

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М. В. ЛОМОНОСОВА

На правах рукописи

Золотова Алёна Сергеевна

**Биосовместимые носители для транспортировки радионуклидов меди и
антиопухолевых агентов**

1.4.13 Радиохимия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Москва – 2026

Диссертационная работа подготовлена в лаборатории радиофармацевтической химии на кафедре радиохимии Химического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»

Научный руководитель **Орлова Марина Алексеевна** - доктор химических наук

Официальные оппоненты **Герман Константин Эдуардович** – доктор химических наук, Институт физической химии и электрохимии им. А. Н. Фрумкина Российской академии наук, главный научный сотрудник с возложением обязанностей заведующего лабораторией химии технеция

Лопина Ольга Дмитриевна – доктор биологических наук, профессор, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, биологический факультет, ведущий научный сотрудник кафедры биохимии

Казakov Андрей Геннадьевич - кандидат химических наук, Ордена Ленина и Ордена Октябрьской Революции Институт геохимии и аналитической химии им. В. И. Вернадского Российской академии наук, ведущий научный сотрудник лаборатории радиохимии

Защита диссертации состоится «25» марта 2026 г. в 14.00 на заседании диссертационного совета МГУ.014.6 Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова по адресу: 119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д. 1, стр. 10, ауд. 308.

E-mail: severin@radio.chem.msu.ru (А.В. Северин, ученый секретарь диссертационного совета МГУ.014.6).

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций научной библиотеки МГУ имени М. В. Ломоносова (Ломоносовский просп., д. 27) и на портале: <https://dissovet.msu.ru/dissertation/3795>

Автореферат разослан «__» февраля 2026 г.

Учёный секретарь
диссертационного Совета
кандидат химических наук

А. В. Северин

Общая характеристика работы

Актуальность исследования

Лечение онкологических заболеваний является одной из приоритетных областей медицины. Для этого привлекаются самые разные отрасли науки с целью разработки противоопухолевых препаратов и новых методов лечения. В настоящее время существуют различные способы медицинского применения радиации, в том числе, создание и совершенствование радиофармпрепаратов: диагностических, терапевтических и наиболее перспективных – тераностических, а также развивается иммунная радиотерапия с использованием моноклональных антител в качестве векторов доставки [1]. Последнее десятилетие характеризуется увеличением интереса к этой области медицины. Недостатками этого метода являются необходимость получать короткоживущие радионуклиды непосредственно в месте их применения, т. к. доставка от места получения к пациенту, как и само приготовление препарата, должны занимать минимум времени; кроме того, существует большая вероятность разной степени повреждения организма облучением. Поэтому помимо разработки новых методов получения и использования короткоживущих радионуклидов с целью более свободного выбора препаратов, необходимы новые подходы к созданию методов доставки и введения в организм систем, в которых два воздействия (радиационное и химиотерапевтическое) можно совместить на одной платформе. Большое преимущество, безусловно, имеют генераторы, которые можно использовать в течение длительного времени, именно поэтому широкое применение имеет генераторный изотоп ^{99m}Tc (^{99}Mo ($t_{1/2} = 66$ ч) \rightarrow ^{99m}Tc) с $t_{1/2} = 6$ ч, хотя на сегодня известно значительное количество генераторных радионуклидов.

В настоящее время получено большое количество циклотронных и реакторных радионуклидов, часть из которых применяется или рассматриваются как перспективные для применения в медицине. Однако структура радиофармпрепаратов достаточно традиционна: носитель (который может быть одновременно вектором, имеющим свою биологическую мишень или способность накапливаться в определенной части организма) и радионуклид, соединенный напрямую или через спейсер с хелатором. Для диагностических исследований эта схема работает достаточно хорошо. Однако для использования в терапевтических и тераностических целях её можно и нужно усиливать. SPECT (фотонно-эмиссионная компьютерная томография) и PET (позитронно-эмиссионная томография) являются диагностическими методами, и соответствующие радионуклиды регистрируются в конечном этапе по гамма-излучению. Для этих методов разработана аппаратура и подбираются подходящие радионуклиды (γ - и β^+ -эмиттеры). Короткоживущие бета-эмиттеры с невысокой энергией излучения считаются возможными

терапевтическими радионуклидами (например, ^{67}Cu). В настоящее время для использования в терапии широко изучаются и начали применяться α -излучатели (например, ^{213}Bi). Развивается аппаратура и синтезируются препараты для протонной и бор-нейтронной терапии. Однако проблемы таргетной доставки, растворимости препаратов и возможных потерь радионуклида в процессе доставки в органы и ткани по-прежнему чрезвычайно актуальны.

Степень разработанности темы исследования

На момент, предшествующий выполнению данной работы, описано большое количество хелаторов для радионуклидов и разработаны способы доставки с помощью биологического сродства вектора к некоторым рецепторам и другим белкам раковых клеток (в частности, клеток крови). Особенно перспективным считается использование в качестве вектора моноклональных антител. Появились первые тераностики и попытки совмещения двух разных типов медицинских воздействий на раковую опухоль. Среди платформ, переносящих лекарственные препараты и радионуклиды, получили широкое распространение полимерные материалы [2,3]. Произошло развитие концепции Рингсдорфа [4] на новом уровне [5], что привело к увеличению возможных наноносителей и наномедицинских препаратов, в том числе, и в ядерной медицине. Получили распространение радионуклиды меди [6-9], описаны способы их получения. Наиболее перспективным является использование радионуклида совместно с химиопрепаратом при одновременной доставке одним и тем же носителем (и/или вектором), однако этот подход недостаточно изучен. В такой дизайн можно включать и лиганды, которые являются, наоборот (или одновременно) радиопротекторами для здоровых тканей, защищая их от воздействия радионуклида, при условии отсутствия с их стороны помехи антиопухолевому воздействию. Примером может служить один из самых известных радиопротекторов – гаммофос, который лучше себя проявляет в качестве антиопухолевого агента. При таком подходе плохая растворимость комплекса перестает являться препятствием для использования лекарства, если платформа-носитель обладает достаточной растворимостью. В последние годы сочетание ядерной и наномедицины произвело революцию в медицинских технологиях лечения рака, хотя применение ядерных технологий в наномедицине в настоящее время находится еще на ранней стадии развития. Однако ожидается, что они окажут существенное влияние на диагностику и лечение, и количество радиоактивных нанопродуктов (в том числе, принятых FDA) с каждым годом растет.

Таким образом, развитие радиомедицинских технологий движется в сторону сочетанного воздействия фармакологического и радиационного воздействия и создания комбинированных технологий.

Цели и задачи исследования

Цель данной работы: на основе наноплатформ разного состава разработать и испытать *in vitro* и *in vivo* двойные и мультифункциональные (тройные) композиции, содержащие медицинские радионуклиды меди и ингибитор/активатор NO-синтазы в качестве антиопухолевого препарата. Для этого рассматриваются следующие **задачи** исследования:

1. Получение среди эффекторов NO-синтаз соединений с наибольшей цитотоксичностью по отношению к лейкемическим линиям клеток, синтез на их основе комплексов (в том числе с радионуклидами меди) и их физико-химическое описание.
2. Изучение физико-химических параметров связывания эффекторов NO-синтаз и ионов металлов с полимерным (карбоксиметилцеллюлоза) и неорганическим (гидроксиапатит) носителями.
3. *In vitro* на клеточных моделях изучение цитотоксичности и величины терапевтического окна полученных стабильных препаратов.
4. Исследование *in vivo* накопления в целевых органах и выведения препаратов, содержащих ^{67}Cu и ^3H , из организма.

Научная новизна

В работе **впервые**:

1. Показана возможность использования ГАП различного строения и размерности в качестве носителя ионов меди (^{67}Cu) для медицинских целей с учетом кинетики сорбции, десорбции в разных средах и в присутствии альбумина (BSA) как транспортной молекулы крови.
2. Получены двойные (КМЦ–Cu) и тройные (КМЦ–Cu–эффектор NO-синтазы) микрогели на основе карбоксиметилцеллюлозы и показана *in vitro* их цитотоксичность и терапевтический индекс по отношению к линиям лейкемических клеток.
3. Получены двойные микрогели, меченные ^{67}Cu , и показано их распределение/накопление в организме мышей *in vivo* и их радиационная стабильность.
4. Исследованы кристаллические структуры меди с ингибитором NO-синтазы (L^1).
5. Методом двойного мечения (^{67}Cu и ^3H) показано, что бинарные микрогели размером до 200 нм способны выводиться из организма, в том числе через почки.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные данные являются основой для использования ГАП и КМЦ в качестве моно- и мультиплатформ-носителей радиофармацевтических препаратов. Впервые получены данные по получению и физико-химическим параметрам комплексов меди с эффекторами NO-синтазы, а также двойных и тройных микрогелей на основе КМЦ, что дает основу для получения РФП нового поколения.

Положения, выносимые на защиту

1. ГАП является перспективным носителем для радионуклидов меди благодаря его высокой адсорбционной способности по отношению к ионам меди, при этом наблюдается замещение ионов кальция из ГАП на ионы меди и не наблюдается процесса десорбции.
2. Медь в комплексах с L^1 имеет валентность (II) или смешанную (II и I) в зависимости от способа получения, что соответствует различной кристаллической структуре. Эти комплексы, меченные ^{67}Cu с носителем и без носителя, показали недостаточную устойчивость в биологической среде организма (мышей), что требует использования наноплатформы-носителя.
3. Механизм образования двух- и трехкомпонентных медьсодержащих микрогелей на основе КМЦ включает образование электростатических контактов ионов меди и электростатического связывания пиримидинового/тиазинового фрагмента лиганда с карбоксильными группами полимера.
4. Цитотоксичность трехкомпонентных микрогелей (наноносителей для ^{67}Cu) на основе КМЦ сильно зависит от содержания меди и строения лигандов в их составе и может достигаться значительная величина терапевтического окна (ТИ) между здоровыми и лейкоцитарными клетками под их воздействием. Такие носители перспективны для одновременной доставки радионуклидов ^{67}Cu и эффекторов NO-синтазы (лигандов).
5. Микрогели КМЦ– Cu^{2+} показали высокую радиационную стабильность, практически без потери ионов меди. Кроме того, микрогели способны выводиться из организма (мышей), в том числе через почки, что показано методом двойного мечения (^{67}Cu –КМЦ и ^3H –КМЦ).

Методология и методы исследования

В работе использовались современные инструментальные методы анализа: потенциометрическое титрование, спектрофотометрия, гамма- и жидкостно-сцинтилляционная спектрометрия, цифровая автордиография, тонкослойная хроматография, УФ, флуориметрия, РСА, ИК, электронная микроскопия, методы работы с клеточным материалом и животными (мышьями). Эксперименты *in vivo* были одобрены

Комиссией по биоэтике Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова, заседание № 126-д, 28.01.2021, протокол № 124-а.

Соответствие паспорту научной специальности

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

Степень достоверности

Достоверность определяется использованием современных расчетных и инструментальных методов исследования, сходимостью результатов измерений и воспроизводимостью полученных результатов.

Личный вклад автора

Автор участвовал в критическом обзоре литературных данных, в получении всех экспериментально полученных данных (потенциметрическое и флуоресцентное титрование, спектрофотометрия, ТСХ, автордиография, гамма- и жидкостно-сцинтилляционная спектрометрия, проточная цитометрия, МТТ-тесты, кинетические исследования с ГАП, получение микрогелей, работа с радиоактивными препаратами проделаны лично, остальные данные получены в соавторстве, указанном в работе), а также в обсуждении результатов и написании статей. Личный вклад автора в совместные публикации основополагающий.

Апробация работы

Основные результаты работы были представлены в виде устных и стендовых докладов на следующих конференциях: 5-ая Российской конференции «МедХим-Россия 2021», г. Волгоград, 2022, (doi: 10.19163/MedChemRussia2021-2021-119); Российская конференция «Хроническое радиационное воздействие: отдаленные медико-биологические эффекты», 6-7 декабря 2022 г., г. Челябинск, Россия; 13-я Международная конференция «Биокатализ. Фундаментальные исследования и применения» (Биокатализ - 2023), г. Суздаль, Россия, 25-29 июня, 2023; I Всероссийская научно-практическая конференция «Достижения и перспективы экспериментальной фармакологии в онкологии и радиационной медицине, г. Обнинск: МРНЦ им. А.Ф. Цыба Минздрава России, 1 марта 2024 г.

Публикации

Основные результаты, положения и выводы диссертации опубликованы в 7 статьях в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в МГУ имени М. В. Ломоносова по специальности и отрасли наук.

Структура и объем работы

Диссертационная работа изложена на 147 страницах печатного текста и состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, результатов и их обсуждения, заключения, выводов, списка цитируемой литературы и приложений. Список цитируемой литературы содержит 224 наименования. Работа содержит 30 таблиц, 78 рисунков и 4 приложения.

Основное содержание работы

Во **Введении** обоснована актуальность диссертационной работы, сформулированы цель и задачи исследования, показана научная новизна и практическая значимость работы, а также изложены положения, выносимые на защиту.

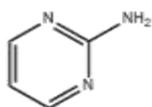
Глава 1 (обзор литературы) состоит из 6 подразделов. В них рассматривается роль меди в организме человека; лекарственные препараты на её основе; медицинские радионуклиды меди и перспективы их применения; гидроксипатит как возможный носитель ионов металлов (и радионуклидов); полимеры в роли платформ-носителей; эффекторы NO-синтазы как перспективная часть состава многофункциональных препаратов. В заключении обзора сделаны выводы о целесообразности цели данной работы.

Глава 2 (экспериментальная часть) содержит описание используемых материалов, условия проведения экспериментов, выделения радионуклидов; приборы и методы, приведены калибровочные графики и другие необходимые промежуточные результаты.

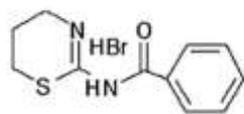
Глава 3 (обсуждение результатов) разделена на 3 части. Первая посвящена сорбции ионов меди и лигандов/комплексов на наногидроксипатите (наноГАП) и ферментативно полученном ГАП при адсорбционном и сокристаллизационном методе их введения и проведено краткое сравнение с поведением в этих условиях ионов цинка. Во второй главе рассмотрены комплексы меди с ингибитором индуцибельной NO-синтазы и с 2-аминопиримидином, проведено их структурное исследование и сравнение *in vitro* их цитотоксичности с использованием МТТ-метода и проточной цитофлуориметрии, а также рассмотрено распределение/накопление комплексов меди *in vivo* на мышинной модели в сравнении со свободными ионами меди ($^{67}\text{CuCl}_2$). В третьей части рассмотрен механизм образования микрогелей на основе карбоксиметилцеллюлозы (КМЦ): двойных (КМЦ–Cu и КМЦ– ^{67}Cu) и тройных, содержащих помимо КМЦ и стабильных ионов/радионуклида меди

ингибитор или активатор NO-синтазы. Проведено сравнение их устойчивости, размеров, цитотоксичности *in vitro* и накопления/выведения из организма *in vivo*. В последнем случае дополнительно получены микрогели, меченные тритием, для сравнения выведения из организма $[^3\text{H}]\text{KMЦ-Cu}^{2+}$, $\text{KMЦ-}^{67}\text{Cu}^{2+}$, $[^3\text{H}]\text{KMЦ}$ и $^{67}\text{Cu}^{2+}$ (в виде $^{67}\text{CuCl}_2$). Кроме того, получены данные о радиационной устойчивости двойных микрогелей и количественные данные о незначительном выходе ионов меди из них под действием облучения.

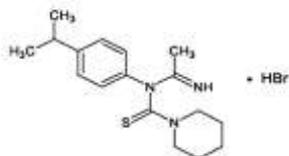
Используемые в работе лиганды



2-аминопиримидин (AP) – основа для синтеза многочисленных антиопухолевых и противовирусных препаратов



L^1 – *N*-(5,6-дигидро-4*H*-1,3-тиазин-2-ил)бензамид – ингибитор индуцибельной NO-синтазы (iNOS)



L^2 –*N*-(4-изопропил-фенил)-*N*-(1-иминоэтил)-пиперидин-1-карботиоамид гидробромид – активатор NO-синтазы *in vivo*

Нумерация комплексов: $\text{Cu}(\text{AP})_2\text{Cl}_4$ – **1** (жёлтый); CuL^1_2 – **2** (фиолетовый); $\text{Cu}_2\text{L}^1_2\text{Cl}_3$ – **3** (зелёный); $\text{CuL}^1_2\text{Cl}_2$ – **4** (ярко-зелёный); CuL^1Cl_2 – **5** (ярко-зелёный).

1. Сорбция ионов меди на наноГАП и ферментативном ГАП при адсорбционном и сокристаллизационном методе введения и сравнение с поведением в этих условиях ионов цинка.

(работа выполнена с участием лаборатории гетерогенных процессов кафедры радиохимии МГУ имени М.В. Ломоносова)

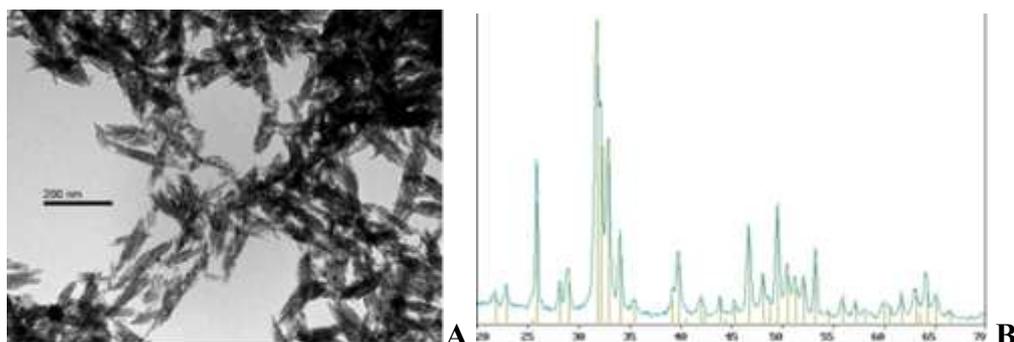


Рис. 1. ПЭМ (А) и РФА (В) образца наноНАР, синтезированного из суспензии оксида кальция и фосфорной кислоты

ГАП–Cu₁, ГАП–Cu₂ и ГАП–Cu₃ были получены сокристаллизационным методом на различных этапах формирования ГАП, с содержанием меди 4.36; 5.15 и 4.6 масс.% и с соотношением Cu/Ca = 1 : 10. Исходный наноГАП получали по методу [10]. На **рис. 1** представлены характеристики образца наноГАП, не содержащего ионы металлов. Однако при введении ионов меди, как следует из дифрактограмм, образцы ГАП–Cu₁ и ГАП–Cu₃ являются аморфизированными. Этот результат был подтвержден данными ПЭМ.

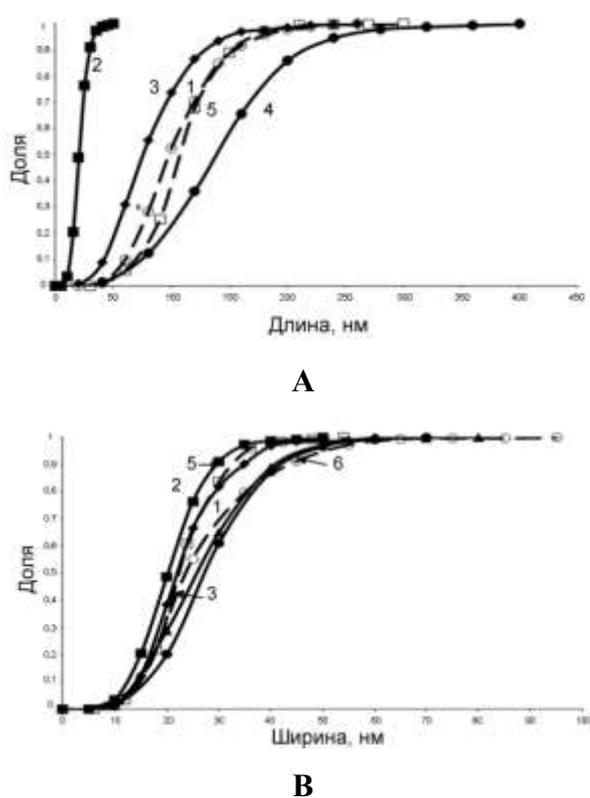


Рис. 2. Сравнение функции распределения наночастиц ГАП–Cu по длине (А) и по ширине (В) в сравнении с ГАП–Zn: наноГАП (1); ГАП–Cu₁ (2); ГАП–Cu₂ (3); ГАП–Cu₃ (4); ГАП–Zn₁ (5); ГАП–Zn₂ (6); N — число частиц

Установлено, что только ГАП–Cu₂ с наибольшим содержанием меди имеет кристаллическую форму и наименьшее влияние на исходную морфологию наноГАП. При этом результаты обоих методов (и РФА, и ПЭМ) свидетельствуют об отсутствии собственной микрофазы меди во всех трех образцах, что аналогично поведению ионов цинка в таких же условиях. Термообработка (900°) С полученных медьсодержащих образцов привела к перестройке структуры ГАП с получением кристаллов смешанных фосфатов кальция и меди состава: Ca₁₉Cu₂H_{1.42}(PO₄)₁₄. При этом апатитоподобная структура фосфатов может перестраиваться в структуру α-трикальцийфосфата (α-ТКФ). Поскольку аналогичная картина наблюдалась для цинка [3],

это свидетельствует о незначительном влиянии ионов металлов на такую перестройку. Однако анализ морфологии и функции распределения наночастиц НАР–Cu по размерам показывают значительно большее влияние ионов меди на формирование наночастиц ГАП по сравнению с ГАП–Zn (**рис. 2**), особенно по длине частиц.

При получении образца ГАП_Е ферментативным методом образуются сферические микрочастицы с высокой пористостью (**рис. 3**), что сопровождается резким увеличением сорбционной емкости, а также увеличением размеров частиц. В этом случае средний размер частиц зависит от концентрации фермента и продолжительности синтеза и меняется в пределах от 1,7 (1 сутки) до 3,1 (7 суток) мкм. При увеличении концентрации щелочной фосфатазы (ЩФ) до 0,1 мкг/мл удельная поверхность образца, определенная по адсорбции азота, составляла 300 м²/г [4]. При этом наблюдалось широкое распределение размеров пор (2-300 нм).

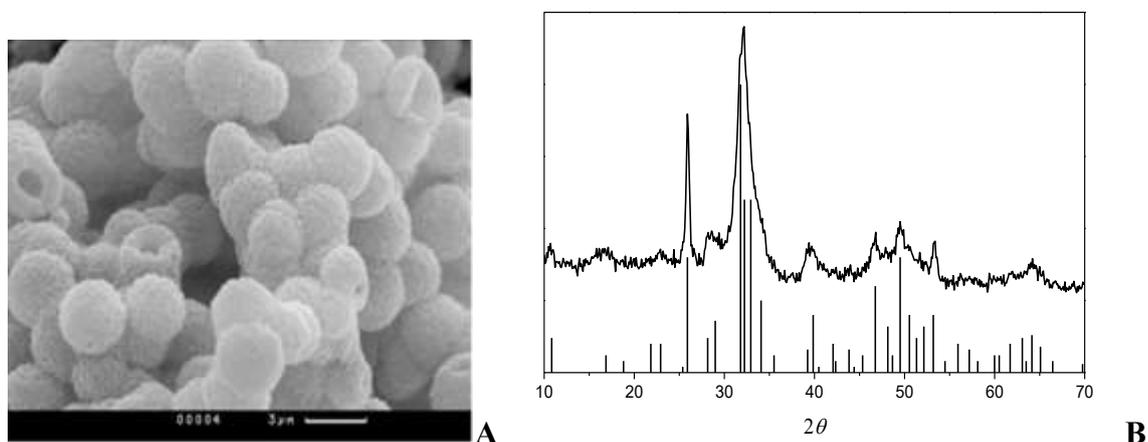


Рис. 3. Данные сканирующей электронной микроскопии (А) и РФА (В) для образца НАР_Е

Были получены параметры кинетики сорбции меди на наноГАП и ГАП_Е. Если для наноГАП сорбционный предел 80-100 мг/г достигается за 2 ч, то для ГАП_Е требуется 24 ч, и максимальная величина сорбции составляла 220 мг/г. Сорбция меди является необратимым процессом, десорбции не наблюдалось.

Для наноГАП и ГАП_Е были получены изотермы сорбции меди, для описания которых использовали модель Лангмюра (описание процесса через изменение эффективной поверхности сорбции) и эмпирическую модель Фрейндлиха, учитывающую увеличенную гетерогенность поверхности (многослойный гетерогенный процесс). Оказалось, что полностью процесс не соответствует ни модели Лангмюра, ни модели Фрейндлиха, возможно, из-за наблюдаемого обмена ионов меди с ионами кальция из ГАП, что особенно хорошо видно при сорбции (и распаде) на ГАП комплексов меди.

Было изучено влияние на сорбцию меди(II) в присутствии в растворе молекул БСА (бычий сывороточный альбумин) в качестве транспортной молекулы белков крови.

Сравнительная характеристика параметров сорбции, рассчитанные в этом случае по модели Лангмюра, также показывает недостаточное соответствие модели. Все три процесса наилучшим образом соответствуют кинетике псевдвторого порядка. В присутствии БСА константы скорости реакций уменьшаются, что говорит о замедлении процесса сорбции. В случае совместной сорбции значительно повышается максимальная сорбция носителя, в то же время в случае последовательной адсорбции, величина максимальной адсорбции увеличивается на порядок. Однако соответствия моделям Лангмюра и Фрейндлиха по-прежнему не наблюдается.

Кинетика этих процессов сопоставлены на **рис. 4А**. Величина сорбция меди на ранее допированной ионами меди поверхности увеличивается. При использовании БСА в случае ГАП_Е процесс кристаллизации является более сложным. Механизм процесса сорбции также различен при совместной и последовательной сорбции меди и БСА. Было показано, что медь имеет высокое сродство к ГАП, и может замещать ионы кальция, входящие в его состав за счет ионного обмена. Таким образом, наблюдаемый процесс сорбции представляет собой сложный многоступенчатый процесс.

Параметры сорбции были рассчитаны также для образцов, полученных методом сокристаллизации: НАР-Cu₁ и НАР-Cu₂. Сравнение изотерм сорбции этих процессов приведено на **рис. 4В**.

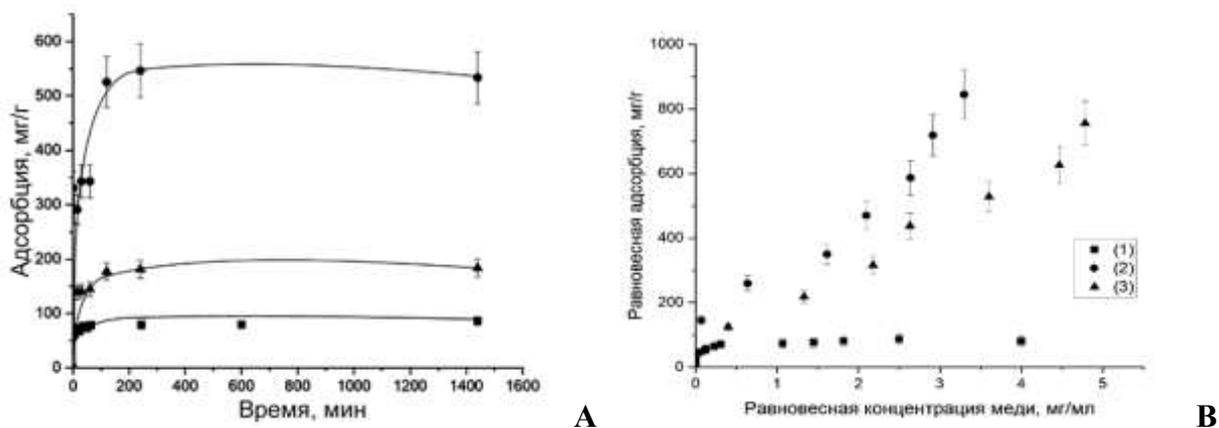


Рис. 4. **А** - Кинетические кривые для следующих систем: 1 – наноНАР и Cu(II); 2 – наноНАР, БСА и Cu(II) (совместная адсорбция), 3 – наноНАР, БСА и Cu(II) (последовательное осаждение). **В** - Изотермы сорбции для следующих систем: 1 – наноНАР-Cu(II); 2 – НАР-Cu₁, 3 – НАР-Cu₂ (последовательное осаждение)

2. Синтез комплексов меди и исследование их структур

Методом УФ-спектроскопии было показано отсутствие сорбции использованных лигандов и комплексов на ГАП любой структуры. В последнем случае происходит ионный обмен между ионами кальция из ГАП и ионами меди. Потенциометрическим методом были

определены константы протонирования лигандов в водном и физиологическом растворах, которые для L^1 оказались равными $\log K = 5.1 \pm 0.1$ и $\log K = 5.3 \pm 0.2$ соответственно.

Методом флуоресценции было исследовано взаимодействие БСА с ионами меди(II), с L^1 и с комплексом **4**. Взаимодействия несвязанного лиганда с белком не происходит, однако для ионов меди и для комплекса получены константы Штерна–Волмера, которые составили 1,86 мл/мкмоль для ионов меди(II) и 8,79 мл/мкмоль для комплекса (**4**).

Для комплексов **2** и **3** были получены кристаллы, структуры которых охарактеризовали методом РСА (работа выполнена с участием НИИ структурной химии Химического факультета МГУ). Их параметры указаны в базе данных CCDC № 2027415 (**2**) и CCDC № 2050373 (**3**) и в приложении. Упаковка молекул комплексов (**2**) и (**3**) в кристалл приведена на **рис. 5**. Показано, что в комплексе **2** медь находится в состоянии Cu(II), в то время, как в комплексе **3** она имеет два состояния Cu(I) и Cu(II). При переходе от одного комплекса к другому происходит частичное восстановление меди (II) (при избытке лиганда). Это подтверждается и методом LETDI.

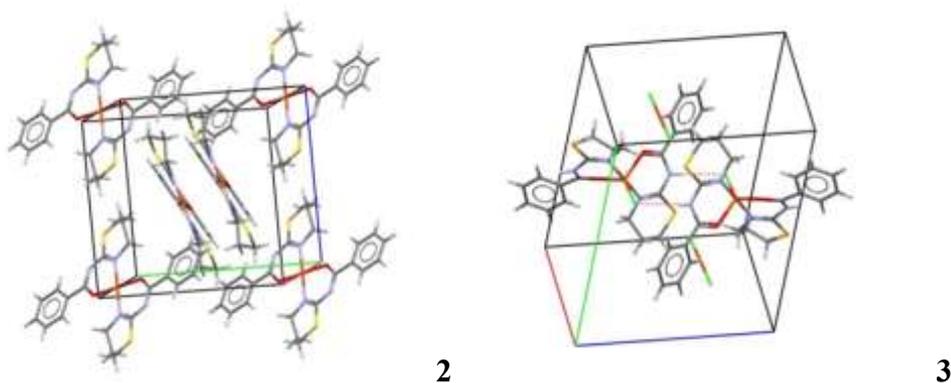


Рис. 5. Упаковка молекул комплексов (**2**) и (**3**) в кристалл

Сравнение цитотоксичности полученных комплексов меди *in vitro* на клеточных линиях

(работы с клетками выполнены на базе МНИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева и НИИ Биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича)

а) *Сравнение цитотоксичности изученных комплексов методом МТТ* представлено в **табл. 1**. Очевидно, что максимальный эффект воздействия на лейкемические клетки достигается в присутствии комплекса (**2**), в котором отсутствуют ионы хлора, а ионы меди находятся в состоянии Cu(II). Считается [5], что Cu(I) является более цитотоксичным по отношению к раковым клеткам, однако данные **табл. 1** говорят о том, что при воздействии на раковые клетки строение комплекса и входящие в комплекс компоненты имеют не меньшее значение, чем валентность меди. Комплекс меди **1** аналогично с таким же комплексом цинка имеют небольшой терапевтический индекс (ТИ) по отношению к

клеткам острых лейкозов и практически не воздействует на клетки хронического миелолейкоза (*K-562*). В целом, видно, что комплексы меди имеют повышенное влияние на разновидности клеток острого Т- (*MOLT-4*, *Jurkat*) и отчасти В- лимфобластного лейкоза. Симбиоз наноГАП–Zn²⁺, как и исходный наноГАП не проявляют цитотоксичности ни к здоровым, ни к лейкемическим клеткам. Наночастицы наноГАП–Cu²⁺ воздействуют примерно одинаково как на *MOLT-4* (*T-ОЛЛ*), так и на *K-562*, т. е. не проявляют селективности по отношению к изученным лейкемическим линиям клеток. Серьезной токсичности по отношению к лимфоцитам здоровых доноров ни один из представленных комплексов не проявлял.

б) *Проточная цитофлуориметрия*. Комплекс **1** был использован для оценки механизма его цитотоксического воздействия через определение раннего и позднего апоптоза здоровых лимфоцитов и клеточной линии *Jurkat* в его присутствии методом проточной цитометрии (**рис.6**).

Таблица 1. Выживаемость (LC₅₀) клеток под действием различных образцов-комплексов.**

Комплекс	LC ₅₀ , мкмоль/мл							
	ЗД	<i>Jurkat</i>	В-ОЛЛ	Т-ОЛЛ	<i>Molt-4</i>	<i>K-562</i>	ОМЛ	ТИ _{max}
Cu(AP) ₂ Cl ₄ (1)	0.38 ± ± 0.05	-	0.26 ± ± 0.03	0.11 ± ± 0.02	-	0.35 ± ± 0.04	0.25 ± ± 0.04	3.5
CuL ¹ ₂ (2)	0.52 ± ± 0.08	(20 ± 0.5) · 10 ⁻³	-	-	-	-	-	258
Cu ₂ L ¹ ₂ Cl ₃ (3)	0.65 ± ± 0.05	0.057 ± ± 0.012	-	-	-	-	-	11.4
*Zn(AP) ₂ Cl ₂	0.24 ± ± 0.02	-	0.061 ± ± 0.005	-	0.062 ± ± 0.005	-	-	4.0
наноГАП- Cu	>5	-	-	-	2.1 ± ± 0.1	2.5 ± ± 0.5	-	-
наноГАП- Zn	>5	-	-	-	>5	>5	-	-
наноГАП	>>5	-	-	-	>5	>5	-	-
L ¹	10.6 ± ± 2.3	0.92 ± ± 0.09			1.2 ± ± 0.4	1.0 ± ± 0.3		11.5
L ²	0.5 ± ± 0.2	0.41 ± ± 0.02			0.10 ± ± 0.03	0.14 ± ± 0.05		3.5

** *Обозначение типов клеток:* ЗД – здоровых доноров; В-ОЛЛ – острого В-лимфобластного лейкоза (линейные); Т-ОЛЛ – острого Т-лимфобластного лейкоза; ОМЛ – острого миелоидного лейкоза. ТИ_{max} = LC₅₀(ЗД)/LC₅₀(лейкемич. клетки) – максимальный полученный терапевтический индекс (клетки, для которых произведен расчет, выделены); * - комплекс предоставлен для испытания к. х. н. Трофимовой Т. П.; AP – 2-аминопиридин

Как на здоровые клетки, так на линию *Jurkat* AP и его комплекс (1) воздействуют, увеличивая процент раннего апоптоза, причем комплекс увеличивает переход в ранний апоптоз примерно в 1,4 раза по сравнению с AP в случае здоровых лимфоцитов. На лейкоэмические клетки AP оказывает меньшее воздействие, чем на здоровые, а комплекс, наоборот, усиливает воздействие таким образом, что практически все клетки попадают в апоптоз, причем ранний апоптоз имеет в 5 раз большее преимущество.

Распределение комплексов, меченных ^{67}Cu , *in vivo* в органах на мышинной модели

Для понимания поведения комплексов в организме (распределения/накопление и выведение) были использованы мыши линии ICR весом 28–33 г и радионуклид ^{67}Cu ($T_{1/2} = 61.83$ ч).

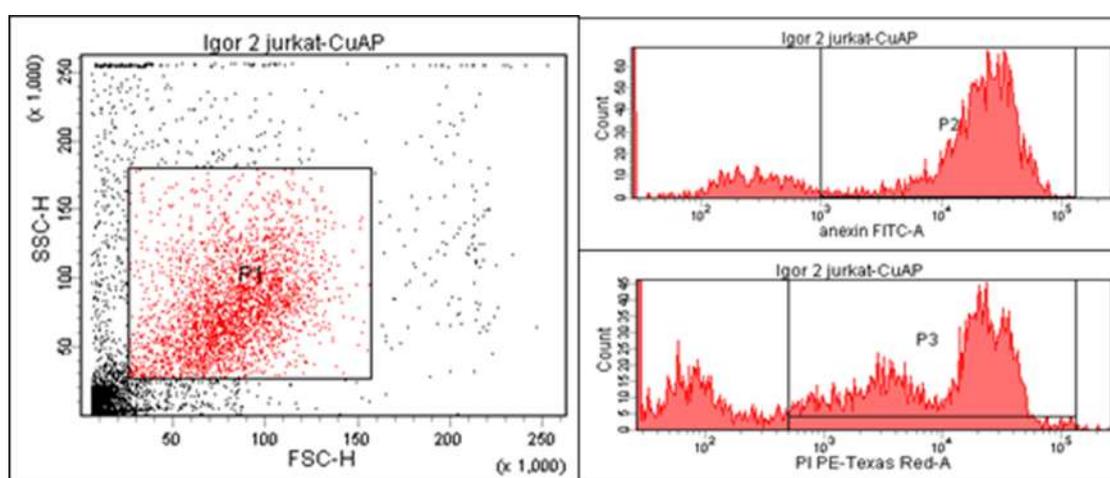


Рис. 6. Ранний и поздний апоптоз клеточной линии *Jurkat* под действием комплекса (1)

Получение радионуклида меди. Цинковую мишень облучали на разрезном микротроне тормозными фотонами с $E = 55$ МэВ (в НИИЯФ им. Д.В. Скобельцына, МГУ имени М.В. Ломоносова), выдерживали в течение 12 ч., растворяли её в 36%-ной HCl и проводили разделение методом ионообменной хроматографии на колонке с сорбентом Cu-resin, где при pH 2,4 происходила сорбция меди, а цинк смывался с колонки. После вымывания цинка десорбцию меди осуществляли раствором HCl (5 моль л⁻¹). При вымывании проводился контроль элюата с помощью гамма-спектрометрии. В качестве характеристической линии использовали $E_{\gamma} = 185$ кэВ.

Впервые были синтезированы комплексы (1) и (4), меченные ^{67}Cu с носителем и без носителя, и получено распределение активности в органах мыши при разном времени нахождения радиоактивного препарата в организме. Особый интерес представляет соотношение активности в печени и почках, как системах, обеспечивающих выведение препаратов из организма. Обнаружено незначительное различие в распределении комплексов (без носителя) и свободных ионов меди-67 ($^{67}\text{CuCl}_2$) по органам за исключением

печени и почек, где для обоих комплексов превалирует выведение через почки. Но в случае комплекса (4) соотношение выведения через печень/почки примерно в 1,5-2 раза выше, чем для свободных ионов меди, а для комплекса (1) различий не наблюдается. Однако в случае использования носителя (ионов стабильной меди) для комплекса (1) наблюдалось почти равное распределения между системами экскреции.

Полученные данные по распределению, по-видимому, говорят о частичном или даже полном разложении комплексов или о перехелатировании ионов меди мишенями из биологической среды организма, особенно в случае, когда радионуклид используется без носителя. При этом не исключено, что для комплекса (1) в печени имеется собственная биологическая мишень. В целом, можно констатировать, что комплексы проявляют цитотоксичность по отношению к различным линиям лейкемических клеток, усиливая ранний апоптоз.

3. Карбоксиметилцеллюлоза (КМЦ) и двойные и тройные микрогели на её основе, содержащие ионы меди, ^{67}Cu , L^1 и L^2

Синтез полимерных микрогелей (двойных комплексов) с ионами меди (II) был проведён при различных мольных отношениях $Q_1 = [\text{мономерная единица КМЦ}] / [\text{Cu}^{2+}]$ (или $[^{67}\text{Cu}]\text{Cu}$).

Таблица 2. Гидродинамические и электрокинетические характеристики водных растворов частиц КМЦ– Cu^{2+} с различным содержанием ионов меди.

Образец	№	Q_1	D_h , нм, H_2O	D_h , нм, 0.15 М NaCl	PDI	ЭФП, мкм/с/(В/см)
КМЦ– Cu^{2+}	I	0.07 ± 0.01	340 ± 12	260 ± 10	0.27	$-(2.41 \pm \pm 0.02)$
КМЦ– Cu^{2+}	II	0.11 ± 0.01	370 ± 12	306 ± 11	0.32	$-(2.90 \pm \pm 0.01)$
КМЦ– Cu^{2+}	III	0.14 ± 0.01	390 ± 11	300 ± 12	0.34	$-(3.19 \pm \pm 0.01)$
КМЦ		0	400 ± 14	390 ± 15	0.38	$-(3.21 \pm \pm 0.06)$

Таблица 3. Гидродинамические и электрокинетические характеристики водных растворов **IV-VI**.

Образец	№	Q_1	Отношение КМЦ÷АР (моль)	D_h , нм H_2O	D_h , нм PSB	PDI	ЭФП, мкм/с/(В/см)
КМЦ– Cu^{2+} –АР	IV	0.07 ± 0.01	$2 \div 1$	$350 \pm \pm 12$	200	0.30	$-(1.90 \pm 0.05)$
КМЦ– Cu^{2+} –АР	V	0.11 ± 0.01	$2 \div 1$	$360 \pm \pm 15$	210	0.31	$-(2.02 \pm 0.02)$
КМЦ– Cu^{2+} –АР	VI	0.14 ± 0.01	$2 \div 1$	$370 \pm \pm 15$	215	0.32	$-(2.03 \pm 0.02)$

Электрокинетические характеристики водных растворов (I–III), изученные методом лазерного микроэлектрофореза (табл. 2) показали, что все образцы характеризуются отрицательными значениями электрофоретической подвижности (ЭФП), которые изменяются по мере увеличения содержания ионов меди от -3.19 мкм/с/(В/см) для (I) до -2.41 мкм/с/(В/см) для (III). Очевидно, что частицы (I–III) характеризуются существенно меньшими размерами и значениями полидисперсности (PDI) по сравнению с исходными макромолекулами КМЦ. Этот результат обусловлен изменением строения (поджатием) макромолекул КМЦ за счёт образования мостиковых электростатических контактов между фрагментами макромолекул полисахарида через ионы меди. Этот процесс сопровождается формированием микрогелевой структуры частиц КМЦ–Cu²⁺.

Микрогели I–III, а также исходные макромолекулы полимера КМЦ имеют высокую агрегативную (коллоидную) устойчивость. Как и ожидалось, увеличение количества связанных ионов Cu²⁺ вызывало частичную нейтрализацию ЭФП полисахарида для комплекса III с максимальным содержанием меди.

Таблица 4. Гидродинамические и электрокинетические характеристики микрогелей VII–IX в водных и физиологических растворах.

Образец	№	Отношение: КМЦ÷L ¹ (моль)	D _h (водный р-р), нм	ЕРМ (водный р-р) мкм/с/(В/см)	D _h (0.15 М NaCl), нм
КМЦ–Cu ²⁺ –L ¹ (0.07)	VII	2 ÷ 1	230 ± 25	-(3.34 ± 0.05)	190 ± 15
КМЦ–Cu ²⁺ –L ¹ (0.11)	VIII	2 ÷ 1	340 ± 25	-(3.31 ± 0.02)	230 ± 15
КМЦ–Cu ²⁺ –L ¹ (0.14)	IX	2 ÷ 1	370 ± 15	-(3.46 ± 0.02)	285 ± 20

Таблица 5. Гидродинамические и электрокинетические водных растворов микрогелей X–XI.

Образец	№	D _h , водный раствор нм	D _h , физ. раствор, нм	ЕРМ, мкм/с/(В/см)
КМЦ–Cu ²⁺ –L ² (10/1/2.5)	X	250±10	180±10	-(4,86±0.05)
КМЦ–L ²	XI	220±10	110±10	-(5,99±0.05)

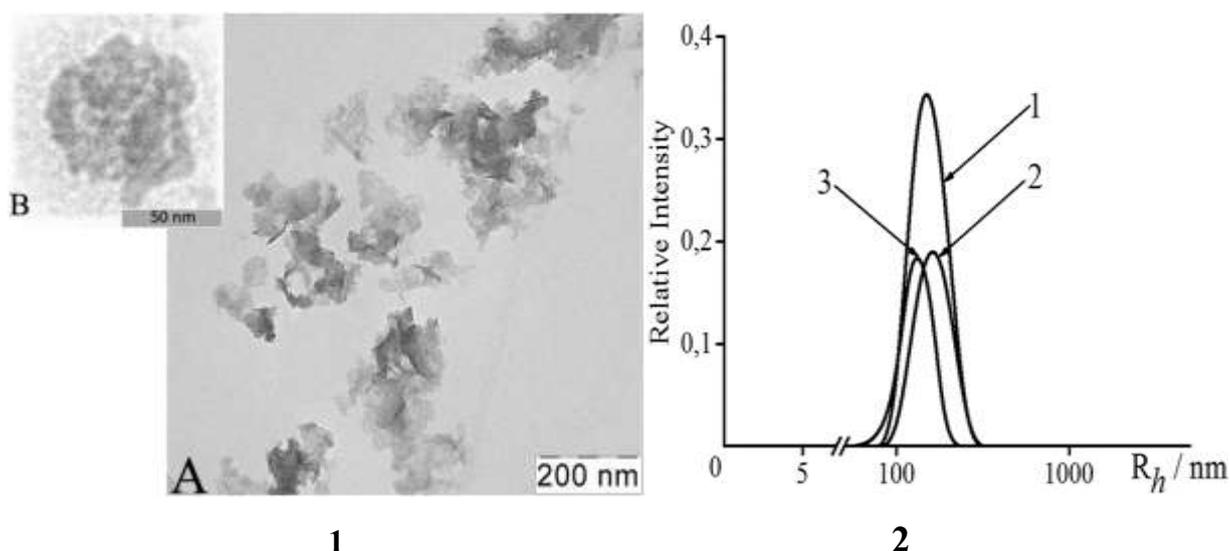


Рис. 7.1 - ПЭМ-изображение микрогеля КМЦ-Сu (10:1): А) отдельные и агрегатные частицы; В) индивидуальные частицы микрогеля; 2 - функция распределения размеров частиц в физиологическом растворе для образцов I (1), II (2), III (3)

Значительный суммарный отрицательный заряд частиц микрогеля КМЦ- Cu^{2+} обеспечивал им устойчивость к агрегации в окружающей воде. При использовании физиологического раствора ($0.15 \text{ моль} \cdot \text{л}^{-1} \text{ NaCl}$) гидродинамические диаметры значительно уменьшались, и функции распределения частиц по размерам изменялись в зависимости от содержания ионов меди. Еще большее поджатие наблюдалось в случае добавления в раствор БСА.

На ПЭМ-изображении микрогеля присутствуют участки серого цвета, размер которых варьируется в широком диапазоне от 80 до 400 нм (**рис. 7А**). Наименьшие объекты в поле микроскопа имеют размер 80 нм. Они характеризуют отдельные частицы микрогеля (**рис. 7В**). Более крупные объекты, наблюдаемые в поле микроскопа, характеризуют агрегаты микрогеля, при этом отдельные частицы микрогеля КМЦ- Cu^{2+} ($10 \div 1$) являются сферически-симметричными.

Тройные системы, содержащие АР, т. е. **IV–VI (табл. 3)**, полностью растворялись в воде при концентрации 0.1% вес. Введение третьего составляющего (АР) мало влияет на размеры частиц в водной среде, но приводит к значительному уменьшению размеров частиц в физиологическом растворе за счет дальнейшего сжатия. Дальнейшее уменьшение гидродинамического диаметра происходит в физиологическом растворе, содержащем БСА. Последнее, видимо, обусловлено экранированием зарядов карбоксильных групп КМЦ, ответственных за набухание макромолекулы, зарядами небольших противоионов натрия (**рис. 8**).

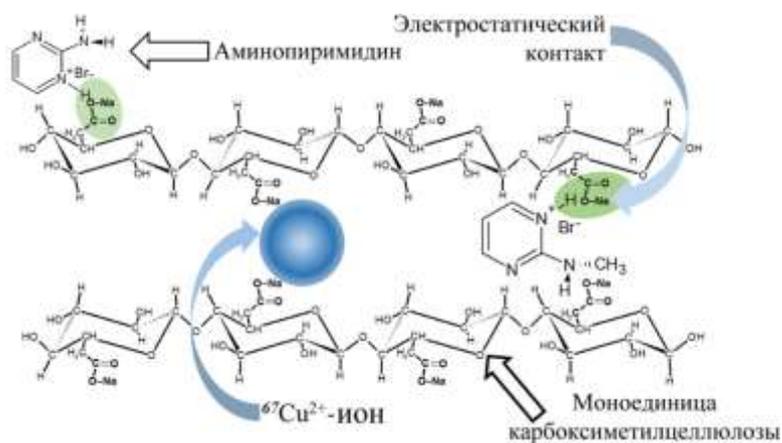


Рис. 8. Схематическая структура микрогелей IV-VI. Зеленое – электростатическое взаимодействие между АР и моноструктурой КМЦ, голубое – поперечное сшивание двух полимерных фрагмента ионом меди

Трехкомпонентные системы КМЦ–Cu²⁺–L¹, содержащие ингибитор iNOS, т. е. VII-IX (табл. 4) полученные аналогично образцам IV-VI, также являются водорастворимыми (до $c = 5$ мг/мл), и спектрофотометрически подтверждено их устойчивое состояние. Видно, что при увеличении количества ионов меди размеры микрогелей аналогично предыдущему случаю уменьшаются, причем в физиологическом растворе этот процесс сжатия по-прежнему проявляется сильнее. В случае сравнения двойных и трехкомпонентных композиций X-XI, содержащих активатор NOS – лиганд L² (табл. 5) видно, что повышается устойчивость микрогелей и наблюдается уменьшение гидродинамических размеров даже по сравнению с микрогелями, содержащими как АР, так и L¹, что вызвано особенностями лиганда L², способного к гидрофобным взаимодействиям.

Сравнение цитотоксичности полученных микрогелей in vitro на клеточных линиях. Была исследована цитотоксичность двойных и тройных микрогелей по отношению к лейкемическим клеткам линии *Jurkat* и здоровым донорским лимфоцитам (ЗД) с использованием метода МТТ. Сравнение препаратов I и III показывает сильное влияние содержания меди в составе микрогелей, как в плане выживаемости здоровых лимфоцитов, так и клеток линии *Jurkat*. На рис. 9 показан полулогарифмический график выживаемости клеток под действием комплекса I. Величина терапевтического индекса (ТИ) в комплексах I и III достаточно высокая. Введение в микрогель АР немного понижает величину ТИ, при этом сам АР, как и КМЦ, не проявляет заметной цитотоксичности (ТИ ~ 1). Двойные микрогели, содержащие ионы меди, показывают значительно более высокие значения ТИ и более высокую цитотоксичность по отношению к лейкемическим клеткам, чем аналогичные микрогели, содержащие ионы цинка.

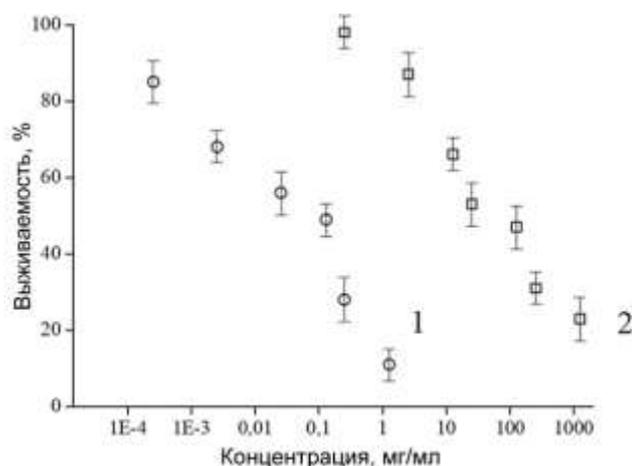


Рис. 9. Полулогарифмический график выживаемости под действием микрогеля **I** клеток линии *Jurkat* (1) и клеток здоровых доноров (2)

Значения ТИ для комплекса **1** оказалось также на порядок ниже в сравнении с двойными микрогелями, однако, в этом случае, из-за более высокой цитотоксичности по отношению к клеткам здоровых доноров.

Обращение к методу проточной цитометрии показало, что, как и в случае комплекса **3**, микрогели увеличивают процент раннего апоптоза нормальных клеток, особенно **I**, где содержание ионов меди больше. Чуть меньше это увеличение наблюдалось в случае клеток линии *Jurkat*. Однако эти значения оказались меньше, чем увеличение раннего апоптоза клеток *Jurkat* под действием комплекса **3**, что еще раз указывает на значительную зависимость цитотоксичности от структуры медных препаратов.

Распределение полученных микрогелей меди в организме *in vivo* на мышинной модели

In vivo была рассмотрена кинетика распределения/накопления двойных микрогелей КМЦ- $^{67}\text{Cu}^{2+}$ по органам и биологическим жидкостям мышей. Для сравнения было получено распределение свободных ионов меди в организме при введении $^{67}\text{CuCl}_2$, что косвенно позволяет оценить разницу в поведении микрогеля и свободных ионов меди. Чтобы оценить выведение микрогелей из организма, необходимо было рассмотреть не только распределение/накопление микрогеля КМЦ- ^{67}Cu , но и распределение собственно полимерных частиц КМЦ, которые для этого были помечены тритием непосредственно в структуру КМЦ (выполнено совместно с лабораторией меченых соединений кафедры радиохимии Химического факультета МГУ).

Сравнение результатов, полученных при распределении меченых тритием микрогелей $[^3\text{H}]\text{КМЦ}-\text{Cu}^{2+}$ и микрогелей КМЦ- $^{67}\text{Cu}^{2+}$ в сравнении с КМЦ $[^3\text{H}]$ и $^{67}\text{CuCl}_2$ дает более полную картину поведения микрогелей в организме.

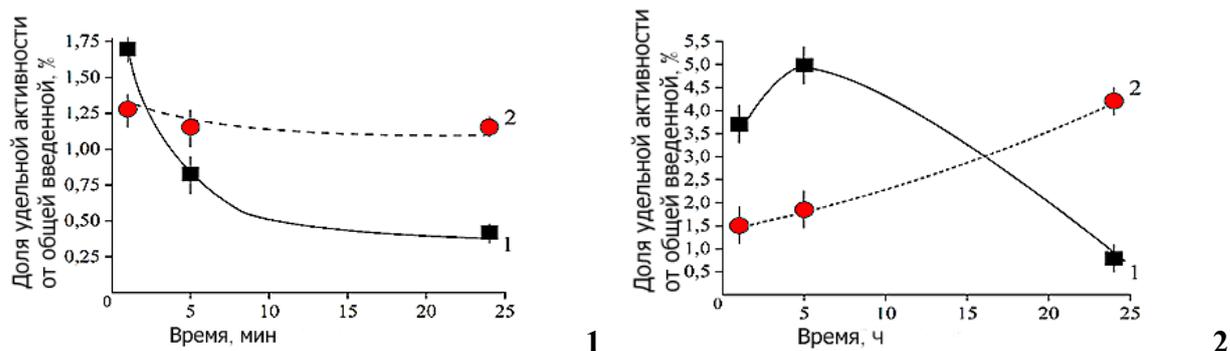


Рис. 10. Кинетика распределения микрогеля $[^3\text{H}]\text{KMЦ-Cu}$ (1) и полимерных частиц $[^3\text{H}]\text{KMЦ}$ (2) в зависимости от времени нахождения препаратов в организме мышей: 1 – почки; 2 – печень

Проведенное сравнение показало, что микрогели способны выводиться из организма не только через печень, но и через почки (**рис. 10**). Наибольшие различия наблюдались в печени, где поведение микрогелей $[^3\text{H}]\text{KMЦ-Cu}$ было сходным с поведением в других органах, т. е. с максимальным временем накопления ~ 5 ч и практически полным выведением через 24 ч. Однако накопление полимерных частиц $[^3\text{H}]\text{KMЦ}$ здесь к 24 ч увеличивается. Учитывая огромное количество процессов, происходящих в печени, и существование там различных переносчиков, можно предположить, что частицы $[^3\text{H}]\text{KMЦ}$, не подверженные сжатию ионами меди, имеют свободные центры связывания, которые могут использоваться биологическими объектами печени для их захвата, что и способствует их удержанию в этом органе. Сравнение поведения микрогелей с разными метками и свободными ионами меди ($^{67}\text{Cu}^{2+}$) указывает на стабильность комплексов KMЦ-Cu в организме, а также демонстрирует разницу в скорости процессов накопления-выведения, которая для $^{67}\text{CuCl}_2$ значительно выше. Однако к 24 ч удаление микрогелей, несущих ионы меди (независимо от метки ^{67}Cu или ^3H), из большинства органов приближается к нулю.

Определение устойчивости микрогелей при радиационном воздействии

Несмотря на устойчивую связь ионов меди (как и радионуклида) в микрогелях, всё же следовало учитывать теоретическую вероятность, что радионуклид способен покинуть микрогель, т. е. выйти из KMЦ непосредственно в организме. Для того, чтобы понять, влияет ли разрушение/изменение микрогеля под действием введенного в него радионуклида, на выход из него ионов меди, методом ICP-AES определяли появление ионов меди в растворе после внешнего (модельного) гамма-облучения образцов. В **табл. 6** видно, что при 2700 Гр выделяется около 8% меди от исходного количества.

Таблица 6. Выход ионов меди из микрогеля в раствор в зависимости от дозы внешнего гамма-облучения (здесь m и m_0 — масса вышедших ионов меди и начальная масса меди, соответственно).

Доза, Гр	Вышедшие ионы меди, m , мкг	m/m_0 100%
0	0	0
2700	4.29 ± 0.05	8.1
8200	18.97 ± 0.04	35.8
190000	26.06 ± 0.04	49.2

Теоретическая поглощенная доза, рассчитанная с помощью программы OLINDA/EXM®V для полного распада радионуклида ^{67}Cu с активностью 5 мКи ($18.5 \cdot 10^7$ Бк), включенного в микрогель, что является реальной активностью для применения в ядерной медицине, составляет при полном распаде радионуклида $D_n = 750$ Гр. Следовательно, медь, которую может потерять микрогель при этой дозе, должна быть $< 3\%$, т. е. незначительной. Это означает, что несмотря на медленное последовательное уменьшение размеров частиц микрогеля в водной среде за счет радиолиза, нет угрозы повышения дозового давления на здоровые клетки организма.

Таким образом, оценка устойчивости микрогеля на основе анионного полисахарида, содержащего ионы меди, что является моделью для действие высоких доз радионуклида $^{67}\text{Cu}^{2+}$, показала: 1) незначительный распад микрогеля под действием внешнего γ -излучения путем деструкции гликозидных связей фрагментов макромолекул КМЦ на поверхности микрогелей; 2) незначительное высвобождение при таких процессах свободных ионов меди, что не может создать угрозы неконтролируемой дозовой нагрузки на организм.

Заключение

Таким образом, поставленная цель работы достигнута.

В работе предложены и изучены две потенциальные наноплатформы для упаковки радионуклидов меди и эффекторов NO-синтазы (в качестве антиопухолевого и/или радиопротекторного агента), а также для создания мультифункциональных систем на их основе. В качестве таких платформ применяли гидроксипатит разной структуры, размеров, сорбционной емкости и углеводный полимер – карбоксиметилцеллюлозу.

1. Показано, что ГАП является удобным носителем для радионуклидов меди и выбраны условия для наибольшей сорбции ионов меди. В зависимости от медицинской необходимости наночастицы ГАП-Cu* могут быть созданы на основе ГАП₀ или ГАП_E, что

определяет размеры частиц и, соответственно, возможности применения и введения в организм.

2. Впервые исследованы кристаллические структуры комплексов меди с ингибитором индуцибельной NO-синтазы (лиганд L^1) и показано, что структура и степень окисления меди в комплексах зависит от соотношения реагентов, а цитотоксичность комплексов зависит не только от состояния ионов меди в них, но и от кристаллической структуры.

3. Впервые получены и охарактеризованы двойные и тройные системы КМЦ–Cu (^{67}Cu) и КМЦ–Cu(^{67}Cu) – L^1/L^2 в качестве систем для использования в медицине с определением их цитотоксичности и радиационной устойчивости.

Выводы

1. Сравнение сорбции ионов меди на ГАП, полученным различными способами, показало, что медь сорбируется на ГАП необратимо и особенно высокую сорбционную емкость имеет ГАП_Е, которая также сильно зависит от кристаллической структуры, морфологии и размеров частиц. Показано влияние момента введения ионов меди при сокристаллизационном методе получения ГАП и способность ионов меди перехелатировать ионы кальция из структуры ГАП.

2. Для комплексов меди с N-(5,6-дигидро-4H-1,3-тиазин-2-ил)бензамида (L^1) различного состава методом РСА получены их структуры, показавшие наличие в составе комплекса не только Cu(II), но и смешанной валентности Cu(II)-Cu(I). Изменение структуры комплексов сильно влияет на их цитотоксичность по отношению к клеточным линиям.

3. Установлен механизм образования двух и трехкомпонентных медьсодержащих микрогелей на основе КМЦ за счет образования электростатических контактов ионов меди (и цинка) и электростатического связывания пиримидинового (/тиазинового/иминного) фрагмента с карбоксильными группами полимера.

4. Впервые получены микрогели, содержащие ^{67}Cu и показано, что КМЦ может служить мультифункциональным наноконтейнером для биологически активных соединений и радионуклидов, при этом цитотоксичность таких трехкомпонентных наноносителей сильно зависит от содержания меди и структуры лигандов в их составе.

5. Впервые определенная радиационная стабильность микрогелей КМЦ–Cu²⁺ позволяет их использование в условиях радиоактивности, соответствующей медицинским радионуклидам, а на основе двойного мечения ^{67}Cu –КМЦ и ^3H –КМЦ на модели мыши показана способность выведения микрогелей через почки.

Публикации автора с соавторами по теме диссертации

Научные статьи, опубликованные в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности и отрасли наук:

1. Золотова А.С., Особенности сорбции меди и эффекторов NO-синтазы на гидроксипатите и влияние бычьего сывороточного альбумина на процесс сорбции / Золотова А.С., Трофимова Т.П., Северин А.В., Орлова М.А. // Известия Академии наук. Серия химическая, 2025, Т. 74, № 1, С. 256-260. EDN: VEALGS (Импакт-фактор 1,035 (РИНЦ), 2.6 п.л./60%)

Zolotova A.S., Sorption of copper and NO synthase effectors on hydroxyapatite and effect of bivariate serum albumin on the sorption process / Zolotova A.S., Trofimova T.P., Severin A.V., Orlova M.A. // *Russian Chemical Bulletin*, 2025, V. 74, № 1, P. 256-260. EDN: UJUAAU (Импакт-фактор 0,31 (SJR), **Q3**, 2.6 п.л./60%)

2. Золотова А.С., Микрогели на основе карбоксиметилцеллюлозы как multifunctional носители для иммобилизации ингибитора и активатора индуцибельной NO-синтазы / Золотова А.С., Орлова М.А., Спиридонов В.В., Трофимова Т.П., Лупатов А.Ю., Ярославов А.А., Калмыков С.Н. // Известия Академии наук. Серия химическая, 2025, Т. 74, № 1, С. 252-255. EDN: CURWSW (Импакт-фактор 1,035 (РИНЦ), 1.95 п.л./70%)

Zolotova A.S., Microgels based on carboxymethylcellulose as multifunctional carriers for immobilization of inhibitor and activator of inducible NO synthase / Zolotova A.S., Orlova M.A., Spiridonov V.V., Trofimova T.P., Lupatov A.Yu, Yaroslavov A.A., Kalmykov S.N. // *Russian Chemical Bulletin*, 2025, V. 74, № 1, P. 252-255. EDN: ICVTTV (Импакт-фактор 0,31 (SJR), **Q3**, 1.95 п.л./70%)

3. Орлова М.А., Радиационная стабильность микрогелей карбоксиметилцеллюлозы, связанной ионами меди / Орлова М.А., Трофимова Т.П., Золотова А.С., Ларенков А.А., Орлов А.П., Бородков А.С., Спиридонов В.В. // Известия Академии наук. Серия химическая, 2022, № 11, С. 2515-2518. EDN: JTLEYZ (Импакт-фактор 1,035 (РИНЦ), 1.95 п.л./50%)

Orlova M.A., Radiation stability of carboxymethylcellulose microgels cross-linked by copper ions / Orlova M.A., Trofimova T.P., Zolotova A.S., Larenkov A.A., Orlov A.P., Borodkov A.S., Spiridonov V.V. // *Russian Chemical Bulletin*, 2022, V. 71, № 11, P. 2515-2518. EDN: VHKTZN (Импакт-фактор 0,31 (SJR), **Q3**, 1.95 п.л./50%)

4. Orlova M.A., *In vivo* behavior of carboxymethylcellulose based microgels containing ⁶⁷Cu / Orlova M.A., Spiridonov V.V., Badun G.A., Trofimova T.P., Orlov A.P., Zolotova A.S.,

Priselkova A.B., Aleshin G.Yu., Chernysheva M.G., Yaroslavov A.A., Kalmykov S.N. // *Mendeleev Communications*, 2022, V. 32, № 5, P. 658-660. EDN: OXKFYB (Импакт-фактор 1.7 (JIF), **Q3**, 1.3 п.л./40%)

5. Orlova M.A., Complexes of carboxymethylcellulose with Cu²⁺-ions as a prototype of antitumor agent / Orlova M.A., Spiridonov V.V., Orlov A.P., Zolotova N.S., Lupatov A.Yu., Trofimova T.P., Kalmykov S.N., Yaroslavov A.A. // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2022, V. 632, article number 127814. EDN: PDKSHT (Импакт-фактор 5.4(JIF), **Q2**, 2.6 п.л./60%)

6. Орлова М.А., Комплексы меди: цитотоксичность и возможности транспорта / Орлова М.А., Трофимова Т.П., Золотова Н.С., Иванов И.А., Спиридонов В.В., Прошин А.Н., Бородков А.С., Ярославов А.А., Орлов А.П. // *Известия Академии наук. Серия химическая*, 2019, № 10, С. 1933-1939. EDN: ZTAUPB (Импакт-фактор 1,035 (РИНЦ), 3 п.л./50%)

Orlova M.A., Copper complexes: cytotoxicity and transport possibilities / Orlova M.A., Trofimova T.P., Zolotova N.S., Ivanov I.A., Spiridonov V.V., Proshin A.N., Borodkov A.S., Yaroslavov A.A., Orlov A.P. // *Russian Chemical Bulletin*, 2019, V. 68, № 10, P. 1933-1939. EDN: WUXBVE (Импакт-фактор 0,31 (SJR), **Q3**, 3 п.л./50%)

7. Орлова М.А., Специфические свойства гидроксиапатита как потенциального транспортера ионов меди и её комплексов / Орлова М.А., Николаев А.Л., Трофимова Т.П., Северин А.В., Гопин А.В., Золотова Н.С., Долгова В.К., Орлов А.П. // *Известия Академии наук. Серия химическая*, 2019, № 5, С. 1102-1108. EDN: JUGYUC (Импакт-фактор 1,035 (РИНЦ), 3.9 п.л./50%)

Orlova M.A., Specific properties of hydroxyapatite as a potential transporter of copper ions and its complexes / Orlova M.A., Nikolaev A.L., Trofimova T.P., Severin A.V., Gopin A.V., Zolotova N.S., Dolgova V.K., Orlov A.P. // *Russian Chemical Bulletin*, 2019, V. 68, № 5, P. 1102-1108. EDN: BVHUFW (Импакт-фактор 0,31 (SJR), **Q3**, 3.9 п.л./50%)

Список цитируемой в автореферате литературы

1. Кодина Г.Е., Красикова Р.Н. Методы получения радиофармацевтических препаратов и радионуклидных генераторов для ядерной медицины. М., МЭИ, 2014, 281 с
2. Лампрехт А. Нанолечение. Концепции доставки лекарств в нанонауке. М.: Научный мир, 2010
3. Курапов П.Б., Бахтенко Е.Ю. Медицинская нанобиотехнология. М., ФГАОУ ВО РНИМУ, 2021
4. Ringsdorf H. // *J. Polym. Sci., Polym. Symp.*, 1975, V. 51, P. 135.
5. Liu J., Pan D., Huang X., Wang S., Chen H., Zhu Y.Z., Ye L. // *Front. Oncol.*, 2023, V. 24, P. 1225483.
6. Pupillo G., Sounalet T., Michel N., Mou L., Esposito J., Haddad F. // *Nucl. Inst, Methods Phys. Res. B*, 2018, V. 415, P. 41.
7. Rolle A.-M., Hasenberg M., Thornton C.R., Solouk-Saran D., Männ L., Weski J., Maurer A., Fischer E., Spycher P.R., Schibli R., Boschetti F., Stegemann-Koniszewski S., Bruder D., Severin G.W., Autenrieth S.E., Krappmann S., Davies D., Pichler B.G., Gunzer M., Wiehr S. // *PNAS*, 2016, V. 113, P. E1026.
8. Cantiello F., Gangemi V., Cascini G.L., Calabria F., Moschini M., Ferro M., Musi G., Buttice S., Salonia A., Briganti A., Damiano R. // *Exp. Oncol.*, 2017, V. 106, P. 139.

9. Egorova B.V., Fedorova O.A., Kalmykov S.N.// Russ. Chem. Rev., 2019, V. 88, P. 901.
10. Мелихов И. В., Комаров В. Ф., Северин А. В., Божевольнов В. Е., Рудин В. Н. // Докл. АН, Т. 2000, № 373, С. 355-358.
11. Северин А.В., Орлова М.А., Шаламова Е.А., Трофимова Т.П., Иванов И.А. // Изв. Акад. наук, Серия Химия, 2017, Т. 66, № 1, С. 9-15.
12. Орлова М.А., Николаев А.Л., Трофимова Т.П., Орлов А.П., Северин А.В., Калмыков С.Н. // Вестник РГМУ, 2018, №6, С. 94-102.
13. Fraústo da Silva J. J. R., Williams R. J. P. The Biological Chemistry of Elements: The Inorganic Chemistry of Life. Oxford University Press, 2001.

Автор приносит огромную благодарность всему коллективу кафедры радиохимии и её заведующему д.х.н., профессору, академику РАН, вице-президенту РАН, Калмыкову Степану Николаевичу, а также научному руководителю д.х.н., ведущему научному сотруднику Орловой Марине Алексеевне.

Автор также **сердечно благодарит** сотрудников Химического факультета МГУ, оказавших помощь и консультации при выполнении экспериментов: с.н.с., к.х.н. Трофимову Т.П.; доц., к.х.н. Северина А.В.; с.н.с., к.х.н. Гопина А.В.; доц., к.х.н. Бадуна Г.А.; проф., д.х.н. Чернышову М.Г.; доц., к.х.н. Спиридонова В.В.; чл.-корр. РАН, д.х.н. Ярославова А.А.; в.н.с., к.х.н. Тафеенко В.А.; н.с., к.х.н. Ларенкова А.А. (зав. отделом федерального медицинского биофизического центра имени А.И.Бурназяна); в.н.с., к.х.н. Николаева А.Л.; инж. Кирюхина О.В.; доц, к.х.н. Колесник И.В.; к.х.н. Биневского П.В.; к.х.н. Алешина Г.Ю.; аспиранта Иванова И.А.

И приносит свою искреннюю благодарность сотрудникам дружественных организаций: в.н.с., д.б.н. Лупатову А.Ю. (НИИ Биомедхимии им. В.Н. Ореховича); зав. отделом, д.б.н. Осиповой Е.Ю. (МНИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева); Бельшеву С.С. и Приселковой А.Б. (НИИЯФ МГУ им. Д.В. Скобельцына); зав. лаб., д.х.н. Прошину А.Н. (ИФАВ РАН (г. Черногоровка)); к.х.н. Бородкову А.С. (ГЕОХИ РАН им. В.И. Вернадского); проф., д.б.н. Кузнецову Д.А. (РНИМУ им. Н.И. Пирогова) за предоставленную возможность выполнения ряда экспериментов, консультации и помощь.

Автор также благодарит рецензентов и ученого секретаря диссертационного Совета МГУ 014.6 Северина Александра Валерьевича.

Работа частично выполнена при поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (грант № 19-08-00055 А)