

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В.ЛОМОНОСОВА

На правах рукописи

Спектор Даниил Викторович

**Синтез новых органических производных платины(IV) с
противоопухолевым действием**

1.4.3 – Органическая химия

1.4.16 – Медицинская химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Москва – 2023

Диссертация подготовлена на кафедре органической химии Химического факультета
МГУ имени М.В. Ломоносова

Научный руководитель

Красновская Ольга Олеговна

Кандидат химических наук

Официальные оппоненты

Грин Михаил Александрович

Доктор химических наук, профессор, Институт тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова МИРЭА - Российский технологический университет, кафедра химии и технологии биологически активных соединений, медицинской и органической химии имени Н.А. Преображенского, заведующий кафедрой

Мартынов Александр Германович

Доктор химических наук, профессор РАН, ФГБУН Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, Лаборатория новых физико-химических проблем, ведущий научный сотрудник

Назаров Алексей Анатольевич

Кандидат химических наук, ФГБОУ ВО МГУ имени М.В. Ломоносова, Химический факультет, кафедра медицинской химии и тонкого органического синтеза, доцент

Защита состоится «8» ноября 2023 г. в 12 часов 30 минут на заседании диссертационного совета МГУ.014.1 Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова по адресу: 119991, Москва, ГПС-1, Ленинские горы, д. 1, стр. 3, Химический факультет МГУ, аудитория 446.

E-mail: maloshitskaya@org.chem.msu.ru

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций научной библиотеки МГУ имени М.В. Ломоносова по адресу: г. Москва, Ломоносовский проспект, д. 27 и на сайте ИАС «ИСТИНА» <https://istina.msu.ru/dissertations/594082731/> и на портале: <https://dissovet.msu.ru/dissertation/014.1/2664.>

Автореферат разослан «__» октября 2023 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат химических наук



О.А. Малошицкая

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Противоопухолевые препараты на основе координационных соединений Pt(II), такие как цисплатин, оксалиплатин и карбоплатин, несмотря на широкое применение в онкологической практике, обладают рядом критических недостатков, таких как высокая токсичность к здоровым органам и тканям, а также возникновение в ходе терапии резистентности злокачественных новообразований.

Перспективным подходом к преодолению недостатков традиционной терапии соединениями Pt(II) является создание пролекарств на основе октаэдрических координационных соединений Pt(IV), которые меньше подвержены неселективному лигандному обмену, при этом во внутриклеточной среде высвобождают цитотоксические препараты Pt(II). В аксиальные положения пролекарств Pt(IV) возможно вводить различные биологически активные органические лиганды, варьируя таким образом физико-химические свойства и биологическую активность пролекарств. Таким образом, создание эффективных пролекарств Pt(IV), способных преодолеть недостатки традиционных препаратов Pt(II) является актуальной задачей.

Степень разработанности темы. К настоящему времени опубликовано большое количество исследований, посвящённых дизайну и исследованию биологического действия пролекарств Pt(IV), однако известны единичные примеры пролекарств Pt(IV), противоопухолевая эффективность которых превосходит таковую для традиционных препаратов Pt(II). Кроме того, известно ограниченное количество пролекарств Pt(IV), для которых показана способность оказывать терапевтическое действие в условиях гипоксии. Также, в литературе представлен ряд пролекарств Pt(IV), способных к контролируемому фотовысвобождению, однако известны единичные примеры пролекарств двойного действия, способных контролируемым образом высвободить препараты Pt(II) и образовывать АФК под действием света в видимой области; кроме того, единичные пролекарства Pt(IV) способны поглощать в БИК-диапазоне.

Целью исследования является разработка синтетических подходов к созданию пролекарств Pt(IV), дизайн и синтез новых пролекарств Pt(IV) с биоактивными лигандами в аксиальном положении, превосходящих по своей эффективности цисплатин, исследование антипролиферативной активности полученных соединений и способности высвободить цисплатин в *in vitro* и *in vivo*.

Задачами работы были: 1) Разработка и оптимизация подходов к синтезу дикарбоксилатных пролекарств Pt(IV) с аксиальными лигандами на основе нестероидных противовоспалительных препаратов (НСПВП); 2) Поиск и оптимизация синтетических подходов к получению монокарбоксилатных пролекарств Pt(IV) с аксиальными лигандами

на основе НСПВП и оптимизация синтетических подходов к созданию несимметричных дикарбоксилатных пролекарств Pt(IV) на их основе; 3) Разработка и оптимизация синтетических подходов к получению потенциально чувствительных к гипоксии пролекарств Pt(IV) с аксиальными лигандами на основе азоароматических соединений и нитроимидазолов; 4) Разработка и оптимизация синтетических подходов к получению фотоактивных пролекарств Pt(IV) с аксиальными лигандами на основе производных рибофлавина и бор-дипиррометенов; 5) Изучение антипролиферативной активности разработанных пролекарств Pt(IV) и выявление зависимости «структура-активность»; б) Изучение фотоконтролируемого восстановления пролекарств Pt(IV) с фотоактивными аксиальными лигандами; 7) Изучение способности разработанных пролекарств Pt(IV) высвобождать цисплатин *in vitro*; 8) Исследование терапевтической эффективности отдельных пролекарств Pt(IV) *in vivo*, а также изучение способности пролекарств доставлять цисплатин в опухоли *in vivo*.

Объектом исследования являются пролекарства Pt(IV) с аксиальными лигандами на основе НСПВП, нитроимидазолов, азоароматических соединений, биотина, рибофлавина, бор-дипиррометенов.

Предметом исследования являлись методы синтеза пролекарств Pt(IV) с биоактивными лигандами в аксиальном положении, исследование чувствительности пролекарств с нитроимидазолами и азо-производными в аксиальном положении к гипоксическим условиям, способности пролекарств Pt(IV) с рибофлавином и бор-дипиррометенами к контролируемой фотоактивации, исследование антипролиферативной активности полученных соединений, исследование терапевтической эффективности, а также детектирование цисплатина в опухоли *in vivo* после внутривенного введения пролекарств Pt(IV).

Научная новизна работы состоит в том, что: 1) Впервые получены пролекарства Pt(IV), содержащие в аксиальном положении лиганды на основе НСПВП, метронидазола, 2-нитроимидазола, азоароматических производных, а также производных рибофлавина и бор-дипиррометенов; 2) Разработаны новые препаративные методики синтеза пролекарств Pt(IV), основанные на введении органического фрагмента в аксиальное положение с использованием линкера на основе карбамата, или медь-катализируемого азид-алкинового циклоприсоединения; 3) Изучена цитотоксическая активность полученных пролекарств Pt(IV), определены факторы, оказывающие влияние на их антипролиферативную активность; 4) Изучен процесс фотоконтролируемого восстановления координационных соединений Pt(IV) с производным рибофлавина и бор-дипиррометенами в аксиальном положении; 5) Исследован профиль распределения цисплатина, образующегося при

восстановлении пролекарств Pt(IV) в трёхмерных клеточных культурах *in vitro* и опухолях *in vivo* с использованием наноразмерного электрода.

Практическая и теоретическая значимость работы: 1) Разработаны препаративные методы получения пролекарств Pt(IV) с лигандами-производными НСПВП, метронидазола, 2-нитроимидазола, азоароматических производных, рибофлавина и бор-дипиррометенов; 2) Показано, что липофильность оказывает ключевое влияние на антипролиферативную активность пролекарств Pt(IV), определены наиболее активные соединения - пролекарства Pt(IV) с аксиальными лигандами-производными напроксена, флурбипрофена, метронидазола и рибофлавина; 3) Доказана способность пролекарств с аксиальными лигандами на основе рибофлавина и бор-дипиррометенов к контролируемому высвобождению цисплатина под действием света в видимой области, изучены механизмы фотоиндуцированного восстановления пролекарств; 4) Изучена способность пролекарств Pt(IV) высвобождать цисплатин в клеточных сфероидах; 5) Доказана способность пролекарств Pt(IV) с производными рибофлавина и бор-дипиррометенов в аксиальном положении к контролируемому высвобождению цисплатина и образованию активных форм кислорода при облучении светом в видимой области, в том числе в трёхмерных клеточных сфероидах; 6) Показана способность разработанных пролекарств доставлять цисплатин в опухоли *in vivo*.

Методология диссертационного исследования Методологическая часть исследования состояла в разработке методов синтеза пролекарств Pt(IV) с различными органическими лигандами в аксиальном положении. Целевые пролекарства Pt(IV) были получены с использованием реакций этерификации, медь-катализируемого азид-алкинового циклоприсоединения. Синтез органических лигандов проводился с использованием методов, основанных на реакциях карбодиимидного синтеза, этерификации, диазотирования, азосочетания, нуклеофильного замещения, декарбок্সилирования, конденсации Кнёвенагеля и азид-алкинового циклоприсоединения. Очистка полученных соединений проводилась методами колоночной хроматографии, перекристаллизации. Структура, состав и чистота полученных соединений определялись методами ЯМР, ИК, масс-спектрометрии высокого разрешения, и ВЭЖХ.

Положения, выносимые на защиту:

Новые пролекарства Pt(IV) с лигандами на основе метронидазола, 2-нитроимидазола, азоароматических производных, рибофлавина, и бор-дипиррометенов могут быть получены с препаративными выходами; оптимальными синтетическими подходами для получения пролекарств Pt(IV) с лигандами различной природы являются

создание связи органический лиганд – центр Pt(IV) на основе карбамата, а также азид-алкиновое циклоприсоединение;

Антипролиферативная активность пролекарств Pt(IV) определяется рядом факторов, таких как природа аксиального лиганда, липофильность координационного соединения, природа линкера между аксиальным лигандом и центром Pt(IV), а также скоростью восстановления пролекарства;

Оптимальная липофильность пролекарств Pt(IV) позволяет значительно повысить эффективность пролекарств Pt(IV) в сравнении с цисплатином, что подтверждается как значительным увеличением антипролиферативной активности пролекарств, так и повышенным накоплением в биологических системах;

Пролекарства Pt(IV) с аксиальными лигандами на основе рибофлавина и бордипиррометенов представляют собой агенты фотоактивируемой химиотерапии, которые под действием излучения способны высвободить цитотоксический комплекс Pt(II) путём переноса электрона с возбуждённого аксиального лиганда на центр Pt(IV); фотоактивируемые пролекарства Pt(IV), способные образовывать триплетные состояния представляют собой агенты двойного действия, образующие АФК при облучении.

Пролекарство Pt(IV) с НСПВП флурбипрофеном в качестве аксиального лиганда превосходит в терапевтической эффективности цисплатин в предварительных испытаниях *in vivo*, а также способно эффективно доставлять цисплатин в опухоль после внутривенного введения.

Личный вклад автора. Автором был произведён поиск, анализ и систематизация литературных данных по теме исследования, в ходе работы было опубликовано три обзора литературы по тематике исследования. Автором был проведён синтез промежуточных и целевых органических соединений, пролекарств Pt(IV), их очистка, интерпретация результатов их структурного анализа. Автором были проведены эксперименты по исследованию стабильности и фотовосстановления пролекарств Pt(IV), анализ результатов физико-химических и биологических исследований. Автор принимал участие в подготовке плана исследований, разработке методологий всех приведенных в исследовании экспериментов, непосредственном проведении экспериментов, обсуждении полученных результатов, и подготовке их к публикации. Автор принимал участие в подборе формулировки для исследований *in vivo*, а также в самих исследованиях.

Личный вклад автора в публикациях:

Spector D. V., Erofeev A.S., Gorelkin P. V., Vaneev A.N., Akasov R.A., Ul'yanovskiy N. V., Nikitina V.N., Semkina A.S., Vlasova K.Y., Soldatov M.A., Trigub A.L., Skvortsov D.A., Finko A. V., Zyk N. V., Sakharov D.A., Majouga A.G., Beloglazkina E.K., Krasnovskaya O.O. Electrochemical Detection of a Novel Pt(IV) Prodrug with the Metronidazole Axial Ligand in

the Hypoxic Area // Inorganic Chemistry – 2022. – Т. 61. – С. 14705–14717. Личный вклад **45%**.

Spector D., Erofeev A., Gorelkin P., Skvortsov D., Trigub A., Markova A., Nikitina V., Ul'yanovskiy N., Shtil' A., Semkina A., Vlasova K., Zyk N., Majouga A., Beloglazkina E., Krasnovskaya O. Biotinylated Pt(IV) prodrugs with elevated lipophilicity and cytotoxicity // Dalton Transactions – 2023. – Т. 52. – № 4. – С. 866–871. Личный вклад **45%**.

Krasnovskaya O., Spector D., Erofeev A., Gorelkin P., Akasov R., Skvortsov D., Trigub A., Vlasova K., Semkina A., Zyk N., Beloglazkina E., Majouga A. Alternative mechanism of action of the DNP Pt^{IV} prodrug: intracellular cisplatin release and the mitochondria-mediated apoptotic pathway // Dalton Transactions – 2021. – Т. 50. – № 23. – С. 7922–7927. Личный вклад **45%**.

Krasnovskaya O.O., Akasov R.A., Spector D. V., Pavlov, K. G., Buble, A. A., Kuzmin, V. A., Kostyukov, A. A., Khaydukov, E. V., Lopatukhina, E. V., Semkina, A. S., Vlasova, K. Y., Sypalov, S. A., Erofeev, A. S., Gorelkin, P. V., Vaneev, A. N., Nikitina, V. N., Skvortsov, D. A., Ipatova, D. A., Mazur, D. M., Zyk, N. V., Sakharov, D. A., Majouga, A. G., Beloglazkina, E. K. Photoinduced Reduction of Novel Dual-Action Riboplatin Pt(IV) Prodrug // ACS Applied Materials & Interfaces – 2023. – Т. 15. – № 10. С. 12882–12894. Личный вклад **35%**.

Spector D. V., Pavlov K.G., Akasov R.A. Vaneev, A. N., Erofeev, A. S., Gorelkin, P. V., Nikitina, V. N., Lopatukhina, E. V., Semkina, A. S., Vlasova, K. Y., Skvortsov, D. A., Roznyatovsky, V. A., Ul'yanovskiy N. V., Pikovskoi, I. I., Sypalov, S. A., Garanina, A. S., Vodopyanov, S. S., Abakumov, M. A., Volodina, Y. L., Markova, A. A., Petrova, A. S., Mazur, D. M., Sakharov, D. A., Zyk, N. V., Beloglazkina, E. K., Majouga, A. G., Krasnovskaya, O. O. Pt(IV) Prodrugs with Non-Steroidal Anti-inflammatory Drugs in the Axial Position // Journal of Medicinal Chemistry – 2022. – Т. 65. – № 12. – С. 8227–8244. Личный вклад **40%**.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 8 статей в рецензируемых научных журналах, индексируемых международными базами (Web Of Science, Scopus) и рекомендованных диссертационным советом МГУ для публикации результатов научно-квалификационных работ.

Апробация работы. Результаты работы были представлены в виде устных и стендовых докладов на следующих конференциях: Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2022», Всероссийская научная конференция «Марковниковские чтения» (WSOC-2022) (Сочи, Россия); Всероссийская научная конференция «Марковниковские чтения» (WSOC-2021) (Сочи, Россия); Кост-2021. Всероссийский конгресс по химии гетероциклических соединений (Сочи, Россия, 12-16 октября 2021); Всероссийская научная конференция «Марковниковские чтения» (WSOC-2020) (Красновидово, Россия, 2020); The Fifth International Scientific Conference «Advances In Synthesis And Complexing», Science, Technology and Life – 2019: VI International scientific conference.

Структура и объем работы. Работа состоит из семи разделов: введения, обзора литературы на тему «Пролекарства Pt(IV) как альтернатива препаратам Pt(II): синтез и биологическое действие», обсуждения результатов, экспериментальной части, заключения, списка сокращений, и списка цитируемой литературы. Работа изложена на 249 листах

машинописного текста, содержит 69 схем, 81 рисунок и 22 таблицы. Список цитируемой литературы включает 250 наименований.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. Синтез пролекарств Pt(IV)

Для синтеза новых пролекарств Pt(IV) в качестве аксиальных лигандов нами были выбраны 2-тиоимидазол-4-оны, парацетамол, напроксен, диклофенак, флурбипрофен, кеторолак, биотин, стеариновая кислота, азоароматические производные, метронидазол, 2-нитроимидазол, тетраацетилрибофлавин и бор-дипиррометены (BODIPY).

Синтезированные в ходе работы пролекарства можно разделить на три структурных типа, в зависимости от природы аксиальных лигандов (Рис. 1). Тип I составляют симметричные дикарбоксилатные пролекарства с двумя одинаковыми аксиальными лигандами. Тип II составляют монокарбоксилатные пролекарства, содержащие в аксиальном положении один лиганд со сложноэфирной (IIa) или карбаматной (IIб) связью между центром Pt(IV) и аксиальным лигандом. В структурный тип III входят несимметричные дикарбоксилатные пролекарства с двумя различными аксиальными лигандами и линкерами на основе карбоксилата (Тип IIIa), карбоксилата и карбамата (Тип IIIб) и карбамата (Тип IIIв).

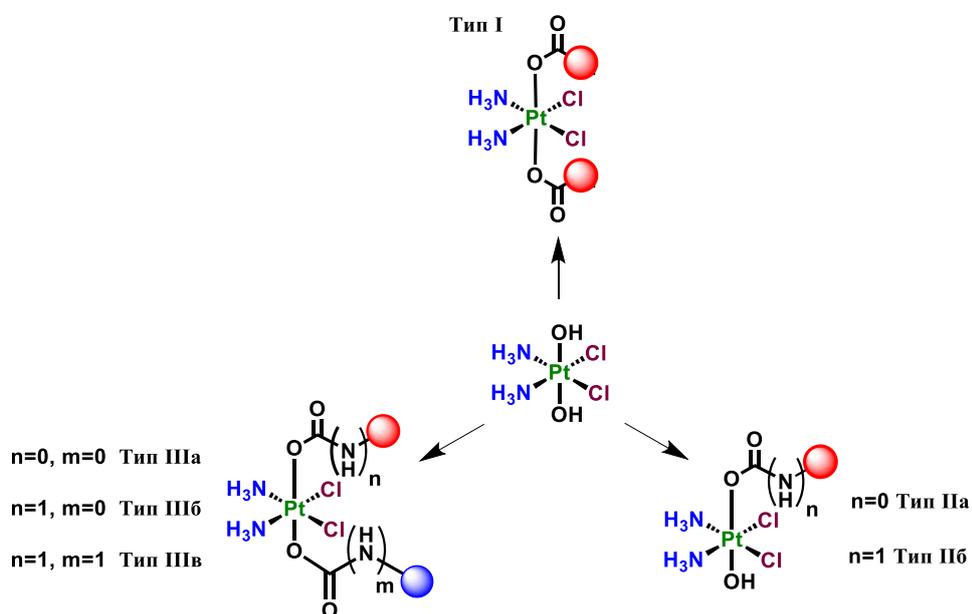


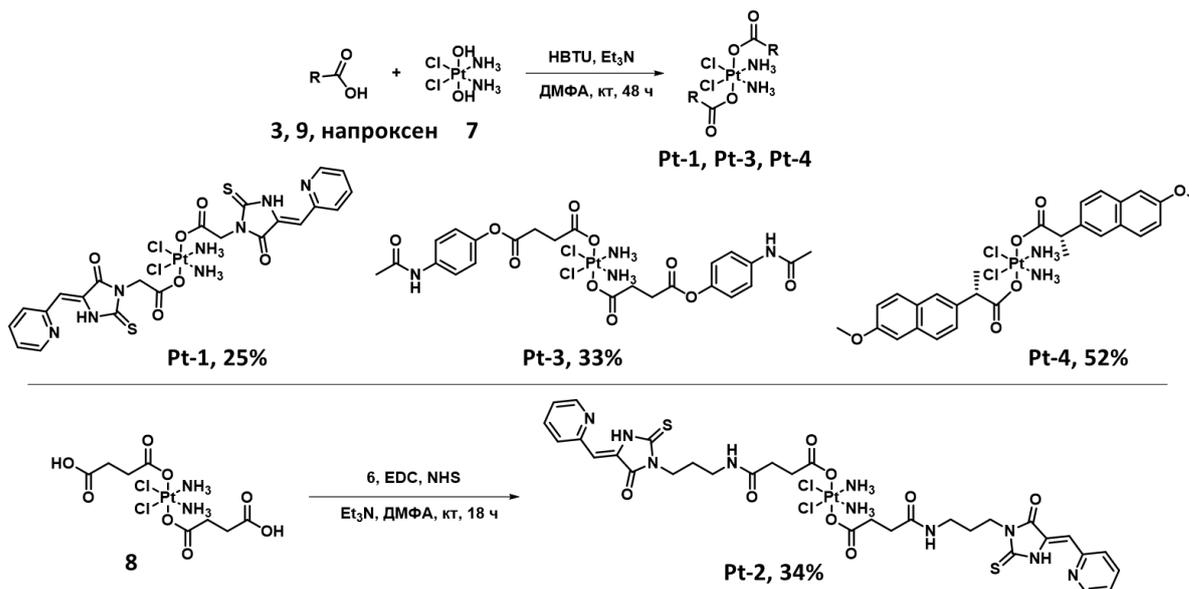
Рисунок 1. Три структурных типа пролекарств Pt(IV), синтезированных в рамках данной работы.

1.1. Синтез пролекарств Pt(IV) с биоактивными лигандами

Для отработки синтетических подходов к созданию целевых комплексов Pt(IV) были синтезированы соединения Pt-1-Pt-4 структурного типа I. Комплексы Pt-1, Pt-3 и Pt-4 были получены по реакции оксоплатина 7 с избытком (3–4 экв.) соответствующих лигандов 3, 9,

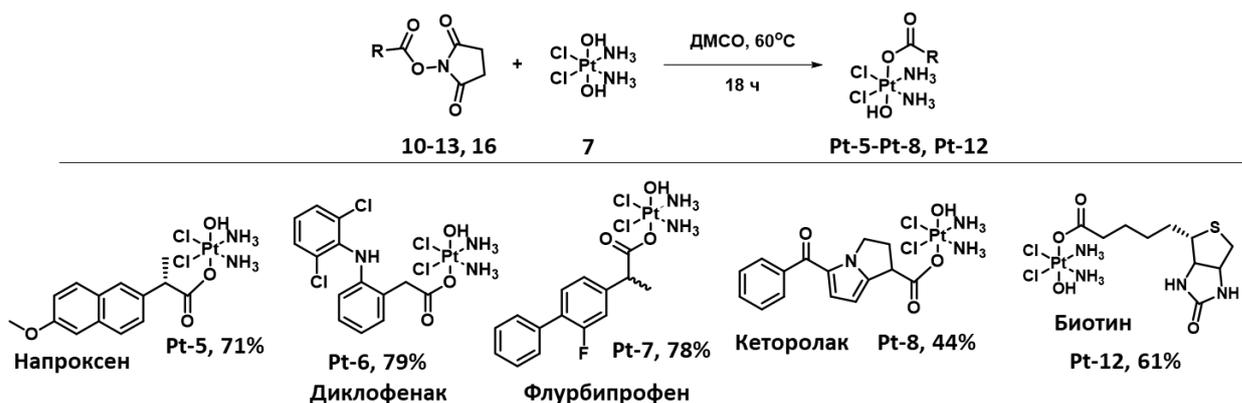
напроксена в присутствии HBTU и Et₃N, а комплекс **Pt-2** - по реакции комплекса Pt(IV) **8** с избытком 2-тиоимидазол-4-она **6** с использованием EDC и NHS (Схема 1).

Схема 1



Комплексы структурного типа Па были синтезированы путём реакции оксоплатина **7** с небольшим избытком (1.2 экв.) предварительно полученных NHS-эфиров **10-13**, NHS эфира биотина **16**, в результате чего были получены целевые монокарбоксилатные комплексы **Pt-5-Pt-8** с напроксеном, диклофенаком, флурбипрофеном и кеторолаком, соответственно, а также комплекс **Pt-12** с биотином (Схема 2).

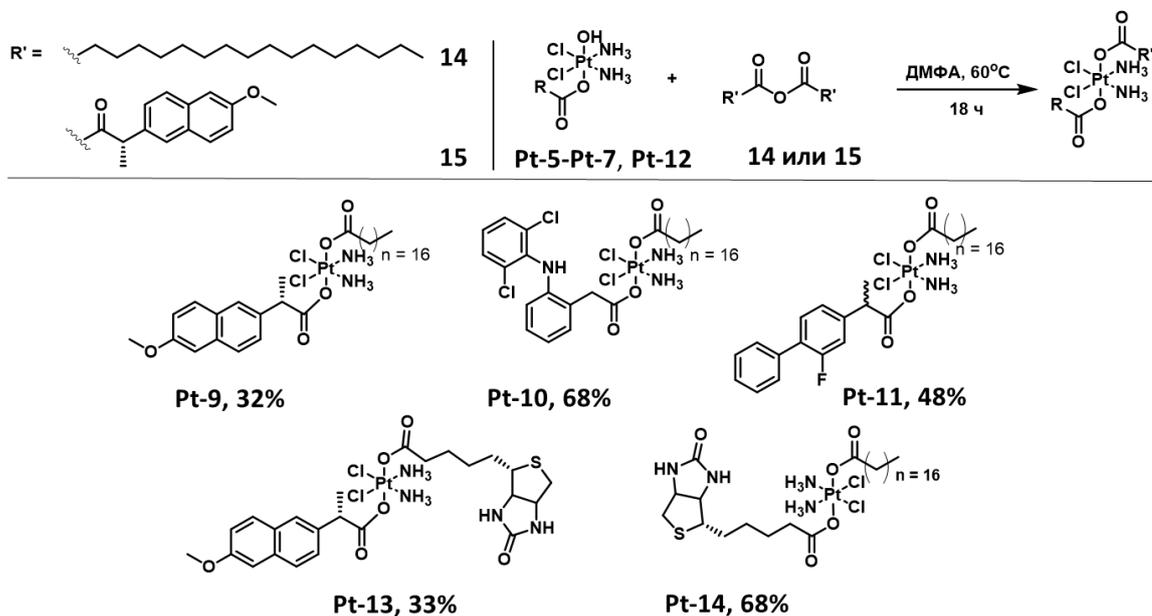
Схема 2



Значительный интерес представляет получение комплексов Pt(IV) с двумя различными аксиальными лигандами (Тип III), ввиду возможности получения пролекарств множественного действия. Синтетический подход к получению комплексов структурного типа IIIа заключается в ацилировании второй аксиальной ОН-группы комплексов структурного типа Па ангидридами карбоновых кислот. В результате реакции комплексов **Pt-5-Pt-8** со стеариновым ангидридом **14** были получены комплексы **Pt-9-Pt-11** (Схема 3).

Комплекс **Pt-12** с биотином ацилировали ангидридом напроксена **15**, или стеариновым ангидридом **14** с получением пролекарств **Pt-13** и **Pt-14** (Схема 3).

Схема 3



Выделение пролекарств **Pt-1-Pt-14** проводили суспендированием полученного после удаления растворителя остатка в метаноле, и осаждением избытком диэтилового эфира. Комплексы были охарактеризованы с помощью спектроскопии ЯМР ^1H , ^{13}C , ^{195}Pt , а также масс-спектрометрии высокого разрешения (HRMS). Структурные типы I, II и III различали по положению сигнала в спектре ЯМР ^{195}Pt : сигнал в диапазоне 1050–1080 м.д. соответствует структурному типу II, а около 1200 м.д. – структурным типам I и III. В спектре HRMS комплексов наблюдается молекулярный ион $(\text{M}+\text{H})^+$ или $(\text{M}+\text{Na})^+$, что доказывает состав полученных соединений. На основании литературных данных мы полагаем, что стереохимия органических лигандов, а также экваториальных лигандов комплексов Pt(IV) сохраняется в ходе превращений.

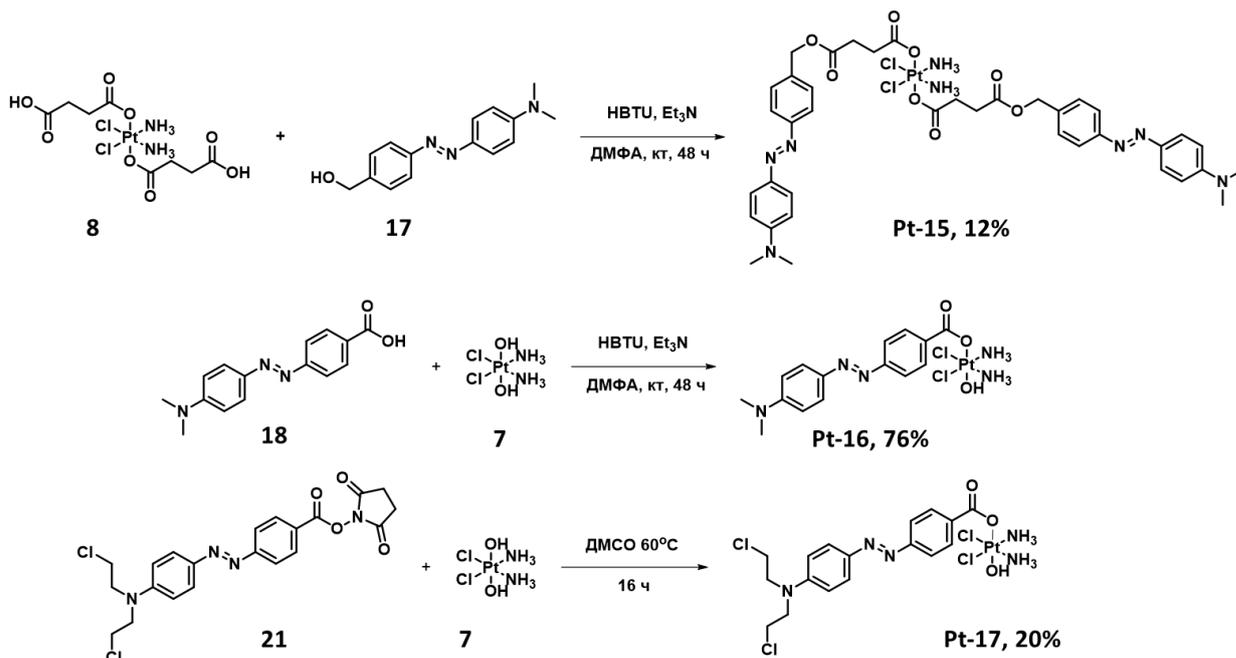
Таким образом, на первом этапе работы нами были получены пролекарства Pt(IV) с НСПВП, биотином и стеаратом трёх структурных типов.

1.2. Синтез пролекарств Pt(IV) с лигандами, проявляющими чувствительность к гипоксии

В рамках второго этапа работы были получены новые пролекарства Pt(IV) **Pt-15-Pt-21** структурных типов I и IIa с азоароматическими производными и нитроимидазолами в качестве аксиальных лигандов. Данные фрагменты входят в состав терапевтических и диагностических агентов, способных к накоплению в гипоксических областях.

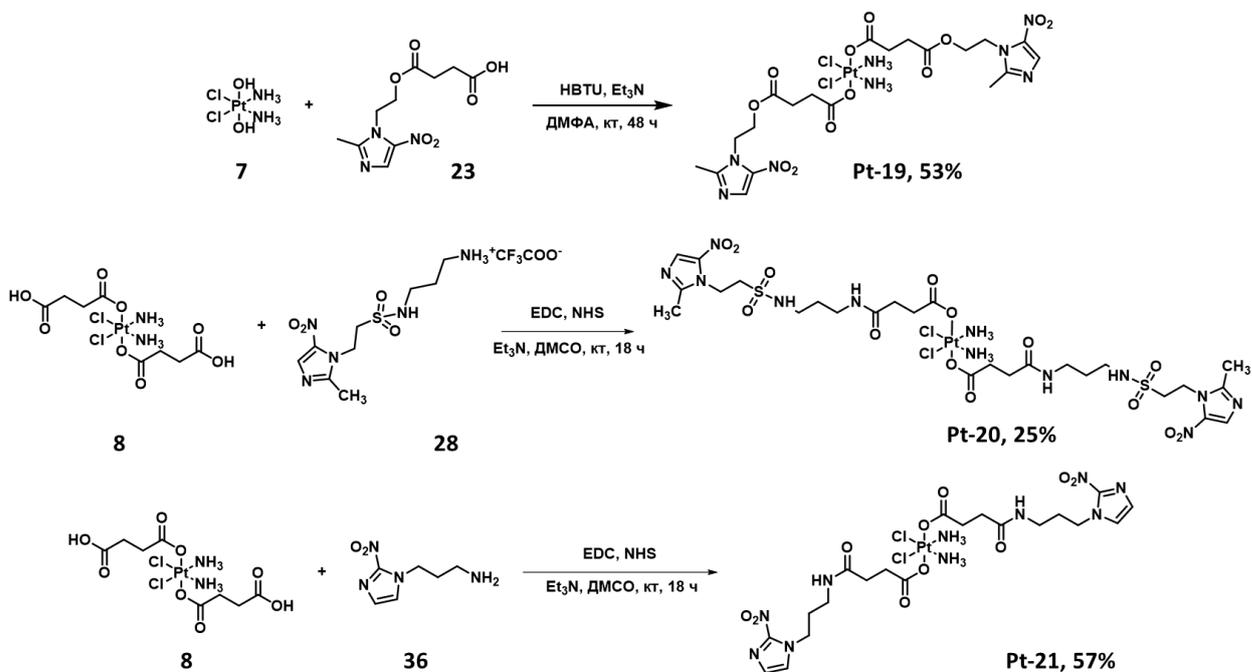
Пролекарства Pt(IV) **Pt-15-Pt-17** структурных типов I и IIa с азопроизводными были получены согласно Схеме 4:

Схема 4



Кроме того, были получены пролекарства **Pt-19-Pt-21** структурного типа II с аксиальными лигандами на основе метронидазола, сульфонида метронидазола и 2-нитроимидазола, соответственно (Схема 5). Комплекс **Pt-15** был выделен с помощью колоночной хроматографии, а **Pt-16-Pt-21** – осаждением из суспензии в метаноле диэтиловым эфиром.

Схема 5



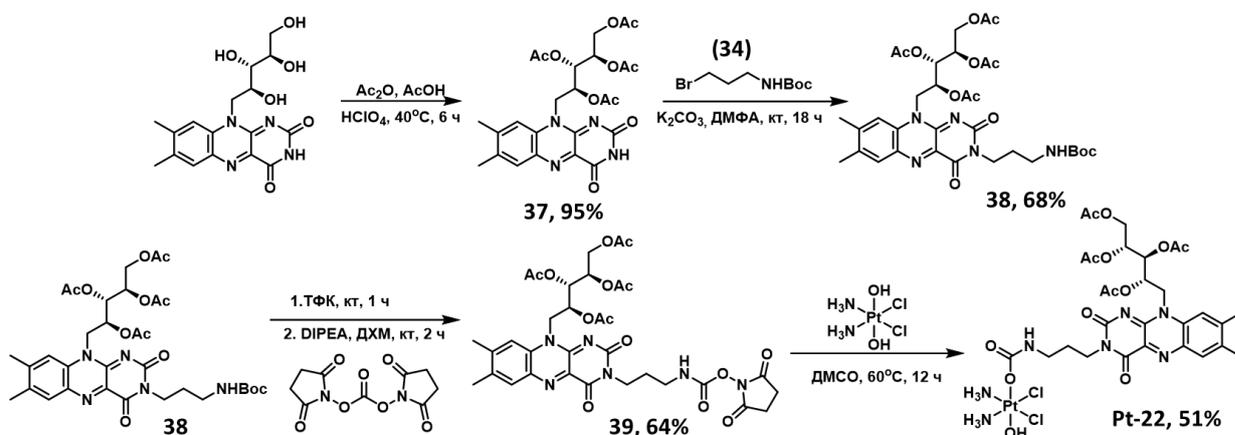
Таким образом, на втором этапе работы были впервые получены пролекарства **Pt-15-Pt-17** с азароматическими фрагментами, а также, пролекарства **Pt-19-Pt-21** с фрагментами метронидазола, сульфонида метронидазола и 2-нитроимидазола,

соответственно. Разработанные пролекарства **Pt-15-Pt-21** потенциально способны накапливаться в гипоксических условиях ввиду необратимого восстановления аксиальных лигандов.

1.3. Синтез пролекарств Pt(IV) с фотоактивными лигандами в аксиальном положении.

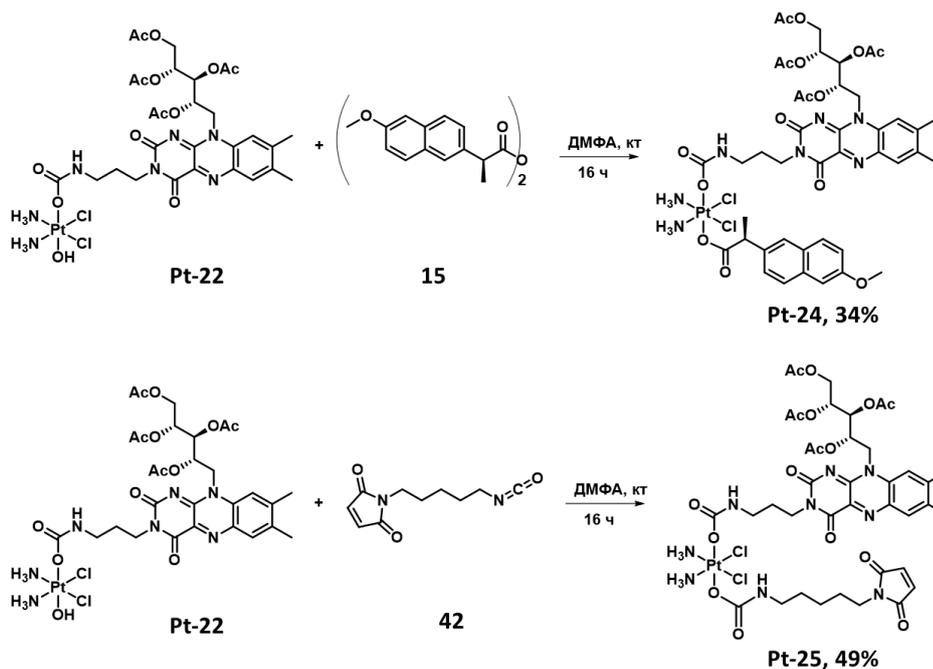
В литературе показано, что введение органических флуорофоров в аксиальное положение комплексов Pt(IV) позволяет получать пролекарства, которые высвобождают цисплатин и его аналоги контролируемым образом под действием света. Третьим этапом работы являлся синтез фотоактивируемых пролекарств Pt(IV) с аксиальными лигандами на основе рибофлавина и бор-дипиррометенов (BODIPY). Для введения данных лигандов был разработан новый подход к получению комплексов Pt(IV), заключающийся в создании карбаматной связи между центром Pt(IV) и аксиальным лигандом, путём реакции NHS-эфира карбаминовой кислоты с оксоплатином **7**. С использованием данного подхода был получен комплекс **Pt-22** структурного типа IIb (Схема 6). Следует отметить, что линкер из трёх CH₂ звеньев в литературе описан как оптимальный для возможности фотоиндуцируемого восстановления пролекарств Pt(IV).

Схема 6



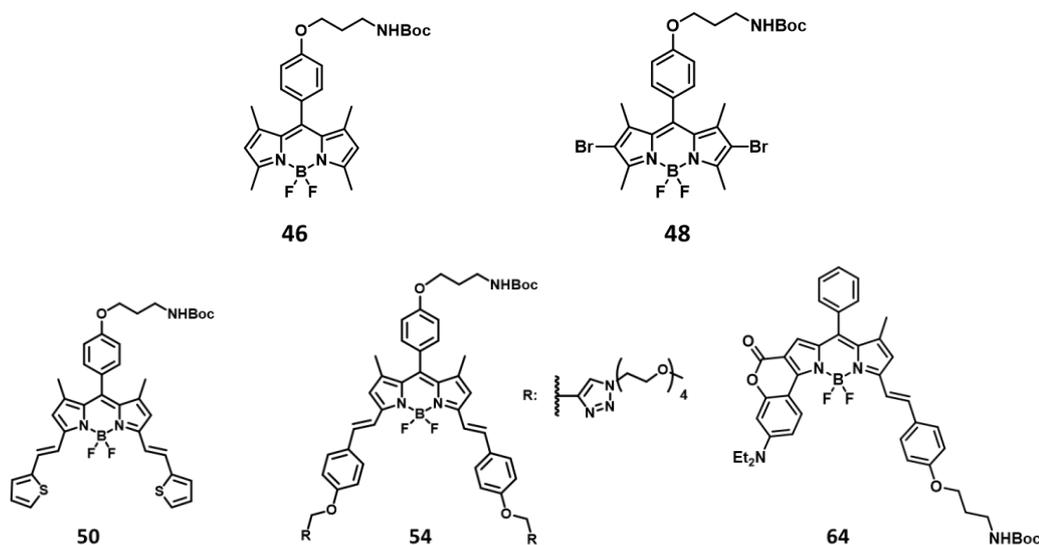
Второе аксиальное положение пролекарства **Pt-22** было модифицировано НСПВП напроксеном, или алкил-малеимидом, способным связываться с альбумином, с получением пролекарств **Pt-24** и **Pt-25** структурного типа III (Схема 7) Выделение координационных соединений **Pt-22-Pt-25** было проведено методом колоночной хроматографии.

Схема 7



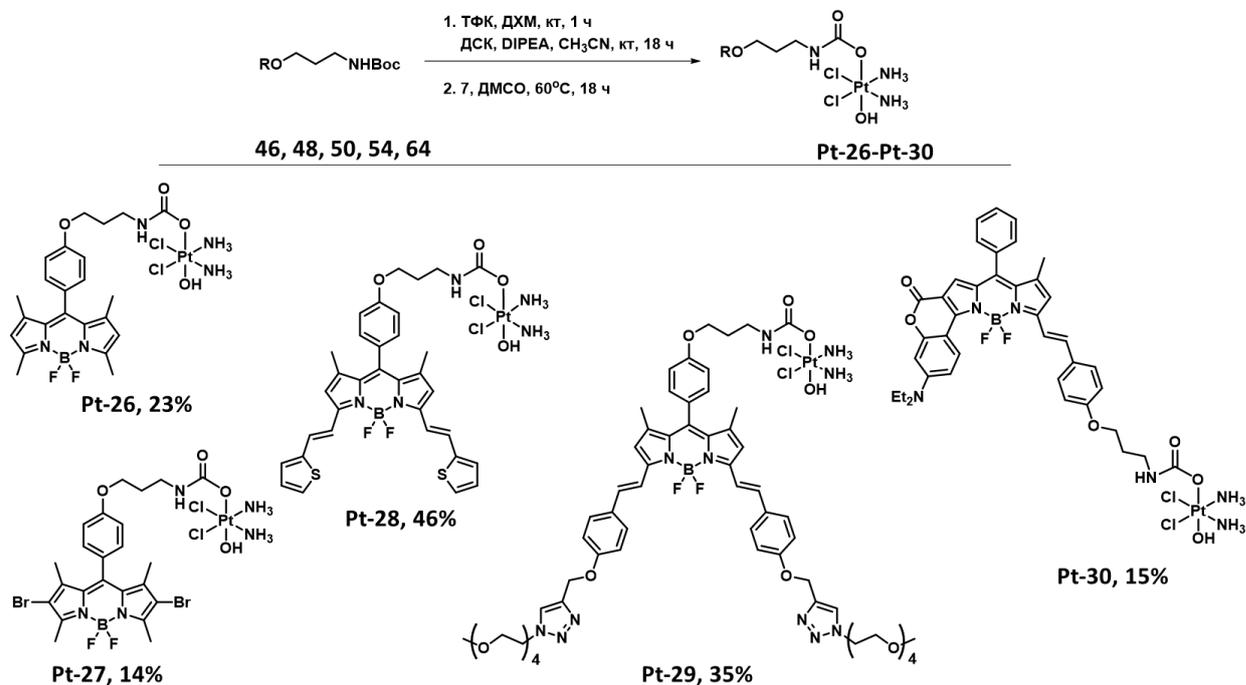
Для синтеза комплексов Pt(IV) с BODIPY мы также воспользовались подходом с созданием карбаматной связи между лигандом и центром Pt(IV). Для реализации данного метода были получены BODIPY **46**, **48**, **50**, **54** и **64** содержащие фрагмент N-воспропиламина. Наличие в положениях 2,6 BODIPY **48** тяжелых атомов брома делает данное соединение потенциальным фотосенсибилизатором, а BODIPY **50**, **54**, **64** поглощают свет в БИК диапазоне, который обладает высокой проникающей способностью в живых тканях. BODIPY **54** также содержит фрагменты тетраэтиленгликоля, способствующие повышенной водорастворимости, а BODIPY **64** является первым примером стирильного производного BODIPY с конденсированным ароматическим фрагментом на основе кумарина (Схема 8).

Схема 8



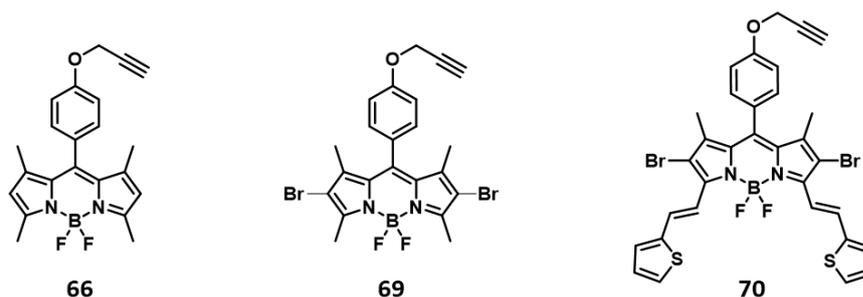
В результате последовательных стадий синтеза NHS эфира карбаминовой кислоты и последующей реакции перезтерификации оксоплатином **7** были получены комплексы **Pt-26-Pt-30** (Схема 9):

Схема 9



В качестве второго синтетического подхода к созданию пролекарств Pt(IV) с BODIPY было предложено азид-алкиновое циклоприсоединение, позволяющее сократить количество синтетических стадий, а также вводить кислотно-чувствительные функциональные группировки. Для реализации данного подхода были синтезированы BODIPY **66**, **69**, **70** с терминальной тройной связью (Схема 10):

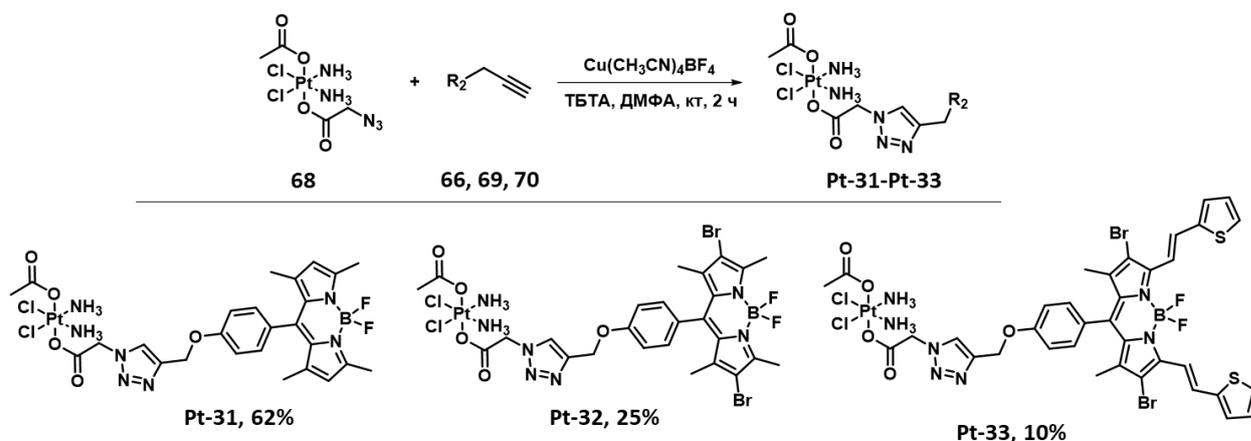
Схема 10



В диссертации приведён подбор оптимальных условий реакции азид-алкинового циклоприсоединения, по результатам которого были выбраны условия, позволяющие минимизировать восстановление пролекарства Pt(IV) в ходе проведения синтеза. В результате были впервые получены новые пролекарства **Pt-31-Pt-33** (Схема 11). Пролекарство **Pt-33** содержит в аксиальном положении БИК-поглощающий 2,6-дибром-

BODIPY, что делает данное пролекарством первым примером БИК-поглощающего комплекса Pt(IV) двойного действия.

Схема 11



Таким образом, в работе были получены новые пролекарства Pt(IV) **Pt-1-Pt-33** трёх структурных типов, которые также в зависимости от природы аксиальных лигандов можно разделить на три группы (Табл. 1).

Таблица 1. Группы пролекарств Pt(IV), синтезированные в настоящей работе.

Природа аксиального лиганда		
Биоактивные липофильные соединения	Чувствительные к гипоксии соединения	Фотоактивные соединения
Аксиальные лиганды		
НСПВП, биотин, стеарат	Азопроизводные, нитроимидазолы	ТАРФ, BODIPY
Структурные типы		
I, Па, Ша	I, Па	Пб, Ша Шб, Шв
Pt-1-Pt-14	Пролекарства Pt-15-Pt-21	Pt-22-Pt-33

2. Исследование биологической активности пролекарств Pt(IV)

Цитотоксичность пролекарств **Pt-1-Pt-19** была исследована методом МТТ на ряде опухолевых (MCF-7, A549) и здоровых (VA-13, НЕК-293Т) клеточных линий (Табл. 2). Предполагается, что пролекарства Pt(IV) являются более липофильными, чем цисплатин, и, следовательно, лучше проникают через клеточную мембрану и доставляют больше платины в ДНК клеток, чем сам цисплатин; следовательно, являются более цитотоксичными. Липофильность пролекарств Pt(IV) определяли путём измерения фактора удерживания $\log k'$, который соответствует формальному времени удерживания комплексов на ВЭЖХ колонке при элюировании водой. Для избранных пролекарств было определено внутриклеточное накопление в клетках MCF-7, содержание платины было определено с использованием ИСП-МС. В Табл. 2 приведено кратное увеличение уровня платины в клетках, инкубированных с пролекарствами Pt(IV) в сравнении с таковым для цисплатина.

Таблица 2. Значения IC_{50} пролекарств Pt(IV) **Pt-4-Pt-7**, **Pt-9-Pt-14** и **Pt-19** на клеточных линиях VA-13, HEK-293T, A549 и MCF-7 после 72 часов инкубации, значения фактора удерживания $\log k^0$, и кратное увеличение внутриклеточного накопления пролекарств **Pt-7**, **Pt-11**, **Pt-14** после 3.5 часов инкубации клеток MCF-7 в присутствии 10 мкМ комплексов.

Соединения Pt(IV)	Log k'0	Клеточные линии, IC_{50} [μM]				Кратное увеличение†	Аксиальные лиганды
		VA-13	HEK-293T	A549	MCF-7		
Цисплатин		4.4±2.4	10.8±5.2	6.2±2.5	15.5±9.6	1	-
Pt-4	4.38	0.05±0.04	0.03±0.01	0.06±0.03	0.19±0.13	-	Напроксен, напроксен
Pt-5	2.79	0.19±0.13	0.04±0.01	0.03±0.01	0.19±0.07	-	Напроксен
Pt-6	3.41	0.40±0.10	0.70±0.42	0.48±0.06	2.46±0.22	-	Диклофенак
Pt-7	3.41	0.16±0.01	0.04±0.01	0.07±0.01	0.10±0.01	152	Флурбипрофен
Pt-9	8.53	0.89±0.37	1.83±0.39	0.92±0.23	2.46±2.18	-	Напроксен, стеарат
Pt-10	9.72	1.23±0.36	3.40±1.97	1.10±0.53	2.82±1.49	-	Диклофенак, стеарат
Pt-11	9.55	0.64±0.52	2.05±1.77	0.54±0.20	1.80±0.48	4.9	Флурбипрофен, стеарат
Pt-12	1.12	10.68±3.02	3.80±0.51	7.69±2.75	8.02±2.36	-	Биотин
Pt-13	3.48	5.65±1.34	3.08±0.69	10.07±2.5	16.9±1.4	-	Биотин, напроксен
Pt-14	7.47	0.71±0.42	0.31±0.21	0.87±0.51	2.35±1.42	2.7	Биотин, стеарат
Pt-19	-	13.5±1.1	7.7±0.6	11.6±1.4	6.6±0.6	-	Метронидазол

† Кратное увеличение: m , нг (Pt) (пролекарство Pt(IV)) / m , нг (Pt) (цисплатин)

Пролекарства **Pt-5-Pt-14** проявили повышенную в сравнении с цисплатином активность на исследованных клеточных линиях (Табл. 2). Цитотоксичность пролекарств **Pt-4-Pt-11** коррелирует с липофильностью: наиболее активные пролекарства **Pt-4-Pt-7** обладают значением $\log k^0$ в диапазоне 3 – 4.5. Оптимальная липофильность пролекарства **Pt-7** способствует повышению его внутриклеточного накопления в 150 раз по сравнению с цисплатином. При этом, среди биотин-содержащих пролекарств **Pt-12-Pt-14** наибольшую цитотоксичность демонстрирует комплекс **Pt-14**, что позволяет предположить, что липофильность является важным, но не определяющим параметром антипролиферативной активности. Пролекарство **Pt-19** с метронидазолом показало цитотоксичность в микромолярном диапазоне, в 2.5 раз активнее цисплатина на линии MCF-7. Таким образом, цитотоксичность пролекарств Pt(IV). Таким образом, эффективность пролекарств Pt(IV) значительным образом определяется природой аксиального лиганда.

Цитотоксическая активность **Pt-17** была исследована в гипоксической камере с пониженным содержанием кислорода на клеточной линии HCT-116. **Pt-17** показал

повышенную в сравнении с цисплатином цитотоксичность в условиях гипоксии (IC₅₀ 5.6±0.4 и 29±1.5 мкМ, соответственно), при этом цитотоксичность **Pt-17** в гипоксических условиях была ниже, чем в обычных (IC₅₀ (нормоксия) 1.9±0.2 мкМ).

Цитотоксичность фотоактивных пролекарств Pt(IV) **Pt-22, Pt-24, Pt-25, Pt-26, Pt-31** была исследована в темноте и при облучении синим светом (450 нм, удельная доза 0.4 - 1 Дж/см²), а пролекарств **Pt-29** и **Pt-33** – при облучении красным светом (660 нм, 8.3 Дж/см²) с использованием оптимизированного протокола МТТ. В отсутствие света комплексы показали низкую цитотоксичность (20–200 мкМ), однако под действием света цитотоксичность возрастала до микромолярных значений IC₅₀ (0.11–32 мкМ) (Табл. 3). Рост цитотоксической активности пролекарств Pt(IV), наряду с отсутствием фототоксичности лигандов, указывает на способность исследованных координационных соединений Pt(IV) действовать как агенты фотоактивируемой химиотерапии.

Таблица 3. Цитотоксичность пролекарств Pt(IV) **Pt-22, Pt-26, Pt-31** на клеточных линиях MCF-7, VA-13 в темноте и при облучении синим светом 450 нм (доза – 0.4 Дж/см²), **Pt-24** и **Pt-25** на клеточной линии WI-26 (доза – 1 Дж/см²), и пролекарств Pt(IV) **Pt-29** и **Pt-33** на клеточных линиях MCF-7 и VA-13 в темноте и при облучении светом 660 нм (доза 8.3 Дж/см²).

Соединения Pt(IV)	Клеточные линии, IC ₅₀ [μM]								
	MCF-7			VA-13			WI-26		
	Свет(-)	Свет(+)	ИФ*	Свет(-)	Свет(+)	ИФ*	Свет(-)	Свет(+)	ИФ*
Цисплатин	~200	~200	1	32±3	36±4	0.9	2.3±0.2	4.3±0.2	1.8
Pt-22**	>>200	32±3	6.2	111±24	26±3	4.3	-	-	-
Pt-26†	>100	1.9±0.2	>53	>100	9.5±1.5	>10	-	-	-
Pt-31†	>100	9.1±1.0	>11	>100	10.2±3.2	>8	-	-	-
Pt-24**	-	-	-	-	-	-	9.4±0.6	0.2±0.1	47
Pt-25**	-	-	-	-	-	-	28.3±2.9	0.11±0.02	257
Pt-29††	≈20	10.0±1.8	≈2	5.9±0.3	1.8±0.2	3.3	-	-	-
Pt-33††	20.6±1.9	3.0±0.3	7	1.4±0.1	<1	>1.4	-	-	-

*ИФ: Индекс фототоксичности, IC₅₀ (в темноте)/IC₅₀ (при облучении) ** Пролекарство Pt(IV) с производным рибофлавина в аксиальном положении † Пролекарство Pt(IV) с BODIPY в аксиальном положении †† Облучение светом 660 нм

3. Исследование способности пролекарств Pt(IV) высвобождать цисплатин

Для подтверждения способности пролекарств Pt(IV) с фотоактивными лигандами в аксиальном положении высвобождать цисплатин под действием света, фотоиндуцируемое восстановление пролекарств **Pt-22** и **Pt-26** было исследовано с помощью ВЭЖХ-МС при облучении растворов светом синим светом (Табл. 4).

Таблица 4. Фотовосстановление пролекарств Pt(IV) **Pt-22** и **Pt-26** под действием синего света (450 нм) в различных условиях. Концентрация пролекарств во всех экспериментах составляла 10^{-3} М. NaAsc – аскорбат натрия.

Соединения Pt(IV)	Раствор (10^{-3} М)	Удельная мощность облучения, мВт/см ²	Время полного восстановления, мин		В темноте
			Без NaAsc	5 экв. NaAsc	
Pt-22	Вода+5% ДМСО	2	>30	10	Распад на 30% через 24 часа
		8	15	-	
	ДМСО	8	>30	-	-
Pt-26	MeOH+5% ДМСО	32	120	120	Стабилен

Пролекарство **Pt-22** с ТАРФ **37** в аксиальном положении претерпевает быстрый дозозависимый фотораспад под действием синего света, который ускорялся в присутствии аскорбата натрия. Для пролекарства **Pt-26** с BODIPY в аксиальном положении наблюдался медленный фотораспад, несмотря на большую удельную мощность облучения, при этом скорость фотовосстановления не зависела от присутствия донора электронов. При анализе хроматограмм было зафиксировано накопление иона 342.0010, соответствующего комплексу $[Pt(NH_3)_2(HCOO)_2Na]^+$, продукту лигандного обмена цисплатина с муравьиной кислотой в элюенте. Следовательно, пролекарства **Pt-22** и **Pt-26** способны контролируемым образом высвобождать цисплатин при облучении.

Нами также были оценены фотохимические характеристики фотоактивных пролекарств Pt(IV) **Pt-22**, **Pt-26-Pt-33** (Табл. 5). Были определены квантовые выходы и времена жизни флуоресценции, а также времена жизни триплетных состояний и квантовый выход синглетного кислорода.

Таблица 5. Максимум поглощения пролекарств Pt(IV) **Pt-22-Pt-33** времена жизни и квантовые выходы флуоресценции, времена жизни триплетных состояний и квантовые выходы синглетного кислорода

Соединения Pt(IV)	$\lambda_{\text{макс}}$, нм (MeOH)	Φ фл*	τ^{**} , флуоресценции, нс	τ триплетного состояния, мкс	$\Phi, ^1O_2^\dagger$
Pt-22	450	0.2	5.2	60	0.47
Pt-26	497	0.52	2.8	-	-
Pt-27	522	n/d	n/d	n/d	n/d
Pt-28	642	0.7	3.2	-	-
Pt-29	643	n/d	n/d	-	-
Pt-30	655	0.14	3.2	-	-
Pt-31	497	n/d	n/d	-	-
Pt-32	523	0.17	1.4	0.42	0.63
Pt-33	662	0.32	3.3	0.15	0.06

* Φ фл, квантовый выход флуоресценции, относительно 4,4-дифтор-1,3,5,7-тетраметил-8-пентафторфенил-4-бора-3а,4а-диаза-8-индацена, Φ фл. = 1. Для **Pt-22** – относительно рибофлавина Φ фл. = 0.3 ** τ , время жизни, уменьшение количества фотонов (для флуоресценции) или ΔA (для триплетного состояния) в «e» раз относительно начального состояния $\dagger \Phi, ^1O_2$, квантовый выход синглетного кислорода, относительно тетрафенилпорфирина (TPP) ($\Phi\Delta = 0.62$). Для **Pt-22** – относительно Ru(Bpy)₃, $\Phi\Delta [Ru(Bpy)_3] = 0.57$

Исследование механизма фотоиндуцируемого восстановления пролекарств Pt(IV) позволяет предположить вклады синглетного и триплетного возбуждённых состояний аксиального лиганда в переносе электрона на центр Pt(IV). При этом для **Pt-22** было

показано участие растворителя в процессе фотовосстановления. Для пролекарств **Pt-22** с ТАРФ, а также для **Pt-32** и **Pt-33** с 2,6-дибром-BODIPY была показана способность образовывать триплетные состояния методом флеш-фотолиза. Также, при облучении насыщенных кислородом растворов пролекарств **Pt-22**, **Pt-32** и **Pt-33** светом 450, 515 или 654 нм, соответственно путём детектирования флуоресценции $^1\text{O}_2$ $\lambda=1220\text{--}1230$ нм была показана способность данных соединений образовывать синглетный кислород (Табл. 5). Следовательно, пролекарства **Pt-22**, **Pt-32** и **Pt-33** являются пролекарствами двойного действия, способными оказывать цитотоксический эффект как агенты фотоконтролируемой химиотерапии, а также как ФДТ агенты, в том числе под действием света в БИК-диапазоне.

Способность пролекарств Pt(IV) высвобождать цисплатин во внутриклеточной среде была исследована с использованием спектроскопии XANES при облучении синхротронным излучением сухих клеток A549, предварительно инкубированных с комплексами Pt(IV). Соотношение Pt(IV)/Pt(II) в образцах линейно зависит от отношения максимума и минимума (параметра a/b) пика XANES L3 края платины (переход электрона 2p-5d) (Рис. 2), что подтверждается градуировочным графиком зависимости % количества Pt(IV) от значений a/b цисплатина, комплекса Pt(IV) и эквимольной смеси 1:1 (Рис. 2, врезка). Используя значения a/b сухого клеточного материала и референсных образцов, была определена доля Pt(IV) в клетках после инкубации (Табл. 6).

Таблица 6. Доля (%) остаточной Pt(IV) в клетках A549, инкубированных с пролекарствами **Pt-1**, **Pt-4**, **Pt-5** и **Pt-19**

Соединения Pt(IV)	Время инкубации	
	3 часа	24 часа
Pt-1*	21 ± 0.3	6 ± 0.09
Pt-4	81.8±6.5	24.1±7.7
Pt-5	0	0
Pt-19*	61.3±1.1	41.7±1.6

* для соединений **Pt-1** и **Pt-19** время инкубации составляло 2 и 26 часов

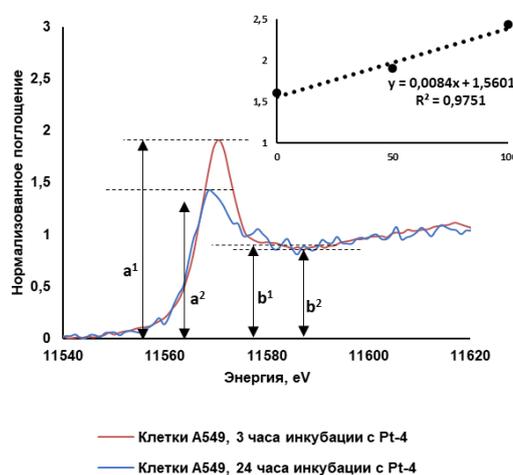


Рисунок 2 (Справа). Спектр XANES образцов клеток A549, инкубированных с пролекарством **Pt-4** 3 и 24 часа. На врезке: градуировочная кривая зависимости a/b от % количества Pt(IV), полученная из спектров XANES твёрдых образцов 100% Pt(II) (цисплатин), 100% Pt(IV) (образец пролекарства), а также эквимольной смеси 1:1 Pt(II):Pt(IV).

Пролекарства **Pt-1** и **Pt-5** продемонстрировали быстрое восстановление во внутриклеточной среде и напротив, для **Pt-4** и **Pt-19** была показана способность постепенно высвобождать цисплатин во внутриклеточной среде. Можно ожидать, что малостабильные комплексы не способны достигать опухоли в виде пролекарства, поэтому их

противоопухолевая активность не будет отличаться от цисплатина. Кроме того, можно заключить, что скорость внутриклеточного восстановления комплексов Pt(IV) значительно определяется природой аксиального лиганда.

4. Исследование метаболизма пролекарств Pt(IV) в живых системах с использованием платинированного нанoeлектрода

4.1. Детектирование цисплатина в сфероиде линии MCF-7 после инкубации с пролекарствами Pt(IV)

Трёхмерные клеточные культуры (сфероиды) являются удобной моделью реальной опухоли для исследования способности пролекарств Pt(IV) накапливаться на глубине злокачественных новообразований. Для исследования способности пролекарств **Pt-4**, **Pt-7**, **Pt-11** доставлять цисплатин на глубину сфероидов MCF-7 был использован платинированный нанoeлектрод, способный электрохимически детектировать цисплатин в живых клетках по пику окисления Pt(II)/Pt(IV) на вольтамперограмме. После выдерживания сфероидов с пролекарствами Pt(IV), цисплатин детектировали электрохимически на различных глубинах сфероида, что позволило оценить профиль распределения цисплатина, высвобождаемого из пролекарств Pt(IV) внутри сфероидов, внутри а также его относительное количество (Рис. 3).

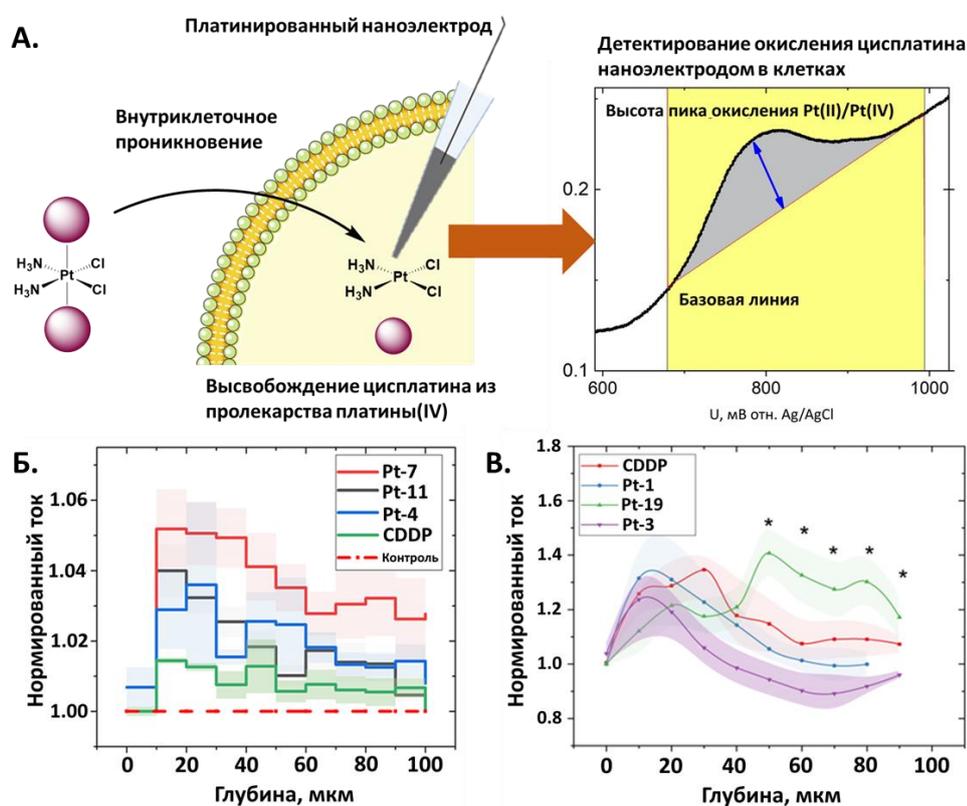


Рисунок 3. А. Общая схема эксперимента по детектированию цисплатина в сфероиде линии MCF-7. Содержание цисплатина определяется путём детектирования тока окисления Pt(II)/Pt(IV) Б. Профиль распределения цисплатина после 6 часов инкубации сфероидов с пролекарствами **Pt-4**, **Pt-7**, **Pt-11** и цисплатином. В. Профиль распределения цисплатина после 6 часов инкубации сфероидов с пролекарствами **Pt-1**, **Pt-3**, **Pt-19** и цисплатином.

Пролекарства **Pt-7**, **Pt-4** и **Pt-11** показали способность накапливаться внутри сфероидов и высвобождать цисплатин. Для пролекарства **Pt-7** был показан самый высокий уровень детектируемого цисплатина на всей глубине измерений в сравнении с **Pt-4**, **Pt-11** и цисплатином, что, вероятно, обусловлено оптимальной липофильностью пролекарства **Pt-7** (Рис. 3, Б).

Для пролекарства **Pt-19** с метронидазолом было показано накопление на большей глубине сфероида, чем для эквимольных количеств **Pt-1**, **Pt-3** или цисплатина (Рис. 3, В) Принимая во внимание способность метронидазола необратимо восстанавливаться в гипоксических условиях, разумно предположить, что **Pt-19** накапливается в гипоксической области, где высвобождает цисплатин.

4.2. Исследование фотоиндуцированного высвобождения цисплатина и образования АФК в сфераоидах, преинкубированных с фотоактивными пролекарствами Pt(IV).

Большой интерес представляет доказательство двойного механизма цитотоксического действия фотоактивируемых пролекарств Pt(IV) непосредственно в опухолевых моделях – клеточных сфераоидах. Для детектирования образования АФК и цисплатина при облучении инкубированных с пролекарством **Pt-22** сфероидов MCF-7 был также использован платинированный нанозлектрод. Для детектирования АФК источник света 450 нм использовался в режиме чередования коротких (10 – 25 с) интервалов выключения и включения лампы, во время которых записывалась сила тока при +800 мВ на определённой глубине сфероида MCF-7 (Рис. 4).

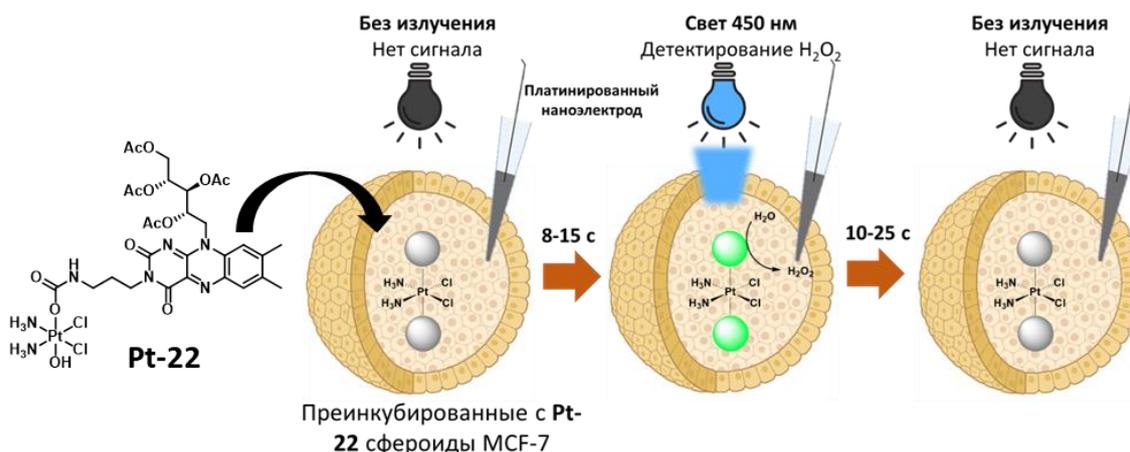


Рисунок 4. Общая схема эксперимента по детектированию АФК в **Pt-22**-преинкубированных сфераоидах линии MCF-7.

Пролекарство **Pt-22** показало способность образовывать АФК внутри сфероидов, на что указывал рост внутриклеточного тока при +800 мВ при включении лампы, соответствующего сигналу окисления перекиси водорода ($\text{H}_2\text{O}_2 - 2e = \text{O}_2 + 2\text{H}^+$) (Рис. 5, А,

Б). Таким образом, **Pt-22** способно действовать как эффективный агент фотодинамической терапии.

Для детектирования цисплатина, образующегося в процессе фотовосстановления **Pt-22**, было определено содержание цисплатина в сфероидах MCF-7 до и после облучения сфероидов светом 450 нм (Рис. 5, В).

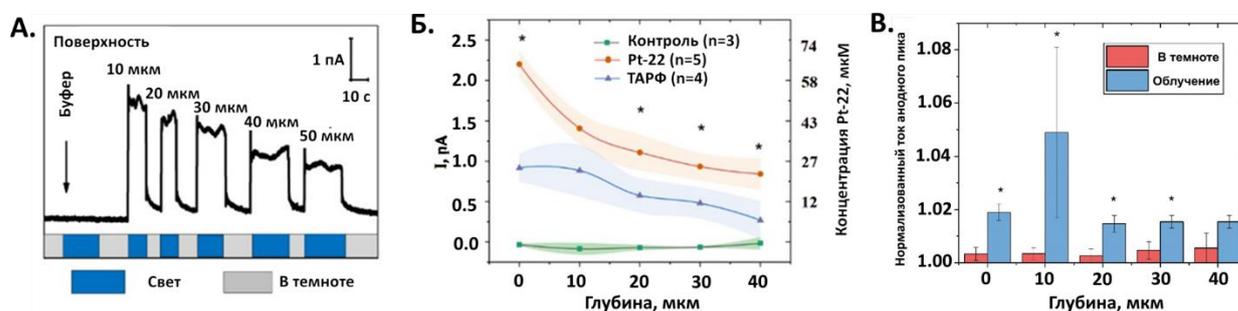


Рисунок 5. А. Хроноамперограмма, демонстрирующая увеличение тока после облучения светом 450 нм сфероидов, предварительно инкубированных с **Pt-22**. Б. Средние значения количества АФК на разной глубине сфероидов, преинкубированных с **Pt-22** и ТАРФ 37, а также контрольной группы. В скобках указано количество сфероидов в каждой группе измерений. В. Суммарный ток окисления Pt(II)/Pt(IV) на разной глубине сфероидов MCF-7, полученный в темноте и после облучения сфероидов светом 450 нм.

Как следует из Рис. 5, В, в темноте уровень цисплатина в сфероиде низкий, однако после облучения наблюдается значительный рост содержания цисплатина на всей глубине измерений. Таким образом, нами впервые показана способность пролекарства Pt(IV) **Pt-22** высвобождать цисплатин под действием света в видимой области при измерении в реальном времени непосредственно в клеточном сфероиде.

4. Исследование противоопухолевой эффективности пролекарств Pt(IV) *in vivo*

Для пролекарства **Pt-7** была определена максимально переносимая доза на мышах BALB/C, доза до 8 мг/кг переносилась животными без осложнений. В предварительном испытании противоопухолевой эффективности *in vivo* с использованием минимальной дозы 2 мг/кг на мышах BALB/C с привитой аденокарциномой молочной железы мышей ЕМТ-6 терапия пролекарством **Pt-7** за 18 дней привела к большему торможению роста опухоли, чем терапия цисплатином (Рис. 6, А). Кроме того, в группе **Pt-7** выживаемость мышей была выше, чем в группе цисплатина.

Чтобы пролекарство Pt(IV) могло превзойти противоопухолевую эффективность цисплатина, оно должно достигать опухоли в виде комплекса Pt(IV) и доставлять больше платины в опухолевую ткань, чем эквивалентная доза цисплатина. Исследование способности пролекарств **Pt-7** и **Pt-4** доставлять цисплатин *in vivo* в опухоль ЕМТ-6 мышей BALB/C проводили с помощью платинированного наноэлектрода. Пролекарства **Pt-4** и **Pt-**

7 показали способность доставлять цисплатин на глубину опухоли, как при внутривенном, так и при внутриопухолевом введении (Рис. 6, В - Е).

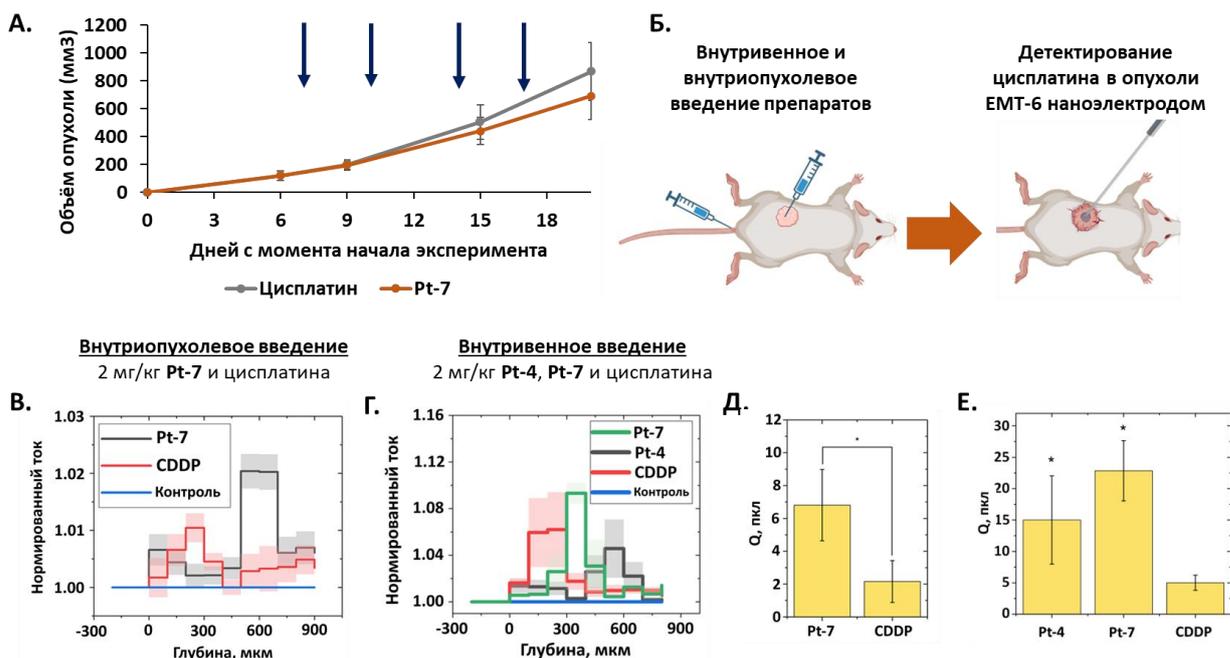


Рисунок 6. А. Оценка противоопухолевой эффективности пролекарства Pt-7. Объем опухоли при введении 2 мг/кг цисплатина (n=8) или пролекарства Pt-7 (n=7). Б. Детектирование цисплатина в опухоли EMT-6 мышей BALB/C. Общая схема режимов введения соединений в мышей BALB/C для детектирования цисплатина. Зависимость тока окисления Pt(II)/Pt(IV) от глубины опухоли EMT-6 при внутриопухолевом (В.) или внутривенном (Г.) введении цисплатина и пролекарств Pt(IV). Суммарный ток окисления Pt(II)/Pt(IV) в опухоли EMT-6 при внутриопухолевом (Д.) или внутривенном (Е.) введении цисплатина и пролекарств Pt(IV)

Полученные данные показывают, что пролекарства Pt-4 и Pt-7 являются эффективными средствами доставки цисплатина в опухоль. Профиль распределения цисплатина, высвободившегося из липофильных пролекарств Pt-4 и Pt-7 значительно отличается от профиля распределения идентичной дозы цисплатина, из чего можно предположить, что пролекарства способны достичь опухоли, подвергаясь минимальному распаду, и высвободить цисплатин в месте терапевтического действия. Таким образом, пролекарства Pt(IV) являются эффективными агентами, способными увеличить терапевтическую эффективность применяемых в клинической практике препаратов Pt(II).

ВЫВОДЫ

1. На основе оптимизированных синтетических подходов получено 32 новых пролекарства Pt(IV) с лигандами на основе НСПВП, нитроимидазолов, азоароматических производных, рибофлавина и бор-дипиррометенов.
2. Разработаны новые подходы к синтезу пролекарств Pt(IV) с органическими лигандами в аксиальном положении путём создания карбаматной связи и медь-катализируемого азид-алкинового циклоприсоединения.

3. Исследование цитотоксической активности показало, что новые пролекарства Pt(IV) более активны против ряда клеточных линий чем цисплатин, наибольшую активность, в 150 раз превышающую цисплатин показало пролекарство **Pt-7**.
4. Показано, что цитотоксическая активность пролекарств Pt(IV) зависит от ряда факторов, таких как липофильность, скорость восстановления пролекарства, типа линкера между аксиальным лигандом и центром Pt(IV), однако в значительной степени определяется природой аксиального лиганда.
5. Разработаны фотоактивируемые пролекарства Pt(IV) с лигандами на основе рибофлавина и бор-дипиррометенов, способных к контролируемому высвобождению цисплатина при возбуждении светом. Определены факторы, влияющие на скорость фотовысвобождения цисплатина, предложен механизм фотоиндуцированного восстановления пролекарств.
6. Впервые получены фотоактивируемые пролекарства Pt(IV) двойного действия, представляющие собой агенты фотоконтролируемой химиотерапии и фотодинамической терапии. Доказано, что пролекарство **Pt-22** способно под действием света высвобождать цисплатин и образовывать АФК в сфероидов линии MCF-7.
7. Показано, что пролекарства **Pt-7** и **Pt-19** способны накапливаться на глубине опухолевых сфероидов MCF-7. Пролекарство **Pt-7** превосходит в терапевтической эффективности цисплатин в предварительных испытаниях *in vivo*, а также является эффективным средством доставки цисплатина в опухоль EMT-6 мышей BALB/C.

Основные результаты работы изложены в публикациях:

Публикации в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ:

1. Spector D. V., Erofeev A.S., Gorelkin P. V., Vaneev A.N., Akasov R.A., Ul'yanovskiy N. V., Nikitina V.N., Semkina A.S., Vlasova K.Y., Soldatov M.A., Trigub A.L., Skvortsov D.A., Finko A. V., Zyk N. V., Sakharov D.A., Majouga A.G., Beloglazkina E.K., Krasnovskaya O.O. Electrochemical Detection of a Novel Pt(IV) Prodrug with the Metronidazole Axial Ligand in the Hypoxic Area // *Inorganic Chemistry* – 2022. – Т. 61. – С. 14705–14717. *Импакт-фактор: 5.436 (WOS) (Q1)*. Личный вклад: **45%**
2. Spector D., Erofeev A., Gorelkin P., Skvortsov D., Trigub A., Markova A., Nikitina V., Ul'yanovskiy N., Shtil' A., Semkina A., Vlasova K., Zyk N., Majouga A., Beloglazkina E., Krasnovskaya O. Biotinylated Pt(IV) prodrugs with elevated lipophilicity and cytotoxicity // *Dalton Transactions* – 2023. – Т. 52. – № 4. – С. 866–871. *Импакт-фактор: 4.569 (WOS) (Q1)*. Личный вклад: **45%**

3. Krasnovskaya O., Spector D., Erofeev A., Gorelkin P., Akasov R., Skvortsov D., Trigub A., Vlasova K., Semkina A., Zyk N., Beloglazkina E., Majouga A. Alternative mechanism of action of the DNP Pt^{IV} prodrug: intracellular cisplatin release and the mitochondria-mediated apoptotic pathway // Dalton Transactions – 2021. – Т. 50. – № 23. – С. 7922–7927. *Импакт-фактор: 4.569 (WOS) (Q1)*. Личный вклад: **45%**
4. Krasnovskaya O.O., Akasov R.A., Spector D. V., Pavlov, K. G., Bublej, A. A., Kuzmin, V. A., Kostyukov, A. A., Khaydukov, E. V., Lopatukhina, E. V., Semkina, A. S., Vlasova, K. Y., Sypalov, S. A., Erofeev, A. S., Gorelkin, P. V., Vaneev, A. N., Nikitina, V. N., Skvortsov, D. A., Ipatova, D. A., Mazur, D. M., Zyk, N. V., Sakharov, D. A., Majouga, A. G., Beloglazkina, E. K. Photoinduced Reduction of Novel Dual-Action Riboplatin Pt(IV) Prodrug // ACS Applied Materials & Interfaces – 2023. – Т. 15. – № 10. С. 12882–12894. *Импакт-фактор: 10.383 (WOS) (Q1)*. Личный вклад: **35%**.
5. Spector D. V., Pavlov K.G., Akasov R.A. Vaneev, A. N., Erofeev, A. S., Gorelkin, P. V., Nikitina, V. N., Lopatukhina, E. V., Semkina, A. S., Vlasova, K. Y., Skvortsov, D. A., Roznyatovsky, V. A., Ul'yanovskiy N. V., Pikovskoi, I. I., Sypalov, S. A., Garanina, A. S., Vodopyanov, S. S., Abakumov, M. A., Volodina, Y. L., Markova, A. A., Petrova, A. S., Mazur, D. M., Sakharov, D. A., Zyk, N. V., Beloglazkina, E. K., Majouga, A. G., Krasnovskaya, O. O. Pt(IV) Prodrugs with Non-Steroidal Anti-inflammatory Drugs in the Axial Position // Journal of Medicinal Chemistry – 2022. – Т. 65. – № 12. – С. 8227–8244. *Импакт-фактор: 8.039 (WOS) (Q1)*. Личный вклад: **40%**.
6. Spector D., Krasnovskaya O., Pavlov K., Erofeev A., Gorelkin P., Beloglazkina E., Majouga A. Pt(IV) prodrugs with NSAIDs as axial ligands // International Journal of Molecular Sciences – 2021. – Т. 22. – № 8. – С. 3817. *Импакт-фактор: 6.208 (WOS) (Q1)*.
7. Spector D., Pavlov K., Beloglazkina E., Krasnovskaya O. Recent Advances in Light-Controlled Activation of Pt(IV) Prodrugs // International Journal of Molecular Sciences – 2022. – Т. 23. – № 23. – С. 14511. *Импакт-фактор: 6.208 (WOS) (Q1)*
8. Спектор Д.В., Бублей А.А., Белоглазкина Е.К., Красновская О.О. Пролекарства Pt(IV) как альтернатива препаратам Pt(II): синтез и биологическое действие // Успехи химии – 2023. – 92. – С. RCR5096. *Импакт-фактор: 5.302 (РИИЦ) (Q1)*. Spector D.V., Bublej A.A., Beloglazkina E.K., Krasnovskaya O.O. Pt(IV) prodrugs as an alternative to Pt(II) drugs: synthesis and biological activity // Russ. Chem. Rev. – 2023. – Т. 92. – С. RCR5096. *Импакт-фактор: 7.46 (WOS) (Q1)*.