text{Tb}$; $^{144}\text{Sm}(\text{}^9\text{Be},4n)^{149}\text{Dy} \rightarrow ^{149}\text{Tb}$; $^{142}\text{Nd}(\text{}^{12}\text{C},5n)^{149}\text{Dy} \rightarrow ^{149}\text{Tb}$. Кроме того ^{149}Tb может быть получен по реакции скалывания при облучении протонами танталовой фольги $\text{Ta}(\text{p,скалывание})^{149}\text{Tb}$ при высокой температуре, при этом во всех случаях необходима хроматографическая очистка от других РЗЭ, осуществляемая в несколько стадий [9].

При очистке от дочерних радионуклидов и синтеза РФП происходят незначительные потери активности ввиду относительно небольшого периода полураспада ^{149}Tb , равного 4 ч. Небольшая вероятность испускания альфа-излучения обуславливает необходимость высокой экспрессии антигенов к меченым антителам, при этом небольшая энергия альфа-излучения обеспечивает отсутствие повреждений окружающих здоровых тканей [23]. Было показано, что меченные тербием-149 моноклональные антитела Rituximab ^{149}Tb -CHX-DTPA-rituximab (CHX-DTPA представлен на рисунке 1.6) может быть успешно использовано при лечении одиночных свободно циркулирующих в

кровеносном русле лейкемических клеток в мышцах, вызывая 90% излечение [22]. При использовании ^{149}Tb -DOTA с другим биологическим вектором – производным фолиевой кислоты – был показан аналогичный терапевтический эффект на мышцах со сформировавшейся опухолевой массой: продолжительность жизни мышей увеличивалась в 2 раза [24].

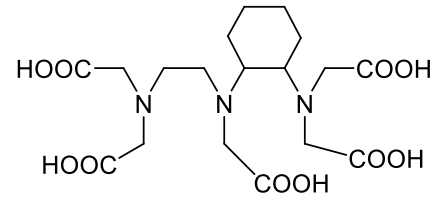


Рисунок 1.6 – Формула СНХ-ДТРА.

Помимо ^{149}Tb в радиотерапевтических целях может быть использован ^{161}Tb , обладающий схожими с ^{177}Lu ядерно-физическими (таблица 1.1) и химическими свойствами. Однако, в отличие от ^{177}Lu при распаде ^{149}Tb кроме бета-излучения, с вероятностью 27% испускаются электроны конверсии и Оже-электроны [25].

Получают ^{161}Tb при облучении в реакторе мишени, обогащённой ^{160}Gd , что приводит к образованию ^{161}Gd , который быстро ($T_{1/2}=3,7$ мин) путем β^- распада превращается в ^{161}Tb . При этом важна чистота используемого ^{160}Gd , так как примесь в нём стабильного ^{159}Tb приводит к образованию долгоживущего неотделимого ^{160}Tb ($T_{1/2}=72,3$ д). Кроме того, накопление в ^{161}Tb его дочернего нуклида ^{161}Dy крайне близкого по химическим свойствам также уменьшает удельную радиоактивность РФП [25].

Конверсионные и Оже-электроны могут значительно повысить локальный терапевтический эффект при условии интеркаляции РФП к молекуле ДНК [26]. Однако даже мечение ^{161}Tb производного фолиевой кислоты (не имеющего средства непосредственно к ядру опухолевой клетки) [11] в *in vivo* (привитые мышам опухоли) и *in vitro* (клеточные линии) экспериментах показало больший терапевтический потенциал тербия-161 по сравнению с лютецием-177. Кроме того, показана возможность получения ^{161}Tb -DOTATATE с аналогичными известному РФП ^{177}Lu -DOTATATE [25].

Наличие гамма-излучения даёт возможность проследивать распределение радионуклида в организме методом ОФЭКТ, а его низкая энергия (таблица 1.1) делает ^{161}Tb кандидатом для «intraoperative guided surgery» (IGS), что невозможно с более высокоэнергетичными гамма-излучателями, такими как ^{111}In . Последние обуславливают высокие фоновые значения, которые усложняют локализацию небольших опухолевых образований с использованием специального детектора-зонда при лечении IGS [27].

Гольмий-166

Характеризуется высокой энергией бета-излучения, при относительно низкой энергии и малом выходе гамма-излучения при радиоактивном распаде, что может быть использовано для дозиметрии и оценки эффективности накопления РФП с ^{166}Ho .

Получение его в реакторе по реакции $^{165}\text{Ho}(n,\gamma)^{166}\text{Ho}$ не позволяет получить ^{166}Ho с высокой удельной радиоактивностью, в связи с чем более приемлемой представляется реакция $^{164}\text{Dy}(2n,\gamma)^{166}\text{Dy}$, захват двух нейтронов возможен ввиду больших сечений реакций $^{164}\text{Dy}(n,\gamma)^{165}\text{Dy}$ и $^{165}\text{Dy}(n,\gamma)^{166}\text{Dy}$, несмотря на небольшой период полураспада ^{165}Dy ($T_{1/2}=2,33$ ч).

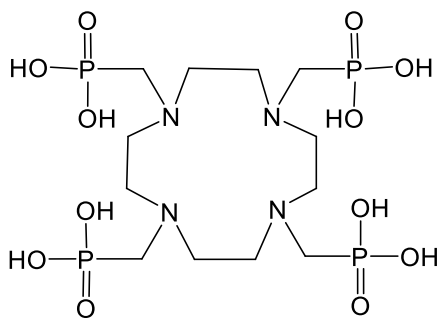


Рисунок 1.7 – Формула DOTMP.

^{166}Ho в составе препарата ^{166}Ho -DOTMP (рисунок 1.7) не может быть применён для паллиативного лечения костных метастазов [28] ввиду большой энергии бета-излучения, которая приводит к значительному поражению костного мозга, однако исследуется для терапии множественной миеломы (ММ) – опухолевого заболевания костного мозга.

Низкоэнергетическое гамма-излучение может быть использовано для первоначальной оценки дозиметрии методом ОФЭКТ. Частью лечения ММ является повторное введение ранее извлечённых из пациента здоровых стволовых клеток из периферической кровеносной системы для восстановления костного мозга после радионуклидной терапии ^{166}Ho -DOTMP. Короткий период полураспада ^{166}Ho позволяет уже через 6-8 дней проводить реинфузию здоровых клеток, что стимулирует возобновление функции костного мозга [29].

Лютеций-177

^{177}Lu является мягким бета излучателем (таблица 1.1), что обеспечивает небольшой пробег в тканях и соответственно локальность терапии. В связи с этим он представляет менее токсичную альтернативу радионуклида Y-90, что отражается в меньшей нагрузке на почки и возможности повторения циклов терапии.

Получение по реакции $^{176}\text{Lu}(n,\gamma)^{177}\text{Lu}$ приводит к наличию химически неотделимых примесей как стабильного исходного ^{176}Lu , так и долгоживущего $^{177\text{m}}\text{Lu}$, что ухудшает радиохимическую чистоту получаемого РФП. Этим неотделимым примесей можно избежать, используя реакцию $^{176}\text{Yb}(n,\gamma)^{177}\text{Yb}$, далее ^{177}Yb с $T_{1/2}=1,9$ ч превращается в ^{177}Lu [30, 31]. В таком случае необходима процедура отделения Lu от Yb.

Синтетические аналоги соматостатина – октапептиды, меченные Lu-177, давно и активно исследуются для лечения нейроэндокринных опухолей [32-34]. В рамках клинических испытаний [35] было показано, что при использовании ^{177}Lu -DOTATATE любой отклик на терапию (стабилизация болезни, частичная или полная ремиссия) приводит к повышению выживания, улучшается качество жизни, при этом частичная и полная ремиссия наблюдались у 29% пациентов подвергшихся лечению. На данный момент препарат Lutathera (разработанный Advanced Accelerator Applications) ^{177}Lu -DOTATATE прошёл все стадии клинических испытаний и находится в процессе утверждения его в качестве лекарственного препарата [36].

Кроме того, эффективным оказывается подход, включающий комбинацию бета-излучений с различной энергией β^- частиц: ^{90}Y -DOTATOC и ^{177}Lu -DOTATATE при лечении больших опухолей с метастазами [37], при этом рост больших опухолей замедляется за счёт ^{90}Y , а замещение половины вводимой дозы на ^{177}Lu приводит к увеличению продолжительности жизни мышей по крайней мере в 2 раза. Терапия рецидивов опухолей, ранее леченых ^{90}Y -DOTATOC, с целью меньшего воздействия на почки также может быть успешно осуществлена с помощью ^{177}Lu -DOTATOC [38].

Помимо ^{177}Lu -DOTATATE клинические испытания [39] проводятся с аналогами бомбезина ^{177}Lu -АМВА, рецепторы на который экспрессируются клетками опухолей простаты, молочной и поджелудочной желёз, при этом риску подвергаются не почки или печень, а критическим органом, контролирующим вводимую дозу, становится поджелудочная железа. В экспериментах на мышах с привитым раком простаты показано, что ^{177}Lu -АМВА замедляет рост опухоли в 2 раза за счёт повреждения активно развивающейся сосудистой системы опухоли [40]. К настоящему моменту разрабатываются [41] другие меченые ^{177}Lu аналоги бомбезина – антагонисты, накопление которых в других экспрессирующих этот рецептор органах меньше.

Аналогично ^{153}Sm и ^{166}Ho фосфонатные аналоги DOTA и EDTA, меченные ^{177}Lu , также проходят клинические испытания для паллиативного лечения костных метастазов. Показана практически одинаковая эффективность ^{177}Lu -DOTMP и ^{177}Lu -ЭДТМФ [42] относительно распределения в организме, но проявляется характерная для ациклических лигандов меньшая устойчивость в кислоте *in vitro*. В рамках клинических испытаний ^{177}Lu -ЭДТМФ I/II стадий показано, что уже при вводимой дозе в 1300 МБк достигается терапевтический эффект, при этом возможно введение до 2600 МБк. [36, 43], а в сравнении с Quadramet (^{153}Sm -ЭДТМФ, Lantheus Medical Imaging, Inc.) [44] с одинаковой вводимой дозой эффективность ^{177}Lu -ЭДТМФ 80% такая же как и у ^{153}Sm -ЭДТМФ.

Актиний-225

Актиний-225 – это «чистый» альфа-излучатель, который через 6 относительно короткоживущих дочерних радионуклидов, в т.ч. ^{213}Bi , распадается до долгоживущего ^{209}Bi ($T_{1/2}=1,9\cdot 10^{19}$ лет). Суммарно на распад ^{225}Ac приходится 5 альфа-частиц с общей энергией 28 МэВ (рисунок 1.8). Для контроля распределения в организме может быть использовано гамма-излучение ^{221}Fr (218 кэВ) и ^{213}Bi (440 кэВ).

^{225}Ac – дочерний радионуклид ^{229}Th ($T_{1/2}=7,34\cdot 10^3$ лет), который в свою очередь является продуктом распада ^{233}U . Для доклинических и небольшого числа клинических исследований Ас-225, выделяемого из Th-229 (63 ГБк/г), достаточно, однако для широкого клинического применения производство необходимо увеличить, в связи с чем предлагаются новые пути его получения: облучение ^{226}Ra нейтронами, протонами и фотонами, а также природного ^{232}Th протонами высоких энергий [16, 45, 46].

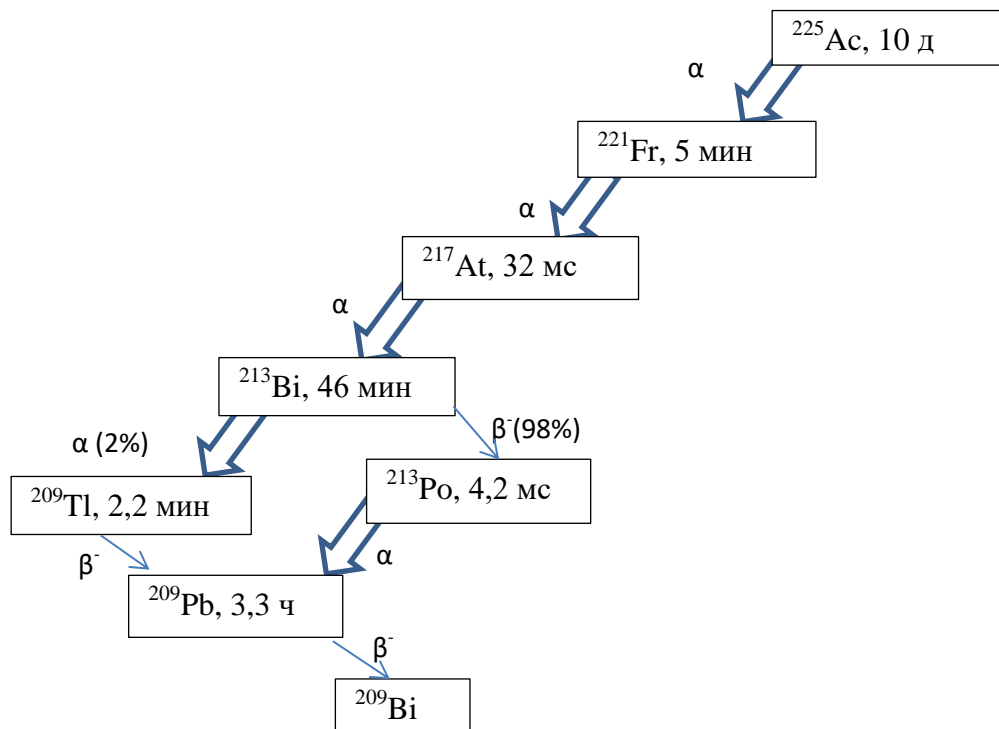


Рисунок 1.8 – Схема распада ^{225}Ac .

Относительно большой период полураспада позволяет использовать ^{225}Ac в биоконъюгатах с моноклональными антителами (mab). В таком случае ^{225}Ac -DOTA-mab является *in vivo* генератором ^{213}Bi . Успешное применение такого генератора было продемонстрировано с различными антителами на клеточных линиях лейкемии, лимфомы, рака молочной железы и простаты, где показано, что аналогичный терапевтический эффект для ^{225}Ac достигается при введении в 100-1000 раз меньшей

активности, чем при использовании ^{213}Bi . Кроме того на мышах с привитым раком простаты и с диссеминированной лимфомой показано полное исчезновение опухоли вплоть до 300 дней наблюдения [47]. В связи с чем далее проводятся клинические испытания (18 пациентов) ^{225}Ac -Lintuzumab для лечения лейкемии [48], при этом используется комбинирование РФП с химиотерапией и установлена меньшая толерантная доза в 111 кБк/кг.

С другой стороны, энергия отдачи ($E_{\text{ср}}=120$ кэВ) при испускании альфа-частиц приводит к выходу дочернего ^{221}Fr из комплекса с хелатором и дальнейший его распад может происходить уже не в пределах РФП, однако, если ^{225}Ac уже локализован в опухоли, это не является критичным [49]. В случае распада в кровеносном русле происходит захват Bi^{3+} трансферрином [50], который задерживается почками, в итоге почечная токсичность ^{225}Ac обусловлена образованием ^{213}Bi . Однако добавление дополнительных хелаторов или стабильного Bi^{3+} [51] позволяет уменьшить дозовую нагрузку на почки на 14-45%.

Висмут-213

Среди рассматриваемых в настоящее время альфа-излучающих радионуклидов на стадии клинических испытаний находятся препараты с ^{213}Bi . Данный радионуклид характеризуется как β (98%), так и α (2%) излучением (таблица 1.1), однако среди его продуктов распада есть чистый α -излучатель ^{213}Po и β -излучатели ^{209}Tl и ^{209}Pb , что и определяет его высокую терапевтическую эффективность, которая на данный момент уже была продемонстрирована при лечении глиомы (в т.ч. глиобластомы) головного мозг [15, 52], и, несмотря на короткий период полураспада ^{213}Bi (таблица 1.1), его применение с таб находится в стадии клинических испытаний для терапии лейкемии [53, 54] и меланомы [55, 56]. Наличие гамма-излучения позволяет проводить ОФЭКТ введённых ^{213}Bi -содержащих РФП.

В растворе висмут находится в степени окисления +3, при К.Ч.=8 ионный радиус 1,17Å [57]. Bi^{3+} характеризуется высоким сродством к донорным атомам кислорода и азота, что проявляется в его лёгкой гидролизуемости - гидроксикомплексы образуются уже при pH [58] – и более высоких (по сравнению с другими трёхвалентными катионами) константах устойчивости комплексов с полиаминополикарбоксилатами [59]. Кроме того Bi^{3+} образует устойчивые галогенидные комплексы, в связи с чем элюирование ^{213}Bi с генератора $^{225}\text{Ac}/^{213}\text{Bi}$ проводят раствором 0,1M NaI/HCl и его доступность обусловлена

возможностью получения ^{225}Ac . Из-за короткого периода полураспада ^{213}Bi элюирование с генератора можно проводить каждые 4-5 часов.

Первые клинические испытания по введению пептидного препарата ^{213}Bi -DOTA-SP (substance P) [52] при лечении глиомы показали, что в случае относительно небольших опухолевых образований ($12\text{-}17\text{ см}^3$) возможно распределение радионуклида по всему её объёму, в то время как для крупных образований некроз клеток происходит только в небольшом объёме. Некротические ткани намного легче могут быть отделены при оперативном вмешательстве и наблюдается даже видимая демаркация поражённой ткани от здоровой. Рецидив опухоли наступал тем быстрее, чем меньшая доза ^{213}Bi была введена, так при введении $1,07\text{ ГБк}$ через 1 месяц, а $7,36\text{ ГБк}$ – не наблюдалось прогресса в течение 24 месяцев. Показатели общего состояния всех пациентов после терапии улучшились. Дальнейшее повышение дозы до 11 ГБк [15] позволяет увеличить продолжительность жизни больных с глиобластомой (наиболее агрессивная форма опухоли головного мозга) с 15 до 18 месяцев, как минимум (исследование продолжается) с 40% вероятностью.

Преимущество α -излучения в некоторых случаях продемонстрировано на примере терапии пациентов с нейроэндокринными опухолями, резистентными к терапии ^{90}Y и ^{177}Lu [60]. Пептидный препарат ^{213}Bi -DOTATOC (суммарно $20,6\text{ ГБк}$ за 4-5 инъекций) показал свою эффективность для всех 8 пациентов с нейроэндокринными опухолями с метастазами в печени, для которых наблюдались отсутствие прогресса болезни (7 пациентов) и полная ремиссия (1 пациент) в течение 17-31 месяца (исследования продолжаются). Введение РФП в этом случае проводили не внутривенно, а внутриартериально (через катетер в печёночную артерию), что способствует лучшей локализации в печени, а контроль накопления в печени проводили с помощью ОФЭКТ, используя гамма-излучение ^{213}Bi – 440 кэВ и сравнивая эту картину с ПЭТ/КТ изображением от ^{68}Ga -DOTATOC.

Лечение лейкемии β -излучением ^{90}Y и ^{131}I , конъюгированных с антителами на лейкемические клетки, показало эффективность терапии в этом случае, однако, ввиду большой длины свободного пробега β -частиц, была отмечена также большая токсичность для всего костного мозга [54, 61]. В таком случае альфа-излучение представляется более приемлемым [54]. Для этого используют ^{213}Bi -SCN-CHX-A-DTPA-Lintuzumab, при этом наиболее эффективным и менее токсичным оказывается подход комбинации химиотерапии цитарабином, что уменьшает размер опухоли, с последующим введением РФП. При дозе $\geq 37\text{ МБк/кг}$ наблюдается клинический отклик у 6 из 18 пациентов с ранее не леченой миелоидной лейкемией (МЛ), в то время как для 7 пациентов с первичной

резистентной МЛ и ранее уже леченой болезнью терапевтического эффекта отмечено не было.

Препараты для лечения меланомы представляют собой конъюгаты $^{213}\text{Bi-DTPA-mab9.2.27}$ (антимеланомное моноклональное антитело 9.2.27) и в случаях, когда наблюдался отклик (стабилизация болезни или частичное улучшение), средняя продолжительность жизни увеличилась с 266 дней до 612, а у одного из 38 пациентов даже наблюдалось практически полное выздоровление. При этом авторы [55] предполагают, что разрушение опухолей в случае больших размеров, учитывая короткий пробег альфа-частиц, достигается за счёт нарушения сосудистой системы опухоли, что и приводит к плохому снабжению опухоли кислородом и другими питательными веществами, в результате чего она разрушается [62].

Свинец-212

^{212}Pb испускает бета-частицы и Оже-электроны, а также электроны конверсии, однако, в первую очередь, терапевтический эффект обусловлен альфа-излучением его дочернего радионуклида ^{212}Bi (рисунок 1.9). Поэтому РФП на основе ^{212}Pb являются *in vivo* генераторами ^{212}Bi . Кроме того, короткий период полураспада ^{212}Bi ($T_{1/2}=60,6$ мин) затрудняет использование моноклональных антител как биологических векторов, а использование ^{212}Pb ($T_{1/2}=10,6$ ч) позволяет избежать этой проблемы. Наличие в цепочке распада высокоэнергетического гамма-излучения с высокой вероятностью (99%) требует особых условий содержания пациента и обуславливает высокие дозовые нагрузки на персонал. Возможно получение ^{212}Pb из изотопного генератора $^{224}\text{Ra}/^{212}\text{Pb}$ (например, Areva Med) [63, 64].

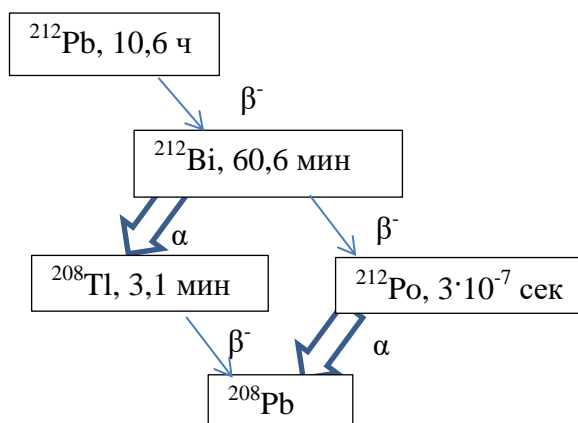
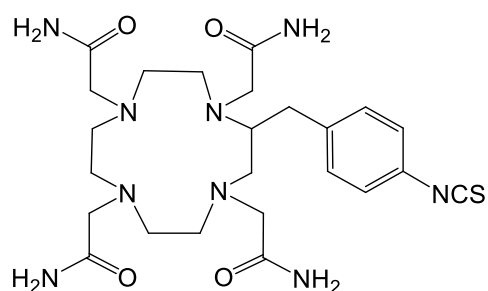


Рисунок 1.9 – Схема распада ^{212}Pb .

Типичная для свинца степень окисления +2, ионный радиус при к.ч. 6-12 составляет 1,19-1,49Å [57]. Pb^{2+} является пограничным катионом по теории ЖМКО.

В клинических испытаниях для терапии рака брюшной полости (16 пациентов) конъюгатом с моноклональными антителами ^{212}Pb -ТСМС-trastuzumab (рисунок 1.10) было показано, что введение 7,4-21,1 МБк/м² позволяет стабилизировать болезнь, а при внутривенном введении проникновение в кровеносную систему и, соответственно, распространение по всему организму радиоактивности минимально ввиду небольшого периода полураспада по сравнению с ^{90}Y -содержащими РФП [65-67], что в итоге позволяет вводить большие дозы для достижения терапевтического эффекта. Ранее было



показано, что ^{212}Pb -ТСМС-trastuzumab вызывает апоптоз клеток опухоли [64], но внутривенное введение ^{212}Pb -ТСМС-trastuzumab приводит к циркуляции ^{212}Pb по всему организму и задержке его на клетках селезенки, печени, что может быть вызвано обычным метаболизмом антител [68].

Рисунок 1.10 – Формула ТСМС.

Медь-62, 64, 67

^{62}Cu характеризуется коротким периодом полураспада и является практически «чистым» позитронным излучателем (таблица 1.1), в результате распада образуется стабильный ^{62}Ni .

Наиболее интересные для тераностики радионуклиды меди это ^{64}Cu и ^{67}Cu . ^{67}Cu представляет собой «мягкий» бета-излучатель с пробегом в ткани 0,2 мм [8]. Период полураспада 2,6 дня позволяет использовать ^{67}Cu в конъюгатах с моноклональными антителами [1]. По гамма-излучению можно проводить предлечебную визуализацию препарата методом ОФЭКТ, при этом дозовые нагрузки на весь организм и персонал невелики ввиду низкой энергии (таблица 1.1). ^{64}Cu характеризуется сложной схемой распада (рисунок 1.11), которая и обуславливает возможность терапии таким же, как у ^{67}Cu , мягким бета-излучением и ПЭТ диагностики, кроме того, ЭЗ подразумевает присутствие электронов конверсии, которые обеспечивают дополнительный терапевтический эффект.

Получают ^{64}Cu , ^{67}Cu облучением протонами мишеней из ^{64}Ni и ^{68}Zn на ускорителях по реакциям $^{68}\text{Zn}(p,2p)^{67}\text{Cu}$ и $^{64}\text{Ni}(p,n)^{64}\text{Cu}$, кроме того возможно получение в реакторе по реакции $^{67}\text{Zn}(n,p)^{67}\text{Cu}$, однако она проходит с низким выходом и сопровождается образованием большого количества долгоживущего ^{65}Zn . Ввиду небольших периодов полураспада ^{62}Zn ($T_{1/2}=9,3$ ч) и ^{62}Cu ($T_{1/2}=9,7$ мин) ^{62}Cu элюируют из генератора $^{62}\text{Zn}/^{62}\text{Cu}$ каждые 30 мин в течение 8 часов [1].

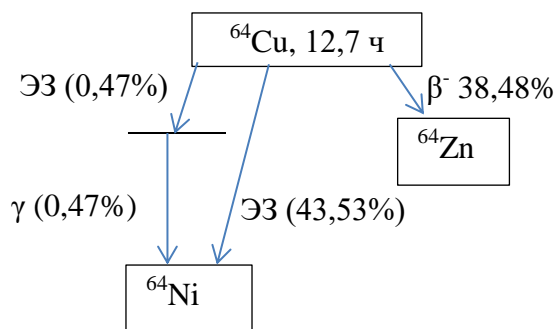


Рисунок 1.11 – Схема распада ^{64}Cu .

В водных растворах при нормальных условиях медь находится в степени окисления +2, при К.Ч.=4-6 ионный радиус составляет 0,57-0,73 Å [57]. Cu^{2+} относится к граничным катионам по теории ЖМКО и проявляет сродство как к донорным атомам азота и кислорода, так и серы. Из-за возможности лёгкого восстановления Cu^{2+} до Cu^+ *in vivo* (окислительно-восстановительный потенциал клеточных восстановителей составляет -0,2 – -0,4 В относительно НВЭ) происходит диссоциация комплекса и высвобождение Cu^+ из препарата [69].

Возможность восстановления Cu^{2+} до Cu^+ используется для молекулярной визуализации и локальной терапии гипоксических тканей, в том числе опухолевых. Для этих целей проходят клинические испытания препарат ^{64}Cu -ATSM, восстановление Cu^{2+} в котором происходит не так легко, как в Cu -PTSM [70, 71], что не позволяет электронному транспорту в митохондриях задерживать медь в здоровых клетках мозга и сердца, а только в обеднённых кислородом. Также на пациентах с раком лёгких было проведено [72], сравнение ^{62}Cu -PTSM, ^{62}Cu -ATSM (рисунок 1.12а, б) и FDG для идентификации поражённой ткани и оперативным путём было показано, что накопление ^{62}Cu -ATSM отражает реальную локализацию опухоли.

Меченые $^{64,67}\text{Cu}$ пептиды и антитела также могут быть использованы в ядерной медицине для соответствующих биологическим векторам целей. В клинических испытаниях [73] на 8 пациентах для ^{64}Cu -TETA-Octreotide (рисунок 1.12в) и на 14 пациентах для ^{64}Cu -DOTATATE [74] было проведено сравнение с используемым в настоящее время ^{111}In -Octreoscan, которое показало, что лучшая диагностика осуществляется при использовании ^{64}Cu как позитронного излучателя, при этом удалось визуализировать даже непредвиденные метастатические образования. В [75] было показано, что в *in vivo* условиях Cu^{2+} перехелатируется из ^{64}Cu -TETA-Octreotide

супероксиддисмутазой и накапливается в печени. В настоящее время предложен аналог ТЕТА – СВ-ТЕ2А (рисунок 1.12г). При сравнении препаратов – конъюгатов ^{64}Cu с синтетическим октапептидом ^{64}Cu -СВ-ТЕ2А-УЗ-ТАТЕ и ^{64}Cu -ТЕТА-УЗ-ТАТЕ – *in vivo* на крысах с привитыми опухолями поджелудочной железы показано меньшее (в 4 раза) накопление в крови и в 2,4 раза – в печени, что свидетельствует о частичной диссоциации комплекса с ТЕТА, однако нагрузка на почки оказалась сравнимой независимо от используемого хелатора (через 24 часа после введения) [76]. Комплекс с ТЕТА также был использован при клинических испытаниях конъюгата ^{64}Cu -ТЕТА-mab1A3 (рак кишечника), где показано также преимущество ПЭТ с ^{64}Cu по сравнению с аналогичным меченным ^{111}In конъюгатом [77].

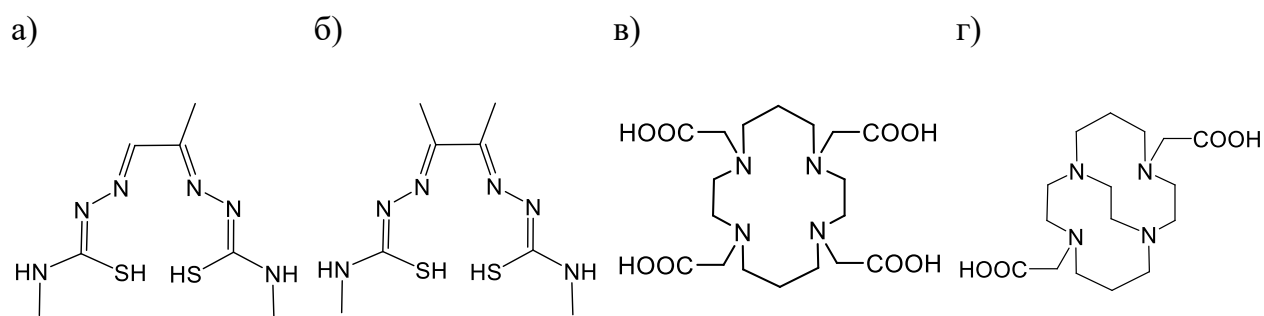


Рисунок 1.12 – Формулы: а) РТSM; б) АТSM; в) ТЕТА; г) СВ-ТЕ2А.

1.3 Хелаторы для РФП

Как следует из данных, приведённых в предыдущем разделе, в применяемых сейчас и перспективных РФП в качестве бифункциональных хелаторов выступают функционализированные полиаминополикарбоксилаты H_4DOTA и H_5DTPA , а также схожие макроциклические лиганды. Фосфорные аналоги представляют собой собственно биологический вектор, несущий связанный катион к костным образованиям – центры концентрирования фосфора в организме, а АТSM для Cu^{2+} является удобным инструментом ввиду восстановления Cu^{2+} только в определённых условиях.

Основные требования к хелаторам можно разделить на несколько пунктов, но это деление условно, так как во многом они пересекаются и определяют друг друга:

1) Термодинамическая устойчивость.

При введении в организм химические концентрации РФП составляют 10^{-15} - 10^{-12} М, что делает диссоциацию комплекса катион-хелатор (М-Л) предпочтительной, в связи с чем высокая термодинамическая устойчивость образуемых комплексов обеспечивает его

целостность. При этом образование комплекса с ациклическими лигандами требует большего уменьшения энтропии, связанного с упорядочением донорных атомов, чем в случае с макроциклическими, в которых уже присутствует некоторая предорганизация, т.е. с термодинамической точки зрения выгоднее образование комплекса именно с макроциклическими лигандами [78, 79].

В таблице 1.2 представлены значения логарифмов констант устойчивости некоторых используемых и перспективных хелаторов для рассматриваемых катионов.

Таблица 1.2 – Логарифмы констант устойчивости некоторых комплексов рассматриваемых катионов [79]

катион	$\lg K(\text{M-DOTA})$	$\lg K(\text{M-DTPA})$	$\lg K(\text{M-TETA})$
Y^{3+}	24,3-24,9	21,2-22,5	14,8
Tb^{3+}	26,2	22,7 [6]	14,8
Sm^{3+}	26,1	22,3 [6]	14,5
Ho^{3+}	26,1	22,8[6]	15,0
Lu^{3+}	25,5; 23,5; 21,6	22,4[6]	15,3[80]
Ac^{3+}	-	-	-
Bi^{3+}	30,3[81]	35,2 [82]	-
Cu^{2+}	22,2; 22,7	21,4	21,9; 21,6
Pb^{2+}	22,7 [78]	-	15,0

2) Кинетическая устойчивость.

Для предсказания поведения радиофармпрепаратов в организме необходимо учитывать многие факторы, основные из них: фармакокинетика вводимого РФП, связывание с целевыми протеинами, выведение из организма. При этом в биологической среде присутствует большое количество конкурирующих за хелатор катионов микроэлементов Ca^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} и Fe^{3+} , а также комплексонов для связывания катиона радионуклида гидроксид- и фосфат-ионы, сывороточные белки и ферменты, содержание

которых на порядок превышает концентрацию РФП. Например, концентрация Ca^{2+} в кровеносном русле составляет величину, равную $5 \cdot 10^{-3}$ М.

Одним из показателей кинетической устойчивости комплексов является скорость диссоциации в кислой среде, так как в процессе метаболизма антитела попадают в кислую среду, кроме того, стабильность в кислой среде является удобным инструментом для первичной оценки устойчивости комплекса. Проводятся исследования по устойчивости комплексов и конъюгатов с биологическими векторами в сыворотке *in vitro* и *in vivo* сначала на здоровых лабораторных животных просто хелатов (без биологических векторов) для определения возможности высвобождения катиона в процессе метаболизма. Конъюгация с биологическими векторами может повлиять на комплексообразующую способность лиганда, в связи с чем конъюгаты также тестируются в несколько этапов: клеточные линии *in vitro* и лабораторные животные с привитыми опухолями *in vivo*. Во всех случаях *in vivo* наблюдают накопление радионуклида в фильтрационных органах (почки, печень), влияние на костный мозг, а также скорость накопления в опухоли и выведения из организма. Эти параметры показывают кинетическую устойчивость комплекса *in vivo*.

3) Условия синтеза комплекса.

Радионуклиды, применяемые в ядерной медицине, характеризуются относительно короткими периодами полураспада (таблица 1.1) - от нескольких минут до дней. Поэтому убыль радиоактивности при синтезе РФП должны быть минимальны, что требует быстрой подготовки радионуклида (элюирование с генератора, очистка от дочерних радионуклидов) и, собственно, быстрого образования комплекса с лигандом (конъюгатом). Кроме того должны быть учтены условия введения в организм: рН среды, температура и объём вводимого препарата. Однако, если синтез должен проходить при повышенных температурах, большинство биологических векторов не сохраняют свою структуру. В настоящее время мечение конъюгатов хелаторов с многими пептидами проводят при повышенных температурах, тогда как моноклональные антитела выдерживают нагрев только до 37°C . В связи с чем наиболее предпочтительны лиганды, образующие комплексы в течение нескольких минут при температуре до 37°C .

Эти три аспекта были взяты нами за основу для описания некоторых перспективных лигандов.

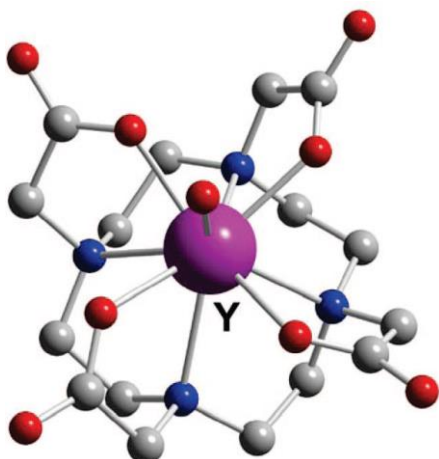
1.3.1 H_4DOTA и другие макроциклические хелаторы

Комплексы с H_4DOTA характеризуются высокой как термодинамической (таблица 1.2), так и кинетической устойчивостью. В связи с чем этот лиганд считается «золотым

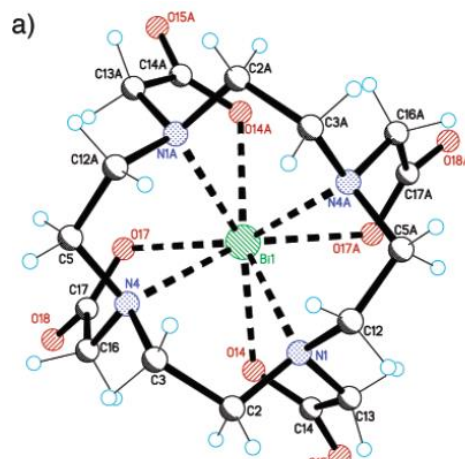
стандартом» среди хелаторов для многих катионов радионуклидов [79], несмотря на медленную скорость связывания и повышенные температуры получения комплексов. Наиболее приемлемым этот лиганд представляется для трёхвалентных катионов, таких как РЗЭ и Bi^{3+} .

Ввиду К.Ч.=9, проявляемого РЗЭ³⁺, координационным полиэдром является квадратная призма или антипризма, в зависимости от размера катиона [83, 84], образованная 4 аминогруппами и 4 карбоксильными, с шапочной молекулой воды (рисунок 1.13а). При этом катион находится над полостью макроцикла, а все карбоксильные группы в цис-положении [83, 85-87]. В случае с Bi^{3+} [81], для которого наибольшее К.Ч.=8, дополнительная координированная молекула воды отсутствует (рисунок 1.13б). Pb^{2+} при образовании комплексов с DOTA [88] координируется также искажённой квадратной призмой с шапочной молекулой воды (рисунок 1.13в), однако в данном случае сильная асимметричность окружения связывается с наличием стереохимически активной неподелённой электронной пары, характерной для Pb^{2+} . В комплексах с Cu^{2+} в координации участвуют все аминогруппы и только 2 карбоксильные тоже в цис-ориентации [89], образуя искажённый октаэдр (рисунок 1.13г).

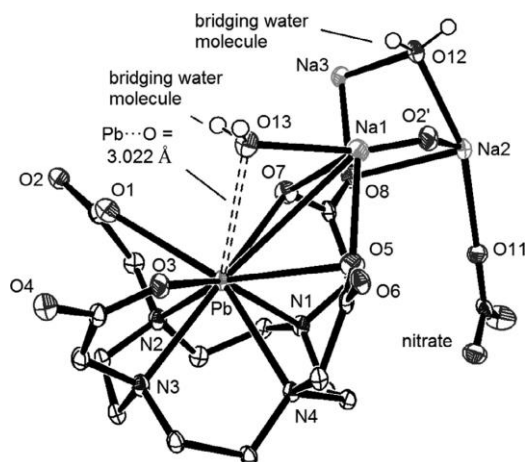
a)



б)



в)



г)

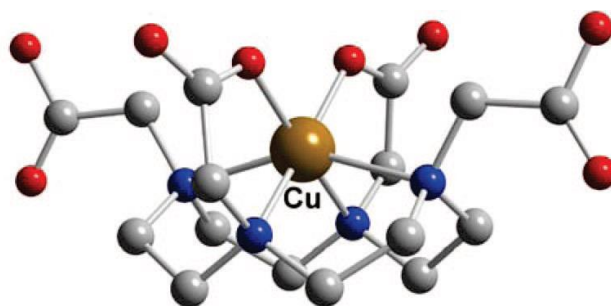


Рисунок 1.13 – Координационное окружение Y^{3+} (а), Bi^{3+} (б), Pb^{2+} (в) и Cu^{2+} (г) в комплексных соединениях с DOTA.

Анализ кристаллографических данных для комплексов ряда РЗЭ с DOTA, проведённый в [90], показал обратную корреляцию между расстоянием от катиона до атомов N макроциклической полости и константой устойчивости комплексов в растворе (рисунок 1.14). Наименьший из РЗЭ - Lu^{3+} ($R_i=1,032\text{Å}$ при К.Ч.=9 [57]) характеризуется максимальным погружением в «клетку», образованную макроциклическими атомами азота и карбоксилатами, что способствует наибольшей устойчивости комплекса Lu-DOTA среди РЗЭ.

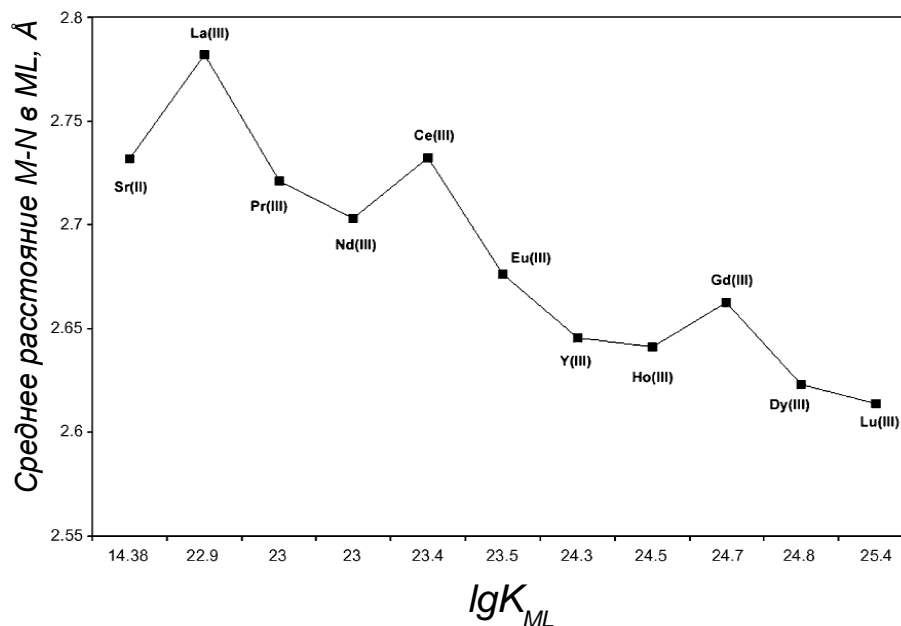


Рисунок 1.14 – Корреляция между длиной связи M-N в комплексах M-DOTA и константой устойчивости комплекса для ряда РЗЭ [90].

Кроме того, такое строение комплекса обуславливает его медленную кинетику образования. Методами квантовой химии было рассчитано, что медленная скорость связывания катиона DOTA обусловлена постепенным депротонированием аминогрупп с одновременным встраиванием катиона в «клетку», образованную карбоксильными и аминогруппами [91]. Экспериментальное подтверждение такого механизма комплексообразования продемонстрировано в [92], где показано образование протонированных интермедиатов $M-H_2DOTA^*$ (дважды протонированный по аминогруппам DOTA, комплексообразование происходит только по карбоксильным группам), $M-HDOTA^*$ (диссоциация H^+ от аминогруппы и продвижение катиона внутрь «клетки») - комплексов, сопровождающих постепенное заключение катиона в клетку. При этом происходит изменение длин связей и изменение числа молекул воды в гидратной оболочке катиона, что и контролировалось методами люминесцентной спектроскопии и EXAFS для комплексов Eu-DOTA, Gd-DOTA и Tb-DOTA. Эти данные объясняют полученные ранее в [93] результаты по оптимизации условий синтеза РФП с DOTA: с повышением pH время необходимое для количественного связывания ^{90}Y моноклональными антителами с DOTA пропорционально уменьшается, что связано с увеличением доли депротонированной формы DOTA при повышении pH. Описанный механизм образования комплекса, прямо противоположен процессу диссоциации M-

DOTA в кислой среде, описанному в [94]: протонирование карбоксильной группы, миграция протона на атом азота макроцикла и разрыв связи M-N.

Согласно экспериментам по диссоциации комплексов при pH 2 [95, 96] даже в течение 5 дней доля связанного лигандами DOTA и CHX-A-DTPA катионов $^{90}\text{Y}^{3+}$, $^{153}\text{Sm}^{3+}$ и $^{177}\text{Lu}^{3+}$ остается равной 90-100%, в то время как для DTPA только 15%. Ac^{3+} как химический аналог РЗЭ также образует наиболее устойчивые комплексы с DOTA, а ^{225}Ac -DOTA-mab сохраняют 90-100% целостность в сыворотке крови в течение 10 дней [97].

По приведённым в таблице 1.3 данным видно, что быстрое образование комплексов с DOTA возможно только при повышенных температурах. Выход меченая DOTA зависит от многих условий: концентрация DOTA, pH реакции, температура и продолжительность нагрева, наличие примесных катионов [96, 98]. В некоторых случаях, ввиду невозможности нагрева конъюгата с mab, сначала проводили синтез комплекса Ac^{3+} с DOTA-SCN при 56°C , а затем конъюгировали комплекс с иммуноглобулинами [97].

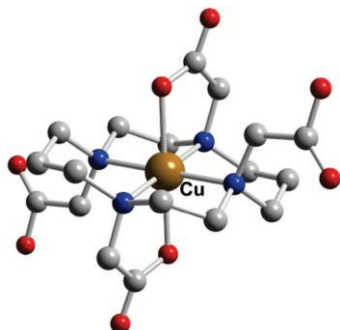
Таблица 1.3 – Условия синтеза некоторых конъюгатов на основе DOTA

меченый конъюгат	условия		ссылка
^{90}Y -DOTA-Mab	pH 7-7,5 NH_4OAc	37°C , 30 мин,	[93]
^{90}Y -DOTATATE		95°C , 25 мин	[18]
^{90}Y -DOTA-NCS-Colchicine	NH_4OAc	70°C , 45 мин	[99]
$^{90}\text{Y}/^{177}\text{Lu}$ -DOTA-cG250(mAb)	pH 5,4 NH_4OAc	45°C , 60 мин	[100]
^{213}Bi -DOTATOC	pH 6-7 NH_4OAc	100°C , 5 мин	[101]
^{213}Bi -DOTA-PESIN	pH 8,5-8,7 Na_2CO_3	95°C , 5 мин	[102]
^{212}Pb -DOTA-Re(Arg11)CCMSH	pH 5,4 NH_4OAc	75°C , 40 мин	[103]
^{64}Cu -DOTA-rituximab	pH 6, 0,1M NH_4OAc	37°C , 90 мин	[104]

Однако не все катионы образуют с DOTA кинетически устойчивые комплексы. Было показано, что для Cu^{2+} комплексы одинаковой термодинамической стабильности образуются с TETA (таблица 1.2), при этом, ввиду большего размера макроцикла, происходит встраивание катиона именно в полость макроцикла и карбоксильные группы хелатируют катион в транс-положении (рисунок 1.15а), образуя октаэдрическое окружение [89, 105]. При появлении этиленового мостика в СВ-TE2A расположение

карбоксилатов меняется на цис при сохранении октаэдрической координации (рисунок 1.15б) [1].

а)



б)

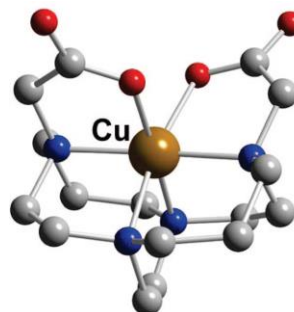


Рисунок 1.15 – Структуры комплексов а) Cu-DOTA, б) Cu-TETA, в) Cu-SB-TE2A [1].

Как уже отмечалось для Cu^{2+} возможно восстановление *in vivo* до Cu^+ , что приводит к диссоциации комплексов и перехелатированию другими протеинами [75]. Сравнение биораспределения комплексов ^{64}Cu с TETA, SB-TE2A, DOTA, SB-DO2A показало, что более

устойчивыми к перехелатированию являются комплексы с лигандами, имеющими этиленовый мостик (SB) [106], причём наиболее устойчивым является комплекс с SB-TE2A: 60% металла связывается с протеинами через 20 ч после введения, в то время как с остальными лигандами 90-100% ^{64}Cu перехелатировано уже через 4 ч. Эти результаты согласуются с *in vivo* распределением ^{64}Cu в биоконъюгатах с пептидом бомбезином (BBN) [107], где показано, что при введении ^{64}Cu -DOTA-BBN наблюдается значительное содержание меди в крови (1-3% введённой дозы (в.д.)), накопление в печени (8-15% в.д.), что связано с перехелатированием меди сывороточным альбумином и супероксид дисмугазой, а в случае ^{64}Cu -TETA-BBN в крови 0-2% в.д. и в печени 0-5,5%. С другой стороны с DOTA перехелатирование внутриклеточными белками приводит к более медленному клиренсу радиоактивности из опухоли 5% (15 мин после введения) и 4% (через 24ч), в то время как для SB-TE2A 7% (15 мин после введения) и только 0,3% (через 24ч).

По отношению к РЗЭ было показано, что при одинаковой дентатности TETA и DOTA константа устойчивости РЗЭ с первым на 10 порядков ниже, чем со вторым. При этом строение комплексов в обоих случаях близки: координационный полиэдр – квадратная антипризма с цис-расположением карбоксильных групп [108], но в случае TETA для ориентирования атомов азота макроцикл искажается намного сильнее, чем

DOTA, что, по всей видимости, и влечёт намного меньшую устойчивость комплексов РЗЭ-ТЕТА по сравнению с РЗЭ-DOTA не только термодинамическую (таблица 1.2), но и кинетическую [109].

ТЕТА и СВ-ТЕ2А, так же как и DOTA, требуют значительного времени для образования комплекса с Cu^{2+} при повышенных температурах: 20-25°C, 30 мин [107, 110].

Для ^{212}Pb показано, что при его бета-распаде в составе комплекса с DOTA происходит высвобождение 36% ^{212}Bi [111], что подтверждается в экспериментах *in vivo* на мышах с привитой лейкемией: происходит накопление ^{212}Bi в почках [112]. В данном случае диссоциация комплекса связана не с собственно энергией отдачи дочернего ^{212}Bi после бета-распада ^{212}Pb , которая составляет 0,5-2,3 эВ (12-55 ккал/моль), а с образованием высокоионизованного катиона Bi^{5+} [111], который получается вследствие испускания каскада конверсионных и Оже электронов, образующихся в результате гамма-излучения, сопровождающего бета-распад ^{212}Pb . Суммарная вероятность гамма-излучения ^{212}Pb составляет 37%, что согласуется с выходом 36% ^{212}Bi из комплекса. В связи с чем в качестве носителя для ^{212}Pb были протестированы липосомы, показана устойчивость полученных конструкций (катион в липосомной везикуле, функционализированной DOTA) в сыворотке при 37°C [113].

При замещении карбоксильных групп в DOTA на амидные получается хелатор ТСМС (рисунок 10), который в настоящее время используется в клинических испытаниях РФП с ^{212}Pb с антителами для терапии рака яичников и брюшной полости [65, 67], что было отмечено в предыдущем разделе. Термодинамически комплекс Pb-ТСМС ($\lg K(\text{Pb-ТСМС}) > 19$) [114] сравним с Pb-DOTA ($\lg K = 22,7$) при том, что наличие амидных группировок понижает суммарную константу протонирования этого лиганда $\Sigma pK_a = 13,9$ [114]. Последнее способствует меньшей скорости диссоциации комплекса в кислой среде pH 2-3 по сравнению с DOTA [115]. Устойчивость комплекса Bi-ТСМС не определялась, но можно предположить, что константы устойчивости комплекса будут сравнимы с Pb^{2+} ввиду схожей жёсткости этих катионов (таблица 1.2), а для более жёстких катионов РЗЭ, предпочитающих связь через карбоксильные группы, константы связывания с ТСМС значительно меньше, чем с DOTA, $\lg K(\text{La-ТСМС}) = 10,4$ [114]. Показано, что координационным полиэдром Pb^{2+} в комплексе с ТСМС так же как и в случае с DOTA является искажённая квадратная антипризма с пространством для локализованной неподелённой электронной пары (рисунок 1.16) [116].

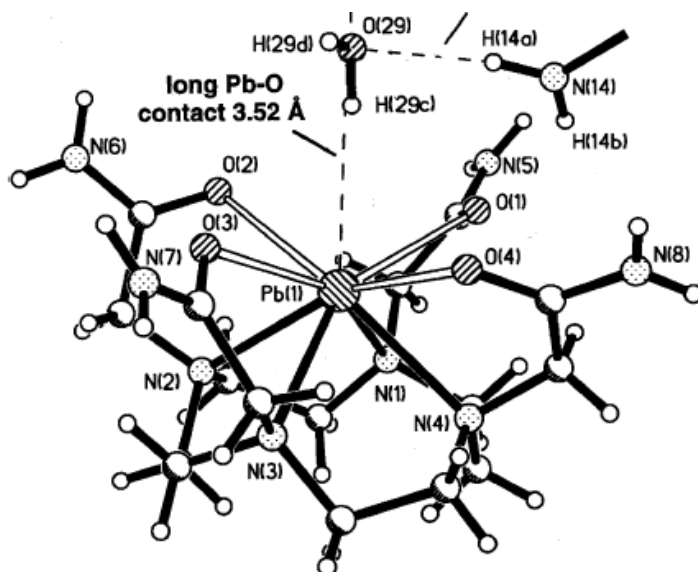


Рисунок 1.16 – Координационное окружение Pb^{2+} в комплексе с TCMC.

По сравнению с DOTA, TCMC легче синтезировать и проще количественно связать ^{212}Pb в конъюгат: при $37^{\circ}C$ за 30 мин связывается $>95\%$, а для DOTA в тех же условиях 60-80%. Быстрая кинетика образования комплекса может быть полезна для быстрого *in vivo* хелатирования высвобождаемого катиона Bi^{3+} , что невозможно для DOTA [52, 78, 79].

Другой хелатор DEPA (рисунок 1.17а) – макроцикл DOTA, в котором одна ацетатная группа заменена на аминодиацетатную – предоставляет 10 донорных атомов и менее жёсткий каркас, что приводит к эффективному связыванию Bi^{3+} (при pH4), ^{90}Y и ^{177}Lu (при pH5,5) в течение 5 минут при комнатной температуре [117, 118]. Термодинамических данных по константам устойчивости этих лигандов с катионами на данный момент нет. В [79] предполагается, что аналогично DOTA координационный полиэдр в этом комплексе – квадратная антипризма.

Слишком большое число донорных групп в DEPA для РЗЭ с небольшим ионным радиусом (К.Ч.9 $R(Y^{3+})=1,075\text{Å}$, $R(Lu^{3+})=1,032\text{Å}$ [57]) делает комплексообразование обратимым, что приводит к неустойчивости конъюгатов с моноклональными антителами: M^{3+} -3p-C-DEPA- trastuzumab (3p-C-DEPA – бифункциональная версия DEPA рисунок 1.17б) в сыворотке теряет 30-50% ^{90}Y , ^{177}Lu [119]. С этой точки зрения уменьшение числа донорных атомов должно увеличить стабильность комплексов: лиганд 3p-C-DE4TA (рисунок 1.17в) обладает 9 донорными атомами, и комплексы Y^{3+} и Lu^{3+} с 3p-C-DE4TA характеризуются высокой устойчивостью в сыворотке [118]. При этом ввиду большего радиуса более устойчивым оказывается комплекс с Y^{3+} .

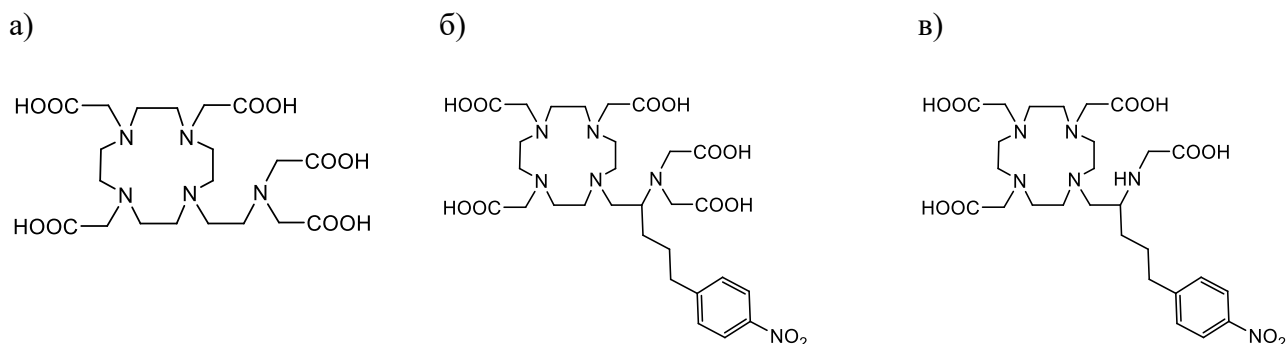


Рисунок 1.17 – Формулы а) DEPA; б) 3p-C-DEPA и в) 3p-C-DE4TA.

В отличие от P3Э для комплекса Bi-DEPA продемонстрирована высокая *in vitro* устойчивость комплекса в сыворотке в течение 14 суток [117], что подтверждается в экспериментах *in vivo*. На лабораторных животных было показано, что радиоактивность не аккумулируется в органах: максимально 2,44% в.д. в почках в первые полчаса и через 24 часа остаётся максимально 0,4% в.д. в почках и селезёнке. При дальнейшем конъюгировании с моноклональными антителами trastuzumab [120] было показано сохранение быстрой скорости комплексообразования (90,4% через 5 минут) и высокой кинетической устойчивости в сыворотке (100% в конъюгате после 72 часов выдерживания).

Эксперименты на лабораторных животных с привитым раком толстой кишки [121] показали одинаковое распределение $^{205/206}\text{Bi}$ в органах в составе $^{205/206}\text{Bi}$ -3p-C-DEPA-trastuzumab и $^{205/206}\text{Bi}$ -C-DOTA-trastuzumab и постепенное накопление радионуклидов в опухоли в течение 24 часов: опухоль 26-27% в.д., печень и почки 7-8% в.д, что говорит об одинаковой кинетической устойчивости комплексов с DEPA и DOTA.

Помимо DOTA исследуются аналогичные макроциклические лиганды с большей и меньшей краун-эфирной полостью: NOTA, PEPA, HENA.

Наименьший по размеру макроцикла хелатор – NOTA (рисунок 1.18а)– обладает только 6 донорными атомами для координации катиона, как и у ЭДТА. Однако константы устойчивости комплексов P3Э с NOTA на 2-3 порядка ниже, чем с ЭДТА [122]. Показано, что лёгкая группа P3Э (La-Gd) обладает приблизительно одинаковой устойчивостью $\lg K=13-14$, а далее по ряду P3Э происходит монотонное увеличение $\lg K(\text{M-NOTA})$ с тем же наклоном, что и у M-ЭДТА, соответственно увеличению плотности заряда на катионе. Лёгкие лантаноиды большего радиуса ввиду малого размера макроцикла не могут координироваться одновременно всеми и макроциклическими аминогруппами, и ацетатными группами, что приводит к наличию двух типов комплексов: пяти- и

шестидентатных. Сосуществование двух типов комплексов подтверждается методами ЯМР на ядрах ^1H и ^{13}C [123] и люминесцентной спектроскопии с разрешением по времени на Eu^{3+} [124].

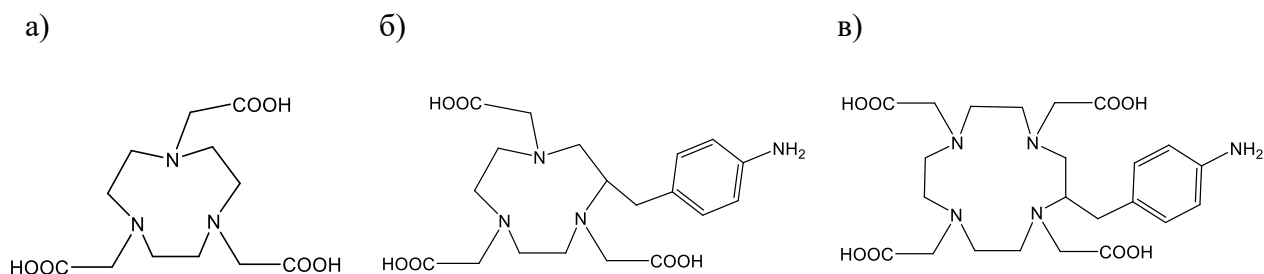


Рисунок 1.18 – Формулы а) NOTA; б) *p*-NH₂-Bn-NOTA и в) *p*-NH₂-Bn-DOTA.

Скорость образования/ диссоциации комплексов с NOTA так же, как и в случае с DOTA, обусловлена постепенным включением/ выходом катиона в/ из клетку/и между макроциклом и карбоксилатами [125].

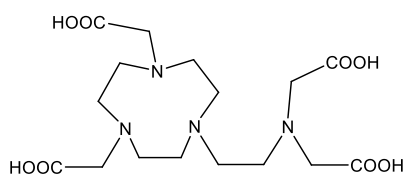
С другой стороны меньший размер полости способствует комплексообразованию с катионами Cu^{2+} ($\lg K(\text{Cu-NOTA})=21,6$ [126]) и получению РФП даже при комнатной температуре в течение 10 минут [127]. Анализ устойчивости в сыворотке комплексов $^{64}\text{Cu-p-NH}_2\text{-Bn-NOTA}$ и $^{64}\text{Cu-p-NH}_2\text{-Bn-DOTA}$ (рисунок 1.18б, в) показал, что через 48 часов первый сохраняет 98-99% радионуклида, а второй – 92%. Кроме того согласно экспериментам по биораспределению этих комплексов в организме здоровых мышей для комплекса с DOTA наблюдается накопление ^{64}Cu в печени и почках и медленный клиренс из них: 4-5% и 2-3,5% в.д./г в течение 24 часов – тогда как для NOTA за 24 часа в печени содержание падает на порядок 4,5→0,2%, а в почках 2,5→0,4% [128]. В связи с чем различные конъюгаты NOTA с моноклональными антителами и их фрагментами активно исследуются для радиоиммунноПЭТ-визуализации с помощью ^{64}Cu на лабораторных животных [129, 130]. Показано, что при введении антител, меченых ^{64}Cu через DOTA и NOTA, происходит одинаковое накопление в опухоли, но для NOTA наблюдается более быстрое выведение из здоровых органов [128, 131], что может свидетельствовать об отсутствии диссоциации комплексов с NOTA *in vivo*.

При введении дополнительных центров связывания в NOTA был получен лиганд **NETA** (рисунок 1.19а) [132] и его бифункциональная версия 3p-C-NETA. Увеличение дентатности сделало возможным образование устойчивых комплексов РЗЭ и Bi^{3+} с NETA

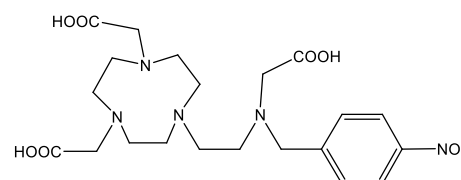
в сыворотке и *in vivo* [133]. Кинетика комплексообразования при 25°C составляет для Lu^{3+} - 20 минут, а для Bi^{3+} - 10 минут, когда для DOTA в тех же условиях требуется 1 час [134]. Эксперименты по биораспределению комплексов с NETA на здоровых мышах показывают быстрый клиренс из организма через почки, и отсутствие накопления ^{90}Y в костях в случае введения ^{90}Y -NETA [132, 133], что косвенно свидетельствует об отсутствии диссоциированного катиона Y^{3+} , который в свободном виде аккумулируется в костях [135]. При конъюгировании NETA с моноклональными антителами trastuzumab M^{3+} -3p-C-NETA-trastuzumab (рисунок 1.19г) не изменилась как кинетика комплексообразования: 95-99% ^{177}Lu , ^{90}Y и $^{205/206}\text{Bi}$ связано за 5 минут – так и устойчивость в сыворотке [119, 136].

При введении препарата ^{177}Lu -3p-C-NETA-trastuzumab в мышей с привитым раком

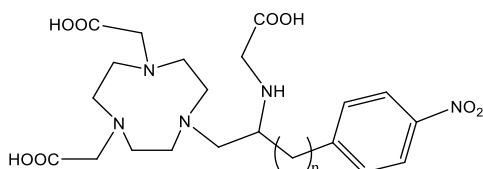
а)



б)



в)



г)

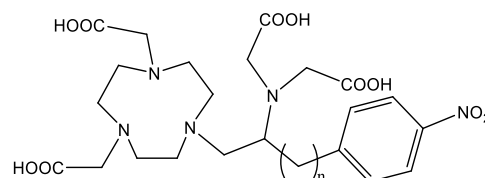


Рисунок 1.19 – Формулы лигандов: а) NETA; б) N-NE3ТА;

в) n=1 С-NE3ТА, n=3 3p-C-NE3ТА; г) n=3 3p-C-NETA, n=5 5p-C-NETA.

молочной железы наблюдается постепенное накопление радионуклида в опухоли с одновременным ее уменьшением в остальных органах и крови, однако максимальное содержание в опухоли составляет всего 10% в.д. [119]. Для улучшения средства конъюгированного RGD-пептида к рецепторам опухолевых клеток длина алкильной цепи ациклического участка NETA, используемого для ковалентного связывания с пептидом, была увеличена в лиганде **5p-C-NETA** [137] (рисунок 1.19г). *In vivo* распределение в мышцах с привитой глиобластомой подтвердило специфичность вводимого препарата ^{177}Lu -5p-C-NETA-RGD к опухолевым клеткам. Показано небольшое хотя и постоянное содержание радиоактивности (1-1,5% в.д.) в опухоли при монотонном уменьшении

содержания в почках 3→1% в.д. за 24 часа. Возможно, низкое содержание в опухоли связано с понижением удельной активности получаемого препарата: ^{177}Lu -5p-C-NETA-RGD 65 мКи/мг хелатора в то время как для ^{177}Lu -3p-C-NETA-RGD 482 мКи/мг хелатора, что авторы объясняют большей склонностью конъюгата с длинной алкильной цепочкой к агрегированию и, соответственно, уменьшению выхода мечения.

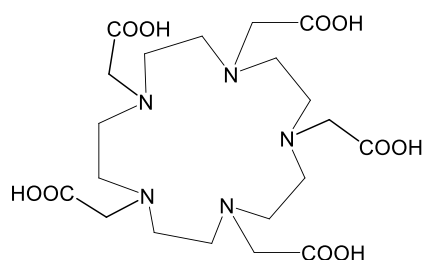
Если устойчивость *in vitro* комплексов Y^{3+} и Lu^{3+} с 3p-C-NETA одинаковая, то уменьшение числа донорных атомов в лиганде 3p-C-NE3TA (рисунок 1.19в) приводит к различной стабильности в сыворотке: через 7 дней 98% (Lu^{3+}) и 65% (Y^{3+}) связано в комплекс. Синтез комплексов РЗЭ с 3p-C-NE3TA при комнатной температуре требует длительного времени, причём, аналогично устойчивости в сыворотке, быстрее происходит хелатирование Lu^{3+} : через 60 мин в комплекс связано 95% Lu^{3+} и только 69% для Y^{3+} . Большая устойчивость комплекса с Lu^{3+} обусловлена его меньшим ионным радиусом, который подходит под макроцикл меньшего размера [118]. Несмотря на одинаково высокую стабильность комплексов с Lu^{3+} *in vitro* эксперименты по биораспределению в здоровых мышцах показывают, что при введении ^{177}Lu -3p-C-DE4TA и ^{177}Lu -3p-C-NE3TA происходит значительное накопление в печени 7-17% в.д., тогда как в параллельном эксперименте для ^{177}Lu -3p-C-NETA всего 1,5%.

Показано, что лиганды – аналоги NOTA – N-NE3TA и C-NE3TA (рисунок 1.19б, в) образуют с Cu^{2+} комплексы промежуточной между DOTA и NOTA стабильности *in vitro* и *in vivo*. Было показано [128], что комплексы ^{64}Cu -N-NE3TA и ^{64}Cu -C-NE3TA характеризуются схожей с ^{64}Cu -p-Bn-NH₂-DOTA и меньшей, чем у ^{64}Cu -p-Bn-NH₂-NOTA, кинетической устойчивостью в сыворотке: через 48 часов 4 и 9% диссоциировано в случае N-NE3TA и C-NE3TA, соответственно, в то время как для p-Bn-NH₂-DOTA – 8%, а p-Bn-NH₂-NOTA – 2%. В *in vivo* экспериментах также промежуточное накопление в почках и печени 1-2% через 24 часа (p-Bn-NH₂-DOTA – 2-4%, а p-Bn-NH₂-NOTA – 0,2-0,4%). Кроме того, для обогащённого оптически изомером (S)-C-NE3TA показано уменьшение содержания в почках и печени до 0,1-0,2% в.д./г через 24 часа [138]. Насколько известно, к настоящему моменту термодинамических констант устойчивости комплексов с NETA, NE3TA в литературе нет.

Для других аналогов DOTA: PEPA и HENA (рисунок 1.20) была определена термодинамическая устойчивость со всеми РЗЭ [80]. В обоих случаях с уменьшением катиона в ряду РЗЭ La→Lu увеличиваются значения $\lg K(\text{M-PEPA})=13,6\rightarrow 16,7$ и $\lg K(\text{M-HENA})=19,1\rightarrow 24,3$, видно, что комплексы с HENA проявляют аналогичную DOTA (таблица 1.2) устойчивость. HENA связывает катион в 100 раз быстрее DOTA, но в 10 раз

медленнее ДТРА, что является следствием сравнительно большей гибкости НЕНА по сравнению с ДОТА. Проведённое в [139] сравнение ациклических и макроциклических хелаторов для As^{3+} *in vivo* показало, что комплекс Ас-НЕНА характеризуется наиболее быстрым клиренсом из организма с наименьшим накоплением активности в печени и почках по сравнению с EDTA, ДТРА, СНХ-А''-ДТРА и ДОТА, однако при конъюгировании НЕНА с моноклональными антителами связывание As^{3+} ухудшается: через 24 часа менее 50% As^{3+} связано в комплекс [115].

а)



б)

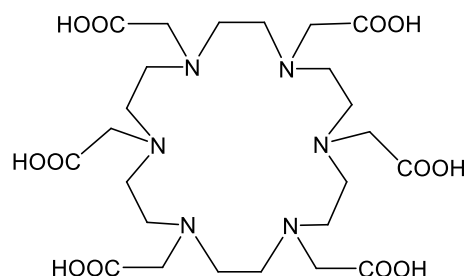


Рисунок 1.20 – Формулы а) РЕРА; б) НЕНА.

Кроме перечисленных аналогов ДОТА среди макроциклических лигандов нельзя не упомянуть лиганды Sarcophagine – бициклические аналоги циклама: SarAr, diamSar (рисунок 1.21) [79, 140]. Как было отмечено, проходящие в настоящее время клинические испытания РФП на основе ^{64}Cu содержат в качестве хелаторов ДОТА, ТЕТА, СВ-ТЕ2А, которые требуют повышенных температур для комплексообразования. В отличие от них Sar-лиганды характеризуются быстрой кинетикой образования комплексов (<2 мин при $pH > 3$ $1 \mu M Cu^{2+}$ и $1,1 \mu M$ лиганда [141]) при комнатной температуре с Cu^{2+} . Комплексы обладают кинетической устойчивостью *in vivo*: в печени накапливается менее 10% в.д./г в течение 30 минут, в почках – 20-30% в.д./г, из которых через 30 минут остаётся 7-8% (кроме Cu-Sar (нефункционализированный) наблюдалось накопление в почках до 50% при отсутствии клиренса по крайней мере в течение 30 минут).

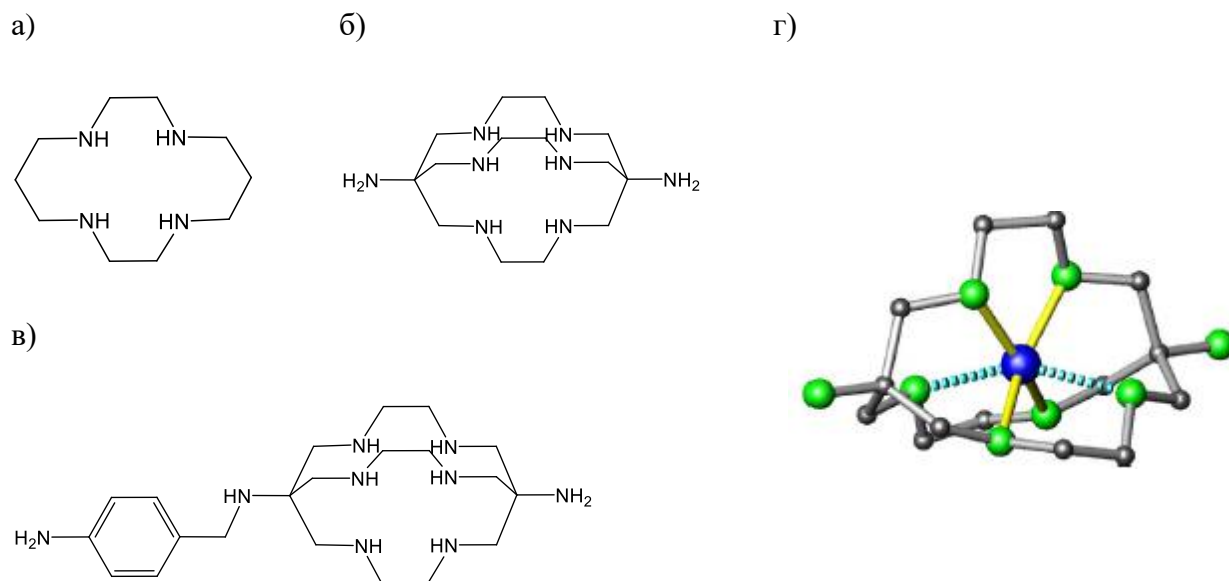


Рисунок 1.21 – Формулы циклама (а), diamSar (б), SarAr (в) и структура комплекса Cu-diamSar [142] (г).

Показано [143-145], что Sar-производные могут быть использованы в качестве БФХ для пептидов бомбезина и октреотида, при этом наблюдается высокое концентрирование радионуклида в раковой ткани 9-30% в.д./г по сравнению с другими РФП, содержащими ^{64}Cu -DOTA [146], ^{64}Cu -NOTA [147]. Повышенное накопление наблюдается в почках, что связывается с другим общим зарядом конъюгатов на основе Sar, так как последние в отличие от DOTA и NOTA представляют собой либо нейтральные молекулы, либо низкозарядные ионы [145]. В некоторых случаях наблюдается накопление РФП в поджелудочной железе [144]. Однако ввиду высокого накопления в опухоли и отсутствия клиренса наблюдается высокий контраст опухоль/фон при ПЭТ визуализации в течение даже 24 часов, тогда как для DOTA качество значительно ухудшается, так как содержание ^{64}Cu в опухоли уменьшается в 3 раза [145]. Кроме того для РФП на основе Sar не наблюдается накопление ^{64}Cu в печени, что говорит об отсутствии диссоциации Cu-Sar *in vivo*.

В структуре комплекса Cu-diamSar координационный полиэдр – искажённый октаэдр – получается тетрагональным искажением тригональной призмы вследствие эффекта Яна-Теллера, характерного для d^9 -конфигурации Cu^{2+} (рисунок 1.21г)[148].

Термодинамически комплексы с Cu^{2+} с лигандами Sar охарактеризованы не были, однако предполагается что $K(\text{Cu-diamSar})$ на несколько порядков больше константы устойчивости комплекса Cu^{2+} с цикламом $\lg K(\text{Cu-циклам})=27,2-28,1$, по аналогии с комплексом Hg-Sar, который на 3 порядка более устойчив, чем Hg-циклам [149].

1.3.2 Ациклические лиганды

ДТРА также как и DOTA образует устойчивые комплексы со многими катионами (таблица 1.2). При этом образование комплексов происходит в течение нескольких минут при комнатной температуре [79]. При сравнении хелаторов – аналогов DOTA и ДТРА в [95, 96] – показано, что хелатирование ДТРА и его производными СНХ-А-ДТРА, МХ-ДТРА происходит намного быстрее и наличие следовых примесных металлов (Ca^{2+} , Fe^{2+} , Zn^{2+}) оказывает минимальное влияние на процесс комплексообразования, в отличие от DOTA. Однако для комплексов с ДТРА характерна быстрая диссоциация в кислой среде, в присутствии сывороточных белков [96, 104, 150] и *in vivo*, что в дальнейшем приводит к накоплению несвязанных катионов Y^{3+} в костях [151], Cu^{2+} в печени [104] и Bi^{3+} почках [152]. Например, при сравнении *in vivo* меченых ^{206}Bi конъюгатов ДТРА и DOTA с моноклональными антителами было показано, что в поражённой ткани через час находится 9% в.д./г ^{206}Bi -ДТРА-mab и 90% в.д./г ^{206}Bi -DOTA-mab, в то время как в почках 80% и 12%, соответственно [152].

Координационный полиэдр при образовании комплексов с РЗЭ также, как и с DOTA – квадратная антипризма с шапочной молекулой воды (рисунок 1.22а), а в случае с Bi^{3+} наблюдается отличие: с ДТРА в зависимости от противоиона образуется либо квадратная антипризма (рисунок 1.22б) [153] для $[\text{BiH}_2\text{ДТРА}\cdot 2\text{H}_2\text{O}]$, причём одно координационное место из 8 занято атомом кислорода соседней молекулы, либо квадратная антипризма с дополнительным атомом кислорода соседней молекулы в $(\text{CH}_6\text{N}_3)_2[\text{Bi}(\text{ДТРА})]\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ [154] или шапочной молекулой воды в $\text{M}[\text{Bi}(\text{HDТРА})]\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ [155]. В [153] предполагается, что поскольку в координации Bi^{3+} участвуют соседние молекулы, а в растворе межмолекулярные взаимодействия гораздо слабее, то вследствие появления открытого координационного места комплекс становится лабильным. С Cu^{2+} образуется искажённый октаэдр и две карбоксильные группы не участвуют в хелатировании (рисунок 1.22в) [156], аналогично DOTA.

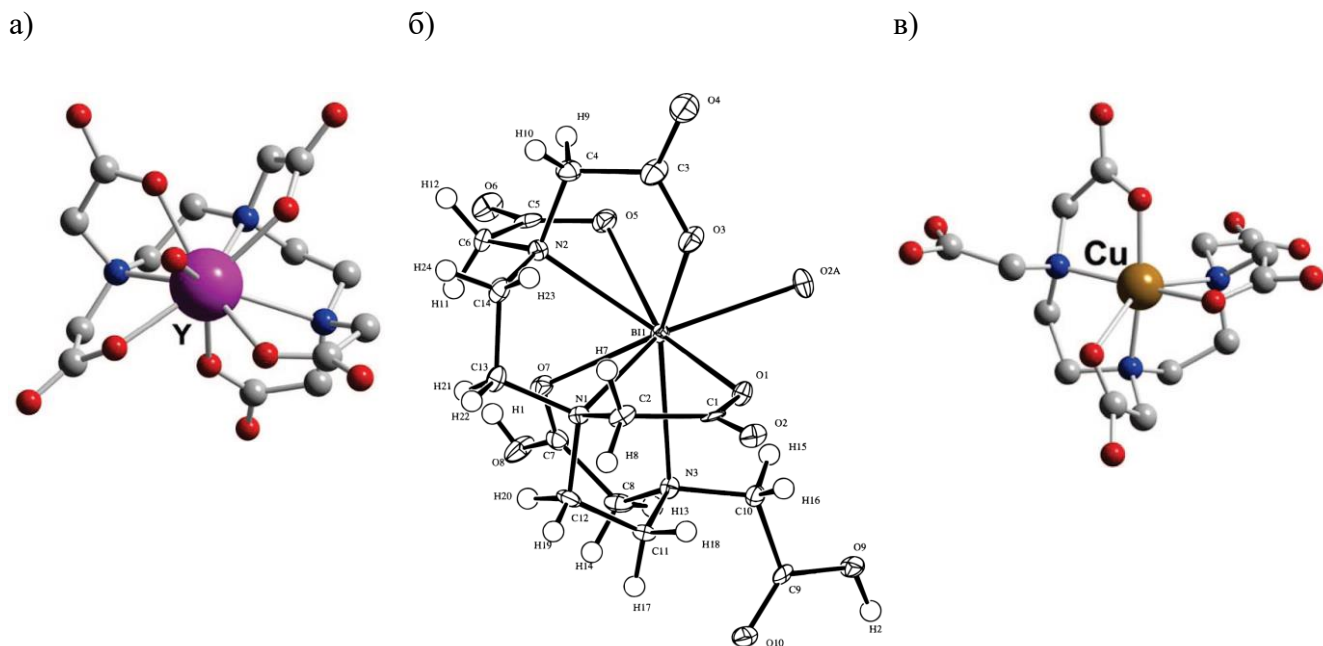


Рисунок 1.22 – Структуры комплексов: а) Y-DTPA; б) Bi-DTPA [153]; в) Cu-DTPA [156, 157].

Для уменьшения скорости диссоциации комплексов с ДТРА были разработаны различные его производные (рисунок 1.23) введением в структуру метильных и циклогексильных фрагментов для обеспечения предорганизованности структуры [151, 158, 159]. Систематических данных по термодинамической устойчивости комплексов с производными ДТРА найти в литературе не удалось, что может быть связано с отсутствием отличия в $\lg K(ML)$ между ДТРА и его производными, например, $\lg K(\text{Bi-CHX-A}'\text{-DTPA})=34,9(4)$ [82] и $\lg K(\text{Y-CHX-DTPA})=24,2$ [160].

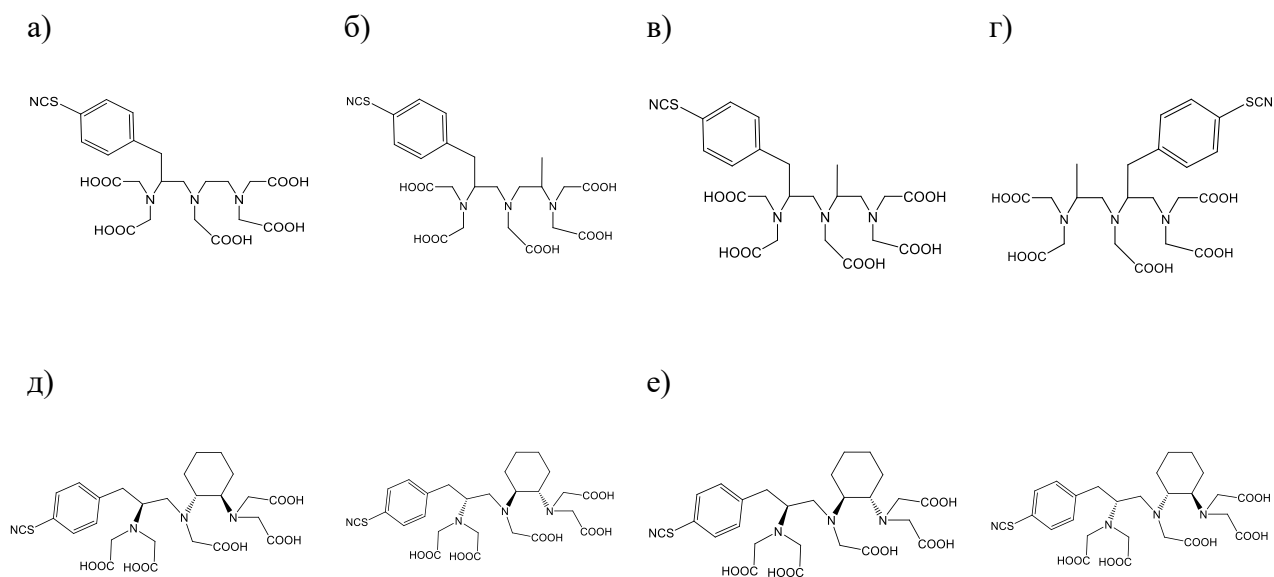


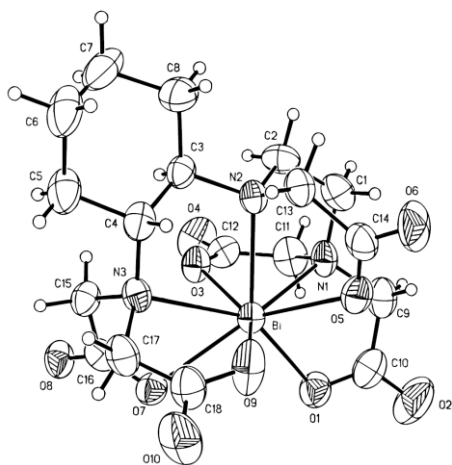
Рисунок 1.23 – Формулы функционализированных производных ДТРА: а) 1В-ДТРА (tiuxetan); б) 1В4М-ДТРА; в) 1В3М-ДТРА; г) 1М3В-ДТРА; д) СНХ-А-ДТРА; е) СНХ-В-ДТРА.

Показано, что при хелатировании катионов РЗЭ и Bi^{3+} СНХ-ДТРА демонстрирует значительно большую устойчивость, чем ДТРА и даже чем 1В4М-ДТРА (tiuxetan), используемый в Zevalin® [151, 158, 159]. В кислой среде при pH2 диссоциирует 30% комплекса ^{90}Y -СНХ-ДТРА через 1 день, тогда как для ^{90}Y -ДТРА- 80% [95]. В экспериментах по биораспределению *in vivo* ^{206}Bi -СНХ-ДТРА накопление в почках составляло 8-9% в.д./г через 6 часов после введения [159], что согласуется с данными для Y^{3+} [151], в то время как с остальными производными 13-30% в.д./г.

Высокая устойчивость комплексов Bi -СНХ-ДТРА согласуется со структурными данными [153]: координационный полиэдр квадратная антипризма (рисунок 1.24), причём все 8 мест заняты одной молекулой СНХ-ДТРА в отличие от комплексов Bi -ДТРА, описанных выше.

Исследование по сравнению условий получения и устойчивости *in vitro* и *in vivo* комплексов ^{90}Y с DOTA, СНХ-А'-ДТРА, ДТРА [161] подтвердило, что самым удобным по всем параметрам: эффективность связывания радионуклида, устойчивость комплексов в присутствии других катионов и в сыворотке, а также по распределению *in vivo* является СНХ-А'-ДТРА. Он сохраняется на 96% в сыворотке в течение 24 часов, 80-100% в присутствии 1000-кратного избытка Fe^{3+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} и Ca^{2+} , тогда как в аналогичных условиях DOTA только 30-40%.

а)



б)

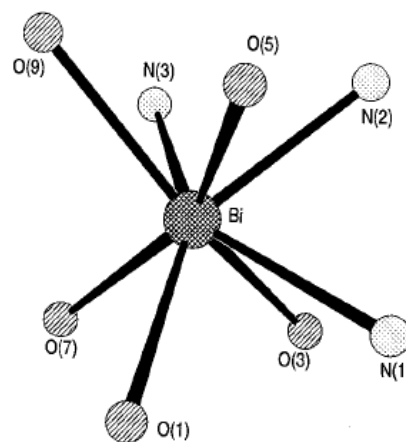


Рисунок 1.24 – Структура $[\text{Bi}(\text{CHX-DTPA})]^{2-}$ (а) и координационный полиэдр Bi в комплексе (б).

Однако с катионами Cu^{2+} СНХ-А'-ДТРА так же, как и ДТРА образует комплексы низкой устойчивости [104] в сыворотке 50% и 38% через 24 и 48 часов, соответственно.

Молекула СНХ-ДТРА может быть представлена двумя энантиомерами СНХ-А-ДТРА и СНХ-В-ДТРА, а в случае функционализации $p\text{-NO}_2\text{-Bn}$ ДТРА является диастереомером и обладает 4 возможными оптическими изомерами (рисунок 1.23д, е). Показано, что комплексы РЗЭ с СНХ-А-ДТРА (СНХ-А', СНХ-А'') и СНХ-В-ДТРА (СНХ-В', СНХ-В'') характеризуются различной кинетической стабильностью как *in vitro*, так и *in vivo* [151, 159, 160, 162], причём внутри групп СНХ-А и СНХ-В поведение комплексов не отличается: диссоциация в сыворотке комплекса $^{88}\text{Y-CHX-A-DTPA}$ 0,3%/день, а $^{88}\text{Y-CHX-B-DTPA}$ 1,3%/день, что приводит к накоплению ^{88}Y в кости для СНХ-В 4-22% в.д./г и СНХ-А 2-5% в.д./г в течение 7 суток [162]. При этом значения термодинамических констант устойчивости РЗЭ с изомерами практически не отличаются: $\lg K(\text{Y-CHX-A-DTPA})=24,7$, $\lg K(\text{Y-CHX-B-DTPA})=24,4$ [160].

В случае $^{206}\text{Bi-CHX-DTPA}$ отличия между распределением радиоактивности для комплексов с изомерами замечено не было [159], кроме того было показано, что оба комплекса (с СНХ-А и СНХ-В) остаются в конъюгате с моноклональными антителами в течение по крайней мере 6 часов, что составляет 6 периодов полураспада для ^{212}Bi [158].

Таким образом, для СНХ-ДТРА важна энантиомерная чистота лиганда. Если для синтеза РФП использовать рацемат, то значительная доля комплекса будет

диссоциировать существенно быстрее *in vivo*, что дальше может приводить к нежелательному биораспределению [79].

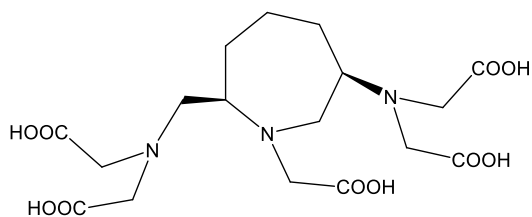
Однако медленная кинетика диссоциации комплексов с СНХ-ДТРА (off rate) связана с небольшой скоростью связывания (on rate), аналогично ДОТА. В связи с чем синтезы биоконъюгатов на основе СНХ-ДТРА проводят в течение 30-60 минут при повышенных температурах (таблица 1.4).

Таблица 1.4 – Условия синтеза конъюгатов ^{86}Y на основе СНХ-ДТРА

конъюгат	Условия синтеза		литература
^{86}Y -СНХ-А''-ДТРА-mab	pH7, NH_4OAc	Комн темп-ра, 30 мин	[163]
^{88}Y -СНХ-А''-ДТРА-В3(mab)	pH6, NH_4OAc	Комн темп-ра, 30 мин	[162]
^{86}Y -СНХ-А''-ДТРА-Panitumumab	pH7, NH_4OAc	Комн темп-ра, 30 мин	[164]
^{86}Y -СНХ-А''-ДТРА-mab	pH5,6, NH_4OAc	Комн темп-ра, 1 час	[165]
^{86}Y -СНХ-А''-ДТРАReCCMSH(Arg11)	pH5,5, NH_4OAc	75°C, 30 мин	[166]

Помимо СНХ-ДТРА были исследованы производные ДТРА с другими циклическими хелаторами PIP-ДТРА и AZEP-ДТРА (рис. 1.25) [167]. Из исследованных комплексов с Y^{3+} , Lu^{3+} , Bi^{3+} и Pb^{2+} с PIP-ДТРА, AZEP-ДТРА наименьшей устойчивостью в сыворотке обладает Y -AZEP-ДТРА: 32% диссоциировано за 11 суток тогда как остальные сохраняют свою устойчивость, что приводит к накоплению соответствующего радионуклида в костях до 10% (^{86}Y -AZEP-ДТРА) и в почках 10% (^{203}Pb -AZEP-ДТРА) и 15% (^{206}Bi -AZEP-ДТРА).

а)



б)

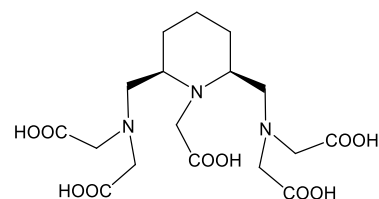


Рисунок 1.25 – Формулы а) AZEP-ДТРА; б) PIP-ДТРА.

Ввиду неоднозначности выбора хелатора для РФП проводятся исследования по прямому *in vivo* сравнению ациклических и макроциклических лигандов в конъюгатах с моноклональными антителами [168-170], где показано, что DOTA СНХ-А-ДТРА характеризуются наибольшей кинетической устойчивостью по сравнению с остальными функционализированными производными ДТРА [96, 160].

Заключение из литературного обзора

Для использования РФП в онкологии необходимо осуществлять таргетную доставку в поражённые ткани, которая должна быть основана на естественном метаболизме организма. Например, используются низкомолекулярные фосфор-содержащие РФП и аналоги Ca^{2+} в ионной форме аккумулируются в костях, восстановление Cu^{2+} и её концентрирование в гипоксических опухолевых клетках, специфичные моноклональные антитела, а также пептиды, рецепторы на которые активно вырабатываются пролиферирующими клетками опухолей.

Различные типы и энергии излучений определяют необходимость и возможность использования того или иного радионуклида или их комбинации в отношении новообразований разного размера, плотности и локализации. Ввиду малой длины свободного пробега и, как следствие, высокой линейной передачи энергии, характерных для альфа-частиц, широко исследуется возможность использования альфа-излучателей для направленной терапии злокачественных образований. На данный момент наиболее исследуемым альфа-излучателем является ^{213}Bi , один из продуктов распада ^{225}Ac , который и сам может быть использован для терапии, а также ^{212}Bi , пролонгированное действие которого может быть обеспечено введением материнского ^{212}Pb в организм в составе РФП. Кроме того, используемые в настоящее время при лечении лимфомы и нейроэндокринных опухолей РФП на основе бета-излучателей ^{90}Y и ^{177}Lu являются эффективными при лечении опухолей больших размеров или характеризующихся неоднородностью. Среди радионуклидов редкоземельных элементов много претендентов для терапии, которые уже используются или проходят клинические и доклинические испытания. Кроме того, направленная доставка диагностических позитрон-излучающих радионуклидов, например ^{64}Cu , значительно улучшает возможности визуализации поражённых тканей.

С другой стороны, в связи с высокой токсичностью альфа излучения, попадание альфа-излучателей в здоровые клетки может привести к значительному негативному эффекту, а для бета-излучателей с большим пробегом всегда существует вероятность

повреждения здоровых тканей, особенно в этом случае страдает костный мозг, что значительно ослабляет его кроветворную функцию. Поэтому основной проблемой при создании РФП является образование устойчивого конъюгата между радионуклидом и биологическим вектором: пептидами или моноклональными антителами, имеющими сродство к опухолевым клеткам. Для этого широко исследуются макроциклические и ациклические полиаминополикарбоксилаты. Однако используемые на данный момент лиганды характеризуются либо медленной кинетикой связывания, что критично для короткоживущих медицинских нуклидов, либо высокой скоростью диссоциации комплекса. В обоих случаях кинетика образования комплекса коррелирует с его структурой: в случае DOTA жёсткая структура макроцикла претерпевает перестройку при комплексообразовании, что и увеличивает время связывания, но образующийся комплекс обладает высокой кинетической инертностью *in vivo*. Для ациклического ДТРА характерен низкий кинетический барьер как при образовании, так и при диссоциации комплекса, что приводит к накоплению свободного катиона в костях (Y-90, Lu-177, Pb-212), почках (Bi-213) или печени (Cu-64), либо свободные катионы могут быть захвачены сывороточными белками и циркулировать в кровеносном русле. Химия РФП напрямую сопряжена с использованием следовых количеств используемых компонентов, в связи с чем важна высокая термодинамическая устойчивость комплексов радионуклид-хелатор, которая влияет на удельную активность получаемых конъюгатов: кроме меченого вводится значительное количество «холодного» вектора, который составит конкуренцию РФП при соединении с целевыми клетками. Кроме того, не все биологические векторы выдерживают повышенные температуры синтеза.

В настоящее время исследуются различные модификации DOTA и ДТРА, для чего используют функционализированное удлинение карбоксилатных фрагментов, что ускоряет скорость связывания в DEPA и NETA по сравнению с DOTA и NOTA, соответственно, а также введение жёсткого циклогексильного фрагмента в ДТРА для повышения кинетической устойчивости комплексов, за счёт пространственной предорганизации молекулы лиганда. Кроме того, ввиду разных химических свойств катионов медицинских радионуклидов: ионный радиус, К.Ч., степень окисления – подбираются и тестируются разные производные и аналоги DOTA и ДТРА с различным числом донорных атомов. На данный момент наиболее перспективными представляются DEPA, NETA, Sar-лиганды и СНХ-ДТРА.

В связи с чем проведённое в данной работе исследование комплексообразования новых аза-краун эфиров, содержащих жёсткий арильный фрагмент, с катионами медицинского назначения представляется закономерным.

2 Экспериментальная часть

2.1 Приготовление рабочих растворов

$Y(NO_3)_3 \cdot 5H_2O$, $Lu(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$, $La(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$, $Eu(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$, $Bi(NO_3)_3 \cdot xH_2O$, $Pb(NO_3)_2$, $Cu(ClO_4)_2 \cdot 6H_2O$ (Aldrich), $HClO_4$, 70% водный раствор (Aldrich), KNO_3 , $NaClO_4$, $NaOH$, конц. HCl (Химмед) были использованы без дополнительной очистки.

^{225}As был предоставлен НИФХИ им. Л.Я. Карпова (Троицк), рабочий раствор приготовлен в 0,01М $HClO_4$.

0,1 М растворы $Y(NO_3)_3$, $Lu(NO_3)_3$, $Eu(NO_3)_3$, 1М KNO_3 , 1М $NaClO_4$, 0,01М растворы лигандов, 0,5М MES (морфолиноэтансульфоновая кислота) были приготовлены в деионизованной воде (18,2 МΩ). Все лиганды были синтезированы в ИНЭОС РАН в лаборатории фотоактивных супрамолекулярных систем, рук. д.х.н., проф. Фёдорова О.А.

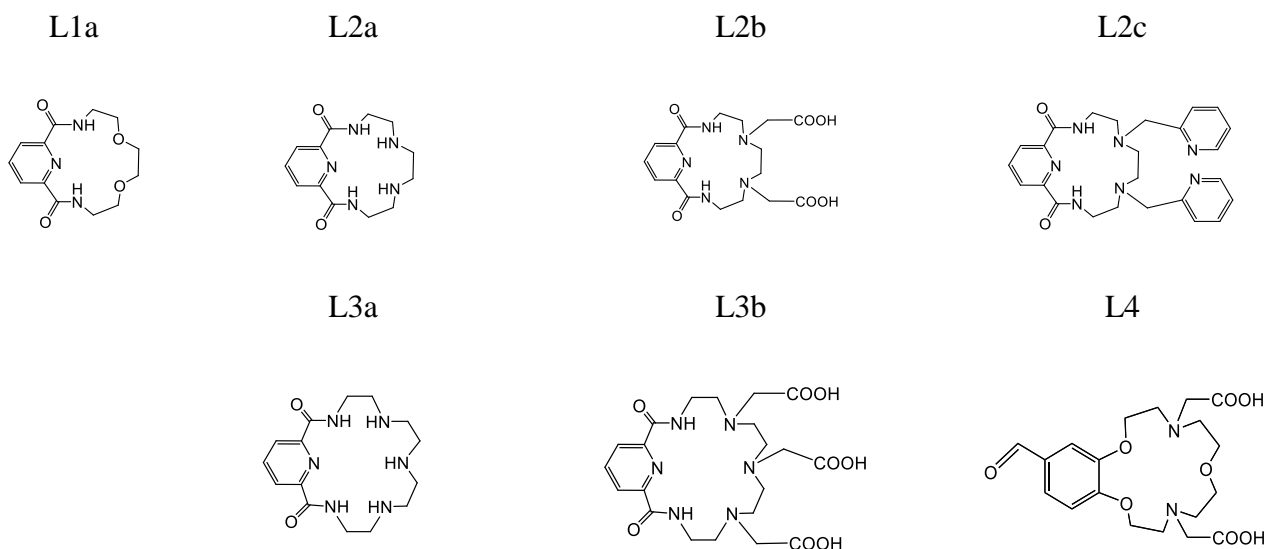


Рисунок 2.1 – Формулы исследуемых в данной работе лигандов.

$Bi(NO_3)_3 \cdot xH_2O$ был прокалён при $500^\circ C$ и растворён в концентрированной $HClO_4$. Растворы солей были стандартизованы путем комплексометрического титрования с ЭДТА, с использованием ксиленолового оранжевого в качестве индикатора.

0,1 М раствор $NaOH$ в деионизованной воде (18.2 МΩ) был стандартизован потенциометрически по 0,1Н $H_2C_2O_4$.

0,1 М раствор $HClO_4$ был приготовлен разбавлением её 70% водного раствора и стандартизован по раствору $NaOH$.

Раствор МТТ (тетразолиевый краситель 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолиум бромид) с концентрацией 5 мг/мл готовили в 0,9% растворе NaCl.

2.2 Потенциометрическое титрование

Для потенциометрического титрования был использован автотитратор Titrando 808, оснащенный 10 мл/ 20 мл автобюреткой и комбинированным стеклянным электродом Cole-Parmer (60061)/ Metrohm (60262100). Температура в ячейке для титрования поддерживалась равной $25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$ с помощью термостата Cole-Parmer.

Комбинированный стеклянный электрод калибровался путем титрования предварительно стандартизованного раствора HClO_4 раствором NaOH с известной концентрацией и расчёта точки эквивалентности по методу Грана, что позволило определить значения стандартного потенциала электрода и крутизну электродной функции. Ионное произведение воды в 0,1 М растворе $\text{KNO}_3/\text{NaClO}_4$ $pK_w=13,78$ не варьировалось.

Эксперименты по потенциометрическому титрованию проводились в стеклянной ячейке с 20 мл раствора, содержащего $8 \div 10 \cdot 10^{-4}$ М лиганда L, $5 \div 6 \cdot 10^{-3}$ М HClO_4 и 0,1М KNO_3 для определения констант протонирования лиганда в качестве титранта использовали $9,4 \div 9,8 \cdot 10^{-2}$ М раствор NaOH. Титрование проводили в интервале pH $2,5 \div 10,5$: значение э.д.с. электрода измерялось после добавления порций по 0,03 мл стандартного раствора NaOH, равновесие считали установленным, если изменение потенциала составляло $\Delta E < 0,2$ мВ/мин. Константы протонирования лиганда были рассчитаны с использованием программы Hyperquad2003 [171].

2.3 Определение констант устойчивости комплексов

В зависимости от физических и химических свойств катиона, его способности к образованию нерастворимых гидроксокомплексов были использованы следующие способы определения констант устойчивости комплексов:

Потенциометрическое титрование

Титруемый раствор помимо лиганда содержал $8 \div 10 \cdot 10^{-4}$ М $\text{Y}(\text{NO}_3)_3$, $\text{La}(\text{NO}_3)_3$, $\text{Eu}(\text{NO}_3)_3$, $\text{Lu}(\text{NO}_3)_3$, $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2$. Максимальное время ожидания установления равновесия было равно 5 мин и достигалось только в областях pH осаждения гидроксокомплексов металлов. Эти экспериментальные точки были исключены из рассмотрения при расчете констант устойчивости. Значения констант устойчивости

комплексов ML , $ML(OH)_n$ также были рассчитаны с использованием программы Hyperquad2003[171]. При расчёте значений констант устойчивости комплексов константы протонирования лиганда и константы гидролиза соответствующих катионов [58] были фиксированы и не уточнялись.

Жидкостная экстракция катионов Bi^{3+} , сорбция катионов Y^{3+} , Ac^{3+} , Eu^{3+}

Использованный метод основан на извлечении свободного катиона из системы с помощью сорбента (экстрагента), при этом комплекс и свободный лиганд остаются в исходном водном растворе.

Водные растворы солей нитратов и перхлоратов с концентрацией $1 \cdot 10^{-8} M$ (Bi^{3+}), $1 \cdot 10^{-6} M$ ($P3Э^{3+}$) готовили при фиксированном значении pH и содержании лиганда $c(L)=0 \div 1 \cdot 10^{-3} M$. В качестве фонового электролита использовали $0,1 M NaClO_4$, для поддержания при сорбции постоянного значения pH использовали раствор $0,1 M MES$.

Для экстракционных экспериментов $0,01 M$ раствор Д2ЭГФК в толуоле предварительно уравнивали с раствором $0,1 M NaClO_4$ при pH 3.1 или 4.2, что позволяло не использовать pH-буферы при экстракционных экспериментах, для pH 5 насыщение проводили в присутствии $0,1 M MES$.

Концентрации катионов в растворе контролировали методом радиоактивных индикаторов с использованием гамма-спектрометрии (Гамма-спектрометр с полупроводниковым детектором из сверхчистого германия, Canberra) ^{207}Bi (линия 570 кэВ), ^{152}Eu (121 кэВ), ^{225}Ac по его дочерним нуклидам ^{221}Fr (218кэВ) и ^{213}Bi (440кэВ) и жидкостно-сцинтилляционной спектрометрии (TriCarb 2700TR, Canberra Packard Ind., США) ^{90}Y .

Выделение ^{90}Y проводили непосредственно перед экспериментом из раствора ^{90}Sr с использованием хроматографической смолы Sr-resin (Triskem inc.) [172].

Для экспериментов с ^{225}Ac использовали растворы катионов с удельной активностью 70Бк/мл.

Осаждение нерастворимых соединений висмута при pH 5,9, 6,7, 7

Данный метод основан на том факте, что при комплексообразовании в растворе, образование малорастворимых гидроксидов уменьшается. При этом количество свободного катиона в растворе однозначно связано с pH через ПР.

Растворы, содержащие $Bi(ClO_4)_3$ с концентрацией $1 \cdot 10^{-6} M$ при pH 5,9, 6,7, 7 и ионной силе $0,1 M NaClO_4$ и лиганд, концентрация которого варьировалась от $3 \cdot 10^{-8} M$ до $1 \cdot 10^{-3} M$, выдерживались в течение 2 суток. По 1,2 мл каждого из растворов центрифугировалось в течение 1 часа при 31000g после чего раствор отделялся от осадка.

В отсутствие лиганда наблюдалось осаждение 99% катионов висмута, а при увеличении концентрации лиганда в растворе степень осаждения катионов уменьшалась.

Флуориметрия

Метод спектрофлуориметрического титрования был применен для определения констант устойчивости лиганда L4 с катионами Eu^{3+} . Известно, что флуоресценция катионов Eu^{3+} определяется электронными переходами с уровня $^5\text{D}_0$ на нижележащие электронные уровни $^7\text{F}_j$. Спектры флуоресценции свободных катионов малоинтенсивны, что связано с запретом по четности, однако в комплексах с органическими лигандами интенсивность флуоресценции Eu^{3+} может быть значительно повышена в результате переноса энергии от возбужденного лиганда на катионы европия.

Водные растворы Eu^{3+} готовили при фиксированном pH 6,5, концентрации катиона $c(\text{Eu}^{3+})=5 \cdot 10^{-5} \text{ М}$ и варьировании содержания лиганда $c(\text{L})=1 \cdot 10^{-5} \div 2 \cdot 10^{-3} \text{ М}$. В качестве фонового электролита использовали 0,1М NaClO_4 , для поддержания pH использовали раствор 0,1М MES при pH 6,5.

Возбуждение люминесценции Eu^{3+} проводили при $\lambda=394\text{ нм}$. Прибор Fluoromax 4 фирмы Jobin Ivon, ширины щелей на возбуждение и регистрацию 5 и 5 нм, соответственно, регистрация осуществлялась с шагом 1 нм, время измерения каждой точки 0,1 сек.

2.4 Спектроскопия в УФ-видимом диапазоне спектра

Изменение спектра поглощения лиганда при добавлении катиона может дать информацию об участии тех или иных групп атомов в комплексообразовании. Спектры поглощения были записаны в диапазоне 190-400 нм. Растворы лигандов и комплексов для УФ-видимой спектроскопии поглощения готовили при pH 6,5 и 0,1М NaClO_4 . Соотношение лиганда и катиона было подобрано с учётом коэффициента экстинкции лиганда и отсутствия нерастворимых гидроксидов катионов.

Для сравнения скорости связывания лигандом катиона с H_4DOTA и H_5DTPA был использован краситель Арсенazo III, с которым катионы РЗЭ и Bi^{3+} образуют окрашенные комплексы (максимум поглощения при 657нм), при добавлении лиганда ввиду образования комплекса ML интенсивность поглощения MAрсенazoIII падает [117]. Таким образом, по уменьшению интенсивности поглощения при длине волны 657 нм можно судить о длительности образования ML.

2.5 Исследование структуры

Флуоресцентная спектроскопия с временным разрешением (TRLIFS)

Как уже было отмечено в разделе 2.3, с добавлением лиганда ввиду изменения координационной сферы катиона интенсивность его люминесценции увеличивается за счёт уменьшения эффективного рассеяния молекулами воды гидратной оболочки. Использование время разрешённого детектирования люминесценции европия позволяет определить время жизни возбуждённого состояния Eu^{3+} , которое напрямую связано с числом молекул воды в ближайшем окружении катиона [173].

Измерения флуоресценции проводились с использованием импульсного излучения третьей гармоники Nd:YAG лазера (длина волны возбуждающего излучения - 355 нм, длительность импульса излучения - 10 нс, энергия одного импульса – 0,3 мДж, диаметр пучка – 3 мм, частота повторения импульсов - 10 Гц) и камерой со стробируемым усилителем яркости (со временем накопления в каждой точке кинетики около 9 с), закрепленной на монохроматоре, в который с помощью оптоволоконного кабеля направлялась люминесценция от образца.

Спектроскопия протяжённой тонкой структуры рентгеновского поглощения (EXAFS)

Измерения рентгеновского поглощения для L_3 края Bi^{3+} проводили на станции структурного материаловедения на Курчатовском источнике синхротронного излучения. Кинетическая энергия электронов в накопительном кольце «Сибирь-2» составляла 2,5 ГэВ при токе 50-80 мА. В качестве монохроматора для выходящего из накопительного кольца рентгеновского излучения использовался монокристалл Si (111). Спектры поглощения регистрировались при комнатной температуре во флуоресцентном режиме. Интенсивность входящего луча контролировали с помощью ионизационной камеры, заполненной аргоном, а в качестве флуоресцентного детектора использовали кремниевый лавинный фотодиод, расположенный в нескольких мм от образца перпендикулярно падающему пучку. Калибровка по энергии проводилась с использованием спектра металлического висмута, для которого энергия L_3 -края поглощения принималась равной 13419 эВ.

Квантово-химический расчёт

Моделирование геометрии комплексных соединений проводилось в два этапа: первый в программе MOPAC2012 [174] с полуэмпирическим гамильтонианом PM7 [175], зарядовая модель SPARKLE [176] для Eu^{3+} . Дополнительным условием ставилась

симметрия изменения длин одинаковых связей в лиганде. Оптимизированная геометрия далее уточнялась в программе ORCA методом теории функционала плотности (DFT) с гибридным функционалом BLYP (B3LYP для комплексов Bi^{3+}) и базисным набором Ahlrichs-TZV [177] и эффективным потенциалом ядра (ECP) Ahlrichs-TZV для Eu^{3+} [178].

2.6 Определение радиационной устойчивости

Для оценки влияния γ -излучения на лиганды использовали контейнер-облучатель « γ -400» с неподвижным радиоизотопным источником излучения. В контейнере размещено 15 закрытых источников Cs-137 с активностью $1,25 \cdot 10^{12}$ Бк (на апрель 1980 г.). Источники располагаются по кругу: в центре на высоте 10-20 мм мощность дозы составляет ~ 5 рад/с или 3Гр/мин.

Образцы – водные растворы лигандов ($c=2 \cdot 10^{-5}$ М) в микроцентрифужных пробирках (высота 20 мм) – помещали в центр. Накопление дозы достигалось за счёт времени экспозиции: 90Гр – 30 мин, 330Гр – 110 мин, 4300Гр – 1 сутки.

Конечные растворы анализировались методами масс-спектрометрии с ионизацией электроспреем (Масс-спектрометр с октопольным ионным масс-анализатором Finnigan LCQ Advantage) и масс-спектрометрией матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (МАЛДИМС)

2.7 Определение цитотоксичности

В данной работе в качестве биологического материала использовались две постоянные клеточные линии HL-60 и MOLT-4. Обе линии во время роста находились в специальных пластиковых флаконах (площадь флаконов 75 см^2 , антибактериальный фильтр) с 20 мл питательной среды RPMI 1640 (Roswell Park Memorial Institute medium), содержащей 10% эмбриональной коровьей сыворотки. Все флаконы находились в инкубаторе: 37°C , содержание CO_2 в воздухе 5%. Рост клеток происходил в течение 3-4 дней. Затем часть суспензии клеток отбиралось на исследование, а во флаконы доливалось до 20 мл полной среды (среда RPMI 1640 + 10% эмбриональной коровьей сыворотки + 1% L-глутамин).

Взятая для анализа суспензия клеток центрифугировалась при 1200 об/мин в течение 5 минут. Затем клеточный осадок разбавлялся полной средой для тестов (RPMI 1640 + 1% пенициллин и стрептомицин + 1% L-глутамин + 20% коровьей сыворотки) и производился подсчёт клеток в камере Фукса-Розенталя. Для этого 10 мкл полученной в полной среде для тестов суспензии добавлялись к 190 мкл реактива для подсчёта

лейкоцитов. После подсчёта количества клеток N в нужных квадратах камеры, концентрация клеток $c_{\text{кл}}$ в исходной суспензии вычислялась по формуле:

$$c_{\text{кл}} = \frac{N \cdot 20}{3200} \cdot 10^6 \text{ кл/мл}$$

Затем объём суспензии доводился до необходимого количества путем разбавления полной средой для тестов, и опять производился подсчёт клеток в новом растворе.

Определение выживаемости клеток проводили методом МТТ-теста, описанном в [179]. Все живые клетки, обладающие митохондриями, способны преобразовывать тетразолиевую соль МТТ в кристаллы формазана. Кристаллы формазана нерастворимы в воде, но хорошо растворимы в органических растворителях. Раствор кристаллов формазана хорошо поглощает свет при длине волны 550 нм, используемые лиганды в видимой области не поглощают. Измеряя поглощение при 550 нм, можно количественно оценить содержание формазана в растворе, и далее количество живых клеток. Пропорциональность оптической плотности при 550 нм и числом живых клеток при определённых концентрациях клеток и МТТ была показана в [179].

Для экспериментов использовались растворы лигандов в полной среде для тестов. В лунки планшета заливалось по 20 мкл препарата в разных концентрациях, далее добавлялось 80 мкл клеток с заранее рассчитанной концентрацией так, чтобы в итоге во всех лунках было одинаковое количество 200-50000 клеток. Каждая точка по концентрации лиганда повторялась трижды. В качестве нулевой точки вместо раствора лиганда использовали 20 мкл полной среды для тестов. Далее планшеты помещались в инкубатор. Через 3-4 дня во все лунки добавлялось по 10 мкл раствора МТТ, и планшеты снова помещались в инкубатор на 6 часов. Затем во все лунки добавляли по 100 мкл растворителя для растворения формазана, выдерживали 10 часов и измеряли оптическую плотность на длине волны 550 нм с помощью планшетного спектрофотометра (Microplate Reader, model 550, Bio-Rad).

3 Результаты и обсуждение

3.1 Протонирование лигандов

В литературе описана комплексообразующая способность краун-эфиров по отношению к щелочным и щелочно-земельным элементам, а для азакраун-эфиров, получающихся замещением донорных атомов кислорода в макроцикле на атомы азота становится возможным связывание других двух- и трёхзарядных катионов. В данной работе рассмотрена серия азакраун-эфиров, содержащих ароматические фрагменты: пиридин и фенил в макроциклической полости – с разным содержанием донорных атомов, как в макроцикле, так и в качестве «подвесных» групп.

Результаты потенциометрического титрования (приложение 1-32) лигандов (таблица 3.1) показывают, что представленный ряд краун-эфиров характеризуется широким диапазоном констант протонирования. Ввиду акцепторного характера карбонильной группы протонирование соседних с ней атомов азота так же как и макроциклических атомов кислорода не происходит в исследуемом диапазоне pH 2÷10. Поэтому лиганд L1 проявляет слабые кислотные свойства, связанные с пиридиновым азотом, причём рK_a пиридина тоже уменьшается с 5,25 (для чистого Py) [180] под влиянием акцепторного характера карбонильной группы. Низкое значение рK_a приводит к тому, что протонированная форма L1 присутствует только в области низких значений - pH < 4 (рисунок 3.1а).

Таблица 3.1 – Рассчитанные значения констант протонирования лигандов

	реакция	L1a	L2a	L2b	L2c	L3a	L3b	L4
lgK_{1H}	$H^+ + L \rightleftharpoons (H^+)L$	1,9±0,1	8,2±0,1	9,2±0,1	6,5±0,1	8,6±0,4	9,9±0,1	7,8±0,1
lgK_{2H}	$2H^+ + L \rightleftharpoons (H^+)_2L$	-	11,8±0,1	12,8±0,1	9,3±0,1	15,4±0,6	16,7±0,2	15,3±0,1
lgK_{3H}	$2H^+ + L \rightleftharpoons (H^+)_2L$	-	-	15,1±0,1	11,4±0,1	-	19,5±0,2	17,4±0,1
lgK_{4H}	$4H^+ + L \rightleftharpoons (H^+)_4L$	-	-	-	-	-	22,4±0,2	-

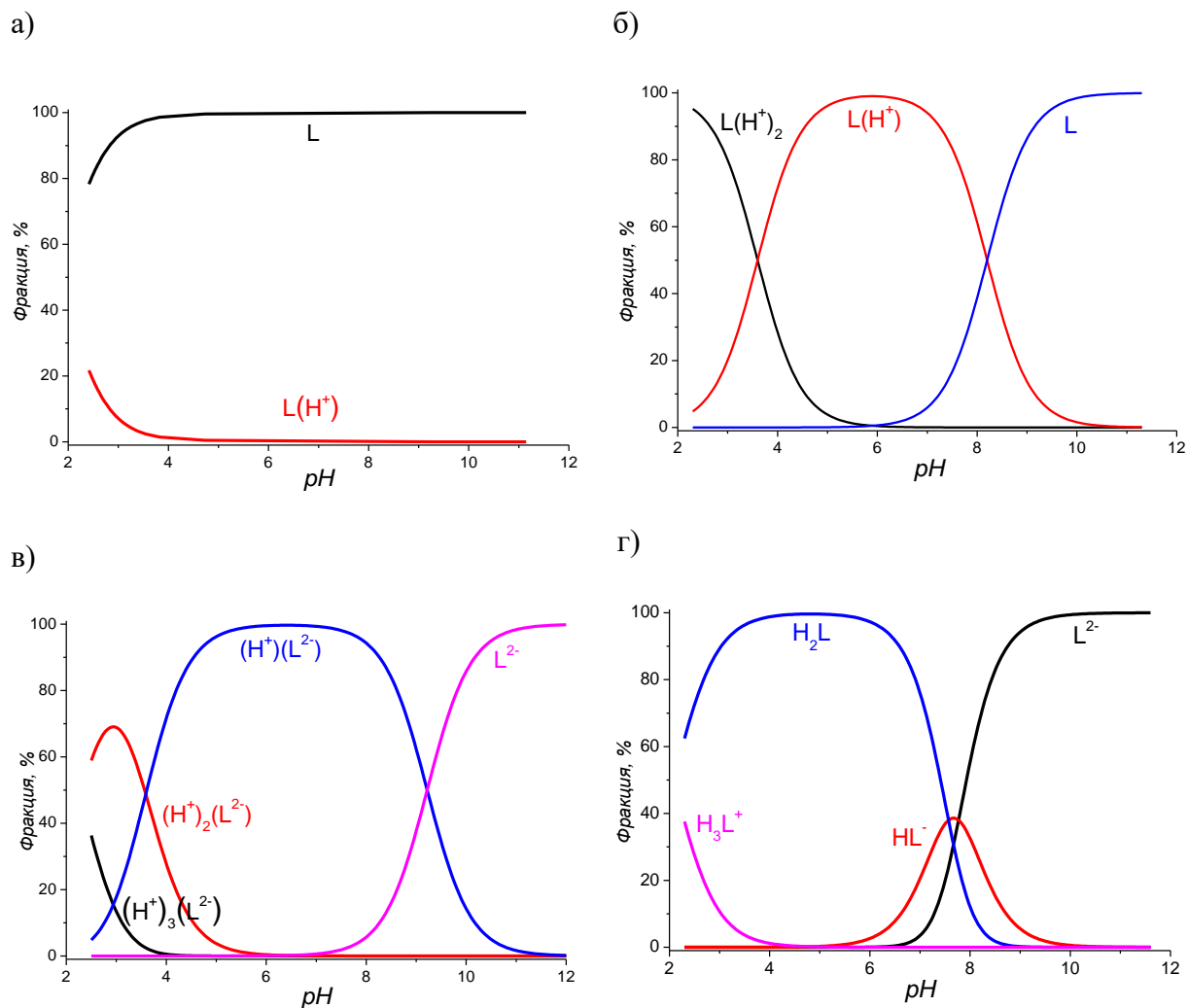


Рисунок 3.1 – Распределение протонированных/ депротонированных форм лигандов L1 (а), L2a (б), L2b (в) и L4 (г) в зависимости от pH.

При дальнейшем замещении атомов кислорода в макроцикле атомами азота протонирование пиридинового фрагмента становится незаметным на фоне протонирования алифатических N: в L2a первая стадия протонирования характеризуется $\lg K_{1H}=8,2$, аналогично L3a. При этом протонирование последующего N из макроцикла происходит с меньшим значением $\lg K_{2H}-\lg K_{1H}=11,84-8,24=3,60$. Однако в случае L3a протонирование по всем 3 алифатическим атомам N в макроцикле зафиксировать не удалось, но видно, что второй протон удерживается в 2 раза сильнее, чем в L2a: $\lg K_{2H}-\lg K_{1H}=15,35-8,55=6,80$. В этих лигандах полное депротонирование наступает только при pH10 (рисунок 3.1б,в).

Присутствие ацетатных подвесных групп в L2b и L3b приводит к повышению устойчивости протонированных форм на 1 порядок, что видно при сравнении $\lg K_{1H}$ и $\lg K_{2H}$ между лигандами L_a и L_b. Кроме того, присоединение протонов по

карбоксылным группам должно происходить в кислой среде по аналогии с N,N-диметилглицином или глицином, для которых $pK_a=2\div 2,2$ (COOH-группа) [181], Для L2b и L4: присоединение третьего протона осуществляется в области низких значений pH (рисунок 3.1в,г) с константой $\lg K_{3H}-\lg K_{2H}=2,1\div 2,3$, что и соответствует протонированию COOH-группы в глицине. Для лиганда L3b протонирование по третьей и четвёртой ступеням происходит практически с одинаковой константой $\lg K_{3H}-\lg K_{2H}=\lg K_{4H}-\lg K_{3H}=2,8\div 2,9$, что может свидетельствовать об их присоединении к двум из трёх карбоксылных групп. Аналогично в H₄DOTA присоединение последних двух из 4 протонов происходит с одинаковым значением $\lg K=4,4$ [182]. В рассматриваемом диапазоне pH не удалось определить все 6 возможных протонированных форм L3b, так как образование остальных происходит в более кислых средах.

Однако для лиганда L4, рассмотренного для сравнения с пиридиновыми краун-эфирами, наблюдается одинаковое протонирование по 2 аминогруппам макроцикла: $\lg K_{1H}=\lg K_{2H}-\lg K_{1H}=7,7\div 7,8$. Данный факт, как и большее значение для $\lg K_{2H}-\lg K_{1H}$ по сравнению с L2a может быть связан с большим пространством между протонируемыми аминогруппами в макроцикле L4 ввиду наличия промежуточного атома кислорода, в отличие от L2a и L2b. Известно, что протонирование соседних аминогрупп в водных растворах затруднено как стерически, ввиду сложности гидратации такого катиона, так и собственно электростатическим отталкиванием протонированных аминогрупп [180, 182], в связи с чем введение дополнительных атомов между ними ведёт к повышению стабильности дипротонированной формы (рисунок 3.2).

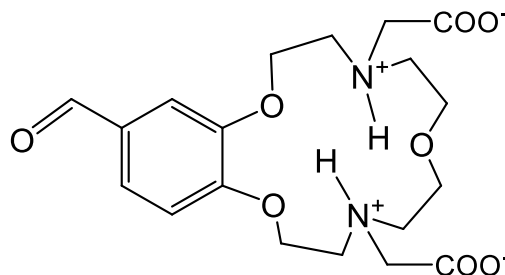


Рисунок 3.2 – Распределение протонов в нейтральной молекуле L4.

Согласно полученным значениям, для L2b монопротонированная форма наиболее устойчивая в широком диапазоне pH, в то время как для L4 – дважды протонированная (рисунок 3.1в, г).

В случае α -метилпиридиновых «подвесных» групп уже первая константа протонирования уменьшается на 1,7 порядка, аналогично понижению K_a на 1,8 порядка при переходе от метиламина ($pK_a=10,6$) [183] к α -пиколиламину ($pK_a=8,8$) [184], ввиду электрон-дефицитного характера атома углерода в α -положении в пиридине. Причём для L2c удалось определить константу протонирования по третьей ступени с $\lg K_{3H}-\lg K_{2H}=2,07$,

что может быть обусловлено пиридиновым фрагментом в макроцикле, как для L1. В итоге полное депротонирование L2с наступает при рН8 (рисунок 3.3).

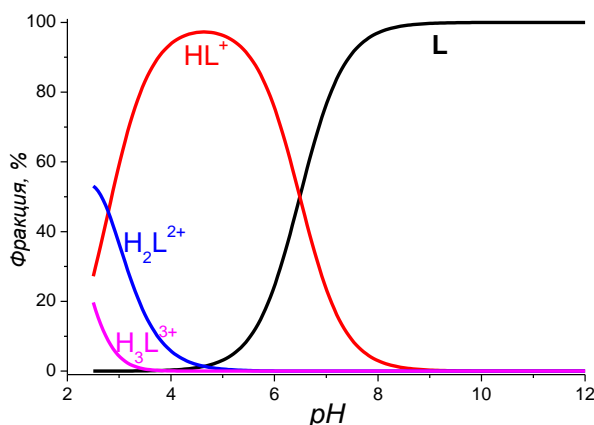


Рисунок 3.3 – Распределение протонированных/ депротонированных форм лиганда L2с в зависимости от рН.

3.2 Комплексообразование лигандов с Cu^{2+} , Pb^{2+} , Bi^{3+} , Y^{3+} , La^{3+} , Eu^{3+} , Lu^{3+} , Ac^{3+}

Поскольку рассматриваемые лиганды синтезированы впервые и их комплексообразующая способность ранее не была исследована, целесообразно рассмотреть разные типы катионов, как по степени окисления так и в рамках теории Пирсона мягких-жестких кислот и оснований. Для сравнения жесткости катионов удобно использовать параметр ионности связи $I_A = E_A / C_A$ [180], где E_A – это электростатическая составляющая образования связи в комплексе в водном растворе, а C_A – ковалентная составляющая. По приведённым значениям (таблица 3.2) видно, что в рассмотренном ряду катионов параметр I_A увеличивается на порядок, при этом для сравнения: для Hg^{2+} - представителя мягких катионов и Th^{4+} - представителя жестких катионов $I_A = 1,63$ и $10,94$, соответственно. Наиболее жесткими оказываются катионы РЗЭ, промежуточное положение занимают катионы Bi^{3+} и Pb^{2+} , а Cu^{2+} - типичный «мягкий» катион.

Таблица 3.2 – Радиусы катионов ($KЧ=6$ [57]) и параметры жесткости катиона [180]

Катион	H^+	Cu^{2+}	Bi^{3+}	Pb^{2+}	Lu^{3+}	La^{3+}	Y^{3+}
R, нм	-	0,073	0,103	0,095	0,0861	0,1032	0,090
I_A	3,04	2,68	6,39	6,69	10,07	10,3	10,64

3.2.1 Комплексообразование с двухвалентными катионами

Ввиду того, что химические формы лигандов и катионов рН- чувствительны, образование комплексов лигандов с Cu^{2+} и Pb^{2+} было рассмотрено с помощью метода потенциометрического титрования. Данный метод позволяет исследовать комплексообразование в широком диапазоне рН, с помощью Nureqquad обрабатывать полученные кривые титрования и рассчитывать константы образования различных комплексных форм с учётом ранее рассчитанных констант протонирования лигандов (таблица 3.1) и констант гидролиза катионов. Среди рассмотренных лигандов только для L1 не удалось установить образования комплексов ни с одним из рассмотренных катионов (кроме Vl^{3+}), что обусловлено наличием в структуре только слабого пиридинового центра связывания. Во всех остальных случаях наблюдалось образование комплексов, в которых соотношение $\text{M:L}=1:1$. С повышением рН происходит образование тройных комплексов состава $\text{ML}(\text{OH})_m$ (таблица 3.3, рисунок 3.4). Кроме того, лиганды с большими макроциклами, L3a и L3b, образуют комплексы с Cu^{2+} и Pb^{2+} даже в монопротонированной форме.

Добавление донорных атомов азота в макроцикл L3a по отношению к L1a и L2a приводит к повышению устойчивости комплексов, что видно на примере комплексов Cu^{2+} и Pb^{2+} с L3a. В качестве сравнения, для L2a существуют только гидроксидные формы комплекса PbL2a . Введение карбоксильных групп значительно повышает устойчивость комплексных соединений с обоими катионами. Однако сильнее этот эффект выражен для Pb^{2+} (повышение на 9 порядков), который является промежуточным в теории Пирсона. Для более «мягкого» катиона Cu^{2+} две карбоксильные группы в L2b приводят к повышению на 2 порядка устойчивости комплекса относительно L2a. к аналогичному повышению (на 2 порядка) устойчивости относительно L2a, К такому же увеличению устойчивости приводит введение дополнительного алифатического атома азота в макроцикл: $\lg K_{\text{CuL2b}} \approx \lg K_{\text{CuL3a}}$. Дополнительные α -метилпиридиновые фрагменты в L2c как не оказали влияния на суммарное протонирование лиганда L2a (таблица 3.1), так и не оказали влияния на константу устойчивости комплексов с медью: $\lg K_{\text{CuL2c}} \approx \lg K_{\text{CuL2a}} = 8,9$. Однако Pb^{2+} образует с L2c комплекс близкой с L3a устойчивости, что может быть обусловлено большим насыщением координационной сферы Pb^{2+} донорными центрами лиганда L2c, так же как L2b и L3a по сравнению с L2a.

Таблица 3.3 – Константы устойчивости комплексов L2, L3, L4 с Cu^{2+} , Pb^{2+}

M^{2+}	Состав комплекса	lg K					
		L2a	L2b	L2c	L3a	L3b	L4
Cu^{2+}	$\text{L}:\text{Cu}^{2+}:\text{4OH}^-$	-	-	$-19,3\pm 0,3$	-	-	-
	$\text{L}:\text{Cu}^{2+}:\text{3OH}^-$	-	$-11,4\pm 0,1$	$-9,2\pm 0,2$	-	$-7,1\pm 0,1$	-
	$\text{L}:\text{Cu}^{2+}:\text{2OH}^-$	$-4,0\pm 0,1$	$-0,7\pm 0,1$	$-2,3\pm 0,1$	$-2,8\pm 0,9$	$3,6\pm 0,1$	-
	$\text{L}:\text{Cu}^{2+}:\text{OH}^-$	$5,4\pm 0,2$	$6,2\pm 0,1$	$4,8\pm 0,1$	$5,7\pm 0,5$	$9,8\pm 0,1$	$7,7\pm 0,2$
	$\text{L}:\text{Cu}^{2+}$	$8,8\pm 0,2$	$11,2\pm 0,1$	$8,9\pm 0,1$	$10,8\pm 0,6$	$15,8\pm 0,1$	$14,4\pm 0,1$
	$\text{L}:\text{H}^+:\text{Cu}^{2+}$	-	-	-	$15,4\pm 0,4$	-	-
Pb^{2+}	$\text{L}:\text{Pb}^{2+}:\text{3OH}^-$	-	-	$-21,8\pm 0,3$	-	-	-
	$\text{L}:\text{Pb}^{2+}:\text{2OH}^-$	$-13,2\pm 0,1$	$-7,6\pm 0,2$	$-10,7\pm 0,1$	$-13,5\pm 0,1$	-	-
	$\text{L}:\text{Pb}^{2+}:\text{OH}^-$	$-2,1\pm 0,1$	$1,5\pm 0,2$	$-2,3\pm 0,2$	$-2,8\pm 0,1$	$2,5\pm 0,1$	$0,3\pm 0,1$
	$\text{L}:\text{Pb}^{2+}$	-	$8,7\pm 0,1$	$4,9\pm 0,1$	$4,9\pm 0,1$	$14,1\pm 0,1$	$11,6\pm 0,1$
	$\text{L}:\text{H}^+:\text{Pb}^{2+}$	-	-	-	-	$17,2\pm 0,1$	-

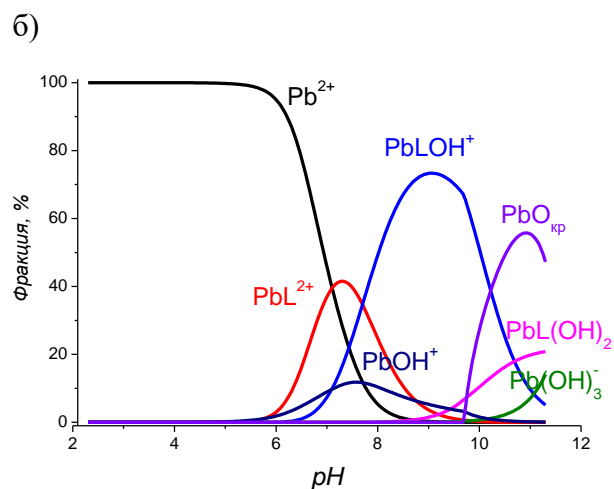
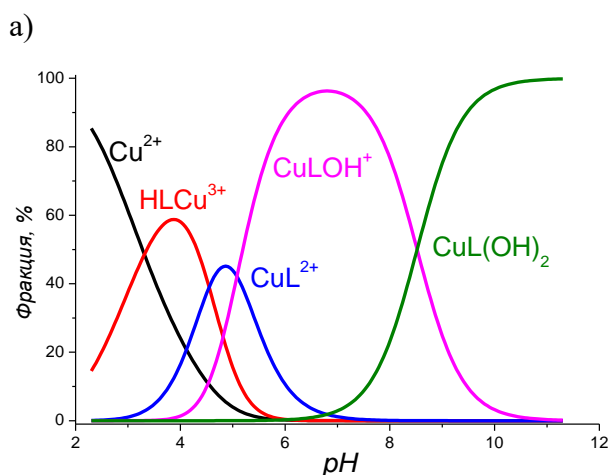


Рисунок 3.4 – Распределение химических форм меди (а) и свинца (б) в комплексах с L3a различного состава в зависимости от pH.

Гораздо большая устойчивость комплексов Cu^{2+} с L2a и L3a по сравнению с Pb^{2+} ($R_i=1,19 \text{ \AA}$ КЧ6 [57]) может быть обусловлена включением катиона Cu^{2+} с меньшим радиусом ($R_i=0,73 \text{ \AA}$ КЧ6 [57]) в полость макроцикла и образованию плоского комплекса – одной из наиболее предпочтительных координаций для Cu^{2+} [180].

По сравнению с L2b, также содержащим две карбоксильные группы в структуре, L4 образует на 3 порядка более устойчивые комплексы с катионами меди и свинца, но CuL4 по-прежнему наиболее устойчив.

Распределение физико-химических форм меди и свинца в присутствии L3a, рассчитанные на основании констант устойчивости соответствующих комплексов, приведены на рисунке 3.4б.

Лиганд L3b образует наиболее устойчивые комплексы среди рассмотренных лигандов (таблица 3.3), при этом комплексообразование происходит уже при низких значениях pH, что видно по изменению кривой титрования в присутствии катионов даже в области низких значений pH (рисунок 3.5а). Построенное согласно рассчитанным константам распределение комплексных форм Pb^{2+} (рисунок 3.5б) показывает, что комплекс PbL^- существует в широком диапазоне pH 4-10. Кроме того, в области низких значений pH комплекс LPb^- протонируется до электронейтрального HLPb .

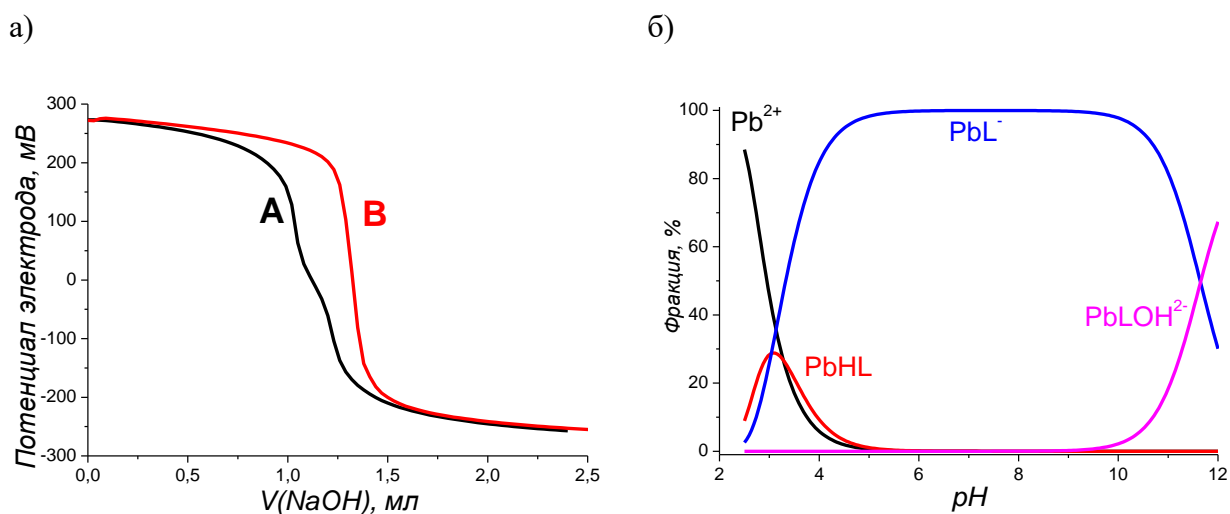


Рисунок 3.5. Комплексообразование Pb^{2+} с L3b. а) кривая титрования лиганда L3b (А) и лиганда L3b в присутствии Pb^{2+} (В); б) распределение химических форм свинца в комплексах с L3b различного состава в зависимости от pH

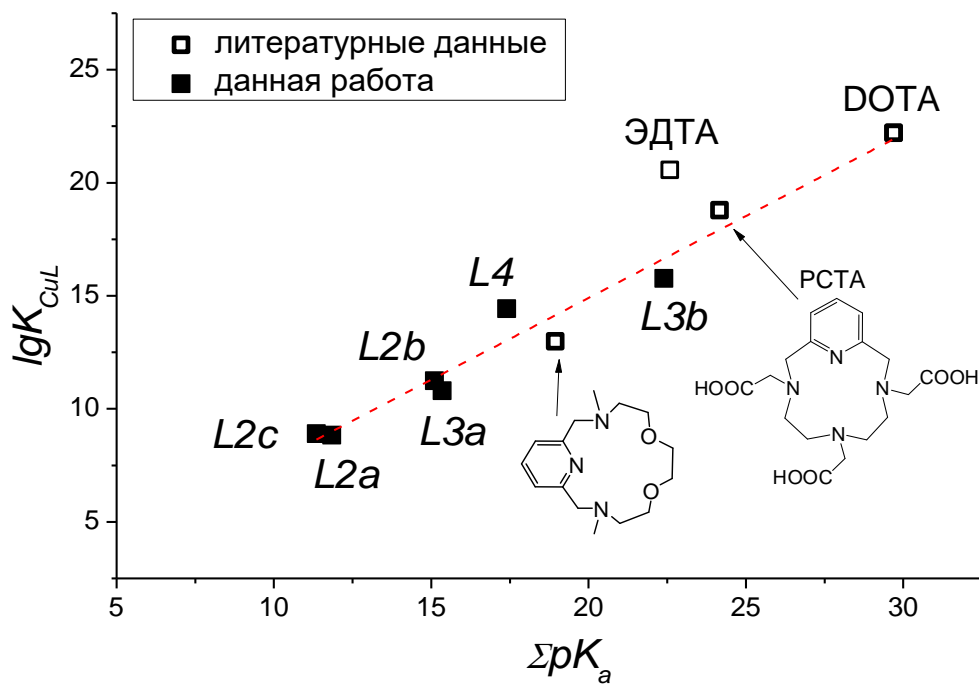
Удобным инструментом для оценки корректности полученных значений констант устойчивости комплексов представляется исследование линейного соотношения

свободных энергий реакций комплексообразования и протонирования лигандов (рисунок 3.6).

Для сравнения с литературными данными были взяты значения констант протонирования и комплексообразования для макроциклических лигандов DOTA и PCTA [78, 185]. Зависимость, учитывающая только макроциклические лиганды, в случае Cu^{2+} хорошо описывается прямой линией со значением $R^2=0,97$ и $R^2=0,92$ для Pb^{2+} . Значение для ЭДТА показывает влияние числа карбоксильных групп и наличия нежесткого каркаса ациклического хелатора на устойчивость образуемых комплексов несмотря на равные значения суммарных констант протонирования ЭДТА и L3b. Аналогично для Pb^{2+} : устойчивость с ЭДТА существенно выше, чем с L3b, кроме того PbL2b и PbL3a также сильно различаются в $\lg K_{ML}$ при практически одинаковых значениях констант суммарного протонирования. Однако для Cu^{2+} константы устойчивости комплексов CuL2b и CuL3a имеют близкие значения. Это расхождение можно объяснить с точки зрения координационной химии катионов: Cu^{2+} ввиду эффекта Яна-Теллера предпочитает плоскоквадратное окружение либо квадратную пирамиду, а Pb^{2+} , как уже было описано в литературном обзоре, обычно имеет координационную сферу искаженного асимметричного октаэдра с дополнительными молекулами воды, то есть стремится к трехмерному каркасу. Известно [186], что в L3a макроцикл раскрыт, то есть молекула практически плоская, что обеспечивается карбонильными группами в составе макроцикла. В таком случае L3a формирует плоское окружение для Cu^{2+} , но не создает необходимой координационной сферы для Pb^{2+} .

Наклоны корреляционных зависимостей, представленных на рисунке 3.6 составляют $0,72 \pm 0,05$ (Cu^{2+}) и $1,1 \pm 0,1$ (Pb^{2+}), что свидетельствуют о том, что факторы (донорные атомы, заместители), влияющие на протонирование, определяют в равной степени комплексообразующие свойства по отношению к Pb^{2+} и в меньшей мере для Cu^{2+} , что может быть как раз обусловлено жесткостью катионов (таблица 3.2): $I_A(\text{Cu}^{2+}) < I_A(\text{H}^+) < I_A(\text{Pb}^{2+})$.

а)



б)

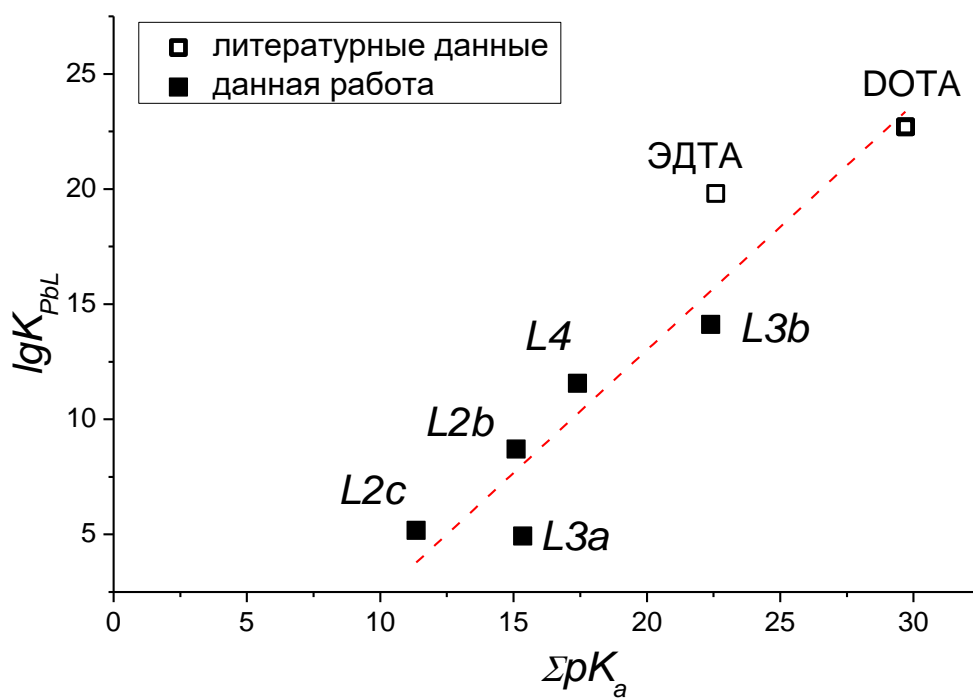


Рисунок 3.6 – Линейное соотношение свободных энергий реакций комплексообразования и протонирования для Cu^{2+} (а) и Pb^{2+} (б).

3.2.2 Комплексообразование с трёхвалентными катионами

Трёхвалентные катионы РЗЭ, несмотря на большой радиус катиона $>1\text{\AA}$ (таблица 3.2), не образуют комплексов с лигандами, содержащими только нейтральные донорные атомы кислорода (классические краун-эфиры) так как отсутствует возможность снятия большого заряда за счёт образования водородных связей с молекулами растворителя [180].

Согласно полученным результатам среди рассматриваемых лигандов катионы РЗЭ образуют комплексы только с лигандами, обладающими карбоксильными группами, что связано с их большей «жесткостью» и, соответственно, предпочтению более электроотрицательных донорных атомов О. Кривые титрования для L1, L2a, L2c и L3a с катионами Y^{3+} , La^{3+} (химического аналога Ac^{3+}) и Lu^{3+} не отличаются от кривых титрования самих лигандов (рисунок 3.7), а при $\text{pH}>7$ наблюдается образование

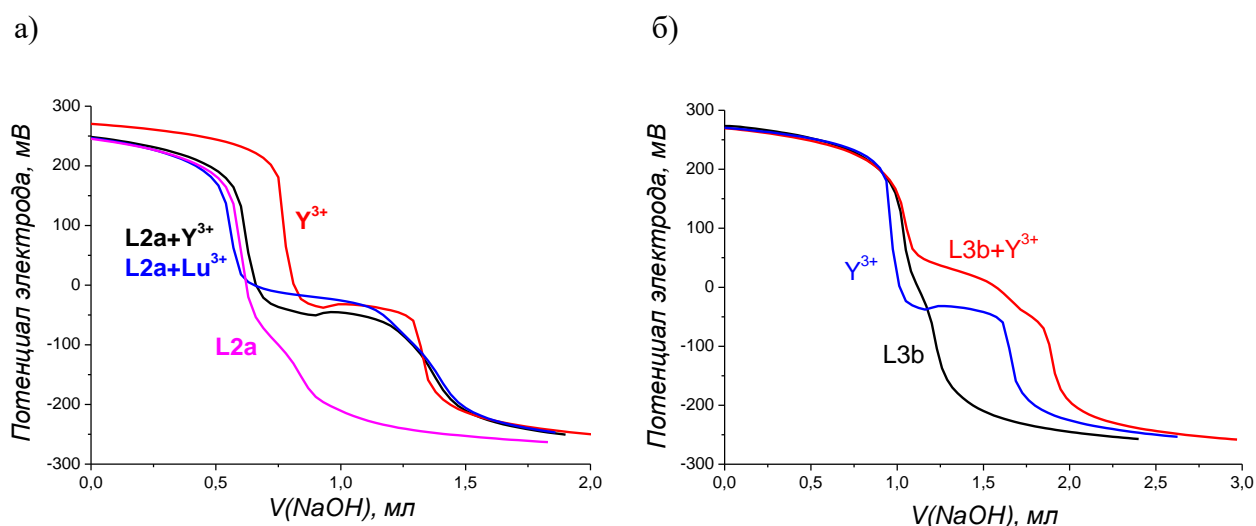


Рисунок 3.7 – Кривые титрования лигандов L2a (а) и L3b (б) с катионами Y^{3+} и Lu^{3+} , а также Y^{3+} без лиганда.

малорастворимых гидроксидов РЗЭ. Кроме того, азакраун-лиганд LR1 (рисунок 3.8) образует комплексы с РЗЭ [187] $\lg K(\text{La}/\text{LuLR1})=5,7/9,2$. Причиной отсутствия комплексообразования L2a с РЗЭ может быть намного более низкое значение суммарного протонирования последнего $\Sigma \text{pK}_a=15,4$ по сравнению с LR1 $\Sigma \text{pK}_a=32,24$ [187], что обусловлено как заменой алифатического амина на пиридин ($\text{pK}_a(\text{Py})=5,25$, $\text{pK}_a(\text{Me}_2\text{NH})=10,6$ [180]), так и карбонильными группами.

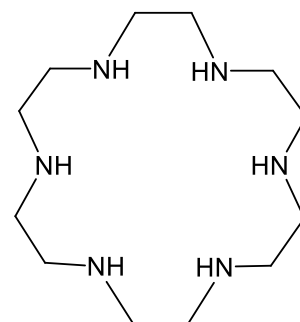


Рисунок 3.8 – Формула LR1.

Кривые титрования лигандов L2b, L3b, L4 и лигандов в присутствии Y^{3+} , La^{3+} и Lu^{3+} различаются. Образование нерастворимого осадка при $pH > 6-7$ полностью исчезает только в случае с L3b, что согласуется с максимальной константой комплексообразования среди исследованных лигандов (таблица 3.4). Согласно полученным значениям констант устойчивости было рассчитано распределение физико-химических форм РЗЭ при различных pH (рисунок 3.9). При эквивалентных количествах катиона и лиганда несмотря на близкие значения констант устойчивости комплексов Lu^{3+} и Y^{3+} с L4 максимально в составе комплекса присутствует только 20% для Lu^{3+} и 80% для Y^{3+} , что объясняется различием в произведениях растворимости их гидроксидов $PP(Lu(OH)_3) = 2,5 \cdot 10^{-24}$ и $PP(Y(OH)_3) = 8,1 \cdot 10^{-23}$ [188].

Таблица 3.4 – Значения констант устойчивости комплексов L2b, L3b, L4 с катионами РЗЭ³⁺, рассчитанные из результатов потенциометрического титрования

Катион	Состав комплекса	lg K		
		2b	3b	4
Y^{3+}	L: $Y^{3+}:3OH^-$	-	-16,3±0,2	-
	L: $Y^{3+}:2OH^-$	-	-6,6±0,1	-
	L: $Y^{3+}:OH^-$	-	0,5±0,1	11,2±0,1
	L: Y^{3+}	5,5±0,4	6,9±0,3	6,1±0,1
Eu^{3+}	L: $Eu^{3+}:3OH^-$	-15,2±0,2	-16,9±0,1	-
	L: $Eu^{3+}:2OH^-$	-	-5,9±0,1	-
	L: $Eu^{3+}:OH^-$	-	2,3±0,1	-
	L: Eu^{3+}	7,8±0,1	8,2±0,2	7,5±0,1
La^{3+}	L: $La^{3+}:OH^-$	-	-2,1±0,2	10,3±0,1
	L: La^{3+}	-	6,8±0,2	5,8±0,1
Lu^{3+}	L: $Lu^{3+}:3OH^-$	-17,2±0,2	-	-
	L: $Lu^{3+}:2OH^-$	-8,0±0,2	-6,8±0,1	-
	L: $Lu^{3+}:OH^-$	-	0,5±0,1	-
	L: Lu^{3+}	6,2±0,3	7,2±0,2	6,1±0,1

С образованием осадка в процессе титрования может быть связана некоторая погрешность в рассчитываемых значениях lgK , так как образование одним из компонентов комплекса твёрдой фазы не учитывается при расчёте. В связи с чем для Bi^{3+} - крайне легко гидролизуемого катиона: при концентрации $1 \cdot 10^{-3}$ М полностью выпадает в осадок в виде

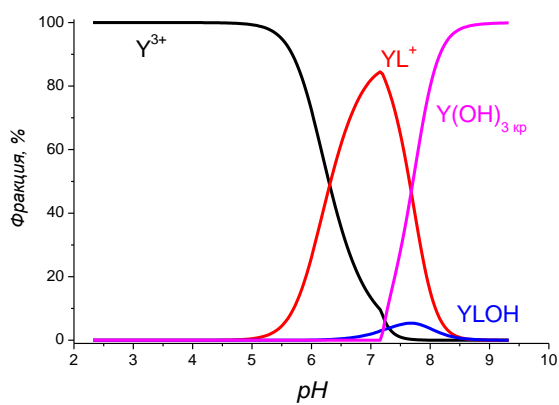
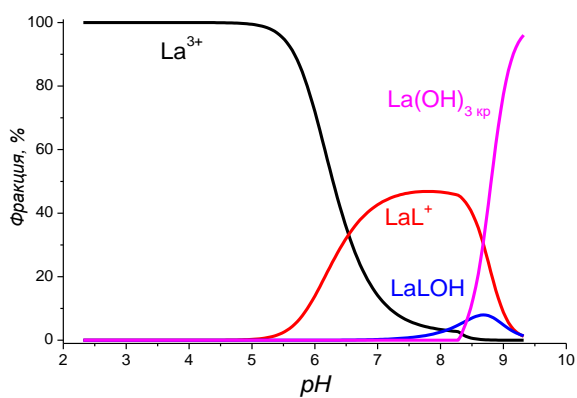
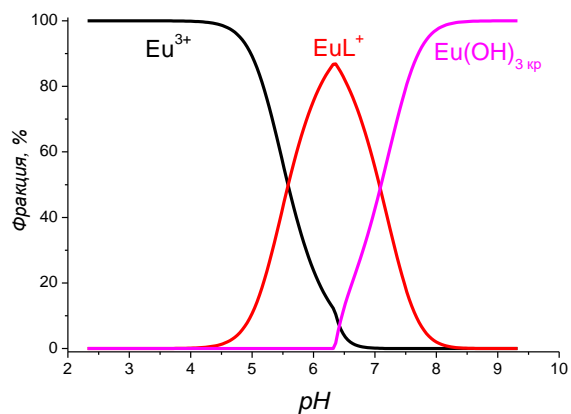
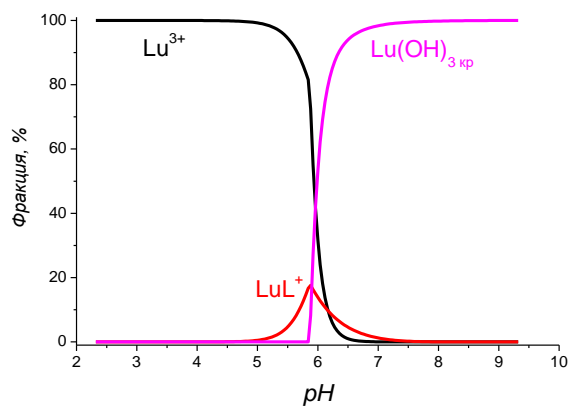
а) Y^{3+} б) La^{3+} в) Eu^{3+} г) Lu^{3+} 

Рисунок 3.9 – Распределение химических форм РЗЭ в комплексах с L4 $c(M^{3+})=c(L4)=1 \cdot 10^{-3} M$ в зависимости от pH: а) иттрия, б) лантана, в) европия, г) лутеция.

гидратированного V_2O_3 , что даже для pH4 требует использования альтернативных методов определения констант устойчивости. Кроме того, комплексообразование с Ac^{3+} также не может быть исследовано потенциометрическим титрованием ввиду небольшого периода полураспада ^{225}Ac ($T_{1/2} = 10$ сут), что не позволяет создавать высокие концентрации, необходимые для этого метода.

Исследование комплексообразования азакраун-эфиров с Ac^{3+} и V^{3+} проводили с помощью метода конкурирующих реакций сорбции, экстракции или осаждения несвязанного в комплекс катиона. Для сравнения с результатами, полученными методом потенциометрического титрования, одновременно проводили аналогичные эксперименты с Y^{3+} и Eu^{3+} . Эксперименты по сорбции катионов Y^{3+} , Eu^{3+} и Ac^{3+} на хроматографической целлюлозе и SiO_2 показали, что при увеличении концентрации лиганда в растворе количество сорбированных катионов уменьшается. Последнее связано с образованием комплексов ML_n , не сорбирующихся на целлюлозе и SiO_2 . Изменение сорбции катионов Y^{3+} , Eu^{3+} и Ac^{3+} от концентрации лиганда L4 при pH6,5 представлен на рисунке 3.10.

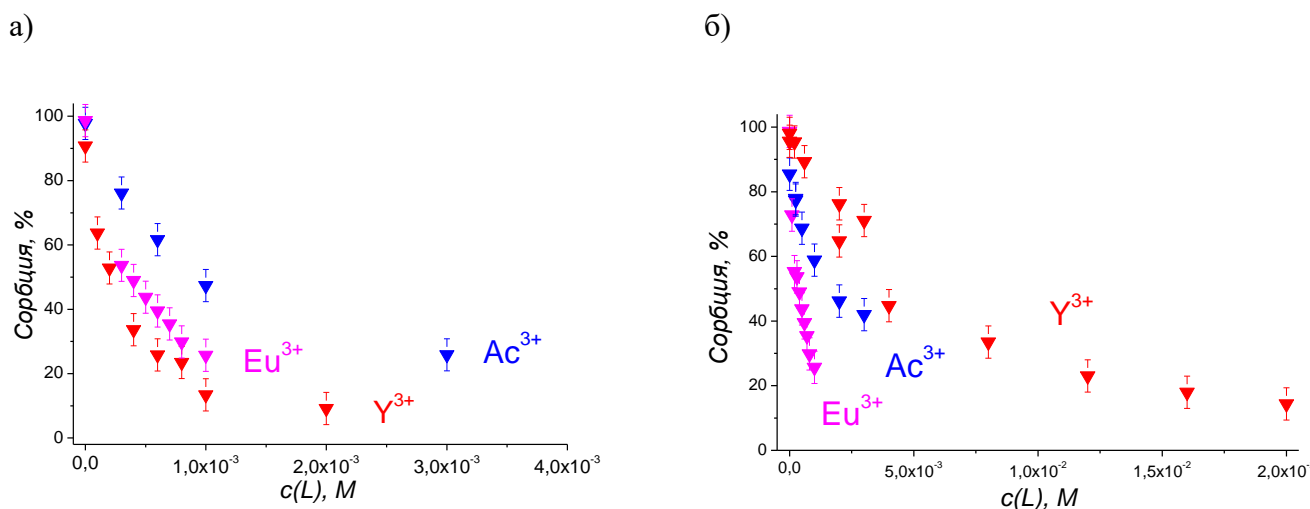


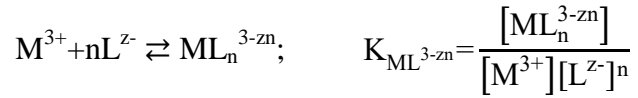
Рисунок 3.10 – Изменение сорбции катиона на хроматографической целлюлозе 0,03г/мл (а) и силикагеле 0,33г/мл (б) в зависимости от концентрации лиганда L4 в растворе.

В таком методе константа комплексообразования может быть вычислена по следующей схеме [189]:

$$D_0 = \frac{c(\text{M}^{3+})_{\text{сорб/экстр}}}{c(\text{M}^{3+})_{\text{раств}}} \quad (1)$$

, где D_0 – коэффициент распределения катионов металла между сорбентом и водным раствором.

Если водный раствор содержит в избытке лиганд, образующий с катионами металла растворимые комплексы по реакции



, то коэффициент распределения катионов металла между сорбентом и водным раствором с лигандом можно представить следующим образом:

$$D = \frac{M^{3+}_{\text{сорб/экстр}}}{M^{3+}_{\text{раств}}} = \frac{M^{3+}_{\text{сорб/экстр}}}{[M^{3+}] + [ML_n]} = \frac{M^{3+}_{\text{сорб/экстр}}}{[M^{3+}](1 + K_{ML_n}[L^{z-}]^n)} \quad (2)$$

При известном значении pH равновесная концентрация депротонированной формы лиганда $[L^{z-}]$ может быть вычислена из уравнения материального баланса:

$$c(H_jL) = [L^{z-}] + \sum_j [H_jL^{z-j}] = [L^{z-}] + \sum_j K_{jH}[H^+]^j [L^{z-}] = [L^{z-}](1 + \sum_j K_{jH}[H^+]^j) \quad (3)$$

$$\frac{D_0}{D} - 1 = \frac{K_{ML_n}}{(1 + \sum_j K_{jH}[H^+]^j)^n} c(H_jL)^n \quad (4)$$

$$\lg\left(\frac{D_0}{D} - 1\right) = \lg \frac{K_{ML_n}}{(1 + \sum_j K_{jH}[H^+]^j)^n} + n \cdot \lg c(H_jL) \quad (5)$$

Согласно уравнению (5) из графика зависимости $\lg\left(\frac{D_0}{D} - 1\right)$ от $\lg c(L)$ можно определить стехиометрию комплекса ML_n и его константу устойчивости по уравнению (4).

Экспериментальные значения описываются линейной зависимостью с наклонами близкими к 1 (рисунок 3.11, 3.12, таблица 3.5), что соответствует образованию комплексов состава ML и согласуется с результатами потенциометрического титрования. Для комплексов ML по уравнению (4) были определены значения логарифмов констант устойчивости (таблица 3.5), с учетом рассчитанных ранее констант протонирования лигандов.

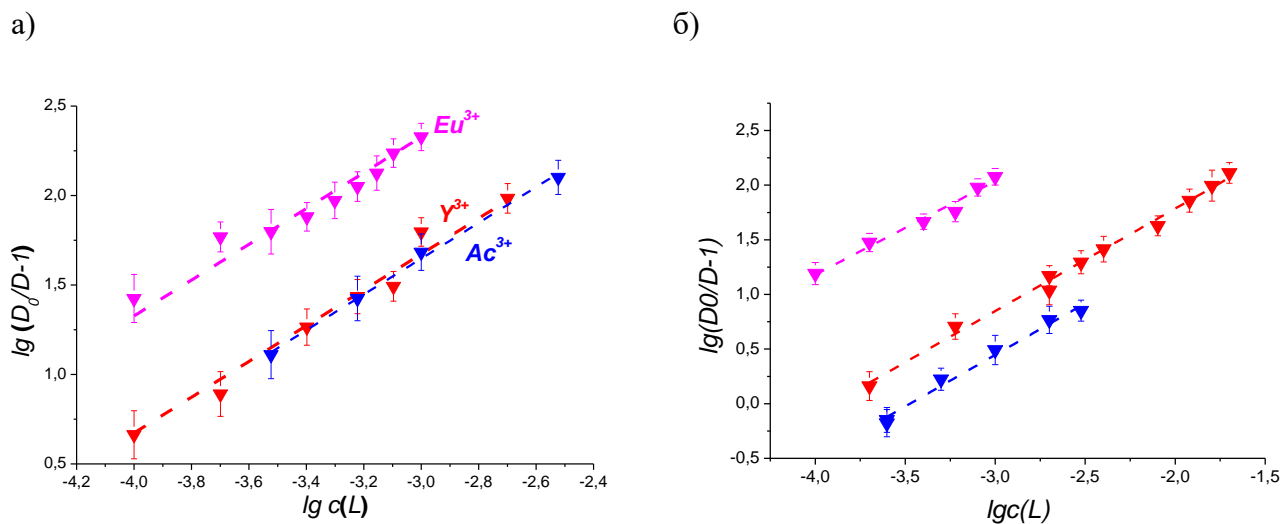


Рисунок 3.11 – Изменение сорбции катиона на хроматографической целлюлозе 0,03 г/мл (а) и силикагеле 0,33 г/мл (б) в зависимости от концентрации лиганда L_4 в растворе в переменных уравнения 5.

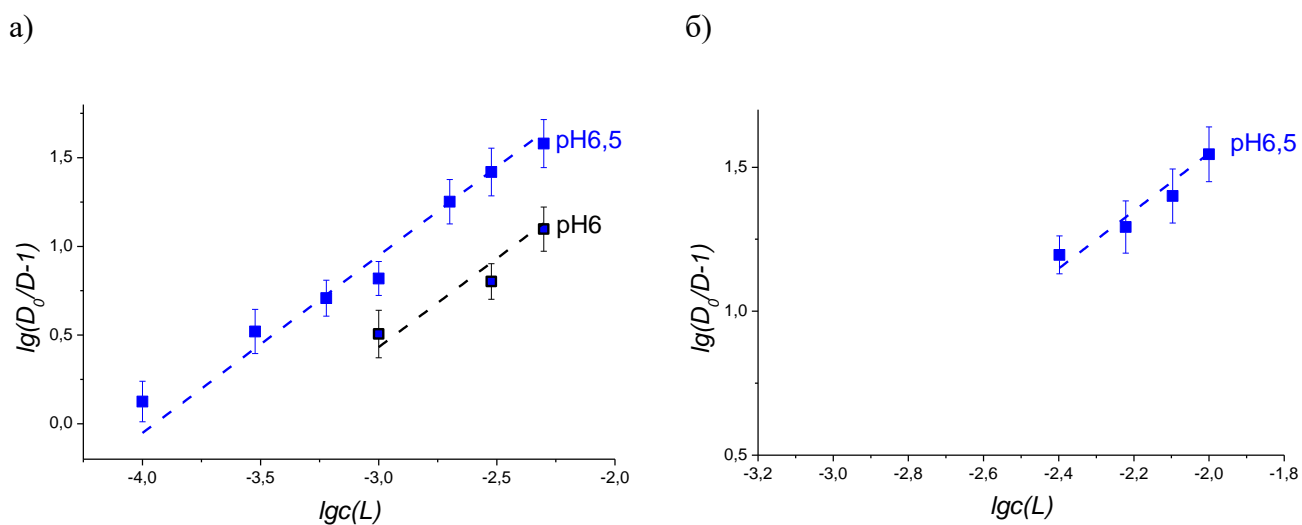


Рисунок 3.12 – Изменение сорбции Ac^{3+} на SiO_2 0,33 г/мл в зависимости от концентрации лиганда L_{2b} (а) и L_{3b} (б) в растворе в переменных уравнения 5.

Таблица 3.5. Константы устойчивости комплексов M^{3+} с L4, рассчитанные с использованием метода конкурирующей реакции сорбции

комплекс	Сорбент-целлюлоза		Сорбент-SiO ₂	
	n	lgK _{ML}	n	lgK _{ML}
Y ³⁺ :L4 (pH6,5)	1,07±0,08	7,0±0,1	0,94±0,03	6,2±0,1
Ac ³⁺ :L4 (pH6,5)	0,98±0,05	7,0±0,1	0,94±0,05	5,8±0,1
Ac ³⁺ :L2b (pH6)	-	-	0,80±0,20	5,6±0,1
Ac ³⁺ :L2b (pH6,5)	-	-	0,86±0,06	5,7±0,1
Ac ³⁺ :L3b (pH6,5)	-	-	0,81±0,12	7,4±0,1
Eu ³⁺ :L4 (pH6,5)	0,85±0,07	7,7±0,2	0,86±0,07	7,5±0,1

Сравнение результатов экспериментов с двух сорбентов и потенциометрического титрования показывает, что только при использовании SiO₂ в качестве сорбента величины константы комплексообразования не отличаются в пределах погрешности от величин, рассчитанных методом потенциометрического титрования. Кроме того, можно отметить, что значения для AcL4 и YL4, рассчитанные из эксперимента с использованием целлюлозы, на 1 порядок выше, чем при определении с использованием SiO₂ или потенциометрически. Возможно, растворимость целлюлозы препятствует полному отделению несвязанного в комплекс катиона, что приводит к завышенному содержанию катиона в растворе и, соответственно, завышенным значениям констант комплексообразования (таблица 3.5). В связи с чем определение K_{ML} лигандов L2b и L3b с Ac³⁺ проводили на силикагеле в выбранных условиях. Полученные значения приведены в таблице 3.5.

Видно, что полученные при различных значениях pH величины lgK_{AcL2b} одинаковы в пределах погрешности не отличаются от lgK_{AcL4}, в то время как для L3b наблюдается значительное повышение устойчивости, аналогично La³⁺ (таблица 3.4). Таким образом, устойчивость комплексов азакраун-лигандов с Ac³⁺ обусловлена числом карбоксильных групп.

Согласно рассчитанным значениям констант устойчивости комплексов, РЗЭ и Ac³⁺ образуют с рассмотренной серией азакраун-эфиров устойчивые комплексы, при этом

значения существенно не изменяются в пределах 1-2 порядка величины, что согласуется со схожестью химических свойств РЗЭ (таблица 3.5). Однако видно (таблицы 3.4, 3.5), что комплексы с Eu^{3+} в случаях всех лигандов более устойчивы, чем с остальными РЗЭ и Ac^{3+} . Аналогичная ситуация наблюдается в [190, 191] с лигандом LR2 (рисунок 3.12), который аналогично L2b и L4 схож

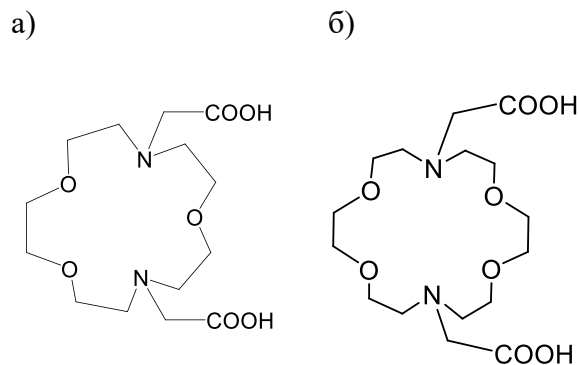


Рисунок 3.12 – Формулы LR2 (а), LR3 (б).

макроциклической полостью с 15-краун-5. Предполагается, что небольшой радиус полости 15-диазакраун-5 и цис-расположение карбоксильных групп обуславливают некоторую селективность этого лиганда по отношению к Eu^{3+} : связывание катионов большего радиуса (лёгкие РЗЭ) происходит в большей степени за счёт связи M^{3+} с карбоксильными группами, а меньшего радиуса – с донорными атомами макроцикла, и только Eu^{3+} характеризуется оптимальным размером для ион-дипольного взаимодействия с донорными атомами макроцикла и ион-ионного – с карбоксилатами [191]. Наличие жёстких ароматических фрагментов пиридина и фенила в макроциклической полости L2b и L4 приводит к меньшей гибкости краун-эфирного фрагмента и его удалённости от катиона по сравнению с **LR2**, что и проявляется в меньшей устойчивости комплексов РЗЭ с исследуемыми лигандами.

Полученное значение $\lg K$ для комплекса Eu^{3+} с L4 было подтверждено методом флуориметрического титрования (рисунок 3.13а). При увеличении концентрации лиганда L4 наблюдается увеличение интенсивности полос флуоресценции Eu^{3+} с максимумами, соответствующими длинам волн 590 нм (переход ${}^5\text{D}_0\text{-}{}^7\text{F}_1$), и 612 нм (переход ${}^5\text{D}_0\text{-}{}^7\text{F}_2$), что свидетельствует об изменении координационной сферы катиона, связанным с образованием комплекса. Спектры флуоресценции при различных концентрациях лиганда обрабатывались разложением на 2 составляющие: 1 – спектр несвязанного в комплекс аквагидратированного Eu^{3+} и 7 – спектр Eu^{3+} , количественно связанного в комплекс (рисунок 3.13а), что позволило определить содержание связанного и несвязанного катиона в каждом растворе (рисунок 3.13б) и рассчитать значение константы устойчивости комплекса EuL4^+ , равное $\lg K = 7,6 \pm 0,4$, которое оказалось близким к значению, полученному с использованием метода конкурентного взаимодействия (таблица 3.5) и потенциометрического титрования (таблица 3.4).

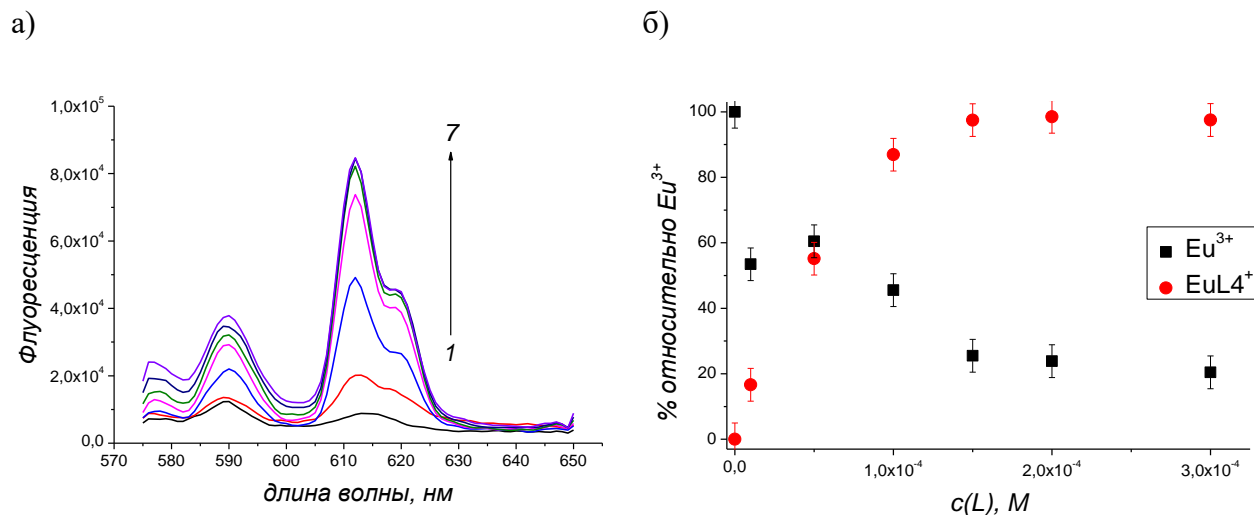


Рисунок 3.13 – а) зависимость спектров флуоресценции Eu^{3+} ($c=5 \cdot 10^{-5}$ M) в водном растворе (0,1 M NaClO_4 , 0,1 M MES, pH6,5) от концентрации лиганда L4: 1 – 0, 2 - $1 \cdot 10^{-5}$, 3 - $5 \cdot 10^{-5}$, 4 - $1 \cdot 10^{-4}$, 5 – $1.5 \cdot 10^{-4}$, 6 - $2 \cdot 10^{-4}$, 7 - $3 \cdot 10^{-4}$ M; б) доли связанного в комплекс и свободного Eu^{3+} по результатам разложения экспериментальных спектров.

Согласно литературным данным повышение устойчивости комплексов для средней группы РЗЭ характерно для аналогов 15-диазакраун-5, а для 18-диазакраун-6 – **LR3** – наблюдается понижение устойчивости по ряду РЗЭ в связи с уменьшением размера катиона: лёгкие РЗЭ большего ионного радиуса образуют более устойчивые комплексы с большими по радиусу полости краун-эфирами [190, 191]. Однако для L3b мы наблюдаем картину, менее выраженную, но аналогичную L2b и L4. Возможно в случае L3b играет роль плоский макроцикл, жёсткий за счёт пиридинового фрагмента [186] и близкое «одностороннее» расположение карбоксильных групп, тогда как в LR2 достигается равномерное экранирование катиона от растворителя, причём возможна некоторая гибкость большого макроцикла, что в итоге приводит к уменьшению на три порядка устойчивости EuL3b по сравнению с EuLR2 .

В случае Vi^{3+} было показано уменьшение содержания несвязанного катиона и, соответственно, подавление экстракции катиона уже при pH3 ввиду комплексообразования со всеми рассмотренными лигандами (рисунок 3.14а, 3.16а, приложение 33-36). Полученная зависимость коэффициента распределения от содержания лиганда в координатах уравнения 5 может быть использована при определении стехиометрии и расчёте констант образования комплексов ViL_n (рисунок 3.14б).

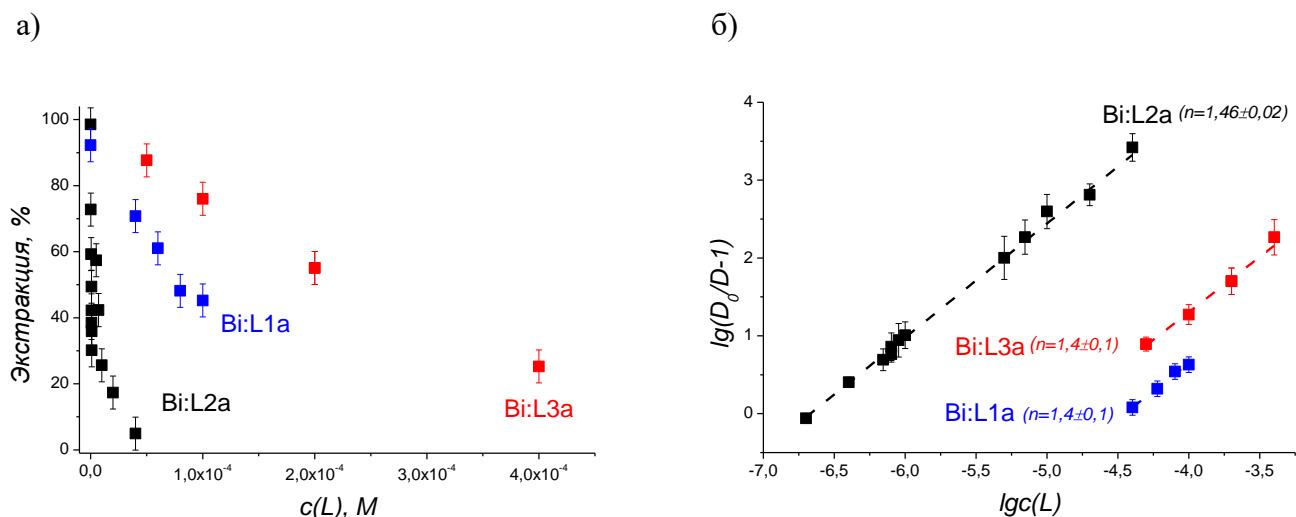


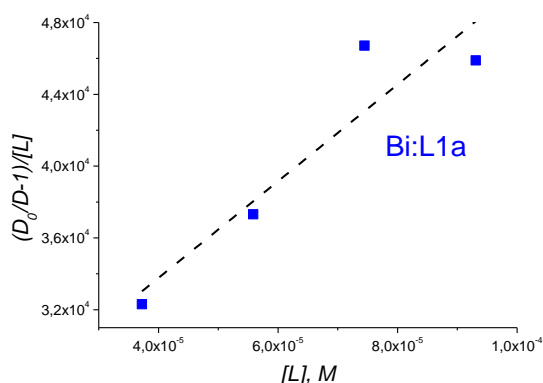
Рисунок 3.14 – Зависимость степени извлечения (а) и коэффициента распределения Bi^{3+} при экстракции 0,01М Д2ЭГФК в толуоле от концентрации лигандов L1a, L2a и L3a в переменных уравнения 5 (б).

Полученные результаты свидетельствуют об образовании комплексов с Bi^{3+} даже для L1a. При этом наблюдается общая закономерность для лигандов, не содержащих карбоксильных групп: соотношение в комплексе $\text{Bi}^{3+}:\text{L} \approx 1:1,5$ (рисунок 3.14б), что является усреднением образования двух комплексов составов BiL и BiL_2 . В таком случае, учёт обоих комплексов приводит к уравнениям 6, 7. Последнее позволяет рассчитать константы устойчивости для обоих комплексов построением зависимости $\frac{D_0/D-1}{[L]}$ от $[L]$ (рисунок 3.11), используя наклон и пересечение линейризованной зависимости. Рассчитанные в каждом случае значения приведены в таблице 3.6.

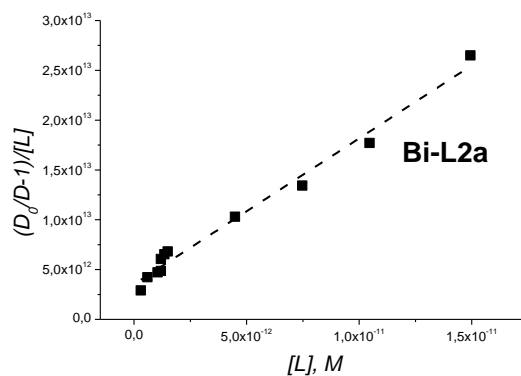
$$\frac{D_0}{D} - 1 = K_{\text{ML}_2}[\text{L}]^2 + K_{\text{ML}}[\text{L}] \quad (6)$$

$$\frac{D_0/D - 1}{[L]} = K_{\text{ML}_2}[\text{L}] + K_{\text{ML}} \quad (7)$$

а)



б)



в)

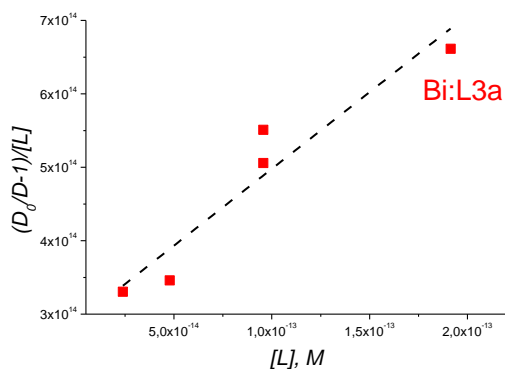


Рисунок 3.15 – Зависимость коэффициента распределения Bi^{3+} при экстракции 0,01M ДЭГФК в толуоле от концентрации лигандов в водном растворе в переменных уравнения 7.

Таблица 3.6 – Константы устойчивости комплексов Bi^{3+} с L1a, L2a и L3a

	L1a	L2a	L3a
$\lg K(\text{ML}_2)$	$8,4 \pm 0,2$	$24,2 \pm 0,1$	$27,3 \pm 0,3$
$\lg K(\text{ML})$	$4,4 \pm 0,2$	$12,5 \pm 0,1$	$14,4 \pm 0,3$

Лиганд L1a образует малоустойчивые комплексы с Bi^{3+} , в то время как устойчивость BiL2a и BiL3a выше на 10 порядков. Кроме того, $\lg K$ присоединения второго лиганда к BiL равно $\lg K$ образования BiL . Принимая во внимание пропорциональность $\lg K$ и свободной энергии Гиббса реакции, можно предположить, что свободные энергии образования связей с обеими молекулами лигандов приблизительно равны. Последнее может быть следствием электронейтральности лигандов L1a, L2a, L3a, то есть

присоединение второго лиганда происходит к трёхзарядному иону ViL^{3+} , так же как и первого лиганда к Vi^{3+} .

При переходе к лигандам, содержащим карбоксильные и пиридиновые группы, также заметно уменьшение степени извлечения катиона в органическую фазу (рисунок 3.16, приложение 33-36). При этом во всех случаях происходит образование комплексов состава $\text{Vi:L}=1:1$.

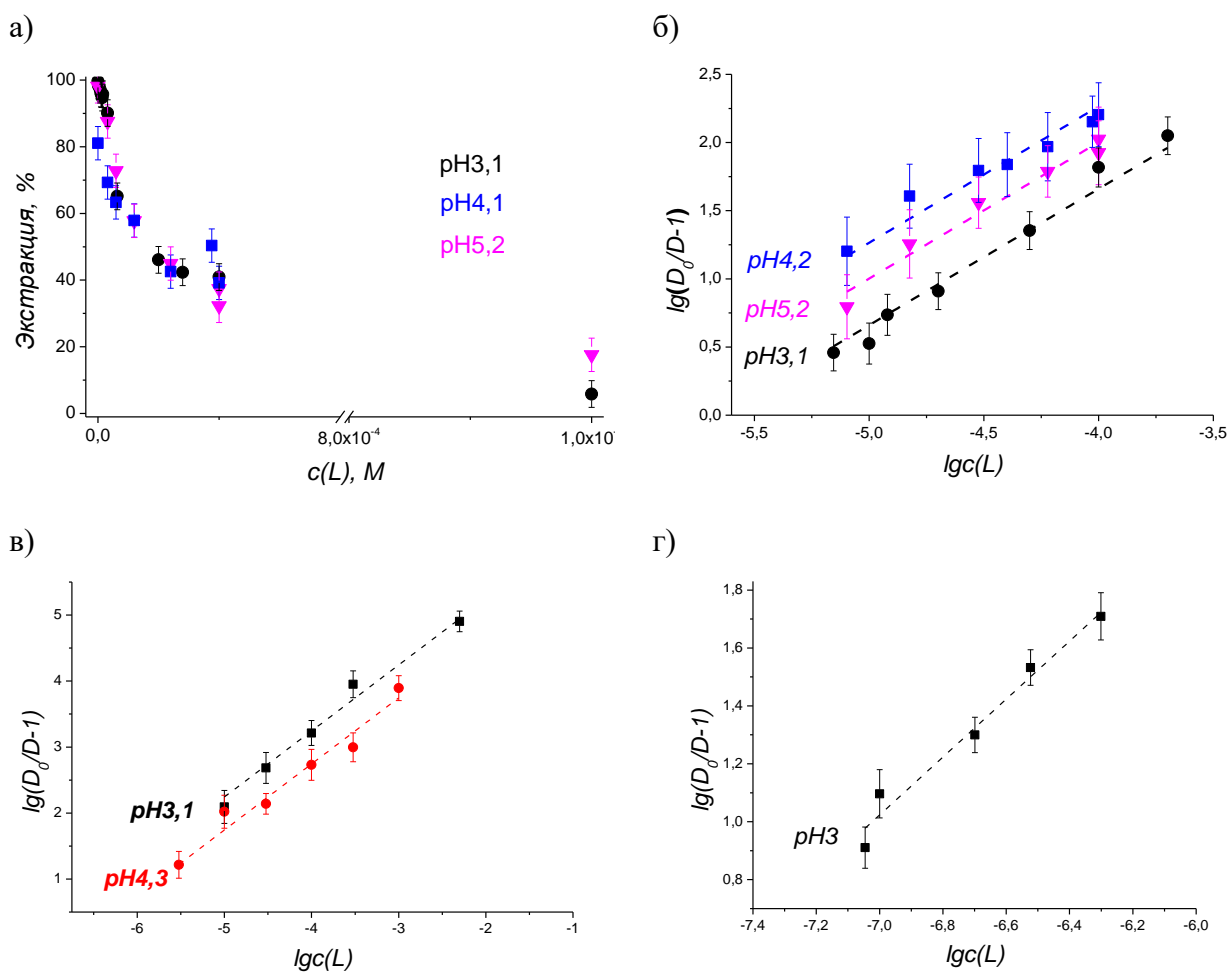


Рисунок 3.16 – Зависимость степени извлечения Bi^{3+} от концентрации лиганда L4 в растворе (а) и коэффициента распределения Bi^{3+} в переменных уравнения 5 для L4 (б), L2b (в) и L3b (г) при экстракции 0,01М Д2ЭГФК в толуоле.

Кроме того, при значениях $\text{pH} > 6$ несвязанный в комплекс Vi^{3+} осаждается в виде гидроксида (рисунок 3.17), что может быть использовано при расчёте констант устойчивости комплексов ViL при известной стехиометрии.

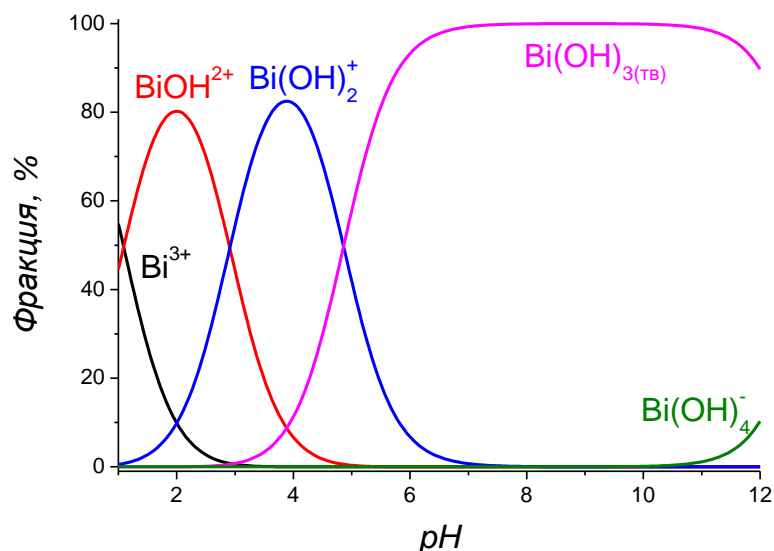


Рисунок 3.17 – Распределение химических форм висмута в растворе в зависимости от pH [58].

Концентрация Bi^{3+} в растворе однозначно определяется произведением растворимости Bi(OH)_3 (уравнение 8):

$$\text{ПР} = [\text{Bi}^{3+}] \cdot [\text{OH}^-]^3 = [\text{Bi}^{3+}] \cdot \frac{K_w^3}{[\text{H}^+]^3} \quad (8)$$

С другой стороны согласно закону действующих масс концентрация растворённого Bi^{3+} определяется выражением:

$$\begin{aligned} c(\text{Bi}^{3+})_{\text{раствл}} &= [\text{Bi}^{3+}] + [\text{BiOH}^{2+}] + [\text{Bi(OH)}_2^+] + [\text{BiL}_n^{3-2n}] = \\ &= [\text{Bi}^{3+}] \cdot \left(1 + \frac{K_{1\text{OH}}}{[\text{H}^+]} + \frac{K_{2\text{OH}}}{[\text{H}^+]^2} + \frac{K_{3\text{OH}}}{[\text{H}^+]^3} + \frac{K_{4\text{OH}}}{[\text{H}^+]^4} \right) + K_{\text{BiL}_n^{3-2n}} [\text{Bi}^{3+}] [\text{L}^{z-}]^n \end{aligned} \quad (9),$$

в котором учитывается наличие комплекса BiL_n^{3-2n} , то есть $c(\text{Bi}^{3+})_{\text{раствл}}$ – это сумма концентраций различных форм Bi^{3+} , оставшихся в растворе после осаждения Bi(OH)_3 .

$K_{q\text{OH}}$ – константы реакций гидролиза $\text{Bi}^{3+} + q\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{Bi(OH)}_q^{3-q} + q\text{H}^+$;

При известной стехиометрии комплекса 1:1 ($n=1$) можно записать уравнение 10,

$$\begin{aligned}
c(\text{Bi}^{3+})_{\text{раств}} &= [\text{Bi}^{3+}] \cdot \left(1 + \frac{K_{1\text{OH}}}{[\text{H}^+]} + \frac{K_{2\text{OH}}}{[\text{H}^+]^2} + \frac{K_{3\text{OH}}}{[\text{H}^+]^3} + \frac{K_{4\text{OH}}}{[\text{H}^+]^4} + K_{\text{BiL}}[\text{L}]\right) \\
&= [\text{Bi}^{3+}] \cdot \left(1 + \frac{K_{1\text{OH}}}{[\text{H}^+]} + \frac{K_{2\text{OH}}}{[\text{H}^+]^2} + \frac{K_{3\text{OH}}}{[\text{H}^+]^3} + \frac{K_{4\text{OH}}}{[\text{H}^+]^4} + \frac{K_{\text{BiL}} \cdot c(\text{L})}{1 + K_{1\text{H}}[\text{H}^+] + K_{2\text{H}}[\text{H}^+]^2 + K_{3\text{H}}[\text{H}^+]^3 + K_{\text{BiL}}[\text{Bi}^{3+}]}\right)
\end{aligned} \tag{10}$$

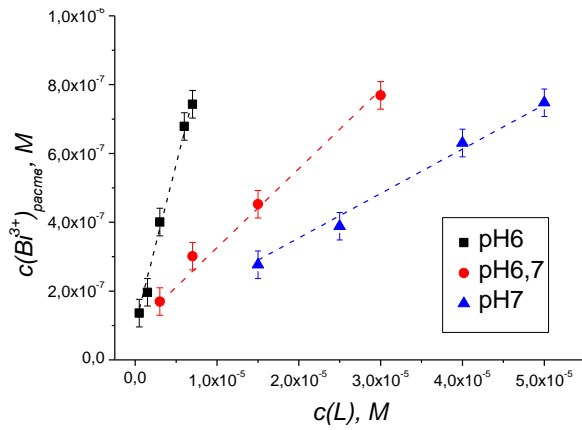
согласно которому линеаризация зависимости $c(\text{Bi}^{3+})_{\text{раств}}$ от $c(\text{L})$ $c(\text{Bi}^{3+})_{\text{раств}} = k \cdot c(\text{L}) + b$ позволяет рассчитать K_{BiL} из наклона с учётом известного значения $\text{PP}(\text{Bi}(\text{OH})_3) = 10^{-39,5}$ [192] для вычисления $[\text{Bi}^{3+}]$. Кроме того, $[\text{Bi}^{3+}]$ и, соответственно, PP может быть вычислен в каждом эксперименте независимо из пересечения полученной зависимости с осью y (уравнение 12)

$$k = [\text{Bi}^{3+}] \cdot \frac{K_{\text{BiL}}}{1 + K_{1\text{H}}[\text{H}^+] + K_{2\text{H}}[\text{H}^+]^2 + K_{3\text{H}}[\text{H}^+]^3 + K_{\text{BiL}}[\text{Bi}^{3+}]} \tag{11}$$

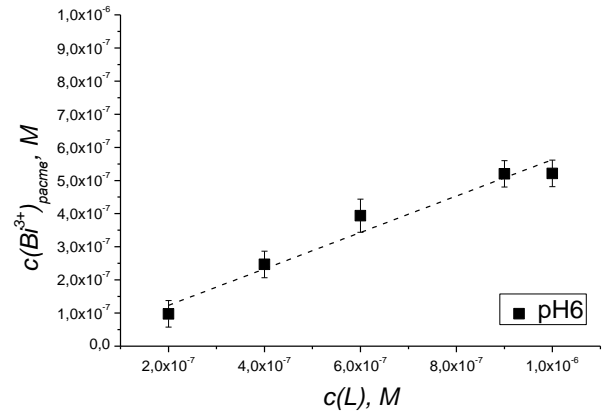
$$b = [\text{Bi}^{3+}] \cdot \left(1 + \frac{K_{1\text{OH}}}{[\text{H}^+]} + \frac{K_{2\text{OH}}}{[\text{H}^+]^2} + \frac{K_{3\text{OH}}}{[\text{H}^+]^3} + \frac{K_{4\text{OH}}}{[\text{H}^+]^4}\right) \tag{12}$$

Результаты экспериментов по изменению концентрации растворённого Bi^{3+} в присутствии лигандов представлены на рисунке 3.18: видно, что с увеличением концентрации лиганда растёт содержание Bi^{3+} в растворе. Линейный характер этой зависимости подтверждает состав комплексов $\text{M:L}=1:1$, что согласуется с данными для комплексов с РЗЭ и результатами жидкостной экстракции для Bi^{3+} . Аппроксимация полученных зависимостей согласно уравнению 10 позволила рассчитать $\lg \text{PP} = -39,5 \pm 0,7$ из пересечения прямой с осью Oy , что согласуется с литературными данными. Однако рассчитанные из наклона прямых $\lg K_{\text{BiL}}$ (уравнение 11) для лигандов **L2b**, **L2c** и **4** монотонно увеличиваются с повышением pH (рисунок 3.19), что может быть следствием образования двух типов комплексов состава BiL и $\text{BiL}(\text{OH})_n$. При этом отсутствие изменения константы при более низких pH , и в случае **L3b** в широком диапазоне pH свидетельствует о присутствии только комплекса состава BiL .

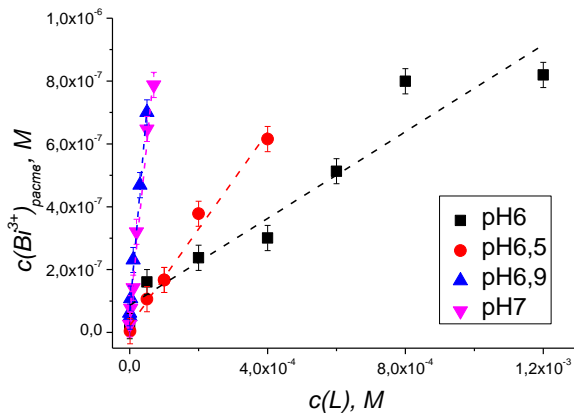
а)



б)



в)



г)

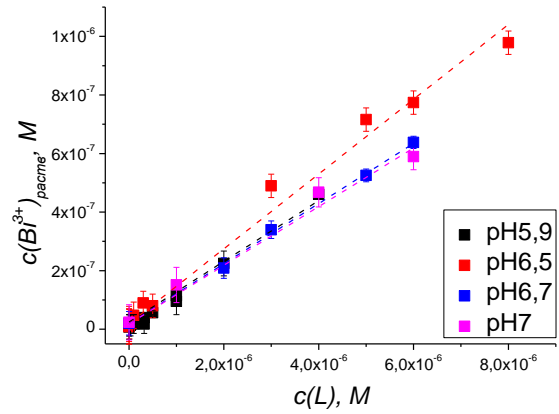


Рисунок 3.18 – Изменение концентрации растворённого Bi^{3+} с повышением концентрации лиганда при разных pH: а) L2b; б) L3b; в) L3c; г) L4

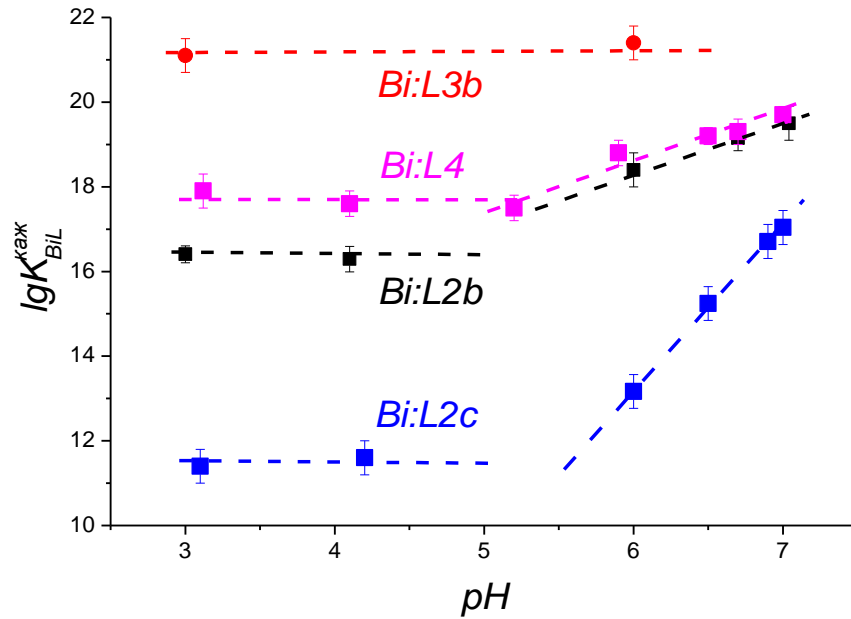
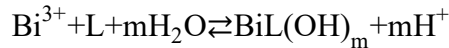


Рисунок 3.19 – Рассчитанные значения логарифмов кажущихся констант устойчивости комплексов BiL в зависимости от pH.

Для расчёта константы образования $\text{BiL}(\text{OH})_n$ необходимо добавить в уравнение 9 и последующие вклад от этого комплекса согласно реакции



Тогда уравнение 10 приобретает вид:

$$\begin{aligned} c(\text{Bi}^{3+})_{\text{раств}} &= [\text{Bi}^{3+}] \cdot \left(1 + \frac{K_{1\text{OH}}}{[\text{H}^+]} + \frac{K_{2\text{OH}}}{[\text{H}^+]^2} + \frac{K_{3\text{OH}}}{[\text{H}^+]^3} + \frac{K_{4\text{OH}}}{[\text{H}^+]^4} + K_{\text{BiL}}[\text{L}] + K_{\text{BiL}(\text{OH})_m} \cdot [\text{L}] \cdot [\text{OH}^-]^m \right) = \\ &= [\text{Bi}^{3+}] \cdot \left(1 + \frac{K_{1\text{OH}}}{[\text{H}^+]} + \frac{K_{2\text{OH}}}{[\text{H}^+]^2} + \frac{K_{3\text{OH}}}{[\text{H}^+]^3} + \frac{K_{4\text{OH}}}{[\text{H}^+]^4} + \frac{K_{\text{BiL}}^{\text{каж}} \cdot c(\text{L})}{1 + K_{1\text{H}}[\text{H}^+] + K_{2\text{H}}[\text{H}^+]^2 + K_{3\text{H}}[\text{H}^+]^3 + K_{\text{BiL}}[\text{Bi}^{3+}]} \right) \end{aligned} \quad (10a)$$

В таком случае описание зависимости рассчитанной $K_{\text{BiL}}^{\text{каж}}$ от концентрации $[\text{OH}^-]$ полиномиальной функцией позволяет определить $K_{\text{BiL}(\text{OH})_m}$ (уравнение 13).

$$\text{где } K_{\text{BiL}}^{\text{каж}} = K_{\text{BiL}} + K_{\text{BiL}(\text{OH})_m} \cdot [\text{OH}^-]^m \quad (13)$$

Для лигандов, содержащих две карбоксильные группы, наблюдается линейная зависимость (рисунок 3.20a), что соответствует комплексу BiLOH , образование которого представляется логичным ввиду однозарядного характера BiL2b^+ и BiL4^+ . С другой стороны, описание

зависимости для $\text{BiL}2\text{c}^{3+}$ с положительными коэффициентами полинома (необходимое условие, чтобы это описание имело смысл) возможно минимально при $m=3$ (рисунок 3.20б), что соответствует электронейтральному характеру $\text{L}2\text{c}$, т.е. при повышении pH $\text{BiL}2\text{c}^{3+}$ становится $\text{BiL}2\text{c}(\text{OH})_3$.

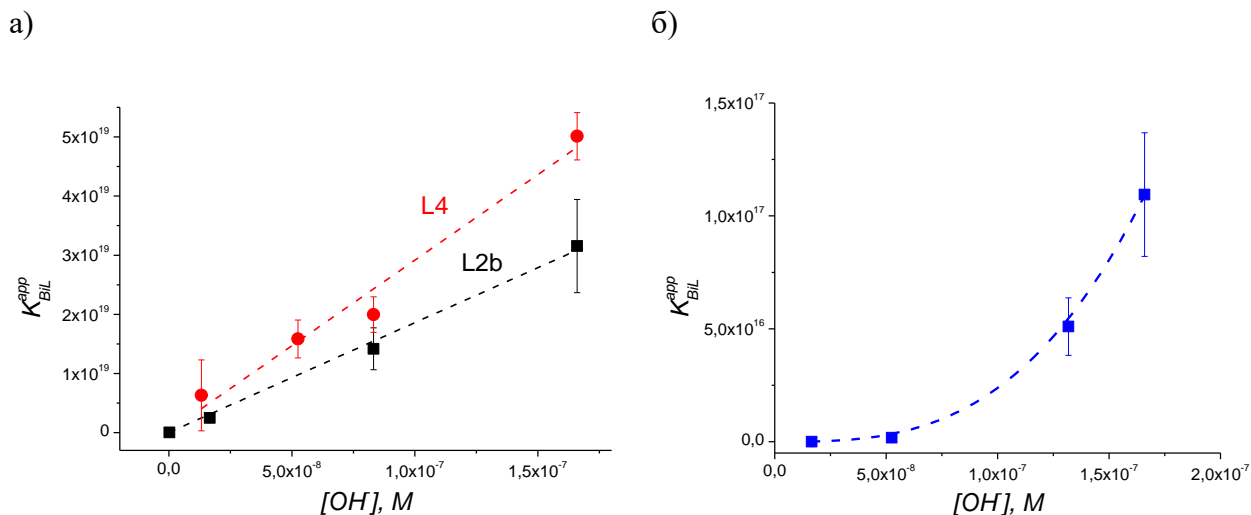


Рисунок 3.20 – Зависимость $K_{\text{BiL}}^{\text{каж}}$ от концентрации OH^- в растворе согласно уравнению 13.

Таблица 3.7. Рассчитанные $\lg K$ для комплексов BiL и $\text{BiL}(\text{OH})_m$

комплекс	L2b	L2c	L3b	L4
BiL	$16,4 \pm 0,3$	$11,5 \pm 0,2$	$21,3 \pm 0,2$	$17,4 \pm 0,3$
BiLOH	$26,4 \pm 0,2$	-	-	$26,4 \pm 0,2$
$\text{BiL}(\text{OH})_3$	-	$37,4 \pm 0,4$	-	-

Соотношение свободных энергий для реакций образования комплексов BiL (только 1:1) и реакций протонирования $\sum pK_a$ (суммарное протонирование) (рисунок 3.21) хорошо описывается прямой, что подтверждает корректность полученных значений, и отсутствие эффекта стереохимической предорганизации какого-либо из макроциклов на комплексообразование. Наклон полученной зависимости составляет $0,92 \pm 0,05$ и приблизительно равен соответствующему значению для Pb^{2+} (рисунок 3.6), что также согласуется с схожими значениями I_A для Pb^{2+} и Bi^{3+} (таблица 3.2).

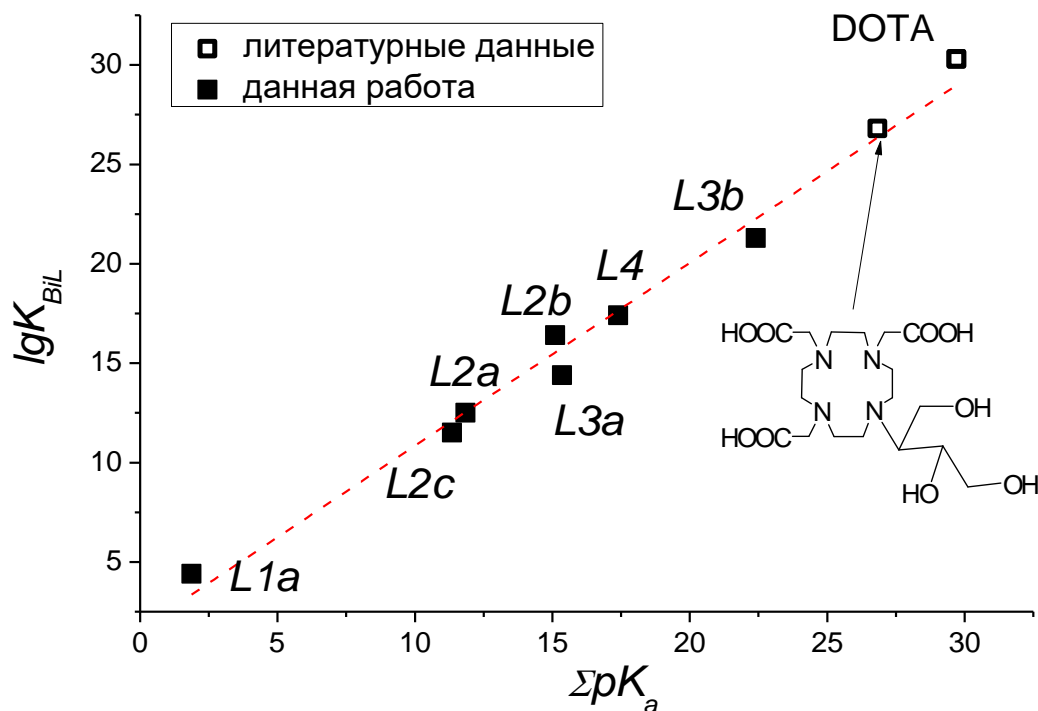
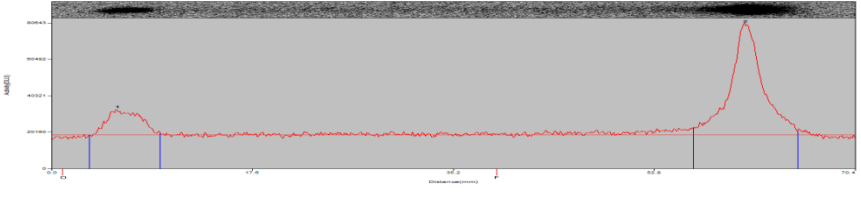


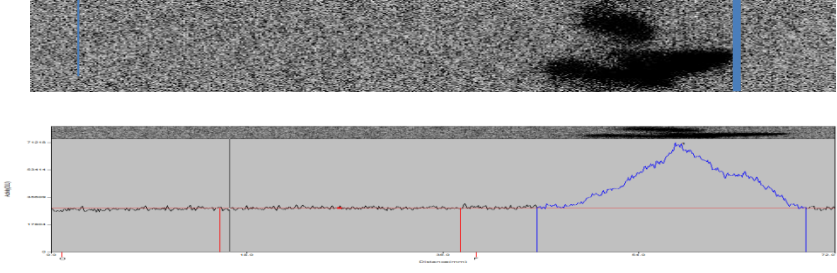
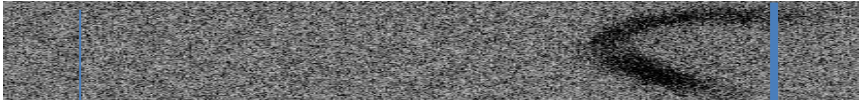





Рисунок 3.21 – Линейное соотношение свободных энергий реакций комплексообразования лигандов с Bi^{3+} и протонирования лигандов.

По сравнению с РЗЭ комплексы BiL с полиаминополикарбоксилатами характеризуются намного большей устойчивостью [79], что проявляется и в рассматриваемой серии азакраун-эфиров. Кроме того, Bi^{3+} образует комплексы с безкарбоксилатными лигандами, что в данной работе не наблюдается для РЗЭ. Комплексы РЗЭ с L2c аналогично L2a и L3a не образуются в рассматриваемых условиях. Высокая устойчивость BiL с амин-содержащими лигандами традиционно [193, 194] объясняется с точки зрения корреляции устойчивости полиаминных комплексов с аммиакатами: чем более устойчивы аммиакаты катиона, тем более устойчивы его комплексы с полиаминами. Среди рассмотренных катионов наибольшей устойчивостью с NH_3 согласно расчётам [195] обладает комплекс $Bi(NH_3)$ $\lg K=5,0$, далее $\lg K(Cu(NH_3))=4,27$, в то время как $\lg K(РЗЭ(NH_3))=0,2-0,7$. Аналогичный порядок устойчивости комплексов по ряду катионов наблюдается и в рассматриваемом случае. Для катиона Bi^{3+} образуются малоустойчивые комплексы даже с наименее комплексообразующим из рассмотренных лигандов L1a (таблица 3.6).

Оценка устойчивости образуемых комплекса $EuL3b$ *in vitro* в изотоническом растворе и бычьей сыворотке была проведена методом тонкослойной хроматографии. В использованном для образцов из 0,9% NaCl элюенте $Pu:H_2O:C_2H_5OH$ (1:4:2) $R_f(Eu^{3+})=0-0,1$, а $R_f(EuL)=0,9-1$. Согласно автордиографии пластин ТСХ при выдерживании раствора

Таблица 3.7 – Результаты ТСХ образцов после выдерживания в изотоническом растворе и сыворотке устойчивости

условия	Результат автордиографии	$\text{Eu}^{3+}_{\text{дисс}} / \text{EuL}$
0,9% NaCl 0 мин		19/81
0,9% NaCl 60 мин		23/77
0,9% NaCl 1 сут		27/73
сыворотка 0 мин		0
сыворотка 60 мин		0
сыворотка 1 сут		0
сыворотка 3 сут		0
сыворотка Eu^{3+} образец сравнения		100/0

комплекса в изотоническом растворе соотношение связанного с лигандом катиона и свободного практически не меняется от 80/20 до 70/30 в течение суток (таблица 3.7), что может быть обусловлено наличием избытка комплексообразующего хлорид-иона.

Однако перехелатирования сывороточными белками при выдерживании комплекса в сыворотке выявлено не было. С фронтом элюента (0,1М Na3cit/H3cit, pH4) поднимается EuL ($R_f=0,6-0,9$), в то время как связанный с белками катион остаётся при $R_f=0-0,2$. Видно (таблица 3.7), что после выдерживания в сыворотке радиоактивность, связанная с белками, на старте не наблюдается (неразличима на уровне фона). Таким образом, несмотря на невысокие значения констант устойчивости даже комплексы РЗЭ устойчивы в средах биологического значения.

3.3 Исследование структуры комплексных соединений

При комплексообразовании L4 с катионами висмута, европия и иттрия наблюдается гипсохромный сдвиг полос поглощения лиганда с максимумами при 275 и 305 нм, что свидетельствует об участии краун-эфирного фрагмента в образовании комплексов с обоими катионами (рисунок 3.22). Электростатическое взаимодействие катиона металла с гетероатомами краун-эфирной части молекулы значительно снижает электроно-

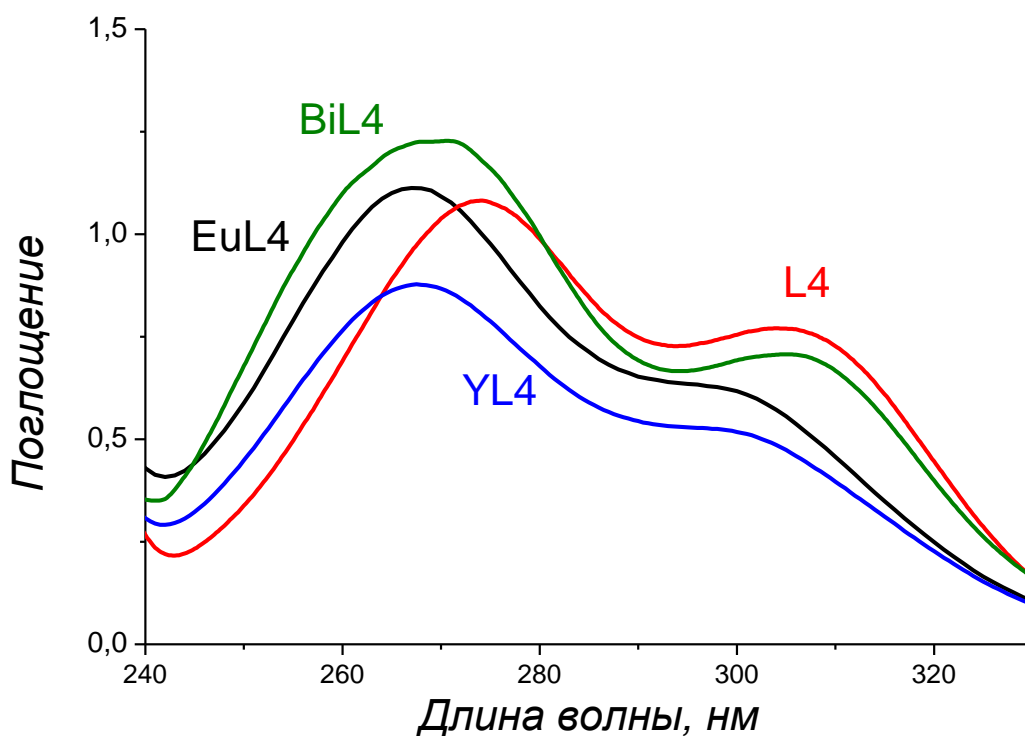


Рисунок 3.22 – Спектры поглощения в УФ области для растворов L4, L4 с добавлением M^{3+} $c=2 \cdot 10^{-4} M$, $M=Bi^{3+}$ (2), Eu^{3+} (3), Y^{3+} (4), 0,1М NaClO₄, 0,1М MES, pH 6,5.

донорную функцию макроциклических атомов азота и кислорода, связанных с хромофорной частью молекулы лиганда, и внутримолекулярный перенос заряда при возбуждении хромофора становится затруднённым. Дестабилизация возбужденного состояния молекулы при комплексообразовании приводит к наблюдаемому гипсохромному сдвигу.

В случае пиридин-содержащих лигандов в аналогичных условиях при двукратном избытке катиона комплекс характеризуется поглощением при интересующих нас длинах волн, значительно превышающим пик для L3b комплекса (рисунок 3.23 (3')), что может быть связано с сильным различием в коэффициентах экстинкции EuL3b и L3b. При уменьшении концентрации Eu^{3+} до эквимольного L3b (рисунок 3.23 (3)) спектры практически не отличаются, хотя наблюдается некоторая тенденция к гипсохромному сдвигу пиков при 275 и 283 нм. В данном случае сам лиганд L3b не проявляет

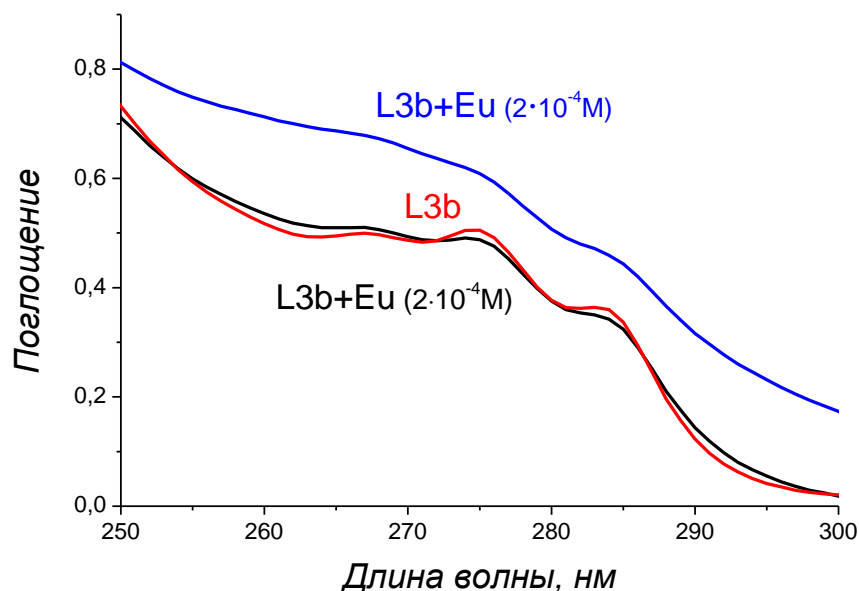


Рисунок 3.23 – Спектры поглощения в УФ области для растворов L3b (1), L3b с добавлением Eu^{3+} $c=1 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ (3) и $c=2 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ (3'), 0,1M NaClO_4 , 0,1M MES, pH 6,2.

хромофорных свойств: отсутствие выраженных пиков поглощения – также не позволяет наблюдать картину, аналогичную L4.

Комплексы полиаминополикарбоксилатов с РЗЭ характеризуются близкими значениями констант устойчивости и схожестью структуры [79, 196]. Известно, что флуоресценция катионов Eu^{3+} определяется переходами между термами $^5\text{D}_0$ и нижележащими по энергии $^7\text{F}_J$. Спектры флуоресценции свободных катионов малоинтенсивны, что связано с запретом по чётности, однако в комплексах с органическими лигандами интенсивность флуоресценции Eu^{3+} может быть значительно

повышена в результате переноса энергии от возбужденного лиганда на катионы европия и одновременного уменьшения скорости переноса

энергии возбуждения на молекулы воды гидратной оболочки. Регистрация кинетики затухания люминесценции европия позволяет определить число молекул воды в ближайшем окружении катиона Eu^{3+} [173].

На использованной для возбуждения люминесценции длине волны 355 нм Eu^{3+} не поглощает, однако комплекс EuL поглощает излучение за счёт лиганда, и, в результате переноса энергии возбуждения на атом европия, наблюдается люминесценция комплекса. Полученные кинетические зависимости затухания люминесценции (рисунок 3.24) имели отличный от моноэкспоненциального характер на начальном участке (до 50 мкс), поэтому для получения времени жизни возбужденного состояния комплекса нами использовалась аппроксимация суммой двух экспонент (уравнение 14).

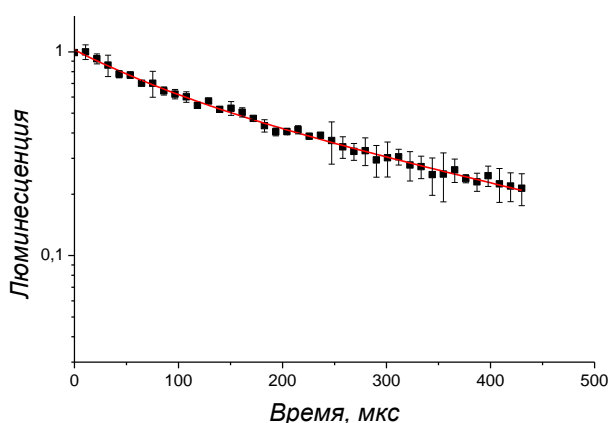
$$I(t) = A_1 e^{-t/\tau_1} + A_2 e^{-t/\tau_2} \quad (14)$$

Согласно [173] число молекул воды в координационной сфере Eu^{3+} может быть вычислено по следующей формуле:

$$N_{\text{H}_2\text{O}} = 1,05 / \tau - 0,44$$

из чего рассчитаны значения (таблица 3.8).

а)



б)

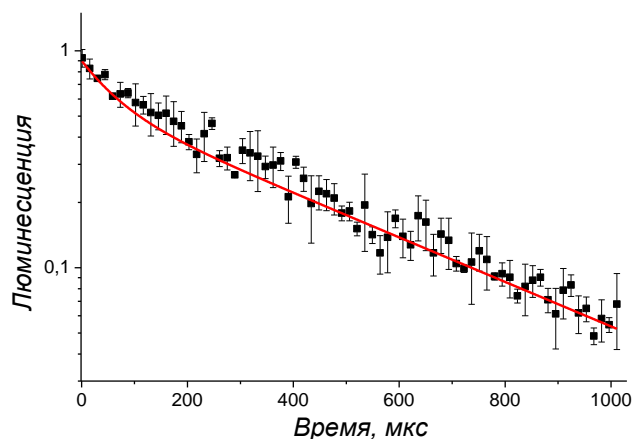


Рисунок 3.24 – Кинетика затухания люминесценции Eu^{3+} в составе комплекса EuL :

а) L3b; б) L4.

Аналогичные биэкспоненциальные кинетики затухания люминесценции Eu^{3+} в комплексах с другими лигандами наблюдались ранее [197, 198] и могут быть связаны: а) с существованием нескольких комплексов с разным содержанием молекул воды в координационной сфере и б) затуханием люминесценции на ароматической части лиганда, как, например, в случае с гуминовыми веществами в [198]. Первое представляется маловероятным, так как даже для не связанного в комплекс девятигидратированного Eu^{3+} время жизни $\tau=114$ мкс [199], а в данном случае наблюдается даже более быстрое затухание люминесценции EuL , что может происходить за счёт ароматической части лиганда так же как и в [198]. Таким образом, временем жизни возбуждённого состояния Eu^{3+} в комплексе EuL считали большее из времён [197, 198].

Таблица 3.8 – Время жизни возбуждённого состояния Eu^{3+} в комплексах EuL и соответствующее ему число молекул воды в первой координационной сфере

	L3b		L4	
время жизни, мкс	85±23	368±57	64±20	423±15
N(H ₂ O)	-	2,5±0,4	-	2,0±0,1

Полученные значения указывают на то, что 2 координационных места в координационной сфере Eu^{3+} в комплексе EuL4 заняты молекулами воды, аналогично комплексу европия с диаза-15-краун-5 дикарбоновой кислотой (LR2) [200]. В то же время для комплекса EuL3b можно предположить, что от 2 до 3 координационных мест в окружении Eu^{3+} занято молекулами воды. По-видимому, остальные 6-7 координационных положений заняты атомами кислорода и азота лиганда. Очевидно, ввиду их большей электроотрицательности 3 карбоксильные группы и 3 атома N макроцикла принимают участие в координации в случае EuL3b , отсутствие влияния остальных атомов N, ввиду их малой склонности к протонированию, представляется логичным, но, возможно, ввиду жёсткой структуры макроцикла, они оказывают некоторый эффект, что приводит к нецелочисленному значению $N(\text{H}_2\text{O})=2,4$.

Согласно рассчитанной методом квантово-химического моделирования геометрии комплекс EuL3b образуется за счёт включения катиона в макроциклическую полость, при этом две соседние карбоксильные группы хелатируют Eu^{3+} с одной стороны макроцикла, а третья с другой стороны (таблица 3.9, рисунок 3.25а). Расстояния до атомов азота можно подразделить на две группы: более короткие до алифатических атомов азота макроцикла 2,6-2,9 Å и межатомные расстояния 3,1-3,4Å до карбамидных и пиридиновых атомов азота. Последнее согласуется с результатами TRLIFs: ввиду жёсткости структуры лиганда

и малой нуклеофильности пиридиновый и карбамидные N отдалены от катиона и находятся уже на существенно большем расстоянии, насколько это возможно в пределах краун-эфирной полости.

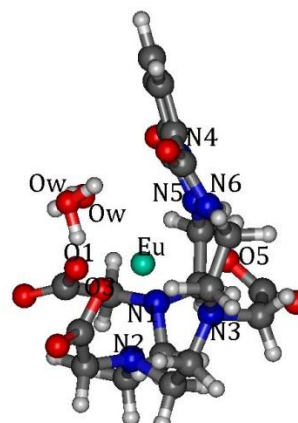
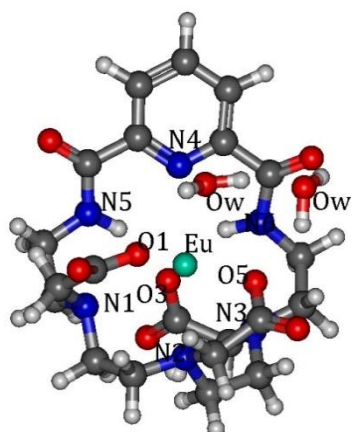
Квантово-химический расчёт с учётом рассчитанных с помощью TRLIFs 2 молекул воды показывает, что в образовании комплекса $\text{EuL4}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ участвует карбонильная группа фенила (таблица 3.9, рисунок 3.25б). Рассчитанные значения межатомных расстояний Eu-N, Eu-O (таблица 3.9) соответствуют расстояниям, характерным для комплексов Eu^{3+} с полиаминополикарбоксилатами, например, с DOTA 2,2-2,7Å [87].

Таблица 3.9 – Межатомные расстояния (Å), полученные методом квантово-химического расчёта структур комплексов EuL и BiL

атомы	ML3b		ML4		комментарий
	Eu	Bi	Eu	Bi	
O1	2,30	2,25	2,39	-	Атомы кислорода первой карбоксильной группы
O2	-	-	2,42	-	
O3	2,26	2,17	2,37	-	Атомы кислорода второй карбоксильной группы
O4	-	-	2,45	2,23	
O5	2,37	2,14	-	-	Атом кислорода третьей карбоксильной группы
O5	-	-	-	2,36	Атом кислорода в макроцикле
O6	-	-	2,55	-	Атом кислорода карбонильной группы
O7	-	-	4,28	2,56	Атомы кислорода в макроцикле
O8	-	-	4,87	2,41	
N1	2,91	4,16	4,78	3,32	Алифатические атомы азота в макроцикле
N2	2,64	2,50	4,61	3,84	
N3	2,99	2,57	-	-	
N4	3,13	2,49	-	-	Пиридиновый атом азота в макроцикле
N5	3,43	3,19	-	-	Карбамидные атомы азота в макроцикле
N6	3,16	3,66	-	-	
Ow	2,57		2,53		H ₂ O
Ow	4,13		2,44		H ₂ O

EuL4 имеет цис- конфигурацию (рисунок 3.25б), аналогично комплексу европия с лигандом LR2 согласно данным работ [190, 191, 200]. Ввиду сворачивания плоскости макроцикла и жёсткости бензольного кольца в образовании комплекса принимает участие

а)



б)

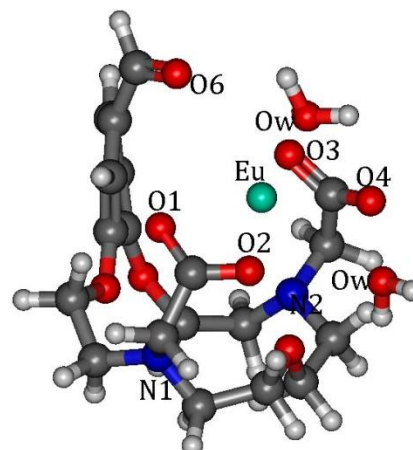
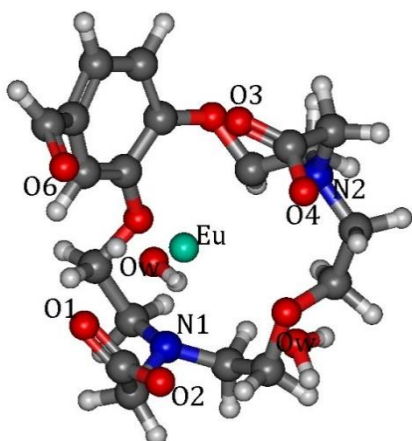


Рисунок 3.25 – Оптимизированная геометрия комплекса $\text{EuL} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ в двух проекциях:

а) $\text{L}=\text{L3b}$; б) $\text{L}=\text{L4}$.

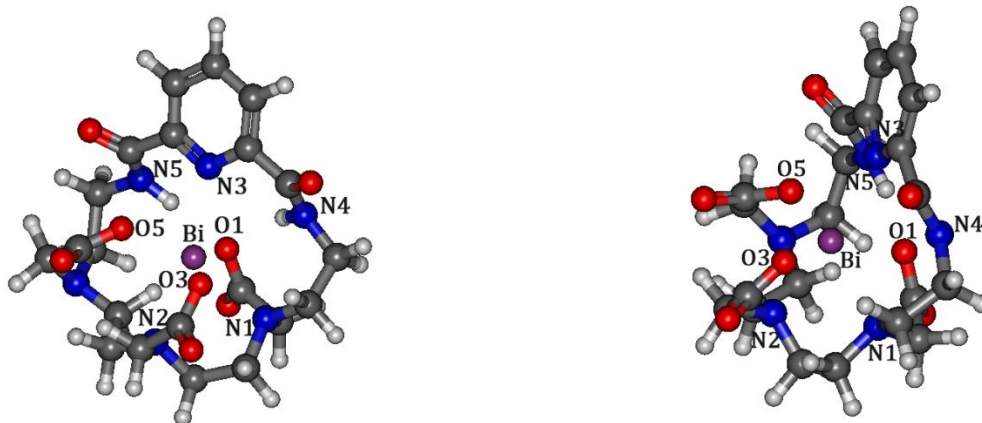
атом кислорода карбонильной группы, при этом катион европия более удалён от краун-эфирного фрагмента в отличие от комплекса с **LR2**, что и приводит к меньшим константам связывания катионов с **L4** [190].

Геометрия BiL3b незначительно отличается от EuL3b , что является следствием большого размера макроцикла в **L3b**. Однако видно (таблица 3.9), что Bi^{3+} по причине меньшей жёсткости и большего сродства к донорным атомам N образует более короткие связи с макроциклическими N.

В отличие от EuL4 , Bi^{3+} образует комплекс с транс-**L4** (рисунок 3.26), также преимущественно занимая положение над плоскостью частично свернутого краун-эфира, которое выгоднее комплекса с цис-**L**, аналогичного комплексу с Eu(III) . Такая геометрия приводит к тому, что рассчитанные расстояния от Bi^{3+} до донорных атомов макроцикла

Bi-O и Bi-N короче Eu-O и Eu-N (таблица 3.9), вследствие чего комплекс BiL4 оказывается более устойчивым по сравнению с РЗЭL4 (таблица 3.4, 3.7). Кроме того, по сравнению с комплексами Eu с DOTA [87] некоторые межатомные расстояния M-O, M-N в комплексах с L4 на $\sim 1-2\text{\AA}$ длиннее, что является следствием, во-первых, удаления катиона европия от макроцикла за счёт бензольного кольца, во-вторых, сложностью организации полости макроцикла таким образом, чтобы координация осуществлялась по всем донорным атомам макроцикла одинаково. Такое удлинение связей и соответствующее образование искажённого полиэдра приводят к меньшей устойчивости комплексов с L3b и L4 по сравнению с DOTA и ДТРА.

а)



б)

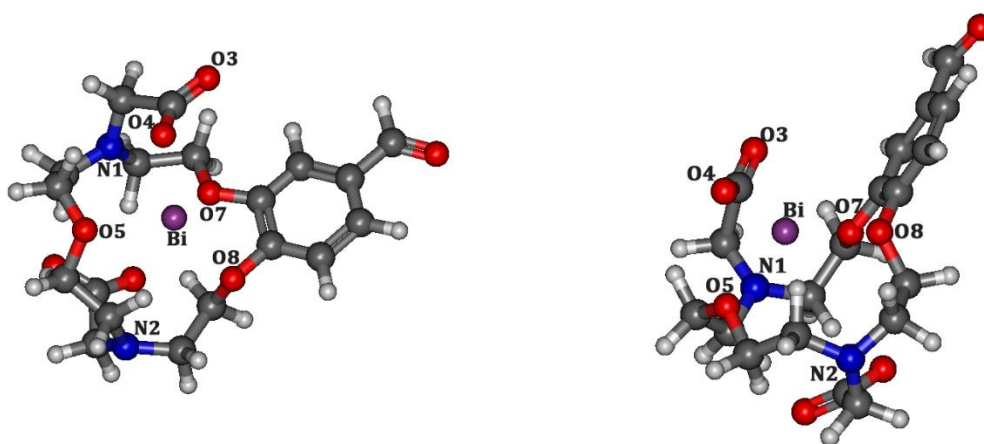


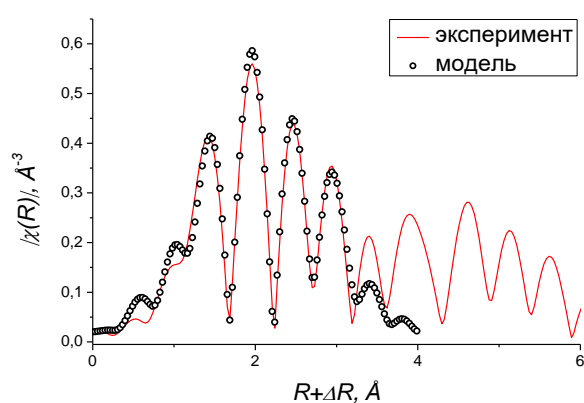
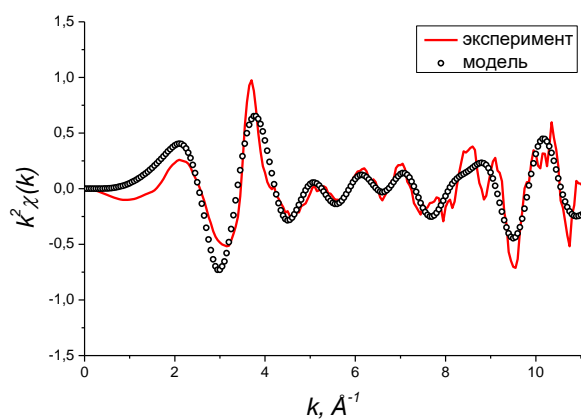
Рисунок 3.26 – Оптимизированная геометрия комплекса ML в двух проекциях
L=L3b а) M=Eu; б) M=Bi; L=L4 в) M=Eu; г) M=Bi.

Для исследования структуры комплексов одним из наиболее достоверных приближений является получение монокристаллов этих комплексных соединений. В данной работе были проведены попытки роста монокристаллов BiL, EuL, YL различными методами, описанными в [85, 87, 201], которые не увенчались успехом (образуются кристаллы перхлората Vi).

Однако для характеристики комплексов в растворе может быть использован метод спектроскопии рентгеновского поглощения, который позволяет исследовать координационную сферу катиона.

Полученные из обработки спектров рентгеновского поглощения (рисунок 3.27) для BiL длины связей с лёгкими атомами O, N, (табл. 3.10) согласуются с данными квантово-

а)



б)

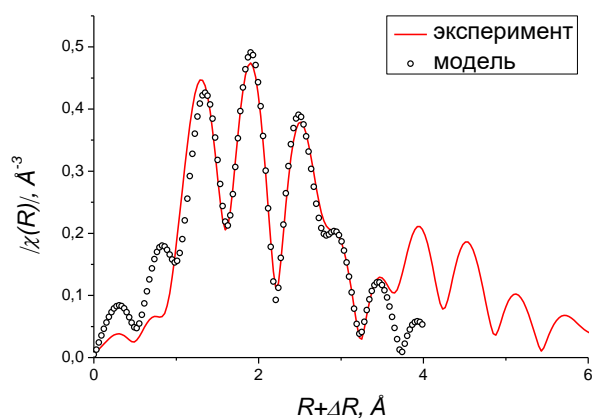
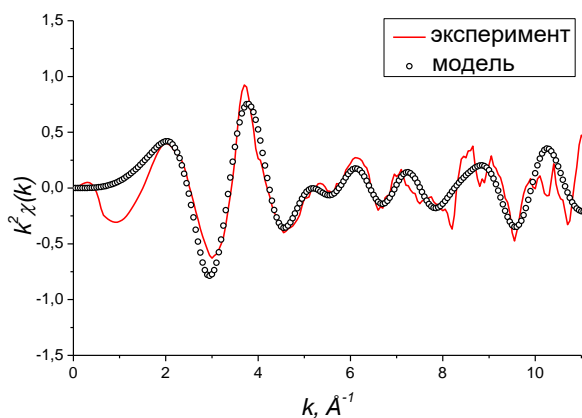


Рисунок 3.27 – Обработка спектра рентгеновского поглощения для BiL в k и R -пространстве: а) L4; б) L3b.

химического расчёта геометрии комплекса BiL (табл. 3.9). Это также соответствует расстояниям Bi-O, Bi-N, равным 2,3-2,6Å в комплексах с DOTA и DTPA согласно данным рентгеноструктурного анализа монокристаллов Na[Bi(DOTA)]·H₂O [39] и K[Bi(HDTPA)·H₂O]·4H₂O [44]. В данном случае, как и в работах [90, 196] прослеживается большее сродство не только катионов РЗЭ, но и Bi³⁺ как катиона промежуточной жёсткости к донорным атомам кислорода как карбоксильных групп, так и макроциклических, в отличие от аминных атомов азота. При образовании комплексов Bi³⁺ образует более короткие связи с N, чем Eu³⁺ (таблица 3.10).

Таблица 3.10 – Межатомные расстояния и координационные числа, полученные из спектров EXAFS катиона Bi³⁺ в комплексах BiL3b и BiL4

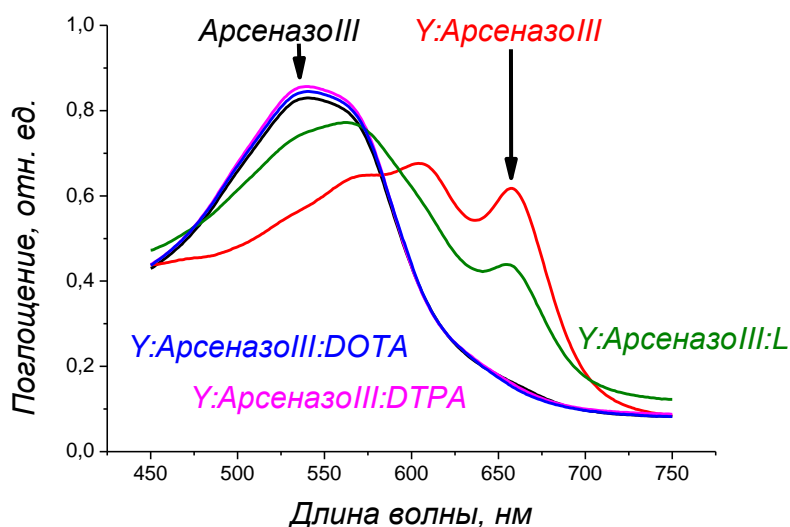
комплекс	BiL3b				BiL4			
	O	O	N	N	O	O	O	N
R, Å	1,9	2,5	2,8	3,3	2,1	2,4	3,0	3,6
К.ч.	1±1	3±1	4±2	3±2	3±2	5±3	3±2	7±5

3.4 Кинетика комплексообразования азакраун лигандов, DOTA и DTPA

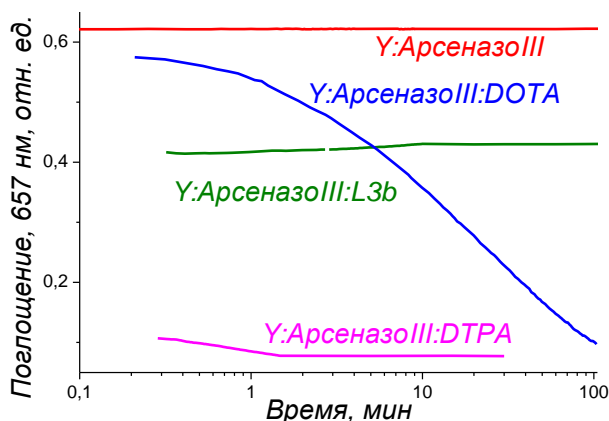
При проведении потенциометрического титрования было установлено, что время установления равновесия (отсутствие изменения потенциала в пределах 0,2 мВ/мин) практически во всех точках, кроме образования нерастворимых гидроксокомплексов, оказывалось в пределах 0,5-2 мин, что косвенно свидетельствует о быстрой скорости комплексообразования.

Для сравнения времени связывания катионов такого типа лигандами и известными хелаторами был использован метод УФ спектроскопии поглощения с использованием красителя Арсеназо III. Из рисунка 3.28 на примере Y³⁺ видно (для Bi³⁺ в приложении 37), что образование комплекса YL происходит в течение 1 минуты, что в тех же условиях сравнимо с «золотым стандартом» быстрого комплексообразования DTPA и на порядок быстрее, чем DOTA. В то же время в данных условиях DTPA и DOTA полностью связывают катион, а L – только частично: часть катиона остаётся в комплексе с Арсеназо III.

а)



б)



в)

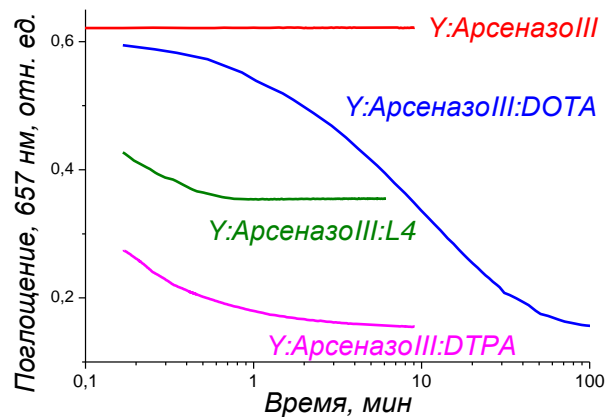


Рисунок 3.28 – а) спектры поглощения Арсеназо III и Y:Арсеназо III; и зависимость оптической плотности при 657 нм (комплекс Y-Арсеназо) от времени реакции при pH6,5. $c(Y^{3+})=2 \cdot 10^{-5} M$; $c(DTPA)=2 \cdot 10^{-5} M$; $c(DOTA)=1 \cdot 10^{-3} M$; $c(L)=5 \cdot 10^{-3} M$, L=L3b (б) и L=L4 ((в))

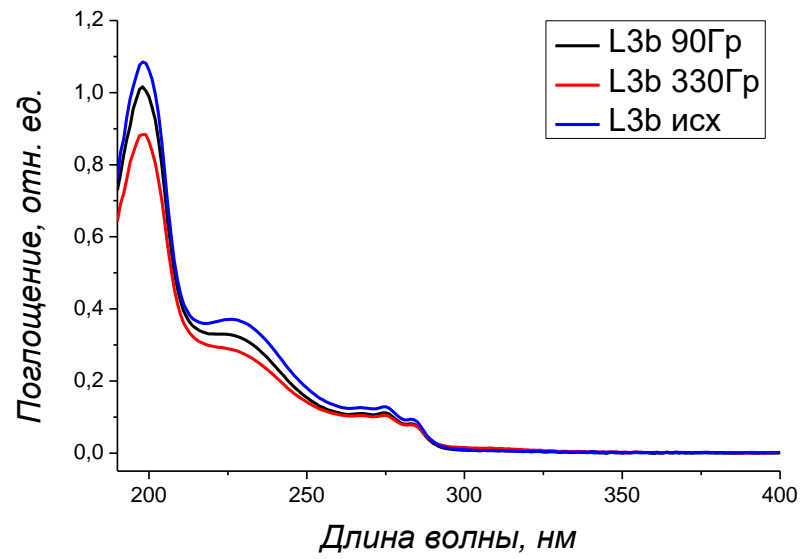
Быстрое комплексообразование азакраун лигандами может быть обусловлено открытостью рассматриваемых макроциклов большего размера, чем DOTA, так как известно, что в случае DOTA лимитирующей фазой является постепенное заключение катиона в пространство между макроциклом и карбоксильными группами с одновременным депротонированием. Такой процесс в больших макроциклах должен упрощаться ввиду большего локального пространства. Кроме того, меньшее число карбоксильных групп также способствует последнему.

3.5 Радиационная стойкость лигандов

Важными параметрами хелаторов и векторов, предлагаемых в качестве РФП, является их радиационная устойчивость. Для оценки радиационной устойчивости лигандов L3b и L4 было использовано гамма-излучение. Показано [202], что при терапии препаратом на основе Y-90 доза в опухоли составляет ~300Гр, что определило дозы, которые были использованы нами в экспериментах.

Согласно полученным результатам (рисунок 3.29) по мере увеличения накопленной дозы происходит небольшое изменение спектров поглощения растворов лигандов в сторону понижения концентрации на 5-10%, что может быть как раз следствием деструкции молекулы под действием излучения. МАЛДИ (для 330 Гр) и ИСП (для 4300 Гр) масс-спектры (рисунок 3.30) для L4 показывают наличие при 330 Гр и 4300 Гр исходной молекулы, которой соответствует $M/z=410/2=205$. Кроме того, в обоих случаях присутствуют $M/z=321$, что может соответствовать L4 без обеих ацетатных групп «L4-2CH₂COOH», либо без 1 ацетатной и альдегидной (которая при фенильном фрагменте), и $M/z=367$, что соответствует «L4-COOH» (рисунок 3.31). Для 4300Гр обнаруживается пик при $M/z=788$, который соответствует либо диангидриду «2L4 - 2H₂O» (рисунок 3.31), либо другой димеризованной структуре, «2L4 - HCO». По всей видимости, при большой накопленной дозе происходит димеризация. Определить $M/z=433$ не удалось, возможно это примесь, содержащаяся в исходном образце.

а)



б)

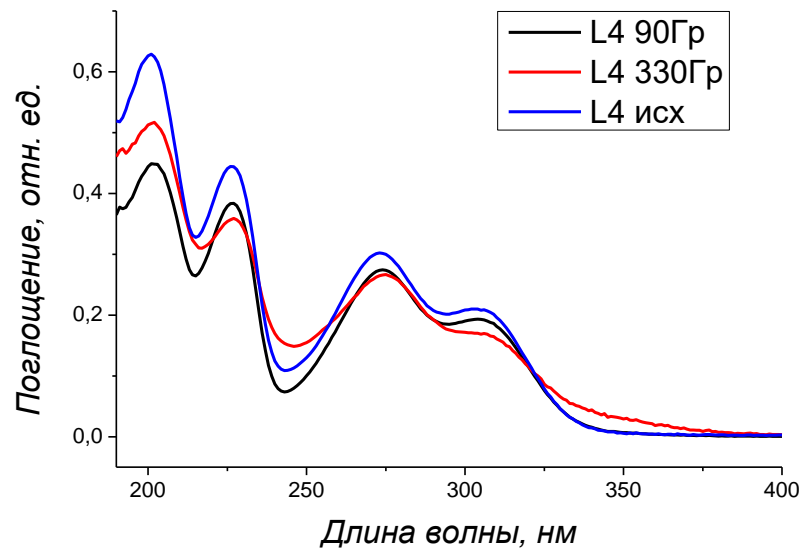


Рисунок 3.29 – Спектры поглощения растворов L3b (а) и L4 (б) до и после облучения в гамма источнике.

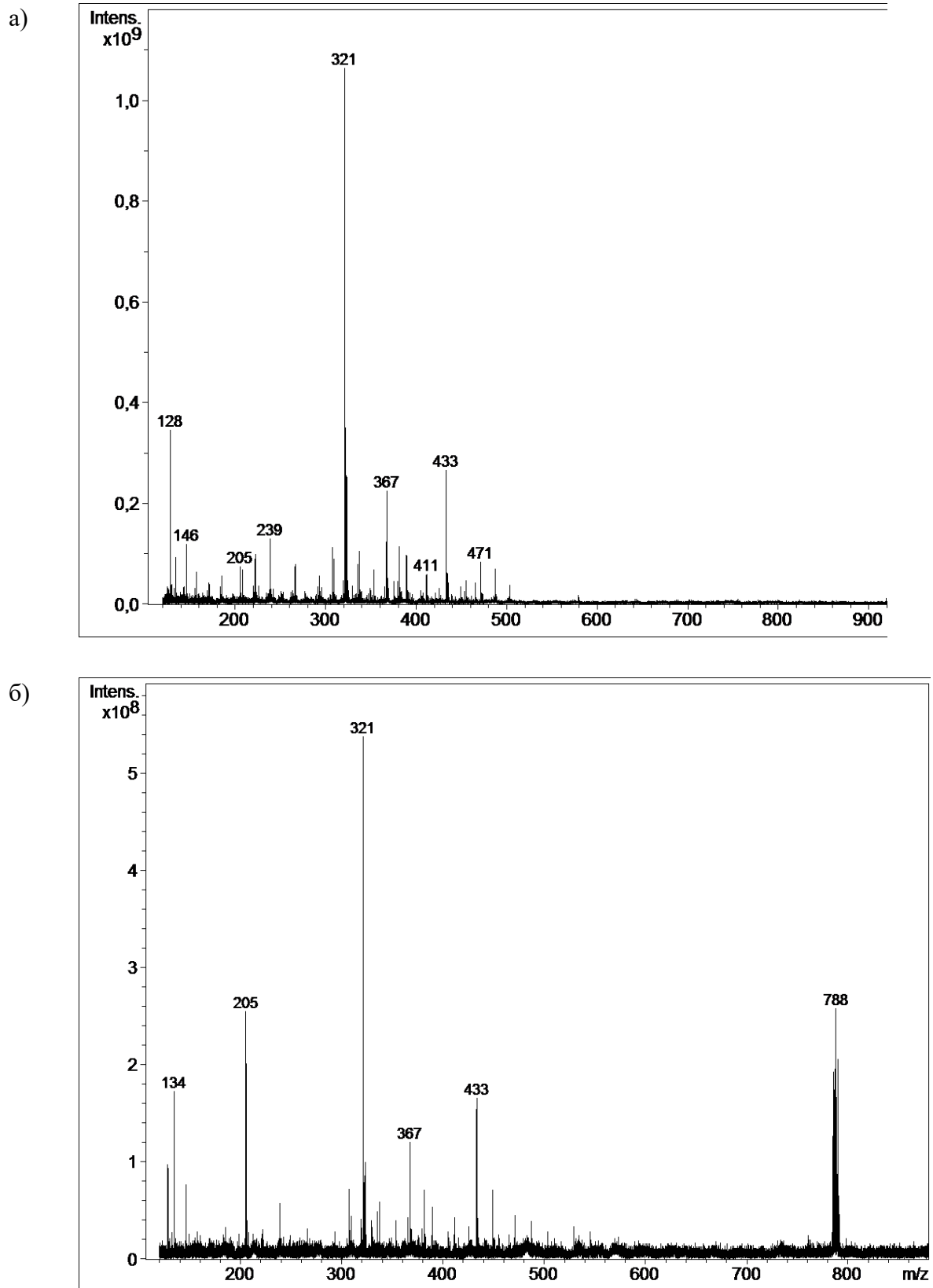


Рисунок 3.30 – Масс-спектры L4 после облучения: а) 330Гр; б) 4300Гр.

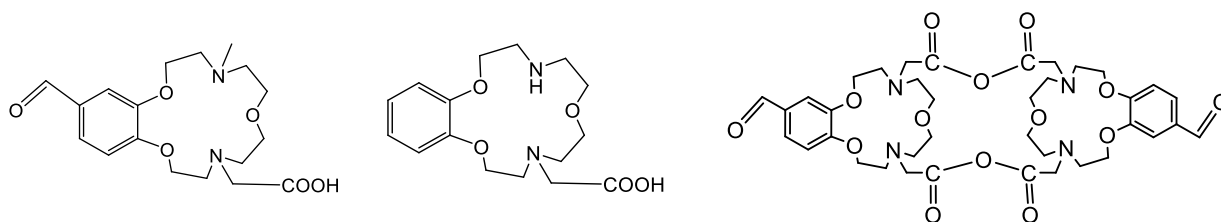


Рисунок 3.31 – Некоторые продукты радиолита L4 после экспозиции 330 и 4300 Гр.

Для сравнения комплексообразующей способности до и после радиолита был проведён сравнительный эксперимент с Bi^{3+} методом конкурирующей реакции осаждения $\text{Bi}(\text{OH})_3$ при pH6 (рисунок 3.32) с лигандами L3b и L4 до и после облучения 330 Гр.

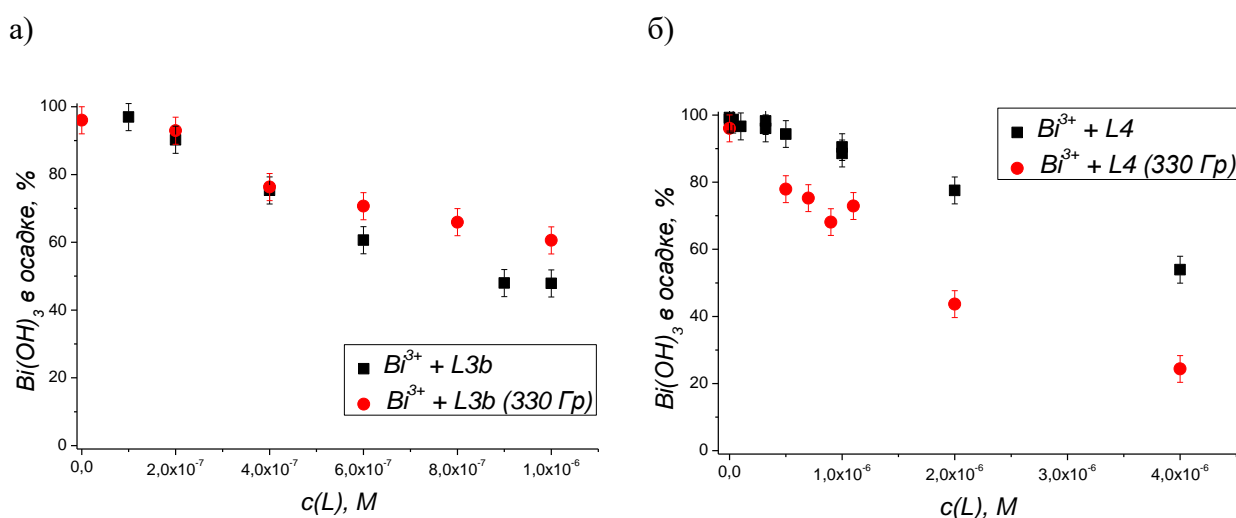


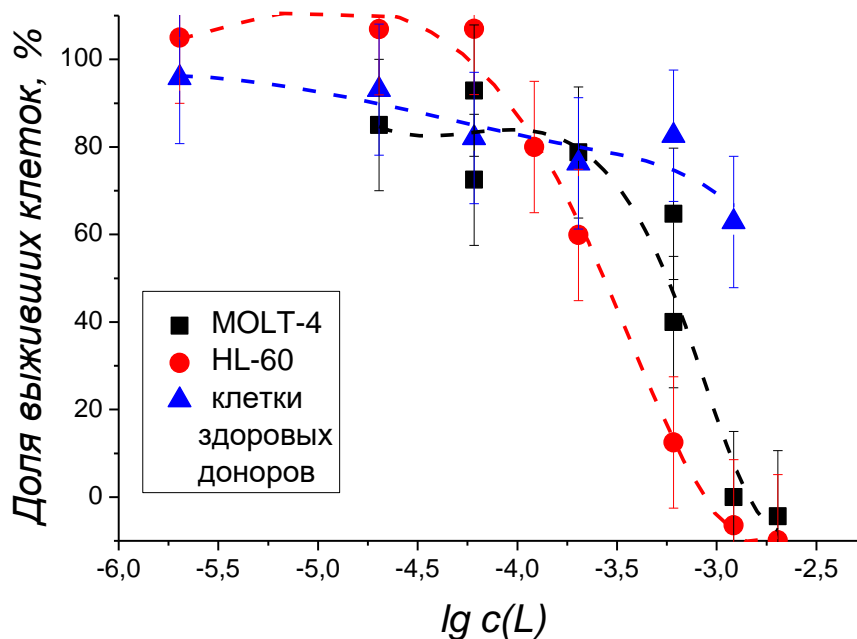
Рисунок 3.32 – Осаждение $\text{Bi}(\text{OH})_3$ из растворов с разным содержанием лигандов до и после облучения: а) Bi-L3b ; б) Bi-L4 .

Полученные результаты свидетельствуют о сохранении комплексообразования в данных системах. Для L3b ход кривой осаждения не меняется (рисунок 3.32а), что приводит к сохранению и константы устойчивости при аналогичном расчёте по уравнению $12 \lg K(\text{BiL3b}(330\text{Гр}))=21,3(2)$. В случае L4 наблюдается более резкое уменьшение осаждения Bi^{3+} с увеличением концентрации лиганда после облучения, чем до него (рисунок 3.32б), что может быть обусловлено более прочным связыванием Bi^{3+} димеризованными лигандами, образование которых подтверждается масс-спектрометрией. Однако, такое изменение незначительно сказывается на рассчитываемом значении константы устойчивости $\lg K(\text{BiL4}(330 \text{ Гр}))=18,9(3)$ по сравнению с ранее полученным для pH6 $\lg K(\text{BiL4})=18,5$. Таким образом, рассмотренные дозы не оказывают влияния на комплексообразование азакраун-лигандами в модельных растворах.

3.6 Цитотоксичность лигандов

Для оценки цитотоксичности использовали клеточные линии промиелоцитарного лейкоза HL-60 и лимфобластоидной лейкемии MOLT-4, а также нормальные лимфоциты крови. Использовали классический МТТ-тест, который показывает влияние соединения на пролиферацию клеток (рисунок 3.33). Полученные зависимости показывают, что здоровые клетки более устойчивы к воздействию лигандов. Причём в случае L4 наблюдается практически

а)



б)

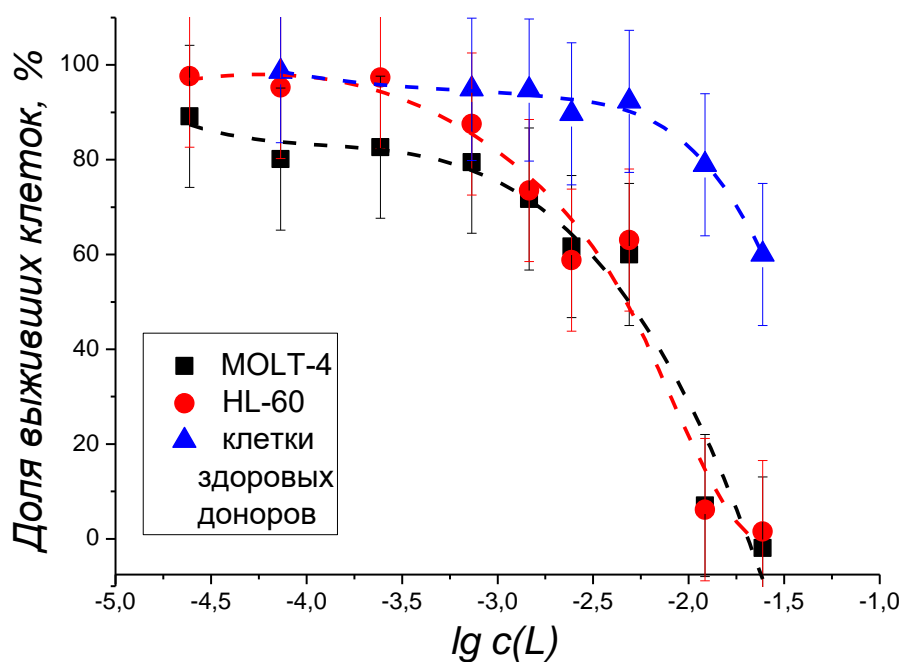


Рисунок 3.33 – Зависимость выживаемости клеток от концентрации лиганда: а) L3b; б) L4.

одинаковый отклик для обеих клеточных линий лейкоза, а для L3b наблюдается некоторое различие, что находит отражение в рассчитанных из кривых выживаемости экстраполяцией и интерполяцией значениях полуметальных концентраций (таблица 3.11).

Таким образом, по предварительной оценке, токсическое влияние самих краун-эфиров как на нормальные, так и на злокачественные клетки минимально. Кроме того, полученные значения полуметальных концентраций хелаторов традиционно не достигаются при синтезе РФП, так как там используются концентрации в диапазоне $1 \cdot 10^{-10}$ - $1 \cdot 10^{-8}$ М [52, 76, 101].

Таблица 3.11 – Полуметальные концентрации ЛК50 лигандов для клеточных линий лейкозов HL-60 и MOLT-4 и клеток крови здоровых доноров.

Клетки Лиганд	HL-60	MOLT-4	Клетки здоровых доноров
L3b	$2,5 \cdot 10^{-4}$ М	$6,3 \cdot 10^{-4}$ М	$3,2 \cdot 10^{-3}$ М
L4	$4 \cdot 10^{-3}$ М	$4 \cdot 10^{-3}$ М	$3,3 \cdot 10^{-2}$ М

Заключение

1. Образование устойчивых комплексных соединений РЗЭ и As^{3+} с азакраун-эфирами определяется наличием карбоксильных групп, в то время как Cu^{2+} , Pb^{2+} и Bi^{3+} образуют комплексы со всеми рассмотренными лигандами;
2. Наиболее устойчивые комплексы образуют Cu^{2+} ($\lg K=16$) и Bi^{3+} ($\lg K=21$) с пиридин-содержащей азакраун-трикарбоновой кислотой, что пропорционально их сродству к предшественнику аминов – аммиаку;
3. Константы устойчивости комплексов с Cu^{2+} , Pb^{2+} , Bi^{3+} прямо пропорциональны константам протонирования лигандов.
4. Комплексообразование азакраун-эфирами осуществляется по краун-эфирному фрагменту. При этом близкое расположение макроцикла, а, соответственно, и донорных атомов азота способствует образованию более устойчивого комплекса Bi^{3+} по сравнению с РЗЭ³⁺. Связи М-Н недостаточно коротки для образования комплексов, сравнимых по устойчивости с аналогичными комплексами DOTA и DTPA.
5. Азакраун-эфиры образуют комплексы с катионами радионуклидов медицинского назначения в течение 1 мин при комнатной температуре, что на 2 порядка быстрее реакций комплексообразования известных макроциклических лигандов;
6. Краун-эфирный фрагмент выдерживает дозы до 4300 Гр, но функциональные группы более радиационно чувствительны;
7. Аза-краун эфиры сами по себе в концентрациях, применяемых в РФП, не оказывают токсического влияния как на лейкемические клетки MOLT-4, HL-60, так и на клетки здоровых доноров.

Список литературы

1. Radiometals for Combined Imaging and Therapy / C.S. Cutler, H.M. Hennkens, N. Sisay et al. // *Chem.Rev.* - 2013. - V.113. - №2. - P.858-883.
2. Monoclonal Antibody and Peptide-Targeted Radiotherapy of Cancer. Ch. The Radiochemistry of Monoclonal Antibodies and Peptides. / R.M. Reilly. - Hoboken: John Wiley & Sons, Inc., 2010. - P. 39-100.
3. Radiolanthanides in endoradiotherapy: an overview / F. Roesch // *Radiochimica Acta.* - 2007. - V.95. - №6. - P.303-311.
4. Range calculation of alpha-recoil atoms in some minerals using LSS-theory / T. Hashimoto, Y. Aoyagi, H. Kudo, T. Sotobayashi // *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry.* - 1985. - V.90. - №2. - P.415-438.
5. Th Thorium. Ch. Thorium Recoil Reactions. / K. Roessler. - Berlin Heidelberg: Springer, 1989. - P. 199-246.
6. Lanthanide and Actinide Chemistry / S. Cotton. - Chichester: John Wiley & Sons Ltd, 2006. - P. 1-263.
7. A comparison of PET imaging characteristics of various copper radioisotopes / H.A. Williams, S. Robinson, P. Julyan et al. // *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging.* - 2005. - V.32. - №12. - P.1473-1480.
8. Copper-67 as a therapeutic nuclide for radioimmunotherapy / I. Novak-Hofer, A.P. Schubiger // *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging.* - 2002. - V.29. - №6. - P.821-830.
9. Production routes of the alpha emitting ^{149}Tb for medical application / G.J. Beyer, J.J. Comor, M. Dakovic et al. // *Radiochimica Acta.* - 2002. - V.90. - №5. - P.247-252.
10. Society of Nuclear Medicine Procedure Guideline for Palliative Treatment of Painful Bone Metastases / E.B. Silberstein, J.R. Buscombe, A. McEwan, A.T.j. Taylor // *Society of nuclear medicine procedure guidelines manual.* - 2003. - P.147-153.
11. Direct in vitro and in vivo comparison of ^{161}Tb and ^{177}Lu using a tumour-targeting folate conjugate / C. Mueller, J. Reber, S. Haller et al. // *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging.* - 2014. - V.41. - №3. - P.476-485.
12. ^{166}Ho -DOTMP Radiation-Absorbed Dose Estimation for Skeletal Targeted Radiotherapy / H.B. Breitz, R.E. Wendt, M.S. Stabin et al. // *Journal of Nuclear Medicine.* - 2006. - V.47. - №3. - P.534-542.
13. Astatine-211: Production and Availability / M.R. Zalutsky, M. Pruszynski // *Curr Radiopharm.* - 2011. - V.4. - №3. - P.177-185.

14. Towards translation of ^{212}Pb as a clinical therapeutic; getting the lead in! / K. Yong, M.W. Brechbiel // Dalton Trans. - 2011. - V.40. - №23. - P.6068-6076.
15. Targeted alpha therapy with ^{213}Bi / A. Morgenstern, F. Bruchertseifer, C. Apostolidis // 2011. - V.4. - №4. - P.295-305.
16. Bismuth-213 and actinium-225 - generator performance and evolving therapeutic applications of two generator-derived alpha-emitting radioisotopes / A. Morgenstern, F. Bruchertseifer, C. Apostolidis // 2012. - V.5. - №3. - P.221-227.
17. Radiation doses of yttrium-90 citrate and yttrium-90 EDTMP as determined via analogous yttrium-86 complexes and positron emission tomography / F. Roesch, H. Herzog, C. Plag et al. // European Journal of Nuclear Medicine. - 1996. - V.23. - №8. - P.958-966.
18. Efficacy of radionuclide treatment DOTATATE Y-90 in patients with progressive metastatic gastroenteropancreatic neuroendocrine carcinomas (GEP-NETs): a phase II study / J.B. Cwikla, A. Sankowski, N. Seklecka et al. // Annals of Oncology. - 2010. - V.21. - №4. - P.787-794.
19. Peptide receptor radionuclide therapy with ^{90}Y -DOTATATE/ ^{90}Y -DOTATOC in patients with progressive metastatic neuroendocrine tumours: assessment of response, survival and toxicity / S. Vinjamuri, T.M. Gilbert, M. Banks et al. // Br J Cancer. - 2013. - V.108. - №7. - P.1440-1448.
20. Samarium-153-Lexidronam complex for treatment of painful bone metastases in hormone-refractory prostate cancer / O. Sartor, R.H. Reid, P.J. Hoskin et al. // Urology. - 2004. - V.63. - №5. - P.940-945.
21. Радионуклидная терапия самарием-оксабифором, ^{153}Sm при раке молочной и предстательной железы с метастазами в кости / А.Ф. Цыб, В.В. Крылов, Б.Я. Дроздовский et al. // Сибирский онкологический журнал. - 2006. - V.19. - №3. - P.8-17.
22. Targeted alpha therapy in vivo: direct evidence for single cancer cell kill using ^{149}Tb -rituximab / G.J. Beyer, M. Miederer, S. Vranjes-Duris et al. // European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging. - 2004. - V.31. - №4. - P.547-554.
23. Comparison of the Radiotoxicity of Two Alpha-Particle-Emitting Immunoconjugates, Terbium-149 and Bismuth-213, Directed against a Tumor-Specific, Exon 9 Deleted (d9) E-Cadherin Adhesion Protein / M. Miederer, C. Seidl, G.-J. Beyer et al. // Radiation Research. - 2003. - V.159. - №5. - P.612-620.
24. Folate receptor targeted alpha-therapy using terbium-149 / C. Mueller, J. Reber, S. Haller et al. // Pharmaceuticals. - 2014. - V.7. - №3. - P.353-365.

25. The low-energy β^- and electron emitter ^{161}Tb as an alternative to ^{177}Lu for targeted radionuclide therapy / S. Lehenberger, C. Barkhausen, S. Cohrs et al. // *Nuclear Medicine and Biology*. - 2011. - V.38. - №6. - P.917-924.
26. Auger radiation targeted into DNA: a therapy perspective / F. Buchegger, F. Perillo-Adamer, Y.M. Dupertuis, A. Bischof Delaloye // *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. - 2006. - V.33. - №11. - P.1352-1363.
27. Evaluation in vitro and in rats of ^{161}Tb -DTPA-octreotide, a somatostatin analogue with potential for intraoperative scanning and radiotherapy / M. de Jong, W.A.P. Breeman, B.F. Bernard et al. // *European Journal of Nuclear Medicine*. - 1995. - V.22. - №7. - P.608-616.
28. Dosimetric evaluation of ^{153}Sm -EDTMP, ^{177}Lu -EDTMP and ^{166}Ho -EDTMP for systemic radiation therapy: Influence of type and energy of radiation and half-life of radionuclides / H. Ranjbar, M. Ghannadi-Maragheh, A. Bahrami-Samani, D. Beiki // *Radiation Physics and Chemistry*. - 2015. - V.108. - №. - P.60-64.
29. Multiple myeloma: Monoclonal antibodies-based immunotherapeutic strategies and targeted radiotherapy / M. Chatterjee, T. Chakraborty, P. Tassone // *European Journal of Cancer*. - 2006. - V.42. - №11. - P.1640-1652.
30. Электрохимический способ по-лучения радионуклида Lu-177 высокой удельной активности / П.П. Болдырев, А.В. Курочкин, Р.Ф. Нуртдинов и др. // *Вестник Московского университета.Серия 2: Химия*. - 2016. - V.57. - №3. - С.184-190.
31. Синтез биоконъюгата на основе Lu-177 для радиоиммунотерапии и исследование его стабильности в физиологических средах / Р.Ф. Нуртдинов, М.А. Прошин, Д. Чувилин // *Радиохимия*. - 2016. - V.58. - №2. - С. 150-154.
32. Lutetium-labelled peptides for therapy of neuroendocrine tumours / B.L.R. Kam, J.J.M. Teunissen, E.P. Krenning et al. // *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. - 2012. - V.39. - №1. - P.103-112.
33. Treatment of patients with gastro-entero-pancreatic (GEP) tumours with the novel radiolabelled somatostatin analogue [^{177}Lu -DOTA⁰,Tyr³]octreotate / D.J. Kwekkeboom, W.H. Bakker, B.L. Kam et al. // *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. - 2003. - V.30. - №3. - P.417-422.
34. Treatment With the Radiolabeled Somatostatin Analog [^{177}Lu -DOTA⁰,Tyr³]Octreotate: Toxicity, Efficacy, and Survival / D.J. Kwekkeboom, W.W. de Herder, B.L. Kam et al. // *Journal of Clinical Oncology*. - 2008. - V.26. - №13. - P.2124-2130.
35. Peptide receptor radionuclide therapy with ^{177}Lu -DOTATATE: the IEO phase I-II study / L. Bodei, M. Cremonesi, C.M. Grana et al. // *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. - 2011. - V.38. - №12. - P.2125-2135.

36. Lutetium-177 Therapeutic Radiopharmaceuticals: Linking Chemistry, Radiochemistry, and Practical Applications / S. Banerjee, M.R.A. Pillai, F.F. Knapp // *Chem.Rev.* - 2015. - V.115. - №8. - P.2934-2974.
37. Combination Radionuclide Therapy Using ^{177}Lu - and ^{90}Y -Labeled Somatostatin Analogs / M. de Jong, W.A.P. Breeman, R. Valkema et al. // *Journal of Nuclear Medicine.* - 2005. - V.46. - №1 suppl. - P.13S-17S.
38. Treatment with ^{177}Lu -DOTATOC of Patients with Relapse of Neuroendocrine Tumors After Treatment with ^{90}Y -DOTATOC / F. Forrer, H. Uusijarvi, D. Storch et al. // *Journal of Nuclear Medicine.* - 2005. - V.46. - №8. - P.1310-1316.
39. ^{177}Lu -AMBA Bombesin analogue in hormone refractory prostate cancer patients: a phase I escalation study with single-cycle administrations / L. Bodei, M. Ferrari, A. Nunn et al. // *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* - 2007. - V.34. - №Supplement 2. - P.S221-S225.
40. ^{177}Lu -AMBA Biodistribution, Radiotherapeutic Efficacy, Imaging, and Autoradiography in Prostate Cancer Models with Low GRP-R Expression / M.E. Maddalena, J. Fox, J. Chen et al. // *Journal of Nuclear Medicine.* - 2009. - V.50. - №12. - P.2017-2024.
41. Biological evaluation of ^{177}Lu -labeled DOTA-Ala(SO₃H)-Amino-octanoyl-Gln-Trp-Ala-Val-N methyl Gly-His-Statine-Leu-NH₂ for gastrin-releasing peptide receptor-positive prostate tumor targeting / J.C. Lim, E.H. Cho, J.J. Kim et al. // *Nuclear Medicine and Biology.* - 2015. - V.42. - №2. - P.131-136.
42. Comparative studies of ^{177}Lu -EDTMP and ^{177}Lu -DOTMP as potential agents for palliative radiotherapy of bone metastasis / S. Chakraborty, T. Das, H.D. Sarma et al. // *Applied Radiation and Isotopes.* - 2008. - V.66. - №9. - P.1196-1205.
43. ^{177}Lu -EDTMP for palliation of pain from bone metastases in patients with prostate and breast cancer: a phase II study / K.K. Agarwal, S. Singla, G. Arora, C. Bal // *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging.* - 2014. - V.42. - №1. - P.79-88.
44. Clinical Efficacy and Safety Comparison of ^{177}Lu -EDTMP with ^{153}Sm -EDTMP on an Equidose Basis in Patients with Painful Skeletal Metastases / P. Thapa, D. Nikam, T. Das et al. // *Journal of Nuclear Medicine.* - 2015. - V.56. - №10. - P.1513-1519.
45. Production of actinium, thorium and radium isotopes from natural thorium irradiated with protons up to 141 MeV / S.V. Ermolaev, B.L. Zhuikov, V.M. Kokhanyuk et al. // *Radiochimica Acta.* - 2012. - V.100. - №4. - P.223-229.
46. Получение ^{225}Ac и ^{223}Ra при облучении Th ускоренными протонами / Б.Л. Жуйков, С.Н. Калмыков, С.В. Ермолаев и др. // *Радиохимия.* - 2011. - V.53. - №1. - С.66-72.
47. Tumor Therapy with Targeted Atomic Nanogenerators / M.R. McDevitt, D. Ma, L.T. Lai et al. // *Science.* - 2001. - V.294. - №5546. - P.1537-1540.

48. Targeted Alpha-particle Nano-generator Actinium-225 (^{225}Ac)-lintuzumab (anti-CD33) in Acute Myeloid Leukemia (AML) / J.G. Jurcic, T.L. Rosenblat, M.R. McDevitt et al. // *Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia*. - 2013. - V.13. - №. - P.S379-S380.
49. Renal uptake of bismuth-213 and its contribution to kidney radiation dose following administration of actinium-225-labeled antibody / J. Schwartz, J.S. Jaggi, J.A. O'Donoghue et al. // *Physics in Medicine and Biology*. - 2011. - V.56. - №3. - P.721-
50. Binding of bismuth to serum proteins: implication for targets of Bi(III) in blood plasma / H. Sun, K.Y. Szeto // *Journal of Inorganic Biochemistry*. - 2003. - V.94. - №1-2. - P.114-120.
51. Mitigation of radiation nephropathy after internal α -particle irradiation of kidneys / J.S. Jaggi, S.V. Seshan, M.R. McDevitt et al. // *International Journal of Radiation Oncology*Biography*Physics*. - 2006. - V.64. - №5. - P.1503-1512.
52. Targeted alpha-radionuclide therapy of functionally critically located gliomas with ^{213}Bi -DOTA-[Thi8, Met(O2)11]-substance P: a pilot trial / D. Cordier, F. Forrer, F. Bruchertseifer et al. // *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. - 2010. - V.37. - №7. - P.1335-1344.
53. Targeted α -particle immunotherapy for myeloid leukemia / J.G. Jurcic, S.M. Larson, G. Sgouros et al. // *Blood*. - 2002. - V.100. - №4. - P.1233-1239.
54. Sequential Cytarabine and Alpha-Particle Immunotherapy with Bismuth-213-Lintuzumab (HuM195) for Acute Myeloid Leukemia / T.L. Rosenblat, M.R. McDevitt, D.A. Mulford et al. // *Clin Cancer Res*. - 2010. - V.16. - №21. - P.5303-5311.
55. Analysis of patient survival in a Phase I trial of systemic targeted α -therapy for metastatic melanoma / B.J. Allen, A.A. Singla, S.M.A. Rizvi et al. // *Immunotherapy*. - 2011. - V.3. - №9. - P.1041-1050.
56. Interim analysis of toxicity and response in phase 1 trial of systemic targeted alpha therapy for metastatic melanoma / C. Raja, P. Graham, S. Rizvi et al. // *Cancer Biology & Therapy*. - 2007. - V.6. - №6. - P.846-852.
57. Revised effective ionic radii and systematic studies of interatomic distances in halides and chalcogenides / R. Shannon // *Acta Crystallographica Section A*. - 1976. - V.32. - №5. - P.751-767.
58. The hydrolysis of cations / C.F. Baes, Mesmer R.E. - New York: John Wiley & Sons, Inc., A Wiley Company, 1976. - P. -.
59. Bismuth(III) complexes with aminopolycarboxylate and polyaminopolycarboxylate ligands: Chemistry and structure / V. Stavila, R.L. Davidovich, A. Gulea, K.H. Whitmire // *Coordination Chemistry Reviews*. - 2006. - V.250. - №21-22. - P.2782-2810.
60. ^{213}Bi -DOTATOC receptor-targeted alpha-radionuclide therapy induces remission in neuroendocrine tumours refractory to beta radiation: a first-in-human experience / C.

- Kratochwil, F.L. Giesel, F. Bruchertseifer et al. // *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. - 2014. - V.41. - №11. - P.2106-2119.
61. Cytoreduction with iodine-131-anti-CD33 antibodies before bone marrow transplantation for advanced myeloid leukemias / J.M. Burke, P.C. Caron, E.B. Papadopoulos et al. // *Bone Marrow Transplant*. - 2003. - V.32. - №6. - P.549-556.
 62. Tumour anti-vascular alpha therapy: a mechanism for the regression of solid tumours in metastatic cancer / J.A.C. Barry // *Physics in Medicine and Biology*. - 2007. - V.52. - №13. - P.L15-L20
 63. Significant systemic therapeutic effects of high-LET immunoradiation by ^{212}Pb -trastuzumab against prostatic tumors of androgen-independent human prostate cancer in mice / Z. Tan, P. Chen, N. Schneider et al. // *Int J Oncology*. - 2012. - V.40. - P.1881-1888
 64. Gene expression profiling upon (212) Pb-TCMC-trastuzumab treatment in the LS-174T i.p. xenograft model / K.J. Yong, K. Milenic DE FAU - Baidoo, Y.-S. Baidoo KE FAU - Kim et al. // *Cancer Medicine*. - 2013. - V.2. - №5. - P.646-653.
 65. Dose Escalation and Dosimetry of First in Human Alpha Radioimmunotherapy with (212)Pb-TCMC-trastuzumab / R. Meredith, J. Torgue, S. Shen et al. // *J Nucl Med*. - 2014. - V.55. - №10. - P.1636-1642.
 66. Safety of First in Human Intraperitoneal Alpha Radioimmunotherapy with ^{212}Pb -TCMC-trastuzumab / R. Meredith, J. Torgue, P. Bunch et al. // *Journal of Nuclear Medicine*. - 2015. - V.56. - №supplement 3. - P.283-283.
 67. Pharmacokinetics and Imaging of (212)Pb-TCMC-Trastuzumab After Intraperitoneal Administration in Ovarian Cancer Patients / R.F. Meredith, J. Torgue, M.T. Azure et al. // *Cancer Biother Radiopharm*. - 2014. - V.29. - №1. - P.12-17.
 68. Biodistribution of ^{212}Pb conjugated trastuzumab in mice / N.R. Schneider, M. Lobaugh, Z. Tan et al. // *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. - 2013. - V.296. - №1. - P.75-81.
 69. Tumour targeting with radiometals for diagnosis and therapy / C.F. Ramogida, C. Orvig // 2013. - V.49. - №42. - P.4720-4739.
 70. Differential mechanism of retention of Cu-pyruvaldehyde-bis(N4-methylthiosemicarbazone) (Cu-PTSM) by brain and tumor: A novel radiopharmaceutical for positron emission tomography imaging / Y. Fujibayashi, H. Taniuchi, K. Wada et al. // *Annals of Nuclear Medicine*. - 1995. - V.9. - №1. - P.1-5.
 71. Evaluation of ^{62}Cu labeled diacetyl-bis(N 4-methylthiosemicarbazone) as a hypoxic tissue tracer in patients with lung cancer / N. Takahashi, Y. Fujibayashi, Y. Yonekura et al. // *Annals of Nuclear Medicine*. - 2000. - V.14. - №5. - P.323-328.

72. PET of Hypoxia and Perfusion with ^{62}Cu -ATSM and ^{62}Cu -PTSM Using a $^{62}\text{Zn}/^{62}\text{Cu}$ Generator / T.Z. Wong, J.L. Lacy, N.A. Petry et al. // American Journal of Roentgenology. - 2008. - V.190. - №2. - P.427-432.
73. ^{64}Cu -TETA-Octreotide as a PET Imaging Agent for Patients with Neuroendocrine Tumors / C.J. Anderson, F. Dehdashti, P.D. Cutler et al. // Journal of Nuclear Medicine. - 2001. - V.42. - №2. - P.213-221.
74. Clinical PET of neuroendocrine tumors using ^{64}Cu -DOTATATE: First-in-humans study / A. Pfeifer, U. Knigge, J. Mortensen et al. // 2012. - V.53. - №8. - P.1207-1215.
75. In vivo transchelation of copper-64 from TETA-octreotide to superoxide dismutase in rat liver / L.A. Bass, M. Wang, M.J. Welch, C.J. Anderson // 2000. - V.11. - №4. - P.527-532.
76. Preparation and Biological Evaluation of Copper-64-Labeled Tyr³-Octreotate Using a Cross-Bridged Macrocyclic Chelator / J.E. Sprague, Y. Peng, X. Sun et al. // Clinical Cancer Research. - 2004. - V.10. - №24. - P.8674-
77. RadioimmunoPET: Detection of colorectal carcinoma with positron-emitting copper-64-labeled monoclonal antibody / G.W. Philpott, S.W. Schwarz, C.J. Anderson et al. // 1995. - V.36. - №10. - P.1818-1824.
78. Bifunctional Chelators for Therapeutic Lanthanide Radiopharmaceuticals / S. Liu, D.S. Edwards // Bioconjugate Chem. - 2001. - V.12. - №1. - P.7-34.
79. Matching chelators to radiometals for radiopharmaceuticals / E.W. Price, C. Orvig // Chem.Soc.Rev. - 2014. - V.43. - №1. - P.260-290.
80. Thermodynamic and kinetic studies of lanthanide complexes of 1,4,7,10,13-pentaazacyclopentadecane-N,N',N'',N''',N''''-pentaacetic acid and 1,4,7,10,13,16-hexaazacyclooctadecane-N,N',N'',N''',N''''',N''''''-hexaacetic acid / M. Kodama, T. Koike, A.B. Mahatma, E. Kimura // Inorg.Chem. - 1991. - V.30. - №6. - P.1270-1273.
81. Equilibrium, ^1H and ^{13}C NMR Spectroscopy, and X-ray Diffraction Studies on the Complexes Bi(DOTA)⁻ and Bi(DO3A-Bu) / E. Csajbok, Z. Baranyai, I. Banyai et al. // Inorg.Chem. - 2003. - V.42. - №7. - P.2342-2349.
82. DTPA complexation of bismuth in human blood serum / G. Montavon, A. Le Du, J. Champion et al. // 2012. - V.41. - №28. - P.8615-8623.
83. Nuclear magnetic resonance spectroscopy of lanthanide complexes with a tetraacetic tetraaza macrocycle. Unusual conformation properties / J.F. Desreux // Inorg.Chem. - 1980. - V.19. - №5. - P.1319-1324.
84. Solution Dynamics and Stability of Lanthanide(III) (S)-2-(p-Nitrobenzyl)DOTA Complexes / M. Woods, Z. Kovacs, R. Kiraly et al. // Inorg.Chem. - 2004. - V.43. - №9. - P.2845-2851.

85. Synthesis, characterization, and crystal structures of M(DO3A) (M = iron, gadolinium) and Na[M(DOTA)] (M = Fe, yttrium, Gd) / C.A. Chang, L.C. Francesconi, M.F. Malley et al. // *Inorg.Chem.* - 1993. - V.32. - №16. - P.3501-3508.
86. Structures of the yttrium complexes of 1,4,7,10-tetraazacyclododecane-N,N[prime or minute],N[double prime],N[triple prime]-tetraacetic acid (H4dota) and N,N[double prime]-bis(benzylcarbamoylmethyl)diethylenetriamine-N,N[prime or minute],N[double prime]-triacetic acid and the solution structure of a zirconium complex of H4dota / D. Parker, K. Pulukkody, F.C. Smith et al. // *J.Chem.Soc., Dalton Trans.* - 19945. - P.689-693.
87. Crystal and molecular structure of sodium aqua(1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetraacetato)europate(III) tetrahydrate $\text{Na}^+(\text{EuDOTA}\cdot\text{H}_2\text{O})\cdot 4\text{H}_2\text{O}$, and its relevance to NMR studies of the conformational behavior of the lanthanide complexes formed by the macrocyclic ligand DOTA / M.R. Spirlet, J. Rebizant, J.F. Desreux, M.F. Loncin // *Inorg.Chem.* - 1984. - V.23. - №3. - P.359-363.
88. Spectroscopic, structural, and thermodynamic aspects of the stereochemically active lone pair on lead(II): Structure of the lead(II) dota complex / J.W. Nugent, H.S. Lee, J.H. Reibenspies, R.D. Hancock // *Polyhedron.* - 2015. - V.91. - №. - P.120-127.
89. Metal complexes of macrocyclic ligands. Part XXIII. Synthesis, properties, and structures of mononuclear complexes with 12- and 14-membered tetraazamacrocyclic-N,N -tetraacetic Acids / A. Riesen, M. Zehnder, T.A. Kaden // *HCA.* - 1986. - V.69. - №8. - P.2067-2073.
90. The coordination chemistry of 1,4,7,10-tetraazacyclododecane-N,N',N'',N'''-tetraacetic acid (H4DOTA): Structural overview and analyses on structure-stability relationships / N. Viola-Villegas, R.P. Doyle // *Coordination Chemistry Reviews.* - 2009. - V.253. - №. - P.1906-1925.
91. Mechanism and Energetics for Complexation of ^{90}Y with 1,4,7,10-Tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetraacetic Acid (DOTA), a Model for Cancer Radioimmunotherapy / Y.H. Jang, M. Blanco, S. Dasgupta et al. // *J.Am.Chem.Soc.* - 1999. - V.121. - №26. - P.6142-6151.
92. Complexing Mechanism of the Lanthanide Cations Eu^{3+} , Gd^{3+} , and Tb^{3+} with 1,4,7,10-Tetrakis(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane (dota) - Characterization of Three Successive Complexing Phases: Study of the Thermodynamic and Structural Properties of the Complexes by Potentiometry, Luminescence Spectroscopy, and EXAFS / J. Moreau, E. Guillon, J.C. Pierrard et al. // *Chemistry A European Journal.* - 2004. - V.10. - №20. - P.5218-5232.

93. Optimized Conditions for Chelation of Yttrium-90-DOTA Immunoconjugates / D.L. Kukis, S.J. DeNardo, G.L. DeNardo et al. // *Journal of Nuclear Medicine*. - 1998. - V.39. - №12. - P.2105-2110.
94. Equilibrium and kinetic studies of lanthanide complexes of macrocyclic polyamino carboxylates / K. Kumar, C.A. Chang, M.F. Tweedle // *Inorg.Chem.* - 1993. - V.32. - №5. - P.587-593.
95. Yttrium-90 Chelation Properties of Tetraazatetraacetic Acid Macrocycles, Diethylenetriaminepentaacetic Acid Analogs, and a Novel Terpyridine Acyclic Chelator / J.B. Stimmel, M.E. Stockstill, F.C. Kull // *Bioconjugate Chem.* - 1995. - V.6. - №2. - P.219-225.
96. Samarium-153 and Lutetium-177 Chelation Properties of Selected Macrocyclic and Acyclic Ligands / J.B. Stimmel, J. Kull // *Nuclear Medicine and Biology*. - 1998. - V.25. - №2. - P.117-125.
97. Design and synthesis of ²²⁵Ac radioimmunopharmaceuticals / M.R. McDevitt, D. Ma, J. Simon et al. // *Applied Radiation and Isotopes*. - 2002. - V.57. - №6. - P.841-847.
98. NMR Studies of the Metal-Loading Kinetics and Acid-Base Chemistry of DOTA and Butylamide-DOTA / D.A. Keire, M. Kobayashi // *Bioconjugate Chem.* - 1999. - V.10. - №3. - P.454-463.
99. Synthesis and evaluation of ⁹⁰Y-DOTA-Colchicine conjugate in murine fibrosarcoma model / D. Satpati, A. Korde, U. Pandey et al. // *J Label Compd Radiopharm.* - 2006. - V.49. - №11. - P.951-958.
100. Optimization of radioimmunotherapy of renal cell carcinoma: Labeling of monoclonal antibody cG250 with ¹³¹I, ⁹⁰Y, ¹⁷⁷Lu, or ¹⁸⁶Re / A.H. Brouwers, J.E.M. Van Eerd, C. Frielink et al. // 2004. - V.45. - №2. - P.327-337.
101. ²¹³Bi-[DOTA⁰, Tyr³]Octreotide Peptide Receptor Radionuclide Therapy of Pancreatic Tumors in a Preclinical Animal Model / J.P. Norenberg, B.J. Krenning, I.R.H.M. Konings et al. // *Clinical Cancer Research*. - 2006. - V.12. - №3. - P.897-903.
102. Alpha- versus beta-particle radiopeptide therapy in a human prostate cancer model (²¹³Bi-DOTA-PESIN and ²¹³Bi-AMBA versus ¹⁷⁷Lu-DOTA-PESIN) / D. Wild, M. Frischknecht, H. Zhang et al. // 2011. - V.71. - №3. - P.1009-1018.
103. Melanoma therapy via peptide-targeted O±-radiation / Y. Miao, M. Hylarides, D.R. Fisher et al. // 2005. - V.11. - №15. - P.5616-5621.
104. Comparison of ⁶⁴Cu-Complexing Bifunctional Chelators for Radioimmunoconjugation: Labeling Efficiency, Specific Activity, and in Vitro/in Vivo Stability / M.S. Cooper, M.T. Ma, K. Sunassee et al. // *Bioconjugate Chem.* - 2012. - V.23. - №5. - P.1029-1039.

105. Structure of the barium salt of a Cu^{2+} complex with a tetraaza macrocyclic tetraacetate / A. Riesen, M. Zehnder, T.A. Kaden // *Acta Crystallographica Section C*. - 1988. - V.44. - №10. - P.1740-1742.
106. Comparative in Vivo Stability of Copper-64-Labeled Cross-Bridged and Conventional Tetraazamacrocyclic Complexes / C.A. Boswell, X. Sun, W. Niu et al. // 2004. - V.47. - №6. - P.1465-1474.
107. In vivo evaluation and small-animal PET/CT of a prostate cancer mouse model using ^{64}Cu bombesin analogs: Side-by-side comparison of the CB-TE2A and DOTA chelation systems / J.C. Garrison, T.L. Rold, G.L. Sieckman et al. // 2007. - V.48. - №8. - P.1327-1337.
108. Determination of the structure of EuTETA and the luminescence properties of EuTETA and EuDOTA (TETA=1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane-1,4,8,11-tetraacetate and DOTA=1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetraacetate) / J.G. Kang, M.K. Na, S.K. Yoon et al. // *Inorganica Chimica Acta*. - 2000. - V.310. - №1. - P.56-64.
109. Dissociation Kinetics of Cerium(III) Complexes of Macrocyclic Polyaza Polycarboxylate Ligands TETA and DOTA / C.A. Chang, Y.L. Liu // *Jnl Chinese Chemical Soc.* - 2000. - V.47. - №4B. - P.1001-1006.
110. Radiolabeling of TETA- and CB-TE2A-conjugated peptides with copper-64 / T.J. Wadas, C.J. Anderson // 2006. - V.1. - №6. - P.3062-3068.
111. The Chemical Fate of ^{212}Bi -DOTA Formed by OI Decay of $^{212}\text{Pb}(\text{DOTA})_2^-$ / S. Mirzadeh, K. Kumar, O.A. Gansow // 1993. - V.60. - №1. - P.1-10.
112. The use of ^{212}Pb -labeled monoclonal antibody in the treatment of murine erythroleukemia / G. Ruble, C. Wu, R.A. Squire et al. // *International Journal of Radiation Oncology*Biography*Physics*. - 1996. - V.34. - №3. - P.609-616.
113. Potential in vivo generator for alpha-particle therapy with ^{212}Bi : Presentation of a system to minimize escape of daughter nuclide after decay of ^{212}Pb to ^{212}Bi / G. Henriksen, B.W. Schoultzt, P. Hoff, R.H. Larsen // 2003. - V.91. - №2. - P.109-113.
114. The amide oxygen as a donor group. Metal ion complexing properties of tetra-N-acetamide substituted cyclen: A crystallographic, NMR, molecular mechanics, and thermodynamic study / H. Maumela, R.D. Hancock, L. Carlton et al. // 1995. - V.117. - №25. - P.6698-6707.
115. Synthesis, characterization, and evaluation of a novel bifunctional chelating agent for the lead isotopes ^{203}Pb and ^{212}Pb / L.L. Chappell, E. Dadachova, D.E. Milenic et al. // 2000. - V.27. - №1. - P.93-100.
116. Structural Effects of the Lone Pair on Lead(II), and Parallels with the Coordination Geometry of Mercury(II). Does the Lone Pair on Lead(II) Form H-Bonds? Structures of the

- Lead(II) and Mercury(II) Complexes of the Pendant-Donor Macrocyclic DOTAM (1,4,7,10-Tetrakis(carbamoylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane) / R.D. Hancock, J.H. Reibenspies, H. Maumela // 2004. - V.43. - №9. - P.2981-2987.
117. Synthesis and biological evaluation of a novel decadentate ligand DEPA / H.S. Chong, S. Lim, K.E. Baidoo et al. // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. - 2008. - V.18. - №21. - P.5792-5795.
118. Synthesis and comparative biological evaluation of bifunctional ligands for radiotherapy applications of ^{90}Y and ^{177}Lu / H.S. Chong, X. Sun, Y. Chen et al. // *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. - 2015. - V.23. - №5. - P.1169-1178.
119. Synthesis and preclinical evaluation of bifunctional ligands for improved chelation chemistry of ^{90}Y and ^{177}Lu for targeted radioimmunotherapy / C.S. Kang, X. Sun, F. Jia et al. // 2012. - V.23. - №9. - P.1775-1782.
120. Synthesis and evaluation of a bifunctional chelate for development of Bi(III)-labeled radioimmunoconjugates / M. Dadwal, C.S. Kang, H.A. Song et al. // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. - 2011. - V.21. - №24. - P.7513-7515.
121. Efficient Bifunctional Decadentate Ligand 3p-C-DEPA for Targeted α -Radioimmunotherapy Applications / H.A. Song, C.S. Kang, K.E. Baidoo et al. // *Bioconjugate Chem.* - 2011. - V.22. - №6. - P.1128-1135.
122. Thermodynamic study of lanthanide complexes of 1,4,7-triazacyclononane-N,N',N''-triacetic acid and 1,4,7,10-tetraazacyclododecane-N,N',N'',N'''-tetraacetic acid / W.P. Cacheris, S.K. Nickle, A.D. Sherry // *Inorg.Chem.* - 1987. - V.26. - №6. - P.958-960.
123. Nuclear magnetic resonance structural studies of an axially symmetric lanthanide ion chelate in aqueous solution / A.D. Sherry, M. Singh, C.F.G.C. Geraldès // *Journal of Magnetic Resonance* (1969). - 1986. - V.66. - №3. - P.511-524.
124. Europium luminescence lifetimes and spectra for evaluation of 11 europium complexes as aqueous shift reagents for nuclear magnetic resonance spectrometry / C.C. Bryden, C.N. Reilley // *Anal.Chem.* - 1982. - V.54. - №4. - P.610-615.
125. Kinetics of formation and dissociation of the 1,4,7-triazacyclononane-N,N',N''-triacetate complexes of cerium(III), gadolinium(III), and erbium(III) ions / E. Brucher, A.D. Sherry // *Inorg.Chem.* - 1990. - V.29. - №8. - P.1555-1559.
126. Equilibrium and thermodynamic study of the aqueous complexation of 1,4,7-triazacyclononane-N,N',N''-triacetic acid with protons, alkaline-earth-metal cations, and copper(II) / A. Bevilacqua, R.I. Gelb, W.B. Hebard, L.J. Zompa // *Inorg.Chem.* - 1987. - V.26. - №16. - P.2699-2706.

127. Novel ⁶⁴Cu- and ⁶⁸Ga-Labeled RGD Conjugates Show Improved PET Imaging of $\alpha_v\beta_3$ Integrin Expression and Facile Radiosynthesis / R.A. Dumont, F. Deininger, R. Haubner et al. // *Journal of Nuclear Medicine*. - 2011. - V.52. - №8. - P.1276-1284.
128. Copper-64 radiolabeling and biological evaluation of bifunctional chelators for radiopharmaceutical development / R.A. De Silva, S. Jain, K.A. Lears et al. // *Nuclear Medicine and Biology*. - 2012. - V.39. - №8. - P.1099-1104.
129. MicroPET/CT imaging of patient-derived pancreatic cancer xenografts implanted subcutaneously or orthotopically in NOD-scid mice using ⁶⁴Cu-NOTA-panitumumab F(ab')₂ fragments / A.J. Boyle, P.J. Cao, D.W. Hedley et al. // *Nuclear Medicine and Biology*. - 2015. - V.42. - №2. - P.71-77.
130. Detection of Rapalog-Mediated Therapeutic Response in Renal Cancer Xenografts Using (⁶⁴Cu)-bevacizumab ImmunoPET / A.J. Chang, R. Sohn, Z.H. Lu et al. // *PLoS One*. - 2013. - V.8. - №3. - P.e58949-
131. Imaging cancer using PET - the effect of the bifunctional chelator on the biodistribution of a ⁶⁴Cu-labeled antibody / J.L.J. Dearling, S.D. Voss, P. Dunning et al. // *Nuclear Medicine and Biology*. - 2011. - V.38. - №1. - P.29-38.
132. Synthesis and Biological Evaluation of Novel Macrocyclic Ligands with Pendent Donor Groups as Potential Yttrium Chelators for Radioimmunotherapy with Improved Complex Formation Kinetics / H.S. Chong, K. Garmestani, D. Ma et al. // *J.Med.Chem.* - 2002. - V.45. - №16. - P.3458-3464.
133. Novel Bimodal Bifunctional Ligands for Radioimmunotherapy and Targeted MRI / H.S. Chong, H.A. Song, X. Ma et al. // *Bioconjugate Chem.* - 2008. - V.19. - №7. - P.1439-1447.
134. Efficient synthesis and evaluation of bimodal ligand NETA / H.S. Chong, H.A. Song, N. Birch et al. // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. - 2008. - V.18. - №11. - P.3436-3439.
135. The Deposition of the Rare Earths in Bone / J. Jowsey, R.E. Rowland, J.H. Marshall // *Radiation Research*. - 1958. - V.8. - №6. - P.490-501.
136. Preclinical evaluation of NETA-based bifunctional ligand for radioimmunotherapy applications using ²¹²Bi and ²¹³Bi: Radiolabeling, serum stability, and biodistribution and tumor uptake studies / C.S. Kang, H.A. Song, D.E. Milenic et al. // *Nuclear Medicine and Biology*. - 2013. - V.40. - №5. - P.600-605.
137. Synthesis and evaluation of a new bifunctional NETA chelate for molecular targeted radiotherapy using ⁹⁰Y or ¹⁷⁷Lu / C.S. Kang, Y. Chen, H. Lee et al. // *Nuclear Medicine and Biology*. - 2015. - V.42. - №3. - P.242-249.

138. Synthesis and Evaluation of an Enantiomerically Enriched Bifunctional Chelator for ^{64}Cu -Based Positron Emission Tomography (PET) Imaging / H.S. Chong, X. Sun, Y. Zhong et al. // *Eur.J.Org.Chem.* - 2014. - V.2014. - №6. - P.1305-1313.
139. Improved in Vivo Stability of Actinium-225 Macrocyclic Complexes / K.A. Deal, I.A. Davis, S. Mirzadeh et al. // *J.Med.Chem.* - 1999. - V.42. - №15. - P.2988-2992.
140. Chelators for copper radionuclides in positron emission tomography radiopharmaceuticals / Z. Cai, C.J. Anderson // *J Label Compd Radiopharm.* - 2014. - V.57. - №4. - P.224-230.
141. Synthesis of a new cage ligand, SarAr, and its complexation with selected transition metal ions for potential use in radioimaging / N.M. Di Bartolo, A.M. Sargeson, T.M. Donlevy, S.V. Smith // *J.Chem.Soc., Dalton Trans.* - 200115. - P.2303-2309.
142. Molecular imaging with copper-64 / S.V. Smith // *Journal of Inorganic Biochemistry.* - 2004. - V.98. - №11. - P.1874-1901.
143. Copper-64 Labeled Macrobicyclic Sarcophagine Coupled to a GRP Receptor Antagonist Shows Great Promise for PET Imaging of Prostate Cancer / E. Gourni, L. Del Pozzo, E. Kheirallah et al. // *Molecular Pharmaceutics.* - 2015. - V.12. - №8. - P.2781-2790.
144. In Vitro and In Vivo Evaluation of ^{64}Cu -Labeled SarAr-Bombesin Analogs in Gastrin-Releasing Peptide Receptor-Expressing Prostate Cancer / K.A. Lears, R. Ferdani, K. Liang et al. // *Journal of Nuclear Medicine.* - 2011. - V.52. - №3. - P.470-477.
145. PET imaging of tumours with a ^{64}Cu labeled macrobicyclic cage amine ligand tethered to Tyr³-octreotate / B.M. Paterson, P. Roselt, D. Denoyer et al. // *Dalton Trans.* - 2014. - V.43. - №3. - P.1386-1396.
146. MicroPET Imaging of a Gastrin-Releasing Peptide Receptor-Positive Tumor in a Mouse Model of Human Prostate Cancer Using a ^{64}Cu -Labeled Bombesin Analogue / B.E. Rogers, H.M. Bigott, D.W. McCarthy et al. // *Bioconjugate Chem.* - 2003. - V.14. - №4. - P.756-763.
147. [^{64}Cu -NOTA-8-Aoc-BBN(7-14)NH₂] targeting vector for positron-emission tomography imaging of gastrin-releasing peptide receptor-expressing tissues / A.F. Prasanphanich, P.K. Nanda, T.L. Rold et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences.* - 2007. - V.104. - №30. - P.12462-12467.
148. Copper(II) Complexes of Substituted Macrobicyclic Hexaamines: Combined Trigonal and Tetragonal Distortions / P.V. Bernhardt, R. Bramley, L.M. Engelhardt et al. // *Inorg.Chem.* - 1995. - V.34. - №14. - P.3589-3599.
149. Stability and Kinetics of Acid- and Anion-Assisted Dissociation Reactions of Hexamine Macrobicyclic Mercury(II) Complexes / L. Grondahl, A. Hammershoi, A.M. Sargeson, V.J. Thoen // *Inorg.Chem.* - 1997. - V.36. - №23. - P.5396-5403.

150. DTPA-coupled antibodies labeled with yttrium-90 / D.J. Hnatowich, F. Virzi, P.W. Doherty // 1985. - V.26. - №5. - P.503-509.
151. Evaluation of the Serum Stability and In Vivo Biodistribution of CHX-DTPA and Other Ligands for Yttrium Labeling of Monoclonal Antibodies / L. Camera, S. Kinuya, K. Garmestani et al. // Journal of Nuclear Medicine. - 1994. - V.35. - №5. - P.882-889.
152. Improved in Vivo Stability and Tumor Targeting of Bismuth-labeled Antibody / C.L. Ruegg, W.T. Anderson-Berg, M.W. Brechbiel et al. // Cancer Res. - 1990. - V.50. - №14. - P.4221-4226.
153. Preparation of the Novel Chelating Agent N-(2-Aminoethyl)-trans-1,2-diaminocyclohexane- N,N',N''-pentaacetic Acid (H₃CyDTPA), a Preorganized Analogue of Diethylenetriaminepentaacetic Acid (H₅DTPA), and the Structures of BiIII(CyDTPA)₂- and BiIII(H₂DTPA) Complexes / M.W. Brechbiel, O.A. Gansow, C.G. Pippin et al. // Inorg.Chem. - 1996. - V.35. - №21. - P.6343-6348.
154. Syntheses and structures of bismuth(III) complexes with nitrilotriacetic acid, ethylenediaminetetraacetic acid, and diethylenetriaminepentaacetic acid / S.P. Summers, K.A. Abboud, S.R. Farrah, G.J. Palenik // Inorg.Chem. - 1994. - V.33. - №1. - P.88-92.
155. Кристаллическая структура диэтиленetriаминпентаацетата висмута(III) K[Bi(HDTPA)·H₂O]·4H₂O / Л.Б. Илюхин, Л.М. Школьникова, Р.Л. Давидович, И.Н. Самсонова // Координационная химия. - 1991. - V.17. - №7. - С.903-908.
156. Кристаллическая структура моногидрата диэтилен тетраамин пентаацетата меди (II) / В.В. Фоменко, Т.Н. Польшова, М.А. Порай-Кошиц и др. // Журнал структурной химии. - 1973. - V.14. - №3. - С.571-573.
157. Coordinating Radiometals of Copper, Gallium, Indium, Yttrium, and Zirconium for PET and SPECT Imaging of Disease / T.J. Wadas, E.H. Wong, G.R. Weisman, C.J. Anderson // Chem.Rev. - 2010. - V.110. - №5. - P.2858-2902.
158. An effective chelating agent for labelling of monoclonal antibody with ²¹²Bi for [small alpha]-particle mediated radioimmunotherapy / M.W. Brechbiel, C.G. Pippin, T.J. McMurry et al. // J.Chem.Soc., Chem.Commun. - 1991. - P.1169-1170.
159. In Vivo Evaluation of Bismuth-Labeled Monoclonal Antibody Comparing DTPA-Derived Bifunctional Chelates / D.E. Milenic, M. Roselli, S. Mirzadeh et al. // Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals. - 2001. - V.16. - №2. - P.133-146.
160. Physical Parameters and Biological Stability of Yttrium(III) Diethylenetriaminepentaacetic Acid Derivative Conjugates / T.J. McMurry, C.G. Pippin, C. Wu et al. // J.Med.Chem. - 1998. - V.41. - №18. - P.3546-3549.

161. A systematic comparative evaluation of ^{90}Y -labeled bifunctional chelators for their use in targeted therapy / R. Chakravarty, S. Chakraborty, A. Dash // *J Label Compd Radiopharm.* - 2014. - V.57. - №2. - P.65-74.
162. Stereochemical influence on the stability of radio-metal complexes in vivo. Synthesis and evaluation of the four stereoisomers of 2-(p-nitrobenzyl)-trans-CyDTPA / C. Wu, H. Kobayashi, B. Sun et al. // *Bioorganic & Medicinal Chemistry.* - 1997. - V.5. - №10. - P.1925-1934.
163. PET imaging of tumor angiogenesis in mice with VEGF- targeted ^{86}Y -CHX-A α -DTPA-bevacizumab / T.K. Nayak, K. Garmestani, K.E. Baidoo et al. // *Int.J.Cancer.* - 2011. - V.128. - №4. - P.920-926.
164. Preparation, Biological Evaluation, and Pharmacokinetics of the Human Anti-HER1 Monoclonal Antibody Panitumumab Labeled with ^{86}Y for Quantitative PET of Carcinoma / T.K. Nayak, K. Garmestani, K.E. Baidoo et al. // *Journal of Nuclear Medicine.* - 2010. - V.51. - №6. - P.942-950.
165. In Vivo Biodistribution, PET Imaging, and Tumor Accumulation of ^{86}Y - and ^{111}In -Antimindin/RG-1, Engineered Antibody Fragments in LNCaP Tumor-Bearing Nude Mice / D.W. Schneider, T. Heitner, B. Alicke et al. // *Journal of Nuclear Medicine.* - 2009. - V.50. - №3. - P.435-443.
166. Melanoma imaging using ^{111}In -, ^{86}Y - and ^{68}Ga -labeled CHX-A β Bi-Re(Arg11)CCMSH / L. Wei, X. Zhang, F. Gallazzi et al. // *Nuclear Medicine and Biology.* - 2009. - V.36. - №4. - P.345-354.
167. In vitro and in vivo evaluation of novel ligands for radioimmunotherapy / H.S. Chong, D.E. Milenic, K. Garmestani et al. // *Nuclear Medicine and Biology.* - 2006. - V.33. - №4. - P.459-467.
168. Anti-EGFRvIII monoclonal antibody armed with ^{177}Lu : in vivo comparison of macrocyclic and acyclic ligands / M. Hens, G. Vaidyanathan, X.G. Zhao et al. // *Nuclear Medicine and Biology.* - 2010. - V.37. - №7. - P.741-750.
169. In vivo comparison of macrocyclic and acyclic ligands for radiolabeling of monoclonal antibodies with ^{177}Lu for radioimmunotherapeutic applications / D.E. Milenic, K. Garmestani, L.L. Chappell et al. // *Nuclear Medicine and Biology.* - 2002. - V.29. - №4. - P.431-442.
170. Antitenascin antibody 81C6 armed with ^{177}Lu : in vivo comparison of macrocyclic and acyclic ligands / A.T. Yordanov, M. Hens, C. Pegram et al. // *Nuclear Medicine and Biology.* - 2007. - V.34. - №2. - P.173-183.

171. Investigation of equilibria in solution. Determination of equilibrium constants with the HYPERQUAD suite of programs / P. Gans, A. Sabatini, A. Vacca // *Talanta*. - 1996. - V.43. - №10. - P.1739-1753.
172. The application of novel extraction chromatographic materials to the characterization of radioactive waste solutions / E.Ph. Horwitz, M.L. Dietz, R. Chiarizia // *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, Articles*. - 1992. - V.161. - №2. - P.575-583.
173. Luminescence study on hydration states of lanthanide(III)-polyaminopolycarboxylate complexes in aqueous solution / T. Kimura, Y. Kato // *Journal of Alloys and Compounds*. - 1998. - V.275-277. - №. - P.806-810.
174. MOPAC2012 Stewart Computational Chemistry
175. Optimization of parameters for semiempirical methods VI: more modifications to the NDDO approximations and re-optimization of parameters / J. Stewart // *J Mol Model*. - 2013. - V.19. - №1. - P.1-32.
176. Sparkle/PM7 Lanthanide Parameters for the Modeling of Complexes and Materials / J.D.L. Dutra, M.A.M. Filho, G.B. Rocha et al. // *J.Chem.Theory Comput*. - 2013. - V.9. - №8. - P.3333-3341.
177. Fully optimized contracted Gaussian basis sets for atoms Li to Kr / A. Schaeffer, H. Horn, R. Ahlrichs // *J Chem Phys*. - 1992. - V.97. - №4. - P.2571-2577.
178. Energy-adjusted *a b i n i t i o* pseudopotentials for the rare earth elements / M. Dolg, H. Stoll, H. Preuss // *J Chem Phys*. - 1989. - V.90. - №3. - P.1730-1734.
179. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays / T. Mosmann // *Journal of Immunological Methods*. - 1983. - V.65. - №1. - P.55-63.
180. Metal complexes in aqueous solutions / A.E. Martell, Hancock R.E. - New York: Springer Science+Business Media New York, 1996. - P. -.
181. Ionization constants of acids & bases / A. Albert, Serjeant E.P., . - New York: John Wiley & Sons, Inc., A Wiley Company, 1962. - P. -179.
182. Metal complexes of cyclic tetra-azatetra-acetic acids / R. Delgado, J.J.R. da Silva // *Talanta*. - 1982. - V.29. - №10. - P.815-822.
183. Справочник химика / . - Москва: Химия, 1965. - P. 101-101.
184. Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology / J.I. Kroschwitz, Seidel A. - : Wiley, 2006. - P. -.
185. (S)-5-(p-Nitrobenzyl)-PCTA, a Promising Bifunctional Ligand with Advantageous Metal Ion Complexation Kinetics / G. Tircso, E.T. Benyo, E.H. Suh et al. // *Bioconjugate Chem*. - 2009. - V.20. - №3. - P.565-575.

186. Complex formation of pyridine-azacrown ether amide macrocycles with proton and heavy metal ions in aqueous solution / Y. Fedorov, O. Fedorova, A. Peregudov et al. // *J.Phys.Org.Chem.* - 2016. - V.29. - №5. - P.244-250.
187. Complexation of the macrocyclic hexa-amine ligand 1,4,7,10,13,16-hexa-azacyclo-octadecane('18-azacrown-6') / M. Kodama, E. Kimura, S. Yamaguchi // *J.Chem.Soc., Dalton Trans.* - 198012. - P.2536-2538.
188. Аналитическая химия редкоземельных элементов и иттрия / Д.И. Рябчиков, Рябухин В.А. - Москва: Наука, 1966. - P. 295-295.
189. Variation of stability constants of Thorium and Uranium oxalate complexes with ionic strength / H.N. Erten, A.K. Mohammed, G.R. Choppin // *Radiochimica Acta.* - 1994. - V.66/67. - №. - P.123-128.
190. Potential lanthanide ion selective reagents. 3. Metal complex formation with 1,7-diaza-4,10,13-trioxacyclopentadecane-N,N'-diacetic acid / C.A. Chang, V.O. Ochaya // *Inorg.Chem.* - 1986. - V.25. - №3. - P.355-358.
191. Thermodynamics of the complexation of cerium-, europium- and erbium-(III) with 1,4,10-trioxa-7,13-diazapentadecane-N,N[prime or minute]-diacetic acid and 1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazoа-cyclooctadecane-N,N[prime or minute]-diacetic acid / V.K. Manchanda, P.K. Mohapatra, C. Zhu, R.M. Izatt // *J.Chem.Soc., Dalton Trans.* - 199510. - P.1583-1585.
192. Справочник по аналитической химии / Ю.Ю. Лурье. - Москва: Наука, 1989. - P. 448-.
193. The effect of chelate ring size on metal ion size-based selectivity in polyamine ligands containing pyridyl and saturated nitrogen donor groups / I. Cukrowski, E. Cukrowska, R.D. Hancock, G. Anderegg // *Analytica Chimica Acta.* - 1995. - V.312. - №3. - P.307-321.
194. Evaluation of nitrogen-rich macrocyclic ligands for the chelation of therapeutic bismuth radioisotopes / J.J. Wilson, M. Ferrier, V. Radchenko et al. // *Nuclear Medicine and Biology.* - 2015. - V.42. - №5. - P.428-438.
195. Stability of ammonia complexes that are unstable to hydrolysis in water / F. Mulla, F. Marsicano, B.S. Nakani, R.D. Hancock // *Inorg.Chem.* - 1985. - V.24. - №19. - P.3076-3080.
196. Complexation thermodynamics and structural studies of trivalent actinide and lanthanide complexes with DTPA, MS-325 and HMDTPA / P. Thakur, J.L. Conca, C.J. Dodge et al. // *Radiochimica Acta.* - 2013. - V.101. - №4. - P.221-232.
197. Colloidal α -Al₂O₃, europium(III) and humic substances interactions: A macroscopic and spectroscopic study / N. Janot, M.F. Benedetti, P.E. Reiller // *Environmental science and Technology.* - 2011. - V.45. - №8. - P.3224-3230.

198. Bi-exponential decay of Eu(III) complexed by Suwannee River humic substances: Spectroscopic evidence of two different excited species / P.E. Reiller, J. Brevet // *Spectrochimica Acta Part A*. - 2010. - V.75. - №2. - P.629-636.
199. Lanthanide ion probes of structure in biology. Laser-induced luminescence decay constants provide a direct measure of the number of metal-coordinated water molecules / W.D. Horrocks, D.R. Sudnick // *J.Am.Chem.Soc.* - 1979. - V.101. - №2. - P.334-340.
200. Laser-induced europium(III) luminescence and NMR spectroscopic characterization of macrocyclic diaza crown ether complexes containing carboxylate ligating groups / R.C. Holz, S.L. Klakamp, C.A. Chang, W.D. Horrocks // *Inorg.Chem.* - 1990. - V.29. - №14. - P.2651-2658.
201. Synthesis, Stability, and Structure of Gadolinium(III) and Yttrium(III) Macrocyclic Poly(amino carboxylates) / K. Kumar, C.A. Chang, L.C. Francesconi et al. // *Inorg.Chem.* - 1994. - V.33. - №16. - P.3567-3575.
202. Biodistribution and dosimetry results from a phase III prospectively randomized controlled trial of ZevalinTM radioimmunotherapy for low-grade, follicular, or transformed B-cell non-Hodgkin's lymphoma / G.A. Wiseman, C.A. White, R.B. Sparks et al. // *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. - 2001. - V.39. - №1B“2. - P.181-194.

Приложение

1 - M^{n+} ; 2 - LM; 3 - LMOH; 4 - $LM(OH)_2$; 5 - $LM(OH)_3$

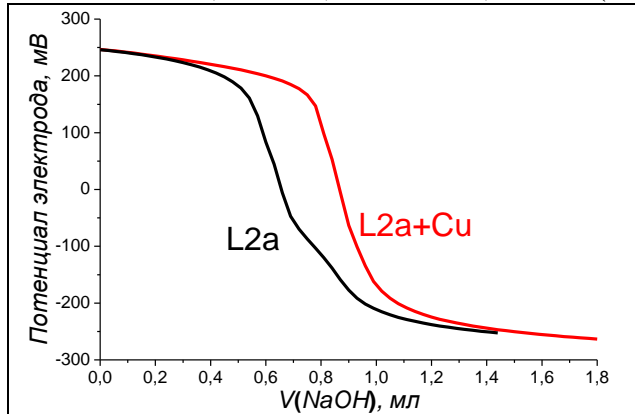


Рисунок П1 – Кривые титрования L2a ($1 \cdot 10^{-3} M$) и L2a ($1 \cdot 10^{-3} M$) в присутствии $Cu(ClO_4)_2$ ($5 \cdot 10^{-4} M$)

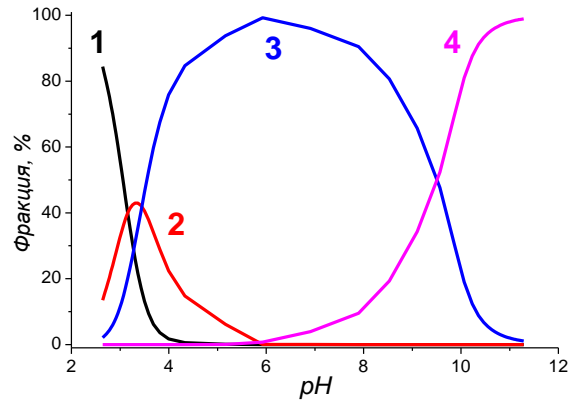


Рисунок П2 – Распределение химических форм меди в комплексах с L2a в зависимости от pH $c(L2a)=1 \cdot 10^{-3} M$, $c(Cu(ClO_4)_2)=5 \cdot 10^{-4} M$

1 - M^{n+} ; 2 - LM; 3 - LMOH; 4 - $LM(OH)_2$; 5 - $LM(OH)_3$

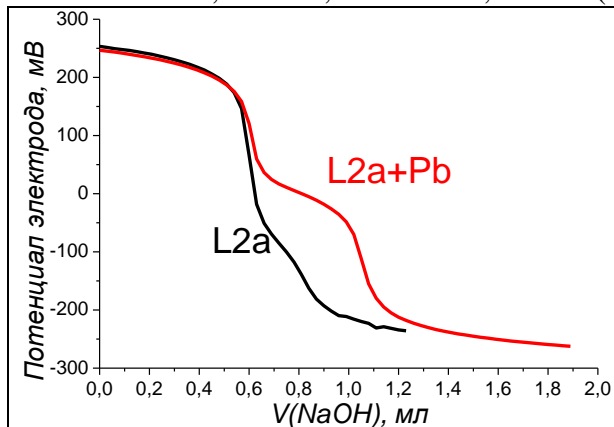


Рисунок П3 – Кривые титрования L2a ($1 \cdot 10^{-3} M$) и L2a ($1 \cdot 10^{-3} M$) в присутствии $Pb(ClO_4)_2$ ($1 \cdot 10^{-3} M$)

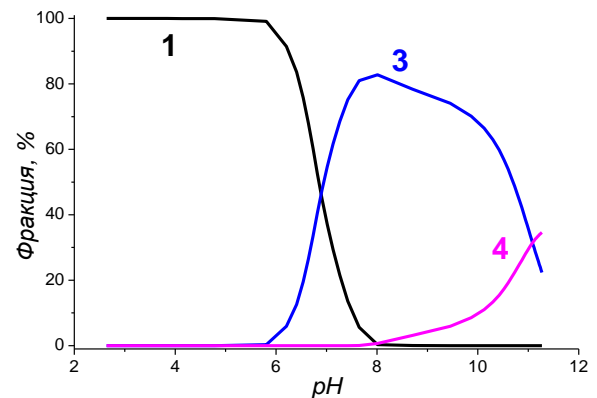


Рисунок П4 – Распределение химических форм свинца в комплексах с L2a в зависимости от pH $c(L2a)=1 \cdot 10^{-3} M$, $c(Pb(ClO_4)_2)=1 \cdot 10^{-3} M$

1 - M^{n+} ; 2 - LM; 3 - LMOH; 4 - $LM(OH)_2$; 5 - $LM(OH)_3$

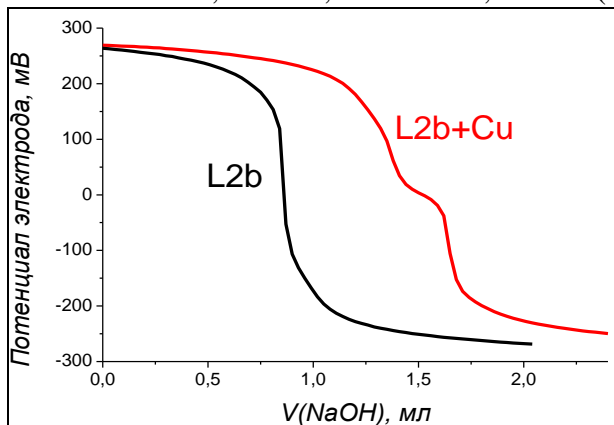


Рисунок П5 – Кривые титрования L2b ($1 \cdot 10^{-3} M$) и L2a ($1 \cdot 10^{-3} M$) в присутствии $Cu(ClO_4)_2$ ($1 \cdot 10^{-3} M$)

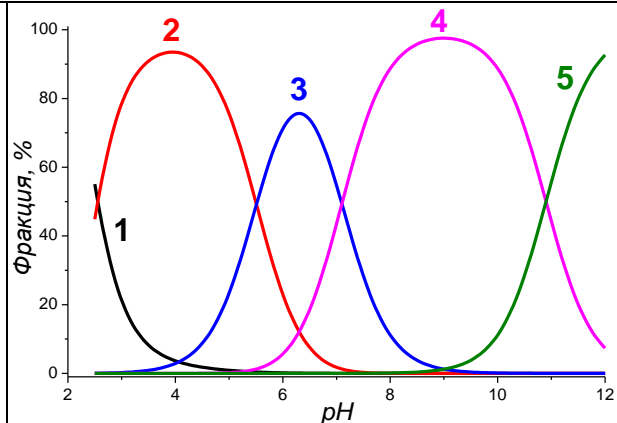


Рисунок П6 – Распределение химических форм меди в комплексах с L2b в зависимости от pH $c(L2b)=1 \cdot 10^{-3} M$, $c(Cu(ClO_4)_2)=1 \cdot 10^{-3} M$

1 - M^{n+} ; 2 - LM; 3 - LMOH; 4 - $LM(OH)_2$; 5 - $LM(OH)_3$

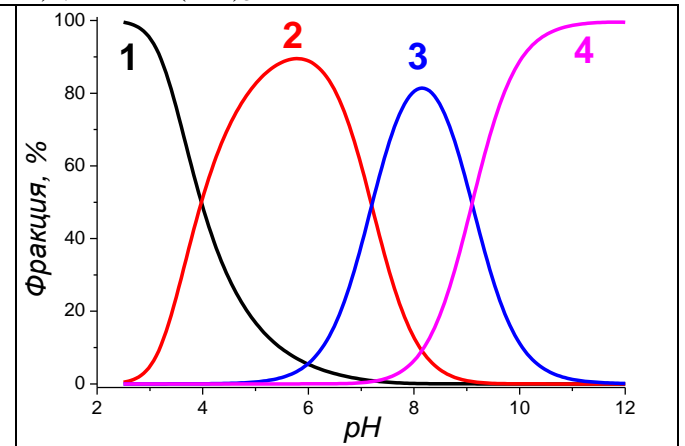
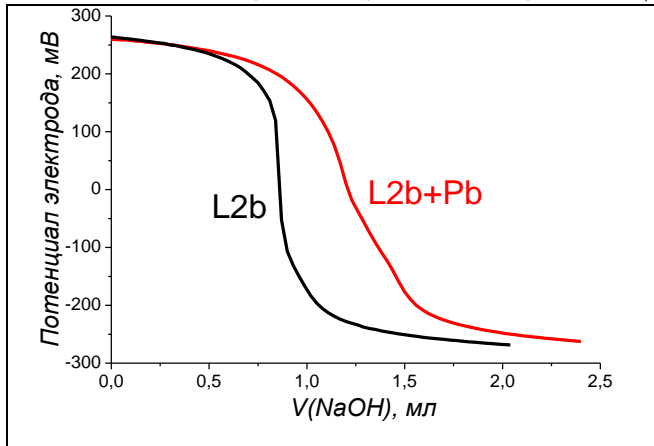


Рисунок П7 – Кривые титрования L2b ($1 \cdot 10^{-3}M$) и L2b ($1 \cdot 10^{-3}M$) в присутствии $Pb(NO_3)_2$ ($1 \cdot 10^{-3}M$)

Рисунок П8 – Распределение химических форм свинца в комплексах с L2b в зависимости от pH $c(L2b)=1 \cdot 10^{-3}M$, $c(Pb(NO_3)_2)=1 \cdot 10^{-3}M$

1 - M^{n+} ; 2 - LM; 3 - LMOH; 4 - $LM(OH)_2$; 5 - $LM(OH)_3$; 6 - $LM(OH)_4$

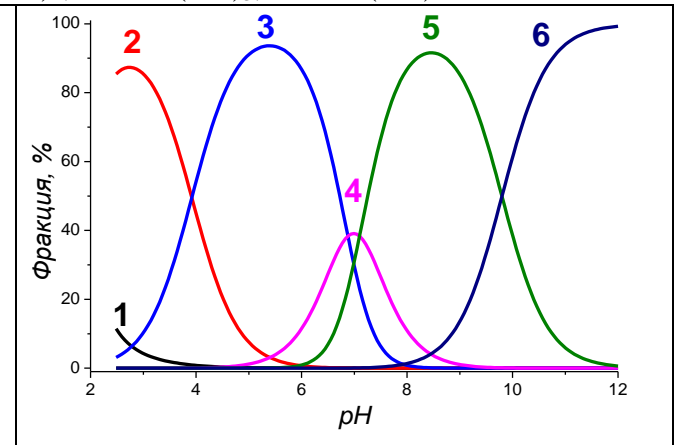
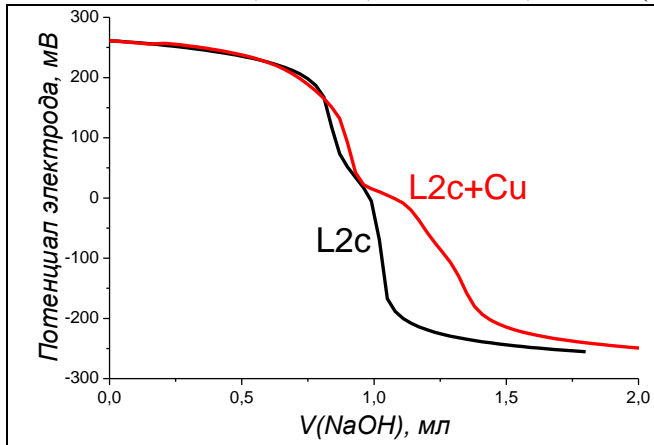


Рисунок П9 – Кривые титрования L2c ($1 \cdot 10^{-3}M$) и L2c ($1 \cdot 10^{-3}M$) в присутствии $Cu(ClO_4)_2$ ($1 \cdot 10^{-3}M$)

Рисунок П10 – Распределение химических форм меди в комплексах с L2c в зависимости от pH $c(L2c)=1 \cdot 10^{-3}M$, $c(Cu(ClO_4)_2)=1 \cdot 10^{-3}M$

1 - M^{n+} ; 2 - LM; 3 - LMOH; 4 - $LM(OH)_2$; 5 - $LM(OH)_3$; 7 - MOH

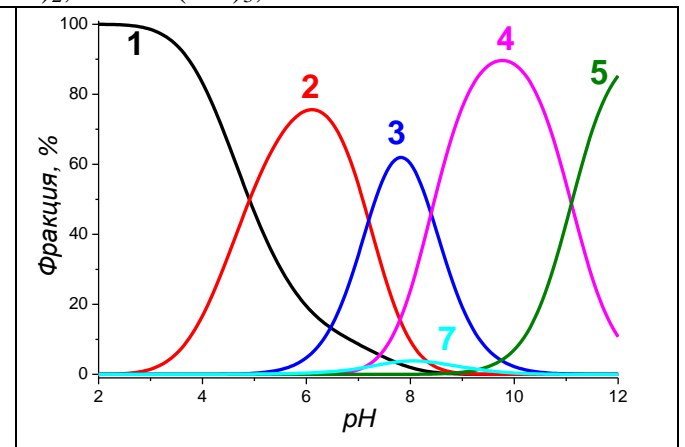
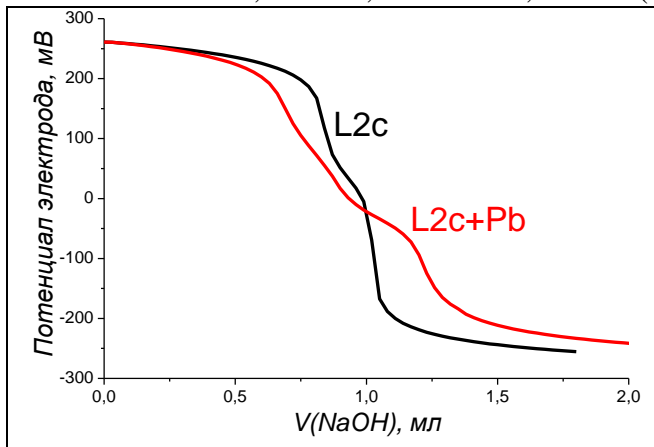


Рисунок П11 – Кривые титрования L2c ($1 \cdot 10^{-3}M$) и L2c ($1 \cdot 10^{-3}M$) в присутствии $Pb(NO_3)_2$ ($1 \cdot 10^{-3}M$)

Рисунок П12 – Распределение химических форм свинца в комплексах с L2c в зависимости от pH $c(L2c)=1 \cdot 10^{-3}M$, $c(Pb(NO_3)_2)=1 \cdot 10^{-3}M$

1 - M^{n+} ; 2 - LM; 3 - LMOH; 4 - $LM(OH)_2$; 5 - $LM(OH)_3$

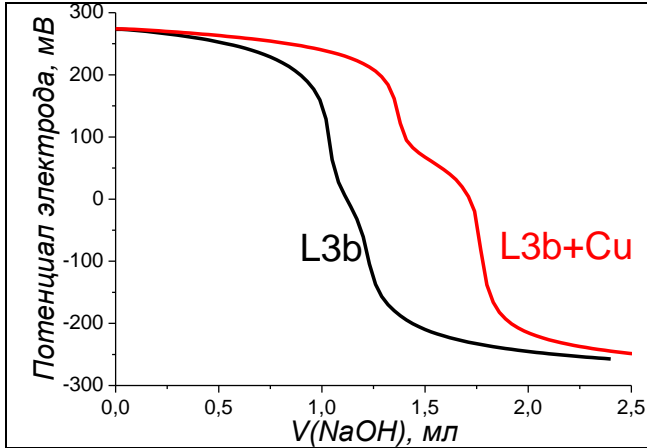


Рисунок П13 – Кривые титрования L3b ($1 \cdot 10^{-3}M$) и L3b ($1 \cdot 10^{-3}M$) в присутствии $Cu(ClO_4)_2$ ($1 \cdot 10^{-3}M$)

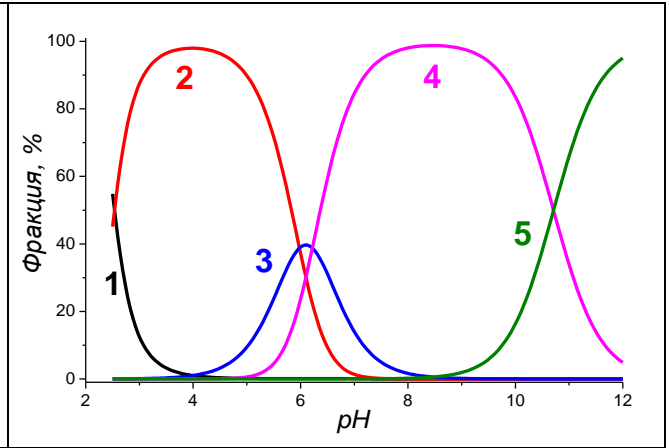


Рисунок П14 – Распределение химических форм меди в комплексах с L3b в зависимости от pH $c(L3b)=1 \cdot 10^{-3}M$, $c(Cu(ClO_4)_2)=1 \cdot 10^{-3}M$

1 - M^{n+} ; 2 - LM; 3 - LMOH; 4 - $LM(OH)_2$; 5 - $LM(OH)_3$

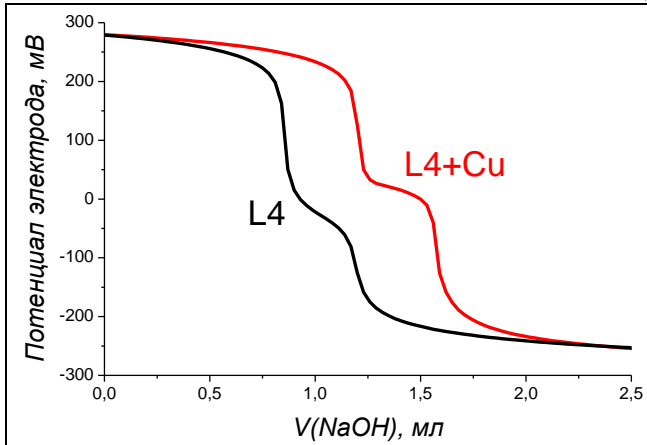


Рисунок П15 – Кривые титрования L4 ($1 \cdot 10^{-3}M$) и L4 ($1 \cdot 10^{-3}M$) в присутствии $Cu(ClO_4)_2$ ($1 \cdot 10^{-3}M$)

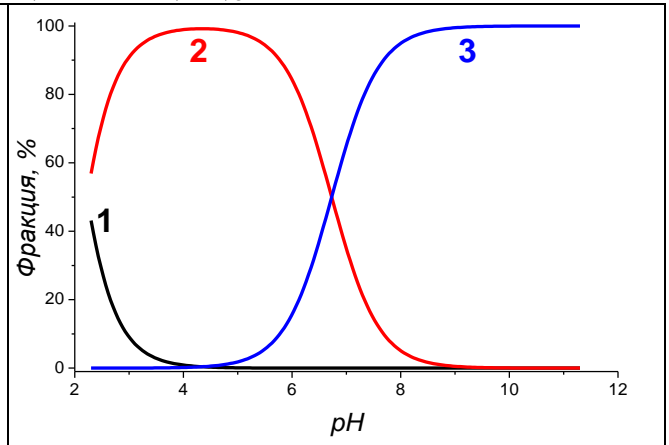


Рисунок П16 – Распределение химических форм меди в комплексах с L4 в зависимости от pH $c(L4)=1 \cdot 10^{-3}M$, $c(Cu(ClO_4)_2)=1 \cdot 10^{-3}M$

1 - M^{n+} ; 2 - LM; 3 - LMOH; 4 - $LM(OH)_2$; 5 - $LM(OH)_3$; 8 - $M(OH)_2$

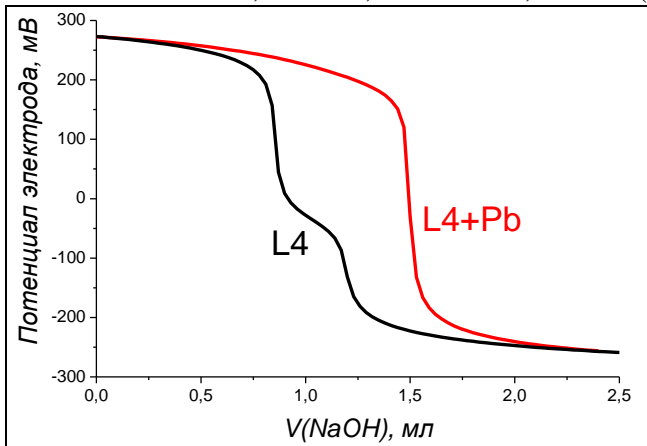


Рисунок П17 – Кривые титрования L4 ($1 \cdot 10^{-3}M$) и L4 ($1 \cdot 10^{-3}M$) в присутствии $Pb(NO_3)_2$ ($1 \cdot 10^{-3}M$)

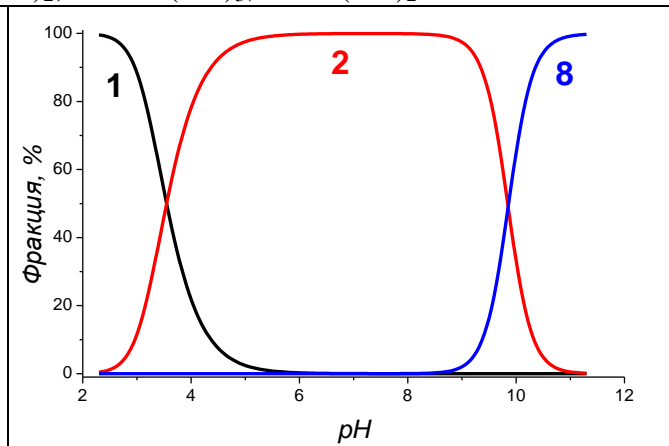


Рисунок П18 – Распределение химических форм свинца в комплексах с L4 в зависимости от pH $c(L4)=1 \cdot 10^{-3}M$, $c(Pb(NO_3)_2)=1 \cdot 10^{-3}M$

1 - M^{n+} ; 2 - LM; 3 - LMOH; 4 - $LM(OH)_2$; 5 - $LM(OH)_3$; 7 - MOH; 9 - $M(OH)_3$ кр

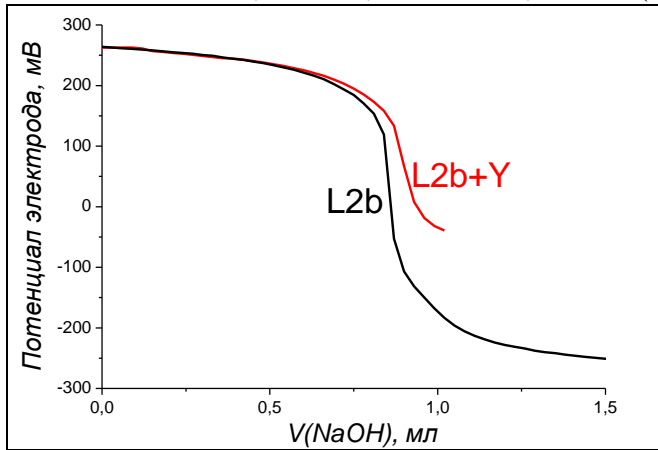


Рисунок П19 – Кривые титрования L2b ($1 \cdot 10^{-3} M$) и L2b ($1 \cdot 10^{-3} M$) в присутствии $Y(NO_3)_3$ ($1 \cdot 10^{-3} M$)

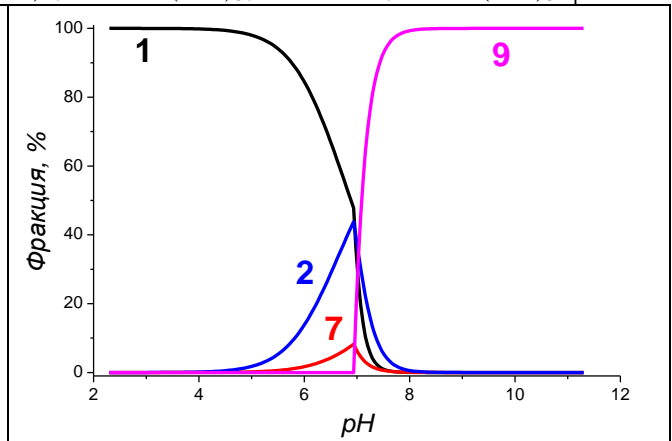


Рисунок П20 – Распределение химических форм иттрия в комплексах с L2b в зависимости от pH $c(L2b)=1 \cdot 10^{-3} M$, $c(Y(NO_3)_3)=1 \cdot 10^{-3} M$

1 - M^{n+} ; 2 - LM; 3 - LMOH; 4 - $LM(OH)_2$; 5 - $LM(OH)_3$; 9 - $M(OH)_3$ кр

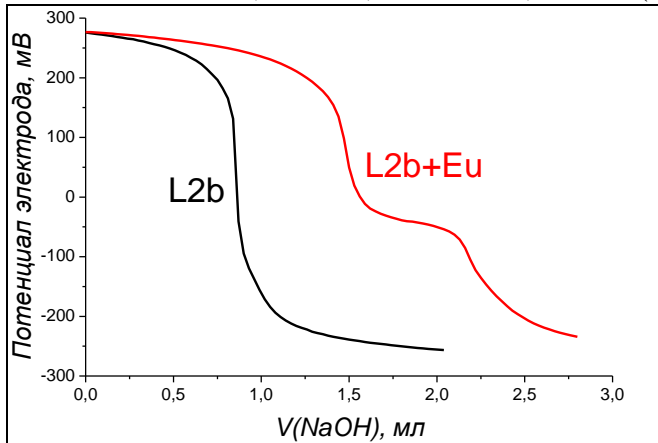


Рисунок П21 – Кривые титрования L2b ($1 \cdot 10^{-3} M$) и L2b ($1 \cdot 10^{-3} M$) в присутствии $Eu(NO_3)_3$ ($1 \cdot 10^{-3} M$)

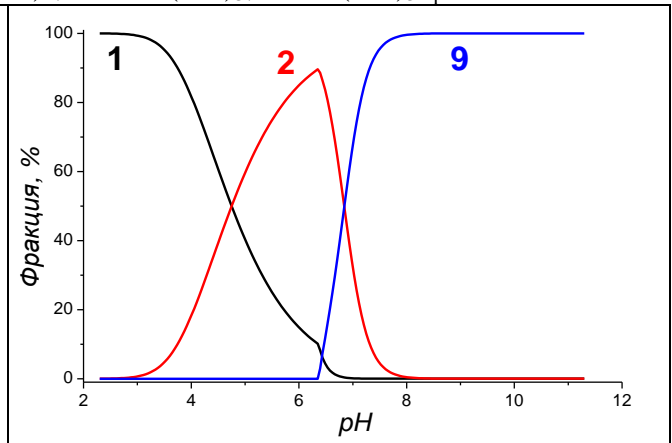


Рисунок П22 – Распределение химических форм европия в комплексах с L2b в зависимости от pH $c(L2b)=1 \cdot 10^{-3} M$, $c(Eu(NO_3)_3)=1 \cdot 10^{-3} M$

1 - M^{n+} ; 2 - LM; 3 - LMOH; 4 - $LM(OH)_2$; 5 - $LM(OH)_3$; 9 - $M(OH)_3$ кр

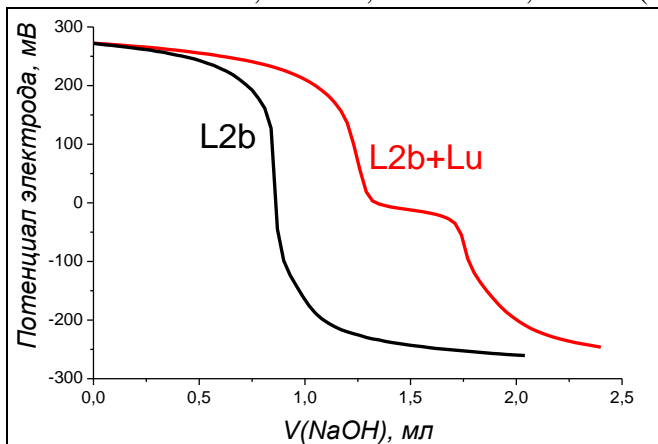


Рисунок П23 – Кривые титрования L2b ($1 \cdot 10^{-3} M$) и L2b ($1 \cdot 10^{-3} M$) в присутствии $Lu(NO_3)_3$ ($1 \cdot 10^{-3} M$)

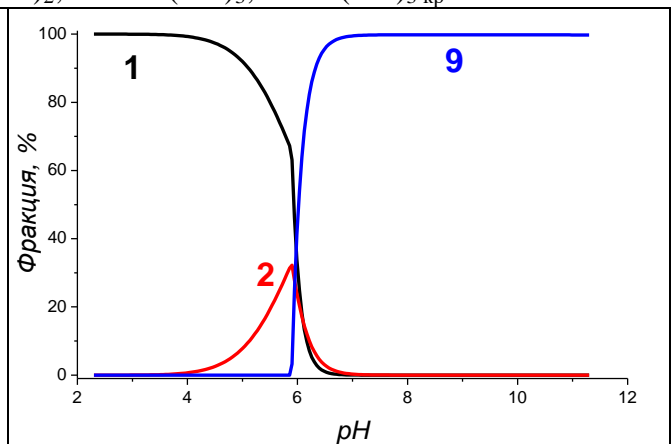


Рисунок П24 – Распределение химических форм лутетия в комплексах с L2b в зависимости от pH $c(L2b)=1 \cdot 10^{-3} M$, $c(Lu(NO_3)_3)=1 \cdot 10^{-3} M$

1 - M^{n+} ; 2 - LM; 3 - LMOH; 4 - $LM(OH)_2$; 5 - $LM(OH)_3$; 9 - $M(OH)_3$ кр

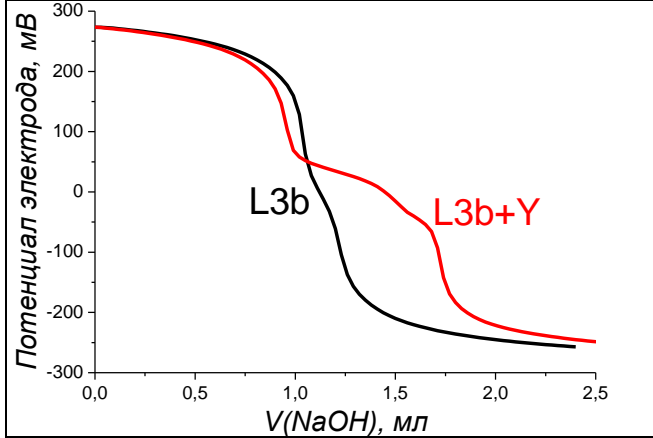


Рисунок П25 – Кривые титрования L3b ($1 \cdot 10^{-3}M$) и L3b ($1 \cdot 10^{-3}M$) в присутствии $Y(NO_3)_3$ ($1 \cdot 10^{-3}M$)

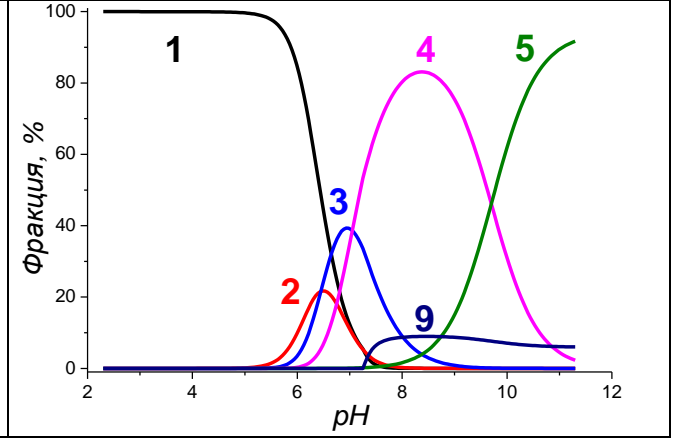


Рисунок П26 – Распределение химических форм иттрия в комплексах с L3b в зависимости от pH $c(L3b)=1 \cdot 10^{-3}M$, $c(Y(NO_3)_3)=1 \cdot 10^{-3}M$

1 - M^{n+} ; 2 - LM; 3 - LMOH; 4 - $LM(OH)_2$; 5 - $LM(OH)_3$; 9 - $M(OH)_3$ кр

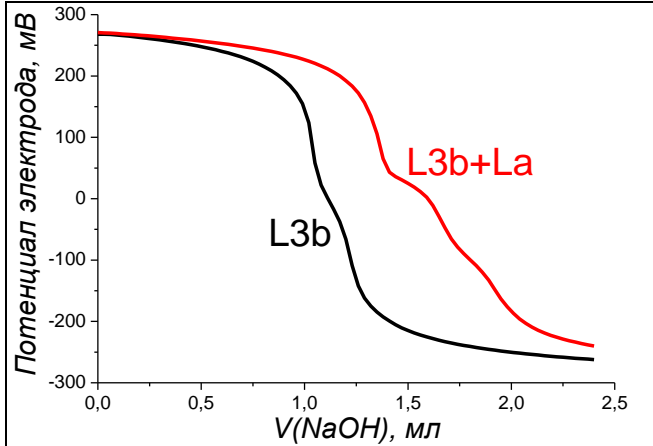


Рисунок П27 – Кривые титрования L3b ($1 \cdot 10^{-3}M$) и L3b ($1 \cdot 10^{-3}M$) в присутствии $La(NO_3)_3$ ($1 \cdot 10^{-3}M$)

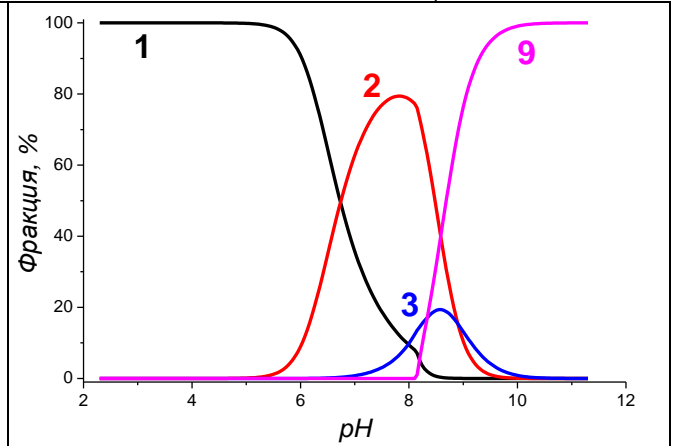


Рисунок П28 – Распределение химических форм лантана в комплексах с L3b в зависимости от pH $c(L3b)=1 \cdot 10^{-3}M$, $c(La(NO_3)_3)=1 \cdot 10^{-3}M$

1 - M^{n+} ; 2 - LM; 3 - LMOH; 4 - $LM(OH)_2$; 5 - $LM(OH)_3$; 9 - $M(OH)_3$ кр

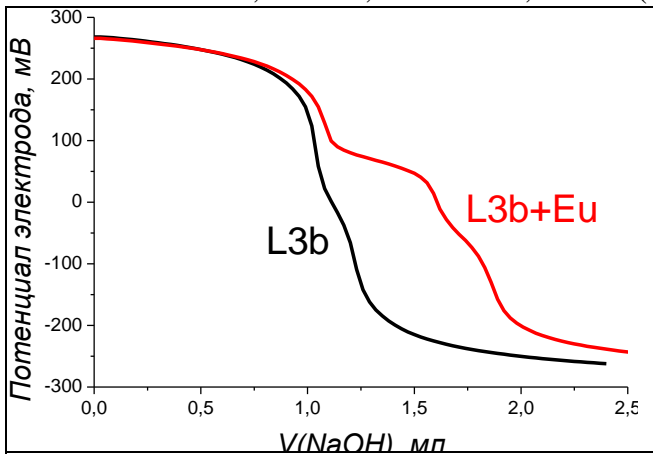


Рисунок П29 – Кривые титрования L3b ($1 \cdot 10^{-3}M$) и L3b ($1 \cdot 10^{-3}M$) в присутствии $Eu(NO_3)_3$ ($1 \cdot 10^{-3}M$)

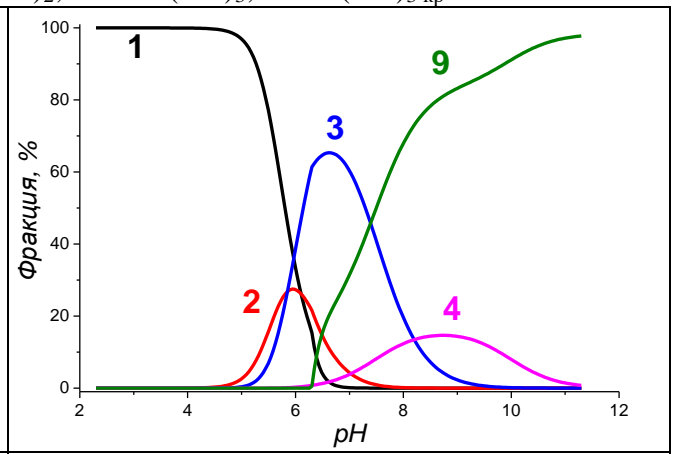


Рисунок П30 – Распределение химических форм европия в комплексах с L3b в зависимости от pH $c(L3b)=1 \cdot 10^{-3}M$, $c(Eu(NO_3)_3)=1 \cdot 10^{-3}M$

1 - M^{n+} ; 2 - LM; 3 - LMOH; 4 - LM(OH)₂; 5 - LM(OH)₃; 9 - M(OH)₃ кр

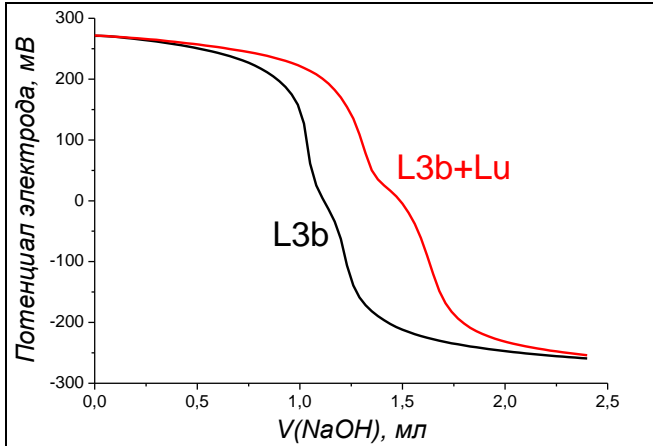


Рисунок П31 – Кривые титрования L3b ($1 \cdot 10^{-3}M$) и L3b ($1 \cdot 10^{-3}M$) в присутствии $Lu(NO_3)_3$ ($1 \cdot 10^{-3}M$)

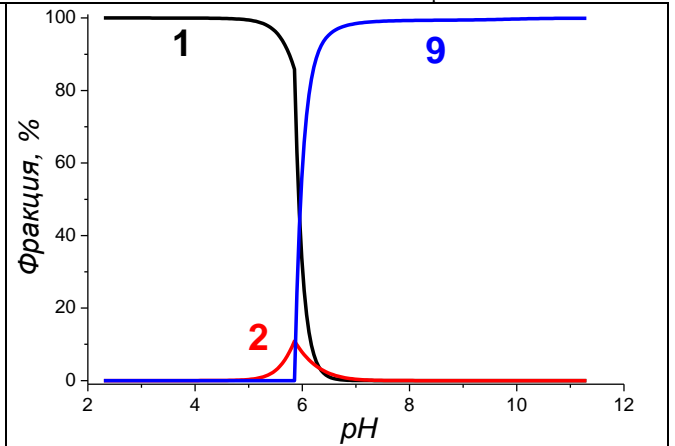


Рисунок П32 – Распределение химических форм лютеция в комплексах с L3b в зависимости от pH $c(L3b)=1 \cdot 10^{-3}M$, $c(Lu(NO_3)_3)=1 \cdot 10^{-3}M$

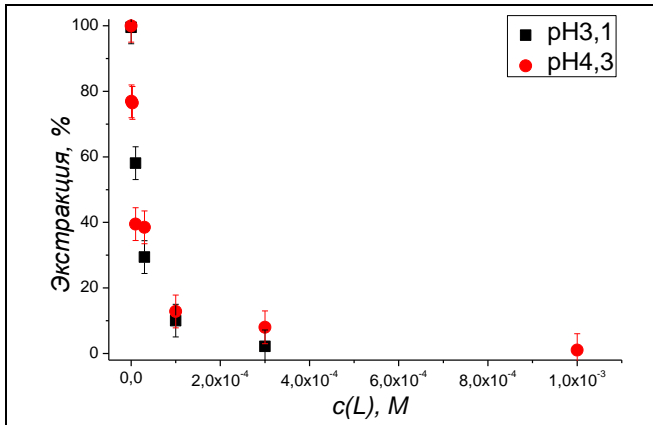


Рисунок П33 – Зависимость экстракции Bi^{3+} 0,01M ДЭГФК от концентрации L2b в водном растворе при разных pH

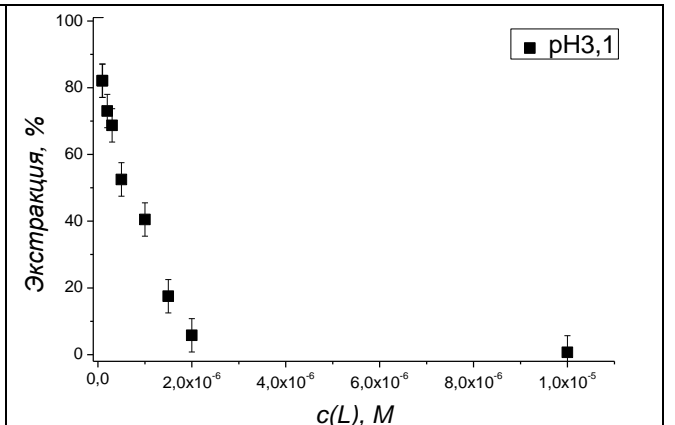


Рисунок П34 – Зависимость экстракции Bi^{3+} 0,01M ДЭГФК от концентрации L3b в водном растворе

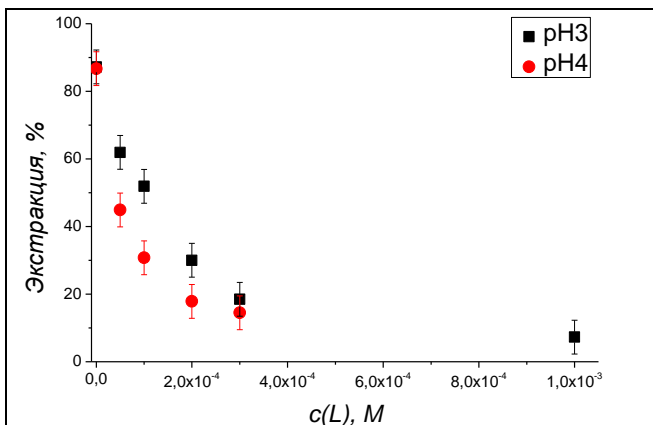


Рисунок П35 – Зависимость экстракции Bi^{3+} 0,01M ДЭГФК от концентрации L2c в водном растворе при разных pH

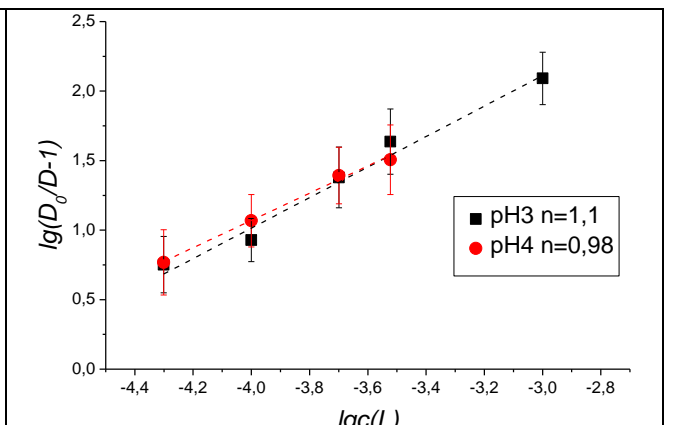


Рисунок П36 – Зависимость коэффициента распределения Bi^{3+} при экстракции 0,01M ДЭГФК от концентрации L2c в координатах уравнения 5

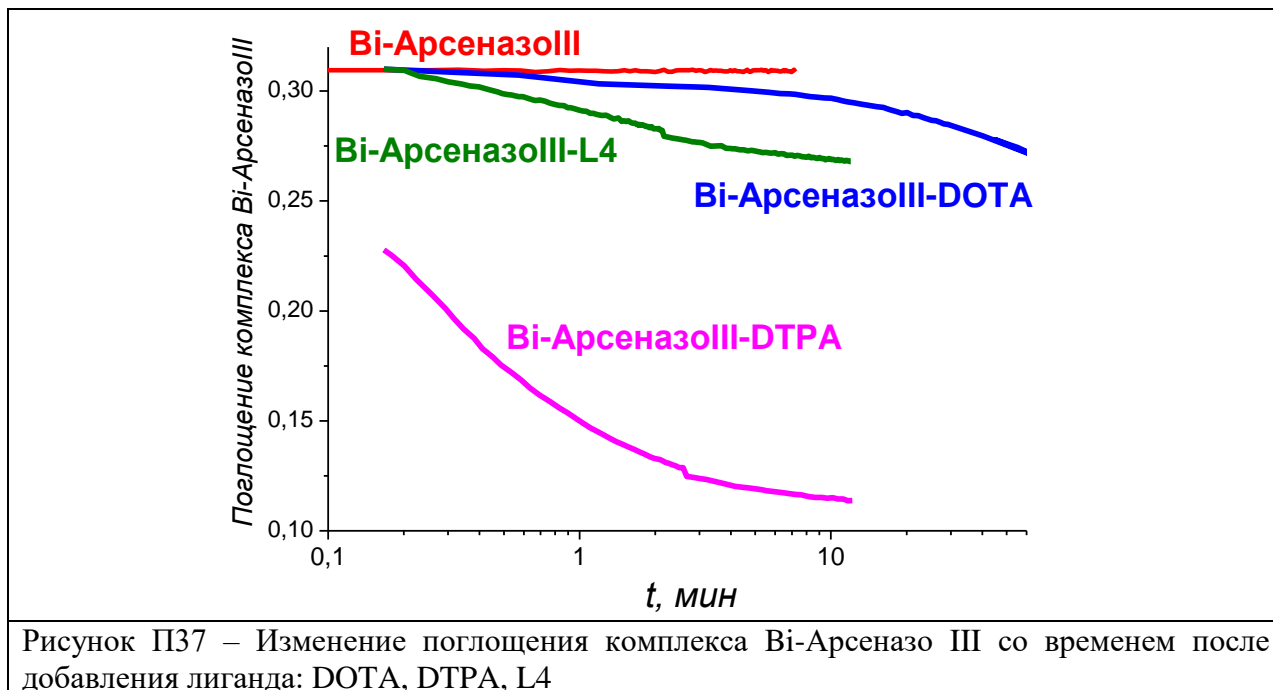


Рисунок П37 – Изменение поглощения комплекса Bi-Aрсеназо III со временем после добавления лиганда: DOTA, DTPA, L4

Благодарности

Искреннюю благодарность автор выражает своему руководителю Калмыкову Степану Николаевичу за пример, помощь и непоколебимую веру в лучшее. Автор выражает благодарность сотрудникам и аспирантам лаборатории фотоактивных супрамолекулярных систем: Фёдоровой О.А., Фёдорову Ю.В., Ощепкову М.С., Зубенко А.Д. за синтез лигандов, обучение и консультации, а также Шепелю Н.Э. за получение масс-спектров. Автор признателен Ермолаеву С.В., Лапшиной Е.В., Алиеву Р.А., Остапенко В.С., Васильеву А.Н за получение и выделение актиния-225, Ширшину Е.А. и Будылину Г.С. за флуоресцентные измерения, Короткову Л.В. за МАЛДИ МС, Орловой М.А. и Никулину С.В. за возможность и обучение работе с клетками, Зубавичусу Я.В. и Тригубу А.Л. за помощь в характеристике образцов методом EXAFS, Митрофанову А.А. за помощь в проведении и обучение квантово-химическим расчётам, Матазовой Е.В. за помощь в подборе и осуществлении ТСХ, Петрову В.Г. за ценные консультации. Автор благодарен Афанасову М.И. и Власовой И.Э. за помощь при подготовке текста автореферата и диссертации. Большое спасибо всем сотрудникам, аспирантам и студентам лабораторий ДиРОС и РФХ за постоянную и разностороннюю поддержку. Также автор хочет отдельно поблагодарить своего первого научного руководителя Долгих В.А. за воспитание и ориентиры, Романчук А.Ю. за терпение, оптимизм и неунывающую поддержку. Спасибо всем друзьям и близким за терпеливое и доброе отношение.