

Бифункциональные комплексоны

К.И.Попов, Н.В.Цирульникова, Н.М.Дятлова

Государственный научно-исследовательский институт химических реактивов и особо чистых химических веществ

107076 Москва, Богородский вал, 3, факс (095)963–7483

Московская Государственная академия пищевых производств

125080, Москва, Волоколамское шоссе, 11

В обзоре систематизированы сведения о методах получения бифункциональных комплексонов и конъюгатов на их основе, проанализированы данные о физико-химических и биологических свойствах этих соединений, областях их применения, а также рассмотрены перспективы поиска новых лигандов.

Библиография — 160 ссылок.

Оглавление

I. Введение	1003
II. Методы получения бифункциональных комплексонов	1005
III. Синтез конъюгатов на основе бифункциональных комплексонов	1007
IV. Физико-химические свойства и строение бифункциональных комплексонов и конъюгатов на их основе	1009
V. Некоторые проблемы поиска новых эффективных лигандов	1011

I. Введение

В процессе развития химии комплексонов неоднократно предпринимались попытки конструирования молекул, объединяющих в своем составе наряду с хелатным фрагментом, обеспечивающим комплексообразующие свойства, группировки атомов, не способные участвовать в образовании комплексных соединений, но сообщающие хеланту новые, не свойственные ему ранее функции.¹ К числу первых «гибридов» по праву следует отнести синтезированные в начале 50-х годов аналитические индикаторы: ксиленоловый оранжевый (I), фталеинкомплексон, ализаринкомплексон, тимолфталеон, флуорексон и др.^{1,2} В молекулах этих веществ удачно сочетаются хелатный фрагмент иминодиуксусной кислоты (ИДА — H_2ida) и хромофорные группы (рис. 1).

Позже были предприняты попытки ввести в молекулу комплексона гидрофобный углеводородный радикал, при-

дающий хеланту поверхностно-активные свойства,^{3–6} парамагнитные спиновые метки⁷ и т.д.

Однако наибольший интерес вызывали и продолжают вызывать появившиеся в конце 70-х годов ковалентно связываемые с белками комплексоны.^{8–12}

Это связано с тем, что продукты взаимодействия белка бифункционального комплексона и катиона — конъюгаты — находят широкое применение в биологии и медицине (рис. 2).^{1,8–13}

Несмотря на то, что все упомянутые выше «гибридные соединения» могли одновременно выполнять не менее двух принципиально различных функций, термин «бифункциональные комплексоны» закрепился только за последней разновидностью хелатных агентов.

В настоящее время термин «бифункциональные комплексоны» охватывает круг веществ, содержащих помимо хелатообразующего фрагмента реакционноспособную группу, обеспечивающую ковалентное присоединение такого комплексона к биологическим макромолекулам (пептидам, протеинам).¹

Для создания бифункциональных комплексонов обычно используют различные модификации диэтиленetriаминпентауксусной кислоты (ДТПА — H_5dtpa), этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА — H_4edta) и некоторые другие комплексоны. В качестве групп, имеющих сродство с белками, выступают изотиоцианатные, бромацетамидные, карбоксиметоксильные, диазониевые или иные подобные им радикалы.

Бифункциональные комплексоны должны по возможности удовлетворять следующим требованиям:

— сохранять способность образовывать после иммобилизации на белке термодинамически высокоустойчивые комплексные соединения;

К.И.Попов. Доктор химических наук, профессор МГАПП, заведующий лабораторией хелатных соединений ГосНИИ ИРЕА. Телефон (095)963–7460. Область научных интересов: строение и свойства хелатных соединений в водных растворах.

Н.В.Цирульникова. Доктор химических наук, заведующая лабораторией технологии комплексонов и комплексных соединений ГосНИИ ИРЕА. Область научных интересов: синтез полидентатных органических лигандов типа комплексонов, разработка технологических процессов их производства.

Н.М.Дятлова. Доктор химических наук, профессор, главный научный сотрудник того же института. Область научных интересов: физико-химические исследования комплексонов.

Дата поступления 7 марта 1995 г.

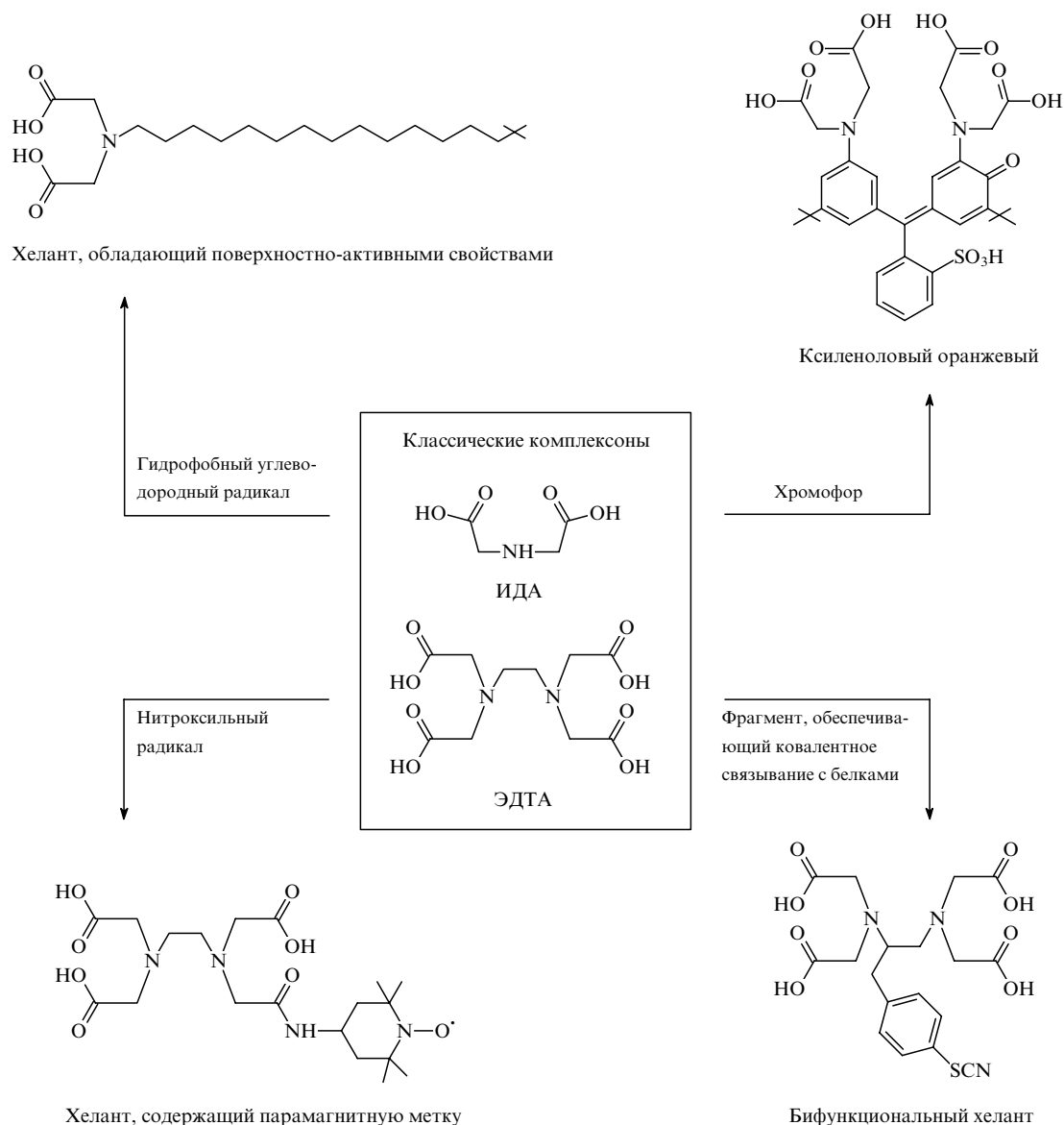


Рис. 1. Варианты сочетания хелатных и иных функциональных фрагментов. ИДА — иминодиуксусная кислота, ЭДТА — этилендиаминтетрауксусная кислота

— быстро присоединяться к белку и достаточно длительное время по сравнению с периодом полураспада радиоактивной метки или периодом естественного выведения из организма удерживать катион в хелатной части, что предполагает, помимо термодинамической устойчивости, также кинетическую стабильность (предельно малые скорости диссоциации комплекса *in vivo*);

— не оказывать существенного влияния на биологические свойства антигена.

При этом получаемый конъюгат должен обладать малой токсичностью и не накапливаться в организме.

Благодаря способности хелатного фрагмента связывать катионы в высокоустойчивые комплексы конъюгаты приобретают характерные для данного металла свойства: радиоактивность, парамагнетизм, способность поглощать или испускать фотоны, катализировать определенные химические реакции и т.д.,^{14, 15} а варьирование протеинового компонента в конъюгате, например, сочетание бифункционального

комплексона с различными моноклональными антителами, существенно повышает селективность накопления катионметки или катиона-основы терапевтического препарата в ситуации *in vivo*.^{16, 17}

Бифункциональный комплексон не только обеспечивает прикрепление катиона к белку, но нередко снижает за счет комплексообразования токсичность металла, повышает его «приемлемость» для организма.¹⁸

Исследования в области синтеза и применения бифункциональных комплексонов ведутся весьма интенсивно. Для комплексов радиоактивных катионов выявлены возможности их применения в диагностике и лечении раковых заболеваний,^{19–24} в иммунологических исследованиях,^{25–31} исследованиях ферментов,^{32–34} для изучения различных органов.^{35–37} Не менее широкие перспективы открывают комплексы парамагнитных (ЯМР-томография)^{38–40} и флуоресцентно-активных катионов.^{41–44}

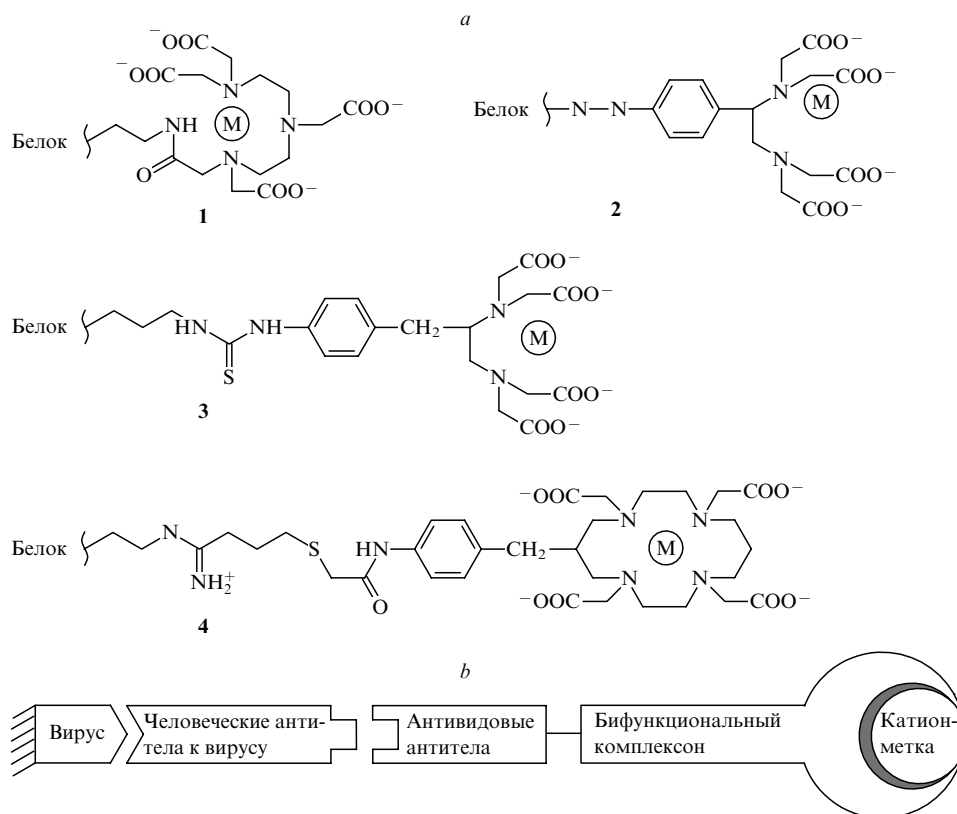
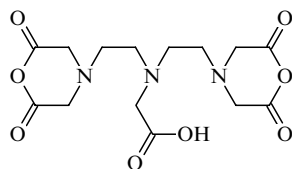


Рис. 2. Конъюгаты, образуемые бифункциональными комплексами (*a*) и общая схема диагностики вирусных заболеваний с применением бифункциональных комплексов (*b*).

II. Методы получения бифункциональных комплексов

В настоящее время можно выделить два подхода к модифицированию молекул комплексов. Первый обеспечивает реализацию ковалентной связи антиген — комплексон за счет химических превращений, по крайней мере, одной из ацетатных групп комплексона (**1**, рис. 2, *a*). При этом потенциальная денатность хелатной части бифункционального комплексона может снижаться, так как комплексообразующая способность атома кислорода, возникающая при связывании с антигенами ацетамидной группы ниже, чем аналогичных атомов ионизированной карбоксильной группы.

Исходным материалом для получения таких бифункциональных комплексов служат смешанный (А-ДТПА) и бициклический (Б-ДТПА) ангидриды ДТПА, бициклический ангидрид ЭДТА, *N*-гидроксисукцинимидный эфир ДТПА (Э-ДТПА)^{10, 45–47} и некоторые другие лиганды.^{10, 46, 48, 49}



Б-ДТПА

Синтез подобных комплексов отличается простотой. Так, Б-ДТПА получают в гетерогенных условиях нагреванием ДТПА в избытке уксусного ангидрида и пиридина при 65°C в течение 1 сут с последующей фильтрацией реакционной массы для отделения осадка целевого продукта.⁵⁰

Иногда в качестве реакционной среды используют смесь пиридина с диоксаном.⁴⁵

Синтез Э-ДТПА также осуществляют в мягких условиях взаимодействием ДТПА с *N*-гидроксисукцинимидом в присутствии триэтиламина и дициклогексилкарбодиимида.^{27, 51}

Весьма перспективной представляется возможность получения карбоксиалкилированных производных этилендиамина, диэтилентриамин и их аналогов, содержащих вторичные аминогруппы, взаимодействием упомянутых аминов с монохлоруксусной кислотой в присутствии оксида кальция.^{52–54} Наличие «свободной» аминогруппы в структуре таких лигандов позволяет надеяться на использование их для синтеза бифункциональных комплексов заданной структуры.

Другой подход к созданию бифункциональных комплексов основывается на встраивании реакционноспособного по отношению к протеинам центра в углеводородный скелет комплексона (**2–4**, рис. 2, *a*). В этом случае хелатообразующая способность комплексона сохраняется после его иммобилизации на белках, однако собственно синтез существенно усложняется. Как правило, в качестве заместителя в углеводородный каркас комплексона (ЭДТА, ДТПА) вводится либо фенильный, либо алкилфенильный радикал с изотиоцианатным фрагментом в пара-положении по отношению к хелатной части.^{55, 56} При дальнейшей конъюгации данная изотиоцианатная (дiazониевая, азидная, галогенацетамидная) группа участвует в образовании ковалентной связи с протеином.

Синтез 1-бензилзамещенных производных ДТПА и ЭДТА представляет собой двухстадийный процесс. Сначала получают нитробензильные производные комплексов, а затем функциональную группу бензильного заместителя превращают во фрагмент, используемый для сочетания с протеинами, например, по схеме 1.³⁴

Схема 1

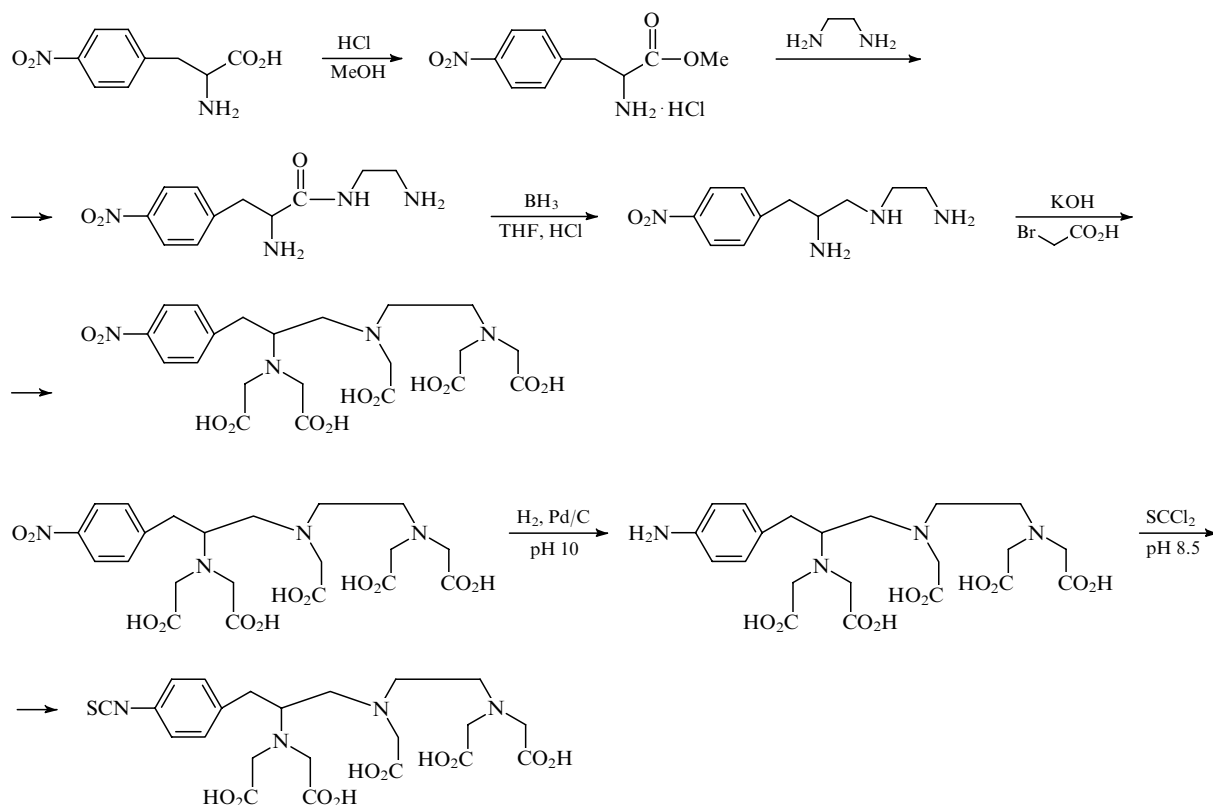


Схема 2 представляет процесс получения модифицированной ЭДТА, содержащей в этиленовом мостике фенильный радикал с диазониевой группировкой.³⁴

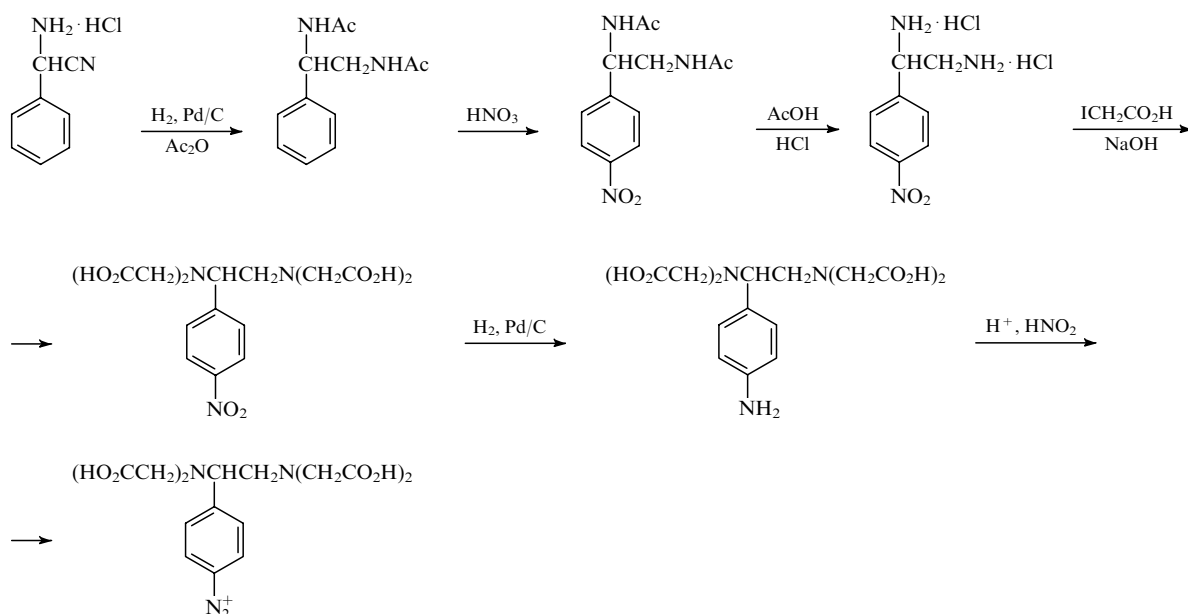
Следует отметить, что нитрование амина, полученного каталитическим гидрированием гидрохлорида 1-фенилглицинонитрила в среде уксусного ангидрида, приводит, по данным спектроскопии ЯМР, к образованию смеси орто- и пара-изомеров в мольном отношении 2:3. Образованию орто-изомера, вероятно, предшествует формирование промежуточного продукта нитрования диамина — нестабильного *N*-нитроамида (схема 3).

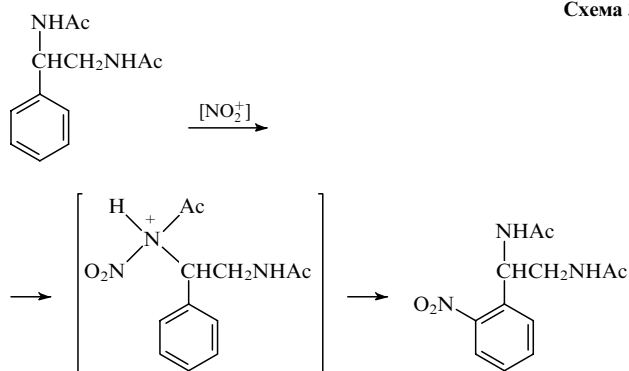
Недостатком приведенного выше метода является также низкий (< 30%) выход диаминотетрауксусной кислоты на стадии алкилирования соответствующего дигидрохлорида

диамина избытком иодацетата или бромацетата.⁵⁷ Использование в качестве исходного соединения метилового эфира 2-амино-4-фенилмасляной кислоты¹⁰ вместо гидрохлорида 1-фенилглицинонитрила позволяет в значительной степени сократить количество образующегося при нитровании орто-изомера и получить аналогичный бифункциональный комплексон с высоким выходом. Незначительная примесь орто-изомера (~10%) легко удаляется кристаллизацией.

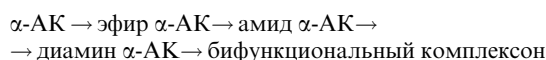
Причиной заметного снижения количества орто-изомера в этом случае является удаленность создаваемой хелатной группировки от ароматического кольца на расстояние двух углеродных звеньев и уменьшение в связи с этим риска β -элиминирования.

Схема 2





Новые возможности синтеза бифункциональных комплексонов открылись благодаря применению в качестве исходных соединений α -аминокислот (α -АК).³⁴



Используя для получения амида амины различной структуры, можно весьма широко варьировать хелатообразующие свойства целевых продуктов.

Схема 4 представляет синтез бифункциональных реагентов с использованием в качестве исходного соединения фенилаланина.²⁷

Единственным серьезным недостатком приведенного синтеза является необходимость использовать токсичный тиофосген на стадии замены аминогруппы на изотиоцианатную. Многостадийность процесса в значительной степени компенсируется практически количественным выходом S-N-4-{2,3-бис[бис(карбоксиметил)амино]пропил}фенилбромацетамида (ББА-ЭДТА) и его фенилизотиоцианатного аналога (БИ-ЭДТА).⁵⁵

С высоким выходом с использованием доступного сырья были получены также производные тетраазациклотетракантетауксусной кислоты (ТАТА — H₄teta) (схема 5).⁵⁸

III. Синтез конъюгатов на основе бифункциональных комплексонов

При получении конъюгатов последовательность реакций в синтезе конечного продукта может быть различной. Для ББА-ЭДТА, БИ-ЭДТА, ангидридов ДТПА, Э-ДТПА рекомендуется первоначально проводить сочетание хеланта с

белком, а затем вводить в систему катион-метку. Для ТАТА синтез обычно проводят в обратном порядке,¹⁰ но допустим также и первый вариант.

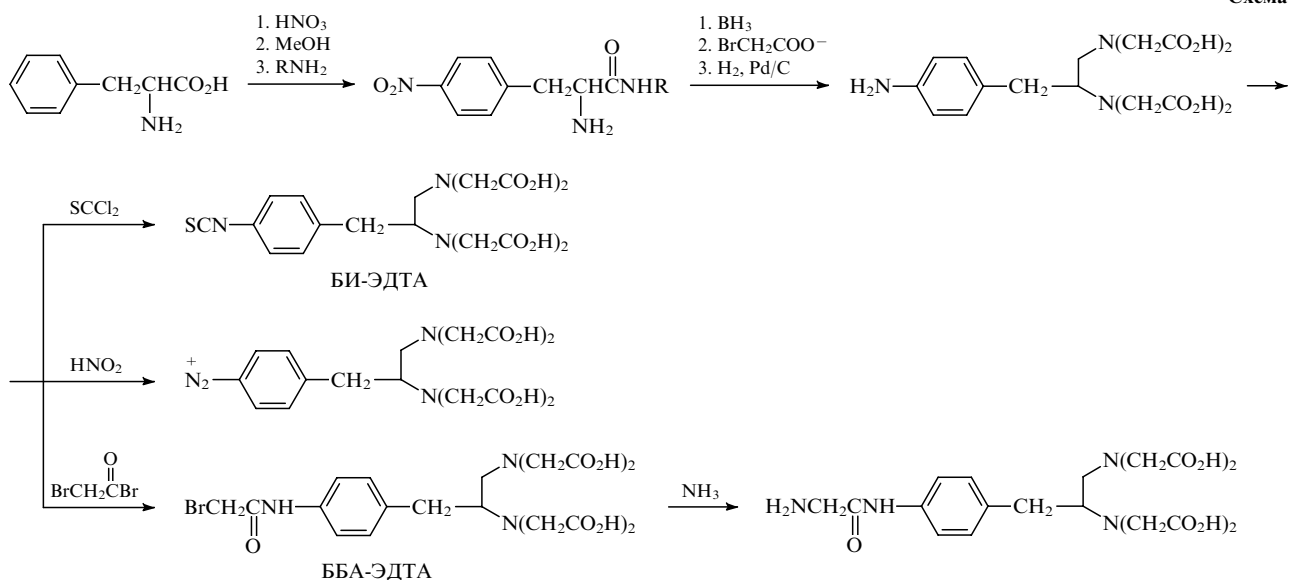
Для ангидридов ЭДТА и ДТПА сочетание с белками, как правило, протекает легко и в мягких условиях. Например, для получения конъюгатов на основе Б-ДТПА к сухому, очищенному от примесей ангидриду ДТПА добавляют бикарбонатный буферный раствор протеина (10–15 мг·мл⁻¹ в 0.05 моль·л⁻¹ растворе бикарбоната натрия, pH 8.5). Связанный протеин очищают от свободной ДТПА на молекулярных ситах Sephadex-650 или используют центрифугирование.⁵⁹

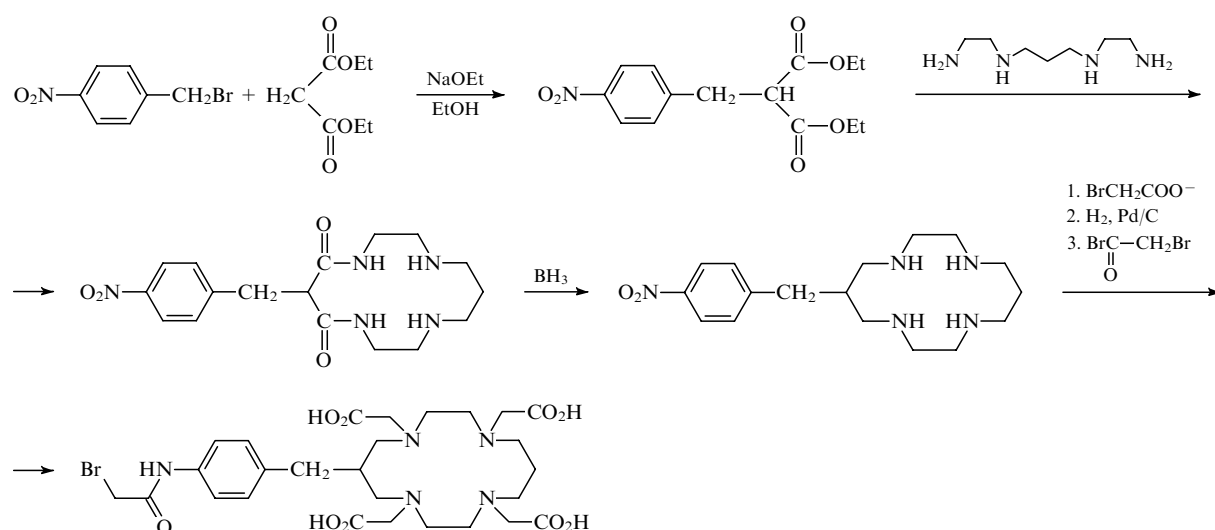
Сочетание Б-ДТПА с белками носит статистический характер: часть молекул протеина всегда остается несвязанной, а другая часть присоединяет сразу несколько фрагментов Б-ДТПА. Как показал расчет, при среднем отношении [белок]:[Б-ДТПА] = 1:3 только небольшая доля макромолекул оказывается не связанной с комплексом, в то время как при отношении 2:1 во взаимодействие с Б-ДТПА вступает более 60% белка.⁵⁹

Совершенно очевидно, что в результате иммобилизации белки могут терять активность, причем степень деградации увеличивается с ростом числа присоединенных молекул комплекса. Отмечено, что у А-ДТПА относительно высока вероятность побочной реакции так называемого «перекрестного» связывания с антителами, т.е. «сшивания» молекул белков между собой. При этом хелатирующая способность комплекса резко снижается и появляется необходимость в дополнительной очистке реакционной массы от подобных «холостых» конъюгатов с удвоенной молекулярной массой.³³

При сравнении относительной эффективности конъюгирования Б- и А-ДТПА отмечается, что последний реагент неустойчив и при повышенной температуре гидролизует, поэтому его не удастся выделить и проанализировать. Соответственно определение соотношения белок : ангидрид вызывает существенные трудности. Напротив, Б-ДТПА стабилен, а синтез с его участием в большой степени поддается контролю. В результате достигается хорошая воспроизводимость реакции сочетания.⁵⁹

Установлено, что степень эффективности включения радиоактивного индия-111 в системы, полученные обработкой различных белков Б-ДТПА, составляет в зависимости от характера антител от 30 до 60% от введенного изотопа индия-111.³²





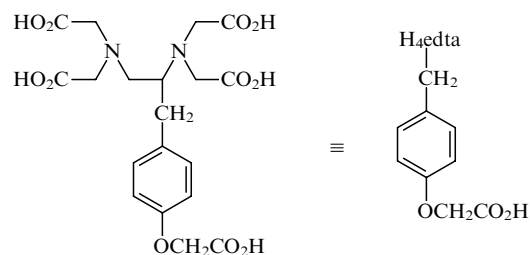
Минимальная вероятность образования перекрестных связей отмечена у Э-ДТПА. Так, например, при прочих равных условиях Э-ДТПА в большей степени чем Б-ДТПА сохраняет антигенсвязывающую активность — 100 и 70% соответственно. Кроме того, условия, необходимые для достижения максимальной эффективности сочетания Э-ДТПА с протеинами, ближе к естественным физиологическим условиям существования белков, чем в случае Б-ДТПА. В частности, для Б-ДТПА максимальная эффективность сочетания отмечается при pH 8.3, тогда как для Э-ДТПА — в области pH 7 (см.⁶⁰).

Для Б-ДТПА вариантов сочетания с белками значительно меньше, чем для Э-ДТПА.⁶⁰ Бициклический ангидрид способен взаимодействовать в основном только с доступными остатками лизина, в то время как Э-ДТПА присоединяется также к гистидиновым и тирозиновым фрагментам. К недостаткам Э-ДТПА следует отнести его способность образовывать с белками конъюгаты большей молекулярной массы и менее стабильные *in vivo*, нежели конъюгаты, образованные Б-ДТПА. Практическими последствиями этого могут быть более высокая степень аккумуляции меченных при помощи Э-ДТПА протеинов в печени и значительная доза накопления активности в почках и мочевом пузыре.³⁰

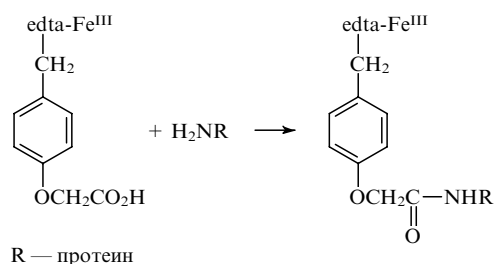
Сочетание с белками бифункциональных комплексонов, образованных путем модификации углеводородного «скелета», обычно осуществляют простым смешиванием компонентов при pH 8–9 и охлаждением смеси. Комплексон, как правило, берется в избытке. По окончании реакции сочетания, длящейся в среднем несколько часов, конъюгат отделяют от реакционной массы диализом. Отмечается, что в некоторых случаях, когда среднее число хелатных молекул, связанных с протеином, больше трех, наблюдается потеря иммунной активности антител.^{10, 20, 35, 37}

Установлено, что галогенацетамидные группы отличаются малой избирательностью в реакциях с природными макромолекулами. Эти группы хорошо взаимодействуют с широким набором нуклеофильных центров белков, в том числе с сульфгидрильными и аминогруппами. Устойчивость этих групп к гидролизу в условиях конъюгирования (37°C, pH 9.5) позволяет получить необходимое число протеинсвязанных хелатных групп ($c > 10^{-5}$ моль·л⁻¹), что, в свою очередь, обеспечивает быстрое и количественное связывание катионов металлов на следующей стадии синтеза конъюгата.²³ Иммунная активность комплексон-белковых конъюгатов для рассматриваемой группы соединений сохраняется на уровне 77–84% по отношению к контрольным образцам антител.⁶¹

В общем ряду бензилпроизводных ЭДТА особое место занимает 1-(*n*-карбоксиметоксibenзил)-ЭДТА.



Необходимым условием образования имидной связи этого соединения с молекулой белка является предварительное формирование комплекса с каким-либо металлом, защищающим хелатный фрагмент от аналогичной реакции. Обычно в качестве комплексообразователя выбирается катион-метка, например, радиоактивные изотопы индия(III) или железа(III). Комплексоны железа получают взаимодействием комплексона с железом(II) при pH 2. Образующийся комплексон быстро окисляется кислородом воздуха до соответствующего производного железа(III) (в дальнейшем комплексонат железа(III) следует беречь от фотодеструкции). Хелат железа(III), взятый в избытке, при 20°C и pH 5 легко вступает в реакцию с альбумином сыворотки человека.⁶²



При необходимости железа(III) может быть удалено из конъюгата восстановлением при диализе с применением буферного раствора, содержащего аскорбат- и цитрат-ионы, ЭДТА при pH 5. При отсутствии аскорбат-ионов железа(III) из конъюгата не удаляется.⁶²

Введение в систему катионов легко осуществляется простым смешиванием компонентов (при некотором избытке металла) при pH 6, создаваемом ацетатным буферным раствором.^{10, 63} В зависимости от природы катиона и харак-

тера хелатной части иммобилизованного белка реакция длится от нескольких минут (индий-111)¹⁰ до нескольких часов (иттрий-90).⁶⁴ Конъюгат отделяется диализом от избытка непрореагировавших компонентов. Как показали исследования,^{30, 65} на стадии очистки конъюгата от примесей свободного радиоизотопа весьма эффективным является добавление ЭДТА.

IV. Физико-химические свойства и строение бифункциональных комплексонов и конъюгатов на их основе

Данные о важнейших физических, химических и биологических свойствах бифункциональных комплексонов в литературе практически отсутствуют. В значительной мере это объясняется трудностями выделения таких комплексонов, очистки их от сопутствующих примесей (что необходимо для прецизионных потенциометрических и спектральных исследований), а также небольшим выходом конечных продуктов. Поэтому при конструировании молекулы бифункционального комплексона, предназначенного для хелатирования конкретного катиона, а также при первоначальной количественной и качественной оценке его комплексообразующих свойств необходимо руководствоваться сведениями, накопленными для обычных комплексонов и комплексона-тов, и вносить в них соответствующие поправки.

1. Термодинамика комплексообразования

Бифункциональные комплексоны, являющиеся частным случаем классических комплексонов, способны хелатировать подавляющее большинство катионов металлов Периодической системы.^{1, 10} Для биологических и медицинских целей наибольший интерес представляют катионы радиоактивных изотопов ¹¹¹In, ⁹⁹Tc, ⁹⁰Y, ⁶⁷Cu, ⁴⁶Sc, ^{67,68}Ga, ¹⁵³Gd, ¹⁰⁹Pd (см.^{10, 66–71}), парамагнитные (Gd^{3+} , Mn^{2+} , Fe^{3+})^{72–76} и флуоресцентно-активные (Eu^{3+} , Tb^{3+})^{77, 78} катионы. При этом термодинамика комплексообразования рассматри-

вается с учетом присутствия фоновых биометаллов, например кальция, находящегося *in vivo* в избытке по сравнению с катионом-меткой и являющегося конкурентом, способным вытеснить последний из конъюгата и тем самым снизить специфичность действия вводимого препарата.^{1, 79–81}

На предварительном этапе для оценки способности бифункционального комплексона H_nL к комплексообразованию с катионом металла M используют концентрационную константу устойчивости K_{ML} , измеренную при фиксированном уровне ионной силы μ и фиксированной температуре

$$K_{ML} = \frac{[ML]}{[M][L]},$$

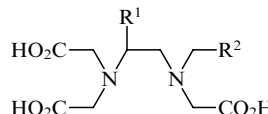
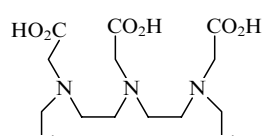
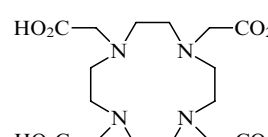
а также показатель селективности комплексообразования — $K_{ML} : K_{CaL}$ (или $\Delta \lg K = \lg K_{ML} - \lg K_{CaL}$).

Проведенный нами анализ литературных данных по константам устойчивости (см. справочники по константам устойчивости,^{79–85} обзоры^{86–88}), а также просмотр содержания компьютерного банка данных, подготовленного к коммерческому распространению комиссией по химическим равновесиям IUPAC в 1993 г.⁸⁹, выявил и крайне незначительное количество термодинамических данных, позволяющих косвенно охарактеризовать комплексообразующую способность бифункциональных комплексонов. Прямые термодинамические исследования бифункциональных комплексонов практически не проводились. Первые сообщения на эту тему появились сравнительно недавно.⁹⁰

В табл. 1 представлены некоторые данные для ЭДТА и ДТПА, позволяющие качественно оценить тенденции изменения устойчивости комплексов при переходе от классических комплексонов к их модификациям, моделирующим в той или иной степени бифункциональный комплексон.

Как видно из приведенных в табл. 1 констант, введение алифатического и ароматического радикалов в этилендиаминный фрагмент комплексона не только не снижает устойчивости комплексов, но даже способствует ее повышению. Этот эффект связан, по-видимому, со стабилизацией радика-

Таблица 1. Константы устойчивости комплексных соединений, образуемых ЭДТА, ДТПА, ДОТА и их производными ($\mu = 0.1$; 20–25°C)

Лиганд (H_nL)	R^1	R^2	$\lg K_{ML}$				Ссылки
			Ca^{2+}	Zn^{2+}	Cu^{2+}	Gd^{3+}	
	H	COOH	10.79	16.68	18.86	17.27	88
	Et	COOH	11.75	18.23	20.6	18.6	85
	Ph	COOH	11.25	17.05	19.4	17.4	85
	H	Pr	16.1	—	12.7	13.07 ^a	85, 91
	H	Ph	6.7	—	16.8	—	85
	COOH	(ДТПА)	10.89	18.55	21.53	22.56	88
	C(O)NHMe		7.17	12.04	13.03	16.85	18
	Py		7.97	14.02	17.50	16.83	18
			15.85	18.90	19.06	28.21	92, 93
ДОТА							

^a Приведены данные для европия(III), $\mu = 1$.

лом в растворе наиболее благоприятной для комплексообразования конформации лиганда.

Замена одной из карбоксильных групп на углеводородный радикал однозначно ведет к снижению общей устойчивости комплексов. Однако при этом может весьма существенно повышаться селективность комплексообразования типичных катионов-меток Cu^{2+} и Gd^{3+} по отношению к фоновым эндогенным катионам Zn^{2+} и Ca^{2+} .

Примечательно, что замена карбоксилатного фрагмента на ацетамидный также вызывает резкое уменьшение константы устойчивости. Это позволяет предположить, что в случае гадолиния понижение константы устойчивости связано со снижением эффективной дентатности лиганда: неучастием ацетамидных фрагментов в формировании координационных связей с ионом лантаноида.

Значительный интерес представляют лиганды со «встроенными» макроциклами. В этом случае помимо полихелатного эффекта дополнительный вклад в стабильность комплекса вносит также макроциклический эффект.^{1,94–97} Так, например, использование 1,4,7,10-тетраазациклодекан- N,N',N'',N''' -тетрауксусной кислоты (ДОТА — H_4dota) вместо ЭДТА позволяет повысить устойчивость комплексоната европия(III) на 10 порядков. Одновременно повышается и селективность по отношению к ионам кальция.¹ Вместе с тем существенно нивелируются различия в устойчивости комплексов меди, кальция и цинка.

Следующим этапом приближения к реальной системе является рассмотрение не концентрационных, а эффективных констант устойчивости K_{ef} , учитывающих гидролиз комплексоната. Необходимость такого учета обусловлена склонностью полиаминополикарбоновых кислот к протонированию при физиологическом значении pH (7.2). Например, ЭДТА в этих условиях присутствует в равновесной смеси как в виде комплекса, так и в виде анионов Hedta^{3-} и $\text{H}_2\text{edta}^{2-}$. Это существенно сокращает долю собственно комплекса. Кроме того, аква-ионы металлов при этом значении pH также частично или полностью гидролизуются и присутствуют в растворе в виде мономерных и полимерных гидроксокомплексов. Значения K_{ef} позволяют оценить значения pH, наиболее благоприятные для комплексообразования данного лиганда с данным катионом.^{1,98,99}

На рис. 3. представлены зависимости логарифмов K_{ef} от pH для комплексов ЭДТА с типичными катионами-метками: Fe^{3+} , Sm^{3+} и In^{3+} (кривые 2–4). Для сравнения приведены соответствующие значения для фонового элемента — кальция (кривая 1). Как видно из приведенного рисунка, в щелочной области комплексообразование ЭДТА с кальцием становится более предпочтительным, чем с индием или самарием.¹⁰⁰

Наглядное представление о соотношении концентрационных и эффективных констант дает следующий пример. Несмотря на то что концентрационная константа устойчивости комплекса железа(III) с ЭДТА в 10^6 раз выше, чем у комплекса ЭДТА с медью(II), при pH 7 хелат $[\text{Cuedta}]^{2-}$ в соответствии с расчетами эффективных констант оказывается в 10^2 раз более устойчив, чем $[\text{Feedta}]^-$ (см.¹⁰¹).

Следует также отметить, что расчеты эффективных констант, производимые разными авторами с использованием различных исходных предположений, могут существенно различаться^{100,101} и, как правило, требуют критического анализа.

Значительно более сложной является задача прогнозирования взаимодействия комплексообразователя и лиганда *in vitro* в многокомпонентных системах, включающих помимо бифункционального комплексона серию биолигандов и широкий набор фоновых катионов.^{79–81,101} Расчеты показывают, что введение только одного дополнительного компонента в систему In^{3+} –ЭДТА снижает K_{ef} при pH 7.4 на 6 порядков.¹⁰¹

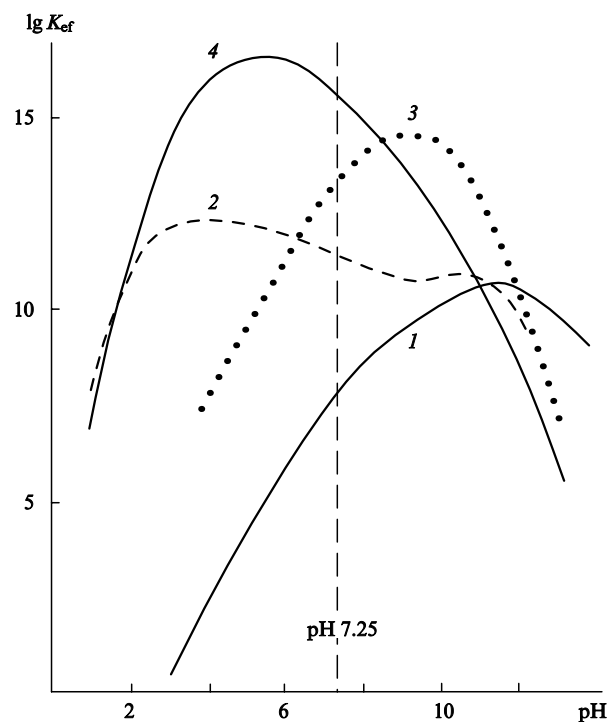


Рис. 3. Зависимость эффективных констант устойчивости от pH для комплексов ЭДТА с Ca^{2+} (1), Fe^{3+} (2), Sm^{3+} (3) и In^{3+} (4) (см.¹⁰⁰)

Наконец, поистине непреодолимые трудности возникают перед экспериментатором при попытке количественно оценивать термодинамику комплексообразования *in vivo*.^{101,102} Тем не менее в целом знание величин термодинамических констант устойчивости позволяет довольно удачно прогнозировать стабильность конъюгата.^{68,103}

2. Кинетическая устойчивость конъюгатов

Помимо термодинамической устойчивости конъюгатов при их модифицировании необходимо иметь в виду и кинетическую устойчивость: скорость потери ими катиона за счет диссоциации комплекса или реакции замещения «своего» катиона-метки конкурирующими биометаллами. В связи с этим, наряду с задачей создания как можно более термодинамически устойчивого комплекса с бифункциональным комплексоном, не менее важной представляется и проблема замедления распада координационного соединения.

Скорости реакции образования комплексонатов из аква-ионов металлов, а также обратного процесса их диссоциации соизмеримы со скоростью обмена молекул воды в аква-ионе, т.е. в первом приближении определяются свойствами собственно аква-ионов.^{1,104}

Введение в структуру молекулы комплексона элемента жесткости, в частности макроциклов, позволяет существенно замедлить диссоциацию, образуемого ею комплекса. Так, например, в ряду ЭДТА–ЦГДТА–ДОТА (ЦГДТА (H_4cdta) — циклогександиаминотетрауксусная кислота) при равном электростатическом заряде аниона скорость диссоциации резко уменьшается.^{1,104} Предполагается, что кинетические закономерности, установленные *in vitro* для классических комплексонов, справедливы также и для их бифункциональных аналогов в ситуации *in vivo*.

Кинетика потери атома металла хелатными комплексами в условиях живого организма изучалась в работах^{10,34,105}. Распад комплекса является следствием воздействия сразу нескольких факторов как кинетических, так и

Таблица 2. Кинетика потери индия(III) *in vitro* комплексами, бифункциональными комплексами и их конъюгатами с альбумином¹⁰⁵

Лиганд	Скорость потери индия комплексоном ML, % в сут
1-(<i>n</i> -Карбоксиметокси-бензил)-ЭДТА	0.028 (0.041)
1-Метил-ЭДТА	0.060 (0.052)
Альбумин – фенил-ЭДТА	0.060
Альбумин – бензил-ЭДТА	0.11
ЭДТА	0.53 (0.67)
Моно- <i>n</i> -бутиламид-ЭДТА	29.0
Моно- <i>n</i> -бутиламид-ДТПА	0.93
Альбумин – ДТПА	1.6 2.5 ^b
ДТПА	2.3 (2.6)

^a Процесс перехода индия из исходного хелатного комплекса ML в комплекс с трансферрином изучался в сыворотке крови человека при pH 7.3 и 37°C; в скобках приведены данные для повторной серии опытов.

^b В систему дополнительно введен 0.01 моль · л⁻¹ раствор глицина.

термодинамических. В частности, показано, что комплексы меди(II) в сыворотке крови человека теряют металл в соответствии с прогнозом, сделанным на основе анализа свойств более простых соединений. Так, макроциклический комплексонат, образованный ТАТА, теряет медь со скоростью 1–3% в сутки, хелат на основе моноамида ДТПА — со скоростью ~50% в сутки, а комплекс на основе бензил-ЭДТА — еще быстрее.

Скорость потери металла комплексоном индия(III) исследована в работе¹⁰⁵ (табл. 2). Из приведенных данных следует, что сопряжение бифункционального комплексона с альбумином не оказывает существенного влияния на скорость биодеградации комплекса. Вместе с тем необходимо отметить, что у бутиламидов ЭДТА и ДТПА соотношение скоростей деградации прямо противоположно ЭДТА и ДТПА. Между тем, если исходить из координационных возможностей модифицированных лигандов, тенденция изменения скоростей деградации у модифицированных лигандов должна быть однотипной со скоростью деградации соответствующих немодифицированных лигандов. Существенный разброс данных между различными сериями опытов указывает на наличие плохо контролируемых погрешностей.

3. Строение комплексонатов

Наряду с термодинамическими, кинетическими и биологическими свойствами бифункциональных комплексонов весьма существенной в практическом отношении характеристикой является их строение: реальная дентатность лиганда, координационное число катиона. Это особенно важно для ЯМР-контрастных веществ, так как их способность к парамагнитному взаимодействию с субстратом при прочих равных условиях тем выше, чем больше молекул воды сохраняется в координационной сфере входящего в конъюгат парамагнитного катиона.^{106, 107}

Подробно строение комплексонатов металлов рассмотрено в блестящих обзорах^{108–110}. Здесь мы остановимся лишь на двух важнейших закономерностях, выявленных на основе анализа результатов более чем 300 рентгеноструктурных исследований:

— координационные числа катионов, координированных комплексоном, нередко оказываются выше значений, наблюдаемых у тех же ионов в комплексных соединениях с простыми монодентатными лигандами. Например, марганец(II), кобальт(II), магний(II), железо(III) в комплексах с ЭДТА и ДТПА проявляют необычное для них координационное число 7. Благодаря этому обстоятельству гексадентатный лиганд ЭДТА не вытесняет всю воду из внутренней координационной сферы железа(III), и анион [Fe(H₂O)edta]⁻ оказывается более эффективным релаксантом, чем можно было бы ожидать. Индий(III) в комплексе с ЭДТА имеет координационное число 7 (см.¹⁰⁸), а с ДТПА — 8 (см.¹¹¹);

— для всех структурно-исследованных кристаллических нормальных комплексонатов состава ML и ML₂ при координационном числе, большем или равном дентатности лиганда, катион координирует все донорные атомы лиганда. Не зафиксировано ни одного случая, когда молекула воды конкурировала бы с депротонированной карбоксильной группой за место в координационной сфере катиона, т.е. такой ситуации, когда молекула воды входила бы в состав координационной сферы металла, и при этом хотя бы одна депротонированная карбоксилатная группа оставалась «свободной». На основании этих данных можно с большой долей вероятности предсказывать степень экранирования катиона лигандом, исходя из структуры молекулы собственно хелатирующего агента.

Здесь также уместно отметить оживленную дискуссию о возможности сохранения структуры комплексоната при его переходе из кристаллической фазы в водный раствор.^{112–118} Как показали систематические радиоспектроскопические^{107, 119–122} и EXAFS-исследования¹²³ последних лет, основные черты структуры комплексонатов, в частности, дентатность лиганда, при растворении сохраняются. Таким образом, прогнозирование строения как простых комплексонатов, так и хелатированной части конъюгатов бифункциональных комплексонов в растворе, опирающееся на рентгеноструктурные результаты, является вполне корректным.

V. Некоторые проблемы поиска новых эффективных лигандов

В общем случае выделение и анализ в «чистом виде» каких-либо факторов, влияющих на константу устойчивости K_{ML} полидентатного, в том числе и бифункционального комплексона, крайне сложны. Так, любое варьирование дентатности лиганда, как правило, сопряжено с одновременным изменением нескольких параметров: электростатического заряда, размера хелатного цикла, соотношения числа донорных атомов различной природы и т.д.

Наиболее широко используются такие приемы, как варьирование дентатности и размеров потенциально образующихся циклов, введение в структуру хеланта элементов жесткости, а также гетероатомов, обеспечивающих избирательность действия по отношению к рассматриваемому катиону.¹

Так, например, введение фосфоновой группы вместо карбоксилатной резко повышает избирательность хеланта по отношению к ионам меди(II) (рис. 4). При этом у образующегося комплекса нередко возрастает тропность (селективность) к костной ткани.^{124–125} Повышение дентатности и заряда лиганда (рис. 5, 6), как правило, делает этот лиганд более избирательным по отношению к РЗЭ, обладающим большими координационными числами.^{126–129}

Вместе с тем наблюдаются и плохо поддающиеся объяснению эффекты. Так, например, для иона бария, не уступающего по размерам лантаноидам, нет адекватного нарастания устойчивости комплексов при переходе от гексадентатной ЭДТА к октадентатной ДТПА.

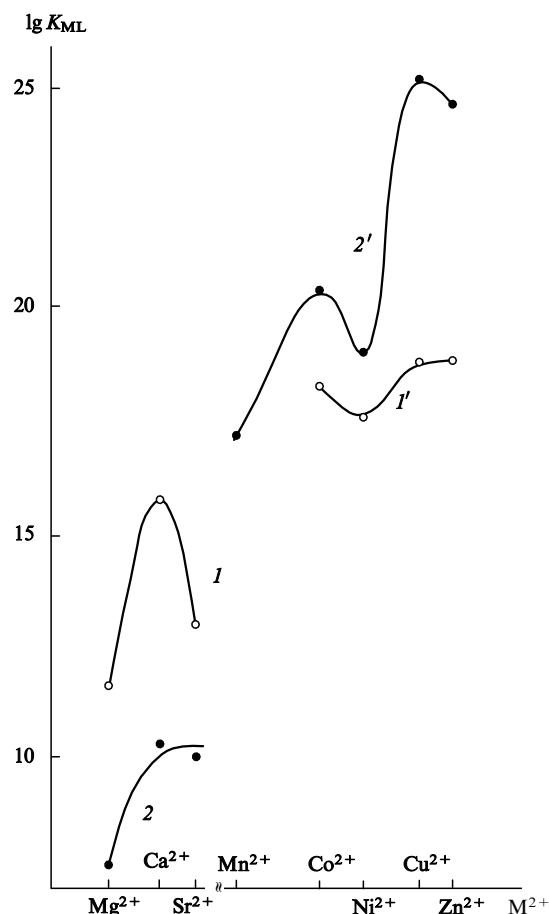
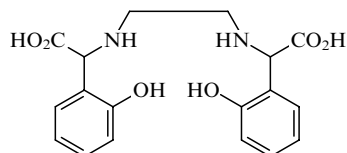


Рис. 4. Относительное изменение констант устойчивости в рядах щелочноземельных (1, 2) и 3d-катионов (1', 2') для ДОТА (1) и ее метилфосфонового аналога (2)^{1, 89, 92, 93}

Нередко создание хеланта для конкретного катиона растягивается на многие десятилетия. В качестве примера рассмотрим, как развивались события в процессе конструирования молекулы оптимального хеланта для ионов железа(III), галлия(III) и индия(III).

В конце 50-х — начале 60-х годов было найдено, что сочетание в молекуле комплексона фрагментов этилендиамина-*N,N'*-диуксусной кислоты и фенола, как это имеет место в *N,N'*-этиленбис-[2-(*o*-гидроксифенил)глицине], (H_2ephg),



резко повышает стабильность комплекса железа(III) ($\lg K_{ML} = 33.9$) по сравнению с таким универсальным хелантом, как ЭДТА ($\lg K_{ML} = 25.0$).^{130, 131} Достигнутый успех инициировал создание серии препаратов, обладающих контрастными свойствами.^{132–137} Однако, по мнению авторов работы¹³⁸, взаимное расположение донорных атомов в рассматриваемом лиганде создавало стерические препятствия для одновременного их участия в координации. Как показали более поздние рентгеноструктурные исследования комплексов $[Mg(H_2O)_6][Gaehpg]_2 \cdot 3 H_2O$, $[Co(H_2O)_6][Coehpg]_2 \cdot 4 H_2O$, $Na_2[Cuehpg] \cdot 5.5 H_2O$, а также комплекса железа(III),^{139, 140} эти опасения оказались напрас-

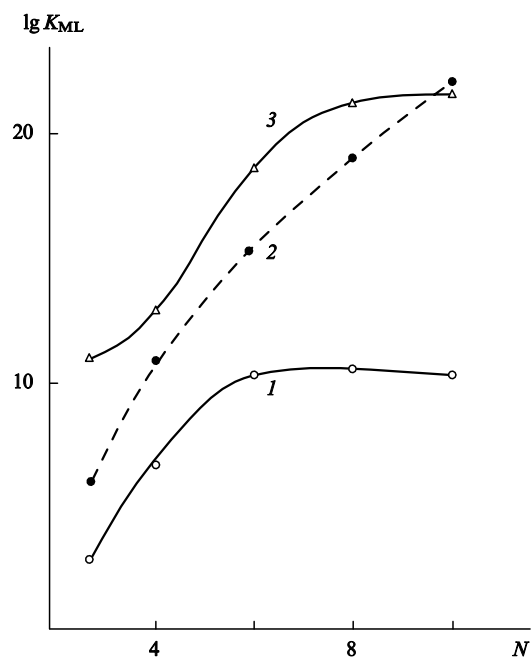
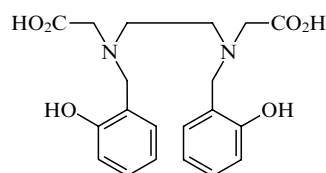


Рис. 5. Зависимость констант устойчивости комплексонатов с M^{n+} от потенциальной дентатности лиганда (N); $M = Ca$ (1), La (2), Cu (3). Использованы данные⁸⁵ для ИДА, НТА (H_3nta — нитрилотриуксусная кислота), ЭДТА, ДТПА, ТТГА (H_6ttha — триэтилен-тетрамингексауксусная кислота), рассматриваемых в качестве моделей соответственно три-, тетра-, гекса-, окта- и декадентатных хелантов

ными: у лиганда во всех исследованных комплексах реализована максимально возможная дентатность, равная шести, за счет координации обоих атомов азота, двух атомов кислорода от каждой из карбоксилатных групп и двух атомов кислорода депротонированных гидроксильных групп. Тем не менее более стерически свободный комплексон — этилендиамин-*N,N'*-ди-(2-гидроксифенил)-*N,N'*-диуксусная кислота (H_2hbcd)



позволил достичь рекордной устойчивости комплекса железа(III): $\lg K_{ML} = 39.68$ (см.¹³⁸). Для индия(III) и галлия(III) соответствующие константы оказались также одними из самых высоких (39.66 и 39.57).¹⁴¹ Эти работы, в свою очередь, стимулировали появление серии бифункциональных лигандов на основе H_2hbcd .^{68, 142}

Последующие эксперименты по модификации подобных структур принесли следующие результаты. Замена карбоксильных групп в H_2hbcd на фосфоновые позволила повысить избирательность комплексона по отношению к иону меди(II) в ряду 3d-элементов.¹⁴³ Другая модификация H_2hbcd , заключающаяся в замене фенольного радикала на пиридиновый, хотя и привела к образованию комплексов железа(III), уступающих по устойчивости соответствующему соединению H_2hbcd ($\lg K_{ML} = 36.91$), зато позволила повысить его растворимость, а также приемлемость для организма человека.^{143, 144}

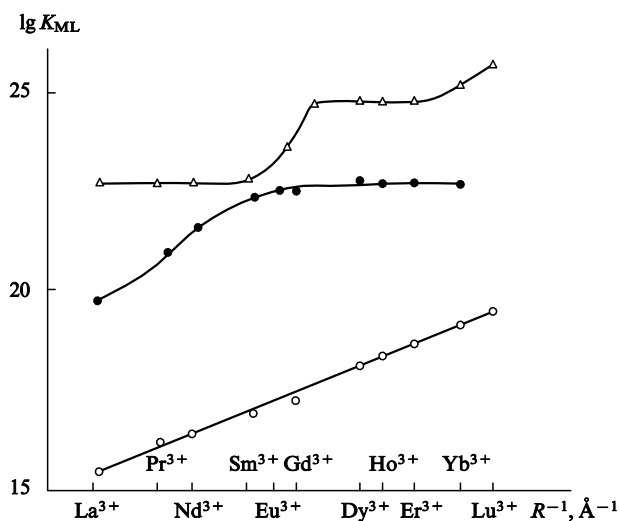
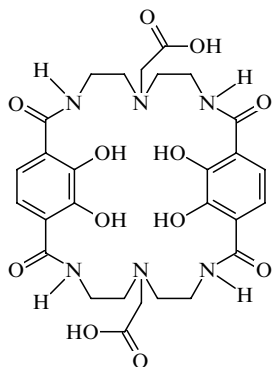


Рис. 6. Зависимость константы устойчивости хеланта от ионного радиуса лантаноида (R)^{85, 88, 89, 93}: 1 — ЭДТА, 2 — ДТПА, 3 — ДОТА

Вопреки ожиданиям, попытка сформировать на базе H_2hbed макроциклический комплексон — 4,17-бис(карбоксиметил)-10,11,23,24-тетрагидрокси-8,13,21,26-тетраоксо-9,10,11,12:22,23,24,25-дibenзо-1,4,7,14,17,20-гексаазациклогексазан¹⁴⁵



не привела к дальнейшему повышению устойчивости комплексов железа(III), хотя константа устойчивости оказалась весьма высокой — $\lg K_{ML} = 37.6$ (25°C , $\mu = 0.1$).

Следует отметить, что высокая устойчивость комплекса далеко не всегда является главной целью. Часто строение хеланта диктуется чисто биологическими или методологическими особенностями. Так, например, для целей создания бифункциональных конъюгатов с радиоактивными катионами вполне эффективным оказался циклический диангидрид ДТПА, вследствие низких стехиометрических соотношений хелат:протеин.³⁴ Однако для магнитно-резонансного контрастирования требуются комплексы с высоким соотношением хелат:белок. И в этих условиях данный хелат менее пригоден,¹⁴⁶ так как с повышением относительного содержания диангидрида ДТПА резко возрастало количество образуемых с его участием межмолекулярных ковалентных связей и количество получаемых при конъюгировании разнородных продуктов; при этом снижалась воспроизводимость и технологичность синтеза.

По-видимому, преодолеть это препятствие можно, варьируя макромолекулярную часть конъюгата. Так, например, при замене альбумина на полисахариды удалось получить конъюгаты с ДТПА и гадолинием(III) практически без побочных межмолекулярных связей.¹⁴⁷

Таблица 3. Результаты токсикологических исследований комплексов гадолиния (внутривенное введение мышам)^{18, 151}

Исследуемый ион, комплекс	$\Delta \lg K_{ef}$ (см. ^a)	LD_{50} , ммоль · кг ⁻¹
$[\text{Gd}^{3+} \text{ aq}]$	—	0.4 ^b
$\text{Na}_2\text{Hdtpa} - \text{BMA}^c$	—	0.16
$\text{Na}[\text{Cadtpt} - \text{BMA}]$	—	16.6
$[\text{Gddtpa} - \text{BMA}]$	9.04	14.8 (0.7)
$\text{Na}_2[\text{Gddtpa}]$	7.04	5.6 (0.2)
	—	10.0 ^b
$[\text{Gddtpa} - \text{BP}]^d$	5.32	2.8 (0.1)
$\text{Na}_2[\text{Gdedta}]$	4.23	0.3 (0.1)

^a В качестве $\Delta \lg K_{ef}$ принята разность логарифмов эффективных констант устойчивости комплексов гадолиния и цинка с данным лигандом при pH 7.4.

^b Внутривенное введение крысам.

^c $\text{dtpa} - \text{BMA}$ — N,N'' -бис(метиламид)ДТПА.

^d $\text{dtpa} - \text{BP}$ — N,N'' -бис-(2-пиридилметил)ДТПА.

Другой проблемой является проницаемость для конъюгата клеточных мембран. Решение этой задачи требует оптимизации значительного количества параметров. В работах^{148, 149} было показано, что хорошей проницаемостью обладают электронейтральные комплексы. Электронейтральность также снижает осмотическое давление. Однако при этом снижаются растворимость собственно комплексоната,¹ а также эффективная денатантность комплексона, что ведет, как правило, к уменьшению термодинамической устойчивости комплекса, а следовательно, — к возрастанию его токсичности за счет выделения из комплекса в «свободном» состоянии больших количеств катиона-метки.

Так, например, комплекс гадолиния с ДТПА оказался весьма эффективным контрастным агентом в ЯМР-томографии благодаря высокой константе устойчивости.¹⁵⁰ Однако этот препарат вследствие высокого отрицательного заряда $[\text{Gddtpa}]^{2-}$ плохо всасывается через желудочно-кишечный тракт¹⁵¹ и может применяться только в виде инъекций. Замена ДТПА его диметиламидным производным позволила получить электронейтральный комплекс с гадолинием, обладающий существенно большей проникающей способностью, но меньшей термодинамической устойчивостью по отношению к диссоциации на «свободный» лиганд и ион металла. Однако, как показали последующие исследования, токсичность комплекса не только не возросла, но напротив — уменьшилась (табл. 3). Это связано с тем, что устойчивость комплексов диметиламида ДТПА с ионами-конкурентами гадолиния (кальций, цинк) снижается в еще большей степени, и в ситуации *in vivo* селективность связывания гадолиния возрастает и летальная доза увеличивается.¹⁸

Примечательно, что рентгеноструктурное исследование комплекса гадолиния(III) с диалкиламидом ДТПА¹⁵² не обнаружило снижения денатантности комплексона по сравнению с собственно ДТПА:¹⁵³ координационное число 9 гадолиния реализуется за счет октаденатного лиганда и одной молекулы воды. Правда, средние расстояния металл — кислород у амидных фрагментов оказались большими, чем у ацетатных. Вопрос о том, сохраняется ли данная структура при растворении комплекса, пока остается открытым.

* * *

В целом можно констатировать, что прогнозы термодинамической и кинетической устойчивости конъюгата, сделанные на основе оценок свойств модельных простых хелатов, оказываются достаточно надежными. В частности, высокие

значения констант устойчивости ($\lg K_{ML} > 20$) комплексов индия(III) с ЭДТА и гадолиния(III) с ДТПА позволяют получать эффективные диагностические и терапевтические препараты с индием и гадолинием, основой хелатного фрагмента которых являются производные ЭДТА и ДТПА.^{154–157} Не менее плодотворным оказался подход, основанный на кинетической устойчивости комплексонатов — ЦГДТА и ДОТА. Так, конъюгаты на основе лигандов ЦГДТА и ДОТА сохраняют кинетические особенности, присущие их классическим аналогам.^{158, 159}

Напротив, на основе таких комплексонатов, как ИДА, НТА, образующих комплексы низкой и средней степени устойчивости ($\lg K_{ML} < 17$), создать удачные биоconъюгаты не удалось.

Следует, однако, отметить, что даже для классических хелатных соединений не всегда удается предсказать оптимальный эффект *in vivo*. Например, при подборе лиганда для выведения плутония из организма человека выяснилось, что препарат на основе ДТПА был столь же эффективен, что и тетракарбоксикатехолатный лиганд, образовывавший с плутонием комплексы в 10^{10} раз более устойчивые, чем ДТПА.¹⁶⁰

Бифункциональные комплексоны являются интенсивно развивающимся направлением в химии хелатных соединений. Можно ожидать, что в ближайшие годы большое значение приобретет поиск хелатных и конъюгатных, обладающих специфической тропностью к тем или иным органам и тканям.

Данная работа выполнена благодаря частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 94-03-09113) и Программы «Создание новых лекарственных средств методами химического и биологического синтеза».

Литература

- Н.М.Дятлова, В.Я.Темкина, К.И.Попов. *Комплексоны и комплексоны металлов*. Химия, Москва, 1988
- Д.Перрин. *Органические аналитические реагенты*. Мир, Москва, 1967
- К.Horiuchi, H.Saji, Y.Aragano, A.Yokoyama. *Eur. J. Nucl. Med.*, **16**, 137 (1990)
- Н.М.Дятлова, Б.И.Бихман. *Журн. неорг. химии*, **10**, 237 (1965)
- C.J.Rix, R.J.P.Williams. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 203 (1986)
- Пат. 568078 Австрия; *Chem. Abstr.*, **108**, 208208e (1988)
- K.M.More, G.R.Eaton, S.S.Eaton. *Inorg. Chem.*, **25**, 2638 (1986)
- К.И.Попов, М.В.Рудомино, Ю.В.Мальцева, Н.М.Дятлова. *Бифункциональные комплексоны — новые реагенты для медицины. (Сер. Реактивы и особо чистые вещества)*. НИИТЭХИМ, Москва, 1989
- Пат.3633243 Германия; *Chem. Abstr.*, **113**, 39901w (1990)
- C.F.Meares. *Nucl. Med. Biol.*, **13**, 311 (1986)
- F.Maisano, L.Gozzini, C.de Haen. *Bioconjugate Chem.*, **3**, 212 (1992)
- Антитела. Т.2. Методы*. (Под ред. Д.Кэтти). Мир, Москва, 1991
- M.W.Brechbiel. *Diss. Abstr. Int. B*, **50**, 2925 (1990); *Chem. Abstr.*, **113**, 39901w (1990)
- M.D.Richard, M.L.Thakur, J.Hedmen, A.Damjanov. *Nucl. Med. Biol.*, **17**, 181 (1990)
- R.W.Gillette, J.Singleton, A.Janowich, S.C.Gilman. *J. Immunol. Methods*, **124**, 277 (1989)
- L.Camera, S.Kinyana, K.Garmestani, L.H.Pai, M.Brechbiel, O.A.Gansow, C.H.Paik, I.Pastan, J.A.Carrasquillo. *Nucl. Med. Biol.*, **20**, 955 (1993)
- B.A.Khaw, O.Gansow, M.W.Brechbiel, S.M.O'Donnel, N.Nassiff. *J. Nucl. Med.*, **31**, 211 (1990)
- W.P.Cacheris, S.C.Quay, S.M.Rocklage. *Magn. Reson. Imaging*, **8**, 467 (1990)
- M.W.Sandberg, C.F.Meares, D.A.Goodwin, C.I.Diamanti. *J. Med. Chem.*, **17**, 1304 (1974)
- S.J.DeNardo, J.J.Jungerman, G.L.DeNardo, M.C.Lagunas-Solar, W.C.Cole, C.F.Meares. In *The Developing Role of Short-lived Radionuclides in Nuclear Medical Particles*. (Eds P.Paras, J.W.Thiessen). US Department of Energy, Washington, 1984. P.399
- C.F.Meares, D.A.Goodwin, C.S.-H. Leung, A.Y.Girgis, D.J.Silvester, A.D.Nunn, P.J.Lavender. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **73**, 3803 (1976)
- L.H.DeRiemer, C.F.Meares, D.A.Goodwin, C.I.Diamanti. *J. Med. Chem.*, **22**, 1019 (1979)
- D.A.Goodwin, C.F.Meares, L.H.Riemer, C.I.Diamanti, R.L.Goode, J.E.Baumert, D.J.Sartoris, R.L.Lantieri, H.D.Fawcett. *J. Nucl. Med.*, **22**, 787 (1981)
- D.A.Sheinberg, M.Strand, O.A.Gansow. *Science*, **215**, 1511 (1982)
- F.L.Otsuka, J.B.Fleischman, M.J.Welch. *Nucl. Med. Biol.*, **13**, 325 (1986)
- R.J.Paxton, J.G.Jakowatz, J.D.Beatty, W.G.Vlahos, L.E.Williams, B.R.Clark, J.E.Shively. *Cancer Res.*, **45**, 5694 (1985)
- C.E.Meares, M.J.McCall, D.T.Reardan, D.A.Goodwin, C.I.Diamanti, M.McTiguet. *Anal. Biochem.*, **142**, 68 (1984)
- S.J.DeNardo, Jo-Sen B.Peng, G.L.DeNardo, S.L.Mills, A.L.Epstein. *Nucl. Med. Biol.*, **13**, 303 (1986)
- W.C.Eckelman, C.H.Paik. *Nucl. Med. Biol.*, **13**, 335 (1986)
- A.Lockshin, J.S.Stehlin. *Eur. J. Nucl. Med.*, **12**, 573 (1987)
- D.J.Hnatowich. *Nucl. Med. Biol.*, **13**, 353 (1986)
- N.M.V.Pimm, A.C.Perkins, R.W.Baldwin. *Eur. J. Nucl. Med.*, **12**, 515 (1987)
- D.J.Hnatowich, M.Ruschowski. *J. Nucl. Med.*, **28**, 1294 (1987)
- C.F.Meares, T.G.Wencel. *Acc. Chem. Res.*, **17**, 202 (1984)
- B.A.Khaw, J.T.Fallon, H.W.Strauss, E.Haber. *Science*, **209**, 295 (1980)
- M.D.Loberg, M.Cooper, E.Harvey, P.Callery, W.Faith. *J. Nucl. Med.*, **17**, 633 (1976)
- R.J.Baker, C.L.Diamanti, D.A.Goodwin, C.F.Meares. *Int. J. Nucl. Biol.*, **8**, 159 (1981)
- C.F.G.C.Geraldes, M.p.M.Marques, A.D.Sherry. *Inorg. Chim. Acta*, **139**, 311 (1987)
- S.C.Wang, M.G.Wikstroem, M.E.Mosley, R.C.Brach. *Radiology*, **175**, 483 (1990)
- P.F.Sieving, A.D.Watson, S.M.Rocklage. *Bioconjugate Chem.*, **1**, 65 (1990)
- V.M.Mukkala, H.Mikola, I.Hemmila. *Anal. Biochem.*, **186**, 319 (1989)
- A.Canfi, M.P.Bailey, B.F.Rocks. *Analyst*, **114**, 1405 (1989)
- И.В.Пономарева, А.П.Савитский, К.Л.Шаханина, А.А.Щеголев. *Иммунология*, (4), 76 (1989)
- M.Hartikka, P.Vihko, M.Sodervall, L.Nakalahti, P.Tourniainen, R.Vihko. *Eur. J. Nucl. Med.*, **15**, 157 (1989)
- PJT Int WO 9101144; *Chem. Abstr.*, **115**, 35713e (1991)
- Пат.5021511 США; *Chem. Abstr.*, **116**, 2915q (1992)
- Пат. 5089663 США; *Chem. Abstr.*, **117**, 43667z (1992)
- Пат. 403243 Европа; *Chem. Abstr.*, **115**, 13678j (1991)
- A.L.Klebanov, M.A.Slinkin, V.P.Torchilin. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **22**, 45 (1989)
- C.H.Paik, M.A.Ebbert, P.R.Murphy, C.R.Lassman, C.R.Reba, W.C.Eckelman, K.Y.Pak, J.Powe, Z.Stepkowski, H.Koprowski. *J. Nucl. Med.*, **24**, 1158 (1983)
- A.Najafi, R.C.Chields, D.J.Hnatowich. *Int. J. Appl. Radiat. Isot.*, **35**, 554 (1984)
- В.Я.Темкина, Н.В.Цирульникова, Н.П.Демина. *Тез. докл. VI Междунар. конф. по органическому синтезу*. Москва, 1986
- Н.В.Цирульникова, В.Я.Темкина, Н.П.Демина, Н.А.Егорушкина. В кн. *Химия комплексонов и их применение*. ИРЕА. Москва, 1985. С.32
- Н.В.Цирульникова, Н.П.Демина, Д.Г.Даниелян, И.В.Карандеева, В.Я.Темкина. *Журн. общ. химии*, **60**, 734 (1990)
- M.W.Brechbiel, O.A.Gansow, R.W.Atcher, J.Schlom, J.Esteban, D.E.Simpson, D.Colcher. *Inorg. Chem.*, **25**, 2772 (1986)
- S.V.Despande, R.Subramanian, M.J.McCall, S.J.DeNardo, J.L.DeNardo, C.F.Meares. *J. Nucl. Med.*, **31**, 218 (1990)
- J.Altman, N.Shoe, M.Wilchek, A.Warshawsky. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 365 (1983)
- T.J.McMurry, M.Brechbiel, K.Kumar. *Bioconjugate Chem.*, **3**, 108 (1992)
- D.J.Hnatowich, J.McGann. *Nucl. Med. Biol.*, **14**, 563 (1987)

60. R.S.Yongquist, P.B.Dervan. *J. Am. Chem. Soc.*, **107**, 5528 (1985)
61. K.G.Blomberg, C.Grandberg, I.Hemmila, T.Loevgren. *J. Immunol. Methods*, **92**, 117 (1986)
62. S.M.Yeh, D.G.Sherman, C.F.Meares. *Anal. Biochem.*, **100**, 152 (1979)
63. C.S.-H.Leung, C.F.Meares. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **75**, 149 (1977)
64. D.J.Hnatowich, F.Virzi, P.W.Doherty. *J. Nucl. Med.*, **26**, 503 (1985)
65. A.Lockshin, B.C.Giovanella, T.Kozielski, J.S.Stehlin. *Cancer Lett.*, **24**, 179 (1984)
66. S.V.Despande, S.J.DeNardo, D.L.Kukis, M.K.Moi, M.J.McCall, G.L.DeNardo, C.F.Meares. *J. Nucl. Med.*, **31**, 473 (1990)
67. Y.C.C.Lee, L.C.Washburn, T.T.H.Sun, B.L.Byrd, J.E.Crook, E.C.Holloway, Z.Steplewski. *Cancer Res.*, **50**, 4546 (1990)
68. C.H.Mathias, Y.Sun, M.J.Welch, J.M.Connett, G.W.Philpott, A.E.Martell. *Bioconjugate Chem.*, **1**, 204 (1990)
69. S.Nakajima, H.Hayashi, K.Oshima. *Photochem. Photobiol.*, **46**, 783 (1987)
70. Пат. 4668503 США; *Chem. Abstr.*, **107**, 242600r (1987)
71. S.V.Despande, S.J.DeNardo, C.F.Meares, M.J.McCall, G.P.Adams, G.L.DeNardo. *Nucl. Med. Biol.*, **16**, 587 (1989)
72. M.D.Ogan, U.Schmiedl, M.E.Moseley, W.Grodd, H.Paajanen, R.C.Brasch. *Invest. Radiol.*, **22**, 665 (1987)
73. PCT Int. App. WO 90.01.024; *Chem. Abstr.*, **113**, 203922b (1990)
74. M.Boidot-Forget, T.T.Nguyen, M.Chassignol, C.Helene. *C. R. Acad. Sci., Ser.2*, **302**, 75 (1986)
75. C.Curtet, C.Bourgoin, J.Bohy, J.C.Saccavini, P.Thedrez, S.Alkoka, C.Tellier, J.F.Chatal. *Int. J. Cancer. Suppl.*, **21**, 126 (1988)
76. Пат.3625417 Германия; *Chem. Abstr.*, **109**, 6552x (1988)
77. V.Balzani, R.Ballardini. *Photochem. Photobiol.*, **52**, 409 (1990)
78. В.И.Шишкин, Е.А.Грачева, Т.А.Приходько, В.И.Высочин, В.Н.Сильников, С.О.Доронина, Н.П.Лукьянчук, А.В.Дорогина, Е.Н.Кузнецова. *Изв. СО АН СССР. Сер. хим. наук*, (2), 3 (1990)
79. J.R.Duffield, F.Marsicano, D.R.Williams. *Polyhedron*, **10**, 1105 (1991)
80. P.M.May, K.Murray. *Talanta*, **38**, 1409, 1419 (1991)
81. K.Burger. *Bio-coordination Chemistry; Coordination Equilibria in Biologically Active Systems*. Ellis Horwood, Chichester, UK, 1990
82. L.G.Sillen, A.E.Martell. *Stability Constants of Metal-Ion Complexes*. Chemical Society, London, 1964
83. L.G.Sillen, A.E.Martell. *Stability Constants of Metal-Ion Complexes. Suppl.1*, Chemical Society, London, Burlington, 1971
84. D.D.Perrin. *Stability Constants of Metal Complexes. Part B. Organic Ligands*. Pergamon Press, Oxford, 1979
85. A.E.Martell, R.M.Smith. *Critical Stability Constants. V.I–VI*. Plenum, New York; London, 1974–1988
86. G.Anderegg. In *Comprehensive Coordination Chemistry. V.2*. (Ed. G.Wilkinson). Pergamon Press, Oxford, 1987. P.777
87. G.Anderegg. *Pure Appl. Chem.*, **54**, 2693 (1982)
88. G.Anderegg. *Critical Survey of Stability Constants of EDTA Complexes. (IUPAC Chem. Data Series). V.14*. Pergamon Press, Oxford, 1977
89. *IUPAC Stability Constants Database*. (Eds L.D.Pettit, H.K.Powell). Academic Software, 1993
90. K.B.Subramanian, W.Wolf. *J. Nucl. Med.*, **31**, 480 (1990)
91. E.N.Rizkala, G.R.Choppin, W.D.Olieslager. *Inorg. Chem.*, **25**, 2327 (1986)
92. H.Stetter, W.Frank. *Angew. Chem.*, **88**, 760 (1976)
93. M.F.Loncin, J.F.Destreux, E.Merciny. *Inorg. Chem.*, **25**, 2646 (1986)
94. К.Б.Яцимирский. *Теорет. и эксперим. химия*, **16**, 16 (1980)
95. К.Б.Яцимирский. *Журн. неорг. химии*, **28**, 2995 (1983)
96. А.Д.Помогайло, И.Е.Уфлянд. *Макромолекулярные металлохелаты*. Химия, Москва, 1991
97. М.Бек, И.Надыпал. *Исследование комплексообразования новейшими методами*. Мир, Москва, 1989
98. Г.Шварценбах, Г.Флашка. *Комплексонометрическое титрование*. Химия, Москва, 1970
99. A.Ringbom. *J. Chem. Educ.*, **35**, 282 (1958)
100. А.А.Амшеева. *Журн. аналит. химии*, **33**, 1054 (1978)
101. J.Shubert. *Environ. Health Perspect.*, **40**, 227 (1981)
102. D.D.Perrin, R.P.Agarwal. In *Metal Ions in Biological Systems. V.2. Mixed Ligand Complexes*. Marcel Dekker, New York, 1973
103. G.Sosnovsky. N.U.M.Rao. *Eur. J. Med. Chem.*, **23**, 517 (1988)
104. D.W.Margerum, G.R.Cayley, D.C.Weatherburn, G.K.Pagenkopf. In *Coordination Chemistry*. (Ed. A.E.Martell). American Chemical Society, Washington, DC, 1978
105. S.M.Yeh, C.F.Meares, D.A.Goodwin. *J. Radioanal. Chem.*, **53**, 327 (1979)
106. C.F.C.Geraldes, A.D.Sherry, W.P.Cacheris, K.T.Kuan, R.D.Brown, S.H.Koenig. M.Spiller. *Magn. Reson. Med.*, **8**, 191 (1988)
107. К.И.Попов. Дис. д-ра хим. наук, ИРЕА, Москва, 1991
108. M.A.Porai-Koschits. *Sov. Sci. Rev. C, Chem.*, **10**, 149 (1987)
109. М.А.Порай-Кошиц, Т.Н.Полынова. *Координац. химия*, **10**, 725 (1984)
110. Т.Н.Полынова, М.А.Порай-Кошиц. В кн. *Кристаллохимия. (Итоги науки и техники). Т.18*. Изд-во ВИНТИ, Москва, 1984. С.64
111. H.R.Maecke, A.Riesen, W.Ritter. *J. Nucl. Med.*, **30**, 1235 (1989)
112. R.F.Evilia. *Inorg. Chem.*, **24**, 2076 (1985)
113. D.S.Everhart, R.F.Evilia. *Inorg. Chem.*, **16**, 120 (1977)
114. T.Frank, R.F.Evilia. *Inorg. Chim. Acta*, **171**, 107 (1990)
115. J.Oakes, E.G.Smith. *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1*, **79**, 543 (1983)
116. S.Koch. *Z. Chem.*, **30**, 300, 301 (1990)
117. J.K.Hovey, L.G.Hepler. *Inorg. Chem.*, **27**, 3442 (1988)
118. K.Yoshitani. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **58**, 1646 (1985)
119. К.И.Попов, А.Г.Вендило, Н.М.Дятлова. *Magn. Reson. Chem.*, **29**, 301 (1991)
120. К.И.Попов, И.И.Сейфуллина, Т.П.Баталова. *Координац. химия*, **17**, 452 (1991)
121. К.И.Попов, А.Г.Вендило, Н.М.Дятлова. *Докл. АН СССР*, **314**, 660, (1990)
122. К.И.Попов, Н.Е.Ковалева, Н.А.Каслина. *Журн. неорг. химии*, **35**, 2048 (1990)
123. H.Sakane, I.Watanabe, S.Ikeda. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **62**, 1513 (1989)
124. A.A.Keeling, A.T.M.Vaughan, R.P.Beaney. *Br. J. Cancer*, **60**, 74 (1989)
125. Пат.210043 Европа; *Chem. Abstr.*, **108**, 128096b (1988)
126. A.D.Sherry. *J. Less-Common Met.*, **149**, 133 (1988)
127. B.Bounemain, J.Lauton, D.Meyer, D.Doucet. *Inst. Natl. Sante. Rech. Med. (Collogn)*, 61 (1987); *Chem. Abstr.*, **108**, 127733v (1988)
128. J.C.Bosquet, S.Saini, D.D.Stark, P.F.Hahn, M.Nigam, J.Wittenberg, J.T.Ferrucci. *Radiology (Easton Pa)*, **166**, 693 (1988); *Chem. Abstr.*, **108**, 164124t (1988)
129. Пат.3640708 Германия; *Chem. Abstr.*, **110**, 160386y (1989)
130. A.E.Frost, H.H.Freedman, S.J.Westerback, A.E.Martell. *J. Am. Chem. Soc.*, **80**, 530 (1958)
131. G.Anderegg, F.L'Eplattenier. *Helv. Chim. Acta*, **47**, 1067 (1964)
132. C.J.Bannochie, A.E.Martell. *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 4735 (1989)
133. Пат. 4899755 США; *Chem. Abstr.*, **113**, 94083f (1990)
134. J.E.Bradshaw, D.Alsop, P.Joseph, H.Kressel, H.F.Kung. In *Proceedings of Scientific Meeting. Society MR in Medicine. V.2*. New York, 1993. P.750
135. M.G.Patch, K.P.Simolo, C.J.Carrano. *Inorg. Chem.*, **22**, 2630 (1983)
136. Пат. 4730066 США; *Chem. Abstr.*, **109**, 69623s (1988)
137. Пат. 4746507 США; *Chem. Abstr.*, **110**, 188570c (1989)
138. F.J.L'Eplattenier, I.Murase, A.E.Martell. *J. Am. Chem. Soc.*, **89**, 837 (1967)
139. N.A.Bailey, D.Cummins, E.D.McKenzie, J.M.Worthington. *Inorg. Chim. Acta*, **50**, 111 (1981)
140. P.E.Riley, V.L.Pecoraro, C.J.Carrano. K.N.Raymond. *Inorg. Chem.*, **22**, 3096 (1983)
141. C.H.Taliaferro, R.J.Motekaitis, A.E.Martell. *Inorg. Chem.*, **23**, 1188 (1984)
142. S.K.Larsen, B.G.Jenkins, N.G.Memon, R.B.Lauffer. *Inorg. Chem.*, **29**, 1147 (1990)
143. C.H.Taliaferro, A.E.Martell. *J. Coord. Chem.*, **13**, 249 (1984)
144. C.H.Taliaferro, A.E.Martell. *Inorg. Chem.*, **24**, 2408 (1985)
145. Y.Sun, A.E.Martell, R.J.Motekaitis. *Inorg. Chem.*, **25**, 4780 (1986)
146. F.Maisano, L.Gozzini, C.de Haen. *Bioconjugate Chem.*, **3**, 212 (1992)
147. C.P.King, R.P.Quisling, F.E.Armitage, D.Richardson, C.Mladinich. *Magn. Reson. Imaging.*, **10**, 439 (1992)
148. A.Albert. *Selective Toxicity*. Chapman and Hall, London, 1979
149. H.Gerson, R.Parmegiani. *Appl. Microbiol.*, **11**, 62 (1963)

150. H.S.Weinman, R.C.Brash, W.R.Press. *Am. J. Rentgenol.*, **142**, 619 (1984)
151. П.В.Сергеев, Н.Л.Шимановский, В.О.Панов. *Хим.-фармацевт. журн.*, (5), 540 (1989)
152. M.S.Konings, W.C.Dow, D.B.Love, K.N.Raymond, S.C.Quay, S.M.Rocklage. *Inorg. Chem.*, **29**, 1488 (1990)
153. H.Gries, H.Miklantz. *Physiol. Chem. Phys. Med. NMR*, **16**, 105 (1984)
154. Пат. 06135932 Япония; *Chem. Abstr.*, **121**, 199783c (1994)
155. B.Sun. *Koku Igaku*, **31**, 473 (1994); *Chem. Abstr.*, **121**, 152291a (1994)
156. M.K.Dewanjee, A.K.Ghafouripour, M.Karadvanjwals, S.Dewanjee, A.N.Serafini, D.M.Lopez, G.N.Sfakianakis. *J. Nucl. Med.*, **35**, 1054 (1994)
157. Пат.592306 Европа; *Chem. Abstr.*, **121**, 103232y (1994)
158. Пат.5292938 США; *Chem. Abstr.*, **121**, 30073k (1994)
159. C.Wu, M.W.Brechbiel, R.W.Kozak, O.A.Gansow. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **4**, 449 (1994)
160. P.W.Durbin, D.L.White, N.Jeung, F.L.Weitl, L.C.Uhlig, E.A.Jones, F.W.Bruenger, K.N.Raymond. *Health Phys.*, **56**, 839 (1989)

BIFUNCTIONAL COMPLEXONES

K.I.Popov, N.V.Tsirulnikova, N.M.Dyatlova

*The State Scientific-Research Institute of Chemical Reagents and High Purity Chemical Substances
3, Bogorodskii Val, 107076 Moscow, Russian Federation, Fax +7(095)963–7483
Moscow State Academy of Food Industry
11, Volokolamskoe Shosse, 125080 Moscow, Russian Federation*

The data on synthesis, chemical properties, structures and applications of bifunctional complexones and their conjugates are reviewed. Some trends of ligands selection are considered.

Bibliography — 160 references.

Received 7th March 1995