

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

ИМЕНИ М.В.ЛОМОНОСОВА

ХИМИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

На правах рукописи



Хабирова Софья Юрьевна

**Функционализированные макроциклическими лигандами
наночастицы оксида церия (IV) и гексаферрита стронция для
хелатирования ^{65}Zn , ^{207}Bi , ^{44}Sc**

Специальность 1.4.13 Радиохимия

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Научный руководитель:
к.х.н., с.н.с. Алешин Г.Ю.

Москва – 2024

Оглавление

Введение.....	5
1. Обзор литературы	11
1.1 Методы ядерной медицины	11
1.1.1 Диагностические методы в ядерной медицине	11
1.1.2 Терапевтические методы в ядерной медицине.....	15
1.1.3 Терагностика в ядерной медицине	18
1.2 Использование наночастиц в ядерной медицине.....	19
1.2.1 Наночастицы диоксида церия	24
1.2.2 Магнитные наночастицы гексаферрита стронция	26
1.3 Радионуклиды в ядерной медицине	28
1.3.1 Соединения цинка	28
1.3.2 Соединения скандия.....	30
1.3.3 Соединения висмута.....	33
1.4 Бифункциональные хелатирующие агенты.....	36
1.5 Векторы для адресной доставки препаратов	39
1.6 Выводы из обзора литературы.....	41
2. Экспериментальная часть	43
2.1 Приборы и реактивы	43
2.2 Выделение ^{44}Sc из генератора $^{44}\text{Ti}/^{44}\text{Sc}$	45
2.3 Выделение ^{65}Zn из медной мишени.....	46
2.4 Синтез наночастиц оксида церия (IV).....	48
2.5 Модификация поверхности наночастиц CeO_2	48
2.6 Нингидриновый тест.....	50
2.7 Модификация поверхности магнитных наночастиц	52
2.8 Подбор условий мечения.....	54

2.9	Определение устойчивости меченых комплексов в биологически значимых средах	54
2.10	Проведение <i>in vitro</i> экспериментов	55
2.11	Проведение <i>In vivo</i> экспериментов.....	56
3.	Обсуждение результатов	58
3.1	Морфология наночастиц оксида церия (IV).....	58
3.2	Исследования конъюгатов CeO ₂ -ECH-NH ₂	60
3.2.1	Структуры функционализированных наночастиц CeO ₂	60
3.2.2	Подбор оптимальных условий мечения	66
3.2.3	Устойчивость в биологически значимых средах	67
3.3	Исследования конъюгатов CeO ₂ -APTES	68
3.3.1	Нингидриновый тест	68
3.3.2	Структуры функционализированных наночастиц CeO ₂	70
3.3.3	Подбор оптимальных условий мечения	76
3.3.4	Устойчивость в биологически значимых средах	78
3.3.5	<i>In vitro</i> эксперименты.....	81
3.3.6	<i>In vivo</i> эксперименты.....	82
3.4	Исследования наночастиц гексаферрита стронция	83
3.4.1	Морфология наночастиц SrFe ₁₂ O ₁₉ @SiO ₂	83
3.4.2	Структуры функционализированных наночастиц SHF@SiO ₂	84
3.4.3	Подбор оптимальных условий мечения	89
3.4.4	Устойчивость в биологически значимых средах	91
3.4.5	Исследование магнитных свойств	92
3.4.6	<i>In vitro</i> эксперименты.....	93
3.4.7	<i>In vivo</i> эксперименты.....	94
	Заключение	98

Выводы	99
Список сокращений и условных обозначений.....	101
Список литературы	102
Благодарности	122

Введение

Методы ядерной медицины с использованием современных радиофармацевтических лекарственных препаратов (РФЛП) позволяют проводить раннюю диагностику и эффективное лечение онкологических заболеваний. Относительно новым и перспективным направлением исследований является разработка биосовместимых и нетоксичных наноматериалов, меченных радионуклидами. Наночастицы можно рассматривать как платформу для получения комбинированных многофункциональных радиофармпрепаратов, что является одним из путей для реализации персонализированной медицины. При этом физико-химические свойства самих наночастиц могут быть использованы для повышения эффективности диагностических и терапевтических характеристик препарата. Так, например, особенностью CeO_2 является способность инактивировать свободные активные формы кислорода (АФК) и долгоживущие активные формы белков, образующиеся при воздействии ионизирующего излучения РФЛП на организм, при этом в опухолевых клетках он проявляет прооксидантную активность, провоцируя гибель клеток. Однако, наночастицы CeO_2 на данный момент слабо изучены с точки зрения возможности применения в ядерной медицине, несмотря на потенциальный интерес к данному материалу. Магнитные наночастицы также могут применяться в медицине как в диагностике (в качестве контраста для МРТ) и терапии, а также магнитомеханической терапии. На основе наночастиц гексаферрита стронция могут быть получены стабильные коллоидные растворы, которые возможно применять в медицинских целях, а покрытие поверхности частиц тонким слоем диоксида кремния улучшит их биосовместимость и приведет к снижению цитотоксичности [1].

Выбор радионуклида является важным фактором для определения свойств потенциального препарата. Цинк и скандий имеют несколько изотопов, которые обладают подходящими ядерно-физическими свойствами для диагностики (^{62}Zn , ^{63}Zn , ^{43}Sc , ^{44}Sc) и терапии (^{47}Sc). В литературе имеются данные об относительно небольшом количестве соединений, содержащих эти радионуклиды, поэтому получение и исследование новых РФЛП на их основе является актуальной задачей. В последние годы в исследованиях высокую эффективность показала и таргетная альфа-терапия. Среди изотопов висмута выделяют два альфа-излучателя – ^{212}Bi (α , $T_{1/2} = 60,5$ мин) и ^{213}Bi (α , $T_{1/2} = 45,6$ мин), которые могут применяться для терапии различных типов опухолей. При этом для моделирования экспериментов удобнее использовать долгоживущие (^{65}Zn (ЭЗ, $T_{1/2} = 243,93$ д) и ^{207}Bi (ЭЗ, β^+ , $T_{1/2} = 31,5$ год)) или относительно легкодоступные (^{44}Sc (β^+ , $T_{1/2} = 3,93$ ч)) радионуклиды.

Радионуклид возможно связывать с поверхностью наночастиц прямым или косвенным путем. В первом случае радионуклид включается в ядро или оболочку частицы, что может привести к необратимым изменениям ее свойств. Поэтому гораздо чаще меченные радионуклидами наночастицы получают косвенным методом с использованием бифункциональных хелаторов, которые прививаются к наночастице и затем образуют устойчивое комплексное соединение с радионуклидом. Хелатирующий агент при этом должен быстро связывать радионуклиды металлов в комплексы, которые не будут в последствии диссоциировать в условиях живого организма.

В настоящее время широко исследуются макроциклические лиганды для создания устойчивых конъюгатов. Лиганд DOTA является оптимальным хелатором для связывания большого ряда катионов металлов, в том числе и для исследуемых в данной работе Zn^{2+} , Sc^{3+} и Bi^{3+} . Азакраун-эфиры и их производные с шестью гетероатомами в цикле также образуют стабильные комплексные соединения за счет неподеленных электронных пар у атомов азота в макроцикле. Лиганд L1 ранее уже исследовался в нашей научной группе и продемонстрировал высокую скорость комплексообразования с Bi^{3+} и Zn^{2+} при комнатной температуре, а также кинетическую устойчивость $BiL1$ в биологических средах и в условиях *in vivo* [2,3].

Таким образом, в данной работе в качестве связующего агента между радионуклидом и наночастицей будут рассмотрены функциональный лиганд *p*-SCN-Bn-DOTA, макроциклический азакраун-лиганд L1 и его производное L2 (рис. 1).

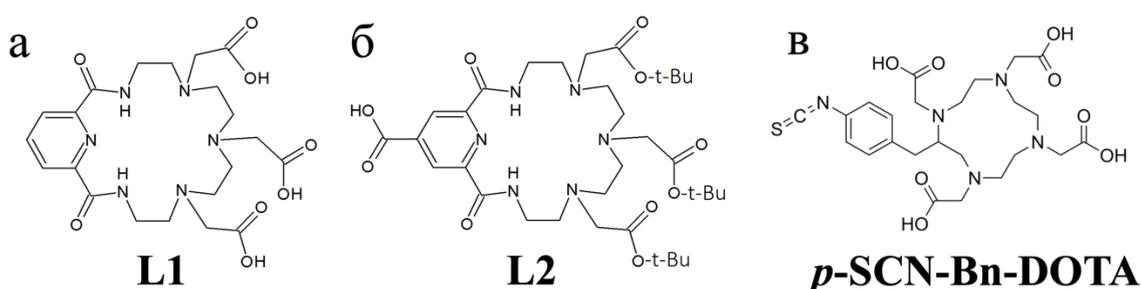


Рисунок 1. а) Лиганд L1 и б) его производное L2; в) функциональный лиганд *p*-SCN-Bn-DOTA

Цель и задачи исследования

Целью данной работы является разработка методики получения поверхностно-модифицированных азакраун-эфирами наночастиц диоксида церия и гексаферрита стронция и апробация полученных конъюгатов для использования в качестве платформ для радиофармпрепаратов.

Для достижения цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Разработка методик функционализации поверхности наночастиц диоксида церия и гексаферрита стронция азакраун-лигандами L1, L2 и *p*-SCN-Bn-DOTA и изучение структурных особенностей и свойств поверхности исследуемых соединений.
2. Установление условий комплексообразования $[^{65}\text{Zn}]\text{Zn}^{2+}$, $[^{44}\text{Sc}]\text{Sc}^{3+}$, $[^{207}\text{Bi}]\text{Bi}^{3+}$ с конъюгатами наночастиц и L1, L2 и *p*-SCN-Bn-DOTA, сравнение сорбционной способности функционализированных и нефункционализированных наночастиц.
3. Анализ кинетической стабильности изучаемых комплексных соединений в биологически значимых средах.
4. Определение цитотоксичности полученных конъюгатов и изучение биораспределения и экскреции наиболее стабильных комплексных соединений в условиях живого организма.

Научная новизна

1. Разработаны новые методики химической модификации поверхности наночастиц CeO_2 и $\text{SHF}@\text{SiO}_2$ макроциклическими лигандами L1, L2 и *p*-SCN-Bn-DOTA.
2. Впервые показана кинетическая инертность меченных ^{44}Sc и ^{207}Bi конъюгатов наночастиц CeO_2 и $\text{SHF}@\text{SiO}_2$ и лиганда L2 в присутствии конкурирующих ионов и белков сыворотки крови.
3. Впервые установлено, что конъюгаты наночастиц CeO_2 -APTES-L2 и $\text{SHF}@\text{SiO}_2$ -APTES-L2 не проявляют цитотоксичности по отношению к клеткам EA.hy926, что значимо для биомедицинского применения.
4. Впервые получены данные распределения конъюгатов наночастиц CeO_2 -APTES-L2- ^{44}Sc и $\text{SHF}@\text{SiO}_2$ -APTES-L2- ^{207}Bi в условиях организма лабораторной мыши. Показано, что комплекс ^{207}Bi и конъюгата $\text{SHF}@\text{SiO}_2$ -APTES-L2 устойчив *in vivo*.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Модификация наночастиц CeO_2 и $\text{SHF}@\text{SiO}_2$ с помощью APTES позволяет в дальнейшем осуществить эффективную функционализацию поверхности с помощью азакраун-лигандов L2 и *p*-SCN-Bn-DOTA для комплексообразования с ^{44}Sc , ^{65}Zn и ^{207}Bi .
2. Конъюгаты CeO_2 -APTES-L2 и $\text{SHF}@\text{SiO}_2$ -APTES-L2 образуют комплексы с ^{44}Sc и ^{207}Bi соответственно, которые являются кинетически стабильными в различных биологически значимых средах, в том числе и в сыворотке крови.

3. Комплексное соединение SHF@SiO₂-APTES-L2-²⁰⁷Bi демонстрирует отличное от свободного [²⁰⁷Bi]Bi³⁺ биораспределение и устойчивость в условиях живого организма на начальном этапе эксперимента.

Практическая и теоретическая значимость работы

Показана возможность получения новых конъюгатов наночастиц гексаферрита стронция и диоксида церия с бифункциональными производными азакраун-эфиров, а также определены их комплексообразующие свойства с радионуклидами и охарактеризована устойчивость в биологических средах и *in vivo*.

Результаты данной диссертационной работы показывают перспективность использования поверхностно-модифицированных наночастиц как потенциальных компонентов радиофармпрепарата. Данные об устойчивости полученных соединений и их распределении в организме могут быть полезны в дальнейших исследованиях аналогичных функционализированных наночастиц.

Методология и методы исследования

В ходе работы был проведен синтез наночастиц CeO₂ методом химического осаждения аммиаком. Поверхность наночастиц CeO₂ и SHF@SiO₂ первично модифицировалась линкерами 2-хлорметилоксиран (эпихлоргидрин, ECH) или (3-аминопропил)триэтоксисилан (APTES). Количество аминогрупп на поверхности определяли с помощью нингидринового теста с использованием спектрофотометра. Далее к наночастицам были привиты азакраун-лиганды L1, L2 и *p*-SCN-Bn-DOTA по реакции ацилирования, при необходимости на заключительной стадии снимали защитные *трет*-бутилы с карбоксильных групп по реакции с муравьиной кислотой.

Наночастицы CeO₂ и SHF@SiO₂ и их конъюгаты были исследованы с использованием набора методов: просвечивающая электронная микроскопия с электронной дифракцией на выбранных участках, флуоресцентная спектроскопия рентгеновского поглощения с высокой разрешающей способностью, инфракрасная спектроскопия и спектроскопия комбинационного рассеяния, термогравиметрический анализ, совмещенный с масс-спектрометрией, измерения ζ-потенциала с помощью метода многоугольного динамического рассеяния света, зависимость намагниченности от напряженности магнитного поля для магнитотвердых образцов исследовали с помощью вибрационного магнитометра.

Радионуклид ^{65}Zn выделяли из медной мишени естественного изотопного состава методом колоночной хроматографии. Радионуклид ^{44}Sc элюировали из генератора $^{44}\text{Ti}/^{44}\text{Sc}$ с использованием колонки с ионообменной смолой.

Условия комплексообразования и кинетическую устойчивость комплексных соединений определяли методами центрифугирования (для $^{65}\text{Zn}[\text{Zn}^{2+}]$ и $^{44}\text{Sc}[\text{Sc}^{3+}]$) или конкурирующей жидкостной экстракции (для $^{207}\text{Bi}[\text{Bi}^{3+}]$).

Цитотоксичность препаратов оценивали на клеточной линии EA.hy926 с помощью резазурина. Флуоресценцию измеряли на планшетном флуориметре.

Фармакокинетику $^{44}\text{Sc}[\text{Sc}^{3+}]$, $^{207}\text{Bi}[\text{Bi}^{3+}]$ и комплексов конъюгата $\text{CeO}_2\text{-APTES-L2-}^{44}\text{Sc}$ и $\text{SHF@SiO}_2\text{-APTES-L2-}^{207}\text{Bi}$ на временных отрезках 1, 4, 6 и 24 часа. Эксперименты проводили на мышах C57bl/6 и CD-1. Кинетику выведения катионов металлов и комплексных соединений определяли по данным метаболической камеры. Эвтаназию проводили в CO_2 -камере или методом цервикальной дислокации.

Активность образцов измерялась на гамма-спектрометре.

В работе использовались современные методы исследования, полученные результаты воспроизводимы.

Соответствие паспорту научной специальности

Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 1.4.13 Радиохимия по ряду исследований: методы выделения, разделения и очистки радиоактивных элементов и изотопов; получение и идентификация меченных соединений; методы радиохимического анализа; метод радиоактивных индикаторов; химические аспекты использования радионуклидов в биологии и медицине.

Степень достоверности

Достоверность результатов работы обеспечена воспроизводимостью методик синтеза образцов, использованием современных инструментальных методов исследования и подтверждается высокой сходимостью параллельных исследований и сравнением с холостым опытом.

Личный вклад автора

На основании литературных данных автором было предложено использование диоксида церия и магнитных наночастиц гексаферрита стронция в качестве потенциальной платформы для создания радиофармпрепаратов. Автором были предложены и апробированы различные методики синтеза конъюгатов наночастиц CeO_2 и SHF@SiO_2 и азакраун-лигандов L1, L2 и *p*-SCN-Bn-DOTA. Исследование полученных структур

инструментальными методами анализа проводилось при активном участии автора. Обработка полученных данных проводилась лично автором. Автором было проведено выделение радионуклидов цинка и скандия из облученной мишени и генератора $^{44}\text{Ti}/^{44}\text{Sc}$, соответственно. Были установлены оптимальные условия комплексообразования конъюгатов с радионуклидами, подобраны концентрации катионов металлов и конъюгатов, а также температурные параметры синтеза. Проведены эксперименты по оценке устойчивости комплексных соединений в биологически значимых средах. Анализ цитотоксичности исследуемых конъюгатов проводился при непосредственном участии автора. Исследования полученных препаратов на лабораторных животных проводились автором работы.

Отдельные эксперименты проводились студентом М.А. Меньшиковым в рамках дипломной работ под руководством автора данной диссертационной работы.

Апробация работы

Основные результаты работы были представлены на российских и международных конференциях: АПНХ-2020: материалы для генерации, преобразования и хранения энергии (Москва, Россия, 13-15 ноября 2020); 9th International Conference on Radiation in Various Fields of Research (Херцег-Нови, Черногория, 14-18 июня 2021), the XII International Conference on Chemistry for Young Scientists «Mendeleev 2021» (Санкт-Петербург, Россия, 6-10 сентября 2021); 5-я Российская конференция МедХим-Россия 2021 (Волгоград, Россия, 16-19 мая 2022); 20th European Symposium on Radiopharmacy and Radiopharmaceuticals (Верона, Италия, 24-27 ноября 2022); 10th International Conference on Nuclear and Radiochemistry (Брайтон, Великобритания, 25-30 августа 2024).

Часть результатов была получена в рамках работы по проектам РФФИ 21-33-70023 и РНФ 21-73-00101.

Публикации

Основные результаты по теме диссертации опубликованы в 13 печатных изданиях, 4 из которых статьи, изложенные в рецензируемых научных журналах, индексируемых международными базами данных (Web of Science и Scopus).

Объем и структура работы

Диссертация состоит из введения, 3 глав и заключения. Полный объем диссертации составляет 122 страницы с 50 рисунками и 9 таблицами. Список литературы содержит 217 наименований.

1. Обзор литературы

1.1 Методы ядерной медицины

1.1.1 Диагностические методы в ядерной медицине

Визуализация органов и тканей путем прямой или косвенной регистрации гамма-квантов в ядерной медицине является необходимым методом для диагностики и имеет ряд преимуществ: высокая чувствительность, глубина проникновения и количественные возможности [4]. Позитронно-эмиссионная (ПЭТ) и однофотонная-эмиссионная томографии (ОФЭКТ) являются современными диагностическими методами ядерной медицины, которые требуют введения радиоактивных индикаторов [5].

ПЭТ основана на регистрации пары фотонов с энергией 511 кэВ, возникающих при аннигиляции позитронов, входящих в состав радиофармпрепарата [6]. Для регистрации этих событий используют кольцевую систему детекторов, включенных в схему совпадений [7]. Если два детектора, расположенные друг напротив друга, обнаруживают сигнал в течение короткого времени (наносекунды), регистрируется распад позитронов. Этот метод хорошо подходит для исследования процессов на ранних стадиях заболевания или динамики лечения [8].

Для диагностической визуализации используемый радионуклид должен иметь короткий период полураспада и испускать позитроны с низкой энергией. Так, для рутинных ПЭТ-исследований, как правило, применяют радионуклиды (табл. 1) ^{11}C ($T_{1/2} = 20,4$ мин) и ^{18}F ($T_{1/2} = 110$ мин), реже ^{15}O ($T_{1/2} = 2$ мин) и ^{13}N ($T_{1/2} = 10$ мин) [9]. Для получения данных изотопов используют небольшие циклотроны с энергией от 11 до 18 МэВ [10]. Также для диагностических целей нашли применения ^{68}Ga ($T_{1/2} = 67,6$ мин) и ^{82}Rb ($T_{1/2} = 1,3$ мин), выделяемые из генераторов $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ и $^{82}\text{Sr}/^{82}\text{Rb}$ [9].

Таблица 1. Радионуклиды, применяемые для ПЭТ-исследований [11].

Радионуклид	$T_{1/2}$	Тип распада	Производство	Реакция
^{11}C	20,4 мин	β^+ (99,8%)	Циклотрон	$^{14}\text{N}(p,\alpha)^{11}\text{C}$
^{13}N	10 мин	β^+ (100%)		$^{16}\text{O}(p,\alpha)^{13}\text{N}$
^{15}O	122 с	β^+ (100%)		$^{14}\text{N}(d,n)^{15}\text{O}$
^{18}F	109,7 мин	β^+ (97%)		$^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$
^{124}I	4,18 дней	β^+ (23%)		$^{124}\text{Te}(p,n)^{124}\text{I}$
^{68}Ga	67,7 мин	β^+ (90%)	Генератор	$^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$
^{82}Rb	1,27 мин	β^+ (95,5%)		$^{82}\text{Sr}/^{82}\text{Rb}$

К основным качествам ПЭТ-молекулы относятся высокая специфичность к ткани-мишени, быстрое выведение из здоровых клеток, *in vivo* стабильность и отсутствие иммунного ответа у пациента [12]. Преимуществом таких РФЛП являются лиганды – аналоги биологических молекул, благодаря которым возможно оценить биохимические и метаболические параметры в организме после введения препарата [13]. Наиболее распространенным радиофармпрепаратом является [^{18}F]FDG (2- ^{18}F фтор-2-дезоксид-глюкоза), аналог глюкозы, действие которого основано на повышенном потреблении глюкозы раковыми клетками [14–16]. Однако, он не применим для диагностики опухолей головного мозга и, в частности, для планирования лучевой терапии, за счет активного поглощения мозгом [17]. В таком случае используют препараты на основе аминокислот – [^{11}C]-L-метионин [18] и [^{18}F]FET ([^{18}F]фторэтил-L-тирозин) [19]. Аминокислоты накапливаются в опухолях и обеспечивают хорошее соотношение сигнала к фону, что дает возможность точно определять область пораженной ткани (рис. 2) [20].

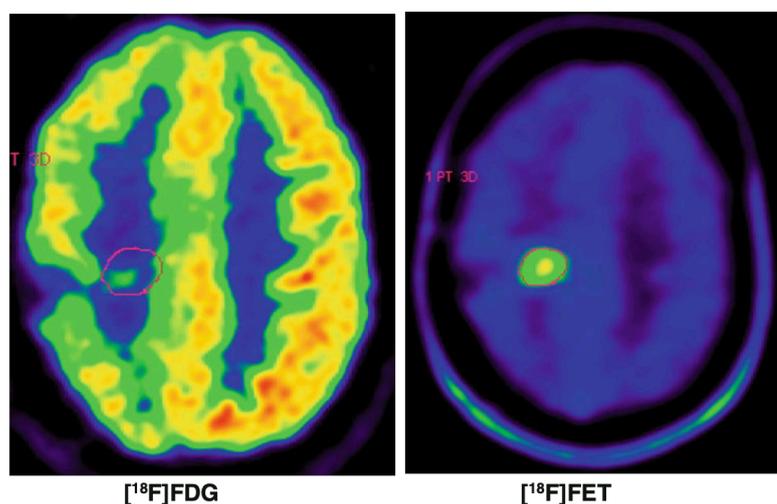


Рисунок 2. ПЭТ-томограммы у пациента с опухолью головного мозга с использованием препаратов [^{18}F]FDG и [^{18}F]FET [20].

ОФЭКТ дает возможность получить послойную картину распределения радионуклида в органе с последующим преобразованием в трехмерное изображение. Основное различие между ОФЭКТ и ПЭТ заключается в типе распада и энергии гамма-излучения используемых радиоактивных индикаторов. Гамма-кванты с энергией < 200 кэВ регистрируют с помощью камеры, которая вращается вокруг исследуемой области, детектируя излучение, испускаемое под разными углами. В большинстве клинических ОФЭКТ-системах, используемых для проведения исследований пациентов, применяются сцинтилляционные камеры с NaI (Tl) в качестве детектора [21].

В отличие от ПЭТ, ОФЭКТ имеет ряд недостатков: для определения линии отклика необходимо использовать свинцовые коллиматоры, а также низкая чувствительность и пространственное разрешение изображений [6]. Низкое качество изображений связано с ослаблением и рассеянием фотонов. Эти факторы затрудняют количественное определение концентрации радионуклида в интересующей области организма [22]. При этом, основными преимуществами ОФЭКТ являются дешевые РФЛП и их доступность [23].

Радионуклиды, применяемые для ОФЭКТ, имеют относительно длительный период полураспада – от нескольких часов до нескольких дней (табл. 2) [24]. Наиболее распространенным является технеций-99m с энергией гамма-квантов 140 кэВ и $T_{1/2} = 6,01$ ч [25]. Данные характеристики радионуклида позволяют проводить диагностику с минимальной дозой радиационного облучения пациента. ^{99m}Tc элюируют из генератора $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ в виде $^{99m}\text{TcO}_4^-$ [26]. Препараты на основе технеция используют для визуализации метастазов в кости (^{99m}Tc -MDP) [27,28], функции сердца (^{89m}Tc -тетрофосмин) [29] и церебральной перфузии (^{99m}Tc -НМРАО) [30].

Таблица 2. Радионуклиды, применяемые для ОФЭКТ-исследований [23,31].

Радионуклид	$T_{1/2}$	Тип распада	E_γ	Производство	Реакция
^{99m}Tc	6,01 ч	ИП (99,9%)	140 кэВ	Генератор	$^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$
^{67}Ga	3,26 дней	ЭЗ (100%)	93 кэВ	Циклотрон	$^{67}\text{Zn}(p,n)^{67}\text{Ga}$, $^{68}\text{Zn}(p,2n)^{67}\text{Ga}$
^{111}In	2,83 дней	ЭЗ (100%)	245 кэВ		$^{112}\text{Cd}(p,2n)^{111}\text{In}$
^{123}I	13,20 ч	ЭЗ (100%)	159 кэВ		$^{124}\text{Te}(d,2n)^{123}\text{I}$
^{201}Tl	3,05 дней	ЭЗ (100%)	135 кэВ		$^{205}\text{Tl}(p,5n)^{201}\text{Pb} \rightarrow$ ^{201}Tl

Как и в других медицинских применениях, использующих ионизирующее излучение, польза от процедур ПЭТ и ОФЭКТ должна оцениваться с учетом рисков для пациента. При выборе вводимой дозы необходимо учитывать индивидуальную физиологию и анатомию пациента, тип оборудования для визуализации [32]. Средние эффективные дозы в ядерной медицине составляют, как правило, 0,3 – 20 мЗв, при этом, для ОФЭКТ доза ниже, чем для ПЭТ. Так, средняя эффективная доза для кардиологических исследований препаратом на основе ^{99m}Tc с введенной активностью 1500 МБк/человек составляет 12,8 мЗв, в то время, как для ^{18}F FDG с активностью 740 МБк/человек – 14,1 мЗв [33].

Значение разрешающей способности как для ОФЭКТ (до 10 мм) [34], так и для ПЭТ (до 7 мм) существенно ниже, чем для компьютерной томографии (КТ) или магнитно-резонансной томографии (МРТ) (около 1 мм). Таким образом, основным этапом развития диагностики стало создание мультимодальных технологий, позволивших совместить эти методы [6]. Мультимодальная визуализация включает два или более метода диагностики, сочетая морфологические и функциональные исследования [35]. Сканирование ПЭТ и ОФЭКТ предоставляет подробную информацию о том, как функционирует организм, в то время как КТ позволяет получать анатомические изображения всего тела с высоким разрешением [36], а с помощью МРТ получают контраст мягких тканей и многомерную функциональную информацию о перфузии (плотности микрососудов), диффузии (плотности клеток, микроструктуре) и метаболизме (гибели клеток, пролиферации и т.д.), а также структурную и морфологическую информацию [37].

В настоящее время ОФЭКТ/КТ и ПЭТ/КТ являются стандартными методами в клинических исследованиях [37]. Однако в статье [38] авторы утверждают, что МРТ имеет ряд преимуществ перед КТ: он позволяет лучше анатомически визуализировать структуры мягких тканей и костного мозга; возможность раннего выявления метастазов в мозге, печени и костном мозге; нет дополнительного воздействия ионизирующего облучения на пациента.

Маерхоефер и его коллеги [39] сравнивали возможности комбинированных методов визуализации ПЭТ/МРТ и ПЭТ/КТ при диагностики пораженных тканей. Пациентам с онкологическими заболеваниями, направленным на плановую диагностику, однократно вводили радиофармпрепарат в зависимости от опухоли, проводили визуализацию тканей и оценивали точность каждого метода. На рисунке 3 результаты обследования пациента со злокачественной меланомой IV степени. МРТ с контрастным усилением ПЭТ отображает множество недавно появившихся метастаз в печени, которые не визуализируются с помощью КТ с контрастным усилением.

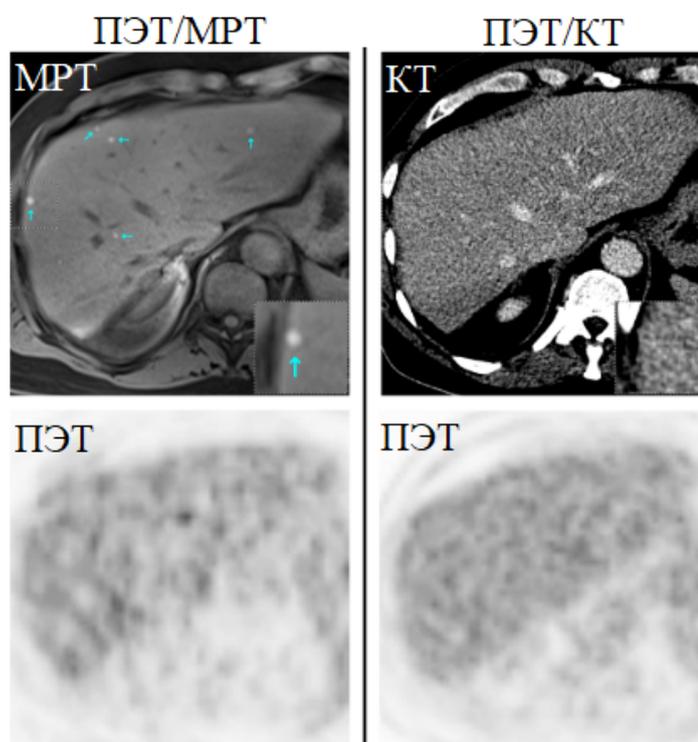


Рисунок 3. Томограммы ПЭТ/МРТ и ПЭТ/КТ печени у пациента со злокачественной меланомой IV степени [39].

Таким образом, замена КТ на МРТ в комбинированной системе с ПЭТ приведет к более высокому контрасту тканей и снижению лучевой нагрузки на пациента.

1.1.2 Терапевтические методы в ядерной медицине

Терапевтические методы заключаются в направленной доставке источника ионизирующего излучения к пораженным участкам в организме для лечения, контроля или облегчения боли. При этом, ионизирующее излучение вызывает необратимое повреждение молекул ДНК за счет активации двухцепочечных разрывов, тем самым подавляя дальнейшую пролиферацию клеток. Данный биологический эффект достигается благодаря поглощению энергии, испускаемой радионуклидом. Таким образом, радионуклид, используемый для терапии, должен испускать излучение в виде частиц (Оже-электроны, β - или α -частицы), которые имеют относительно короткий пробег в биологических тканях для передачи энергии излучения в небольшом объеме клеток [40].

Радионуклиды, распадающиеся за счет испускания β -частиц, наиболее широко используются для радиотерапевтических применений в современной клинической практике [41,42]. β -эмиттеры имеют низкую линейную передачу энергии (ЛПЭ)

относительно α -частиц, что объясняется низкой плотностью ионизации [43]. Они имеют максимальную кинетическую энергию 0,3 – 2,3 МэВ с соответствующими диапазонами $\sim 0,5 - 12$ мм в мягких тканях. Такой диапазон проникновения позволяет доставлять РФЛП не внутрь целевой клетки, а к клеточной мембране. Благодаря большому пробегу относительно диаметра клетки β -частицы могут проходить через несколько клеток (10 – 1000), разрушая соседние опухолевые клетки в большой тканевой массе [40]. Однако, повреждаться будут и находящиеся вблизи здоровые клетки [41,43]. Радионуклиды, излучающие β -частицы, которые потенциально можно использовать в качестве терапевтических агентов в ядерной медицине, представлены в таблице 3.

Напротив, большие положительно заряженные α -частицы имеют пробег в мягких тканях от 50 до 100 мкм [44]. Количество энергии, выделяемой на пройденный путь (100 кэВ/мкм), примерно в 400 раз больше, чем у электронов, что приводит к высокой частоте двухцепочечных разрывов ДНК [45]. При этом цитотоксичность α -частиц не зависит ни от мощности дозы, ни от концентрации кислорода в клетках. Их цитотоксическая активность в 100 раз выше, чем у β -эмиттеров, для гибели клетки достаточно от 1 до 20 прохождений α -частиц через ядро клетки [44]. Среди радионуклидов, излучающих α -частицы, для терапевтических применений наиболее перспективны ^{211}At , ^{212}Bi , ^{213}Bi , ^{225}Ac , ^{223}Ra и ^{227}Th благодаря своим ядерно-физическим свойствам.

Несмотря на незначительное количество радиофармацевтических лекарственных препаратов, меченных изотопами с излучением Оже-электронов, существуют ряд радиоизотопов перспективных для применения в клинической терапии (например, ^{125}I) [40]. Большинство низкоэнергетических Оже-электронов, испускаемых во время радиоактивного распада, проходят очень короткие расстояния в биологической ткани, что приводит к сильно локализованному выделению энергии в непосредственной близости от распадающегося радионуклида [46,47]. Следовательно, для использования радиофармпрепаратов, испускающих Оже-электроны, требуются наиболее эффективные методы доставки РФЛП в пораженные клетки.

В таблице 3 приведены потенциальные терапевтические радионуклиды, испускающие Оже-электроны, β - и α -частицы, а также основные характеристики.

Таблица 3. Потенциальные радионуклиды для терапевтических применений [40,43,48].

Радионуклид	$T_{1/2}$	Тип распада	$E_{\beta^- \text{ max}}$, МэВ	$E_{\alpha \text{ max}}$, МэВ
^{32}P	14,3 дня	β^- (100%)	1,71	-
^{47}Sc	3,4 дня	β^- (100%)	0,6	
^{67}Cu	2,6 дня	β^- (100%)	0,57	
^{89}Sr	50,5 дней	β^- (100%)	1,46	
^{131}I	8,0 дней	β^- (100%)	0,81	
^{177}Lu	6,7 дней	β^- (100%)	0,5	
^{186}Re	3,8 дней	β^- (92,5%) $\Xi\beta$ (7,5%)	1,07	
^{211}At	7,21 часа	α (41,7%) β^- (58,3%)	0,79	5,87
^{212}Bi	60,5 минут	α (36%) β^- (64%)	2,25	6,09
^{213}Bi	45,5 минут	α (2,2%) β^- (97,8%)	1,43	5,87
^{225}Ac	10 дней	β^- (100%)	-	5,94
^{223}Ra	11,4 дней	α (100%)	-	6,56
^{227}Th	18,7 дней	α (100%)	-	6,04

Эффективность терапии во многом зависит от концентрации радионуклида в опухоли в течение длительного времени. Также необходимо учитывать размер поражения, место доставки РФЛП, однородность опухоли и необходимую дозу облучения. Таким образом, радиофармацевтический лекарственный препарат, используемый в терапевтических целях, должен иметь быстрое поглощение клетками пораженной ткани, высокое отношение опухоли к фону и относительно длительное время нахождения в ней [40].

Ряд радиофармацевтических лекарственных препаратов в настоящее время проходят клинические испытания. Например, излучатели β^- -частиц, такие как ^{177}Lu , уже используются для мечення пептидов при нейроэндокринном раке, а также простатоспецифического мембранного антигена. Альфа-эмиттеры также изучаются для терапии: ^{211}At для лечения глиобластомы, ^{225}Ac – для различных типов лейкоза и рака

простаты [49]. Одним из применяемых в терапии препаратов является Xofigo на основе α -излучателя ^{223}Ra . Его используют для лечения рака простаты с метастазами в костях [50].

1.1.3 Тераностика в ядерной медицине

Тераностика в ядерной медицине сочетает в себе диагностические и терапевтические методы с использованием одного и того же химического соединения [51]. Концепция тераностики заключается в применении диагностической визуализации для того, чтобы определить достиг ли препарат мишени и приводит ли терапия к улучшению клинической симптоматики [52]. Основной целью данного подхода является предоставление персонализированной медицины пациентам с онкологическими заболеваниями с помощью подходящей радионуклидной визуализации и радиотерапевтических препаратов, которые воздействуют на определенные клетки-мишени [53].

Радиойодтерапия является типичным примером персонализированной медицины и широко используется для лечения рака щитовидной железы. Лечение радиоактивным йодом с использованием ^{131}I ($T_{1/2} = 8,0$ дней) является одним из базовых методов ядерной медицины. ^{131}I не только β^- -излучатель, но и испускает γ -кванты, что позволяет отслеживать этот индикатор *in vivo*. Однако ^{131}I не является идеальным индикатором для диагностики из-за низкого пространственного разрешения и возможности количественной оценки с помощью ОФЭКТ. С ростом доступности ПЭТ-сканеров ^{124}I ($T_{1/2} = 4,18$ дней) стал основным методом диагностики заболеваний щитовидной железы, главным образом у пациентов с высоким риском и рецидивом [54].

Йодные тераностические пары используются не только для визуализации рака щитовидной железы, но и для лечения других опухолевых образований. Например, для выявления и лечения метастатического рака предстательной железы авторы работы [55] исследовали кинетику низкомолекулярного ингибитора PSMA, меченного ^{124}I (^{124}I -MIP-1095). Данные о биораспределении и расчет дозы низкомолекулярного ^{124}I -MIP-1095, позволили провести терапию опухоли с необходимой дозировкой ^{131}I -MIP-1095.

В фундаментальных и доклинических исследованиях изучается тераностическая пара $^{64}\text{Cu}/^{67}\text{Cu}$. При этом ^{64}Cu ($T_{1/2} = 12,7$ ч) распадается посредством β^+ (17,4%), β^- (40%) и захвата электронов (42,6%). Ее характеристики распада подходят как для позитронно-эмиссионной томографии, так и для терапии рака. Для ^{67}Cu ($T_{1/2} = 61,8$ ч) характерен β^- -распад и испускание γ -квантов, что делает возможным использовать данный радионуклид одновременно для лечения и ОФЭКТ [56]. Химическая идентичность изотопов ^{64}Cu и ^{67}Cu позволяет применять одни и те же хелатообразующие молекулы. Так,

Кейнянен и соавторы в работе [57] показали возможность ПЭТ-визуализация и эффективное лечение карциномы человека SW1222 с использованием конъюгата на основе ^{64}Cu и ^{67}Cu . В этих экспериментах наблюдается корреляция между поглощением опухолью ^{64}Cu и последующим терапевтическим ответом на ^{67}Cu .

Комбинированное использование пары радионуклидов ^{86}Y (β^+ , $T_{1/2} = 14,74$ ч) и ^{90}Y (β^- , $T_{1/2} = 64,05$ ч) в цитратной форме представлено в ранних исследованиях [58] на пациентах с костными метастазами при раке молочной железы. В недавней работе [59] тераностическая пара была использована для целенаправленной визуализации и терапии ангиогенных сосудов на моделях рака молочной железы у мышей. ПЭТ с использованием ^{86}Y -DTPA-TRC105 продемонстрировал высокую эффективность, а результаты после введения ^{90}Y -DTPA-TRC105 показали значительное уменьшение объема опухоли в группе целевого лечения по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, тераностика позволяет предсказать терапевтическое воздействие на опухоль с учетом индивидуальных особенностей пациента, при этом доза для каждого отдельного вида заболевания также может быть подобрана индивидуально.

1.2 Использование наночастиц в ядерной медицине

Относительно новым направлением в разработке радиоактивных индикаторов для визуализации опухолей и других поражений тканей является создание наноматериалов с радиоактивной меткой. Диагностика с использованием радиоактивно меченных наночастиц может использоваться для раннего выявления, характеристики и определения стадии заболевания, а также для мониторинга эффективности терапии [60]. По сравнению с небольшими молекулами наноматериалы имеют большую площадь поверхности, что позволяет им эффективнее взаимодействовать с клетками. Также в ряде случаев они могут являться эффективными векторами для доставки лекарственных препаратов [4]. Более того, фармакокинетические (абсорбция, биораспределение и выведение) и фармакодинамические свойства наночастиц можно изменять, модифицируя их поверхности [61].

Наночастицы, потенциально используемые в медицинских целях, могут быть получены из большого количества материалов, таких как металлы или оксиды металлов, способных проявлять уникальные оптические, электрические или магнитные свойства, которые можно изменять в зависимости от их размера и формы [62,63]. Небольшие молекулы, липиды, полимеры и другие органические молекулы также могут использоваться в качестве носителей лекарств или для улучшения растворимости [64].

Наночастицы можно конструировать и синтезировать как мультимерные системы [65] с заданными химическими свойствами, геометрией и конфигурацией для применения в молекулярной и клеточной маркировке, отслеживании, обнаружении, доставке лекарств и медицинской визуализации с высокой чувствительностью и функциональностью [64].

Важной особенностью наночастиц является возможность проникать внутрь клеток, что позволяет доставлять радиофармпрепарат ближе к ядру опухолевой клетки и тем самым минимизировать воздействие ионизирующего излучения на здоровые органы и ткани. Для обеспечения внутриклеточной доставки лекарственных препаратов необходимо, в первую очередь, выбрать наиболее подходящий способ введения (ингаляция, пероральный прием, внутривенная или внутривенная инъекция), а также оценить свойства наночастиц. Например, для успешного перорального введения необходимо учитывать стабильность носителя в условиях желудочно-кишечного тракта; при внутривенных инъекциях необходимо преодолеть резистентность для обеспечения длительного кровообращения; внутривенная инъекция позволяет доставлять наночастицы в определенные ткани, однако они могут быстро выводиться лимфатической системой [66].

Наночастицы могут интернализироваться клеткой путем прямого взаимодействия с встроенными в мембраны рецепторами или опосредованно путем связывания с липидным бислоем. При первом подходе наночастицы необходимо функционализировать с помощью лигандов, обладающих высоким сродством и специфичностью к конкретным рецепторам клетки. Интернализация образующихся комплексов рецептор-лиганд приводит к клатрин- или кавеолин-опосредованным эндоцитозам наночастиц (рис. 4в и 4г). Также наночастицы могут взаимодействовать с мембраной посредством гидрофобных и электростатических взаимодействий и попадать в клетку путем пиноцитоза (рис. 4б) [64]: выросты на мембране клетки захватывают жидкость с содержащимися в ней веществами, а затем отщепляются внутрь клетки в виде пиноцитозного пузырька. В клетки макрофагов, моноцитов и нейтрофилов наночастицы могут проникать посредством фагоцитоза (рис. 4а) [64]. Система мононуклеарных фагоцитов, которая состоит из системы фагоцитарных клеток, в основном находящихся в печени, селезенке и лимфатических узлах, захватывает наночастицы сразу после введения их в организм. Данный процесс начинается с адсорбции белков плазмы на поверхности радиоактивно меченных наночастиц и приводит к быстрому выведению препарата из организма. Формирование белкового покрытия вокруг наночастиц зависит от нескольких факторов: размер наночастиц, поверхностный заряд, гидрофобность и химия поверхности [67].

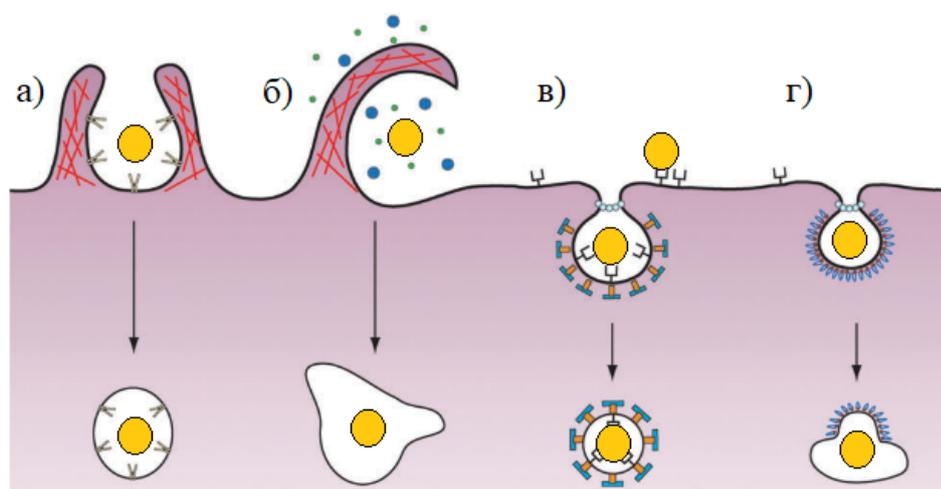


Рисунок 4. Возможные способы проникновения наночастиц внутрь клетки: а) фагоцитоз; б) макропиноцитоз; в) клатрин-опосредованный эндоцитоз; г) кавеолин-опосредованный эндоцитоз [64].

Клиническое применение наночастиц при опухолях предполагает однократное введение частиц непосредственно в кровоток, где они циркулируют от 3 до 6 часов. Затем частицы с размером более 8 нм могут пассивно накапливаться в опухолевых тканях благодаря эффекту повышенной проницаемости и удерживания в сосудистой системе (enhanced permeability and retention – EPR-эффект) [68,69]. Опухоль характеризуется активным ангиогенезом, что приводит к образованию неравномерной сосудистой системы с низкой плотностью эндотелиальных клеток сосудов и, следовательно, их высокой проницаемостью. Межклеточные промежутки в кровеносных сосудах в опухолях и воспалительных тканях имеют поры, благодаря которым наночастицы и проникают внутрь [68]. Поскольку плотные клетки эндотелия сосудов в нормальной сосудистой сети образуют барьер, препятствующий проникновению макромолекул, наночастицы могут доставлять препарат избирательным для опухоли образом. Кроме того, слабое развитие лимфатических сосудов в поврежденных тканях приводит к уменьшению локализации и более длительному удержанию наночастиц [70]. На рисунке 5 схематично представлен EPR-эффект.

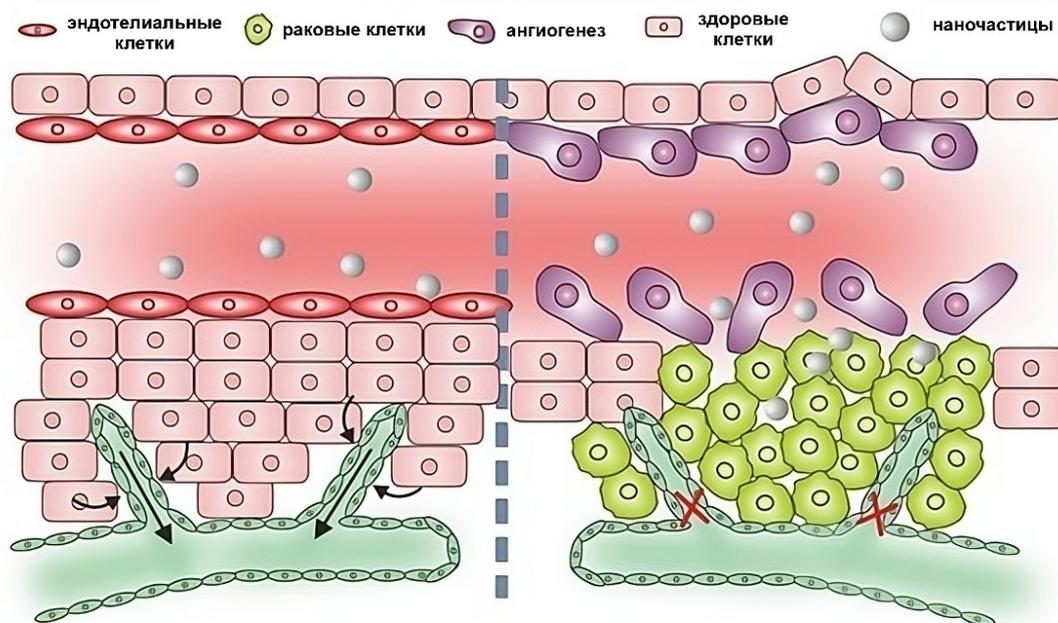


Рисунок 5. Схема эффекта повышенной проницаемости и удержания наночастиц в опухолях [71].

Наночастицы размером менее 10 нм демонстрируют пролонгированное кровообращение и быстрое выведение почечной системой, тогда как частицы размером более 10 нм быстро накапливаются в печени и селезенке [72]. Верхний предел размера наночастиц зависит от размеров сосудов в опухолях и от селезеночной фильтрации. Частицы с размером более 200 нм не подходят для клинического применения из-за быстрого выведения из кровотока и последующего накопления в селезенке и печени [73].

Такие физико-химические характеристики как заряд наночастицы также влияют на период полувыведения и удерживание в клетках тканей. Катионные наночастицы лучше проникают внутрь и накапливаются в опухолях, предположительно из-за электростатических взаимодействий с клеточной мембраной. С другой стороны, анионные наночастицы способны циркулировать в кровотоке длительное время [74]. Фармакокинетика и биораспределение частиц зависят от дзета-потенциала (ζ). Как правило, наночастицы с $\zeta < -10$ мВ быстро поглощаются ретикулоэндотелиальной системой, а с $\zeta > 10$ мВ вызывают агрегацию сывороточного белка, в то время как наночастицы с ± 0 мВ минимизируют поглощение ретикулоэндотелиальной системой и имеют самую длительную циркуляцию в крови [75].

До настоящего времени большинство наноматериалов в клинических испытаниях или доклинических исследованиях были сферическими [67]. Тем не менее, в последнее время несферические наночастицы исследуются интенсивнее. По сравнению со своими

сферическими аналогами одномерные частицы (например, стержни) имеют более продолжительное время циркуляции. Было показано, что дискообразные частицы локализуются в таких органах, как легкие и сердце. Таким образом, модификация морфологии наночастиц может усиливать накопление в целевых органах и тканях, одновременно уменьшая цитотоксичность [76].

Связывание радионуклида с наночастицей

Для клинического применения метод радиоактивного мечения частиц должен быть достаточно эффективным, безопасным и вносить минимальные изменения в исходные характеристики наночастиц. При этом реакция должна протекать быстро и не требовать дальнейшей многоступенчатой очистки для минимизации потерь радиоактивности [77].

Радиоактивно меченные наночастицы могут быть получены непосредственно из радиоактивных атомов или прямой конъюгацией радионуклида в ядро или оболочку частицы без хелатирующей группы (рис. 6а), а также непрямой конъюгацией с использованием бифункциональных хелаторов, которые устойчиво связываются с наночастицей и образуют комплексное соединение с радионуклидом (рис. 6б и 6в) [78].

Поскольку время синтеза и фактор кинетики комплексообразования имеет важное значение для применения короткоживущих радионуклидов в радиофармпрепаратах, радиоактивную метку, как правило, вводят в структуру молекулы РФЛП на завершающей стадии синтеза. Поэтому наиболее широко используемым методом радиоактивного мечения является модификация поверхности частицы бифункциональным хелатором с последующим введением радионуклида. Данный способ относительно прост, но он требует значительных структурных модификаций, которые часто могут влиять на фармакокинетику наночастиц, приводя к неоптимальному нацеливанию и распределению *in vivo*. Также возможна диссоциация бифункционального хелатора, содержащего радионуклид, в присутствии высокой концентрации белка в кровотоке, что может привести к ошибочной интерпретации результатов ПЭТ-визуализации [77].

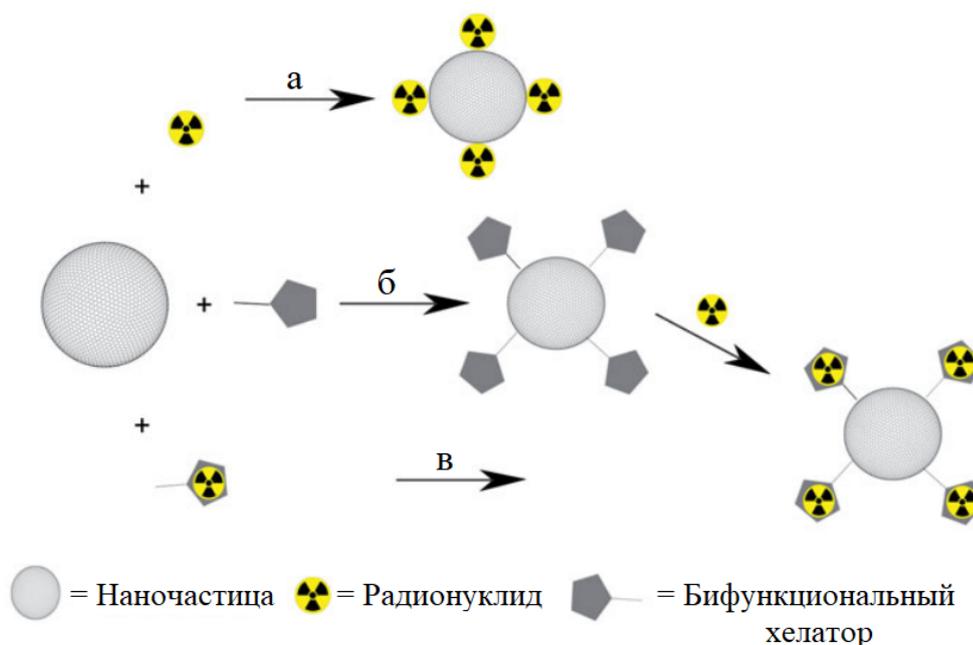


Рисунок 6. Способы мечения наночастиц: а) прямое конъюгирование радионуклида на поверхность частицы; б) модификация поверхности частицы бифункциональным хелатором с последующим введением радионуклида; в) модификация поверхности частицы предварительно меченным бифункциональным хелатором [78].

Еще одним методом создания наночастиц, меченных радионуклидом, является прямое облучение частицы в ядерных реакторах или циклотронах. Однако практические применения этого метода ограничены, так как бомбардировка наночастиц протонами или нейтронами может повлиять на физико-химические свойства наночастиц, особенно если поверхность связана с биологически активными молекулами [77]. Кроме того, в результате облучения могут образовываться побочные изотопы, которые непосредственно влияют на радионуклидную чистоту радиофармпрепарата.

Каждый из этих методов имеет свои преимущества и ограничения, выбор конкретного метода радиоактивной маркировки должен основываться на конкретном радионуклиде, целях исследования и возможностях [77]. Тем не менее, по совокупности вышеперечисленных факторов наиболее оптимальным для синтеза РФЛП на основе наночастиц представляется координирование радионуклида с наночастицей через бифункциональный хелатор.

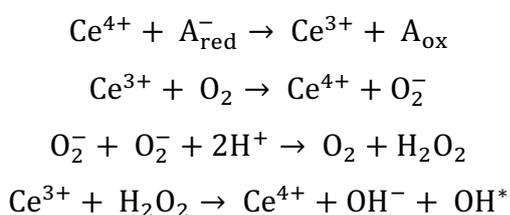
1.2.1 Наночастицы диоксида церия

Радиофармпрепараты обладают высокой цитотоксичностью как для злокачественных, так и для здоровых клеток [79]. Действие ионизирующего излучения

вызывает многочисленные структурные и функциональные изменения не только в злокачественных, но и в здоровых органах и тканях. Большинство радиофармпрепаратов нарушают внутриклеточный баланс между активными формами кислорода (АФК) и ферментами, которые их нейтрализуют, вызывая оксидативный стресс [80]. В результате радиолитического разложения воды образуется большое количество гидроксильных радикалов, которые приводят к разрывам связей между нуклеотидами в цепях РНК и ДНК [81]. В работах [82,83] показано, что при воздействии ионизирующего излучения на белковые растворы образуются стабильные радикалы, приводящие к мутации и морфологической трансформации клеток [84].

Наночастицы оксида церия CeO_2 благодаря своим редокс-модулирующей и ферментативной активностям могут быть использованы в биомедицинских целях. Например, в качестве агента при редокс-направленной терапии рака, которая заключается в использовании препаратов, способных при определенных условиях либо защищать от окислительного стресса, либо вызывать его в клетках организма [85]. Избирательность терапевтического лечения основана на том, как сильно отличается поведение данного препарата в пораженных и здоровых тканях. Одной из характеристик, позволяющих отличить здоровую и пораженную клетки, является значение pH. Клеточный pH в опухолевых тканях, как правило, ниже на 0,3 – 0,5 единиц относительно здоровых клеток. Так, например, в случае саркомы мягких тканей разница составляет 0,45 единиц pH, для первичных опухолей головного мозга значение pH, как правило, отличается примерно на 0,2 единицы [86,87]. Благодаря чувствительности к изменению pH в различных клеточных средах оксид церия (IV) может проявлять векторные свойства, адресно доставляя РФЛП к злокачественной ткани [85,88].

Существует прямая зависимость антиоксидантной активности наночастиц CeO_2 от их размера. В кристаллической решетке большинство атомов церия присутствует в степени окисления +4. При уменьшении размера на поверхности образуются кислородные вакансии, которые приводят к увеличению количества атомов церия Ce^{3+} [89]. Так, на поверхности частиц в зависимости от условий окружающей среды проходят обратимые окислительно-восстановительные процессы $\text{Ce}^{3+} \rightleftharpoons \text{Ce}^{4+}$ [90], которые могут быть описаны следующими уравнениями [85]:



Клетки злокачественных новообразований активнее продуцируют АФК по сравнению со здоровыми клетками из-за отсутствия окислительно-восстановительного контроля [91]. Проксидантные агенты, вызывая дополнительный окислительный стресс в опухолевых клетках, приводят к их апоптотической гибели [92]. Соответственно, диоксид церия является более цитотоксичным для раковых клеток, в то же время обратный эффект наблюдается на здоровых клетках. Механизмы биологического действия оксида церия до конца не изучены, однако результаты предшествующих исследований [93] подтверждают способность инактивировать свободные гидроксильные радикалы, перекись водорода и долгоживущие активные формы белков, которые образуют вторичные АФК, доказывают эффективность наночастиц CeO_2 в качестве радиопротектора для здоровых клеток.

Существует зависимость цитотоксичности наночастиц по отношению к нормальным клеткам от размера самих частиц. Так, с биологической точки зрения для применения CeO_2 в медицинских целях предпочтительно использовать частицы диаметром менее 6 нм [94]. А уменьшение размера частиц до 2 – 3 нм позволит не только увеличить удельную площадь поверхности, но и снизить дозу вводимого препарата с сохранением высокой эффективности.

Ян с соавторами [95] исследовали меченные ^{141}Ce многофункциональные наночастицы CeO_2 в условиях *in vivo* в качестве контрастного агента для ОФЭКТ с антиоксидантными свойствами. Полученное соединение улавливало образующиеся свободные радикалы, снижая риск окислительных повреждений здоровых клеток. Также отмечалась высокая стабильность в условиях живого организма, простота мечения и низкая токсичность наночастиц [95]. В работах [96,97] авторы также предлагают использовать меченные наночастицы оксида церия для одновременной диагностики и защиты здоровых клеток от ионизирующего излучения. Бахт и соавторы описали гипотезу о том, что частицы, меченные $^{137\text{m}}\text{Ce}$ (ИП, β^- , $T_{1/2} = 34.4$ ч) могут выступать в качестве потенциального тераностического препарата, при этом сам CeO_2 , состоящий в основном из стабильных изотопов, будет выполнять роль акцептора свободных радикалов, защищая клетку от ионизирующего излучения [97].

1.2.2 Магнитные наночастицы гексаферрита стронция

Благодаря своим свойствам магнитные наночастицы могут применяться в медицинских целях: для направленной доставки лекарственных препаратов, в качестве агента, повышающего контрастность магнитно-резонансной томографии (МРТ), в магнитомеханической терапии и магнитно-индуцированной гипертермии [98,99].

Одним из основных недостатков использования наночастиц в медицинских целях является проблема адресной доставки частиц в организме. Потенциальным преимуществом использования магнитных наночастиц является возможность контролировать перемещение частиц с помощью локализованных градиентов магнитного поля [100].

Для визуализации структуры мягких тканей обычно используют МРТ. Метод заключается в определении изменений намагниченности ядер атомов водорода в молекулах воды, находящихся в магнитном поле, после воздействия на них радиочастотного импульса [100]. Качество изображения можно улучшить, добавив контрастное вещество, которое, влияя на поведение ядер атомов водорода усиливает сигнал. Типичными контрастными агентами МРТ являются хелатные комплексы гадолиния, но, в то же время, они неспецифичны и быстро накапливаются в печени [101]. Стоит отметить, что магнитные наночастицы можно рассматривать в качестве альтернативного контрастного компонента МРТ, так как они имеют высокую специфичность и биосовместимы [102]. При этом, МРТ в сочетании с ПЭТ позволит одновременно получать не только контраст мягких тканей, но и многомерную функциональную информацию [103].

Одним из новых перспективных методов терапии опухолевых заболеваний является магнитомеханическая терапия. Ее стратегия заключается в использовании ферри-, ферро- и суперпарамагнитных наночастиц, которые под действием магнитного поля начинают двигаться вращательно и/или поступательно, тем самым частицы способны механически действовать на мембраны клеток и деформировать или разрушать их. В современных работах по магнитомеханической терапии [104–106] используются наночастицы, имеющие размер более 100 нм, однако воздействие крупных магнитных частиц вызывает некроз клеток, что неприемлемо для использования на практике. Воздействие магнитотвердых частиц размером менее 100 нм на клетки оказывается наиболее перспективным, но в то же время практически не описано в литературе. Также возможность использования магнитомеханической терапии в сочетании с диагностическими или терапевтическими методами ядерной медицины ранее не исследовалась.

В большинстве экспериментальных работ по применению магнитных наночастиц в медицине используют суперпарамагнитные частицы и их биоконъюгаты [104]. Такие частицы имеют нулевой остаточный магнитный момент, и приложение магнитного поля приводит к перестройке намагниченности внутри частицы [107]. Суперпарамагнитные частицы для их обнаружения или управления требуют значительного градиента магнитного поля или значительной анизотропии формы частиц для их обнаружения или управления [104]. Однако, стабилизация собственного магнитного момента частиц позволяет управлять ориентацией частиц с помощью слабых полей, а также повлиять на

организацию частиц [108]. Для привязки направления намагниченности к некоторым кристаллографическим осям частиц требуется высокая магнитная анизотропия, которая зависит от формы или магнитокристаллической анизотропии [109]. Обеспечить высокую магнитную анизотропию формы могут магнитные нанопроволоки и наностержни [110]. Однако, они не обладают большим радиусом вращения или гидродинамическим объемом частиц при минимальном фактическом объеме, что делает использование пластинчатых форм более предпочтительным [109]. В отличие от магнитных нанопроволок и наностержней, магнитный момент плоского сфероида может быть стабилизирован только с помощью магнитокристаллической анизотропии [110].

На основании проанализированной литературы для оптимизации использования магнитных наночастиц в ядерной медицине необходимо уменьшение размера используемых частиц с сохранением высоких значений собственного магнитного момента и коэрцитивности. Одним из наиболее подходящих под данные критерии материалом является гексаферрит. Благодаря высокому значению одноосной магнитокристаллической анизотропии он имеет значительный собственный магнитный момент даже у частиц малого размера. Наиболее распространенным является гексаферрит бария, однако замещение бария на менее токсичный стронций позволит рассматривать применение наночастицы гексаферрита в биомедицинских целях [111].

1.3 Радионуклиды в ядерной медицине

1.3.1 Соединения цинка

Цинк является важным микроэлементом для организма человека, который находится в составе метаболических ферментов, участвует в синтезе белков [112]. С одной стороны, в физиологической концентрации цинк является защитником клеток и тканей. С другой, нарушение гомеостаза цинка, приводящее к его дефициту или избытку, вызывает апоптоз клеток. Это может быть связано с нарушением метаболизма, сахарным диабетом и его осложнениями [113]. Доказанно [114,115], что цинк участвует в прогрессировании некоторых видов рака. Ли и его коллеги в своем предварительном исследовании [116] предположили, что повышенная пролиферация клеток и увеличение содержания цинка в опухолевых тканях связано с аденокарциномой (тип рака поджелудочной железы), однако их предположение не было подтверждено никакими измерениями содержания цинка в тканях поджелудочной железы человека. В работе [117] оценено соотношение содержания цинка в аденокарциноме поджелудочной железы человека и в нормальной ткани. Эти

результаты показывают, что цинк является опухолевым супрессором аденокарциномы поджелудочной железы. Кроме того, цинк связан с агрегацией β -амилоидных белков, которые накапливаются в головном мозге пациентов с болезнью Альцгеймера [118].

Таким образом, благодаря своим свойствам радионуклиды цинка являются перспективными с точки зрения применения в РФЛП. Введение радионуклидов цинка в организм может выполнять важную диагностическую функцию благодаря двойственному эффекту воздействия цинка на клетки. Поскольку в организме человека существует множество специфических и неспецифических переносчиков цинка, при определенных условиях цинк может применяться и для визуализации, и в качестве терапевтического агента [119]. При этом цинк достаточно легко образует устойчивые комплексные соединения [120], что важно для подбора подходящих специфических хелатирующих векторов.

Существует два позитрон-излучающих изотопа, которые могут быть потенциально использованы в качестве биомаркеров ПЭТ в живых системах: ^{62}Zn (β^+ , $T_{1/2} = 9,26$ ч), ^{63}Zn (β^+ , $T_{1/2} = 38,5$ мин) [121].

Помимо применения в ПЭТ ^{62}Zn является материнским радионуклидом в *in vivo* генераторе $^{62}\text{Zn}/^{62}\text{Cu}$ [122,123]. В литературе [124] сообщается о блеомицине (BLM), меченном ^{62}Zn , как о препарате для проведения ПЭТ-исследований на моделях с опухолями. Были проведены предварительные исследования *in vitro* и *in vivo* для определения стабильности комплекса и распределения ^{62}Zn -BLM у нормальных мышей и мышей с фибросаркомой. Результаты биораспределения и визуализации показали значительное накопление ^{62}Zn -BLM в опухолях, индуцированных фибросаркомой у мышей. Также проводили исследования с ^{62}Zn -EDDA, влияющем на функцию поджелудочной железы [125]. В данной работе установлена эффективность введения цинка при гормональной стимуляции для функциональной диагностики поджелудочной железы. Введение в организм радиофармпрепарата ^{62}Zn -EDDA, который легко и специфично поглощается поджелудочной железой, показало перспективность цинка для диагностики заболеваний поджелудочной железы.

Физические характеристики радионуклида ^{63}Zn и возможность циклотронного получения по реакции $^{63}\text{Cu}(p,n)^{63}\text{Zn}$ на низкоэнергетическом протонном ускорителе [126] делают его перспективным компонентом РФЛП. Однако короткий период полураспада не позволяет применять его для длительных исследований биологического обмена. В то же время, ^{63}Zn хорошо подходит для изучения кинетики переноса цинка в поджелудочную железу или предстательную железу или через гематоэнцефалический барьер [121].

Большой период полураспада ^{65}Zn (ЭЗ , $T_{1/2} = 243,93$ д) затрудняет его медицинское применение [126], однако сам радионуклид удобно использовать в фундаментальных исследованиях, заменяя им более короткоживущие изотопы.

Среди ядерных изомеров цинка интерес для медицинских целей могут представлять также $^{69\text{m}}\text{Zn}$ (ИП, β^- , $T_{1/2} = 13,76$ ч) и $^{71\text{m}}\text{Zn}$ (ИП, β^- , $T_{1/2} = 3,96$ ч) [127–129]. Предлагалось использование радионуклида $^{69\text{m}}\text{Zn}$ для исследований опухолей мозга [130], однако эти исследования не были доведены до клинического завершения. Данный радионуклид также может быть использован в качестве радиоактивного индикатора для изучения поведения цинка в различных живых системах [129]. Его получают по реакциям $^{69}\text{Ga}(n,p)^{69\text{m}}\text{Zn}$, облучением галлия быстрыми нейтронами, или $^{71}\text{Ga}(p,2pn)^{69\text{m}}\text{Zn}$ [131]. Анализ литературных данных показывает ограниченное количество научных экспериментальных работ по получению и применению цинка в ядерной медицине, несмотря на подходящие ядерно-физические параметры некоторых изотопов.

1.3.2 Соединения скандия

Среди изотопов скандия многообещающими для применений в ядерной медицине являются ^{43}Sc (β^+ , $T_{1/2} = 3,89$ ч), ^{44}Sc (β^+ , $T_{1/2} = 3,93$ ч) и ^{47}Sc (β^- , $T_{1/2} = 3,35$ дней) [132]. Ввиду удобного периода полураспада ^{43}Sc и ^{44}Sc подходят для применения в ПЭТ. Однако считается, что клиническое применение ^{44}Sc может быть затруднено из-за высокой дозовой нагрузки на персонал, вызванной излучением γ -квантов с энергией 1157 кэВ (99,9%) [133]. ^{47}Sc ($E_{\beta^-} = 440,9$ кэВ (68,4%), 600,3 (31,6%); $E_{\gamma} = 159,4$ кэВ (68,3%)) подходит для ОФЭКТ, терапии, а также тераностических целей [134]. В настоящее время препараты с радиоизотопами скандия активно изучаются на доклинических и клинических стадиях.

Радионуклид ^{43}Sc было предложено получать облучением природного кальция α -частицами в течение 1–2 часов в диапазоне энергий 23,9–28,1 МэВ для наработки активности, необходимой для медицинского применения [135,136]. Образование ^{43}Sc с радионуклидной чистотой более 99% получали по ядерными реакциями $^{40}\text{Ca}(\alpha,p)^{43}\text{Sc}$ и $^{40}\text{Ca}(\alpha,n)^{43}\text{Ti}$ ($T_{1/2} = 0,51$ с) $\rightarrow ^{43}\text{Sc}$. В литературе описан другой способ получения скандия $^{42}\text{Ca}(d,n)^{43}\text{Sc}$. Недостатком этих методов производства является ограниченная доступность циклотронов с сильноточными α -пучками, а также циклотронов, генерирующих пучки дейтронов [135]. ^{44}Sc нарабатывают в радионуклидном генераторе $^{44}\text{Ti}/^{44}\text{Sc}$. Период полураспада материнского титана $T_{1/2} = 59$ лет, что выгодно отличает данную генераторную пару от $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ (период полураспада ^{68}Ge $T_{1/2} = 271$ суток). В качестве альтернативы ^{44}Sc возможно получать на циклотроне облучением природного кальция, обогащенного ^{44}Ca , по

реакции $^{44}\text{Ca}(p,n)^{44}\text{Sc}$ [137]. Процесс облучения, а также метод разделения, основанный на экстракционной хроматографии, были оптимизированы для получения чистого ^{44}Sc до 2 ГБк при энергии пучка протонов 11 МэВ [138]. Эти разработки привели к первому применению ^{44}Sc в клинических испытаниях [139]. ^{47}Sc можно получать на циклотроне или реакторе. Мисиак и его коллеги [140] изучали наработку радионуклида на циклотроне по реакции $^{48}\text{Ca}(p,2n)^{47}\text{Sc}$. Однако, радионуклидная чистота не превышала 87%, а использование обогащенного ^{48}Ca невозможно за счет высокой стоимости. Альтернативный метод предполагает облучение мишени ^{44}Ca α -частицами ($^{44}\text{Ca}(\alpha,p)^{47}\text{Sc}$), но его недостатком является низкий выход и радионуклидная чистота [141]. В работе [142] сообщается о получении изотопа облучением ^{46}Ca в реакторе путем облучения с высоким потоком нейтронов ($^{46}\text{Ca}(n,\gamma)^{47}\text{Ca} \rightarrow ^{47}\text{Sc}$). Полученный ^{47}Ca распадается до ^{47}Sc с $T_{1/2} = 4,5$ суток, поэтому, аналогично изотопному генератору, скандий можно выделять из системы многократно.

Одним из первых доклинических экспериментов, проведенных с циклотронным радионуклидом ^{44}Sc , представлен коллегами из Швейцарии [137]. Комплекс ^{44}Sc -DOTA-folate изучали *in vitro* на клеточной линии рака шейки матки человека и *in vivo* на лабораторных мышках с опухолью. В этом исследовании было показано, что профиль биораспределения ^{44}Sc -DOTA-folate в тканях был идентичен ^{177}Lu -DOTA-folate. Авторы пришли к выводу, что в клинических условиях ^{44}Sc возможно использоваться для визуализации опухоли перед началом радионуклидной терапии на основе ^{177}Lu . Также было предложено тераностическое применения радионуклидной пары $^{44}\text{Sc}/^{47}\text{Sc}$ и конъюгата DOTA-folate. ^{47}Sc -DOTA-folate привел к задержке роста опухоли и увеличению продолжительности жизни лабораторных мышей, получавших лечение, по сравнению с контрольной группой [143]. В работе [144] авторы диагностировали опухоли карциномы AT1 (сублиния карциномы предстательной железы крыс) и карциномы молочной железы с помощью ПЭТ у крыс благодаря специфичному накоплению препарата ^{44}Sc -DOTA-NHC₆-dC-riptomycin. В статье [145] авторы вводили мышам с опухолями PC-3 PIP и PC-3 flu (PSMA-положительные и PSMA-отрицательные клетки рака предстательной железы соответственно) PSMA-617, меченным ^{44}Sc . Предварительный анализ *in vitro* показал, что ^{44}Sc -PSMA-617 специфически связывается с PSMA-экспрессирующими опухолевыми клетками PC-3 PIP, в то время как неспецифического связывания с клетками PC-3 FLU не наблюдается, а результаты биораспределения сходны с ^{177}Lu -PSMA-617 и ^{68}Ga -PSMA-617. На основе *in vivo* экспериментов были сделаны выводы, ^{44}Sc -PSMA-617 хорошо поглощается опухолью и показывает быструю экскрецию почками. Биораспределение ^{44}Sc -PSMA-617 в органах наиболее близко к распределению ^{177}Lu -PSMA-617, в то время как

лиганды, меченные ^{68}Ga , в частности ^{68}Ga -PSMA-11, демонстрировали иную кинетику (рис. 7).

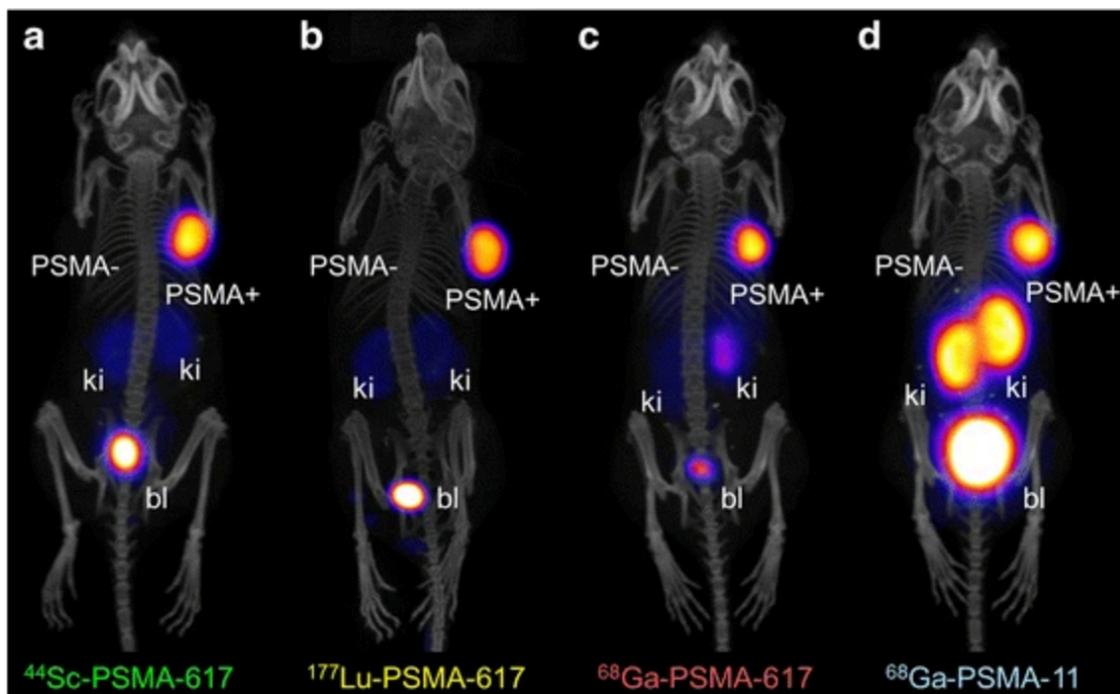


Рисунок 7. Изображения ПЭТ/КТ и ОФЭКТ/КТ в виде проекций с максимальной интенсивностью мышей, привитых опухолями PC-3 PIP/flu, через 2 ч после инъекции ^{44}Sc -PSMA-617, ^{177}Lu -PSMA-617, ^{68}Ga -PSMA-617 и ^{68}Ga -PSMA-11. PSMA+ – PSMA-положительные клетки рака предстательной железы; PSMA- – PSMA-отрицательные клетки рака предстательной железы; ki – почка; bl – мочевого пузыря [145].

В литературе сообщается о клинических исследованиях препарата ^{44}Sc -PSMA-617 [146]. Были отобраны четыре пациента мужского пола (средний возраст $70 \pm 1,8$ лет) с гистологически подтвержденной карциномой предстательной железы, которым было назначено лечение ^{177}Lu -PSMA-617. После внутривенного введения ^{44}Sc -PSMA-617 ($50,5 \pm 9,3$ МБк) проводилось динамическое ПЭТ-сканирование брюшной полости в течение 30 мин, а затем статическое ПЭТ/КТ-сканирование от черепа до середины бедра через 45 мин, 2 и 18 ч после инъекции. Накопление радиоактивности наблюдалось во множественных метастазах в мягких тканях и скелете, в то время как физиологическое поглощение диагностировалось в почках, печени, селезенке, тонком кишечнике, мочевом пузыре и слюнных железах. Почки получили наибольшую поглощенную дозу облучения ($0,354$ мЗв/МБк) после введения ^{44}Sc -PSMA-617. ПЭТ-изображения, полученные через 2 ч, сравнивались с данными тех же пациентов, полученными ранее с использованием ^{68}Ga -PSMA-11. Результаты ПЭТ после инъекции ^{44}Sc -PSMA-617 были как минимум такими же

качественными, как и ранее полученные с помощью ^{68}Ga -PSMA-11 (рис. 8). Количественный анализ не выявил различий между поглощением препаратов в большинстве органов, однако в почках наблюдалось меньшее накопление ^{44}Sc -PSMA-617 по сравнению с ^{68}Ga -PSMA-11.

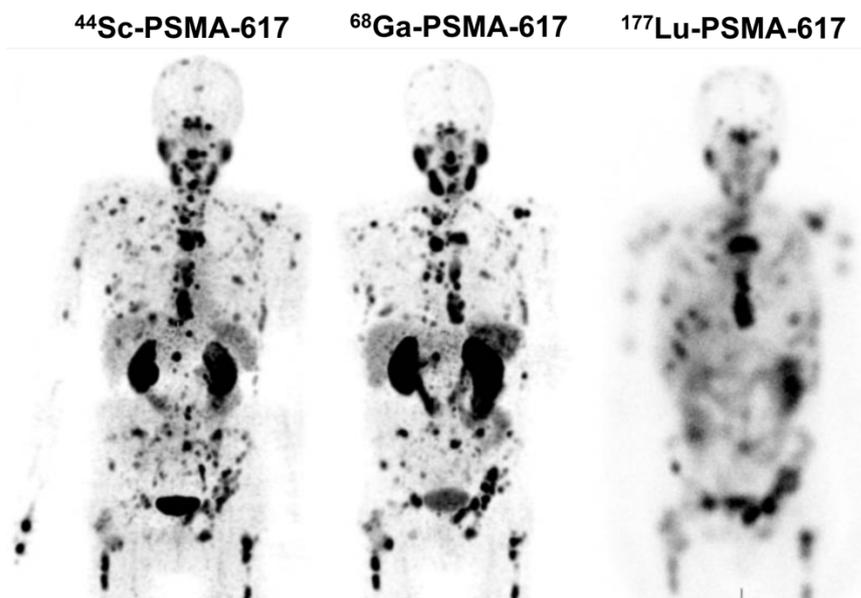


Рисунок 8. Изображения ПЭТ/КТ в виде проекций с максимальной интенсивностью пациента с карциномой предстательной железы после инъекции ^{44}Sc -PSMA-617 (50 МБк, 60 мин) и ^{68}Ga -PSMA-617 (120 МБк, 60 мин). Справа данные планарной сцинтиграфии примерно через 24 часа после введения ^{177}Lu -PSMA-617 (6700 МБк) [146].

1.3.3 Соединения висмута

Среди изотопов висмута наибольший интерес для таргетной терапии представляют альфа-эмиттеры ^{212}Bi и ^{213}Bi .

^{212}Bi может быть получен из цепочки распада ^{228}Th . Он имеет период полураспада 60,6 мин и распадается до стабильного ^{208}Pb через ^{208}Tl (36%) или ^{212}Po (64%) (рис. 9), в результате чего образуются β - и α -частицы со средней энергией 7,8 МэВ. Сочетание α - и β -частиц может повысить терапевтическую эффективность относительно неоднородных опухолей, однако короткий период полураспада ^{212}Bi ограничивает его использование в ядерной медицине [147]. Данная проблема может быть решена использованием *in vivo* генератора $^{212}\text{Pb}/^{212}\text{Bi}$ [148]. Еще одним недостатком для клинических применений ^{212}Bi является γ -излучение с энергией 2,6 МэВ дочернего радионуклида ^{208}Tl ($I_\gamma = 99\%$), что накладывает существенные ограничения на работу медперсонала [149].

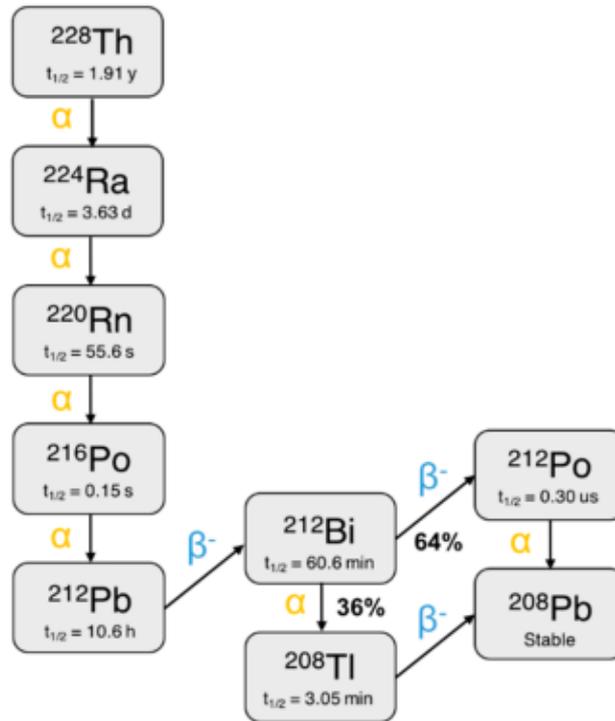


Рисунок 9. Распад ^{228}Th , с образованием дочернего радионуклида ^{212}Bi [149].

^{213}Bi также является короткоживущим радионуклидом с периодом полураспада 45,6 минут. Он в основном (98%) распадается с испусканием β^- -частиц до ^{213}Po (α , $T_{1/2} = 4,2$ мкс), остаточные 2% распада приводят к ^{209}Tl (β^- , $T_{1/2} = 2,2$ мин) [150]. ^{213}Po и ^{209}Tl распадаются через ^{209}Pb (β^- , $T_{1/2} = 3,25$ ч) до стабильного ^{209}Bi . Именно ^{213}Po производит более 98% энергии α -частиц, высвобождаемой при распаде ^{213}Bi , и может рассматриваться как радионуклид, обеспечивающий цитотоксичность висмута [151].

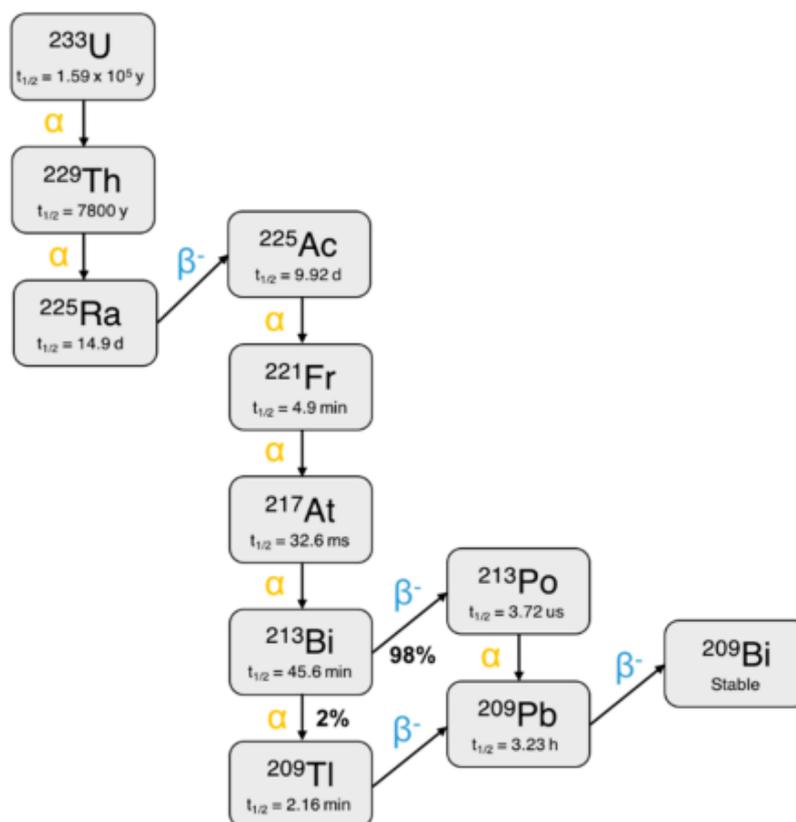


Рисунок 10. Распад ^{233}U , с образованием дочернего радионуклида ^{213}Bi [149].

Материнским радионуклидом для ^{213}Bi является ^{225}Ac ($T_{1/2} = 10$ дней), который получают путем радиохимического выделения из ^{229}Th ($T_{1/2} = 7,3 \cdot 10^3$ лет) [152]. ^{225}Ac распадается через каскад из шести короткоживущих дочерних радионуклидов до стабильного ^{209}Bi с четырьмя чистыми α -частицами, испускаемыми за один распад (рис. 10) [151]. Следует отметить, что для получения ^{213}Bi необходимы генераторы $^{225}\text{Ac}/^{213}\text{Bi}$ с высокой радиоактивностью. На сегодняшний день производство клинически значимых количеств ^{225}Ac затруднено, поэтому изучаются альтернативные способы получения ^{225}Ac , основанные на облучении мишеней ^{226}Ra протонами [153].

Основная часть полной энергии частиц, высвобождаемая при распаде ^{213}Bi , приходится на α -распад (92,7%), при этом 7,3% приходится на испускание β -частиц [45]. Распад ^{213}Bi сопровождается высвобождением фотона, который потенциально может быть использован для ОФЭКТ с коллиматорами высокой энергии, что позволяет детально оценить исследования *in vivo* [154].

Так, препарат ^{213}Bi -lintuzumab для терапии острого миелоидного лейкоза на основе радионуклида ^{213}Bi в настоящее время уже прошел клинические испытания I и II фазы. Исследования [155] проводили на небольшой группе пациентов, у которых был диагностирован острый миелоидный лейкоз. Результаты показали, что введение данного

препарата приводит к ремиссии заболевания. Также радиоиммуноконъюгат ^{213}Bi -cetuximab для терапии рака мочевого пузыря показал хороший результат в пилотных исследованиях на людях [156]. Данные испытания доказывают эффективность таргетной иммунотерапии α -частицами для лечения небольших по размеру опухолей и необходимость дальнейших исследований.

1.4 Бифункциональные хелатирующие агенты

Как правило, металл и биомолекулы, специфичные к рецепторам опухолевой ткани, не способны образовывать устойчивый комплекс. Для этого используют бифункциональные хелаторы (лиганды) [157]. В связи с этим, основной задачей при разработке эффективного радиофармпрепарата, содержащего радионуклид, является подбор связующего агента между радионуклидом и вектором.

Используемые хелаторы, как правило, состоят из мультидентатного лиганда, модифицированного функциональными группами (например, амино, карбоксильными или изоцианатными группами) для ковалентного связывания с биологически активной нацеливающей молекулой (вектором) [158]. В то же время, надо учитывать и химические свойства катионов металлов, их координационное число и геометрию, а также донорные атома лиганда (N, O, S, жесткий/мягкий) [159].

При оценке и выборе хелатирующего агента (L) для связывания с определенным ионом металла (M) в радиофармацевтическом лекарственном препарате необходимо учитывать термодинамические и кинетические параметры комплекса ML.

Термодинамическую устойчивость, как правило, устанавливают экспериментально путем потенциометрического или спектрофотометрического титрования [157]. Как правило, концентрация радионуклида составляет около 10^{-12} М при введении РФЛП в организм, следовательно диссоциация комплекса выгодна, в связи с чем высокое значение константы устойчивости комплекса обеспечит его стабильность [160,161]. Однако, константы термодинамической устойчивости практически значимы только для предварительного сравнения различных хелаторов с конкретным ионом металла, они не позволяют предсказывать стабильность в условиях *in vivo* [162].

В РФЛП используют радионуклиды с относительно коротким периодом распада – до нескольких часов, именно поэтому важна быстрая кинетика связывания лиганда и радионуклида. При этом синтез должен проходить при температурах не выше 40°C для того, чтобы сохранить структуру лиганда и вектора (пептиды, моноклональные антитела) [163]. Кроме того, из-за большого содержания конкурирующих ионов (Mg^{2+} ,

Ca²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺ и Fe³⁺), белков (трансферрин, ферритин) и металлсодержащие ферменты (супероксиддисмутаза) в биологической среде со временем возможен процесс диссоциации ML и перехелатирование радионуклида. Таким образом, комплекс должен быть кинетически инертным [164]. Скорость диссоциации комплексов определяют с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), тонкослойной хроматографии (ТСХ) или методом ядерного магнитного резонанса (ЯМР) для комплексов диамагнитных металлов [157].

Бифункциональные хелатирующие агенты принято разделять на две группы: линейные (DTPA, EDTA) (рис. 11а) и циклические лиганды (DOTA, TETA, NOTA) (рис. 11б). Как правило, циклические лиганды проявляют бóльшую термодинамическую устойчивость комплексов по сравнению с ациклическими хелаторами [161]. Поскольку макроциклические лиганды изначально имеют определенную геометрию и центр связывания ионов металлов энтропийные потери при координации металла будут значительно меньше, чем для ациклических лигандов. Линейным хелаторам необходимо менять свою конформацию, чтобы расположить донорные атомы для эффективного связывания с ионом металла, что термодинамически невыгодно [157]. С другой стороны, ациклические лиганды способны координировать ион металла менее чем за 15 минут при комнатной температуре, тогда как макроциклы характеризуются медленной кинетикой образования и часто требуют нагревания при достаточно высоких температурах [165].

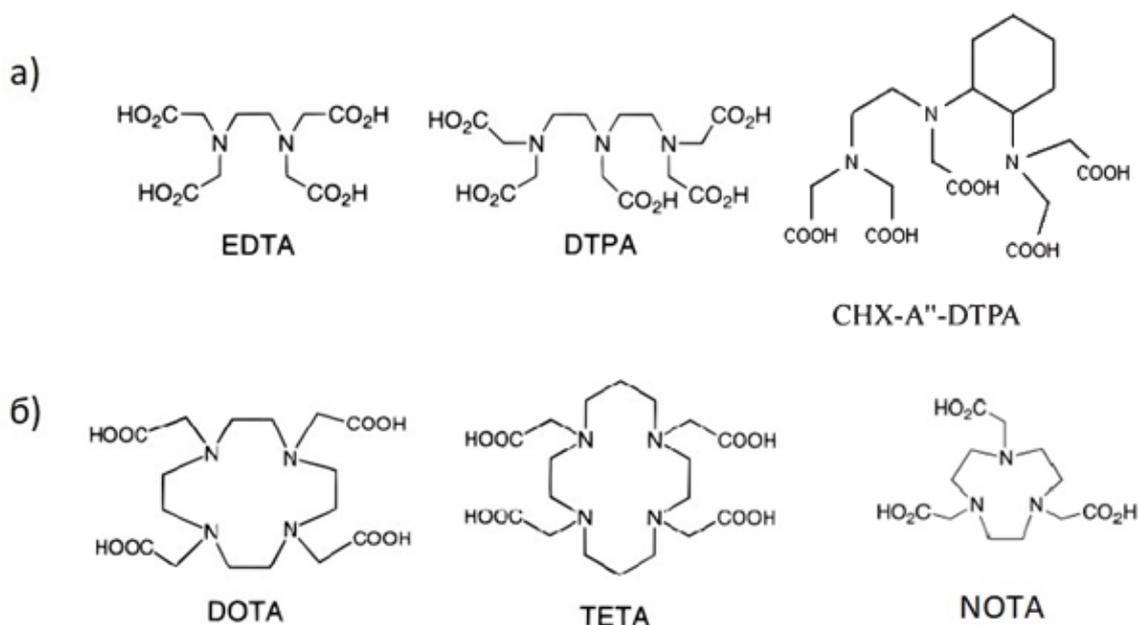


Рисунок 11. Примеры бифункциональных хелаторов различных структурных типов, используемых в радиофармацевтических лекарственных препаратах: а) ациклические, б) циклические [161].

Комплексные соединения с макроциклическим лигандом DOTA (1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетрауксусная кислота) обычно обладают высокой термодинамической и кинетической стабильностью, а также простотой синтеза. Благодаря данным характеристикам этот лиганд широко используется в медицине для получения диагностических радиофармпрепаратов на основе различных катионов металлов [157].

Согласно принципу жестких и мягких кислот и оснований Пирсона Bi^{3+} является пограничным ионом [151]. Тем не менее, он обладает сильным сродством к донорным атомам азота и кислорода [166,167], за счет чего и происходит комплексообразование с донорными аминными группами даже при низких значениях pH. Кинетика комплексообразования с донорными атомами азота и кислорода, как правило, достаточно быстрая, равновесие достигается за несколько минут [168]. Комплексы Bi^{3+} с DOTA и производными проявляют высокую термодинамическую стабильность ($\lg K_{\text{BiDOTA}} = 30,3$) и устойчивость в условиях *in vivo* [169]. Кристаллографические данные BiDOTA показывают, что Bi^{3+} принимает геометрию квадратной антипризмы, при этом ион металла полностью расположен в макроцикле, координируясь атомами азота. В то же время, условия мечения DOTA требуют нагревания при высоких температурах и pH 4 – 9, в зависимости от буфера [151]. DOTA также образует термодинамически устойчивый комплекс с цинком и скандием, логарифмы констант стабильности равны 21,0 [170] и 27,0 [171] соответственно. Для лиганда координационное окружение является оптимальным для хелатирования Zn^{2+} , поскольку катион цинка окружен всеми четырьмя атомами азота макроцикла и двумя атомами кислорода, входящими в карбоксильные группы [172], что обеспечивает стерическую устойчивость. При этом связывание протекает быстро, в течение 10 минут [170]. В случае скандия образуется октандентатный комплекс, при этом катион координируется четырьмя атомами азота в макроцикле и четырьмя атомами кислорода карбоксильной группы. Известно, что катион Sc^{3+} образует соединение ScDOTA при нагревании реакционной смеси 70°C в течение 30 минут [171].

Среди макроциклических аналогов DOTA выделяют производные бензоазакраунэфиров, получаемые путем конденсации двух ациклических фрагментов. Так, для лиганда L1 (рис. 1) уже были определены константы комплексообразования с ионами металлов [2]. Согласно экспериментальным данным лиганд L1 образует стабильный комплекс со стехиометрией 1:1. Для комплексов BiL1 и ZnL1 константы устойчивости определены как $\lg K_{\text{BiL1}} = 21,3$ [2] и $\lg K_{\text{ZnL1}} = 12,6$ [173]. В работе [2] показана стабильность комплекса BiL1 в 100-кратном избытке фетальной бычьей сыворотки в течение не менее 3 часов. Также, результаты *in vivo* экспериментов демонстрируют быстрый клиренс BiL1 . Систематические данные по кинетической устойчивости комплекса Bi^{3+} с L1 в сыворотке крови и

биораспределения *in vivo* позволяют утверждать, что лиганд L1 – многообещающий бифункциональный хелатор для синтеза РФЛП с ^{213}Bi . Авторы статьи [170] исследовали DOTA-P и L1-P – бифункциональные хелаторы с привитым пептидом Phe-D-Trp-Lys-Thr (P). Была показана устойчивость комплекса цинка и конъюгата DOTA-P в среде эмбриональной бычьей сыворотки, по сравнению с ZnL1-P. Данный результат был объяснен отсутствием макроциклического эффекта для относительно небольшого катиона Zn^{2+} ($d = 1,5 \text{ \AA}$) по сравнению с полостью макроцикла L1 ($2,6\text{--}3,2 \text{ \AA}$), что привело к легкому перехелатированию катиона металла из-за отсутствия пространственных препятствий для внешних хелаторов. Стоит отметить, что дальнейшее изучение лиганда L1 и цинка по-прежнему необходимо, поскольку известно о влиянии различных фрагментов РФЛП на устойчивость комплексных соединений с катионами металлов. В литературе отсутствуют данные о соединениях скандия и лиганда L1, поэтому получение и исследование новых потенциальных препаратов на их основе является также актуальной задачей.

1.5 Векторы для адресной доставки препаратов

Как правило, РФЛП состоит из трех компонентов: молекулы-вектора, радионуклида для диагностического или терапевтического применения и промежуточного линкера. Для эффективности действия радиофармпрепарата, в первую очередь, необходимо установить тип мишени (рецептор или антиген), подобрать биомолекулу с высокой специфичностью и сродством к молекулярной мишени, конъюгировать с подходящим радионуклидом с образованием устойчивого соединения. В организме данная структура связывается с целевой мишенью, таким образом ионизирующее излучение препарата воздействует в основном на злокачественные клетки, уменьшая влияние на здоровые [174].

Векторная молекула может состоять из небольшой неорганической или органической молекулы, пептида, белка (включая антитела и их фрагменты) или наночастицы. Важно, чтобы она обладала высокой специфичностью и селективностью к определенному типу мишени. В некоторых случаях РФЛП может содержать радионуклид в ионной форме, например $^{131}\text{I}^-$ для лечения рака щитовидной железы или $^{89}\text{Sr}^{2+}$ для паллиативной помощи при онкологических заболеваниях костей. В этом случае сам радиоизотоп является вектором [175].

Благодаря мембранной проницаемости небольшие молекулы часто используют в качестве векторов для внутриклеточных мишеней [176]. В качестве таких векторов могут использоваться аминокислоты, жирные кислоты, нуклеозиды и другие. Еще одно преимущество малых молекул перед большими соединениями, это их способность с

большой вероятностью проходить через гематоэнцефалический барьер [175]. Примерами одобренных препаратов, содержащих малые молекулы являются мета-[¹³¹I]йодбензилгуанидин ([¹³¹I]MIBG) лечения пациентов с метастатической или неоперабельной нейробластомой [177] и [¹⁷⁷Lu]Lu-PSMA-617 для пациентов с раком предстательной железы, который имеет в составе выраженный простатспецифический антиген (PSMA) [178]. Многие другие препараты находятся на различных стадиях доклинической и клинической оценки. Перспективность малых молекул в ядерной медицине объясняется их быстрой фармакокинетикой, что ускоряет их поглощение опухолями и сокращает время циркуляции в радиочувствительных тканях, а также их относительно легким синтезом и очисткой [176].

Использование пептидов в качестве векторов основано на их специфичном связывании с раковыми клетками. Они, как правило, быстро проникают в мишень благодаря своей относительно небольшой молекулярной массе (в составе пептидов обычно менее 50 аминокислотных остатков) и способны долго удерживаться в опухолевых клетках, обеспечивая длительное нахождение радиоактивного источника внутри злокачественной ткани [175]. По сравнению с другими биологически активными молекулами, пептиды легко синтезировать, более того, известные последовательности аминокислот могут быть модифицированы для снижения скорости их расщепления в условиях *in vivo*, например, путем использования более стабильных D-аминокислот. Другим преимуществом использования пептидов в качестве векторных молекул является их фармакокинетика, характеризующаяся высоким накоплением в ткани-мишени, быстрым выведением из крови и нецелевых тканей и отсутствием печеночного клиренса [179].

Наиболее часто используемыми РФЛП на основе пептидов являются аналоги соматостатина с радиоактивной меткой для визуализации и лечения нейроэндокринных опухолей [180]. Одним из первых препаратов был [¹²³I-Tyr³]октреотид [181], а в настоящее время все больше находят применения РФЛП на основе ⁶⁸Ga и ¹⁷⁷Lu – [⁶⁸Ga]Ga-DOTATATE [182] и [¹⁷⁷Lu]Lu-DOTATATE [183].

Белки также могут быть использованы в качестве векторов в РФЛП. Например, сывороточный альбумин человека используется для ПЭТ-исследований тока крови [184].

Моноклональные антитела считаются хорошими кандидатами для таргетной терапии и диагностических целей, поскольку они обладают уникальной специфичностью к огромному количеству антигенов. Их большой размер (150 кДа) приводит к циркуляции в крови от нескольких дней до недель. Такое длительное время пребывания в крови ограничивает контраст изображения между целевыми и нецелевыми клетками сразу после инъекции. Из-за медленной кинетики требуется использование долгоживущих

радионуклидов, таких как ^{89}Zr ($T_{1/2} = 3,3$ дня) [185] или ^{124}I ($T_{1/2} = 4,2$ дня) [186], однако это приводит к высокой лучевой нагрузке на пациента.

Более того, исследуются способности наночастиц накапливаться в опухолевых тканях. Это свойство находит применение в направленной медицине, где наночастицы используются как векторы. Для использования в медицине важно, чтобы наночастицы были способны интегрироваться в биологическую систему, не вызывая иммунного ответа или других негативных последствий, нетоксичные для данной биологической системы, имели достаточное время циркулирования в крови для достижения мишени [187]. Наноносители с оптимизированными физико-химическими и биологическими свойствами усваиваются клетками легче, чем более крупные молекулы, поэтому их можно успешно использовать в качестве средств доставки препарата [188]. Липосомы, твердые липидные наночастицы, дендримеры, кремниевые и углеродные материалы, а также магнитные наночастицы уже были протестированы в качестве систем доставки лекарственных средств [189–193].

1.6 Выводы из обзора литературы

В состав радиофармпрепарата входит радионуклид с определенными ядерно-физическими свойствами (тип и энергия излучения, период полураспада), которые определяют область применения РФЛП. Так, регистрация γ -излучения используется в современных методах молекулярной визуализации, таких как ПЭТ и ОФЭКТ. Терапевтические методы заключаются в направленной доставке источника ионизирующего излучения в виде Оже-электронов, β^- - или α -частиц, который вызывает необратимое повреждение молекул ДНК в клетках злокачественных новообразований. В некоторых случаях возможно одновременное применение диагностики и терапии (тераностики) – либо используя один радионуклид с разными типами излучения, либо разные изотопы одного и того же элемента (тераностические пары).

Относительно новым направлением в ядерной медицине является создание комбинированных радиофармпрепаратов, сочетающих как диагностические, так и терапевтические свойства. При этом свойства нового класса РФЛП зависят не только от радионуклида, но и от свойств меченой структуры. Так, в качестве платформы для радиофармпрепарата могут выступать твердые наночастицы. Радиоактивно меченные наночастицы могут использоваться для выявления и характеристики заболевания, для мониторинга эффективности терапии, а также в качестве терапевтического агента. Наноматериалы имеют большую площадь поверхности и малый размер, что позволяет им

взаимодействовать с клетками и проходить сквозь клеточные мембраны. При необходимости их фармакокинетические и фармакодинамические свойства могут быть улучшены путем функционализации поверхности.

Сами наноматериалы, как правило, обладают интересными для биомедицинских применений свойствами. Так, наночастицы CeO_2 проявляют антиоксидантные свойства, что позволяет использовать их как радиопротектор. В то же время в опухолевых клетках они показывают прооксидантные свойства из-за меньшего показателя кислотности в данной клеточной среде, что потенциально позволит усилить терапевтический эффект РЛФП. Одновременно с этим благодаря чувствительности к изменениям pH среды наночастицы могут селективно накапливаться в опухолевых тканях. Кроме того, частицы, обладающие подходящими магнитными свойствами, могут быть использованы как для диагностики в качестве контраста для МРТ, так и для терапии, в том числе недостаточно на данный момент изученной магнитомеханической терапии. В сочетании с радиоактивной меткой наночастицы могут применяться в качестве агентов мультимодальной визуализации или комбинированной диагностики и терапии.

Существует несколько методов радиоактивного мечения частиц. Однако, предпочтительным является метод непрямого конъюгирования радионуклида с частицей с использованием бифункциональных хелаторов. Данный способ достаточно прост и в то же время эффективен и вносит минимальные изменения в исходные свойства наночастиц. Одним из наиболее изученных и распространенных хелаторов для радиофармпрепаратов является макроциклический лиганд DOTA, а также его бифункциональные производные. Трикарбоксилатный макроциклический лиганд с шестью атомами азота в цикле ранее также проявил высокую скорость комплексообразования, термодинамическую и кинетическую стабильность в биологически значимых средах и *in vivo* со многими катионами металлов, в том числе с Zn^{2+} и Bi^{3+} . В связи с этим данные хелатирующие агенты могут применяться в качестве связующего звена между наночастицами и радионуклидом.

Таким образом, исследование радиоактивно меченых конъюгатов оксидных наночастиц CeO_2 и гексаферрита стронция с макроциклическими лигандами является актуальной задачей для решения ряда проблем ядерной медицины.

2. Экспериментальная часть

2.1 Приборы и реактивы

Для получения наночастиц оксида церия (IV) использовались 0,1 М $(\text{NH}_4)_2\text{Ce}(\text{NO}_3)_6$ приготовленный в деионизованной воде (деионизатор Milli-Q simplicity, удельное сопротивление не менее 18,4 мОм/см³) и раствор 3 М $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ марки «ч.д.а.». Наночастицы в виде твердого осадка отделяли от жидкой фазы путем центрифугирования (центрифуга Allegra X-300 Centrifuge), а затем высушивали до постоянной массы под вакуумом.

Магнитные наночастицы гексаферрита стронция $\text{SrFe}_{11,5}\text{Al}_{0,5}\text{O}_{19}$, покрытые диоксидом кремния ($\text{SHF}@\text{SiO}_2$), были синтезированы коллегами в научно-исследовательской лаборатории неорганического материаловедения химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова.

В работе использовали лиганды (рис. 12) **L1** (2,16-диоксо-3,6,9,12,15,21-гексаазабицикло[15.3.1] геникоза1(21),17,19-триен-N(6),N(9),N(12)-триуксусная кислота) и **L2** (6,9,12-трис(трет-бутоксикарбонилметил)-2,16-диоксо-3,6,9,12,15,21-гексаазабицикло[15.3.1] геникоза1(21),17,19-триен-19-карбоновая кислота), полученные сотрудниками лаборатории фотоактивных супрамолекулярных систем Института элементоорганических соединений РАН (ИНЭОС РАН) [173,194], а также лиганд **p-SCN-Bn-DOTA** (2,2',2'',2'''-(2-(4-изотиоцианатобензил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетраил)тетрауксусная кислота) (Macrocycles, $\geq 94\%$).

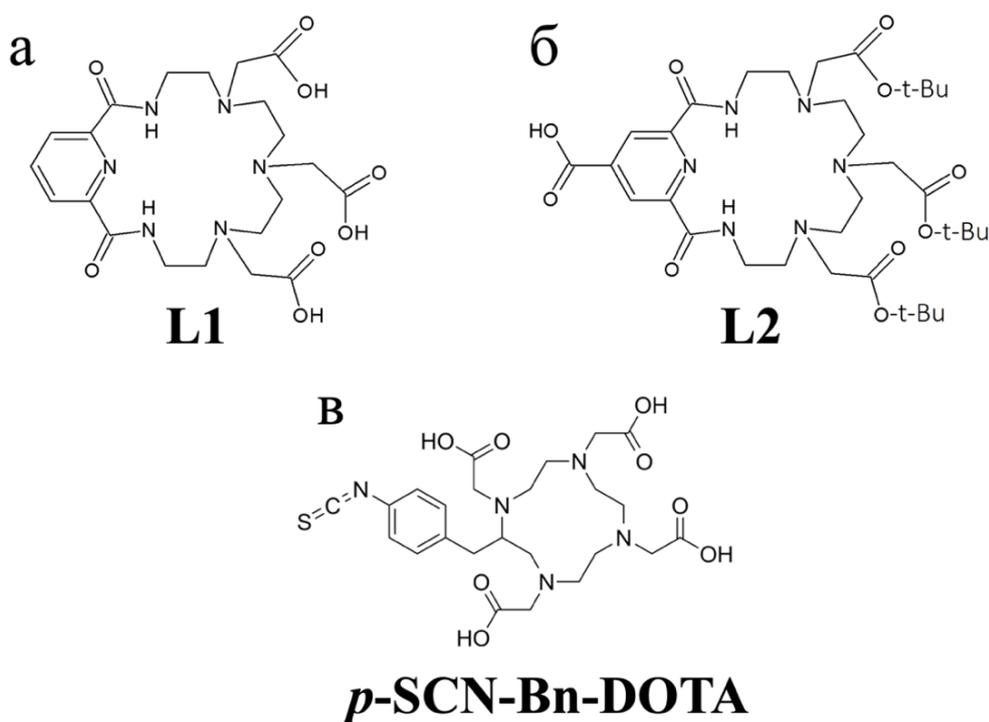


Рисунок 12. Исследуемые лиганды а) L1, б) L2 и в) p-SCN-Bn-DOTA.

При модификации поверхности наночастиц диоксида церия азакраун-лигандами были использованы различные методики синтеза, отличающиеся линкерами. Для синтеза по методике 1 использовались 2-хлорметилоксиран (эпихлоргидрин, ECH) в качестве линкера, 0,1 М NaOH, 2 М NaOH приготовленные из NaOH (х.ч.) в деионизованной воде, водный раствор NH₃ марки «ч.д.а.». Для получения конъюгатов наночастиц диоксида церия и макроциклических лигандов по методике 2 в качестве линкера использовали (3-аминопропил)триэтоксисилан (APTES) (Sigma-Aldrich, 99%) и безводный диметилформамид (DMF) (ч.). Прививку лигандов осуществляли с помощью 2-(1H-Бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилуроний гексафторфосфата (HBTU), триэтиламина (Et₃N) (х.ч.), 50% этиловый спирт, диметилсульфоксида (DMSO), 85% раствор муравьиной кислоты HCOOH для снятия защитные *трет*-бутильные группы с карбоксильных групп лигандов.

Для функционализации наночастиц гексаферрита стронция, покрытых диоксидом кремния, азакраун-лигандами использовались (3-аминопропил)триэтоксисилан (APTES) в качестве линкера, 95% раствор этилового спирта (EtOH), 2-(1H-Бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилуроний гексафторфосфат (HBTU), триэтиламин (Et₃N), диметилсульфоксид (DMSO), 85% раствор муравьиной кислоты HCOOH для снятия защитных *трет*-бутильных групп.

Размер и структуру образцов определяли с помощью просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) с электронной дифракцией на выбранных участках (ЭД) на микроскопе Carl Zeiss Libra 200MC. Увеличение изображений составляло 200k–1000kX. Обработка ЭД с выделенной области осуществлялась с помощью программного обеспечения CrysTBox [195,196].

Структуры модифицированных наночастиц подтверждены методами инфракрасной спектроскопии (ИК) и спектроскопии комбинационного рассеяния (КР). Спектры ИК были получены на ИК-спектрометре с Фурье-преобразование ФТ-801 (ООО НПФ «Симекс», Россия). Колебательные спектры регистрировали с использованием оборудования Центра коллективного пользования физическими методами исследования в Институте физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН (ИФХЭ РАН). Спектры порошков регистрировали на микроскопе-приставке Микран 3 в зеркальном отражении от стальной подложки в диапазоне 4000 – 3500 см⁻¹ со спектральным разрешением 4 см⁻¹. КР-спектры получены на рамановском спектрометре Renishaw inVia при длине возбуждающего излучения 633 нм мощностью 50 мВт в диапазоне 100 – 3500 см⁻¹ в Институте физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН (ИФХЭ РАН).

Спектры XANES в области L_3 -перехода Ce для образцов исходных наночастиц CeO_2 и модифицированной серии были получены методом флуоресцентной спектроскопии рентгеновского поглощения с высокой разрешающей способностью (HERFD XANES) на линии Rossendorf Европейского центра синхротронного излучения ESRF (Гренобль, Франция). Падающая энергия излучения выбиралась с помощью отражения от монохроматора на двойном кристалле Si.

Состав модифицированных наночастиц определялся с помощью термогравиметрического анализа, совмещенного с масс-спектрометрией (ТГА-МС) в ИФХЭ РАН. Измерения проводились на термоанализаторе NETZSCH TG 209 F1 Iris, совмещенном с масс-спектрометром QMS 403 D Aeolos. Исследования проводили в атмосфере воздуха в интервале температур от 30 до 900°C со скоростью нагрева 10°C/мин.

Свойства поверхности функционализированных наночастиц были изучены с помощью измерения значений электрокинетического потенциала на плоскости скольжения наночастицы (ζ -потенциала) при различных значениях pH и постоянной ионной силе. ζ -потенциал определялся методом многоугольного динамического рассеяния света на приборе Malvern ZETASIZER nano-ZS. Значения pH в серии образцов в водном растворе 0,01 M $NaClO_4$ устанавливали добавлением растворов NaOH и $HClO_4$ различных концентраций.

Для магнитотвердых образцов гексаферрита стронция, покрытых слоем оксида кремния, и конъюгатов на их основе были изучены магнитные свойства на кафедре низких температур и сверхпроводимости Физического факультета МГУ им М.В. Ломоносова. Зависимость намагниченности от напряженности магнитного поля исследовали при температуре 300 K с помощью вибрационного магнитометра, входящего в систему PPMS-9T (Physical Property Measurement System, Quantum Design). Измерения проводились в низком вакууме при давлении 9-10 Торр (1200-1300 Па). Для фиксации наночастицы покрывали полимерным лаком.

Активность образцов измерялась на гамма-спектрометрическом комплексе с полупроводниковым детектором из сверхчистого германия фирмы CANBERRA.

Взвешивание веществ проводилось на аналитических весах GR-200 A&D с точностью 0,0001г.

2.2 Выделение ^{44}Sc из генератора $^{44}Ti/^{44}Sc$

Радионуклид ^{44}Sc выделяли из генератора $^{44}Ti/^{44}Sc$, разработанного коллегами в лаборатории радиофармацевтической химии химического факультета МГУ. На первой

стадии для выделения элюата с генератора использовалась колонка с ионообменной смолой Teva Resin (Triskem), в качестве элюента была взята смесь 0,005 М щавелевой и 0,065 М соляной кислот. Далее элюат загружали на колонку с ионообменной смолой Dowex 50x8 предварительно промытую 5 мл 4 М HCl и 7–10 мл деионизированной воды. Щавелевую кислоту смывали 7–10 мл деионизированной воды, после чего через колонку пропускали 0,25 М ацетатный буферный раствор (pH 4) для выделения целевого радионуклида в форме ацетата скандия.

На рисунке 13 представлена гистограмма распределения мощности дозы по объему элюата с очистительной колонки.

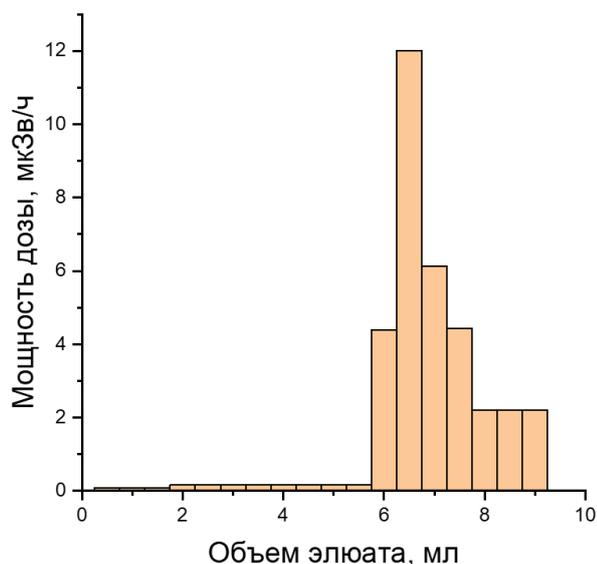
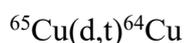
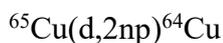


Рисунок 13. Распределение активности по объему элюата.

2.3 Выделение ^{65}Zn из медной мишени

Радионуклид ^{65}Zn был наработан при облучении медной мишени естественного изотопного состава дейтронами энергией 14,8 МэВ на циклотроне в НИИЯФ МГУ по реакции $^{65}\text{Cu}(d,2n)^{65}\text{Zn}$.

При облучении медной мишени дейтронами также образуется ^{64}Cu (β^+ , β^- , EC, $T_{1/2} = 12,7$ ч). Наличие ^{64}Cu обусловлено побочными ядерными реакциями, протекающими при облучении природной меди, содержащей стабильные изотопы ^{63}Cu (69,1%) и ^{65}Cu (30,9%). Уравнения данных реакций приведены ниже:



Для подтверждения наличия ^{64}Cu был получен гамма-спектр исходной облучённой мишени (рис. 14а).

После облучения мишень выдерживалась 2 дня для снижения радиационной активности, обусловленной большим количеством короткоживущего радионуклида ^{64}Cu .

Целевой радионуклид ^{65}Zn выделяли из исходной смеси методом колоночной хроматографии. Мишень растворяли в концентрированной азотной кислоте, затем выпаривали и перерастворяли в 2 М HCl. Разделение проводилось на колонке с анионообменной смолой DOWEX 1x8, предварительно насыщенной 2 М HCl. Известно, что при растворении в 2 М HCl цинк образует хлоридный комплекс $[\text{ZnCl}_4]^{2-}$, что позволяет сорбировать его в таком виде на колонке, в то же время Cu^{2+} в данных условиях не образует хлоридный комплекс, так как константа комплексообразования значительно ниже [197]. Следовательно, выбранные условия позволят успешно провести разделение катионов Zn^{2+} и Cu^{2+} . Контроль разделения осуществлялся на гамма-спектрометре по энергетическим линиям, соответствующим ^{64}Cu (1346 кэВ) и ^{65}Zn (1115 кэВ) (рис. 14б). Добавление 2 М HCl продолжалось до тех пор, пока интенсивность пика 1346 кэВ, относящегося к ^{64}Cu , не стала нулевой. Затем ^{65}Zn с колонки элюировали деионизированной водой.

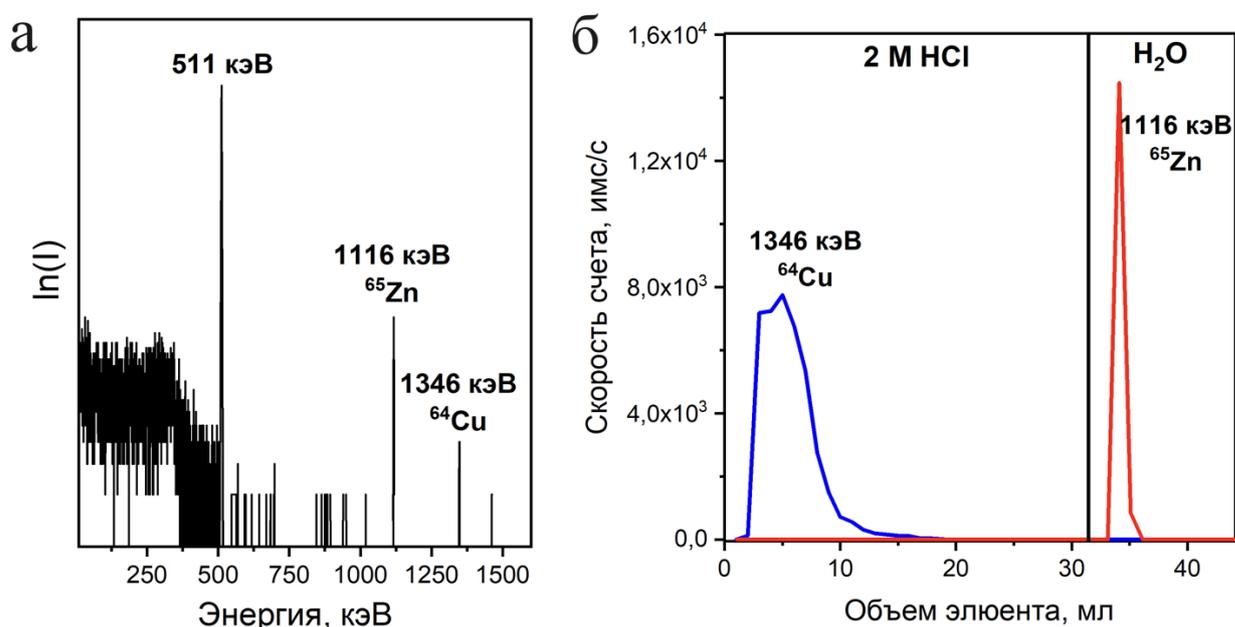


Рисунок 14. а) Гамма-спектр исходной облученной медной мишени (аликвота объемом 2 мл); б) Хроматограмма выделения ^{65}Zn из облучённой медной мишени.

2.4 Синтез наночастиц оксида церия (IV)

Для получения наночастиц оксида церия (IV) к 50 мл 3 М $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ по каплям добавляли 10 мл свежеприготовленного раствора 0,1 М $(\text{NH}_4)_2\text{Ce}(\text{NO}_3)_6$ при непрерывном перемешивании. Синтез проводили при комнатной температуре в течение 24 ч. Образование желтого осадка CeO_2 проходило через промежуточную стадию фиолетового цвета.

Выпавший осадок отделяли от жидкой фазы центрифугированием и трижды промывали деионизованной водой. Полученные наночастицы высушивали под вакуумом до постоянной массы.

2.5 Модификация поверхности наночастиц CeO_2

Модификация поверхности наночастиц оксида церия (IV) линкерами эпилхлоргидрин и АРТЕS была осуществлена согласно следующим методикам.

Для прививки 2-хлорметилоксирана к 50 мг порошка CeO_2 добавляли 2 мл 0,1 М NaOH и суспензировали в ультразвуковой ванне при комнатной температуре. Затем добавляли 1 мл 2-хлорметилоксирана и 100 мкл 2М NaOH с последующим суспензированием. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 12 часов. Твердую фазу отделяли центрифугированием и промывали деионизованной водой до pH 7. К полученному веществу приливали 5 мл концентрированного раствора $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Реакционную смесь перемешивали в течение 18 часов при комнатной температуре. По завершению реакции центрифугированием выделили наночастицы из раствора и промывали деионизованной водой.

При модификации поверхности наночастиц диоксида церия линкером АРТЕS были использованы различные методики синтеза, отличающиеся соотношением исходных веществ (таблица 4). Наночастицы CeO_2 диспергировали в заранее обезвоженном диметилформамиде (DMF) в ультразвуковой ванне, после чего добавляли необходимое количество АРТЕS и перемешивали в течение 24 часов. Полученные частицы промыли четыре раза DMF и один раз ацетоном для удаления избытка DMF. Промытые частицы сушили под вакуумом до постоянной массы.

Таблица 4. Соотношения реагентов при синтезе модифицированных наночастиц CeO₂-APTES в расчете на 10 мг CeO₂.

Методика синтеза	Объем DMF, мкл	Объем APTES, мкл	Соотношение APTES/DMF (V/V, %)	Температура синтеза
1	1000	300	30	40 °C
2	1000	30	3	40 °C
3	1000	3	0,3	40 °C

Наночастицы были модифицированы лигандами L1, L2 и *p*-SCN-Bn-DOTA. К предварительно полученным растворам 0,01 М лигандов L1 или L2, 0,01 М HBTU и триэтиламина в DMSO добавляли наночастицы из предыдущей стадии. Смесь перемешивалась при комнатной температуре в течение 24 часов. По окончании реакции осадок отделяли центрифугированием и промывали деионизованной водой. Для снятия *трет*-бутильной защиты с карбоксильных групп лиганда L2 к полученному веществу добавляли 85% раствора муравьиной кислоты, суспензировали в ультразвуковой ванне и оставили перемешиваться на 3 часа при комнатной температуре. Наночастицы в виде твердого осадка отделяли от раствора с помощью центрифуги, промывали деионизованной водой и высушивали под вакуумом.

Конъюгирование лиганда *p*-SCN-Bn-DOTA к CeO₂-APTES проводили следующим образом. Модифицированные наночастицы CeO₂-APTES суспензировали в 50% растворе этилового спирта в ультразвуковой ванне, затем добавляли необходимое количество раствора 0,01 М лиганда и Et₃N в (соотношении V(растворитель)=300 мкл, V(лиганда, 10⁻² М)= 200мкл, V(Et₃N)=50 мкл). Реакционную смесь перемешивали 24 часа при комнатной температуре, после чего промывали 50 % этанолом и высушили под вакуумом.

Полная схема синтеза конъюгатов представлена на рисунке 15.

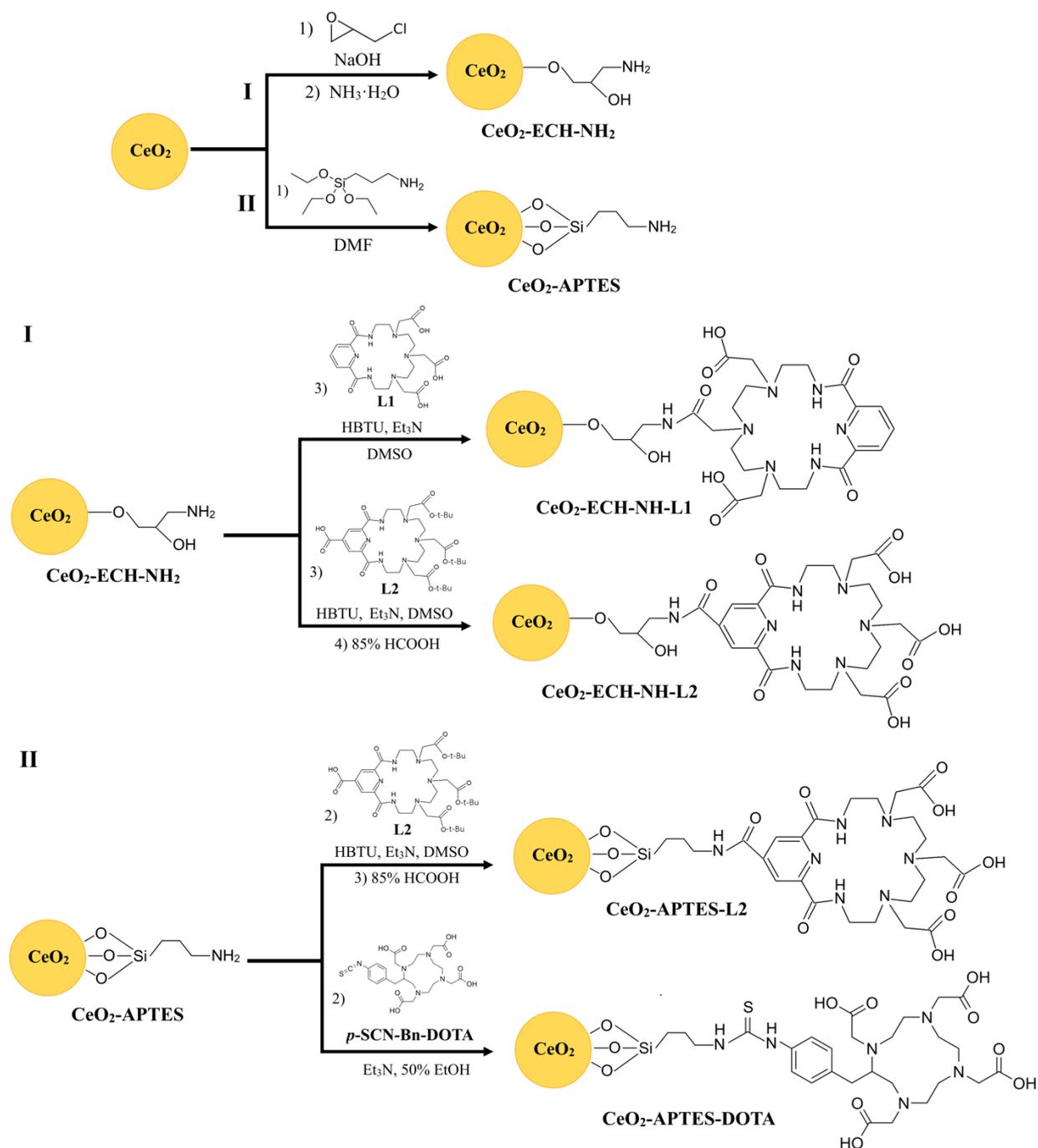


Рисунок 15. Схема синтеза модифицированных наночастиц диоксида церия лигандами L1, L2 и $p\text{-SCN-Bn-DOTA}$.

2.6 Нингидриновый тест

Нингидриновый тест проводили для исследования покрытия поверхности наночастиц диоксида церия аминогруппами, доступными для конъюгирования лигандом. При проведении теста использовали глицин (х.ч.), этиловый спирт 95%, нингидрин (х.ч.). Для измерения оптической плотности полученных растворов использовали

спектрофотометр Shimazu UV-3600 в режиме фотометрических измерений. В работе использовали кварцевые и акриловые кюветы шириной 1 см.

Для построения калибровочной кривой к серии растворов глицина в 50% водном растворе этанола добавляли 0,2% раствор нингидрина в объемном соотношении 1:1 (табл. 5). Полученные растворы перемешивали в течение 5 минут, после чего выдерживали 5 минут при температуре 90°C. После охлаждения до комнатной температуры снимали спектры поглощения растворов в области 350 – 700 нм. В зависимости от серии измерений образцы разбавляли 75% раствором этанола или не разбавляли. Максимум поглощения продукта нингидриновой реакции наблюдается при длине волны 573,5 нм.

В таблице 5 представлены параметры построения калибровочной кривой с использованием глицина.

Таблица 5. Параметры калибровочной кривой для растворов глицина

С(глицин), мкг/мл	3,0	5,0	10,0	100,0
С(NH ₂ -групп), мкг/мл	0,53	1,07	2,13	21,33
Оптическая плотность А, отн.ед.	0	0,01	0,02	0,23

На рисунке 16 представлена калибровочная кривая с линейной аппроксимацией.

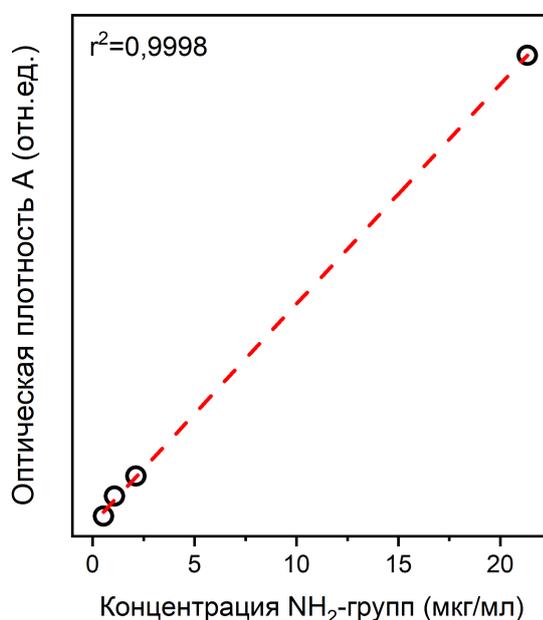


Рисунок 16. Калибровочная кривая зависимости оптической плотности от концентрации аминогрупп в растворе.

Коэффициент $k = 1,096 \cdot 10^{-2}$ ($r^2 = 0,9998$) был найден по уравнению Бугера-Ламберта-Бера, который позволяет определить количество аминогрупп на поверхности наночастиц.

Для исследования наночастиц были приготовлены суспензии конъюгатов с одинаковой концентрацией (1 г/л). Далее к суспензии наночастиц добавляли равный объем 0,2% раствора нингидрина. Смесь выдерживали при температуре 90°C в течение 5 минут, после чего охлаждали при комнатной температуре в течение 10 минут. Для получения корректных данных наночастицы осаждали центрифугированием. Из кривых поглощения надосадочных жидкостей были определены концентрации аминогрупп в объеме смеси и линкера APTES на единицу массы наночастиц (мг/г).

2.7 Модификация поверхности магнитных наночастиц

Функционализация наночастиц гексаферрита стронция, покрытых диоксидом кремния, проводилась по схеме представленной на рис. 17.

На первой стадии поверхность наночастиц гексаферрита стронция, покрытую диоксидом кремния, модифицировали (3-аминопропил)триэтоксисилоном. Для этого к 10 мг порошка SHF@SiO₂ добавляли 95% раствора этилового спирта и суспензировали в ультразвуковой ванне при комнатной температуре, затем добавляли 25 мкл (3-аминопропил)триэтоксисилана. Полученную смесь нагревали до 70°C при перемешивании в течение 3 часов. Твердую фазу отделяли центрифугированием и промывали деионизованной водой. Полученное вещество высушивали под вакуумом.

Наночастицы SHF@SiO₂ были модифицированы лигандами L1, L2 и *p*-SCN-Bn-DOTA. К 100 мкл предварительно полученных растворов 0,01 М лигандов L1 и L2, 0,01 М HBTU и триэтиламина в DMSO добавляли наночастицы из предыдущей стадии. Смесь перемешивалась при комнатной температуре в течение 24 часов. По завершению реакции осадок отделяли центрифугированием и промывали деионизованной водой. Наночастицы высушивали под вакуумом. Для снятия *tert*-бутильной защиты с карбоксильных групп лиганда L2 к полученному веществу приливали 85% раствора муравьиной кислоты, суспензировали в ультразвуковой ванне и оставили перемешиваться на 3 часа при комнатной температуре. Твердый осадок отделяли от раствора с помощью центрифуги, промывали деионизованной водой и высушивали под вакуумом.

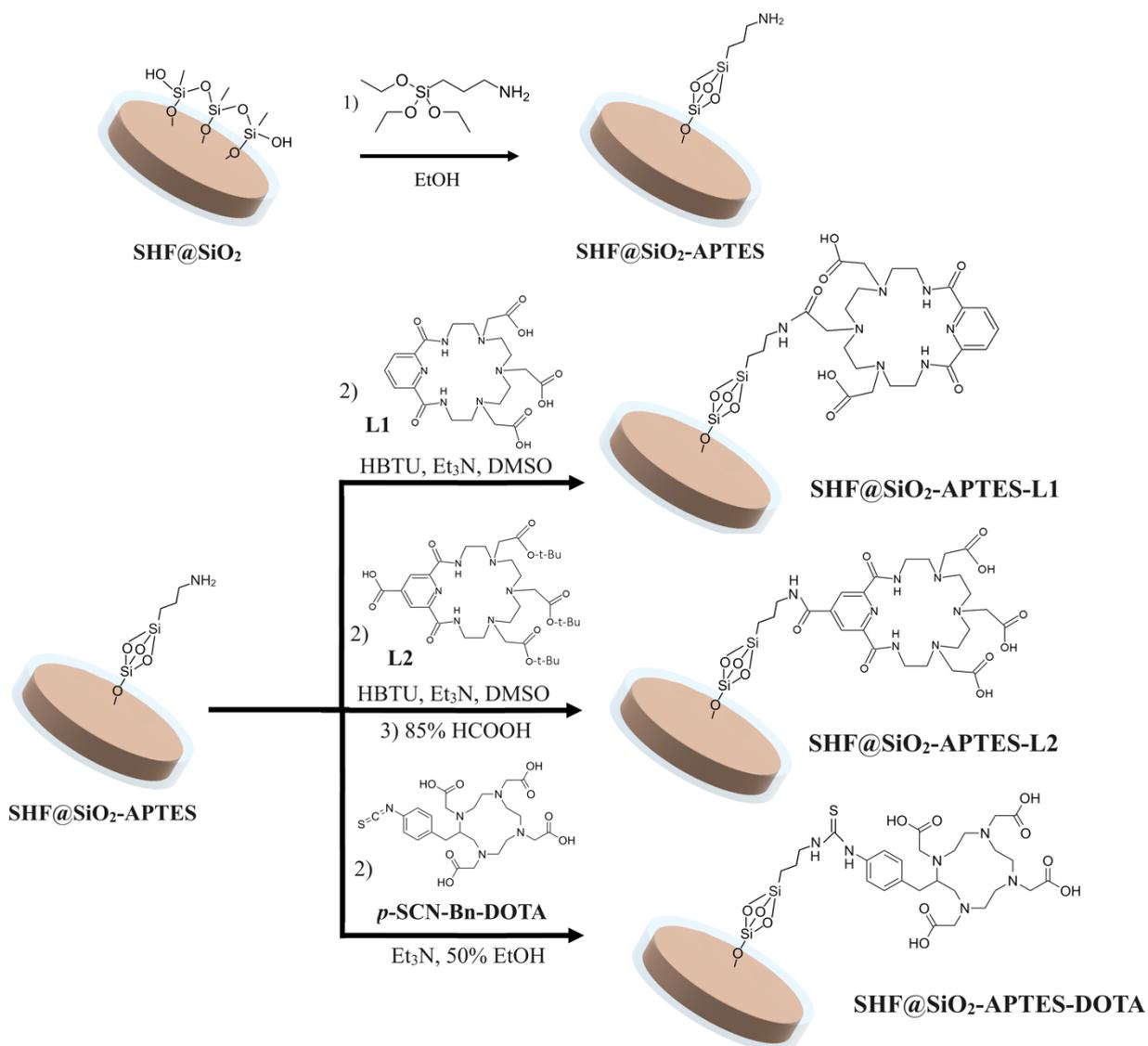


Рисунок 17. Схема синтеза модифицированных наночастиц гексаферрита стронция, покрытых диоксида кремния.

Для прививки лиганда *p*-SCN-Bn-DOTA к модифицированным частицам SHF@SiO₂ наночастицы суспензировали в 50% растворе этилового спирта в ультразвуковой ванне, добавляли необходимое количество раствора 0,01 М лиганда и Et₃N в (соотношении V(растворитель) = 300 мкл, V(лиганда, 10⁻² М) = 200мкл, V(Et₃N) = 50мкл). Реакционную смесь перемешивали в течение 24 часа при комнатной температуре, осадок отделяли от маточного раствора с помощью центрифуги, затем промывали 50 % этанолом и высушили под вакуумом.

2.8 Подбор условий мечения

Исследования условий мечения $[^{44}\text{Sc}]\text{Sc}^{3+}$ и $[^{65}\text{Zn}]\text{Zn}^{2+}$ конъюгатов $\text{CeO}_2\text{-APTES-L2}$ и $\text{CeO}_2\text{-APTES-DOТА}$ проводили с помощью разделения меченых наночастиц от маточного раствора центрифугированием и измерением активности надосадочной жидкости на гамма-спектрометре. Концентрации катионов варьировали от 10^{-5} до 10^{-9} М при концентрациях частиц от 0,1 г/л. Эксперименты проводились в системе 0,1 М ацетатного буфера для фиксирования значений pH в области 6 – 7. Согласно литературным данным условия мечения DOТА требуют нагревания, поэтому реакционную среду выдерживали в течение 60 минут при 90°C для конъюгатов $\text{CeO}_2\text{-APTES-DOТА}$. По отношению активности надосадочной жидкости к активности образца сравнения без наночастиц определяли выход комплексообразования.

Оптимальные условия образования меченных $[^{207}\text{Bi}]\text{Bi}^{3+}$ комплексов определялись методом конкурирующей экстракции из водного раствора несвязанного в комплекс катиона висмута с добавлением радиоактивной метки ^{207}Bi . В качестве экстрагента использовали 0,01 М раствор ди-(2-этилгексил)фосфорной кислоты (Д2ЭГФК) в толуоле, предварительно насыщенный 0,1 М раствором NaClO_4 при pH 3. Раствор комплексных соединений в 0,01 М NaClO_4 pH 3 выступал в качестве водной фазы. Экстракцию проводили при интенсивном перемешивании в течение 15 минут при комнатной температуре, разделение органической и водной фазы проводили путем центрифугирования.

Концентрацию висмута варьировали от $5 \cdot 10^{-7}$ М до 10^{-9} М при постоянной концентрации исходных и модифицированных частиц CeO_2 (полученных с помощью линкера 2-хлорметилоксирана) и SHF@SiO_2 10^{-3} г/л. Также, определяли зависимость радиохимического выхода от концентрации конъюгатов наночастиц и лигандов L1, L2 и *p*-SCN-Bn-DOТА (10^{-6} – 10^{-3} г/л) при постоянной концентрации катиона висмута 10^{-9} М для функционализированных частиц $\text{CeO}_2\text{-ECH-NH}_2$. Согласно литературным данным условия мечения DOТА требуют нагревания, поэтому комплексообразование $\text{SHF@SiO}_2\text{-APTES-DOТА-}^{207}\text{Bi}$ изучали при температурах 25, 50, 70 и 90°C .

2.9 Определение устойчивости меченых комплексов в биологически значимых средах

Устойчивость комплексов конъюгатов наночастиц с катионами скандия, цинка и висмута изучали в биологически значимых средах – физиологическом растворе (0,9%

NaCl), фосфатно-солевым буфере (PBS) с pH 7,4 и бычьей эмбриональной сыворотке (FBS) (HyClone) в соотношении 1:9.

Меченые наночастицы CeO₂ и SHF@SiO₂ и их конъюгаты с концентрациями 0,1 г/л для CeO₂-APTES-L2 и CeO₂-APTES-DOTA и 10⁻³ г/л для CeO₂- ECH-NH-L1, CeO₂-ECH-NH-L2, SHF@SiO₂-APTES-L1, SHF@SiO₂-APTES-L2 и SHF@SiO₂-APTES-DOTA были приготовлены в буферном растворе ацетата аммония (0,1 М) для поддержания pH в диапазоне 6,5 – 7,2 и смешаны с 0,9% NaCl, PBS или бычьей эмбриональной сыворотке (1:9).

Все образцы инкубировали при непрерывном перемешивании и температуре 37°C. Для анализа связывания иона металла и конъюгата наночастиц через определенные временные промежутки отбирали аликвоты из исследуемой системы, для отделения частиц от маточного раствора аликвоты центрифугировали или применяли метод магнитной сепарации с помощью неодимового магнита. Затем измеряли активность надосадочной жидкости на гамма-спектрометре. Аликвоты надосадочной жидкости отбирали и анализировали в 8 временных точках с помощью гамма-спектрометра. Для образцов, меченных радионуклидами ⁶⁵Zn и ²⁰⁷Pb эксперимент проводили в течение 24 часов, в то время как, комплексные соединения с радионуклидом скандия выдерживали в биологических средах не более 10 ч в связи с относительно малым периодом полураспада ⁴⁴Sc (T_{1/2} = 3,9 часа).

2.10 Проведение *in vitro* экспериментов

Жизнеспособность клеток оценивали на клеточной линии EA.hy926 (гибридная линия, полученная путем слияния эпителиальных клеток аденокарциномы легкого человека A549 с эндотелиальными клетками пупочной вены человека HUVEC) в Институте Физико-Химической биологии имени А.Н. Белозерского. Цитотоксичность оценивали с помощью резазурина, который восстанавливается до флуоресцентного резорфина благодаря метаболической активности клеток, по методике [198].

В ходе эксперимента клетки EA.hy926 выращивали на 96-луночных планшетах, культивировали в среде DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium, ПанЭко), содержащей 10% телячьей эмбриональной сыворотки FBS (HyClone). Клетки выдерживали в 5% атмосфере CO₂ при 37°C до образования плотного монослоя. Затем были добавлены наночастицы CeO₂, CeO₂-APTES-L2 (в концентрациях 0,05, 0,5 и 1,5 г/л) и SHF@SiO₂-APTES-L2 (в концентрациях 0,005, 0,05 и 0,5 г/л) и выдерживались в течение 20 часов. Резазурин, растворенный в PBS, с концентрацией 0,2 мМ добавляли к клеткам. Через 24

часа после инкубационного периода измеряли флуоресценцию при длинах волн 544 нм и 590 нм с помощью планшетного флуориметра Thermo Scientific Fluoroskan.

2.11 Проведение *In vivo* экспериментов

Лабораторные мыши были получены из Филиала Столбовая ФГБУН НЦБМТ ФМБА России и Института цитологии и генетики РАН, размещались группой из 4 животных в стандартных клетках и акклиматизировались в виварии кафедры радиохимии МГУ им. М.В. Ломоносова как минимум в течение двух недель. Животные содержались при 12-часовом суточном цикле, имели доступ к пище и воде в неограниченном количестве.

Все процедуры проводились строго в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях и руководством по содержанию и использованию лабораторных животных.

Эксперимент с $\text{CeO}_2\text{-APTES-L2-}^{44}\text{Sc}$ и $[^{44}\text{Sc}]/\text{Sc}^{3+}$

Эксперимент на лабораторных мышах был одобрен на заседании комиссии по биоэтике МГУ имени М.В. Ломоносова 22 июня 2023 года (№ протокола 153-д-з).

Фармакокинетику свободного катиона $[^{44}\text{Sc}]/\text{Sc}^{3+}$ и комплексного соединения $\text{CeO}_2\text{-APTES-L2-}^{44}\text{Sc}$ изучали на инбредной линии мышей C57bl/6 (самки в возрасте от 6 до 9 недель).

Препараты $[^{44}\text{Sc}]$ -скандия ацетат в PBS с концентрацией 10^{-9} М при pH 6 и комплекс конъюгата $\text{CeO}_2\text{-APTES-L2-}^{44}\text{Sc}$ (радиохимическая чистота 96,3%) с концентрацией наночастиц 0,1 г/л в PBS при pH 6 вводили в объеме 100-160 мкл внутривенно в хвостовую вену. Эвтаназию проводили с помощью CO_2 -камеры через 1 и 4 часа (для каждой временной точки использовали по 4 особи). Сразу после эвтаназии была отобрана кровь и смешана с раствором гепарина, основные органы (сердце, легкие, селезенка, печень, почки, органы желудочно-кишечного тракта, бедренная кость, хвост, мозг и тело) были извлечены, промыты физиологическим раствором и взвешены. Радиоактивность, накопленную в органах, измеряли на гамма-спектрометре и выражали в %ID/г (процент введенной дозы на грамм).

Эксперимент с $\text{SHF}@/\text{SiO}_2\text{-APTES-L2-}^{207}\text{Bi}$ и $[^{207}\text{Bi}]/\text{Bi}^{3+}$

Эксперимент на лабораторных мышах был одобрен на заседании комиссии по биоэтике МГУ имени М.В. Ломоносова 16 декабря 2021 года (№ протокола 140-ж).

Для изучения биораспределения SHF@SiO₂-APTES-L2-²⁰⁷Bi и [²⁰⁷Bi]Bi³⁺ использовали линию аутбредных лабораторных мышей CD-1 (самцы в возрасте от 6 до 9 недель). Животных разделили на две группы: мышам в контрольной группе вводили [²⁰⁷Bi]BiEDTA, а мышам в другой группе – SHF@SiO₂-APTES-L2-²⁰⁷Bi.

Препараты готовили в буферном растворе 0,01 М AcONH₄ при pH 6,5 и разводили стерильным физиологическим раствором до необходимых концентраций. Радиохимический выход комплексов [²⁰⁷Bi]BiEDTA и SHF@SiO₂-APTES-L2-²⁰⁷Bi (с концентрацией наночастиц 0,001 г/л) достигал 95%. Препараты вводили внутривенно в хвостовую вену общим объемом 150 мкл.

После инъекций мочу и фекалии мышей собирали с помощью метаболической камеры каждый час в течение суток с последующим измерением на гамма-спектрометре для определения выделяемого количества радионуклида ²⁰⁷Bi.

Через 1, 6 и 24 часа после инъекции мышей (по четыре особи на единицу измерения) подвергли эвтаназии путем цервикальной дислокации. Сразу после эвтаназии была отобрана кровь и смешана с раствором гепарина, основные органы (сердце, легкие, селезенка, печень, почки, поджелудочная железа, бедренная кость, хвост, мозг и тело) были извлечены, промыты физиологическим раствором и взвешены. Радиоактивность, накопленную в органах, измеряли на гамма-спектрометре и выражали в % ID/г (процент введенной дозы на грамм органа) по формуле:

$$\frac{\% \text{ ID}}{\text{г}} = \frac{A_{\text{органа}}}{A_{\text{введенная}} \times m_{\text{органа}}} \times k_{\text{геометрия}} \times 100\%$$

3. Обсуждение результатов

3.1 Морфология наночастиц оксида церия (IV)

На рисунке 18 приведены результаты просвечивающей электронной микроскопии для наночастиц CeO_2 , полученных в ходе осаждения $(\text{NH}_4)_2\text{Ce}(\text{NO}_3)_6$ с концентрацией 0,1 М в среде 3 М раствора $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$. По результатам электронной микроскопии образовались кристаллические наночастицы сферической формы. Диаметр частиц составил 2,8 нм (рис. 18в). На микрофотографии высокого разрешения наблюдаются полосы решетки сильно кристаллизованных частиц с расстоянием 0,31 нм, что соответствует плоскости (111) наночастиц CeO_2 . Согласно полученным в процессе съемки микроскопии данным ЭД с выделенной области (рис. 18г-д), наблюдаются только дифракционные отражения, соответствующие структуре CeO_2 (COD №9009008).

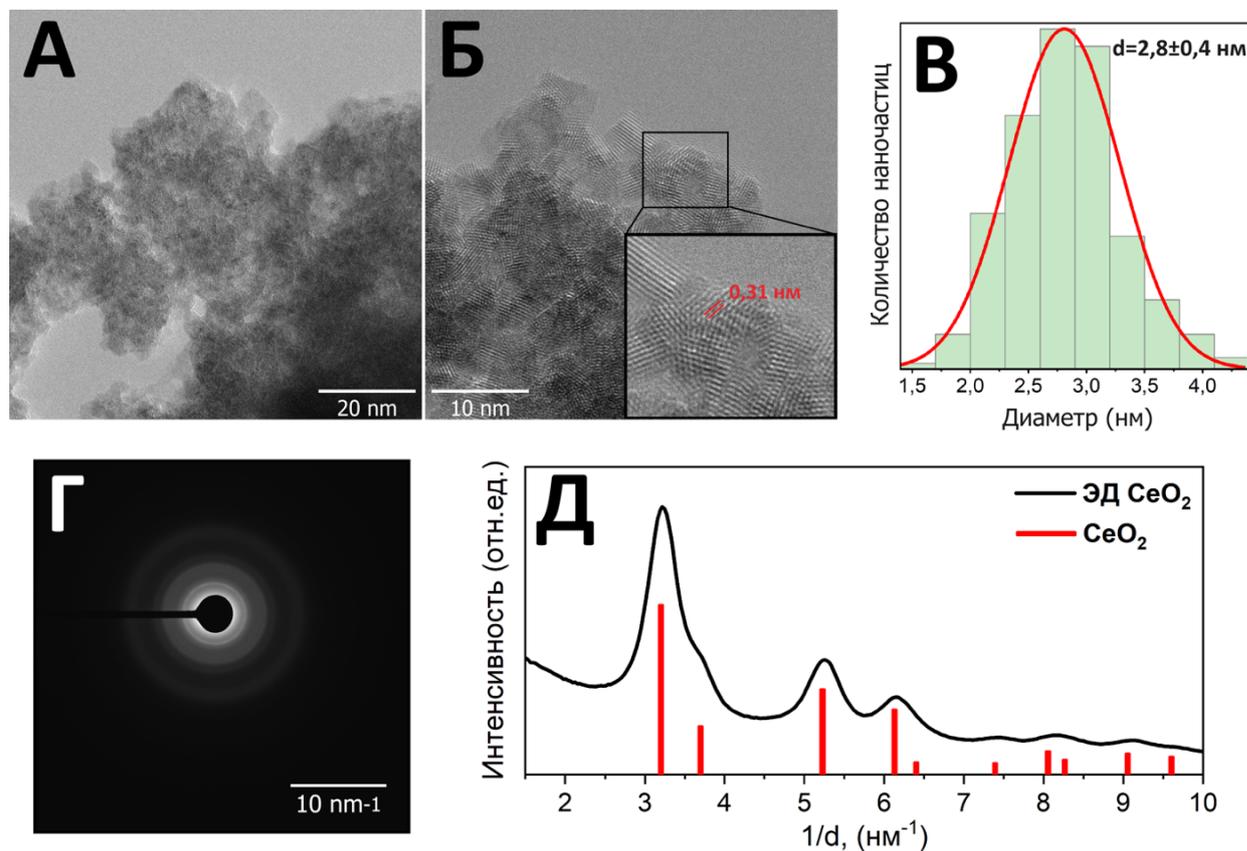


Рисунок 18. а, б) микрофотографии наночастиц CeO_2 ; в) гистограмма распределения наночастиц CeO_2 по диаметру, построенная из данных ПЭМ; г-д) результаты электронной дифракции с выделенной области.

Реакционная способность диоксида церия связана с низким окислительно-восстановительным потенциалом пары $\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$ и наличием кислородных вакансий на поверхности частицы. В окислительных условиях кислород накапливается на поверхности, а при восстановлении образуются кислородные вакансии, которые приводят к увеличению количества атомов церия Ce^{3+} и ряда дефектов в кристаллической решетке. Состояние церия в оксиде определяли с помощью флуоресцентной спектроскопии рентгеновского поглощения с высокой разрешающей способностью HERFD XANES (рис. 19).

В области краевого поглощения (энергии 5720 – 5740 эВ) разрешен дипольный переход $2p_{3/2} \rightarrow 5d_{5/2}$, в то время как в предкраевом диапазоне (энергии 5715 – 5720 эВ) запрещены прямые переходы с $2p$ на $4f$ -уровень в дипольном приближении в области L_3 -края. Однако, в спектрах поглощения могут наблюдаться слабые предкраевые особенности, которые соответствуют квадрупольным переходам $2p \rightarrow 4f$. Интенсивность предкраевых возбуждений в XANES-спектроскопии, как правило, зависит только от кристаллической структуры исследуемых материалов [199,200].

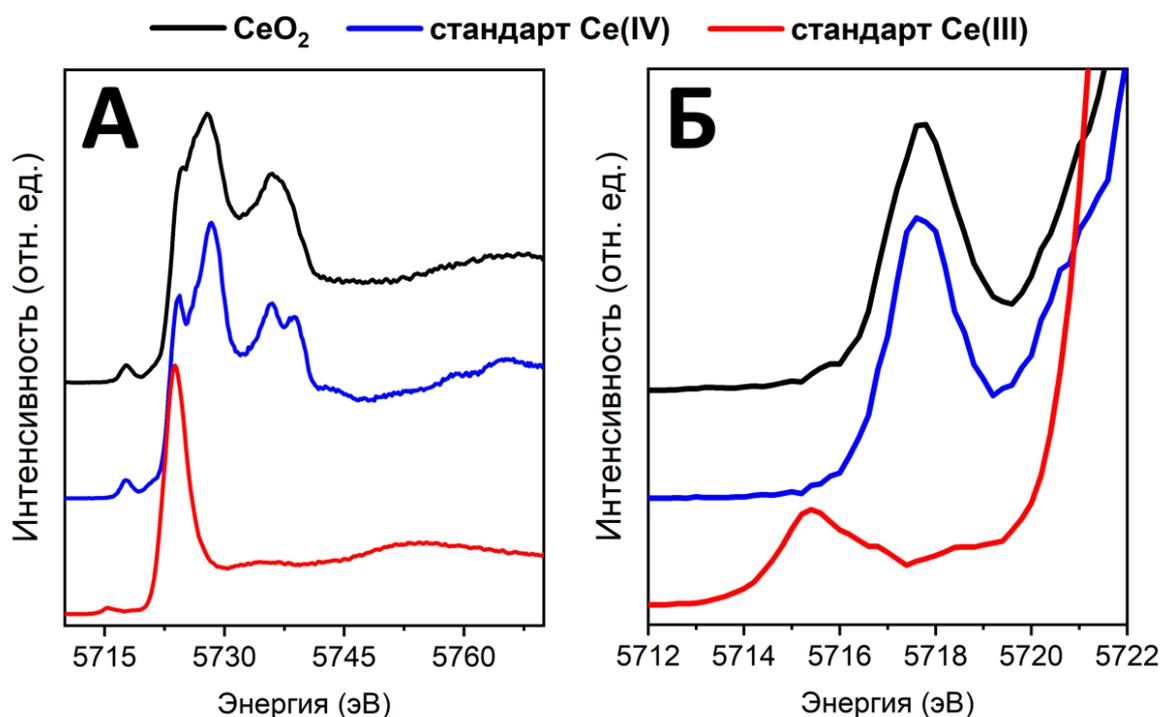


Рисунок 19. а) общий спектр рентгеновского поглощения модифицированных наночастиц диоксида церия в области L_3 -перехода Ce; б) спектр рентгеновского поглощения модифицированных наночастиц диоксида церия вблизи L_3 -края Ce в предкраевом диапазоне.

На рисунке 19а представлены данные флуоресцентной спектроскопии рентгеновского поглощения с высокой разрешающей способностью (HERFD XANES) для

исследуемого образца. В качестве образца сравнения использовали объемный CeO_2 , с параметрами элементарной ячейки $a = 5,4117 \text{ \AA}$ и размером частиц более 25 нм. Спектры исследуемого CeO_2 относительно стандарта в краевой области имеет более сглаженную форму за счет размерного эффекта. Этот эффект обсуждался ранее Плаховой Т. и соавторами [201]. Стоит отметить, что форма и положение пиков (5718 эВ) исследуемых образцов в предкраевой области (рисунок 19б) совпадает со стандартом Ce^{4+} . При этом, наличие Ce^{3+} привело бы к уширению пика за счет увеличения количества электронов и электрон-электронных взаимодействий на валентной 4f-орбитали.

3.2 Исследования конъюгатов CeO_2 -ECH-NH₂

3.2.1 Структуры функционализированных наночастиц CeO_2

Структура полученных модифицированных наночастиц CeO_2 подтверждается методом ИК-спектроскопии (рис. 20). В качестве образца сравнения был взят порошок CeO_2 размером 2,8 нм. Прослеживаются пики, характерные аминокруппе (3500 – 3300, 1110 cm^{-1}), образовавшемуся вторичному амиду (1694 cm^{-1}), колебания в пиридиновом кольце (1567 – 1557, 778 cm^{-1}) и карбоксильных группах (1425, 1403 cm^{-1}) лигандов. Так как все образцы состоят из кристаллических наночастиц CeO_2 размером 2,8 нм, в спектрах наблюдаются деформационные колебания Ce–O.

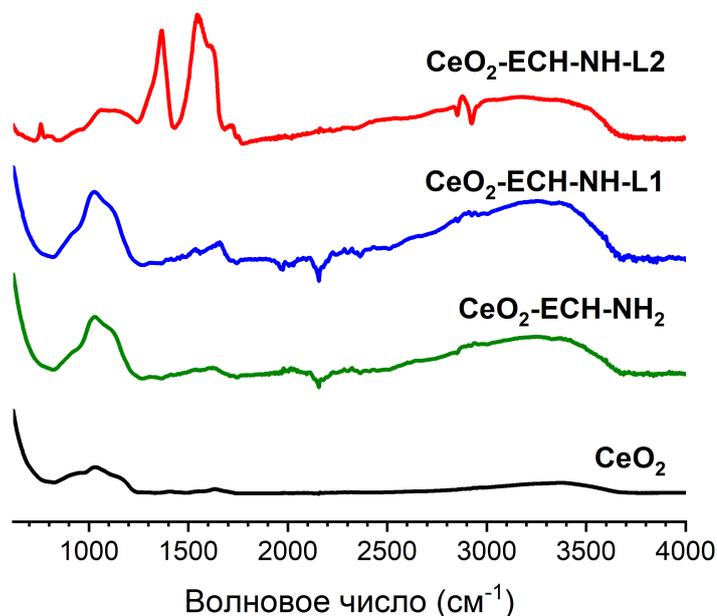


Рисунок 20. Данные ИК-спектроскопии, полученные с образцов исходного CeO_2 и модифицированной серии.

Подробные результаты расшифровки ИК-спектров приведены в таблице 6. Полученные данные доказывают связь органических молекул с поверхностью наночастиц CeO₂. Данный факт подтверждает эффективность методики синтеза функционализированных частиц диоксида церия.

Таблица 6. Таблица характеристических колебаний для полученных веществ.

ν , см ⁻¹	Характеристические колебания
3500 – 2700	Связанная водородными связями вода; антисимметричные и симметричные колебания Н-О-Н
3500 – 3300	Антисимметричные и симметричные колебания R-NH ₂
2881, 2840	Валентные колебания связи С-Н в -CH ₂ -
1694	Валентные колебания С=О вторичного амида
1567 – 1557	Колебания пиридинового кольца
1425, 1403	Деформационные колебания О-Н в карбоксильных группах
1110	Колебания R-NH ₂
1330, 1060, 940, 845	Деформационные колебания Се-О (растяжение связи Се-О)
854 – 570	Колебания О-Н в воде
778	Деформационные колебания С-Н в кольце пиридина

На рисунке 21 приведен спектр комбинационного рассеяния, исследуемых образцов, в основе которых наночастицы оксида церия (IV). В качестве образца сравнения был взят порошок CeO₂ размером 2,8 нм. Запись КР-спектров проводили при различных интенсивностях лазера для контроля возможного эффекта деградации образцов.

Спектры комбинационного рассеяния наночастиц CeO₂ имеют основную колебательную моду F_{2g} при рамановском сдвиге около 453 см⁻¹, связанную с изменением длины связи Се-О. Слабая полоса, наблюдаемая при 1050 см⁻¹, относится с асимметрией колебательную моды A_{1g} [202]. В модифицированных образцах CeO₂ можно наблюдать наличие полосы около 600 см⁻¹, что может объяснять наличие кислородных вакансий, которое сопровождается восстановлением Се⁴⁺ до Се³⁺ на поверхности твердого вещества [203]. Полосы в этой области более интенсивны для нанокристаллов церия меньшего размера, так как они обладают повышенной способностью к образованию кислородных вакансий [89]. Более того, наличие колебаний связей в спектрах комбинационного рассеяния органических молекул подтверждает изменение структуры поверхности наночастиц диоксида церия.

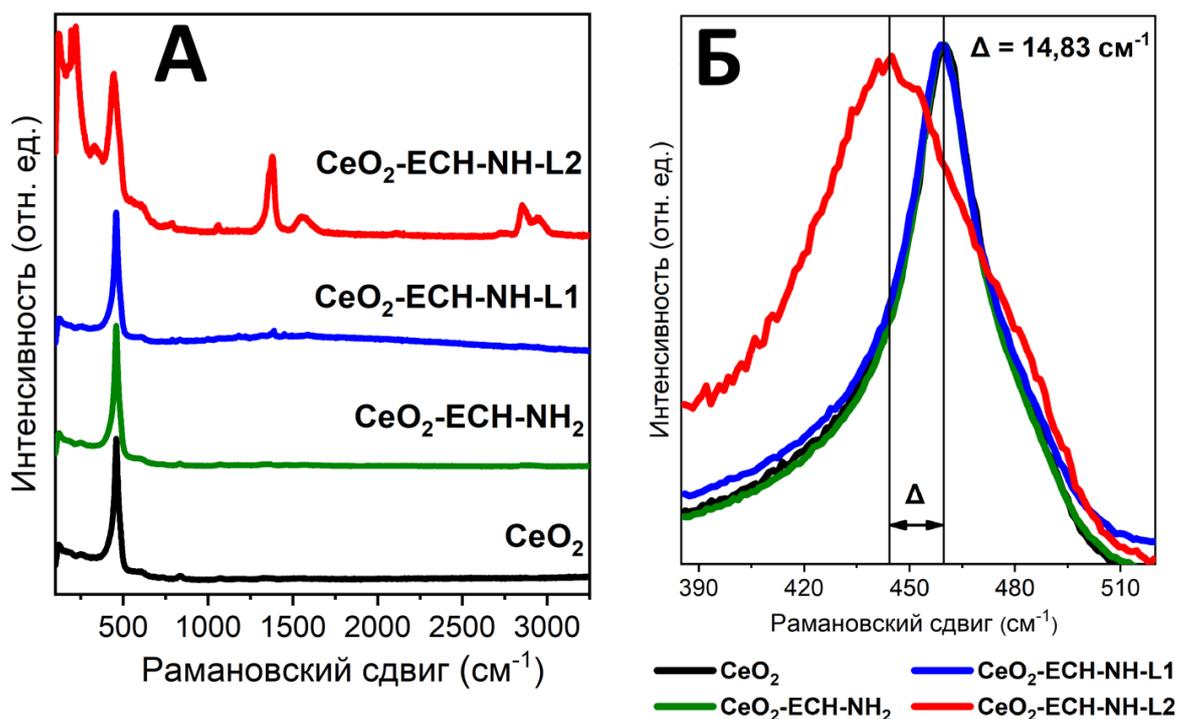


Рисунок 21. а) результаты КР спектроскопии, полученные с образцов исходного CeO_2 и модифицированной серии; б) изменение положения пика F_{2g} модифицированных образцов относительно образца сравнения CeO_2 .

Сравнение спектров КР модифицированного образца $\text{CeO}_2\text{-ECH-NH-L2}$ и чистого оксида церия (IV) выявило увеличение полуширины на полувысоте и смещение пика F_{2g} влево на $14,83 \text{ cm}^{-1}$ модифицированных частиц относительно спектра исходного CeO_2 (рис. 21б). Это связано с изменением поверхности CeO_2 [204] и подтверждает образование целевых образцов.

Эффективность связывания лиганда с поверхностью наночастиц церия оценивали методом термогравиметрического анализа в сочетании с масс-спектрометрией в атмосфере воздуха. Зависимость потери массы от температуры нагрева для исследуемых образцов представлена на рисунке 22. Потеря массы происходит равномерно в диапазоне от 30°C до 400°C .

Потеря массы у конъюгатов $\text{CeO}_2\text{-ECH-NH-L1}$ и $\text{CeO}_2\text{-ECH-NH-L2}$ заметно больше по сравнению с исходным CeO_2 , что является следствием присутствия лигандов на поверхности. Кроме того, наблюдается изменение угла наклона линий модифицированных образцов в начале нагрева, вызванное окислением органической составляющей материала.

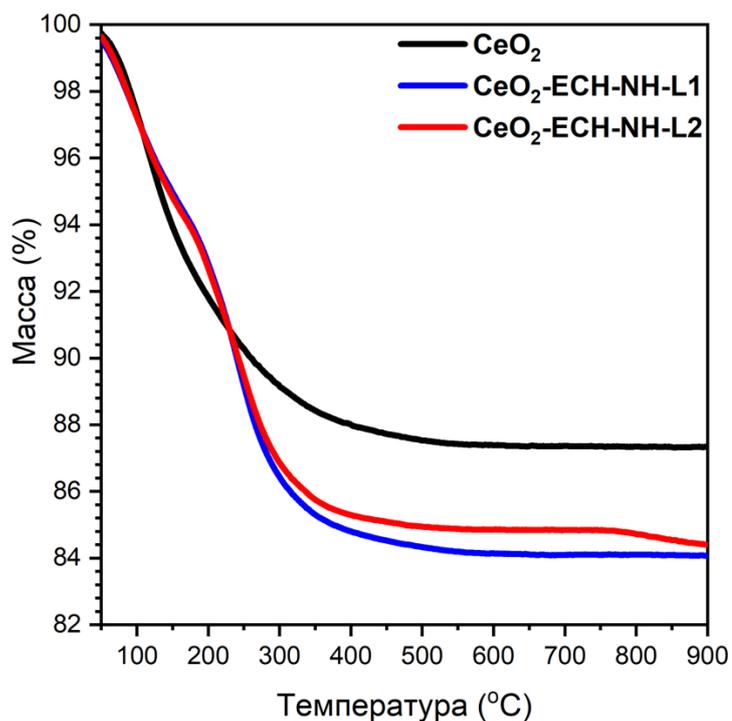


Рисунок 22. Данные термогравиметрического анализа для образцов исходного CeO₂ и модифицированной серии.

В масс-спектрах исследуемых образцов были зарегистрированы массовые числа 18 (H₂O) и 44 (CO₂). По результатам ТГА-МС (рис. 23) для CeO₂ выделение воды начинается с момента нагрева и заканчивается до 200°C. Это связано с наличием большого количества воды на поверхности образцов. Для конъюгатов наночастиц и лигандов L1 и L2 выделение воды происходит при нагреве до 400°C за счёт окисления органической молекулы на поверхности частиц. Выделение CO₂ для всех изучаемых образцов также происходит в различных диапазонах температур. Незначительное количество CO₂, зарегистрированное для наночастиц CeO₂, связано с его наличием в атмосфере среды и условиями синтеза частиц. В остальных случаях пик CO₂ на масс-спектрах подтверждает наличие органических молекул на поверхности CeO₂.

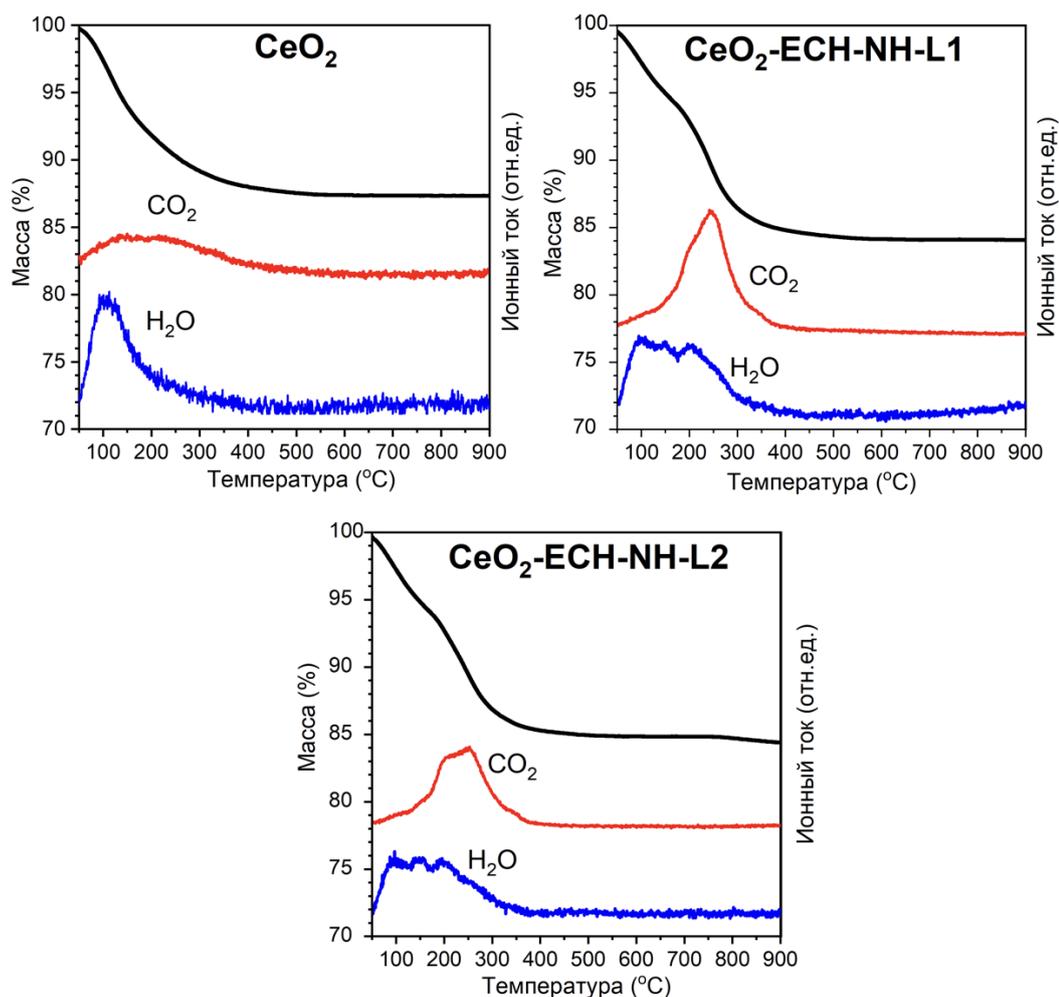


Рисунок 23. Результаты ТГА-МС для исходных и поверхностно модифицированных наночастиц CeO_2 для массовых чисел 18 (H_2O) и 44 (CO_2).

Из предположения, что ко всем линкерам на поверхности сферической частицы диаметром 2,8 нм были привиты лиганды L1 и L2 через одну карбоксильную группу, можно определить количество лигандов приходящееся на одну частицу. Так, было рассчитано, что максимальное количество лиганда L1 на поверхности одной частицы составляет 3,0, соответственно на 1 nm^2 приходится 0,1 молекул L1. Аналогично были проведены расчеты и для L2. Так, максимальное количество лиганда L2 на поверхности одной частицы равно 2,5 молекулы, что составляет 0,1 молекул на 1 nm^2 наночастиц CeO_2 .

Модификация поверхности наночастиц на каждом этапе была подтверждена серией измерений ζ -потенциала при различных значениях pH (рис. 24). Ионную силу устанавливали добавлением 0,01 М раствора NaClO_4 . Во всех образцах значение ζ -потенциала не превышает ± 50 мВ. Значение pH в системе варьировали от 2 до 11 путем добавления растворов NaOH и HClO_4 различных концентраций.

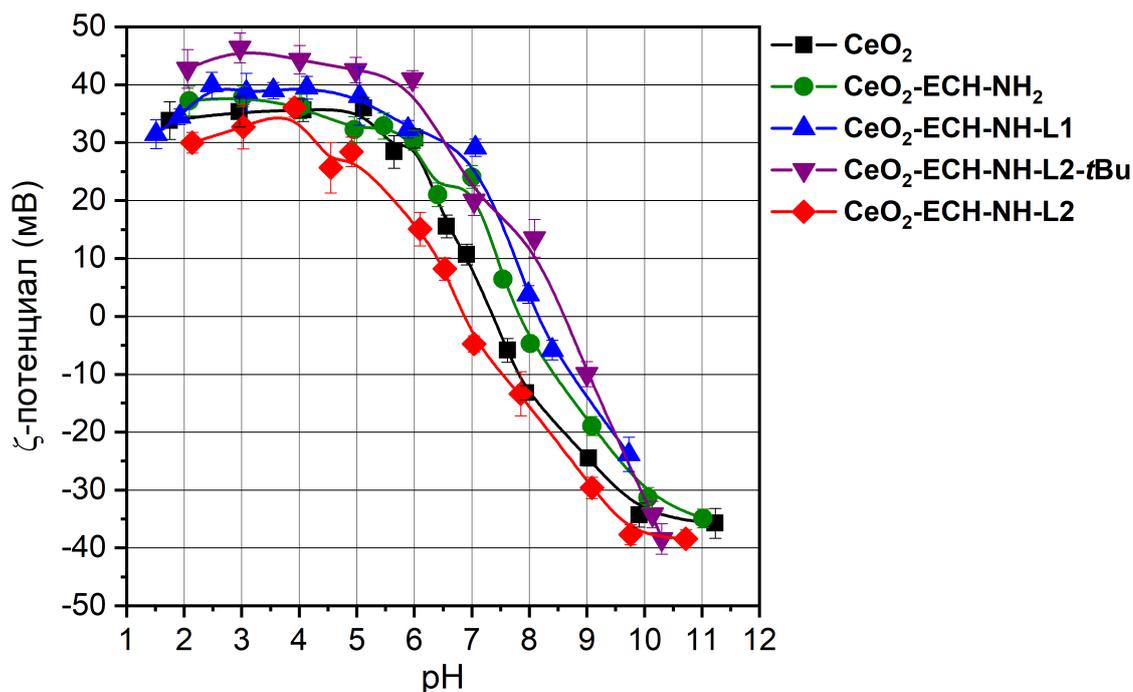


Рисунок 24. Зависимость ζ -потенциала от величины pH для исходного CeO_2 и модифицированной серии ($I = 0,01 \text{ M}$).

При модификации поверхности частиц аминогруппами изоэлектрическая точка смещается в область более высоких значений pH ($pI = 7,4$), при этом после функционализации наночастиц лигандом L1 изоэлектрическая точка смещается к значению pH 8,2. Данный факт указывает на неселективность связывания лиганда L1 с линкером: в ходе синтеза $\text{CeO}_2\text{-ECH-NH-L1}$ лиганд связывается одновременно с более чем одной аминогруппой несколькими карбоксильными группами. Таким образом, вклад в значение изоэлектрической точки вносят только атомы азота, которые и смещают pI в еще более основную область. Сдвиг изоэлектрической точки влево для $\text{CeO}_2\text{-ECH-NH-L2}$ ($pI = 6,8$) объясняется наличием в структуре лиганда карбоксильных групп, которые депротонируются, образуя отрицательный заряд на поверхности. В то же время атомы азота в макроциклическом и пиридиновом фрагментах лигандов также влияют на положение pI . Они смещают изоэлектрическую точку в область с более высокими значениями pH из-за своих основных свойств.

Таким образом, на основе результатов ИК- и рамановской спектроскопии, ТГА-МС и измерений ζ -потенциала можно сделать вывод об успешной функционализации поверхности наночастицы азакраун-эфирами L1 и L2.

3.2.2 Подбор оптимальных условий мечения

Для дальнейших исследований необходимо подобрать концентрацию лиганда и катиона металла, при которых будет достигается высокая радиохимическая чистота. Так как катион Bi^{3+} в нейтральной и щелочных средах гидролизует, образуя нерастворимые соединения, определение условий мечения проводили в кислой среде при pH 3 методом конкурирующей жидкостной экстракции несвязанного в комплекс Bi^{3+} с добавлением радионуклида ^{207}Bi . Метод заключается в извлечении экстрагентом несвязанного в комплекс катиона Bi^{3+} из водной фазы в органическую, при этом висмут, связанный в комплексное соединение с конъюгатом наночастиц и лиганда, останется в водном растворе.

Концентрацию Bi^{3+} варьировали от $5 \cdot 10^{-6}$ М до 10^{-9} М при постоянной концентрации исходных и модифицированных частиц 10^{-3} г/л. При анализе данных сделан вывод, что оптимальная концентрация Bi^{3+} для образования комплексного соединения с конъюгатом наночастиц и лигандов L1 и L2 ниже 10^{-9} М (РХЧ при $c(\text{Bi}^{3+}) = 10^{-9}$ М составляет 63% для $\text{CeO}_2\text{-ECH-NH-L1-}^{207}\text{Bi}$ и 93% для $\text{CeO}_2\text{-ECH-NH-L2-}^{207}\text{Bi}$), в то время как степень сорбции катиона Bi^{3+} на поверхности нефункционализированных частиц CeO_2 при такой же концентрации составляет примерно 30% (рис. 25).

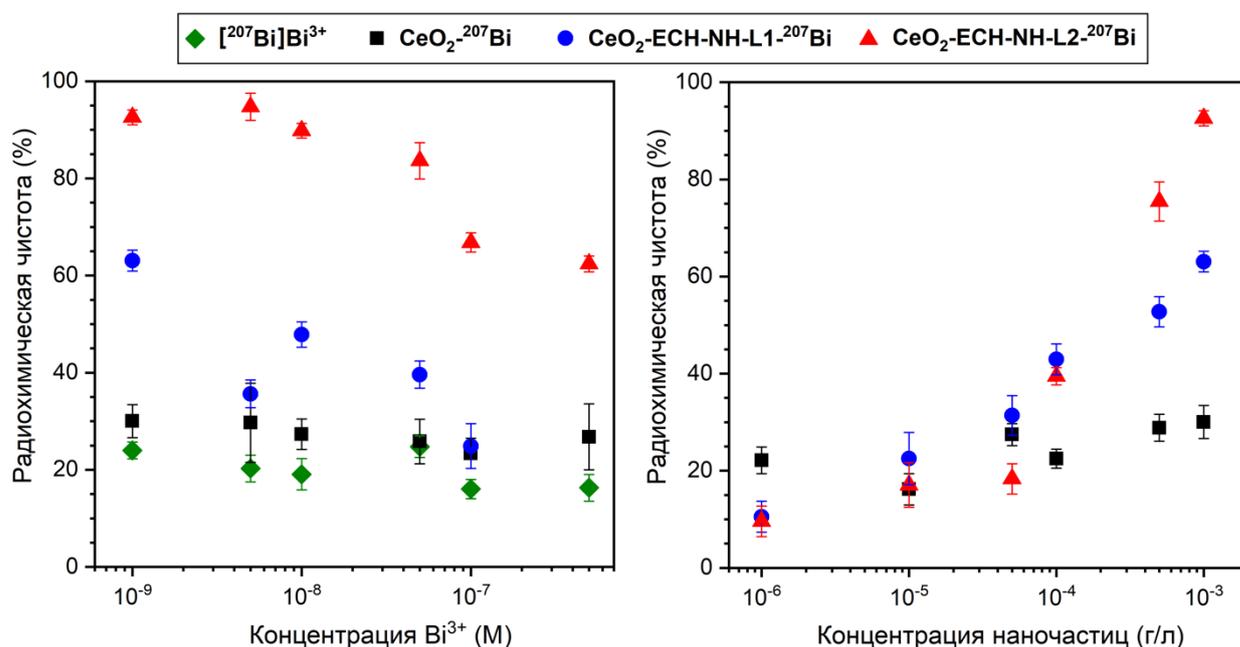


Рисунок 25. Зависимости радиохимической чистоты от концентрации катиона $[\text{}^{207}\text{Bi}]\text{Bi}^{3+}$ при фиксированном количестве CeO_2 и его поверхностно-модифицированной серии (10^{-3} г/л) и радиохимической чистоты от концентрации наночастиц при постоянной концентрации катиона висмута (10^{-9} М).

Аналогично была изучена зависимости радиохимической чистоты от концентрации наночастиц. Концентрация наночастиц и конъюгатов наночастиц и лигандов L1 и L2 изменяли от 10^{-6} г/л до 10^{-3} г/л при фиксированной концентрации Bi^{3+} 10^{-9} М. Исходя из полученных данных (рис. 25), при концентрации 10^{-3} г/л $\text{CeO}_2\text{-ECH-NH-L1}$ и $c(\text{Bi}^{3+}) = 10^{-9}$ М РХЧ не превышает 65% из-за неселективного связывания лиганда L1 с линкером в процессе синтеза конъюгата. Такой результат не позволяет рассматривать данное комплексное соединение как потенциальный радиофармпрепарат, поскольку полученное значение существенно ниже критического значения радиохимической чистоты РФЛП (85%). В то же время, для комплекса висмута с $\text{CeO}_2\text{-ECH-NH-L2}$ степень связывания 93% при концентрации $\text{CeO}_2\text{-ECH-NH-L2}$ 10^{-3} г/л и $c(\text{Bi}^{3+}) = 10^{-9}$ М, что является приемлемыми для его дальнейших исследований в биологических средах.

3.2.3 Устойчивость в биологически значимых средах

Стабильность меченных висмутом наночастиц $\text{CeO}_2\text{-ECH-NH-L2}$ и степень адсорбции Bi^{3+} изучали в 0,9% растворе NaCl с добавлением буферного раствора ацетата аммония и PBS с pH = 7,4.

На рисунке 26 показана доля связанного в комплекс катиона висмута от времени термостатирования в биологически значимых средах при непрерывном перемешивании. В результате перехелатирования $[\text{}^{207}\text{Bi}]\text{Bi}^{3+}$ в растворе доля $\text{CeO}_2\text{-ECH-NH-L2-}^{207}\text{Bi}$ через сутки от начала эксперимента не превышает 85% в физиологическом растворе и фосфатном буфере.

Кинетическая устойчивость комплекса $\text{CeO}_2\text{-ECH-NH-L2-}^{207}\text{Bi}$ была проанализирована в FBS (соотношение 1:9). Этот эксперимент может частично смоделировать поведение потенциального радиофармпрепарата в живом организме. Как показано на рисунке 26, доля $\text{CeO}_2\text{-ECH-NH-L2-}^{207}\text{Bi}$ не превышает 25% через 24 часа. Диссоциация комплекса в этих условиях является весьма вероятным процессом из-за большого количества сывороточных белков, которые способны перехелатировать катионы радионуклидов.

Таким образом, комплексное соединение $\text{CeO}_2\text{-ECH-NH-L2-}^{207}\text{Bi}$ не будет рассматриваться как возможный радиофармпрепарат и изучаться в условиях *in vitro* и *in vivo*. Однако, сам конъюгат $\text{CeO}_2\text{-ECH-NH-L2}$ представляет интерес для дальнейших исследований как платформа для мечения другими радионуклидами.

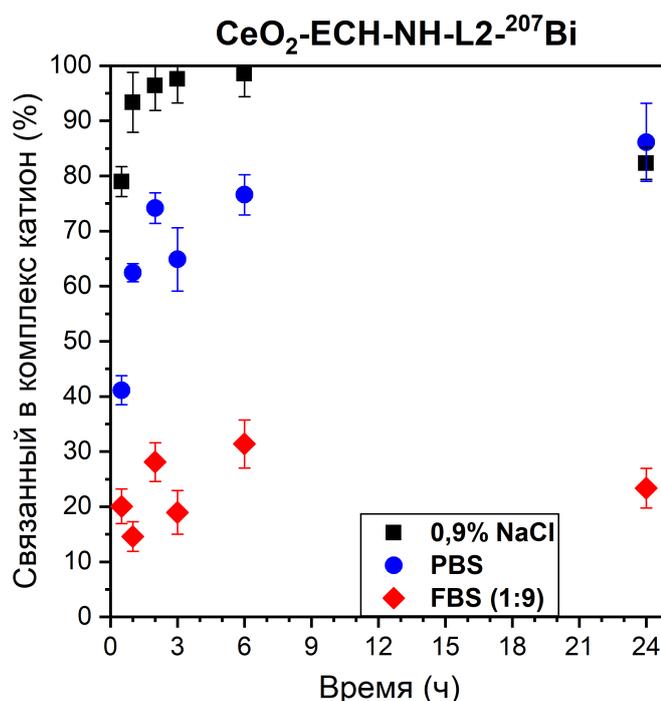


Рисунок 26. Зависимость доли связанного в комплекс катиона висмута от времени термостатирования комплексного соединения $\text{CeO}_2\text{-ECH-NH-L2-}^{207}\text{Bi}$ в биологически значимых средах: 0,9 % NaCl, PBS и FBS в соотношении 1:9.

3.3 Исследования конъюгатов $\text{CeO}_2\text{-APTES}$

3.3.1 Нингидриновый тест

Из литературных данных известно [205] что функционализация поверхности частиц производными силанов может протекать по нескольким путям (рис. 27). В первом случае покрытие поверхности монослойное и именно такой вариант является предпочтительным, так как в этом случае аминогруппы APTES будут лучше всего доступны для дальнейшей реакции с лигандом. В другом случае покрытие поверхности многослойное, поэтому часть аминогрупп будет недоступна для реакции, так как они находятся не на поверхности частицы, а внутри функционализирующего слоя. Также часть групп будет недоступна для конъюгации из-за стерических ограничений. Кроме того, аминогруппы APTES могут образовывать водородные связи с гидроксильными группами поверхности частиц. В этом случае лишь незначительное количество аминогрупп может вступать в реакции.



Рисунок 27. Способы присоединения АРТЕС к ОН-группам поверхности частиц [205]

Для контроля модификации поверхности рекомендуется увеличивать температуру протекания реакции и/или уменьшать концентрацию АРТЕС. При большой концентрации АРТЕС относительно наночастиц предпочтительнее будут образовываться полисилоксановые структуры, которые на своей поверхности будут иметь аминогруппы, связывающиеся затем с поверхностью частиц, вместо образования необходимых О–Si связей.

Для подбора оптимальных условий получения модифицированных частиц CeO_2 -АРТЕС была выбрана температура 40 °С и объемные концентрации 30%, 3% и 0,3% ($V_{\text{АРТЕС}}/V_{\text{растворитель}}$). Определение количества NH_2 -групп на поверхности проводили с помощью нингидринового теста, который основан на реакции первичных аминогрупп с нингидрином и образованием окрашенного фиолетового соединения. Механизм протекания нингидриновой реакции представлен на рисунке 28.

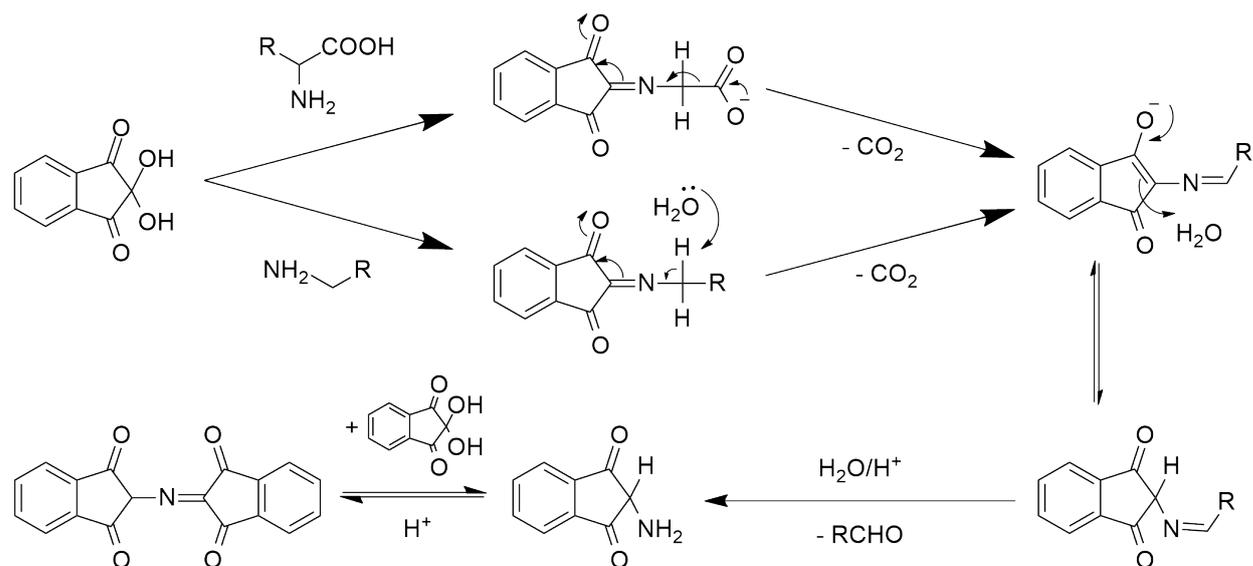


Рисунок 28. Механизм нингидриновой реакции [206].

В кривых поглощения наблюдается локальный максимум при длине волны 573,5 нм (рис. 29), что соответствует образованию продукта нингидриновой реакции [207]. В образце CeO₂-APTES полученном при соотношении 30% пик практически не наблюдается, что говорит о малом количестве NH₂-групп или их отсутствии на поверхности частиц. В образцах полученных при 3% и 0,3% можно обнаружить максимум поглощения. Концентрация аминогрупп на поверхности CeO₂ составляет 0,82 мкг/мл (5,1 аминогруппа/наночастица) и 1,71 мкг/мл (10,6 аминогрупп на одной наночастице) для 0,3% и 3% соответственно.

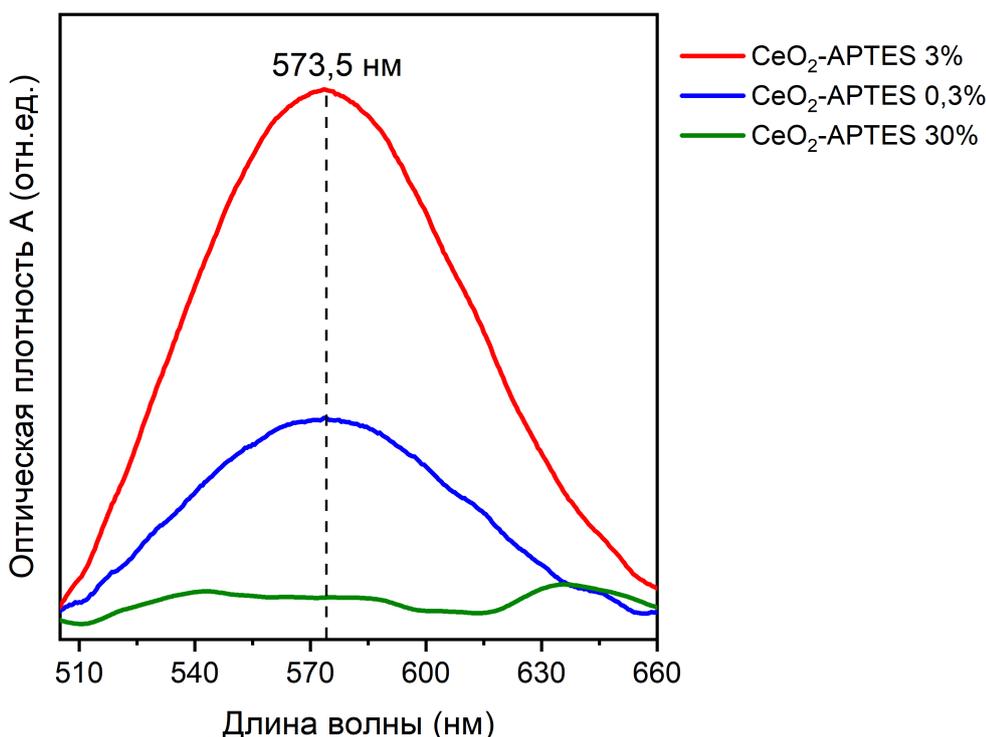


Рисунок 29. Кривые поглощения продуктов нингидриновой реакции образцов CeO₂-APTES в соотношениях 30, 3 и 0,3% (V_{APTES}/V_{DMFA}).

По данным оптической плотности можно сделать вывод о большем количестве аминогрупп в образце, полученном в объемном соотношении 3%. Для дальнейших экспериментов было выбрано именно это соотношение объема APTES к ДМФА.

3.3.2 Структуры функционализированных наночастиц CeO₂

К предварительно модифицированному CeO₂ линкером APTES для получения гидрофильной поверхности, покрытой аминогруппами, были привиты макроциклические лиганды L2 и *p*-SCN-Bn-DOTA. С помощью инфракрасной и КР-спектроскопии, ТГА-МС

и определения изоэлектрических точек были охарактеризованы структуры и состава образцов, а также эффективность функционализации.

В ИК-спектрах полосы деформации Ce–O (845, 940, 1060, 1340 cm^{-1}) наблюдаются для всех образцов. Колебания групп R–NH₂ в областях 900 cm^{-1} и 1100 cm^{-1} , а также связей Si–O (1072 cm^{-1}) подтверждают образование структуры CeO₂-APTES. После функционализации были обнаружены пики, характерные для связи C–H в группе –CH₃ (2973 cm^{-1}) и карбоксильных группах (1425, 1403 cm^{-1}). В спектре CeO₂-APTES-L2 обнаружены полосы, характерные изменению длины связи C–H (740 cm^{-1}) и C–N (1140 cm^{-1}) в пиридине.

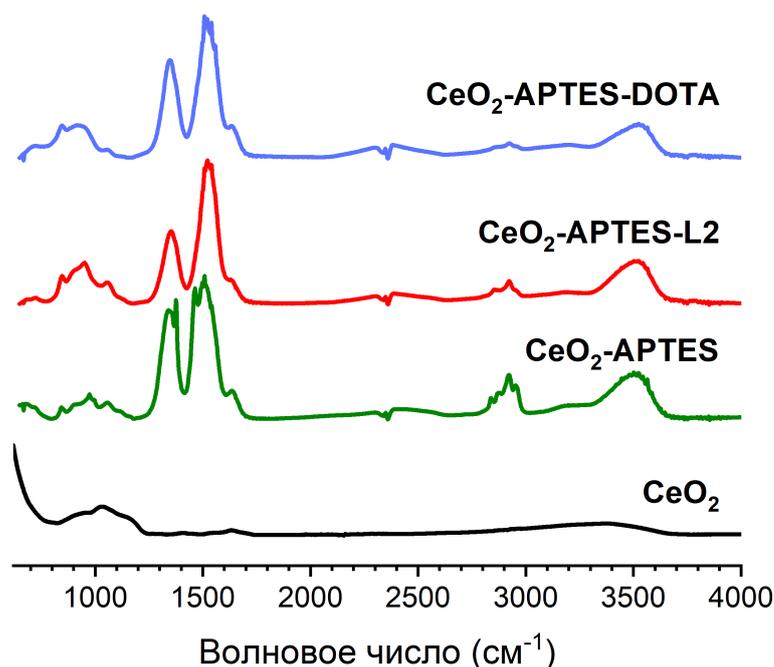


Рисунок 30. Результаты ИК-спектроскопии, полученные с образцов исходного CeO₂ и модифицированной серии.

Результаты расшифровки ИК-спектров представлены в таблице 7. Характеристические колебания органических молекул подтверждают связь лигандов с поверхностью наночастиц CeO₂.

Таблица 7. Таблица характеристических колебаний для полученных веществ.

ν , cm^{-1}	Характеристические колебания
3500 – 2700	Связанная водородными связями вода; антисимметричные и симметричные колебания Н–О–Н
3500 – 3300	Антисимметричные и симметричные колебания R–NH ₂
2980 – 2840	Валентные колебания связи C–H в –CH ₂ –

ν , cm^{-1}	Характеристические колебания
1695	Валентные колебания C=O вторичного амида
1140	Деформационные колебания связи C–N в пиридине
1425 – 1403	Деформационные колебания O–H в карбоксильных группах
1110	Колебания C–N в R-NH ₂
1330, 1060, 940, 845	Деформационные колебания Ce–O
1072	Колебания Si–O
1050	Валентные колебания связи C=S для конъюгата с DOTA

В рамановских спектрах (рис. 31а) для всех образцов наблюдался характерный пик 453 cm^{-1} ($\lambda = 633 \text{ nm}$) относящийся к моде колебаний F_{2g} CeO_2 [202]. Данный факт подтверждает отсутствие изменений в кристаллической структуре диоксида церия на всех стадиях модификации наночастиц. В то же время наличие колебаний связей в спектрах комбинационного рассеяния органических молекул подтверждает изменение структуры поверхности наночастиц диоксида церия.

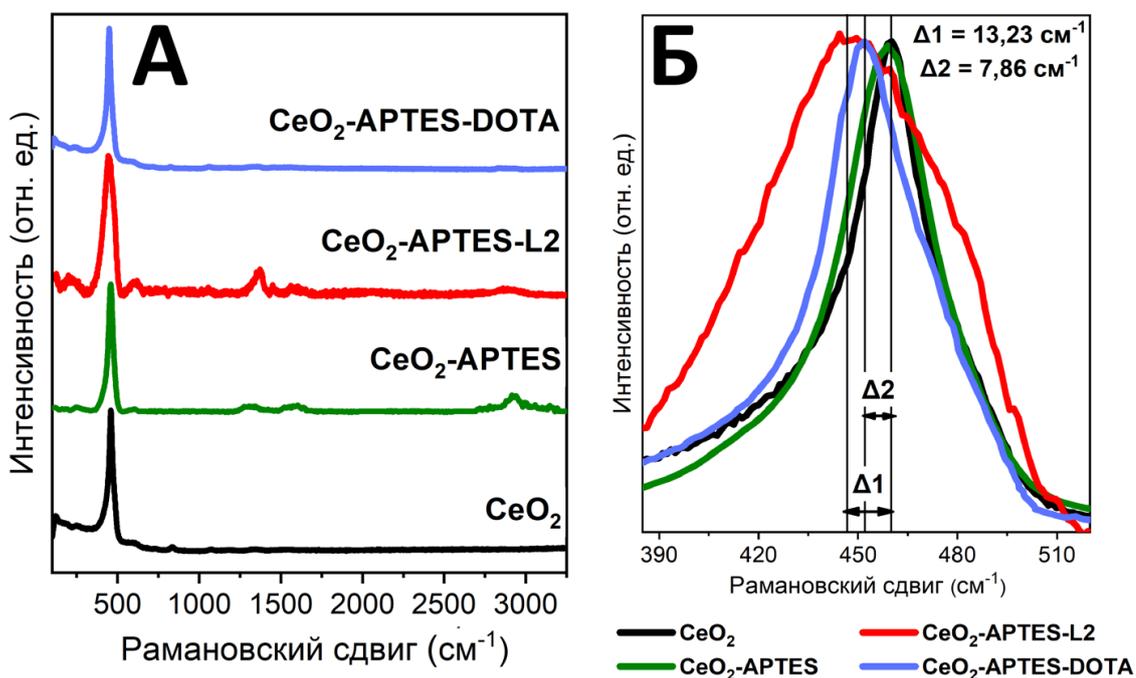


Рисунок 31. а) спектры комбинационного рассеяния полученные, с образцов исходного CeO_2 и модифицированной серии; б) изменение положения пика F_{2g} модифицированных образцов относительно исходных наночастиц CeO_2 .

Изменение полуширины на полувысоте и смещение пика F_{2g} влево на $7,86 \text{ см}^{-1}$ и $13,23 \text{ см}^{-1}$ модифицированных образцов $\text{CeO}_2\text{-APTES-DOTA}$ и $\text{CeO}_2\text{-APTES-L2}$ относительно исходного оксида церия (IV) (рис. 31б) связано с изменениями на поверхности CeO_2 [204] и подтверждает образование целевых образцов.

Во время съемки КР-спектров $\text{CeO}_2\text{-APTES-DOTA}$ наблюдалась фоновая люминесценция, что может быть связано с присутствием большого количества способных к люминесценции фрагментов органических соединений. Такое поведение образцов может дополнительно подтверждать прививку бифункциональных хелаторов.

Для понимания природы органических лигандов, покрывающих поверхность наночастиц, был проведен термогравиметрический анализ в сочетании с масс-спектрометрией (ТГА-МС). Кривые потери массы исходных и модифицированных образцов CeO_2 представлены на рисунке 32. Наблюдается равномерная потеря массы в диапазоне от 50°C до 500°C . Характер кривых разложения конъюгатов наночастиц $\text{CeO}_2\text{-APTES-L2}$ и $\text{CeO}_2\text{-APTES-DOTA}$ аналогичен характеру кривой разложения $\text{CeO}_2\text{-APTES}$, где наблюдались две стадии потери массы. Кроме того, в начале нагрева наблюдается изменение угла наклона линий модифицированных образцов, вызванное окислением органической молекулы. Процент потери массы $\text{CeO}_2\text{-APTES-L2}$ и $\text{CeO}_2\text{-APTES-DOTA}$ существенно выше относительно CeO_2 и $\text{CeO}_2\text{-APTES}$, что свидетельствует о прикреплении лигандов к поверхности наночастиц.

Исходя из предположения, что ко всем линкерам на поверхности сферической частицы диаметром $2,8 \text{ нм}$ были привиты лиганды L2 и *p*-SCN-Bn-DOTA через одну карбоксильную группу, можно рассчитать количество лиганда L2 приходящееся на одну частицу, зная процент потери массы конъюгатов относительно $\text{CeO}_2\text{-APTES}$. Данный результат составил $6,3$ молекулы на частицу, соответственно на 1 нм^2 приходится $0,3$ молекул L2. Аналогично были проведена оценка и для $\text{CeO}_2\text{-APTES-DOTA}$. Максимальное количество лиганда DOTA на поверхности одной частицы – $1,7$, что составляет $0,1$ молекул на 1 нм^2 наночастиц CeO_2 .

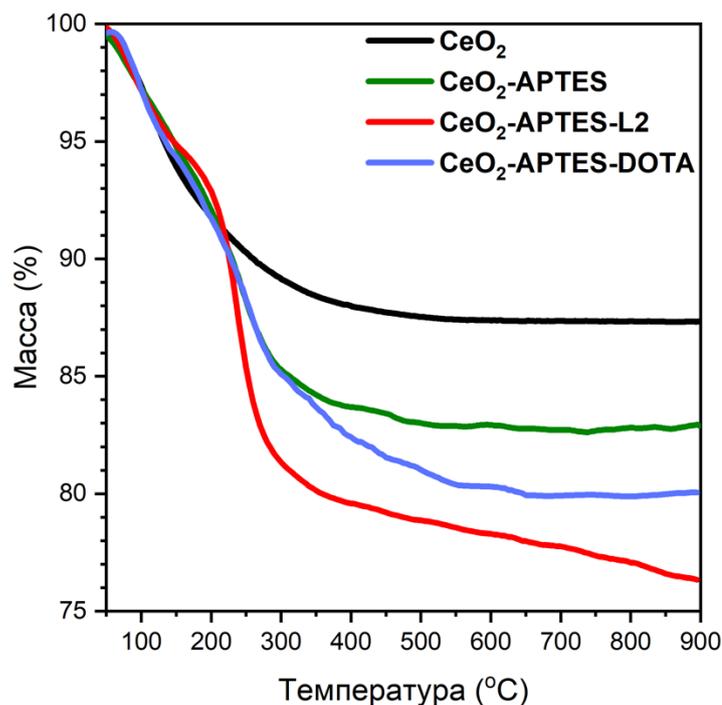


Рисунок 32. Кривые потери массы в зависимости от температуры разложения образцов исходного CeO₂ и модифицированной серии.

При термическом разложении исследуемых веществ регистрировали массовые числа 18 (H₂O) и 44 (CO₂) (рис. 33). Выделение CO₂ для всех изучаемых образцов наблюдается в различных областях температур. Согласно полученным данным выделение воды для CeO₂ начинается с момента нагревания и заканчивается при температуре 200°C, в то же время наблюдается незначительное количество CO₂. Это связано с присутствием значительного количества воды на поверхности образца, условиями синтеза [201] и содержанию воды и углекислого газа в атмосфере воздуха. В случае CeO₂-APTES и конъюгатов наночастиц и лигандов L2 и DOTA при нагревании до 400°C регистрируются H₂O и CO₂ благодаря окислению органических молекул.

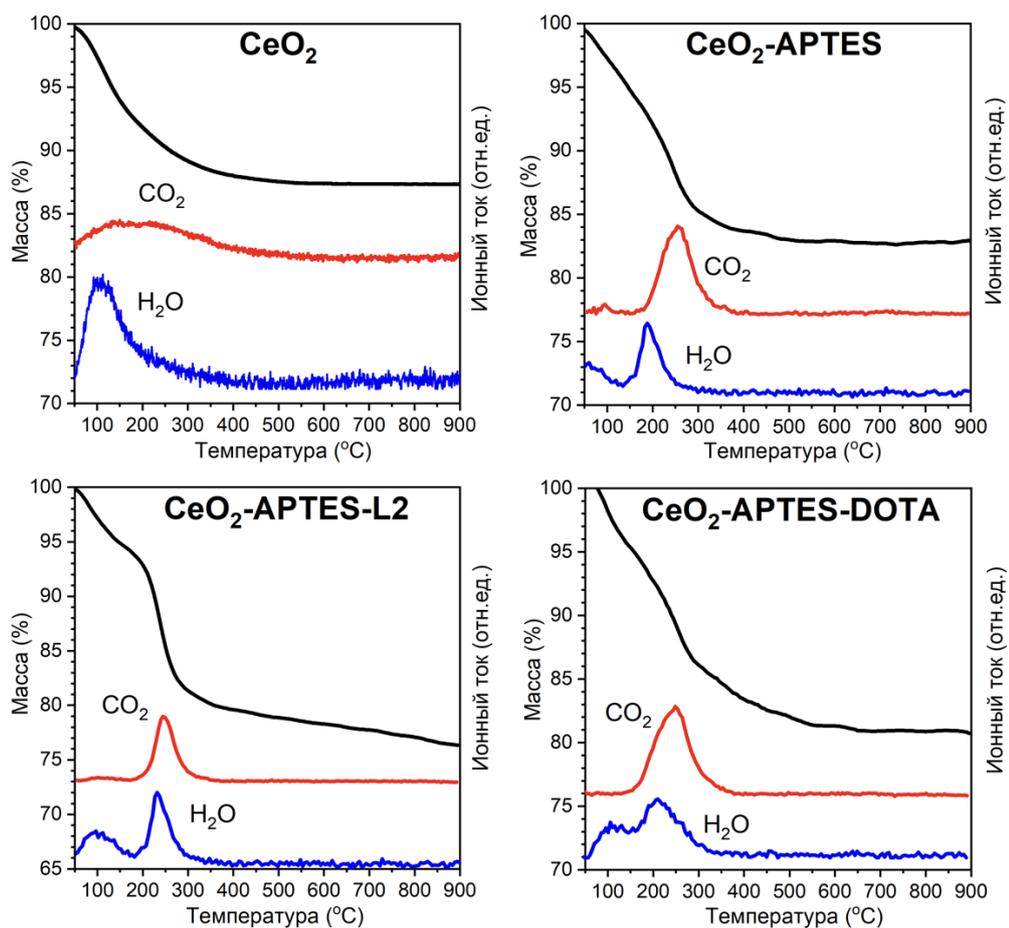


Рисунок 33. Результаты ТГА-МС для исходных и поверхностно модифицированных наночастиц CeO_2 для массовых чисел 18 (H_2O) и 44 (CO_2).

На каждом этапе модификации поверхности наночастиц проводили серию измерений ζ -потенциала при различных значениях pH (рис. 34). Ионную силу устанавливали добавлением 0,01 М раствора NaClO_4 . Во всех образцах значение ζ -потенциала не превышает +50 мВ и не опускалось ниже –80 мВ. Значение pH в системе устанавливали от 2 до 11 путем добавления различных концентраций растворов NaOH и HClO_4 .

Измерения ζ -потенциала показали, что изоэлектрическая точка (pI) для непокрытых наночастиц диоксида церия составляет 6,6, что хорошо согласуется с данными, полученными другой научной группой [208]. Значение pI CeO_2 -APTES смещается в область более высоких значений и составляет 8,0 из-за наличия аминогрупп на поверхности. В то же время поверхность конъюгатов CeO_2 -APTES-L2 и CeO_2 -APTES-DOTA отрицательно заряжена при нейтральном pH, а изоэлектрическая точка сдвинута в кислотную область (pI 4,4 и 2,0 соответственно). Это может быть объяснено присутствием в структуре лиганда карбоксильных групп, которые депротонируются, образуя

отрицательный заряд на поверхности. Полученные данные показали, что характер поверхности наночастиц CeO_2 резко изменился после модификации поверхности.

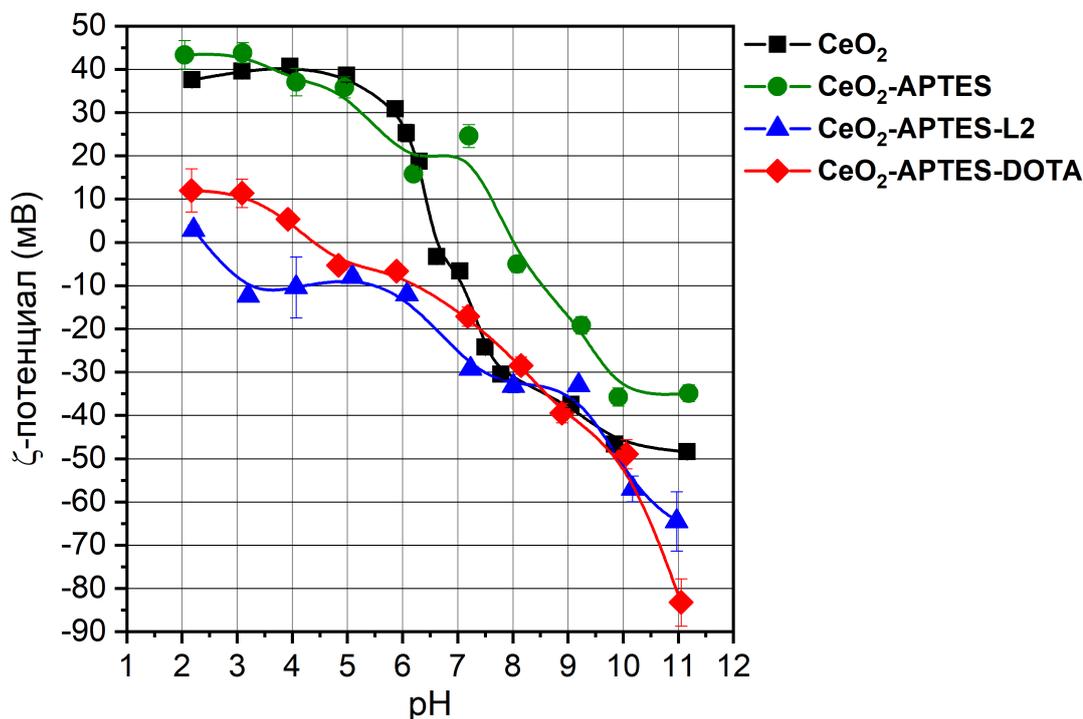


Рисунок 34. Зависимость ζ -потенциала от величины pH для исходного CeO_2 и модифицированной серии ($I = 0,01 \text{ M}$).

Таким образом, на основе результатов ИК- и рамановской спектроскопии, ТГА-МС и измерений ζ -потенциала можно сделать вывод об успешной функционализации поверхности наночастицы линкером APTES и азокраун-эфирами L2 и DOTA.

3.3.3 Подбор оптимальных условий мечения

Поскольку структура образцов была подтверждена, необходимо исследовать способность конъюгатов связывать выбранные радионуклиды (^{65}Zn , ^{44}Sc и ^{207}Bi) и подобрать оптимальные концентрации носителя и конъюгатов наночастиц для дальнейшей оценки их устойчивости в биологически значимых средах. Зависимости радиохимической чистоты от концентраций катионов металлов представлены на рисунке 35.

Концентрация катионов металлов варьировалась от 10^{-5} M до 10^{-9} M при постоянной концентрации исходных и поверхностно-модифицированных частиц $0,1 \text{ г/л}$. Эксперименты с системами проводились при температуре 90°C с использованием методов разделения твердого вещества и жидкости центрифугированием. Катион Bi^{3+} легко гидролизует с образованием нерастворимых соединений, поэтому мечение проводили в кислой среде при

pH 3 путем конкурирующей жидкостной экстракции несвязанного комплекса Bi^{3+} с добавлением радионуклида ^{207}Bi .

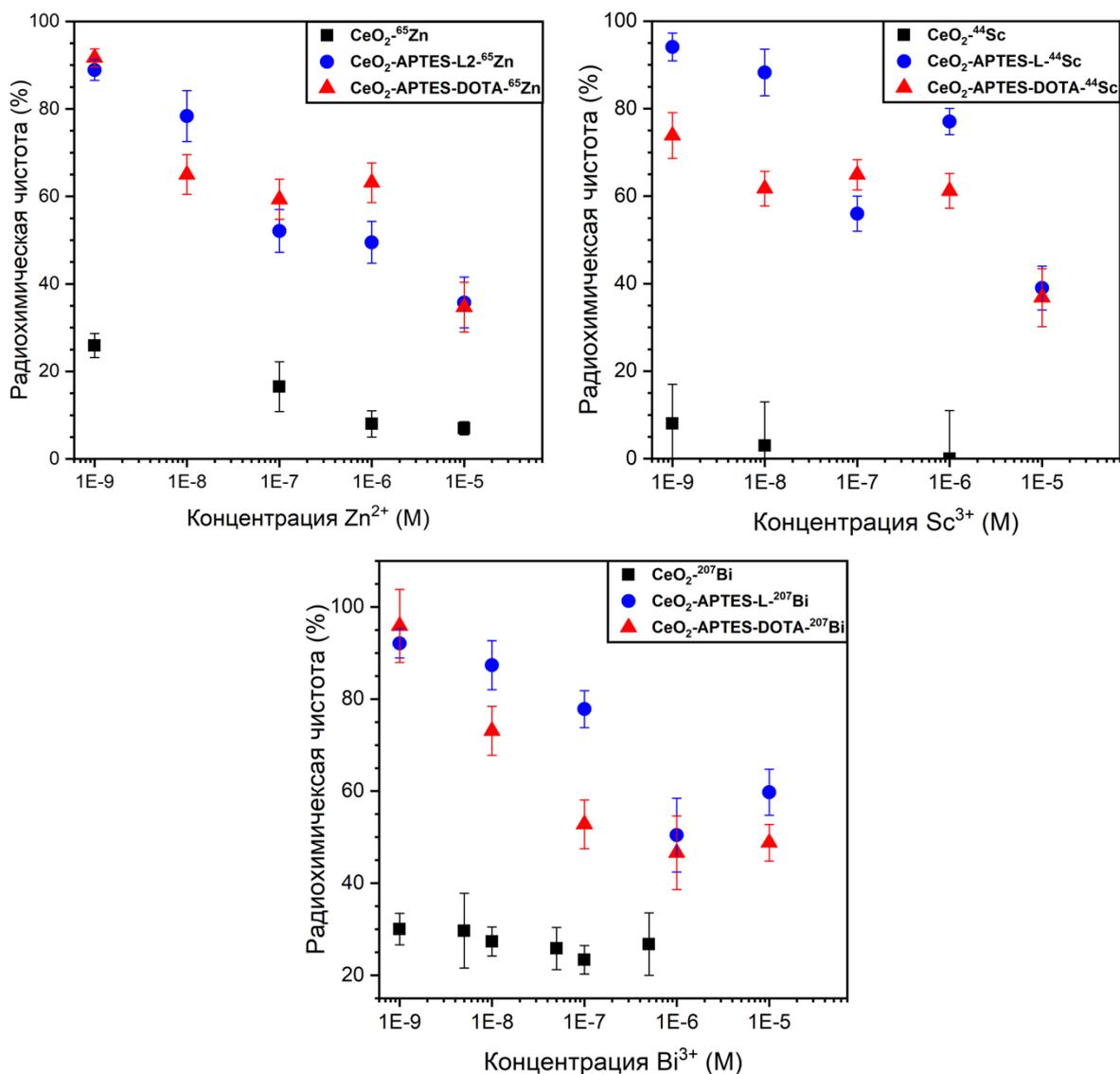


Рисунок 35. Зависимости радиохимической чистоты от концентрации катионов $[\text{}^{65}\text{Zn}]\text{Zn}^{2+}$, $[\text{}^{44}\text{Sc}]\text{Sc}^{3+}$ и $[\text{}^{207}\text{Bi}]\text{Bi}^{3+}$ при фиксированном количестве CeO_2 и его поверхностно-модифицированной серии (0,1 г/л).

Результаты экспериментов показывают, что повышение радиохимической чистоты происходит при одновременном снижении концентрации катионов металлов в системах. Из полученных зависимостей можно сделать вывод, что наибольший радиохимический выход достигается при концентрации катионов металлов 10^{-9} М для комплексов $\text{CeO}_2\text{-APTES-L2}$ и $\text{CeO}_2\text{-APTES-DOTA}$ с $[\text{}^{65}\text{Zn}]\text{Zn}^{2+}$, $[\text{}^{44}\text{Sc}]\text{Sc}^{3+}$ и $[\text{}^{207}\text{Bi}]\text{Bi}^{3+}$ (процент меченых конъюгатов в растворе достигает 74% для $\text{CeO}_2\text{-APTES-DOTA-}^{44}\text{Sc}$ и более 89% для остальных исследуемых комплексных соединений). Стоит отметить, что степень сорбции катионов

металлов на поверхности нефункционализированных частиц CeO_2 при той же концентрации (10^{-9} М) не превышает 30%. В таблице 8 приведены значения радиохимической чистоты для всех образцов при концентрации катионов 10^{-9} М.

Таблица 8. Приемлемые условия мечения конъюгатов наночастиц оксида церия катионами $[^{65}\text{Zn}]\text{Zn}^{2+}$, $[^{44}\text{Sc}]\text{Sc}^{3+}$ и $[^{207}\text{Bi}]\text{Bi}^{3+}$.

Конъюгат	Катион	$C_{\text{катион}}$ (М)	$C_{\text{конъюгат}}$ (г/л)	T (°C)	РХЧ (%)
CeO_2	$[^{65}\text{Zn}]\text{Zn}^{2+}$	10^{-9} М	0,1 г/л	90°C	25,9±2,7
	$[^{44}\text{Sc}]\text{Sc}^{3+}$				8,1±8,7
	$[^{207}\text{Bi}]\text{Bi}^{3+}$				30,0±3,4
$\text{CeO}_2\text{-APTES-L2}$	$[^{65}\text{Zn}]\text{Zn}^{2+}$				88,9±2,4
	$[^{44}\text{Sc}]\text{Sc}^{3+}$				94,1±3,2
	$[^{207}\text{Bi}]\text{Bi}^{3+}$				92,1±3,2
$\text{CeO}_2\text{-APTES-DOTA}$	$[^{65}\text{Zn}]\text{Zn}^{2+}$				91,7±2,0
	$[^{44}\text{Sc}]\text{Sc}^{3+}$				73,9±5,2
	$[^{207}\text{Bi}]\text{Bi}^{3+}$				95,9±7,9

Так, для всех изученных комплексных соединений были определены условия мечения. Комплексообразование с цинком, висмутом и скандием проходит при нагревании до 90°C в течение 30 минут. При этом концентрации конъюгатов и катионов металлов приемлемы для использования в радиофармпрепаратах.

3.3.4 Устойчивость в биологически значимых средах

Стабильность исследуемых комплексов в 0,9% растворе NaCl изучали с использованием буферного раствора ацетата аммония для поддержания pH в диапазоне 6,5 – 7,2, фосфатного буферного раствора PBS с pH 7,4 и фетальной бычьей сыворотки (FBS) в соотношении 1:9.

На рисунке 36 показаны зависимости, характеризующие кинетическую стабильность комплексов $\text{CeO}_2\text{-APTES-L2}$ и $\text{CeO}_2\text{-APTES-DOTA}$ с $[^{65}\text{Zn}]\text{Zn}^{2+}$, $[^{44}\text{Sc}]\text{Sc}^{3+}$ и $[^{207}\text{Bi}]\text{Bi}^{3+}$ в биологических средах. Комплексные соединения с радионуклидом скандия выдерживали в биологических средах не более 10 ч в связи с относительно быстрым периодом полураспада ^{44}Sc ($T_{1/2} = 3,9$ часа), для остальных образцов эксперимент проводили в течение суток.

Комплексы с $[^{65}\text{Zn}]\text{Zn}^{2+}$ в 0,9% растворе NaCl характеризуются незначительной диссоциацией в зависимости от времени. По истечении 24 часов % связанного в комплекс катиона цинка снижается не более чем на 10%, что обусловлено присутствием в растворе конкурирующих ионов. В то же время, $\text{CeO}_2\text{-APTES-L2-}^{44}\text{Sc}$ и $\text{CeO}_2\text{-APTES-DOТА-}^{44}\text{Sc}$ демонстрируют стабильность в течение 10 часов инкубации при 37°C, комплексы $\text{CeO}_2\text{-APTES-L2-}^{207}\text{Bi}$ и $\text{CeO}_2\text{-APTES-DOТА-}^{207}\text{Bi}$ также не распадаются в физиологическом растворе через сутки (выходы радиоактивной метки составляет более 90%). Результаты экспериментов показывают высокую кинетическую стабильность всех исследованных комплексов в течение 24 часов и в PBS.

Кинетическую стабильность комплексов с конъюгатами изучали в избытке FBS. В среде эмбриональной бычьей сыворотки полученные комплексы $\text{CeO}_2\text{-APTES-L2-}^{65}\text{Zn}$ и $\text{CeO}_2\text{-APTES-DOТА-}^{65}\text{Zn}$ не показывают высокой стабильности. При этом % комплекса конъюгата $\text{CeO}_2\text{-APTES-L2}$ не меняется через сутки после начала эксперимента и остается на уровне 40%, а $\text{CeO}_2\text{-APTES-DOТА-}^{65}\text{Zn}$ диссоциирует на 10% в течение первых трех часов от начала эксперимента (количество $\text{CeO}_2\text{-APTES-DOТА-}^{65}\text{Zn}$ в среде через 24 часа составляет примерно 40%). Образцы с $[^{44}\text{Sc}]\text{Sc}^{3+}$ оказались наиболее стабильными. На рисунке 36 показано, что комплекс скандия с $\text{CeO}_2\text{-APTES-L2}$ значительно более стабилен в сыворотке крови, чем $\text{CeO}_2\text{-APTES-DOТА}$: выход радиоактивной метки после 8 часов термостатирования составляет 86% и 74% соответственно. Количество $\text{CeO}_2\text{-APTES-L2-}^{207}\text{Bi}$ в среде не превышает 45% и 15% для $\text{CeO}_2\text{-APTES-DOТА-}^{207}\text{Bi}$ через 24 часа после начала эксперимента. Диссоциация комплекса в этих условиях является весьма вероятным процессом из-за большого количества сывороточных белков, которые могут перехелатировать катионы радионуклидов.

Исходя из представленных выше данных по устойчивости меченых конъюгатов наночастиц CeO_2 в эмбриональной бычьей сыворотке, в *in vitro* и *in vivo* условиях в дальнейшем будет рассматриваться наиболее стабильное соединение, имеющие потенциал для применения в радиофармпрепаратах – $\text{CeO}_2\text{-APTES-L2-}^{44}\text{Sc}$.

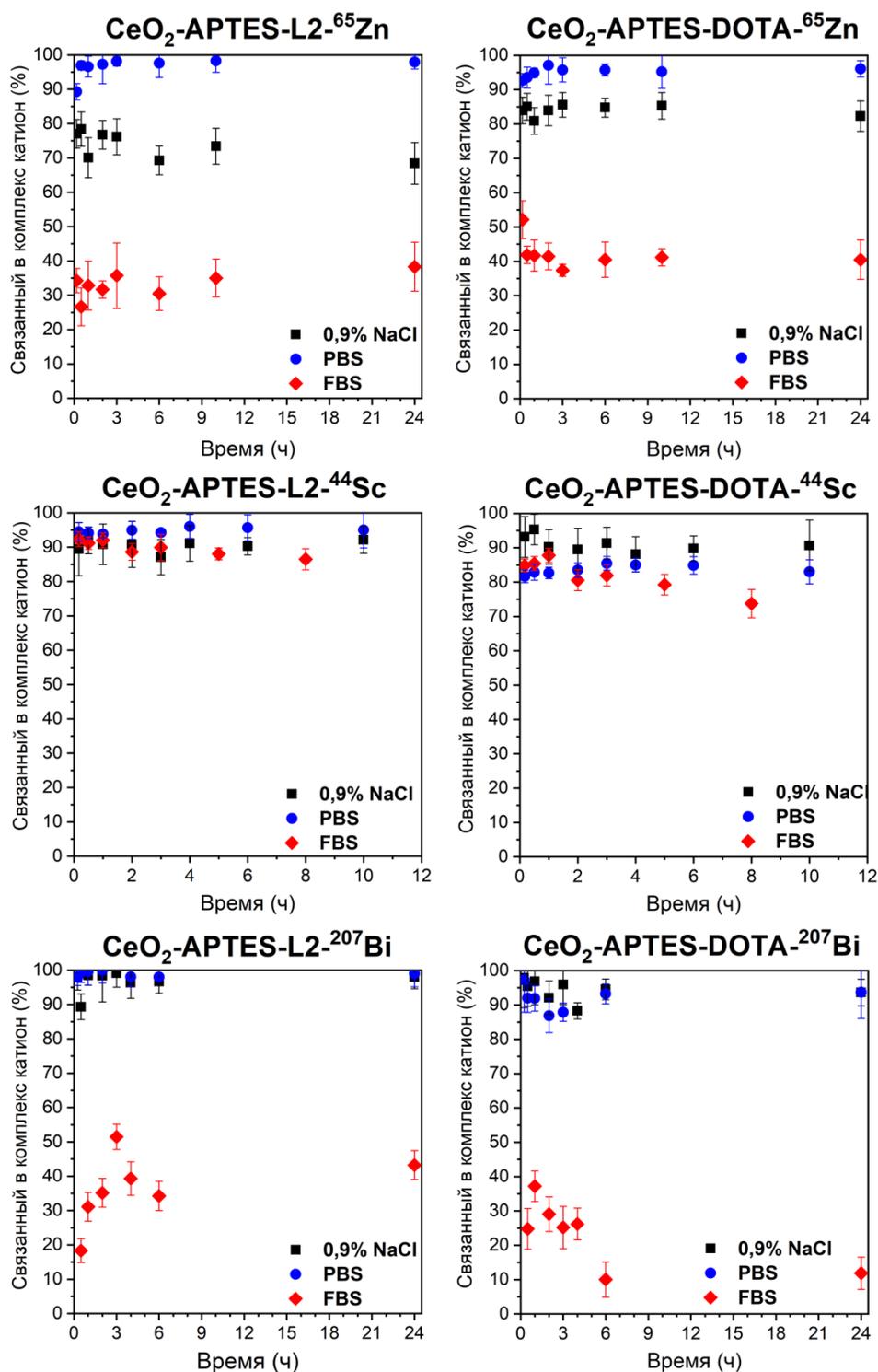


Рисунок 36. Зависимость % связанного в комплекс катиона от времени термостатирования, характеризующая кинетическую стабильность комплексов конъюгатов наночастиц CeO₂ и катионов [⁶⁵Zn]Zn²⁺, [⁴⁴Sc]Sc³⁺ и [²⁰⁷Bi]Bi³⁺ в биологических средах: 0,9 % NaCl, PBS и FBS (1:9).

3.3.5 *In vitro* эксперименты

Благодаря небольшому размеру наночастицы могут легко проникать внутрь клетки, поэтому важно убедиться в отсутствии цитотоксичности до исследований в условиях живого организма [209,210].

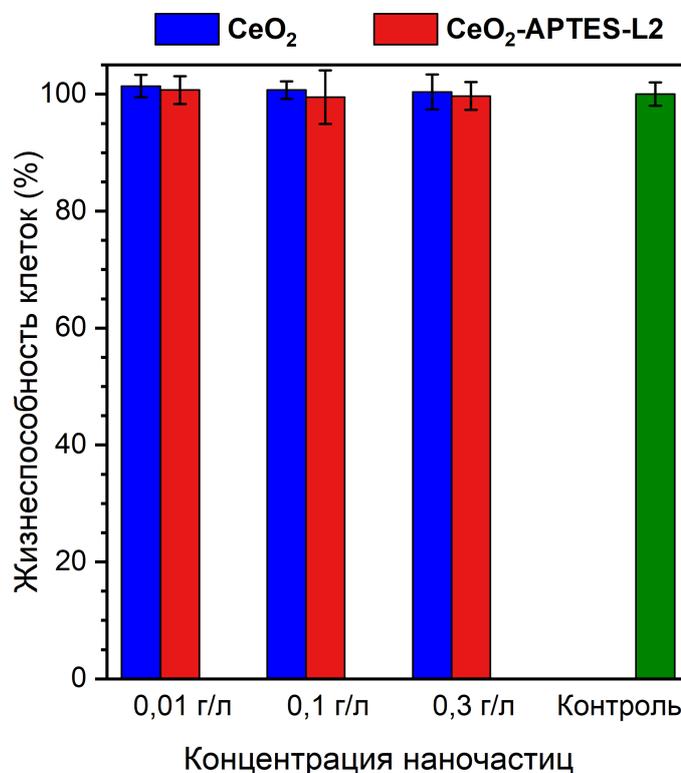


Рисунок 37. Жизнеспособность клеток EA.hy926 после воздействия CeO₂ и CeO₂-APTES-L2 оценивали с помощью резазуринового теста в указанных концентрациях. Значения приведены как средние по результатам девяти независимых экспериментов.

Ранее уже подтверждалось отсутствие цитотоксичности наночастиц диоксида церия на различных линиях клеток [211]. В данном эксперименте при концентрациях CeO₂ и CeO₂-APTES-L2 0,01, 0,1 и 0,3 г/л не наблюдается различий в жизнеспособности клеток EA.hy926 по сравнению с контролем после 24 часов инкубации (рис. 37). Жизнеспособность клеток во всех исследованных образцах превышает 99,5%. Цитотоксичность конъюгата находится в пределах погрешности аналогичного значения для оксида церия. Полученные результаты на цитотоксичность подтвердили возможность проведения *in vivo* эксперимента для комплекса CeO₂-APTES-L2-⁴⁴Sc.

3.3.6 *In vivo* эксперименты

На гистограмме (рис. 38) показаны данные о биологическом распределении комплексного соединения $\text{CeO}_2\text{-APTES-L2-}^{44}\text{Sc}$ в органах лабораторной мыши через 1 и 4 часа после инъекции в сравнении с $[^{44}\text{Sc}]\text{Sc}(\text{CH}_3\text{COO})_3$ (свободный катион $[^{44}\text{Sc}]\text{Sc}^{3+}$).

Из представленных результатов следует, что $[^{44}\text{Sc}]\text{Sc}^{3+}$ накапливается в большом количестве в печени (48 %/г) и селезенке (16 %/г) через 1 час после введения препарата. Стоит отметить, увеличение радиоактивности в селезенке прослеживается и спустя 4 часа после инъекции, % введенной доза на грамм органа повышается до 20. Это объясняется связыванием катиона с белками и аминокислотами с последующим поглощением ретикулоэндотелиальной системой. Также $[^{44}\text{Sc}]\text{Sc}^{3+}$ может проникать в клетки паренхимы печени [212]. Более того, наблюдается резкое увеличение концентрации $[^{44}\text{Sc}]\text{Sc}^{3+}$ с 4 %/г до 11 %/г в легких мыши.

Распределение комплекса $\text{CeO}_2\text{-APTES-L2-}^{44}\text{Sc}$ отличается от данных свободного катиона $[^{44}\text{Sc}]\text{Sc}^{3+}$. Через 1 и 4 часа после инъекции наблюдается довольно высокая концентрация комплекса в крови (8 – 9 %/г). Также, повышается % введенной дозы на грамм органа в сердце (16 %/г), селезенке (20 %/г), легких (9 %/г) и печени (19 %/г) спустя 4 часа после внутривенного введения комплексного соединения. В литературе [67] утверждают, что такой эффект характерен для наночастиц.

Для исключения наличия $\text{CeO}_2\text{-APTES-L2-}^{44}\text{Sc}$ и $[^{44}\text{Sc}]\text{Sc}^{3+}$ в частях тела, не включенных в исследование биораспределения, была измерена радиоактивность, присутствующая во всем теле мыши. Согласно результатам гамма-спектропии, в оставшемся теле не было выявлено значительных количеств радиоактивности после введения $[^{44}\text{Sc}]\text{Sc}(\text{CH}_3\text{COO})_3$, однако для $\text{CeO}_2\text{-APTES-L2-}^{44}\text{Sc}$ наблюдалось обратное – 6 %/г для временной точки 1 час. Этот факт можно обосновать накоплением частиц в лимфатических узлах [213].

Незначительный процент накопления в почках (не более 5 %/г для всех изучаемых точек) указывает на низкую степень выведения $[^{44}\text{Sc}]\text{Sc}^{3+}$ и $\text{CeO}_2\text{-APTES-L2-}^{44}\text{Sc}$ в течение как минимум 4 часов. Концентрация $[^{44}\text{Sc}]\text{Sc}(\text{CH}_3\text{COO})_3$ в крови за время эксперимента увеличилась, что может быть связано с образованием коллоида и его медленным выведением из кровотока.

Полученные результаты не позволяют сделать однозначный вывод об устойчивости комплекса $\text{CeO}_2\text{-APTES-L2-}^{44}\text{Sc}$ в условиях *in vivo*.

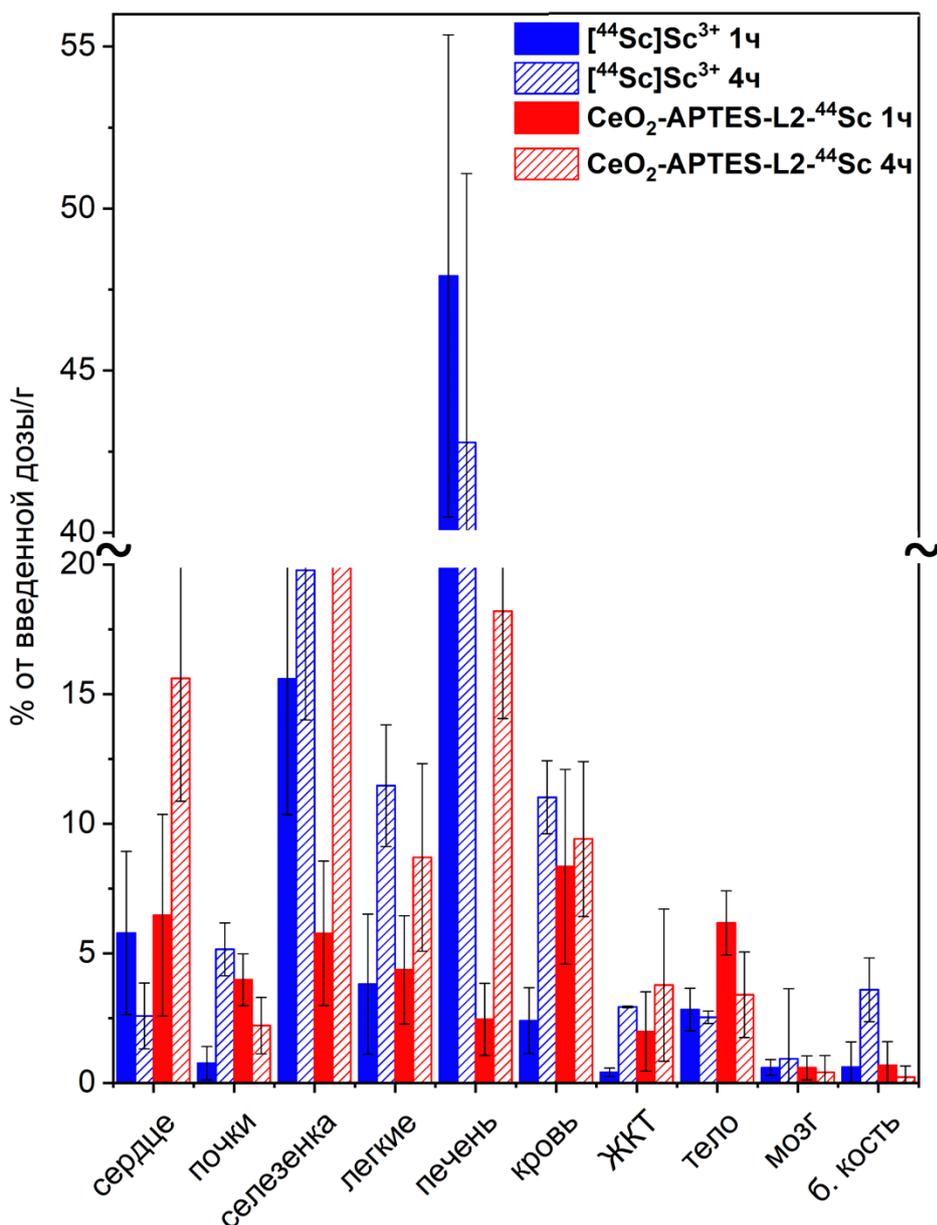


Рисунок 38. Биораспределение свободного катиона $[^{44}\text{Sc}]\text{Sc}^{3+}$ и соединения $\text{CeO}_2\text{-APTES-L2-}^{44}\text{Sc}$ в различных органах лабораторных мышей через 1 и 4 часа после инъекции.

3.4 Исследования наночастиц гексаферрита стронция

3.4.1 Морфология наночастиц $\text{SrFe}_{12}\text{O}_{19}@\text{SiO}_2$

Результаты ПЭМ и ЭД для наночастиц гексаферрита стронция, покрытых тонким аморфным слоем диоксида кремния ($\text{SHF}@\text{SiO}_2$), представлены на рисунке 39. Согласно полученным данным наночастицы имеют пластинчатую форму со средним диаметром 40 нм и толщиной 5 нм. Из результатов электронной дифракции, полученной в процессе съемки микроскопии выбранной области (рис. 39д-е), наблюдаются только дифракционные отражения, соответствующие структуре SHF (COD №1006000).

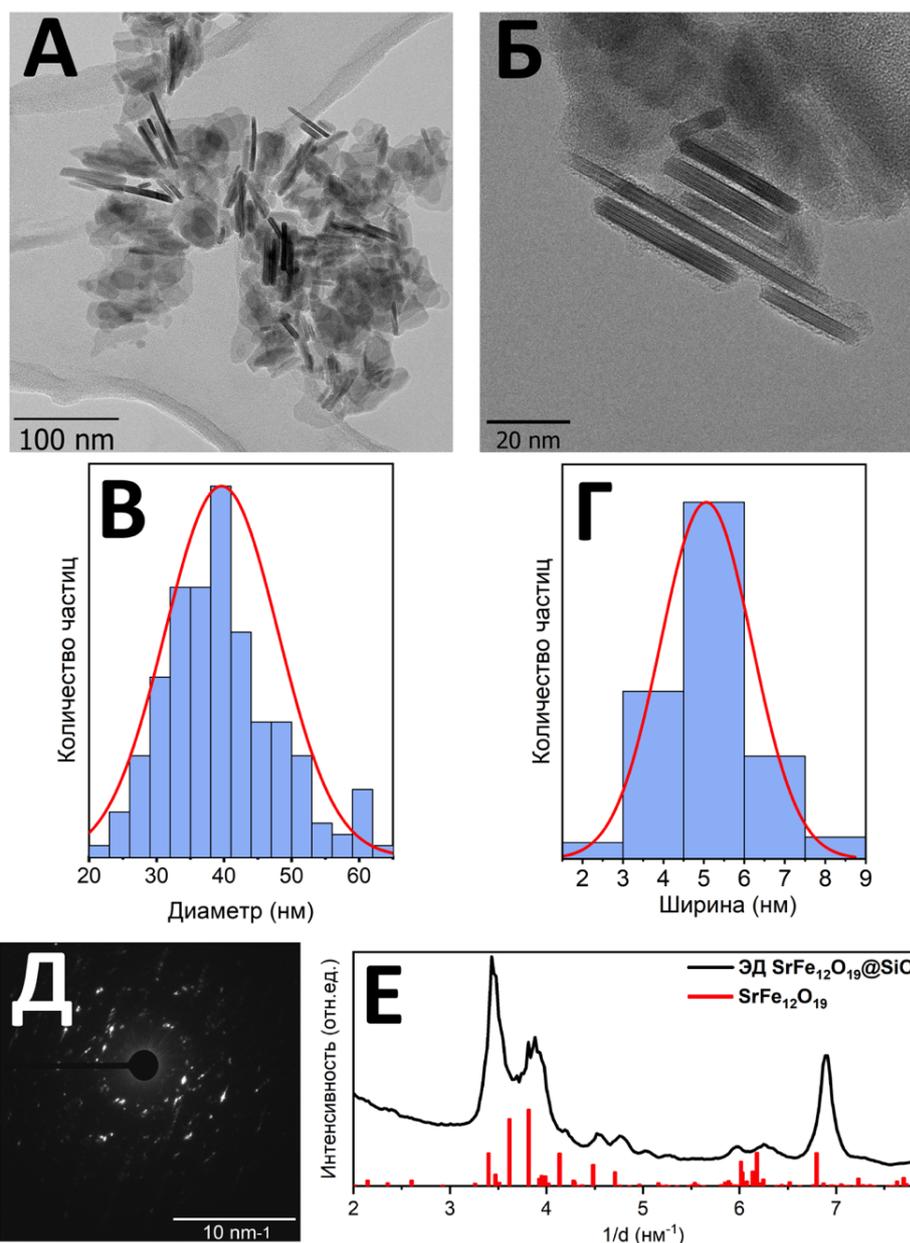


Рисунок 39. а, б) микрофотографии образца гексаферрита стронция, покрытого тонким слоем диоксида кремния; в, г) гистограммы распределения наночастиц по диаметру и ширине, построенные из результатов ПЭМ; д, е) результаты электронной дифракции с выделенной области.

3.4.2 Структуры функционализированных наночастиц SHF@SiO₂

Структура полученных модифицированных наночастиц гексаферрита стронция была изучена методом ИК спектроскопии (рис. 40). В качестве образца сравнения был взят порошок SHF@SiO₂ размером 40·5 нм. Так как все образцы получены из исходных наночастиц, в спектрах наблюдаются валентные движения Fe–O в связях Si–O–Fe [214], а также колебания Si–O–Si и Si–O–H. В то же время, прослеживаются пики, характерные

аминогруппе ($3500 - 3300$, 1160 cm^{-1}), образовавшемуся вторичному амиду (1656 cm^{-1}), колебания в пиридиновом кольце ($1567 - 1557$ cm^{-1}) и карбоксильных группах (1425 cm^{-1}) лигандов L1 и L2, а также валентные колебания связи C=S (1150 cm^{-1}) у конъюгата SHF@SiO₂-APTES-DOTA.

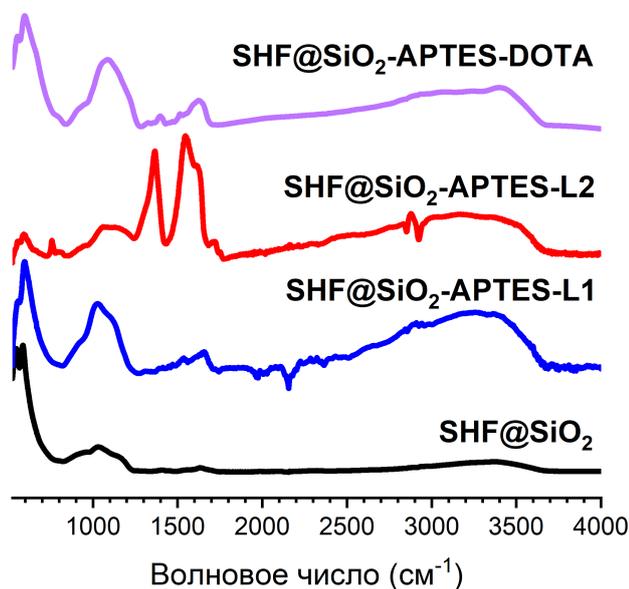


Рисунок 40. Результаты ИК спектроскопии, полученные с образцов исходного SHF@SiO₂ и модифицированной серии.

В таблице 9 представлены характеристические сигналы изучаемых образцов. Наличие колебаний связей в органических молекулах подтверждает изменение структуры поверхности наночастиц гексаферрита стронция.

Таблица 9. Таблица характеристических колебаний для полученных веществ.

ν , cm^{-1}	Характеристические колебания
3500 – 2700	Связанная водородными связями вода; антисимметричные и симметричные колебания Н–О–Н
3500 – 3300	Антисимметричные и симметричные колебания R–NH ₂
2840	Валентные колебания связи C–H в –CH ₂ –
1656	Валентные колебания C=O вторичного амида
1400 – 1500	Валентные колебания ароматического кольца для конъюгата с DOTA
1425	Деформационные колебания O–H в карбоксильных группах
1160	Колебания R–NH ₂
1150	Валентные колебания связи C=S для конъюгата с DOTA

ν , cm^{-1}	Характеристические колебания
1100 – 1000	Симметричное и асимметричное валентное колебания Si-O-Si
953	Валентные колебания Si-O-H
586	Валентные движения Fe-O в связях Si-O-Fe
548	Полоса поглощения $\text{SrFe}_{12}\text{O}_{19}$

Для определения структуры и состава материалов была использована рамановская спектроскопия. На рис. 41а показаны спектры комбинационного рассеяния света синтезированных функционализированных наночастиц SHF@SiO_2 . Согласно теории групп, гексаферрит SrM соответствует 42 комбинационно-активным модам ($11A_{1g}$, $14E_{1g}$ и $17E_{2g}$) [215]. В полученных нами спектрах комбинационного рассеяния присутствуют пять мод: E_{2g} (330 cm^{-1}), E_{1g} (530 cm^{-1}) и A_{1g} (680 , 618 и 410 cm^{-1}), которые указывают на образование фазы феррита стронция. Более того, наличие колебаний связей в органических молекулах на спектрах комбинационного рассеяния света подтверждает изменение структуры поверхности наночастиц. Полосы в спектрах комбинационного рассеяния света будут смещаться с изменениями на поверхности кристалла. Изменение полуширины на половину высоты и смещение максимума пика A_{1g} (680 cm^{-1}) на $5,13 \text{ cm}^{-1}$ ($\text{SHF@SiO}_2\text{-APTES-L1}$) и $10,83 \text{ cm}^{-1}$ ($\text{SHF@SiO}_2\text{-APTES-L2}$ и $\text{SHF@SiO}_2\text{-APTES-DOTA}$) относительно исходного SHF@SiO_2 показано на рис. 41б. Исходя из приведенного выше наблюдения можно сделать вывод об изменении поверхности наночастиц, что подтверждает изменение структуры веществ.

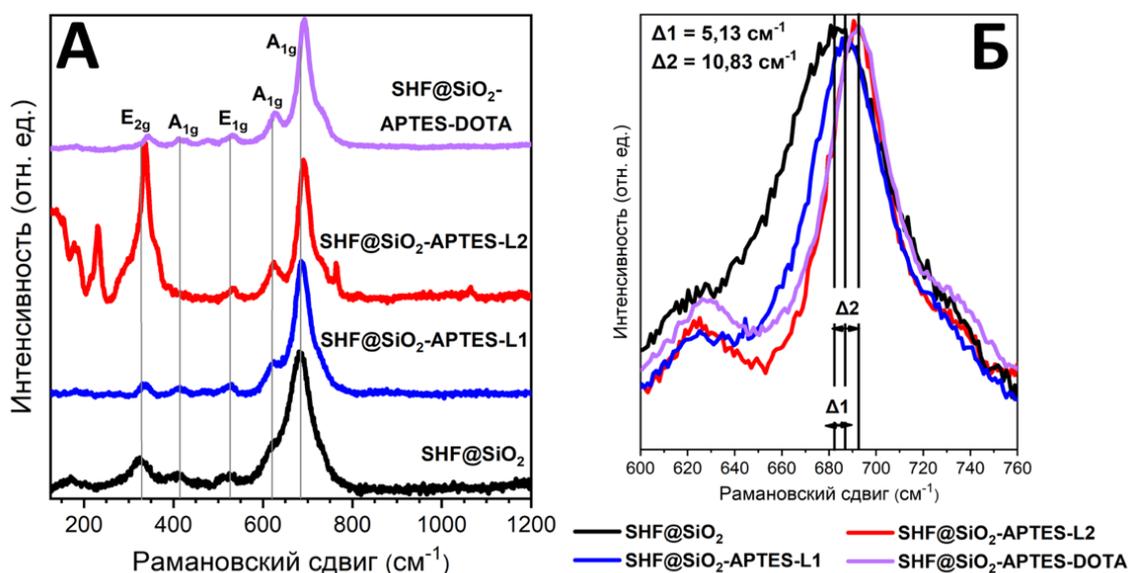


Рисунок 41. Результаты КР спектроскопии, полученные с образцов исходного SHF@SiO_2 и модифицированной серии.

Эффективность связывания лиганда с поверхностью наночастиц гексаферрита стронция оценивали с помощью метода термогравиметрического анализа в сочетании с масс-спектрометрией (ТГА-МС) в атмосфере воздуха (рис. 42). Потеря массы происходит равномерно в диапазоне от 30°C до 500°C. Кривые функционализированных наночастиц находятся ниже кривой SHF@SiO₂ при температуре от 400°C до 900°C, что является следствием присутствия лигандов на поверхности. Кроме того, в начале нагрева наблюдается изменение угла наклона линий модифицированных образцов, вызванное окислением органической части.

Предполагая, что ко всем линкерам на поверхности частицы размером 40·5 нм были привиты лиганды L1, L2 и *p*-SCN-Bn-DOTA через одну карбоксильную группу, можно определить количество лигандов приходящееся на одну частицу. Было подсчитано, что максимальное количество L1 составляет 0,2 молекулы·нм⁻², L2 на поверхности одной частицы составляет приблизительно 0,2 молекул·нм⁻², а DOTA – 0,5 молекул·нм⁻².

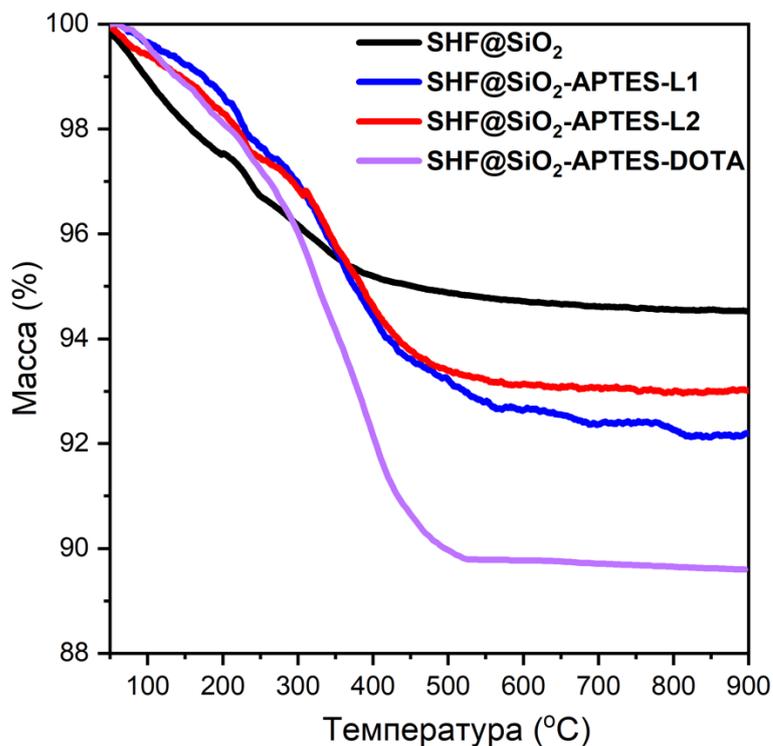


Рисунок 42. Кривые, полученные в результате термогравиметрического анализа.

На рис. 43 представлена оценка наиболее значимых продуктов (CO₂ и H₂O), измеренных масс-спектрометром при термическом разложении веществ. Согласно результатам ТГА-МС, выделение воды для наночастиц SHF@SiO₂ начинается с момента нагревания и заканчивается при температуре до 300°C из-за присутствия значительного количества воды в атмосфере воздуха и на поверхности частицы. Для конъюгатов SHF@SiO₂ и лигандов L1, L2 и DOTA вода выделяется при нагревании до 450°C из-за

окисления привитых органических молекул. Незначительное количество CO_2 , зарегистрированное для SHF@SiO_2 , связано с условиями синтеза частиц и наличием углекислого газа в атмосфере воздуха. В других случаях пик CO_2 на масс-спектрах подтверждает присутствие органических молекул на поверхности гексаферрита стронция.

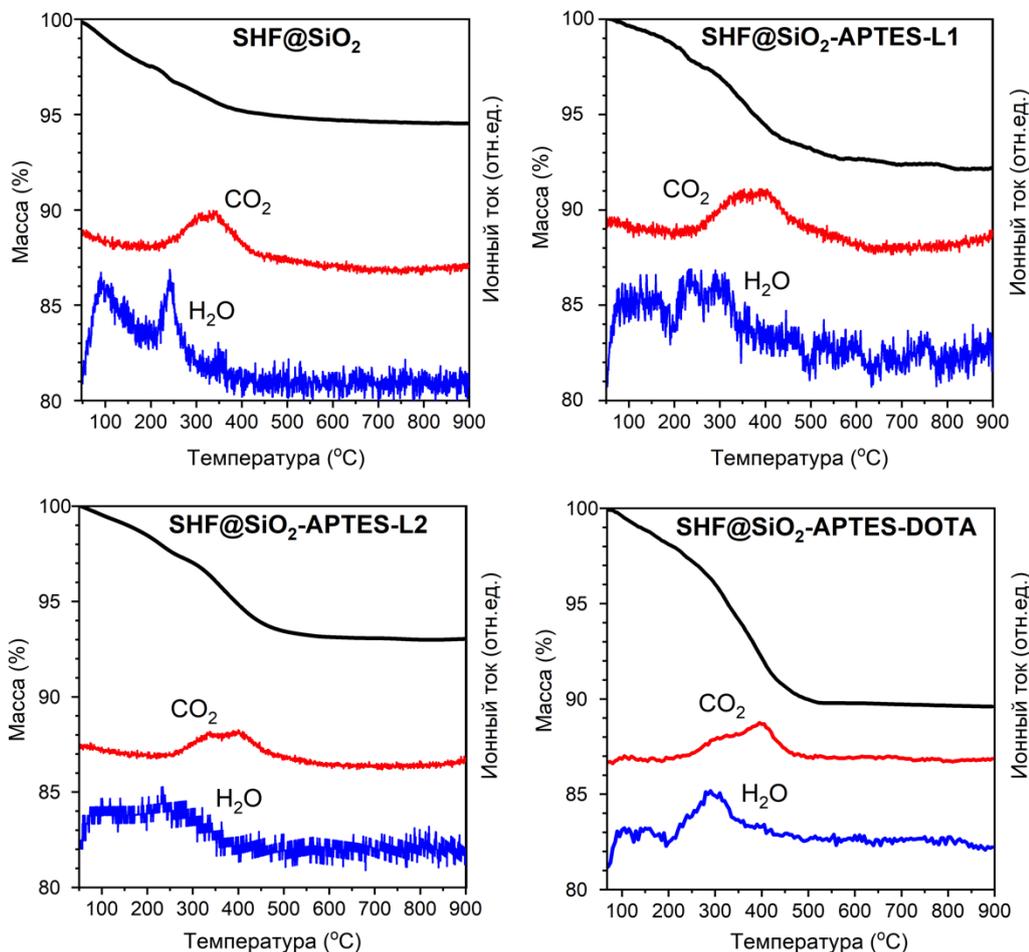


Рисунок 43. Данные ТГА-МС исходных и поверхностно-модифицированных наночастиц SHF@SiO_2 для массовых чисел 18 (H_2O) и 44 (CO_2).

Зависимость ζ -потенциала от значения рН для исходных и поверхностно-модифицированных наночастиц SHF@SiO_2 показана на рис. 44. Ионную силу контролировали добавлением 0,01 М раствора NaClO_4 . Значений рН в системе варьировали от 1,5 до 12 добавлением растворов NaOH и HClO_4 различных концентраций. Во всех образцах значение ζ -потенциала не превышает ± 50 мВ. Функционализация частиц АРТЕS приводит к образованию аминогрупп на поверхности SHF@SiO_2 , из-за чего происходит сильное смещение изоэлектрической точки в область с высоким значением рН ($\text{pI} = 8,5$). Сдвиг изоэлектрической точки влево для $\text{SHF@SiO}_2\text{-APTES-L1}$ ($\text{pI} = 7,5$), $\text{SHF@SiO}_2\text{-APTES-L2}$ ($\text{pI} = 7,1$) и $\text{SHF@SiO}_2\text{-APTES-DOTA}$ ($\text{pI} = 6,4$) объясняется наличием в

структуре лиганда карбоксильных групп, которые депротонируются с увеличением значения pH, образуя отрицательный заряд на поверхности. В то же время, атомы азота в макроциклическом и пиридиновом фрагментах лигандов также влияют на положение pI. Благодаря своим основным свойствам они ориентируют изоэлектрическую точку в щелочную область. Таким образом, поверхность наночастиц гексаферрита стронция, покрытых диоксидом кремния, была успешно модифицирована с помощью линкера APTES на первом этапе, а затем с помощью лигандов L1, L2 и *p*-SCN-Bn-DOTA.

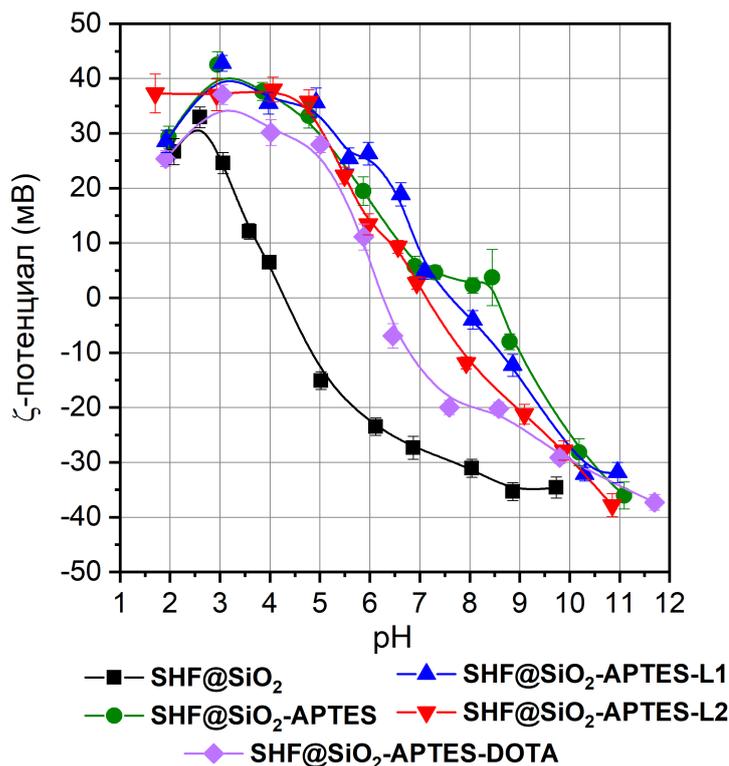


Рисунок 44. Зависимость ζ -потенциала от величины pH для исходного SHF@SiO₂ и модифицированной серии ($I = 0,01$ M).

Таким образом, исходя из полученных выше результатов можно сделать вывод, что поверхность наночастиц гексаферрита стронция, покрытая диоксидом кремния, была успешно модифицирована лигандами L1, L2 и *p*-SCN-Bn-DOTA. Полученные конъюгаты перспективны для дальнейшего изучения в качестве платформы для радиофармпрепаратов.

3.4.3 Подбор оптимальных условий мечения

Для комплексов $[^{207}\text{Bi}]\text{Bi}^{3+}$ с конъюгатом наночастиц и лигандами L1, L2 и *p*-SCN-Bn-DOTA методом конкурирующей жидкостной экстракции проводили анализ зависимости радиохимической чистоты от концентрации висмута (рис. 45). Концентрацию

Bi^{3+} варьировали от 10^{-6} М до 10^{-9} М при постоянной концентрации исходных и модифицированных частиц гексаферрита стронция, покрытого диоксидом кремния, 10^{-3} г/л. Мечение конъюгата SHF@SiO₂-APTES-DOТА изучали при комнатной температуре и нагревании в течение 30 минут до 50°C, 75°C и 90°C (рис. 45б).

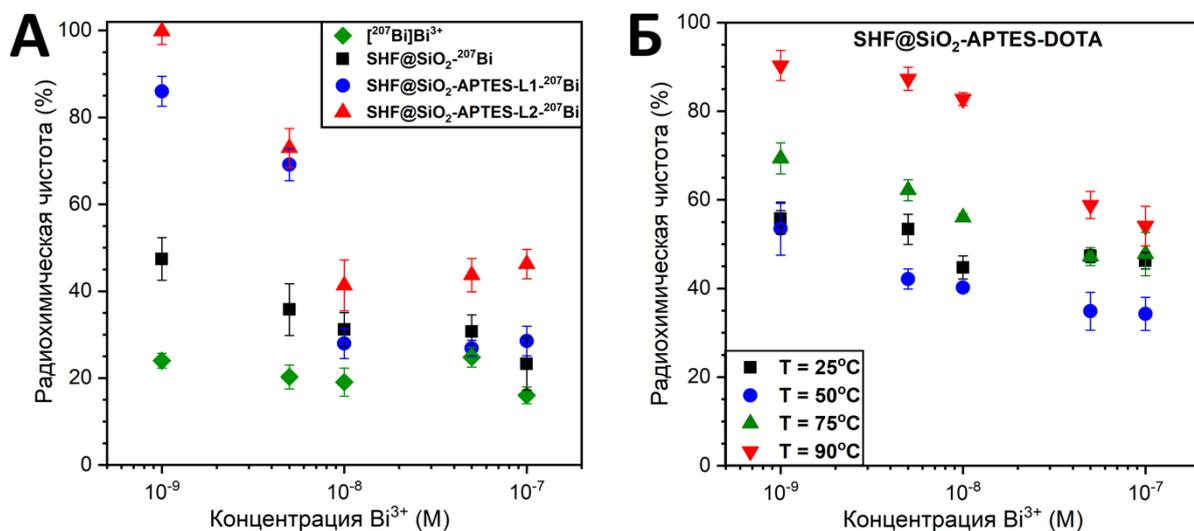


Рисунок 45. а) Зависимости % РХЧ от концентрации катиона [²⁰⁷Bi]Bi³⁺ при фиксированных концентрациях SHF@SiO₂ и его поверхностно-модифицированной серии (10^{-3} г/л). Мечение проводилось при комнатной температуре. б) Зависимости % РХЧ от концентрации катиона [²⁰⁷Bi]Bi³⁺ при концентрациях SHF@SiO₂ и его поверхностно-модифицированной серии (10^{-3} г/л) в различных температурных условиях (при T = 25°C, 50°C, 75°C и 90°C).

Согласно полученным результатам оптимальная концентрация Bi^{3+} для образования комплексного соединения с конъюгатами наночастиц SHF@SiO₂-APTES-L1, SHF@SiO₂-APTES-L2 и SHF@SiO₂-APTES-DOТА — 10^{-9} М (радиохимическая чистота равна 86% для L1 и 99% для L2 (рис. 46а)). Увеличивается выход мечения при нагревании комплекса SHF@SiO₂-APTES-DOТА-²⁰⁷Bi, так выдерживание в течение 30 минут при температуре 90°C приводит повышению РХЧ до 90%. В то же время, степень сорбции [²⁰⁷Bi]Bi³⁺ на поверхности нефункционализированных частиц SHF@SiO₂ при такой же концентрации не превышает 50%. Адсорбция катиона висмута на поверхности гексаферрита стронция значительно выше, чем на рассмотренных ранее частицах CeO₂. Это связано с наличием слоя пористого диоксида кремния на SHF, за счет чего катиону проще удержаться на поверхности наночастицы.

Таким образом, были определены условия образования комплексов с высоким значением РХЧ, соответственно SHF@SiO₂-APTES-L1-²⁰⁷Bi, SHF@SiO₂-APTES-L2-²⁰⁷Bi и

SHF@SiO₂-APTES-DOTA-²⁰⁷Bi могут в дальнейшем изучаться для возможного применения в радиофармпрепаратах.

3.4.4 Устойчивость в биологически значимых средах

Исследование стабильности комплексов SHF@SiO₂-APTES-L1-²⁰⁷Bi, SHF@SiO₂-APTES-L2-²⁰⁷Bi и SHF@SiO₂-APTES-DOTA-²⁰⁷Bi в биологически значимых средах проводили методом магнитной сепарации, описанного в экспериментальной части, в сочетании с гамма-спектрометрией. На рис. 46 показана зависимость доли связанного в комплекс катиона металла от времени инкубирования при температуре 37°C и непрерывном перемешивании в следующих средах: 0,9 % NaCl; PBS; FBS в соотношении 1:9.

Полученные кинетические зависимости говорят о стабильности комплексных соединений в течение суток в 0,9% NaCl, что объясняется отсутствием перехелатирования [²⁰⁷Bi]Bi³⁺ в данном растворе. В PBS SHF@SiO₂-APTES-L1-²⁰⁷Bi, SHF@SiO₂-APTES-L2-²⁰⁷Bi и SHF@SiO₂-APTES-DOTA-²⁰⁷Bi также стабильны в течение длительного времени, однако частичная диссоциация (через 24 часа количество комплекса составляет 80%) и относительно медленное образование структуры наночастица-лиганд-радионуклид для SHF@SiO₂-APTES-L1-²⁰⁷Bi может быть вызвано присутствием фосфат-ионов в буферном растворе.

Как показано на рис. 46, в сыворотке крови [²⁰⁷Bi]Bi³⁺ остается связанным с конъюгатами наночастиц SHF@SiO₂ на протяжении всего эксперимента. Однако сравнение показывает, что комплекс висмута с SHF@SiO₂-APTES-L2 значительно более стабилен в сыворотке, чем комплексные соединения с SHF@SiO₂-APTES-L1 и SHF@SiO₂-APTES-DOTA: доля связанного в комплекс висмута через 24 часа термостатирования составляет 85% для SHF@SiO₂-APTES-L2-²⁰⁷Bi, в то время как для SHF@SiO₂-APTES-L1 и SHF@SiO₂-APTES-DOTA не превышает 20% на момент окончания эксперимента.

Существенное различие результатов для комплексов с L1 и L2 связано со структурой лигандов и селективностью реакции ацилирования. Ранее было показано, что для образования стабильного соединения Bi³⁺ должен располагаться в макроциклической полости и координирован тремя карбоксильными группами макроцикла [2]. Таким образом, для координации Bi³⁺ комплекса необходимы по меньшей мере три COO⁻ группы. L1 имеет три незащищенные карбоксильные группы, которые участвуют в образовании связи линкер-лиганд, соответственно, они не могут прочно удерживать катион в макроциклической полости.

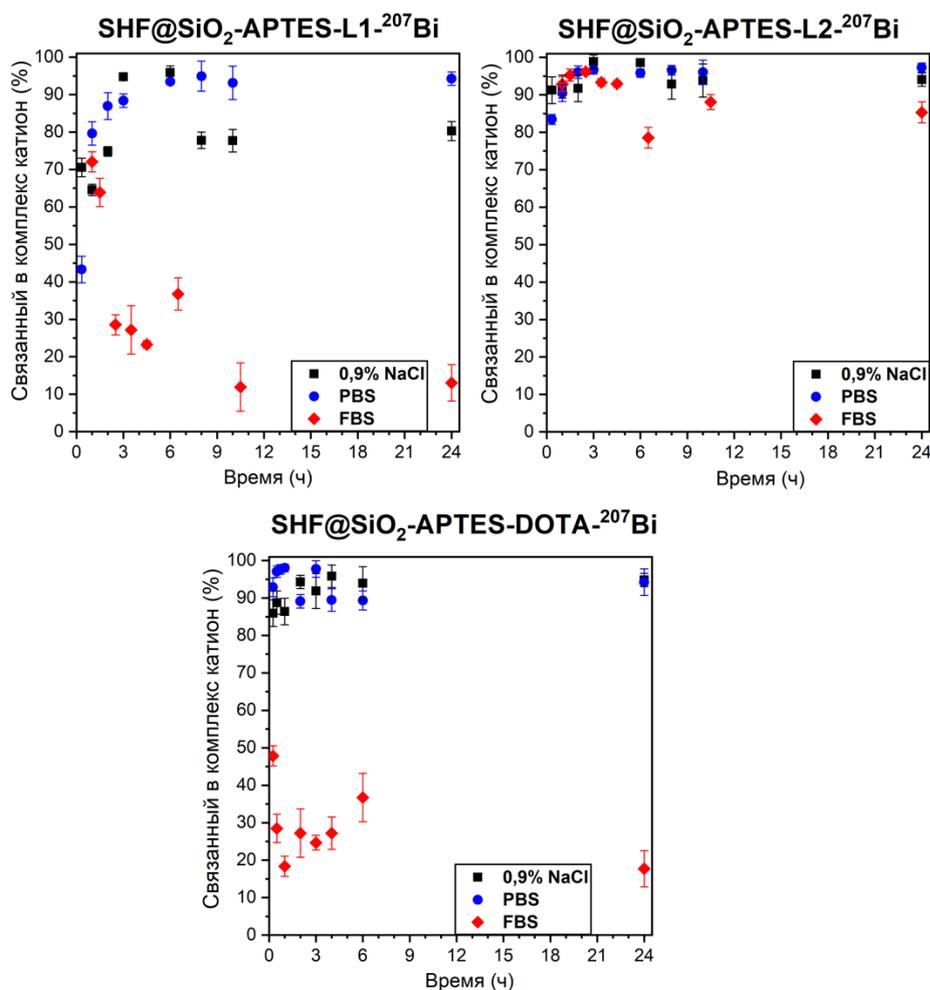


Рисунок 46. Зависимость % связанного в комплекс катиона металла от времени термостатирования, характеризующая кинетическую стабильность комплексов SHF@SiO₂-APTES-L1-²⁰⁷Bi, SHF@SiO₂-APTES-L2-²⁰⁷Bi и SHF@SiO₂-APTES-DOTA-²⁰⁷Bi в биологически значимых средах: 0,9 % NaCl, PBS и FBS в соотношении 1:9.

Таким образом, была продемонстрирована высокая кинетическая стабильность в FBS в течение суток для SHF@SiO₂-APTES-L2-²⁰⁷Bi, в то же время результаты SHF@SiO₂-APTES-L1-²⁰⁷Bi и SHF@SiO₂-APTES-DOTA-²⁰⁷Bi значительно ниже допустимых значений для потенциальных радиофармпрепаратов.

3.4.5 Исследование магнитных свойств

Исследования магнитных свойств некоторых полученных образцов проведены с помощью вибрационного магнитометра. Зависимость намагниченности (M) от напряженности магнитного поля (H) для магнитотвердых материалов (гистерезис намагниченности) описывает процессы, происходящие при намагничивании образца, и позволяет определить коэрцитивную силу (H_c) и намагниченность насыщения (M_s).

Коэрцитивная сила — напряженности магнитного поля, при котором вещество полностью размагничивается ($M = 0$ э.м.е./г), в то время как намагниченность насыщения показывает максимально возможное значение намагниченности материала.

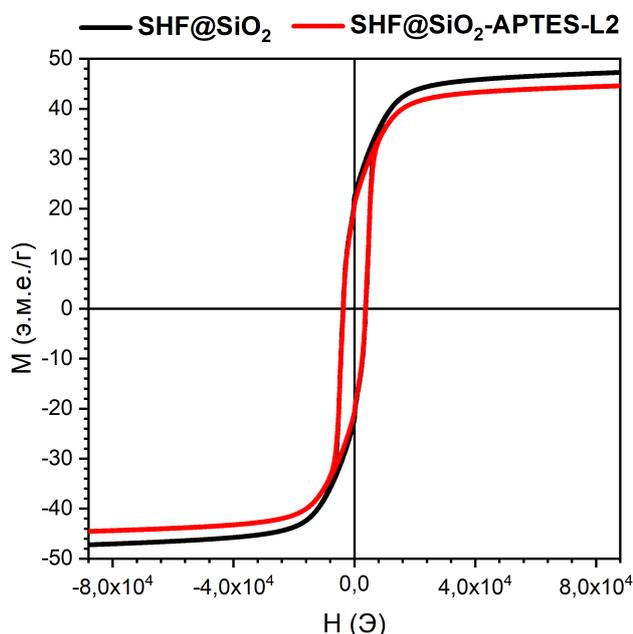


Рисунок 47. Петли гистерезиса исходных наночастиц SHF@SiO₂ и SHF@SiO₂-APTES-L2.

Петли гистерезиса порошков частиц гексаферрита, покрытого диоксидом кремния, до и после прививки линкерной группы с лигандом L2 представлены на рисунке 47. Коэрцитивная сила обоих образцов одинакова и составляет около 3700 Э, что указывает на то, что частицы гексаферрита не претерпевают изменений кристалличности в ходе синтеза. Сопоставление намагниченности насыщения образцов (44,9 и 42,6 э.м.е./г для частиц SHF@SiO₂ и SHF@SiO₂-APTES-L2 соответственно) позволяет оценить массовую долю добавленной в частицы немагнитной фазы покрытий, она составляет около 5,4%.

Допустим, что к каждому линкеру APTES на поверхности частицы размером $40 \cdot 5$ нм был привит лиганд L2 через одну карбоксильную группу с последующим снятием *трет*-бутильных защитных групп. Зная массовую долю органической фазы, можно оценить количество лиганда приходящееся на нм^2 поверхности наночастицы. Было подсчитано, что максимальное количество L2 составляет $0,52$ молекулы $\cdot \text{нм}^{-2}$, что сопоставимо с результатами, полученными методом ТГА для этого конъюгата.

3.4.6 *In vitro* эксперименты

Жизнеспособность гибридной клеточной линии EA.hy926 после воздействия SHF@SiO₂-APTES-L2 оценивали с помощью резазуриновго теста в концентрациях

конъюгата наночастиц от 0,001 г/л до 0,1 г/л. Значения на рисунке 48 приведены как средние результатов девяти независимых экспериментов.

При оптимальном для мечения количестве SHF@SiO₂-APTES-L2 – 10⁻³ г/л, не наблюдается различий в жизнеспособности клеток по сравнению с контрольной группой после 24 часов инкубации. Стоит отметить, что увеличение концентрации SHF@SiO₂-APTES-L2 на два порядка не приводит к увеличению цитотоксичности. Жизнеспособность клеток во всех исследованных образцах превышает 99%. Отсутствие цитотоксичности наночастиц SrFe₁₂O₁₉ обсуждалось ранее Веверкой П. и соавторами [216]. Полученные данные позволяют продолжить исследования образца в условиях живого организма.

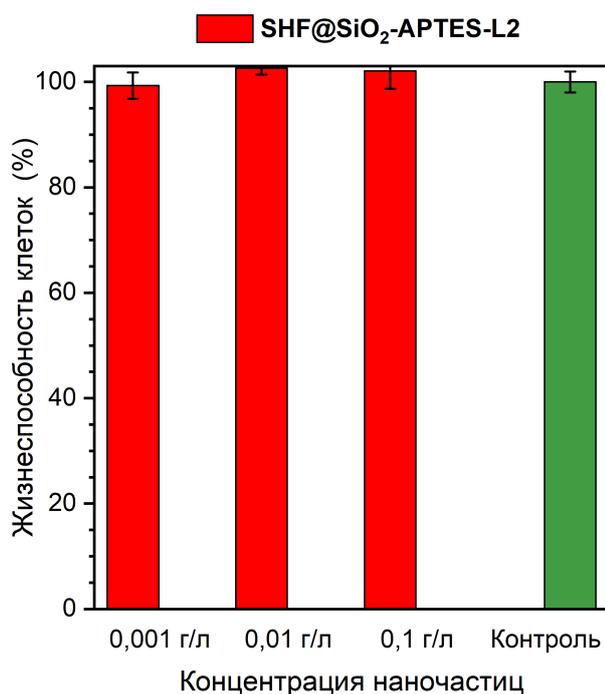


Рисунок 48. Жизнеспособность гибридной клеточной линии EA.hy926 после воздействия SHF@SiO₂-APTES-L2 через 24 часа от начала инкубации.

3.4.7 *In vivo* эксперименты

Для анализа стабильности комплекса SHF@SiO₂-APTES-L2-²⁰⁷Bi *in vivo* было изучено его биораспределение у мышей в сравнении с ²⁰⁷BiEDTA (свободный катион [²⁰⁷Bi]Bi³⁺). Биораспределение играет важную роль в оценке диагностической и терапевтической эффективности, биосовместимости и токсичности препарата.

Биораспределение (рис. 49), меченного висмутом конъюгата наночастиц SHF@SiO₂ показал накопление в печени, легких и селезенке через 1 ч после инъекции. Более того, через 24 часа наблюдалось значительное увеличение радиоактивности в этих органах, что специфично для наночастиц [67]. В то же время авторы статьи [2] утверждают, что

комплекс L2-²⁰⁷Bi, не содержащий наночастиц, быстро выводился из легких и селезенки и демонстрировал более высокий уровень радиоактивности в почках по сравнению с другими органами. Только 15 %/г ²⁰⁷Bi от введенного SHF@SiO₂-APTES-L2-²⁰⁷Bi было обнаружено в почках через 1 ч после инъекции, в то время как для [²⁰⁷Bi]Bi³⁺ это значение составляет более 55 %/г. При этом, через сутки после внутривенного введения препарата ²⁰⁷BiEDTA его содержание в почках снижается до 6%/г. Более того, наблюдается незначительное снижение радиоактивности в почках для комплексного соединения, что говорит о медленном выведении препарата из живого организма.

Внутривенное введение наночастиц в организм приводит к их проникновению в различные ткани из крови. Выведение наночастиц из организма, как правило, осуществляется за счет мононуклеарной фагоцитарной системы (МФС), что приводит к накоплению в печени и селезенке. При этом поглощение МФС выше, если гидродинамический диаметр наночастиц превышает 10 нм. Этот эффект хорошо наблюдается в случае биораспределения SHF@SiO₂-APTES-L2-²⁰⁷Bi через сутки после инъекции. Наночастицы, состоящие из неорганических материалов, биологически инертны и их трудно расщепить ферментами. В результате они могут оставаться в организме в течение длительного времени вплоть до нескольких лет [217].

Стоит отметить, что в крови было обнаружено относительно небольшое количество ²⁰⁷Bi после введения меченых частиц по сравнению со свободным катионом висмута – наибольшее количество [²⁰⁷Bi]Bi³⁺ составило 1,3 %/г от введенной дозы через 1 ч после инъекции. Для исключения наличия SHF@SiO₂-APTES-L2-²⁰⁷Bi и [²⁰⁷Bi]Bi³⁺ в частях тела, не включенных в исследование биораспределения, была измерена радиоактивность, присутствующая во всем теле мыши. Согласно результатам гамма-спектропии, в оставшемся теле не было зафиксировано значительных количеств радиоактивности.

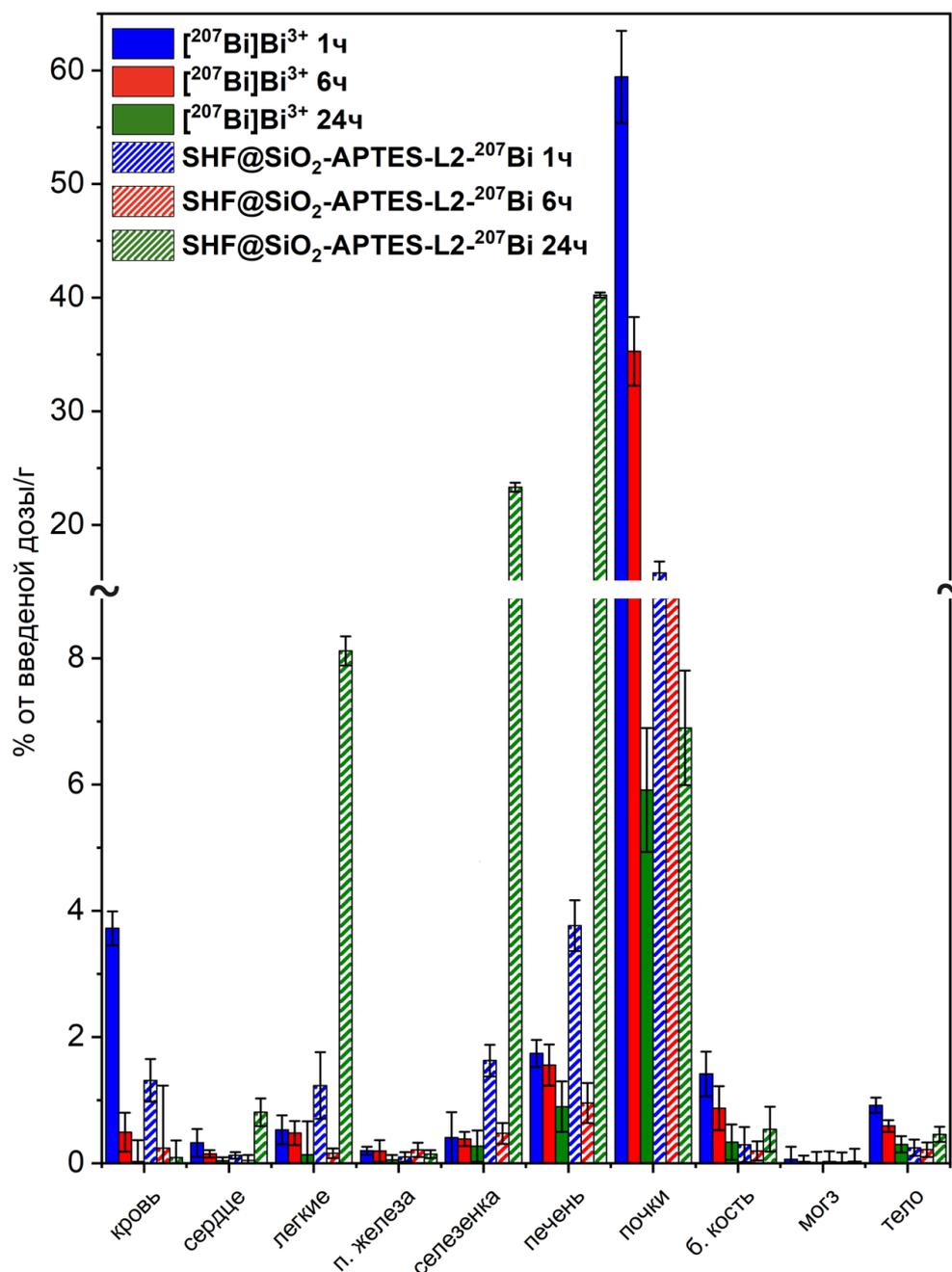


Рисунок 49. Биораспределение соединений, меченных ²⁰⁷Bi, в различных органах организма лабораторных мышей через 1, 6 и 24 часа после инъекции.

Для того, чтобы оценить экскрецию и период полувыведения препарата SHF@SiO₂-APTES-L2-²⁰⁷Bi из организма лабораторной мыши мочу и фекалии мышей собирали с помощью метаболической камеры каждый час в течение одних суток после инъекций. Процент экскреции от времени после внутривенной инъекции введения показан на рисунке 50. На графике наблюдается увеличение выведения препарата в ночное время суток, так как именно в это время животные наиболее активны.

Количественный анализ показал, что через 24 часа после введения [²⁰⁷Bi]BiEDTA 40% свободного катиона висмута от исходного количества препарата вывелось с мочой и

фекалиями, а период полувыведения составил 28,3 часа. В то же время, по окончании эксперимента всего 1,3% ^{207}Bi от введенного количества выделилось после инъекции SHF@SiO₂-APTES-L2- ^{207}Bi . Это можно объяснить полным удержанием меченных наночастиц в организме лабораторной мыши. Вероятно, процент экскреции висмута в данном случае связан с незначительным количеством свободного катиона $^{207}\text{Bi}^{3+}$ в препарате (перед инъекцией радиохимическая чистота SHF@SiO₂-APTES-L2- ^{207}Bi составляла 95%) и медленной диссоциацией комплекса в условиях *in vivo*.

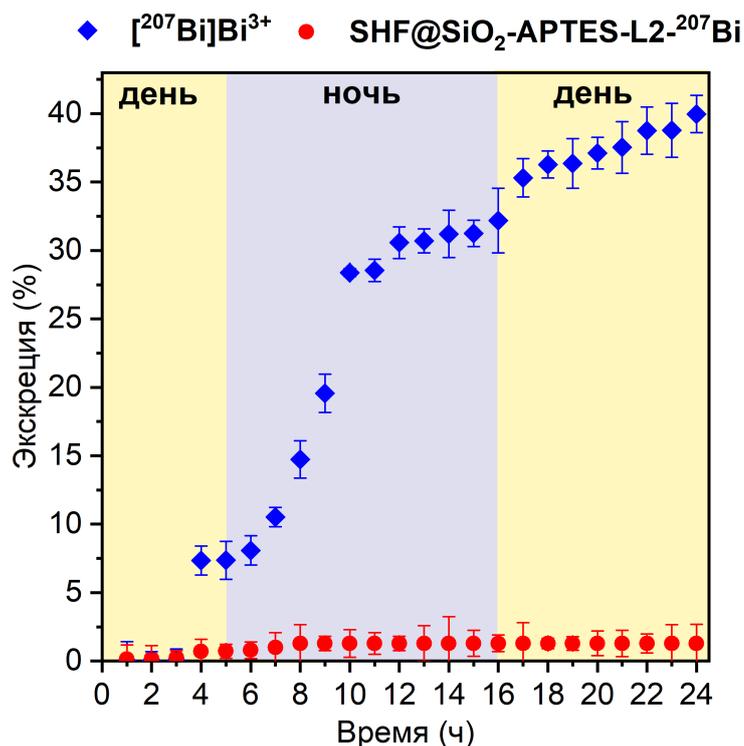


Рисунок 50. Процент экскреции от времени после внутривенной инъекции введения $^{207}\text{BiEDTA}$ и SHF@SiO₂-APTES-L2- ^{207}Bi , полученный с использованием метаболической камеры в течение суток.

По результатам *in vivo* эксперимента можно сделать вывод, что соединение SHF@SiO₂-APTES-L2- ^{207}Bi стабильно в условиях живого организма на начальном этапе эксперимента, так как в случае диссоциации высвобожденные катионы висмута имели бы профиль биораспределения, аналогичный свободному катиону $^{207}\text{Bi}^{3+}$ или комплексному соединению L2- ^{207}Bi [2].

Таким образом, из ряда исследованных соединений комплекс Bi^{3+} и конъюгата SHF@SiO₂-APTES-L2 оказался наиболее перспективным для использования в качестве комбинированного радиофармпрепарата, в частности для проведения магнитомеханической терапии в сочетании с терапевтическими методами ядерной медицины.

Заключение

В данной работе показана возможность функционализации макроциклическими лигандами наночастиц диоксида церия и гексаферрита стронция для получения комбинированных радиофармпрепаратов. Наиболее эффективное связывание азраун-лигандов L2 и *p*-SCN-Bn-DOTA с наночастицами CeO₂ и SHF@SiO₂ достигалось с помощью линкера АPTES.

Комплексные соединения CeO₂-APTES-L2-⁴⁴Sc и SHF@SiO₂-APTES-L2-²⁰⁷Bi с радиохимическими выходами более 90% обладают высокой стабильностью в биологически значимых средах, в том числе и в избытке сывороточных белков крови в течение 8 часов термостатирования для комплекса со скандием и 24 часов для соединения с ²⁰⁷Bi. Полученные результаты показали перспективность данных комплексных соединений для проведения исследований в условиях живого организма.

Цитотоксичность конъюгатов наночастиц CeO₂ и SHF@SiO₂ и лиганда L2 на клетки человека EA.hy926 не установлена через 24 часа инкубирования в среде, что позволило продолжить исследования образцов *in vivo*. Так как [⁴⁴Sc]Sc(CH₃COO)₃ в организме накапливается в органах аналогично наночастицам, сделать однозначный вывод об устойчивости комплекса CeO₂-APTES-L2-⁴⁴Sc в условиях *in vivo* невозможно. В то же время профиль биораспределения SHF@SiO₂-APTES-L2-²⁰⁷Bi в органах лабораторной мыши отличается от свободного катиона [²⁰⁷Bi]Bi³⁺ через 24 часа после инъекции, а удержание меченных наночастиц в организме подтверждает инертность комплекса в условиях *in vivo* как минимум на начальном этапе эксперимента.

В совокупности результаты данной работы подчеркивают возможность получения кинетически стабильных меченых структур наночастица-лиганд-радионуклид и перспективность использования синтезированных конъюгатов как потенциальных компонентов радиофармпрепарата для диагностики, терапии и тераностики онкологических заболеваний.

Выводы

1. Подобраны методики химического модифицирования поверхности наночастиц диоксида церия и гексаферрита стронция, предварительно покрытого диоксидом кремния. Для наночастиц CeO_2 показано эффективное конъюгирование макроциклических азраун-лигандов с использованием эпихлоргидрина и АРТЕS в качестве линкеров. Наночастицы SHF@SiO_2 был успешно покрыты линкером (3-аминопропил)триэтоксисиланом с дальнейшим привитием лигандов L1, L2 и *p*-SCN-Bn-DOTA. Конъюгацию подтвердили методами инфракрасной спектроскопии, спектроскопии комбинационного рассеяния, термогравиметрического анализа, совмещенного с масс-спектрометрией и определением изоэлектрической точки с помощью определения дзета-потенциала при различных pH.
2. Изучены условия образования меченых соединений конъюгатов наночастиц CeO_2 и SHF@SiO_2 и лигандов L1, L2 и *p*-SCN-Bn-DOTA с катионами $^{65}\text{Zn}[\text{Zn}^{2+}]$, $^{44}\text{Sc}[\text{Sc}^{3+}]$ и $^{207}\text{Bi}[\text{Bi}^{3+}]$, а также проведено сравнение с сорбционной способностью нефункционализированных наночастиц. Для комплекса $\text{CeO}_2\text{-ECH-NH-L1-}^{207}\text{Bi}$ при концентрации наночастиц 10^{-3} г/л и $c(\text{Bi}^{3+}) = 10^{-9}$ М РХЧ не превышает 63%. Данный результат не удовлетворяет требованиям для радиофармпрепаратов, так как полученное значение существенно ниже значения РХЧ для радиофармпрепаратов. В то же время степень мечения комплекса $\text{CeO}_2\text{-ECH-NH-L2-}^{207}\text{Bi}$ при концентрации $\text{CeO}_2\text{-ECH-NH-L2}$ 10^{-3} г/л и $c(\text{Bi}^{3+}) = 10^{-9}$ М составляет 93%. Оптимальные условия мечения радионуклидами ^{65}Zn , ^{44}Sc и ^{207}Bi конъюгатов наночастиц $\text{CeO}_2\text{-APTES-L1}$, $\text{CeO}_2\text{-APTES-L2}$ и $\text{CeO}_2\text{-APTES-DOTA}$ достигаются при концентрациях конъюгатов 0,1 г/л и катионов металлов 10^{-9} М. РХЧ 74% для $\text{CeO}_2\text{-APTES-DOTA-}^{44}\text{Sc}$ и более 89% для всех остальных исследуемых комплексных соединений. Максимальное значение радиохимической чистоты было получено при $c(\text{Bi}^{3+}) = 10^{-9}$ М и концентрациях 10^{-3} г/л для конъюгатов SHF@SiO_2 , при этом степень связывания составляет 86%, 99% и 90% для комплексов $\text{SHF@SiO}_2\text{-APTES-L1-}^{207}\text{Bi}$, $\text{SHF@SiO}_2\text{-APTES-L2-}^{207}\text{Bi}$, $\text{SHF@SiO}_2\text{-APTES-DOTA-}^{207}\text{Bi}$ соответственно. Полученные результаты приемлемы для потенциальных радиофармпрепаратов.
3. Показана устойчивость конъюгатов в биологически значимых средах. Наилучшие показатели достигнуты для комплексов конъюгатов $\text{CeO}_2\text{-APTES-L2-}^{44}\text{Sc}$ и $\text{SHF@SiO}_2\text{-APTES-L2-}^{207}\text{Bi}$. Количество связанного в комплекс катиона для данных соединений в сыворотке крови превышает 85% после 8 часов термостатирования при 37°C в среде для комплекса со скандием и через сутки для конъюгата меченного висмутом. Данные результаты показывают перспективность проведения следующих этапов исследований в условиях *in vitro* и *in vivo*.

4. Цитотоксичность конъюгатов $\text{CeO}_2\text{-APTES-L2}$ и $\text{SHF@SiO}_2\text{-APTES-L2}$ при рабочих концентрациях (0,1 г/л и 10^{-3} г/л соответственно) на клетки EA.hy926 не выявлена через 24 часа инкубирования в среде. Выживаемость клеток составила 99%.
5. Установлено повышенное накопление в легких, селезенке и печени свободного катиона $^{44}\text{ScSc}^{3+}$. Профиль биораспределения $\text{CeO}_2\text{-APTES-L2-}^{44}\text{Sc}$ показывает накопление в сердце, селезенке и печени через 4 ч после инъекции, что характерно для наночастиц, но в сравнении со свободным катионом $^{44}\text{ScSc}^{3+}$ не дает информации об устойчивости комплекса в *in vivo* условиях.
6. Соединение $\text{SHF@SiO}_2\text{-APTES-L2-}^{207}\text{Bi}$ устойчиво в условиях *in vivo* как минимум на начальном этапе эксперимента. Характер распределения $\text{SHF@SiO}_2\text{-APTES-L2-}^{207}\text{Bi}$ в органах лабораторной мыши свидетельствует об отличном от свободного $^{207}\text{BiBi}^{3+}$ поведении через 24 часа после инъекции и имеет профиль распределения специфичный для наночастиц.

Список сокращений и условных обозначений

- РФЛП – радиофармацевтические лекарственные препараты;
- АФК – свободные активные формы кислорода;
- DOTA – 1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетрауксусная кислота;
- p*-SCN-Bn-DOTA – 2,2',2'',2'''-(2-(4-изотиоцианатобензил)-1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетраил)тетрауксусная кислота;
- L1 – 2,16-диоксо-3,6,9,12,15,21-гексаазабицикло[15.3.1]геникоза1(21),17,19-триен-N(6), N(9),N(12)-триуксусная кислота;
- L2 – 6,9,12-трис(трет-бутоксикарбонилметил)-2,16-диоксо-3,6,9,12,15,21-гексаазабицикло [15.3.1] геникоза1(21),17,19-триен-19-карбоновая кислота;
- SHF@SiO₂ – наночастицы гексаферрита стронция SrF₁₂O₁₉, покрытые диоксидом кремния
- ECH – 2-хлорметилоксиран (эпихлоргидрин);
- APTES – (3-аминопропил)триэтоксисилан;
- ПЭТ – позитронно-эмиссионная томография;
- ОФЭКТ – однофотонная-эмиссионная томография;
- [¹⁸F]FDG – 2-[¹⁸F]фтор-2-дезоксид-D-глюкоза(
- [¹⁸F]FET – [¹⁸F]фторэтил-L-тирозин;
- КТ – компьютерная томография
- МРТ – магнитно-резонансная томография;
- ЛПЭ – линейная передача энергии;
- PSMA – простатический специфический мембранный антиген;
- EPR-эффект – эффект повышенной проницаемости и удерживания в сосудистой системе;
- BLM – блеомицин;
- ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография;
- ТСХ – тонкослойная хроматография;
- ЯМР – ядерный магнитный резонанс;
- ЭД – электронная дифракция;
- ИК – инфракрасная спектроскопия;
- КР – спектроскопия комбинационного рассеяния;
- HERFD XANES – флуоресцентная спектроскопия рентгеновского поглощения с высокой разрешающей способностью;
- ТГА-МС – термогравиметрический анализ, совмещенный с масс-спектрометрией;
- РХЧ – радиохимическая чистота.

Список литературы

1. Anokhin E.O., Trusov L.A., Kozlov D.A., Chumakov R.G., Sleptsova A.E., Uvarov O. V., Kozlov M.I., Petukhov D.I., Eliseev A.A., Kazin P.E. Silica coated hard-magnetic strontium hexaferrite nanoparticles // *Advanced Powder Technology*. Society of Powder Technology Japan, 2019. Vol. 30, № 9. P. 1976–1984.
2. Egorova B. V, Matazova E. V, Mitrofanov A.A., Yu A.G., Trigub A.L., Zubenko A.D., Fedorova O.A., Fedorov Yu V, Kalmykov S.N. Novel pyridine-containing azacrownethers for the chelation of therapeutic bismuth radioisotopes: Complexation study, radiolabeling, serum stability and biodistribution // *Nucl Med Biol*. Elsevier Inc., 2018. Vol. 60. P. 1–10.
3. Aleshin G.Y., Egorova B.V., Priselkova A.B., Zamurueva L.S., Khabirova S.Y., Zubenko A.D., Karnoukhova V.A., Fedorova O.A., Kalmykov S.N. Zinc and copper complexes with azacrown ethers and their comparative stability in vitro and in vivo // *Dalton Transactions*. 2020. Vol. 49, № 19. P. 6249–6258.
4. Ge J., Zhang Q., Zeng J., Gu Z., Gao M. Radiolabeling nanomaterials for multimodality imaging: New insights into nuclear medicine and cancer diagnosis // *Biomaterials*. 2020. Vol. 228. P. 119553–119578.
5. Sephton S.M., Ametamey S.M. Positron emission tomography agents // *Molecular Imaging Techniques: New Frontiers*. 2013. 7–20 p.
6. Lonsdale M.N., Beyer T. Dual-modality PET/CT instrumentation-Today and tomorrow // *Eur J Radiol*. 2010. Vol. 73, № 3. P. 452–460.
7. Алиев Р.А., Калмыков С.Н. Радиоактивность. СПб.: Издательство «Лань», 2013.
8. Gambhir S.S. Molecular imaging of cancer with positron emission tomography // *Nature Reviews Cancer*. 2002. Vol. 2, № 9. P. 683–693.
9. Qaim S.M. The present and future of medical radionuclide production // *Radiochim. Acta*. 2012. Vol. 100, № 8. P. 635–651.
10. Chakravarty R., Chakraborty S. Production of a broad palette of positron emitting radioisotopes using a low-energy cyclotron: Towards a new success story in cancer imaging? // *Applied Radiation and Isotopes*. Elsevier Ltd, 2021. Vol. 176.
11. Wadsak W., Mitterhauser M. Basics and principles of radiopharmaceuticals for PET/CT // *European Journal of Radiology*. 2010. Vol. 73, № 3. P. 461–469.
12. Notni J., Wester H.J. Re-thinking the role of radiometal isotopes: Towards a future concept for theranostic radiopharmaceuticals // *J Labelled Comp Radiopharm*. John Wiley and Sons Ltd, 2018. Vol. 61, № 3. P. 141–153.

13. Koukouraki S. Overview of positron emission tomography chemistry: Clinical and technical considerations and combination with computed tomography // *Journal of BUON*. 2009. Vol. 14. P. 575–580.
14. Krause B.J., Schwarzenböck S., Souvatzoglou M. FDG PET and PET/CT // *Recent Results in Cancer Research*. Springer Science and Business Media, LLC, 2013. Vol. 187. P. 351–369.
15. Hoh C.K. Clinical use of FDG PET // *Nuclear Medicine and Biology*. 2007. Vol. 34, № 7. P. 737–742.
16. Endo K., Oriuchi N., Higuchi T., Iida Y., Hanaoka H., Miyakubo M., Ishikita T., Koyama K. PET and PET/CT using 18F-FDG in the diagnosis and management of cancer patients // *International Journal of Clinical Oncology*. 2006. Vol. 11, № 4. P. 286–296.
17. Dunet V., Pomoni A., Hottinger A., Nicod-Lalonde M., Prior J.O. Performance of 18F-FET versus 18F-FDG-PET for the diagnosis and grading of brain tumors: Systematic review and meta-analysis // *Neuro Oncol*. Oxford University Press, 2016. Vol. 18, № 3. P. 426–434.
18. Singhal T., Narayanan T.K., Jain V., Mukherjee J., Mantil J. 11C-L-methionine positron emission tomography in the clinical management of cerebral gliomas // *Molecular Imaging and Biology*. 2008. Vol. 10, № 1. P. 1–18.
19. Langen K.J., Hamacher K., Weckesser M., Floeth F., Stoffels G., Bauer D., Coenen H.H., Pauleit D. O-(2-[18F]fluoroethyl)-l-tyrosine: uptake mechanisms and clinical applications // *Nuclear Medicine and Biology*. 2006. Vol. 33, № 3. P. 287–294.
20. Gillings N. Radiotracers for positron emission tomography imaging // *Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine*. 2013. Vol. 26, № 1. P. 149–158.
21. Madsen M.T. Recent advances in SPECT imaging // *Journal of Nuclear Medicine*. 2007. Vol. 48, № 4. P. 661–673.
22. Lammertsma A.A. PET/SPECT: functional imaging beyond flow // *Vision Research*. 2001. Vol. 41. 1277–1281 p.
23. Crişan G., Moldovean-cioroianu N.S., Timaru D.G., Andrieş G., Căinap C., Chiş V. Radiopharmaceuticals for PET and SPECT Imaging: A Literature Review over the Last Decade // *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI, 2022. Vol. 23, № 9.
24. Adak S., Bhalla R., Vijaya Raj K.K., Mandal S., Pickett R., Luthra S.K. Radiotracers for SPECT imaging: Current scenario and future prospects // *Radiochimica Acta*. 2012. Vol. 100, № 2. P. 95–107.
25. Pimlott S.L. Radioisotopes for medical imaging // *International Journal of Modern Physics A*. World Scientific Publishing Co. Pte Ltd, 2014. Vol. 29, № 14.

26. Le V.S. ^{99m}Tc Generator Development: Up-to-date ^{99m}Tc Recovery Technologies for Increasing the Effectiveness of ^{99}Mo Utilisation // *Science and Technology of Nuclear Installations*. 2014. Vol. 2014. P. 1–42.
27. Jang Y., Koo T., Chung S., Park S.G. Bone involvement in chronic rhinosinusitis assessed by ^{99m}Tc -MDP bone SPECT // *Clin. Otolaryngol.* 2002. Vol. 27. P. 156–161.
28. Fan Z., Wang T., Zou L., Liu D. Comparison of the diagnostic value of ^{18}F -NaF PET/CT and ^{99m}Tc -MDP SPECT for bone metastases: a systematic review and meta-analysis // *Translational Cancer Research*. AME Publishing Company, 2023. Vol. 12, № 11. P. 3166–3178.
29. Ravizzini G.C., Hanson M.W., Shaw L.K., Wong T.Z., Hagge R.J., Pagnanelli R.A., Jain D., Lima H.S., Coleman R.E., Borges-Neto S. Efficiency comparison between ^{99m}Tc -tetrofosmin and ^{99m}Tc -sestamibi myocardial perfusion studies // *Nucl Med Commun.* 2002. Vol. 23. P. 203–208.
30. Baird A.E., Austin M.C., McKay W.J., Donnan G.A. Sensitivity and specificity of ^{99m}Tc -HMPAO SPECT cerebral perfusion measurements during the first 48 hours for the localization of cerebral infarction // *Stroke*. Lippincott Williams and Wilkins, 1997. Vol. 28, № 5. P. 976–980.
31. Alqahtani F.F. SPECT/CT and PET/CT, related radiopharmaceuticals, and areas of application and comparison // *Saudi Pharmaceutical Journal*. Elsevier B.V., 2023. Vol. 31, № 2. P. 312–328.
32. Fahey F., Stabin M. Dose optimization in nuclear medicine // *Seminars in Nuclear Medicine*. W.B. Saunders, 2014. Vol. 44, № 3. P. 193–201.
33. Mettler F.A., Huda W., Yoshizumi T.T., Mahesh M. Effective doses in radiology and diagnostic nuclear medicine // *Radiology*. 2008. Vol. 248, № 1. P. 254–263.
34. Stam M.K., Verwer E.E., Booij J., Adriaanse S.M., Bruin C.M., Wit T.C. Performance evaluation of a novel brain-dedicated SPECT system // *EJNMMI Phys.* EJNMMI Physics, 2018. Vol. 5, № 4. P. 1–14.
35. Cherry S.R. Multimodality Imaging: Beyond PET/CT and SPECT/CT // *Semin Nucl Med.* Elsevier Inc., 2009. Vol. 39, № 5. P. 348–353.
36. Pichler B.J., Kolb A., Nägele T., Schlemmer H.P. PET/MRI: Paving the way for the next generation of clinical multimodality imaging applications // *Journal of Nuclear Medicine*. 2010. Vol. 51, № 3. P. 333–336.
37. Martí-Bonmatí L., Sopena R., Bartumeus P., Sopena P. Multimodality imaging techniques // *Contrast Media Mol Imaging*. 2010. Vol. 5, № 4. P. 180–189.

38. Gustav K., Heinz Peter W. A look ahead: PET/MR versus PET/CT // *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2009. Vol. 36. P. 3–9.
39. Mayerhoefer M.E., Prosch H., Beer L., Tamandl D., Beyer T., Hoeller C., Berzaczy D., Raderer M., Preusser M., Hochmair M., Kiesewetter B., Scheuba C., Ba-Ssalamah A., Karanikas G., Kesselbacher J., Prager G., Dieckmann K., Polterauer S., Weber M., et al. PET/MRI versus PET/CT in oncology: a prospective single-center study of 330 examinations focusing on implications for patient management and cost considerations // *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 2020. Vol. 47, № 1. P. 51–60.
40. Guidoccio F., Mazzarri S., Orsini F., Erba P.A., Mariani G. Novel radiopharmaceuticals for therapy // *Nuclear Oncology: From Pathophysiology to Clinical Applications*. 2017. 173–198 p.
41. August Schubiger P., Alberto R., Smith A. Vehicles, chelators, and radionuclides: Choosing the “building blocks” of an effective therapeutic radioimmunoconjugate // *Bioconj Chem*. 1996. Vol. 7, № 2. P. 165–179.
42. Ehrhardt G.J., Ketring A.R., Ayers L.M. Reactor-produced radionuclides at the University of Missouri Research Reactor // *Applied Radiation and Isotopes*. 1998. Vol. 49, № 4. P. 295–297.
43. Volkert W.A., Huffman T.J. Therapeutic radiopharmaceuticals // *Chem Rev*. 1999. Vol. 99, № 9. P. 2269–2292.
44. Sgouros G., Bodei L., McDevitt M.R., Nedrow J.R. Radiopharmaceutical therapy in cancer: clinical advances and challenges // *Nat Rev Drug Discov*. Springer US, 2020. Vol. 19, № 9. P. 589–608.
45. Sgouros G., Roeske J.C., McDevitt M.R., Palm S., Allen B.J., Fisher D.R., Brill A.B., Song H., Howell R.W., Akabani G. Radiobiology and dosimetry of α -particle emitters for targeted radionuclide therapy // *Journal of Nuclear Medicine*. 2010. Vol. 51, № 2. P. 311–328.
46. Martin R.F., Murray V., D’Cunha G., Pardee M., Kampouris E., Haigh A., Kelly D.P., Hodgson G.S. Rapid communication: Radiation sensitization by an iodine-labelled DNA ligand // *Int J Radiat Biol*. 1990. Vol. 57, № 5. P. 939–946.
47. Rao V., Venkateswara R., Howell W., Govelitz F., Sastry S. In-vivo Radiotoxicity of DNA-incorporated ¹²⁵I Compared with that of Densely Ionising Alpha-particles // *The Lancet*. 1985. Vol. 334, № 8668. P. 650–653.
48. Table of Radioactive Isotopes. (URL: <http://nucleardata.nuclear.lu.se>, дата обращения – 10.07.2024).

49. Sgouros G. Radiopharmaceutical Therapy // *Health Phys.* 2019. Vol. 116, № 2. P. 175–178.
50. Deshayes E., Roumiguie M., Thibault C., Beuzeboc P., Cachin F., Hennequin C., Huglo D., Rozet F., Kassab-Chahmi D., Rebillard X., Houédé N. Radium 223 dichloride for prostate cancer treatment // *Drug Des Devel Ther.* 2017. Vol. 11. P. 2643–2651.
51. Okamoto S., Shiga T., Tamaki N. Clinical Perspectives of Theranostics // *Molecules.* MDPI AG, 2021. Vol. 26, № 8. P. 1–11.
52. Ahn B.C. Personalized Medicine Based on Theranostic Radioiodine Molecular Imaging for Differentiated Thyroid Cancer // *Biomed Res Int.* Hindawi Limited, 2016. Vol. 2016, № 1. P. 1–9.
53. Drude N., Tienken L., Mottaghy F.M. Theranostic and nanotheranostic probes in nuclear medicine // *Methods.* Academic Press Inc., 2017. Vol. 130. P. 14–22.
54. Van Nostrand D., Moreau S., Bandaru V. V., Atkins F., Chennupati S., Mete M., Burman K., Wartofsky L. 124I positron emission tomography versus 131I planar imaging in the identification of residual thyroid tissue and/or metastasis in patients who have well-differentiated thyroid cancer // *Thyroid.* 2010. Vol. 20, № 8. P. 879–883.
55. Zechmann C.M., Afshar-Oromieh A., Armor T., Stubbs J.B., Mier W., Hadaschik B., Joyal J., Kopka K., Debus J., Babich J.W., Haberkorn U. Radiation dosimetry and first therapy results with a 124I/ 131I-labeled small molecule (MIP-1095) targeting PSMA for prostate cancer therapy // *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* Springer Verlag, 2014. Vol. 41, № 7. P. 1280–1292.
56. Krasnovskaya O.O., Abramchuck D., Erofeev A., Gorelkin P., Kuznetsov A., Shemukhin A., Beloglazkina E.K. Recent Advances in 64Cu/67Cu-Based Radiopharmaceuticals // *International Journal of Molecular Sciences.* Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), 2023. Vol. 24, № 11.
57. Keinänen O., Fung K., Brennan J., Zia N., Harris M., Van Dam E., Biggin C., Hedt A., Stoner J., Donnelly P., Lewis J., Zeglis B., Barton J. Harnessing 64Cu/67Cu for a theranostic approach to pretargeted radioimmunotherapy // *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2020. Vol. 117, № 45. P. 28316–28327.
58. Herzog H., Rosch F., Stocklin G., Lueders C., Qaim S., Feinendegen L. Measurement of Pharmacokinetics of Yttrium-86 Radiopharmaceuticals with PET and Radiation Dose Calculation of Analogous Yttrium-90 Radiotherapeutics // *The Journal of Nuclear Medicine.* 1993. Vol. 34, № 12. P. 2222–2226.
59. Ehlerding E.B., Ferreira C.A., Aluicio-Sarduy E., Jiang D., Lee H.J., Theuer C.P., Engle J.W., Cai W. 86/90 Y-Based Theranostics Targeting Angiogenesis in a Murine Breast

- Cancer Model // Mol Pharm. American Chemical Society, 2018. Vol. 15, № 7. P. 2606–2613.
60. Goel S., England C.G., Chen F., Cai W. Positron emission tomography and nanotechnology: A dynamic duo for cancer theranostics // Adv Drug Deliv Rev. Elsevier B.V., 2017. Vol. 113. P. 157–176.
 61. Kamkaew A., Ehlerding E.B., Cai W. Nanoparticles as Radiopharmaceutical Vectors // Radiopharmaceutical Chemistry. 2019. Vol. 4, № 5. P. 181–203.
 62. Eustis S., El-Sayed M.A. Why gold nanoparticles are more precious than pretty gold: Noble metal surface plasmon resonance and its enhancement of the radiative and nonradiative properties of nanocrystals of different shapes // Chem Soc Rev. 2006. Vol. 35, № 3. P. 209–217.
 63. Smith A.M., Nie S. Semiconductor nanocrystals: Structure, properties, and band gap engineering // Acc Chem Res. 2010. Vol. 43, № 2. P. 190–200.
 64. Chou L.Y.T., Ming K., Chan W.C.W. Strategies for the intracellular delivery of nanoparticles // Chem Soc Rev. 2011. Vol. 40, № 1. P. 233–245.
 65. Mirshojaei S.F., Ahmadi A., Morales-Avila E., Ortiz-Reynoso M., Reyes-Perez H. Radiolabelled nanoparticles: Novel classification of radiopharmaceuticals for molecular imaging of cancer // J Drug Target. Informa UK Ltd, 2016. Vol. 24, № 2. P. 91–101.
 66. Petros R.A., Desimone J.M. Strategies in the design of nanoparticles for therapeutic applications // Nat Rev Drug Discov. Nature Publishing Group, 2010. Vol. 9, № 8. P. 615–627.
 67. Blanco E., Shen H., Ferrari M. Principles of nanoparticle design for overcoming biological barriers to drug delivery // Nat Biotechnol. 2015. Vol. 33, № 9. P. 941–951.
 68. Gad S.C., Sharp K.L., Montgomery C., Payne J.D., Goodrich G.P. Evaluation of the toxicity of intravenous delivery of auroshell particles (Gold-Silica Nanoshells) // Int J Toxicol. 2012. Vol. 31, № 6. P. 584–594.
 69. Maeda H., Wu J., Sawa T., Matsumura Y., Hori K. Tumor vascular permeability and the EPR effect in macromolecular therapeutics: a review // Journal of Controlled Release. 2000. Vol. 65. P. 271–284.
 70. Nakamura Y., Mochida A., Choyke P.L., Kobayashi H. Nanodrug Delivery: Is the Enhanced Permeability and Retention Effect Sufficient for Curing Cancer? // Bioconjugate Chemistry. American Chemical Society, 2016. Vol. 27, № 10. P. 2225–2238.
 71. Xie X., Zhang Y., Li F., Lv T., Li Z., Chen H., Jia L., Gao Y. Challenges and Opportunities from Basic Cancer Biology for Nanomedicine for Targeted Drug Delivery // Curr Cancer Drug Targets. Bentham Science Publishers Ltd., 2018. Vol. 19, № 4. P. 257–276.

72. Choi C.H.J., Zuckerman J.E., Webster P., Davis M.E. Targeting kidney mesangium by nanoparticles of defined size // *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011. Vol. 108, № 16. P. 6656–6661.
73. Kulkarni S.A., Feng S.S. Effects of particle size and surface modification on cellular uptake and biodistribution of polymeric nanoparticles for drug delivery // *Pharm Res*. 2013. Vol. 30, № 10. P. 2512–2522.
74. Morachis J.M., Mahmoud E.A., Almutairi A. Physical and chemical strategies for therapeutic delivery by using polymeric nanoparticles // *Pharmacol Rev*. 2012. Vol. 64, № 3. P. 505–519.
75. Varani M., Galli F., Auletta S., Signore A. Radiolabelled nanoparticles for cancer diagnosis // *Clin Transl Imaging*. Springer International Publishing, 2018. Vol. 6, № 4. P. 271–292.
76. Albanese A., Tang P.S., Chan W.C.W. The effect of nanoparticle size, shape, and surface chemistry on biological systems // *Annu Rev Biomed Eng*. 2012. Vol. 14. P. 1–16.
77. Chakravarty R., Goel S., Dash A., Cai W. Radiolabeled inorganic nanoparticles for positron emission tomography imaging of cancer: An overview // *Quarterly Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. 2017. Vol. 61, № 2. P. 181–204.
78. Enrique M.A., Mariana O.R., Mirshojaei S.F., Ahmadi A. Multifunctional radiolabeled nanoparticles: Strategies and novel classification of radiopharmaceuticals for cancer treatment // *J Drug Target*. Informa UK Ltd, 2015. Vol. 23, № 3. P. 191–201.
79. Peer D., Karp J.M., Hong S., Farokhzad O.C., Margalit R., Langer R. Nanocarriers as an emerging platform for cancer therapy // *Nat Nanotechnol*. 2007. Vol. 2, № 12. P. 751–760.
80. Pirmohamed T., Dowding J.M., Singh S., Wasserman B., Heckert E., Karakoti A.S., King J.E.S., Seal S., Self W.T. Nanoceria exhibit redox state-dependent catalase mimetic activity // *Chemical Communications*. 2010. Vol. 46, № 16. P. 2736–2738.
81. Abolfath R.M., Van Duin A.C.T., Brabec T. Reactive molecular dynamics study on the first steps of DNA damage by free hydroxyl radicals // *Journal of Physical Chemistry A*. 2011. Vol. 115, № 40. P. 11045–11049.
82. Miyazaki T., Morikawa A., Kumagai J., Ikehata M., Koana T., Kikuchi S. Long-lived radicals produced by γ -irradiation or vital activity in plants, animals, cells, and protein solution: Their observation and inhomogeneous decay dynamics // *Radiation Physics and Chemistry*. 2002. Vol. 65, № 2. P. 151–157.
83. Moon S., Song K. Bin. Effect of γ -irradiation on the molecular properties of ovalbumin and ovomucoid and protection by ascorbic acid // *Food Chem*. 2001. Vol. 74, № 4. P. 479–483.

84. Koyama S., Kodama S., Suzuki K., Matsumoto T., Miyazaki T., Watanabe M. Radiation-induced long-lived radicals which cause mutation and transformation // *Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 1998. Vol. 421, № 1. P. 45–54.
85. Shcherbakov A.B., Zholobak N.M., Spivak N.Y., Ivanov V.K. Advances and prospects of using nanocrystalline ceria in cancer theranostics // *Russian Journal of Inorganic Chemistry*. 2014. Vol. 59, № 13. P. 1556–1575.
86. Chang W.S., Griffin R., Park H.J. Influence of tumor pH on therapeutic response // *Cancer drug resistance*. 2006. P. 21–42.
87. Stoianov O.O., Ivanov V.K., Shcherbakov A.B., Stoyanova I. V., Chivireva N.A., Antonovich V.P. Determination of cerium(III) and cerium(IV) in nanodisperse ceria by chemical methods // *Russian Journal of Inorganic Chemistry*. 2014. Vol. 59, № 2. P. 15–23.
88. Datta A., Mishra S., Manna K., Saha K. Das, Mukherjee S., Roy S. Pro-Oxidant Therapeutic Activities of Cerium Oxide Nanoparticles in Colorectal Carcinoma Cells // *ACS Omega*. 2020. Vol. 5, № 17. P. 9714–9723.
89. Deshpande S., Patil S., Kuchibhatla S.V., Seal S. Size dependency variation in lattice parameter and valency states in nanocrystalline cerium oxide // *Appl Phys Lett*. 2005. Vol. 87, № 13. P. 1–3.
90. Karakoti A.S., Monteiro-Riviere N.A., Aggarwal R., Davis J.P., Narayan R.J., Seif W.T., McGinnis J., Seal S. Nanocerium as antioxidant: Synthesis and biomedical applications // *Biological Materials Science*. 2008. Vol. 60, № 3. P. 33–37.
91. Wang J., Luo B., Li X., Lu W., Yang J., Hu Y., Huang P., Wen S. Inhibition of cancer growth in vitro and in vivo by a novel ROS-modulating agent with ability to eliminate stem-like cancer cells // *Cell Death Dis*. Nature Publishing Group, 2017. Vol. 8, № 6. P. 1–9.
92. Stone W.L., Krishnan K., Campbell S.E., Palau V.E. The role of antioxidants and pro-oxidants in colon cancer // *World J Gastrointest Oncol*. 2014. Vol. 6, № 3. P. 55.
93. Popov A.L., Zaichkina S.I., Popova N.R., Rozanova O.M., Romanchenko S.P., Ivanova O.S., Smirnov A.A., Mironova E. V., Selezneva I.I., Ivanov V.K. Radioprotective effects of ultra-small citrate-stabilized cerium oxide nanoparticles in vitro and in vivo // *RSC Adv*. Royal Society of Chemistry, 2016. Vol. 6, № 108. P. 106141–106149.
94. Shcherbakov A.B., Ivanov V.K., Zholobak N.M., Ivanova O.S., Krysanov E.Y., Baranchikov A.E., Spivak N.Y., Tretyakov Y.D. Nanocrystalline ceria based materials- Perspectives for biomedical application // *Biophysics (Oxf)*. 2011. Vol. 56, № 6. P. 987–1004.

95. Paquin F., Rivnay J., Salleo A., Stingelin N., Silva C. Multi-phase semicrystalline microstructures drive exciton dissociation in neat plastic semiconductors // *J. Mater. Chem. C*. 2015. Vol. 3, № 207890. P. 10715–10722.
96. Bakht M.K., Hosseini V., Honarpisheh H. Radiolabeled nanoceria probes may reduce oxidative damages and risk of cancer: A hypothesis for radioisotope-based imaging procedures // *Med Hypotheses*. Elsevier Ltd, 2013. Vol. 81, № 6. P. 1164–1168.
97. Bakht M.K., Sadeghi M., Tenreiro C. A novel technique for simultaneous diagnosis and radioprotection by radioactive cerium oxide nanoparticles: Study of cyclotron production of ^{137}mCe // *J Radioanal Nucl Chem*. 2012. Vol. 292, № 1. P. 53–59.
98. Ferrari M. Cancer nanotechnology: Opportunities and challenges // *Nat Rev Cancer*. 2005. Vol. 5, № 3. P. 161–171.
99. Pankhurst Q.A., Connolly J., Jones S.K., Dobson J. Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine // *J Phys D Appl Phys*. 2003. Vol. 36, № 13. P. 167–181.
100. Berry C.C. Progress in functionalization of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine // *J Phys D Appl Phys*. 2009. Vol. 42, № 22.
101. Kubaska S., Sahani D. v., Saini S., Hahn P.F., Halpern E. Dual contrast enhanced magnetic resonance imaging of the liver with superparamagnetic iron oxide followed by gadolinium for lesion detection and characterization // *Clin Radiol*. 2001. Vol. 56, № 5. P. 410–415.
102. Avasthi A., Caro C., Pozo-Torres E., Leal M.P., García-Martín M.L. Magnetic Nanoparticles as MRI Contrast Agents // *Surface-modified nanobiomaterials for electrochemical and biomedicine applications*. Springer International Publishing, 2020. Vol. 378, № 40. P. 49–91.
103. Lillington J., Brusafferri L., Kläser K., Shmueli K., Neji R., Hutton B.F., Fraioli F., Arridge S., Cardoso M.J., Ourselin S., Thielemans K., Atkinson D. PET/MRI attenuation estimation in the lung: A review of past, present, and potential techniques // *Med Phys*. 2020. Vol. 47, № 2. P. 790–811.
104. Kim D.H., Rozhkova E.A., Ulasov I. v., Bader S.D., Rajh T., Lesniak M.S., Novosad V. Biofunctionalized magnetic-vortex microdiscs for targeted cancer-cell destruction // *Nat Mater*. Nature Publishing Group, 2010. Vol. 9, № 2. P. 165–171.
105. Cheng Y., Muroski M.E., Petit D.C.M.C., Mansell R., Vemulkar T., Morshed R.A., Han Y., Balyasnikova I. v., Horbinski C.M., Huang X., Zhang L., Cowburn R.P., Lesniak M.S. Rotating magnetic field induced oscillation of magnetic particles for in vivo mechanical destruction of malignant glioma // *Journal of Controlled Release*. Elsevier B.V., 2016. Vol. 223. P. 75–84.

106. Mansell R., Vemulkar T., Petit D., Cheng Y., Murphy J., Lesniak M., Cowburn R. Magnetic particles with perpendicular anisotropy for mechanical cancer cell destruction // *Sci Rep*. 2017. Vol. 7, № 1. P. 4257–4264.
107. Mertelj A., Lisjak D., Drofenik M., Čopič M. Ferromagnetism in suspensions of magnetic platelets in liquid crystal // *Nature*. 2013. Vol. 504, № 7479. P. 237–241.
108. Mertelj A., Lisjak D. Ferromagnetic nematic liquid crystals // *Liq Cryst Rev*. 2017. Vol. 5, № 1. P. 1–33.
109. Eliseev A.A., Eliseev A.A., Trusov L.A., Chumakov A.P., Boesecke P., Anokhin E.O., Vasiliev A. V., Sleptsova A.E., Gorbachev E.A., Korolev V. V., Kazin P.E. Rotational dynamics of colloidal hexaferrite nanoplates // *Appl Phys Lett*. 2018. Vol. 113, № 11. P. 1–6.
110. Sun L., Hao Y., Chien C.L., Searson P.C., Searson P.C. Tuning the properties of magnetic nanowires // *IBM J Res Dev*. 2005. Vol. 49, № 1. P. 79–102.
111. Lisjak D., Mertelj A. Anisotropic magnetic nanoparticles: A review of their properties, syntheses and potential applications // *Prog Mater Sci*. 2018. Vol. 95. P. 286–328.
112. Frassinetti S., Bronzetti G., Caltavuturo L., Cini M., Croce C. Della. The Role of Zinc in Life: A Review // *Journal of Environmental Pathology*. 2006. Vol. 25, № 3. P. 597–610.
113. Miao X., Sun W., Fu Y., Miao L., Cai L. Zinc homeostasis in the metabolic syndrome and diabetes // *Frontiers of Medicine in China*. Higher Education Press Limited Company, 2013. Vol. 7, № 1. P. 31–52.
114. Franklin R.B., Milon B., Feng P., Costello L.C. Zinc and Zinc Transporters in Normal Prostate Function and the Pathogenesis of Prostate Cancer // *Frontiers in Bioscience*. 2005. Vol. 10. P. 2230–2239.
115. Costello L.C., Franklin R.B. The clinical relevance of the metabolism of prostate cancer; zinc and tumor suppression: Connecting the dots // *Mol Cancer*. 2006. Vol. 5, № 17. P. 1–13.
116. Li M., Zhang Y., Liu Z., Bharadwaj U., Wang H., Wang X., Zhang S., Liuzzi J.P., Chang S.-M., Cousins R.J., Fisher W.E., Charles Brunicardi F., Logsdon C.D., Chen C., Yao Q. Aberrant expression of zinc transporter ZIP4 (SLC39A4) significantly contributes to human pancreatic cancer pathogenesis and progression // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2007. Vol. 104, № 47. P. 18636–18641.
117. Costello L.C., Levy B.A., Desouki M.M., Zou J., Bagasra O., Johnson L.A., Hanna N., Franklin R.B. Decreased zinc and downregulation of ZIP3 zinc uptake transporter in the development of pancreatic adenocarcinoma // *Cancer Biol Ther*. 2011. Vol. 12, № 4. P. 297–303.

118. Craddock T.J.A., Tuszynski J.A., Chopra D., Casey N., Goldstein L.E., Hameroff S.R., Tanzi R.E. The zinc dyshomeostasis hypothesis of Alzheimer's disease // *PLoS One*. 2012. Vol. 7, № 3. P. 1–16.
119. Orlova M.A., Orlov A.P. Role of Zinc in an Organism and Its Influence on Processes Leading to Apoptosis // *Br J Med Med Res*. 2011. Vol. 1, № 4. P. 239–305.
120. Lee Y.M., Lin Y.F., Lim C. Factors controlling the role of Zn and reactivity of Zn-bound cysteines in proteins: Application to drug target discovery // *Journal of the Chinese Chemical Society*. Chinese Chemical Society Taiwan, 2014. Vol. 61, № 1. P. 142–150.
121. Degrado T.R., Pandey M.K., Byrne J.F., Engelbrecht H.P., Jiang H., Packard A.B., Thomas K.A., Jacobson M.S., Curran G.L., Lowe V.J., Degrado T.R., Pandey M.K., Byrne J.F., Engelbrecht H.P., Jiang H., Packard A.B. Preparation and Preliminary Evaluation of ⁶³Zn-Zinc Citrate as a Novel PET Imaging Biomarker for Zinc // *Journal of Nuclear Medicine*. 2014. Vol. 55, № 8. P. 1348–1354.
122. Firth G., Yu Z., Bartnicka J.J., Parker D., Kim J., Sunassee K., Greenwood H.E., Al-Salamee F., Jauregui-Osoro M., Pietro A. Di, Guzman J., Blower P.J. Imaging zinc trafficking in vivo by positron emission tomography with zinc-62 // *Metallomics*. Oxford University Press, 2022. Vol. 14, № 10. P. 1–11.
123. Bormans G., Janssen A., Adriaens P., Crombez D., Witsenboer A., De Goeij J., Mortelmans L., Verbruggen A. A ⁶²Zn/⁶²Cu Generator for the Routine Production of ⁶²Cu-PTSM // *International Journal of Radiation Applications and Instrumentation*. 1992. Vol. 43, № 12. P. 1437–1441.
124. Jalilian A., Fateh B., Ghergherehchi M., Karimian A., Moradkhani S., Kamali-Dehghan M., Tabeie F. Development of ⁶²Zn bleomycin as a possible PET tracer // *Nukleonika*. 2005. Vol. 50, № 4. P. 143–148.
125. Fujibayashi Y., Saji H., Yomoda I., Kawai K., Horiuchi K., Adachi H., Torizuka K., Yokoyama A. ⁶²Zn-EDDA: A radiopharmaceutical for pancreatic functional diagnosis // *Int J Nucl Med Biol*. 1986. Vol. 12, № 6. P. 439–446.
126. Gómez F.L.G., Takada Y., Hosoi R., Momosaki S., Yanamoto K., Nagatsu K. Production and purification of the positron emitter zinc-63 // *J Labelled Comp Radiopharm*. 2012. Vol. 55, № 1. P. 5–9.
127. Molokhia M., Sturniolo G., Shields R., Turnberg L.A. A simple method for measuring zinc absorption in man using a short-lived isotope (⁶⁹mZn) // *American Journal of Clinical Nutrition*. 1980. Vol. 33, № 4. P. 881–886.

128. Wolterbeek H.T., Van der Meer A.J.G.M. Transport rate of arsenic, cadmium, copper and zinc in *Potamogeton pectinatus* L.: radiotracer experiments with ^{76}As , $^{109,115}\text{Cd}$, ^{64}Cu and $^{65,69}\text{mZn}$ // *Science of the Total Environment*. 2002. Vol. 287, № 1–2. P. 13–30.
129. Huntington C.E., Veum T.L., Morris J.S. Zinc uptake in swine intestinal brush border membrane vesicles using a $^{65}\text{Zn}/^{69}\text{mZn}$ dual isotope experiment // *J Radioanal Nucl Chem*. 2008. Vol. 276, № 1. P. 129–134.
130. Takeda A., Tamano H., Oku N. Alteration of zinc concentrations in the brain implanted with C6 glioma // *Brain Res*. 2003. Vol. 965, № 1–2. P. 170–173.
131. Hermanne A., Adam-Rebeles R., Tárkányi F., Takács S., Ditrói F. Proton and deuteron induced reactions on natGa: Experimental and calculated excitation functions // *Nucl Instrum Methods Phys Res B*. Elsevier B.V., 2015. Vol. 359. P. 145–154.
132. Huclier-Markai S., Alliot C., Kerdjoudj R., Mouglin-Degraef M., Chouin N., Haddad F. Promising scandium radionuclides for nuclear medicine: A review on the production and chemistry up to in vivo proofs of concept // *Cancer Biother Radiopharm*. 2018. Vol. 33, № 8. P. 316–329.
133. Domnanich K.A., Eichler R., Müller C., Jordi S., Yakusheva V., Braccini S., Behe M., Schibli R., Türler A., Meulen N.P. Production and separation of ^{43}Sc for radiopharmaceutical purposes // *EJNMMI Radiopharm Chem*. SpringerOpen, 2017. Vol. 2, № 14. P. 1–17.
134. Deilami-nezhad L., Moghaddam-Banaem L., Sadeghi M. Development of bone seeker radiopharmaceuticals by Scandium-47 and estimation of human absorbed dose // *Applied Radiation and Isotopes*. Elsevier Ltd, 2017. Vol. 129. P. 108–116.
135. Walczak R., Krajewski S., Szkliniarz K., Sitarz M., Abbas K., Choiński J., Jakubowski A., Jastrzębski J., Majkowska A., Simonelli F., Stolarz A., Trzcińska A., Zipper W., Bilewicz A. Cyclotron production of ^{43}Sc for PET imaging // *EJNMMI Phys*. Springer International Publishing, 2015. Vol. 2, № 1. P. 1–10.
136. Szkliniarz K., Sitarz M., Walczak R., Jastrzębski J., Bilewicz A., Choiński J., Jakubowski A., Majkowska A., Stolarz A., Trzcińska A., Zipper W. Production of medical Sc radioisotopes with an alpha particle beam // *Applied Radiation and Isotopes*. Elsevier Ltd, 2016. Vol. 118. P. 182–189.
137. Müller C., Bunka M., Reber J., Fischer C., Zhernosekov K., Türler A., Schibli R. Promises of Cyclotron-Produced ^{44}Sc as a Diagnostic Match for Trivalent β -emitters: In Vitro and In Vivo Study of a ^{44}Sc -DOTA-Folate Conjugate // *Journal of Nuclear Medicine*. Society of Nuclear Medicine Inc., 2013. Vol. 54, № 12. P. 2168–2174.

138. Meulen N.P., Bunka M., Domnanich K.A., Müller C., Haller S., Vermeulen C., Türler A., Schibli R. Cyclotron production of ^{44}Sc : From bench to bedside // *Nucl Med Biol.* Elsevier Inc., 2015. Vol. 42, № 9. P. 745–751.
139. Singh A., Van Der Meulen N.P., Müller C., Klette I., Kulkarni H.R., Türler A., Schibli R., Baum R.P. First-in-Human PET/CT Imaging of Metastatic Neuroendocrine Neoplasms with Cyclotron-Produced ^{44}Sc -DOTATOC: A Proof-of-Concept Study // *Cancer Biother Radiopharm.* Mary Ann Liebert Inc., 2017. Vol. 32, № 4. P. 124–132.
140. Misiak R., Walczak R., Waś B., Bartyzel M., Mietelski J.W., Bilewicz A. ^{47}Sc production development by cyclotron irradiation of ^{48}Ca // *J Radioanal Nucl Chem.* Springer Netherlands, 2017. Vol. 313, № 2. P. 429–434.
141. Minegishi K., Nagatsu K., Fukada M., Suzuki H., Ohya T., Zhang M.R. Production of scandium-43 and -47 from a powdery calcium oxide target via the $\text{nat}/^{44}\text{Ca}(\alpha, x)$ -channel // *Applied Radiation and Isotopes.* Elsevier Ltd, 2016. Vol. 116. P. 8–12.
142. Domnanich K.A., Müller C., Benešová M., Dressler R., Haller S., Köster U., Ponsard B., Schibli R., Türler A., Meulen N.P. ^{47}Sc as useful β -emitter for the radiotheragnostic paradigm: a comparative study of feasible production routes // *EJNMMI Radiopharm Chem.* Springer Science and Business Media Deutschland GmbH, 2017. Vol. 2, № 5. P. 1–17.
143. Müller C., Bunka M., Haller S., Köster U., Groehn V., Bernhardt P., Van Der Meulen N., Türler A., Schibli R. Promising prospects for ^{44}Sc -/ ^{47}Sc -based theragnostics: Application of ^{47}Sc for radionuclide tumor therapy in mice // *Journal of Nuclear Medicine.* 2014. Vol. 55, № 10. P. 1658–1664.
144. Eigner S., Vera D.R.B., Fellner M., Loktionova N.S., Piel M., Lebeda O., Rösch F., Rob T.L., Henke K.E. Imaging of protein synthesis: In Vitro and In Vivo evaluation of ^{44}Sc -DOTA-puromycin // *Mol Imaging Biol.* 2013. Vol. 15, № 1. P. 79–86.
145. Umbricht C.A., Benešová M., Schmid R.M., Türler A., Schibli R., Meulen N.P., Müller C. ^{44}Sc -PSMA-617 for radiotheragnostics in tandem with ^{177}Lu -PSMA-617—preclinical investigations in comparison with ^{68}Ga -PSMA-11 and ^{68}Ga -PSMA-617 // *EJNMMI Res.* Springer Verlag, 2017. Vol. 7, № 9. P. 1–10.
146. Eppard E., de la Fuente A., Benešová M., Khawar A., Bundschuh R.A., Gärtner F.C., Kreppel B., Kopka K., Essler M., Rösch F. Clinical Translation and First In-Human Use of [^{44}Sc]Sc-PSMA-617 for PET Imaging of Metastasized Castrate-Resistant Prostate Cancer // *Theranostics.* Ivyspring International Publisher, 2017. Vol. 7, № 18. P. 4359–4369.
147. Kim Y.S., Brechbiel M.W. An overview of targeted alpha therapy // *Tumor Biology.* 2012. Vol. 33, № 3. P. 573–590.

148. Thorp-Greenwood F.L., Coogan M.P. Multimodal radio-(PET/SPECT) and fluorescence imaging agents based on metallo-radioisotopes: Current applications and prospects for development of new agents // Dalton Transactions. 2011. Vol. 40, № 23. P. 6129–6143.
149. Kostelnik T.I., Orvig C. Radioactive Main Group and Rare Earth Metals for Imaging and Therapy // Chem Rev. 2019. Vol. 119, № 2. P. 902–956.
150. Morgenstern A., Apostolidis C., Kratochwil C., Sathekge M., Krolicki L., Bruchertseifer F. An Overview of Targeted Alpha Therapy with ²²⁵Actinium and ²¹³Bismuth // Curr Radiopharm. 2018. Vol. 11, № 3. P. 200–208.
151. Ahenkorah S., Cassells I., Deroose C., Cardinaels T., Burgoyne A., Bormans G., Ooms M., Cleeren F. Bismuth-213 for targeted radionuclide therapy: from atom to bedside // Pharmaceutics. 2021. Vol. 13, № 5. P. 599–628.
152. Rasmussen G., Morgenstern A., Apostolidis C., Molinet R. Production of Ac-225 from Th-229 for Targeted Alpha Therapy // Anal Chem. 2005. Vol. 77, № 19. P. 6288–6291.
153. Apostolidis C., Molinet R., McGinley J., Abbas K., Möllenbeck J., Morgenstern A. Cyclotron production of Ac-225 for targeted alpha therapy // Applied Radiation and Isotopes. 2005. Vol. 62, № 3. P. 383–387.
154. Jiao R., Allen K., Malo M., Helal M., Jiang Z., Smart K., Buhl S., Rickles D., Bryan R., Dadachova E. Evaluation of novel highly specific antibodies to cancer testis antigen Centrin-1 for radioimmunoimaging and radioimmunotherapy of pancreatic cancer // Cancer Med. 2019. Vol. 8, № 11. P. 5289–5300.
155. Rosenblat T.L., McDevitt M.R., Mulford D.A., Pandit-Taskar N., Divgi C.R., Panageas K.S., Heaney M.L., Chanel S., Morgenstern A., Sgouros G., Larson S.M., Scheinberg D.A., Jurcic J.G. Sequential cytarabine and α -particle immunotherapy with bismuth-213-lintuzumab (HuM195) for acute myeloid leukemia // Clinical Cancer Research. 2010. Vol. 16, № 21. P. 5303–5311.
156. Autenrieth M.E., Seidl C., Bruchertseifer F., Horn T., Kurtz F., Feurecker B., D'Alessandria C., Pfob C., Nekolla S., Apostolidis C., Mirzadeh S., Gschwend J.E., Schwaiger M., Scheidhauer K., Morgenstern A. Treatment of carcinoma in situ of the urinary bladder with an alpha-emitter immunoconjugate targeting the epidermal growth factor receptor: a pilot study // Eur J Nucl Med Mol Imaging. European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging, 2018. Vol. 45, № 8. P. 1364–1371.
157. Price E.W., Orvig C. Matching chelators to radiometals for radiopharmaceuticals // Chem Soc Rev. 2014. Vol. 43, № 1. P. 260–290.
158. Holland J.P., Williamson M.J., Lewis J.S. Unconventional Nuclides for Radiopharmaceuticals // Mol Imaging. 2010. Vol. 9, № 1. P. 1–20.

159. Bartholomä M.D., Louie A.S., Valliant J.F., Zubieta J. Technetium and Gallium Derived Radiopharmaceuticals: Comparing and Contrasting the Chemistry of Two Important Radiometals for the Molecular Imaging Era // *Chem Rev.* 2010. Vol. 110, № 5. P. 2903–2920.
160. Liu S. Bifunctional coupling agents for radiolabeling of biomolecules and target-specific delivery of metallic radionuclides // *Adv Drug Deliv Rev.* 2008. Vol. 60, № 12. P. 1347–1370.
161. Liu S., Edwards D.S., Division M.I., Company D.P., Billerica N. Bifunctional Chelators for Therapeutic Lanthanide // *Bioconjugate Chem.* 2001. Vol. 12, № 2. P. 7–34.
162. Smith R.M., Martell A.E. Critical stability constants, enthalpies and entropies for the formation of metal complexes of aminopolycarboxylic acids and carboxylic acids // *Science of the Total Environment.* 1987. Vol. 64, № 1. P. 125–147.
163. Wadas T.J., Wong E.H., Weisman G.R., Anderson C.J. Coordinating Radiometals of Copper, Gallium, Indium, Yttrium, and Zirconium for PET and SPECT Imaging of Disease // *Chem Rev.* 2010. Vol. 110, № 5. P. 2858–2902.
164. Liu S., Li Z., Yap L., Huang C., Park R., Conti P. Efficient Preparation and Biological Evaluation of a Novel Multivalency Bifunctional Chelator for ^{64}Cu Radiopharmaceuticals // *Chemistry (Easton).* 2011. Vol. 17, № 37. P. 10222–10225.
165. Jang Y.H., Blanco M., Dasgupta S., Keire D.A., Shively J.E., Goddard W.A. Mechanism and energetics for complexation of ^{90}Y with 1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetraacetic acid (DOTA), a model for cancer radioimmunotherapy // *J Am Chem Soc.* 1999. Vol. 121, № 26. P. 6142–6151.
166. Sadler P.J., Li H., Sun H. Coordination chemistry of metals in medicine: Target sites for bismuth // *Coord Chem Rev.* 1999. Vol. 185. P. 689–709.
167. Ferraz K.S.O., Silva N.F., Da Silva J.G., De Miranda L.F., Romeiro C.F.D., Souza-Fagundes E.M., Mendes I.C., Beraldo H. Investigation on the pharmacological profile of 2,6-diacetylpyridine bis(benzoylhydrazone) derivatives and their antimony(III) and bismuth(III) complexes // *Eur J Med Chem. Elsevier Masson SAS,* 2012. Vol. 53, № 2. P. 98–106.
168. Hancock R.D., Baloyi J., Mashishi J. The Affinity of Bismuth(III) for Nitrogen-donor Ligands // *Dalton Transactions.* 1993. Vol. 19. P. 2895–2899.
169. Wild D., Frischknecht M., Zhang H., Morgenstern A., Bruchertseifer F., Boisclair J., Provencher-Bolliger A., Reubi J.C., Maecke H.R. Alpha- versus Beta-particle Radiopeptide Therapy in a Human Prostate Cancer Model (^{213}Bi -DOTA-PESIN and ^{213}Bi -AMBA versus ^{177}Lu -DOTA-PESIN) // *Cancer Res.* 2011. Vol. 71, № 3. P. 1009–1018.

170. Aleshin G.Yu., Khabirova, S.Yu., Osipov V.N., Khachatryan D.S. Complexes of ^{65}Zn and Phe-D-Trp-Lys-Thr Tetrapeptide Conjugates with Azacrown Ethers: Synthesis, in Vitro and in Vivo Stability // *INEOS OPEN*. 2020. Vol. 2, № 6. P. 200–204.
171. Majkowska-Pilip A., Bilewicz A. Macrocyclic complexes of scandium radionuclides as precursors for diagnostic and therapeutic radiopharmaceuticals // *J Inorg Biochem*. 2011. Vol. 105, № 2. P. 313–320.
172. Strouse J., Layten S.W., Strouse C.E., Swanson R., Ilsley W.H., Stanislawski A.G., Tsuji S., Tonogai Y., Fukuoka Y., Tsuji M., Tonogai S., Ito Y., Harada Y. Structures of Two Zn^{2+} Complexes with Two Tetraaza Macrocyclic Tetraacetates // *Acta Crystallogr C. UNICS*, 1991. Vol. 47, № 3. P. 531–533.
173. Fedorov Y. V., Fedorova O.A., Kalmykov S.N., Oshchepkov M.S., Nelubina Y. V., Arkhipov D.E., Egorova B. V., Zubenko A.D. Potentiometric studies of complex formation of amidopyridine macrocycles bearing pendant arms with proton and heavy metal ions in aqueous solution // *Polyhedron*. Elsevier Ltd, 2017. Vol. 124. P. 229–236.
174. Ali I., Mukhtar S.D., Ali H.S., Scotti M.T., Scotti L. Advances in Nanoparticles as Anticancer Drug Delivery Vector: Need of this Century // *Curr Pharm Des*. Bentham Science Publishers Ltd., 2020. Vol. 26, № 15. P. 1637–1649.
175. Vermeulen K., Vandamme M., Bormans G., Cleeren F. Design and Challenges of Radiopharmaceuticals // *Seminars in Nuclear Medicine*. W.B. Saunders, 2019. Vol. 49, № 5. P. 339–356.
176. Steven P. Rowe, Rudolf A. Werner, Tushar Garg, Andrei Gafita, Andrew F. Voter, Mohammad S. Sadaghiani, Mark C. Markowski, Channing J. Paller, Micheal R. Zalutsky, Lilja B. Solnes, Martin G. Pomper. Small Molecules as Vectors for Radiopharmaceutical Therapy // *Radiopharmaceutical Therapy*. 2023. P. 349–367.
177. Pryma D.A., Chin B.B., Noto R.B., Dillon J.S., Perkins S., Solnes L., Kostakoglu L., Serafini A.N., Pampaloni M.H., Jensen J., Armor T., Lin T., White T., Stambler N., Apfel S., DiPippo V.A., Mahmood S., Wong V., Jimenez C. Efficacy and safety of high-specific-activity ^{131}I -MIBG therapy in patients with advanced pheochromocytoma or paraganglioma // *Journal of Nuclear Medicine*. Society of Nuclear Medicine Inc., 2019. Vol. 60, № 5. P. 623–630.
178. Sartor O., de Bono J., Chi K.N., Fizazi K., Herrmann K., Rahbar K., Tagawa S.T., Nordquist L.T., Vaishampayan N., El-Haddad G., Park C.H., Beer T.M., Armour A., Pérez-Contreras W.J., DeSilvio M., Kpamegan E., Gericke G., Messmann R.A., Morris M.J., et al. Lutetium-177-PSMA-617 for Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer // *New England Journal of Medicine*. Massachusetts Medical Society, 2021. Vol. 385, № 12. P. 1091–1103.

179. Signore A., Annovazzi A., Chianelli M., Corsetti F., Van de Wiele C., Watherhouse R.N., Scopinaro F. Peptide radiopharmaceuticals for diagnosis and therapy // *Eur J Nucl Med.* 2001. Vol. 28, № 10. P. 1555–1565.
180. Pauwels E., Cleeren F., Bormans G., Deroose C. Somatostatin receptor PET ligands - the next generation for clinical practice // *Am J Nucl Med Mol Imaging.* 2018. Vol. 8, № 5. P. 311–332.
181. Waterhouse R.N. Determination of lipophilicity and its use as a predictor of blood-brain barrier penetration of molecular imaging agents // *Mol Imaging Biol.* 2003. Vol. 5, № 6. P. 376–389.
182. Barrio M., Czernin J., Fanti S., Ambrosini V., Binse I., Du L., Eiber M., Herrmann K., Fendler W.P. The impact of somatostatin receptor-directed PET/CT on the management of patients with neuroendocrine tumor: A systematic review and meta-analysis // *Journal of Nuclear Medicine.* Society of Nuclear Medicine Inc., 2017. Vol. 58, № 5. P. 756–761.
183. Nicolas G.P., Mansi R., McDougall L., Kaufmann J., Bouterfa H., Wild D., Fani M. Biodistribution, pharmacokinetics, and dosimetry of ¹⁷⁷Lu-, ⁹⁰Y-, and ¹¹¹In-labeled somatostatin receptor antagonist OPS201 in comparison to the agonist ¹⁷⁷Lu-DOTATATE: The mass effect // *Journal of Nuclear Medicine.* Society of Nuclear Medicine Inc., 2017. Vol. 58, № 9. P. 1435–1441.
184. Basuli F., Li C., Xu B., Williams M., Wong K., Coble V.L., Vasalatiy O., Seidel J., Green M. V., Griffiths G.L., Choyke P.L., Jagoda E.M. Synthesis of fluorine-18 radio-labeled serum albumins for PET blood pool imaging // *Nucl Med Biol.* Elsevier Inc., 2015. Vol. 42, № 3. P. 219–225.
185. Pandit-Taskar N., O'Donoghue J.A., Ruan S., Lyashchenko S.K., Carrasquillo J.A., Heller G., Martinez D.F., Cheal S.M., Lewis J.S., Fleisher M., Keppler J.S., Reiter R.E., Wu A.M., Weber W.A., Scher H.I., Larson S.M., Morris M.J. First-in-human imaging with ⁸⁹Zr-Df-IAB2M Anti-PSMA minibody in patients with metastatic prostate cancer: Pharmacokinetics, biodistribution, dosimetry, and lesion uptake // *Journal of Nuclear Medicine.* Society of Nuclear Medicine Inc., 2016. Vol. 57, № 12. P. 1858–1864.
186. Mahajan S., Divgi C.R. The role of iodine-124 positron emission tomography in molecular imaging // *Clin Transl Imaging.* 2016. Vol. 4, № 4. P. 297–306.
187. Wilczewska A.Z., Niemirowicz K., Markiewicz K.H., Car H. Nanoparticles as drug delivery systems // *Pharmacological Reports.* Elsevier B.V., 2012. Vol. 64, № 5. P. 1020–1037.
188. Suri S.S., Fenniri H., Singh B. Nanotechnology-based drug delivery systems // *Journal of Occupational Medicine and Toxicology.* 2007. Vol. 2. P. 1–6.

189. Muchow M., Maincent P., Müller R.H. Lipid nanoparticles with a solid matrix (SLN, NLC, LDC) for oral drug delivery // *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2008. Vol. 34, № 12. P. 1394–1405.
190. He Q., Gao Y., Zhang L., Zhang Z., Gao F., Ji X., Li Y., Shi J. A pH-responsive mesoporous silica nanoparticles-based multi-drug delivery system for overcoming multi-drug resistance // *Biomaterials*. 2011. Vol. 32, № 30. P. 7711–7720.
191. D’Emanuele A., Attwood D. Dendrimer-drug interactions // *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2005. Vol. 57, № 15. P. 2147–2162.
192. Santos Giuberti C. Dos, De Oliveira Reis E.C., Ribeiro Rocha T.G., Leite E.A., Lacerda R.G., Ramaldes G.A., De Oliveira M.C. Study of the pilot production process of long-circulating and pH-sensitive liposomes containing cisplatin // *J Liposome Res*. 2011. Vol. 21, № 1. P. 60–69.
193. Turkova A., Roilides E., Sharland M. Amphotericin B in neonates: Deoxycholate or lipid formulation as first-line therapy - Is there a “right” choice? // *Current Opinion in Infectious Diseases*. 2011. Vol. 24, № 2. P. 163–171.
194. Zubenko A.D., Shchukina A.A., Fedorova O.A. Synthetic Approaches to the Bifunctional Chelators for Radio nuclides Based on Pyridine-Containing Azacrown Compounds // *Synthesis (Germany)*. Georg Thieme Verlag, 2020. Vol. 52, № 7. P. 1087–1095.
195. Miloslav Klingera, Aleš Jägera. Crystallographic Tool Box (CrysTBox): automated tools for transmission electron microscopists and crystallographers // *J Appl Crystallogr*. 2015. Vol. 48, № 6. P. 2012–2018.
196. Klinger M. More features, more tools, more CrysTBox // *J Appl Crystallogr*. International Union of Crystallography, 2017. Vol. 50. P. 1226–1234.
197. El-Azony K.M. Improving the separation of Cu(II) from Zn(II) based on an anion exchanger for the preparation a ⁶²Zn/⁶²Cu generator // *Applied Radiation and Isotopes*. 2011. Vol. 69, № 9. P. 1176–1180.
198. Riss T.L., Moravec R.A., Niles A.L., Duellman S., Benink H.A., Worzella T.J., Minor L. Cell Viability Assays // *Assay Guidance Manual*. 2013. Vol. 1. P. 1–25.
199. Kvashnina K.O., Butorin S.M., Glatzel P. Direct study of the f-electron configuration in lanthanide systems // *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 2011. Vol. 26, № 6. P. 1265–1272.
200. Zasimov P., Amidani L., Retegan M., Walter O., Caciuffo R., Kvashnina K.O. HERFD-XANES and RIXS Study on the Electronic Structure of Trivalent Lanthanides across a Series of Isostructural Compounds // *Inorg Chem*. American Chemical Society, 2022. Vol. 61, № 4. P. 1817–1830.

201. Plakhova T. V., Romanchuk A.Y., Butorin S.M., Konyukhova A.D., Egorov A. V., Shiryayev A.A., Baranchikov A.E., Dorovatovskii P. V., Huthwelker T., Gerber E., Bauters S., Sozarukova M.M., Scheinost A.C., Ivanov V.K., Kalmykov S.N., Kvashnina K.O. Towards the surface hydroxyl species in CeO₂ nanoparticles // *Nanoscale*. Royal Society of Chemistry, 2019. Vol. 11, № 39. P. 18142–18149.
202. Schilling C., Hofmann A., Hess C., Ganduglia-Pirovano M.V. Raman Spectra of Polycrystalline CeO₂: A Density Functional Theory Study // *The Journal of Physical Chemistry C*. American Chemical Society, 2017. Vol. 121, № 38. P. 20834–20849.
203. Schilling C., Hofmann A., Hess C., Ganduglia-Pirovano M.V. Raman Spectra of Polycrystalline CeO₂: A Density Functional Theory Study // *Journal of Physical Chemistry C*. American Chemical Society, 2017. Vol. 121, № 38. P. 20834–20849.
204. Fasolato C., Domenici F., Sennato S., Mura F., De Angelis L., Luongo F., Costantini F., Bordi F., Postorino P. Dimensional scale effects on surface enhanced Raman scattering efficiency of self-assembled silver nanoparticle clusters // *Appl Phys Lett*. 2014. Vol. 105, № 7. P. 1–5.
205. Meroni D., Lo Presti L., Di Liberto G., Ceotto M., Acres R.G., Prince K.C., Bellani R., Soliveri G., Ardizzone S. A close look at the structure of the TiO₂-APTES interface in hybrid nanomaterials and its degradation pathway: An experimental and theoretical study // *Journal of Physical Chemistry C*. American Chemical Society, 2017. Vol. 121, № 1. P. 430–440.
206. Turhan O., Tezbaşaran E. In situ observation of ninhydrin and phenylhydrazine reaction in solution by FTIR // *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*. Elsevier B.V., 2013. Vol. 113. P. 297–301.
207. Friedman M. Applications of the Ninhydrin Reaction for Analysis of Amino Acids, Peptides, and Proteins to Agricultural and Biomedical Sciences // *J Agric Food Chem*. American Chemical Society, 2004. Vol. 52, № 3. P. 385–406.
208. Plakhova T. V., Romanchuk A.Y., Yakunin S.N., Dumas T., Demir S., Wang S., Minasian S.G., Shuh D.K., Tyliczszak T., Shiryayev A.A., Egorov A. V., Ivanov V.K., Kalmykov S.N. Solubility of nanocrystalline cerium dioxide: Experimental data and thermodynamic modeling // *Journal of Physical Chemistry C*. American Chemical Society, 2016. Vol. 120, № 39. P. 22615–22626.
209. Bahadar H., Maqbool F., Niaz K., Abdollahi M. Toxicity of Nanoparticles and an Overview of Current Experimental Models // *Iran Biomed J*. 2016. Vol. 20, № 1. P. 1–11.

210. González-Béjar M., Francés-Soriano L., Pérez-Prieto J. Upconversion nanoparticles for bioimaging and regenerative medicine // *Front Bioeng Biotechnol. Frontiers Media S.A.*, 2016. Vol. 4, № 47. P. 1–9.
211. Naz S., Kazmi S.T.B., Zia M. CeO₂ nanoparticles synthesized through green chemistry are biocompatible: In vitro and in vivo assessment // *J Biochem Mol Toxicol*. 2019. Vol. 33, № 5. P. 1–8.
212. Lachine E.E., Noujaim A.A., Ediss C., Wiebe L.I. Toxicity, tissue distribution and excretion of ⁴⁶ScCl₃ and ⁴⁶Sc-EDTA in mice // *International Journal of Applied Radiation and Isotopes*. Pergamon Press. Printed in Northern Ireland, 1976. Vol. 27, № 7. P. 373–377.
213. Réty F., Clément O., Siauve N., Cuénod C.-A., Carnot F., Sich M., Buisine A., Frija G. MR lymphography using iron oxide nanoparticles in rats: Pharmacokinetics in the lymphatic system after intravenous injection // *Journal of Magnetic Resonance Imaging*. 2000. Vol. 12, № 5. P. 734–739.
214. Durmus Z., Kavas H., Durmus A., Aktaş B. Synthesis and micro-structural characterization of graphene/strontium hexaferrite (SrFe₁₂O₁₉) nanocomposites // *Mater Chem Phys*. 2015. Vol. 163. P. 439–445.
215. Zhang L., Li Z. Synthesis and characterization of SrFe₁₂O₁₉/CoFe₂O₄ nanocomposites with core-shell structure // *J Alloys Compd*. 2009. Vol. 469, № 1–2. P. 422–426.
216. Veverka P., Knížek K., Pollert E., Boháček J., Vasseur S., Duguet E., Portier J. Strontium ferrite nanoparticles synthesized in presence of polyvinylalcohol: Phase composition, microstructural and magnetic properties // *J Magn Magn Mater*. 2007. Vol. 309, № 1. P. 106–112.
217. Sadauskas E., Danscher G., Stoltenberg M., Vogel U., Larsen A., Wallin H. Protracted elimination of gold nanoparticles from mouse liver // *Nanomedicine*. 2009. Vol. 5, № 2. P. 162–169.

Благодарности

Автор выражает благодарность и искреннюю признательность научному руководителю Г.Ю. Алешину за поддержку, ценные советы и вдохновение на всех этапах работы.

Автор благодарит Е.О. Анохина за синтез магнитных наночастиц и их характеризацию, Т.В. Плахову за помощь в проведении исследований и консультации. Автор выражает благодарность А.Д. Зубенко и А.А. Щукиной за синтез лигандов, Б.Н. Тарасевича за помощь в изучении структуры веществ методом ИК-спектроскопии, а также А.А. Аверина за проведение спектроскопии комбинационного рассеяния образцов, Dr. К.О. Квашниной и Dr. Л. Амидани за помощь в характеристике образцов методом HERFD XANES, А.Е. Баранчикову и К.А. Бабешкина за проведение термогравиметрического анализа, совмещенного с масс-спектрометрией, Е.С. Козлякову за исследование магнитных свойств наночастиц. Автор признателен А.С. Приходько за помощь проведение *in vitro* экспериментов и Л.С. Замуруевой за помощь в работе в условиях *in vivo*. Также автор признателен М.А. Меньшикову-Тонян за неоценимую помощь в проведении отдельных экспериментов.

Также автор благодарит научную группу лаборатории радиофармацевтической химии за ценные советы.

Автор выражает особую благодарность своей семье, друзьям и близким.