

**К 40-летию Института физиологически активных веществ РАН****ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ****ИССЛЕДОВАНИЯ КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЯ В РАСТВОРАХ МЕТОДОМ ЯМР****В.О. Завельский\*, И.П. Калашишникова, В.П. Казаченко, В.Е. Баулин, О.А. Раевский**Институт физиологически активных веществ Российской академии наук,  
142432, Черноголовка Московской обл., Северный проезд, 1; \*эл. почта: zvl@ipac.ac.ru

Методами спектроскопии ЯМР исследованы процессы комплексообразования представляющих интерес для биологии и медицины органических лигандов с ионами биологически значимых металлов ( $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ga}^{3+}$ ). Показаны возможности и преимущества методов спектроскопии ЯМР при исследовании комплексообразования. Установлена высокая чувствительность ЯМР-сигнала к образованию комплекса даже при очень малой природной концентрации магнитного изотопа. Методом ЯМР  $^{43}\text{Ca}$  зафиксировано образование комплекса с низкой константой устойчивости. Получены константы равновесия комплексов и параметры их ЯМР-спектров. Показана возможность применения метода ЯМР  $^{31}\text{P}$  и  $^{13}\text{C}$  для первичного тестирования комплексообразования производных циклена с катионом  $\text{Ga}^{3+}$  в  $\text{D}_2\text{O}$ .

**Ключевые слова:** ЯМР-спектроскопия; комплексообразование; лиганд; краун-эфиры; поданд; циклен**DOI:** 10.18097/BMCRM00025**ВВЕДЕНИЕ**

Комплексообразование играет существенную роль в целом ряде биологических процессов, без которых невозможно функционирование живых организмов. Комплексные структуры непосредственно участвуют в процессах катализа [1, 2], экстракции катионов металлов в биологических системах [3], играют существенную роль в трансмембранном переносе ионов [4], во взаимодействии лиганд - рецептор [5], что стимулирует изучение динамики и механизмов комплексообразования, установление центров координации в молекулах лигандов, уточнения их роли и степени участия в образовании связи металл - лиганд. Изучение процессов комплексообразования органических лигандов с катионами биологически значимых металлов – одно из научных направлений, традиционно развивающееся в ИФАВ РАН, при этом большинство органических лигандов синтезировано в лабораториях института.

Основной задачей данной работы было изучение процесса комплексообразования методом ЯМР некоторых органических лигандов с биологически значимыми ионами металлов –  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ga}^{3+}$ . Биологическая важность соединений кальция и натрия широко известна, и изучение комплексообразования с этими элементами постоянно остаётся актуальной задачей. Соединения лития участвуют в углеводном и липидном обменах [6], снижают нервную возбудимость [7] и эффективно применяются в медицине [8, 9]. Интерес к изучению соединений галлия обуславливается возрастающей ролью в ядерной медицине радиоизотопа  $^{68}\text{Ga}$ , входящего в состав современных радиофармпрепаратов [10-13].

Давно известно, что концентрация кальция внутри и снаружи живой клетки различается на три порядка, и что изменение этого соотношения ведёт к серии биохимических и физиологических процессов [14]. Повлиять на транспорт ионов кальция через биологические мембраны можно с помощью

различных полидентатных лигандов [15]. Среди таких систем особое внимание привлекают макроциклические полиэфиры (краун-эфиры), которые можно рассматривать не только как удобные модели распознавания [16], но и как биологически активные вещества [17]. Структура краун-эфиров, их поведение в растворах и, в особенности, процессы комплексообразования давно являются предметом многочисленных исследований, среди которых существенные результаты получены при использовании методик ЯМР [18, 19]. Ациклические аналоги краун-эфиров – поданды также являются эффективными лигандами, обладающими высокой селективностью к катионам биологически значимых металлов. Интенсивно изучаемые в последнее время лиганды, содержащие фрагменты 1,4,7,10-тетраазациклододекана (циклена), эффективно связывающие катионы d- и f-элементов, широко применяются в качестве компонентов радиофармпрепаратов [20, 21].

По сравнению с другими методами исследований, спектроскопия ЯМР имеет значительные преимущества. Концентрационные зависимости параметров ЯМР-спектров на ядрах металлов – химического сдвига и ширины линии соответствующих сигналов – позволяют установить константы устойчивости комплексов и их стехиометрию, а также дают возможность наблюдать брутто-эффект комплексообразования (динамический ЯМР на ядрах металлов  $^{43}\text{Ca}$ ,  $^7\text{Li}$ ,  $^{23}\text{Na}$  и пр.). Можно полагать, что химический сдвиг в спектрах ЯМР металлов в комплексах является мерой ковалентности связи металл - лиганд, а ширина линии сигнала ЯМР – мерой устойчивости комплекса [22].

ЯМР на различных ядрах лиганда ( $^1\text{H}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{13}\text{C}$ ), в первую очередь атомов, непосредственно связанных с металлом, позволяет различать отдельные центры координации в молекуле лиганда, устанавливать электронную структуру комплекса, возможные конформационные изменения в молекуле лиганда



при комплексообразовании и изучать отдельные центры координации в лиганде [23].

В данной статье описаны результаты некоторых наиболее интересных исследований, потенциально представляющих практический интерес для различных областей техники и медицины. Цель данной работы – показать, что применение ЯМР-спектроскопии для определения особенностей взаимодействия лиганда и катиона металла может быть простым, удобным и информативным подходом для первичной оценки перспективы применения органических лигандов в качестве комплексообразователей.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Соли  $\text{CaCl}_2$  и  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  марки “ч.” прокаливали при  $200^\circ\text{C}$  в токе сухого аргона в течение 25-30 ч до постоянной массы и хранили в эксикаторе над  $\text{P}_2\text{O}_5$ . Тиоцианаты щелочных металлов  $\text{LiNCS}\cdot\text{H}_2\text{O}$  и  $\text{NaNCS}$  (98%) (“Aldrich”, США) перед исследованием обезвоживали по методике, описанной в работе [24].  $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (99.9%) (“Acros organics”, США) применяли без дополнительной очистки.

В качестве лигандов применялись краун-эфир: 15-краун-5 (98%) и 18-краун-6 (99%) (“Aldrich”). Согласно методикам, опубликованным ранее, синтезированы трис-[(*o*-дифенилфосфинометил)-феноксиэтил]амин [25] и 1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетраметилфосфонової кислоты [23, 26].

Спектральные исследования проводили в растворе  $\text{D}_2\text{O}$  (Deuteriumoxide, for NMR, 100.0 atom % D, “Acros organics”). Спектры ЯМР  $^{43}\text{Ca}$ ,  $^7\text{Li}$  и  $^{23}\text{Na}$  записаны на импульсном Фурье-спектрометре ЯМР Bruker-CXP-200 (“Bruker Dalton”, Германия) (резонансные частоты 13.46 МГц, 77.7 МГц и 52.9 МГц соответственно) во внешнем магнитном поле 4.67 Тл при температуре 291 К. Для получения спектров ЯМР исследуемые растворы коаксиально размещались в откалиброванных 10-мм ампулах. В качестве внешнего эталона для  $^{43}\text{Ca}$  использован 3,2 М раствор  $\text{CaCl}_2$  в  $\text{D}_2\text{O}$ . В спектрах  $^7\text{Li}$ ,  $^{23}\text{Na}$  0.1 М растворы  $\text{LiCl}$  и  $\text{NaCl}$  в  $\text{D}_2\text{O}$ , использовались в качестве внешних эталонов, а также для стабилизации поля.

Спектры ЯМР  $^{31}\text{P}$  и  $^{13}\text{C}$  регистрировали в откалиброванных 5-мм ампулах на спектрометре “Bruker-DPX-200” при частотах соответственно 81.0 МГц и 50.04 МГц. В качестве стандартов использовались тетраметилсилан (внутренний эталон) и 85%  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (внешний эталон). Образцы готовили путём объединения растворов точно отмеренных навесок соли и лиганда в  $\text{D}_2\text{O}$ .

Для анализа схемы комплексообразования, расчёта констант равновесий и химических сдвигов комплексов концентрационные зависимости параметров ЯМР-спектров обрабатывали с привлечением программ EQ [27], FLEXI и симплекс-метода [28].

Экспериментальные кривые, представляющие зависимость химического сдвига  $^{43}\text{Ca}$  от концентрации лиганда, обработаны методом наименьших квадратов с использованием универсальной

программы расчёта равновесий в растворах, включающей использование уравнений материального баланса, констант равновесия и уравнения, связывающего наблюдаемый химический сдвиг с химическими сдвигами и концентрациями компонент равновесия [29].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

С позиции биологической активности наибольший интерес представляют данные о механизмах комплексообразования и структуре комплексов в водной среде.

Комплексообразование хлорида кальция с 18-краун-6 в воде исследовалось ранее методом титрационной калориметрии, однако тепловой эффект взаимодействия обнаружен не был ввиду малой величины энтальпии и (или) константы взаимодействия [30]. Применяя ЯМР  $^{43}\text{Ca}$ , позволяющий наблюдать за атомом кальция – нуклидом, непосредственно участвующим в комплексообразовании, удалось обнаружить взаимодействие 15-краун-5 и 18-краун-6 с солями  $\text{CaX}_2$  ( $\text{X} = \text{NO}_3^-, \text{Cl}^-$ ) в воде [31]. Следует подчеркнуть, что естественное содержание магнитного изотопа  $^{43}\text{Ca}$  ничтожно – лишь 0.143%. Точность измерения химического сдвига составила  $\pm 0.3$  м.д.

Изменения химического сдвига в зависимости от концентрации (рис. 1) свидетельствуют о комплексообразовании в системе  $[\text{CaCl}_2, \text{Ca}(\text{NO}_3)_2, \text{краун-эфир}]$ . В условиях быстрого обмена наблюдаемый химический сдвиг  $\delta$  аддитивен относительно химических сдвигов компонент равновесия [29]:

$$\delta = \sum_{i=1}^n \delta_i \frac{c_i}{c_x^0} \quad (1)$$

где  $n$  – число компонент равновесия;  $\delta_i$ ,  $c_i$  – химический сдвиг и равновесная концентрация  $i$ -го компонента;  $c_x^0$  – начальная концентрация компонента, содержащего резонирующее ядро. При обработке экспериментальных результатов в качестве измеряемого свойства раствора использовали значения:

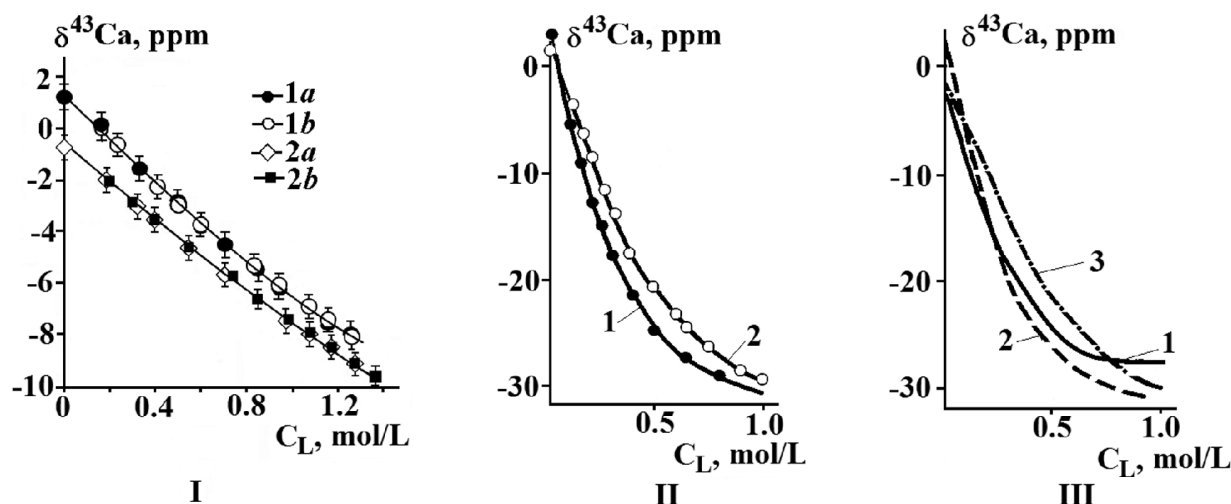
$$F_{\text{exp}} = \delta_{\text{exp}} c_x^0 \quad (2)$$

Варьируемыми параметрами были константы устойчивости и химические сдвиги комплексов. Степень согласия найденного решения с экспериментом характеризовалась величиной R-фактора в %.

$$R = 100 \left[ \frac{\sum_{k=1}^N (F_{k \text{ exp}} - F_{k \text{ theor}})^2}{\sum_{k=1}^N F_{k \text{ exp}}^2} \right]^{1/2} \quad (3)$$

где  $N$  – число экспериментальных точек.

Концентрационные константы устойчивости и химические сдвиги комплексов вычислялись по схеме  $\text{Ca}^{2+} + \text{L} \rightleftharpoons \text{CaL}^{2+}$ , где  $\text{L}$  – лиганд. Параметры этой модели определяли в двух вариантах (табл. 1).



**Рисунок 1.** Зависимость химического сдвига  $^{43}\text{Ca}$  ( $\delta^{43}\text{Ca}$ ) от концентрации лиганда L.

I: L = 15-краун-5; 1 -  $\text{CaCl}_2$  (a - эксперимент, b - расчёт); 2 -  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  (a - эксперимент, b - расчёт).

II: L = 18-краун-6; соль -  $\text{CaCl}_2$ ; 1 -  $c^0 = 0,2$  моль/л, 2 -  $c^0 = 0,5$  моль/л.

III: L = 18-краун-6; соль -  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ; 1 -  $c^0 = 0,2$  моль/л, 2 -  $c^0 = 0,3$  моль/л, 3 -  $c^0 = 0,5$  моль/л.

**Таблица 1.** Расчётные параметры комплексов  $\text{CaCl}_2$  и  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  с 15-краун-5 и их стандартные отклонения\*

Salt	Calculation variant I		R-factor, %	Calculation variant II		R-factor, %
	$\delta$ , ppm	$\lg K_c$		$\delta$ , ppm	$\lg K$	
$\text{CaCl}_2$	-29.6	-0.438(29)	1.17	-29.6	-0.086(29)	3.17
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	-46.3	-0.734(31)	0.58	-46.3	-0.305 (31)	0.58

Примечание: \* - в скобках для последних значащих цифр.

**Таблица 2.** Логарифмы констант равновесия и химические сдвиги комплексообразования 18-краун-6 с  $\text{CaCl}_2$  и  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  в воде

$\text{CaX}_2$	$C^0\text{CaX}_2$ , mol/L	chem. shift $\delta_k$ , ppm	$\lg K$ , L/mol	R-factor, %
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	0.2	-33.4±1.6	0.95±0.08	1.58
	0.3	-35.2±1.3	0.92±0.07	1.19
	0.5	-38.7±0.9	0.73±0.05	0.78
$\text{CaCl}_2$	0.2	-38.2±1.1	0.75±0.05	1.35
	0.5	-36.3±1.4	0.87±0.08	1.10

В первом варианте вычислялись концентрационные константы устойчивости и химические сдвиги комплексов. Как видно из таблицы 1, логарифм константы равновесия  $\lg K$  для  $\text{CaCl}_2$  больше, чем для  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ . Такое различие в константах может быть обусловлено разными значениями средних коэффициентов активности исследуемых солей. Во втором варианте для проверки этого предположения был проведен расчёт, в котором для получения термодинамических констант равновесия данные по  $\delta^{43}\text{Ca}$  обрабатывали с учётом средних коэффициентов активности солей. Поскольку эти данные получены при практически постоянной концентрации соли, коэффициенты активности  $\text{CaCl}_2$  и  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  принимали равными 0.445 и 0.372 соответственно [32]. Коэффициенты активности остальных частиц приняты равными единице (для лиганда L – в силу электронейтральности,

а для  $\text{CaL}^{2+}$  – из-за малой концентрации образующегося комплекса). Как оказалось, различие термодинамических констант устойчивости остается вполне заметным и лежит за пределами ошибок определения. Таким образом, полученные результаты показывают, что при использованных концентрациях компонентов устойчивость комплексов  $\text{CaL}^{2+}$  в водной среде зависит от природы аниона.

Расчитанные химические сдвиги и термодинамические величины комплексообразования 18-краун-6 с  $\text{CaCl}_2$  и  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  по данным ЯМР  $^{43}\text{Ca}$  приведены в таблице 2. Из данных этой таблицы следует, что с возрастанием ионной силы при комплексообразовании 18-краун-6 с  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$   $\lg K$  уменьшается, а с  $\text{CaCl}_2$  возрастает. Анализируя результаты исследования взаимодействия солей кальция с 18-краун-6, необходимо отметить, что замена аниона  $\text{NO}_3^-$  на  $\text{Cl}^-$  в составе соли кальция привела

к изменению всех термодинамических величин комплексообразования, а также химических сдвигов комплексов. Эти выводы представляются важными, поскольку в предшествующих исследованиях комплексообразования краун-эфиров с солями различных металлов влияние природы аниона на термодинамические характеристики реакций не учитывалось.

Ациклические аналоги краун-эфиров – поданды – также являются интересными лигандами, предоставляющими возможность синтеза рецепторов с выраженными, заранее заданными катион-селективными и спектральными свойствами. Систематические исследования координации неорганических катионов такими подандами в растворах методами мультядерного динамического ЯМР предоставляют интересную информацию об электростатических, гидрофобных и донорно-акцепторных взаимодействиях при комплексообразовании.

Нами проведены исследования взаимодействия фосфорилсодержащего ациклического поданда – трис-[(*o*-дифенилфосфиноилметил)-феноксиэтил]амин **I** (рис. 2), с образованием комплексов с солями лития и натрия методом ЯМР  $^7\text{Li}$  и  $^{23}\text{Na}$  [25].

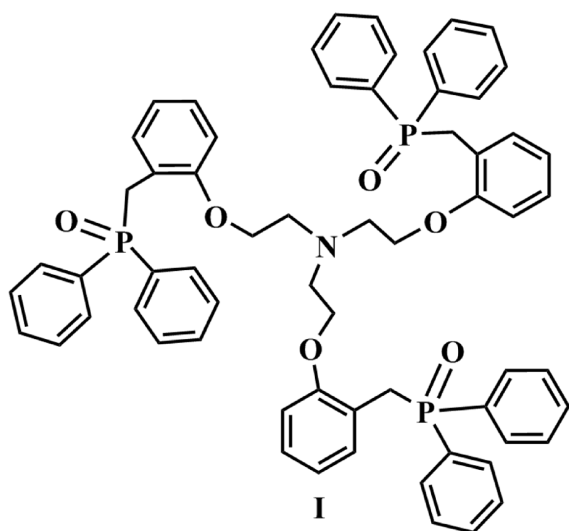


Рисунок 2. Фосфорилсодержащий ациклический поданд **I**.

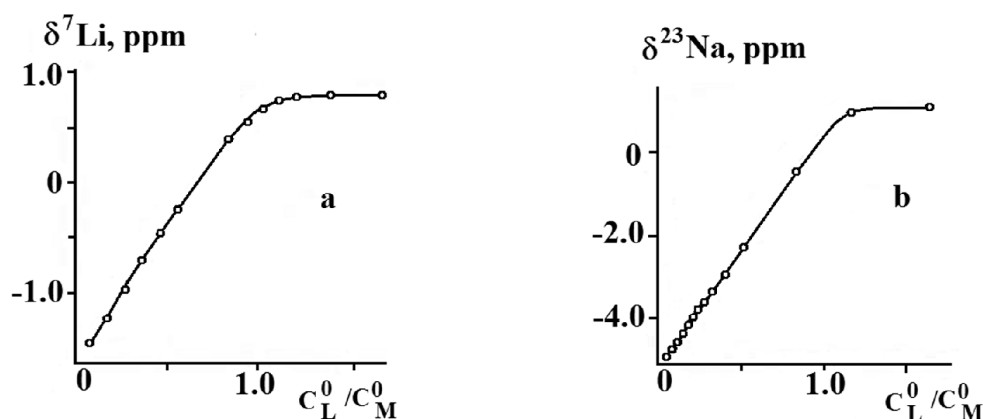


Рисунок 3. Зависимости химического сдвига в спектрах ЯМР  $^7\text{Li}$ (а) и  $^{23}\text{Na}$ (б) от соотношения  $C_L^0 / C_M^0$  поданда **I**.

Спектры ЯМР  $^7\text{Li}$  получены при концентрации соли  $\text{LiNCS} = 8$  ммоль/л титрованием её раствором лиганда, концентрация которого изменялась в диапазоне 0.7-12.0 ммоль/л. Аналогичные кривые титрования для ядра  $^{23}\text{Na}$  получены при концентрации соли  $\text{NaNCS}$  и лиганда соответственно 20.0 ммоль/л и 0.7-28.4 ммоль/л. Спектры ЯМР  $^7\text{Li}$  и  $^{23}\text{Na}$  представляют собой синглеты, ширина которых растёт с увеличением концентрации лиганда. Сигнал при этом смещается в слабое поле. Погрешность измерения химических сдвигов в спектрах ЯМР  $^7\text{Li}$  составляла  $\pm 0.006$  м.д., а в спектрах ЯМР  $^{23}\text{Na}$  –  $\pm 0.08$  м.д. вследствие существенно большей ширины сигнала. Эти погрешности на два порядка меньше наблюдаемых изменений в химических сдвигах, обусловленных комплексообразованием. На рисунке 3 представлены кривые зависимости химического сдвига в спектрах ЯМР  $^7\text{Li}$  (а) и  $^{23}\text{Na}$  (б) от концентрации поданда **I**. Расчёт констант равновесия комплексов и химических сдвигов по экспериментальным зависимостям рисунка 3 проводился вышеупомянутой методикой [29].

В таблице 3 приведены логарифмы констант устойчивости и значения химических сдвигов комплексов триподанда **I** с роданидами лития и натрия в ацетонитриле, полученные из экспериментов ЯМР  $^7\text{Li}$  и  $^{23}\text{Na}$ .

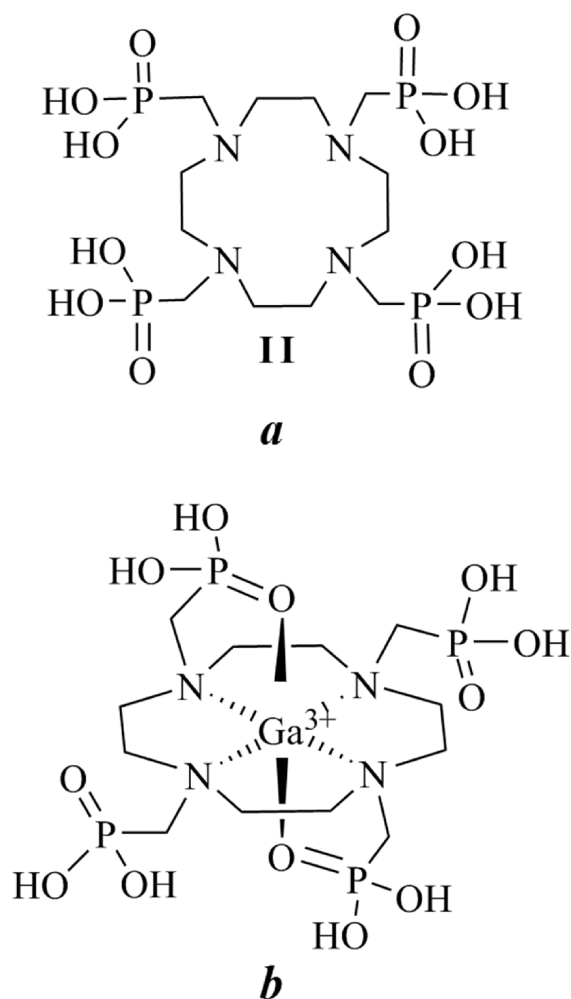
Таблица 3. Логарифмы констант устойчивости и химические сдвиги комплексов триподанда **I** (L) с  $\text{LiNCS}$  и  $\text{NaNCS}$  в ацетонитриле при  $288 \pm 1$  К

Salt	Complex	$\text{Lg}\beta^a$	$\delta$ , ppm <sup>a</sup>	signal width, Hz
LiNCS	$\text{LiL}^+$	4.1(0.4)	0.83(0.05)	
	$\text{Li}_2\text{L}^{2+}$	5.6(0.5)	0.46(0.12)	
	$\text{Li}_3\text{L}^{3+}$	7.8(0.4)	-0.92(0.25)	
NaNCS	$\text{NaL}^+$	3.29(0.25); 3.5 <sup>b</sup>	1.54(0.23)	18 <sup>c</sup> ; 507 <sup>d</sup>

Примечание. **a**: Логарифмы констант равновесий и химические сдвиги комплексов рассчитаны по экспериментальным значениям химических сдвигов в условиях быстрого обмена. Выборочные дисперсии измеренных величин указаны в скобках. **b**: Рассчитано по ширине сигнала ЯМР. **c**: Экспериментальное значение ширины сигнала ЯМР  $^{23}\text{NaNCS}$  в отсутствие лиганда. **d**: Расчётное значение ширины сигнала ЯМР  $^{23}\text{NaL}^+$ .

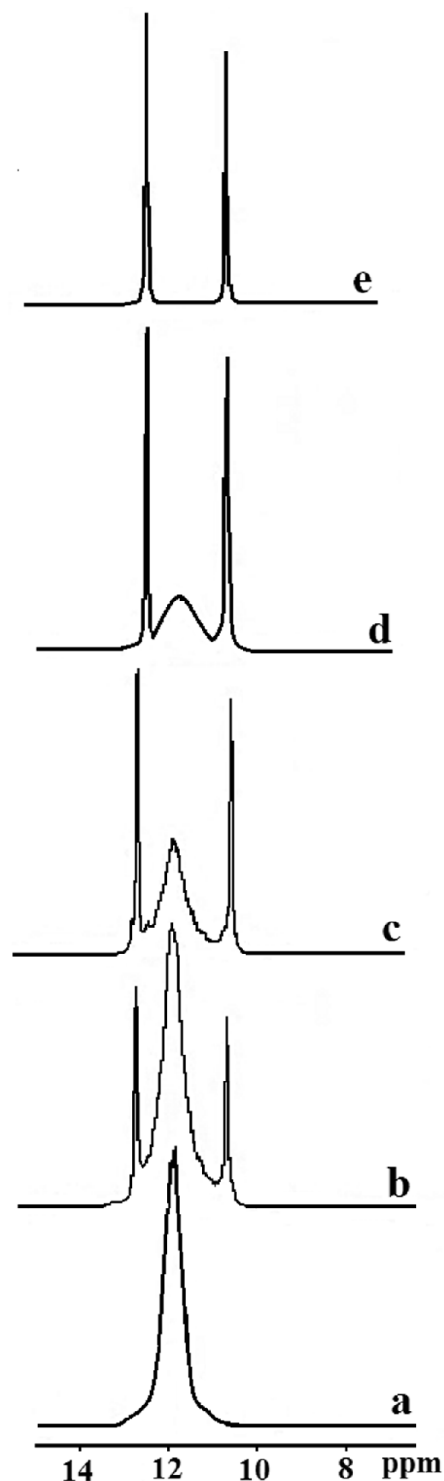
Кроме краун-эфиров и их ациклических аналогов перспективными комплексообразующими лигандами являются производные тетраазациклодекана (циклена), входящего в состав современных остеотропных радиофармпрепаратов (РФП). Интересные результаты получены при комплексообразовании фосфорилированного производного циклена – 1,4,7,10-тетраазациклодекан-1,4,7,10-тетраметилефосфоновой кислоты (**II**), рис. 4а) с катионом  $Ga^{3+}$  [23, 33] – в спектрах ЯМР сигналы связанных и свободных в динамике комплексообразования ядер разделяются.

Спектр  $^{31}P\{^1H\}$  соединения (**II**) представляет собой уширенный синглет с шириной  $\Delta \sim 33$  Гц с химическим сдвигом  $\delta = 11.83$  м.д. Анализ экспериментальных спектральных данных показывает, что взаимодействие (**II**) с катионом  $Ga^{3+}$  приводит к уменьшению интегральной интенсивности сигнала свободного лиганда при неизменной, в пределах погрешности эксперимента, его ширине и значении химического сдвига и, одновременно, к появлению двух новых, значительно более узких ( $\Delta \sim 4$  Гц и  $\Delta \sim 4.5$  Гц) сигналов близкой интенсивности при  $\delta = 12.63$  и  $10.68$  м.д., которые, по-видимому, можно отнести к образованию галлиевого комплекса. Одна из возможных его форм представлена на рисунке 4б.



**Рисунок 4.** Замещённый циклен **II** (а) и предполагаемая структура комплексного соединения  $Ga^{3+}$  (б).

Увеличение концентрации  $Ga^{3+}$  в исследуемом образце приводит к постепенному возрастанию интегральной интенсивности сигналов комплексного соединения, причём сигнал исходного лиганда, постепенно уменьшаясь, полностью исчезает при достижении эквимольных концентраций лиганда и  $Ga^{3+}$ . Полученные результаты представлены на рисунке 5.



**Рисунок 5.** ЯМР  $^{31}P\{^1H\}$  спектры свободного циклена **II** (а), спектры, полученные добавлением в исходный раствор 0.1 моль (б), 0.2 моль (с), 0.5 моль (д) и 1.0 моль (е)  $Ga(NO_3)_3$  при  $T=298$  К.

Предположительно, внедряясь в азотную нишу плоскости цикла, катион  $Ga^{3+}$  фиксируется в ней с двух сторон атомами кислорода фосфорильных фрагментов, попадая в своеобразную “ловушку” (рис. 4б). В результате обмен лиганд  $\rightleftharpoons$  комплекс практически отсутствует, вследствие чего в спектре одновременно фиксируются сигналы как образующегося комплекса, так и исходного свободного лиганда. Заметное сужение сигналов комплексного соединения по сравнению с сигналом свободного (**IIa**) можно объяснить тем, что связываясь с катионом галлия атомы азота и частично фосфорильные атомы кислорода не участвуют в процессе протонного обмена при образовании внутри- и межмолекулярных ассоциатов. При этом наблюдается противоположное направление сдвига сигналов различных фосфорильных групп комплекса относительно сигнала лиганда. Сигнал атомов фосфора, связанных с катионом  $Ga^{3+}$ , в результате дезэкранирования сдвигается в слабое поле относительно сигнала лиганда, в то время как магнитное экранирование ядер в несвязанных с катионом  $Ga^{3+}$  фосфорильных фрагментах способствует смещению сигнала в сильное поле. Несколько большая ширина сигнала, находящегося в сильном поле, также указывает на то, что его можно отнести к несвязанному с катионом галлия фосфорильным фрагментам.

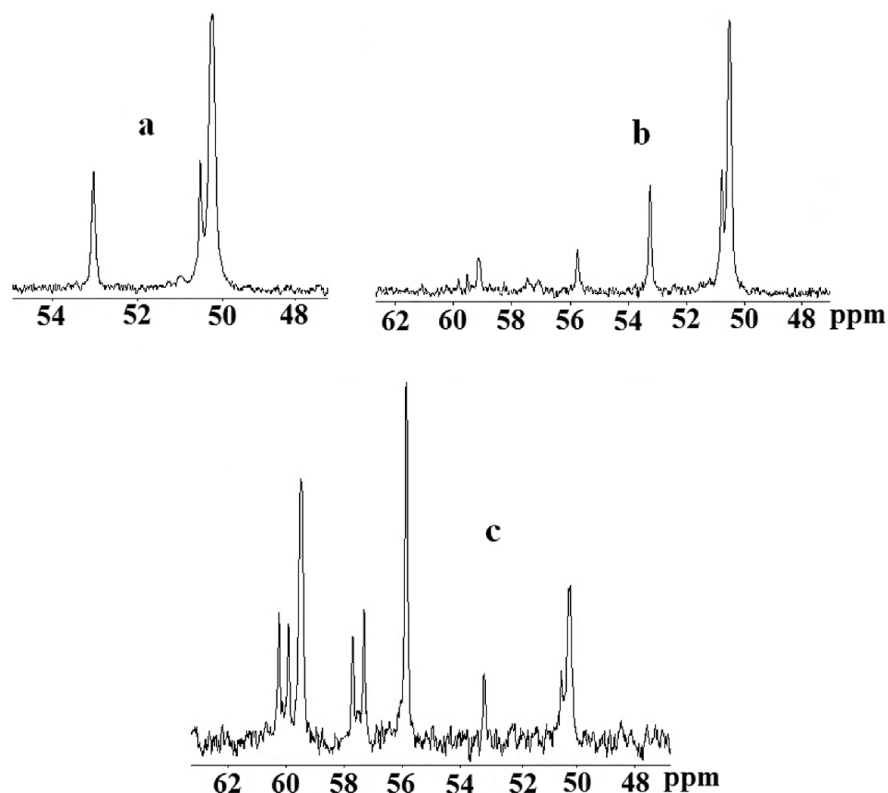
Спектр ЯМР  $^{13}C\{H\}$  циклена **IIa** содержит слабо расщеплённый сигнал при 50.27 м.д, соответствующий атомам цикленового фрагмента, и дублет с  $^1J_{CP}=132.8$  Гц, отнесённый к атомам углерода внешнecиклической метиленовой группы (рис. 6а).

При добавлении соли галлия в спектрах ЯМР  $^{13}C$  наблюдается уменьшение интенсивности сигналов свободного лиганда, и отмечается появление двух новых групп сигналов как экзоциклических, так и цикленовых  $-CH_2-$  фрагментов, указывающих на неэквивалентность не только метилефосфорильных фрагментов, но и углеродных атомов цикла, которая появляется при образовании комплекса (рис. 6б,с). Сигналы эти заметно сдвинуты в слабое поле. Незначительно изменяются также величины  $^1J_{CP}$ .

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Методами спектроскопии ЯМР исследованы процессы комплексообразования краун-эфиров, их ациклических аналогов (подандов) и производных циклена – органических лигандов, имеющих перспективы для практического применения в технике и медицине, с катионами биологически значимых металлов ( $Li^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Ga^{3+}$ ).

Установлено, что, несмотря на очень малую природную концентрацию магнитного изотопа кальция, чувствительность метода ЯМР  $^{43}Ca$  оказалась существенно выше, чем при калориметрических измерениях. Это позволило не только зафиксировать образование комплекса с небольшими константами устойчивости, но и установить его константы равновесия. Показано, что устойчивость комплексов  $CaL^{2+}$  с краун-эфирами и ациклическими подандами в водной среде существенно зависит от природы аниона. Установлена высокая селективность ациклического поданда к катионам лития и, в меньшей степени, натрия.



**Рисунок 6.** Спектры ЯМР  $^{13}C\{H\}$  лиганда IV: исходный лиганд (а); при добавлении 0.2 (б) и 0.5 (с) мольных эквивалента  $Ga(NO_3)_3$ .

Показана возможность применения метода ЯМР  $^{31}\text{P}$  и  $^{13}\text{C}$  для первичного тестирования комплексообразования цикленсодержащих фосфоновых кислот с катионом  $\text{Ga}^{3+}$  в  $\text{D}_2\text{O}$ . С помощью ЯМР  $^{31}\text{P}$  наглядно продемонстрировано, что циклен проявляет высокую способность к комплексообразованию с катионами  $\text{Ga}^{3+}$ , при этом процесс обмена лиганд - комплекс в растворе практически отсутствует, что открывает возможности для создания перспективных водорастворимых фосфорилированных лигандов для ядерной медицины.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена в рамках Государственного задания 2018 года (темы №0090-2017-0024 и 0081-2014-0015), РФФИ (грант № 18-03-00743) и частичной поддержке Программы Президиума РАН № 38.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Duca G. (2012) Homogeneous Catalysis with Metal Complexes: Fundamentals and Applications. Springer Science & Business Media, DOI: 10.1007/978-3-642-24629-6
2. Sasmal P.K., Streu C.N., Meggers E. (2013) Metal complex catalysis in living biological systems. *Chem Commun (Camb)*, 49(16), 1581-1587. DOI: 10.1039/c2cc37832a
3. Al Zoubi W. (2013) Solvent extraction of metal ions by use of Schiff bases. *Journal of Coordination Chemistry*, 66(13), 2264-2289. DOI: 10.1080/00958972.2013.803536
4. Zhang Z., Buffle J., van Leeuwen H.P., Wojciechowski K. (2006) Roles of Metal Ion Complexation and Membrane Permeability in the Metal Flux through Lipophilic Membranes. Labile Complexes at Permeation Liquid Membranes. *Analytical Chemistry*, 78(16), 5693-5703 DOI: 10.1021/ac060299p
5. Hamilton A.D., Fan E., van Arman S., Vicent C., Tellado F.G., Geib S.J. (1993) Molecular recognition. Design of new receptors for complexation and catalysis. *Supramolecular Chemistry*, 1(3-4), 247-252. DOI: 10.1080/10610279308035167
6. Vendsborg P.B., Vilstrup H. (1976) The Influence of Lithium on Carbohydrate and Lipid Metabolism in the Perfused Rat Liver. *Acta Pharmacologica et Toxicologica*, 38(1), 10-16. DOI: 10.1111/j.1600-0773.1976.tb03093.x
7. Kaas G.A., Kasuya J., Lansdon P., Ueda A., Iyengar A., Wu C.-F., Kitamoto T. (2016) Lithium-Responsive Seizure-Like Hyperexcitability Is Caused by a Mutation in the Drosophila Voltage-Gated Sodium Channel Gene paralytic. *eNeuro*, 3(5), 1-23. DOI: 10.1523/ENEURO.0221-16.2016
8. de Sousa R.T., Streck E.L., Zanetti M.V., Ferreira G.K., Diniz B.S., Brunoni A.R., Busatto G.F., Gattaz W.F., Machado-Vieira R. (2015) Lithium increases leukocyte mitochondrial complex I activity in bipolar disorder during depressive episodes. *Psychopharmacology*, 232(1), 245-250. DOI: 10.1007/s00213-014-3655-6
9. Freeman M.P., Freeman S.A. (2006) Lithium: Clinical Considerations in Internal Medicine. *The American Journal of Medicine*, 119(6), 478-481. DOI: 10.1016/j.amjmed.2005.11.003
10. Baum R.P., Rosch F. (2013) Theranostics, Gallium-68, and other radionuclides. Heidelberg, New York, Dordrecht, London: Springer. DOI: 10.1007/978-3-642-27994-2
11. Velikyan I. (2015) Continued rapid growth in (68)Ga applications: update 2013 to June 2014. *J. Label Compd. Radiopharm.*, 58(3), 99-121. DOI: 10.1002/jlcr.3250
12. Larenkov A.A., Kodina G.E., Bruskin A.B. (2011) Gallium Radionuclides in Nuclear Medicine: Radiopharmaceuticals Based on  $^{68}\text{Ga}$ . *Medical Radiology and Radiation Safety*, Russian edition 56(5), 56-73.
13. Welch M.J., McCarthy T.J. (2000) The potential role of generator-produced radiopharmaceuticals in clinical PET. *The Journal of Nuclear Medicine*, 41(2), 315-317.
14. Hughes M.N. (1983) *The Inorganic Chemistry of Biological Processes*. John Wiley and Sons Chichester, New York, Brisbane, Toronto.
15. Martell A.E. (1981) Chemistry of Carcinogenic Metals. *Environmental Health Perspectives* 40, 207-226.
16. Lehn J.M. (1979) Macrocyclic receptor molecules: Aspects of chemical reactivity. Investigations into molecular catalysis and transport processes. *Pure and Applied Chemistry*, 51(5), 979-997.
17. Bogatsky A.V. (1983) Achievements and New Trends in the Chemistry of Synthetic Macrocyclic Complexons. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry (Bioorganicheskaya khimiya)*, Russian edition 9(11), 1445-1482.
18. Peters S.J., Stevenson C.D. (2004) The Complexation of the  $\text{Na}^+$  by 18-Crown-6. Studied via Nuclear Magnetic Resonance. *J. Chem. Education*, 81(5), 715-720. DOI: 10.1021/ed081p715
19. Shamsipur M., Irandoust M. (2012)  $^7\text{Li}$ -NMR study of the stoichiometry, stability and exchange kinetics of  $\text{Li}^+$  ion with 12-Crown-4, 15-Crown-5 and cryptands C222, C221 and C211 in 50% ionic liquid-acetonitrile mixtures. *Polyhedron* 31(1), 395-401. DOI: 10.1016/j.poly.2011.09.028
20. Wadas T.J., Wong E.H., Weisman G.R., Anderson C.J. (2010) Coordinating radiometals of copper, gallium, indium, yttrium, and zirconium for PET and SPECT imaging of disease. *Chem. Rev.*, 110(5), 2858-2902. DOI: 10.1021/cr900325h
21. Esteves C.V., Madureira J., Lima L.M.P., Mateus P., Bento I., Delgado R. (2014) Gallium(III) Complexes of trans-Bis(2-hydroxybenzyl) Cyclen Derivatives: Absence of a Cross-Bridge Proves Surprisingly More Favorable. *Inorg. Chem.*, 53(9), 4371-4386. DOI: 10.1021/ic403156h
22. Fielding L. (2007) NMR methods for the determination of protein-ligand dissociation constants. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 51(4), 219-242. DOI: 10.1016/j.pnmrs.2007.04.001
23. Tsebrikova G.S., Baulin V.E., Kalashnikova I.P., Tsivadze A.Y., Ragulin V.V., Zavel'skii V.O., Maruk A.Y., Lunev A.S., Klement'eva O.E., Kodina G.E. (2015) Cyclen-containing phosphonic acids as components of osteotropic  $^{68}\text{Ga}$  radiopharmaceuticals. *Russian Journal of General Chemistry*, 85(9), 2071-2079. DOI: 10.1134/S1070363215090091
24. Solov'ev V.P., Baulin V.E., Strakhova N.N., Govorkova L.V. (1994) Thermodynamics and selectivity of complexation of lithium and sodium thiocyanates with phosphorus-containing podands and compounds modeling the terminal groups of these podands. *Russian Chemical Bulletin*, 43(9), 1493-1499. DOI: 10.1007/BF00697134
25. Baulin V.E., Solov'ev V.P., Strakhova N.N., Kazachenko V.P., Zavel'skii V.O. (1996) Complexation of neutral phosphoryl-containing tripodandtris[*o*-diphenylphosphinoylmethyl]phenoxy-ethyl]amine and analysis of its cationic selectivity to lithium, sodium, and potassium in acetonitrile: Lithium selectivity and polynuclear complexes. *Russian Journal of Coordination Chemistry*, 22(4), 238-244.
26. Lazar I., Hrnčir D.C., Kim W.-D., Kiefer G.E., Sherry A.D. (1992) Optimized synthesis, structure, and solution dynamics of 1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetrakis(methyl-

- enephosphonic acid) (H8DOTP). Inorg. Chem., 31(21), 4422-4424. DOI: 10.1021/ic00047a034
27. Novikov V.P., Raevskii O.A. (1983) Calculation of equilibria in solutions by combined treatment of data from different physicochemical methods. Russian Chemical Bulletin, 32(6), 1208-1212. DOI: 10.1007/BF00953158
28. Himmelblau D.M. (1976) Applied nonlinear programming. New York [etc.]: McGraw-Hill.
29. Hartley F.R., Burgess C., Alcock R.M. (1983) Solution equilibria. (Chichester etc.).
30. Solov'ev V.P., Govorkova L.V., Raevskii O.A., Baulin V.E., Syundyukova V.K., Tsvetkov E.N. (1991) Phosphorus-containing podands. 6. Calorimetric study of complexation of 1,17-bis (diphenylphosphinyl)-3,6,9,12,15-pentaoxaheptadecane with alkali and alkaline-earth metal salts in acetonitrile. Bulletin of the Academy of Sciences of the USSR. Division of Chemical Sciences, 40(3), 497-502. DOI: 10.1007/BF00957983
31. Zavel'sky V.O., Kazachenko V.P., Novikov V.P., Solov'ev V.P., Raevskiy O.A. (1986) Russian Journal of Coordination Chemistry (Koordinationnaya Khimiya), Russian edition. 12(8), 1060-1062.
32. Efimov A.I., Belorukova L.P., Vasilkova I.V., Chechev V.P. (1983) Properties of inorganic compounds. Reference book. Leningrad. Chemistry. p. 383.
33. Tsebrikova G.S., Baulin V.E., Kalashnikova I.P., Ragulin V.V., Zavel'sky V.O., Maruk A.Y., Klementyeva O.E., Kodina G.E., Tsivadze A.Y. (2015) Synthesis of cyclene-phosphonic acid derivatives and preliminary investigation of Ga<sup>3+</sup> binding by NMR and TLC. The Journal of Nuclear Medicine, 56(5), (supplement 2), 23. DOI: 10.2967/jnm565abs

Поступила: 19. 05. 2018.

Принята к публикации: 10. 09. 2018.

## NMR STUDY OF THE COMPLEX FORMATION IN SOLUTION

*V.O. Zavel'sky\*, I.P. Kalashnikova, V.P. Kazachenko, V.E. Baulin, O.A. Raevsky*

Institute of Physiologically Active Compounds of the Russian Academy of Sciences,  
1 Severny proezd, Moscow region, Chernogolovka, 142432 Russia; \*e-mail: zvl@ipac.ac.ru

NMR spectroscopy has been used to study the complexation of organic ligands, potentially interesting for biology and medicine, with biologically significant metal ions (Li<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Ga<sup>3+</sup>). The possibilities and advantages of NMR spectroscopy methods in the study of complex formation are shown. A high sensitivity of the NMR signal to the formation of a complex even with a very small natural concentration of the magnetic isotopes is detected. The formation of a complex with a low stability constant has been found by <sup>43</sup>Ca NMR spectroscopy. The equilibrium constants of the complexes and the parameters of their NMR spectra are obtained. The possibility of using the <sup>31</sup>P and <sup>13</sup>C NMR method for initial testing of the complexation of cyclene derivatives with the cation Ga<sup>3+</sup> in D<sub>2</sub>O is shown.

**Key words:** NMR spectroscopy; complex formation; ligand; crown ethers; podand; cyclen

## ACKNOWLEDGMENTS

This work was implemented within the framework of State task 2018 (No. 0090-2017-0024 and 0081-2014-0015), Russian Foundation for Basic Research (grant No. 18-03-00743) and partial financial support by the Program for Basic Research No. 38.