

ISSN 0132-344X

Том 49, Номер 9

Сентябрь 2023



КООРДИНАЦИОННАЯ ХИМИЯ

www.sciencejournals.ru

Журнал представляет оригинальные статьи и обзоры
по всем аспектам теоретической и экспериментальной
координационной химии



СОДЕРЖАНИЕ

Том 49, номер 9, 2023

Номер посвящен биологически активным координационным соединениям

Предисловие к тематическому выпуску, посвященному биологически активным координационным соединениям	515
Синтез и кристаллическая структура цитотоксичных комплексов меди(II) на основе 2,2'-бипиридина/1,10-фенантролина и 5-(4-хлорофенил)-1 <i>H</i> -тетразола <i>Ю. А. Голубева, К. С. Смирнова, Л. С. Ключова, А. С. Березин, Е. В. Лидер</i>	516
Синтез, строение и свойства нитрозильного комплекса железа с 2-этил-4-пиридинкарботиоамидом <i>Н. А. Санина, Г. В. Шилов, Н. С. Ованесян, В. А. Мумятова, А. А. Балакина, А. А. Терентьев, О. В. Покидова, С. М. Алдошин</i>	530
Фуранкарбоксилатные координационные полимеры Gd^{3+} и Eu^{3+} : синтез, структурные вариации, биологические свойства <i>М. А. Уварова, И. А. Луценко, М. А. Шмелев, О. Б. Беккер, М. А. Кискин, И. Л. Еременко</i>	543
Нитрозамещенные пиридиниминовые комплексы Pd(II): синтез и ингибирование МАО-Б <i>ex vivo</i> <i>М. С. Денисов, Ю. А. Белоглазова</i>	553
Трифенилфосфинтиолатные комплексы золота(I) с редокс-активными основаниями Шиффа: синтез, электрохимические свойства и биологическая активность <i>И. В. Смолянинов, Д. А. Бурмистрова, Н. П. Поморцева, М. А. Половинкина, О. П. Демидов, Н. Р. Альмяшева, А. И. Поддельский, Н. Т. Берберова</i>	565
Синтез, строение и исследование цитотоксической активности комплекса цинка(II) с 5-бензилтетразолом и 1,10-фенантролином <i>Е. А. Ермакова, Ю. А. Голубева, К. С. Смирнова, Л. С. Ключова, И. В. Ельцов, Е. В. Лидер</i>	582
Особенности связывания биоактивных органических молекул с металлической матрицей гетероядерных $3d-4f$ структур, содержащих мягкие и жесткие металлоцентры на примере Nd(III)–Cu(II) комплекса <i>М. А. Каткова, Г. Ю. Жигулин, Е. В. Баранов, Г. С. Забродина, М. С. Муравьева, С. Ю. Кетков, И. Г. Фомина, И. Л. Еременко</i>	590

ПРЕДИСЛОВИЕ К ТЕМАТИЧЕСКОМУ ВЫПУСКУ, ПОСВЯЩЕННОМУ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫМ КООРДИНАЦИОННЫМ СОЕДИНЕНИЯМ

DOI: 10.31857/S0132344X23700287, EDN: WBZDVV

Введение в клиническую практику новых синтетических лекарственных средств, направленных на борьбу с различными социально значимыми заболеваниями, является задачей национальной безопасности государства.

В последние десятилетия на фармацевтическом рынке сформировался сектор лекарственных средств, в состав молекул которых входит атом металла. Комплексы металлов обладают широким спектром биологической активности — противоопухолевой, антибактериальной, противовоспалительной, противовирусной и др. Применение металлосодержащих средств (metal-based drugs) для диагностики (metallodiagnosics) и терапии (metallotherapeutics) социально значимых заболеваний открывает уникальные возможности для борьбы с теми видами патологий, которые не поддавались лечению классическими препаратами органической природы. К наиболее известным примерам относятся соединения платины, золота, галлия, лития, гадолиния, лантана, сурьмы, висмута, введенные в клиническую практику в XX веке. В связи с этим поиск новых кандидатов в лекарственные средства в ряду соединений металлов представляется важной и актуальной задачей. Это направление, возникшее на стыке двух интенсивно развивающихся областей — медицинской химии и биологической неорганической химии, получило название “неорганическая медицинская химия”.

В современной медицинской химии рациональный дизайн новых физиологически активных веществ основан на ключевой “концепции мишени”, т.е. на направленном конструировании мишень-ориентированных молекул. Такие молекулы и препараты на их основе получили название “таргетных” (targeted molecules, targeted drugs). В то же время отметим, что создание новых фармакологических препаратов, содержащих в составе молекулы атом металла (metal-based drugs), открывает также дополнительные возможности поиска новых мишеней и нового механизма действия.

Стратегическая задача поиска фармакологических активных комплексов металлов заключается в том, чтобы уйти от тотального скрининга и простых предположений, а строго следовать концепции медицинской химии, которая основана на

молекулярном конструировании (в данном случае металлосодержащих) соединений в соответствии с их способностью связываться с биологической мишенью, участвующей в патогенезе того или иного заболевания. Главным препятствием на этом пути оказываются серьезные трудности применения методов *in silico*, молекулярного моделирования, молекулярной динамики и пр., и в целом подбора структур, связывающихся с сайтами мишени, из-за наличия тяжелого атома металла.

В связи с этим применяется несколько подходов сборки активных молекул, в состав которых входит атом металла. Такие подходы возникли исторически и их можно разделить на несколько основных методов:

- 1) оптимизация молекулярных структур известных металлосодержащих препаратов (известен молекулярный механизм действия и/или установлена мишень);
- 2) активация молекулы органического препарата путем введения атома металла (известна мишень органического препарата);
- 3) комбинация известного органического препарата и атома металла с доказанной фармакологической активностью — гибридные молекулы (известны одна или обе мишени).

В двух тематических выпусках (9 и 10) журнала “Координационная химия”, посвященных биологически активным координационным соединениям, представлены статьи, в которых описаны различные подходы к синтезу и исследованию свойств и биологической активности координационных соединений платины, палладия, меди, кобальта, железа, цинка, золота, гадолиния, европия, неодима и др. Особое внимание уделено противоопухолевой и противовирусной активности, что, в свою очередь, определяется современными вызовами и стратегической необходимостью разработки новых эффективных и безопасных лекарственных средств.

Е.Р. Милаева, И.А. Луценко

УДК 54.057+546.562+615.277.3

СИНТЕЗ И КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ЦИТОТОКСИЧНЫХ КОМПЛЕКСОВ МЕДИ(II) НА ОСНОВЕ 2,2'-БИПИРИДИНА/1,10-ФЕНАНТРОЛИНА И 5-(4-ХЛОРОФЕНИЛ)-1H-ТЕТРАЗОЛА¹

© 2023 г. Ю. А. Голубева¹, К. С. Смирнова¹, Л. С. Ключова², А. С. Березин¹, Е. В. Лидер¹, *

¹Институт неорганической химии им. А.В. Николаева СО РАН, Новосибирск, Россия

²Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики

Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины, Новосибирск, Россия

*e-mail: lislalider@ngs.ru

Поступила в редакцию 22.12.2022 г.

После доработки 17.01.2023 г.

Принята к публикации 17.01.2023 г.

На основе 5-(4-хлорофенил)-1H-тетразола (HL) получены пять координационных соединений состава $[\text{Cu}_2(\text{Bipy})_2\text{L}_4] \cdot \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (Ia, Ib), $[\text{Cu}_2(\text{Dmbipy})_2\text{L}_4]$ (II), $[\text{Cu}_2(\text{Phen})_2\text{L}_4] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (IIIa), $[\text{Cu}_2(\text{Dmphen})_2\text{L}_4]$ (IVa) и $[\text{Cu}_2(\text{Phendione}')_2\text{L}_4] \cdot 2\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (V), где Bipy – 2,2'-бипиридин, Dmbipy – 4,4'-диметил-2,2'-бипиридин, Phen – 1,10-фенантролин, Dmphen – 4,7-диметил-1,10-фенантролин, Phendione' – 6-этокси-6-гидрокси-1,10-фенантролин-5-он. Кристаллические структуры комплексов установлены методом РСА монокристаллов (CCDC № 2225368 (Ia), 2225369 (Ib), 2225370 (II), 2225372 (IIIa), 2225373 (IVa), 2225371 (V)): соединения являются биядерными за счет мостиковой функции тетразолат-аниона, координационное число меди равно пяти во всех полученных комплексах. Исследована цитотоксическая активность комплексов по отношению к раковым клеточным линиям Hep2, HepG2 и нормальным клеткам фибробластов человека MRC-5. Показано, что комплексы проявляют выраженные цитотоксические свойства, при этом соединение V обладает максимальным индексом селективности к раковым клеткам.

Ключевые слова: комплексы меди(II), 5-(4-хлорофенил)-1H-тетразол, 1,10-фенантролин, рентгено-структурный анализ, цитотоксичность

DOI: 10.31857/S0132344X2260062X, **EDN:** WACYDM

В настоящее время представляет интерес применение координационных соединений в качестве перспективных фармацевтических препаратов для диагностики и лечения опухолевых заболеваний. Открытие в 1960-х гг. ингибирующего действия *цис*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$ (цисплатин) на рост опухолевых клеток [1] стало важной вехой в применении комплексов в медицине. Цисплатин до сих пор широко используется в химиотерапии некоторых видов рака наряду с разработанными позднее карбоплатином, оксалиплатином, недаплатином и другими препаратами на основе платины [2]. Однако спектр злокачественных опухолей, которые можно лечить с помощью таких соединений, является довольно узким, а серьезные побочные эффекты (нейротоксичность, ототоксичность, тромбоцитопения и др.) и резистентность, возникающая к подобным препаратам, еще больше ограничивает их применение [3]. Нерешенные

проблемы, связанные с химиотерапией препаратами на основе платины, приводят к необходимости разработки новых соединений, обладающих альтернативным механизмом действия для улучшения клинической эффективности, снижения общей токсичности и расширения спектра действия.

При этом многократно возрос интерес к координационным соединениям меди ввиду способности ряда комплексов связываться с ДНК [4, 5], ингибировать топоизомеразы [6] и генерировать активные формы кислорода и азота [7, 8], что в результате приводит к окислительному повреждению и гибели клеток. В связи с этим получено большое количество комплексов меди(II) с различными N,O,S-донорными лигандами, которые обладают цитотоксическими свойствами по отношению к раковым клеточным линиям [8–16]. Кроме того, значительный пласт работ посвящен координационным соединениям меди(II) на основе 2,2'-бипиридина (Bipy) и 1,10-фенантролина (Phen) [17–24]. В частности, один из комплексов

¹ Дополнительная информация для этой статьи доступна по doi 10.31857/S0132344X2260062X для авторизованных пользователей.

меди(II), принадлежащий серии соединений под названием Casiopeinas с общей формулой $[\text{Cu}(\text{L}^1)(\text{L}^2)]\text{NO}_3$ ($\text{L}^1 = \text{Bipy}/\text{Phen}$ или их производные, $\text{L}^2 =$ = ацетилацетонат или анион аминокислоты), проявляет значительную цитотоксическую активность *in vitro* и *in vivo* и находится на первой стадии клинических испытаний [18]. Кроме того, в [25] показано, что для данного класса комплексов способ связывания с ДНК определяется типом лиганда L^2 , а также зависит от наличия электронодонорных или электроноакцепторных заместителей в лиганде L^1 . Таким образом, варьирование лиганда L^2 в комплексах меди(II) с Bipy/Phen может способствовать усилению противоопухолевых свойств соединений и привести к изменению их механизма действия.

Цель настоящей работы – синтез и характеристика цитотоксических комплексов меди(II) с Bipy, 4,4'-диметил-2,2'-бипиридином (Dmbipy), Phen,

4,7-диметил-1,10-фенантролином (Dmphen), 6-этокси-6-гидрокси-1,10-фенантролин-5-оном (Phendione'), в качестве второго лиганда выступает производное тетразола – 5-(4-хлорофенил)-1H-тетразолат-анион.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для синтеза комплексов использовали коммерчески доступные реагенты: 5-(4-хлорофенил)-тетразол (HL), 1,10-фенантролин моногидрат и 2,2'-бипиридин квалификации “х. ч.”, 4,4'-диметил-2,2'-бипиридин, 4,7-диметил-1,10-фенантролин, 1,10-фенантролин-5,6-дион и 5-(4-хлорофенил)-1H-тетразол квалификации “ч.” (структурные формулы которых представлены на схеме 1, а также $\text{Cu}(\text{OAc})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ квалификации “ч. д. а.” и этанол-ректификат.

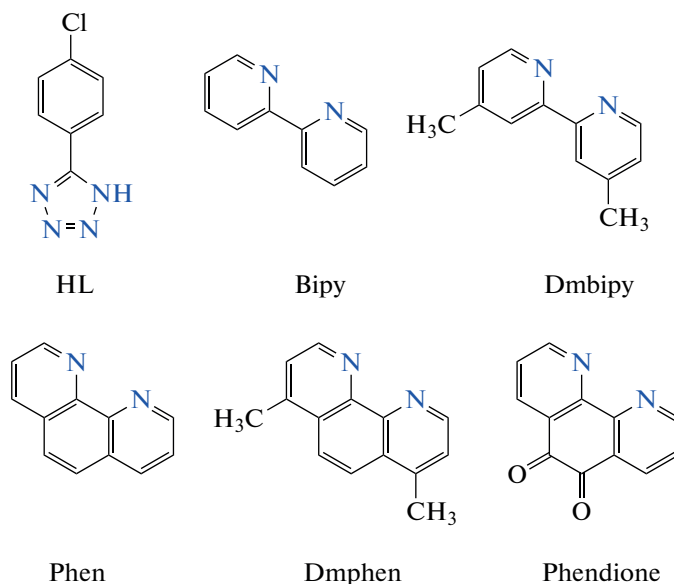


Схема 1.

Разнолигандные комплексы $[\text{Cu}_2(\text{Bipy})_2\text{L}_4]$ (CCDC 1551671) и $[\text{Cu}_2(\text{Phen})_2\text{L}_4] \cdot (\text{CH}_3)_2\text{NC}(\text{O})\text{H}$ (CCDC 1551672) были получены ранее в [26] реакцией циклоприсоединения [2 + 3] между 4-хлоробензонитрилом и азид-ионом, координированным к атому меди в комплексе $[\text{Cu}_2(\text{Bipy}/\text{Phen})_2(\text{N}_3)_4]_n$.

В настоящей работе синтез проводили смешением водно-этанольных растворов ацетата меди(II) и соответствующих лигандов, представленных на схеме 1.

Синтез $[\text{Cu}_2(\text{Bipy})_2\text{L}_4] \cdot \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (I). Навески ацетата меди(II) (0.20 ммоль, 0.040 г) и 2,2'-бипиридина (0.20 ммоль, 0.031 г) смешивали и раство-

ряли в 4 мл смеси этанол–вода (1 : 1) при нагревании до 60°C. Полученный темно-синий раствор перемешивали на магнитной мешалке 5 мин. К смеси приливали 4 мл этанольного раствора 5-(4-хлорофенил)-тетразола (0.40 ммоль, 0.072 г). Образовавшийся синий осадок I отфильтровывали, промывали этанолом и высушивали на воздухе. Через неделю из маточного раствора получили темно-синие кристаллы $[\text{Cu}_2(\text{Bipy})_2\text{L}_4] \cdot 2\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (Ia), а при перекристаллизации из раствора ДМСО получили кристаллы $[\text{Cu}_2(\text{Bipy})_2\text{L}_4] \cdot 2(\text{CH}_3)_2\text{SO}$ (Ib). Выход 0.10 г (83%).

ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3441 $\nu(\text{OH})$; 3057, 2955, 2924 $\nu(\text{CH})$; 1603, 1568, 1515, 1498 $R_{\text{колец}}$; 1090 $\nu(\text{C}-\text{Cl})$. СДО: $\lambda_{\text{max}} = 600$ нм.

Найдено, %: C 49.3; H 3.4; N 23.1.
Для $\text{C}_{50}\text{H}_{38}\text{N}_{20}\text{OCl}_4\text{Cu}_2$
вычислено, %: C 49.9; H 3.2; N 23.3.

Синтез $[\text{Cu}_2(\text{Dmbipy})_2\text{L}_4]$ (II) выполняли по методике, аналогичной для I, с использованием 4,4'-диметил-2,2'-бипиридина вместо 2,2'-бипиридина. Через неделю из маточного раствора получили темно-синие кристаллы II. Выход II 0.090 г (74%).

ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3126, 3071, 3028, 2924 $\nu(\text{CH})$; 1618, 1562, 1516, 1496 $R_{\text{колец}}$; 1090 $\nu(\text{C}-\text{Cl})$. СДО: $\lambda_{\text{max}} = 634$ нм.

Найдено, %: C 51.6; H 3.3; N 23.1.
Для $\text{C}_{52}\text{H}_{40}\text{N}_{20}\text{Cl}_4\text{Cu}_2$
вычислено, %: C 51.4; H 3.3; N 23.1.

Синтез $[\text{Cu}_2(\text{Phen})_2\text{L}_4] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (III) выполняли по методике, аналогичной для I, с использованием 1,10-фенантролина вместо 2,2'-бипиридина. Через неделю из маточного раствора получили темно-синие кристаллы $[\text{Cu}_2(\text{Phen})_2\text{L}_4] \cdot 2\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (IIIa). Выход III 0.15 г (82%).

ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3319 $\nu(\text{OH})$; 3086, 3060, 3017, 2962 $\nu(\text{CH})$; 1627, 1607, 1585, 1519 $R_{\text{колец}}$; 1093 $\nu(\text{C}-\text{Cl})$. СДО: $\lambda_{\text{max}} = 622$ нм.

Найдено, %: C 51.1; H 2.9; N 22.5.
Для $\text{C}_{52}\text{H}_{34}\text{N}_{20}\text{OCl}_4\text{Cu}_2$
вычислено, %: C 51.0; H 2.8; N 22.9.

Синтез $[\text{Cu}_2(\text{Dmphen})_2\text{L}_4]$ (IV) выполняли по методике, аналогичной для I, с использованием 4,7-диметил-1,10-фенантролина вместо 2,2'-бипиридина. При перекристаллизации из раствора ДМСО получили кристаллы $[\text{Cu}_2(\text{Dmphen})_2\text{L}_4] \cdot 2.5(\text{CH}_3)_2\text{SO} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (IVa). Выход IV 0.10 г (79%).

ИК-спектр (ν , см^{-1}): 2953, 2924, 2854 $\nu(\text{CH})$; 1622, 1614, 1541, 1505 $R_{\text{колец}}$; 1080 $\nu(\text{C}-\text{Cl})$. СДО: $\lambda_{\text{max}} = 639$ нм.

Найдено, %: C 53.3; H 3.0; N 22.4.
Для $\text{C}_{56}\text{H}_{40}\text{N}_{20}\text{Cl}_4\text{Cu}_2$
Вычислено, %: C 53.3; H 3.2; N 22.2.

Синтез $[\text{Cu}_2(\text{Phendione}')_2\text{L}_4] \cdot 2\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (V) выполняли по методике, аналогичной для I, с использованием 1,10-фенантролин-5,6-диона вместо 2,2'-бипиридина. В процессе синтеза происходит присоединение молекулы этанола к

Phendione, в результате чего в состав комплекса входит 6-этокси-6-гидрокси-1,10-фенантролин-5-он (**Phendione'**). Комплекс выделен из реакционной смеси через неделю в виде сине-серых кристаллов. Выход V 51%.

ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3350, 3280, 3160 $\nu(\text{OH})$; 3098, 3065, 3030, 2970, 2922, 2893 $\nu(\text{CH})$; 1715, 1670 $\nu(\text{C}=\text{O})$; 1609, 1580, 1518, 1489 $R_{\text{колец}}$; 1032 $\nu(\text{C}-\text{Cl})$. СДО: $\lambda_{\text{max}} = 645$ нм.

Найдено, %: C 48.2; H 3.5; N 19.2.
Для $\text{C}_{60}\text{H}_{56}\text{N}_{20}\text{O}_{10}\text{Cl}_4\text{Cu}_2$
вычислено, %: C 48.5; H 3.8; N 18.9.

Элементный (C, H, N) анализ выполняли в аналитической лаборатории Института неорганической химии им. А.В. Николаева СО РАН на анализаторе Vario MICRO cube. ИК-спектры образцов, приготовленных в виде суспензий в вазелиновом и фторированном масле, записывали на Фурье-спектрометре Scimitar FTS 2000 в области 4000–400 см^{-1} .

Рентгенофазовый анализ (РФА) выполняли на дифрактометре Shimadzu XRD-7000S ($\text{CuK}\alpha$ -излучение, $\lambda = 1.54056$ Å, Ni-фильтр, диапазон измерений 2θ от 5° до 40° , накопление 1 с в точке).

Электронные спектры поглощения (ЭСП) раствора соединения II регистрировали на спектрометре СФ-102 в диапазоне 200–900 нм при комнатной температуре (растворитель – ДМСО, $c = 1$ мМ). Для записи спектров в УФ-области концентрированный раствор комплекса в ДМСО разбавляли водой до концентрации 15 мкМ.

Спектры диффузного отражения (СДО) регистрировали на приборе Shimadzu UV-3101 при комнатной температуре в области 250–1200 нм. Пересчет исходных зависимостей отражения образцов (R) от длины волны производили с помощью функции Кубелки–Мунка (M) по уравнению: $M = \frac{(1 - R)^2}{2R}$.

Спектры ЭПР регистрировали в Q-диапазоне частот при 300 К на автоматизированном спектрометре Varian E-109. 1,1-Дифенил-2-пикрил-гидразил использовали в качестве эталона. Спектры ЭПР обрабатывали с использованием программного комплекса для Matlab–EasySpin [27]. Спектры ЭПР записывали для поликристаллических образцов и для замороженного раствора комплекса I (растворители – ДМСО, этанол (1 : 10), X-диапазон, $T = 77$ К).

РСА для монокристаллов Ib, II, IIIa, IVa, V проведен на дифрактометре Bruker D8 Venture ($\text{MoK}\alpha$ -излучение, $\lambda = 0.71073$ Å) при $T = 150$ К. Интенсивности отражений измерены методом ϕ и ω -сканирования. Интегрирование данных и учет поглощения сделаны с использованием па-

кета программ SADABS [28]. Данные PCA для соединения Ia получены на дифрактометре Agilent Xcalibur, оснащенный детектором AtlasS2 (монокроматическое графитовое MoK_α -излучение, $\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$) при $T = 150 \text{ K}$. Интегрирование, поправки на поглощение и определение параметров элементарной ячейки проведены с помощью программы CrysAlisPro [29]. Структуры расшифрованы и уточнены с помощью программ SHELXT [30] и SHELXL [31] в графическом интерфейсе OLEX2 [32]. Неводородные атомы уточнены в анизотропном приближении. Атомы водорода локализованы геометрически и уточнены по модели “наездника”. Комплекс IVa содержит разупорядоченные молекулы ДМСО и воды. В результате атомы водорода не локализованы для молекул воды, однако включены в брутто-формулу соединения. В комплексе V этоксигруппа разупорядочена по двум позициям с соотношением заселенностей 2 : 3. Также в системе присутствует разупорядочение фенильной группы одной из молекул L^- по двум позициям с соотношением заселенностей 3 : 7. Дополнительно применены некоторые ограничения, а именно на длину связи (SADI), на плоский фрагмент фенильной группы (FLAT), анизотропию некоторых атомов (ISOR, EADP), жесткость связи между атомами (RIGU). В соединении V молекула этанола разупорядочена как минимум по четырем позициям. В результате в программе OLEX2 применена Solvent Mask функция для удаления электронной плотности, соответствующей двум молекулам этанола в системе. Кристаллографические данные и информация об уточненных структурах приведены в табл. 1.

Полный набор рентгеноструктурных параметров депонирован в Кембриджском банке структурных данных (CCDC № 2225368 (Ia), 2225369 (Ib), 2225370 (II), 2225372 (IIIa), 2225373 (IVa), 2225371 (V)); http://www.ccdc.cam.ac.uk/data_request/cif.

Исследование цитотоксической активности. Клеточные линии Нер2 (клетки карциномы гортани человека), НерG2 (клетки гепатокарциномы человека) и MRC-5 (клеточная линия фибробластов человека) культивировали в CO_2 инкубаторе (5% CO_2 и 95% воздух) при 37°C в 96 луночных планшетах в среде IMDM, содержащей 10%-ную добавку фетальной бычьей сыворотки. Для проведения исследований комплексы и лиганды растворяли в ДМСО, затем методом серийных разведений питательной средой IMDM готовили рабочие растворы. Через 24 ч культивирования к клеткам добавляли препараты в диапазоне концентраций 0.1–50 мкМ и инкубировали 48 ч. Для идентификации живых, апоптотических и мертвых клеток обработанные клетки и контрольные клетки окрашивали смесью флуоресцентных красителей Hoechst 33342 (Sigma-Aldrich) и пропидия йодида (Invitrogen) в течение 30 мин при 37°C . Съемку проводили на приборе IN Cell Analyzer 2200 (GE Healthcare, UK) в автоматическом ре-

жиме не менее 4 полей на лунку при 200-кратном увеличении в канале светлого поля и флуоресцентном канале. Полученные изображения анализировали с помощью программы In Cell Investigator. Результат исследований представлен в виде процентного содержания живых, мертвых и апоптотических клеток из трех независимых экспериментов $\pm$ стандартное отклонение.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Комплексы I–V получены взаимодействием водно-этанольных растворов ацетата меди(II), производных Bipy/Phen и 5-(4-хлорофенил)-тетразола (HL) при мольном соотношении реагентов 1 : 1 : 2 соответственно (схема 2). Для получения комплекса V использован 1,10-фенантролин-5,6-дион, однако в процессе синтеза происходит присоединение молекулы этанола к атому C(6) данного лиганда, в результате чего в состав комплекса входит 6-этокси-6-гидрокси-1,10-фенантролин-5-он (Phendione').

Комплексы I–V растворимы в ДМСО, малорастворимы в этаноле и нерастворимы в воде и фосфатно-солевом буфере. Монокристаллы $[\text{Cu}_2(\text{Bipy})_2\text{L}_4] \cdot 2\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (Ia), $[\text{Cu}_2(\text{Dmbipy})_2\text{L}_4]$ (II), $[\text{Cu}_2(\text{Phen})_2\text{L}_4] \cdot \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (IIIa) и $[\text{Cu}_2(\text{Phendione})_2\text{L}_4] \cdot 2\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (V) получены при медленной кристаллизации из водно-этанольных маточных растворов, а для $[\text{Cu}_2(\text{Bipy})_2\text{L}_4] \cdot 2(\text{CH}_3)_2\text{SO}$ (Ib) и $[\text{Cu}_2(\text{Dmphen})_2\text{L}_4] \cdot 2.5(\text{CH}_3)_2\text{SO} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (IVa) – при перекристаллизации из раствора ДМСО.

Комплексы Ia и Ib кристаллизуются в моноклинной сингонии с пространственной группой $P2_1/n$ и $P2_1/c$ соответственно. Независимая часть структуры содержит один атом меди, молекулу Bipy и два аниона L^- (рис. 1). Атом меди находится в квадратно-пирамидальном окружении из пяти атомов азота, параметры анализа SHAPE $S(\text{C}_{4v})$ и τ_5 составили 0.70 и 0.21 (Ia), 0.48 и 0.065 (Ib). Длины связей $\text{Cu}-\text{N}$ в базальной плоскости варьируются в диапазоне 1.9840(14)–2.0464(15) $\text{\AA}$ для Ia и 1.976(2)–2.044(2) $\text{\AA}$ для Ib (табл. 2). Координационный полиэдр проявляет характерное для комплексов меди(II) тетрагональное искажение. Так, длина апикальной связи $\text{Cu}-\text{N}$ составляет 2.1868(15) $\text{\AA}$ в комплексе Ia и 2.214(2) $\text{\AA}$ – в Ib. Два атома меди соединены между собой мостиковыми ионами L^- , координированными атомами N(2), N(3). Терминальные тетразолат-ионы координируются к иону меди(II) атомом азота N(2). Расстояние между ионами меди(II) составляет 4.031 $\text{\AA}$ в случае комплекса Ia и 4.117 $\text{\AA}$ – в Ib. В структурах также присутствуют сольватные молекулы этанола (Ia) и ДМСО (Ib) (рис. S1). Некоординированная молекула этанола в комплексе Ia образует водородную связь с атомом азота тетразолат-аниона, координированного монодентатно (2.962 $\text{\AA}$).

Таблица 1. Кристаллографические данные, параметры эксперимента и уточнения структур Ia, Ib, II, IIIa, IVa, V

Параметр	Значение					
	Ia	Ib	II	IIIa	IVa	V
Брутто-формула	C ₅₂ H ₄₄ N ₂₀ O ₂ Cl ₄ Cu ₂	C ₅₂ H ₄₄ N ₂₀ O ₂ S ₂ Cl ₄ Cu ₂	C ₅₂ H ₄₀ N ₂₀ Cl ₄ Cu ₂	C ₅₆ H ₄₄ N ₂₀ O ₂ Cl ₄ Cu ₂	C ₆₁ H ₅₈ N ₂₀ O ₄ S _{2.5} Cl ₄ Cu ₂	C ₅₆ H ₄₄ N ₂₀ O ₈ Cl ₄ Cu ₂
<i>M</i>	1249.95	1314.07	1213.92	1297.99	1484.30	1393.99
Температура, К	140	150	150	150	150	150
Сингония	Моноклинная	Моноклинная	Моноклинная	Моноклинная	Триклинная	Триклинная
Пр, группа	<i>P</i> ₂₁ / <i>n</i>	<i>P</i> ₂₁ / <i>c</i>	<i>P</i> ₂₁ / <i>c</i>	<i>P</i> ₂₁ / <i>c</i>	<i>P</i> $\bar{1}$	<i>P</i> $\bar{1}$
<i>a</i> , Å	13.8545(4)	15.9535(5)	16.639(2)	14.3370(7)	11.4815(6)	11.1984(3)
<i>b</i> , Å	9.8679(3)	16.5631(5)	10.2119(15)	16.9476(8)	15.8534(8)	12.2635(3)
<i>c</i> , Å	19.4659(4)	10.8352(3)	16.989(2)	11.4664(5)	19.0014(10)	13.1268(4)
α , град	90	90	90	90	75.776(2)	98.9740(10)
β , град	90.681(2)	103.3470(10)	113.173(4)	95.565(2)	88.857(2)	91.8370(10)
γ , град	90	90	90	90	82.080(2)	115.5660(10)
<i>V</i> , Å ³	2661.09(12)	2785.75(14)	2653.9(6)	2772.9(2)	3320.3(3)	1596.29(8)
<i>Z</i>	2	2	2	2	2	1
ρ (выч.), г/см ³	1.560	1.567	1.519	1.555	1.480	1.450
μ , мм ^{−1}	1.064	1.093	1.06	1.02	0.94	0.90
Размер кристалла, мм ³	0.3 × 0.14 × 0.12	0.11 × 0.06 × 0.01	0.13 × 0.03 × 0.01	0.20 × 0.04 × 0.01	0.10 × 0.06 × 0.01	0.11 × 0.09 × 0.04
Диапазон сканирования по 2 θ , град	4.19–56.88	3.60–56.60	4.77–54.38	3.73–51.8	3.02–49.56	4.06–63.16
Диапазон индексов <i>hkl</i>	−18 ≤ <i>h</i> ≤ 18, −12 ≤ <i>k</i> ≤ 11, −24 ≤ <i>l</i> ≤ 26	−21 ≤ <i>h</i> ≤ 21, −22 ≤ <i>k</i> ≤ 22, −14 ≤ <i>l</i> ≤ 12	−21 ≤ <i>h</i> ≤ 21, −12 ≤ <i>k</i> ≤ 13, −21 ≤ <i>l</i> ≤ 21	−17 ≤ <i>h</i> ≤ 17, −20 ≤ <i>k</i> ≤ 20, −13 ≤ <i>l</i> ≤ 13	−13 ≤ <i>h</i> ≤ 13, −18 ≤ <i>k</i> ≤ 18, −22 ≤ <i>l</i> ≤ 22	−16 ≤ <i>h</i> ≤ 16 −18 ≤ <i>k</i> ≤ 18 −19 ≤ <i>l</i> ≤ 19
Число отражений измеренных/независимых	11 809/5800	3107/6928	26 136/5868	26 947/5262	43 558/11 389	77 952/10 671
<i>R</i> _{int}	0.0197	0.0674	0.104	0.119	0.0950	0.0338
Число ограничений/параметров	0/363	0/372	0/369	0/383	0/866	155/499
Добротность по <i>F</i> ²	1.037	1.031	1.031	1.023	1.033	1.059
<i>R</i> ₁ , <i>wR</i> ₂ (<i>I</i> > 2 σ (<i>I</i>))	0.0295, 0.0691	0.0426, 0.0862	0.0544, 0.1156	0.0543, 0.0964	0.0679, 0.1700	0.0460, 0.1293
<i>R</i> -факторы (все отражения)	0.0380, 0.0720	0.0689, 0.0973	0.1019, 0.1383	0.1036, 0.1147	0.1294, 0.2012	0.0531, 0.1354
Остаточная электронная плотность (max/min), e Å ^{−3}	0.33/−0.42	0.55/−0.47	0.44/−0.62	0.71/−0.55	0.90/−0.70	1.87/−1.18

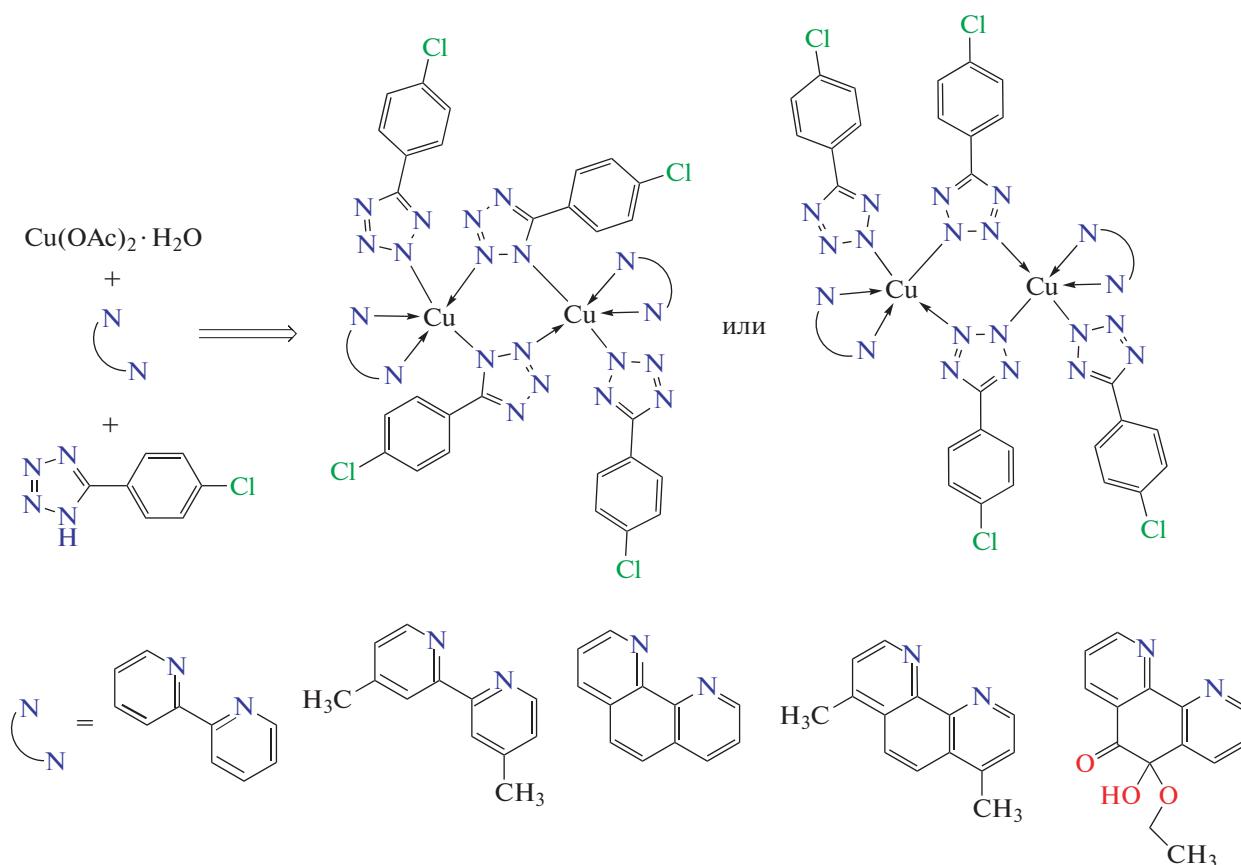


Схема 2.

В КБСД можно найти комплекс с аналогичной структурой $[\text{Cu}_2(\text{Bipy})_2\text{L}_4]$ (CCDC 1551671), который кристаллизуется в триклинной сингонии с пространственной группой $P\bar{1}$ и не содержит сольватных молекул. Координация мостикового и терминального тетразолат-иона одинакова во всех трех комплексах. Однако при наложении этих структур видны различия в пространственном расположении лигандов (рис. 2). В частности, наблюдаются значительные отличия в величине торсионных углов для мостиковых молекул лиганда. Так, в структурах Ia и Ib торсионный угол $\text{N}(1)–\text{C}(1)–\text{C}(2)–\text{C}(7)$ составляет 22° и 27° соответственно, а в структуре $[\text{Cu}_2(\text{Bipy})_2\text{L}_4]$ из КБСД данный угол равен 10° . Кроме того, в случае Ia наблюдается поворот терминального лиганда вдоль оси $\text{Cu}–\text{N}(6)$.

Комплекс II кристаллизуется в моноклинной сингонии с пространственной группой $P2_1/c$. Независимая часть структуры аналогична таковой для комплекса Ib (рис. 3), однако полиэдр центрального атома можно отнести как к квадратной пирамиде ($S(C_{4v}) = 2.00$), так и к тригональной бипирамиде ($S(D_{3h}) = 2.03$; $\tau_5 = 0.46$). В окружении атома меди находятся пять атомов азота, длины связей $\text{Cu}–\text{N}$ варьируются в диапазоне

$1.995(3)–2.061(3)$ Å (табл. 2), однако длина $\text{Cu}–\text{N}(1)$ связи составляет $2.169(3)$ Å, тем самым подтверждая квадратно-пирамидальное окружение центрального атома. В отличие от соединений I(a,b) в структуре комплекса II мостиковые ионы L^- соединяют соседние атомы меди атомами азота $\text{N}(1)$, $\text{N}(2)$. В результате образуется внутримолекулярный π -стэкинг (3.784 Å) между бензольным кольцом лиганда L^- и пиридиновым фрагментом молекулы Dmbipy (рис. 3). Расстояние $\text{Cu}–\text{Cu}$ в данном комплексе составляет 4.029 Å.

Комплекс IIIa так же, как и соединение II, кристаллизуется в моноклинной сингонии с пространственной группой $P2_1/c$. Независимая часть структуры аналогична таковой для комплексов Ia, Ib и II (рис. 4). Координационная сфера центрального атома состоит из пяти атомов азота, которые образуют вокруг атома меди(II) квадратную пирамиду ($S(C_{4v}) = 0.27$; $\tau_5 = 0.11$). Длины связей $\text{Cu}–\text{N}$ в базальной плоскости варьируются в диапазоне $1.970(4)–2.052(3)$ Å (табл. 2), а длина апикальной связи $\text{Cu}–\text{N}$ составляет $2.159(3)$ Å. Мостиковый 5-(4-хлорофенил)-тетразолат-ион, как и в случае комплексов Ia, Ib, координируется атомами $\text{N}(2)$ и $\text{N}(3)$, а расстояние между ионами меди(II) составляет 4.009 Å. Сольватная молекула этанола

образует водородную связь с атомом азота тетразолат-аниона, координированного монодентатно (2.859 Å). В КБСД опубликован комплекс с аналогичной структурой $[\text{Cu}_2(\text{Phen})_2\text{L}_4] \cdot (\text{CH}_3)_2\text{NC}(\text{O})\text{H}$ (CCDC 1551672), который кристаллизуется в триклинной сингонии с пространственной группой $P\bar{1}$ и содержит некоординированную молекулу ДМСО.

В структуре комплекса IVa присутствуют сольватные молекулы ДМСО и воды. В отличие от представленных выше соединений, комплекс IVa кристаллизуется в триклинной сингонии с пространственной группой $P\bar{1}$. В элементарной ячейке содержатся две кристаллографически неэквивалентные молекулы соединения IVa. 5-(4-Хлорофенил)-тетразолат-ион демонстрирует такие же способы координации, как и в комплексах IIIa и Ia, Ib: монодентатный атомом азота N(2) тетразольного цикла и бидентатно-мостиковый способ, где в координации участвуют атомы N(2) и N(3) (рис. 5). Расстояние между атомами меди(II) в первом соединении составляет 3.950 Å, а во втором — 4.093 Å (табл. 2). Координационный поли-

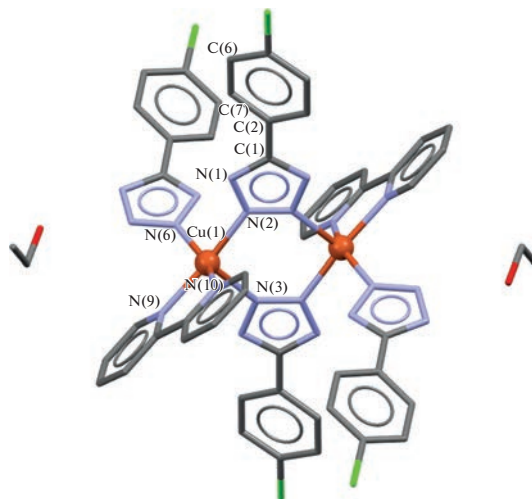


Рис. 1. Молекулярная структура комплекса Ia. Атомы водорода не показаны.

эдр центрального атома является квадратной пирамидой с параметром $S(C_{4v}) = 0.79$ для Cu(1) и 0.38 — для Cu(2). В базальной плоскости длины

Таблица 2. Расстояния Cu...Cu и длины связей Cu—N (Å) в комплексах

Комплекс	Cu—N _{баз} *		Cu—N _{апикл} *		Cu...Cu	
Ia	2.0057(14)		2.1868(15)		4.031	
	2.0464(15)					
	2.0022(15)					
	1.9840(14)					
Ib	2.028(2)		2.214(2)		4.117	
	2.044(2)					
	1.996(2)					
	1.976(2)					
II	2.043(3)		2.169(3)		4.029	
	2.061(3)					
	1.995(3)					
	1.958(3)					
IIIa	2.026(3)		2.159(3)		4.009	
	2.052(3)					
	2.003(3)					
	1.970(4)					
IVa	Cu(1)—N	Cu(2)—N	Cu(1)—N	Cu(2)—N	Cu(1)...Cu(1)	Cu(2)...Cu(2)
	2.009(5)	2.013(5)				
	2.035(4)	2.032(5)				
	1.998(5)	2.000(5)				
	1.979(5)	1.990(5)				
V	2.0187(15)		2.2725(15)		4.110	
	2.0290(15)					
	2.0011(15)					
	1.9795(15)					

* баз — базальный атом, апикл — апикальный атом.

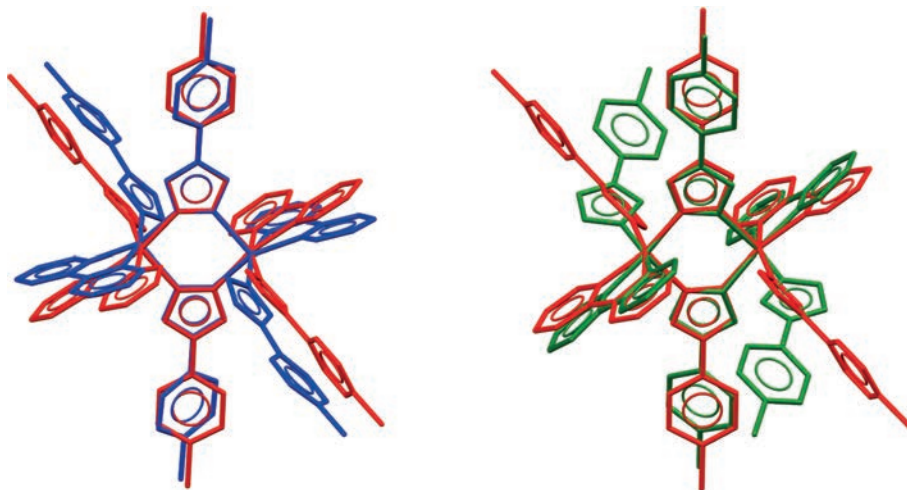


Рис. 2. Наложение кристаллических структур комплексов $[\text{Cu}_2(\text{Вир})_2\text{L}_4]$ (КБСД, красный), Ib (синий) и Ia (зеленый). Молекулы растворителя не показаны.

связей Cu–N варьируются в диапазоне 1.979(5)–2.035(4) Å, а длина апикальной связи Cu–N составляет 2.217(5) Å для Cu(1) и 2.203(5) Å для Cu(2).

По данным РСА биядерный комплекс меди(II) V похож на предыдущие соединения. В структуре V расстояние между ионами металла 4.110 Å (рис. 6), а 5-(4-хлорофенил)-тетразолат-ион выступает в качестве мостикового (координация атомами N(2) и N(3)) и терминального лиганда (в координации участвует атом азота N(2)). В процессе синтеза значительные изменения произошли с молекулой 1,10-фенантролин-5,6-диона: образовалась связь между атомом углерода одной

из карбонильных групп и молекулой этанола, при этом атом углерода стал sp^3 -гибридным. В структуре присутствуют некоординированные молекулы воды, образующие водородные связи с атомами азота тетразольных циклов мостикового ($\text{O}\cdots\text{N} = 2.852$ Å) и терминального ($\text{O}\cdots\text{N} = 2.917$ Å) лигандов. Координационное окружение меди(II), состоящее из пяти атомов азота, можно рассматривать как квадратную пирамиду ($S(C_{4v}) = 0.74$; $\tau_5 = 0.04$), а также как вакантный октаэдр ($S(C_{4v}) = 0.83$). Ввиду того что расстояние между центральным атомом и атомом кислорода молекулы воды составляет 2.861 Å, то полиэдр иона меди(II) можно описать как искаженный октаэдр с 5 + 1 окружением ($S(O_h) = 2.03$).

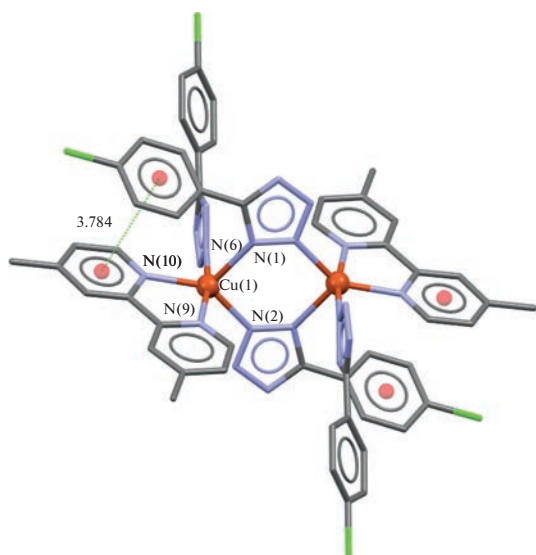


Рис. 3. Молекулярная структура II. Атомы водорода не показаны.

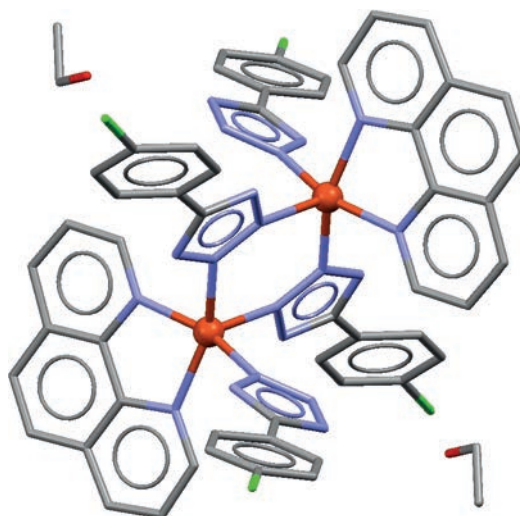


Рис. 4. Молекулярная структура комплекса IIIa. Атомы водорода не показаны.

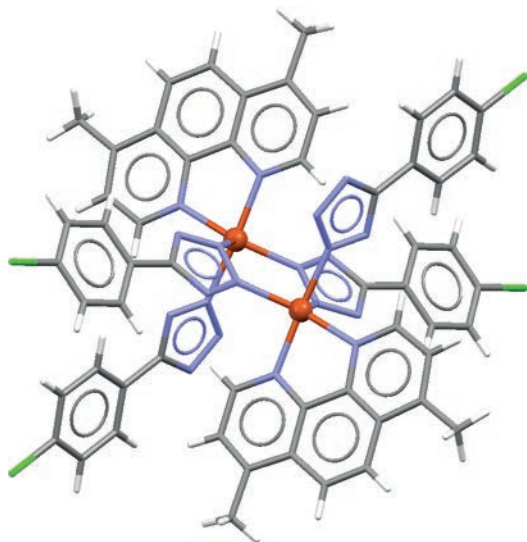


Рис. 5. Молекулярная структура комплекса IVa. Некоординированные молекулы ДМСО и воды не показаны.

Согласно данным РФА, комплексы I–V кристаллические. Дифрактограммы комплексов II и V согласуются с рассчитанными по данным РСА (рис. S2). Некоторые рефлексы в дифрактограмме комплекса III смещены относительно рефлексов в дифрактограмме, рассчитанной для $[\text{Cu}_2(\text{Phen})_2\text{L}_4] \cdot (\text{CH}_3)_2\text{NC}(\text{O})\text{H}$ (CCDC 1551672), что, вероятно, является следствием влияния сольватных молекул на упаковку молекул комплекса в кристалле (рис. S3). Экспериментальная дифрактограмма комплекса IV не соответствует дифрактограмме, рассчитанной для монокри-

сталлов IVa, полученных перекристаллизацией IV в ДМСО (рис. S4). Экспериментально полученная дифрактограмма комплекса I также не совпадает с рассчитанными, по данным РСА, дифрактограммами для Ia, Ib и для комплекса $[\text{Cu}_2(\text{Bipy})_2\text{L}_4]$, найденного в КБСД (CCDC 1551671) (рис. 7). Это может быть связано как с влиянием сольватных молекул, так и с существованием различных конформеров данной биядерной молекулы, что проиллюстрировано на рис. 2.

Спектры ЭПР для поликристаллических комплексов I–V (рис. 8) регистрировали при комнатной температуре в Q-диапазоне частот. Спектры ЭПР комплексов I–IV описываются спин-гамильтонианом

$$\hat{H} = \beta B g \hat{S} + D \left[\hat{S}_z^2 - \frac{S(S+1)}{3} \right] +$$

$E \left[\hat{S}_x^2 - \hat{S}_y^2 \right]$ с параметрами, представленными в табл. 3. Спектры ЭПР с $S = 1$ и $|D| \neq 0$ свидетельствует о наличии диполь-дипольного взаимодействия между ионами меди(II). В рамках модели точечных диполей с использованием формулы

$$D = \frac{2g_z^2 + (g_x^2 + g_y^2)/2}{2r_{\text{Cu-Cu}}^3} \beta^2$$

расстояния между ионами меди(II) можно оценить в ≈ 5.9 и $5.6 \text{ \AA}$ для комплексов I и II на основе 2,2'-бипиридина, ≈ 5.0 и $4.9 \text{ \AA}$ для комплексов III и IV на основе 1,10-фенантролина (табл. 3). Полученные значения $r(\text{Cu-Cu})$ несколько превосходят расстояния между ионами меди(II), определенные по данным РСА ($r(\text{Cu-Cu}) \approx 4.0 \text{ \AA}$). Несмотря на это данные ЭПР-спектроскопии наряду с данными РСА свидетельствуют о биядерном строении комплексов I–IV.

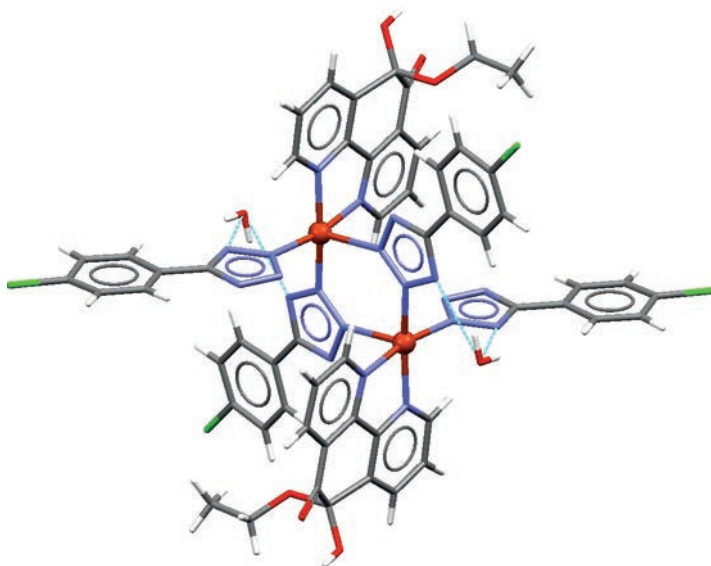


Рис. 6. Молекулярная структура комплекса V. Молекулы этанола не показаны.

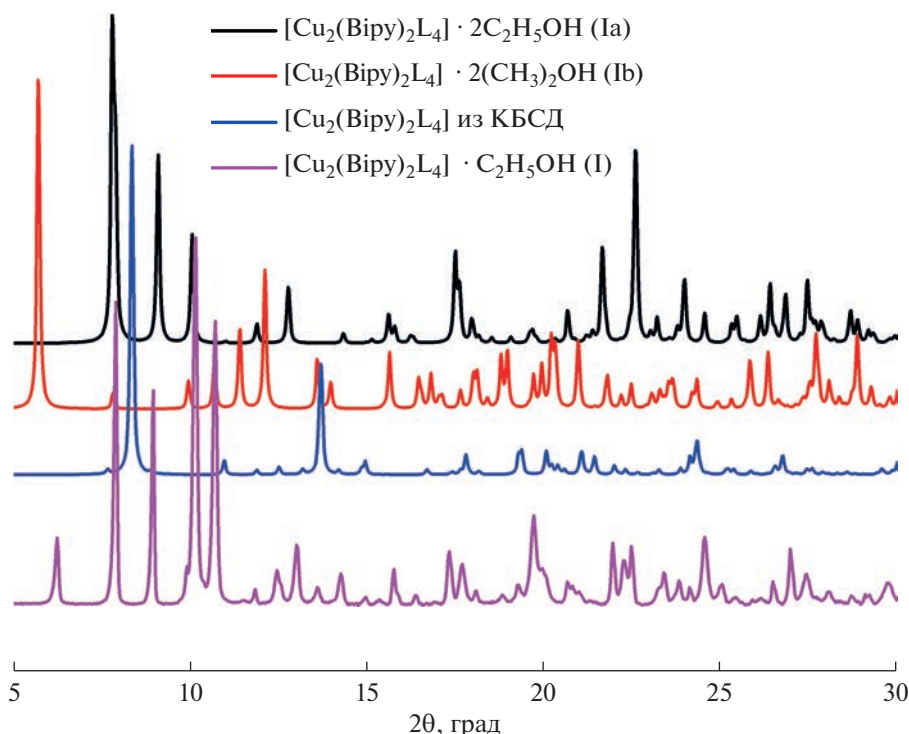


Рис. 7. Дифрактограммы, рассчитанные по данным РСА монокристаллов Ia (черная линия), Ib (красная линия), $[\text{Cu}_2(\text{Bipy})_2\text{L}_4]$ (CCDC 1551671), синяя линия), и экспериментальная (розовая линия) порошковая дифрактограмма комплекса I.

Спектр ЭПР комплекса V описывается спин-гамильтонианом $\hat{H} = \beta B g \hat{S}$ с параметрами $S = 1/2$, $g_{\perp} = 2.064$, $g_{\parallel} = 2.255$. Полученный разрешенный по g -тензору спектр, в котором отсутствует расщепление в нулевом поле, характерен для моноядерных комплексов меди(II). Несмотря на отсутствие диполь-дипольного взаимодействия между парамагнитными центрами, согласно данным РСА, комплекс V является биядерным с малым расстоянием между атомами меди ($r(\text{Cu}-\text{Cu}) = 4.11 \text{ \AA}$). Подобное несоответствие данных РСА и спектроскопии ЭПР наблюдалось ранее для аналогичных биядерных комплексов меди(II) с 5-фенилтетразолат-анионом [33, 34].

Для изучения поведения комплексов в растворе был зарегистрирован спектр ЭПР для замороженного раствора комплекса I (растворители — ДМСО, этанол (1 : 10), X-диапазон, $T = 77 \text{ K}$). Спектр ЭПР (рис. 9) описывается спин-гамильтонианом $\hat{H} = \beta B g \hat{S} + \sum \hat{I} A_i \hat{S}$ с параметрами $S = 1/2$, $g_x = g_y = 2.059$, $g_z = 2.275$, $A_z(\text{Cu}) = 500 \text{ МГц}$, $A_x(\text{N}) = A_y(\text{N}) = 41 \text{ МГц}$, $n(\text{N}) = 4$. В спектре наблюдается сверхтонкая структура от одного иона меди и четырех эквивалентных атомов азота. Таким образом, в растворе может происходить перераспределение лигандов с образованием формы

комплекса, содержащей четыре эквивалентных атома азота, например $[\text{Cu}(\text{Bipy})_2]^{2+}$ или $[\text{CuL}_4]^{2-}$.

Для комплексов I–V записаны СДО, а также зарегистрированы ЭСП в растворе ДМСО в видимой области спектра. Максимумы полос $d-d$ -переходов для комплексов I–V находятся в диапазоне 600–645 нм, при этом в растворе ДМСО в спектрах происходит смещение полосы $d-d$ -переходов в низкочастотную область ($\lambda_{\text{max}} = 678 \text{ нм}$). Причиной подобного смещения максимумов полос поглощения в растворе может являться координация к ионам меди(II) лигандов более слабого поля по сравнению с олигопиридинами и тетразолами — молекул растворителя.

На примере II изучена стабильность существующих в растворе форм комплекса. Для этого записаны ЭСП в начальный момент времени, а также через 24 и 48 ч в видимом (раствор ДМСО) и УФ-диапазоне (водный раствор, полученный разбавлением раствора ДМСО (ДМСО : вода = 1 : 65 по объему)) спектра (рис. 10). В течение указанного промежутка времени в спектрах отсутствуют изменения интенсивности поглощения или смещение максимумов полос поглощения, что свидетельствует о том, что растворы комплексов стабильны в течение 48 ч как в водном растворе, так и в ДМСО.

Цитотоксическая активность комплексов оценивалась методом высокопроизводительного скри-

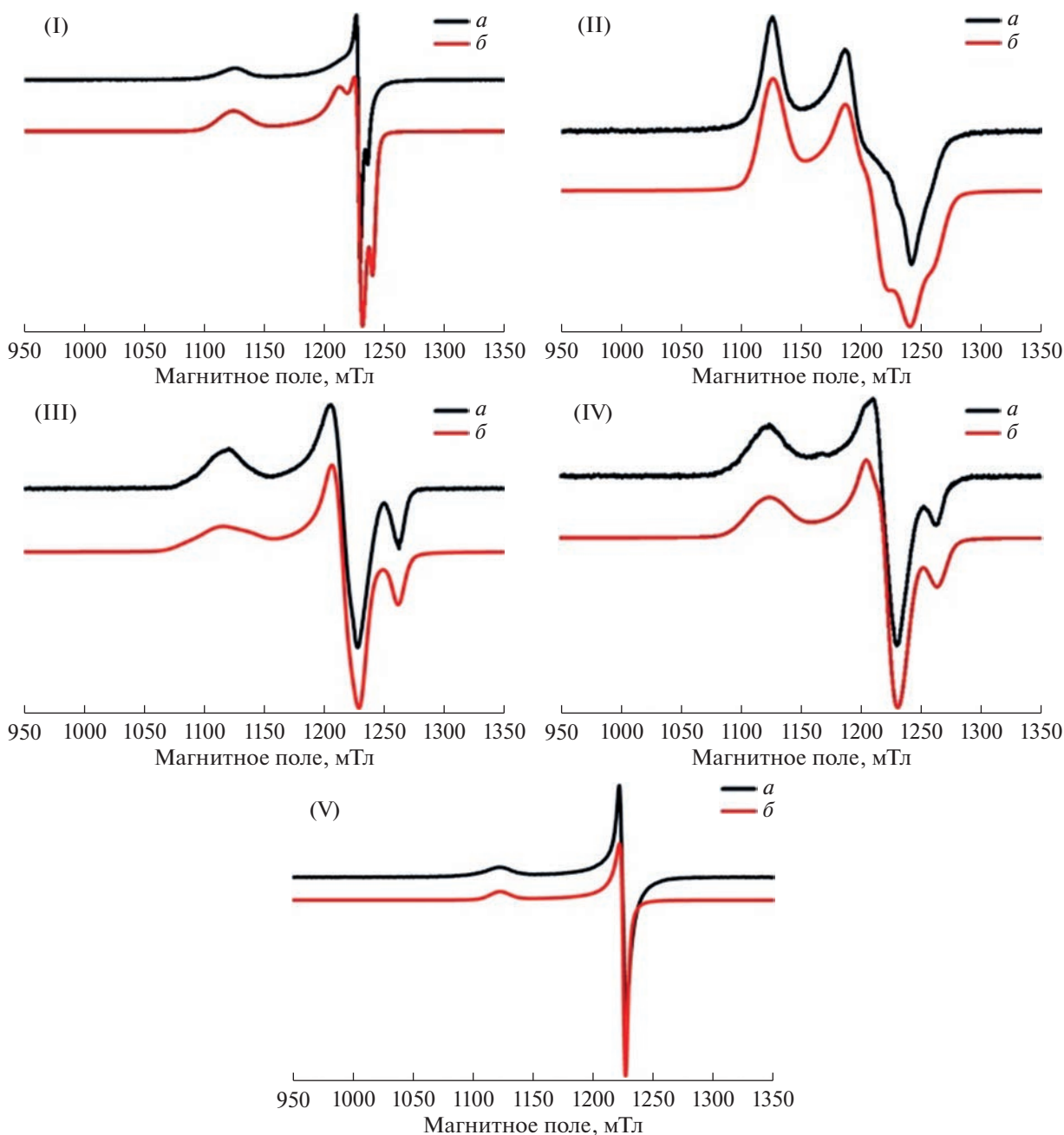


Рис. 8. Спектры ЭПР в Q-диапазоне частот для поликристаллических образцов I–V при 300 К: экспериментальный (a); моделированный (b).

нинга на приборе IN Cell Analyzer 2200 (двойное окрашивание флуоресцентными красителями Hoeschst и пропидий йодидом). Полученные данные представлены в табл. 4 в виде значений параметра IC_{50} — концентрации соединения, снижающей количество живых клеток на 50% по сравнению с контролем.

Показано, что комплексы I–V обладают выраженной дозозависимой цитотоксичностью по отношению к раковым клеткам карциномы гортани

(Hep2) и гепатокарциномы (HepG2), которая сравнима и в некоторых случаях превосходит активность лекарственного препарата цисплатина, использованного в качестве соединения-сравнения. При этом эффект комплексов зависит от того, какое производное Bipy/Phen входит в состав соединения, усиливаясь в ряду: Bipy < Dmbipy < Phen < Dmphen < Phendione. Ацетат меди(II) и производное тетразола не токсичны в диапазоне концентраций 1–50 мкМ. В [35] установлено, что

Таблица 3. Параметры спектров ЭПР для комплексов I–V

Комплекс	<i>S</i>	<i>g_x</i>	<i>g_y</i>	<i>g_z</i>	<i>D</i> , МГц	<i>E</i> , МГц	<i>r</i> (Cu–Cu), Å
I	1	2.049	2.067	2.25	448	134	5.9
II	1	2.022	2.105	2.245	560	19	5.6
III	1	2.032	2.088	2.27	728	170	5.0
IV	1	2.031	2.084	2.25	784	235	4.9
V	1/2	2.064	2.064	2.255			

Таблица 4. Значения IC₅₀ для ацетата меди(II), HL, цисплатина и комплексов I–V*

Соединение	IC ₅₀ , мкМ			Индекс селективности	
	клетки Hep2	клетки HepG2	клетки MRC-5	клетки Hep2	клетки HepG2
[Cu ₂ (Bipy) ₂ L ₄] · C ₂ H ₅ OH (I)	>50	35.0 ± 0.7	36.2 ± 2.2	>1	1.0
[Cu ₂ (Dmbipy) ₂ L ₄] (II)	12.4 ± 0.4	6.6 ± 0.2	12.0 ± 0.6	1.0	1.8
[Cu ₂ (Phen) ₂ L ₄] · H ₂ O (III)	4.8 ± 0.4	3.6 ± 0.3	2.0 ± 0.8	0.4	0.6
[Cu ₂ (Dmphen) ₂ L ₄] (IV)	1.5 ± 0.1	1.8 ± 0.3	0.50 ± 0.06	0.3	0.3
[Cu ₂ (Phendione') ₂ L ₄] · · 2C ₂ H ₅ OH · 2H ₂ O (V)	1.0 ± 0.1	0.92 ± 0.04	3.4 ± 0.3	3.4	3.7
Цисплатин	9.2 ± 0.5	33.0 ± 5.4	>50	>1	>1
HL	>50	>50	>100		
Cu(OAc) ₂	>50	>50			

* Время инкубации 48 ч.

производные Bipy/Phen способны вызывать гибель раковых клеток. Однако при сравнении значений параметров IC₅₀ для данных лигандов и комплексов наблюдается усиление цитотоксических свойств при комплексообразовании.

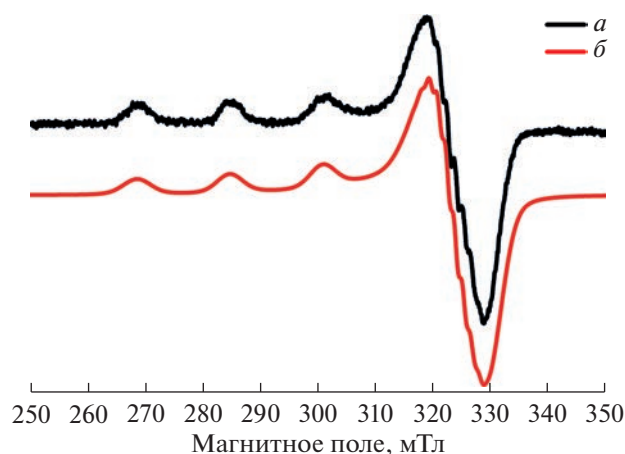


Рис. 9. Спектр ЭПР замороженного раствора комплекса I (смесь этанол–ДМСО (1 : 10)) при 77 К в X-диапазоне: экспериментальный (а); моделированный (б).

Дополнительно исследована цитотоксичность соединений I–V на нераковой клеточной линии фибробластов человека MRC-5 и рассчитаны индексы селективности, которые представляют собой отношение значений параметра IC₅₀(MRC-5) к IC₅₀(Hep2/HepG2). Селективность действия наблюдалась только в случае соединения V (индекс селективности >3).

В [35] была изучена цитотоксическая активность структурно родственных биядерных комплексов на основе 5-фенилтетразола состава [Cu₂(L¹)₂(5-фенилтетразолат)₄]. На рис. 11 приведена диаграмма со значениями IC₅₀ на клетках HepG2 для комплексов меди(II) с различными производными Bipy/Phen и 5-фенилтетразолом/5-(4-хлорофенил)-тетразолом. Активность соединений на данной клеточной линии близка. Однако стоит отметить, что соединения I и II на основе Bipy и Dmbipy оказывают более выраженный эффект на клетки по сравнению с аналогичными комплексами на основе 5-фенилтетразола. Обратная картина наблюдается для соединений на основе Phen и Phendione.

Таким образом, в работе получены и структурно охарактеризованы пять биядерных комплексов меди(II) на основе производных Bipy/Phen и

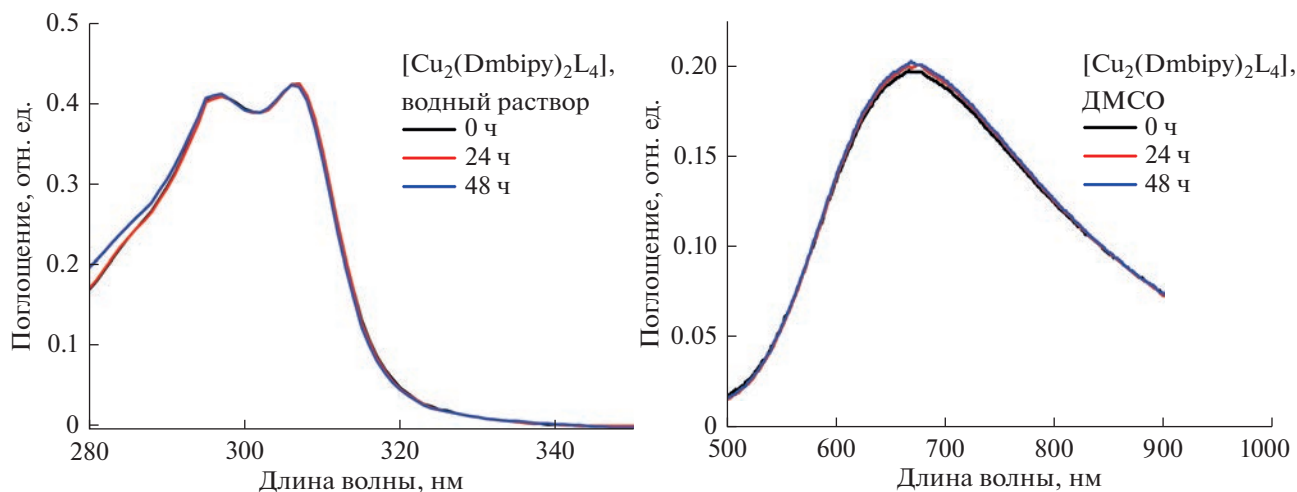


Рис. 10. Спектры поглощения комплекса II в УФ (водный раствор) и видимом (раствор ДМСО) диапазоне спектра.

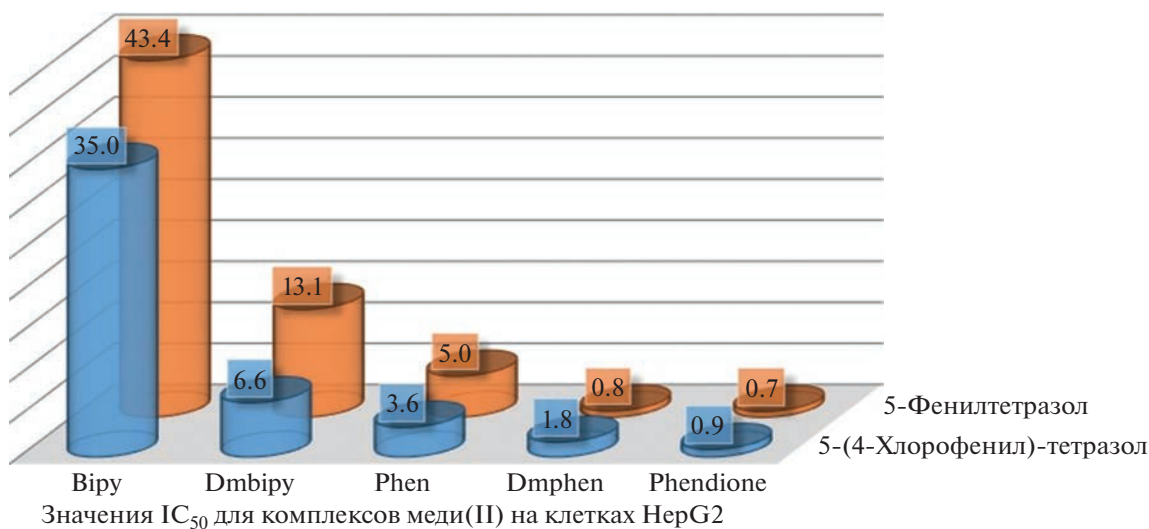


Рис. 11. Диаграмма со значениями параметров IC_{50} для комплексов меди(II) с различными производными 2,2'-бипиридина/1,10-фенантролина и 5-фенилтетразолом/5-(4-хлорофенил)-тетразолом.

тетразола. Соединения охарактеризованы методами ЭПР и ИК-спектроскопии, элементного и рентгенофазового анализов. Методом РСА установлено, что два атома меди соединены между собой мостиковыми 5-(4-хлорофенил)-тетразолат-анионами, координированными атомами N(2), N(3) или N(1), N(2) (в случае комплекса II с Dmbipy). К терминальным ионам меди(II) координируются тетразолат-ионы атомом азота N(2) и производные 2,2'-бипиридина/1,10-фенантролина. Методом оптической спектроскопии продемонстрирована стабильность водных растворов комплексов в течение 48 ч. Установлено, что полученные соединения обладают выраженными цито-

токсическими свойствами по отношению к раковым клеточным линиям.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность А.П. Зубаревой и Н.Н. Комардиной за данные элементного анализа, А.С. Сухих, Т.С. Сухих, В.Ю. Комарову, В.Н. Юдину — за предоставление данных, измеренных в рентгенодифракционном ЦКП ИХХ СО РАН, Д.Г. Самсоненко — данных РСА комплекса Ia, М.О. Матвеевой — за выполнение рентгенофазового анализа.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование поддержано Министерством науки и высшего образования Российской Федерации (проект № 121031700321-3). Работа по изучению цитотоксических свойств соединений выполнена с использованием оборудования ЦКП “Протеомный анализ”, поддержанного финансированием Минобрнауки России (соглашение № 075-15-2021-691).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Rosenberg B., VanCamp L., Trosko J.E. et al. // *Nature*. 1969. V. 222. № 5191. P. 385.
2. Ferraro M.G., Piccolo M., Misso G. et al. // *Pharmaceutics*. 2022. V. 14. № 5. P. 954.
3. González-Ballesteros M.M., Mejía C., Ruiz-Azuara L. // *FEBS Open Bio*. 2022. V. 12. № 5. P. 880.
4. McGivern T.J.P., Afsharpour S., Marmion C.J. // *Inorg. Chim. Acta*. 2018. V. 472. P. 12.
5. Erxleben A. // *Coord. Chem. Rev.* 2018. V. 360. P. 92.
6. Molinaro C., Martorati A., Pelinski L. et al. // *Cancers*. 2020. V. 12. № 10. P. 2863.
7. Kalinowski D.S., Stefani C., Toyokuni S. et al. // *Biochim. Biophys. Acta, Mol. Cell Res.* 2016. V. 1863. № 4. P. 727.
8. Jiang Y., Huo Z., Qi X. et al. // *Nanomedicine*. 2022. V. 17. № 5. P. 303.
9. Pinheiro A.C., Busatto F.F., Schaefer B.T. et al. // *J. Inorg. Biochem.* 2022. V. 237. P. 112013.
10. Dinev D., Popova K.B., Zhivkova T. et al. // *Appl. Organomet. Chem.* 2022. V. 36. № 10. P. e6862.
11. Cao H.Z., Yang W.T., Zheng P.S. // *BMC Cancer*. 2022. V. 22. № 1. P. 1.
12. Babahan-Bircan I., Emirdağ S., Özmen A. et al. // *Appl. Organomet. Chem.* 2022. V. 36. № 9. P. e6784.
13. Afroz L., Khan M.H.M., Vagdevi H.M. et al. // *Emergent Mater.* 2021. V. 5. № 4. P. 1133.
14. Khursheed S., Siddique H.R., Tabassum S. et al. // *Dalton Trans.* 2022. V. 51. № 31. P. 11713.
15. Santini C., Pellei M., Gandin V. et al. // *Chem. Rev.* 2013. V. 114. № 1. P. 815.
16. Krasnovskaya O., Naumov A., Guk D. et al. // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. P. 3965.
17. Vitomirov T., Dimiza F., Matić I.Z. et al. // *J. Inorg. Biochem.* 2022. V. 235. P. 111942.
18. Figueroa-Depaz Y., Pérez-Villanueva J., Soria-Arteche O. et al. // *Molecules*. 2022. V. 27. № 11. P. 3504.
19. Karpagam S., Mamindla A., Kumar Sali V. et al. // *Inorg. Chim. Acta*. 2022. V. 531. P. 120729.
20. Zehra S., Cirilli I., Silvestri S. et al. // *Metallomics*. 2021. V. 13. № 11. P. mfab064.
21. Zehra S., Gómez-Ruiz S., Siddique H.R. et al. // *Dalton Trans.* 2020. V. 49. № 46. P. 16830.
22. Paixão D.A., de Oliveira B.C.A., Almeida J.C. et al. // *Inorg. Chim. Acta*. 2020. V. 499. P. 119164.
23. Karpagam S., Kartikeyan R., Paravai N.P. et al. // *J. Coord. Chem.* 2019. V. 72. № 18. P. 3102.
24. Alvarez N., Mendes L.F.S., Kramer M.G. et al. // *Inorg. Chim. Acta*. 2018. V. 483. P. 61.
25. Figueroa-DePaz Y., Resendiz-Acevedo K., Dávila-Manzanilla S.G. et al. // *J. Inorg. Biochem.* 2022. V. 231. P. 111772.
26. Kumari J., Mobin S.M., Mukhopadhyay S. et al. // *Inorg. Chem. Commun.* 2019. V. 105. P. 217.
27. Stoll S., Schweiger A. // *J. Magn. Reson.* 2006. V. 178. № 1. P. 42.
28. Bruker Apex3 Software Suite: Apex3, SADABS-2016/2 and SAINT. Version 2018.7-2. Madison (WI, USA): Bruker AXS Inc., 2017.
29. CrysAlisPro 1.171.38.46. The Woodlands (TX, USA), Rigaku Oxford Diffraction, 2015.
30. Sheldrick G.M. // *Acta Crystallogr. A*. 2015. V. 71. № 1. P. 3.
31. Sheldrick G.M. // *Acta Crystallogr. C*. 2015. V. 71. № 1. P. 3.
32. Dolomanov O.V., Bourhis L.J., Gildea R.J. et al. // *J. Appl. Crystallogr.* 2009. V. 42. № 2. P. 339.
33. Eremina J.A., Lider E.V., Samsonenko D.G. et al. // *Inorg. Chim. Acta*. 2019. V. 487. P. 138.
34. Smirnova K.S., Golubeva Y.A., Lider E.V. // *Crystallogr. Rep.* 2022. V. 67. № 4. P. 575.
35. Eremina J.A., Ermakova E.A., Smirnova K.S. et al. // *Polyhedron*. 2021. V. 206. P. 115352.

УДК 546.72+661.982+547-305+579.842.11+579.86+577.1821

СИНТЕЗ, СТРОЕНИЕ И СВОЙСТВА НИТРОЗИЛЬНОГО КОМПЛЕКСА ЖЕЛЕЗА С 2-ЭТИЛ-4-ПИРИДИНКАРБОТИОАМИДОМ

© 2023 г. Н. А. Санина^{1,2,3,*}, Г. В. Шилов¹, Н. С. Ованесян¹, В. А. Мумятова¹, А. А. Балакина¹, А. А. Терентьев^{1,2,3}, О. В. Покидова¹, С. М. Алдошин¹

¹Федеральный исследовательский центр проблем химической физики
и медицинской химии РАН, Черноголовка, Россия

²Научно-образовательный центр “Медицинская химия” в г. Черноголовка
Государственного университета просвещения, Мытищи, Россия

³Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия
*e-mail: sanina@icp.ac.ru

Поступила в редакцию 28.02.2023 г.

После доработки 17.03.2023 г.

Принята к публикации 22.03.2023 г.

Представлены синтез и результаты исследования физико-химических характеристик и биологической активности нового нитрозильного комплекса железа $(Q^+)_2[Fe_2(S_2O_3)_2(NO)_4]^{2-}$ (I), где Q^+ — протонированный 2-этил-4-пиридинкарботиоамид ($C_8H_{11}N_2S$). Строение и свойства комплекса изучено методами РСА, элементного анализа, ИК-, Мессбауэровской спектроскопии и амперометрии. Установлено, что комплекс обладает антибактериальной активностью и является эффективным ингибитором фосфодиэстеразы циклического гуанозинмонофосфата (ФДЭ цГМФ), что позволяет прогнозировать его антигипертензивную, антиагрегационную и вазодилататорную активности.

Ключевые слова: биядерные тетранитрозильные комплексы железа(I) РСА, ИК-спектроскопия, Мессбауэровская спектроскопия, амперометрия, антибактериальная активность, биопленки, ампициллин, канамицин, стрептомицин, цефтриаксон, МТТ-тест, фосфодиэстераза

DOI: 10.31857/S0132344X23600169, EDN: WBRIFE

Эндогенный оксид азота (NO) играет важную роль в качестве первой линии обороны против различных патогенов: эффективно действует на вирусы [1, 2], обладает антибактериальной и противогрибковой [3–5] активностью. Образование NO усиливается в макрофагах, индуцированных инфекционными агентами или цитокинами [6].

Среди экзогенных средств генерации NO, рассматриваемых как противомикробные средства, можно выделить несколько основных классов [7]. Наряду с газообразным NO и различными системами его генерации [8–16] используются органические нитраты [17], NONO-аты [18, 19] и S-нитрозо-тиолы [20–22]. В последние годы растет интерес к низкомолекулярным миметикам нитрозильных ферредоксинов, содержащих природный $Fe(NO)_2$ фрагмент [23, 24]. В качестве механизмов противомикробного действия NO-доноров этого класса рассматриваются: 1) индукция оксидативно-нитрозативного стресса [9]; 2) модификация тиолсодержащих аминокислот в белках [25]; 3) нитрозилирование и нарушение функции транскрипционного фактора NF- κ B [26]. Учитывая схожесть структур нитрозильных комплексов железа (НКЖ) с нату-

ральными нитрозильными белками $[1Fe-2S]$ и $[2Fe-2S]$, ожидается, что в их противомикробном действии участвуют новые механизмы, не связанные с ДНК как с первичной мишенью. Эти механизмы и требуют дополнительных исследований, включающих синтез новых НКЖ, преимущественно содержащих лиганды, обладающие противомикробной активностью, и изучение их на моделях *in vitro* и *in vivo*.

В подавляющем большинстве исследований в качестве лигандов для синтеза НКЖ используются различные алифатические и ароматические тиолы [27–30]. НКЖ на основе тиамидов практически неизвестны и представляют большой практический интерес. Известно, что производные тиамида демонстрируют противотуберкулезную [31, 32], противовирусную [33], противоопухолевую [34, 35] фунгицидную [36] активность, глистогонное и тиреотоксическое действие [37]. Тиамиды обладают более высокой антибактериальной и противовирусной активностью, чем соответствующие амиды [38–43]. Аналогично 5-ацетокси и 5-гидроксиалкантиоамида показали высокую антибактериальную активность в отношении *Staphylococ-*

cus aureus [44]. Существуют фармацевтические соединения, содержащие тиокарбонильные группы: антитиреоидные препараты: метилтиоурацил и пропилтиоурацил, уменьшающие синтез тироксина в щитовидной железе, оказывая лечебное действие при ее гиперфункции; противотуберкулезный препарат тиацетазон, агонист андрогенных рецепторов энзалутамид; антиметаболит тiogуанин и др. [45]. С обнаружением природных тиоамидов интенсивно развиваются синтетические стратегии по созданию терапевтических препаратов, содержащих пептидные тиоамиды [46].

Для борьбы с туберкулезом применяют различные препараты из ряда ароматических тиоамидов с хорошей эффективностью, включая этионамид и изониазид. Структуры этионамида (А) и изониазида (Б) представлены на схеме 1.

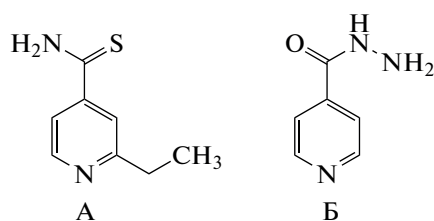


Схема 1.

Механизм их действия связан с подавлением синтеза белка в микобактериях. Этионамид угнетает рост и размножение микобактерий туберкулеза при внутриклеточном и внеклеточном расположении (в том числе действует на рефрактерные и атипичные формы); усиливает фагоцитоз в очаге туберкулезного воспаления и используется в сочетании с другими агентами в тех случаях, когда препараты первой линии неэффективны или противопоказаны. Его эффективное бактериостатическое действие против организмов, обладающих резистентностью к изониазиду, было продемонстрировано экспериментом и клиническими испытаниями на животных [47]. Активность этионамида зависит от pH среды: в кислой среде активность этионамида возрастает [48]. Несмотря на то что этионамид и его структурные аналоги широко используются в терапии, а в литературе содержится информация об их кристаллической структуре [49], весьма ограничена на сегодняшний день информация об их важных физико-химических параметрах, таких как растворимость, разделение в фармацевтически важных растворителях и мембранопроницаемость [50, 51].

В этой связи гибридные системы, содержащие в качестве лигандов два важных фармакофора — NO-группу и тиоамиды, — могут стать перспективными в NO-терапии инфекционных заболеваний. Полученные нами данные [52] свидетельствуют о том, что соединения, содержащие структурный фрагмент $\{Fe(NO)_2\}^9$, и тиоамид в составе гибридной молекулы — донора NO — смогут проявлять

синергизм противоинфекционных, противовоспалительных и иммуномодулирующих свойств.

Цель настоящей работы — синтез НКЖ ($C_8H_{11}N_2S^+)_2[Fe_2(S_2O_3)_2(NO)_4]^{2-}$ (I), исследование его строения и свойств в твердой фазе и в растворах, а также биологической активности.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Получение НКЖ I проводили в режиме низкотемпературного синтеза с использованием коммерческих реактивов, которые применяли без дальнейшей очистки NaOH (Aldrich), $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ (Aldrich), HCl (37% марки “х. ч.”) и 2-этил-4-пиридинкарботиоамид (Aldrich). Синтез НКЖ I осуществляли в три этапа: 1) получение газообразного NO по методике [53]; 2) синтез прекурсора НКЖ с тиосульфатным лигандом состава $Na_2[Fe_2(S_2O_3)_2(NO)_4] \cdot 2H_2O$ выполняли согласно методике [54]; 3) синтез НКЖ I с 2-этил-4-пиридинкарботиоамидом (см. схему 1). Все операции по приготовлению, смешиванию и хранению растворов проводили в атмосфере аргона. Для приготовления растворов использовали бидистиллированную воду. Растворители: метанол и диметилсульфоксид (ДМСО) очищали согласно методикам [55].

Синтез I. Сухую смесь $Na_2[Fe_2(S_2O_3)_2(NO)_4] \cdot 2H_2O$ (0.77 мМ) и $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ (0.4 мМ) растворяли в 5 мл воды и фильтровали в реакционную колбу. Навеску (3.5 мМ) 2-этил-4-пиридинкарботиоамида (схема 1) растворяли в 1 мл концентрированной HCl и 3 мл воды и фильтровали в реакционную колбу при интенсивном перемешивании на магнитной мешалке при комнатной температуре. Мгновенно образовавшийся плотный и густой светло-коричневый аморфный осадок перемешивали в течение 20 мин, после чего отфильтровывали на мембранном фильтре и сушили в токе аргона при комнатной температуре. Выход I 85%.

Найдено % C 24.30; H 2.84; N 14.20; O 20.22; S 24.33; Fe 14.11.

Для $C_{16}H_{22}N_8O_{10}S_6Fe_2$ (I)

вычислено % C 24.31; H 2.81; N 14.17; O 20.24; S 24.34; Fe 14.13.

Монокристаллы I для РСА получали при перекристаллизации аморфного осадка из метанола медленным (в течение 2 недель) удалением растворителя при $-18^\circ C$.

Анализ на C, H, N, S, O-элементы в комплексах выполняли на CHNS/O-элементном анализаторе Vario El cube в АЦКП ФИЦ и ПХФ и МХ РАН. Анализ на железо проводили методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии в пламени ацетилен-воздух с использованием дейтериевого корректора фона на атомно-абсорбционном спектрофотометре “AAS-3”, производства фирмы Carl Ceiss Jena (Германия). В работе использовали

Таблица 1. Основные кристаллографические данные, параметры эксперимента и уточнения структуры I

Параметры	Значение
Брутто-формула	$C_{16}H_{22}N_8O_{10}S_6Fe_2$
<i>M</i>	790.47
Температура, К	100 (1)
Размер кристалла, мм	$0.15 \times 0.10 \times 0.05$
λ , Å	0.7107
Сингония	Триклинная
Пр. группа	$P\bar{1}$
<i>a</i> , Å	7.3417(4)
<i>b</i> , Å	7.4792(4)
<i>c</i> , Å	14.0322(11)
α , град	78.174(5)
β , град	82.408(5)
γ , град	78.372(5)
<i>V</i> , Å ³	735.35(8)
<i>Z</i>	1
ρ (выч.), г/см ³	1.785
μ , мм ⁻¹	1.476
<i>F</i> (000)	402
Диапазон съемки θ , град	26.069
Измеренные отражения (<i>R</i> _{int})	5513
Независимые отражения	2907
GOOF	1.247
<i>R</i> ₁ , <i>wR</i> ₂ (<i>I</i> > 2 σ (<i>I</i>))	0.0829, 0.2067
<i>R</i> ₁ , <i>wR</i> ₂ (все данные)	0.0862, 0.2081
Остаточная электронная плотность (max/min), e Å ⁻³	1.857/–0.806

лампу с полым катодом. Определение железа проводили на резонансной линии $\lambda = 248.3$ нм.

ИК-спектр I снимали на Фурье-спектрометре Bruker ALPNA в интервале частот 400–4000 см⁻¹ в режиме нарушенного полного внутреннего отражения (НВПО).

ИК (ν , см⁻¹): 3284 сл, 3132 сл, 2697 о.сл, 1780 ср, 1758 о.с, 1650 сл, 1632 сл, 1425 о.сл, 1362 о.сл, 1290 о.сл, 1255 сл, 1231 сл, 1188 ср, 1141 о.сл, 1016 ср, 924 о.сл, 838 сл, 815 о.сл, 775 о.сл, 735 о.сл, 710 о.сл, 686 о.сл, 600 ср, 530 ср.

РСА I проведен на дифрактометре XCalibur с EOS координатным детектором EOS (Agilent Technologies UK Ltd, Yarnton, Oxfordshire, England). Сбор рефлексов, определение и уточнение параметров элементарной ячейки проведен при температуре 100 К с использованием монохроматизированного MoK_{α} -излучения с $\lambda = 0.71073$ Å по программе CrysAlis PRO [56]. Структура решена прямыми методами. Позиции и тепловые параметры неводородных атомов уточнены анизотропно по мето-

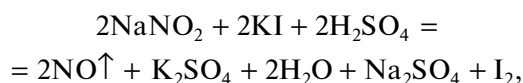
ду МНК. Все расчеты выполнены в программном комплексе SHELXTL [57]. Позиции атомов водорода в анионе выявлены из разностных синтезов и уточнены в схеме наездника. Позиции атомов водорода молекулы воды выявлены из разностных синтезов Фурье и уточнены с наложением ограничений на длины связей и тепловые параметры. Параметры элементарной ячейки и основные кристаллографические данные I представлены в табл. 1.

Полный набор рентгеноструктурных параметров депонирован в Кембриджском банке данных структур (CCDC № 2243554; www.ccdc.cam.ac.uk/data_request/cif).

Мессбауровские спектры поглощения поликристаллического порошка I снимали на установке WissEl (Wissenschaftliche Elektronik GmbH, Германия), работающей в режиме постоянного ускорения. Источником служил Co^{57} в матрице Rh, находящийся при комнатной температуре. Обработку мессбауровских спектров проводили

методом наименьших квадратов в предположении лоренцевой формы составных линий поглощения.

Исследование NO-донорной активности. Для изучения NO-донорной активности I в растворах использовали сенсорный электрод amiNO-700 системы inNO Nitric Oxide Measuring System (Innovative Instruments, США). Метод основан на измерении диффузионного тока, возникающего вследствие изменения потенциала электрода при выделении NO исследуемым веществом. Концентрацию NO, генерируемого НКЖ I в течение 500 с, регистрировали с шагом 0.2 с в 0.1%-ном водном растворе ДМСО с концентрацией комплекса 0.4×10^{-5} М (рН 7.0; $T = 25^\circ\text{C}$). Для калибровки амперометрического сенсора использовали стандартный водный раствор 1 мкМ NaNO_2 , который добавляли в смесь, содержащую 18 мл H_2O , 20 мг KI и 2 мл 1 М H_2SO_4 марки “х. ч.”. Реакция описывается уравнением:



согласно которому, соединения реагируют в соотношении 1 : 1 : 1. Это означает, что концентрация выделившегося NO эквивалентна концентрации добавленного нитрита. Добавление 10 мкл стандартного раствора нитрита приводит к выделению 50 нМ NO в 20 мл образующегося раствора. Расчет ведется по следующей формуле:

$$M_1V_1 = M_2V_2,$$

где M_1 — молярность стандартного раствора нитрита; V_1 — прибавленный объем стандартного раствора нитрита; M_2 — молярность нитрита после прибавления стандарта в колбочку; V_2 — общий объем. После этого навеску НКЖ I растворяли в 10 мл ДМСО, отбирали пробу $V = 0.5$ мл, добавляли к 49.5 мл буферного раствора Buffer Hydron (Sigma-Aldrich, США) с рН 7.0 и регистрировали выделение NO.

Исследование антибактериальной активности. Оценку антибактериальной активности I проводили путем определения минимальной подавляющей концентрации (МПК), а также способностью ингибировать образование биопленок микроорганизмов. Для определения МПК применяли микрометод последовательных серийных разведений согласно всем требованиям Методических указаний МУК 4.2.1890-04 [58]. Метод серийных разведений является современным стандартизированным и наиболее точным методом получения количественного показателя чувствительности микроорганизмов к антибактериальным агентам. Исследование проводили на культурах грамотрицательных бактерий *Escherichia coli* (штамм ВВ) и грамположительных — *Micrococcus luteus* (штамм 21/26). Для проведения экспериментов готовили

рабочие суспензии обеих культур бактерий, разводили в 100 раз и высевали по 100 мкл в лунки 96-луночных планшетов. Конечная концентрация бактериального агента в лунке составляла 5×10^5 КОЕ/мл. Исследуемый комплекс I и его составляющие растворяли в ДМСО в исходной концентрации 200 мМ. Непосредственно перед нанесением соединения разводили в стерильной среде LB (пептон 1%, дрожжевой экстракт 0.5%, NaCl 1%, глюкоза 0.1%, рН 6.8–7.0) в 100 раз и вносили по 100 мкл в лунки 96-луночных планшетов, содержащих суспензию бактерий. Конечные концентрации исследуемых соединений составляли 12 последовательных двукратных разведений от 1000 до 0.47 мкМ. Конечная концентрация ДМСО во всех образцах составляла 10%. Данная концентрация ДМСО не влияла на жизнеспособность микроорганизмов. Контрольные образцы выращивали в среде LB, в среде LB с 10% ДМСО при 37°C и в качестве отрицательного контроля в среде LB при 4°C . После внесения исследуемых соединений образцы инкубировали при температуре 37°C в течение 24 ч. В качестве контрольных антибактериальных агентов были использованы ампициллин (ОАО “Синтез”, Россия), канамицин (ОАО “Синтез”, Россия), стрептомицин (ОАО “Биохимик”, Россия) и цефтриаксон (ОАО “Биохимик”, Россия). Антибиотики были растворены в стерильной среде LB. Конечные концентрации антибиотиков составляли 12 последовательных двукратных разведений от 1000 до 0.47 мкМ.

Через 24 ч после начала инкубации проводили анализ результатов. МПК определяли как концентрацию, при которой видимый рост микроорганизмов по сравнению с контрольными образцами отсутствует.

Исследование образования биопленок *M. luteus*. Для проведения эксперимента рабочую суспензию бактерий высевали в 96-луночный планшет и вносили в лунки исследованное соединение и антибиотики в концентрации, соответствующей МПК. Контрольные образцы выращивали в LB, в LB с 10% ДМСО, а также LB без бактериального агента для определения фонового окрашивания подложки. Планшеты инкубировали при температуре 37°C в течение 24 ч. Затем удаляли среду с планктонными клетками, промывали лунки стерильным буфером PBS (137 мМ NaCl, 2.68 мМ KCl, 4.29 мМ Na_2HPO_4 , 1.47 мМ KH_2PO_4 , рН 7.4), затем высушивали для фиксации биопленок на подложке и окрашивали с помощью 0.1%-ного раствора генцианового фиолетового, после чего лунки промывали водой и высушивали при температуре 37°C в течение 60 мин. Связавшийся с биопленками краситель растворяли в 95%-ном этиловом спирте, оптическую плотность полученных растворов определяли фотометрически при длине волны 570 нм. За 100% принимали оп-

тическую плотность раствора в контрольных образцах с суспензией бактерий без добавления исследуемых комплексов. Из всех образцов вычитали фоновое окрашивание подложки (пустые лунки).

Исследование цитотоксических свойств. Работу проводили на культуре клеток Vero (почечный эпителий африканской зеленой марышки), полученных из коллекции ИНЦ РАН (Институт цитологии РАН). Культивирование клеток проводили по стандартной методике в атмосфере 5% CO₂ и температуре 37°C в среде DMEM (ПанЭко, Россия) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки (BioWest, Франция), пенициллина (50 ед./мл) и стрептомицина (50 мг/мл). Цитотоксические свойства определяли с помощью МТТ-теста. Клетки рассевали в культуральные 96-луночные планшеты в концентрации 5×10^4 клеток/мл. Соединения вносили в питательную среду через 24 ч после посева. Непосредственно перед внесением в культуральную среду соединения растворяли в ДМСО до максимальной концентрации 500 мМ. Конечная концентрация ДМСО в образцах не превышала 0.1%. Через 72 ч после введения ис-

следуемых соединений в инкубационную среду добавляли краситель 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-2Н-тетразолий бромид (МТТ, Диа-М, Россия) в концентрации 0.5 мг/мл. Окрашивание проводили в течение 3 ч в атмосфере 5% CO₂ и температуре 37°C. Образовавшиеся кристаллы формазана растворяли в 100%-ном ДМСО. Измерение оптической плотности проводили при основной длине волны 570 нм и фоновой длине волны 620 нм с использованием многофункционального планшетного ридера Spark 10M (Tecan, Швейцария). Индекс цитотоксичности (IC₅₀) определяли на основании дозозависимых кривых.

Исследование ФДЭ ингибирующей активности. Активность фосфодиэстеразы циклического гуанозинмонофосфата (ФДЭ цГМФ) в присутствии комплекса I и его составляющих определяли по количеству образующегося в процессе ферментативной реакции гуанозинмонофосфата (ГМФ), которое, в свою очередь, равно количеству неорганического фосфата, образовавшегося из ГМФ при добавлении 5'-нуклеотидазы [59] (схема 2):

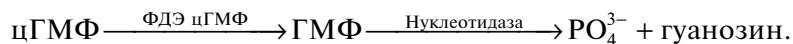


Схема 2.

В работе были использованы цГМФ, АТФ (Sigma-Aldrich, США), ДМСО, трихлоруксусная кислота (ТХУ), молибдат аммония (Реахим, Россия) после соответствующей дополнительной очистки, Трис-НСl буфер (Serva, Германия). Фермент ФДЭ цГМФ выделяли из коры головного мозга крыс линии Wistar [59]. Ткань головного мозга гомогенизировали в гомогенизаторе Поттера в 10-кратном по весу количестве охлажденного 0.2 М Трис-НСl буфера, рН 7.55. Гомогенат центрифугировали в течение 1 ч при 40000 g. Супернатант, содержащий ФДЭ цГМФ, замораживали в жидком азоте.

Влияние I и его составляющих на активность фермента и определение константы ингибирования данного соединения исследовали с помощью отработанного ранее метода [60], который заключается в определении концентрации фосфатов, образующихся в процессе реакции (схема 2). Для этого к 1 мл 0.2 М Трис-буфера (рН 7.6) добавляли аликвоту раствора ФДЭ цГМФ, содержащего 0.1 мг белка. Исследуемые соединения добавляли в виде растворов в ДМСО в объеме 0.2 мл, их конечная концентрация составляла 0.1, 0.01 или 0.001 мМ. Общий объем пробы — 2.0 мл. Через 15 мин преинкубации при комнатной температуре в пробу добавляли 0.1 мМ цГМФ. Пробы выдерживали в течение 20 мин при 30°C, после чего их помещали на 3 мин в кипящую водяную баню. Затем в охлажденные до комнатной температуры пробы добавляли 50 мкг нуклеотидазы (в виде яда кобры) и

выдерживали их при 30°C в течение 10 мин. Реакцию останавливали добавлением в каждую пробу по 0.2 мл 55% ТХУ. Реакционную смесь центрифугировали при 10000 g в течение 5 мин. При определении активности ФДЭ цГМФ содержание неорганического фосфата, накапливающегося в процессе ферментативной реакции, определяли спектроскопически по реакции с молибдатом аммония при $\lambda = 735$ нм на спектрофотометре Spector M-40. Относительную активность фермента рассчитывали по следующей формуле:

$$I = 100(A_0 - A)/A_0,$$

где I — относительная активность; A_0 — удельное содержание неорганического фосфата в контрольной пробе (без исследуемого соединения); A — удельное содержание неорганического фосфата в опытной пробе (в присутствии исследуемого соединения).

Для определения характера ингибирования I исследовали зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата в присутствии и отсутствии комплекса [61].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исходный этионамид нерастворим в воде, но хорошо растворим в кислом водном растворе, который в этом виде и вводится в реакцию при

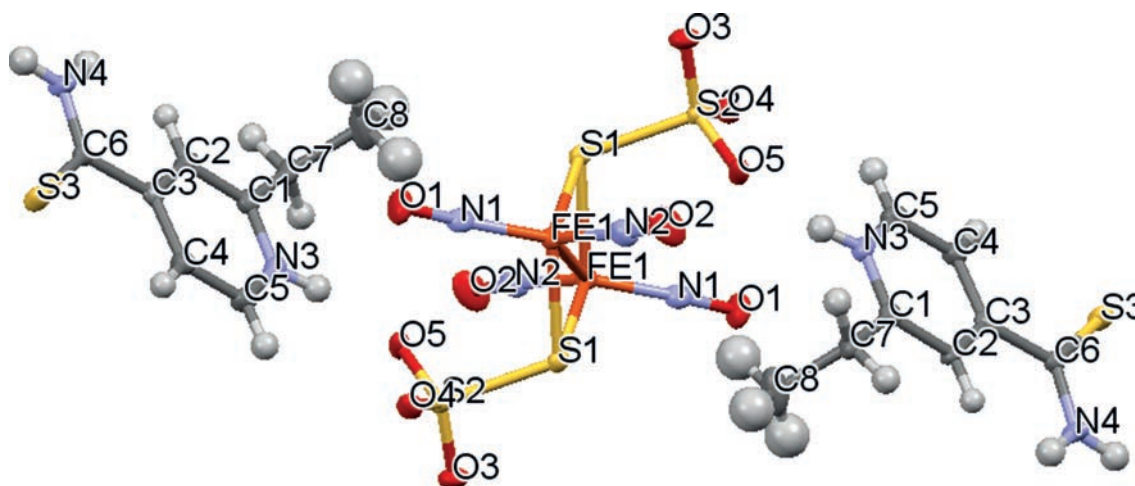
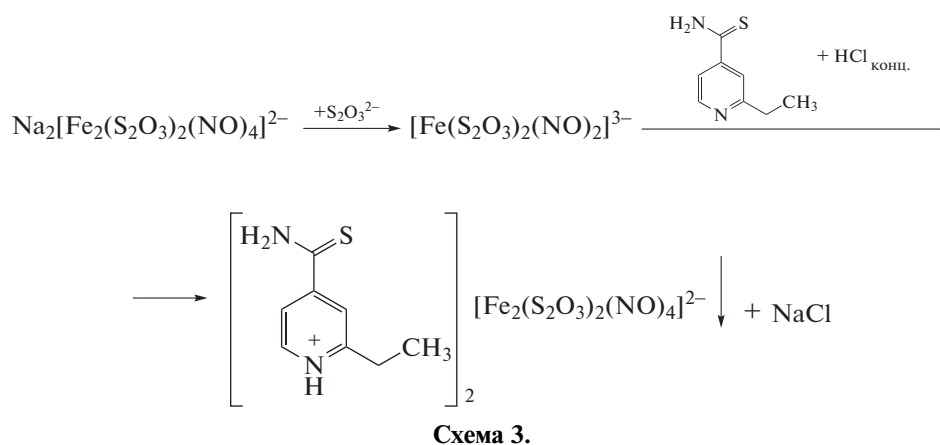


Рис. 1. Молекулярная структура комплекса I.

комнатной температуре. Комплекс I образуется обменной реакцией катиона натрия в соли

$\text{Na}_2^+[\text{Fe}_2(\text{S}_2\text{O}_3)_2(\text{NO})_4]^{2-}$ на протонированный этионамид в кислой водной среде по схеме 3:



Соединение I кристаллизуется в триклинной системе, кристаллическая структура уточнена в центросимметричной группе. На рис. 1 представлена молекулярная структура I. Ассиметричная часть включает половину центросимметричного биядерного нитрозильного железа с двумя тиосульфатными лигандами и ион этионамида. Каждый атом железа находится в тетраэдрическом окружении из двух атомов азота NO-лигандов и двух мостиковых атомов S дитиосульфатных анионов $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$. Биядерный анион имеет заряд -2 . В структуре на один биядерный дианион приходится два катиона этионамида. Следует отметить, что атом водорода при азоте N(3) найден из разностного синтеза, а не рассчитан геометрически исходя из электронейтральности. В табл. 2 представлены длины связей и валентные углы в I. Длины

связей Fe–N, N–O и углы FeNO в I совпадают в пределах трех ошибок.

На рис. 2 представлена упаковка для I. На элементарную ячейку приходится один биядерный дианион $[\text{Fe}_2(\text{S}_2\text{O}_3)_2(\text{NO})_4]^{2-}$ и два катиона этионамида $\{\text{C}_8\text{H}_{11}\text{N}_2\text{S}\}^+$, протонированного по атому азота пиридинового цикла.

На рис. 3 показаны цепочки межмолекулярных контактов, в которых участвуют NO-группы дианиона I, их значения представлены в табл. 3. Видно, что из двух независимых групп в межмолекулярных контактах участвует только одна N(2)–O(2) с мостиковыми атомами серы дианиона и атомом углерода катиона. По всей видимости, это находит свое отражение и в различии углов: O(1)N(1)Fe(1) $169.5(7)^\circ$ и O(2)N(2)Fe(1) $172.5(8)^\circ$.

Наряду с ионными взаимодействиями в кристаллической структуре наблюдаются водород-

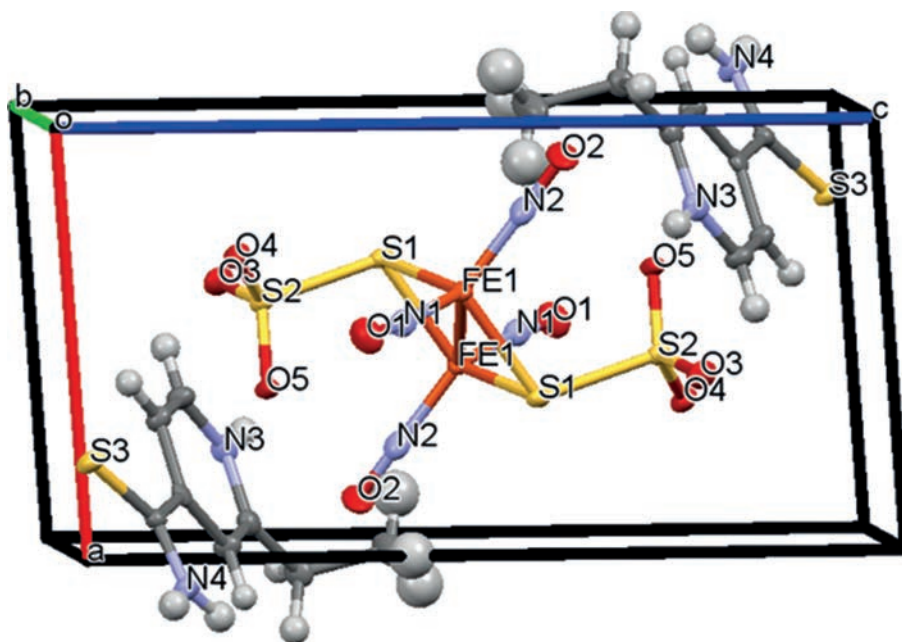
Таблица 2. Основные длины связей и валентные углы для I*

Связь	$d, \text{\AA}$	Связь	$d, \text{\AA}$
Fe(1)–N(1)	1.669(8)	S(2)–O(4)	1.450(6)
Fe(1)–N(2)	1.674(8)	S(2)–O(5)	1.466(6)
Fe(1)–S(1)	2.253(2)	S(2)–S(1)	2.136(3)
Fe(1)–S(1) ^{#1}	2.260(2)	S(3)–C(6)	1.664(9)
Fe(1)–Fe(1) ^{#1}	2.712(2)	O(1)–N(1)	1.183(10)
S(2)–O(3)	1.447(6)	O(2)–N(2)	1.150(10)
Угол	$\omega, \text{град}$	Угол	$\omega, \text{град}$
N(1)Fe(1)N(2)	118.9(4)	O(3)S(2)O(5)	115.0(4)
N(1)Fe(1)S(1)	107.8(3)	O(4)S(2)O(5)	111.9(4)
N(2)Fe(1)S(1)	108.6(3)	O(3)S(2)S(1)	102.0(3)
N(1)Fe(1)S(1) ^{#1}	108.9(3)	O(4)S(2)S(1)	104.3(3)
N(2)Fe(1)S(1) ^{#1}	105.8(3)	O(5)S(2)S(1)	107.5(3)
S(1)Fe(1)S(1) ^{#1}	106.12(8)	S(2)S(1)Fe(1)	108.50(11)
N(1)Fe(1)Fe(1) ^{#1}	121.6(3)	S(2)S(1)Fe(1) ^{#1}	107.82(11)
N(2)Fe(1)Fe(1) ^{#1}	119.4(3)	Fe(1)S(1)Fe(1) ^{#1}	73.87(8)
S(1)Fe(1)Fe(1) ^{#1}	53.18(7)	O(1)N(1)Fe(1)	169.5(7)
S(1) ^{#1} Fe(1)Fe(1) ^{#1}	52.94(7)	O(2)N(2)Fe(1)	172.5(8)
O(3)S(2)O(4)	114.6(4)		

* Преобразования симметрии, используемые для создания эквивалентных атомов: ^{#1} $-x + 1, -y + 1, -z + 1$.

ные связи (рис. 4) между атомами комплексного дианиона и катионом. В табл. 4 представлены значения водородных связей. Кристаллическая

структура I стабилизируется за счет ионных взаимодействий и водородных связей. В кристалле реализуются только два типа водородных связей, в

**Рис. 2.** Упаковка кристаллической структуры I.

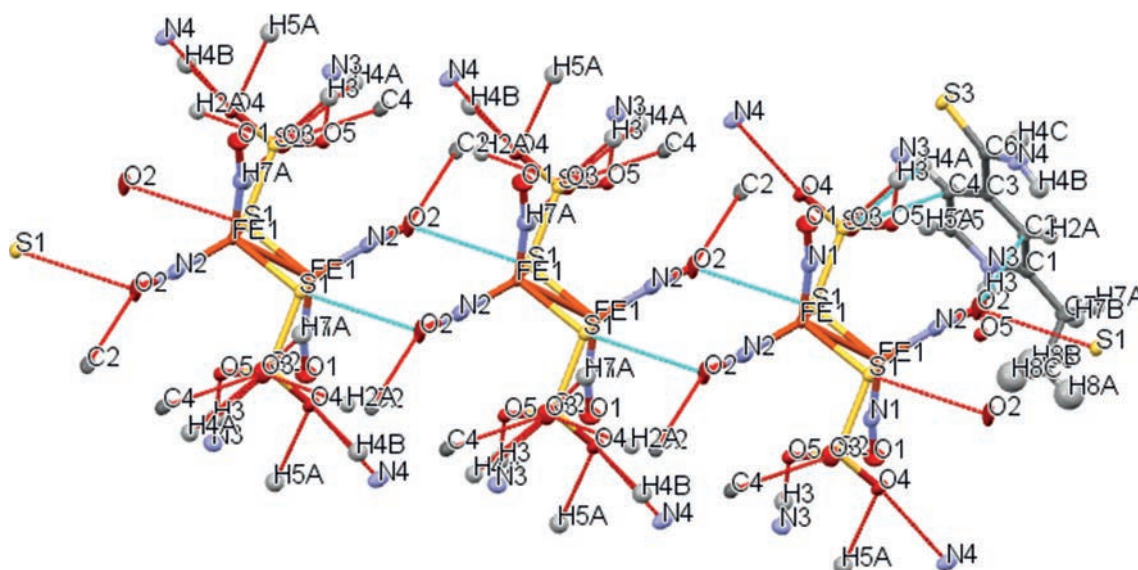


Рис. 3. Цепочки межмолекулярных контактов NO-группы дианиона I.

которых участвуют атомы водорода экзо- и эндоциклических аминогрупп N(3) и N(4) и атомы кислорода сульфогрупп. В табл. 4 представлены их значения.

Таким образом, взаимодействие между анионом и катионом осуществляется за счет электростатических взаимодействий и водородных связей внутрициклической аминогруппы N(3) и эндоциклической N(4) с атомами кислорода сульфогрупп.

Параметры мессбауэровского спектра для порошка I (изомерный сдвиг $\delta_{\text{Fe}} = 0.090(3)$ мм/см; квадратное расщепление $\Delta E_Q = 1.126(6)$ мм/см и ширина линии $\Gamma = 0.275(8)$ мм/см при $T = 293$ К близки к таковым для семейства нейтральных тетранитрозильных комплексов железа “ μ -S” структурного типа с дианионом $[\text{Fe}_2(\text{S}_2\text{O}_3)_2(\text{NO})_4]^{2-}$, исследованных нами ранее [62–64].

Установлено, что в 1%-ных аэробных водных растворах ДМСО I генерирует NO без дополнительной активации (фото-, термо- или редокс-агентов). Выделение NO при разложении комплекса наблюдается уже в первые секунды после растворения. На рис. 5 представлены кинетические зависимости для I: в нейтральных аэробных растворах I эффективнее генерирует NO (18.2 нМ), чем в анаэробных (2.8 нМ). К 250-ой секунде кри-

вые выходят на “плато”, а количества образующегося NO не уменьшается к 500-ой секунде эксперимента, свидетельствуя об образовании в растворах этого комплекса долгоживущих нитрозильных интермедиатов, которые могут отвечать за пролонгированную NO-донорную активность. Комплекс I содержит в своей структуре дианион $[\text{Fe}_2(\text{S}_2\text{O}_3)_2(\text{NO})_4]^{2-}$. Масс-спектрометрический анализ раствора комплекса с таким же дианионом показал, что через ~4 мин после его приготовления в масс-спектре в основном присутствуют ионы $[\text{Fe}(\text{S}_2\text{O}_3)(\text{NO})_2]^-$, $[\text{Fe}(\text{S}_2\text{O}_3)(\text{NO})]^-$ и $[\text{Fe}(\text{S}_2\text{O}_3)]^-$ в соотношении 1 : 0.47 : 0.16. Через 24 мин содержание основных ионов $[\text{Fe}(\text{S}_2\text{O}_3)(\text{NO})_2]^-$ составляет 40%, а через 64 мин – 10% от исходного при неизменном соотношении интенсивностей этого иона и ионов $[\text{Fe}(\text{S}_2\text{O}_3)(\text{NO})]^-$ и $[\text{Fe}(\text{S}_2\text{O}_3)]^-$ [65]. Следует отметить, что pH раствора влияет на количество NO, генерируемое комплексом I, при этом ход кинетических кривых не меняется: в более кислых средах генерация комплексом I усиливается (как в аэробных, так и в анаэробных условиях), а в щелочных кислородсодержащих растворах уменьшается (табл. 5).

Таким образом, по данным амперометрии, I более эффективно генерирует NO в водных растворах в аэробных условиях при физиологических pH 6.5–7.0, что делает его перспективным донором NO для биомедицинских исследований.

Комплекс оказался эффективным как в отношении грамотрицательных, так и грамположительных микроорганизмов: антибактериальное действие его сравнимо с действием препаратов сравнения – канамицина и стрептомицина. В табл. 6 представлены значения МПК для I, этионамида и натриевой соли

Таблица 3. Межмолекулярные контакты в комплексе I

Атом 1	Атом 2	d , Å
O(2)	S(1)	3.320
O(3)	C(4)	2.941
O(2)	C(2)	3.165

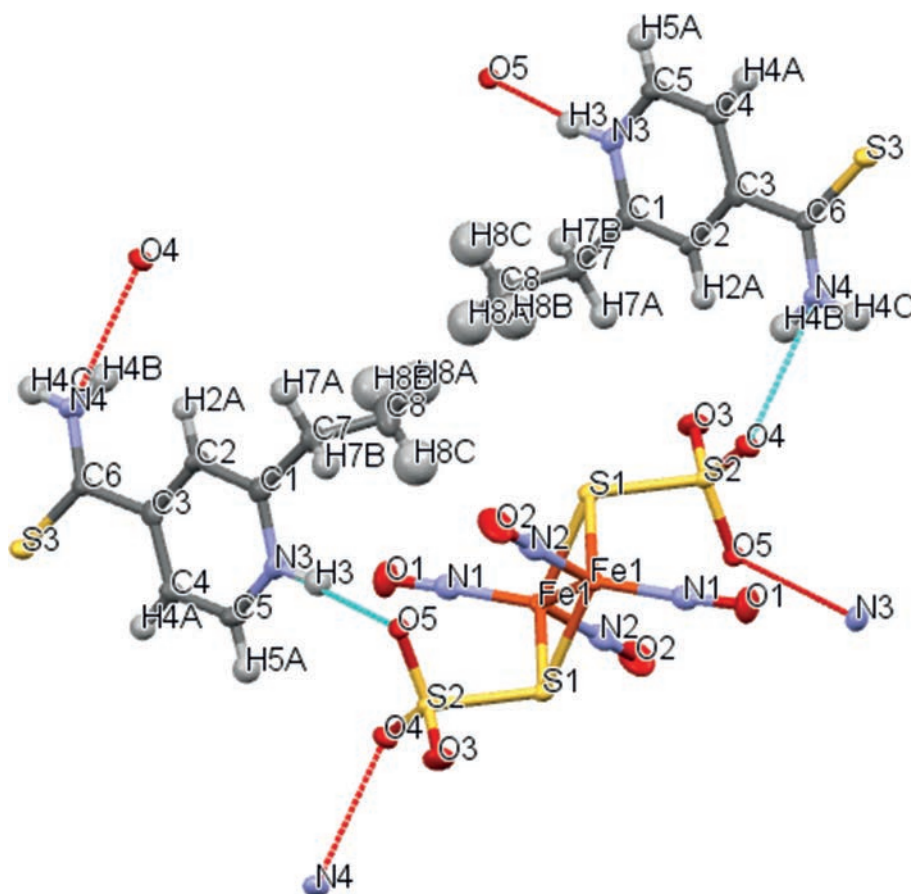


Рис. 4. Фрагмент кристаллической структуры I. Атомы представлены в виде эллипсоидов 50%-ной вероятности. Штриховыми линиями показаны водородные связи.

с дианионом $[\text{Fe}_2(\text{S}_2\text{O}_3)_2(\text{NO})_4]^{2-}$. Как видно из полученных результатов, составляющие комплекса I, этионамид и $[\text{Fe}_2(\text{S}_2\text{O}_3)_2(\text{NO})_4]^{2-}$, не оказывают антибактериального эффекта. Значения МПК для них составляет более 1000 мкМ. Таким образом, антибактериальное действие исследуемого комплекса I не определяется действием его составляющих.

Бактериальные биопленки представляют собой микробное сообщество, окруженное матриксом из внеклеточных полисахаридов, продуцируемых бактериями. В сравнении с планктонной

формой, бактериальные биопленки более устойчивы к действию антибиотиков из-за наличия защитного барьера, что затрудняет лечение инфекций. В этой связи поиск и разработка альтернативных антибактериальных соединений весьма актуальна [66]. На рис. 6 показано влияние I и соединений сравнения в концентрации, соответствующей МПК, на способность *M. luteus* образовывать биопленки. Комплекс I эффективно подавляет формирование биопленок *M. luteus* (39%), при этом его активность сравнима или существенно превосходит эффективность исследуемых антибиотиков.

Таблица 4. Геометрические параметры водородной связи в комплексе I

D—H...A	Расстояние, Å			Угол DHA, град	Координаты атома A
	D—H	H...A	D...A		
N(4)—H(4B)...O(4)	0.860	2.126	2.848	141.25	$x - 1, y, z$
N(4)—H(4C)...S(3)	0.860	2.518	3.363	167.60	$-x, -y + 1, -z + 2$
N(3)—H(3)...S(2)	0.850	2.887	3.648	149.98	$x, y - 1, z$
N(3)—H(3)...O(5)	0.850	1.829	2.672	170.85	$x, y - 1, z$

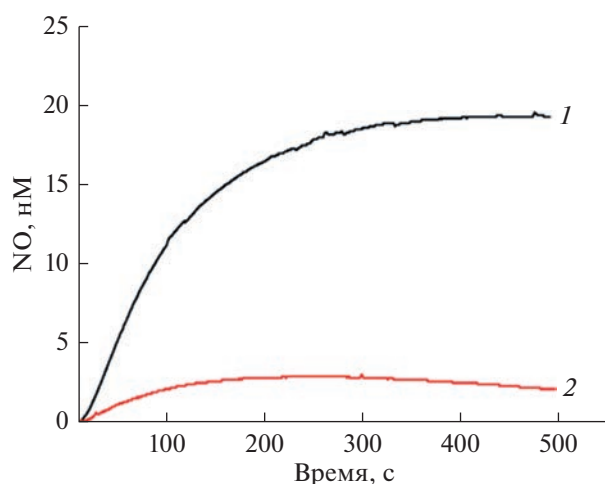


Рис. 5. Зависимости концентрации NO, генерируемого I (0.4×10^{-5} М) в 0.1%-ном водном растворе ДМСО при pH 7.0 и $T = 25^\circ\text{C}$ в аэробных (1) и анаэробных (2) условиях от времени.

Следует отметить, что антибактериальная активность I вдвое выше, чем комплекса с тиобензамидом: как в экспериментах по подавлению роста бактерий, так при исследовании образования биопленок. Антибактериальная эффективность НКЖ I и комплекса с тиобензамидом коррелирует с их NO-донорной активностью. Комплекс с тиобензамидом в этих же экспериментальных условиях генерирует 5.0 нМ NO [52], а НКЖ I — 18.2 нМ NO. В то же время анализ широкого ряда НКЖ показывает, что отчетливая корреляция между антибактериальными и NO-донирующими свойствами НКЖ отсутствует [52]. Возможно, антибактериальный эффект НКЖ обусловлен образованием долгоживущих нитрозильных интермедиатов.

Результаты изучения цитотоксического действия I и этионамида представлены на рис. 7. Рассчитанные на основании кривых значения IC_{50} приведены в табл. 6. Как видно из рис. 7, повышение концентрации I до концентрации 125 мкМ вызывает снижение жизнеспособности клеток,

при дальнейшем увеличении концентрации наблюдается сохранение жизнеспособности у 10% клеточной популяции. Структурные составляющие, входящие в состав I — этионамид (рис. 7, табл. 7) и $\text{Na}_2[\text{Fe}_2(\text{S}_2\text{O}_3)_2(\text{NO})_4] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ [52] обладают низкой цитотоксической активностью.

В настоящей работе также было проведено экспериментальное исследование активности I как ингибитора ФДЭ.

Гидролитические ферменты из семейства ФДЭ осуществляют разрыв фосфоэфирной связи циклических нуклеотидов и, таким образом, регулируют их внутриклеточный уровень [67]. Ингибирование активности ФДЭ, наряду с активацией гаунилатциклазы NO, приводит к накоплению циклических нуклеотидов, являющихся универсальными регуляторами внутриклеточного метаболизма [68]. Известно, что ингибиторы фосфодиэстеразы широко используются в медицине для лечения легочной артериальной гипертензии, хронической обструктивной болезни легких, доброкачественной гиперплазии предстательной железы, эректильной дисфункции, острой декомпенсированной сердечной недостаточности, псориаза, атопического дерматита и т.д. [69–71].

Результаты по ингибированию ферментативной активности I и этионамида представлены в табл. 8. Согласно полученным данным, в диапазоне концентраций от 0.1 до 0.001 мМ комплекс I проявляет модулирующее действие на активность ФДЭ цГМФ. Он тормозит активность фермента в концентрации 0.1 мМ на 68.3%.

Действие I на функции фермента сопоставлено с действием этионамида, входящего в его состав. Показано, что этионамид в исследуемых концентрациях слабо ингибирует функции ФДЭ цГМФ и по сравнению с комплексом I в концентрации 0.1 мМ он тормозит ферментативные функции в 6.7 раз хуже. Таким образом, обнаруженная способность исследованного соединения к ингибированию ферментативной активности ФДЭ цГМФ позволяет прогнозировать его высокую терапевтическую активность.

Для получения более полного представления о механизме действия I на фермент был применен кинетический метод исследования ферментативных реакций, позволяющий судить о характере связывания фермента с ингибитором. Характер влияния обратимо действующего ингибитора определяется зависимостью обратных величин скорости ферментативной реакции ($1/V$) от концентрации субстрата ($1/S$) [61].

Как видно из рис. 8, исследуемый комплекс I тормозит активность ФДЭ цГМФ конкурентно с константой ингибирования $K_i = 2.9 \times 10^{-4}$ М, что предполагает его связывание с активным центром фермента.

Таблица 5. Максимальные количества NO, генерированные комплексом I (концентрация комплекса 0.4×10^{-5} М) в 1%-ных водных растворах ДМСО при различных pH

pH	NO, нМ	
	анаэробные условия	аэробные условия
6.5	11.2	19.3
7.0	2.8	18.2
8.0	2.8	0.4
9.0	9.1	1.0

Ранее в [60] был изучен механизм действия $\text{Na}_2[\text{Fe}_2(\text{S}_2\text{O}_3)_2(\text{NO})_4] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ на ферментативные функции ФДЭ и ГМФ. Было установлено, что этот комплекс по сравнению с I эффективнее ингибирует активность фермента в исследуемых концентрациях: в 0.1, 0.01 и 0.001 мМ на 100, 87 и 65%, соответственно. При этом показано, что он является неконкурентным ингибитором, т.е. связывается вне активного центра фермента с константой ингибирования $K_i = 1$ мкМ, что на два порядка ниже, чем константа для I. Видимо, в данном случае значительное влияние оказывает противоион — протонированный этионамид, который, как было показано в табл. 7, может сам ингибировать функции ФДЭ.

Таким образом, с помощью РСА установлено, что этионамид ($\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_2\text{S}$) в сильноокислых средах протонируется по атому азота пиридинового цикла и замещает катион Na^+ в соли $\text{Na}_2[\text{Fe}_2(\text{S}_2\text{O}_3)_2(\text{NO})_4] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ с образованием биядерного комплекса ($\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_2\text{S}^+$) $[\text{Fe}_2(\text{S}_2\text{O}_3)_2(\text{NO})_4]^{2-}$ — эффективного донора NO в физиологических условиях. Показано, что комплекс I обладает антибактериальной активностью в отношении грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов, сопоставимой с действием антибиотиков канамицина и стрептомицина, и подавляет образование биопленок бактерий *Micrococcus luteus* с эффективностью, сравнимой с действием цефтриаксона. Впервые получены данные по цитотоксическому действию комплекса I: соединение проявляет токсичность по отношению к клеткам Vero с дозой IC_{50} около 70 мкМ. Показано, что комплекс I

Таблица 6. Значения МПК исследуемых соединений

Соединение	МПК, мкМ	
	<i>M. luteus</i>	<i>E. coli</i>
I	31.25	62.5
Этионамид	>1000	>1000
$\text{Na}_2[\text{Fe}_2(\text{S}_2\text{O}_3)_2(\text{NO})_4] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	>1000	>1000
Ампициллин	0.98	3.9
Канамицин	62.5	31.25
Стрептомицин	125	62.5
Цефтриаксон	3.9	0.98

Таблица 7. Значения IC_{50} исследуемых соединений для клеток Vero

Соединение	IC_{50} , мкМ
I	69.27 ± 3.45
Этионамид	>500
$\text{Na}_2[\text{Fe}_2(\text{S}_2\text{O}_3)_2(\text{NO})_4] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	>500

является эффективным ингибитором гидролитического фермента — фосфодиэстеразы циклического гуанозинмонофосфата в исследованном диапазоне концентраций (0.1–0.01 мМ); он конкурентно тормозит функцию фермента с константой ингибирования $K_i = 2.9 \times 10^{-4}$ М.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

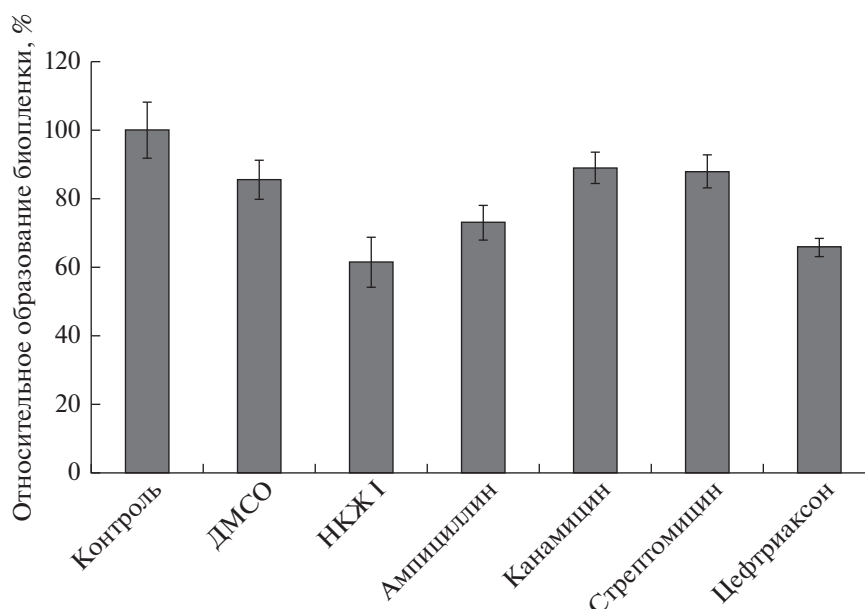


Рис. 6. Эффективность образования биопленки *M. luteus*, при действии исследуемых соединений в дозе МПК через 24 ч после введения.

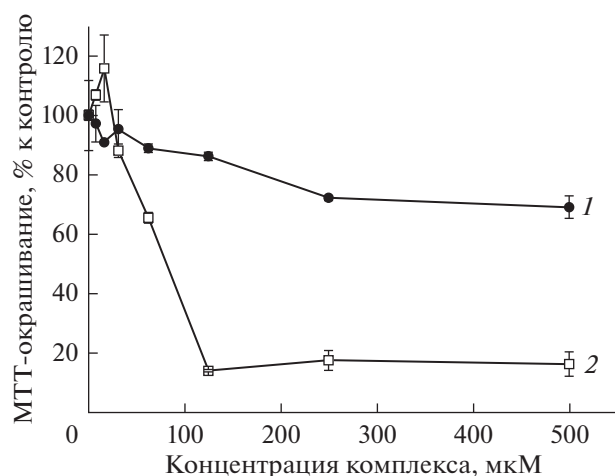


Рис. 7. Кривые “доза-эффект” для клеток Vero через 72 ч после действия этионамида (1) и комплекса I (2).

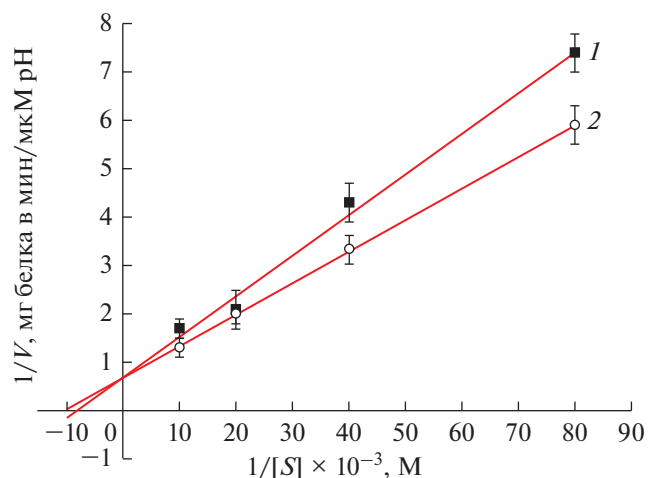


Рис. 8. Зависимость обратной скорости гидролиза цГМФ от концентрации субстрата (0.1, 0.05, 0.025, 0.0125 мМ) в координатах Лайнуивера–Берка: в присутствии 1×10^{-4} М I (1) и в отсутствие комплекса (2).

Таблица 8. Ингибирование ФДЭ цГМФ (в % от контроля) при действии I и этионамида

Соединение	Ингибирование активности фермента (в % от контроля)		
	концентрация, мМ		
	0.1	0.01	0.001
I	68.3	17.1	14.3
Этионамид	10.3	5.1	2.6

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (государственное задание № АААА-А19-119071890015-6).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Benencia F., Courreges M.C. // Immunology. 1999. V. 98. № 3. P. 363.
- Mehta D.R., Ashkar A.A., Mossman K.L. // PLoS One. 2012. V. 7. № 2. Art. e31688.
- McMullin B.B., Chittock D.R., Roscoe D.L. et al. // Respiratory Care. 2005. V. 50. № 11. P. 1451.
- Jones-Carson J., Zweifel A.E., Tapscott T. et al. // PLoS Negl. Trop. Dis. 2014. V. 8. № 8. Art. e3079.
- Fang F.C. // J. Clin. Invest. 1997. V. 99. № 12. P. 2818.
- De Groote M.A., Fang F.C. // Clin. Infect. Dis. 1995. V. 21. № 2. P. S162.
- Schairer D.O., Chouake J.S., Nosanchuk J.D. et al. // Virulence. 2012. V. 3. P. 271.
- Jones M.L., Ganopolsky J.G., Labbe A. et al. // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2010. V. 88. № 2. P. 401.
- Jones M.L., Ganopolsky J.G., Labbe A. et al. // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2010. V. 87. № 2. P. 509.
- Fox S., Wilkinson T.S., Wheatley P.S. et al. // Acta Biomater. 2010. V. 6. № 4. P. 1515.
- Narin G., Albayrak C.B., Ulku S. // Appl. Clay Sci. 2010. V. 50. № 4. P. 560.
- Weller R., Ormerod A.D., Hobson R.P. et al. // J. Am. Acad. Dermatol. 1998. V. 38. № 4. P. 559.
- Ormerod A.D., White M.I., Shah S.A. et al. // Br. J. Dermatol. 1999. V. 41. № 6. P. 1051.
- Phillips R., Adjei O., Lucas S. et al. // Antimicrob. Agents Chemother. 2004. V. 48. № 8. P. 2866.
- Ormerod A.D., Shah A.A., Li H. et al. // BMC Res. Notes. 2011. V. 4. P. 458.
- Davidson R.N., Yardley V., Croft S.L. et al. // Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 2000. V. 94. № 3. P. 319.
- Daiber A., Wenzel P., Oelze M. et al. // Clin. Res. Cardiol. 2008. V. 97. № 1. P. 12.
- Deupree S.M., Schoenfisch M.H. // Acta Biomater. 2009. V. 5. № 5. P. 1405.
- Schairer D.O., Chouake J.S., Nosanchuk J.D., Friedman A.J. // Virulence. 2012. V. 3. № 3. P. 271.
- Cariello A.J., Bispo P.J., de Souza et al. // Clin. Ophthalmol. 2012. V. 6. P. 1907.
- Williams D.L.H. // Acc. Chem. Res. 1999. V. 32. № 10. P. 869.
- Laver J.R., Stevanin T.M., Messenger S.L. et al. // FASEB J. 2010. V. 24. № 1. P. 286.
- Jaouen G., Salmay M. The Bioorganometallic Chemistry: Applications in Drug Discovery, Biocatalysis and Imaging. Weinheim: Wiley-VCH, 2014. 424 p.

24. Hsiao H., Chung C., Santos et al. // Dalton Trans. 2019. V. 48. P. 9431.
25. Gould N., Doulias P.-T., Tenopoulou M. et al. // J. Biol. Chem. 2013. V. 288. № 37. P. 26473.
26. Stupina T.S., Antonova N.O., Balalaeva et al. // Intern. Sci. J. Med. Biol. Sci. 2014. V. 1. № 1. P. 23.
27. Григорьев А.И., Владимиров Ю.А. Фундаментальные науки — медицине: Биофизические медицинские технологии. М.: МАКС Пресс, 2015. 448 с.
28. Санина Н.А., Козуб Г.И., Кондратьева Т.А. и др. // Изв. АН. Сер. хим. 2017. № 9. С. 1706.
29. Мумятова В.А., Козуб Г.И., Кондратьева Т.А. и др. // Изв. АН. Сер. хим. 2019. № 5. С. 1025.
30. Санина Н.А., Мумятова В.А., Терентьев А.А. и др. // Изв. РАН. Сер. хим. 2019. № 12. С. 2225.
31. Hanouille X., Wieruszkeski J.M., Rouseelot-Pailley P. et al. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2005. V. 331. P. 452.
32. Vilchêze C., Weisbrod T.R., Chen B. et al. // Antimicrob. Agents Chemother. 2005. V. 49. P. 708.
33. Yu K.L., Torri A.F., Luo G. et al. // Bioorg. Med. Chem. Lett. 2002. V. 12. № 23. P. 3379.
34. Hitotsuyanagi Y., Hasuda T., Matsumoto Y. et al. // Chem. Commun. 2000. № 17. P. 1633.
35. Nakagawa Y., Irie K., Ohigashi H. et al. // Bioorg. Med. Chem. Lett. 2000. V. 10. № 18. P. 2087.
36. Wei Q.L., Zhang S.S., Gao J. et al. // Bioorg. Med. Chem. 2006. V. 14. № 21. P. 7146.
37. Wentland M.P., Sun X., Bu Y. et al. // Bioorg. Med. Chem. Lett. 2005. V. 15. № 10. P. 2547.
38. Krinková J., Doležal M., Hartl J. et al. // Il Farmaco. 2002. V. 57. № 1. P. 71.
39. Yu K.L., Torri A.F., Luo G. et al. // Bioorg. Med. Chem. Lett. 2002. V. 12. № 23. P. 3379.
40. Davies D.J., Faust R., Garratt P.J. et al. // Bioorg Chem. 2004. V. 32. № 1. P. 1.
41. Boström J., Olsson R.I., Tholander J. et al. // Bioorg. Med. Chem. Lett. 2010. V. 20. № 2. P. 479.
42. Thanigaimalai P., Sharma V.K., Lee K.C. et al. // Bioorg. Med. Chem. Lett. 2010. V. 20. № 16. P. 4771.
43. Brunhofer G., Studenik C., Ecker G.F. et al. // Eur. J. Pharm. Sci. 2011. V. 42. № 1–2. P. 37.
44. Shimotori Y., Hoshi M., Ogawa N. et al. // Heterocycl. Commun. 2020. V. 26. P. 84.
45. Регистр лекарственных средств России: Энциклопедия лекарств. Вып. 29 / Под ред. Вышковского Г.Л. Москва: Веданта, 2021.
46. Mahantaa N., Szantai-Kisc M., Petersson E.J. et al. // ACS Chem. Biol. 2019. V. 14. № 2. P. 142.
47. Vale N., Gomes P., Santos H. // Curr. Drug Metab. 2013. V. 14. № 1. P. 151.
48. Mills III, T., Roberson J.C. Instrumental Data for Drug Analysis. V. 2. N.Y.: Elsevier, 1992. 1577 p.
49. Eccles K.S., Morrison R.E., Maguire A.R. et al. // Cryst. Growth Des. 2014. V. 14. P. 2753.
50. Wysokinski R., Michalska D., Bienko D.C. et al. // J. Mol. Struct. 2006. V. 791. № 1–3. P. 70.
51. Vale N., Makila E., Salonen J. et al. // Eur. J. Pharm. Biopharm. 2012. V. 81. P. 314.
52. Sanina N.A., Starostina A.A., Utenyshev A.N. et al. // Molecules. 2022. V. 27. P. 6886.
53. Карякин Ю.В., Ангелов И.И. Чистые химические вещества. М.: Химия, 1974. 408 с.
54. Sanina N.A., Aldoshin S.M., Rudneva T.N. // Russ. J. Coord. Chem. 2005. V. 31. № 5. P. 301. <https://doi.org/10.1007/s11173-005-0093-3>
55. Weissberger A., Proskauer E., Riddick J.A. et al. Organic Solvents: Physical Properties and Methods of Purification. N.Y.: Interscience Publishers Inc., 1955. 1344 p.
56. Agilent. CrysAlis PRO. Yarnton—Oxfordshire (England): Agilent Technologies UK Ltd., 2011.
57. Sheldrick G.M. SHELXTL. Version 6.14. Structure Determination Software Suite. Madison (WI, USA): Bruker AXS, 2000.
58. МУК 4.2.1890—04. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Методические указания: дата введения 2014-03-04. М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. 91 с.
59. Либинзон Р.Е., Щеколдина Т.Г., Батолкина О.Е. и др. // Вопросы медицинской химии. 1977. 23. № 4. С. 526.
60. Татьянаенко Л.В., Котельников А.И., Доброхотова О.В. и др. // Хим.-фарм. журн. 2009. Т. 43. № 9. С. 45.
61. Березин И.В., Клесов А.А. Практический курс химической и ферментативной кинетики. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1976. 324 с.
62. Glidewell C., Hursthouse M.B., Lambert R.J. et al. // Dalton Trans. 1989. P. 2061.
63. Sanina N.A., Rakova O.A., Aldoshin S.M. et al. // Russ. J. Coord. Chem. 2001. V. 27. № 3. P. 179. <https://doi.org/10.1023/A:1009598228585>
64. Sanina N.A., Emel'yanova N.S., Chekhlov A.N. et al. // Russ. Chem. Bull. 2010. V. 59. P. 1126.
65. Sanina N.A., Sulimenkov I.V., Rudneva T.N. et al. // Dokl. Chem. 2009. V. 425. Pt 1. P. 60.
66. Chan C., Hardin T.C., Smart J.I. // Future Microbiol. 2015. V. 10. P. 1325.
67. Omori K., Kotera J. // Circ. Res. 2007. V. 100. P. 309.
68. Hardman J.G., Robison G.A., Sutherland E.W. // Annu. Rev. Physiol. 1971. V. 33. P. 311.
69. Padda I.S., Tripp J. Phosphodiesterase Inhibitors. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing LLC, 2022.
70. Baillie G.S., Tejeda G.S., Kelly M.P. // Nat. Rev. Drug Discov. 2019. V. 18. P. 770.
71. Miller M.S. // J. Receptor, Ligand Channel Res. 2015. V. 8. P. 19.

УДК 546.4+546.05+546.55+546.43+547.7+547.8+579.8

ФУРАНКАРБОКСИЛАТНЫЕ КООРДИНАЦИОННЫЕ ПОЛИМЕРЫ Gd^{3+} И Eu^{3+} : СИНТЕЗ, СТРУКТУРНЫЕ ВАРИАЦИИ, БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

© 2023 г. М. А. Уварова¹*, И. А. Луценко¹, М. А. Шмелев¹, О. Б. Беккер²,
М. А. Кискин¹, И. Л. Еременко¹

¹Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН, Москва, Россия

²Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

*e-mail: yak_marin@mail.ru

Поступила в редакцию 09.01.2023 г.

После доработки 17.01.2023 г.

Принята к публикации 17.01.2023 г.

Синтезирована серия полимерных комплексов $Gd(III)$ и $Eu(III)$ с 3-фуранкарбоновой (HFur) и 5-нитро-2-фуранкарбоновой кислотами (HNfur), различающиеся составом и количеством со-лигандов, представленных молекулами растворителя ($CH_3OH/C_2H_5OH/H_2O$) — $[Gd(Fur)_3(CH_3OH)(C_2H_5OH)]_n$ (I) $[Gd(Nfur)_3(CH_3OH)_2]_n \cdot CH_3CN$ (II), $[Eu(Fur)_3(C_2H_5OH)]_n$ (III), $[Eu(Nfur)_3(H_2O)_2]_n \cdot 3CH_3CN$ (IV). По данным рентгеноструктурного анализа все комплексы представляют собой 1D-координационные полимеры, в которых катион лантаноида реализует КЧ 8 (LnO_8), формируя окружение в виде дважды наращенной треугольной призмы (I, II) или квадратной антипризмы (III, IV). Стабилизация надмолекулярных уровней полимеров происходит за счет внутри- и межмолекулярных водородных связей между координированными молекулами растворителей и атомами О хелатно-связанных анионов кислоты, а также двух типов нековалентных взаимодействий C—H...O и N—O...π, которые вносят значительный вклад в дополнительную стабилизацию кристаллических упаковок. Биологические свойства комплексов I, II и IV изучены в отношении модельного непатогенного штамма *Mycobacterium smegmatis*.

Ключевые слова: комплексы редкоземельных элементов, гадолиний(III), европий(III), 3-фуранкарбоновая кислота, 5-нитро-2-фуранкарбоновая кислота, кристаллическая структура, координационные полимеры

DOI: 10.31857/S0132344X23600029, EDN: WATJKU

Изучение путей формирования и выделения координационных соединений редкоземельных элементов (РЗЭ) является активно развивающимся направлением, обусловленным привлекательными физико-химическими свойствами координационных производных лантаноидов, в частности люминесценцией, необычными магнитными характеристиками, например проявлением свойств молекулярных магнитов [1–5] или возможностью использования таких молекулярных архитектур в качестве прекурсоров для формирования пленок и покрытий на различных подложках [6]. Некоторые хелатные комплексы РЗЭ находят свое применение в медицине как контрастные агенты в магнитно-резонансной томографии (например, препараты гадолиния, самария), а также могут быть использованы в качестве веществ, обладающих антибактериальными свойствами [7–13]. Кроме того, ионы РЗЭ, например Nd^{3+} , Sm^{3+} или Yb^{3+} , используются для люминесцентной визуализации

in vivo благодаря их способности излучать в ближней инфракрасной области. Это свойство позволяет детектировать такие молекулы через биологическую ткань животного значительной толщины [14]. Действительно, подобные вещества, одновременно сочетающие выраженные люминесцентные (фосфоресцентные) свойства и биологическую активность, перспективны для применения в качестве биоактивных люминофоров не только для биовизуализации, но и для лечения, что на сегодняшний день является весьма актуальным направлением химико-биомедицинских исследований.

Ранее были изучены комплексы *d*-металлов с различными фуранкарбоновыми кислотами и N-донорными лигандами и установлена их биологическая активность *in vitro* в отношении модельного непатогенного штамма *M. smegmatis* [15–20] и тестовой раковой линии SKOV3 (аденокарцинома яичника) [21], при этом комплексы Tb(III), Ho(III), La(III), и Eu(III), с 2-фуранкар-

боновой кислотой продемонстрировали перспективные люминесцентные свойства [22–28]. Однако в этой серии не оказалось соединений РЗЭ с другими фуранкарбоновыми кислотами (**HFur**, **HNfur**), что существенно усложняет отбор биоактивных содержащих РЗЭ соединений для дальнейших биомедицинских исследований, а возможно, применений их на практике.

Цель настоящего исследования — разработка методик синтеза комплексов гадолиния(III) и европия(III) с анионами Fur^- и Nfur^- , установление их строения и изучение биологических свойств *in vitro* в отношении модельного непатогенного штамма *M. smegmatis*.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Синтез комплексов проводили на воздухе с использованием растворителей без дополнительной очистки: ацетонитрил (“ос. ч.”, Химмед), этанол, метанол. Для синтеза использовали коммерчески доступные реактивы: **HFur** (98%, Acros), **HNfur** (98%, Acros), ацетат гадолиния гидрат (Acros), ацетат европия гидрат (Acros). Элементный анализ выполняли на автоматическом C, H, N-анализаторе Carlo Erba EA 1108. ИК-спектры соединения регистрировали на ИК-спектрофотометре с Фурье-преобразованием Perkin-Elmer Spectrum 65 методом нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) в интервале частот 400–4000 см^{-1} .

Биологическая активность определена в тест-системе *M. smegmatis* mc² 155 методом бумажных дисков. Фиксировалась величина зоны подавления роста штамма, засеянного газонем на агаризованной среде, вокруг бумажных дисков, содержащих вещество в различных концентрациях. Бактерии, смывые с чашек Петри со средой Триптон-соевый агар М-290 (Himedia), выращивали в течение ночи в жидкой среде Lemco-TW (Lab Lemco Powder 5 г/л (Oxoid), Peptone special 5 г/л (Oxoid), NaCl 5 г/л, Tween-80) при 37°C до среднелогарифмической фазы роста при оптической плотности OD₆₀₀ = 1.5 смешивали с расплавленной агаризованной средой М-290, в соотношении 1 : 9 : 10 (культура : Lemco-TW : М-290). Культуру инкубировали в течение 24 ч при 37°C. МИК (минимальной ингибирующей концентрацией) считали концентрацию вещества, при которой зона подавления роста минимальна.

Синтез $[\text{Gd}(\text{Fur})_3(\text{CH}_3\text{OH})(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH})]_n$ (I). Навеску **HFur** (0.22 г, 2 ммоль) добавляли к раствору $\text{Gd}(\text{OAc})_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (0.1 г, 0.4 ммоль) в 10 мл метанола и перемешивали в течение часа при 60°C. К полученному раствору добавляли 5 мл этанола и выдерживали 2 сут при комнатной температуре. Образовавшиеся бесцветные кристаллы отделяли от

маточного раствора декантацией. Выход I 0.17 г (78%).

Найдено, %:	C 38.19;	H 3.41.
Для $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{O}_{11}\text{Gd}$		
вычислено, %:	C 38.02;	H 3.36.

ИК (НПВО; ν , см^{-1}): 3147 сл, 2970 сл, 1667 ср, 1557 с, 1508 с, 1424 с, 1368 с, 1306 ср, 1181 ср, 1073 сл, 920 сл, 890 ср, 778 с, 676 сл, 614 ср, 549 ср, 463 с.

Синтез $[\text{Gd}(\text{Nfur})_3(\text{CH}_3\text{OH})_2]_n \cdot \text{CH}_3\text{CN}$ (II). Навеску **HNfur** (0.3 г, 2 ммоль) добавляли к раствору $\text{Eu}(\text{OAc})_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (0.1 г, 0.4 ммоль) в 10 мл метанола и перемешивали в течение часа при 60°C. К полученному раствору добавляли 5 мл ацетонитрила и выдерживали 2 сут при комнатной температуре. Образовавшиеся бесцветные кристаллы отделяли от маточного раствора декантацией. Выход II 0.18 г (80%).

Найдено, %:	C 31.43;	H 2.44;	N 7.58.
Для $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_{17}\text{Gd}$			
вычислено, %:	C 31.27;	H 2.21;	N 7.68.

ИК (НПВО; ν , см^{-1}): 3129 сл, 2971 ср, 1677 ср, 1595 с, 1569 с, 1530 с, 1486 ср, 1409 с, 1335 с, 1212 ср, 1085 сл, 1041 ср, 1022 ср, 960 сл, 879 сл, 836 сл, 779 с, 737 ср, 593 сл, 516 сл, 485 с, 421 ср.

Синтез $[\text{Eu}(\text{Fur})_3(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH})_2]_n$ (III). Навеску **HFur** (0.22 г, 2 ммоль) добавляли к раствору $\text{Eu}(\text{OAc})_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (0.1 г, 0.4 ммоль) в 10 мл метанола и перемешивали в течение часа при 60°C. К полученному раствору добавляли 5 мл этанола и выдерживали 2 сут при комнатной температуре. Образовавшиеся бесцветные кристаллы отделяли от маточного раствора декантацией. Выход III 0.2 г (87%).

Найдено, %:	C 39.34;	H 3.44.
Для $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{O}_{11}\text{Eu}$		
вычислено, %:	C 39.53;	H 3.67.

ИК (НПВО, ν , см^{-1}): 3370 сл, 3058 сл, 1605 с, 1558 с, 1543 с, 1477 с, 1415 с, 1400 с, 1367 с, 1220 ср, 1192 ср, 1140 сл, 1078 сл, 1043 сл, 1009 ср, 883 сл, 848 ср, 814 ср, 781 с, 754 с, 725 с, 668 сл, 616 ср, 596 ср, 546 сл, 459 с.

Синтез $[\text{Eu}(\text{Nfur})_3(\text{H}_2\text{O})_2]_n \cdot 3\text{CH}_3\text{CN}$ (IV). Навеску **HNfur** (0.3 г, 2 ммоль) добавляли к раствору $\text{Eu}(\text{OAc})_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (0.1 г, 0.4 ммоль) в 10 мл метанола и перемешивали в течение часа при 60°C. К полученному раствору добавляли 5 мл ацетонитрила и выдерживали 7 сут при комнатной температуре. Образовавшиеся бесцветные кристаллы отделяли

Таблица 1. Основные кристаллографические данные, параметры эксперимента и уточнения структур I–IV

Параметры	Значение			
	I	II	III	IV
Эмпирическая формула	C ₁₈ H ₁₉ O ₁₁ Gd	C ₁₉ H ₁₇ N ₄ O ₁₇ Gd	C ₁₉ H ₂₁ O ₁₁ Eu	C ₂₁ H ₁₉ N ₆ O ₁₇ Eu
<i>M</i>	568.58	730.61	577.32	779.38
Сингония	Триклинная	Моноклинная	Триклинная	Триклинная
Пр. группа	<i>P</i> $\bar{1}$	<i>P</i> 2 ₁ / <i>c</i>	<i>P</i> $\bar{1}$	<i>P</i> $\bar{1}$
<i>a</i> , Å	9.6981(11)	12.941(2)	9.568(7)	9.7002(3)
<i>b</i> , Å	9.7221(11)	9.5419(14)	9.613(6)	10.7733(3)
<i>c</i> , Å	11.1393(13)	22.345(3)	11.356(9)	14.4037(4)
α , град	87.654(4)	90	83.49(3)	98.574(2)
β , град	83.242(4)	104.179(5)	89.58(3)	93.192(2)
γ , град	76.332(4)	90	76.56(2)	93.622(2)
<i>V</i> , Å ³	1013.4(2)	2675.2(7)	1009.1(13)	1482.20(7)
<i>Z</i>	2	4	2	2
ρ (выч.), г/см ³	1.863	1.814	1.900	1.746
μ (MoK α), см ^{−1}	3.331	2.566	3.169	2.203
2 $\theta_{\max}$, deg	24.712	24.406	24.711	25.998
<i>F</i> (000)	558	1436	572	772
Количество отражений	6919	11 920	5401	27086
Независимых отражений	3425	4373	3346	5806
<i>R</i> _{int}	0.0467	0.0866	0.0550	0.0501
Наблюдаемые отражения с <i>I</i> > 2 σ (<i>I</i>)	3068	2940	3123	5361
GOOF	1.090	1.031	1.078	1.058
<i>R</i> ₁ , <i>wR</i> ₂ (<i>I</i> > 2 σ (<i>I</i>))	0.0544, 0.1430	0.0587, 0.1410	0.0618, 0.1571	0.0278, 0.0633
$\Delta\rho_{\max}$, $\rho_{\min}$, е/Å ³	3.444/−2.172	1.172/−1.910	4.372/−3.577	1.268/−0.850

от маточного раствора декантацией. Выход III 0.2 г (84%).

Найдено, %: C 32.26; H 2.14; N 10.98.

Для C₂₁H₁₉N₆O₁₇Eu

вычислено, %: C 32.36; H 2.46; N 10.78.

ИК (НПВО, ν , см^{−1}): 3404 ср, 3032 ср, 2969 ср, 1671 ср, 1597 с, 1561 с, 1566 с, 1535 с, 1488 ср, 1465 сл, 1410 с, 1331 с, 1210 ср, 1085 ср, 1061 ср, 1041 ср, 1022 ср, 991 сл, 877 сл, 860 сл, 836 сл, 778 с, 731 ср, 590 сл, 485 с, 418 ср.

РСА соединений I–IV проводили на дифрактометре Bruker ApexII (MoK α , λ = 0.71073 Å, графитовый монохроматор, CCD-детектор). Введе-

на полуэмпирическая поправка на поглощение по программе SADABS [29]. Структуры расшифрованы с использованием программы ShelXT [30] и уточнены в полноматричном МНК с помощью программы Olex2 [31] в анизотропном приближении для неводородных атомов. Атомы водорода молекул воды локализованы из разностных Фурье-синтезов, положения остальных атомов водорода рассчитаны геометрически, и все они уточнены в изотропном приближении по модели “наездника”. Геометрия полиэдров атомов металлов определена с использованием программы SHAPE 2.1 [32]. Основные кристаллографические данные и параметры уточнения соединений I–IV приведены в табл. 1.

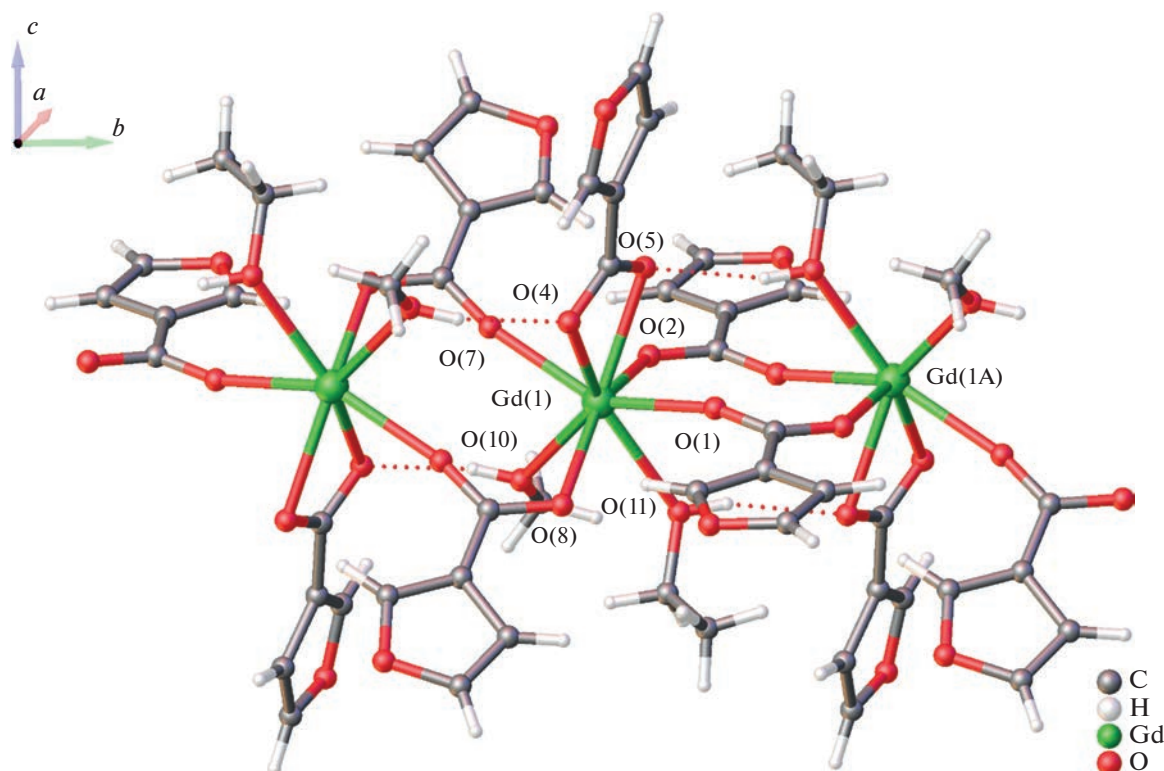


Рис. 1. Фрагмент полимерной цепи I. Пунктирными линиями показана система водородных связей.

Полный набор рентгеноструктурных параметров депонирован в Кембриджском банке структурных данных (CCDC № 2232748 (I), 2232749 (II), 2232751 (III) и 2232750 (IV); deposit@ccdc.cam.ac.uk).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе обменной реакции водного ацетата гадолиния с 3 молями HFur в метаноле при 60°C в течение 30 мин происходит полный обмен анионов и образование мелкокристаллической фазы, перекристаллизация которой из смеси этанол–метанол (1 : 1) приводит к образованию монокристаллов $[\text{Gd}(\text{Fur})_3(\text{CH}_3\text{OH})(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH})]_n$ (I), пригодных для РСА. Взаимодействие HNfur с водным ацетатом гадолиния в метаноле в аналогичных условиях с добавлением ацетонитрила приводит к формированию $[\text{Gd}(\text{Nfur})_3(\text{CH}_3\text{OH})_2]_n \cdot \text{CH}_3\text{CN}$ (II), являющийся, как и I, 1D-координационным полимером. Аналогичные реакции для водного ацетата европия в тех же условиях приводят к полимерным комплексам $[\text{Eu}(\text{Fur})_3(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH})]_n$ (III), $[\text{Eu}(\text{Nfur})_3(\text{H}_2\text{O})_2]_n \cdot 3\text{CH}_3\text{CN}$ (IV). Таким образом, вариации с растворителями показали, что катионы Gd^{3+} способны координировать одновременно молекулы спиртов – метанола и этанола (I)/метанола (II), тогда как в равных синтетических условиях кати-

оны Eu^{3+} склонны к формированию связей с молекулами этанола (III) или воды (IV).

Комплексы I и III кристаллизуются в триклинной пространственной группе $P\bar{1}$ с центром инверсии между ионами Ln(1) и Ln(1A). Ионы РЗЭ в структурах I (рис. 1) и III координируют четыре мостиковых аниона Fur[−], что приводит к формированию линейных полимерных цепей схожего строения, направленных вдоль оси *b*. Каждый ион лантаноида, дополнительно координирует один хелатно-связанный анион Fur[−] и две молекулы растворителя, достраивая свое окружение до дважды наращенной треугольной призмы в случае иона Gd^{3+} (рис. 2а, GdO_8 , $\text{CShM} = 1.700$ [32]) или до квадратной антипризмы в случае иона Eu^{3+} (рис. 2в, EuO_8 , $\text{CShM} = 1.682$). При переходе от Gd^{3+} к Eu^{3+} в составе комплексов I и III наблюдается незначительное увеличение длин связей Ln–O, а также сокращение расстояний Ln...Ln в структуре полимерной цепи (табл. 2). Интересно отметить, что среди представленных комплексов в III наблюдаются самые короткие связи между Eu^{3+} и молекулами растворителя – этанолом (2.282(6), 2.368(6) Å; табл. 2). По данным Кембриджского банка структурных данных (КБСД), аналогичные соединения I и III лантаноидов были получены

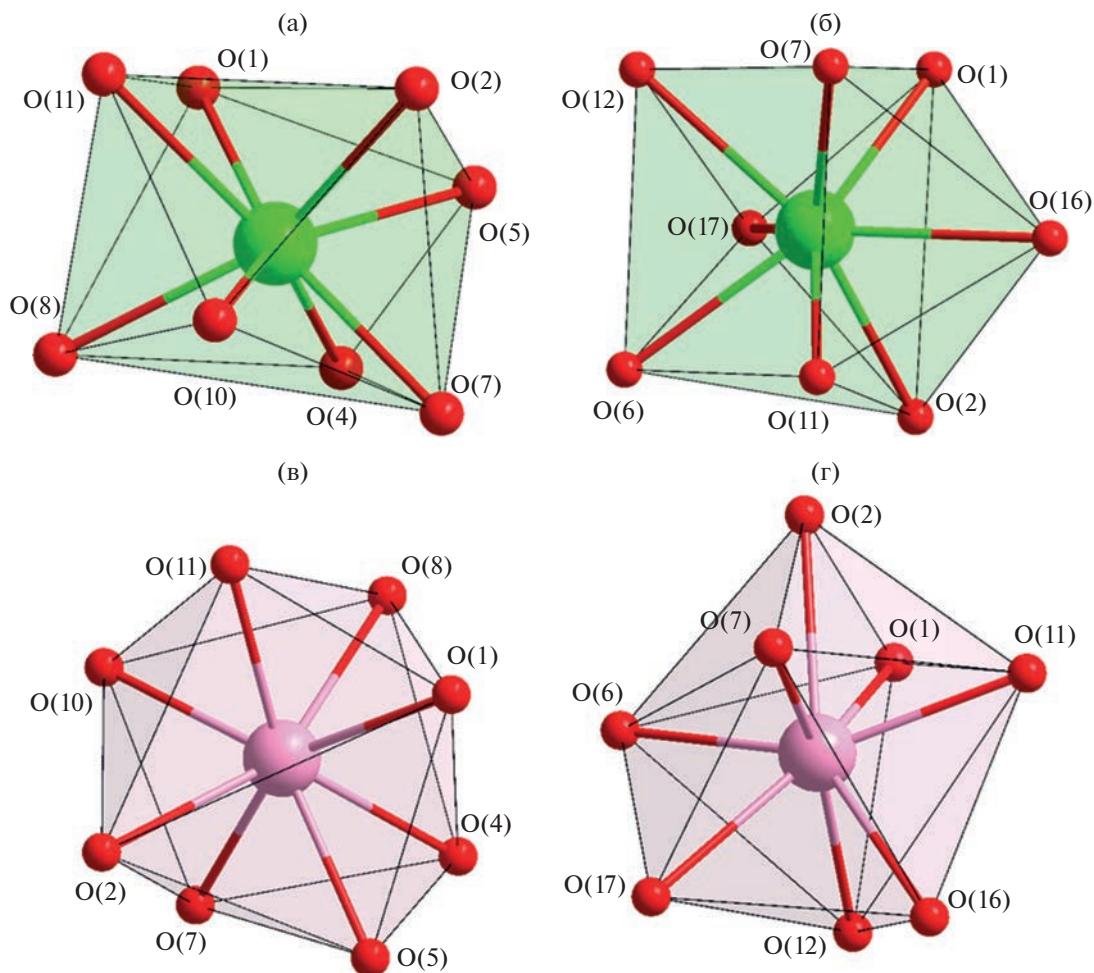


Рис. 2. Полиэдры ионов РЗЭ (Gd – зеленый, Eu – розовый) в структурах комплексов I (а), II (б), III (в), IV (г).

ранее для анионов бензойной [33, 34] и 3-нитробензойной [35] кислот.

Для комплексов Eu(III) и Gd(III) с анионами Nfur[−] в идентичных условиях были получены соединения II и IV различного строения. Так, комплекс II (рис. 3) кристаллизуется в моноклинной пространственной группе $P2_1/c$ с центром инверсии между ионами Gd(1) и Gd(1A). Каждый ион Gd³⁺ координирует шесть Nfur-анионов с форми-

рованием полимерной цепи, направленной вдоль оси b . Ионы Gd³⁺ в структуре полимерной цепи достраивают свое окружение до дважды наращенной треугольной призмы (рис. 2б, GdO₈, CShM = 0.749) за счет координации атомов O двух молекул MeOH. По данным КБСД описано несколько аналогичных II по строению комплексов с анионами 4-пиридинкарбоновой [36], 3,5-динитробензойной [37] и трихлоруксусной [38] кислот.

Таблица 2. Основные длины связей (Å) для соединений I–IV

Длина связи, Å	I	II	III	IV
	Gd		Eu	
Ln–O (Fur)	2.321(6)–2.497(6)	2.299(7)–2.394(6)	2.265(5)–2.526(6)	2.311(2)–2.527(2)
Ln–O (solv)	2.465(6), 2.494(6)	2.467(7), 2.524(7)	2.282(6), 2.368(6)	2.423(2), 2.437(2)
Ln...Ln	4.642(1), 5.114(1)	4.457(1), 5.099(1)	4.560(3), 5.070(3)	4.903(1), 4.913(1)

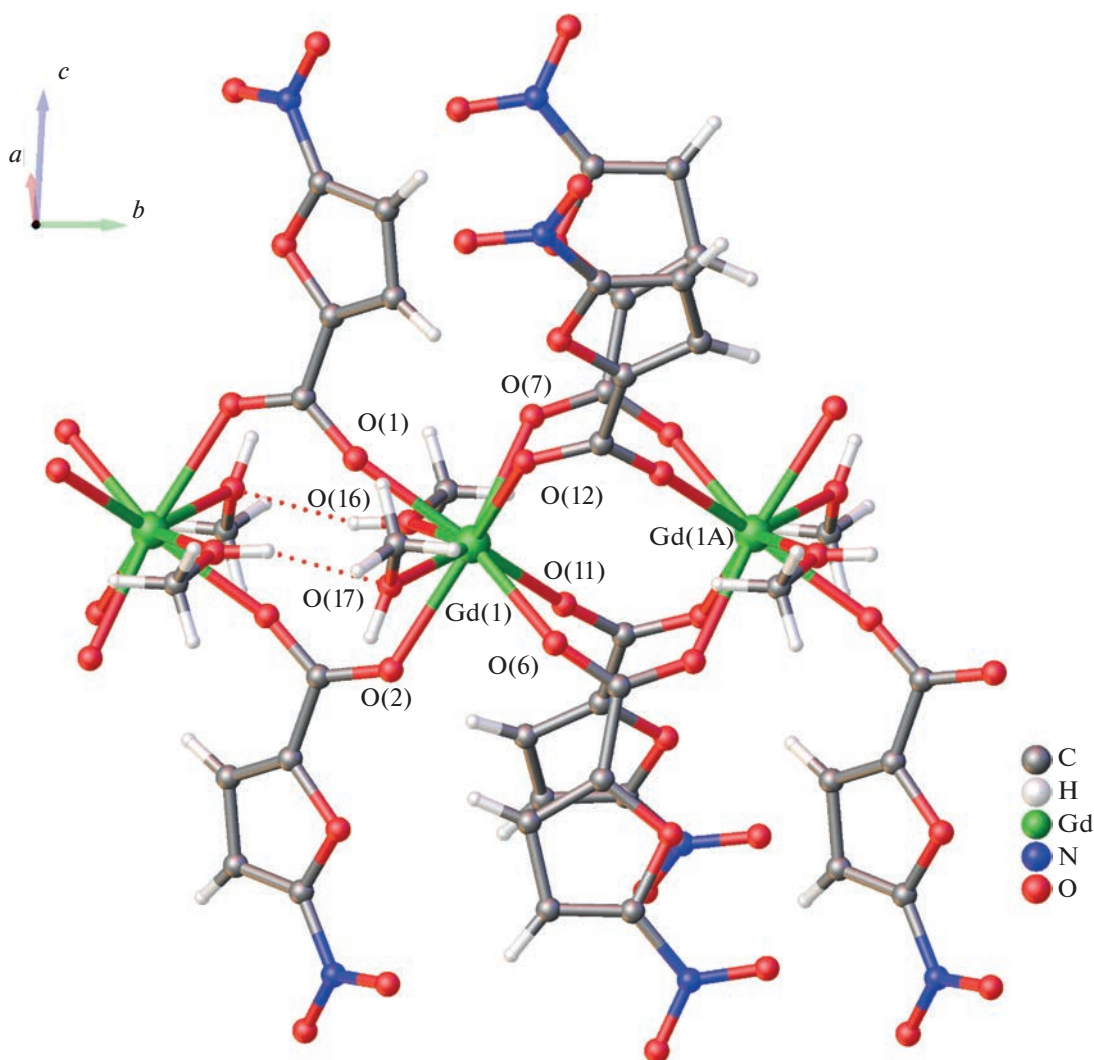


Рис. 3. Фрагмент полимерной цепи II. Пунктирными линиями показана система водородных связей. Сольватные молекулы не показаны.

Комплекс IV кристаллизуется в триклинной пространственной группе $P\bar{1}$ с центром инверсии между ионами Eu(1) и Eu(1A). В отличие от соединения II, где каждый анион Nfur^- выполнял мостиковую функцию, полимерная цепь IV образована за счет двух мостиковых анионов Nfur^- , а третий — хелатно координирован к иону металла (рис. 4). Катион Eu^{3+} достраивает свое окружение до квадратной антипризмы за счет координации двух молекул воды (рис. 2г, EuO_8 , $\text{CShM} = 2.066$). Основные длины связей для комплексов II и IV представлены в табл. 2. Отличительными особенностями аквакомплекса IV являются увеличенные расстояния $\text{Eu}\cdots\text{Eu}$ (4.903(1), 4.913(1) Å; табл. 2) среди обсуждаемых соединений.

В упаковке комплексов I–IV наблюдается дополнительная стабилизация полимерной цепи за счет образования водородных связей между координированными молекулами растворителей и атомами O хелатно-связанного аниона кислоты (табл. 3). Также наблюдается формирование нековалентных взаимодействий $\text{C}\cdots\text{H}\cdots\text{O}$, что приводит к стабилизации супрамолекулярного полимерного слоя (табл. 3). Использование анионов 5-нитро-2-фурancarбоновой кислоты в случае комплексов II и IV приводит к формированию дополнительных нековалентных взаимодействий $\text{N}\cdots\text{O}\cdots\pi$ (табл. 4), которые вносят значительный вклад в стабилизацию кристаллических упаковок полученных комплексов. Сольватные молекулы ацетонитрила встраиваются в кристаллическую решетку ком-

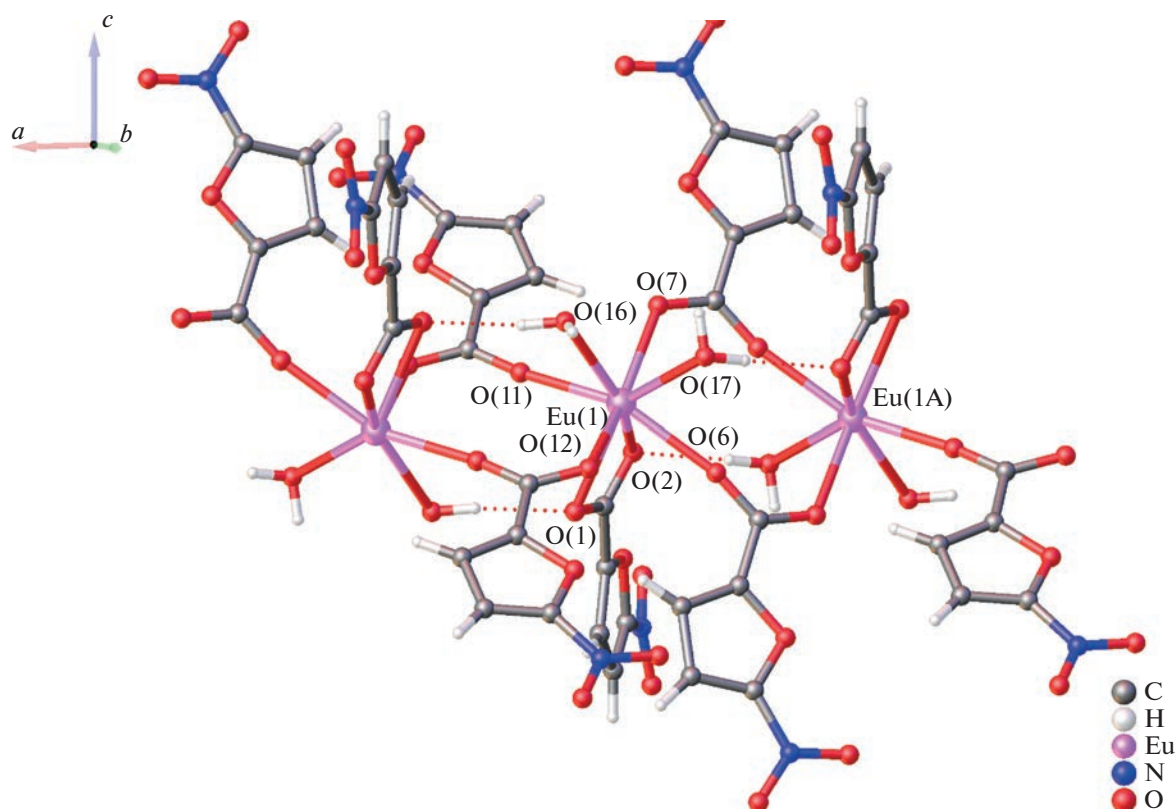


Рис. 4. Фрагмент полимерной цепи IV. Пунктирными линиями показана система водородных связей. Сольватные молекулы не показаны.

плексов II и IV за счет взаимодействий C—H...N и C—H...O (табл. 3).

Антибактериальная активность I, II и IV была определена в отношении непатогенного штамма *M. smegmatis*. (Соединение III является изоструктурным аналогом I, поэтому не исследовалось на биологическую активность.) Известно, что устойчивость микобактерий к химиотерапевтическим агентам связана с низкой проницаемостью микобактериальной клеточной стенки, с ее необычной структурой. *M. smegmatis* являются быстрорастущими непатогенными бактериями и поэтому используются в качестве модельного организма для медленно растущих бактерий *M. tuberculosis*, а также для первичного скрининга противотуберкулезных препаратов. Как следует из данных табл. 5 комплексы I, II и IV (МИК > 1000 нмоль/диск) малоактивны по сравнению с веществами-сравнения изониазидом (INH) и рифампицином (Rif), в отличие от индивидуальных фуранкарбоновых кислот, у которых значения МИК достоверно выше чем у комплексов, что говорит о снижении биоэффективности веществ по отношению к штамму микобактерии при комплексообразовании. В то же время, нами было установлено [14–20], что комплексы

переходных металлов (меди(II), цинка(II), кобальта(II, III), никеля(II), железа(II)) с фууроат-анионами проявляют биологическую активность в отношении *M. smegmatis*, которая значительно возрастает при введении в комплекс N-донорных лигандов, в частности 1,10-фенантролина или 2,2'-бипиридина. Возможно, получение аддуктов обсуждаемых комплексов и, как следствие, перевод полимеров в молекулярные соединения позволит повысить биологическую доступность вещества для клеток микобактерий.

Таким образом, синтезированы четыре 1D-координационных полимера гадолиния(III) и европия(III), в которых катионы лантаноида связаны мостиковыми фууроат-анионами. При этом стабилизация надмолекулярного уровня происходит благодаря многочисленным водородным связям и нековалентным взаимодействиям, объединяющим координационно связанные цепи в единый полимерный мотив. Исследование биологических свойств комплексов показало невысокую биоактивность в отношении непатогенного штамма *M. smegmatis*.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Таблица 3. Геометрические параметры водородных связей в кристаллических упаковках I–IV

D–H...A	Расстояние, Å				Угол D – H...A, град
	D–H	код симметрии	H...A	D...A	
I					
O(10)–H(10)...O(4)	0.84	$1 - x, 1 - y, 1 - z$	1.92	2.751(8)	169
O(11)–H(11)...O(1)	0.84	$1 - x, 2 - y, 1 - z$	2.55	3.085(9)	123
C(3)–H(3)...O(8)	0.95	$1 - x, 1 - y, 1 - z$	2.39	3.241(12)	149
C(9)–H(9)...O(3)	0.95	$x, y, 1 + z$	2.55	3.407(13)	150
C(13)–H(13)...O(2)	0.95	$1 - x, 2 - y, 1 - z$	2.54	3.350(11)	144
C(16)–H(16B)...O(11)	0.98		2.57	3.169(14)	119
II					
O(16)–H(16)...O(1)	0.853(16)	$1 - x, -y, 1 - z$	2.36(7)	2.911(10)	123(7)
O(17)–H(17)...N(4)	0.87(4)		1.98(4)	2.813(13)	161(5)
C(3)–H(3)...O(12)	0.93	$1 - x, 1 - y, 1 - z$	2.47	3.323(12)	153
C(4)–H(4)...O(4)	0.93	$2 - x, 1/2 + y, 3/2 - z$	2.50	3.423(14)	169
C(9)–H(9)...O(4)	0.93	$1 - x, -y, 1 - z$	2.47	3.176(14)	133
C(14)–H(14)...O(10)	0.93	$-x, -1/2 + y, 1/2 - z$	2.56	3.400(14)	151
C(19)–H(19B)...O(14)	0.96	$-x, -1/2 + y, 1/2 - z$	2.56	3.345(17)	144
C(19)–H(19C)...O(9)	0.96	$x, -1 + y, z$	2.44	3.135(17)	129
III					
O(10)–H(10)...O(4)	0.84	$1 - x, 2 - y, 1 - z$	2.07	2.822(8)	148
O(11)–H(11)...O(5)	0.84	$1 - x, 1 - y, 1 - z$	1.90	2.689(8)	156
C(3)–H(3)...O(8)	0.95	$1 - x, 2 - y, 1 - z$	2.38	3.171(11)	141
C(9)–H(9)...O(9)	0.95	$x, y, 1 + z$	2.46	3.346(14)	155
C(15)–H(15)...O(2)	0.95	$1 - x, 1 - y, 1 - z$	2.40	3.251(11)	149
C(16)–H(16B)...O(11)	0.99		2.55	3.094(11)	114
C(17)–H(17B)...O(2)	0.98	$1 - x, 1 - y, 1 - z$	2.50	3.140(12)	123
C(18)–H(18)...O(9)	0.99	$-1 + x, y, z$	2.59	3.574(13)	170
C(18)–H(18B)...O(10)	0.99		2.50	3.072(12)	116
IV					
O(16)–H(16A)...O(1)	0.85	$1 - x, 1 - y, 1 - z$	2.07	2.822(8)	148
O(16)–H(16B)...N(7S)	0.85		1.90	2.689(8)	156
O(17)–H(17A)...N(4S)	0.85		2.38	3.171(11)	141
O(17)–H(17A)...O(2)	0.93	$-x, -y, 1 - z$	2.46	3.346(14)	155
C(4)–H(4)...O(5)	0.96	$-x, -y, -z$	2.40	3.251(11)	149
C(3S)–H(3SA)...O(8)	0.93	$-x, 1 - y, 1 - z$	2.55	3.094(11)	114
C(8)–H(8)...O(12)	0.93	$1 - x, 1 - y, 1 - z$	2.50	3.140(12)	123
C(9)–H(9)...N(1S)	0.93	$1 - x, 1 - y, 1 - z$	2.59	3.574(13)	170
C(13)–H(13)...O(7)	0.93	$-x, 1 - y, 1 - z$	2.50	3.072(12)	116
C(14)–H(14)...O(4)	0.93	$-x, -y, 1 - z$			

Таблица 4. Взаимодействия N—O... π в кристаллических упаковках II, IV

Взаимодействие	O—Cg, Å	Код симметрии	Угол N—O...Cg, град*
II			
N(1)—O(5)... π (Fur)	3.465(10)	$1+x, 1/2-y, 1/2+z$	114.7(6)
N(2)—O(9)... π (Fur)	3.385(10)	$1-x, 1-y, 1-z$	128.7(7)
N(3)—O(14)... π (Fur)	3.510(10)	$-x, 1-y, 1-z$	71.7(6)
IV			
N(1)—O(4)... π (Fur)	3.208(3)	$x, -1+y, z$	105.0(2)
N(2)—O(9)... π (Fur)	3.341(3)	$-x, 1-y, -z$	105.64(19)
N(3)—O(15)... π (Fur)	3.227(3)	$1-x, -y, 1-z$	116.9(2)

* Cg — центры ароматических колец.

Таблица 5. Результаты антибактериальной активности в отношении *M. smegmatis*

Соединение	МИК, нмоль/диск	Зона ингибирования, мм		Литература
	24 ч	24 ч	120 ч	
I	2000	$6.0 \pm 0.5^*$		
II	1500	$6.0 \pm 0.5^*$		
IV	2000	$6.6 \pm 0.5^*$	$6.1 \pm 0.5^*$	
[Cu(Fur) ₂ (CH ₃ CN)]	280	$6.5 \pm 0.5^*$		[21]
[Cu(Nfur) ₂ (H ₂ O) ₂]	1248	$6.0 \pm 0.5^*$		[39]
[Cu(Fur) ₂ (Phen)]	4	$7 \pm 0.5^*$	$7 \pm 0.5^*$	[15]
[Zn(Fur) ₂ (Bpy)]	92	6.5 ± 0.5	6.5 ± 0.5	[16]
Hfur	55	$7 \pm 0.5^*$	$6 \pm 0.5^*$	
Hnfur	1000	$6.2 \pm 0.5^*$		
INH	730	7.0 ± 0.5	$6.5^* \pm 0.5$	
Rif	6	6.5 ± 0.5	6.5 ± 0.5	

* Зона ингибирования роста культуры бактерий, изначально возникшая после нескольких часов роста, начинает зарастать по всей поверхности зоны; пустые строчки означают, что зона ингибирования роста отсутствует.

БЛАГОДАРНОСТИ

РСА, ИК-спектроскопия и C,H,N,S-анализ выполнены с использованием оборудования ЦКП ФМИ ИОНХ РАН, функционирующего при поддержке государственного задания ИОНХ РАН в области фундаментальных научных исследований.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках государственного задания ИОНХ РАН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sessoli R., Powell A.K. // Coord. Chem. Rev. 2009. V. 253. P. 2328.
2. Layfield R.A., Murugesu M. Lanthanides and Actinides in Molecular Magnetism. Wiley-VCH, 2015.
3. Molecular Magnetic Materials / Eds. Sieklucka B., Pinkowicz D. Weinheim (Germany): Wiley-VCH Verlag GmbH, 2017.
4. Kiskin M.A., Varaksina E.A., Taydakov I.V., Eremenko I.L. // Inorg. Chim. Acta. 2018. V. 482. P. 85.
5. Шмелев М.А., Воронина Ю.К., Гоголева Н.В. и др. // Изв. АН. Сер. хим. 2020. № 8. С. 1544 (Shmelev M.A., Voronina Y.K., Gogoleva N.V. et al. // Russ. Chem. Bull. 2020. V. 69. P. 1544).
<https://doi.org/10.1007/s11172-020-2934-0>
6. Binnemans K. // Chem. Rev. 2009. V. 109. P. 4283.
7. Zhen-Feng Chen, Ming-Xiong Tan, Yan-Cheng Liu et al. // J. Inorg. Biochem. 2011. V. 105. P. 426.
8. Kaczmarek M.T., Zabiszak M., Nowak M., Jastrzab R. // Coord. Chem. Rev. 2018. V. 370. P. 42.
9. Guan Q.-L., Xing Y.-H., Liu J. et al. // J. Inorg. Biochem. 2013. V. 128. P. 57.
10. Rashid H.U., Martines M.A.U., Jorge J. et al. // Bioorgan. Med. Chem. 2016. V. 4. P. 5663.
11. Bombieri G., Artali R., Mason S.A. et al. // Inorg. Chim. Acta. 2018. V. 470. P. 433.

12. Babic A., Vorobiev V., Hayaphoummine C. et al. // Chem. Eur. J. 2018. V. 24. P. 1348.
13. Phukan B., Mukherjee C., Varshney R. // Dalton Trans. 2018. V. 47. P. 135.
14. Zhang T., Zhu X., Wong W.-K. et al. // Chem. Eur. J. 2013. V. 19. P. 739.
15. Луценко И.А., Баравиков Д.Е., Кискин М.А. и др. // Коорд. химия. 2020. Т. 46. № 6. С. 366 (Lutsenko I.A., Baravikov D.E., Kiskin M.A. et al. // Russ. J. Coord. Chem. 2020. V. 46. P. 411).
<https://doi.org/10.1134/S1070328420060056>
16. Луценко И.А., Ямбулатов Д.С., Кискин М.А. и др. // Коорд. химия. 2020. Т. 46. № 12. С. 715 (Lutsenko I.A., Yambulatov D.S., Kiskin M.A. et al. // Russ. J. Coord. Chem. 2020. V. 46. P. 787).
<https://doi.org/10.1134/S1070328420120040>
17. Lutsenko I.A., Yambulatov D.S., Kiskin M.A. et al. // Chem. Select. 2020. V. 5. P. 11837.
18. Луценко И.А., Кискин М.А., Кошенкова К.А. и др. // Изв. АН. Сер. хим. 2021. № 3. С. 463 (Lutsenko I.A., Kiskin M.A., Koshenskova K.A. et al. // Russ. Chem. Bull. 2021. V. 70. P. 463).
<https://doi.org/10.1007/s11172-021-3109-3>
19. Uvarova M.A., Lutsenko I.A., Kiskin M.A. et al. // Polyhedron. 2021. V. 203. P. 115241.
20. Lutsenko I.A., Baravikov D.E., Koshenskova K.A. et al. // RSC Adv. 2022. V. 12. P. 5173.
21. Луценко И.А., Никифорова М.Е., Кошенкова К.А. и др. // Коорд. химия. 2022. Т. 48. № 2. С. 83 (Lutsenko I.A., Nikiforova M.E., Koshenskova K.A. et al. // Russ. J. Coord. Chem. 2021. V. 47. P. 881).
<https://doi.org/10.1134/S1070328421350013>
22. Bartolomé E., Bartolomé J., Arauz A. et al. // J. Mater. Chem. C. 2016. V. 22. P. 5038.
23. Li X., Jin L., Lu S., Zhang J. // J. Mol. Struct. 2002. V. 604. P. 65.
24. Bartolomé E., Bartolomé J., Arauzo A. et al. // J. Mat. Chem. 2018. V. 19. 5286.
25. Li X., Zheng X., Jin L., Zhang J. // J. Mol. Struct. 2001. V. 559. P. 341.
26. Bartolomé E., Bartolomé J., Melnic S. et al. // Dalton Trans. 2019. V. 42. P. 10153.
27. Уварова М.А., Луценко И.А., Никифорова М.Е. и др. Коорд. химия. 2022. № 8. С. 451 (Uvarova M.A., Lutsenko I.A., Nikiforova M.E. et al. // Russ. J. Coord. Chem. 2022. V. 48. P. 457).
<https://doi.org/10.1134/S1070328422080073>
28. Li Xia, Bel'skii V.K., Dement'ev A.I., Medvedev Yu.N. // Russ. J. Inorg. Chem. 2004. V. 49. P. 386.
29. Krause L., Herbst-Irmer R., Sheldrick G.M., Stalke D. // J. Appl. Cryst. 2015. V. 48. P. 3.
30. Sheldrick G.M. // Acta Crystallogr. A. 2015. V. 71. P. 3.
31. Dolomanov O.V., Bourhis L.J., Gildea R.J. et al. // J. Appl. Cryst. 2009. V. 42. P. 339.
32. Casanova D., Llunell M., Alemany P., Alvarez S. // Chem. Eur. J. 2005. V. 11. P. 1479.
33. Lam A.W.H., Wong W.T., Gao S. et al. // Eur. J. Inorg. Chem. 2003. V. 2003. P. 149.
34. Singh U.P., Kumar R., Upreti S. // J. Mol. Struct. 2007. V. 831. P. 97.
35. Liu B.X., Chen G.H., Zhang L.J. // Acta Crystallogr. E. 2007. V. 63. P. 2263.
36. Sharma S., Yawer M., Kariem M. et al. // Russ. J. Coord. Chem. 2015. V. 41. № 7. P. 469.
37. Arıcı C., Ülkü, D., Tahir M. N. et al. // Acta Crystallogr. C. 1999. V. 55. P. 198.
38. Kepert C.J., Wei-Min L., Junk P.C. et al. // Austr. J. Chem. 1999. V. 52. P. 459.
39. Кошенкова К.А., Луценко И.А., Нелюбина Ю.В., Примаков П.В. // Журн. неорган. химии. 2022. Т. 67. № 10. С. 1398 (Koshenskova K.A., Lutsenko I.A., Nelyubina Y.V. et al. // Russ. J. Inorg. Chem. 2022. V. 67. № 2. P. 1545).
<https://doi.org/10.1134/S003602362270005X>

УДК 546.98+547.332+577.152.143

НИТРОЗАМЕЩЕННЫЕ ПИРИДИНИМИНОВЫЕ КОМПЛЕКСЫ Pd(II): СИНТЕЗ И ИНГИБИРОВАНИЕ МАО-Б *EX VIVO*

© 2023 г. М. С. Денисов¹, *, **, Ю. А. Белоглазова¹

¹Институт технической химии УрО РАН – филиал Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН,
Пермь, Россия

*e-mail: denisov.m@itcras.ru

**e-mail: m189@mail.ru

Поступила в редакцию 25.01.2023 г.

После доработки 30.03.2023 г.

Принята к публикации 06.04.2023 г.

Впервые осуществлен синтез комплексов [PdLCl₂] (I) и [PdLBr₂] (II), где L = 2,6-диметил-4-нитро-N-((пиридин-2-ил)метил)анилин, с предположительной способностью ингибировать моноаминоксидазу Б (МАО-Б). Молекулярное строение комплексов I, II, лиганда L и прекурсор-лиганда 2,6-диметил-4-нитроанилина (L⁴) установлено с помощью РСА (CCDC № 2255106 (I), 2255105 (II), 2255103 (L), 2255104 (L⁴) соответственно). На примере комплекса I исследована стабильность, растворимость и липофильность. На клеточной линии НЕК-293 (эмбриональные клетки почки человека) показано отсутствие цитотоксической активности соединений L, I и II. Проведены *ex vivo* исследования новых соединений L, I, II и известных соединений III–IX, селегилина и разагилина на способность ингибировать МАО-Б, установлена взаимосвязь структура–активность.

Ключевые слова: палладий, МАО, пиридиниминовые комплексы, нитроанилин, основание Шиффа
DOI: 10.31857/S0132344X23600066, **EDN:** WBEBFO

Растущий интерес к координационным соединениям переходных металлов связан с клиническим использованием комплексов Pt(II) (цисплатин, карбоплатин и др.) в противоопухолевой терапии [1–3]. Однако развитие химиорезистентности раковых клеток к цисплатину и появление ряда специфических побочных эффектов у пациентов побудили исследователей к синтезу соединений на основе Pd из-за сходных химических и физических свойств Pt и Pd [4]. Соединения Pd(II) отличаются значительной противоопухолевой и антимикробной активностью, более высокой липофильностью или растворимостью по сравнению с цисплатином [5–11]. Цитотоксическая активность комплексов Pd(II) зависит от лигандного окружения и может быть целенаправленно снижена. В связи с этим, индивидуальный подбор и варьирование структуры лиганда в комплексах Pd(II) позволяет расширить возможность их применения в терапии ряда инфекционных и неинфекционных заболеваний [12–14].

Известно, что металлоорганические соединения могут ингибировать активность ферментов из-за способности связывать большие биологические молекулы сильнее, чем органические соединения, не содержащие металлов [15]. Установлено, что комплексы Pd(II) и Pd(IV) ингибируют следующие

ферменты: AChE [16–19], BuChE [19, 20], PON1 [21], CA [16], α-гликозидаза [18, 21], β-глюкуронидаза [22], целулаза [23], фумаратредуктаза [24], катепсин Б [25], TcOYE [26], протеаза ВИЧ-1 [27], металло-β-лаптамаза [28], РНК-полимеразы [29], липоксигеназа [30], супероксиддисмутаза [31], топтоизомераза II [32], Na⁺/K⁺-АТФаза [33], Ca²⁺/Mg²⁺-АТФаза [34], тиоредоксинредуктаза [35], глутатионредуктаза [36].

Болезни Альцгеймера и Паркинсона являются возрастзависимыми нейродегенеративными заболеваниями и ассоциированы с повышенной активностью ферментов AChE [16–19] и МАО-Б [37–39] соответственно. В настоящее время известно множество ингибиторов МАО-А и МАО-Б с различными механизмами действия [38]. Для комплексов Pd(II) группой Мошковского показана способность ингибировать ферменты МАО-А и МАО-Б [40]. Остаток цистеина 397 в полипептидной цепи МАО реализует ковалентную связь с остатком FAD, который является каталитическим центром фермента [37, 38]. Pd вступает в комплексообразование по NH-группе альдиминов, образующихся в результате реакции превращения моноаминов ферментом МАО [41]. Меха-

низм каталитического действия фермента МАО и механизм ингибирования представлен на схеме 1. В [42] терапевтический эффект ингибиторов

МАО-Б при болезни Паркинсона связали с блокированием синтеза гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) астроцитами.

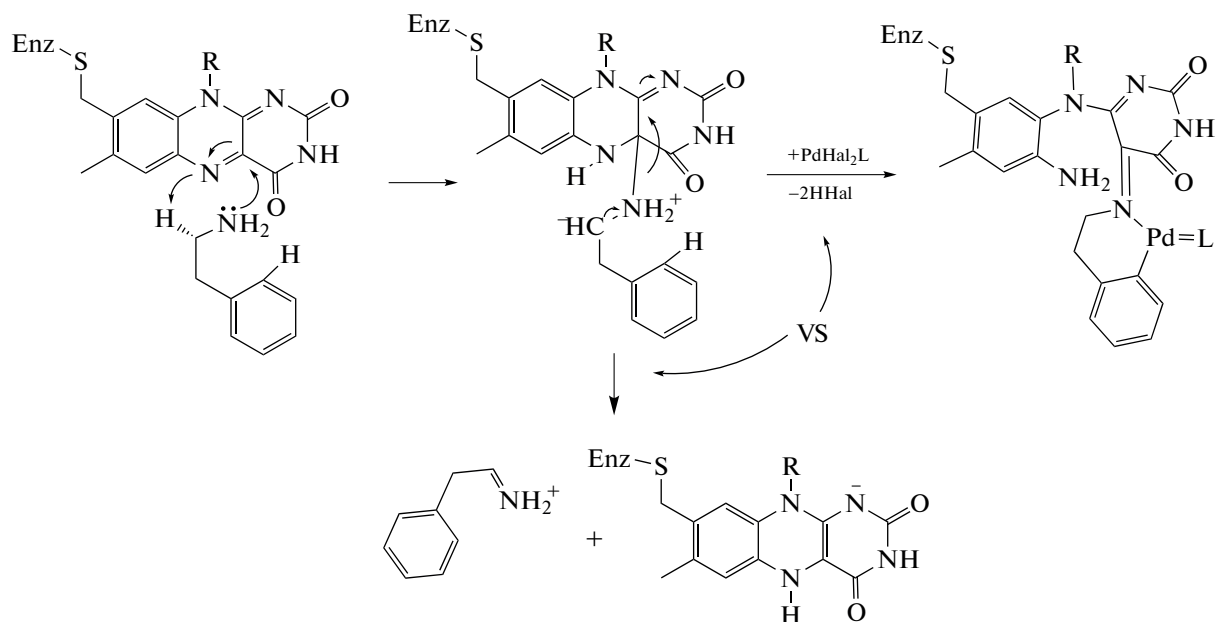


Схема 1.

Структура комплекса влияет на МАО-ингибирование следующим образом. Во-первых, повышение липофильности комплекса Pd(II) благоприятно как для преодоления гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), так и для связывания с липофильным каталитическим сайтом [37] фермента МАО. Во-вторых, увеличение размеров комплекса Pd(II) неблагоприятно для селективного МАО-Б-ингибирующего эффекта комплексов Pd(II), так как каталитическая полость фермента МАО-Б меньше, чем у МАО-А [37]. В-третьих, комплекс Pd(II) должен быть устойчивым в физиологических условиях, так как соединения Pd(II) склонны к разложению с образованием Pd-черни и/или $\text{Pd}_3(\text{PO}_4)_2$. В-четвертых, лиганды должны стабилизировать *цис*-галогеновую геометрию координационного узла, облегчающую реализацию механизма на схеме 1.

Ранее нами исследованы пиридиниминовые комплексы Pd(II) на предмет ингибирования ферментов МАО *ex vivo* [43]. В результате установлено, что нитрогруппа и заместители в *орто*-положениях благоприятны для эффективного ингибирования ферментов МАО.

Цель настоящей работы – синтез арилпиридиниминовых комплексов Pd(II) с нитрогруппой в *пара*-положении и заместителями в *орто*-положении бензольного кольца. Кроме того, в [43, 44] показано незначительное возрастание МАО-ингибирующей активности при переходе от хлорид-

ных комплексов к бромидным комплексам Pd(II). Недостатком работ [43, 44] является то, что исследовалось лишь неселективное МАО-ингибирование соединениями Pd(II). Таким образом, в настоящей работе исследована ингибирующая активность МАО-Б комплексов Pd(II) в условиях *ex vivo*. Этот метод ранее успешно использован в изучении ингибирующей активности МАО-Б комплексов Cu(II), Zn и Ni(II) [45].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

ИК-спектры регистрировали на Фурье-спектрометре Bruker VERTEX 80v в вазелиновом масле, в диапазоне $4000\text{--}400\text{ см}^{-1}$. Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C (400 и 100 МГц соответственно) записывали в CDCl_3 при 30°C (N,N-дитозил-2,6-диметиланилина, метил-4-нитро-N-((пиридин-2-ил)метил)анилина (L) и 2,6-диметил-4-нитроанилина (L⁴) или в DMCO-d_6 при 50°C ([PdLCl₂] (I), [PdLBr₂] (II) на спектрометре Bruker Avance Neo 400; в качестве внутреннего стандарта в спектрах ЯМР ^1H использовали гексаметилдисулан (ГМДС) ($\delta = 0.055$ м.д.), а в спектрах ЯМР ^{13}C – сигналы протонов CHCl_3 ($\delta = 77.0$ м.д.) или DMCO ($\delta = 39.6$ м.д.), присутствующие как примесь в CDCl_3 и DMCO-d_6 соответственно. Масс-спектр записывали на приборе Agilent Technologies 6890N/5975B, колонка капиллярная HP-5ms, 30000×0.25 мм, 0.25 мкм, температура испарителя 260°C , програм-

мирование температуры в пределах 20–40 град/мин, газ-носитель — гелий, 1 мл/мин, масс-спектры получали методом электронного удара (70 эВ). Температуры плавления определяли на приборе ПТП-2. Элементный анализ (С, Н, N) проводили на приборе CHNS VARIO EL CUBE. УФ-спектры записывали в диапазоне 200–1000 нм на спектрофотометре СФ-2000 (ОКБ Спектр, Россия); $l = 1$ см. ТСХ осуществляли на пластинках Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ в системе петролейный эфир (40–70°C) — EtOAc (7 : 3).

В работе использовали реактивы чистотой не ниже “х. ч.”: PdCl₂, [*n*-Bu₄N]Br, 2-пиридинкарбальдегид, 2,6-диметиланилин, фармсустанцию кинурамин и необратимые ковалентные ингибиторы: хлоргилин (преимущественно ингибитор MAO-A), разагилин и селегилин (преимущественно ингибиторы MAO-B) (Alfa Aesar, Великобритания); силикагель 0.063–0.2 мм производства Macherey-Nagel (Германия). Использовали CH₃CN марки “0” российского производства.

Синтез N-тозил-2,6-диметиланилина (L¹) [46], N,N-дитозил-2,6-диметиланилина (L²). Смесь 8 мл (0.0650 моль) 2,6-диметиланилина, 18.5 г (0.0970 моль) тозилхлорида кипятили в 32 мл пиридина в течение часа. Затем растворитель отгоняли на ротормном испарителе, кубовый остаток растворяли в EtOAc, промывали насыщенным раствором NaCl и сушили над MgSO₄. Продукты разделяли колоночной хроматографией на силикагеле, элюируя смесями петролейный эфир (40–70°C)–EtOAc с повышением полярности в соотношении от 10 : 1 до 1 : 1. Соединение L² выходит раньше L¹ с колонки, но на ТСХ обратная последовательность. Выход L¹ 17.142 г (96%), Rf = 0.43, бесцветный порошок, T_{пл} = 135–136°C (петролейный эфир (40–70°C)–EtOAc) (см. [46] 134–135°C (CH₃OH)). Масс-спектр (ЭУ, 70 эВ), m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 276 (6), 275 (33) [M⁺], 121 (10), 120 (100), 119 (6), 91 (17), 77 (8), 65 (7). Выход L² 0.523 г (3%), Rf = 0.31 бесцветный порошок T_{пл} = 172–173°C (петролейный эфир (40–70°C)–EtOAc). Масс-спектр (ЭУ, 70 эВ), m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 431 (7), 430 (14), 429 (54) [M⁺], 275 (6), 274 (26), 273 (20), 211 (13), 210 (76), 209 (7), 208 (23), 196 (11), 195 (67), 194 (67), 180 (7), 154 (13), 152 (5), 151 (6), 139 (18), 120 (6), 119 (11), 118 (31), 105 (29), 104 (6), 93 (9), 92 (14), 91 (100), 89 (7), 77 (9), 65 (28), 39 (6). Спектр ЯМР ¹H (δ, м.д.; J, Гц): 7.88 д. (4H, 3,5-Тоз, J = 8.2), 7.30 д. (4H, 2,6-Тоз, J = 8.2), 7.15 т. (1H, 4-Ар, J = 7.6), 7.01 д. (2H, 3,5-Ар, J = 7.6), 2.43 с. (6H, Me-Тоз), 1.86 с. (6H, Me-Ар). Спектр ЯМР ¹³C (δ, м.д.): 145.1, 141.0, 137.1, 133.1, 129.5, 129.4, 129.4, 129.1, 21.6, 19.3. ИК-

спектр (ν, см⁻¹): 3268, 1513, 1335, 1306, 1294, 1158, 1091, 814, 745, 550, 537.

Найдено, %: С 61.51; Н 5.39; N 3.46.

Для C₂₂H₂₃NO₄S₂

вычислено, %: С 61.51; Н 5.40; N 3.26.

Синтез N-тозил-2,6-диметил-4-нитроанилина (L³) [46]. Смесь 4 г (14.5 ммоль) L¹, 20 мл H₂O, 30 мл CH₃COOH, 0.1 г NaNO₂ и 2.5 мл 60%-ной HNO₃ кипятили 30 мин. Реакционную массу охлаждали до 0°C и фильтровали на фильтре Шотта ПОР 40, осадок промывали холодной водой и сушили под вакуумом. Продукт очищали от остатков L¹ колоночной хроматографией на силикагеле, элюируя смесями петролейный эфир (40–70°C)–EtOAc с повышением полярности в соотношении от 10 : 1 до 0 : 1 (L¹ выходит раньше L³). Выход 3.561 г (77%), Rf = 0.31 бесцветный порошок T_{пл} = 150–151°C (петролейный эфир (40 T_{пл} = 70°C) EtOAc) (см. [46] 163–165°C (H₂O)). Масс-спектр (ЭУ, 70 эВ), m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 321 (9), 320 (46) [M⁺], 165 (28), 156 (8), 155 (88), 135 (9), 119 (18), 118 (15), 106 (5), 104 (9), 92 (10), 91 (100), 89 (5), 65 (18), 39 (6).

Синтез 2,6-диметил-4-нитроанилина (L⁴) [46]. К 3 г (9.36 ммоль) L³ добавляли 15 мл H₂SO₄конц и перемешивали 2 ч при 50°C. Затем в реакционную массу при перемешивании добавляли 150 г снега и малыми порциями 100 г NaHCO₃. Раствор перемешивали до прекращения выделения газа и экстрагировали EtOAc. Органический слой сушили над MgSO₄, фильтровали и отгоняли на ротормном испарителе. Кубовый остаток кристаллизовали из CH₂Cl₂. Выход 1.370 г (88%), зеленые иглы T_{пл} = 163–164°C (CH₂Cl₂) (см. [46] 164–165°C (EtOAc)). Масс-спектр (ЭУ, 70 эВ), m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 167 (10), 166 (100) [M⁺], 136 (46), 120 (22), 119 (9), 118 (12), 108 (7), 104 (8), 103 (6), 93 (21), 92 (7), 91 (30), 78 (6), 77 (27), 65 (9), 52 (6), 51 (6), 39 (6). Спектр ЯМР ¹H (δ, м.д.): 2.21 с. (6H, CH₃), 4.14 уш.с. (2H, NH₂), с. 7.88 (2H, 3,5-Ар).

Синтез 2,6-диметил-4-нитро-N-((пиридин-2-ил)метил)анилина (L). Смесь 1.274 г (7.67 ммоль) L⁴, 0.81 мл (8.43 ммоль) пиридин-2-карбальдегида, 0.15 г толуилсульфокислоты кипятили в 50 мл толуола с насадкой Дина и Старка в течение 12 ч. Затем растворитель отгоняли на ротормном испарителе, а кубовый остаток кристаллизовали из CH₃OH. Выход 1.606 г (82%), бледно-желтые призмы T_{пл} = 155–156°C (CH₃OH). Масс-спектр (ЭУ, 70 эВ), m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 255 (32) [M⁺], 254 (36), 241 (15), 240 (100), 237 (7), 210 (7), 209 (39), 208 (26), 207 (23), 195 (8), 164 (43), 193 (13), 192 (8), 182 (6), 181 (17), 180 (8), 160 (20), 131 (26), 130 (34), 104 (11), 103 (16), 92 (5), 80 (12), 79 (76), 78 (19),

77 (16), 65 (10), 64 (5), 63 (10), 52 (12), 51 (12), 39 (8). Спектр ЯМР ^1H (δ , м.д.; J , Гц): 8.73 д.д.д. (1H, 6-Пу, $J = 4.9$, $J = 1.3$, $J = 0.9$), 8.30 с. (1H, 7-Пу), 8.25 д. (1H, 3-Пу, $J = 7.6$), 7.96 с. (2H, 3,5-Ar), 7.87 д.д.д. (1H, 4-Пу, $J = 7.6$, $J = 7.5$, $J = 1.3$); 7.45 д.д.д. (1H, 5-Пу, $J = 7.5$, $J = 4.9$, $J = 1.1$); 2.20 с. (6H, Me). Спектр ЯМР ^{13}C (δ , м.д.): 163.9, 156.0, 153.5, 149.8, 144.0, 136.9, 127.9, 125.9, 123.4, 121.6, 18.3. ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3396, 1649, 1509, 1472, 1334, 1304, 1289, 1100, 764, 749.

Найдено, %: C 66.03; H 5.91; N 16.40.

Для $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_2$

вычислено, %: C 65.87; H 5.13; N 16.46.

Синтез [2,6-диметил-4-нитро-N-((пиридин-2-ил)метил)анилин]-цис-дихлоропалладия(II) (I). В 100 мл CH_3CN в течение 10 мин кипятили 709 мг (4 ммоль) PdCl_2 , а затем добавляли 1.021 г (4 ммоль). Раствор кипятят в течение 1 ч, а затем фильтровали. Осадок, желтый порошок, сушили в вакуумном шкафу. Красный кристалл для РСА выращивали из ДМСО. Выход 1.229 г (71%), $T_{\text{пл}} = >320^\circ\text{C}$ (CH_3CN). Спектр ЯМР ^1H (δ , м.д.; J , Гц): 9.12 д.д. (1H, 6-Пу, $J = 5.2$), с. 8.80 (1H, 7-Пу), 8.47 д.д.д. (1H, 4-Пу, $J = 8.2$, $J = 7.2$, $J = 1.0$), д. 7.87 (1H, 3-Пу, $J = 7.2$), с. 8.23 (2H, 3,5-Ar), д.д.д. 8.05 (1H, 5-Пу, $J = 8.2$, $J = 5.2$, $J = 1.2$), 2.45 с. (6H, Me). Спектр ЯМР ^{13}C (δ , м.д.): 175.0, 154.9, 154.9, 150.2, 145.9, 141.1, 132.8, 130.1, 129.8, 122.3, 18.0. ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3025, 1618, 1518, 1476, 1341, 1324, 1308, 1299, 1157, 1096, 825, 765.

Найдено, %: C 38.37; H 3.02; N 9.50.

Для $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_2\text{Cl}_2\text{Pd}$

вычислено, %: C 38.87; H 3.03; N 9.71.

Синтез цис-дихлоро[2,6-диметил-4-нитро-N-((пиридин-2-ил)метил)анилин]палладия(II) (II). В 200 мл CH_3CN в течение 2 ч кипятили 709 мг (4 ммоль) PdCl_2 , 5.025 г (20 ммоль) $\text{BrN}(\text{Bu})_4$ и 1.021 г (4 ммоль) лиганда L. Затем реакционную массу упаривали на ротаторном испарителе до 50 мл и охлаждали. Выпавший осадок отделяли фильтрованием, промывали 50 мл H_2O и 10 мл CH_3CN . Выход 1.540 г (74%), мелкие оранжевые кристаллы, $T_{\text{пл}} = >320^\circ\text{C}$ (CH_3CN). Спектр ЯМР ^1H (δ , м.д.; J , Гц): 9.10 уш.с. (1H, 6-Пу), 8.78 с. (1H, 7-Пу), 8.47 д.д. (1H, 4-Пу, $J = 7.2$, $J = 7.2$), 8.21 д. (1H, 3-Пу, $J = 7.2$), 8.04 с. (2H, 3,5-Ar), 8.01 уш.с. (1H, 5-Пу), 2.42 с. (6H, Me). Спектр ЯМР ^{13}C (δ , м.д.): 174.6, 145.8, 140.8, 140.9, 132.6, 129.9, 129.6, 123.6, 122.0, 119.8, 17.9. ИК-спектр (ν , см^{-1}):

3411, 1629, 1519, 1467, 1343, 1304, 1159, 1092, 815, 763, 747, 547, 539.

Найдено, %: C 35.44; H 3.32; N 8.62.

Для $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_2\text{Br}_2\text{Pd}$

вычислено, %: C 32.24; H 2.51; N 8.06.

РСА. Набор экспериментальных отражений образцов соединений получен на монокристалльном дифрактометре Xcalibur Ruby (Agilent Technologies, Польша) с CCD-детектором по стандартной методике (MoK_α -излучение, ω -сканирование с шагом 1°) при $T = 295$ К. Поглощение учтено эмпирически с использованием алгоритма SCALE3 ABSPACK [47]. Структуры расшифрованы с помощью программы SHELXS [48] и уточнены полноматричным методом наименьших квадратов по F^2 в анизотропном приближении для всех неводородных атомов с помощью программы SHELXL [49] с графическим интерфейсом OLEX2 [50]. Атомы водорода включены в уточнение в модели “наездника” (за исключением атомов водорода группы NH_2 , уточненных независимо в изотропном приближении). Кристалл соединения II уточнен с использованием файла данных с интенсивностями отражений формата HKLF 5 как двойник с двумя компонентами, соотношение компонент, полученное в результате уточнения, 0.639(3) : 0.361(3). Кристаллографические данные и детали уточнения структур L^4 , L, I и II приведены в табл. 1.

Полный набор рентгеноструктурных параметров депонирован в Кембриджском банке структурных данных (CCDC № 2255103 (L), 2255104 (L^4), 2255106 (I), 2255105 (II), deposit@ccdc.cam.ac.uk, www: http://www.ccdc.cam.ac.uk).

Тест на липофильность. Дистиллированную воду (1 л) перемешивали с 60 мл октанола-1 в течение 2 сут с целью взаимного насыщения. Комплекс I (16 мг) перемешивали в 20 мл октанола-1, насыщенного водой, в течение 2 сут, суспензию фильтровали. Фильтрат доводили до 30 мл октанолом-1, насыщенным водой. УФ-спектр алиquotы раствора записывали (180–900 нм) с шагом 1 нм относительно октанола-1, насыщенного водой. Исходный раствор (20 мл) перемешивали с 980 мл воды, насыщенной октанолом-1 в течение 2 сут. Затем отбирали алиquotу органической фазы для записи УФ-спектра аналогичным образом. Рассчитывали $\lg P$ по формуле, представленной ниже, где D_0 – оптическая плотность раствора до экстракции, а D_1 – оптическая плотность раствора после экстракции. Расчет осуществляли в окрестностях максимума поглощения (263–273 нм) комплекса I. Значения $\lg P$ для разных длин волн усредняли, погрешность рассчитывали методом Стьюдента с доверительным интервалом 95%.

Таблица 1. Кристаллографические данные и детали уточнения структур L⁴, L, I и II

Соединение	Значение			
	L ⁴	L	I	II
Брутто-формула	C ₈ H ₁₀ N ₂ O ₂	C ₁₄ H ₁₃ N ₃ O ₂	C ₁₄ H ₁₃ N ₃ O ₂ Cl ₂ Pd	C ₁₄ H ₁₃ N ₃ O ₂ Cl _{0.89} Br _{1.11} Pd
<i>M</i>	166.18	255.27	432.57	481.70
<i>T</i> , К	295(2)	295(2)	295(2)	295(2)
Сингония	Моноклинная	Моноклинная	Моноклинная	Моноклинная
Пр. группа	<i>P</i> 2 ₁ / <i>n</i>	<i>P</i> 2 ₁ / <i>c</i>	<i>P</i> 2 ₁ / <i>c</i>	<i>P</i> 2 ₁ / <i>c</i>
<i>a</i> , Å	3.9903(17)	8.776(2)	8.1188(13)	8.1644(14)
<i>b</i> , Å	11.872(4)	17.579(4)	11.2468(16)	11.495(2)
<i>c</i> , Å	17.149(5)	8.277(2)	17.235(2)	17.453(4)
α, град	90	90	90	90
β, град	92.97(4)	94.37(2)	102.542(14)	102.57(2)
γ, град	90	90	90	90
<i>V</i> , Å ³	811.3(5)	1273.1(5)	1536.2(4)	1598.7(5)
<i>Z</i>	4	4	4	4
ρ(выч.), г/см ³	1.360	1.332	1.870	2.001
μ, мм ⁻¹	0.100	0.092	1.565	4.081
<i>F</i> (000)	352.0	536.0	856.0	936.0
Диапазон сбора данных по 2θ, град	6.86–58.93	6.57–58.91	4.36–58.77	4.27–58.83
Независимых отражений (<i>R</i> _{int})	2687	2993 (0.0296)	3632 (0.0298)	3790 (0.0539)
Отражений с <i>I</i> > 2σ(<i>I</i>)	1271	2223	3104	2957
Уточняемых параметров	120	175	201	221
GOOF	0.916	1.039	1.055	1.021
<i>R</i> -факторы по <i>F</i> ² > 2σ(<i>F</i> ²)	<i>R</i> ₁ = 0.0748, <i>wR</i> ₂ = 0.1929	<i>R</i> ₁ = 0.0505, <i>wR</i> ₂ = 0.1253	<i>R</i> ₁ = 0.0325, <i>wR</i> ₂ = 0.0727	<i>R</i> ₁ = 0.0456, <i>wR</i> ₂ = 0.0931
<i>R</i> -факторы по всем отражениям	<i>R</i> ₁ = 0.1409, <i>wR</i> ₂ = 0.2138	<i>R</i> ₁ = 0.0697, <i>wR</i> ₂ = 0.1442	<i>R</i> ₁ = 0.0406, <i>wR</i> ₂ = 0.0794	<i>R</i> ₁ = 0.0631, <i>wR</i> ₂ = 0.1066
Δρ _{max} /Δρ _{min} , е/Å ³	0.24/–0.20	0.21/–0.22	0.67/–0.65	0.68/–1.02

$$\lg P = \lg \left(\frac{D_1}{D_0 - D_1} \frac{980}{20} \right).$$

Тест на устойчивость. 0.3 мл 10 М раствора комплекса I в ДМСО смешивали с 30 мл 0.1 М фосфатно-солевого буфера (PBS) pH 7.4 и забирали аликвоту для записи УФ-спектра. Оставшийся раствор выдерживали 30 мин при 37°C и брали аликвоту для записи УФ-спектра.

МТТ-тест. Исследование цитотоксической активности соединений проводили в отношении клеток линии НЕК-293 с помощью МТТ-теста. Клетки инкубировали в среде DMEM (ПанЭко, Россия) с добавлением 10%-ной эмбриональной телячьей сыворотки (Biosera, Франция) 2 мМ L-глутамина и 1%-ного раствора пенициллина—

стрептомицина (50 Ед./мл, 50 мкг/мл; ПанЭко, Россия) при 37°C и 5% CO₂ во влажной атмосфере. Через 24 ч инкубации к клеткам добавляли исследуемые соединения, растворенные в ДМСО, в диапазоне концентраций от 3.125 до 100 мкМ. Выживаемость клеток оценивали через 72 ч инкубации с исследуемыми соединениями путем добавления 20 мкл раствора МТТ (бромид 3-[4,5-диметилтиазол-2-ил]-2,5-дифенилтетразолия, 5 мг/мл) в каждую лунку. После инкубирования клеток с раствором МТТ в течение 4 ч среду из планшетов удаляли и в каждую лунку добавляли 100 мкл ДМСО для растворения образовавшихся кристаллов формазана. С помощью планшетного спектрофотометра FLUOstar Optima (BMG Labtech, Германия) определяли оптическую плотность при 544 нм.

Значение 50%-ной ингибирующей концентрации (IC_{50}) определяли на основе дозозависимых кривых с помощью программного обеспечения GraphPad Prism 6.0 [51].

Определение МАО-ингибирующей активности. Ферментативную активность МАО в гомогенате головного мозга мышей определяли по методам [52, 53] с модификациями, основанными на флуориметрическом измерении 4-гидроксихинолина, образующегося при ферментативном окислении кинурамина. Гомогенат готовили из ткани головного мозга мышей в соотношении 1 г ткани мозга на 8 мл буфера PBS. Гомогенат центрифугировали при 1000 *g* в течение 30 мин, затем надосадочную жидкость отбирали и центрифугировали при 10000 *g* в течение 30 мин. Далее осадок ресуспендировали в 0.01 М PBS до содержания белка 125 мкг/мл. Концентрацию белка определял методом Лоури [54]. Для определения активности МАО в 96-луночный черный планшет (SPL, Корея) вносили суспензию митохондрий по 100 мкл/лунка и инкубировали при 37°C в течение 30 мин. Перед внесением соединений активность МАО-А подавляли путем добавления селективного ингибитора хлоргиллина в концентрации 250 нМ на лунку. Исследуемые соединения в количестве 1 мкмоль растворяли в 100 мкл 100%-ного ДМСО, разводили в PBS и добавляли к суспензии митохондрий таким образом, чтобы получить заданные конечные концентрации веществ от 100 до 3.125 мкМ (концентрация ДМСО от 1 до 0.031% соответственно). После 30 мин инкубации ферментативную реакцию инициировали добавлением неселективного субстрата кинурамина (“Sigma-Aldrich”, США) с концентрацией 0.2 мг/мл в PBS по 50 мкл/лунка. Затем планшеты инкубировали

при 37°C в течение 30 мин, после чего реакцию останавливали добавлением 50 мкл 10%-ной трихлоруксусной кислоты и 50 мкл 1 М NaOH. Интенсивность флуоресценции 4-гидроксихинолина, который был образован из кинурамина, измеряли при $\lambda_{\text{возб}} = 320$ нм и $\lambda_{\text{исп}} = 380$ нм с помощью планшетного спектрофотометра FLUOstar Optima (“BMG Labtech”, Германия). В качестве положительного контроля использовали суспензию митохондрий с добавлением ДМСО до конечной концентрации 1% и хлоргиллина в концентрации 250 нМ. Активность фермента в контрольном эксперименте принимали за 100%. В качестве препаратов сравнения использовали ингибиторы МАО-Б разагилин и селегелин (“Sigma-Aldrich”, США), которые вносили по аналогии с тестируемыми соединениями. Все эксперименты проводили в трехкратной повторности. Значение IC_{50} рассчитывали как концентрацию вещества, уменьшающую окисление кинурамина естественной смесью МАО на 50%.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Известно получение 2,6-диметил-4-нитроанилина (L^4) из тозилхлорида и 2,6-диметил-анилина [46, 55]. Мы повторили этот синтез (схема 2), используя колоночную хроматографию на стадиях (*i*, *ii*), что позволило получить чистые соединения L^1 и L^3 с выходами большими, чем описано в литературе, на всех стадиях процесса. Кроме того, нам удалось выделить ранее не описанный побочный продукт L^2 , охарактеризованный методами ЯМР ^1H ^{13}C , газовой хроматографии–масс-спектрометрии (ГХ-МС) и элементного анализа. Наконец, структура соединения L^4 была дополнительно подтверждена методом РСА (рис. 1).

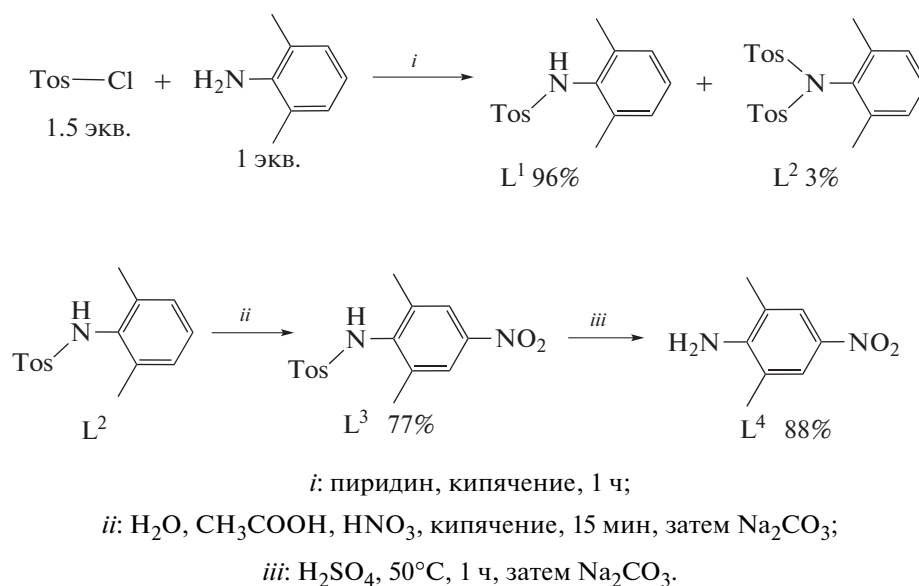


Схема 2.

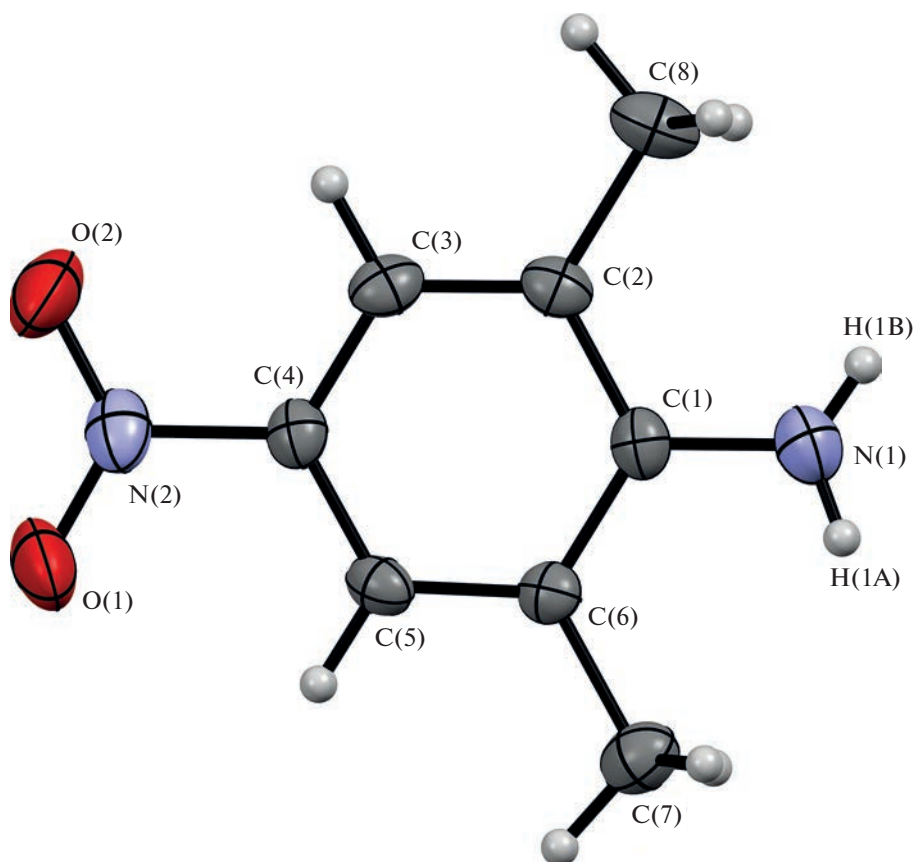
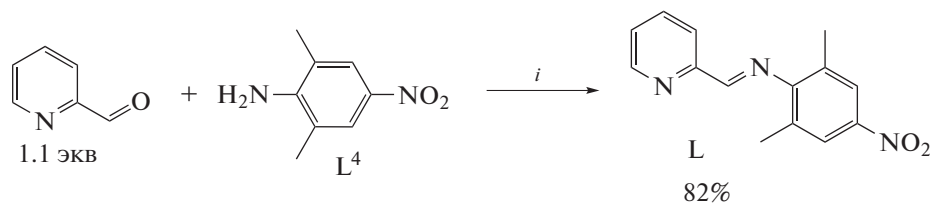


Рис. 1. Общий вид молекулы соединения L^4 , по данным РСА, в тепловых эллипсоидах 30%-ной вероятности.

Прекурсор-лиганд L^4 кристаллизуется в centrosymметричной пространственной группе моноклинной сингонии (рис. 1). Нитрогруппа развернута под небольшим углом к плоскости ароматического цикла, торсионные углы $O(2)N(2)C(4)C(3)$ $3.8(5)^\circ$, $O(1)N(2)C(4)C(5)$ $2.8(5)^\circ$. В кристалле молекулы связаны в бесконечные двумерные сети за счет межмолекулярных водородных связей $N(1) \cdots$

$H(1A) \cdots O(2)$ $(-1/2 + x, 1/2 - y, -1/2 + z)$ и $N(1) \cdots H(1B) \cdots O(1)$ $(1/2 + x, 1/2 - y, -1/2 + z)$.

Методом азеотропной отгонкой воды впервые получено основание Шиффа: 2,6-диметил-4-нитро-N-((пиридин-2-ил)метил)анилин (L) из пиридин-2-карбальдегида (схема 3). Контроль над протеканием реакции осуществлялся методом ТСХ. Структура основания L доказана методом РСА (рис. 2).



i : толуол, кипячение с насадкой Дина–Старка, 10 мол. % n -толуолсульфокислота моногидрат, 12 ч.

Схема 3.

По данным РСА, двойная связь $C(9)=N(2)$ в соединении L имеет конфигурацию E (рис. 2). Нитрогруппа, как и в исходном амине, развер-

нута под небольшим углом к плоскости ароматического цикла, торсионные углы $O(1)N(3)C(4)C(5)$ $5.7(2)^\circ$, $O(2)N(3)C(4)C(3)$

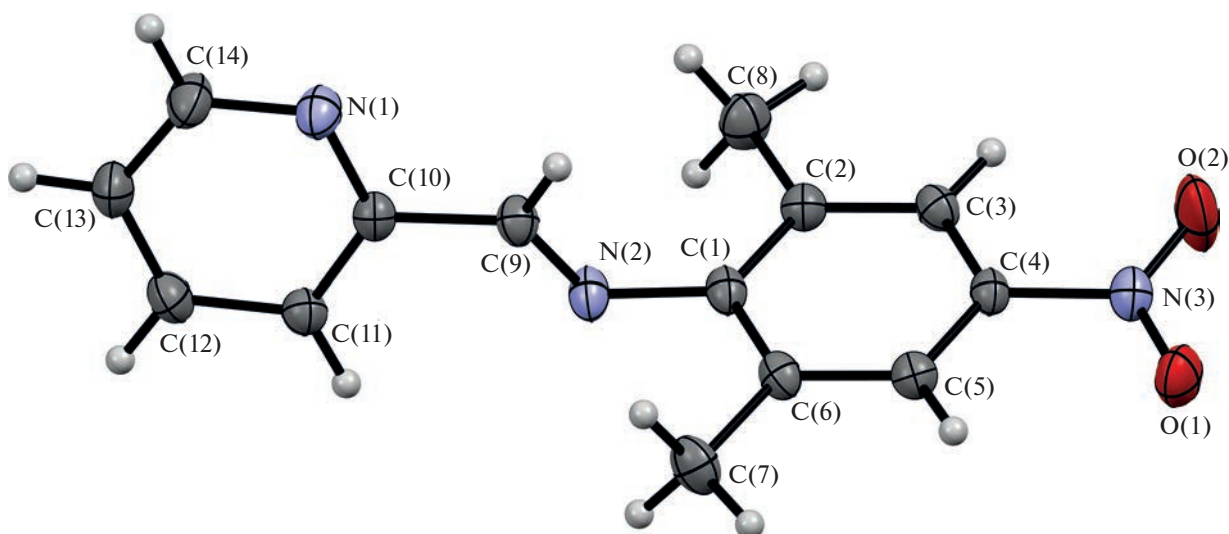
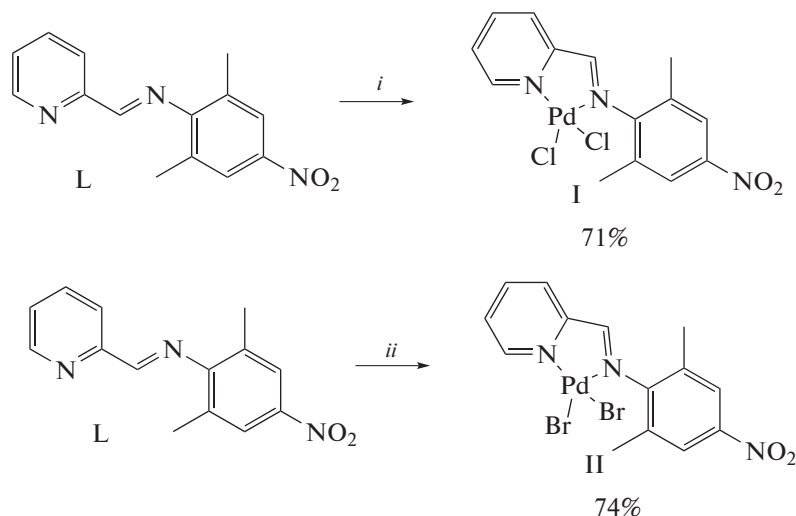


Рис. 2. Общий вид молекулы соединения L, по данным PCA, в тепловых эллипсоидах 30%-ной вероятности.

6.8(2)°. Угол между плоскостью C(9)N(2)C(1) иминофрагмента и плоскостями арильного и пиридинового циклов 88.1° и 15.8° соответственно.

Из основания Шиффа L впервые получен хлоридный пиридиниминовый комплекс палладия(II): [PdLCl₂] (I) и бромидный пиридиниминовый комплекс палладия(II): [PdLBr₂] (II) (схема 4).



i: 1 экв. PdCl₂, CH₃CN, кипячение, 2 ч;

ii: 1 экв. PdCl₂, 4 экв. [n-Bu₄N]Br, CH₃CN, кипячение, 2 ч.

Схема 4.

Структуры комплексов I и II подтверждены методом PCA (рис. 3 и 4).

Комплекс I кристаллизуется в centrosymmetric пространственной группе моноклинной сингонии (рис. 3). Атом палладия имеет несколько искаженное плоско-квадратное окружение. Длины связей Pd–N (2.02–2.03 Å) и Pd–Cl (2.27–2.28 Å) принимают характерные для подобных комплексов значения [56–58]. Атом палладия от-

клонен от плоскости остальных четырех атомов палладацикла на 0.25 Å. Объемный арильный заместитель развернут под большим углом к плоскости N(1)C(5)C(6)N(2): диэдральный угол 72°.

Комплекс II является изоморфом комплекса I. Различия в длинах ребер лежат в пределах 0.04–0.25 Å (табл. 1). Объем элементарной ячейки бромсодержащего комплекса II (1598.7(5) Å³) больше, чем хлорсодержащего I (1536.2(4) Å³). Комплекс

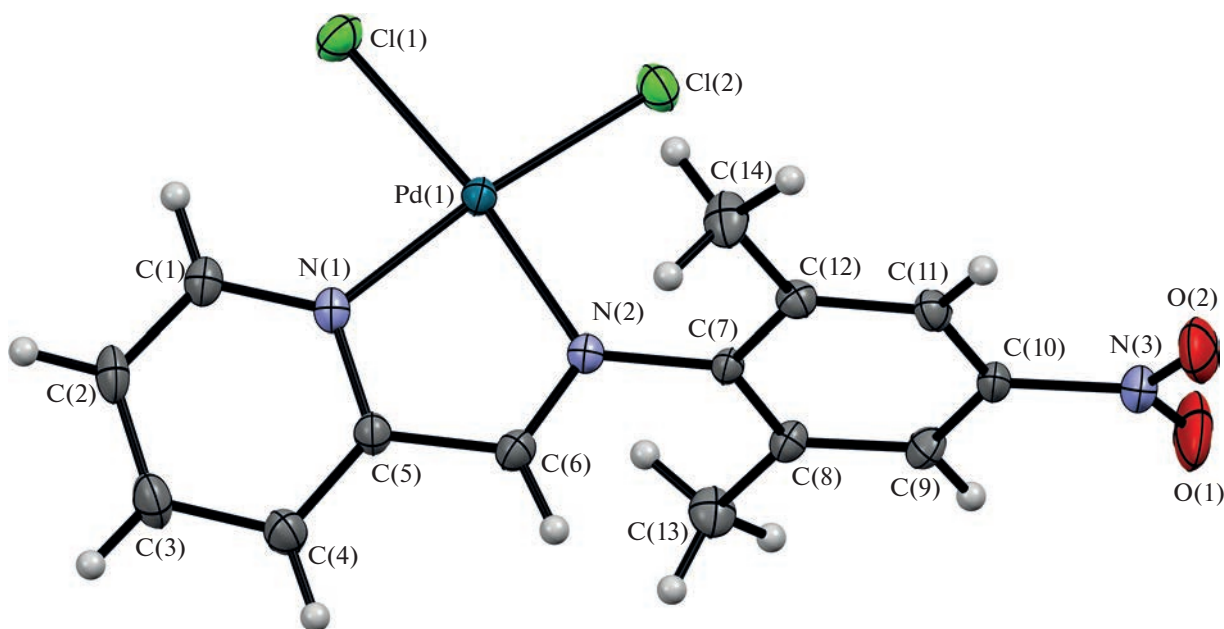


Рис. 3. Общий вид молекулы соединения I, по данным PCA, в тепловых эллипсоидах 30%-ной вероятности.

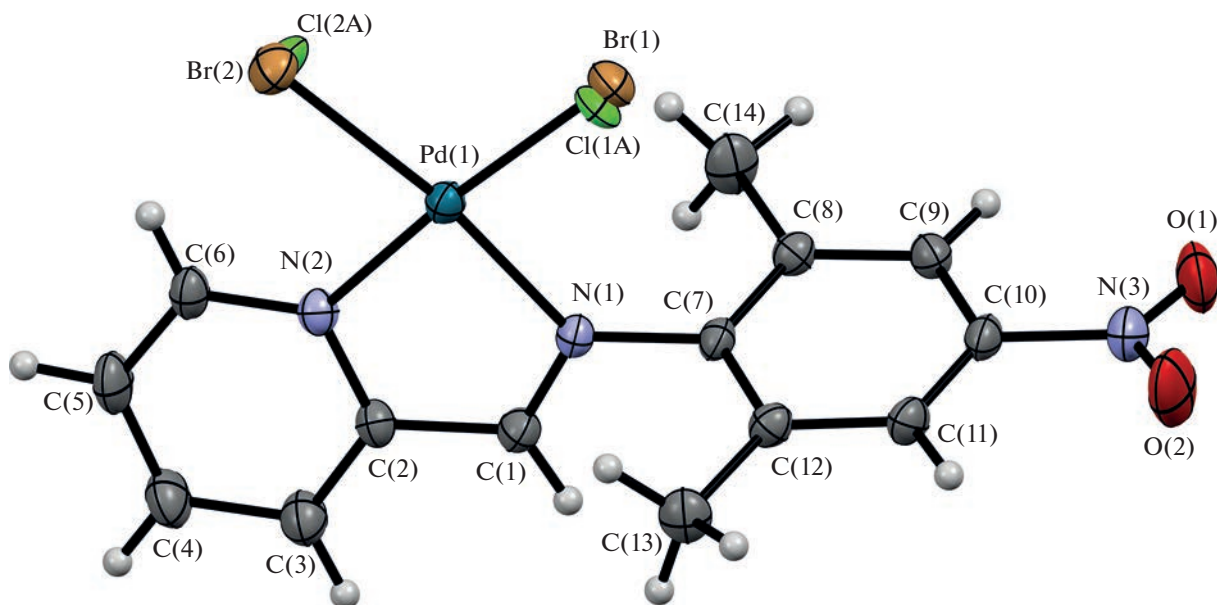


Рис. 4. Общий вид молекулы соединения II, по данным PCA, в тепловых эллипсоидах 30%-ной вероятности.

II содержит смесь атомов брома и хлора в соотношении 1.11 : 0.89, полученном в результате уточнения структуры с учетом разупорядочения. Комплексы II и I в целом имеют близкую геометрию.

На примере комплекса I исследована растворимость и стабильность. Растворимость при 20°C в воде и октаноле-1 меньше 1 ммоль л⁻¹, а в ДМСО около 9 ммоль л⁻¹. Кипячение в воде приводит к разложению с образованием палладиевого зеркала. Нагревание в октаноле-1 при 65°C приводит к разложению с образованием паллади-

евой черни. Хранение раствора в октаноле-1 в течение месяца при комнатной температуре также приводит к разложению с образованием палладиевой черни. Кипячение в ДМСО не приводит к видимому разложению. Дополнительно устойчивость к ДМСО подтверждена методом ЯМР: выдерживание раствора в ДМСО-d₆ в течение 3 сут при 37°C не приводит к изменениям в спектре ЯМР ¹H, записанном при температуре 50°C и концентрации 100 ммоль л⁻¹. Дополнительно проверена устойчивость комплекса Pd в растворе PBS, в ре-

результате исследования не наблюдалось образования палладиевой черни и $\text{Pd}_3(\text{PO}_4)_2$. Выдерживание 0.1 М раствора в PBS при 37°C в течение 30 мин не привело к изменению УФ-спектра ($\lambda_{\text{max}} = 230$ нм, $\lg \epsilon = 4.1$), что подтверждает устойчивость комплекса в условиях исследования ингибирующей активности MAO.

На примере комплекса I исследована липофильность в системе октанол-1–вода. $\text{Lg}P = 2.08 \pm 0.13$, что близко к значению липофильности разагелина 2.01 [59], вероятно, комплекс способен преодолевать ГЭБ и взаимодействовать с каталитическим сайтом MAO. Также проведено моделирование липофильности программой SwissADME ($\text{Lg}P = 2.11$). Соединения L, I и II показали отсутствие цитотоксической активности ($\text{IC}_{50} \geq 100$ мкМ) в отношении клеток линии HEK-293.

Лиганд L и комплексы I и II исследованы в гомогенате головного мозга (ГМ) мышей. Фермент

MAO представлен в мозге в виде двух изоформ: MAO-A и MAO-B в соотношении 20/80% [39]. Активность фермента MAO-A была подавлена хлоргилином в концентрации 250 нМ на лунку. Остаточную активность MAO в ГМ считали активностью MAO-B. В качестве положительного контроля использованы ингибиторы разагелин и селегелин [60]. Ранее опубликованные комплексы III–VI [43], показавшие наибольшую неселективную активность в отношении MAO, а также комплексы VII–IX [61], полученные из катехоламинов (субстратов MAO), впервые протестированы на селективную ингибирующую активность MAO-B (схема 5). В табл. 2 приведены значения 50%-ной ингибирующей концентрации (IC_{50}) остаточной активности MAO-B в присутствии соединений L, I–IX или препаратов сравнения – селегилина и разагелина.

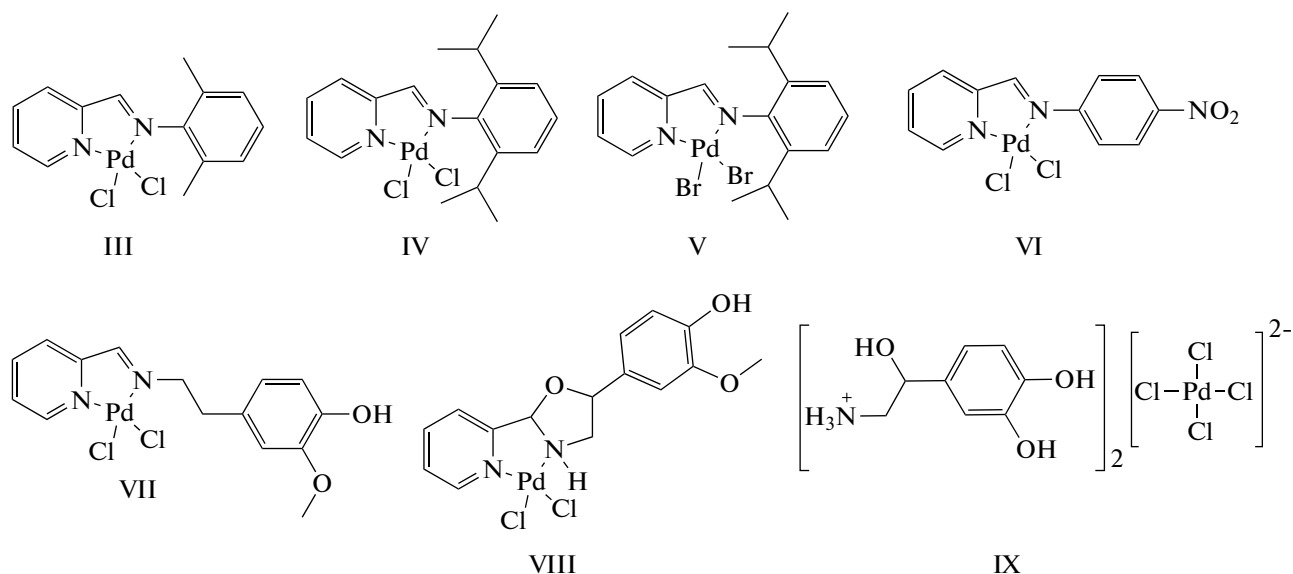


Схема 5.

При анализе структура/активность в ряду синтезированных комплексов Pd(II) показаны следующие закономерности:

1) Введение нитрогруппы в *пара*-положение бензольного кольца способствует подавлению MAO-B ингибирующей активности комплекса I при сравнении с комплексом III.

2) Повышение размеров заместителя в *орто*-положении бензольного кольца при сравнении комплексов I с VI и III с IV ухудшает ингибирующую активность MAO-B.

3) Замена хлоридов на бромиды повышает MAO-B-ингибирующую активность комплекса V при сравнении с комплексом IV.

Выявленные закономерности будут в дальнейшем использованы при синтезе комплексов

Pd(II) и определении механизма действия в отношении ингибирующей активности MAO-B. Также необходимо исследовать степень ингибирования MAO-A и MAO-B на чистых ферментах в условиях *in vitro*, установить влияние на биосинтез ГАМК в астроцитах и оценить цитотоксическую активность комплексов Pd(II) на предшественниках нейронов и астроцитах.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена с использованием оборудования Центра коллективного пользования “Исследования материалов и веществ” ПФИЦ УрО РАН. Авторы выражают благодарность сотрудникам ПФИЦ УрО РАН:

Таблица 2. Ингибирующая активность МАО-Б лиганда L, комплексов I–IX, селегилина и разагилина, испытанная на головном мозге мыши

Соединение	Концентрация IC ₅₀ , мкМ
L	>100
I	>100
II	>100
III	19.47 ± 2.35
IV	56.34 ± 2.13
V	12.69 ± 2.35
VI	30.60 ± 4.24
VII	98.84 ± 5.63
VIII	>100
IX	>100
Селегилин	8.31 ± 1.79
Разагилин	3.86 ± 0.51

О.А. Майоровой — за регистрацию спектров ЯМР, И.А. Борисовой — за регистрацию ИК-спектров, А.А. Горбунову — за ГХ-МС, А.О. Ворониной и О.Н. Гагарских — за МТТ-тест, а также М.В. Дмитриевой (ПГНИУ) — за РСА.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований и Министерства науки и образования Пермского края (научный проект № 19-43-590003).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Ndagi U., Mhlango N., Soliman M.E.* // Drug Des. Dev. Ther. 2017. V. 11. P. 599.
<https://doi.org/10.2147/DDDT.S119488>
2. *Kotieva I.M., Dodokhova M.A., Safronenko A.V. et al.* // J. Clin. Oncol. 2022. V. 40. № 16. Art. e15080.
https://doi.org/10.1200/JCO.2022.40.16_suppl.e15080
3. *Yambulatov D.S., Lutsenko I.A., Nikolaevskii S.A. et al.* // Molecules. 2022. V. 27. № 23. P. 8565.
<https://doi.org/10.3390/molecules27238565>
4. *Czarnomysy R., Radomska D., Szewczyk O.K. et al.* // Int. J. Mol. Sci. 2021. V. 22. № 15. P. 8271.
<https://doi.org/10.3390/ijms22158271>
5. *Abu-Surrah A.S., Kettunen M.* // Curr. Med. Chem. 2006. V. 13. № 11. P. 1337.
6. *Sharma N.K., Ameta R.K., Singh M.* // Biochem. Res. Int. 2016. V. 2016. Art. 4359375.
<https://doi.org/10.1155/2016/4359375>
7. *Scattolin Th., Voshkin V.A., Visentin F., Nolan S.P.* // Cell Rep. Phys. Sci. 2021. V. 2. Art. 100446.
<https://doi.org/10.1016/j.xcrp.2021.100446>
8. *Боярский В.П., Мухердов А.С., Байков С.В. и др.* // Хим.-фарм. журн. 2021. Т. 55. № 2. С. 20 (*Boyariskii V.P., Mikherdov A.S., Baikov S.V. et al.* // Pharm. Chem. J. 2021. V. 55. № 2. P. 130).
<https://doi.org/10.1007/s11094-021-02393-1>
9. *Батыренко А.А., Миколайчук О.В., Овсепян Г.К. и др.* // Журн. общ. химии. 2021. Т. 91. № 4. С. 590 (*Batyrenko A.A., Mikolaichuk O.V., Ovsepyan G.K. et al.* // Russ. J. Gen. Chem. 2021. V. 91. № 4. P. 666).
<https://doi.org/10.1134/S1070363221040149>
10. *Zalevskaya O.A., Gur'eva Y.A., Kutchin A.V.* // Inorg. Chim. Acta. 2021. V. 527. P. 120593.
<https://doi.org/10.1016/j.ica.2021.120593>
11. *Ибатуллина М.Р., Жильцова Е.П., Кулик Н.В. и др.* // Изв. АН. Сер. хим. 2022. № 2. С. 314 (*Ibatullina M.R., Zhil'tsova E.P., Kulik N.V. et al.* // Russ. Chem. Bull. 2022. V. 71. № 2. P. 314).
<https://doi.org/10.1007/s11172-022-3413-6>
12. *Денисов М.С., Глушков В.А.* // Вест. Перм. ун-та. Сер. Химия. 2018. Т. 8. № 4. С. 388 (*Denisov M.S., Glushkov V.A.* // Bulletin of Perm University. Chemistry. 2018. V. 8. № 4. P. 388).
<https://doi.org/10.17072/2223-1838-2018-4-388-411>
13. *Egorova K.S., Galushko A.S., Ananikov V.P.* // Angew. Chem. Int. Ed. 2020. V. 59. P. 22296.
<https://doi.org/10.1002/anie.20200308>
14. *Денисов М.С.* // Вест. ПФИЦ. 2021. №. 4. С. 6 (*Denisov M.S.* // Perm. Federal Res. Center J. 2021. № 4. P. 6).
<https://doi.org/10.7242/2658-705X/2021.4.1>
15. *Patra M., Gasse G.* // ChemBioChem. 2012. V. 13. № 9. P. 1232.
<https://doi.org/10.1002/cbic.201200159>
16. *Özbek N., Alyar S., Memmi B.K. et al.* // J. Mol. Struct. 2017. V. 1127. P. 437.
<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2016.07.122>
17. *Ahmed M., Khan Sh.Z., Sher N. et al.* // J. Venomous Anim. Toxins Incl. Trop. Dis. 2021. V. 27. Art. e20200047.
<https://doi.org/10.1590/1678-9199-JVATITD-2020-0047>
18. *Bal S., Demirci Ö., Şen B. et al.* // Polyhedron. 2021. V. 198. P. 115060.
<https://doi.org/10.1016/j.poly.2021.115060>
19. *Şahin Ö., Özdemir Ü.Ö., Seferoğlu N. et al.* // J. Biomol. Struct. Dyn. 2021. P. 4460.
<https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1858163>

20. *García-García A., Rojas S., Rivas-García L. et al.* // Chem. Commun. 2022. V. 58. P. 1514.
<https://doi.org/10.1039/D1CC04404D>
21. *Karataş M.O., Çalgın G., Alici B. et al.* // Appl. Organomet. Chem. 2019. V. 33. № 10. Art. e5130.
<https://doi.org/10.1002/aoc.5130>
22. *Asma M., Badshah A., Ali S. et al.* // Transition Met. Chem. 2006. V. 31. P. 556.
<https://doi.org/10.1007/s11243-006-0027-z>
23. *Lassig J.P., Shultz M.D., Gooch M.G. et al.* // Arch. Biochem. Biophys. 1995. V. 322. № 1. P. 119.
<https://doi.org/10.1006/abbi.1995.1443>
24. *Vieites M., Smircich P., Parajón-Costa B. et al.* // J. Biol. Inorg. Chem. 2008. V. 13. № 5. P. 723. № 10. P. 1839.
<https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2008.05.010>
25. *Fricker S.P., Mosi R.M., Cameron B.R. et al.* // J. Inorg. Biochem. 2008. V. 102. Iss. 10. P. 1839.
<https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2008.05.010>
26. *Carneiro Z.A., Lima J.C., Lopes C.D. et al.* // Eur. J. Med. Chem. 2019. V. 180. № 15. P. 213.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.07.014>
27. *Gama N.H., Elkhadir A.Y.F., Gordhan B.G. et al.* // Bio-metals. 2016. V. 29. P. 637.
<https://doi.org/10.1007/s10534-016-9940-6>
28. *Chen Ch., Sun L.-Yu., Gao H. et al.* // ACS Infect. Dis. 2020. V. 6. № 5. P. 975.
<https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.9b00385>
29. *Mital R., Shah G.M., Srivastava T.S., Bhattacharya R.K.* // Life Sci. 1992. V. 50. № 11. P. 781.
[https://doi.org/10.1016/0024-3205\(92\)90183-P](https://doi.org/10.1016/0024-3205(92)90183-P)
30. *Petrović Z.D., Hadjipavlou-Litina D., Pontiki E. et al.* // Bioorg. Chem. 2009. V. 37. № 5. P. 162.
<https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2009.07.003>
31. *Hegazy W.H., Al-Faiyz Ya.S.* // Med. Chem. Res. 2014. V. 23. № 1. P. 518.
<https://doi.org/10.1007/s00044-013-0661-x>
32. *Lima M.A., Costa V.A., Franco M.A. et al.* // Inorg. Chem. Commun. 2020. V. 112. P. 107708.
<https://doi.org/10.1016/j.inoche.2019.107708>
33. *Krinulović K., Bugarčić Ž., Vrvic M. et al.* // Toxicol. In Vitro. 2006. V. 20. № 8. P. 1292.
<https://doi.org/10.1016/j.tiv.2006.03.002>
34. *Tatyanenko L.V., Kotelnikova R.A., Zakharova I.A., Moshkovskii Yu.Sh.* // Inorg. Chim. Acta. 1981. V. 56. P. 89.
35. *Parrilha G.L., Ferraz K.S.O., Lessa J.A. et al.* // Eur. J. Med. Chem. 2014. V. 84. № 12. P. 537.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.07.055>
36. *Türkan F., Huyut Z., Atalar M.N.* // J. Biochem. Mol. Toxicol. 2018. V. 32. № 10. Art. e22205.
<https://doi.org/10.1002/jbt.22205>
37. *Edmondson D.E., Binda C., Mattevi A.* // Arch. Biochem. Biophys. 2007. V. 464. P. 269.
<https://doi.org/10.1016/j.abb.2007.05.006>
38. Pharmaceutical Chemistry / Ed. Watson D.R. Glasgow (UK): Elsevier Ltd., 2011. 641 p.
39. *Hong R., Li X.* // MedChemComm. 2019. V. 10. P. 10.
<https://doi.org/10.1039/c8md00446c>
40. *Татьяненко Л.В., Соколова Н.В., Мошковский Ю.Ш.* // Вопросы медицинской химии. 1982. Т. 28. С. 126 (*Tat'yanenko L.V., Sokolova N.V., Moshkovsky Y.S.* // Vopr. Med. Khim. 1982. V. 28. P. 126).
41. *Albert J., Cadena J.M., González A. et al.* // Chem. Commun. 2003. V. 41. № 4. P. 528.
<https://doi.org/10.1039/B211808D>
42. *Cho H.-U., Kim S., Sim J. et al.* // Exp. Mol. Med. 2021. V. 53. P. 1148.
<https://doi.org/10.1038/s12276-021-00646-3>
43. *Денисов М.С., Гагарских О.Н., Утушкина Т.А.* // Вест. Перм. ун-та. Сер. Химия. 2021. Т. 11. № 1. С. 30 (*Denisov M.S., Gagarских O.N., Utushkina T.A.* // Bulletin of Perm University. Chemistry. 2021. V. 11. № 1. P. 30).
<https://doi.org/10.17072/2223-1838-2021-1-30-58>
44. *Денисов М.С., Дмитриев М.В., Ерошенко Д.В. и др.* // Журн. неорган. химии. 2019. Т. 64. № 1. С. 38 (*Denisov M.S., Dmitriev M.V., Eroshenko D.V. et al.* // Russ. J. Inorg. Chem. 2019. V. 64. № 1. P. 56).
<https://doi.org/10.1134/S0036023619010054>
45. *Yang D.-d., Wang R., Zhu J.-l. et al.* // J. Mol. Struct. 2017. V. 1128. № 15. P. 493.
<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2016.08.037>
46. *Hao Ch., Huang W., Li X. et al.* // Eur. J. Med. Chem. 2017. V. 131. P. 1.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.02.063>
47. CrysAlisPro. Agilent Technologies. Version 1.171.37.33 (release 27-03-2014 CrysAlis171.NET).
48. *Sheldrick G.M.* // Acta Crystallogr. A. 2008. V. 64. P. 112.
<https://doi.org/10.1107/S0108767307043930>
49. *Sheldrick G.M.* // Acta Crystallogr. C. 2015. V. 71. P. 3.
<https://doi.org/10.1107/S2053229614024218>
50. *Dolomanov O.V., Bourhis L.J., Gildea R.J. et al.* // J. Appl. Crystallogr. 2009. V. 42. P. 339.
<https://doi.org/10.1107/S0021889808042726>
51. *Gonçalves B.M.F., Salvador J.A.R., Marín S., Cascante M.* // Eur. J. Med. Chem. 2016. V. 114. P. 101.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.02.057>
52. *Thull U., Testa B.* // Biochem. Pharmacol. 1994. V. 47. № 22. P. 2307.
[https://doi.org/10.1016/0006-2952\(94\)90271-2](https://doi.org/10.1016/0006-2952(94)90271-2)
53. *Andrade J.M.M., Passos C.d.S., Dresch R.R. et al.* // Pharmacogn. Mag. 2014. V. 10. № 37. P. 100.
<https://doi.org/10.4103/0973-1296.127354>
54. *Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J.* // J. Biol. Chem. 1951. V. 193. № 1. P. 265.
55. *O'Donnell A.D., Gavriel A.G., Christie W. et al.* // Arkivoc. 2021. Pt. VI. P. 222.
<https://doi.org/10.24820/ark.5550190.p011.581>
56. *Park S., Lee J., Jeong J.H. et al.* // Polyhedron. 2018. V. 151. № 1. P. 82.
<https://doi.org/10.1016/j.poly.2018.05.031>
57. *Motswainyana W.M., Onani M.O., Jacobs J., Meervelt L.V.* // Acta Crystallogr. C. 2012. V. 68. P. 356.
<https://doi.org/10.1107/S0108270112045970>
58. *Laine T.V., Klinga M., Leskelä M.* // Eur. J. Inorg. Chem. 1999. V. 1999. № 6. P. 959.
[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-0682\(199906\)1999:6<959::AID-EJIC959>3.0.CO;2-Z](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-0682(199906)1999:6<959::AID-EJIC959>3.0.CO;2-Z)
59. *Delogu G.L., Pintus F., Mayán L. et al.* // MedChemComm. 2017. V. 8. P. 1788.
<https://doi.org/10.1039/C7MD00311K>
60. *Finberg J.P.M., Rabey J.M.* // Front. Pharmacol. 2016. V. 18. № 7. P. 340.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2016.00340>
61. *Денисов М.С., Гагарских О.Н.* // Журн. общ. химии. 2021. Т. 91. № 7. С. 1092 (*Denisov M.S., Gagarских O.N.* // Russ. J. Gen. Chem. 2021. V. 91. № 7. P. 1354).
<https://doi.org/10.1134/S1070363221070136>

УДК 546.591:547.305.1:544.653:577.115:615.281.9

ТРИФЕНИЛФОСФИНТИОЛАТНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ЗОЛОТА(I) С РЕДОКС-AКТИВНЫМИ ОСНОВАНИЯМИ ШИФФА: СИНТЕЗ, ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ

© 2023 г. И. В. Смолянинов^{1, *}, Д. А. Бурмистрова¹, Н. П. Поморцева¹, М. А. Половинкина²,
О. П. Демидов³, Н. Р. Альмяшева⁴, А. И. Поддельский⁵, Н. Т. Берберова¹

¹Астраханский государственный технический университет, Астрахань, Россия

²Федеральный исследовательский центр Южный научный центр РАН, Ростов-на-Дону, Россия

³Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь, Россия

⁴Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе, Москва, Россия

⁵Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева РАН, Н. Новгород, Россия

*e-mail: ivsmolyaninov@gmail.com

Поступила в редакцию 13.02.2023 г.

После доработки 15.03.2023 г.

Принята к публикации 16.03.2023 г.

Синтезированы и охарактеризованы новые фосфинтиолатные комплексы золота(I) $[(Ph_3P)Au(SL^n)]$ I–V с основаниями Шиффа L^nSH , содержащими редокс-активные пирокатехиновый, фенольный или хинометидный фрагменты. Молекулярное строение соединения I в кристаллическом виде установлено методом РСА (CCDC № 2237815). Методом циклической вольтамперометрии исследованы электрохимические свойства соединений I–V, предложен механизм их электроокисления, включающий разрыв связи Au–S и формирование дисульфида, а также окисление редокс-активной группы в лиганде. В катодной области для I–III характерно генерирование относительно устойчивых моноанионных форм. Исследования антирадикальных свойств комплексов в реакциях с синтетическими радикалами, в SUPRAC-тесте показали снижение активности по сравнению со свободными лигандами. Соединения I, II, IV и V не оказывают выраженного эффекта на промотированное повреждение молекул ДНК, однако в ходе реакции неферментативного пероксидного окисления липидов гомогената печени крыс для них наблюдается антиоксидантное действие. Слабая антибактериальная активность отмечается для I–V по отношению к рассмотренным штаммам *Staphylococcus aureus*. Для комплексов золота(I) исследована цитотоксичность на линиях раковых клеток A-549, MCF-7, HTC-116 с применением МТТ-теста. Изученным соединениям свойственна большая избирательность к определенным типам клеток, чем для серосодержащих оснований Шиффа. Присутствие хинометидного фрагмента в структуре лиганда для V способствует значительному повышению его цитотоксичности по отношению ко всем рассмотренным клеточным линиям.

Ключевые слова: тиолатные комплексы золота(I), редокс-активные основания Шиффа, рентгеноструктурный анализ, циклическая вольтамперометрия, антиоксидантная активность, цитотоксичность

DOI: 10.31857/S0132344X23600121, **EDN:** WBPETP

Координационные соединения золота(I/III) привлекают внимание исследователей ввиду проявления каталитических свойств, люминесценции, разнообразной биологической активности, а также широких возможностей для применения в химии материалов [1]. Наряду с комплексами платины(II), применяемыми при терапии онкологических заболеваний, и препаратами сурьмы(III/V), используемыми в качестве противопаразитарных средств, ряд соединений золота(I) относятся к металлсодержащим лекарственным средствам, разрешен-

ным для лечения ревматоидного артрита. По своему строению данные вещества – ауринофин, ауриотиоглюкоза, ауриотиомалат – являются тиолатными комплексами золота(I), которые обладают противовоспалительной и противоопухолевой активностью [2, 3]. В частности, было установлено, что ауринофин и другие соединения золота(I) с биологически активными лигандами проявляют ингибирующее влияние на тиоредоксин редуктазу (TrxR) [4].

Тиоредоксин редуктаза — одна из основных биологических мишеней для соединений золота(I), поскольку ее ингибирование сопровождается генерацией активных форм кислорода (супероксид анион-радикала, пероксида водорода), что ведет к изменению редокс-статуса клеток, нарушению целостности биомакромолекул (белков, липидов, ДНК) и повреждению тканей. В результате подобного действия происходит развитие окислительного стресса и возникновение цитотоксичности. Однако подобный эффект возникает не только в злокачественных, но и в здоровых клетках. Разработке новых металлсодержащих терапевтических агентов препятствует их токсичность и низкая селективность. Одним из решений данной проблемы является использование в качестве лигандов соединений с антиоксидантными группами (пространственно-затрудненный фенол, синтетические аналоги витамина Е, цистеин, ацетилцистеин, глутатион). Рациональный дизайн подобного типа комплексов может способствовать модулированию цитотоксичности, анти/прооксидантной активности и в целом отражаться на уменьшении побочных эффектов [5–7].

Значительное влияние на биоактивность комплексных соединений оказывают основания Шиффа, широко используемые в качестве лигандов в координационной химии. Более изученными объектами являются комплексы Au(III) с основаниями Шиффа, играющими роль потенциальных противоопухолевых агентов, что обусловлено особенностями их строения, хорошей термодинамической стабильностью и липофильностью [8, 9]. Алкильные комплексы Au(I) с основаниями Шиффа, содержащими фенольные группы, характеризуются противораковой активностью *in vitro*, сопоставимой с цисплатином [10]. В то же время имеется ограниченное число тиолатных комплексов золота(I) с основаниями Шиффа [11]. Ранее нами были получены основания Шиффа, сочетающие тиогруппу и редокс-активные фрагменты, способные оказывать влияние на электрохимические свойства и биологическую активность [12]. Координация тиольной группы по атому золота(I) и формирование соответствующих тиолатных комплексов может значительно сказываться на свойствах подобного типа соединений.

Цель настоящей работы — получение новых тиолатных комплексов золота(I), содержащих лиганды с азометиновым линкером, а также фенольным или пирокатахиновым фрагментом, изучение электрохимических свойств, анти/прооксидантной, антибактериальной активности, исследование цитотоксичности по отношению к нескольким линиям раковых клеток *in vitro*.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Коммерческие реактивы [(Ph₃P)AuCl] (Aldrich, 99%), *n*-тетрабутиламмония перхлорат (*n*-Bu₄NClO₄) (Alfa Aesar, 99%), 2,2'-азо-*бис*(2-амидинопропан)дигидрохлорид (ААПГ, Aldrich, 97%), 2,2'-азино-*бис*(3-этилбензотиазолин-6-сульфоновая кислота) (АБТС, ≥98%, TCI), 2-дифенил-1-пикрилгидразильный (ДФПГ) радикал (Aldrich), тиобарбитуровая кислота (≥98%, Sigma-Aldrich), натриевая соль дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) из молок лососевых рыб (Sigma), фосфатный буфер pH 7.4 (Sigma), 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновая кислота (Тролокс, 97%, Aldrich), трихлоруксусная кислота (≥99%, Sigma-Aldrich), 2,9-диметил-1,10-фенантролин (неокупроин) (99%, Aldrich), хлорид меди(II) (97%, Sigma-Aldrich), этилендиаминтетрауксусная кислота (≥99%, Sigma-Aldrich), (3,7-дигидропурин-2,6-дион) (ксантин, ≥99%, Sigma-Aldrich), бычий сывороточный альбумин (≥96%, Sigma-Aldrich), ксантиноксидаза (Sigma-Aldrich, сорт IV), тетразолий синий (90%, Alfa Aesar), модифицированная Дульбекко питательная среда Игла (среда DMEM, ПанЭко, Россия), питательная среда (бульон) Мюллера-Хинтона (среда МНВ, ПанЭко, Россия), L-глутамин (ПанЭко, Россия), эмбриональная телячья сыворотка (Hyclone, Австрия), ципрофлоксацин (AppliChem Biochemica Chemical Synthesis Services, для биохимии), пенициллин (ПанЭко, Россия), стрептомицин (ПанЭко, Россия), бромид 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия (МТТ, ПанЭко, Россия) применялись без дополнительной очистки. Основания Шиффа (LⁿSH) получали по ранее описанной методике [12]. Используемые в работе растворители очищали и обезвоживали по стандартным методикам [13].

Спектры ЯМР ¹H, ¹³C регистрировали на спектрометре Bruker AVANCE HD 400 с частотой 400 МГц (¹H) и 100 МГц (¹³C), внутренний стандарт — тетраметилсилан, растворитель CDCl₃. ИК-спектры регистрировали на Фурье-ИК спектрометре ФСМ 1201 в таблетках KBr. Элементный анализ проводили на анализаторе The Euro EA 3000 (C, H, N). Спектры электронного поглощения регистрировали на спектрофотометре СФ-104 (диапазон 300–600 нм) при комнатной температуре. Измерение электрохимических потенциалов исследуемых соединений проводили методом циклической вольтамперометрии (ЦВА) в трех-электродной ячейке с помощью потенциостата IPC-pro в ацетонитриле, в среде аргона. Рабочий электрод — стационарный стеклоуглеродный (СУ) с диаметром 2 мм, вспомогательный электрод — платиновая пластина (S = 18 мм²). Электрод сравнения (Ag/AgCl/KCl) с водонепроницаемой диафрагмой. Концентрация соединений составляла 0.003 моль/л. Число электронов, переносимых в

ходе электродного процесса оценивали относительно стандарта — ферроцена. Скорость развертки потенциала 0.2 В с^{-1} . Фоновый электролит — $0.1 \text{ М } n\text{-Bu}_4\text{NClO}_4$.

Синтез соединений золота(I) $[(\text{Ph}_3\text{P})\text{Au}(\text{SL}^n)]$ (I–V). К раствору $[(\text{Ph}_3\text{P})\text{AuCl}]$ (0.2 ммоль) в ацетонитриле (3 мл) добавляли 1 экв. основания Шиффа L^nSH (0.2 ммоль) в 2 мл ацетонитрила, раствор деаэрировали аргоном (5 мин), затем вносили 1 экв. триэтиламина. В результате взаимодействия между лигандом и $[(\text{Ph}_3\text{P})\text{AuCl}]$ происходило изменение окраски раствора до оранжево-красной в случае пирокатехинсодержащих оснований Шиффа или ярко-желтой в случае соединений с фрагментом пространственно-затрудненного фенола. Полученный раствор оставляли на 3 сут при комнатной температуре. Образующиеся осадки отфильтровывали, промывали гексаном и высушивали в вакууме.

Комплекс $[(\text{Ph}_3\text{P})\text{Au}(\text{SL}^1)]$ (I). Выход I в виде темно-вишневых кристаллов 0.140 г (86%). ИК (KBr; ν , см^{-1}): 3371, 3051, 2954, 2906, 2870, 1601, 1558, 1540, 1506, 1480, 1465, 1437, 1418, 1395, 1381, 1363, 1297, 1258, 1220, 1190, 1162, 1100.

ЯМР ^1H (400 МГц ; CDCl_3 ; δ , м.д.): 1.43 и 1.49 (оба с., каждый 9H, 2*t*-Bu), 6.49 (с., 1H, OH), 6.75 (с., 1H, C_6H_1), 7.08 (д., $^3J(\text{H},\text{H}) = 8.5 \text{ Гц}$, 2H, аром. C_6H_4), 7.43–7.61 (м., 16H, 15H, аром. C_6H_5 , +1H, OH), 7.66 (д., $^3J(\text{H},\text{H}) = 8.5 \text{ Гц}$, 2H, аром. C_6H_4), 9.30 (с., 1H, $\text{CH}=\text{N}$).

ЯМР ^{13}C (100 МГц ; CDCl_3 ; δ , м.д.): 29.16, 33.27, 35.16, 35.58, 112.40, 113.36, 120.28, 129.04, 129.18, 129.29, 129.61, 131.74, 131.77, 133.49, 134.09, 134.23, 136.36, 140.03, 141.44, 141.71, 142.54, 156.08, 158.82.

Найдено, %: C 57.50; H 5.21; N 1.69.

Для $\text{C}_{39}\text{H}_{41}\text{NO}_2\text{SPAu}$

вычислено, %: C 57.42; H 5.07; N 1.72.

Комплекс $[(\text{Ph}_3\text{P})\text{Au}(\text{SL}^2)]$ (II). Выход II в виде красно-кирпичного порошка 0.080 г (49%). ИК (KBr; ν , см^{-1}): 3503, 3478, 3060, 2954, 2909, 2867, 1604, 1576, 1552, 1480, 1465, 1435, 1400, 1387, 1364, 1244, 1222, 1162, 1131, 1100. ЯМР ^1H (400 МГц ; CDCl_3 ; δ , м.д.): 1.40 и 1.46 (оба с., каждый 9H, 2*t*-Bu), 6.65 (с., 1H, аром. C_6H_1), 6.83 (уш.с., 1H, OH), 7.04 (т.д., $^3J(\text{H},\text{H}) = 7.4 \text{ Гц}$, $^4J(\text{H},\text{H}) = 1.6 \text{ Гц}$, 1H, аром. C_6H_4), 7.12 (т.д., $^3J(\text{H},\text{H}) = 7.4 \text{ Гц}$, $^4J(\text{H},\text{H}) = 1.6 \text{ Гц}$, 1H, аром. C_6H_4), 7.16 (д.д., $^3J(\text{H},\text{H}) = 7.6 \text{ Гц}$, $^4J(\text{H},\text{H}) = 1.6 \text{ Гц}$, 1H, аром. C_6H_4), 7.35–7.52 (м., 15H, аром. C_6H_5), 7.90 (д., $^3J(\text{H},\text{H}) = 7.6 \text{ Гц}$, 1H, аром. C_6H_4), 9.26 (д., $J(\text{H},\text{H}) = 5.6 \text{ Гц}$, 1H, $\text{CH}=\text{N}$). ^{13}C ЯМР (CDCl_3 , 100 МГц , м.д.): 29.17, 33.30, 35.05, 35.54, 111.73, 112.71, 117.42, 125.83, 129.08,

129.19, 129.64, 131.58, 131.60, 134.09, 134.23, 136.06, 139.61, 143.53, 144.97, 157.33, 161.21.

Найдено, %: C 57.48; H 5.26; N 1.75.

Для $\text{C}_{39}\text{H}_{41}\text{NO}_2\text{SPAu}$

вычислено, %: C 57.42; H 5.07; N 1.72.

Комплекс $[(\text{Ph}_3\text{P})\text{Au}(\text{SL}^3)]$ (III). Выход III в виде ярко-красного порошка 0.081 г (46%). ИК (KBr; ν , см^{-1}): 3507, 3302, 3054, 2962, 2909, 2874, 1597, 1588, 1547, 1479, 1436, 1403, 1383, 1323, 1256, 1218, 1162, 1128, 1101. ЯМР ^1H (400 МГц ; CDCl_3 ; δ , м.д.): 1.42 (с., 9H, *t*-Bu), 1.48 (с., 9H, *t*-Bu), 6.46 (с., 1H, OH), 6.76 (с., 1H, аром. C_6H_1), 7.25 (д., $^3J(\text{H},\text{H}) = 7.9 \text{ Гц}$, 1H, аром. C_6H_3), 7.27 (с., 1H, аром. C_6H_3), 7.40–7.55 (м., 15H, Ph), 8.01 (д., $^3J(\text{H},\text{H}) = 7.9 \text{ Гц}$, 1H, аром. C_6H_3), 9.32 (д., $^3J(\text{H},\text{H}) = 2.3 \text{ Гц}$, 1H, $\text{CH}=\text{N}$), 15.90 (д., $^3J(\text{H},\text{H}) = 2.3 \text{ Гц}$, 1H, NH^+). ЯМР ^{13}C (100 МГц ; CDCl_3 ; δ , м.д.): 29.14, 33.35, 35.19, 35.60, 112.71, 113.61, 114.56 (кв., $^2J(\text{C},\text{F}) = 4.0 \text{ Гц}$), 121.85, 126.92 (кв., $^1J(\text{C},\text{F}) = 32.3 \text{ Гц}$), 128.84, 129.22 (д., $^4J(\text{C},\text{P}) = 11.4 \text{ Гц}$), 129.41, 131.75 (д., $^5J(\text{C},\text{P}) = 2.3 \text{ Гц}$), 134.12 (д., $^3J(\text{C},\text{P}) = 13.6 \text{ Гц}$), 135.57, 136.58, 140.34, 142.47, 142.76, 146.94, 156.51, 160.21.

Найдено, %: C 54.43; H 4.67; N 1.56.

Для $\text{C}_{40}\text{H}_{40}\text{NO}_2\text{F}_3\text{SPAu}$

вычислено, %: C 54.36; H 4.56; N 1.58.

Комплекс $[(\text{Ph}_3\text{P})\text{Au}(\text{SL}^4)]$ (IV). Выход IV в виде желтого мелкокристаллического порошка 0.120 г (75%). ИК (KBr; ν , см^{-1}): 3057, 2957, 2907, 2864, 1594, 1574, 1552, 1480, 1463, 1437, 1393, 1358, 1269, 1250, 1196, 1170, 1104. ЯМР ^1H (400 МГц ; CDCl_3 ; δ , м.д.): 1.33 и 1.47 (оба с., каждый 9H, 2*t*-Bu), 7.10 (д., 2H, $^3J(\text{H},\text{H}) = 8.5 \text{ Гц}$, аром. C_6H_4), 7.19 (д., $^4J(\text{H},\text{H}) = 2.2 \text{ Гц}$, 1H, аром. C_6H_2), 7.42 (д., $^4J(\text{H},\text{H}) = 2.2 \text{ Гц}$, 1H, аром. C_6H_2), 7.45–7.60 (м., 15 H, аром. C_6H_5), 7.63 (д., $^3J(\text{H},\text{H}) = 8.4 \text{ Гц}$, 2 H, аром. C_6H_4), 8.62 (с., 1H, $\text{CH}=\text{N}$), 13.94 (с., 1H, OH). ЯМР ^{13}C (100 МГц ; CDCl_3 ; δ , м.д.): 29.40, 31.46, 34.14, 35.03, 118.44, 120.87, 126.48, 127.42, 129.09, 129.17, 129.28, 129.65, 131.71, 131.74, 133.23, 134.11, 134.25, 136.73, 140.31, 140.63, 144.30, 158.11, 161.41.

Найдено, %: C 58.64; H 5.31; N 1.72.

Для $\text{C}_{39}\text{H}_{40}\text{NOSPAu}$

вычислено, %: C 58.57; H 5.17; N 1.75.

Комплекс $[(\text{Ph}_3\text{P})\text{Au}(\text{SL}^5)]$ (V). Выход V в виде ярко-желтого мелкокристаллического порошка 0.105 г (66%). ИК (KBr; ν , см^{-1}): 3287, 3054, 2997, 2951, 2915, 2861, 1620, 1576, 1558, 1507, 1480, 1448,

Таблица 1. Кристаллографические данные и параметры рентгеноструктурных экспериментов для комплекса I

Параметр	Значение
Брутто-формула	$C_{39}H_{41}AuNO_2PS$
<i>M</i>	815.72
<i>T</i> , К	293
Кристаллическая система	Триклинная
Пр. группа	$P\bar{1}$
<i>a</i> , Å	8.93560(10)
<i>b</i> , Å	14.6351(2)
<i>c</i> , Å	15.3504(2)
α , град	106.9570(10)
β , град	104.1710(10)
γ , град	101.2430(10)
<i>V</i> , Å ³	1783.27(4)
<i>Z</i>	2
ρ (выч.), мг/м ³	1.519
μ , мм ⁻¹	4.262
θ , град	$6.32 \leq 2\theta \leq 68.674$
Количество измеренных/независимых отражений	144244/14895
Количество независимых отражений с $I > 2\sigma(I)$	12378
<i>R</i> _{int}	0.0556
GOOF	1.076
<i>R</i> ₁ , <i>wR</i> ₂ ($I > 2\sigma(I)$)	0.0368, 0.0817
<i>R</i> ₁ , <i>wR</i> ₂ (по всем параметрам)	0.0502, 0.0878
$\Delta\rho_{\max}/\Delta\rho_{\min}$, e Å ⁻³	2.08/–1.17

1436, 1384, 1360, 1302, 1280, 1202, 1160, 1101. ЯМР ¹H (400 МГц; CDCl₃; δ , м.д.): 1.18 и 1.38 (оба с., каждый 9H, ^tBu), 6.92 (м., 1H, аром. C₆H₄), 7.05 (д., ⁴*J*(H,H) = 2.4 Гц, 1H, аром. C₆H₂), 7.10–7.17 (м., 1H, аром. C₆H₄), 7.15 (с., 1H, OH), 7.32–7.52 (м., 15H, аром. C₆H₅, +1H, аром. C₆H₄), 7.60 (д., ⁴*J*(H,H) = 2.4 Гц, 1H, аром. C₆H₂), 7.72 (д., ³*J*(H,H) = 7.6 Гц, 1H, аром. C₆H₄), 9.57 (д., ⁴*J*(H,H) = 14.4 Гц, 1H, CH=N). ЯМР ¹³C (100 МГц, CDCl₃, δ , м.д.): 29.37, 29.49, 34.82, 35.16, 109.75, 111.80, 122.17, 122.67, 126.35, 128.20, 129.16, 129.28, 131.78, 133.11, 134.02, 134.16, 136.22, 138.88, 139.09, 143.26, 146.09, 184.61.

Найдено, %: C 58.52; H 5.28; N 1.71.
 Для C₃₉H₄₁NOSPAu
 вычислено, %: C 58.57; H 5.17; N 1.75.

РСА. Кристаллы I, пригодные для RSA, получены медленным испарением ацетонитрила при комнатной температуре. Набор экспериментальных данных получен на дифрактометре Agilent

SuperNova при использовании микрофокусного источника рентгеновского излучения с анодом из меди и координатным CCD-детектором Atlas S2. Сбор отражений, определение и уточнение параметров элементарной ячейки проведено с использованием специализированного программного пакета CrysAlisPro 1.171.38.41 [14]. Структуры расшифрованы с помощью программы ShelXT [15], уточнение ShelXL [16]. Положения атомов водорода определены из Фурье-синтеза электронной плотности и уточнены в приближении изотропной модели “наездника”. Кристаллографические данные и параметры уточнения структуры I приведены в табл. 1.

Полный набор рентгеноструктурных параметров депонирован в Кембриджском банке структурных данных (CCDC № 2237815; <https://www.ccdc.cam.ac.uk/structures>).

Оценку антирадикальной, антиоксидантной активности соединений в реакциях с радикалом ДФПГ, катион-радикалом 2,2'-азино-бис(3-этилбензотиазолин-6-сульфоновой кислоты (АБТС^{•+})) и в CUPRAC-тесте проводили по известным методикам [17–19]. Начальная концентрация

ДФПГ-радикала составляла 50 мкмоль л⁻¹. Эффективность антирадикального действия (АЕ) определяли по формуле $AE = 1/(EC_{50} \times TEC_{50})$, где EC_{50} — концентрация антиоксидантного соединения, необходимая для снижения количества радикала ДФПГ на 50% от исходного значения, TEC_{50} — время достижения равновесной концентрации EC_{50} . Величину IC_{50} в тесте с катион-радикалом АБТС рассчитывали, как минимальную концентрацию соединений, необходимую для снижения содержания АБТС^{•+} на 50% от исходного показателя. В CUPRAC- и АБТС^{•+}-тестах для исследуемых соединений и Тролокса определяли графики зависимости поглощения от концентрации. Значения антиоксидантной емкости в эквивалентах Тролокса (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity, TEAC) измеряли путем сравнения угла наклона графиков, полученных для каждого соединения, по сравнению с данными для Тролокса. Окислительное повреждение молекул ДНК в присутствии ААПГ и исследуемых соединений (50 мкмоль л⁻¹) проводили по ранее описанному методу [20]. Гомогенаты печени крыс *Wistar* (1 : 10 масс./об.) готовили непосредственно перед использованием в фосфатно-буферной среде (рН 7.4) с использованием гомогенизатора. Степень процесса пероксидного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по накоплению карбонильных продуктов, образующих окрашенный комплекс с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) по ранее описанным методикам [21, 22].

Антибактериальную активность определяли по отношению к бактериальным штаммам *S. aureus* ATCC 29213, *S. aureus* ATCC 6538p и *E. coli* ATCC 25922, полученным из Американской коллекции типовых культур (ATCC, Манассас, Вирджиния, США). Минимальную ингибирующую концентрацию (МИК, мкг/мл) определяли методом микроразведений в жидкой питательной среде МНВ в соответствии с рекомендациями Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI) [23]. Исследуемые соединения растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО) при начальной концентрации 2500 мкг мл⁻¹, разбавляли средой МНВ и тестировали в диапазоне концентраций от 312.50 до 0.61 мкг мл⁻¹. Конечная концентрация ДМСО была ниже 12.5% и не влияла на микробный рост. Инокуляты доводили до содержания примерно 5×10^5 КОЕ мл⁻¹. Разведенные бактериальные культуры в МНВ инкубировали при 37°C в течение 24 ч. Значения МИК определяли визуально как наименьшую концентрацию тестируемого соединения, приводящую к полному ингибированию роста. Каждый анализ был выполнен в трех экземплярах в двух независимых экспериментах. В качестве отрицательного контроля использовали ДМСО в концентрации

12.5%, в качестве положительного контроля — ципрофлоксацин.

Анализ цитотоксичности исследуемых соединений *in vitro* выполняли на клеточных линиях рака молочной железы человека (MCF-7), рака легкого (A-549) и колоректального рака (HCT-116), полученные из Американской коллекции типовых культур (ATCC, Манассас, Вирджиния, США). Клетки культивировали в среде питательной среде DMEM с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки, 2 mM L-глутамина, 1% пенициллина и 1% стрептомицина при 37°C и 5% CO₂. Исследуемые комплексные соединения растворяли в ДМСО в исходной концентрации 10 mM с последующими серийными разведениями в культуральной среде. Конечная концентрация ДМСО была ниже 0.1% и не влияла на жизнеспособность клеток.

Жизнеспособность клеток после воздействия изучаемых соединений определяли методом МТТ. Клетки (5×10^3 в 190 мкл культуральной среды) высевали в 96-луночные планшеты на 24 ч и обрабатывали соединениями I–V в концентрациях 0.10–50.00 мкМ в течение 72 ч. После обработки исследуемыми соединениями в каждую лунку на 1 ч добавляли по 10 мкл (5.00 мг/мл) реагента МТТ. После инкубации питательную среду удаляли, добавляли ДМСО (200 мкл) и измеряли оптическую плотность при $\lambda = 540$ нм. Значения IC_{50} рассчитывали, как концентрацию соединения, необходимую для снижения жизнеспособности клеток на 50% по сравнению с контрольным ростом клеток (100%). Каждый анализ был выполнен в трех экземплярах в двух независимых экспериментах. В качестве отрицательного контроля в МТТ-тесте использовали ДМСО в концентрации 0.1%, в качестве позитивного контроля — доксорубицина гидрохлорид.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для оценки влияния иона металла на модулирование биологической активности, а также редокс-свойств были синтезированы новые комплексы золота(I) на основе полученных ранее оснований Шиффа (LⁿSH) по обменной реакции с [(Ph₃P)AuCl] в соотношении 1 : 1 в ацетонитриле в присутствии депротонирующего агента — триэтиламина (схема 1). Взаимодействие проводили в анаэробных условиях во избежание побочных процессов окисления лигандов. Комплексы I–V выделены в процессе фильтрации на воздухе в виде ярко-желтых или красно-оранжевых кристаллических порошков с выходом до 75%.

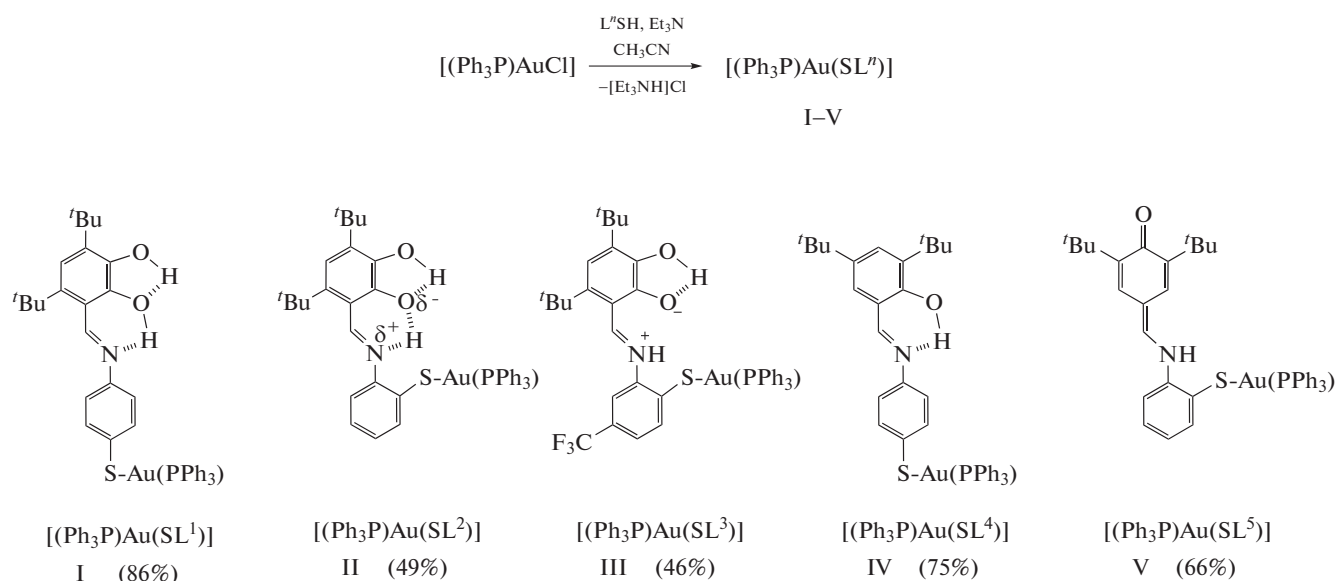


Схема 1.

Соединения выделены в виде мелкокристаллических порошков от темно-вишневого и красного (в случае производных I–III) до желтого (в случае производных IV и V) цвета. Строение I–V установлено по данным спектроскопии ИК и ЯМР ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, молекулярное строение комплекса I в кристаллическом виде установлено с помощью РСА.

Изучение спектров ЯМР полученных соединений позволяет установить особенности их молекулярного строения. Гидроксильная группа в положении 3 пирокатехинового фрагмента в I–III проявляется как синглет в области 6.4–6.8 м.д. Для I вторая гидроксигруппа обнаруживается в области 7.4–7.6 м.д. (и перекрывается мультиплетом от протонов фенильных групп трифенилфосфина), а в комплексе II сигнал от второй гидроксильной группы не обнаружен, что можно объяснить значительным уширением сигнала от данной группы. При этом, в отличие от I, в спектре которого протон иминной группы дает синглет при 9.30 м.д., в случае II сигнал от группы $\text{CH}=\text{N}$ проявляется как дублет при 9.26 м.д., что говорит о значительном внутримолекулярном взаимодействии между гидроксильной и иминной группами и, как результат, о промежуточном расположении атома водорода между азотом и кислородом (как показано на схеме 1 для II). Для соединения III наблюдаются уже два дублета: при 9.32 и 15.90 м.д. (с константой 2.3 Гц), которые можно отнести к протонам иминной группы и иминиевого катиона фрагмента $-\text{CH}=\text{N}^+\text{H}-$, что позволяет сделать вывод о полном переносе протона от атома кислорода гидроксигруппы на атом азота (как показано на схеме 1 для III). Данная прототропная таутомерия ранее была показана для серии катехоальдиминов серии 3-(RN=CH)-4,6-

DBCatH₂, где R – ароматическая или алифатическая группа, и их *бис*-катехоальдиминных аналогов [24, 25]. Также образование подобных цвиттер-ионных структур с фрагментом $-\text{CH}=\text{N}^+\text{H}-$ было показано в случае комплексов олова(IV) и сурьмы(V) с монодепротонированной формой катехоальдиминового лиганда [26].

В спектре ЯМР ^1H соединения IV синглет от протона единственной гидроксильной группы сдвинут в область слабого поля до 13.94 м.д. Это свидетельствует о сильном внутримолекулярном взаимодействии $\text{OH}\cdots\text{N}$, не ослабленном внутримолекулярной водородной связью $\text{OH}\cdots\text{O}$, что имеет место в случае комплекса I.

В спектрах ЯМР $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ для I–IV иминной группе соответствуют пики в области 158–162 м.д. В спектре ЯМР $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ производного V сигнал в этой области отсутствует, однако наблюдается сигнал при 184.61 м.д., который лежит в области сигналов карбонильных групп в *о*- и *п*-хинонах. Спектр ЯМР ^1H V содержит сигнал при 9.57 м.д., представляющий собой дублет с $^3J(\text{H},\text{H}) = 14.4$ Гц, который можно отнести к протону CH -группы фрагмента $=\text{CH}-\text{NH}-$. Спектральные особенности в случае V позволяют говорить о том, что данное соединение существует не в виде фенольной формы А, а именно в виде *пара*-хинометидной формы Б (схема 2). Эти выводы подтверждаются данными ИК-спектроскопии. В ИК-спектре комплекса V присутствует интенсивная полоса при 1622 cm^{-1} , отвечающая валентным колебаниями кетогруппы, а также узкая интенсивная полоса при 3284 cm^{-1} , характерная для колебаний N–H аминогруппы.

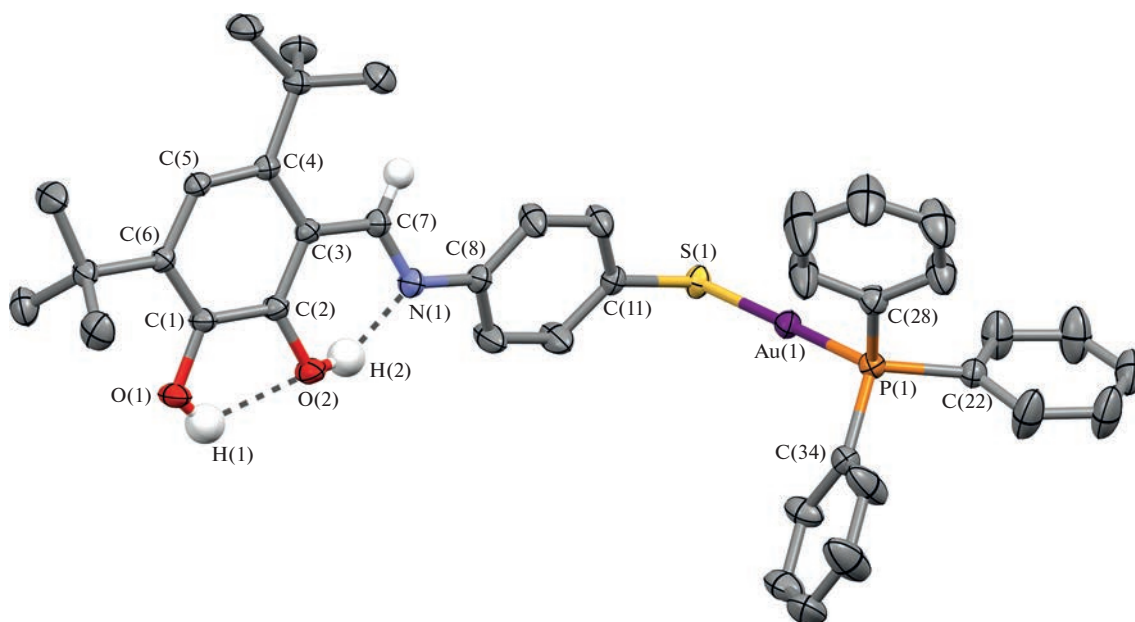


Рис. 1. Строение молекулы I в кристалле согласно данным РСА. Эллипсоиды 30%-ной вероятности, атомы водорода за исключением H(1)–H(3) не показаны. Избранные длины связей: Au(1)–P(1) 2.2632(8), Au(1)–S(1) 2.2931(8), P(1)–C(22) 1.809(3), P(1)–C(28) 1.805(3), P(1)–C(34) 1.815(3), S(1)–C(11) 1.787(3), O(1)–C(1) 1.369(3), O(2)–C(2) 1.328(4), N(1)–C(7) 1.295(4), N(1)–C(8) 1.413(3), C(1)–C(2) 1.406(3), C(1)–C(6) 1.382(4), C(2)–C(3) 1.421(3), C(3)–C(4) 1.435(4), C(4)–C(5) 1.379(3), C(5)–C(6) 1.413(3), C(3)–C(7) 1.437(3) Å.

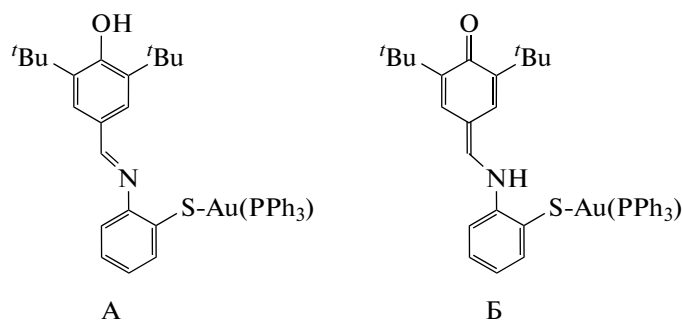


Схема 2.

Молекулярное строение пирокатехин-содержащего комплекса золота I в кристаллическом виде установлено с помощью РСА (рис. 1). Геометрические параметры шестичленного кольца C(1)–C(6) ($d_{\text{средн}}(\text{C}–\text{C}) = 1.406 \pm 0.027$ Å) и длины связей кислород–углерод (O(1)–C(1) 1.369(3), O(2)–C(2) 1.328(4) Å) соответствуют таковым для ранее изученных пирокатехинов [24, 27, 28]. Атом золота Au(1) имеет КЧ 2, валентный угол S(1)Au(1)P(1) близок к развернутому (177.1(1)°), а валентный угол C(11)S(1)Au(1) составляет 98.75(5)°. Данные валентные углы являются в целом вполне обычными для соединений двухкоординационного золота(I) вида [(R₃P)Au–S–Ar]: например, данные углы составляют 178.90° и 105.07° в [(Me₂PhP)Au–S–*p*-C₆H₄COOH] [29], 174.48° и 108.05° в [(Ph₃P)Au–S–C₆H₄F₄] [30]; 174.43° и

108.33° в [(Ph₃P)Au–S–C₆F₅] [31]; 176.6°–178.9° и 102.5°–103.1° в серии [(Cyclohex₃P)Au–S–*o*-C₆H₄–C(O)NH₂], [(Ph₃P)Au–S–*o*-C₆H₄–C(O)NH₂], [(Et₃P)Au–S–*o*-C₆H₄–C(O)NH₂] [32]; 176.53° и 104.10° в [(Ph₃P)Au–S–*p*-C₆H₄–NMe₂] [33]. Длины связи Au(1)–S(1) и Au(1)–P(1) (2.2931(8) и 2.2632(8) Å, соответственно) характерны аналогичным значениям длин связей в различных тиолатах триарил/триалкилзолота(I) (2.28–2.31 и 2.25–2.27 Å [33–35]).

Связь N(1)–C(7) двойная и находится в сопряжении с π-системой кольца C(1)–C(6). В молекуле I наблюдаются внутримолекулярные водородные связи (O(1)–H(1)···O(2) 2.133(3), O(2)–H(2)···N(1) 1.755(3) Å). Атом водорода H(2) за счет данного взаимодействия входит в шестичленный цикл

Таблица 2. Значения редокс-потенциалов комплексов I–V, полученные методом ЦВА*

Соединение	E_p^{ox1} , В	E_p^{ox2} , В	E_p^{ox3} , В	$E_{1/2}^{red1}$, В	I_a/I_c
$[(Ph_3P)Au(SL^1)]$ (I)	0.89	1.13	1.60	–1.58	0.95
$[(Ph_3P)Au(SL^2)]$ (II)	0.89	1.17	1.65	–1.56	0.80
$[(Ph_3P)Au(SL^3)]$ (III)	0.94	1.19	1.63	–1.46	0.90
$[(Ph_3P)Au(SL^4)]$ (IV)	0.96	1.25	1.62	–1.87	
$[(Ph_3P)Au(SL^5)]$ (V)	0.84	1.47		–1.60	
Ауронофин [38]	1.10	1.60			
$[(Ph_3P)Au(4-S-Tol)]^{**}$ [39]	0.82	1.50			

* CH_2Cl_2 , СУ-электрод, 0.1 М $n-Bu_4NClO_4$, $c = 2 \times 10^{-3}$ моль/л, Ag, отн. Ag/AgCl/KCl (нас.).

** $[(Ph_3P)Au(4-S-Tol)]$ – *n*-тиокризолятный трифенилфосфиновый комплекс Au(I).

O(2)C(2)C(3)C(7)N(1)H(1) (торсионный угол O(2)–C(2)–C(7)–N(1) составляет 2.6(1)°).

В настоящее время методы молекулярной электрохимии находят свое широкое применение для прогнозирования путей метаболизма редокс-активных молекул и установления основных направлений их химических превращений в биосистемах. К ключевым преимуществам электрохимических подходов можно отнести генерирование активных метаболитов в мягких условиях; проведение исследований в неклоточной среде; получение информации о механизме превращений целевых соединений и о путях их метаболизма на основании данных ЦВА, электролиза и спектроэлектрохимии; возможность препаративного получения окисленных метаболитов редокс-активных соединений и изучение их токсичности; моделирование реакций промежуточных полупродуктов с биомолекулами

(глутатион, аскорбиновая кислота, NADH) [36, 37]. Ввиду наличия в структуре полученных комплексных соединений редокс-активных пирокатехинового, фенольного фрагментов были изучены их электрохимические свойства методом ЦВА в дихлорметане на СУ-электроде (табл. 2).

Электрохимическое окисление I–V имеет общие закономерности: на ЦВА-кривых наблюдаются две или три последовательных анодных стадии (рис. 2).

Первый пик окисления является необратимым для всех исследуемых соединений, что указывает на протекание последующей за переносом электрона быстрой химической стадии. Подобное поведение является типичным для фосфинтиолатных комплексов золота(I) и связано с окислением координированного тиолат-аниона, сопровождающееся образованием тиильного радикала и катиона $[(Ph_3P)Au]^+$ [39–42]. Реализация подобного механизма является основным направлением электрохимических превращений тиолатных производных золота(I) [41, 42]. В случае исследуемых нами соединений присутствие редокс-активных пирокатехиновой или фенольной групп обуславливает их участие во второй стадии окисления (рис. 3).

Значения потенциалов окисления (1.13–1.19 В) и частичная обратимость наблюдаемых пиков ($I_c/I_a = 0.4–0.5$) в случае первых трех соединений указывают на участие пирокатехинового фрагмента. Редокс-превращения комплекса IV представлены на схеме 3. Второй квазиобратимый пик для IV идентичен наблюдаемому для свободного лиганда, что связано с возможностью делокализации электронной плотности с участием фенольного фрагмента.

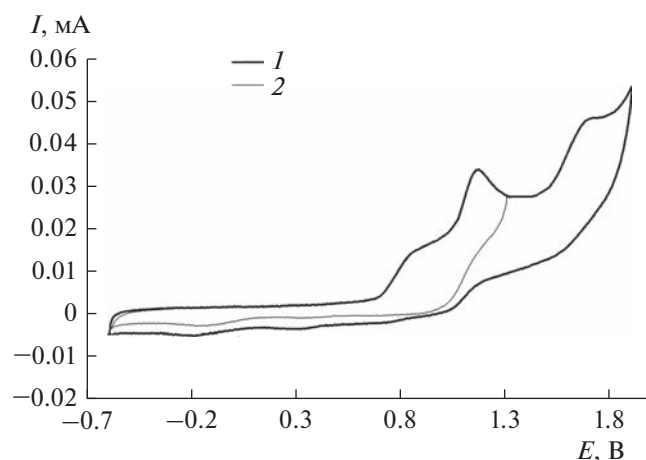


Рис. 2. Циклические вольтамперограммы окисления II: при развертке потенциала от –0.6 до 1.9 В (1); при развертке потенциала от –0.6 до 1.3 В (2) (CH_2Cl_2 , СУ-анод, Ag/AgCl/KCl, 0.1 М $n-Bu_4NClO_4$, $c = 2 \times 10^{-3}$ моль/л, аргон).

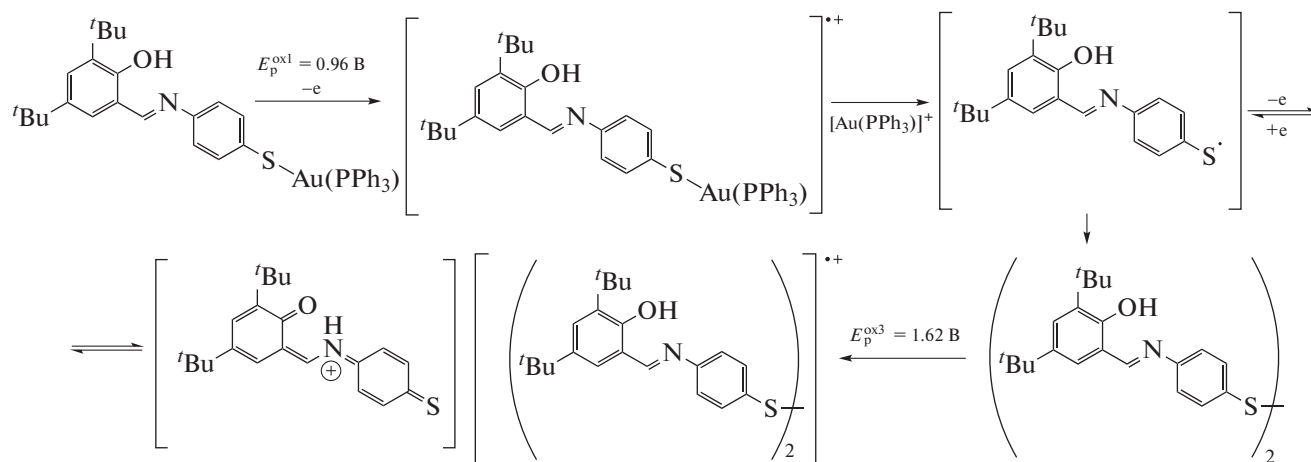


Схема 3.

Генерированные в результате окисления I–IV тиольные радикалы быстро димеризуются в параллельной протекающей реакции, которая ведет к образованию соответствующих дисульфидов, пики окисления которых фиксируются на ЦВА-кривых в узком диапазоне 1.60–1.65 В, характерном для окисления дисульфидов [42]. Помимо

этого, в результате электроокисления $LS^{\bullet}$ возможно генерирование сероцентрированного катиона, электрофильная атака которого на исходный комплекс $[(Ph_3P)Au(SL)]$ также может приводить к формированию дисульфидов. Общую схему окислительных превращений комплексов можно представить следующим образом (схема 4).

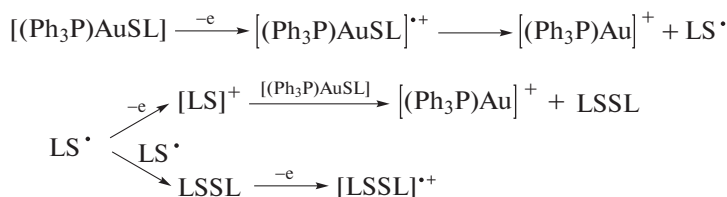


Схема 4.

Для соединения V с хинометидной группой не наблюдалось выраженного третьего пика окисления, отвечающего формированию дисульфида (рис. 4), а значение потенциала E_p^{ox2} смещено в анодную область. В ходе окислительной активации V и отщепления $[(Ph_3P)Au]^+$ лиганд далее претерпевает более глубокую трансформацию, ведущую к внутримолекулярной циклизации с переноса атома водорода и возможностью образования бензоксазольного цикла [43].

Анализ полученных значений потенциалов E_p^{ox1} для I и II показал, что положение золотосодержащего фрагмента по отношению к азометиновой группе не оказывает влияние на потенциал окисления. Введение трифторметильного заместителя в ароматическое кольцо способствует смещению E_p^{ox1} в анодную область на 0.05 В. Замена пирокатехинового фрагмента на фенольный в комплексах I и IV оказывает аналогичное действие, затрудняя процесс окисления. В то же время присутствие на периферии хинометидной

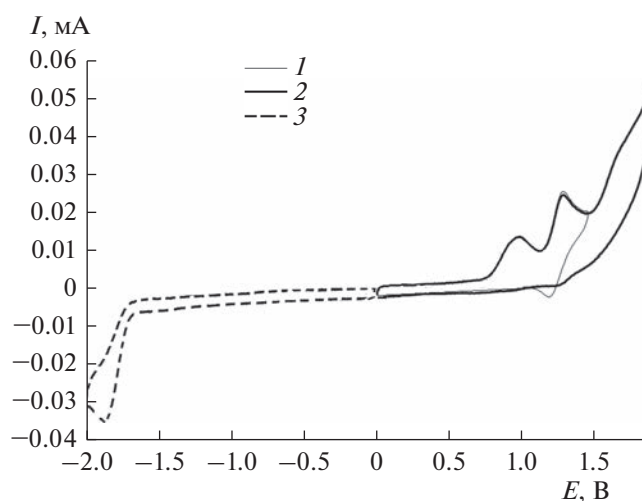


Рис. 3. Циклические вольтамперограммы окисления/восстановления IV: при развертке потенциала от 0 до 1.45 В (1); в диапазоне от 0 до 1.90 В (2); при развертке потенциала от 0 до –2.00 В (3) (CH_2Cl_2 , СУ-анод, $Ag/AgCl/KCl$, 0.1 М $n-Bu_4NClO_4$, $c = 2 \times 10^{-3}$ моль/л, аргон).

группы для V не ведет к значительному изменению величины потенциала окисления, который близок с данными для *n*-тиокризолятного трифенилфосфинового комплекса Au(I), полученными в дихлорметане [39]. Отметим, что для соединений I–V, несмотря на наличие акцепторной иминогруппы, значения E_p^{ox1} наблюдаются при более катодных величинах, чем для аурунофина (1.10 В).

В катодной области для I–III фиксируется квазиобратимый одноэлектронный пик, отвечающий образованию относительно стабильных анион-радикальных частиц ($I_a/I_c = 0.80–0.95$) (рис. 5). Подобное поведение связано с участием азометинового линкера в редокс-процессе [44]. В случае соединения IV данная стадия является необратимой и смещена в катодную область по сравнению с комплексом I.

В отличие от комплекса с фенольным фрагментом соединение V, содержащее хинометидную группу, восстанавливается также необратимо, но при более анодном значении потенциала, что может указывать на возможность проявления слабых акцепторных свойств.

Исследование спектральных свойств комплексов золота(I) в видимой области спектра поглощения показало, что для I–V характерен максимум поглощения в диапазоне 370–390 нм (I – 390 нм ($\epsilon = 1.48 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$); II – 387 нм ($\epsilon = 1.16 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$); III – 390 нм ($\epsilon = 1.01 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$

cm^{-1}); IV – 384 нм ($\epsilon = 2.04 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)). Данный переход обусловлен переносом электронной плотности между тиолат-анионом и азометиновой группой. Особенностью соединения V является наличие интенсивного максимума поглощения при $\lambda = 442 \text{ нм}$ ($\epsilon = 2.84 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), смещенного в длинноволновую область по сравнению с остальными соединениями. Одним из объяснений более высокой цитотоксичности соединений с хинометидной группой является возможность связывания с тиогруппами белковых молекул и ингибирование фермента – тиоредоксинредуктазы. Для подтверждения акцепторного характера хинометидной группы были проведены модельные эксперименты с циклопентантиолом. Оказалось, что все соединения, за исключением V, не реагируют с тиолом. При введении 2 экв. тиола в раствор комплекса V наблюдается быстрое снижение интенсивности максимума поглощения при 442 нм, сопровождающее обесцвечиванием раствора (рис. 6).

На ЦВА-кривых также происходило снижение интенсивности по току катодного пика, отвечающего восстановлению хинометидного фрагмента. Подобное поведение комплекса V, как и ранее изученных ферроцен-хинометидов [45], можно объяснить формированием продуктов присоединения по Михаэлю. Взаимодействие соединения V с циклопентантиолом представлено на схеме 5.

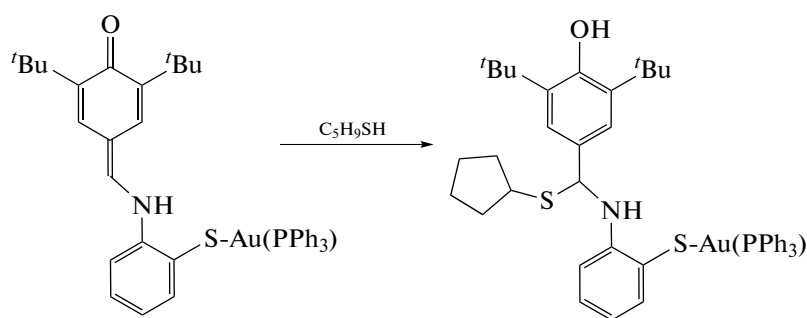


Схема 5.

Наличие хинометидного фрагмента в структуре V, так же как и иона золота(I), способного ингибировать тиоредоксинредуктазу, указывает на вероятность проявления более высокой цитотоксичности по отношению к раковым клеткам и “хороший” потенциал как цитостатика, способного по различным механизмам ингибировать целевой фермент. Дальнейшие исследования позволяют оценить влияние редокс-активных фрагментов в структуре лиганда и иона металла на биологическую активность подобного типа соединений.

В последние годы в области синтеза новых биологически активных металлоорганических, ко-

ординационных соединений наблюдается прогресс в направлении получения веществ, содержащих наряду с металлами различные редокс-активные фрагменты, привилегированные гетероциклические скаффолды, фармакофорные функциональные группы. На пути создания фармакологически активных препаратов актуален этап комплексного первичного скрининга на различных модельных реакциях и процессах *in vitro* с использованием биохимических систем, моделирующих физиологические условия. Современный подход к изучению биологически активных соединений требует комбинированной оценки и установле-

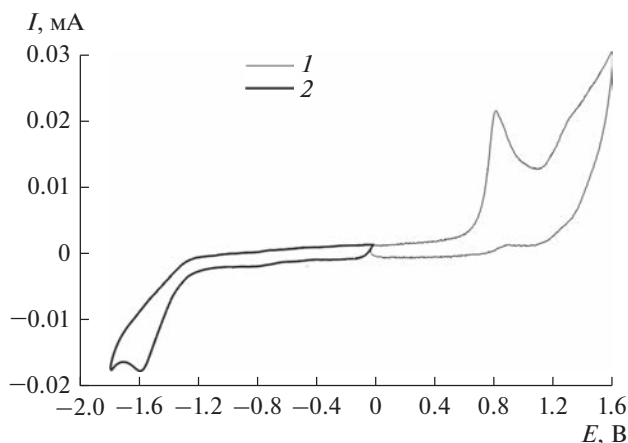


Рис. 4. Циклические вольтамперограммы окисления/восстановления V: при развертке потенциала от 0 до 1.60 В (1); при развертке потенциала от 0 до –1.80 В (2) (CH_2Cl_2 , СУ-анод, $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{KCl}$, 0.1 М $n\text{-Bu}_4\text{NClO}_4$, $c = 1.5 \times 10^{-3}$ моль/л, аргон).

ния влияния каждого фрагмента молекулы в проявляемой потенциальной активности.

В работе проведена комплексная оценка антирадикальной активности соединений I–V на молекулярном уровне с использованием синтетических радикалов: ДФПГ-тест, катион-радикала АБТС^{•+}, а также CUPRAC-теста, основанного на определении антиоксидантной активности вещества при восстановлении комплекса меди(II) с 2,9-диметил-1,10-фенантролином (неокупроином) (табл. 3).

В тесте с ДФПГ-радикалом комплексы II и III характеризуются сопоставимыми показателями антирадикальной активности со свободными основаниями Шиффа. Возможность взаимодействия со стабильным радикалом для указанных веществ обусловлена отрывом атома водорода от пирокатехиновой группы, что подтверждает показатель EC_{50} , близкий по значению с 3,5-ди-*трет*-бутилпирокатехином. В случае соединения I наблюдалось двукратное повышение величины EC_{50} при идентичном времени достижения равновесного состояния (TEC_{50}), что предполагает снижение показателя эффективности антирадикального действия по сравнению с L^1SH .

В отличие от исходных лигандов связывание SH-группы с ионом золота(I) для IV и V способствует значительному уменьшению их реакционной способности по отношению к дифенилпикрилгидразилу. Отрыв атома водорода в реакции с радикалом затруднен в случае IV, что можно объяснить образованием внутримолекулярной водородной связи между фенольной HO-группой и иминовым атомом азота. Для комплекса V присутствие электроноакцепторного хинометидного

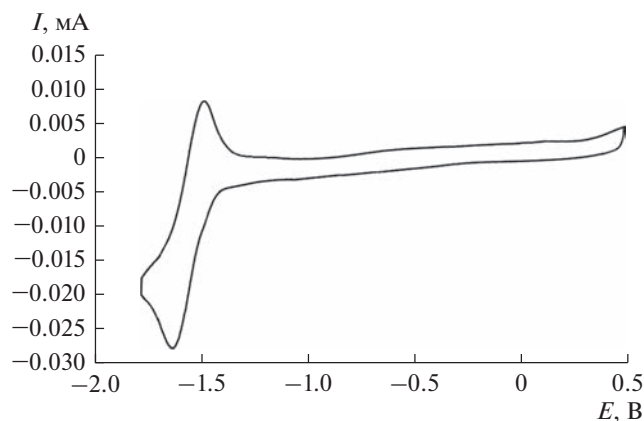


Рис. 5. Циклическая вольтамперограмма восстановления I при развертке потенциала от 0.5 до –1.80 В (CH_2Cl_2 , СУ-анод, $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{KCl}$, 0.1 М $n\text{-Bu}_4\text{NClO}_4$, $c = 2 \times 10^{-3}$ моль/л, аргон).

фрагмента также затрудняет отрыв атома водорода радикалом. В то же время I–III проявили большую антирадикальную активность, чем трифосфиниолатный комплекс золота(I) с 3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидрокситиофенолятным лигандом [34]. Наличие азометинового линкера между ароматическим кольцом и фенольной группой в IV приводит к значительному снижению антирадикальной активности в тесте с ДФПГ.

В реакции I–III с более акцепторным катион-радикалом АБТС зафиксирована хорошая сходи-

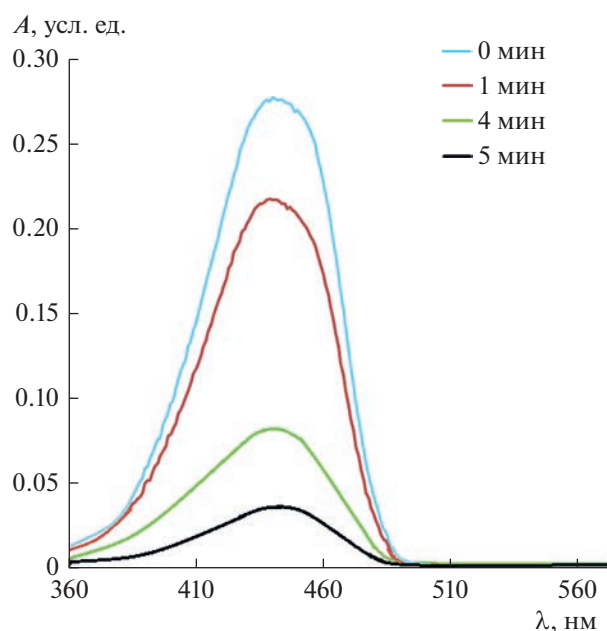


Рис. 6. Спектр поглощения V (0 мин) в присутствии 2 экв. циклопентантиола-1 (1–5 мин) (CH_2Cl_2 , 298 К, $c = 1 \times 10^{-5}$ моль/л).

Таблица 3. Значения показателей EC_{50} , TEC_{50} , АЕ (эффективность антирадикального действия) для комплексов I–V и лигандов в тесте с ДФПГ-радикалом (CH_2Cl_2 , 298 K), IC_{50} и TEAC в реакции с катион-радикалом АБТС^{•+}, восстанавливающая активность при взаимодействии с Cu^{2+} (CUPRAC), выраженная в эквивалентах Тролокса (TEAC)

Соединения	ДФПГ			АБТС ^{•+}		CUPRAC
	EC_{50} , мкмоль	TEC_{50} , мин	$AE \times 10^3$	IC_{50} , мкмоль	TEAC	TEAC
$[(Ph_3P)Au(SL^1)]$	20.8 ± 0.8	45.0	1.06 ± 0.1	11.0 ± 0.7	1.60 ± 0.14	0.58 ± 0.10
$[(Ph_3P)Au(SL^2)]$	16.4 ± 1.2	13.0	4.30 ± 0.3	15.5 ± 0.9	1.41 ± 0.11	1.46 ± 0.15
$[(Ph_3P)Au(SL^3)]$	14.9 ± 1.2	35.0	1.9 ± 0.3	14.6 ± 0.4	1.52 ± 0.20	0.99 ± 0.11
$[(Ph_3P)Au(SL^4)]$	>100	>120		45.8 ± 1.5	0.37 ± 0.08	0.38 ± 0.05
$[(Ph_3P)Au(SL^5)]$	>100	>120		22.0 ± 0.5	0.54 ± 0.10	0.36 ± 0.04
L^1SH^*	10.0 ± 0.5	45.0	2.2 ± 0.4	8.8 ± 0.6	1.88 ± 0.10	1.60 ± 0.09
L^2SH^*	16.0 ± 1.1	10 ± 1.5	6.25 ± 0.8	12.1 ± 1.2	1.73 ± 0.23	2.25 ± 0.11
L^3SH^*	14.5 ± 0.4	45 ± 0.9	1.5 ± 0.1	12.5 ± 1.0	1.68 ± 0.17	2.03 ± 0.05
L^4SH^*	30.0 ± 1.3	5 ± 0.4	6.7 ± 0.8	17.7 ± 1.2	1.07 ± 0.09	0.71 ± 0.07
L^5SH^*	10.9 ± 1.1	3 ± 0.5	30.5 ± 3.1	14.0 ± 0.9	1.51 ± 0.09	2.39 ± 0.10
$CatH_2^*$	13.1 ± 1.3	60 ± 2.0	1.3 ± 0.2	1.5 ± 0.5	1.27 ± 0.15	0.72 ± 0.05
$[(Ph_3P)AuSR]**$	31.0 ± 2.0					1.05 ± 0.07
Тролокс	12.0 ± 0.5	10.3	5.1 ± 0.5	16.0 ± 1.0	1.00 ± 0.03	1.00 ± 0.08

* Данные представлены в [12], ** – [7].

мость величин IC_{50} с данными по EC_{50} в тесте с ДФПГ-радикалом. Антиокислительная активность (TEAC) комплексов в 1.4–1.6 раза превышает данные для водорастворимого аналога витамина E – Тролокса. Анализ показателей, полученных для комплексов, указывает на незначительное снижение их антиоксидантных свойств по сравнению с свободными лигандами. Комплексы IV и V выступают в качестве слабых доноров электронов в реакции с АБТС^{•+}. Величины TEAC близки к аналогичным значениям, полученными в CUPRAC-тесте, что в целом предполагает невысокую антиоксидантную емкость данных веществ. Для исходных оснований Шиффа наличие свободной SH-группы вносит основной вклад в их антиоксидантную активность. При взаимодействии соединения I–III с неocupроиновым комплексом меди(II) наблюдается умеренная активность, и только в случае II результаты превышают данные, полученные для Тролокса.

Торможение развития цепных радикальных процессов благодаря перехватыванию активных радикалов является определяющим свойством большинства известных антиоксидантов. Наличие фенольной и пирокатехиновой групп в структуре лигандов обуславливает выше рассмотренную нейтрализующую активность комплексов золота(I) по отношению к синтетическим радикалам. На следующем этапе было интересно оценить влияние целевых соединений на процессы повреждения молекул ДНК, липидов, промотированных ROO радикалами. Интенсивная выработка активных форм кислорода (АФК), ингибирование фермен-

тов антиоксидантной защиты и развитие окислительного стресса может приводить к повреждению биомолекул, таких как белки, липиды, ДНК. Соединением золота(I) не свойственно взаимодействие с ДНК. Однако ранее отмечалось, что в присутствии комплексов золота(I) происходит ингибирование тиоредоксинредуктазы, сопровождающееся повышением уровня АФК, которое может приводить к повреждению дезоксирибозы и нарушению целостности цепочки ДНК [46].

Исследована антиоксидантная активность I–V в реакции промотированного окислительного повреждения молекул ДНК 2,2'-азо-бис(2-амидинопропан)дигидрохлоридом (ААПГ) [12], распадающимся при 37°C до пероксильных радикалов, что инициирует повреждение дезоксирибозных фрагментов молекул ДНК. Образующиеся в ходе реакции карбоксильные соединения взаимодействуют с тиобарбитуровой кислотой, формируя окрашенные продукты (ТБК-АП) ($\lambda_{max} = 535$ нм). Сравнительные данные по активности комплексов золота I–V и ранее полученные результаты для лигандов представлены на рис. 7.

В отличие от исходных оснований Шиффа, I, II, IV и V практически не оказывают выраженного эффекта на процесс окислительного повреждения молекул ДНК, поскольку показатели поглощения сопоставимы с контрольным экспериментом в пределах ошибки измерения. Слабое промотирующее действие (6.5%) наблюдается только в случае соединения III. Полученные результаты подтверждают отсутствие выраженного воздействия ис-

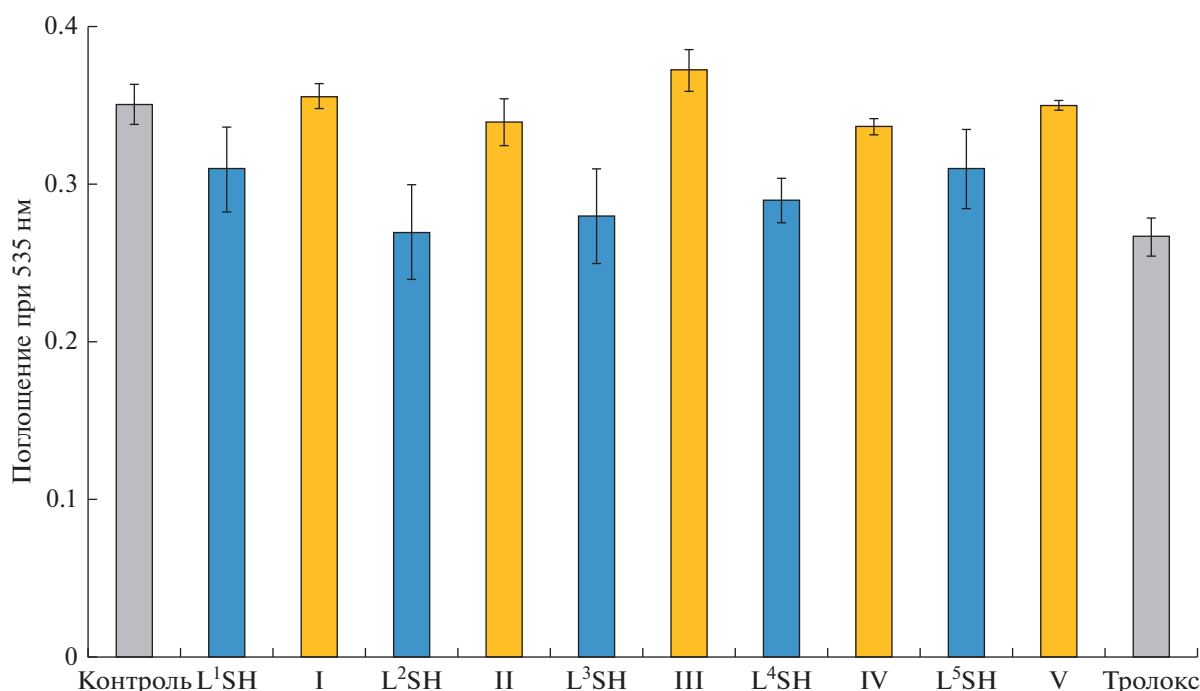


Рис. 7. Изменение поглощения ТБК-АП, образующихся в результате окислительного повреждения молекул ДНК (2.0 мг мл^{-1}) при введении промотора ААПГ (40 ммоль л^{-1}), в присутствии I–V (50 мкмоль) и лигандов ($L^1\text{SH}–L^5\text{SH}$), а также Тролокса (контроль — без добавок соединений).

следуемых комплексов на молекулы ДНК в рассмотренном тесте.

Ингибирование ряда ферментов антиоксидантной защиты, взаимодействие с тиольными группами белков при действии комплексов золота могут приводить к генерации АФК, повреждению липидов или нарушению их метаболизма [47, 48]. Кроме того, ранее нами было показано, что исходные основания Шиффа, содержащие пирокатехиновые фрагменты $L^1\text{SH}–L^3\text{SH}$, значительно интенсифицируют процесс ПОЛ *in vitro*. В то же время серосодержащие основания Шиффа с фенольной группой могут оказывать ингибирующее действие на ПОЛ [43]. Вследствие этого нами было изучено влияние I–V, а также $L^4\text{SH}$ на процесс неферментативного Fe^{2+} -промотированного пероксидного окисления липидов гомогенатов печени крыс *Wistar in vitro*. Для определения отделенных эффектов комплексов золота(I) на протекание процесса ПОЛ концентрация ТБК-АП определяли через 3, 24 и 48 ч. Полученный гомогенат был разделен на несколько групп: контроль, не содержащий добавок, и пять образцов с веществами I–V (100 мкмоль), а также $L^4\text{SH}$. Концентрацию ТБК-АП определяли по изменению величины показателя поглощения растворов при 535 нм (рис. 8).

Анализ полученных результатов показал, что через 3 ч инкубации все исследуемые комплексы

проявляют умеренный ингибирующий эффект, снижая уровень ТБК-АП на 13–37%, в отличие от ранее изученных свободных оснований Шиффа. Наибольшей антиоксидантной активностью обладает соединение IV. Увеличение времени инкубации приводит к интенсификации процесса ПОЛ в контрольном образце. Инверсия с антиоксидантных свойств на прооксидантные фиксировалась для III через 24 ч. Добавка комплекса III способствует повышению содержания продуктов окисления липидов с течением времени, что указывает на его промотирующее действие. Уменьшение концентрации ТБК-АП на 12–23% для I и II подтверждает наличие их умеренной антиоксидантной активности. В случае соединения IV, содержащего фрагмент пространственно-затрудненного фенола, ингибирующее действие возрастает во времени, поскольку содержание ТБК-АП плавно снижается на 37 (3 ч), 48% (24 ч) по сравнению с контрольным образцом. В то же время свободный лиганд также эффективно ингибирует процесс ПОЛ. Комплекс золота с хинометидным фрагментом V не оказывает выраженного промотирующего эффекта, наоборот, в его присутствии наблюдается умеренное ингибирующее действие. Это может быть связано с возможностью перехвата хинометидной группой пероксильных радикалов, что ранее наблюдалось для *o*-бензохинонов [49]. В отличие от изученных тиолатных комплексов золота(I) с гетероциклическими тиолами, высту-

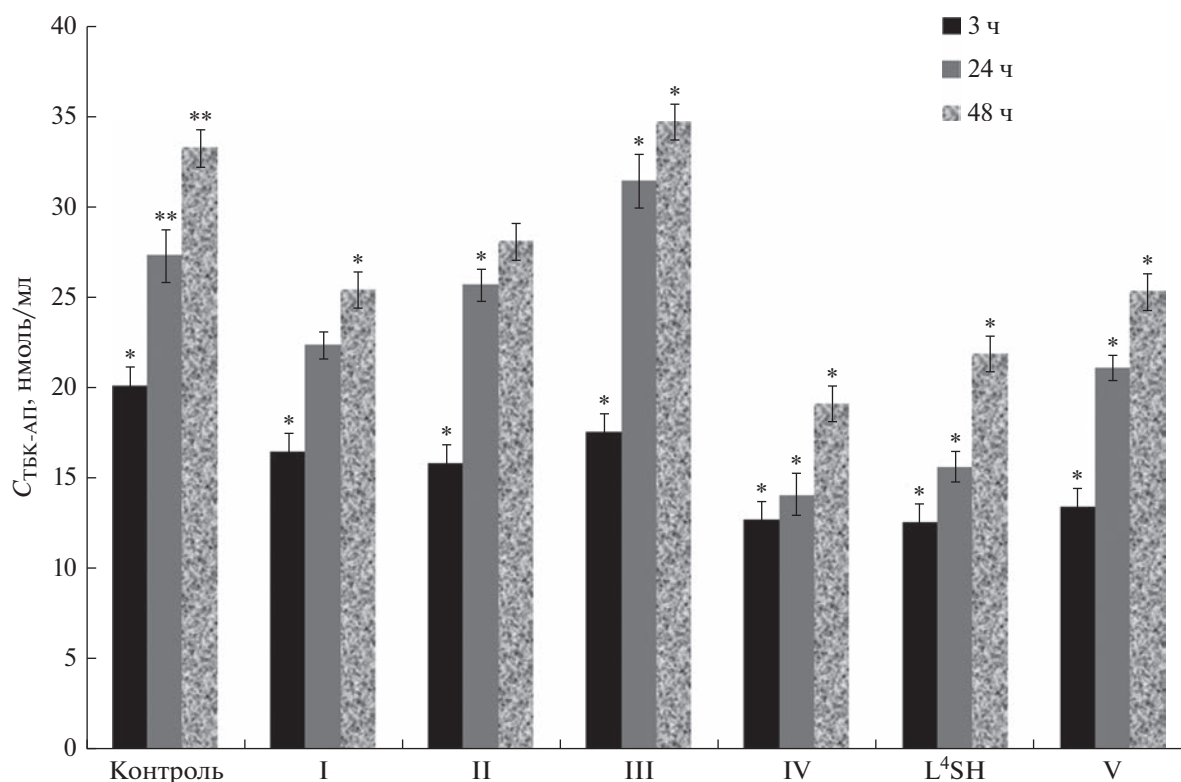


Рис. 8. Изменение концентрации ТБК-АП в гомогенатах печени крыс *Wistar in vitro* в присутствии I–V и основания Шиффа L⁴SH в процессе инкубации (3, 24, 48 ч) (концентрация соединений 100 мкмоль; без добавок – Контроль; представлены средние значения со стандартными отклонениями (* $p < 0.001$; ** $p < 0.005$)).

пающих в роли активных промоторов пероксидного окисления клеточных мембран [47], введение антиоксидантной группы ведет к возникновению обратного эффекта [5]. В нашем случае, для соединений I, II и IV координация иона золота по тиогруппе, так же, как и наличие редокс-активных пирокатехиновых или фенольных фрагментов, способствуют проявлению антиоксидантной активности. Введение трифторметильного заместителя в иминотиофенолятный фрагмент, наоборот, ведет к инверсии антиоксидантных свойств на прооксидантные при увеличении времени инкубации.

Ауронофин и фосфиновые комплексы золота(I) с различными тиолатными лигандами обладают не только цитотоксичностью к раковым клеткам, но и характеризуются выраженной антибактериальной активностью по отношению к грамположительным бактериям, в частности к *Staphylococcus aureus* [50–52]. Ранее синтезированные серосодержащие основания Шиффа с пирокатехиновой группой L¹SH–L³SH проявили умеренное бактериостатическое действие против *Staphylococcus aureus* [12]. Вследствие этого для I–V также ожидалось возникновение подобного эффекта. Антибактериальная активность исследуемых комплексов была изучена по отношению к

бактериальным штаммам *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* (табл. 4).

Исходя из полученных значений МИК, координация тиольной группы по атому золота(I) приводит к значительному снижению бактериостатического действия комплексов II, III по сравнению с исходными лигандами. В случае I и L¹SH показатели МИК имеют близкие значения. Соединения золота I–V оказались неактивны по отношению к *Escherichia coli*, как и большинство лигандов. Основание Шиффа L⁴SH с фрагментом пространственно-затрудненного фенола, не проявляло антибактериальной активности [12], а для соединения [(Ph₃P)Au(SL⁴)] фиксировались величины МИК, сопоставимые с комплексами I, II для штамма *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. Для V с хинометидной группой отмечается умеренная антибактериальная активность, отсутствующая у стартового иминотиола. Подобное поведение можно объяснить наличием хинометидной группы, способной к связыванию с цистеиновыми остатками белковых молекул, ингибированию тиоредоксин редуктазы, в результате происходит нарушение редокс-баланса в клетках и возникает антибактериальный эффект [53].

Для исследуемых комплексов золота(I) в качестве основных мишеней наряду с тиоредоксин

Таблица 4. Антибактериальная активность I–V и оснований Шиффа по отношению к исследуемым штаммам бактерий *in vitro*

Соединение	Минимальная ингибирующая концентрация (МИК), мкг/мл		
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	<i>S. aureus</i> ATCC 6538p	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
$[(\text{Ph}_3\text{P})\text{Au}(\text{SL}^1)]$	39.06	78.13	
$[(\text{Ph}_3\text{P})\text{Au}(\text{SL}^2)]$	39.06	78.13	
$[(\text{Ph}_3\text{P})\text{Au}(\text{SL}^3)]$	19.53	19.53	
$[(\text{Ph}_3\text{P})\text{Au}(\text{SL}^4)]$	39.06		
$[(\text{Ph}_3\text{P})\text{Au}(\text{SL}^5)]$	9.77	9.77	
L^1SH^*	39.06	19.53	
L^2SH^*	1.22	1.22	39.06
L^3SH^*	2.44	4.88	
Ципрофлоксацин	0.125	0.125	0.008

* Данные представлены в [12].

редуктазой может выступать фермент – НАД(Р)Н хинон оксидоредуктаза 1 (**NQO1**), участвующая в двухэлектронном восстановлении хинонов до гидрохинонов или пирокатехинов [54]. Возможность окисления пирокатехиновых групп в соединениях I–III в результате действия различных ферментативных систем, включающих P450s, циклооксигеназу (COX-2), пероксидазы, тирозиназу, ксантиноксидазу, будет приводить к генерации активных форм кислорода и *o*-бензохинонов. Фермент NQO1 в здоровых тканях способствует восстановлению хиноидных соединений, нейтрализации АФК, но в то же время он оказывает защитный эффект и в раковых клетках дезактивируя повышенные количества АФК [55]. Повышенный уровень экспрессии NQO1 наблюдается для многих типов раковых клеток включая рак легкого, груди, поджелудочной железы, кишечника, в то же время уровень данного фермента в здоровых тканях невысок [56]. Вследствие этого с применением современного и широко распространенного МТТ-анализа нами была изучена цитотоксичность исследуемых соединений на примере клеточных линий рака груди (MCF-7), легкого (A-549) кишечника (HCT-116), характеризующихся повышенным уровнем NQO1 [57] (табл. 5).

Анализ полученных результатов показал, что для комплексов золота(I) с пирокатехиновым фрагментом величина IC_{50} в целом повышается по сравнению с исходными основаниями Шиффа. Для свободных лигандов L^1SH – L^3SH значения IC_{50} составляют менее 10 мкмоль, т.е. они более активны, чем цисплатин, но отсутствует выраженная селективность по отношению к какой-либо линии клеток. Для I–III преобладает уменьшение цитотоксичности, однако в отличие от лигандов возникает большая избирательность действия по отношению к изученным клеточным ли-

ниям. Показатель IC_{50} на линии клеток рака кишечника HCT-116 для комплекса I снижается вдвое относительно результатов, полученных ранее в присутствии L^1SH , при этом активность превосходит данные для цисплатина (табл. 5). Комплекс III оказывает большее влияние на параметр IC_{50} на клетках рака легкого A-549 по сравнению с остальными клеточными линиями, что предполагает большую селективность его действия. Данное соединение оказалось более активным, чем Ауринофин и цисплатин. Координация тиогруппы фенолсодержащего основания Шиффа с ионом золота(I) при образовании комплекса IV приводит к снижению величины IC_{50} на клеточных линиях MCF-7 и HCT-116 в отличие от I–III. Для ранее изученного трифенилфосфинового комплекса золота(I) с 3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидрокситиофенолятным лигандом, обладающим антиоксидантной активностью, наблюдается обратный эффект – значительно снижается цитотоксичность ($\text{IC}_{50} > 50$ мкмоль) на клеточных линиях MCF-7, HCT-116 по сравнению с исходной солью $[(\text{Ph}_3\text{P})\text{AuCl}]$ [6]. Для IV отмечается большая избирательность по отношению к клеткам HCT-116. В отличие от соединения IV присутствие хинометидной группы в V способствует значительному повышению его цитотоксичности на всех изученных клеточных линиях. Показатели IC_{50} для данного соединения сопоставимы с результатами, определенными для Ауринофина. Таким образом, положение азо-линкера по отношению к золотосодержащему фрагменту, природа заместителей в иминотиофенольном фрагменте, а также тип редокс-активной группы – пирокатехиновая, фенольная, хинометидная позволяют варьировать избирательность цитотоксического действия по отношению к рассмотренным линиям рако-

Таблица 5. Показатель цитотоксичности IC₅₀ (мкмоль) исследуемых комплексов I–V и оснований Шиффа на различных линиях раковых клеток

Соединение	IC ₅₀ , мкмоль		
	A-549	MCF-7	HCT-116
[(Ph ₃ P)Au(SL ¹)]	36.03 ± 1.04	8.97 ± 0.22	5.47 ± 0.30
[(Ph ₃ P)Au(SL ²)]	10.31 ± 0.92	11.95 ± 0.76	8.02 ± 0.43
[(Ph ₃ P)Au(SL ³)]	2.47 ± 0.10	10.46 ± 0.65	15.73 ± 0.89
[(Ph ₃ P)Au(SL ⁴)]	32.78 ± 0.97	17.57 ± 1.17	9.11 ± 0.33
[(Ph ₃ P)Au(SL ⁵)]	7.43 ± 0.44	4.31 ± 0.27	2.83 ± 0.16
L ¹ SH*	3.53 ± 0.31	7.43 ± 0.70	11.03 ± 0.17
L ² SH*	2.55 ± 0.02	3.32 ± 0.01	4.26 ± 0.01
L ³ SH*	2.99 ± 0.02	4.71 ± 0.41	6.13 ± 0.09
L ⁴ SH*	30.63 ± 1.35	43.19 ± 4.27	25.50 ± 0.99
Цисплатин**	9.02 ± 0.90	15.2 ± 1.10	11.20 ± 1.90
Ауронофин***	6.49 ± 0.71	6.21 ± 0.89	

* Данные представлены в [12], ** – [58], *** – [59].

вых клеток по сравнению с исходными основаниями Шиффа.

Таким образом, взаимодействие серосодержащих оснований Шиффа с [(Ph₃P)AuCl] приводит к образованию серии фосфинтиолатных комплексов золота(I). Методом РСА изучено молекулярное строение комплекса I, для которого характерно формирование внутримолекулярных водородных связей между пирокатехиновыми гидроксильными и иминовым атомом азота. Исследование электрохимических свойств комплексов показало, что окисление соединений I–V на первой стадии протекает необратимо и ведет к разрыву связи Au–S с последующей димеризацией тиольных радикалов. Наличие дополнительных редокс-активных групп обуславливает возникновение второго редокс-перехода. В катодной области методом ЦВА для I–III зафиксировано образование относительно устойчивых анион-радикалов, а в случае соединений IV и V данная стадия является необратимой. Анализ антирадикальной активности комплексов золота(I) в реакциях с синтетическими радикалами указывает на общую тенденцию к снижению нейтрализующих свойств по сравнению с лигандами. Комплексы I–V не оказывают выраженного влияния на повреждение молекул ДНК в присутствии радикального промотора. В то же время I, II, IV и V обладают выраженным антиоксидантным действием на процесс перекисного окисления липидов гомогената печени крыс *Wistar*. Антибактериальная активность I–IV сопоставима или ниже показателей, полученных для оснований Шиффа. В случае соединения V присутствие хинометидной группы благоприят-

ствует возникновению бактериостатического эффекта по сравнению с исходным лигандом.

Анализ результатов показателей цитотоксичности комплексов на исследуемых клеточных линиях выявил их большую избирательность по отношению к определенным типам раковых клеток, чем у оснований Шиффа. Для V фиксировались минимальные показатели IC₅₀ в ряду полученных комплексов золота(I), что указывает на его высокую цитотоксичность, обусловленную присутствием хинометидного фрагмента. Варьирование типа редокс-активной группы (пирокатехиновая, фенольная, хинометидная), а также заместителей в имиотиофенольном фрагменте или положения иминогруппы по отношению к золотосодержащему фрагменту позволяет регулировать избирательность цитотоксического действия по отношению к рассмотренным линиям раковых клеток по сравнению с исходными основаниями Шиффа.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 19-29-08003), а также государственного задания (№ 123031400121-0).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Herrera R.P., Gimeno M.C.* // Chem. Rev. 2021. V. 121. № 14. P. 8311.
2. *Galassi R., Luciani L., Wang J.* // Biomolecules. 2022. V. 12. P. 80.

3. *van der Westhuizen D., Bezuidenhout D.I., Munro O.Q.* // Dalton. Trans. 2021. V. 50. P. 17413.
4. *Chupakhin E., Krasavin M.* // Expert Opin. Ther. Pat. 2021. V. 31. № 8. P. 745.
5. *Shpakovsky D.B., Shtil A.A., Kharitonashvili E.V. et al.* // Metallomics. 2018. V. 10. P. 406.
6. *Milaeva E.R., Shpakovsky D.B., Gracheva Y.A. et al.* // Pure Appl. Chem. 2020. V. 92. № 8. P. 1201.
7. *Antonenko T.A., Gracheva Yu.A., Shpakovsky D.B. et al.* // J. Organomet. Chem. 2022. V. 960. P. 122191.
8. *Bian M., Wang X., Sun Y. et al.* // Eur. J. Med. Chem. 2020. V. 193. P. 112234.
9. *Sun Y., Lu Y., Bian M. et al.* // Eur. J. Med. Chem. 2021. V. 211. P. 113098.
10. *Babgi B.A., Alsayari J., Alenezi H.M. et al.* // Pharmaceuticals. 2021. V. 13. P. 461.
11. *Yoshida T., Onaka S., Shiotsuka M.* // Inorg. Chimica Acta. 2003. V. 342. P. 319.
12. *Smolyaninov I.V., Burmistrova D.A., Arsenyev M.V. et al.* // ChemistrySelect. 2021. V. 6. № 39. P. 10609.
13. *Гордон А., Форд Р.* Спутник химика. М.: Мир, 1976. 437 с.
14. *CrysAlisPro*, version 1.171.38.41; Rigaku Oxford Diffraction, 2015.
15. *Sheldrick G.M.* // Acta Crystallogr. Sect. A: Found. Adv. 2015. V. 71. P. 3.
16. *Sheldrick G.M.* // Acta Crystallogr. Sect. C: Struct. Chem. 2015. V. 71. P. 3.
17. *Bondet V., Brand-Williams W., Berset C.* // Food. Sci. Technol. 1997. V. 30. № 6. P. 609.
18. *Re R., Pellergrini N., Prolegente A. et al.* // Free Rad. Biol. Med. 1999. V. 26. № 9/10. P. 1231.
19. *Özyürek M., Güçlü K., Tütem E. et al.* // Anal. Methods. 2011. V. 3. P. 2439.
20. *Smolyaninov I.V., Pitikova O.V., Korchagina E.O. et al.* // Bioorg. Chem. 2019. V. 89. P. 103003.
21. *Строев Е.Н., Макарова В.Г.* Практикум по биологической химии: М.: Высшая школа. 1986. 232 с.
22. *Smolyaninov I.V., Burmistrova D.A., Arsenyev M.V. et al.* // Molecules. 2022. V. 27. № 10. P. 3169.
23. CLSI, Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. Approved Standards, 10th edn. CLSI document M07-A10. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2015.
24. *Astaf'eva T.V., Arsenyev M.V., Rumyantsev R.V. et al.* // ACS Omega. 2020. V. 5. № 35. P. 22179.
25. *Арсеньев М.В., Баранов Е.В., Чесноков С.А. и др.* // Изв. АН. Сер. хим. 2013. № 11. С. 2394 (*Arsenyev M.V., Baranov E.V., Chesnokov S.A. et al.* Russ. Chem. Bull. 2013. V. 62. № 11. P. 2394).
26. *Baryshnikova S.V., Bellan E.V., Poddel'sky A.I. et al.* // Eur. J. Inorg. Chem. 2016. V. 2016. № 33. P. 5230.
27. *Poddel'sky A.I., Arsenyev M.V., Astaf'eva T.V. et al.* // J. Organomet. Chem. 2017. V. 835. P. 17.
28. *Arsenyev M.V., Astaf'eva T.V., Baranov E.V. et al.* // Mendeleev Commun. 2018. V. 28. P. 76.
29. *Helmstedt U., Lebedkin S., Hoher T. et al.* // Inorg. Chem. 2008. V. 47. P. 5815.
30. *Watase S., Kitamura T., Kanehisa N. et al.* // Acta Crystallogr., Sect. C: Cryst. Struct. Commun. 2004. V. 60. P. m104.
31. *Watase S., Kitamura T., Kanehisa N. et al.* // Chem. Lett. 2003. V. 32. P. 1070.
32. *Kang J.-G., Cho H.-K., Park C. et al.* // Inorg. Chem. 2007. V. 46. P. 8228.
33. *Ahmed L.S., Clegg W., Davies D.A. et al.* // Polyhedron. 1999. V. 18. P. 593.
34. *Milaeva E.R., Shpakovsky D.B., Dyadchenko V.P. et al.* // Polyhedron. 2017. V. 127. P. 512.
35. *Yoshida T., Onaka S., Shiotsuka M.* // Inorg. Chim. Acta. 2003. V. 342. P. 319.
36. *Jones A.M., Rahman M.H., Bal M.K.* // ChemElectroChem. 2020. V. 6. № 16. P. 4093.
37. *Silva T.L., Maria de Lourdes S.G. de Azevedo, Ferreira F.R. et al.* // Curr. Opin. Electrochem. 2020. V. 24. P. 79.
38. *Mohamed A.A., Bruce A.E., Bruce M.R.M.* // Metal-based Drugs. 1999. V. 6. № 4–5. P. 233.
39. *Chen J., Jiang T., Wei G. et al.* // J. Am. Chem. Soc. 1999. V. 121. P. 9225.
40. *Mohamed A., Chen J., Bruce A.E. et al.* // Inorg. Chem. 2003. V. 42. P. 2203.
41. *Abdou H.E., Mohamed A.A., Fackler Jr. J.P. et al.* // Coord. Chem. Rev. 2009. V. 253. P. 1661.
42. *Kupiec M., Ziółkowski R., Massai L. et al.* // J. Inorg. Biochem. 2019. V. 198. P. 110714.
43. *Smolyaninov I.V., Poddel'sky A.I., Baryshnikova S.V. et al.* // Applied Organometal. Chem. 2018. V. 32. P. e4121.
44. *Baryshnikova S.V., Poddel'sky A.I., Bellan E.V. et al.* // Inorg. Chem. 2020. V. 59. P. 6774.
45. *Vessièrès A., Wang Y., McGlinchey M. J. et al.* // Coord. Chem. Rev. 2021. V. 430. P. 213658.
46. *Nobili S., Mini E., Landini I. et al.* // Med. Chem. Res. 2010. V. 30. P. 550.
47. *Abás E., Pena-Martínez R., Aguirre-Ramírez D. et al.* // Dalton Trans. 2020. V. 49. P. 1915.
48. *Luo J.M., Ma X., Jiang W. et al.* // Eur. J. Med. Chem. 2022. V. 232. P. 114168.
49. *Смолянинов И.В., Кузьмин В.В., Арсеньев М.В. и др.* // Изв. АН. Сер. хим. 2017. № 7. С. 1217 (*Smolyaninov I.V., Kuzmin V.V., Arsenyev M.V. et al.* // Russ. Chem. Bull. 2017. V. 7. P. 1217).
50. *Thangamani S., Mohammad H., Abushahba M.F.N. et al.* // Sci. Rep. 2016. V. 6. P. 22571.
51. *de Almeida A. M., de Oliveira B.A., de Castro P.P. et al.* // Biometals. 2017. V. 30. P. 841.
52. *Liu Y., Lu Y., Xu Z. et al.* // Drug Discov. Today. 2022. V. 27. № 7. P. 1961.
53. *Stenger-Smith J.R., Mascharak P.K.* // ChemMedChem. 2020. V. 15. № 18. P. 2136.
54. *Bolton J.L., Dunlap T.* // Chem. Res. Toxicol. 2017. V. 30. P. 13.
55. *Madajewski B., Boatman M.A., Chakrabarti G. et al.* // Mol. Cancer Res. 2016. V. 14. P. 14.
56. *Parkinson E.I., Hergenrother P.J.* // Acc. Chem. Res. 2015. V. 48. № 10. P. 2715.
57. *Zhang K., Chen D., Ma K. et al.* // J. Med. Chem. 2018. V. 61. P. 6983.
58. *Antonenko T.A., Shpakovsky D.B., Berseneva D.A. et al.* // J. Organomet. Chem. 2020. V. 909. P. 121089.
59. *Fereidoonnazhad M., Mirsadeghi H.A., Abedanzadeh S. et al.* // New J. Chem. 2019. V. 43. P. 13173.

УДК 541.49+546.47+54.05

СИНТЕЗ, СТРОЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КОМПЛЕКСА ЦИНКА(II) С 5-БЕНЗИЛТЕТРАЗОЛОМ И 1,10-ФЕНАНТРОЛИНОМ¹

© 2023 г. Е. А. Ермакова¹, Ю. А. Голубева¹, К. С. Смирнова¹, Л. С. Ключова², И. В. Ельцов³, Е. В. Лидер^{1, *}

¹Институт неорганической химии им. А.В. Николаева СО РАН, Новосибирск, Россия

²Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины, Новосибирск, Россия

³Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

*e-mail: lisalider@ngs.ru

Поступила в редакцию 22.12.2022 г.

После доработки 26.01.2023 г.

Принята к публикации 13.02.2023 г.

Синтезирован комплекс $[Zn(Phen)(H_2O)_2]$ (I), где HL – 5-бензилтетразол, Phen – 1,10-фенантролин. Соединение охарактеризовано стандартными физико-химическими методами анализа (элементный и рентгенофазовый анализ, ИК-спектроскопия). Методом рентгеноструктурного анализа (CCDC № 2220597) установлено, что в кристаллической структуре I координационное окружение цинка соответствует искаженной тригональной бипирамиде. Лиганд HL является монодентатным и координируется атомом азота тетразолатного цикла. Методом ЯМР изучена стабильность комплекса I в ДМСО. На клеточных линиях HepG-2 (клетки гепатоцеллюлярной карциномы) и MRC-5 (нераковые клетки – фибробласты человека) исследованы цитотоксические свойства полученного соединения. Показано, что комплекс I проявляет слабовыраженные цитотоксические свойства в исследованном диапазоне концентраций (1–100 мкМ).

Ключевые слова: цинк, кристаллическая структура, цитотоксичность, MRC-5

DOI: 10.31857/S0132344X22600631, **EDN:** WAENNY

Цинк – биосовместимый элемент, который входит в структуру активных центров почти 300 ферментов, участвующих практически во всех стадиях метаболизма. Помимо своей роли в ферментативном катализе и экспрессии генов, цинк стабилизирует структуру белков и нуклеиновых кислот, способствует сохранению целостности субклеточных органелл, участвует в транспортных процессах и играет важную роль в иммунном ответе [1]. Цинк также является хорошим комплексообразователем с кислород- и азотсодержащими лигандами, поэтому изучение биологических свойств его комплексов является актуальной задачей.

Немаловажным фактором для проведения интенсивных исследований в этой области является биологическая активность самих лигандов, поскольку биологические свойства координационных соединений зависят не только от природы

металла, но и от природы лигандов и функциональных групп, участвующих в координации. В последнее время интенсивно развивается химия тетразолов – ежегодно публикуются сотни работ, посвященных синтезу новых функционально-замещенных производных этого класса лигандов [2, 3].

Тетразолы и их производные проявляют антибактериальную [4, 5], противовоспалительную, противогрибковую [6–9], противовирусную [10, 11], противотуберкулезную, антиноцицептивную, гипогликемическую и многие другие виды активности, также они могут выступать в качестве ингибиторов циклооксигеназы и оказывать противоопухолевое действие [12–16]. Кроме того, тетразолы используются в качестве катализаторов при синтезе фосфонатов [17].

Таким образом, от координационных соединений, содержащих производные тетразола, можно ожидать выраженную биологическую активность. Ранее нашей научной группой была получена и охарактеризована серия цитотоксичных комплексов

¹ Дополнительная информация для этой статьи доступна по doi 10.31857/S0132344X22600631 для авторизованных пользователей.

меди(II) на основе 5-бензилтетразола и производных 2,2'-бипиридина (Bipy), 1,10-фенантролина (Phen) [18]. Для дальнейшего исследования влияния центрального иона на биологические свойства комплексов было целесообразно получить родственные комплексы на основе 5-бензилтетразола.

В настоящей работе синтезирован разнолигандный комплекс цинка(II) с 5-бензилтетразолом (HL) и 1,10-фенантролином (Phen), строение которого впервые установлено методом рентгеноструктурного анализа (РСА). Цитотоксическая активность полученного комплекса исследована в отношении клеточной линии гепатоцеллюлярной карциномы (HepG-2) и на нераковых клетках — фибробластах человека (MRC-5). Кроме того, проведено сравнение его активности с активностью аналогичного разнолигандного комплекса меди(II).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для синтеза комплекса I использовали коммерчески доступный ацетат цинка(II) квалификации “ч. д. а.”, коммерчески доступные органические лиганды: 5-бензилтетразол (чистота 99%) и 1,10-фенантролин (чистота 98%).

Синтез $[Zn(Phen)(H_2O)L_2]$ (I). К этанольному раствору (2 мл) Phen (0.10 ммоль, 0.019 г) присыпали

порошок ацетата цинка(II) (0.10 ммоль, 0.022 г), получившийся бесцветный раствор перемешивали на магнитной мешалке 5 мин. К раствору приливали HL (0.20 ммоль, 0.032 г), растворенный в 2 мл этанола. Полученный раствор отфильтровывали через бумажный фильтр (“синяя лента”) и оставляли на длительное время для кристаллизации. Маточный раствор в течение нескольких месяцев испарялся без образования кристаллов, после чего добавляли 3 мл ДМСО и раствор снова оставляли на кристаллизацию. В течение длительного времени при медленной кристаллизации при комнатной температуре на воздухе из ДМСО получили монокристаллы, пригодные для РСА. Кристаллы отфильтровывали на стеклянном фильтре и затем промывали небольшими порциями этанола. Выход 0.030 г (52%).

ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3200 $\nu(\text{OH})$, 3026, 2954, 2920, 2855 $\nu(\text{CH})$; 1627, 1609, 1581, 1535, 1517, 1463 ($R_{\text{кольца}}$).

Найдено, %: C 57.4; H 4.2; B 23.8.

Для $C_{28}H_{24}N_{10}OZn$

вычислено, %: C 57.8; H 4.2; B 24.1.

Отнесение сигналов ЯМР ^1H и ЯМР ^{13}C представлено на схеме 1.

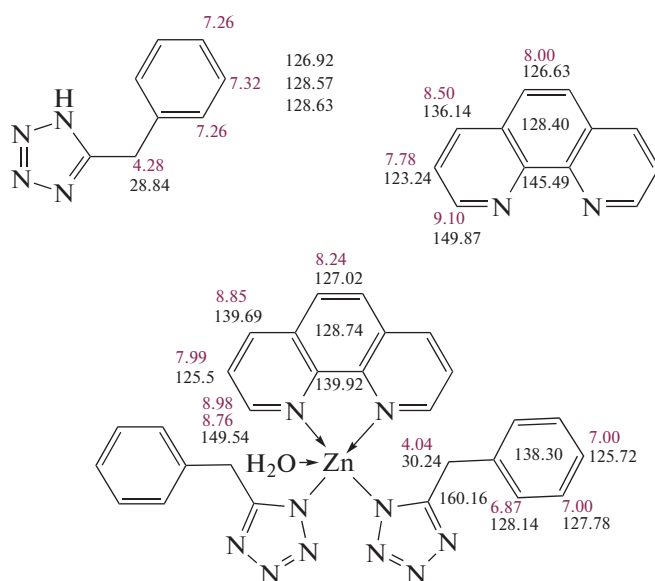


Схема 1.

Спектр ПМР (δ , м.д.): δ 4.04 (уш.с., 4H, $\text{CH}_2(\text{HL})$), 6.87 (уш.с., 4H, *o*-Ph(HL)), 7.00 (уш.с., 6H, *m,p*-Ph(HL)), 7.99 (уш.с., 2H, 3,8-Phen), 8.24 (уш.с., 2H, 5,6-Phen), 8.76 (уш.с., 1H, 2-Phen), 8.85 (уш.с., 2H, 4,7-Phen), 8.98 (уш.с., 1H, 10-Phen).

Спектр ЯМР (δ , м.д.): δ 30.24 ($\text{CH}_2(\text{HL})$), 125.50 (3,8-Phen), 125.72 (*p*-Ph), 127.02 (5,6-Phen), 127.78 (*m*-Ph), 128.14 (*o*-Ph), 128.74 (4a,6a-Phen), 138.30 (*i*-Ph), 139.69 (4,7-Phen), 139.92 (1a,10a-Phen), 149.54 (2,9-Phen), 160.16 ($\text{C}=\text{N}(\text{HL})$).

Таблица 1. Кристаллографические данные, параметры эксперимента и уточнения структуры I

Параметры	Значения
Брутто-формула	C ₂₈ H ₂₄ N ₁₀ OZn
<i>M</i>	581.94
Сингония	Ромбическая
Пр. группа	<i>Pnma</i>
<i>a</i> , Å	20.9174(5)
<i>b</i> , Å	12.2910(3)
<i>c</i> , Å	10.0573(2)
α , град	90
β , град	90
γ , град	90
<i>V</i> , Å ³	2585.69(10)
<i>Z</i>	4
ρ (выч.), г/см ³	1.495
μ , мм ⁻¹	0.994
Размер кристалла, мм	0.18 × 0.12 × 0.05
Диапазон сбора данных по 2 θ , град	4.49–63.02
Диапазоны <i>h</i> , <i>k</i> , <i>l</i>	–20 ≤ <i>h</i> ≤ 23, –15 ≤ <i>k</i> ≤ 13, –40 ≤ <i>l</i> ≤ 37
Число измеренных рефлексов	52077
Число независимых рефлексов (<i>R</i> _{int} , <i>R</i> _{σ})	4479 (0.0482, 0.0234)
Число уточняемых параметров	209
Число ограничений	0
GOOF по <i>F</i> ²	1.024
<i>R</i> ₁ , <i>wR</i> ₂ (<i>I</i> > 2 σ (<i>I</i>))	0.0285, 0.0701
<i>R</i> ₁ , <i>wR</i> ₂ (все данные)	0.0381, 0.0741
$\Delta\rho_{\max}/\Delta\rho_{\min}$, е Å ⁻³	0.38/–0.30

Элементный анализ на С, Н, N выполняли в аналитической лаборатории Института неорганической химии им. А.В. Николаева СО РАН на CHNS-анализаторе vario MICRO cube по стандартной методике.

ИК-спектры регистрировали на Фурье спектрометре Scimitar FTS 2000 в области 4000–400 см⁻¹. Образцы готовили в виде суспензий в вазелиновом или фторированном масле.

Рентгенофазовый анализ выполнен (РФА) на дифрактометре Shimadzu XRD-7000 (CuK α -излучение, Ni-фильтр, диапазон измерений 2 θ от 5° до 50°, шаг 0,03° 2 θ , накопление 1 с в точке).

Регистрацию спектров ЯМР проводили на спектрометре Bruker Avance III 500 с рабочей частотой 499.93 МГц для ядер ¹H и 125.71 МГц для ядер ¹³C. Для эксперимента использовали насыщенный раствор образца комплекса I (10 mM) в ДМСО и раствор 10 mM смеси свободных лигандов. Эксперименты проводили при двух температурах: 300 и 323 К. В качестве стандарта использова-

ли сигналы растворителя: δ = 2.50 м.д. для остаточных протонов в спектре ЯМР ¹H и δ = 39.5 м.д. для спектров ЯМР ¹³C.

РСА комплекса I проведен на дифрактометре Bruker D8 Venture с использованием монохроматического графитового излучения MoK α (λ = 0.71073 Å) при 150 К (табл. 1). Поправки на поглощение применяли с использованием программы SADABS [19]. Структура расшифрована прямым методом и уточнена с использованием программного пакета SHELXTL [20] в графическом интерфейсе OLEX2 [21]. Параметры атомного смещения для неводородных атомов уточнены анизотропно. Положения атомов водорода рассчитаны в соответствии с их геометрическими позициями и уточнены с использованием модели “наездника”.

Полный набор рентгеноструктурных параметров депонирован в Кембриджском банке структурных данных (CCDC № 2220597; <https://www.ccdc.cam.ac.uk/structures>) и могут быть получены у авторов.

Цитотоксическая активность. Жизнеспособность клеток оценивали на клеточных линиях HepG2 (клетки гепатокарциномы) и MRC-5 (нераковые клетки — фибробласты человека), которые культивировали в 96 луночных планшетах в среде IMDM в CO₂ инкубаторе. Через 24 ч добавляли препараты, растворенные в ДМСО в диапазоне концентраций 1–100 мкМ и инкубировали 48 ч. Затем добавляли флуоресцентные красители Hoechst 33342 (Sigma-Aldrich) и пропиций иодид (Invitrogen) и окрашивали в течение 30 мин. Съемку проводили на приборе IN Cell Analyzer 2200 (GE Healthcare, UK) в автоматическом режиме 4-х полей на лунку. Полученные изображения анализировали с помощью программы In Cell Investigator. Результат представлен в виде среднего значения процента живых и мертвых клеток, а также клеток, находящихся в стадии апоптоза, $\pm$ стандартное отклонение.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Комплекс I получен медленной кристаллизацией из раствора ДМСО, содержащего ацетат цинка(II), 5-бензилтетразол и 1,10-фенантролин (схема 2). При синтезе комплекса использовали соотношение $Zn^{2+} : Phen : HL = 1 : 1 : 2$, что позволило получить чистую фазу I с достаточно высоким выходом (52%). Полученное соединение растворимо в ДМСО, этаноле и плохо растворимо в ацетонитриле, ацетоне, воде и фосфатном буфере.

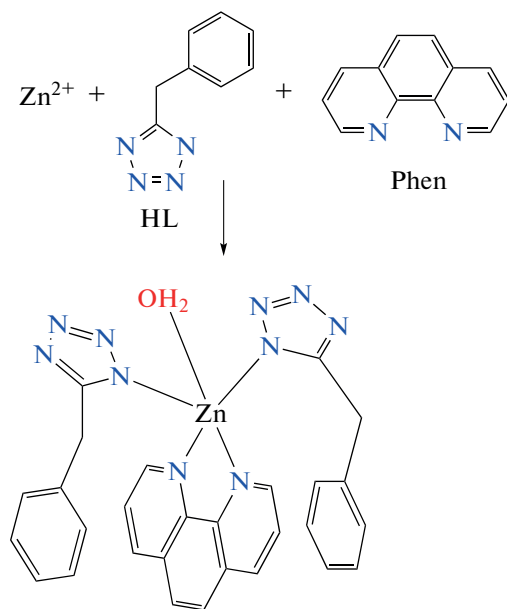


Схема 2.

В экспериментальной части представлены основные характеристические частоты в ИК-спектре комплекса I. В области 3030–2855 см⁻¹ в спектре комплекса расположены полосы, характерные для валентных колебаний $\nu(C-H)$ бензольного цикла, а в области 1630–1463 см⁻¹ расположены валент-

ные колебания ароматических колец лигандов. Кроме того, в спектре комплекса наблюдается полоса валентных колебаний координированной молекулы воды (3200 см⁻¹).

Монокристаллы в виде бесцветных пластин были выделены из маточного раствора. По данным РСА, полученный комплекс цинка(II) является мооядерным соединением (рис. 1а). В окружении центрального атома находятся четыре атома азота и один атом кислорода, тем самым координационный полиэдр цинка(II) можно описать как тригональную бипирамиду, при этом параметры анализа SHAPE $S(D_{3h})$ и τ_5 составили 0.69 и 0.75, что подтверждает геометрию координационной сферы. Длины связей Zn–N и Zn–O в экваториальной плоскости варьируются в диапазоне 2.1059(13)–2.1963(14) Å, а длина апикальной связи Zn–N равна 2.0113(10) Å. 5-Бензил-тетразол-ат-ион проявляет только монодентатный способ координации атомом азота N(1) тетразолатного цикла. К тому же для данного соединения наблюдается внутримолекулярный π -стэкинг (3.700 Å) между фенильной группой лиганда L⁻ и молекулой 1,10-фенантролина. Координированная молекула воды образует водородную связь с атомами азота тетразолатного цикла ближайших молекул комплекса, расстояние O...N составляет 2.773 Å. В результате мооядерные соединения образуют полимерную цепочку, которая располагается вдоль кристаллографической оси *b* (рис. 1б).

РФА подтвердил однофазность комплекса I (рис. 2).

Поскольку для проведения дальнейших исследований цитотоксической активности важна устойчивость соединения в растворе, методом ЯМР было изучено поведение комплекса I в растворе ДМСО.

Уже на основании спектров ЯМР ¹H можно говорить о том, что исследуемый комплекс I стабилен в растворе. В спектре комплекса по сравнению со спектром смеси лигандов для L⁻ наблюдается значительное смещение всех сигналов атомов водорода в сильное поле (сдвиг в сторону сильного поля) с 4.28 до 4.04 м.д. (рис. 3в и 3а). Несмотря на значительное удаление от донорного атома, значимые различия наблюдаются и в области атомов водорода фенильного фрагмента. Для Phen наоборот, координация приводит к дезэкранированию ядер атомов водорода и, соответственно, к смещению сигналов в область слабого поля. Исключением являются только атомы водорода в положениях 2 и 9, которые претерпевают сдвиг на 0.1–0.35 м.д. Причина данного отличия, по всей видимости, заключается в геометрии комплекса в растворе, при которой данные атомы водорода находятся в области экранирования, создаваемого бензольным кольцом лиганда L⁻.

Обращает на себя внимание достаточно большая ширина сигналов в спектре ЯМР ¹H, а также тот факт, что атомы водорода в положениях 2 и 9

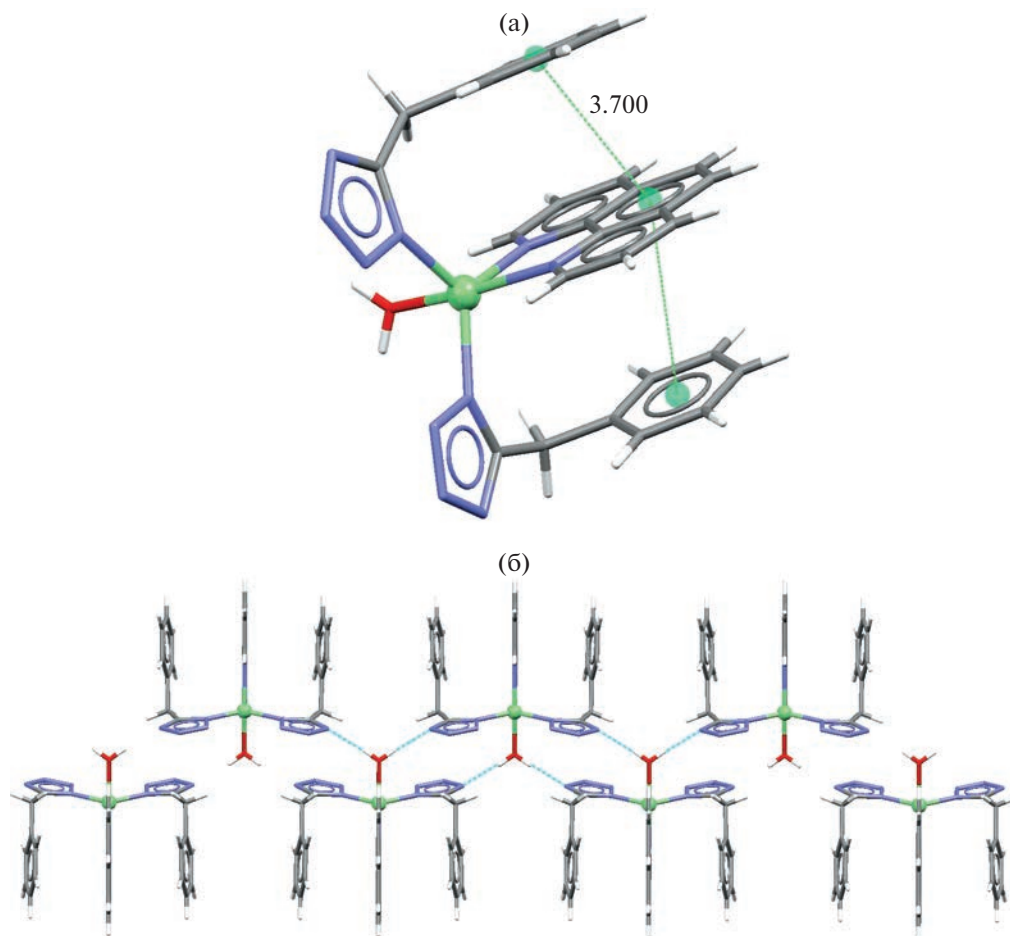


Рис. 1. Структура комплекса I (а) и полимерная цепочка, образованная водородными связями (б).

в спектре оказываются неэквивалентны (8.76 и 8.98 м.д.). Данную ситуацию можно объяснить предположением о стереохимической жесткости молекулы комплекса в растворе при комнатной температуре. Действительно, нагрев раствора до 323 К привел к значительному сужению линий (центральный спектр на рис. 3б) и слиянию сигналов атомов водорода в α -положении в один (8.89 м.д.). При этом даже несмотря на значительный (по сравнению с физиологической температурой) нагрев, положения остальных сигналов в спектре не меняется, что позволяет утверждать о стабильности комплекса даже в этих условиях.

В случае ЯМР ^{13}C также наблюдается значительное отличие между спектрами комплекса I и свободных лигандов (рис. 4). Атом углерода метиленового фрагмента претерпевает сдвиг на ~ 1.5 м.д. в область слабого поля. Также изменение положения на ~ 1 м.д. наблюдается и для атомов углерода фенильного фрагмента. В спектре комплекса I проявляется сигнал от атома углерода тетразолатного цикла, который в спектре свободного лиганда не проявлялся ввиду значительного уширения из-за присутствия мобильного атома водорода NH-

группы. Сигналы фрагмента Phen, как и в случае спектра ЯМР ^1H , значительно уширены и претерпевают незначительный сдвиг относительно положения свободного лиганда. Съемка спектра при повышенной температуре на ядре ^{13}C не проводилась ввиду низкой растворимости комплекса I и, как следствие, очень большой продолжительности температурного эксперимента.

Таким образом, можно сделать заключение, что данные спектроскопии ЯМР ^{13}C полностью совпадают с результатами спектроскопии ЯМР ^1H . Оба лиганда находятся в координированном виде на протяжении всего срока проведения экспериментов (48 ч). Подробные данные спектроскопии ЯМР представлены на рис. S1–S4.

Влияние лигандов и комплекса I на жизнеспособность клеток человека оценивали на клеточных линиях HepG-2 (клетки гепатоцеллюлярной карциномы) и MRC-5 (нераковые клетки – фибробласты человека) с помощью окрашивания флуоресцентными красителями Noechst 33342/пропидий иодидом. Цитотоксический эффект определялся по трем параметрам: процент живых, мертвых клеток и клеток в состоянии апоптоза. Препараты (аце-

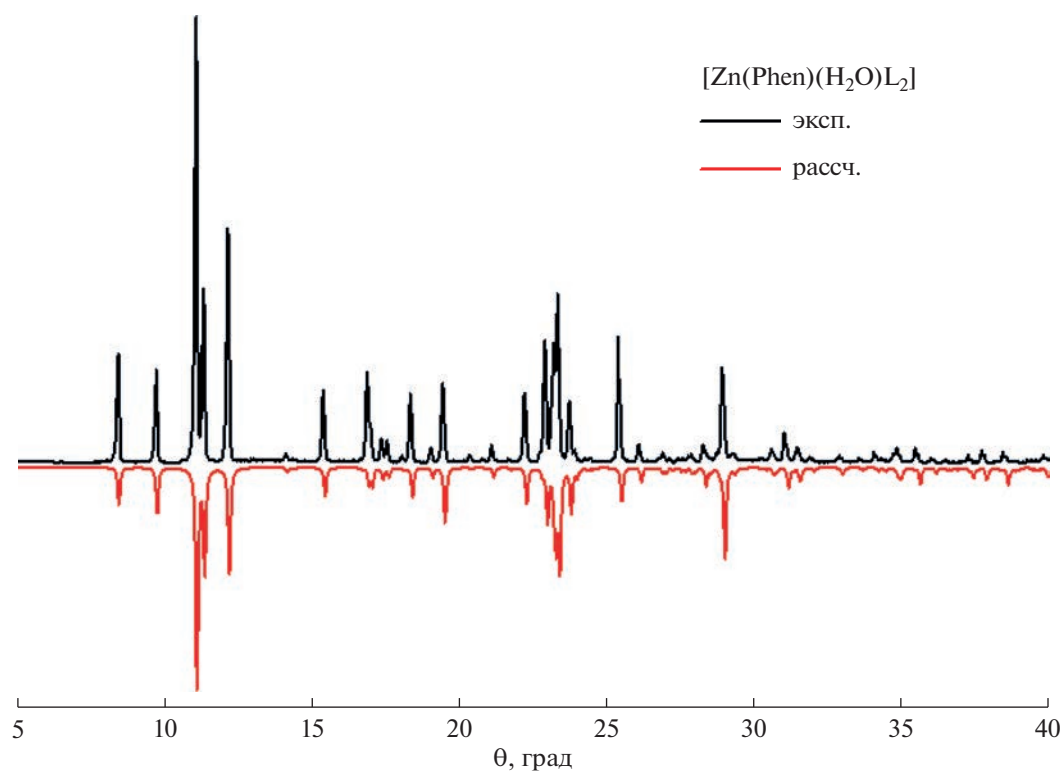
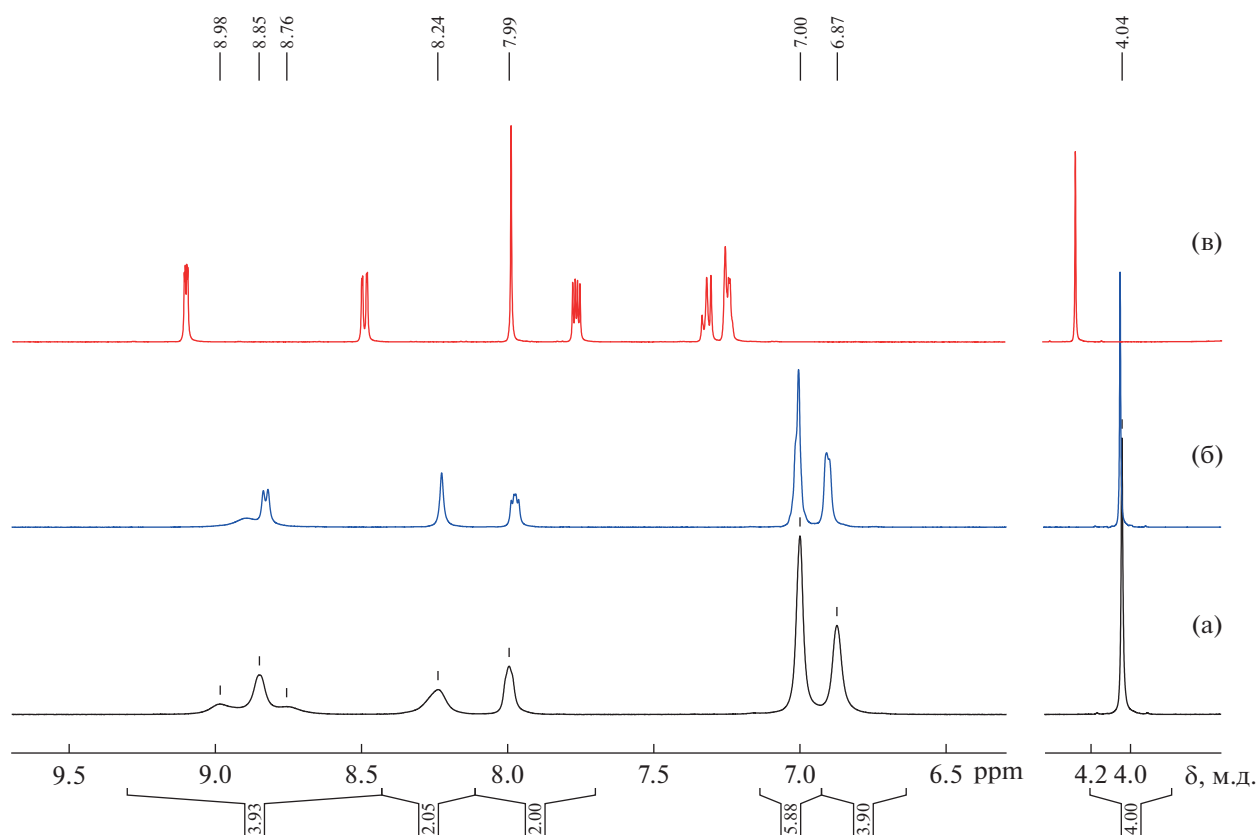


Рис. 2. Дифрактограмма комплекса I.


 Рис. 3. Сравнение спектров ЯМР ^1H : раствор комплекса I при комнатной температуре (а), раствор комплекса I при 323K (б), смесь 10 мМ растворов HL и Phen (в).

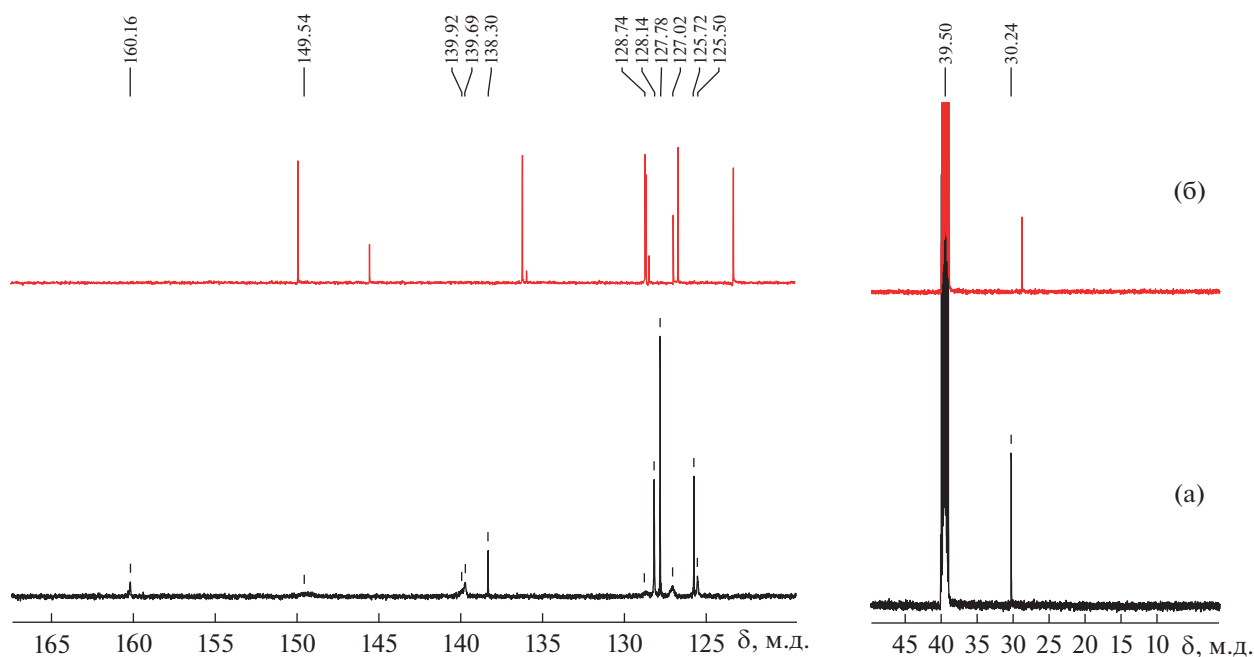


Рис. 4. Сравнение спектров ЯМР ^{13}C : раствор комплекса I при комнатной температуре (а); смесь 10 мМ растворов HL и Phen (б).

тат цинка(II), лиганды и комплекс I) растворяли в соответствующем растворителе (в случае ацетата цинка(II) — в воде, в случае HL и Phen — в этаноле, в случае комплекса I — в ДМСО), а затем разбавляли клеточной средой до необходимых концентраций и добавляли к клеткам, находящимся в питательной среде, в концентрациях 1–100 мкМ. Цисплатин тестировали в тех же условиях и использовали для сравнения.

Цитотоксичность не наблюдалась в диапазоне концентраций 0.1–50 мкМ (время инкубирования с препаратами — 48 ч) после воздействия на клетки НерG-2 и MRC-5 исходных реагентов: $\text{Zn}(\text{OAc})_2$, 5-бензилтетразола и 1,10-фенантролина.

Полученный комплекс I проявил незначительную цитотоксическую активность в диапазоне концентраций 1–100 мкМ, гибель клеток (10–15%) после воздействия этого комплекса начинается при 50 мкМ на клеточной линии НерG-2. Кроме того, наблюдается выраженная цитостатическая активность, показанная на рис. 5а. С течением времени количество клеток по сравнению с контролем уменьшается и составляет 40–45% от контроля на клеточной линии НерG-2. Комплекс I оказался менее токсичным по сравнению с цисплатином, для которого значение IC_{50} (концентрация полумаксимального ингибирования) составляет 33.0 ± 5.4 на клеточной линии НерG-2.

Более того, соединение тестировали на нераковой клеточной линии нормальных фибробластов человека (MRC-5) (рис. 5б). Как и в случае клеточной линии НерG-2, наблюдается незначительный рост процента мертвых клеток в диа-

зоне концентраций 1–100 мкМ, а также проявляется выраженное цитостатическое действие на эту клеточную линию — количество живых клеток остается в диапазоне 10–20% от контроля (начиная с концентрации 5 мкМ). Кроме того, с концентрации 5 мкМ наблюдается существенный рост процента апоптотических клеток, который достигает максимума (~30%) при концентрации 50 мкМ. Тем не менее 50%-ная гибель клеток не достигается даже при концентрации 100 мкМ, в связи с чем не удается рассчитать значение IC_{50} и индекс селективности (отношение значения IC_{50} препарата на MRC-5 к значению IC_{50} препарата на линии раковых клеток). Цисплатин нетоксичен до 50 мкМ на нераковой клеточной линии MRC-5.

Аналогичный комплекс меди(II) с HL и Phen проявил выраженную дозозависимую цитотоксическую активность в отношении клеточной линии НерG-2, значение IC_{50} для него равно 6.7 ± 0.3 мкМ [18]. Таким образом, данное исследование подтверждает предположение о том, что ключевую роль в цитотоксической активности играет фрагмент $[\text{Cu}(\text{Phen})]$, а замена иона меди на ион цинка приводит к ее снижению.

Таким образом, синтезирован и охарактеризован мооядерный комплекс цинка(II) на основе 1,10-фенантролина и производного тетразола — 5-бензилтетразола. Установлено, что в комплексе атом цинка(II) имеет координационное окружение искаженной тригональной бипирамиды, при этом к иону цинка координированы два лиганда L^- атомами азота тетразолатного цикла, а к тому

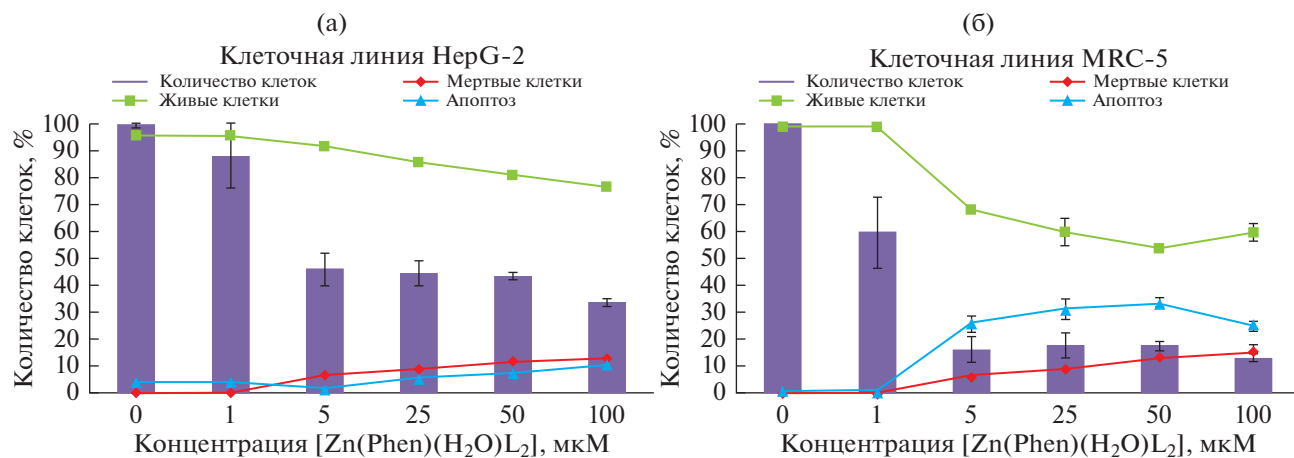


Рис. 5. Графики выживаемости клеток HepG-2 (а) и MRC-5 (б) для комплекса I.

же к центральному атому координирована одна молекула 1,10-фенантролина и воды. Показана методом спектроскопии ЯМР устойчивость комплекса в растворе в течение 48 ч, при этом оба лиганда остаются координированными к иону цинка(II). Исследование цитотоксической активности выявило отсутствие значительного цитотоксического эффекта на клеточную линию гепатоцеллюлярной карциномы HepG-2 и на нераковые клетки – фибробласты человека MRC-5 (в диапазоне 1–100 мкМ). Тем не менее для комплекса наблюдается цитостатическая активность на обеих клеточных линиях.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность А.П. Зубаревой за выполнение элементного анализа, А.А. Шаповаловой – регистрацию ИК-спектров, О.М. Матвеевой – выполнение рентгенофазового анализа.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 20-73-10207) и Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (проект № 121031700321-3). Эксперименты по анализу цитотоксичности выполнены с использованием оборудования ЦКП “Протеомный анализ” ФИЦ ФТМ при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № 075-15-2021-691).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Vallee B.L., Auld D.S. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1990. V. 87. № 1. P. 220.
2. Ostrovskii V.A., Koldobskii G.I., Trifonov, R.E. Comprehensive Heterocyclic Chemistry III / Eds. Elsevier. Oxford, 2008. P. 259.
3. Ostrovskii V.A., Trifonov R.E., Popova E.A. // Russ. Chem. Bull. 2012. V. 61. № 4. P. 768.
4. Dofe V.S., Sarkate A.P., Kathwate S.H. et al. // Heterocycl. Commun. 2017. V. 23. № 4. P. 325.
5. Chohan Z.H., Supuran C.T., Scozzafava A. // J. Enzyme Inhib. Med. Chem. 2008. V. 19. № 1. P. 79.
6. Brand S.R., Degenhardt T.P., Person K. et al. // Am. J. Obstet. Gynecol. 2017. V. 217. № 6. P. 715.
7. Hoekstra W.J., Hargrove T.Y., Wawrzak Z. et al. // Antimicrob. Agents Chemother. 2015. V. 60. № 2. P. 1058.
8. Gonzalez-Lara M.F., Sifuentes-Osorio J., Ostrosky-Zeichner L. // Drugs. 2017. V. 77. № 14. P. 1505–1518.
9. Warrilow A.G.S., Parker J.E., Price C.L. et al. // Antimicrob. Agents Chemother. 2016. V. 60. № 8. P. 4530–4538.
10. May B.C.H., Abell A.D. // Tetrahedron Lett. 2001. V. 42. № 33. P. 5641.
11. May B.C.H., Abell A.D. // Perkin Trans. 2002. V. 2. № 2. P. 172.
12. Popova E.A., Protas A.V., Trifonov R.E. // Anticancer. Agents Med. Chem. 2017. V. 17. № 14. P. 1856.
13. Romagnoli R., Baraldi P.G., Salvador M.K. et al. // J. Med. Chem. 2012. V. 55. № 1. P. 475.
14. Jedhe G.S., Paul D., Gonnade R.G. et al. // Bioorganic Med. Chem. Lett. 2013. V. 23. № 16. P. 4680.
15. Beale T.M., Allwood D.M., Bender A. et al. // ACS Med. Chem. Lett. 2012. V. 3. № 3. P. 177.
16. Subba Rao A.V., Swapna K., Shaik S.P. et al. // Bioorganic Med. Chem. 2017. V. 25. № 3. P. 977.
17. Mohite P.B., Bhaskar V.H. // Int. J. PharmTech Res. 2011. V. 3. № 3. P. 1557.
18. Eremina J.A., Smirnova K.S., Klyushova L.S. et al. // J. Mol. Struct. 2021. V. 1245. P. 131024.
19. Bruker Apex3 Software Suite: Apex3, SADABS-2016/2 and SAINT. Version 2018.7-2. Madison (WI, USA): Bruker AXS Inc., 2017.
20. Sheldrick G.M. // Acta Crystallogr. A. 2015. V. 71. P. 3.
21. Sheldrick G.M. // Acta Crystallogr. C. 2015. V. 71. P. 3.

УДК 541.49+546.02

ОСОБЕННОСТИ СВЯЗЫВАНИЯ БИОАКТИВНЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ МОЛЕКУЛ С МЕТАЛЛИЧЕСКОЙ МАТРИЦЕЙ ГЕТЕРОЯДЕРНЫХ 3d-4f СТРУКТУР, СОДЕРЖАЩИХ МЯГКИЕ И ЖЕСТКИЕ МЕТАЛЛОЦЕНТРЫ НА ПРИМЕРЕ Nd(III)–Cu(II) КОМПЛЕКСА

© 2023 г. М. А. Каткова^{1, *}, Г. Ю. Жигулин¹, Е. В. Баранов¹, Г. С. Забродина¹, М. С. Муравьева^{1, 2}, С. Ю. Кетков¹, И. Г. Фомина³, И. Л. Еременко³

¹Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева РАН, Нижний Новгород, Россия

²Приволжский исследовательский медицинский университет, Нижний Новгород, Россия

³Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН, Москва, Россия

*e-mail: marina@iomc.ras.ru

Поступила в редакцию 21.02.2023 г.

После доработки 21.03.2023 г.

Принята к публикации 22.03.2023 г.

На основе (3-гидрокси-2-метил-4-оксо-4Н-пиридин-1-ил)-ацетата (L) впервые синтезирован полиядерный аланингидроксиматный металлмакроциклический комплекс $\text{Nd}(\text{C}_8\text{H}_7\text{NO}_4)(\text{H}_2\text{O})[\text{15-MC}_{\text{Cu(II)Alaha}}-5](\text{CH}_3\text{COO})$ с аксиальным 3-гидрокси-4-пиридиновым лигандом. Методами РСА (CCDC 2242224) и квантовой химии установлено, что при взаимодействии лиганда L с ионом Nd^{3+} , удерживаемым за счет ионных связей с атомами кислорода в матрице медьсодержащего металлмакроцикла, происходит формирование аксиальных связей между Nd^{3+} и диоксоленовым фрагментом пиридинового лиганда, имеющих ковалентный вклад. Эти аксиальные связи приближаются по своим топологическим и энергетическим характеристикам к связям Cu^{2+} с аминными атомами азота аланингидроксиматного металлмакроцикла.

Ключевые слова: полиядерные металлмакроциклические комплексы, неодим(III), медь(II), 3-гидрокси-4-пиридинон, молекулярная структура, рентгеноструктурный анализ, DFT-расчеты

DOI: 10.31857/S0132344X23600157, **EDN:** WBQJTM

Полиядерные металлмакроциклические комплексы на основе биологически активных α -аминогидроксиматных лигандов представляют уникальный класс гетероядерных металлкраунов (MC), структурно напоминающих краун-эфиры [1–5]. Ранее на основе разработанного нами оригинального синтетического подхода [6, 7], синтезированы и охарактеризованы методом РСА водорастворимые $\text{Ln(III)}-\text{Cu(II)}$ аквакомплексы MC. Особенностью строения лантаноид(III)-медных(II) комплексов является наличие плоского или почти плоского металлмакроцикла, состоящего из пяти ионов Cu(II) , пяти аминоксидрогисматных лигандов и центрального иона Ln^{3+} , координационно связанного с пятью оксидными атомами кислорода металлацикла, и апиальными молекулами воды (схема 1) [6–10]. Такая структура обеспечивает потенциальную возможность для аксиальной координации дополнительных анионных лигандов с атомом лантаноида.

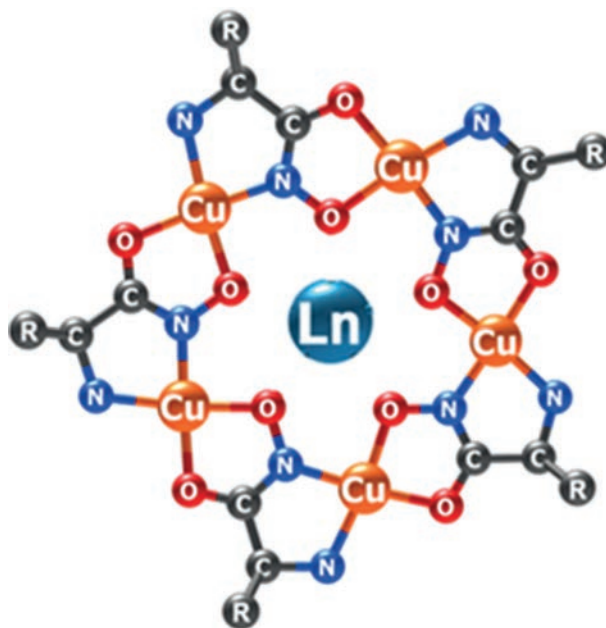


Схема 1.

Одним из наиболее подробно изученных аксиальных лигандов МС-комплексов начиная с 2001 г. являются органические карбоксилаты [11]. При их исследовании была показана возможность применения Ln(III)–Cu(II) МС-комплексов для молекулярного распознавания и сенсорики биологически значимых объектов [12–18]. С точки зрения химии координационных соединений лантаноидов, очевидный интерес представляют хелатные лиганды, содержащие, наряду с карбоксилатными, дополнительные функциональные группы, способные к координации на металл. Так, введение гидроксильной группы в α -положение к карбоксильной группе приводит к образованию энергетически выгодного плоского хелатного пятичленного цикла Ln–O–C–C–O. Это обстоятельство способствовало успешной реализации распознавания оптических изомеров α -гидроксикислот в присутствии Ln(III)–Cu(II) МС-комплексов [19, 20].

Несомненный интерес представляют хелатные биоактивные лиганды, содержащие, наряду с карбоксилатными, 3-гидрокси-4-пиридиновые фрагменты (схема 2). Производные 3-гидрокси-4-пиридина хорошо известны благодаря их биомедицинским применениям [21, 22]. Они входят в состав многих биологически активных веществ природного происхождения и синтетических лекарственных препаратов [23, 24]. Однако МС-комплексы с 3-гидрокси-4-пиридиновыми лигандами до сих пор не были изучены.

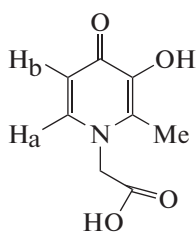


Схема 2.

Цель настоящей работы – получение нового полиядерного аланингидроксиматного металлациклического Nd(III)–Cu(II)-комплекса с аксиальным (3-гидрокси-2-метил-4-оксо-4Н-пиридин-1-ил)-ацетатным лигандом (L) для установления возможности связывания биологически активных лигандов пиридинового типа аланингидроксиматными металлакраунами.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве объектов исследования использовали водорастворимый аква-Nd(III) полиядерный металлациклический аланингидроксиматный комплекс $\text{Nd}(\text{H}_2\text{O})_4[15\text{-МС}_{\text{Cu(II)Alaha-5}}](\text{Cl})_3$, синтезированный ранее согласно разработанным методикам [7, 8] и (3-гидрокси-2-метил-4-оксо-

4Н-пиридин-1-ил)-уксусная кислота, синтезированная по методике [25].

Элементный анализ выполняли на элементном анализаторе EuroVector CHNS-O Elemental Analyzer Euro EA 3000. ИК-спектры регистрировали на Perkin Elmer Spectrum 65LS FT-IR спектрометре ($400\text{--}4000\text{ см}^{-1}$) методом нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО). Электронные спектры поглощения комплексов записывали на СФ-56 спектрофотометре при комнатной температуре. Спектры ЯМР регистрировали на спектрометре Bruker Avance III (400 МГц). Образцы растворяли в смеси 90% H_2O –10% D_2O . Одномерные спектры ЯМР ^1H регистрировали при комнатной температуре (23°C) с использованием импульсной последовательности Noesygppr1d (Bruker), в которой для подавления сигнала воды используется метод преднасыщения сигнала. Обработку спектров осуществляли при помощи программы Bruker TopSpin 3.5 pl7.

Синтез комплекса $\text{Nd}(\text{C}_8\text{H}_7\text{NO}_4)(\text{H}_2\text{O})[15\text{-МС}_{\text{Cu(II)Alaha-5}}](\text{CH}_3\text{COO}) \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (I). К горячему водному раствору (3-гидрокси-2-метил-4-оксо-4Н-пиридин-1-ил)-уксусной кислоты (0.366 г, 2 ммоль) добавляли раствор $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0.176 г, 1 ммоль) в 20 мл воды. Реакционную смесь кипятили с воздушным холодильником в течение часа. К полученному оранжевому раствору добавляли раствор аланингидроксиматного металлакрауна $\text{Nd}(\text{H}_2\text{O})_4[15\text{-МС}_{\text{Cu(II)Alaha-5}}](\text{Cl})_3$ (1.31 г, 1 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 6 ч при 80°C . Полученный темно-синий раствор отфильтровывали и выдерживали при комнатной температуре. Образовавшиеся кристаллы, пригодные для PCA, отделяли от маточного раствора декантацией и высушивали на воздухе. Выход кристаллов синего цвета соединения I 0.48 г (33%).

Найдено, %: C 20.58; H 4.70; N 10.55.

Для $\text{C}_{25}\text{H}_{67}\text{N}_{11}\text{O}_{29.5}\text{Cu}_5\text{Nd}$

вычислено, %: C 20.63; H 4.64; N 10.58.

ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3236, 3142, 2984, 2936, 1657, 1648, 1576, 1542, 1446, 1398, 1372, 1290, 1169, 1100, 1063, 980, 914, 884, 806, 722, 645, 620, 587, 554, 477. ЯМР ^1H (90% H_2O –10% D_2O ; 400 МГц; δ , м.д.): 8.34 (с.уш., 1H, H_b), 7.89 (с., 1H, H_a), 2.95 (с., 3H, CH₃), 2.80 (с., 3H, CH₃).

PCA монокристалла I выполнен на автоматическом четырехкружном дифрактометре Agilent Xcalibur E (MoK_α -излучение, ω -сканирование, $\lambda = 0.71073\text{ \AA}$). Сбор дифракционных данных, начальное индифференцирование отражений, уточнение параметров элементарной ячейки и интегрирование экспериментального набора интенсивностей произведены в программе CrysAlisPro [26]. Алго-

Таблица 1. Кристаллографические данные, параметры эксперимента и уточнения структуры I

Параметр	Значение
Брутто-формула	$C_{25}H_{67}N_{11}O_{29.50}Cu_5Nd$
M	1455.83
Температура, K	100(2)
Сингония	Орторомбическая
Пр. группа	$P2_12_12_1$
a , Å	16.5132(2)
b , Å	16.9849(2)
c , Å	17.6708(2)
V , Å ³	4956.22(10)
Z	4
ρ (выч.), г/см ³	1.951
μ , мм ⁻¹	3.237
Размер кристалла, мм	$0.449 \times 0.211 \times 0.164$
$F(000)$	2940
Область сбора данных по 2θ , град	2.07–30.51
Число отражений измеренных/независимых	104 136/15 134
R_{int}	0.0934
R_1 , wR_2 ($I > 2\sigma(I)$)	0.0395, 0.0840
R_1 , wR_2 (по всем данным)	0.0507, 0.0889
S	1.064
Абсолютный структурный параметр	–0.029(6)
Остаточная электронная плотность (max/min), e/Å ³	2.283/–2.096

ритм SCALE3 ABSPACK [27] использован для эмпирического учета поглощения. Структура расшифрована прямыми методами по “dual-space” алгоритму в программе SHELXT [28]. Неводородные атомы уточнены полноматричным МНК по F_{hkl}^2 в анизотропном приближении с помощью программного пакета SHELXTL [29, 30]. Атомы водорода помещены в геометрически рассчитанные положения и уточнены изотропно в модели “наездника” с фиксированными тепловыми параметрами ($U_{iso}(H) = 1.5U_{eq}(C)$ для CH_3 -групп, $U_{iso}(H) = 1.2U_{eq}(C)$ для остальных групп). Атомы Н молекул воды локализованы из разностного синтеза Фурье электронной плотности и уточнены в изотропном приближении. В кристалле I обнаружены сольватные молекулы воды, в соотношении 8.5 : 1 к молекуле катионного комплекса неодама. Графические изображения молекулярной и кристаллической структуры I созданы в программе OLEX2 [31]. Основные кристаллографические характеристики и параметры рентгеноструктурного эксперимента для I приведены в табл. 1, основные длины связей и валентные углы – в табл. 2.

Структура I зарегистрирована в Кембриджском банке структурных данных (CCDC № 2242224 и доступна по адресу: ccdc.cam.ac.uk/getstructures).

Методика квантово-химических расчетов. Полная DFT оптимизация геометрии комплекса $\{Nd(L)-(H_2O)[15-MC_{Cu(II)Alaha-5}]\}^+$ выполнена с помощью программного пакета Priroda 20 [32, 33]. Ранее показано, что Priroda способна корректно моделировать сложные полиядерные комплексы 3d- и 4f-элементов [34–36]. Для расчетов использован функционал PBE [37] в сочетании с четырехкомпонентным одноэлектронным скалярно-релятивистским (SR) приближением полного уравнения

Таблица 2. Основные длины связей (d) для комплекса I

Связь	d , Å
Nd(1)–O(oxime)	2.436(4)–2.527(4)
Nd(1)–O(aq)	2.503(4)
Nd(1)–O(L)	2.356(4), 2.444(4)
Cu–O (15-MC-5)	1.929(4)–1.961(4)
Cu–N (15-MC-5)	1.900(5)–2.034(5)
Cu–O(aq)	2.373(5)–2.621(5)

Дирака, в котором спин-орбитальными членами пренебрегают. Для всех атомов применялся трижды валентно-расщепленный полноэлектронный релятивистский корреляционно-согласованный базис L2 (аналог cc-pVTZ) из семейства b4s.in [38]. Известно, что DFT-моделирование 15-металлакраунов-5 редкоземельных элементов в высокоспиновом состоянии хорошо согласуется с экспериментальными результатами [39, 40]. Поэтому комплекс $\{Nd(L)(H_2O)[15-MC_{Cu(II)Alaha}-5]\}^+$ смоделирован как высокоспиновая система с максимальной мультиплетностью ($M = 9$, нонет). Значение градиента, при котором завершена оптимизация геометрии в Priroda 20, составляет 10^{-5} . Заданная точность решения уравнений самосогласованного поля (SCF) равна 10^{-8} , при точности сетки численного интегрирования 10^{-9} . Решение уравнений SCF выполнено по алгоритму Ньютона–Рафсона с учетом малых компонентов плотности (ключевые слова `prosc = NR` и `dlsmall = 1` в коде Priroda). Для оптимизированной структуры $\{Nd(L)(H_2O)[15-MC_{Cu(II)Alaha}-5]\}^+$, электронная энергия которой составляет -20531.73084878 ат. ед., в Priroda 20 получены значения электронной плотности $\rho(\mathbf{r}_c)$ в критических точках и собственные значения λ_1 , λ_2 и λ_3 гессиана $A(\mathbf{r}_c)$. Далее величины лапласиана плотности $\nabla^2\rho(\mathbf{r}_c)$ были рассчитаны по формуле (1) [41]. Значения плотности кинетической электронной энергии $G(\mathbf{r}_c)$ вычислены исходя из приближения Абрамова (2) [42]. Величины плотности потенциальной электронной энергии $V(\mathbf{r}_c)$ получены согласно теореме вириала (3) [41]. Энергии межатомных взаимодействий E рассчитаны по формуле Эспинозы (4) [43].

$$\nabla^2\rho(\mathbf{r}_c) = \lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3, \quad (1)$$

$$G(\mathbf{r}_c) = (3/10)(3\pi^2)^{2/3}\rho(\mathbf{r}_c)^{5/3} + (1/6)\nabla^2\rho(\mathbf{r}_c), \quad (2)$$

$$V(\mathbf{r}_c) = (1/4)\nabla^2\rho(\mathbf{r}_c) - 2G(\mathbf{r}_c), \quad (3)$$

$$E = -(1/2)V(\mathbf{r}_c). \quad (4)$$

Изоповерхности спиновой плотности, функции локализации электронов $\eta(\mathbf{r})$ (ELF) [44, 45] и градиента приведенной плотности $s(\mathbf{r})$ (RDG) [46] получены в Gabedit 2.5.0 [47] на основе волновой функции оптимизированной в Priroda 20 структуры. Набор значений $\eta(\mathbf{r})$, заданных для построения контурных карт ELF, описывается зависимостью (5), в которой N – натуральное число от 1 до 9 включительно. Изоповерхность RDG получена в соответствии с формулой (6) при $\rho(\mathbf{r}) \leq 0.05$ ат. ед.

$$\eta(\mathbf{r}) = -N^2/200 + (19/200)N + 9/20, \quad (5)$$

$$s(\mathbf{r}) = |\nabla\rho(\mathbf{r})|/(2(3\pi^2)^{1/3}\rho(\mathbf{r})^{4/3}). \quad (6)$$

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В продолжение исследований влияния структуры Ln(III)-Cu(II) аланингидроксиматного металакрауна и природы лиганда пиридинового типа на образование новых полифункциональных соединений нами синтезирован комплекс $Nd(C_8H_7NO_4)(H_2O)[15-MC_{Cu(II)Alaha}-5](CH_3COO) \cdot nH_2O$ (I). Продукты реакции выделены в виде монокристаллов и охарактеризованы методами СНН-анализа, ИК-спектроскопии и РСА. Исследования стабильности полученного комплекса проводили в физиологическом растворе (рН 7.0) и изотоническом фосфатном буфере (рН 7.4) (рис. 1). Установлено, что комплекс I стабилен в этих условиях в течение более 2 недель.

Спектры ЯМР 1H комплекса сравнивались со спектрами свободного лиганда (рис. 2). Наиболее информативными являются сигналы протонов H_a и H_b пиридинового кольца ввиду большей чувствительности к комплексообразованию с парамагнитным МС. Так, значительное уширение сигнала и сдвиг в слабое поле наблюдались для протона H_b (см. схему 2 для нумерации протонов), изменение химического сдвига H_b составило 1.35 м.д. (540 Гц), H_a 0.01 м.д. (6 Гц).

Молекулярное и кристаллическое строение комплекса I окончательно установлено методом РСА. Соединение I представляет собой ионный комплекс, состоящий из разделенных катиона $Nd(C_8H_7NO_4)(H_2O)[15-MC_{Cu(II)Alaha}-5]^+$ и ацетатного аниона (рис. 3). Атом неодима Nd(1) расположен в центре медного металакрауна и связан с пятью атомами кислорода O(1,3,5,7,9) в экваториальной плоскости. Атом Nd(1) дополнительно координирован молекулой воды и пиридиновым лигандом, расположенными в апикальных позициях. Дианионный лиганд L координируется на атоме лантаноида бидентатно посредством атомов O(12) и O(13) (рис. 3б). Длины связей O(12)–C(16) и O(13)–C(17) равны 1.305(7) и 1.330(7) Å, соответственно, и совпадают по величине с аналогичными расстояниями в комплексе $La(Dpp)_3$, содержащем родственные 3-гидрокси-1,2-диметилпиридин-4-он лиганды (Dpp) (1.285(3)–1.330(3) Å) [48]. Металл–лиганд расстояния Nd(1)–O(12) и Nd(1)–O(13) заметно дифференцированы и составляют значения 2.444(4) и 2.356(4) Å. В пиридиновом лиганде расстояния C–O (C(23)–O(14) и C(23)–O(15)) выравнены (1.238(8) и 1.253(8) Å), что указывает на карбоксилатный характер фрагмента C(23)O(14)O(15), аналогично в исходном 3-гидрокси-1-карбоксиметил-2-метил-4-пиридиновом соединении (1.226(2)–1.273(2) Å [25, 49]). Отметим, что в структуре, родственной пиридиновому лиганду, 1-(3-гидрокси-2-метил-4-оксопиридил)-1,3-пропандикарбоновой кислоте [50], содержащей две

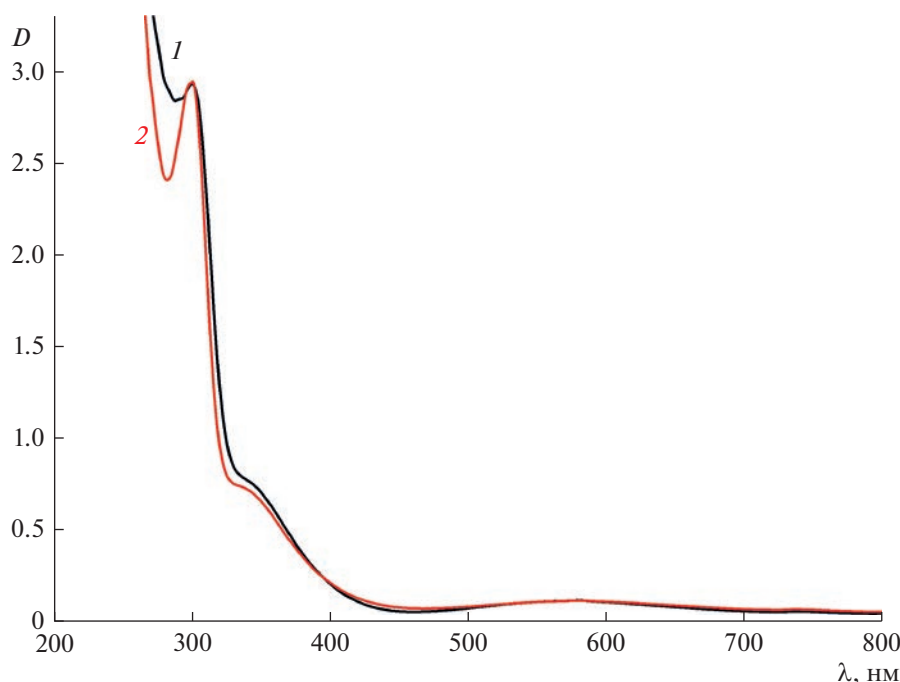


Рис. 1. Электронные спектры поглощения комплекса I ($c = 0.4$ мМ) в физиологическом растворе (pH 7.0) (1) и изотоническом фосфатном буфере (pH 7.4) (2).

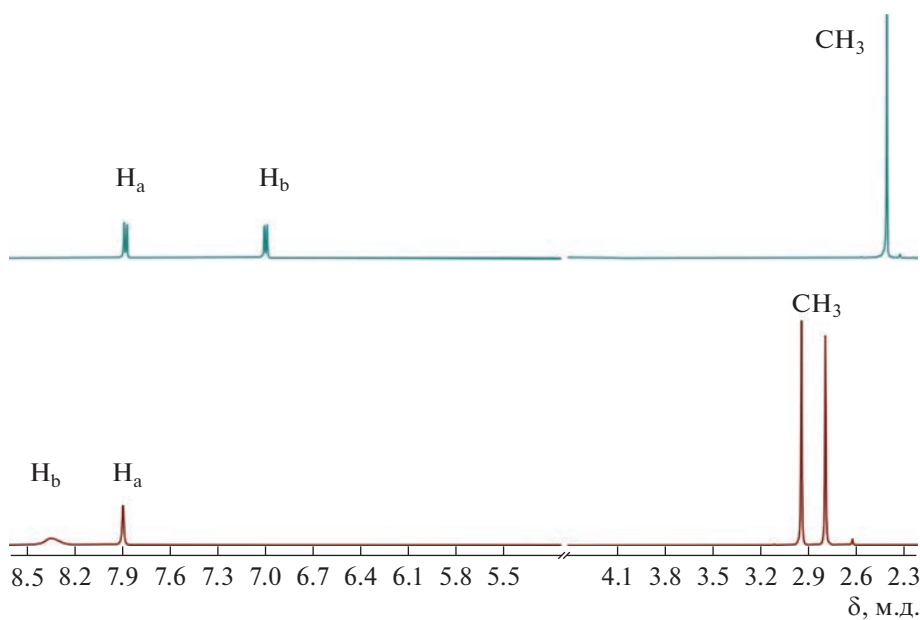


Рис. 2. Сравнение спектров ЯМР ^1H исходного лиганда (сверху) и комплекса I (снизу).

функциональные группы – карбоксилатную (ионную) и карбоксильную (нейтральную), длины связей C–O в них заметно различаются (1.233(9), 1.268(9) и 1.20(1) и 1.35(1) Å соответственно). Ацетат-анион является внешнесферной молекулой и находится над плоскостью медного металамакроцикла, вблизи молекулы воды, координированной

на Nd(1). Длины связей C(24)–O(20) и C(24)–O(21) в ацетат-анионе равны 1.271(9), 1.262(8) Å и близки к аналогичным расстояниям в карбоксилатной группе пиридинового заместителя.

Медный металамакроцикл 15-МС-5 неплоский, имеет слегка волнообразную форму. Среднее отклонение неводородных атомов метала-

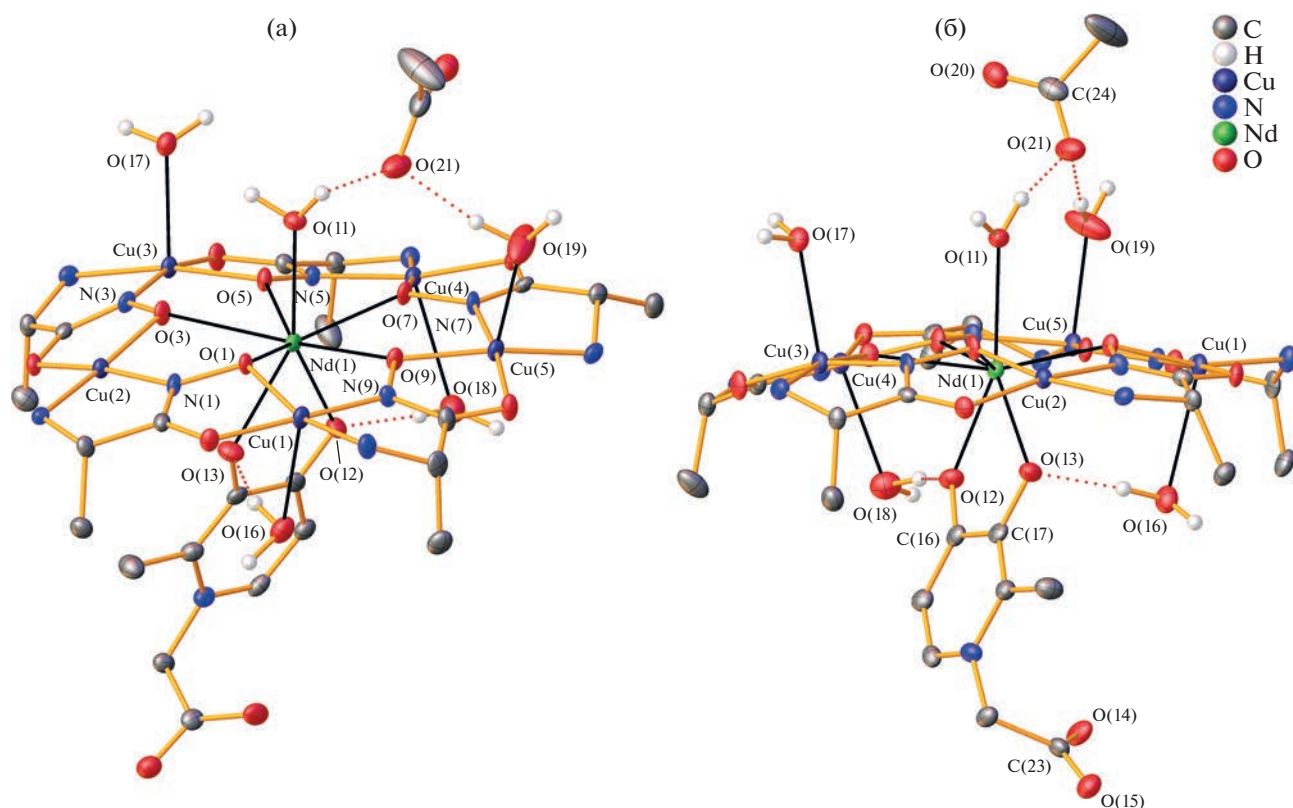


Рис. 3. Общий (а) и профильный (б) вид молекулярной структуры комплекса I. Тепловые эллипсоиды атомов приведены с 50%-ной вероятностью. Сольватные молекулы воды и атомы водорода, за исключением Н координированных молекул H_2O , не показаны.

циклического фрагмента от плоскости составляет $0.32 \text{ \AA}$. Атом неодима Nd(1) смещен из плоскости металакрауна на $0.024(1) \text{ \AA}$ в сторону пиридинового лиганда. Сумма углов ONd(1)O между заместителями в экваториальной плоскости составляет 354.4° . Углы между апикальными заместителями имеют значения $150.54(14)^\circ$ и $142.74(14)^\circ$. Хелатный угол пиридинового лиганда равен $66.40(14)^\circ$.

Атомы меди Cu(1) и Cu(3–5) в металакрауне дополнительно координированы молекулами воды и, таким образом, имеют квадратно-пирамидальное окружение. Две пары молекул воды с атомами кислорода O(16), O(18) и O(17), O(19), соответственно, расположены по разные стороны от плоскости металакрауна. Молекулы воды с атомами O(16) и O(18), помимо координации на атомах Cu(1) и Cu(4), дополнительно взаимодействуют с пиридиновым лигандом через водородные связи $\text{O(16)}-\text{H}\dots\text{O(13)}$ ($1.81(3) \text{ \AA}$) и $\text{O(18)}-\text{H}\dots\text{O(12)}$ ($1.74(3) \text{ \AA}$). Пара молекул воды O(11) и O(19), координированных соответственно на Nd(1) и Cu(5), связывают внешнесферный ацетат-анион за счет водородных связей $\text{O(11)}-\text{H}\dots\text{O(21)}$ ($1.84(3) \text{ \AA}$) и $\text{O(19)}-\text{H}\dots\text{O(21)}$ ($1.87(2) \text{ \AA}$).

Отметим, что четыре из пяти метильных заместителей аланингидроксиматов расположены под

плоскостью металакрауна. Выход Me-групп из этой плоскости варьируется в диапазоне $1.690(6)$ – $2.178(8) \text{ \AA}$ в сторону пиридинового лиганда. Пятая метильная группа расположена практически в плоскости металакрауна, и ее выход из плоскости составляет $0.343(7) \text{ \AA}$, незначительно смещаясь также в сторону пиридина.

В кристалле I вдоль кристаллографической оси b наблюдаются одномерные цепочки молекул неодимового комплекса, формируемые посредством межмолекулярных контактов $\text{Cu(2)}\dots\text{O(8)}$ ($2.671(4) \text{ \AA}$) (рис. 4а). Молекулы комплекса Nd(III) в цепочках выстраиваются в синдиотактическом порядке. Координационное число атома Cu(2) равно 5 и координационная сфера Cu(2) характеризуется квадратно-пирамидальной конфигурацией. Вдоль плоскости $c0b$ одномерные цепочки образуют упаковочные слои двух типов, чередующиеся попеременно вдоль оси a кристалла (рис. 4б).

Квантово-химическое моделирование пространственного и электронного строения выполнено для катионной формы комплекса $\{\text{Nd(L)}(\text{H}_2\text{O})\text{[15-MC}_{\text{Cu(II)Alaha}}\text{-5]}\}^+$. Соответствующие расчеты проведены на уровне SR-PBE/L2 теории функционала плотности (DFT). Оптимизация геометрии

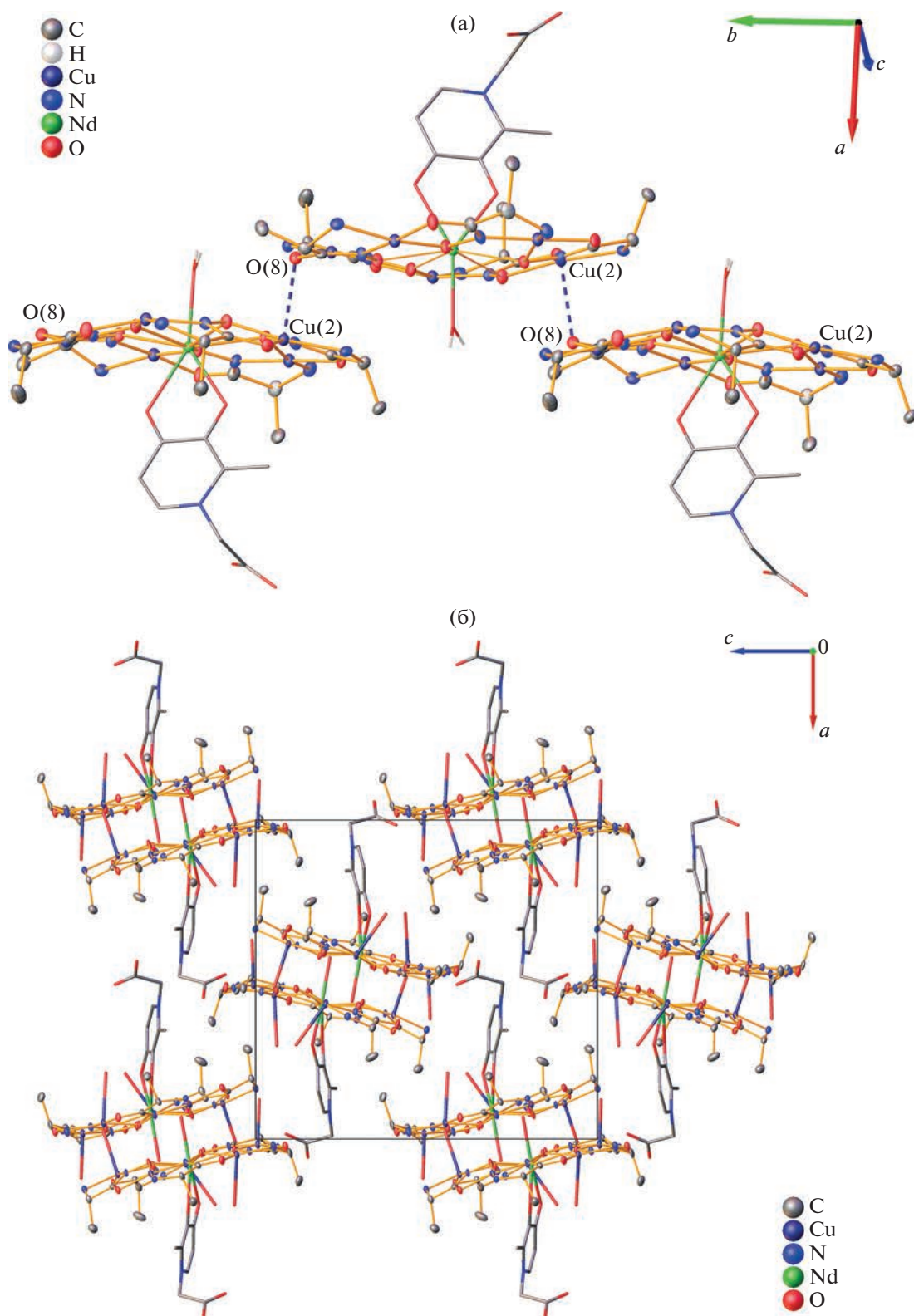


Рис. 4. Фрагмент одномерной цепочки (а) и упаковки (б) I в кристалле. Атомы водорода, ацетат-анион и часть молекул воды не представлены.

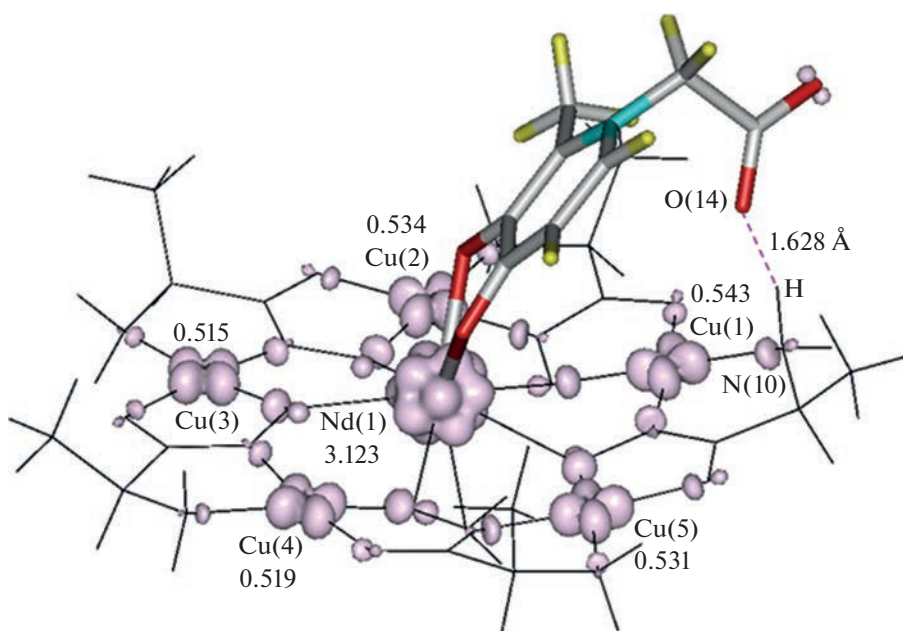


Рис. 5. Распределение спиновой плотности (изоповерхность при 0.03 ат. ед.) для оптимизированной структуры комплекса $\{\text{Nd}(\text{L})(\text{H}_2\text{O})[15\text{-MC}_{\text{Cu(II)Alaha}}\text{-5}]\}^+$ с указанием спиновых заселенностей по Малликену.

$\{\text{Nd}(\text{L})(\text{H}_2\text{O})[15\text{-MC}_{\text{Cu(II)Alaha}}\text{-5}]\}^+$ приводит к структуре, в которой карбоксилатный фрагмент 3-гидрокси-4-пиридинового лиганда взаимодействует с NH_2 -группой аланингидросиматного лиганда (рис. 5). Отклонение от кристаллической структуры вызвано стремлением 3-гидрокси-4-пиридинового лиганда компенсировать собственный отрицательный заряд. В отличие от кристаллической матрицы, в модели изолированного комплекса $\{\text{Nd}(\text{L})(\text{H}_2\text{O})[15\text{-MC}_{\text{Cu(II)Alaha}}\text{-5}]\}^+$ нет дополнительных молекул H_2O , которые могли бы взаимодействовать с 3-гидрокси-4-пиридиновым лигандом. По этой причине в DFT-оптимизированной структуре возникает водородная связь $\text{O}(14)\cdots\text{H-N}(10)$, длина которой 1.628 Å. Межмолекулярное взаимодействие с металамакроциклом характерно также для аксиальной молекулы $\text{H}_2\text{O}(11)$. В DFT-оптимизированной структуре, при отсутствии внешнесферного ацетат-аниона, реализуется водородная связь $\text{O}(1)\cdots\text{HO}(11)$ (1.946 Å, рис. 6). Это приводит к существенной переоценке связей $\text{Nd}(1)\text{—O}(1)$ и $\text{Nd}(1)\text{—O}(11)$ (2.645 и 2.663 Å соответственно, табл. 3) по сравнению с экспериментом. Остальные межатомные расстояния Nd—O , а также Cu—O и Cu—N (на примере связей координационного узла $\text{Cu}(3)$) хорошо согласуются с данными PCA. Как и в кристаллической фазе, аксиальные связи с 3-гидрокси-4-пиридиновым лигандом $\text{Nd}(1)\text{—O}(12)$ и $\text{Nd}(1)\text{—O}(13)$ (2.371 и 2.299 Å соответственно) намного короче, чем экваториальные взаимодействия Nd^{3+} с оксимо-выми атомами O металамакроцикла (2.469–2.584 Å без $\text{Nd}(1)\text{—O}(1)$). Для экваториальных

связей Cu^{2+} DFT-расчеты также воспроизводят тенденции PCA. В частности, расстояние $\text{Cu}(3)\text{—N}(4)$ является максимальным (2.075 Å), а $\text{Cu}(3)\text{—N}(3)$ минимальным (1.905 Å).

Значения спиновых заселенностей по Малликену для ионов Cu^{2+} лежат в диапазоне 0.515–0.543, что выявляет делокализацию спиновой плотности в координационном окружении Cu^{2+} (рис. 5). Непосредственно вокруг ядра Cu распределение спиновой плотности соответствует топологии $3d$ -орбитали. С другой стороны, для Nd^{3+} спиновая заселенность равна 3.123, что указывает на полную локализацию трех неспаренных $4f$ -электронов в окрестности ядра Nd. При этом распределение спиновой плотности соответствует локальной симметрии I_h . Иными словами, изоповерхность спиновой плотности вокруг ядра Nd может быть вписана в икосаэдр. На рис. 5 структура комплекса ориентирована так, что наблюдателю видно 11 из 12 доменов изоповерхности вокруг ядра Nd, соответствующих вершинам икосаэдра. При этом шесть четко выраженных доменов спереди соответствуют вершинам одной из двух пентагональных пирамид, которые образуют икосаэдр. Симметрия I_h изоповерхности спиновой плотности вокруг ядра Nd является результатом суперпозиции $4f$ -орбиталей трех неспаренных электронов иона Nd^{3+} .

Топологический анализ электронной плотности комплекса $\{\text{Nd}(\text{L})(\text{H}_2\text{O})[15\text{-MC}_{\text{Cu(II)Alaha}}\text{-5}]\}^+$ выполнен в рамках квантовой теории атомов в молекулах (QTAIM) [41]. В критических точках (3, –1) связей Nd—O , Cu—O , Cu—N , а также кон-

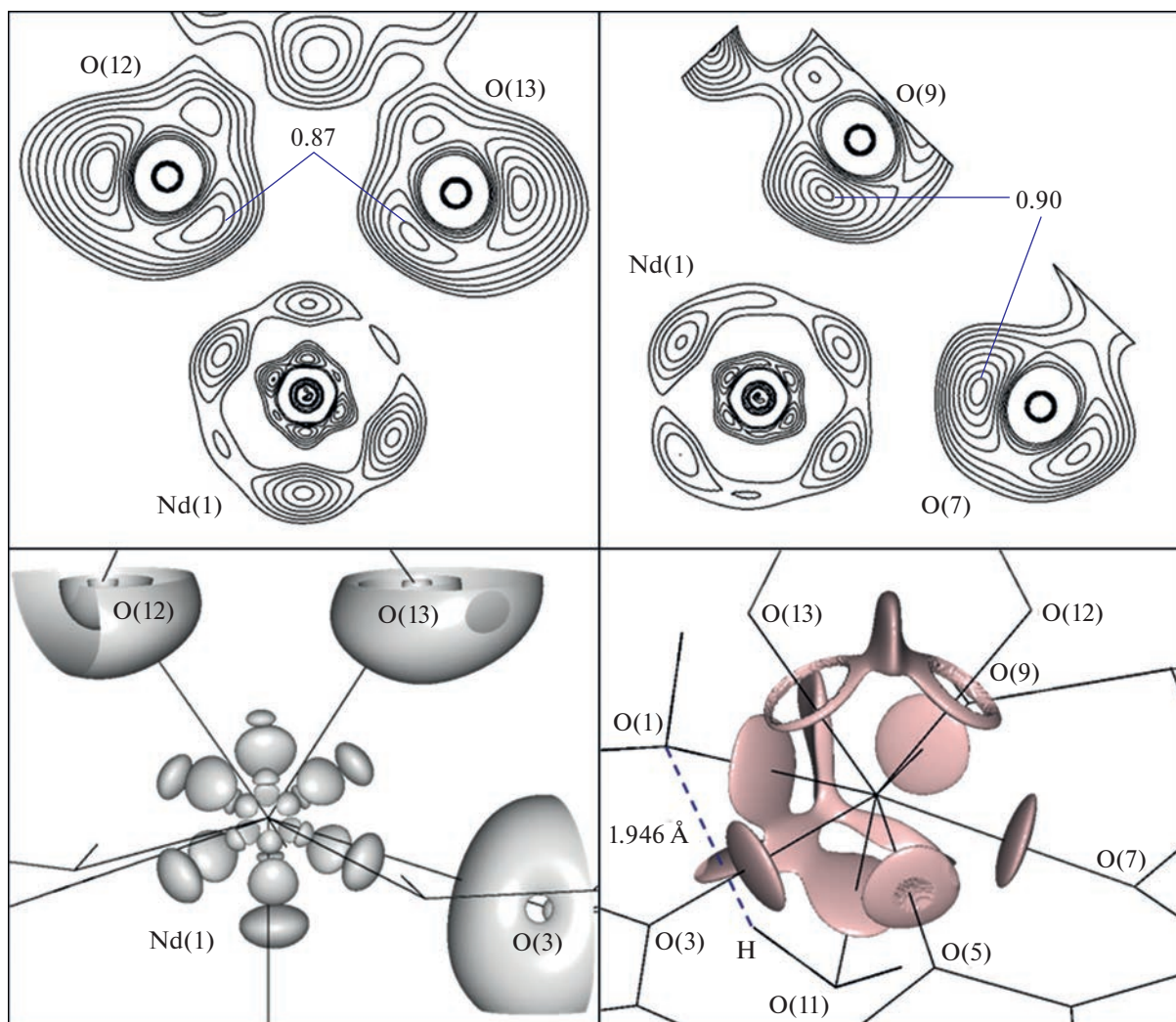


Рис. 6. Электронное строение комплекса $\{Nd(L)(H_2O)[15-MC_{Cu(II)Alaha-5}]^+\}$. Карты распределения ELF в плоскостях атомов O(12), O(13), Nd(1) (вверху слева) и O(9), O(7), Nd(1) (вверху справа); контуры ELF: 0.54, 0.62, 0.69, 0.75, 0.80, 0.84, 0.87, 0.89, 0.90. Изоповерхности ELF при $\eta(r) = 0.76$ (внизу слева) и RDG при $s(r) = 0.5$ (внизу справа) в окрестности ядра Nd(1).

тактов O(14)⋯HN(10) и O(1)⋯HO(11) обнаруживаются невысокие значения электронной плотности $\rho(r_c)$ и положительные величины лапласиана $\nabla^2\rho(r_c)$, что является признаком полярных взаимодействий (табл. 3). Формализм QTAIM позволяет классифицировать типы межатомных контактов. Одним из критериев классификации служит отношение модуля плотности потенциальной электронной энергии $V(r_c)$ к плотности кинетической электронной энергии $G(r_c)$ [51, 52]. Величины $|V(r_c)|/G(r_c) < 1$ описывают контакты “замкнутых” атомных оболочек, в частности ионные связи. Значения $|V(r_c)|/G(r_c) > 2$ характеризуют “обобществленные” взаимодействия (ковалентные связи). Диапазон $1 < |V(r_c)|/G(r_c) < 2$ в терминологии QTAIM соответствует “промежуточным” взаимодействиям. Рассчитанные величины $|V(r_c)|/G(r_c) =$

$= 0.95–1.03$ дают основание рассматривать экваториальные связи Nd–O, а также Nd(1)–O(11) как ионные взаимодействия. Необходимо отметить, что близкие к 1 отношения $|V(r_c)|/G(r_c)$ для связей редкоземельных катионов с оксидными атомами O в 15-металлакраунах-5 предсказываются также DFT-расчетами с псевдопотенциальными базами [9, 53]. С другой стороны, повышенные значения $|V(r_c)|/G(r_c) = 1.13$ и 1.18 соответственно, для Nd(1)–O(12) и Nd(1)–O(13) указывают на более сильное донирование плотности. Соответствующие величины $\rho(r_c) = 0.0620$ и 0.0731 ат. ед., а также энергии связей $E = 23.5$ и 29.9 ккал/моль для Nd(1)–O(12) и Nd(1)–O(13) максимальны по сравнению с остальными связями Nd–O. Интересно, что по энергии “жесткие” взаимодействия Nd(1)–O(12) и Nd(1)–O(13) приближаются к более “мягкой” связи Cu(3)–N(4) (33.0 ккал/моль), кото-

Таблица 3. Топологические параметры (ат. ед.) комплекса $\{\text{Nd}(\text{L})(\text{H}_2\text{O})[15\text{-MC}_{\text{Cu(II)Alaha-5}}]^+\}$ в критических точках (3, –1) и энергии межатомных взаимодействий (ккал/моль)

Связь	$d, \text{\AA}$ (DFT)	$\rho(\mathbf{r}_c)$	$\nabla^2\rho(\mathbf{r}_c)$	$V(\mathbf{r}_c)$	$G(\mathbf{r}_c)$	$ V(\mathbf{r}_c) /G(\mathbf{r}_c)$	E
Nd(1)–O(1)	2.645	0.0313	0.126	–0.0284	0.0300	0.95	8.9
Nd(1)–O(3)	2.543	0.0397	0.157	–0.0396	0.0394	1.00	12.4
Nd(1)–O(5)	2.469	0.0465	0.188	–0.0502	0.0487	1.03	15.8
Nd(1)–O(7)	2.584	0.0368	0.141	–0.0351	0.0351	1.00	11.0
Nd(1)–O(9)	2.535	0.0408	0.160	–0.0411	0.0405	1.01	12.9
Nd(1)–O(11)	2.663	0.0318	0.121	–0.0283	0.0292	0.97	8.9
Nd(1)–O(12)	2.371	0.0620	0.231	–0.0750	0.0663	1.13	23.5
Nd(1)–O(13)	2.299	0.0731	0.263	–0.0953	0.0806	1.18	29.9
Cu(3)–N(3)	1.905	0.1114	0.474	–0.1876	0.1531	1.23	58.9
Cu(3)–N(4)	2.075	0.0765	0.314	–0.1053	0.0919	1.15	33.0
Cu(3)–O(5)	1.952	0.0887	0.486	–0.1417	0.1316	1.08	44.5
Cu(3)–O(6)	1.953	0.0881	0.487	–0.1407	0.1312	1.07	44.1
O(14)···HN(10)	1.628	0.0559	0.121	–0.0569	0.0436	1.31	17.9
O(1)···HO(11)	1.946	0.0290	0.059	–0.0207	0.0178	1.16	6.5

рая является наименее прочной среди экваториальных связей Cu(3). “Промежуточное” взаимодействие Cu(3) с иминовым атомом N(3) характеризуется наибольшим ковалентным вкладом ($|V(\mathbf{r}_c)|/G(\mathbf{r}_c) = 1.23$) и энергией ($E = 58.9$ ккал/моль) среди рассмотренных связей металл–лиганд. В целом классификация связей Cu(3) как “промежуточных” согласуется с известными QTAIM-исследованиями аминоксидосиматных комплексов Cu(II) на базе DFT-расчетов [54]. Существенная разница в оценках энергий водородных связей O(14)···HN(10) и O(1)···HO(11) ($E = 17.9$ и 6.5 ккал/моль соответственно) обусловлена различием в их длинах (1.628 и 1.946 Å).

Результаты, полученные в рамках QTAIM, согласуются с распределением функции локализации электронов $\eta(\mathbf{r})$ (ELF) [44, 45]. Взаимодействующие с Nd^{3+} домены неподеленных пар атомов O(12) и O(13) 3-гидрокси-4-пиридинового лиганда характеризуются максимумами $\eta(\mathbf{r}) = 0.87$ в плоскости O(12), O(13) и Nd(1) (рис. 6). В случае доменов неподеленных пар оксидных атомов O(9) и O(7), ориентированных к ядру Nd, локализация электронов выражена сильнее, а максимумы функции достигают $\eta(\mathbf{r}) = 0.90$. Увеличение локализации электронов в окрестности ядра неметалла соотносится с идеей уменьшения донирования плотности на металл. Нарушение сферического распределения внешней и внутренней атомных оболочек Nd обусловлено влиянием 4f-электронов. Топология ELF, таким образом, согласуется с общепринятыми представлениями о проникновении 4f-электронов в инертные оболочки ионов Ln^{3+} [55]. Как и распределение спиновой плотности в окрестности ядра Nd, топология основного бассейна Nd ($C(\text{Nd})$ в терминологии ELF), соот-

ветствует симметрии икосаэдра (рис. 6). Внешняя оболочка иона Nd^{3+} при этом претерпевает возмущение со стороны 3-гидрокси-4-пиридинового лиганда (а именно атомов O(12) и O(13)), которое нарушает идеальную симметрию I_h внешней оболочки по сравнению с внутренней.

Анализ градиента приведенной плотности $s(\mathbf{r})$ (RDG) позволяет обнаружить области нековалентных взаимодействий (NCI) [46]. При $s(\mathbf{r}) = 0.5$ (рис. 6) в окрестности ядра Nd выявляются шесть дискообразных доменов, соответствующих экваториальным ионным связям Nd–O и аксиальной Nd(1)–O(11). В случае более ковалентных взаимодействий Nd(1)–O(12) и Nd(1)–O(13) (вместо аналогичных доменов) изоповерхность RDG принимает остаточную тороидальную форму. Также на рис. 6 присутствует область RDG между атомами, образующими водородную связь O(1)···HO(11).

Таким образом, исследование методами QTAIM, ELF, RDG на основе DFT-расчетов прогнозирует реализацию прочного связывания биологически активных лигандов пиридинового типа с аланингидроксидными металакранами. Аксиальные взаимодействия 3-гидрокси-4-пиридинового лиганда с ионом Nd^{3+} превышают по энергии экваториальные ионные связи Nd^{3+} с макроциклом. Этим обусловлены устойчивость комплекса не только в кристаллической фазе, но и в водном растворе, где отсутствуют признаки диссоциации на исходный макроцикл и пиридиновый лиганд.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

БЛАГОДАРНОСТИ

РСА и ЯМР-спектроскопия выполнены с использованием оборудования ЦКП ИМХ РАН в рамках государственного задания ИМХ РАН в области фундаментальных научных исследований. ИК-спектроскопия и С,Н,N-анализ выполнены с использованием оборудования ЦКП ФМИ ИОНХ РАН, функционирующего при поддержке государственного задания ИОНХ РАН в области фундаментальных научных исследований.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Квантово-химические расчеты выполнены Г.Ю. Жигулиным при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 22-73-00285 (<https://rscf.ru/project/22-73-00285/>)).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Advances in Metallacrown Chemistry / Ed. Zaleski C.M. Cham: Springer, 2022. 381 p.
- Katkova M.A. // Коорд. химия. 2018. Т. 44. С. 135 (Katkova M.A. // Russ. J. Coord. Chem. 2018. V. 44. P. 284). <https://doi.org/10.1134/S107032841804005X>
- Ostrowska M., Fritsky I.O., Gumienna-Kontecka E. et al. // Coord. Chem. Rev. 2016. V. 327–328. P. 304.
- Tegoni M., Remelli, M. // Coord. Chem. Rev. 2012. V. 256. P. 289.
- Mezei G., Zaleski C.M., Pecoraro V.L. // Chem. Rev. 2007. V. 107. P. 4933.
- Katkova M.A., Zabrodina G.S., Muravyeva M.S. et al. // Eur. J. Inorg. Chem. 2015. V. 2015. P. 5202.
- Katkova M.A., Zabrodina G.S., Baranov E.V. et al. // Appl. Organomet. Chem. 2018. V. 32. P. e4389.
- Muravyeva M.S., Zabrodina G.S., Samsonov M.A. et al. // Polyhedron. 2016. V. 114. P. 165.
- Katkova M.A., Zabrodina G.S., Rumyantsev R.V. et al. // Eur. J. Inorg. Chem. 2019. V. 2019. P. 4328.
- Kremlev K.V., Samsonov M.A., Zabrodina G.S. et al. // Polyhedron. 2016. V. 114. P. 96.
- Cutland A.D., Halfen J.A., Kampf J.W. et al. // J. Am. Chem. Soc. 2001. V. 123. P. 6211.
- Lim C.S., Kampf J.W., Pecoraro V.L. // Inorg. Chem. 2009. V. 48. P. 5224.
- Tegoni M., Tropiano M., Marchio L. et al. // Dalton Trans. 2009. P. 6705.
- Jankolovits J., Lim C.S., Mezei G. et al. // Inorg. Chem. 2012. V. 51. P. 4527.
- Jankolovits J., Van-Noord A.D.C., Kampf J.W. et al. // Dalton Trans. 2013. V. 42. P. 9803.
- Pavlishchuk A.V., Kolotilov S.V., Zeller M. et al. // Inorg. Chem. 2014. V. 53. P. 1320.
- Katkova M.A., Zabrodina G.S., Muravyeva M.S. et al. // Inorg. Chem. Commun. 2015. V. 52. P. 31.
- Pavlishchuk A.V., Kolotilov S.V., Zeller M. et al. // Eur. J. Inorg. Chem. 2018. V. 2018. P. 3504.
- Lim C.S., Jankolovits J., Zhao P. et al. // Inorg. Chem. 2011. V. 50. P. 4832.
- Katkova M.A., Baranov E.V., Zabrodina G.S. et al. // Macrocyclic Chem. 2021. V. 14. P. 101.
- Rangel M., Moniz T., Silva A. et al. // Pharmaceuticals. 2018. V. 11. P. 110.
- Santos M.A., Marques S.M., Chaves S. // Coord. Chem. Rev. 2012. V. 256. P. 240.
- Mawani Y., Cawthray J.F., Chang S. // Dalton Trans. 2013. V. 42. P. 5999.
- Lin S., Liu C., Zhao X. et al. // Front. Chem. 2022. V. 10. P. 869860.
- Zhang Z., Rettig S.J., Orvig C. // Can. J. Chem. 1992. V. 70. P. 763.
- Data Collection, Reduction and Correction Program. CrysAlisPro 1.171.41.93a – Software Package. Rigaku OD, 2020.
- SCALE3 ABSPACK: Empirical Absorption Correction. CrysAlisPro 1.171. 41.93a – Software Package, Rigaku OD, 2020.
- Sheldrick G.M. // Acta Crystallogr. A. 2015. V. 71. P. 3.
- Sheldrick G.M. SHELXTL. Version 6.14. Structure Determination Software Suite. Madison (WI, USA): Bruker AXS, 2003.
- Sheldrick G.M. // Acta Crystallogr. C. 2015. V. 71. P. 3.
- Dolomanov O.V., Bourhis L.J., Gildea R.J. et al. // J. Appl. Cryst. 2009. V. 42. P. 339.
- Laikov D.N. // Chem. Phys. Lett. 1997. V. 281. P. 151.
- Laikov D.N., Ustynyuk Y.A. // Russ. Chem. Bull. 2005. V. 54. P. 820.
- Zabrodina G.S., Katkova M.A., Rumyantsev R.V. et al. // Macrocyclic Chem. 2022. V. 15. P. 109.
- Svitova A.L., Popov A.A., Dunsch. L. // Inorg. Chem. 2013. V. 52. P. 3368.
- Katkova M.A., Zhigulin G.Y., Rumyantsev R.V. et al. // Molecules. 2020. V. 25. P. 4379.
- Perdew J.P., Burke K., Ernzerhof M. // Phys. Rev. Lett. 1996. V. 77. P. 3865.
- Laikov D.N. // Theor. Chem. Acc. 2019. V. 138. P. 40.
- Zhigulin G.Yu., Zabrodina G.S., Katkova M.A. et al. // Russ. Chem. Bull. 2018. V. 67. P. 1173.
- Katkova M.A., Zabrodina G.S., Zhigulin G.Yu. et al. // Russ. J. Coord. Chem. 2019. V. 45. P. 721.
- Bader R.F.W. Atoms in Molecules: A Quantum Theory. Oxford: Oxford Univ. Press, 1990. 456 p.
- Abramov Y.A. // Acta Crystallogr. A. 1997. V. 53. P. 264.
- Espinosa E., Molins E., Lecomte C. // Chem. Phys. Lett. 1998. V. 285. P. 170.
- Becke A.D., Edgecombe K.E. // J. Chem. Phys. 1990. V. 92. P. 5397.
- Savin A., Silvi B., Colonna F. // Can. J. Chem. 1996. V. 74. P. 1088.
- Johnson E.R., Keinan S., Mori-Sánchez P. et al. // J. Am. Chem. Soc. 2010. V. 132. P. 6498.
- Allouche A.R. // J. Comput. Chem. 2011. V. 32. P. 174.
- Weekes D.M., Cawthray J.F., Rieder M. et al. // Metalomics. 2017. V. 9. P. 902.
- Orvig C., Rettig S.J., Zhang Z. // Acta Crystallogr. C. 1994. V. 50. P. 1514.
- Molenda J.J., Jones M.M., Johnston D.S. et al. // J. Med. Chem. 1994. V. 37. P. 4363.
- Espinosa E., Alkorta I., Elguero J. et al. // J. Chem. Phys. 2002. V. 117. P. 5529.
- Gibbs G.V., Cox D.F., Crawford T.D. et al. // J. Chem. Phys. 2006. V. 124. P. 084704.
- Zhigulin G.Yu., Zabrodina G.S., Katkova M.A. et al. // Russ. Chem. Bull. 2019. V. 68. P. 743.
- Zhigulin G.Yu., Zabrodina G.S., Katkova M.A. et al. // Russ. J. Coord. Chem. 2019. V. 45. P. 356. <https://doi.org/10.1134/S107032841905004X>
- Greenwood N.N., Earnshaw A., Chemistry of the Elements, Oxford: Butterworth–Heinemann, 1997. 1364 p.