

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ ЭЛЕМЕНТООРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ
им. А.Н. НЕСМЕЯНОВА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи

ЩУКИНА АННА АЛЕКСЕЕВНА

**РАЗРАБОТКА НОВЫХ ПИРИДИН-СОДЕРЖАЩИХ
МАКРОЦИКЛИЧЕСКИХ И АЦИКЛИЧЕСКИХ КОМПЛЕКСОНОВ КАК
КОМПОНЕНТОВ РАДИОФАРМПРЕПАРАТОВ**

1.4.3. – Органическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени кандидата химических наук

Москва – 2024

Работа выполнена в лаборатории фотоактивных супрамолекулярных систем и в лаборатории по разработке хелаторов и их конъюгатов с молекулами-векторами для получения радиофармпрепаратов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова Российской академии наук (ИНЭОС РАН).

Научный руководитель:

Федорова Ольга Анатольевна, доктор химических наук, профессор, заведующая лабораторией фотоактивных супрамолекулярных систем ИНЭОС РАН.

Официальные оппоненты:

Сухоруков Алексей Юрьевич, доктор химических наук, профессор, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией Органических и металл-органических азот-кислородных систем Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского Российской академии наук.

Чернышева Мария Григорьевна, доктор химических наук, доцент Химического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова».

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина Российской академии наук.

Защита диссертации состоится «18» июня 2024 г. в 11 часов на заседании диссертационного совета 24.1.161.01 по присуждению ученой степени кандидата химических наук при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН по адресу: 119334, Москва, ул. Вавилова, д. 28, стр. 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИНЭОС РАН.

Автореферат разослан « » 2024 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета 24.1.161.01
кандидат химических наук



Ольшевская В.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Координационные соединения нашли широкое применение во многих областях науки благодаря возможности селективного связывания катионов металлов лигандами. Одним из важных применений координационных соединений является ядерная медицина, где комплексные соединения лигандов с радионуклидами используются в качестве фрагментов радиофармпрепаратов для лечения и диагностики онкологических заболеваний. Практически значимые комплексоны подразделяются на два больших класса: макроциклические и ациклические соединения. В области ядерной медицины за последние несколько десятилетий было разработано много ациклических и макроциклических хелатирующих лигандов для различных радионуклидов, главным образом на основе ациклического лиганда **ДТРА** (диэтилентриаминпентауксусная кислота) и макроциклического **ДОТА** (1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетрауксусная кислота). Однако остается актуальной проблема поиска новых комплексонов, так как существующие в настоящее время хелаторы все еще обладают рядом недостатков, ограничивающих их медицинское применение, поэтому применяемые в практике терапевтические радиофармпрепараты немногочисленны. В последние годы работы по получению новых радиофармпрепаратов активно расширяются в связи с разработкой новых методов диагностики с использованием радиоизотопов, в связи с этим резко увеличивается потребность в новых хелатирующих агентах. Кроме того, для создания таргетного радиофармпрепарата необходимо связать комплекс радионуклида с биомолекулой, обеспечивающей направленную доставку активного компонента в опухолевые клетки, поэтому важной задачей является разработка бифункциональных производных лигандов, содержащих группы для конъюгации хелатора и молекулы-вектора.

Степень разработанности темы исследования. Накоплен обширный материал по синтезу и комплексообразующим свойствам лигандов в области радиофармпрепаратов в виде публикаций, научных работ и обзоров в научных журналах. За годы изучения этих соединений было показано, что структура лиганда и тип хелатирующих групп влияют на устойчивость, стехиометрию комплексов и селективность к различным катионам металлов, что определяет их возможность применения в составе радиофармпрепаратов. В литературе описаны ациклические и макроциклические хелаторы для применения в области ядерной медицины, а также изучены их комплексообразующие свойства. Тем не менее, многие хелаторы имеют недостатки, такие как медленная кинетика комплексообразования и невысокая кинетическая инертность образуемых комплексов. Поэтому задача данного исследования состояла в разработке новых хелаторов с различными хелатирующими группами и исследовании их комплексообразующих свойств для оценки возможности применения в составе радиофармпрепаратов.

Цель и задачи работы. Целью данной работы является синтез и исследование новых пиридинсодержащих ациклических и макроциклических хелаторов, перспективных для применения в составе радиофармпрепаратов.

Задачами данной работы явились: 1) разработка методов получения новых ациклических полиаминных и пиридинсодержащих комплексонов с различными хелатирующими группами (ацетатные, пиколинатные, фосфонатные, сукцинаматные, пиридилные, ацетамидные); 2) синтез макроциклических хелаторов на основе азкараун-эфиров; 3) изучение комплексообразующих свойств полученных хелаторов с катионами Ga^{3+} , Y^{3+} , Bi^{3+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} и Pb^{2+} различными физико-химическими методами анализа; 4) разработка бифункциональных комплексонов для радиофармацевтического применения.

Научная новизна.

- Синтезирован ряд неописанных ранее ациклических полиаминных и пиридинсодержащих хелаторов и макроциклических хелаторов на основе азакраун-эфиров.

- Разработан новый метод введения комбинированных хелатирующих групп (пиридилные, ацетатные, фосфонатные, сукцинаматные, ацетамидные) в структуру ациклических полиаминных лигандов.

- Изучены комплексообразующие свойства полученных лигандов с катионами Ga^{3+} , Y^{3+} , Bi^{3+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} и Pb^{2+} , определена структура образующихся комплексов и измерены константы устойчивости, проанализирована устойчивость образующихся комплексов в зависимости от структуры, состава лиганда и координационных характеристик металла.

- Проведено тестирование кинетической инертности синтезированных комплексов ацетатных и пиколинатных лигандов *in vitro*, проанализирована зависимость устойчивости комплексов в биологической среде от их структуры.

- Показана возможность модификации пиридинового кольца карбоксильными функциональными группами и создание бифункциональных производных макроциклических хелаторов, которые были конъюгированы с наночастицами.

Теоретическая и практическая значимость работы.

- Предложен подход к синтезу ациклических лигандов из азакраун-эфиров, позволяющий получать хелаторы, комбинирующие в своем составе хелатирующие группы различного типа.

- Выявлены хелаторы с включением пиридинового фрагмента, образующие устойчивые комплексы *in vitro* с Ga^{3+} , Y^{3+} , Bi^{3+} , перспективные для использования в составе радиофармпрепаратов.

- Предложены методы введения карбоксильных функциональных групп в состав хелаторов с ацетатными хелатирующими группами для конъюгирования с биомолекулой.

Методология и методы диссертационного исследования основаны на анализе литературных данных, разработке методов синтеза лигандов из коммерчески доступных реагентов. Полученные соединения были охарактеризованы с использованием физико-химических методов анализа, включая 1H , ^{13}C , ^{31}P ЯМР спектроскопию, в том числе двумерную, масс-спектрометрию, элементный анализ, ИК-спектроскопию. Комплексообразование синтезированных лигандов с катионами металлов изучалось с использованием 1H ЯМР-спектроскопии, в том числе двумерной, масс-спектрометрии, ВЭЖХ-анализа, потенциометрического титрования, спектрофотометрического титрования, РСА, DFT-расчетов, исследований *in vitro* и *in vivo*.

Основные положения, выносимые на защиту.

- Синтез ряда новых макроциклических и ациклических комплексонов с ацетатными, пиколинатными, фосфонатными, сукцинаматными, пиридилными и ацетамидными хелатирующими группами.

- Макроциклизация полиаминов в амидные пиридинсодержащие азакраун-соединения в качестве метода защиты первичных аминогрупп.

- Синтез бифункциональных производных комплексонов.

- Изучение комплексообразующих свойств полученных хелаторов с катионами Ga^{3+} , Y^{3+} , Bi^{3+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} и Pb^{2+} с применением ряда методов физико-химического анализа.

- Оценка полученных комплексонов как потенциальных компонент радиофармпрепаратов.

Личный вклад автора. Автор диссертации участвовал в анализе литературных данных, обсуждении задач, решаемых в диссертационной работе, подготовке и проведении экспериментов, разработке методик синтеза новых соединений, проведении физико-химических исследований, интерпретации полученных результатов и их обобщении, формулировке основных научных выводов, а также в написании научных публикаций и представлении докладов по теме диссертации на конференциях различного уровня. Данная работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ № 16-13-10226, 19-73-20187, 19-53-18010\19, 21-73-20158, 23-13-00424, 23-73-01270, а также ГЗ №075-00277-24-00, тема FFSF-2022-0017.

Автор выражает особую благодарность к.х.н. Зубенко А.Д., к.х.н. Черниковой Е.Ю., д.х.н. Федорову Ю.В., к.х.н. Егоровой Б.В., Иконниковой И.С., Карноуховой В.А., Хабировой С.Ю., к.х.н. Алешину Г.Ю., к.х.н. Ларенкову А.А., Бубенчикову В.Б., к.х.н. Митрофанову А.А., Меньшикову М.А., Тарасенко О.В., а также коллективам лабораторий №107 и №135 и лаборатории микроанализа №118 за участие в постановке экспериментов и обсуждении полученных результатов на разных этапах работы.

Степень достоверности полученных результатов обеспечивалась использованием совокупности современных физико-химических методов установления строения и исследования свойств полученных соединений; отсутствием противоречий между выводами, сделанными в результате выполнения работы, и известными литературными данными; экспертной оценкой редакционных коллегий высокоцитируемых журналов, в которых были опубликованы результаты данной работы.

Апробация работы. По материалам диссертации опубликовано 9 статей (7 – в отечественных и иностранных научных изданиях, рекомендованных ВАК, 2 – в журнале, включенном в РИНЦ) и 14 тезисов докладов. Основные результаты данной работы были представлены на следующих конференциях: «New Emerging Trends in Chemistry» Conference (NewTrendsChem-2023) (Ереван, Армения, 2023); Всероссийская конференция с международным участием «Идеи и наследие А.Е. Фаворского в органической химии» (Санкт-Петербург, Россия, 2023); 2nd International symposium «Noncovalent interactions in synthesis, catalysis and crystal engineering» (Москва, Россия, 2022); XXV Всероссийская конференция молодых ученых-химиков (с международным участием) (Нижний Новгород, Россия, 2022); IX Молодежная конференция ИОХ РАН (Москва, Россия, 2021); Всероссийская конференция «Марковниковские чтения: Органическая химия от Марковникова до наших дней» (WSOC-2021, WSOC-2022), (Сочи, Россия, 2021, 2022); «MENDELEEV 2021» The XII International Conference on Chemistry for Young Scientists (Санкт-Петербург, Россия, 2021); Открытый конкурс-конференция научно-исследовательских работ по химии элементоорганических соединений и полимеров «ИНЭОС OPEN CUP» (Москва, Россия, 2019, 2021); «Актуальные аспекты химической технологии биологически активных веществ» (Москва, Россия, 2020); Всероссийская конференция «Марковниковские чтения: Органическая химия от Марковникова до наших дней» (WSOC-2020) (Красновидово, Россия, 2020); International Conference «Chemistry of Organoelement Compounds and Polymers 2019» (Москва, Россия, 2019); XV Международный конгресс молодых ученых по химии и химической технологии «МКХТ-2019» (Москва, Россия, 2019).

Объем и структура работы. Диссертационная работа общим объемом 252 страницы состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов и приложения и содержит 57 схем, 10 таблиц и 250 рисунков. Список литературы включает 177 наименований.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ РАБОТЫ

Для использования в составе радиофармпрепарата хелатор должен отвечать ряду требований. Ключевые факторы, которые следует учитывать при выборе хелатора для конкретного радионуклида, включают скорость комплексообразования, термодинамическую стабильность, кинетическую инертность и стабильность комплекса *in vivo*. Одной из стратегий решения проблемы быстрого образования комплексов в мягких условиях является повышение структурной жесткости хелатора путем введения жесткого фрагмента в состав лиганда. Такой фрагмент обеспечивает предорганизацию лиганда к связыванию катиона металла, облегчая протекание процесса комплексообразования. В настоящей работе были разработаны синтезы макроциклических и ациклических хелаторов, содержащих в своем составе жесткие гетероароматические фрагменты.

1. Синтез комплексонов

Нами был осуществлен синтез трех типов лигандов: макроциклические хелаторы на основе пиридинакраун-соединений, ациклические хелаторы гибкого строения, основанные на полиаминной цепочке и структурно более жесткие пиридинсодержащие ациклические хелаторы (Рис.1).

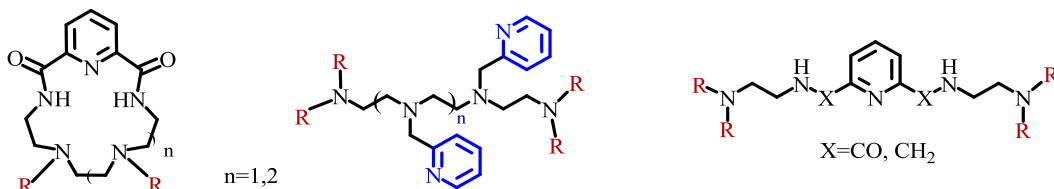


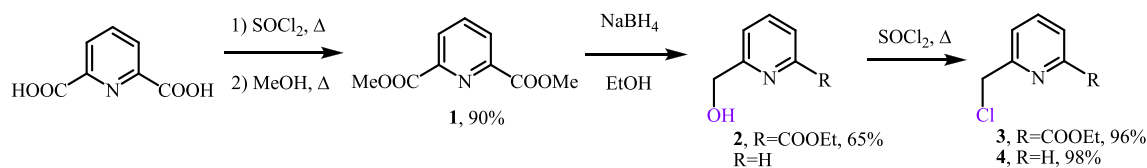
Рисунок 1 – Три типа лигандов.

Макроциклические хелаторы имеют в своем составе жесткий амидопиридиновый фрагмент, что приводит к увеличению скорости комплексообразования за счет наличия предорганизованной полости. Два типа ациклических комплексонов отличаются по своему строению. Так, ациклические хелаторы первого типа - полиамины с различными типами заместителей - отличаются большой гибкостью для подстраивания лиганда под координационные требования катионов. Хелаторы второго типа имеют в структуре жесткий фрагмент пиридина, который ограничивает подвижность, но может обеспечивать более быстрое комплексообразование за счет предорганизованной структуры лиганда и более устойчивые комплексы. Для увеличения дентатности лигандов и лучшего хелатирования катиона металла в структуру соединений вводили дополнительные координирующие группы различной природы, такие как ацетатные, пиридилные, пиколинатные, ацетамидные и фосфонатные. Кроме того, были синтезированы бифункциональные производные наиболее перспективных хелаторов путем введения в их структуру дополнительной реакционноспособной группы, не участвующей в комплексообразовании и обеспечивающей возможность получения конъюгатов с целевыми молекулами.

1.1. Синтез пиридинсодержащих макроциклических комплексонов

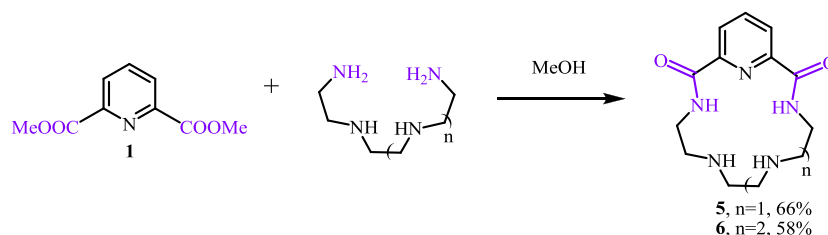
В качестве исходного соединения был получен диметилловый эфир 2,6-пиридиндикарбоновой кислоты **1**. Для введения пиколинатных групп в структуру лигандов был синтезирован этиловый эфир 6-(хлорметил)пиколиновой кислоты **3**. Для введения пиридилных хелатирующих групп был получен 2-(хлорметил)пиридин **4** по реакции 2-(гидроксиметил)пиридина с тионилхлоридом (Схема 1).

Схема 1



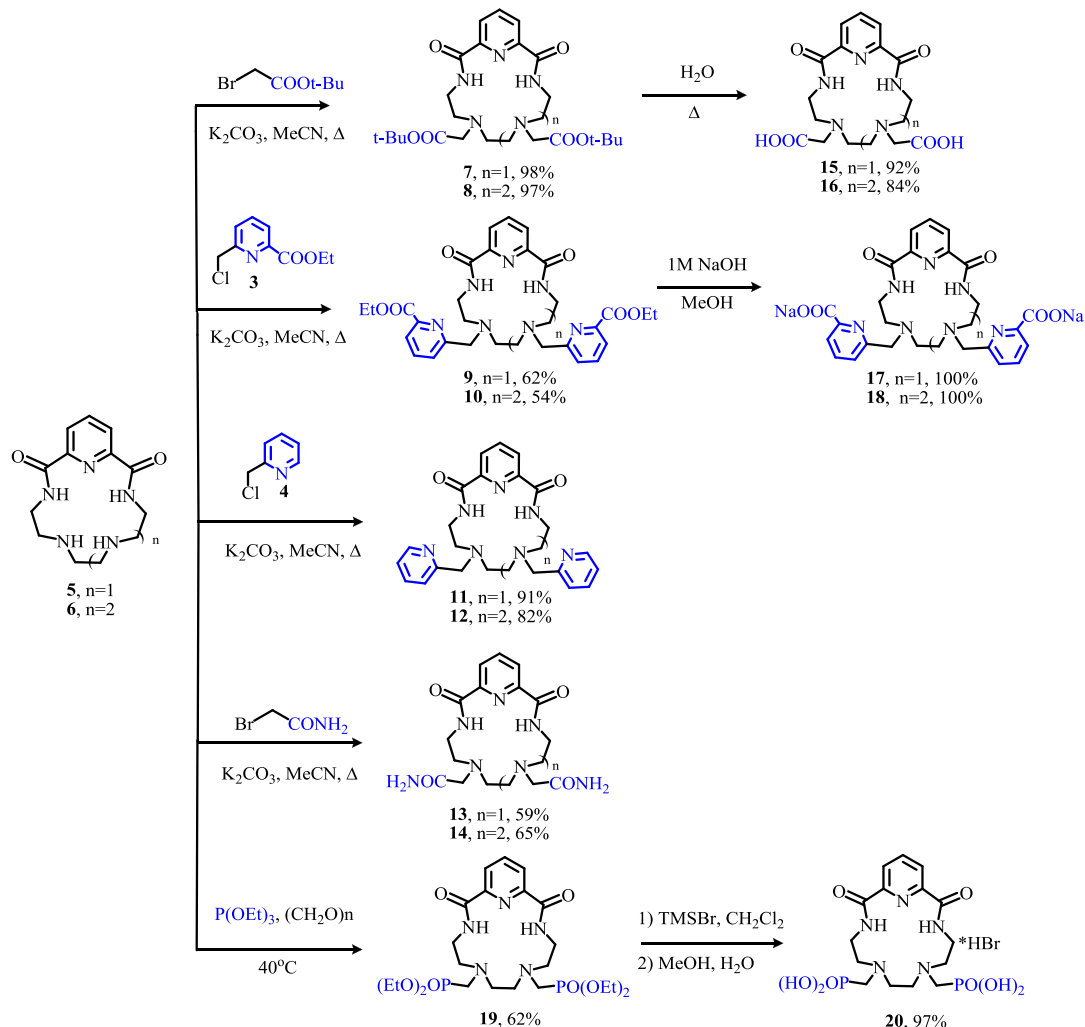
В реакции макроциклизации использовались полиамины различной длины (триэтилентетрамин и тетраэтиленпентамин) и диметилвый эфир 2,6-пиридиндикарбоновой кислоты **1** (Схема 2). Реакцию макроциклизации проводили при комнатной температуре без использования темплатных агентов и техники высокого разбавления с получением продуктов **5**, **6** с высокими выходами.

Схема 2



На следующем этапе вводили дополнительные хелатирующие группы в структуру макроцикла (Схема 3).

Схема 3



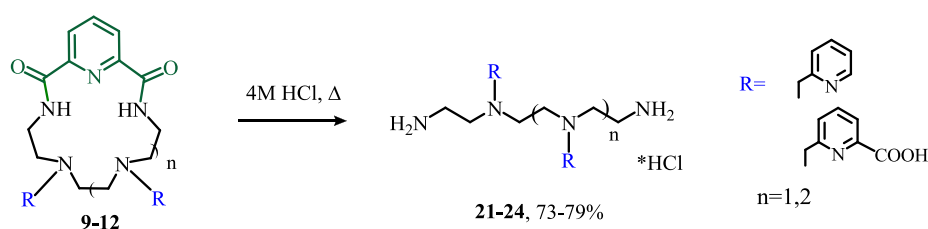
Аминогруппы азакраун-соединений **5** и **6** алкилировали *трет*-бутиловым эфиром бромуксусной кислоты, хлоридами **3**, **4** и 2-бромацетамидом при кипячении в ацетонитриле в присутствии основания. Гидролиз сложноэфирных групп при кипячении в воде соединений **7** и **8** позволил получить целевые макроциклические лиганды **15** и **16**, а гидролиз в щелочных условиях производных **9** и **10** приводил к получению хелаторов **17** и **18**. По модифицированной реакции Кабачника-Филдса с последующей реакцией МакКенны с помощью бромотриметилсилана был получен целевой лиганд **20** с фосфонатными хелатирующими группами.

1.2. Синтез полиаминных ациклических комплексонов

Следует отметить, что селективная защита первичных аминов в присутствии вторичных аминов является важной проблемой синтетической органической химии. Существует потребность в защитных группах, устойчивых либо в кислых, либо в щелочных условиях. Для синтеза полиаминных ациклических хелаторов первого типа мы разработали метод, включающий селективную защиту первичных аминов в присутствии вторичных, предложенная защитная группа устойчива в основных условиях. Синтез полиаминных лигандов, комбинирующих различные хелатирующие группы, включает четыре стадии: защиту терминальных аминогрупп полиаминов путем макроциклизации, введение заместителей во вторичные аминогруппы полученного амидного макроцикла, гидролиз амидных групп с разрушением макроцикла и введение второго типа заместителей в первичные аминогруппы.

Первые две стадии были представлены на схемах 2 и 3. Затем замещенные макроциклы **9-12** кипятили в 4М HCl, что приводило к гидролизу амидных групп и образованию ациклических лигандов **21-24** (Схема 4). Полученные ациклические соединения содержат незамещенные терминальные амины, что позволяет модифицировать структуру другим типом хелатирующих групп и получить комплексоны с комбинированными хелатирующими группами. Можно говорить, что в данном случае роль защитной группы выполняет амидопиридиновый фрагмент, который легко удаляется с помощью кислотного гидролиза с хорошим выходом. Соединения **21-24** были получены в виде гидрохлоридов с выходами 73%-79% и очищены с помощью перекристаллизации из смеси MeOH, MeCN и этилацетата.

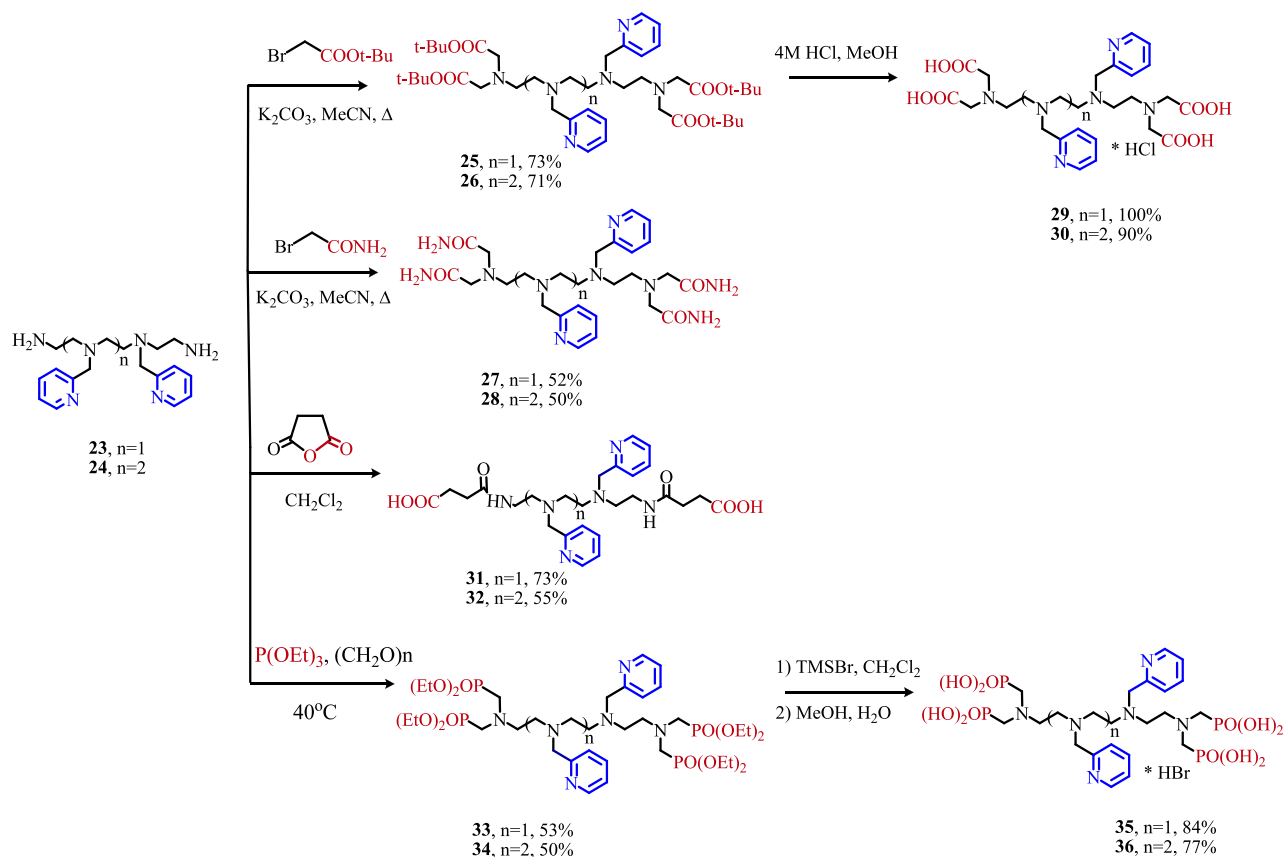
Схема 4



Для увеличения селективности хелаторов к различным типам катионов металлов нами было предложено в структуру соединений **23** и **24**, уже содержащих в составе пиридильные группы, ввести дополнительно карбоксильные, амидные, сукцинаматные и фосфонатные хелатирующие группы (Схема 5). Соединения **25** и **26** получали при алкилировании соединений **23** и **24** с помощью *трет*-бутилового эфира бромуксусной кислоты. Аналогично синтезировали лиганды **27** и **28** с использованием в качестве алкилирующего агента 2-бромацетамидом. Гидролиз *трет*-бутиловых эфиров соединений **25** и **26** в 4М HCl при комнатной температуре приводил к получению целевых лигандов **29** и **30** с количественными выходами. При этом при гидролизе *трет*-бутиловых эфиров с помощью кипячения в H₂O, как было показано ранее для макроциклических производных **7** и **8**, не удавалось выделить чистые продукты. Также не

удалось выделить продукты при проведении гидролиза при комнатной температуре в CF_3COOH . Ацилирование соединений **23** и **24** янтарным ангидридом приводило к получению хелаторов **31** и **32** с двумя сукцинаматными группами. Введение фосфонатных групп проводили по модифицированной реакции Кабачника-Филдса с использованием триэтилфосфита и параформальдегида. При гидролизе полученных этиловых эфиров **33** и **34** при кипячении в 4М HCl не удалось выделить чистые продукты. Однако по реакции МакКенны с использованием бромотриметилсилана были получены целевые фосфонатные хелаторы **35** и **36**.

Схема 5

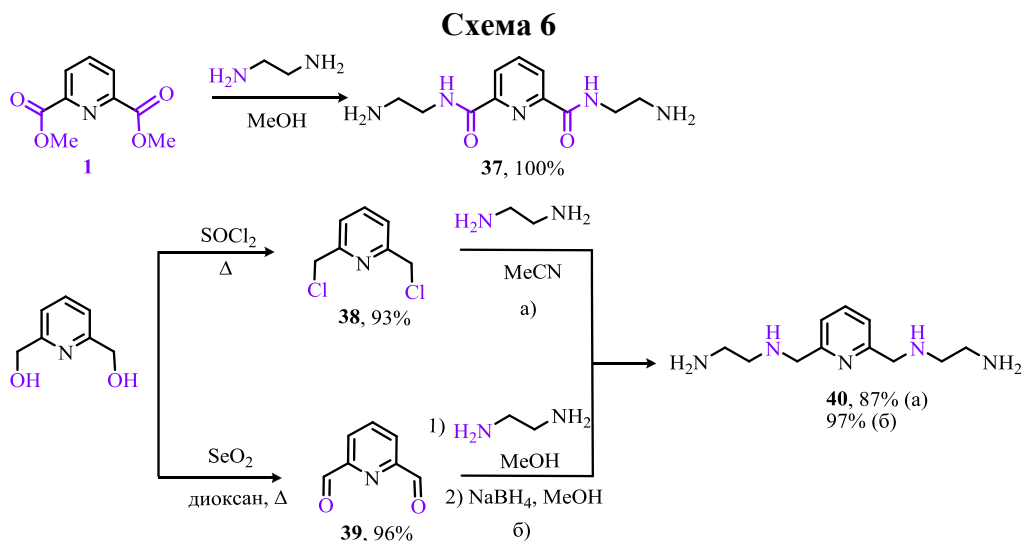


Таким образом, с помощью нового удобного и эффективного метода синтеза был получен ряд полиаминных лигандов, различающихся длиной цепи и типом хелатирующих групп. Амидопиридиновый фрагмент, используемый в качестве защитной группы, стабилен в основной среде, в которой вторичные аминогруппы макроцикла были модифицированы. Разработанный метод позволяет синтезировать хелаторы, содержащие в своей структуре несколько донорных групп различной природы, с высокими суммарными выходами. Еще одним преимуществом данного метода является возможность получения из одних и тех же азакраун-соединений одновременно ациклических и макроциклических лигандов. В результате был получен ряд ациклических полиаминных лигандов, сочетающих как жесткие, так и мягкие донорные атомы пиридинных, карбоксильных, сукцинаматных, амидных и фосфонатных хелатирующих групп.

1.3. Синтез пиридинсодержащих ациклических комплексонов

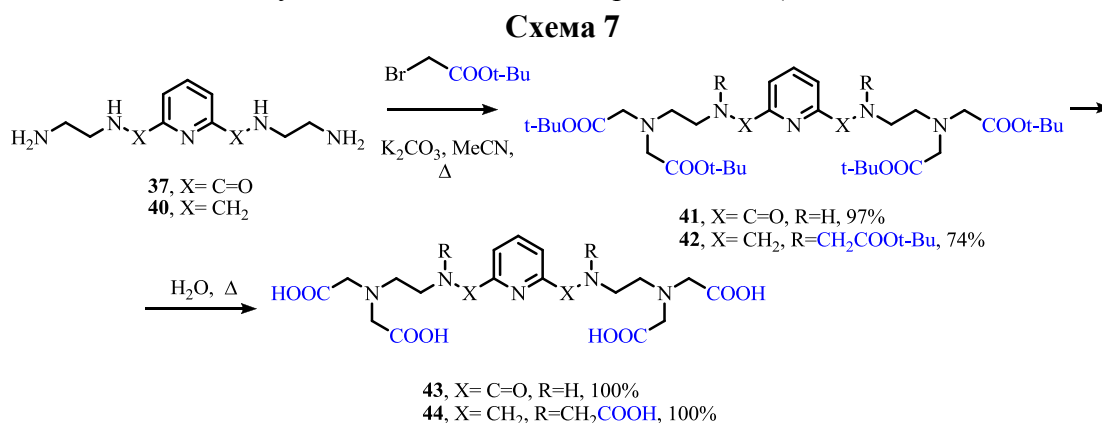
С целью увеличения структурной жесткости ациклических лигандов нами было предложено ввести в состав полиаминной цепочки пиридиновый цикл. Полученные пиридинсодержащие ациклические комплексоны сочетают в себе как жесткий, так и гибкие

фрагменты, что способствует быстрому комплексообразованию и лучшей подстройке лиганда под координационные характеристики катиона металла. Пиридинсодержащие полиамины получали с использованием этилендиамина и производных пиридина – диэфира **1**, дихлорида **38** и диальдегида **39**. Так, соединение **37** получали по реакции между ранее полученным диэфиром **1** и этилендиамином (Схема 6).



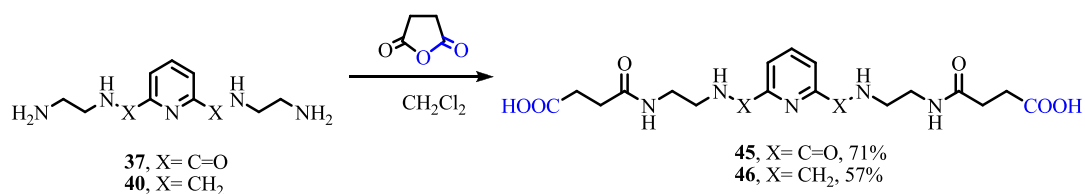
Этилендиамин брали в 40-кратном избытке для подавления протекания реакций олигомеризации и макроциклизации. Для получения соединения **40** по методу а) этилендиамин алкилировали 2,6-(дихлорметил)-пиридином **38**, полученным из соответствующего диола при кипячении в тионилхлориде. Альтернативным методом б) синтеза амина **40** является реакция восстановительного аминирования. Для этого 2,6-бис(гидроксиметил)пиридин окисляли диоксидом селена с получением диальдегида **39**, который при взаимодействии с этилендиамином давал основание Шиффа. На последней стадии имин восстанавливали боргидридом натрия (Схема 6). Преимуществом этого способа является отсутствие необходимости использования 40-кратного избытка высококипящего этилендиамина, который трудно отгоняется на роторном испарителе, а также более быстрое протекание реакции. Однако недостатком метода можно назвать трудность отделения продукта от неорганических примесей.

Далее в структуру полученных полиаминов **37** и **40** вводили хелатирующие заместители. Так, соединения **37** и **40** алкилировали *трет*-бутиловым эфиром бромуксусной кислоты при кипячении в ацетонитриле в присутствии основания, и *трет*-бутильные группы гидролизовали при кипячении в воде с получением целевых хелаторов **43** и **44** (Схема 7).



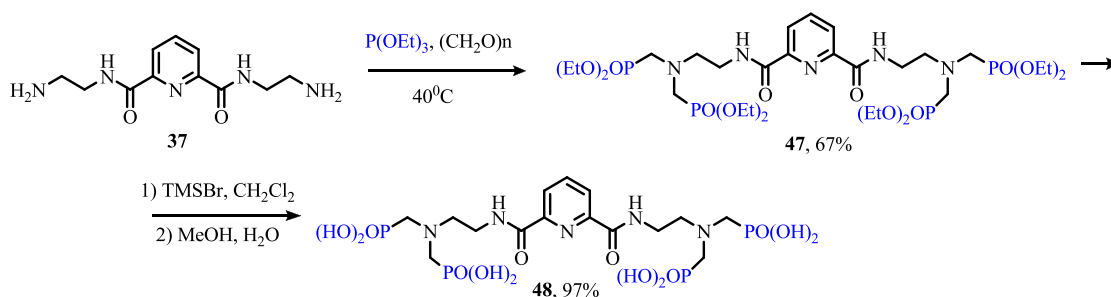
Кроме того, в структуру соединений **37** и **40** были введены по реакции ацилирования янтарным ангидридом при комнатной температуре сукцинаматные группы (Схема 8).

Схема 8



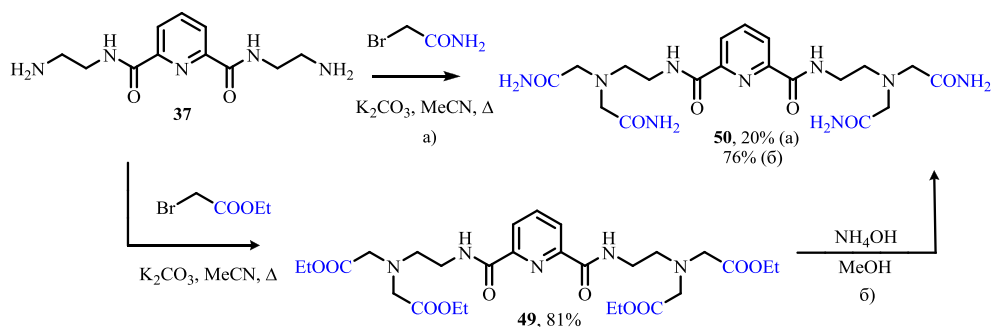
А по модифицированной реакции Кабачника-Филдса с использованием триэтилфосфита и параформальдегида с последующей реакцией МакКенны в **37** были введены фосфонатные группы с получением тетрафосфонатного лиганда **48** (Схема 9).

Схема 9



Амидные хелатирующие группы вводили двумя методами – по реакции N-алкилирования с помощью 2-бромацетамида и по реакции амидирования с помощью NH₄OH в метаноле. При проведении реакции алкилирования варьировались растворители, такие как MeCN, ДМФА, а также время реакции. Однако во всех случаях оказалось, что очистка продукта, полученного по реакции алкилирования, весьма затруднительна, что приводит к низким выходам продукта, в отличие от метода, использующего замещение этильной сложноэфирной группы на амидную группу (Схема 10). Получение этилового эфира **49** также протекает с высоким выходом и несложной очисткой. При этом при использовании *трет*-бутилового эфира **41** реакция амидирования не протекает, вероятно, из-за более донорных свойств *трет*-бутильной группы и стерических препятствий.

Схема 10

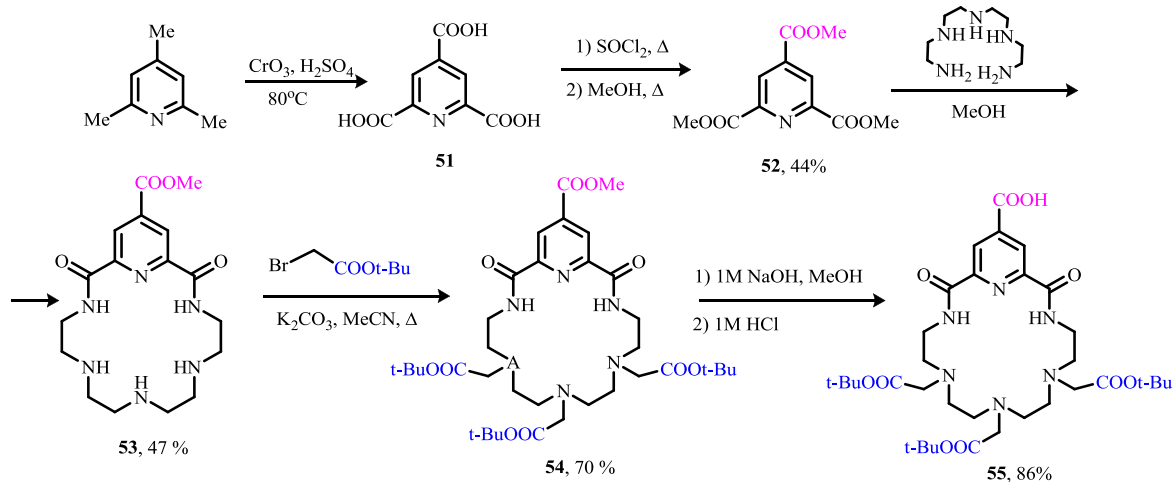


В результате была получена серия лигандов с различными хелатирующими группами, которые содержат жесткий пиридиновый фрагмент, обеспечивающий удобную платформу для дальнейшей функционализации для связывания с векторными молекулами, а также наличие предварительной организации молекулы для быстрого и прочного связывания катионов металлов.

1.4. Синтез бифункциональных комплексонов

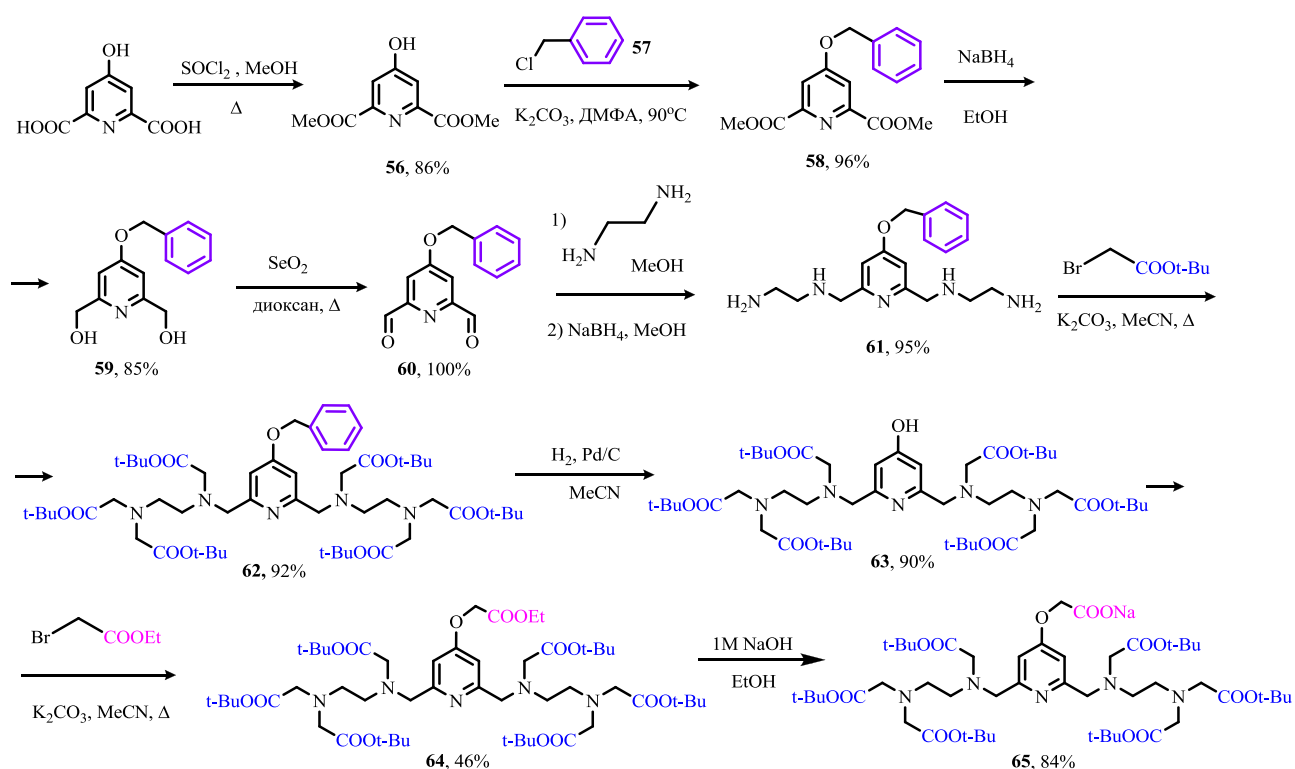
Синтез макроциклического бифункционального производного **55** начинали с коллидина, который окисляли оксидом хрома (VI) в серной кислоте. Далее полученную 2,4,6-пиридинтрикарбоновую кислоту **51** переводили в триметилловый эфир 2,4,6-пиридинтрикарбоновой кислоты **52** аналогично синтезу диэфира **1**. Затем проводили реакцию макроциклизации с образованием 18-членного макроцикла **53**. Хелатирующие группы вводили путем алкилирования аминогрупп макроцикла *tert*-бутиловым эфиром бромуксусной кислоты. На последней стадии проводили селективный гидролиз метильной сложноэфирной группы с получением целевого бифункционального комплексона **55** (Схема 11).

Схема 11



Для получения ациклического бифункционального хелатора **65** (Схема 12) в качестве исходного соединения использовалась хелидамовая кислота, которую путем последовательного кипячения в тионилхлориде и метаноле переводили в диэфир **56**.

Схема 12



Далее проводили реакцию О-алкилирования бензилхлоридом с целью защиты гидроксигруппы с последующим восстановлением сложноэфирных групп и их окислением до диальдегида **60**. Затем через получение основания Шиффа синтезировали соединение **61**, которое далее алкилировали *трет*-бутиловым эфиром бромуксусной кислоты. Бензильную защиту с производного **62** снимали с помощью водорода с использованием в качестве катализатора Pd/C, и полученное соединение **63** алкилировали этиловым эфиром бромуксусной кислоты. На последней стадии был проведен селективный гидролиз этильной сложноэфирной группы с получением целевого продукта **65**.

Таким образом, были получены два бифункциональных хелатора макроциклического и ациклического строения, содержащие функциональную группу, обеспечивающую возможность связывания хелатора с биомолекулой для создания таргетных радиофармпрепаратов.

2. Исследование комплексообразующих свойств лигандов

На следующем этапе работы были изучены комплексообразующие свойства лигандов для оценки возможности их применения как компонентов радиофармпрепаратов. Строение лиганда и тип хелатирующих групп влияют на устойчивость, стехиометрию комплекса и селективность к различным катионам металлов, так как необходимо соответствие природы и количества хелатирующих групп комплексона координационным требованиям конкретного изучаемого металла. Для исследования комплексообразующих свойств лигандов применялись такие методы как ЯМР-спектроскопия, масс-спектрометрия, потенциометрическое титрование, РСА, квантово-химические расчеты методом теории функционала электронной плотности (DFT-расчеты). Исследования проводили с катионами Ga^{3+} , Y^{3+} , Bi^{3+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} и Pb^{2+} . Выбор был обоснован важностью радиоактивных изотопов этих металлов для медицинских применений. Так, радиоизотоп ^{213}Bi является перспективным альфа-излучателем с коротким периодом полураспада для таргетных терапевтических препаратов, ^{67}Ga может быть применен для однофотонной эмиссионной компьютерной томографии. Многие радиоизотопы меди обладают ядерными свойствами (период полураспада, тип и энергия излучения), подходящими для использования в радиофармацевтических препаратах для диагностических или терапевтических целей. Короткоживущий радионуклид ^{68}Ga представляет собой изотоп, излучающий позитроны для возможности диагностической визуализации с помощью ПЭТ. (β -)излучатель ^{90}Y с более длительным периодом полураспада и более высокой энергией излучения позволяет лечить крупные опухоли и обеспечивать терапевтический эффект на соседние злокачественные новообразования на расстоянии до ~ 550 диаметров клеток. Изотоп ^{86}Y излучает β^+ частицы для ПЭТ и хорошо подходит для визуализации и дозиметрии перед терапией. Радиоактивный изотоп ^{212}Pb , который может быть получен из генератора ^{228}Th , распадается с испусканием β -частиц с образованием α -излучающего дочернего радионуклида ^{212}Bi , поэтому он крайне перспективен для применения в терапевтических целях. Парамагнитные комплексы Ni^{2+} представляют интерес для применения в диагностических целях в качестве контрастных агентов в магнитно-резонансной томографии (МРТ). ^{63}Zn с позитронным излучением может применяться в позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ), а ^{62}Zn ($T_{1/2} = 9,26$ ч) - для генерации *in vivo* короткоживущего ^{62}Cu .

2.1. Исследование комплексообразующих свойств пиколинатных лигандов

Среди хелатирующих заместителей интересно изучение свойств пиколинатных групп, которые сочетают в себе как «жесткие» кислородные донорные атомы, так и более «мягкие»

пиридиновые атомы азота. Комплексообразование макроциклических и ациклических лигандов с пиколинатными хелатирующими группами было изучено с катионами Cu^{2+} и Bi^{3+} .

Образование целевых комплексов катионов висмута(III) и меди(II) с лигандами **17**, **18**, **21**, **22** было доказано с помощью ИЭР масс-спектрометрии. Во всех случаях как для макроциклических, так и для ациклических лигандов в масс-спектрах наблюдались сигналы, соответствующие комплексам состава 1:1. Кроме того, для ациклического лиганда **22** и макроциклического **18**, помимо комплекса 1:1, наблюдался медный комплекс со стехиометрическим соотношением металл-лиганд 2:1.

Методом потенциометрического титрования были получены константы устойчивости комплексов для макроциклических и ациклических лигандов **17**, **18**, **21**, **22** с Cu^{2+} и Bi^{3+} в водных растворах. Также определение констант устойчивости проводили методом жидкостной экстракции раствором Д2ЭГФК, который оказался более информативным, поскольку при его проведении не наблюдалось выпадение осадка гидроксокомплексов металла (Таблица 1). В растворе регистрировали образование частиц LM^{n+} и их гидроксильной и протонированной форм (в Таблице 1 значения констант подобных форм комплексов не приведены). Наличие множества сильноосновных центров у лигандов определяет связывание катионов даже протонированными формами лигандов.

Продемонстрировано, что константы устойчивости комплексов Cu^{2+} и Bi^{3+} выше с ациклическими лигандами, чем с макроциклическими, при этом самый термодинамически устойчивый комплекс наблюдается для ациклического лиганда **22** с Bi^{3+} ($\log K=28.4$).

Таблица 1¹ – Константы устойчивости комплексов лигандов **17**, **18**, **21**, **22** с катионами Cu^{2+} и Bi^{3+} (Т = 25.0 °С; I = 0.10 моль/л).

Состав комплекса	logK			
	17	18	21	22
LCu	10.4	14.8	17.8	17.9
LBi	-	20.0	-	27.7
LBi*	13.6	19.6	25.6	28.4

* константы устойчивости, полученные методом жидкостной экстракции

Так как биядерные формы комплекса **18** с Cu^{2+} были зафиксированы методами масс-спектрометрии, было проведено спектрофотометрическое титрование **18** при pH 3,5 и избытке Cu^{2+} , которое доказывает существование комплексов как со стехиометрическим соотношением $\text{Cu}^{2+}:\mathbf{18}=1:1$, так и $\text{Cu}^{2+}:\mathbf{18}=2:1$ ². Обработка полученных данных с помощью программы SpecFit32 с учетом значения константы устойчивости для комплекса 1:1 из результатов потенциометрического титрования подтвердила образование формы $\mathbf{18}\cdot(\text{Cu}^{2+})_2$. Аналогично, спектрофотометрическое титрование раствора, содержащего Cu^{2+} , при pH 2.5 водным раствором лиганда **22** показало последовательное образование комплексов с соотношением $\text{Cu}^{2+}:\mathbf{22}=2:1$ и $\text{Cu}^{2+}:\mathbf{22}=1:1$.

С помощью ¹H-ЯМР-спектроскопии в тяжелой воде было изучено образование комплексов с катионом висмута. Во всех спектрах висмутовых комплексов лигандов **17**, **18**, **21**,

¹ Здесь и далее экспериментальные данные по потенциометрическому титрованию получены на кафедре радиохимии МГУ им. М.В. Ломоносова

² Экспериментальные данные получены на кафедре радиохимии МГУ им. М.В. Ломоносова

22 происходят значительные изменения по сравнению со спектрами исходных лигандов. Например, в спектре комплекса лиганда **22** с Bi^{3+} геминальные протоны алифатической цепочки и метиленовые протоны пиколинатных групп H_5 и H_6 становятся магнитно неэквивалентными и проявляются в виде отдельных сигналов – происходит диастереотопное расщепление сигналов протонов (Рис. 2). Сигналы протонов пиколинатных групп смещаются в слабое поле, что вызвано акцепторным эффектом иона металла. В ароматической и алифатической части наблюдается увеличение количества сигналов по сравнению со свободным лигандом, при этом сигналы комплекса хорошо разрешены, поэтому можно предположить образование комплекса несимметричного строения с жестко фиксированным катионом металла. Полученные результаты свидетельствуют об участии всех гетероатомов лиганда в координации Bi^{3+} .

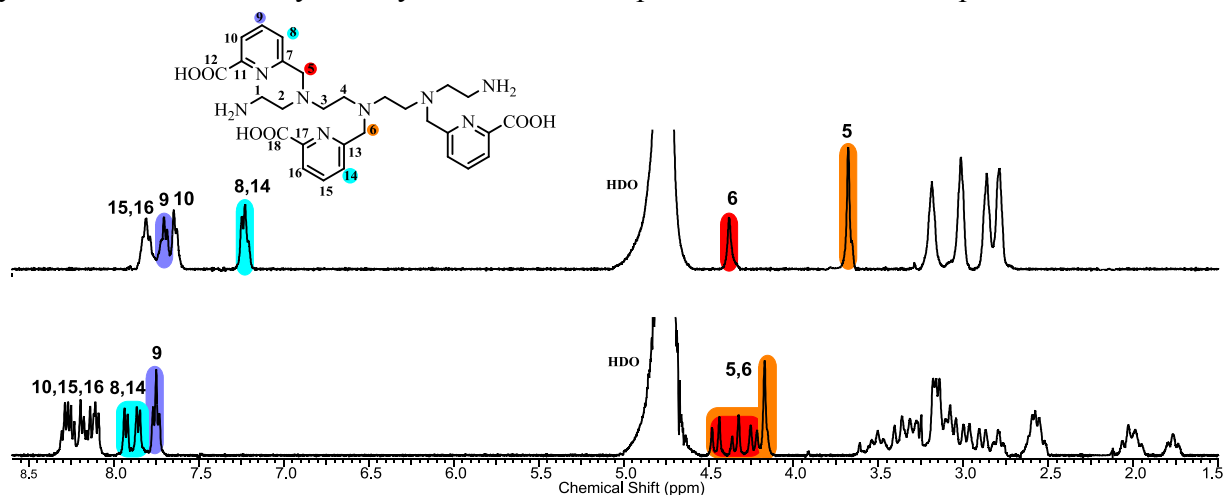


Рисунок 2 – ^1H ЯМР спектр свободного лиганда **22** ($\text{pH}=5.6$) и его комплекса с Bi^{3+} ($\text{pH}=5.5$) в D_2O .

Анализ ЯМР-спектров позволил предположить следующие структуры образующихся комплексов лигандов **17**, **18**, **21**, **22** с Bi^{3+} (Рис. 3). Согласно данным ЯМР не наблюдается участие атома азота пиридина макроциклических лигандов **17** и **18** в комплексообразовании, в то время как атомы азота пиколинатных групп как макроциклических, так и ациклических лигандов участвуют в координации катиона Bi^{3+} .

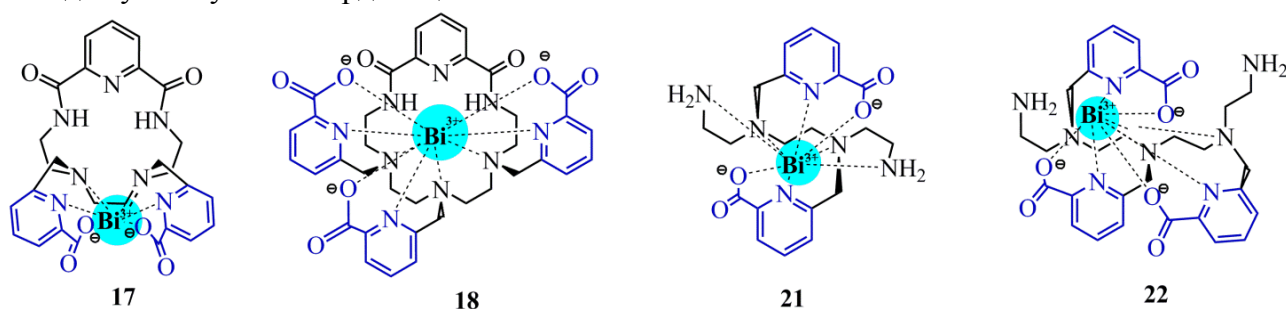


Рисунок 3 – Предполагаемые структуры висмутовых комплексов.

Структура комплекса $\mathbf{18} \cdot (\text{Cu}^{2+})_2$ проанализирована методом РСА (Рис. 4), в ее составе присутствуют две молекулы воды, координированные с одним из атомов металла, и перхлорат в качестве противоиона. Оба катиона в комплексе характеризуются внешней координацией. Один катион меди связывается лигандом с помощью соседних пиколинатных групп и двух аминогрупп макроцикла, формируя шесть связей, две из которых ионные. Координационный полиэдр одного из катионов меди $\text{Cu}^{2+}(1)$ представляет собой искаженный октаэдр, все шесть позиций которого заняты гетероатомами лиганда. В связывании Cu^{2+} принимают участие две

пиколинатные и две аминогруппы. Второй катион меди координируется оставшейся пиколинатной группой и соединенной с ней аминогруппой. Координационный полиэдр катиона Cu^{2+} (2) принимает искаженное квадратно-пирамидальное окружение.

Был получен монокристалл ациклического лиганда **21** с катионом Cu^{2+} (Рис. 4). В этой структуре концевые аминогруппы не участвуют в координации катиона. В результате образуется комплекс состава 1:1, а кристалл $(\mathbf{21})_2 \cdot (\text{Cu}^{2+})_4$ представляет собой агрегат, лежащий на кристаллографическом центре инверсии.

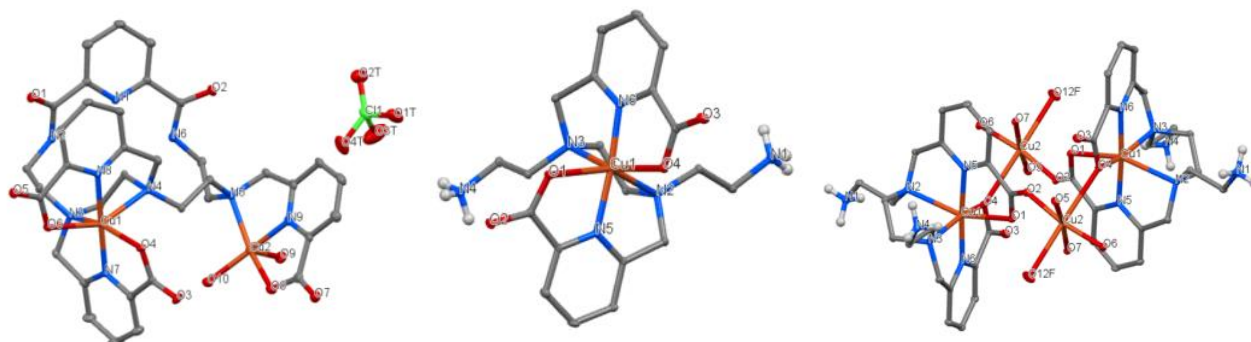


Рисунок 4 – Кристаллическая структура комплексов $\mathbf{18} \cdot (\text{Cu}^{2+})_2$, $\mathbf{21} \cdot (\text{Cu}^{2+})$ и агрегата $(\mathbf{21})_2 \cdot (\text{Cu}^{2+})_4$.

Для оценки устойчивости комплексов лигандов **17**, **18**, **21**, **22** с катионами Cu^{2+} и Bi^{3+} в биологических средах проводились исследования *in vitro* в избытке белков фетальной бычьей сыворотки (ФБС).³ На рисунке 5 показана устойчивость комплексов радионуклида ^{64}Cu в растворе сывороточных белков. За 2 часа комплексы лигандов **17**, **21** и **22** потеряли более 70% радионуклида, в то время как из комплекса $\mathbf{18} \cdot [^{64}\text{Cu}]\text{Cu}$ диссоциировало только 30% катиона меди. Таким образом, несмотря на расположение катиона вне полости макроцикла в комплексе $\mathbf{18} \cdot \text{Cu}^{2+}$, его жесткое окружение обеспечивает достаточно сильное экранирование от окружающих конкурентов и препятствует перехелатированию радионуклида. При оценке устойчивости *in vitro* комплексов **18** и **22** с Bi^{3+} также показано перехелатирование катиона металла сывороточными белками. Оба комплекса легко диссоциируют в 100-кратном избытке ФБС, и примерно 80% Bi^{3+} уже через полчаса хелатируется белками (Рис.5).

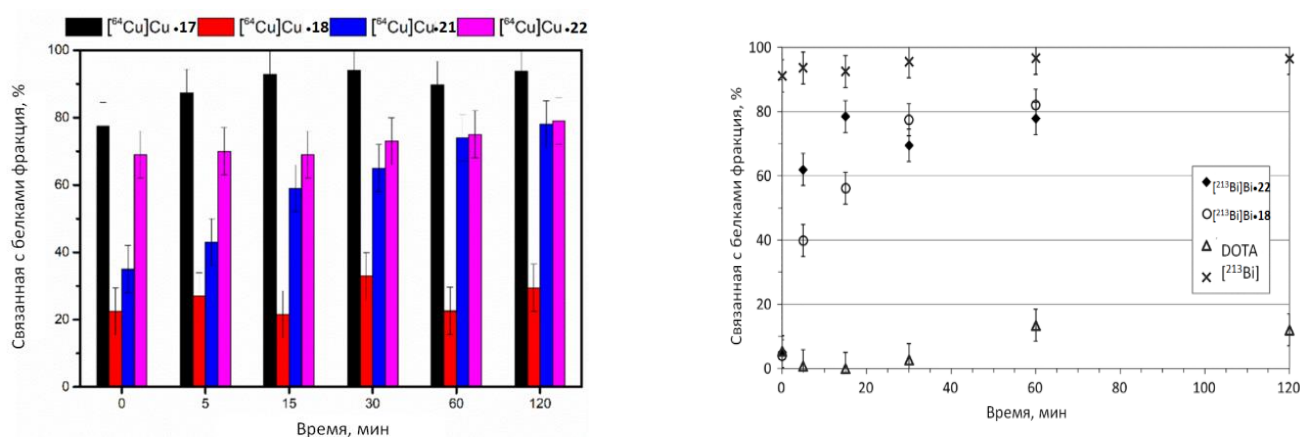


Рисунок 5 – Сравнение устойчивости комплексов ациклических и макроциклических лигандов **17**, **18**, **21**, **22** с Cu^{2+} и с Bi^{3+} в избытке сывороточных белков.

³ Экспериментальные данные получены на кафедре радиохимии МГУ им. М.В. Ломоносова

Таким образом, несмотря на высокие термодинамические константы устойчивости, комплексы ациклических полиаминных хелаторов с пиколинными хелатирующими группами оказались неустойчивы в условиях, приближенных к биологическим, что коррелирует с известной тенденцией линейных хелаторов. В случае макроциклического хелатора **18** даже наличие внешней координации в медном комплексе **18** обеспечивает достаточно прочное связывание катиона металла.

2.2. Исследование комплексообразующих свойств ацетатных лигандов

Комплексообразование ациклических лигандов **43** и **44**, содержащих карбоксильные группы, изучалось с катионами Cu^{2+} , Bi^{3+} , Ga^{3+} и Y^{3+} . Методом МАЛДИ масс-спектрометрии проанализирован состав образующихся комплексов. Показано, что оба лиганда **43** и **44** образуют комплексы с рассматриваемыми катионами металлов Cu^{2+} , Bi^{3+} , Ga^{3+} и Y^{3+} . При этом в случае лиганда **43** с Bi^{3+} , Ga^{3+} и Y^{3+} и лиганда **44** с Bi^{3+} и Y^{3+} зафиксировано образование только мооядерных комплексов. В случае медных комплексов для обоих лигандов **43** и **44** помимо мооядерных комплексов образуются также биядерные. Кроме того для **44** при добавлении катиона галлия к раствору лиганда в масс-спектре был обнаружен только комплекс состава металл-лиганд 2:1, что можно объяснить малым координационным числом катиона галлия ($\text{KЧ}=6$) и большим количеством донорных групп лиганда.

С помощью ВЭЖХ подтверждено образование комплексов **44** с ионами Ga^{3+} , Y^{3+} , Bi^{3+} и Cu^{2+} . Анализ данных ВЭЖХ комплекса **44** с Ga^{3+} показал наличие в растворе трех форм комплекса (Рис.6). В случае комплекса с Y^{3+} наблюдается пик основного комплекса, а также образование дополнительных комплексов. При добавлении Bi^{3+} и Cu^{2+} к раствору лиганда наблюдается только один пик, соответствующий единственному комплексу в растворе. Результаты ВЭЖХ для растворов лиганда **43** подтверждают образование единственного комплекса **43** с Ga^{3+} , Bi^{3+} и Y^{3+} . В случае с Cu^{2+} наблюдается образование нескольких комплексов, вероятно, различного состава.

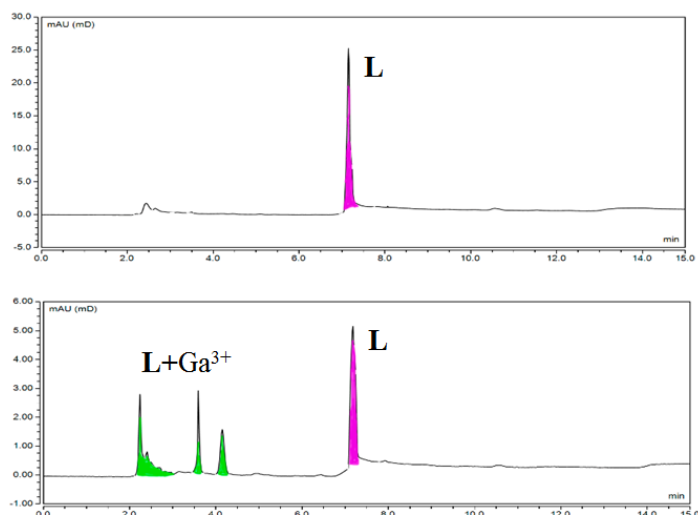


Рисунок 6 – Хроматограммы ВЭЖХ свободного лиганда **44** ($t_r=7.152$ мин) и его комплексов с Ga^{3+} ($t_r=2.240, 3.612, 4.213$ мин).

Методом потенциометрического титрования были оценены константы устойчивости комплексов ациклических хелаторов **43** и **44** в сравнении с их макроциклическими аналогами **15** и **16** с катионами Cu^{2+} , Ga^{3+} , Y^{3+} и Bi^{3+} (Таблица 2).

Таблица 2 – Константы устойчивости комплексов лигандов **15**, **16**, **43**, **44** с катионами Cu^{2+} , Bi^{3+} , Y^{3+} и Ga^{3+} ($T = 25.0\text{ }^\circ\text{C}$; $I = 0.10$ моль/л).

Катион	Состав комплекса	logK			
		43	44	15	16
Cu^{2+}	LCu	15.0	-	11.2	15.8
	LCu₂	-	28.2	-	-
Bi^{3+}	LBi	28.8	29.1	16.4	21.3
Y^{3+}	LY	8.9	15.1	5.5	6.9
Ga^{3+}	LGa	19.5	27.4	*	*
	LGa₂	-	51.7		

*не исследовалось

Данные констант устойчивости комплексов (Таблица 2) демонстрируют, что наиболее термодинамически устойчивые комплексы образуются с катионом Bi^{3+} , при этом константы устойчивости для ациклических лигандов на несколько порядков выше, чем для макроциклических, аналогично ранее обсуждаемым константам пиколинатных лигандов. В случае катионов металлов меньшего размера Ga^{3+} и Cu^{2+} для гексаацетатного лиганда **44** также обнаружены биядерные комплексы, что согласуется с данными масс-спектрометрии. В остальных случаях были зафиксированы только моноядерные комплексы. Наиболее устойчивые комплексы образует ациклический лиганд **44** ($\log K (\text{LBi}) = 29.1$).

В работе методом ^1H ЯМР-спектроскопии было изучено комплексообразование **43**, **44** с катионами Bi^{3+} , Y^{3+} и Ga^{3+} . В качестве примера приведены результаты исследования комплексообразования лиганда **44** (Рис.7). Добавление иона Y^{3+} к раствору лиганда **44** в D_2O вызывает диастереотопное расщепление метиленовых протонов. В результате шесть сигналов протонов в алифатической области свободного лиганда дают двенадцать неэквивалентных сигналов протонов, которые соответствуют C_2 -симметрии комплекса в растворе. Спектр ЯМР ^1H комплекса **44**• Y^{3+} хорошо разрешен, что указывает на присутствие в растворе единственного комплекса с жесткой структурой. Анализ спектра комплекса **44** с Bi^{3+} показал сочетание сдвигов сигналов в слабое и сильное поле по сравнению со спектром исходного лиганда, что вызвано поляризационным эффектом иона металла и экранирующим эффектом карбонильных групп. При этом протон H_1 пиридинового кольца и протоны H_{4e} и H_{4a} полиаминной цепи претерпевают значительные сдвиги в область более высоких частот. Сигналы протонов H_7 и H_{11} четырех метиленовых групп подвергаются расщеплению с образованием дублетных сигналов вместо синглетного. Синглетные сигналы метиленовых протонов оставшихся двух CH_2 -групп не расщепляются, а проявляются в виде двух синглетов H_9 и H_9' из-за разного магнитного окружения. Можно предположить, что образование комплекса достигается за счет координации четырех из шести карбоксильных групп и азота пиридина. Ионный радиус Ga^{3+} (0.47-62 Å, КЧ=4-6) значительно меньше ионных радиусов Bi^{3+} (0.96-1.17 Å, КЧ=5-8) и Y^{3+} (0.9-1.075 Å, КЧ=6-9), поэтому можно ожидать образования комплексов различного состава. Действительно, добавление хлорида галлия к раствору **44** приводило к сложному спектру, что связано с присутствием в растворе нескольких частиц, что подтверждают данные ВЭЖХ (Рис. 6) и масс-спектрометрии.

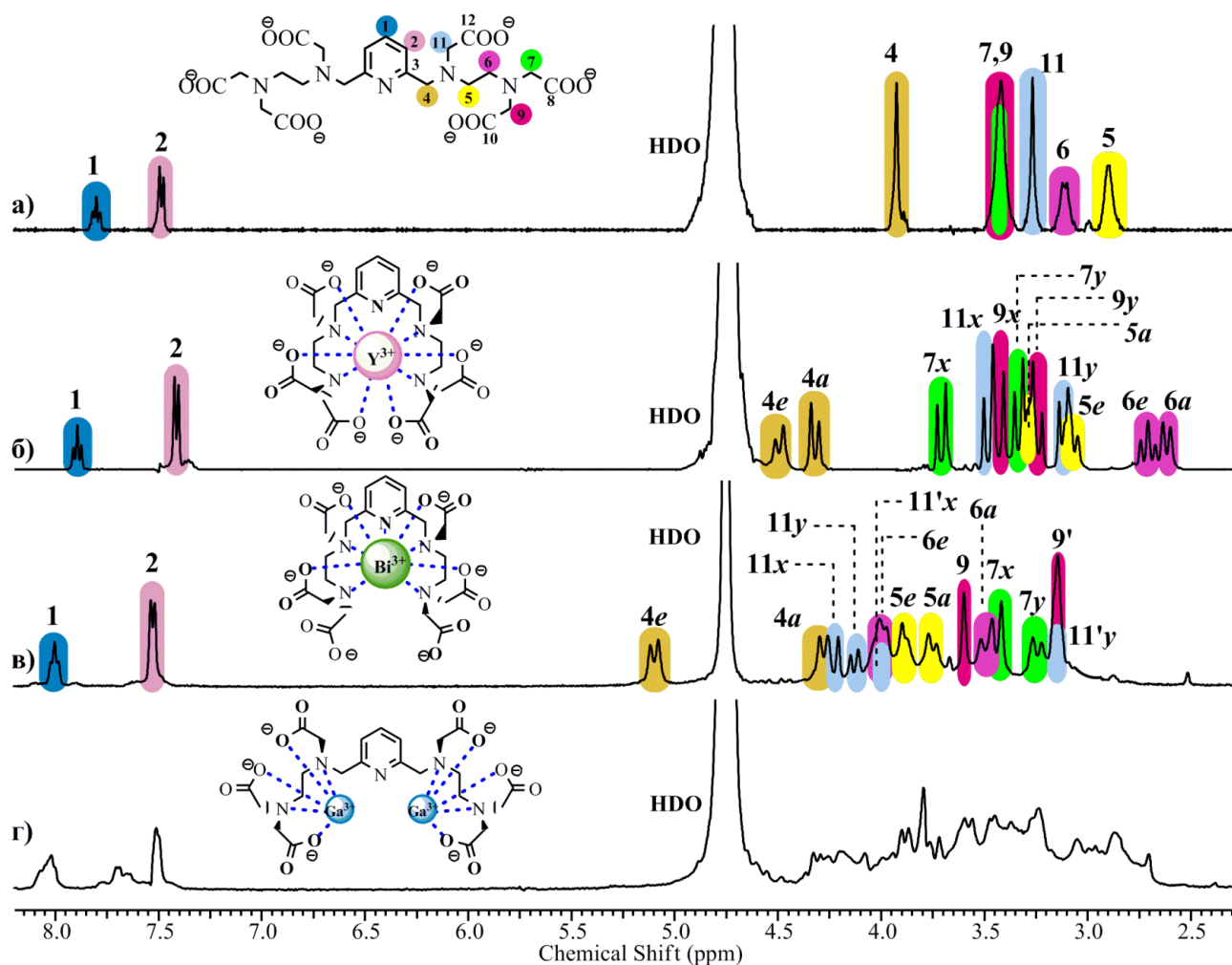


Рисунок 7 – ^1H ЯМР спектр свободного лиганда **44** (pH=9.9) (а) и его комплексов с Y^{3+} (pH=7.2) (б), Bi^{3+} (pH=7.1) (в), Ga^{3+} (pH=6.3) (г) в D_2O .

С помощью квантово-химических расчетов методом теории функционала электронной плотности (DFT) предложена структура комплексов **43** и **44** с Cu^{2+} (Рис.8)⁴. В структуре комплекса **43**• Cu^{2+} , рассчитанной методом DFT, все четыре ацетатных группы и один из третичных аминов участвуют в координации с катионом металла, образуя искаженное квадратно-пирамидальное окружение. В структуре комплекса **44**•(Cu^{2+})₂ каждое лигандное «плечо» связывает катион за счет трех ацетатных групп и двух аминогрупп.

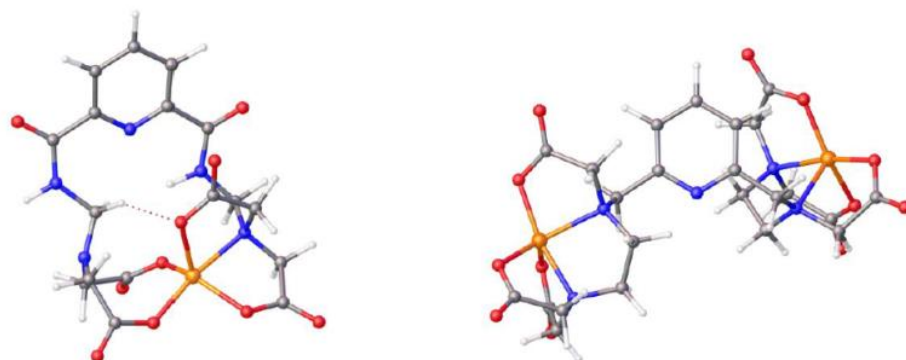


Рисунок 8 – Оптимизированные методом DFT структуры **43**• Cu^{2+} (слева) и **44**•(Cu^{2+})₂ (справа).

⁴ Расчеты выполнены сотрудником МГУ к.х.н. Митрофановым А.А.

При изучении устойчивости комплексов в присутствии сывороточных белков⁵ (Рис.9) показано, что для хелатора **43** только комплекс с ^{68}Ga остается стабильным в течение двух часов, тогда как комплексы с $^{88,90}\text{Y}$ и ^{207}Bi быстро диссоциируют в присутствии сывороточных белков. В случае комплексов обоих хелаторов с ^{64}Cu наблюдалось быстрое высвобождение катиона меди в первые минуты инкубации в сыворотке за счет перехелатирования. Комплекс **44** с Y^{3+} показал хорошую стабильность: 79% комплекса остается в избытке сывороточных белков после суток инкубации. Ион Ga^{3+} слишком мал для хелатора **44**, поэтому существует тенденция к образованию с ним полиядерных комплексов, что подтверждено рядом методов. А в случае комплекса с висмутом 98,8% **44**· ^{207}Bi]Bi сохраняется даже после 8 дней инкубации. Хотя в комплексе **44**· Bi^{3+} в хелатировании участвуют только четыре из шести карбоксильных групп, этот комплекс демонстрирует высокую стабильность. По-видимому, важную роль в прочном связывании катиона висмута лигандом **44** играют пиридин и близкие к нему ацетаты.

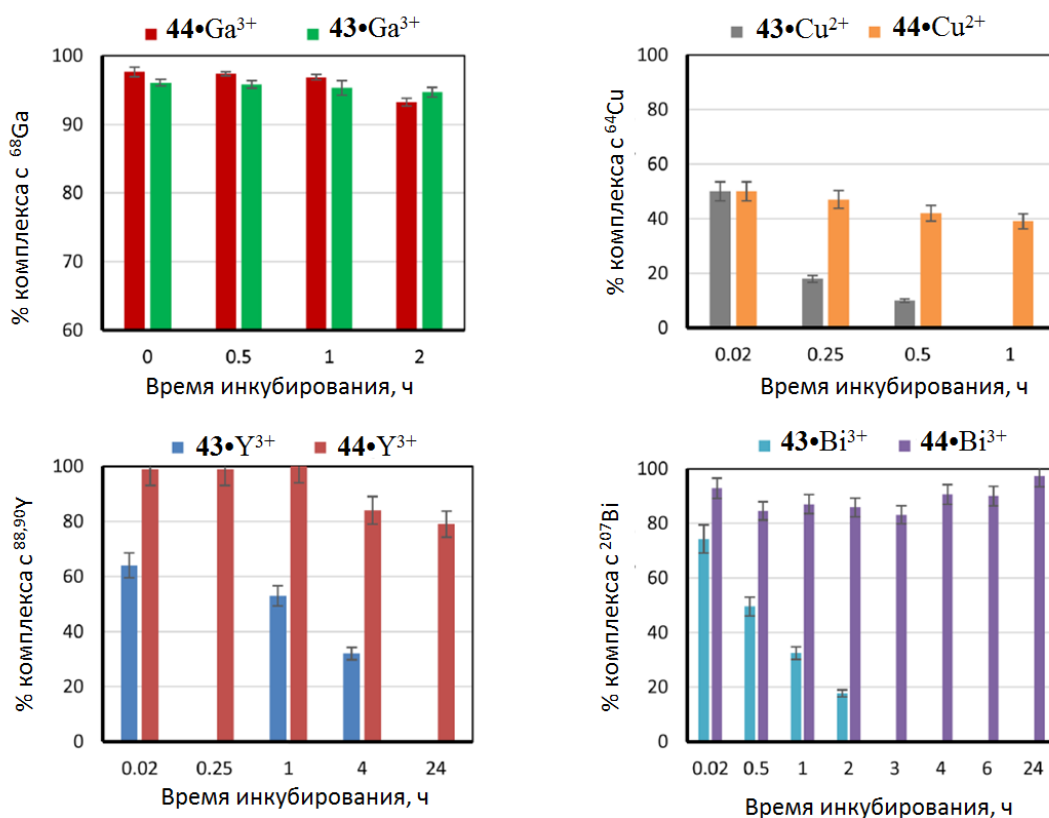


Рисунок 9 – Сравнение устойчивости комплексов лигандов **43**, **44** в избытке сывороточных белков.

В результате исследований было показано, что наличие жесткого фрагмента в структуре ациклических лигандов обеспечивает большую устойчивость образуемых комплексов по сравнению с полиаминными хелаторами. Лидером среди исследованных лигандов является лиганд **44**, он сочетает в себе как преимущества макроциклов за счет предорганизованной структуры благодаря наличию фрагмента пиридина, так и ациклических лигандов за счет конформационной подвижности. Учитывая, что радиоактивное мечение этого хелатора при комнатной температуре занимает несколько минут, то его комплексы с $^{88,90}\text{Y}$, ^{207}Bi и ^{68}Ga перспективны для дальнейших биологических исследований на лабораторных животных для оценки этих соединений для использования в радиофармацевтических препаратах.

⁵ Экспериментальные данные получены на кафедре радиохимии МГУ им. М.В. Ломоносова и в ФМБЦ им. А.И. Бурназяна

2.3. Исследование комплексообразующих свойств ацетамидных лигандов

Было проведено сравнение между макроциклическими и ациклическими хелаторами **13**, **14** и **50**, содержащими ацетамидные хелатирующие группы. Комплексообразование лигандов **13**, **14** и **50** изучали с такими катионами металлов, как Pb^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} и Zn^{2+} , поскольку известно, что ацетамидные группы имеют сродство к хелатированию данных катионов металлов. Все лиганды содержат бисамидопиридиновый фрагмент, но отличаются количеством хелатирующих групп, кроме того, макроциклы различаются размером полости. Методом масс-спектрометрии ИЭР были зафиксированы моноядерные комплексы макроциклического лиганда **14** с Pb^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} и Zn^{2+} . Однако для растворов макроциклического лиганда меньшего размера **13** при добавлении катиона Pb^{2+} в масс-спектре был зафиксирован только исходный лиганд, а при добавлении катионов Zn^{2+} , Ni^{2+} и Cu^{2+} были зафиксированы комплексы со стехиометрическим соотношением 1:1. В случае же ациклического лиганда **50** методом масс-спектрометрии не удалось зафиксировать комплекс с катионом Pb^{2+} , видимо, вследствие его низкой устойчивости в условиях масс-спектрального анализа. Методом ВЭЖХ были получены данные времени удерживания на колонке свободного лиганда **14** и его комплексов с цинком и никелем, подтверждающие образование комплексов.

С помощью потенциометрического титрования определены константы протонирования лигандов **13**, **14** и **50** и устойчивости их комплексов с катионом свинца (Таблица 3). Самые термодинамически устойчивые комплексы с катионом свинца образует макроциклический лиганд **14** ($\log K = 9.8$). При этом для макроцикла меньшего размера **13** методом потенциометрического титрования не было зафиксировано комплексов какого-либо состава, что согласуется с данными масс-спектрометрии.

Таблица 3 – Константы устойчивости комплексов лигандов **13**, **14** и **50** с Pb^{2+} ($T = 25.0\text{ }^\circ\text{C}$; $I = 0.10$ моль/л).

Лиганд	logK		
	13	14	50
LPb	-	9.8	7.9

В работе с помощью ^1H ЯМР-спектроскопии проводилось изучение структуры комплексов **13**, **14** и **50** в водном растворе. Показано образование комплексов с Pb^{2+} для **14** и **50**, при этом для лиганда **13** не наблюдается связывания катиона. Однако при добавлении катиона Zn^{2+} к раствору лиганда **13** происходит значительное изменение вида сигналов спектра исходного лиганда, свидетельствующее об образовании комплекса. Кроме того, показано образование комплексов макроциклического лиганда **14** с Zn^{2+} и Ni^{2+} .

Методом РСА были изучены монокристаллы лиганда **13** и его комплексов с катионами Pb^{2+} и Cu^{2+} (Рис.10), а также комплексов **14** с Pb^{2+} , Ni^{2+} и Zn^{2+} (Рис.11). Результаты исследований свободного лиганда **13** показали формирование открытой предорганизованной к комплексообразованию макроциклической полости, при этом хелатирующие группы располагаются по разные стороны от плоскости макроцикла, что указывает на предорганизованность лиганда к связыванию катиона металла. Координация катиона Pb^{2+} в комплексе происходит вне макроциклической полости за счет двух аминогрупп краун-соединения и атомов кислорода ацетамидных заместителей. Однако в случае меньшего по размеру катиона Cu^{2+} образуется инклюзивный комплекс, а в связывании катиона меди принимают участие две аминогруппы макроцикла, две ацетамидные группы и, вероятно, атом

азота амидопиридинового фрагмента и пиридиновый атом азота. При этом хелатирующие группы расположены по обе стороны макроциклической полости, как и в случае свободного макроцикла, таким образом полностью инкапсулируя катион Cu^{2+} . В данном случае благодаря малому размеру Cu^{2+} (0.73 Å) в отличие от Pb^{2+} (1.19 Å) возможно образование комплекса в полости макроцикла при участии атома азота пиридина, что должно приводить к большей устойчивости образуемых комплексов. Можно предположить, в случае катиона Zn^{2+} с радиусом иона (0.74 Å), схожим с Cu^{2+} , образование инклюзивного комплекса. Поэтому полость макроцикла **13** подходит для связывания малых катионов металлов, что согласуется с данными масс-спектрометрии и ЯМР-спектроскопии.

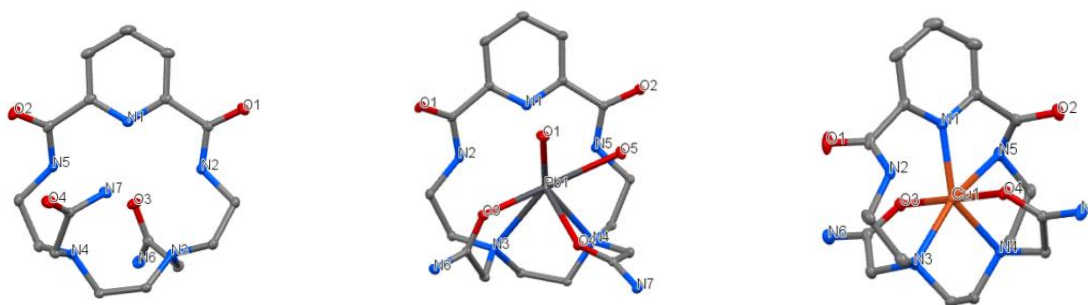


Рисунок 10 – Кристаллическая структура лиганда **13**, комплексов **13**• Pb^{2+} и **13**• Cu^{2+} .

В случае комплекса **14**• Pb^{2+} аналогично комплексу **13**• Pb^{2+} образуется комплекс с внешней координацией. Катион Pb^{2+} связывают три аминогруппы макроцикла, три атома O амидных хелатирующих групп, а завершает координацию атом O молекулы воды. Результаты РСА хорошо согласуются с данными ЯМР спектроскопии комплекса **14**• Pb^{2+} . Данный лиганд по сравнению с **13** больше удовлетворяет координационным требованиям Pb^{2+} . Структура комплекса **14**• Zn^{2+} представляет собой искаженный октаэдр, в котором все шесть вершин заняты гетероатомами лиганда. В отличие от катиона свинца катион цинка находится в полости макроцикла. При этом атом азота пиридина участия в координации катиона Zn^{2+} не принимает. Схожая картина наблюдается для комплекса **14**• Ni^{2+} . Координационный полиэдр **14**• Ni^{2+} также представляет собой искаженный октаэдр, в котором связывание катиона металла происходит в макроциклической полости. Координация Ni^{2+} происходит за счет аминогрупп макроцикла и атомов кислорода ацетамидных хелатирующих групп (Рис.11).

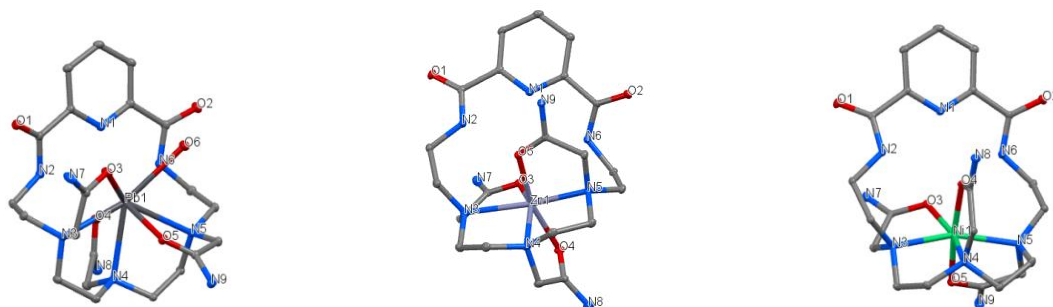


Рисунок 11 – Кристаллическая структура комплексов **14**• Pb^{2+} , **14**• Zn^{2+} и **14**• Ni^{2+} .

В результате проведенных исследований комплексообразования синтезированных лигандов можно сделать следующие выводы. Все синтезированные в этой работе лиганды **13**, **14**, **17**, **18**, **21**, **22**, **43**, **44**, **50** сочетают в своем составе гибкие полиаминные цепочки и жесткие пиридиновые или пиколиновые фрагменты. Такое сочетание придает некоторую жесткость лигандам, обеспечивая быстрое протекание комплексообразования при комнатной температуре, а наличие гибкого фрагмента обеспечивает адаптацию лиганда к координационным

характеристикам катиона металла. Для получения комплексов с высокой термодинамической устойчивостью необходимо соответствие структуры хелатора характеристикам металла – координационным числам и координационному полиэдру. Установлено, что хелаторы, содержащие в своем составе амидные, не участвующие в координации с катионом металла, фрагменты, имеют меньше координационных центров и, как следствие, более низкие значения констант комплексообразования.

Макроциклический эффект, как принято считать, вносит существенный вклад в стабилизацию комплекса. Однако, по нашим данным, это проявляется в случае, когда макроциклическая организация лиганда соответствует координационным характеристикам катиона металла. Так, в наших исследованиях согласно полученным данным, макроциклические хелаторы **17** и **18** демонстрируют значительно более низкие значения констант устойчивости комплексов с катионами Vi^{3+} по сравнению с ациклическими лигандами **21** и **22**, содержащими аналогичное количество пиколинатных хелатирующих групп. В то же время, макроциклический ацетамидный лиганд **14** демонстрирует константу связывания с катионами Pb^{2+} выше, чем ациклический лиганд **50**, у которого на одну ацетамидную группу больше.

При анализе устойчивости комплексов в биологической среде, т.е. анализе кинетической инертности, можно отметить, что не всегда высокая термодинамическая стабильность комплексов обеспечивает их кинетическую инертность. Если сравнить данные по устойчивости комплексов с Cu^{2+} в среде альбумина, то становится ясно, что несмотря на относительно невысокую константу комплексообразования по сравнению с другими аналогичными исследованными лигандами **17**, **21** и **22**, лиганд **18** демонстрирует лучшую кинетическую инертность, видимо, в результате лучшей инкапсуляции катиона и меньшей возможности его атаки со стороны конкурирующих биологических лигандов. В то же время катионы Y^{3+} , Vi^{3+} и Ga^{3+} образуют наиболее прочные комплексы с ациклическим лигандом **44**, эти же комплексы демонстрируют высокую кинетическую инертность в биологической среде.

3. Бифункциональные хелаторы как компоненты радиофармпрепаратов⁶

Меченые наночастицы могут использоваться для радионуклидной диагностики и терапии. Малый размер наночастиц позволяет им проходить через клеточные мембраны и доставлять радиофармпрепарат ближе к ядру опухолевой клетки, уменьшая тем самым влияние ионизирующего излучения на здоровые органы и ткани. Коллегами из МГУ им. Ломоносова была произведена модификация поверхности наночастиц гексаферрита стронция бифункциональным производным **55** (Рис.12).

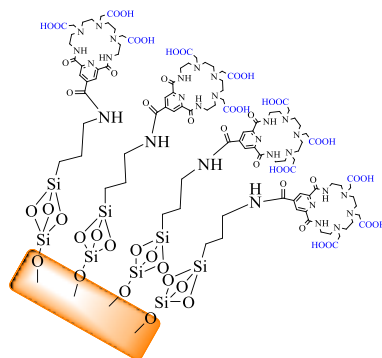


Рисунок 12 – Конъюгат **55** с наночастицами гексаферрита стронция.

⁶ Экспериментальные данные получены на кафедре радиохимии МГУ им. М.В. Ломоносова

Наночастицы гексаферрита стронция, покрытые диоксидом кремния (SHF@SiO₂), модифицировали аminosилановым аппретом, а затем бифункциональным производным лиганда **55** при взаимодействии карбоксильной группы **55** с аминогруппой на поверхности наночастиц. Затем модифицированные наночастицы SHF@SiO₂ были помечены радионуклидом ²⁰⁷Bi с выходом мечения до 99,8%. Была исследована устойчивость комплексов Bi³⁺ с конъюгатами в избытке сывороточных белков. [²⁰⁷Bi]Bi³⁺ остается связанным в комплексе - выход радиоактивного мечения после 24 часов инкубации составляет 85%. Более того, стабильность этого комплекса *in vivo* была доказана анализом профилей биораспределения. Анализ биораспределения радиоактивно меченых функциональных наночастиц показал, что они в основном накапливались в легких, селезенке и печени уже через 1 ч после инъекции.

Таким образом, биоконъюгаты гексаферрита стронция с бифункциональным производным **55** перспективны для будущих исследований в качестве новой платформы для комбинированных радиофармпрепаратов.

ВЫВОДЫ

1. Впервые предложен метод макроциклизации полиаминов в амидные пиридинсодержащие азакраун-соединения в качестве метода защиты первичных аминогрупп. Метод позволяет селективно проводить модификацию по вторичным аминогруппам полиаминов с сохранением незамещенных первичных аминогрупп. Гидролиз в кислых условиях освобождает первичные аминогруппы, которые могут быть использованы для дальнейшего введения заместителей.

2. Впервые синтезированы ациклические хелаторы на основе полиаминов, содержащие два типа различных заместителей при атомах азота (пиридинные, ацетатные, фосфонатные, сукцинаматные, ацетамидные).

3. Впервые синтезированы ациклические лиганды на основе пиридина, замещенного фрагментами полиамина, с дополнительными хелатирующими группами (ацетатные, ацетамидные, сукцинаматные, фосфонатные).

4. Впервые получены бифункциональные производные амидного азакраун-соединения и ациклического пиридинсодержащего лиганда, содержащие карбоксильную функциональную группу.

5. Проведенные физико-химические исследования комплексообразования ряда полученных лигандов показали, что ациклические лиганды демонстрируют более высокую термодинамическую устойчивость комплексов в водных растворах, но меньшую кинетическую инертность в биологических жидкостях. Среди исследованных катионов металлов Ga³⁺, Y³⁺, Bi³⁺, Ni²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺ и Pb²⁺ образование устойчивых комплексов наблюдается в случае гексаацетатного пиридинсодержащего лиганда с катионами Bi³⁺, Ga³⁺, Y³⁺.

Перспективы дальнейшей разработки темы. В настоящей диссертационной работе предложены методы получения ациклических лигандов с различными хелатирующими группами, а также бифункциональных лигандов с реакционноспособной группой для конъюгации с биомолекулами. Продолжение начатых в диссертационной работе исследований может проходить по двум направлениям. Первое связано с дальнейшим поиском комбинации хелатирующих групп в структуре ациклических лигандов, позволяющей добиться высокой селективности, высокой термодинамической устойчивости и кинетической инертности образующихся комплексов с актуальными на сегодняшний день радионуклидами. Для

выявления перспективных лигандов следует проводить комплекс физико-химических исследований по изучению комплексообразования в водных и биологических средах. Второе направление связано с дальнейшей разработкой бифункциональных лигандов. Различные биомолекулы требуют для конъюгации различных функциональных групп. Следует найти условия введения азидной, amino-, изотиоцианатной групп, тройной связи, условия получения активированных эфиров. Полученные бифункциональные хелаторы в дальнейшем планируется использовать для создания конъюгатов с биомолекулами для исследования их потенциального применения в составе радиофармпрепаратов.

Основное содержание работы изложено в следующих публикациях:

Статьи:

1. Zubenko A. D, **Shchukina A. A.**, Chernikova E. Y., Egorova B.V., Ikonnikova I.S., Priselkova A.B., Larenkov A.A., Bubenshchikov V.B., Mitrofanov A.A., Fedorov Y.V., Fedorova O.A. Synthesis of new acyclic chelators H_4apyta and H_6apyha and their complexes with Cu^{2+} , Ga^{3+} , Y^{3+} , and Bi^{3+} // Dalton Transactions. — 2024. — Vol. 53. — №3. — P. 1141–1155.
2. **Shchukina A. A.**, Zubenko A. D., Fedorova O. A. A novel method for the synthesis of acyclic ligands with combined chelating groups // Tetrahedron. — 2024. — Vol. 150. — 133773.
3. **Щукина А.А.**, Зубенко А.Д., Карноухова В.А., Федоров Ю.В., Федорова О.А. Новое пиридиназакраун-соединение $Pu3Am$ и изучение кристаллической структуры его комплексов с катионами Zn^{2+} и Ni^{2+} // Журнал структурной химии. — 2024. — Т. 65. — № 3. — 124070.
4. Khabirova S., Aleshin G., Anokhin E., **Shchukina A.**, Zubenko A., Fedorova O., Averin A., Trusov L., Kalmykov S. Novel candidate theranostic radiopharmaceutical based on strontium hexaferrite nanoparticles conjugated with azacrown ligand // Dalton Transactions. — 2023. — Vol. 52. — № 6. — P. 1731–1741.
5. Khabirova S., Aleshin G., Plakhova T., Zubenko A., **Shchukina A.**, Fedorova O., Averin A., Belova E., Bazarkina E., Kvashnina K., Kalmykov S. CeO_2 -Azacrown Conjugate as a Nanoplatfom for Combined Radiopharmaceuticals// Nanomaterials. — 2022. — Vol. 12. — № 24. — 4484.
6. Egorova B.V., Kalmykova T.P., Zubenko A.D., **Shchukina A.A.**, Karnoukhova V.A., Likhosherstova D.V., Priselkova A.B., Fedorov Y.V., Fedorova O.A., Kalmykov S.N. Comparative study of macrocyclic and acyclic picolinate derivatives for chelation of copper cations// European Journal of Inorganic Chemistry. —2021. — Vol. 2021. — №45. — P. 4700-4709.
7. Zubenko A. D., **Shchukina A. A.**, Fedorova O. A. Synthetic approaches to the bifunctional chelators for radionuclides based on pyridine containing azacrown compounds // Synthesis. — 2020. — Vol. 52. — №07 — P. 1087–1095.
8. **Щукина А. А.**, Зубенко А. Д., Федорова О. А. Синтез новых ациклических лигандов для катионов радионуклидов // Успехи в химии и химической технологии. — 2020. — Т. 34. — № 8. — С. 28–30.
9. **Бахарева А. А.**, Зубенко А. Д., Федорова О. А. Разработка новых хелаторов для радиофармпрепаратов // Успехи в химии и химической технологии. — 2019. — Т. 33. — № 7. — С. 18–20.

Тезисы конференций:

1. **Shchukina A.A.**, Zubenko A.D., Egorova B.V., Fedorova O.A. Acyclic chelators for radiopharmaceuticals// «New Emerging Trends in Chemistry» Conference (NewTrendsChem-2023), Ереван, Армения, 24-28 сентября 2023. — P. 297.

2. **Щукина А.А.**, Зубенко А.Д., Егорова Б.В., Федорова О.А. Ациклические хелаторы для катионов тяжелых металлов и радионуклидов// Всероссийская конференция с международным участием «Идеи и наследие А.Е. Фаворского в органической химии», Санкт-Петербург, Россия, 3-6 июля 2023. – С. 223.
3. **Shchukina A.A.**, Egorova B.V., Kalmykova T.P., Zubenko A.D., Karnoukhova V.A., Fedorova O.A. Study of the complexing properties of ligands with picolinate chelating groups// 2nd International symposium «Noncovalent interactions in synthesis, catalysis and crystal engineering», Москва, Россия, 14-16 ноября 2022. – P. 79.
4. **Щукина А.А.**, Зубенко А.Д., Федорова О.А. Синтез макроциклических и ациклических азотсодержащих лигандов для радиофармпрепаратов// Всероссийская конференция «Марковниковские чтения: Органическая химия от Марковникова до наших дней» (WSOC-2022), Лоо, Сочи, Россия, 16-21 сентября 2022. – С. 107.
5. **Щукина А.А.**, Тарасенко О.В., Зубенко А.Д., Федорова О.А. Новые макроциклические комплексоны для радиофармпрепаратов// XXV Всероссийская конференция молодых ученых-химиков (с международным участием), Нижний Новгород, Россия, 19-21 апреля 2022. – С.165.
6. **Щукина А.А.**, Зубенко А.Д., Калмыкова Т.П., Егорова Б.В. Синтез пиколинатных лигандов различного строения и сравнение их комплексообразования с медью// IX Молодежная конференция ИОХ РАН, Москва, Россия, 11-12 ноября 2021. – С. 276.
7. **Щукина А.А.**, Зубенко А.Д., Егорова Б.В., Калмыкова Т.П. Исследование новых комплексонов как потенциальных компонентов радиофармпрепаратов// Всероссийская конференция «Марковниковские чтения: Органическая химия от Марковникова до наших дней» (WSOC-2021), Сочи, Россия, 8-11 октября 2021. – С. 150.
8. **Shchukina A.A.**, Zubenko A.D., Fedorova O.A. Synthesis of acyclic ligands as components of radiopharmaceuticals// MENDELEEV 2021» The XII International Conference on Chemistry for Young Scientists, Санкт-Петербург, Россия, 6-10 сентября 2021. – P. 639.
9. **Щукина А.А.**, Зубенко А.Д., Федорова О.А. Синтез и изучение комплексообразующих свойств пиридин-содержащих комплексонов для радиофармпрепаратов// Открытый конкурс-конференция научно-исследовательских работ по химии элементоорганических соединений и полимеров «ИНЭОС OPEN CUP», Москва, Россия, 17-20 мая 2021. – С. 284-286.
10. **Щукина А.А.**, Зубенко А.Д. Синтез хелатирующих агентов как компонентов радиофармпрепаратов// «Актуальные аспекты химической технологии биологически активных веществ», Москва, Россия, 26 мая 2020 – С. 50-51.
11. **Щукина А.А.**, Зубенко А.Д. Синтез и исследование новых высокоэффективных комплексонов для радиофармпрепаратов// Всероссийская конференция «Марковниковские чтения: Органическая химия от Марковникова до наших дней» (WSOC-2020), Красновидово, Россия, 17-20 января 2020. – С. 170.
12. **Бахарева А.А.**, Зубенко А.Д. Синтез и исследование новых макроциклических и ациклических комплексонов для катионов Cu^{2+} и Bi^{3+} // Открытый конкурс-конференция научно-исследовательских работ по химии элементоорганических соединений и полимеров «ИНЭОС OPEN CUP», Москва, Россия, 16-19 декабря 2019. – С.194-195.
13. **Bakhareva A.A.**, Zubenko A.D. Development of new chelators for radiopharmaceuticals// International Conference «Chemistry of Organoelement Compounds and Polymers 2019», Москва, Россия, 18-22 ноября 2019. – С. 139.
14. **Бахарева А.А.**, Зубенко А.Д., Федорова О.А. Разработка новых хелаторов для радиофармпрепаратов// XV Международный конгресс молодых ученых по химии и химической технологии "МКХТ-2019", Москва, Россия, 5-8 ноября 2019. – С. 18–20.