

Синтез и свойства Cu- и Pd-комплексов конъюгатов циклена с феофорбидом и бактериофеофорбидом

А.С. Смирнов[@], М.А. Грин, А.Ф. Миронов

*МИРЭА – Российский технологический университет (Институт тонких химических технологий
имени М.В. Ломоносова), Москва 119571, Россия*

[@] Автор для переписки, e-mail: a.smir.on.off@yandex.ru

Цели. Фотосенсибилизаторы на основе хлоринов и бактериохлоринов являются эффективными агентами для фотодинамической терапии и флуоресцентной визуализации рака. Кроме того, они представляют собой отличные хелаторы, образующие стабильные металлокомплексы, а изотопы ⁶⁴Cu и ¹⁰⁹Pd могут служить в качестве излучателей для ядерной медицины. Хелатирование таких металлов с конъюгатами циклена с хлориновыми и бактериохлориновыми фотосенсибилизаторами может стать простой и универсальной стратегией синтеза диагностических и терапевтических радиофармацевтических препаратов для ядерной медицины. В настоящем исследовании сообщается о синтезе подобных Cu- и Pd-комплексов конъюгатов циклена с феофорбидом и бактериофеофорбидом и исследовании их фотофизических свойств.

Методы. Металлирование конъюгатов циклена проводилось ацетатами палладия и меди, для бактериохлоринов дополнительно использовали 6-О-пальмитоил-L-аскорбиновой кислоты в качестве восстановителя. Структуру полученных соединений подтверждали с помощью MALDI-масс-спектрометрии, которую проводили на время-пролетном масс-спектрометре Bruker Ultraflex TPF/TOF и Bruker Daltonics Autoflex II. Электронные спектры поглощения регистрировали на спектрофотометре Shimadzu 3101. Спектры флуоресценции и фосфоресценции были получены на спектрофлуориметре FluoTime 300 PicoQuant.

Результаты. Фотофизические исследования металлокомплексов показали, что введение катионов палладия приводит к тушению флуоресценции и увеличению квантового выхода синглетного кислорода до 0.98 для хлоринового конъюгата, а также уменьшению квантового выхода флуоресценции до 0.10 и увеличению квантового выхода синглетного кислорода до 0.72 для бактериохлоринового конъюгата. Введение катиона меди к конъюгатам циклена с феофорбидом и бактериофеофорбидом приводит к тушению фотофизических характеристик.

Заключение. Устойчивость синтезированных металлокомплексов в кислых средах, а также небольшое время металлирования (5, 20, 10 и 15 мин соответственно) позволяет ожидать успешное создание эффективных визуализирующих агентов для позитронно-эмиссионной томографии и радионуклидной терапии, а остаточная флуоресценция бактериохлоринов делает возможным применение флуоресцентной диагностики в комбинации с данными методами.

Ключевые слова: металлокомплексы, бактериохлорины, хлорины, тераностика, циклен, палладий, медь, ФДТ.

Для цитирования: Смирнов А.С., Грин М.А., Миронов А.Ф. Синтез и свойства Cu- и Pd-комплексов конъюгатов циклена с феофорбидом и бактериофеофорбидом. *Тонкие химические технологии*. 2019;14(6):95-103. <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2019-14-6-95-103>

Synthesis and properties of Cu- and Pd-complexes of cyclen conjugates with pheophorbide and bacteriopheophorbide

Alexander S. Smirnov[@], Mikhail A. Grin, Andrey F. Mironov

MIREA – Russian Technological University (M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies), Moscow 119571, Russia

[@]Corresponding author, e-mail: a.smir.on.off@yandex.ru

Objectives. Chlorin and bacteriochlorin photosensitizers are effective agents for cancer photodynamic therapy and fluorescence imaging. They are also excellent chelators forming stable metal complexes. Besides, ⁶⁴Cu and ¹⁰⁹Pd isotopes can serve as emitters for nuclear medicine. Chelation of these metals with cyclen conjugates with chlorin and bacteriochlorin photosensitizers can become a simple and universal strategy for the synthesis of diagnostic and therapeutic radiopharmaceuticals for nuclear medicine. This article reports on the synthesis of similar Cu and Pd complexes of cyclen conjugates with pheophorbide and bacteriopheophorbide and the study of their photophysical properties.

Methods. Metalation of cyclen conjugates was carried out with palladium and copper acetates. For bacteriochlorins, 6-O-palmitoyl-L-ascorbic acid was additionally used as a reducing agent. MALDI mass spectrometry, which was carried out on a time-of-flight mass spectrometer Bruker Ultraflex TPF/TOF and a Bruker Daltonics Autoflex II confirmed the structure of the compounds obtained. Electronic absorption spectra were obtained on a Shimadzu 3101 spectrophotometer. Fluorescence and phosphorescence spectra were obtained on a FluoTime 300 PicoQuant spectrofluorometer.

Results. Photophysical studies of metal complexes showed that the introduction of palladium cations quenches fluorescence and increases the quantum yield of singlet oxygen generation to 0.98 for the chlorin conjugate. Besides, it decreases the quantum yield of fluorescence to 0.10 and increases the quantum yield of singlet oxygen generation to 0.72 for the bacteriochlorin conjugate. Introducing a copper cation to cyclen conjugates with pheophorbide and bacteriopheophorbide leads to photophysical characteristics quenching.

Conclusions. Due to the stability of the synthesized metal complexes in acidic media, as well as the short metalation time (5, 20, 10, and 15 minutes) it is reasonable to expect the successful development of effective imaging agents for positron emission tomography and radionuclide therapy. In addition, the residual fluorescence of bacteriochlorins makes it possible to use fluorescence diagnostics in combination with these methods.

Keywords: metal complexes, bacteriochlorins, chlorins, theranostics, cyclen, palladium, copper, photodynamic therapy.

For citation: Smirnov A.S., Grin M.A., Mironov A.F. Synthesis and properties of Cu- and Pd-complexes of cyclen conjugates with pheophorbide and bacteriopheophorbide. *Tonk. Khim. Tekhnol. = Fine Chem. Technol.* 2019;14(6):95-103 (in Russ.). <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2019-14-6-95-103>

Введение

Для молекулярной визуализации злокачественных новообразований могут быть использованы различные физические методы, среди которых заметное место занимают однофотонная эмиссионная компьютерная томография (ОФЭКТ), позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ), магнитно-резонансная томография (МРТ) и флуоресцентная диагностика (ФД). Каждый из этих способов обработки изображений имеет как сильные, так и слабые стороны. Объединение различных методов позволяет преодолеть имеющиеся ограничения. Важную роль при этом

играют соединения, обладающие различными, но взаимодополняющими физическими свойствами. В этом случае возможно объединение двух модальных единиц, например, флуоресцентного красителя и хелатора, содержащего Gd, с образованием бифункционального агента для одновременного применения в ФД/МРТ. Этот тип агентов рассчитан на соотношение 1:1 (например, биметаллический комплекс с соотношением 1:1 Gd/Cu) [1]. В случае МРТ и ПЭТ из-за различной чувствительности методов эта система может быть использована лишь при разбавлении радиоактивного изотопа «холодными» ионами меди. Той и коллеги сообщили о синтезе гетеродимерного

полиаминокарбоксилатного лиганда DO3A-AAZTA (1,4,7,10-тетраазамакроциклодекан-1,4,7-триуксусная кислота – 1,4-бис(карбоксиметил)-6-[бис(карбоксиметил)]-амино-6-метилпергидро-1,4-дiazепин) и его гетеродитопного комплекса Gd(III)-Ga(III) для применения в качестве контрастного агента МРТ/ПЭТ [2]. Гуерих и сотр. описали синтез серии новых бимодальных зондов, объединяющих фталоцианин цинка (ZnPc) для формирования флуоресценции и $^{68}\text{Ga}/1,4,7,10$ -тетраазамакроциклодекан-*N,N',N'',N'''*-тетрауксусную кислоту (DOTA) или $^{64}\text{Cu}/1,4,7$ -триазамакроциклодекан-1,4,7-триуксусную кислоту (NOTA) для ПЭТ-изображений [3]. Ким и сотр. описали синтез бимодального зонда Gd(III)/ ^{125}I -RGD-DOTA для ОФЭКТ/МРТ [4]. Десбоис и коллеги получили димерные лиганды с двумя различными хелатирующими макроциклами – один на основе производного DOTA для комплексообразования Gd(III) для усиления контраста в методе МРТ и с использованием коринового макроцикла для ^{64}Cu -комплексообразования в радионуклидной визуализации [1]. Вагхорн и коллеги в своей работе использовали ^{109}Pd в качестве радиоизотопа для радионуклидной терапии (РТ), при этом было показано, что гематопорфирин с изотопами ^{64}Cu и ^{109}Pd обладает значительной тропностью к опухоли, преимущественно с локализацией в митохондриях [5].

Интересно, что хелатирующий DOTA-подобный тетраазамакроцикл может быть использован для комплексообразования различных ионов металлов, обычно приводящих к стабильным гетеробиметаллическим комплексам. Например, гадолиниевый комплекс DOTA в настоящее время используется в качестве вено-сосудистого контрастного агента для МРТ [6].

Различные хелатирующие лиганды предложены для радиоизотопов меди, такие как полиаминокарбоксилаты, циклические полиамины, тетрааза-макроциклы и бис-тиосемикарбазоны [7]. Выбор реагентов во многом зависит от стабильности образующихся комплексов. Ациклические хелаты не обладают достаточной кинетической стабильностью, поэтому более предпочтительными являются макроциклические лиганды [8]. Термодинамическая устойчивость соответствующих классов лигандов для комплексов Cu(II) уменьшается в следующем порядке: гексааза-кейсы > тетраазамакроциклы > полиаминофосфонаты > полиаминокарбоксилатные макроциклы > открытые аминокислоты [7]. DOTA является наиболее часто используемым макроциклическим хелатором металлов, включая ^{64}Cu , в радиофармацевтических исследованиях [9]. Однако DOTA не является идеальным лигандом для ^{64}Cu из-за медленной кинетики реакции [10]. 1,4,7-Триазамакроциклодекан-1,4,7-триуксусная кислота, а также перекрестно-мостиковая 1,4,8,11-тетраазамакроциклодекан-1,4,8,11-тетрауксусная кислота обладают

большой стабильностью по сравнению с DOTA, но требуют жестких условий радиоактивной маркировки [11]. Наиболее распространенным комплексом ^{64}Cu является диацетил-бис-(*N*-4-метилтиосемикарбазон (ATSM) [12]. Липофильные молекулы этого комплекса селективно поглощаются гипоксическими тканями и, в связи с этим могут быть использованы для обнаружения подобных областей при нарушениях в сердечной системе.

С другой стороны, быстрое комплексообразование ионов металлов с лигандом является важным критерием при разработке радиофармацевтических препаратов, поскольку в ряде случаев время жизни радиоизотопа соизмеримо со временем приготовления комплекса и его применением. Это серьезное ограничение многих методик радиоактивной маркировки, в которых используется длительное время инкубации (до 1 часа) и избыток лиганда для достижения достаточного выхода комплексообразования. В ряде случаев наличие избытка лиганда в составах является нежелательным, так как многие таргет-агенты обладают собственной биологической активностью.

Среди многочисленных хелатообразующих лигандов заметное место занимает обширный класс природных и синтетических порфиринов. Это связано с высоким сродством этих соединений к различным металлам и повышенной тропностью к злокачественным новообразованиям [13]. Комплексы порфиринов и их гидрированных аналогов (хлорины и бактериохлорины) широко используются в фотодинамической терапии рака (ФДТ). Известный фотосенсибилизатор Padeliporfin (Pd-комплекс бактериохлорина) используется для флуоресцентной диагностики и терапии различных видов опухолей [14]. Порфирины и их гидрированные аналоги являются перспективными хелаторами и транспортными средствами для доставки радиоизотопов меди в пораженные ткани [15]. Они обладают способностью хелатировать ионы металлов за счет системы четырех атомов азота макроцикла с ионным радиусом около 70 пм (ионный радиус Cu^{2+} составляет 72 пм). Комплексы, хотя и характеризуются высокими значениями констант устойчивости, но имеют сравнительно «плохую» кинетику образования. Указанное ограничение было устранено путем использования механизма, включающего образование SAT-комплекса (sitting-a-top) [16]. Хелатирующие свойства существенно не зависят от типа и количества заместителей в кольце, позволяя применять подходящий амфифильный конъюгат для получения ПЭТ-изображений.

В настоящей работе нами были разработаны методы получения палладиевых и медных комплексов с производными природных хлоринов с DOTA, синтез которых был описан нами ранее [17], в качестве потенциальных диагностических и терапевтических

радиофармацевтических препаратов для ядерной медицины. Использование изотопов ^{109}Pd и ^{64}Cu в порфириновом макроцикле с последующим введением Gd или Ga в цикленовую полость позволит получить многофункциональные зонды для сочетания методов диагностики и терапии (ФД/РТ/ПЭТ, ФД/МРТ/ФДТ и т. д.)

Результаты и их обсуждение

Введение катионов металлов в хлориновый и бактериохлориновый макроциклы принципиально меняет свойства полученных структур и является перспективным направлением при создании контрастных агентов для диагностики и терапии. Известно, что в ряду порфирины–хлорины–бактериохлорины батохромное смещение основной полосы

поглощения Q сопровождается снижением собственной флуоресценции этих соединений. Введение металлов в порфирины и хлорины, но не бактериохлорины, тушит флуоресценцию, что сильно ограничивает возможность исследования подобных структур в дальнейших биологических испытаниях. Как было продемонстрировано ранее, наличие двух координационных полостей в конъюгатах **1** и **4** (схема) делает возможным получение гомо- и гетероядерных металлокомплексов, которые могут быть востребованы в флуоресцентной диагностике, магнитно-резонансной и позитронно-эмиссионной томографии, а также радионуклидной терапии и фотодинамической терапии рака [17].

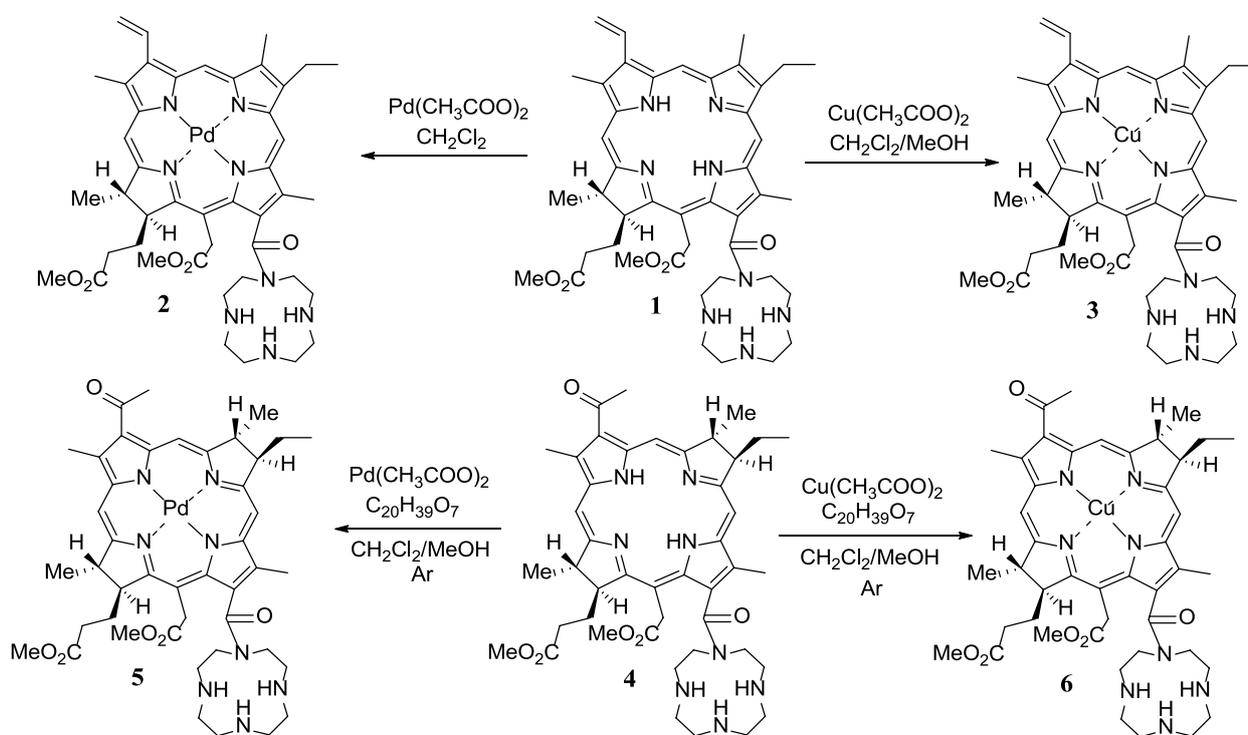


Схема. Введение ионов металла в координационную сферу конъюгатов метилфеофорбида *a* и метилбактериофеофорбида *a* с цикленом.

Scheme. Introduction of metal ions into the coordination sphere for conjugates of methylpheophorbide *a* and methylbacteriopheophorbide *a* with cyclen.

Региоселективное введение катиона палладия в хлориновый макроцикл конъюгата **2** проводили в мягких условиях без нагревания с использованием ацетата палладия (см. схему). За протеканием реакции и образованием металлокомплекса **2** следили по гипсохромному смещению полосы поглощения с 664 до 624 нм. Аналогичным образом была проведена реакция получения медного комплекса **3**. Образованием металлокомплекса контролировали по гипсохромному смещению полосы поглощения с 664 до 640 нм (рис. 1).

Присутствие катионов палладия и меди в конъюгатах **2** и **3** наглядно подтверждалось масс-спектрами MALDI по наличию молекулярных ионов и групп сигналов, соответствующих основным изотопам палладия и меди.

На основании данных табл. 1 следует, что при введении катиона Pd^{2+} в хлориновый макроцикл значительно тушится флуоресценция исходного конъюгата **1**, тогда как фотосенсибилизирующая активность металлокомплекса **2**, которая оценивалась на основании квантового выхода генерации синглетно-

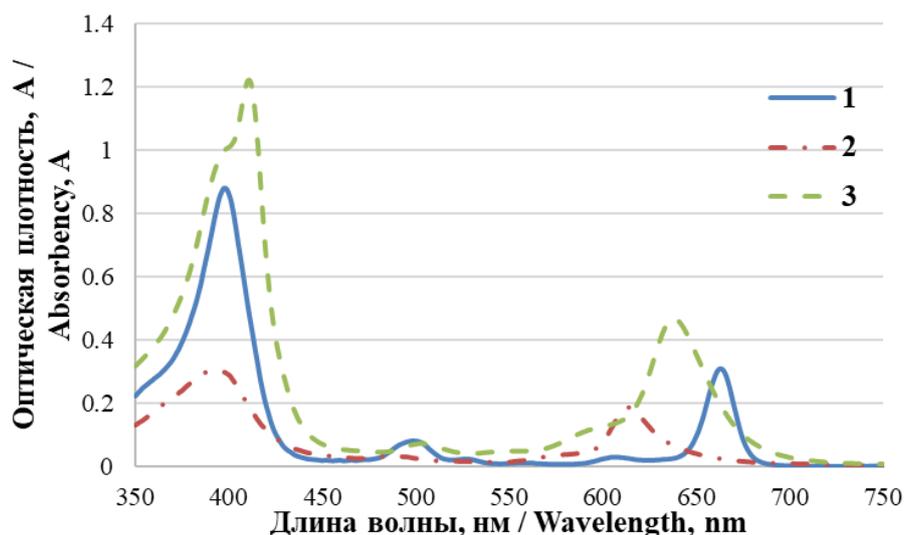


Рис. 1. Спектры поглощения конъюгата метилфеофорбида *a* с цикленом (1), Pd-комплекса хлорин-цикленового конъюгата (2), Cu-комплекса хлорин-цикленового конъюгата (3).

Fig. 1. Absorption spectra for methylpheophorbide *a* conjugate with cyclen (1), Pd complex of chlorin-cyclen conjugate (2), and Cu complex of chlorin-cyclen conjugate (3).

го кислорода (Φ_{Δ}) с использованием 1,3-дифенилизобензофурана (ДФИБФ) в качестве химической ловушки, увеличивалась до 98%, что позволяет сделать вывод о высоком фотодинамическом потен-

циале данного металлокомплекса. В свою очередь, введение катиона Cu^{2+} приводит к характерному подавлению основных фотофизических характеристик, Φ_{Δ} и Φ_F .

Таблица 1. Квантовые выходы флуоресценции (Φ_F) и генерации синглетного (Φ_{Δ}) кислорода хлорин-цикленового конъюгата и его Pd-комплекса

Table 1. Quantum yields for fluorescence (Φ_F) and singlet oxygen generation (Φ_{Δ}) of the chlorin-cyclen conjugate and its Pd complex

Соединение / Compound	Квантовый выход флуоресценции Φ_F / Fluorescence quantum yield Φ_F	Квантовый выход синглетного кислорода Φ_{Δ} / Singlet oxygen generation quantum yield Φ_{Δ}
1	0.266±0.005	0.71
2	0.0005	0.98
3	–	–

Далее нами были получены палладиевые и медные комплексы конъюгата бактериофеофорбида *a* с цикленом 4. Ранее Шерц с сотр. показали, что введение металла в бактериохлорины проходит гораздо быстрее в присутствии восстановителей [18]. Используя эти данные, мы обрабатывали конъюгат 4 ацетатом палладия в присутствии 6-*O*-пальмитоил-*L*-аскорбиновой кислоты. Реакцию контролировали спектрофотометрически по гипсохромному смещению основной полосы поглощения с 522 до 515 нм, а также снижению интенсивности флуоресценции, что свидетельствовало об образовании Pd-комплекса 5. Аналогичным образом проводили металлизирование ацетатом меди. Батохромное смещение спектра в полосе с 758 до 767 нм, а также практически полное отсутствие флуоресценции свидетельствует об образовании Cu-комплекса 6 (рис. 2 и рис. 3).

Присутствие катионов палладия и меди в конъюгатах 5, 6 наглядно подтверждалось масс-спектрами MALDI по наличию молекулярных ионов и групп сигналов, соответствующих основным изотопам палладия и меди.

Из данных табл. 2 следует, что при введении катиона Pd^{2+} в бактериохлориновый макроцикл происходит незначительное снижение флуоресценции конъюгата 5, а также остается неизменным время жизни флуоресценции. Сочетание таких параметров у Pd-комплекса 5 сохраняет его терапевтический и диагностический потенциалы. В свою очередь, введение катиона Cu^{2+} приводит к тушению фотофизических характеристик комплекса 6, с сохранением остаточной флуоресценции с максимумом, идентичным соединению 4, что обусловлено частичным введением меди из-за механизма SAT [5].

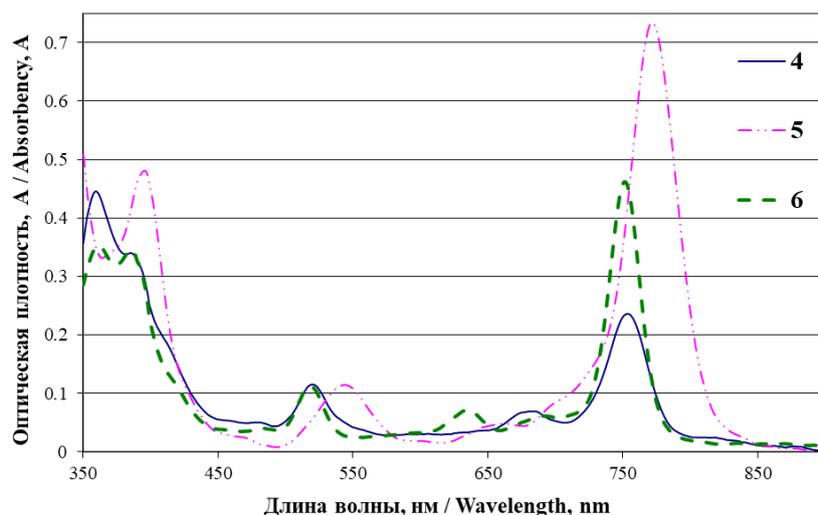


Рис. 2. Спектры поглощения конъюгата метилбактериофеофорбида *a* с цикленом (4), Pd-комплекса бактериохлорин-цикленового конъюгата (5), Cu-комплекса бактериохлорин-цикленового конъюгата (6).

Fig. 2. Absorption spectra of methylbacteriopheophorbide *a* conjugate with cyclen (4), of the Pd complex of bacteriochlorin-cyclen conjugate (5), and of the Cu complex of bacteriochlorin-cyclen conjugate (6).

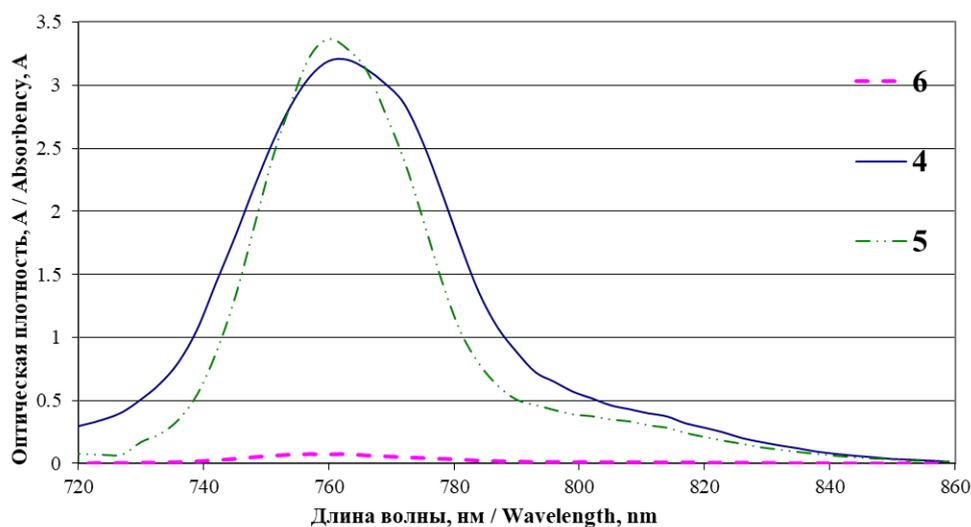


Рис. 3. Спектры флуоресценции конъюгата метилбактериофеофорбида *a* с цикленом (4), Pd-комплекса бактериохлорин-цикленового конъюгата (5), Cu-комплекса бактериохлорин-цикленового конъюгата (6).

Fig. 3. Fluorescence spectra of methylbacteriopheophorbide *a* conjugate with cyclen (4), of the Pd complex of bacteriochlorin-cyclen conjugate (5), and of the Cu complex of bacteriochlorin-cyclen conjugate (6).

Таблица 2. Квантовые выходы флуоресценции (Φ_F), синглетного кислорода (Φ_Δ) и времена жизни флуоресценции (τ_S) конъюгата метилбактериофеофорбида *a* с цикленом (4), Pd-комплекса бактериохлорин-цикленового конъюгата (5), Cu-комплекса бактериохлорин-цикленового конъюгата (6)

Table 2. Quantum yield of fluorescence (Φ_F), of singlet oxygen generation (Φ_Δ) and fluorescence lifetime (τ_S) for methylbacteriopheophorbide *a* conjugate with cyclen (4), for the Pd complex of bacteriochlorin-cyclen conjugate (5), and for the Cu complex of bacteriochlorin-cyclen conjugate (6)

Соединение/ Compound	Квантовый выход флуоресценции Φ_F / Fluorescence quantum yield Φ_F	Время жизни флуоресценции, τ_S , нс/ Fluorescence lifetime, τ_S , ns	Квантовый выход синглетного кислорода Φ_Δ /Singlet oxygen generation quantum yield Φ_Δ
4	0.13	1.75	0.68
5	0.1	1.79	0.72
6	0.0013	—	—

Выводы

Устойчивость синтезированных металлокомплексов в кислых средах, а также небольшое время металлизации (5, 10, 20 и 15 мин соответственно) позволяет ожидать успешное создание эффективных визуализирующих агентов для ПЭТ и РТ, в то же время фактическое отсутствие флуоресценции исключает применение соединений **2**, **3** и **6** в флуоресцентной диагностике.

Таким образом, сочетание физико-химических, фотофизических и спектральных характеристик с учетом небольшого времени металлизации конъюгатов циклена с феофорбидом и бактериофеофорбидом палладием и медью позволяет рассматривать металлокомплексы природных хлоринов как перспективные для применения в ядерной медицине.

Экспериментальная часть

Электронные спектры поглощения получены на спектрофотометре *Shimadzu* 3101. Спектры флуоресценции и фосфоресценции были получены на спектрофлуориметре *FluoTime 300 300 PicoQuant*. Масс-спектры получены на время-пролетном масс-спектрометре *Bruker Ultraflex TPF/TOF* и *Bruker Daltonics Autoflex II* методом MALDI с использованием в качестве матриц 2,5-дигидроксibenзойной кислоты (ДНВ) и *транс*-2-[3-(4-*трет*-бутилфенил)-2-метил-2-пропилиден]малононитрила (DCTB).

Растворители были очищены и подготовлены по стандартным методикам. Все реакции проводили с использованием дегазированных растворителей при защите от прямого света в атмосфере аргона. Для препаративной ТСХ использовали силикагель 60 (*Merck*) на пластинах 20×20 см с толщиной слоя 1 мм. Аналитическую ТСХ проводили на пластинах *Kieselgel 60 F245 (Merck)*.

Pd-комплекс метилового эфира феофорбида *a* с цикленом (2). Растворили 25 мг метилового эфира феофорбида *a* с цикленом (**1**) и 10 мг ацетата палладия в 4 мл CH_2Cl_2 . Ход реакции контролировали спектрофотометрически, регистрируя спектры поглощения проб реакционной смеси каждые 5 мин. После завершения реакции смесь переносили в делительную воронку с водой и экстрагировали ДХМ (2×20 мл) для удаления избытка металлирующего агента. Органический слой высушивали безводным сульфатом натрия, растворитель удаляли в вакууме водоструйного насоса. Полученный продукт был растворен в минимальном количестве ДХМ и очищен методом препаративной ТСХ с применением смеси растворителей: ДХМ/метанол (v/v 30:1). Очищенный конъюгат перекристаллизовали из гексана. Выход: 23.75 мг. Электронный спектр, λ_{max} , нм ($\epsilon \times 10^{-3}$, $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$): 390 (100), 500 (10), 621 (18). Масс-спектр (MALDI), m/z : 893.157 (M^+).

Cu-комплекс метилового эфира феофорбида *a* с цикленом (3). Растворили 25 мг конъюгата **1** в 4 мл CH_2Cl_2 и 4 мг ацетата меди в 2 мл CH_3OH . Реакционную смесь перемешивали в атмосфере аргона. Ход реакции контролировали спектрофотометрически, регистрируя спектры поглощения проб реакционной смеси каждые 5 мин. Через 10 минут реакция завершилась, после чего смесь переносили в делительную воронку с водой и экстрагировали ДХМ (2×20 мл) для удаления избытка ацетата меди. Органический слой высушивали безводным сульфатом натрия, растворитель удаляли в вакууме водоструйного насоса. Полученный продукт растворяли в минимальном количестве ДХМ и очищали методом препаративной ТСХ с применением смеси растворителей ДХМ–метанол (v/v 30:1). Очищенный конъюгат перекристаллизовали из гексана. Выход: 22.25 мг. Электронный спектр, λ_{max} , нм ($\epsilon \times 10^{-3}$, $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$): 388 (100), 502 (12), 638 (35). Масс-спектр (MALDI), m/z : 667.875 (M^+).

Pd-комплекс метилового эфира бактериофеофорбида *a* с цикленом (5). Растворили 25 мг конъюгата метилового эфира бактериофеофорбида *a* с цикленом (**4**) и 17 мг ацетата палладия в 4 мл CH_2Cl_2 и смешали с раствором 76 мг 6-*O*-пальмитоил-*L*-аскорбиновой кислоты в 8 мл CH_3OH . Реакционную смесь перемешивали в атмосфере аргона. Ход реакции контролировали спектрофотометрически. Через 20 мин реакция завершилась, после чего смесь разбавляли водой и экстрагировали ДХМ (2×20 мл) для удаления избытка металлирующего агента. Органический слой высушивали безводным сульфатом натрия, растворитель удаляли в вакууме водоструйного насоса. Полученный продукт растворяли в минимальном количестве ДХМ и очищали методом препаративной ТСХ с применением смеси растворителей ДХМ–метанол (v/v 30:1). Очищенный конъюгат перекристаллизовали из гексана. Выход: 21.25 мг. Электронный спектр, λ_{max} , нм ($\epsilon \times 10^{-3}$, $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$): 351 (75), 515 (43), 750 (112). Масс-спектр (MALDI), m/z : 900.033 (M^+).

Cu-комплекс метилового эфира бактериофеофорбида *a* с цикленом (6). Растворили 20 мг конъюгата **4** и 7 мг ацетата меди в 4 мл CH_2Cl_2 и смешали с раствором 38 мг 6-*O*-пальмитоил-*L*-аскорбиновой кислоты в 4 мл CH_3OH . Реакционную смесь перемешивали в атмосфере аргона. Ход реакции контролировали спектрофотометрически. Через 15 мин реакция завершилась, после чего смесь переносили в делительную воронку с водой и экстрагировали ДХМ (2×20 мл). Следовые количества воды из органического слоя удаляли с помощью сульфата натрия и растворитель упаривали под вакуумом. Полученный продукт был растворен в минимальном количестве ДХМ и очищен методом препаративной ТСХ с применением смеси растворителей ДХМ–метанол (v/v 30:1). Конъюгат **6** перекристаллизовали из гек-

сана. Выход: 17.2 мг. Электронный спектр, λ_{\max} , нм ($\epsilon \times 10^{-3}$, $M^{-1}cm^{-1}$): 389 (100), 542 (75), 767 (245). Масс-спектр (MALDI), m/z : 858.529 (M^+).

Благодарности

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-03-00961.

Acknowledgment

This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research grant No. 18-03-00961.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interest.

Список литературы / References:

- Desbois N., Michelin C., Chang Y., Stupar V., Bonnaud M., Pacquelet S., Gros C.P. Synthetic strategy for preparation of a folate corrole DOTA heterobimetallic Cu–Gd complex as a potential bimodal contrast agent in medical imaging. *Tetrahedron Lett.* 2015;56(51):7128-7131. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tetlet.2015.11.032>
- Vologdin N., Rolla G.A., Botta M., Tei L. Orthogonal synthesis of a heterodimeric ligand for the development of the GdIII–GaIII ditopic complex as a potential pH-sensitive MRI/PET probe. *Org. Biomol. Chem.* 2013;11:1683-1690. <http://dx.doi.org/10.1039/C2OB27200H>
- Ranyuk E., Lebel R., Berube-Lauziere Y., Klarskov K., Lecomte R., van Lier J.E., Guerin B. 68Ga/DOТА- and 64Cu/NOTA-phthalocyanine conjugates as fluorescent/PET bimodal imaging probes. *Bioconj. Chem.* 2013;24:1624-1633. <https://doi.org/10.1021/bc400257u>
- Park J.-A., Kim J.Y., Lee Y.J., Lee W., Lim S.M., Kim T.-J., Yoo J., Chang Y., Kim K.M. Gadolinium complex of 125I/127I-RGD-DOТА conjugate as a tumor-targeting SPECT/MR bimodal imaging probe. *ACS Med. Chem. Lett.* 2013;4:216-219. <https://doi.org/10.1021/ml3003499>
- Waghorn P.A., Labrl J., Radiolabelled porphyrins in nuclear medicine. *Compd. Radiopharm.* 2014;57:304-309. <https://doi.org/10.1002/jlcr.3166>
- Ke T., Feng Y., Guo J., Parker D.L., Lu Z.R. Biodegradable cystamine spacer facilitates the clearance of Gd(III) chelates in poly(glutamic acid) Gd-DO3A conjugates for contrast-enhanced MR imaging. *Magn. Reson. Imaging.* 2006;24:931-940. <https://doi.org/10.1016/j.mri.2006.03.009>
- Smith S.V. Molecular imaging with copper-64. *J. Inorg. Biochem.* 2004;98:1874-1901. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2004.06.009>
- Shi J., Tracy W.B. Liu, Chen J., Green D., Jaffray D., Wilson B.C., Wang F., Zheng G. Transforming a targeted porphyrin theranostic agent into a PET imaging probe for cancer. *Theranostics.* 2011;1:363-370. <http://dx.doi.org/10.7150/thno/v01p0363>
- De Leon-Rodriguez L.M., Kovacs Z. The synthesis and chelation chemistry of DOТА-peptide conjugates. *Bioconj. Chem.* 2008;19:391-402. <http://dx.doi.org/10.1021/bc700328s>
- Chong H.S., Mhaske S., Lin M., Bhuniya S., Song H.A., Brechbiel M.W., Sun X. Novel synthetic ligands for targeted PET imaging and radiotherapy of copper. *Bioinorg. Med. Chem. Lett.* 2007;17:6107-6110. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2007.09.052>
- Sprague J.E., Peng Y., Fiamengo A.L., Woodin K.S., Southwick E.A., Weisman G.R., Synthesis, characterization and in vivo studies of Cu(II)-64-labeled cross-bridged tetraazamacrocyclic-amide complexes as models of peptide conjugate imaging agents. *J. Med. Chem.* 2007;50:2527-2535. <http://dx.doi.org/10.1021/jm070204r>
- Dilworth J.R., Pascu S.I., Waghorn P.A., Vullo D., Bayly S.R., Christlieb M., Sun X., Supuranc C.T. Synthesis of sulfonamide conjugates of Cu(II), Ga(III), In(III), Re(V) and Zn(II) complexes: Carbonic anhydrase inhibition studies and cellular imaging investigations. *Dalton Trans.* 2015;44:4859-4873. <http://dx.doi.org/10.1039/C4DT03206C>
- Mironov A.F. Lanthanide porphyrin complexes. *Russ. Chem. Rev.* 2013;82:333-351. <https://doi.org/10.1070/RC2013v082n04ABEH004300>
- Josefsen L.B., Boyd R.W. Unique diagnostic and therapeutic roles of porphyrins and phthalocyanines in photodynamic therapy, imaging and theranostics. *Theranostics.* 2012;2:916-966. <http://dx.doi.org/10.7150/thno.4571>
- Das T., Chakraborty S., Sarma H.D., Banerjee S., Venkatesh M. A novel 177Lu-labeled porphyrin for possible use in targeted tumor therapy. *Nucl. Med. Biol.* 2010;37:655-663. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2010.02.007>
- Kilian K., Pyrzynska K. The fast method of Cu-porphyrin complex synthesis for potential use in positron emission tomography imaging. *Talanta.* 2003;60:669-678. <http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2016.01.045>
- Grin M.A., Brusov S.S., Shchepelina E.Y., Ponomarev P.V., Khrenova M.K., Smirnov A.S., Lebedeva V.S., Mironov A.F. Calixresorcinarene-capped silver nanoparticles as new supramolecular hybrid nanocontainers. *Mendeleev Commun.* 2017;27:338-340. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mencom.2017.07.004>
- Chen Q., Huang Z., Luck D., Beckers J., Brun P.H., Wilson B.C., Scherz A., Salomon Y., Hetzel F.W. Preclinical studies in normal canine prostate of a novel palladium-bacteriopheophorbide (WST09) photosensitizer for photodynamic therapy of prostate cancer. *Photochem Photobiol.* 2002;76:438-445. http://dx.doi.org/10.1007/1-4020-4516-6_33

Об авторах:

Смирнов Александр Сергеевич, аспирант кафедры химии и технологии биологически активных соединений, медицинской и органической химии им. Н.А. Преображенского Института тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет» (119571, Россия, Москва, пр-т Вернадского, д. 86). E-mail: a.smir.on.off@yandex.ru. <https://orcid.org/0000-0001-7012-8016>

Грин Михаил Александрович, доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой химии и технологии биологически активных соединений, медицинской и органической химии им. Н.А. Преображенского Института тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет» (119571, Россия, Москва, пр-т Вернадского, д. 86). E-mail: michael_grin@mail.ru. Scopus Author ID 6603356480, <https://orcid.org/0000-0002-4333-4516>

Миронов Андрей Федорович, доктор химических наук, профессор, кафедры химии и технологии биологически активных соединений, медицинской и органической химии им. Н.А. Преображенского Института тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет» (119571, Россия, Москва, пр-т Вернадского, д. 86). E-mail: mironov@mitht.ru. <https://orcid.org/0000-0001-8353-1904>

About the authors:

Alexander S. Smirnov, Postgraduate Student, N.A. Preobrazhensky Department of Chemistry and Technology of Biologically Active Compounds, Medical and Organic Chemistry, M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, MIREA – Russian Technological University (86, Vernadskogo pr., Moscow 119571, Russia). E-mail: a.smir.on.off@yandex.ru. <https://orcid.org/0000-0001-7012-8016>

Mikhail A. Grin, Dr. of Sci. (Chemistry), Professor, Head of the N.A. Preobrazhensky Department of Chemistry and Technology of Biologically Active Compounds, Medical and Organic Chemistry, M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, MIREA – Russian Technological University (86, Vernadskogo pr., Moscow 119571, Russia). E-mail: michael_grin@mail.ru. Scopus Author ID 6603356480, <https://orcid.org/0000-0002-4333-4516>

Andrey F. Mironov, Dr. of Sci. (Chemistry), Professor, N.A. Preobrazhensky Department of Chemistry and Technology of Biologically Active Compounds, Medical and Organic Chemistry, M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, MIREA – Russian Technological University (86, Vernadskogo pr., Moscow 119571, Russia). E-mail: mironov@mitht.ru. Scopus Author ID 55968884300, <https://orcid.org/0000-0001-8353-1904>

*Поступила 04.06.2019; Получена после доработки 25.10.2019; Принята к опубликованию 18.11.2019.
Submitted June 04, 2019; Reviewed October 25, 2019; Accepted November 18, 2019.*