

На правах рукописи

ГОЛУБЕВА Юлия Андреевна

**РАЗНОЛИГАНДНЫЕ КОМПЛЕКСНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ МЕДИ(II),
КОБАЛЬТА(II), НИКЕЛЯ(II) И МАРГАНЦА(II)
С ОЛИГОПИРИДИНАМИ И ПРОИЗВОДНЫМИ ТЕТРАЗОЛА И
ИЗОТИАЗОЛА: СИНТЕЗ, СТРОЕНИЕ И ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ
АКТИВНОСТЬ**

1.4.1. Неорганическая химия (химические науки)

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Новосибирск – 2022

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт неорганической химии им. А.В. Николаева Сибирского отделения Российской академии наук (ИНХ СО РАН)

Научный руководитель:

кандидат химических наук, старший научный сотрудник
Лидер Елизавета Викторовна

Официальные оппоненты:

доктор химических наук, доцент,
заведующий кафедрой физической и коллоидной химии
Щербаков Игорь Николаевич
ФГАОУ ВО Южный федеральный университет, г. Ростов-на Дону

кандидат химических наук,
доцент кафедры медицинской химии и тонкого органического синтеза
Назаров Алексей Анатольевич
ФГБОУ ВО Московский государственный университет
имени М. В. Ломоносова, г. Москва

Ведущая организация:

ФГБУН Институт общей и неорганической химии имени Н.С. Курнакова
Российской академии наук, г. Москва

Защита состоится «22» июня 2022 г. в 10.00 час.
на заседании диссертационного совета 24.1.086.01
на базе ИНХ СО РАН по адресу:
просп. Академика Лаврентьева, 3, г. Новосибирск, 630090

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИНХ СО РАН
и на сайте организации по адресу:

<http://www.niic.nsc.ru/institute/dissertatsionnyj-sovets/>

Автореферат разослан «28» апреля 2022 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор химических наук, доцент

А.С. Потапов

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В последнее время все больший интерес вызывает возможность использования координационных соединений переходных металлов в качестве потенциальных терапевтических агентов. Данная область применения малоизучена, тем не менее некоторые соединения, содержащие платину (цисплатин – при опухолевых заболеваниях), золото (ауранофин – при ревматоидном артрите), технеций, рений (в качестве радиофармпрепаратов) и другие металлы, уже широко используются в медицине благодаря своей высокой эффективности.

Онкологические заболевания являются немаловажной проблемой современной медицины. В Российской Федерации проблема роста заболеваемости населения злокачественными новообразованиями с каждым годом становится все более актуальной. По данным Международного Агентства по Исследованию Рака за 2020 год (Global Cancer Observatory, <https://gco.iarc.fr/>) Россия занимает 5-е место в мире по числу смертей от онкологических заболеваний (312 122 случая в год) и 7-е место по числу случаев заболевания (591 371 случай в год). К сожалению, до сих пор не существует действенных способов профилактики опухолевых заболеваний, а наиболее эффективным методом для лечения большинства видов опухолей является хирургическое удаление, а на поздних стадиях широко используются и лучевая терапия, и химиотерапия. Лекарства на основе платины (цисплатин и его аналоги) по-прежнему относятся к одним из наиболее эффективных препаратов, используемых в химиотерапии против некоторых типов опухолей. В тоже время появление серьезных побочных эффектов и возникновение у пациентов резистентности к лекарственным средствам на основе платины ограничивает их клиническое применение. Это стимулирует поиск биологически активных соединений, обладающих альтернативным механизмом действия по сравнению с существующими лекарствами с целью снижения возможных побочных эффектов лечения, улучшения клинической эффективности и расширения спектра действия. Одним из актуальных направлений является поиск потенциальных противоопухолевых агентов на основе эссенциальных металлов (жизненно необходимых человеку микроэлементов), которые, как предполагается, будут менее токсичными по сравнению с платиновыми аналогами.

За последние годы опубликовано большое количество статей о гомолигандных и разнолигандных комплексах эссенциальных металлов третьего переходного ряда с 2,2'-бипиридином, 1,10-фенантролином и их производными, проявляющих широкий спектр биологических свойств (цитотоксическая, антиоксидантная, антибактериальная, противовирусная и другие виды активности) в условиях *in vitro* и *in vivo*. Данная область координационной химии активно развивается, при этом большое внимание ученых привлекают именно цитотоксичные комплексы меди(II)

с олигопиридинами. Ещё в 1979 году была открыта нуклеазная активность соединений меди с 1,10-фенантролином, которые на данный момент представляют собой один из наиболее изученных примеров комплексов металлов, способных взаимодействовать и расщеплять основную цепь ДНК/РНК. Интерес к подобным соединениям как потенциальным противоопухолевым агентам не угасал, и в 1990-е годы L. Ruiz-Azuaga с коллегами разработали серию цитотоксичных комплексов меди(II) с общей формулой $[\text{Cu}(\text{олигопиридин})(\text{H}_2\text{O})\text{L}]\text{NO}_3$, где L – аминокислота или ацетилацетонат, и запатентовали их под названием Casioreinas®. В настоящее время один из комплексов проходит первую фазу клинических исследований.

Известно, что свойства координационных соединений сильно зависят от природы и типа лигандного окружения. В связи с этим замена лиганда L в комплексах серии Casioreinas может привести к существенным изменениям цитотоксических свойств, растворимости, биодоступности и др. Производные тетразола и изотиазола являются перспективными лигандами для получения разнолигандных цитотоксичных комплексов эссенциальных металлов. На основе металлокомплексов ионов переходных металлов с такими лигандами могут быть получены принципиально новые эффективные лекарственные средства. С применением данного подхода получены многообещающие результаты. Многие производные тетразола уже нашли свое применение в медицине в качестве препаратов, обладающих противовирусной, противогрибковой и антибактериальной активностью. Более того, тетразольный цикл является метаболически устойчивым, в результате чего препарат на его основе дольше остается в крови. Как правило, это сопровождается снижением острой токсичности. Помимо этого, полиазотистые гетероциклы являются эффективными комплексонами. У производных изотиазола также был выявлен ряд полезных свойств: полученные на основе изотиазолов пенициллины и цефалоспорины оказались высокоэффективными медицинскими препаратами, не уступающими по своей активности в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов ампициллину, кроме того, среди изотиазолов найдены препараты для лечения болезни Альцгеймера, противовоспалительные, противотромбозные и противоконвульсивные средства.

Поскольку координационные соединения эссенциальных металлов на основе олигопиридина и производных тетразола/изотиазола представляют фундаментальный интерес, а биологические эффекты, вызываемые разнолигандными комплексами, разнообразны, однако слабо изучены, разработка методов получения данных соединений и изучение их свойств является актуальной задачей для современной бионеорганической химии.

Степень разработанности темы исследования. Координационная и медицинская химия разнолигандных комплексов эссенциальных металлов на основе олигопиридинов активно развивается. Известны примеры цитотоксичных координационных соединений на основе олигопиридинов, в которых в качестве дополнительных лигандов использованы аминокислоты, N-донорные системы (терпиридин, имидазол, бензимидазол, тетразол), O-донорные системы (салициловая кислота, дикарбоновые кислоты), S-донорные системы (тиосемикарбазоны, дитиокарбаматы, тиомочевины), основания Шиффа и некоторые другие. Тем не менее имеющаяся информация плохо систематизирована, а иногда противоречива. Более того, такие перспективные фармакофоры как производные изотиазола и тетразола либо совсем не применяются для синтеза разнолигандных комплексов, либо упоминаются в качестве единичных примеров. Так, к моменту начала данной работы были известны разнолигандные комплексы меди(II) с олигопиридинами и 5-цианотетразолом, 5-фенилтетразолом, тетразол-5-уксусной кислотой, 5-(4-хлорофенил)-тетразолом, бис-(5-тетразолил)амином, 5-(пиримидин-2-ил)-тетразолом, 5-(пиридин-2-ил)-тетразолом и некоторыми другими производными тетразола. При этом комплексы 3d-металлов на основе изотиазола и олигопиридинов не представлены в литературе вовсе. Системный анализ биологических свойств вышеупомянутых разнолигандных комплексов также не проводился.

Целью диссертационной работы является получение серии комплексов меди(II) и ряда других переходных эссенциальных металлов с производными тетразола/изотиазола и олигопиридинами с последующим изучением их цитотоксических свойств.

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

– разработка методов получения и выделения в индивидуальном виде новых разнолигандных комплексов меди(II), кобальта(II), никеля(II) и марганца(II) на основе олигопиридинов и производных изотиазола/тетразола;

– детальная характеристика полученных соединений с использованием различных физико-химических методов исследования;

– установление кристаллических структур полученных комплексов;

– исследование стабильности комплексов в биосовместимых растворах с привлечением современных физико-химических методов (масс-спектрометрия с распылением в электрическом поле, электронная спектроскопия поглощения, ЭПР-спектроскопия замороженных растворов комплексов, кондуктометрия);

– скрининг цитотоксических свойств *in vitro* на различных клеточных линиях человека и изучение влияния комплексообразования на цитотоксическую активность;

– исследование возможности связывания комплексов с ДНК;

– поиск взаимосвязи между строением и цитотоксическими свойствами полученных соединений.

Научная новизна работы. Новизна диссертационной работы обусловлена тем, что в результате ее выполнения разработаны методики синтеза ранее неизвестных координационных соединений, проведена их структурная характеристика, что, несомненно, вносит вклад в развитие координационной химии. В частности, синтезировано и охарактеризовано 29 новых координационных соединений эссенциальных металлов на основе олигопиридинов (2,2'-бипиридин (**bipy**), 4,4'-диметил-2,2'-бипиридин (**dmbipy**), 1,10-фенантролин (**phen**), 4,7-диметил-1,10-фенантролин (**dmphen**), 1,10-фенантролин-5,6-дион (**phendione**)) и производных тетразола/изотиазола. Разнолигандные комплексы 3d-металлов на основе олигопиридинов и производных изотиазола получены впервые. Методом рентгеноструктурного анализа установлены молекулярные и кристаллические структуры 20 комплексов.

Экспериментально показано, что для комплексов меди(II) с олигопиридинами и производными тетразола, содержащими в пятом положении гетероцикла ароматические заместители (5-фенилтетразол (**HL¹**), 5-(4-хлорофенил)-тетразол (**HL²**), 5-бензилтетразол (**HL³**)), характерно образование биядерных комплексов. При использовании лиганда с менее объемным заместителем – 5-метилтетразола (**HL⁴**) – возможно образование полимерных структур.

Тетразолы и комплексы с производными тетразолов слабо изучены как противоопухолевые агенты, одной из возможных причин этого является склонность тетразолов к образованию практически нерастворимых координационных полимеров, что ограничивает их применение в медицине. В рамках данной работы удалось повысить растворимость комплексов за счет сочетания нескольких лигандов и синтеза моно- и биядерных соединений. В результате получены цитотоксичные комплексы меди(II) с олигопиридинами и 5-метилтетразолом, которые растворяются в воде. Комплексы на основе 4,5-дихлороизотиазол-3-карбоновой кислоты (**HL⁵**) также обладают растворимостью в воде.

Подробно исследовано поведение разнолигандных комплексов меди(II) с олигопиридинами и 5-метилтетразолом/4,5-дихлороизотиазол-3-карбоновой кислотой в растворе. Для комплексов с **HL⁵** предложена схема ионизации в растворе этанола с образованием катионов $[\text{Cu}(\text{олигопиридин})_2\text{L}^5]^+$. Показано, что образующиеся комплексные ионы стабильны в течение 48 часов как в водных, так и неводных растворах.

Впервые изучены цитотоксические свойства разнолигандных комплексов эссенциальных металлов с олигопиридинами и производными тетразола, изотиазола. Показано, что большинство полученных разнолигандных комплексов меди(II) в диапазоне концентраций 0,1-50 мкМ обладают выраженной дозозависимой цитотоксической активностью,

сравнимой или превышающей таковую для цисплатина и карбоплатина. Установлено, что возникновение токсичности по отношению к опухолевым клеточным линиям обусловлено именно фрагментом медь(II)-олигопиридин, а наличие второго лиганда – производного тетразола или изотиазола – не оказывает значительного эффекта на цитотоксические свойства комплексов, однако влияет на стабильность и растворимость получаемых соединений. Показано, что координация олигопиридинов и производных тетразола/изотиазола к таким эссенциальным металлам как кобальт, никель и марганец приводит к образованию соединений с гораздо меньшими токсическими свойствами по сравнению с комплексами меди.

Теоретическая и практическая значимость работы. Разработка методик синтеза координационных соединений, содержащих олигопиридины и производные тетразола/изотиазола, является существенным вкладом в фундаментальные знания в области координационной химии. Полученные структурные данные депонированы в Кембриджский банк структурных данных и доступны мировому научному сообществу. Установленные закономерности изменения цитотоксических свойств комплексов в зависимости от структуры могут быть впоследствии использованы для направленного получения новых соединений с заданными функциональными свойствами и цитотоксичных / цитостатических препаратов на их основе для биомедицинского применения. Полученные в рамках выполнения диссертационной работы координационные соединения меди(II) на основе 1,10-фенантролина и производных тетразола/изотиазола проявляют выраженную цитотоксическую активность сравнимую и даже превышающую активность цисплатина, а значит, могут являться потенциальными противоопухолевыми агентами.

Методология и методы диссертационного исследования. Представленная работа проведена в области синтетической химии координационных соединений. Методология исследования включает в себя разработку методик синтеза новых комплексов меди(II), кобальта(II), никеля(II), марганца(II) с олигопиридинами и производными тетразола/изотиазола, получение пригодных для рентгеноструктурного анализа монокристаллов, изучение состава, строения и физико-химических свойств полученных комплексов, а также их цитотоксической активности *in vitro*. Для характеристики комплексов использованы следующие физико-химические методы анализа: элементный анализ (СНН), рентгеноструктурный анализ (РСА), рентгенофазовый анализ (РФА), инфракрасная спектроскопия (ИК), ЭПР-спектроскопия (ЭПР), термический анализ (ТГА), электронная спектроскопия поглощения (СДО и UV-vis). Для изучения поведения комплексов в растворе в настоящей работе использованы масс-спектрометрия с распылением в электрическом поле, электронная спектроскопия поглощения, ЭПР-спектроскопия

замороженных растворов комплексов, а также кондуктометрия. Изучение цитотоксических свойств комплексов проводилось методом флуоресцентной микроскопии на приборе, позволяющем осуществлять высокопроизводительный клеточный скрининг. Для исследования возможности связывания соединений с ДНК использована электронная спектроскопия поглощения.

Положения, выносимые на защиту:

– методики синтеза новых комплексов меди(II), кобальта(II), никеля(II), марганца(II) с олигопиридинами и производными тетразола/изотиазола;

– данные о кристаллических структурах 20 новых комплексных соединений;

– результаты исследования стабильности комплексов в биосовместимых растворах методами масс-спектрометрии, ЭПР-спектроскопии, электронной спектроскопии поглощения, кондуктометрии;

– результаты исследования цитотоксических свойств комплексов по отношению к различным раковым и одной нераковой клеточным линиям человека.

Личный вклад автора. Автором самостоятельно проводились синтезы комплексных соединений, осуществлялся подбор условий для выращивания монокристаллов, регистрация электронных спектров поглощения растворов комплексов, кондуктометрические измерения, а также пробоподготовка для записи масс-спектров, спектров ЭПР замороженных растворов и спектров диффузного отражения. Работы по исследованию цитотоксической активности полученных соединений и интерпретация результатов выполнены совместно с м.н.с. Л.С. Ключовой (НИИМББ ФИЦ ФТМ). Диссертант принимал непосредственное участие в планировании экспериментов, постановке задач, обработке и обобщении данных физико-химических методов исследования, сопоставлении их с литературными данными, формулировке выводов. Совместно с научным руководителем и соавторами проводилась подготовка статей и тезисов докладов к публикации.

Апробация работы. Результаты, полученные в рамках работы по теме диссертации, докладывались автором на международных и российских конференциях: International Conference on Coordination Chemistry (2018, Sendai, Japan), 5 EuChemS Inorganic Chemistry Conference (2019, г. Москва), XXI Менделеевский съезд по общей и прикладной химии (2019, г. Санкт-Петербург), XVI Международная конференция спектроскопия координационных соединений (2019, г. Туапсе), XII Международная научно-практическая конференция студентов и молодых ученых «Химия и химическая технология в XXI веке» (2021, г. Томск), XXVIII Международная Чугаевская конференция

по Координационной химии (2021, г. Туапсе), Всероссийский Конгресс «KOST-2021» (2021, г. Сочи).

Публикации. Результаты работы представлены в 7 статьях в рецензируемых журналах, входящих в перечень индексируемых в международной системе научного цитирования Web of Science, из них 6 статей – в международных журналах и 1 статья – в российском журнале. Опубликовано тезисы 8 докладов на российских и зарубежных конференциях.

Степень достоверности результатов исследования. Воспроизводимость полученных результатов и согласованность данных различных физико-химических методов исследования подтверждают достоверность результатов. Публикации в рецензируемых международных и российских журналах свидетельствуют о значимости полученных результатов и их признании мировым научным сообществом.

Соответствие специальности 1.4.1. Неорганическая химия. Диссертационная работа соответствует следующим направлениям исследований специальности 1.4.1. Неорганическая химия (химические науки): «Фундаментальные основы получения объектов исследования неорганической химии и материалов на их основе», «Дизайн и синтез новых неорганических соединений и особо чистых веществ с заданными свойствами», «Взаимосвязь между составом, строением и свойствами неорганических соединений. Неорганические наноструктурированные материалы» и «Процессы комплексообразования и реакционная способность координационных соединений, Реакции координированных лигандов».

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 152 страницах, содержит 103 рисунка и 23 таблицы. Работа состоит из введения, обзора литературы (гл. 1), экспериментальной части (гл. 2), результатов и их обсуждений (гл. 3), заключения, выводов, списка цитируемой литературы (178 наименований) и приложений на 24 страницах, в которых приведены дополнительные данные по диссертационной работе.

Диссертационная работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт неорганической химии им. А.В. Николаева Сибирского отделения Российской академии наук (ИНХ СО РАН) в соответствии с Программой фундаментальных научных исследований ИНХ СО РАН по приоритетному направлению V.44. «Фундаментальные основы химии», программа ФНИ СО РАН V.44.4. «Развитие научных основ направленного синтеза новых неорганических и координационных соединений и функциональных материалов на их основе», базовый проект лаборатории V.44.4.1. Синтез, строение и функциональные свойства новых супрамолекулярных и комплексных соединений, в том числе координационных полимеров

(№ 0300-2019-0013). Также работа проводилась в рамках проектов РНФ № 18-73-00294 (руководитель Е.В. Лидер), РНФ № 20-73-10207 (руководитель Е.В. Лидер), РФФИ № 19-43-543019 р_мол_а совместно с Правительством Новосибирской области (руководитель Ю.А. Голубева), № 20-33-90092_Аспиранты (руководитель Е.В. Лидер). Исследование было поддержано премией им. академика А.В. Николаева за успехи в научной работе (2019, 2020, 2021 г.г., ИНХ СО РАН), стипендией Президента Российской Федерации (2020, 2021 г.г.), стипендией Правительства Российской Федерации (2021 г.).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во **введении** обоснована актуальность темы, поставлена цель и определены задачи исследования, сформулированы научная новизна, практическая значимость работы и положения, выносимые на защиту.

Первая глава представляет собой обзор литературы в области синтеза, строения и свойств разнолигандных комплексов эссенциальных металлов на основе олигопиридинов. Данная глава разделена на несколько смысловых частей, первая из которых посвящена свойствам и реакционной способности 2,2'-бипиридина и 1,10-фенантролина. Далее представлены наиболее интересные примеры координационных соединений эссенциальных металлов на основе олигопиридинов и различных N, O, S-донорных лигандов: их синтез, структурные особенности, цитотоксические свойства и некоторые другие виды биологической активности. В заключительной части первой главы обсуждаются предполагаемые механизмы цитотоксического действия описанных комплексов, а также приведены результаты исследований *in vivo* для некоторых соединений.

Во **второй главе** содержится описание использованных в работе реактивов и оборудования, методик синтеза комплексов, данных о характеристике соединений.

Третья глава посвящена обсуждению полученных результатов. В первом разделе данной главы описаны методики синтеза, результаты физико-химических методов исследования и кристаллические структуры для комплексов меди(II), кобальта(II), марганца(II) и никеля(II) с олигопиридинами и 4,5-дихлороизотиазол-3-карбоновой кислотой, производными тетразола (5-фенилтетразол, 5-(4-хлорофенил)-тетразол, 5-бензилтетразол, 5-метилтетразол) (табл. 1). В следующем разделе представлены результаты исследования поведения комплексов в растворе методами масс-спектрометрии, оптической спектроскопии, кондуктометрии и ЭПР-спектроскопии замороженных растворов. В заключительной части главы обсуждаются данные, полученные при исследовании цитотоксических свойств комплексов, лигандов и солей

металлов по отношению к различным клеточным линиям человека, а также продемонстрирована возможность связывания комплексов с ДНК.

Приложение содержит первичные экспериментальные данные физико-химических методов исследования, а также информацию о цитотоксических свойствах лигандов, солей металлов и некоторых референтных соединений.

Таблица 1. Список полученных соединений и методов их характеристики

Соединение	Методы характеристики
$[\text{Cu}_2(\text{bipy})_2(\text{L}^1)_4]$ (1)	СНН, РФА, ИК, СДО, ЭПР
$[\text{Cu}_2(\text{dmbipy})_2(\text{L}^1)_4]$ (2)	СНН, РСА, РФА, ИК, ЭПР
$[\text{Cu}_2(\text{phen})_2(\text{L}^1)_4]$ (3)	СНН, РФА, ИК, СДО, ЭПР
$[\text{Cu}_2(\text{dmphen})_2(\text{L}^1)_4]$ (4)	СНН, РФА, ИК, СДО, ЭПР
$[\text{Cu}(\text{phendione})(\text{L}^1)_2]$ (5)	СНН, РФА, ИК, ЭПР
$[\text{Co}_3(\text{phen})_2(\text{L}^1)_6]$ (6)	СНН, РФА, ИК
$[\text{Mn}_3(\text{phen})_2(\text{L}^1)_4(\text{OAc})_2]$ (7)	СНН, РСА, РФА, ТГА, ИК
$[\text{Cu}_2(\text{bipy})_2(\text{L}^2)_4] \cdot \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (8)	СНН, РСА, РФА, ИК, ЭПР
$[\text{Cu}_2(\text{dmbipy})_2(\text{L}^2)_4]$ (9)	СНН, РСА, РФА, ИК, ЭПР
$[\text{Cu}_2(\text{phen})_2(\text{L}^2)_4] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (10)	СНН, РФА, ИК, ТГА, ЭПР
$[\text{Cu}_2(\text{dmphen})_2(\text{L}^2)_4]$ (11)	СНН, РФА, ИК, ЭПР
$[\text{Cu}_2(\text{phendione})_2(\text{L}^2)_4] \cdot 2\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (12)	СНН, РСА, РФА, ИК
$[\text{Cu}_2(\text{bipy})_2(\text{L}^3)_4]$ (13)	СНН, РСА, РФА, ИК, ЭПР
$[\text{Cu}_2(\text{dmbipy})_2(\text{L}^3)_4] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (14)	СНН, РСА, РФА, ИК, ТГА, ЭПР
$[\text{Cu}(\text{phen})(\text{L}^3)_2]$ (15)	СНН, РФА, ИК, ЭПР
$[\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{L}^3)_2]$ (16)	СНН, РФА, ИК, ЭПР
$[\text{Cu}_2(\text{bipy})_2(\text{L}^4)_4]$ (17)	СНН, РСА, РФА, ИК, СДО, ЭПР
$[\text{Cu}(\text{dmbipy})(\text{L}^4)_2]$ (18)	СНН, РФА, ИК, СДО, ЭПР
$[\text{Cu}_2(\text{dmbipy})_2(\text{L}^4)_4]$ (18a)	СНН, РСА, РФА, ИК, ЭПР
$[\text{Cu}_2(\text{phen})_2(\text{L}^4)_4]$ (19)	СНН, РСА, РФА, ИК, СДО, ЭПР
$\{[\text{Cu}(\text{phen})(\text{L}^4)_2] \cdot \text{H}_2\text{O}\}_n$ (19a)	СНН, РСА, РФА, ИК
$[\text{Cu}_2(\text{dmphen})_2(\text{L}^4)_4]$ (20)	СНН, РФА, ИК, СДО, ЭПР
$[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})(\text{L}^5)_2]$ (21)	СНН, РФА, ИК, ТГА
$[\text{Cu}_2(\text{bipy})_2(\text{L}^5)_4]$ (22)	СНН, РСА, РФА, ИК, ЭПР
$[\text{Cu}(\text{dmbipy})(\text{L}^5)_2]$ (23)	СНН, РСА, РФА, ИК, СДО, ЭПР
$[\text{Cu}(\text{phen})(\text{H}_2\text{O})(\text{L}^5)_2]$ (24)	СНН, РСА, РФА, ИК, СДО, ЭПР
$[\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{L}^5)_2]$ (25)	СНН, РФА, ИК, ТГА, ЭПР
$[\text{Cu}(\text{phendione})(\text{L}^5)_2] \cdot \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (26)	СНН, РСА, РФА, ИК, ТГА, ЭПР
$[\text{Co}(\text{H}_2\text{O})_2(\text{L}^5)_2]$ (27)	СНН, РСА, РФА, ИК
$[\text{Ni}(\text{H}_2\text{O})_2(\text{L}^5)_2]$ (28)	СНН, РФА, ИК, ТГА
$[\text{Co}(\text{phen})(\text{L}^5)_2]$ (29)	СНН, РФА, ИК
$[\text{Ni}(\text{phen})(\text{L}^5)_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O} \cdot \text{EtOH}$ (30)	СНН, РСА, РФА, ИК
$[\text{Ni}(\text{phen})_2(\text{H}_2\text{O})(\text{L}^5)] \text{L}^5 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (31)	СНН, РСА, РФА, ИК

Комплексы меди(II), кобальта(II) и марганца(II) с производными тетразола и олигопиридинами

Комплексы **1-4, 6** получены по описанной в работе [1] методике взаимодействием водного раствора ацетата металла и соответствующего олигопиридинового лиганда, растворенного в этаноле, с последующим

добавлением этанольного раствора 5-фенилтетразола. Синтез комплекса **5** по аналогичной методике приводит к образованию продукта с низким выходом (~40%), при этом замена растворителя этанола на ацетонитрил обеспечивает двукратное увеличение выхода комплекса. При синтезе разнолигандного комплекса марганца(II) из водно-этанольного раствора 5-фенилтетразол не координируется к иону металла, поэтому методика синтеза была модифицирована: для получения комплекса **7** к смеси лигандов HL¹ и phen, растворенных в этаноле, присыпали твердый Mn(OAc)₂·4H₂O. Для синтеза комплексов **8-16** навески ацетата меди(II) и соответствующего олигопиридина смешивали и растворяли в водно-этанольных растворах с последующим добавлением HL²/HL³, растворенных в этаноле. Для синтеза комплексов в основном использовали мольное соотношение M:олигопиридин:HL¹⁻³ = 1:1:2.

Попытка синтезировать разнолигандные комплексы с 5-метилтетразолом из водно-этанольных растворов по методике, описанной в [1], приводит к образованию целевых соединений с низким выходом (10-20%, комплексы **18a**, **19a**). Это объясняется высокой растворимостью комплексов в данной смеси растворителей и в воде, в частности. Применение этанола в качестве единственного растворителя, увеличение концентрации металла и использование небольшого избытка олигопиридина (M:олигопиридин:HL⁴ = 1:1,3:2) приводит к увеличению выходов до 50-70%.

Комплексы меди(II) с олигопиридинами и HL¹-HL³ образуют в основном биядерные соединения за счет мостиковой функции тетразолатных циклов (рис. 1). Лиганды HL¹-HL³ в биядерных комплексах могут координироваться по бидентатно-мостиковому типу атомами N1, N2 или N2, N3, а также монодентатно атомами N2 гетероцикла.

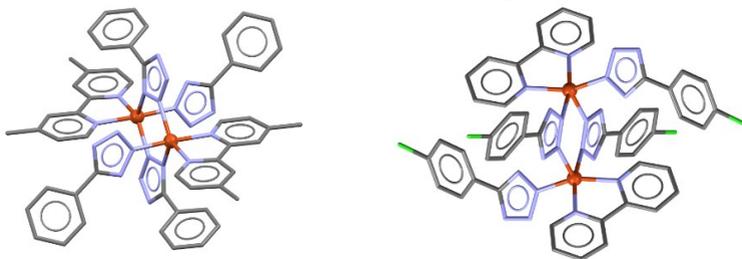


Рис. 1. Структуры комплексов **2** и **8**. Атомы водорода и молекулы растворителя не показаны

Разнолигандные комплексы марганца(II) и кобальта(II) с 5-фенилтетразолом являются трехъядерными. В частности, комплекс **7**·H₂O представляет собой линейную цепочку из трех атомов марганца, попарно соединенных посредством бидентатно-мостиковых 5-фенилтетразолат ионов, координированных атомами азота N2, N3, и

тридентатно-мостиковых ацетатных групп (рис. 2). К терминальным атомам марганца координированы по одной молекуле phen.

Координация депротонированного 5-метилтетразолатного звена в разнолигандных комплексах с олигопиридинами более разнообразна по сравнению с комплексами на основе $(L^{1-3})^-$, что обусловлено практически отсутствующими стерическими затруднениями, накладываемыми метильной группой. Так, в соединении **18a** атомы меди соединены мостиковыми

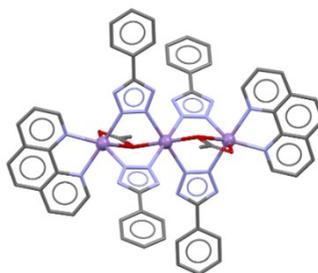


Рис. 2. Структура комплекса $7 \cdot H_2O$. Молекулы растворителя и атомы водорода не показаны

лигандами через атомы N1 и N2 тетразолатного цикла, как и в биядерных комплексах $[Cu(L^1)(N_3)(phen)]_2$ [2], $[Cu_2(dmbipy)_2(L^1)_4]$ и $[Cu_2(bipy/dmbipy)_2(L^3)_4]$, а в комплексах **17a**, **17** и **19** мостиковые тетразолатные лиганды координируются атомами N2, N3, как в $[Cu_2(bipy/phen)_2(L^1)_4]$ [1,3], $[Cu_2(bipy)_2(L^2)_4] \cdot C_2H_5OH$ и $[Cu_2(phen)_2(L^2)_4] \cdot DMF$ [4]. Существует также различие в способе координации монодентатно-связанного тетразолатного лиганда (атомом N1 в **17**, **18a**, **19**, **19a**, атомом N2 в **17a**). Среди разнолигандных комплексов меди(II) с олигопиридинами подобный N1 тип координации монодентатного тетразолатного звена наблюдается в случае использования незамещенного тетразола или лигандов с необъемными заместителями (5-метилтетразол, 5-цианотетразол). При использовании данных лигандов возможно образование как биядерных, так и полимерных структур (рис. 3).

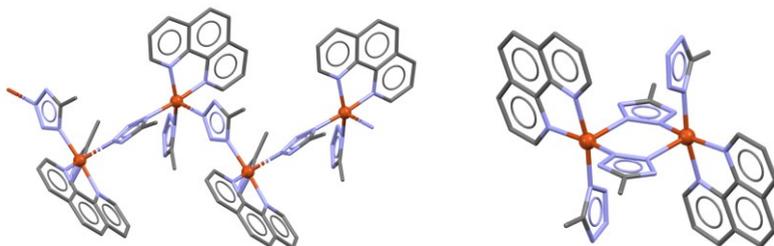


Рис. 3. Структуры комплексов **19a** (слева) и **19** (справа). Молекулы растворителя и атомы водорода не показаны

Комплексы меди(II), кобальта(II) и никеля(II) с 4,5-дихлороизотиазол-3-карбоновой кислотой и олигопиридинами

Комплексы меди(II) с производным изотиазола могут быть получены аналогично комплексам с производными тетразола путем последовательного добавления этанольных растворов олигопиридина и HL^5 к водному раствору ацетата меди(II) (рис. 4, способ I). Во избежание

выпадения из раствора кристаллов HL^5 необходимо использовать небольшой избыток олигопиридина и соли меди. При обратном порядке добавления лигандов (рис. 4, способ II) синтез проходит в несколько стадий: добавление этанольного раствора HL^5 к водному раствору ацетата меди(II) вызывает осаждение промежуточного соединения $[Cu(H_2O)(L^5)_2]$, которое затем отфильтровывается и используется для приготовления суспензии в органических растворителях (этанол, дихлорметан), добавление олигопиридина к суспензии приводит к растворению осадка и кристаллизации целевого продукта в течение некоторого времени. В синтезе по способу II использовали либо стехиометрическое соотношение реагентов, либо небольшой избыток олигопиридина по отношению к $[Cu(H_2O)(L^5)_2]$ (1:1,2-1,3). На схеме представлены те способы синтеза, при которых выход комплексов максимален.

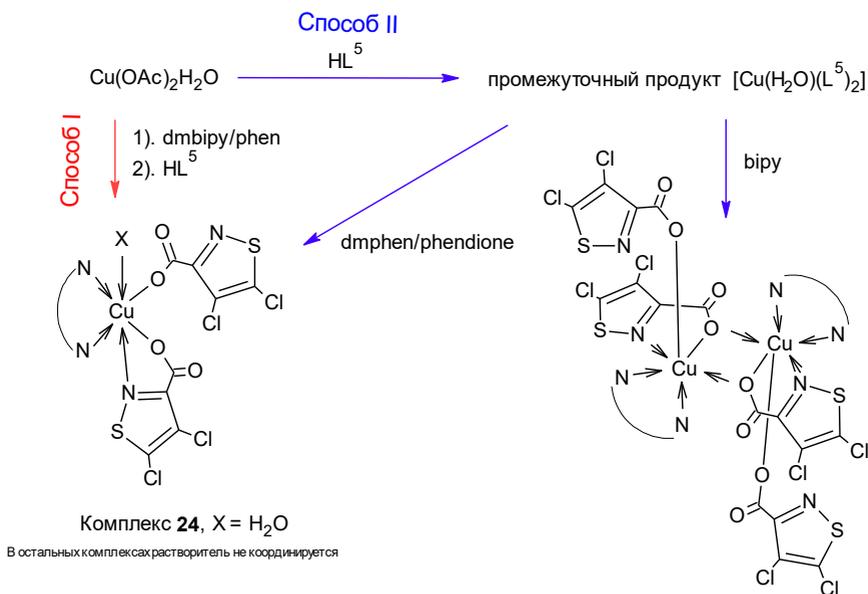


Рис. 4. Схема синтеза комплексов меди(II) с олигопиридинами и HL^5

Комплексы кобальта(II) и никеля(II) с phen получены по способу II через образование промежуточного соединения $[M(H_2O)_2(L^5)_2]$ ($M = Co, Ni$). При синтезе комплексов **29**, **30** использовано молярное соотношение реагентов $M:phen:HL^5 = 1:1,2:2$. При увеличении количества phen до 1,5 происходит координация второй молекулы phen и вытеснение одного аниона L^5 во внешнюю сферу, при этом образуется комплекс $[Ni(phen)_2(H_2O)(L^5)]L^5 \cdot 2H_2O$ (**31**).

Полученные разнолигандные комплексы на основе HL^5 являются моноядерными (рис. 5) за исключением $[Cu_2(bipy)_2(L^5)_4]$ (**22**).

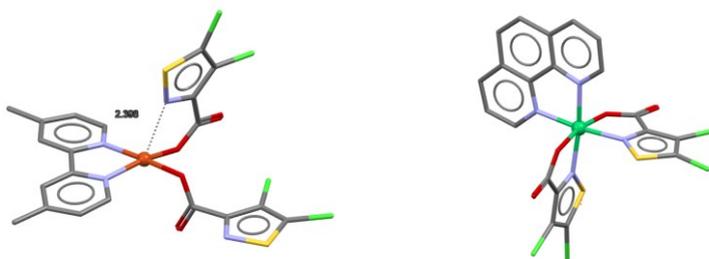


Рис. 5. Структуры комплексов **23** и **30**. Молекулы растворителя и атомы водорода не показаны

Во всех моноядерных комплексах к атому металла координируются по одному атому кислорода карбоксильных групп двух (L^5)⁻ и два атома азота олигопиридина, атом азота изотиазольного фрагмента может как участвовать в координации (**26**, **27**, **30**), так и образовывать короткий контакт (2,3-2,7 Å) с атомом меди (**22**, **23**, **24**). В частности, в случае комплекса **23** наличие короткого контакта приводит к образованию искаженного квадратно-пирамидального окружения меди по типу 4+1 (рис. 5). Можно предположить, что атом азота изотиазола обладает низкой координирующей способностью из-за наличия акцепторных заместителей – атомов хлора.

Исследование поведения комплексов в растворе

Поскольку исследования биологической активности проводятся в растворах, а комплексы могут подвергаться гидролизу, в результате чего изменяется их состав и строение, для более полного понимания механизма действия соединений необходимо изучение их поведения в биосовместимых жидкостях. Комплексы на основе HL^5 и олигопиридинов обладают более высокой растворимостью по сравнению с комплексами на основе тетразола, поэтому рассмотрим особенности поведения в растворе на их примере.

Для комплексов **22-25** записаны спектры диффузного отражения и спектры поглощения в видимой области спектра в воде, ДМСО и этаноле. Так, для $[Cu(dmbipy)(L^5)_2]$ (**23**) максимум полосы в СДО наблюдается при 608 нм, а в растворе он смещен в низкочастотную область спектра – 690-703 нм. Показано, что остальные комплексы ведут себя аналогичным образом. Это может являться следствием координации к иону меди(II) молекул растворителя, которые являются лигандами более слабого поля по сравнению с олигопиридинами. На примере комплекса $[Cu(dmbipy)(L^5)_2]$ показано, что соединение, образующееся в растворе ДМСО, стабильно в течение нескольких суток (рис. 6, справа), при этом в водном растворе в УФ-диапазоне виден гипохромный эффект при 295 и 308 нм

(рис. 6, слева), что может быть следствием медленного гидролиза комплекса в воде.

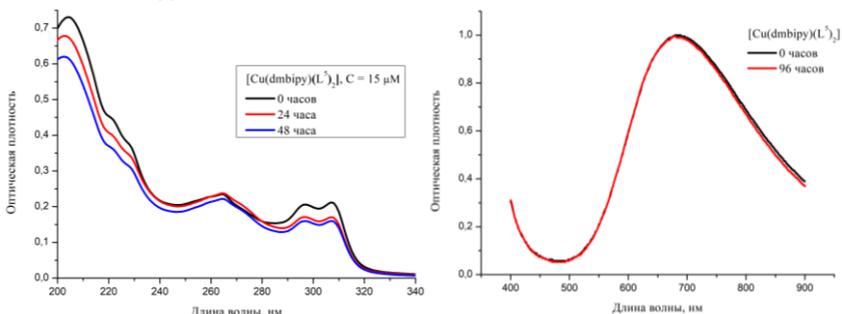


Рис. 6. Спектры поглощения комплекса **23** в УФ-диапазоне в водном растворе (слева) и в видимом диапазоне спектра в ДМСО (справа) в начальный момент времени, а также через 24, 48 или 96 часов

Для комплексов **22-25** записаны масс-спектры в растворе этанола ($C = 10$ мМ, электроспрей ионизация). В спектрах всех комплексов обнаружены четыре катионные формы – $[\text{Cu}(\text{олигопиридин})_2]^+$, $[\text{Cu}(\text{олигопиридин})L^5]^+$, $[\text{Cu}(\text{олигопиридин})_2L^5]^+$, $[\text{Cu}_2(\text{олигопиридин})_2L^5_3]^+$. Таким образом, комплексы диссоциируют в растворе этанола, при этом в растворе присутствуют разнолигандные фрагменты комплексов, составляющие исходные соединения. В связи с тем, что существует вероятность образования данных форм при ионизации в процессе регистрации масс-спектров, проведены дополнительные кондуктометрические исследования и записаны спектры ЭПР замороженных растворов комплексов меди(II).

В спектрах ЭПР замороженных при 77К этанольных растворов комплексов **22-25** наблюдается сверхтонкая структура от одного иона меди и четырех эквивалентных атомов азота, что может соответствовать катионному комплексу $[\text{Cu}(\text{олигопиридин})_2L^5]^+$ (рис. 7).

Для комплексов **23** и **24** значения молярной электропроводности составляют 127 и 148 $\text{См}\cdot\text{см}^2/\text{моль}$, что для водных растворов соответствует диссоциации на ионы по типу A^+B^- , либо находится на границе между A^+B^- и A_2B/AB_2 типами диссоциации [5].

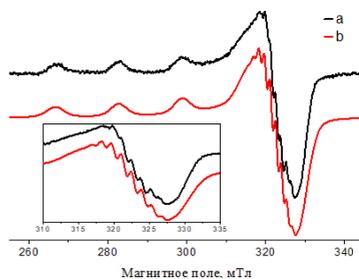
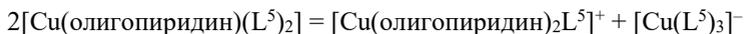


Рис. 7. Спектр ЭПР замороженного раствора $[\text{Cu}(\text{dmpen})(L^5)_2]^+$

Можно предположить, что диссоциация происходит согласно следующему уравнению:



Таким образом, данные ЭПР-спектроскопии согласуются с данными масс-спектрометрии и кондуктометрическими исследованиями, подтверждая предположение о том, что при растворении комплексов происходит перераспределение лигандов с образованием катионных и анионных комплексов согласно вышеприведенному уравнению.

Исследование цитотоксических свойств *in vitro*

Оценка влияния солей металлов, лигандов и комплексов на жизнеспособность раковых клеток проводилась на приборе IN Cell Analyzer 2200 (GE Healthcare, UK) методом двойного окрашивания флуоресцентными красителями Hoechst 33342 и пропидий йодидом. В исследовании использованы следующие клеточные линии: Hep-2 (карцинома гортани), MCF-7 (аденокарцинома молочной железы), HepG2 (гепатокарцинома) и HEK293-A (клетки из почек эмбрионов человека). Цитотоксические свойства изучались через 48 часов инкубации клеток с препаратами. Чтобы упростить сравнение цитотоксических свойств комплексов меди, при расчете концентрации биядерных соединений использована молярная масса моноядерного звена, т.е. полученные значения параметра IC₅₀ (концентрация препарата, при которой погибает 50% клеток) относятся к токсичности фрагмента [Cu(олигопиридин)L₂].

В результате исследования показано, что ацетаты меди(II), кобальта(II), марганца(II) и никеля(II), а также производные тетразола и изотиазола в диапазоне концентраций 1-50 мкМ не обладают цитотоксическими свойствами. Однако олигопиридины проявляют цитотоксическую активность, которая возрастает в следующем порядке: $\text{bipy} < \text{dmbipy} < \text{phen} < \text{dmphen} \sim \text{phendione}$.

Для разнолигандных комплексов меди(II) с олигопиридинами и лигандами HL¹-HL⁵ кроме комплекса **22** в диапазоне концентраций 0,1-50 мкМ выявлена дозозависимая цитотоксическая активность по отношению ко всем раковым клеточным линиям (табл. 2). Возрастание цитотоксических свойств комплексов происходит в том же порядке, что и в ряду лигандов-олигопиридинов. При этом цитотоксичность комплексов выше, чем цитотоксичность соответствующих свободных олигопиридинов за исключением соединений на основе phendione. Поскольку соли меди и лиганды HL¹-HL⁵ не проявляют активность в диапазоне концентраций 1-50 мкМ, а олигопиридины менее токсичны, чем соответствующие комплексы, полученные результаты можно объяснить совместным действием ионов меди и олигопиридинов. К соединениям с максимальной токсичностью относятся комплексы с dmphen и phendione **4, 5, 11, 12, 16, 19,**

20, 25 и 26. Значения параметра IC_{50} для данных комплексов находятся в диапазоне 0,70-4,4 мкМ на различных линиях клеток, что говорит о гораздо большей токсичности полученных соединений в сравнении с цисплатином ($IC_{50} = 9,2 \pm 0,5$ мкМ (Hep2)) и карбоплатином ($IC_{50} = 16,8 \pm 0,2$ мкМ (Hep2)).

Таблица 2. Значения IC_{50} для лигандов и разнолигандных комплексов с тетразолами и олигопиридинами (клеточные линии Hep-2, MCF-7 и HepG2, время инкубации 48 часов)

Соединение	IC_{50} , мкМ		
	Клетки Hep2	Клетки MCF-7	Клетки HepG2
$[Cu_2(bipy)_2(L^1)_4]$ (1)	> 50	$13,6 \pm 0,7$	$43,4 \pm 0,8$
$[Cu_2(dmbipy)_2(L^1)_4]$ (2)	$23,0 \pm 2,8$	$18,1 \pm 0,3$	$13,1 \pm 0,1$
$[Cu_2(phen)_2(L^1)_4]$ (3)	$5,3 \pm 0,3$	$11,7 \pm 3,1$	$5,0 \pm 0,2$
$[Cu_2(dmphen)_2(L^1)_4]$ (4)	$0,98 \pm 0,01$	$1,11 \pm 0,01$	$0,76 \pm 0,02$
$[Cu(phendione)(L^1)_2]$ (5)	$1,7 \pm 0,6$	$0,89 \pm 0,04$	$0,70 \pm 0,04$
$[Co_3(phen)_2(L^1)_6]$ (6)	> 50	> 50	> 50
$[Mn_3(phen)_2(L^1)_4(OAc)_2]$ (7)	> 50	> 50	$34,8 \pm 1,8$
2,2'-бипиридин	>50	>50	>50
4,4'-диметил-2,2'-бипиридин	>50	$40,9 \pm 5,7$	>50
1,10-фенантролин	> 50	$42,5 \pm 3,7$	> 50
4,7-диметил-1,10-фенантролин	$18,2 \pm 0,9$	$5,4 \pm 0,6$	$21,2 \pm 1,2$
1,10-фенантролин-5,6-дион	$1,40 \pm 0,06$	$0,73 \pm 0,06$	$3,3 \pm 0,6$
$[Cu(dmphen)(лейцинат)]NO_3$	$0,67 \pm 0,04$	$1,6 \pm 0,1$	$1,2 \pm 0,1$

Свойства ряда водорастворимых комплексов с HL^4 и HL^5 были изучены на нераковой линии клеток НЕК293-А (табл. 3).

Таблица 3. Значения IC_{50} для референтных соединений и комплексов меди(II) с 5-метилтетразолом и олигопиридинами (клеточные линии Hep2, HepG2 и НЕК293А)

Соединение	IC_{50} , мкМ			Индекс селек. (HepG2)
	Клетки Hep2	Клетки HepG2	Клетки НЕК293А	
$[Cu_2(bipy)_2(L^4)_4]$ (17)	$48,7 \pm 0,5$	$15,4 \pm 0,3$	$34,3 \pm 1,5$	2,2
$[Cu(dmbipy)(L^4)_2]$ (18)	$18,2 \pm 0,1$	$7,6 \pm 0,1$	$9,7 \pm 0,2$	1,3
$\{[Cu(phen)(L^4)_2] \cdot H_2O\}_n$ (19a)	$3,6 \pm 0,2$	–	–	–
$[Cu_2(phen)_2(L^4)_4]$ (19)	$4,4 \pm 0,3$	$2,7 \pm 0,3$	$1,66 \pm 0,04$	0,6
$[Cu_2(dmphen)_2(L^4)_4]$ (20)	$2,4 \pm 0,3$	$0,85 \pm 0,06$	$0,74 \pm 0,01$	0,9
$[Cu(dmphen)(лейцинат)]NO_3$	$0,67 \pm 0,04$	$1,2 \pm 0,1$	$0,86 \pm 0,04$	0,7
Цисплатин	$9,2 \pm 0,5$	$33,0 \pm 5,4$	$5,9 \pm 0,6$	0,2

Для комплексов **17-20** рассчитан индекс селективности – отношение параметра IC_{50} для нераковой линии к значению IC_{50} для раковых

клеточных линий. Несмотря на высокие токсические свойства комплексов **19-20**, индекс селективности для них оказывается меньше 1, что свидетельствует о большей токсичности соединений по отношению к «здоровым» клеткам. В тоже время соединения на основе *biyu* и *dmbyu*, будучи в целом менее токсичными по сравнению с **19, 20**, имеют индекс селективности равный 2,2 и 1,3, соответственно (клетки HepG2). Для комплексов **23-25** индекс селективности меньше 1.

Полученные данные в целом согласуются с известными из литературы закономерностями об изменении токсических свойств в ряду комплексов серии *Casiopéinas* [6,7]. Так, комплексы на основе 1,10-фенантролина более активны, чем аналогичные комплексы на основе 2,2'-бипиридина, благодаря наличию центрального конденсированного ароматического кольца, которое вероятно усиливает π -стэкинг комплексов с ДНК. Кроме того, наличие в олигопиридинах метильных заместителей и карбонильных групп также увеличивает токсические свойства комплексов.

По методике, опубликованной в патенте на комплексы *Casiopéinas* [8], синтезирован комплекс $[\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{лейцинат})]\text{NO}_3$. На рисунке 8 представлена диаграмма со значениями параметров IC_{50} для $[\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{лейцинат})]\text{NO}_3$ (*Casiopéinas*) и полученных нами комплексов меди(II) с *dmphen* и производными тетразола/изотиазола. Активность соединений на всех клеточных линиях близка, параметры IC_{50} находятся в узком диапазоне концентраций 0,67-2,8 мкМ. При этом наименее токсичным оказался комплекс **16** на основе 5-бензилтетразола. При переходе к комплексам с другими олигопиридинами строгой закономерности изменения свойств в зависимости от производного тетразола/изотиазола на разных клеточных линиях также не наблюдается.

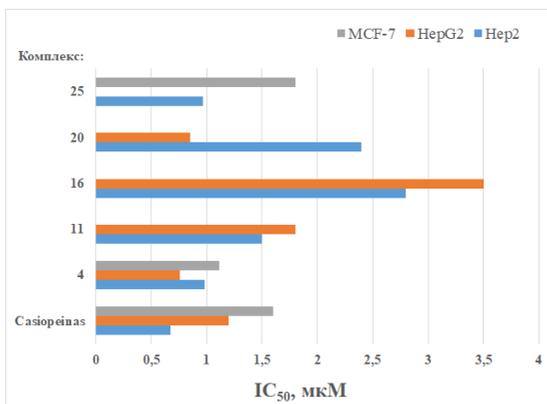


Рис. 8. Диаграмма со значениями параметров IC_{50} для $[\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{лейцинат})]\text{NO}_3$ (*Casiopéinas*) и комплексов меди(II) с *dmphen* и производными тетразола/изотиазола

Таким образом, цитотоксичность комплексов меди(II) в условиях *in vitro* в основном зависит от строения олигопиридиновых лигандов, второй лиганд (аминокислоты, производные тетразола, изотиазола) влияет на значения IC_{50} незначительно. Тем не менее роль этих лигандов нельзя преуменьшать ввиду того, что они влияют на стабильность комплексов, их гидрофобность и ряд других свойств, которые чрезвычайно важны в условиях *in vivo*, поскольку эти факторы ответственны за доставку соединения к мишени.

Среди синтезированных разнолигандных комплексов эссенциальных металлов (Cu, Co, Mn, Ni) с phen и HL¹, HL⁵ значительной цитотоксичностью обладают только комплексы меди(II). Для комплексов **6**, **7** и **29** в исследуемом диапазоне концентраций выявлен только цитостатический эффект, который продемонстрирован на примере комплекса **7** в нетоксичном диапазоне концентраций 0-25 мкМ на клеточной линии гепатокарциномы HepG2 ($IC_{50} = 34,8 \pm 1,8$ мкМ). На рис. 9 можно увидеть, как под воздействием комплекса **7** уменьшается количество клеток по сравнению с контролем через 24, 48 и 72 часа. Комплексы меди(II) также вызывают цитостатический эффект в нетоксичном диапазоне концентраций (рис. 9, слева). Полученные данные свидетельствуют о том, что координация олигопиридинов и производных тетразола/изотиазола к таким эссенциальным металлам как кобальт, никель, марганец приводит к образованию соединений с меньшими токсическими свойствами по сравнению с комплексами меди(II). Можно предположить, что именно фрагмент медь(II)-олигопиридин является основополагающим фактором для возникновения токсичности по отношению к опухолевым клеткам.

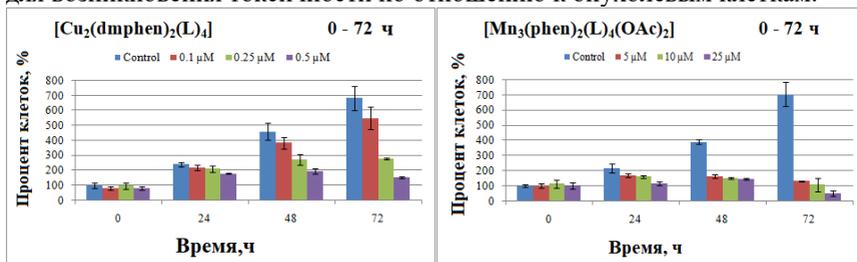


Рис. 9. Цитостатический эффект комплексов **4** и **7** по отношению к клеткам HepG2

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

1. Синтезированы и детально охарактеризованы 29 новых координационных соединения меди(II), марганца(II), кобальта(II) и никеля(II) с олигопиридинами и производными тетразола, изотиазола. Впервые получены разнолигандные комплексы 3d-металлов, содержащие олигопиридины и производные изотиазола. Все полученные соединения

стабильны на воздухе, а комплексы с 5-метилтетразолом и 4,5-дихлороизотиазол-3-карбоновой кислотой растворимы в воде.

2. Показано, что для комплексов меди(II) с олигопиридинами и производными тетразола, содержащими в пятом положении гетероцикла ароматические заместители (фенил, 4-хлорфенил, бензил), характерно образование биядерных комплексов. При этом комплексы марганца(II) и кобальта(II) с 5-фенилтетразолом имеют трехъядерное строение. При использовании лиганда с менее объемным заместителем – 5-метилтетразола – возможно образование как биядерных, так и полимерных структур. Установлено, что производные тетразола в биядерных комплексах могут координироваться по бидентатно-мостиковому типу атомами N1, N2 или N2, N3, а также монодентатно атомами N1 или N2 гетероцикла. Это может приводить к существованию нескольких изомеров комплексов, что проиллюстрировано на примере соединений с 5-метилтетразолом.

3. Установлено, что олигопиридины и 4,5-дихлороизотиазол-3-карбоновая кислота (HL^5) присоединяются к меди(II), кобальту(II) и никелю(II) с образованием преимущественно моноядерных соединений. При этом координация HL^5 всегда осуществляется за счет атомов кислорода карбоксильной группы, а в ряде случаев также за счет атома азота изотиазола, который, по-видимому, обладает более низкой координирующей способностью из-за наличия акцепторных заместителей – атомов хлора.

4. На примере разнолигандных комплексов меди(II) с олигопиридинами и 4,5-дихлороизотиазол-3-карбоновой кислотой методами масс-спектрометрии, оптической спектроскопии, кондуктометрии и ЭПР-спектроскопии замороженных растворов показано, что при растворении комплексов происходит перераспределение лигандов с образованием катионных и анионных комплексов. При этом образовавшиеся комплексные ионы стабильны в течение 48 часов как в водных, так и неводных растворах.

5. Методом двойного окрашивания клеток флуоресцентными красителями изучена цитотоксичность ацетатов металлов, лигандов и полученных комплексов на клеточных линиях карциномы гортани Hep2, аденокарциномы молочной железы MCF-7, гепатокарциномы HepG2 и клетках из почек эмбрионов человека HEK293-A. Для большинства разнолигандных комплексов меди(II) с олигопиридинами и лигандами HL^1 - HL^5 в диапазоне концентраций 0,1-50 мкМ выявлена выраженная дозозависимая цитотоксическая активность. Значения параметра IC_{50} для наиболее токсичных комплексов находятся в диапазоне 0,70-4,4 мкМ, что говорит о гораздо большей активности полученных соединений в сравнении с цисплатином и карбоплатином. Возрастание цитотоксических свойств комплексов происходит в том же порядке, что и в

ряду лигандов-олигопиридинов: bipy < dmbipy < phen < dmphen ~ phendione. При этом цитотоксичность комплексов выше, чем цитотоксичность соответствующих свободных олигопиридинов.

6. Установлено, что именно фрагмент медь(II)-олигопиридин является основополагающим фактором для возникновения токсичности по отношению к опухолевым клеточным линиям. Наличие второго лиганда – производного тетразола или изотиазола – не оказывает значительного эффекта на цитотоксические свойства комплексов, однако влияет на стабильность и растворимость получаемых соединений, что принципиально в условиях *in vivo*, поскольку эти факторы ответственны за доставку соединения к мишени. Показано, что координация олигопиридинов и производных тетразола/изотиазола к таким эссенциальным металлам как кобальт, никель и марганец приводит к образованию соединений с гораздо меньшими токсическими свойствами по сравнению с комплексами меди.

Основное содержание диссертации изложено в следующих работах:

1. Eremina J. A., Lider E. V., Samsonenko D. G., Sheludyakova L. A., Berezin A. S., Klyushova L. S., Ostrovskii V. A., Trifonov R. E. Mixed-ligand copper(II) complexes with tetrazole derivatives and 2,2'-bipyridine, 1,10-phenanthroline: Synthesis, structure and cytotoxic activity // *Inorg. Chim. Acta* – 2019 – V. 487 – P. 138-144.
2. Eremina, J.A., Lider, E.V., Sukhikh, T.S., Klyushova, L.S., Perepechaeva, M.L., Sheven', D.G., Berezin, A.S., Grishanova, A.Y., Potkin, V.I. Water-soluble copper(II) complexes with 4,5-dichloro-isothiazole-3-carboxylic acid and heterocyclic N-donor ligands: Synthesis, crystal structures, cytotoxicity, and DNA binding study // *Inorg. Chim. Acta* - 2020 - V. 510 - 119778.
3. Eremina J.A., Lider E.V., Kuratieva N.V., Samsonenko D.G., Klyushova L.S., Sheven' D.G., Trifonov R.E., Ostrovskii V.A. Synthesis and crystal structures of cytotoxic mixed-ligand copper(II) complexes with alkyl tetrazole and polypyridine derivatives // *Inorg. Chim. Acta* – 2021 – V. 516 – 120169.
4. Eremina J.A., Ermakova E.A., Smirnova K.S., Klyushova L.S., Berezin A.S., Sukhikh T.S., Zubenko A.A., Fetisov L.N., Kononenko K.N., Lider E.V. Cu(II), Co(II), Mn(II) complexes with 5-phenyltetrazole and polypyridyl ligands: synthesis, characterization and evaluation of the cytotoxicity and antimicrobial activity // *Polyhedron* – 2021 – V. 206 – 115352.
5. Eremina J. A., Smirnova K. S., Klyushova L. S., Berezin A.S., Lider E. V. Synthesis and cytotoxicity evaluation of copper(II) complexes with polypyridines and 5-benzyltetrazole // *J. Mol. Struct.* – 2021 – V. 1245 – 131024.
6. Eremina J.A., Smirnova K.S., Lider E.V., Klyushova L.S., Sheven' D.G., Potkin V.I. Nickel(II) and cobalt(II) complexes with 4,5-dichloro-isothiazole-3-carboxylic acid and 1,10-phenanthroline: synthesis, crystal structures and cytotoxicity // *Transition met. chem.* – 2022 – V. 47 – P. 19-30.

7. Голубева Ю.А., Смирнова К.С., Ключова Л.С., Поткин В.И., Лидер Е.В. Синтез и кристаллическая структура цитотоксического комплекса меди(II) с 1,10-фенантролин-5,6-дионом и производным изотиазола // Изв. вузов. Прикл. хим. биотехнол. – 2021 – Т. 11 – Стр. 531-539.

Благодарности. Автор выражает искреннюю благодарность научному руководителю к.х.н. Лидер Елизавете Викторовне за помощь в постановке задач исследования, обсуждении полученных результатов и, прежде всего, за чуткое научное руководство и поощрение свободы творчества.

Автор благодарен сотрудникам ИНХ СО РАН за помощь в проведении экспериментов по характеристике и исследованию свойств полученных соединений: к.х.н. А.П. Зубаревой и Н.Н. Комариной за проведение элементного СНН анализа, к.х.н. Т.С. Сухих и к.х.н. Д.Г. Самсоненко за проведение рентгеноструктурного анализа, к.ф.-м.н. Д.Г. Шевеню за проведение масс-спектрометрических исследований, к.х.н. А.С. Березину за проведение исследований методом ЭПР. Автор признателен Центру коллективного пользования «Протеомный анализ» НИИМББ ФИЦ ФТМ, а также Л.С. Ключовой за неоценимую помощь в проведении исследований цитотоксической активности полученных соединений и интерпретации результатов.

Автор благодарит коллектив лаборатории металл-органических координационных полимеров и всех соавторов, прежде всего, Ксению Сергеевну Смирнову, Екатерину Андреевну Ермакову и Елизавету Андреевну Иванову за помощь в повседневной работе и обсуждении результатов, за поддержку на всех этапах выполнения работы и оптимизм.

Автор искренне благодарен своему мужу Голубеву Ивану Сергеевичу за вдохновение, заботу и проявленное терпение. Особую благодарность Автор выражает маме Ереминой Елене Васильевне и папе Еремину Андрею Витальевичу за достойное воспитание и всестороннюю поддержку, сестре Ереминой Кристине Андреевне за увлекательные дискуссии.

Список цитируемой литературы

1. Shao Z.-H. et al. Bis(μ -5-phenyltetrazolate- κ^2 N $_2$:N $_3$)bis[(2,2'-bipyridine- κ^2 N,N')bis-(5-phenyltetrazolate- κ N $_2$)copper(II)] // Acta Crystallographica Section E, 2004, Vol. 60, № 2, P. m225–m227.
2. Song W.C. et al. Two dinuclear Cu^{II}-tetrazolate complexes: Syntheses, structures, and magnetic properties // Australian Journal of Chemistry, 2009, Vol. 62, № 8, P. 941–946.
3. Saha M. et al. Copper(II) tetrazolato complexes: Role in oxidation catalysis and protein binding // Polyhedron, 2017, Vol. 132, P. 53–63.
4. Kumari J. et al. Efficient oxidation of benzene catalyzed by Cu(II) tetrazolato complexes under mild conditions // Inorganic Chemistry Communications, 2019, Vol. 105, P. 217–220.
5. Ali I., Wani W.A., Saleem K. Empirical Formulae to Molecular Structures of Metal Complexes by Molar Conductance // Synthesis and Reactivity in Inorganic, Metal-Organic, and Nano-Metal Chemistry, 2013, Vol. 43, № 9, P. 1162–1170.
6. Bravo-Gómez M.E. et al. Antiproliferative activity and QSAR study of copper(II) mixed chelate [Cu(N-N)(acetylacetonato)]NO $_3$ and [Cu(N-N)(glycinato)]NO $_3$ complexes, (Casiopéinas[®]) // Journal of Inorganic Biochemistry, 2009, Vol. 103, № 2, P. 299–309.
7. Bravo-Gómez M.E. et al. Secondary ligand effects on the cytotoxicity of several Casiopéina's group II compounds // Journal of the Mexican Chemical Society, 2012, Vol. 56, № 1, P. 85–92.
8. Ruiz Azuara L. Preparation of new mixed copper aminoacidate complexes from phenanthrolines and their alkyl derivatives to be used as anticancerigenic agents: pat. Re 35, 458 USA. 1991. P. 10.

ГОЛУБЕВА Юлия Андреевна

**РАЗНОЛИГАНДНЫЕ КОМПЛЕКСНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ МЕДИ(II),
КОБАЛЬТА(II), НИКЕЛЯ(II) И МАРГАНЦА(II)
С ОЛИГОПИРИДИНАМИ И ПРОИЗВОДНЫМИ ТЕТРАЗОЛА И
ИЗОТИАЗОЛА: СИНТЕЗ, СТРОЕНИЕ И ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ
АКТИВНОСТЬ**

Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата химических наук

Изд. лиц. ИД № 04060 от 20.02.2001.

Подписано к печати и в свет 20.04.2022.

Формат 60×84/16. Бумага № 1. Гарнитура “Times New Roman”

Печать оперативная. Печ. л. 1,2. Уч.-изд. л. 1,1. Тираж 120. Заказ № 59

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

Институт неорганической химии им. А.В. Николаева СО РАН

Просп. Акад. Лаврентьева, 3, Новосибирск, 630090