

На правах рукописи

СКВОРЦОВ АЛЕКСЕЙ НИКОЛАЕВИЧ

КОМПЛЕКСЫ ПЛАТИНЫ С ХИРАЛЬНЫМИ
СЕРАСОДЕРЖАЩИМИ ЛИГАНДАМИ: СПЕКТРАЛЬНЫЕ И
СТРУКТУРНЫЕ СВОЙСТВА, МЕХАНИЗМЫ РЕАКЦИЙ С
БИОМОЛЕКУЛАМИ.

Специальность 03.00.02

Биофизика

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук

Санкт-Петербург

2003

Работа выполнена в Институте Цитологии
Российской Академии Наук

Научный руководитель:

доктор биологических наук,
профессор

Воробьёв Владимир Иосифович

Официальные оппоненты:

доктор физико-математических наук

Тулуб Александр Александрович

доктор химических наук,
профессор

Балашёв Константин Павлович

Ведущая организация:

Петербургский институт
ядерной физики
им. Б.П. Константинова РАН

Защита состоится «16» мая 2003 г. в 16.00 часов на заседании диссертационного совета Д212.229.25 при Санкт-Петербургском Государственном Политехническом Университете по адресу: 195251 Санкт-Петербург, Политехническая ул., д. 29.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Санкт-Петербургского Государственного Политехнического Университета

Автореферат разослан « 8 » апреля 2003 г.

Учёный секретарь

Диссертационного совета

кандидат физико-математических наук

Власова О.Л.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Противоопухолевые и цитотоксические свойства соединений платиновых металлов являются предметом интенсивных исследований уже в течение нескольких десятилетий. Достигнут значительный прогресс в изучении молекулярных механизмов биологического действия комплексов платины (II), в особенности широко используемого в клинической практике препарата *цис*-дихлородиамминоплатины (II) (*цис*-ДДП, цисплатин). Серьёзные недостатки цисплатина – токсичность и ограниченный спектр действия – стимулировали исследования разнообразных координационных соединений на предмет биологической активности, в результате были открыты новые классы биологически активных соединений платины.

Несмотря на огромный объём накопленного материала многие аспекты действия платиновых цитостатиков остаются неясными. В настоящее время считается общепринятым, что противоопухолевая активность комплексов платины (II) обусловлена их способностью повреждать ДНК. Однако, неясно, как платиновые комплексы достигают ДНК при наличии жёсткой конкуренции со стороны многочисленных *S*-донорных лигандов. Комплексы с *S*-донорными лигандами традиционно считали конечным продуктом метаболизма платины, а в модельных системах *in vitro*, чаще всего совершенно не учитывалось присутствие в живых клетках большого количества конкурирующих *S*-доноров. Важным результатом, полученным относительно недавно, является доказательство возможности замещения ряда *S*-донорных лигандов на гуанин. Более того, биологическая активность была обнаружена у комплексов платины и рутения с *S*-донорными лигандами (сульфоксиды, тиокарбаматы и тиоэферы). Серасодержащие соединения используются в клинике в качестве защитных агентов, уменьшающих токсическое действие цисплатина, но не снижающих его терапевтической активности.

Первоначально эмпирически было установлено, что только *цис*-изомеры диам(м)иновых комплексов платины, образующие внутринитевые повреждения ДНК определённого типа, обладают противоопухолевой активностью. Тем не менее, данная закономерность не является достаточным условием проявления цитотоксических свойств и не распространяется на новые классы платиновых цитостатиков. Это свидетельствует о том, что лиганды биологически активного комплекса должны не только благоприятствовать связыванию с ДНК и образованию стабильных аддуктов, но и определённым (и практически неизвестным) образом взаимодействовать с другими молекулами клетки. Если вспомнить о наличии сильного взаимного влияния лигандов в комплексах платины, то становится понятным отсутствие простых закономерностей, связывающих строение комплекса с биологической активностью. Известно, что присутствие в координационной сфере атома серы, особенно сульфоксидного, приводит к лабилизации других лигандов и увеличению реакционной способности комплекса. Механизм действия таких комплексов должен отличаться от принятого для *цис*-ДДП.

Таким образом, изучение реакций комплексов платины, содержащих сульфоксидные лиганды, представляет интерес как для объяснения собственной биологической активности этих комплексов, так и для понимания первичного метаболизма платиновых комплексов вообще.

Серьёзными препятствиями на пути изучения метаболизма и механизмов действия платиновых препаратов являются отсутствие надёжных методов слежения за атомами платины при характерных терапевтических концентрациях и чрезвычайная сложность биологических систем. Недостаточность наших знаний о превращениях комплексов может быть восполнена изучением модельных систем с использованием чувствительных методов оптического диапазона. Большинство перспективных противоопухолевых соединений платины не обладают, к сожалению, характерными спектральными свойствами в оптическом диапазоне, но такие свойства могут быть обнаружены у их менее активных химических аналогов. Для изучения механизмов действия сульфоксидных комплексов особый интерес представляет использование оптической активности хиральных сульфоксидов, проявляющейся в виде интенсивных и специфических полос в спектрах кругового дихроизма (КД).

Цель и задачи исследования: Целью настоящей работы являлось установление особенностей молекулярных механизмов биологического действия нейтральных сульфоксидных комплексов платины (II) в сравнении с классическими биологически-активными соединениями платины.

В соответствии с целью исследования были поставлены следующие задачи:

1. Получение спектральных данных (ЯМР, электронная спектроскопия, спектроскопия КД) для ряда нейтральных комплексов общей формулы $[Pt(MTCSO)LCl_2]$, где MTCSO – оптически активный (+)-(*R*)-метил-пара-толилсульфоксид, L – нейтральный лиганд.
2. Рентгеноструктурный анализ комплексов (–)-*цис*- и (–)-*транс*- $\{Pt[(S)-MTCSO]PyCl_2\}$ (Py – пиридин).
3. Изучение стабильности изомеров $[Pt(MTCSO)PyCl_2]$ в водных растворах методом спектроскопии КД. Построение кинетической схемы и определение кинетических параметров реакций гидролиза.
4. Определение констант скоростей реакций указанных изомеров с различными низкомолекулярными соединениями, содержащими разные донорные группы.
5. Исследование взаимодействия изомеров $[Pt(MTCSO)PyCl_2]$ с высокомолекулярной ДНК. Влияние образуемых повреждений на физико-химические свойства ДНК.
6. Сравнительный анализ механизмов реакций *цис*- и *транс*- $[Pt(MTCSO)PyCl_2]$ с азот- и серасодержащими природными и синтетическими соединениями.

Дополнительно осуществлено исследование зависимости оптических свойств хирального сульфоксида (+)-*R*-MTCSO от физико-химических условий (температура, pH, полярность растворителя) с целью оценить правомерность использования данного соединения в качестве хиральной метки.

Также подвергнуты спектральному и структурному исследованию окисленные формы L-метионина, использованные для установления роли атома серы во взаимодействии с исследуемыми комплексами платины.

Положения, выносимые на защиту:

1. Оптическая активность и поглощение асимметричного сульфоксида могут быть использованы для изучения превращений металлокомплексов, в частности биологически активных соединений платины (II), содержащих хиральный сульфоксид как лиганд, при малых концентрациях, характерных для биологических систем.
2. Хиральный метил-*пара*-толилсульфоксид представляет собой устойчивый автономный хромофор, обладающий высокой специфической оптической активностью, которая резко изменяется при образовании сульфоксидом координационной связи.
3. Существенные ограничения при изучении комплексов платины (II) методами ^1H и ^{195}Pt ЯМР вызваны сильной анизотропией химического сдвига ядра ^{195}Pt в плоскоквадратном окружении и связанным с ней механизмом релаксации. Теряющаяся информация о КССВ в спектрах ^1H ЯМР в ряде случаев может быть восстановлена с помощью методов теории динамического обмена.
4. Взаимодействие комплексов платины (II) с серасодержащими молекулами является очень эффективным и резко сужает круг соединений платины (II), реализующих противоопухолевое действие путём специфического повреждения ДНК.

Научная новизна работы: В данной работе произведен сравнительный анализ ряда комплексов, содержащих хиральный сульфоксидный лиганд МТСО методами спектроскопии ЯМР и КД. Нами получены рентгеноструктурные данные и определена абсолютная конфигурация (-)-*цис*- и (-)-*транс*- $[\text{Pt}(\text{МТСО})\text{PyCl}_2]$. (-)-*транс*- $[\text{Pt}(\text{МТСО})\text{PyCl}_2]$ является первым комплексом платины с МТСО *транс*-конфигурации, для которого получены рентгеноструктурные данные. Геометрические параметры аминокислоты D-метионинсульфона (структурные данные для ближайших аналогов к данному моменту не известны) также определены рентгеноструктурным методом.

В процессе анализа спектров ^1H ЯМР исследуемых соединений предложен метод интерпретации уширения линий, возникающего из-за анизотропии химического сдвига ядра ^{195}Pt в комплексах платины (II), при увеличении постоянного магнитного поля. Усовершенствованный подход применим для уточнения констант спин-спинового взаимодействия $J_{\text{Pt-H}}$ не только в случае низких, но и в случае промежуточных скоростей релаксации ^{195}Pt .

Проведено систематическое изучение устойчивости пиридинсульфоксидных комплексов в водных растворах при низких концентрациях платины, характерных для биологических систем. Впервые осуществлено параллельное сравнительное исследование реакций *цис*- и *транс*-изомеров пиридинсульфоксидного комплекса с различными нуклеофилами в водной среде.

Научная и практическая значимость работы:

Разработаны методики и подходы к изучению замещения лигандов с помощью спектроскопии КД в сочетании с электронной спектроскопией. Метод даёт возможность исследовать реакции комплексов с сульфоксидными лигандами при низких концентрациях реагентов.

Закономерности, полученные при исследовании реакций пиридин-сульфоксидных комплексов с различными нуклеофилами могут быть полезны для разработки методов синтеза новых комплексов платины (II). Эти закономерности в сочетании с полученными структурными данными по изомерам $[Pt(MTSCO)PyCl_2]$ также представляют интерес для координационной химии сульфоксидных комплексов и теории *транс*-влияния.

Результаты, полученные в данной работе, имеют большое значение для понимания особенностей биологического действия неклассических цитотоксических платиновых соединений – пиридин- и хинолинсульфоксидных комплексов. Поиск и изучение метаболических путей превращения платиновых комплексов, в том числе и неочевидных, необходимы для направленного поиска новых платиновых препаратов.

Апробация работы: Материалы диссертации представлялись на 34-й Международной конференции по координационной химии ICCS-34 (Эдинбург, 2000), Международном симпозиуме по химии и применению фосфор-, сера- и кремнийорганических соединений «Петербургские встречи» ISPM-III (1998) и ISPM-IV (2002), 14-й международной летней школе по координационной химии (Поляница, Польша, 1999), 3-ей Международной школе по молекулярному катализу (Лагов, Польша, 1999), XVII международном Черняевском совещании по химии, анализу и технологии платиновых металлов (Москва, 2001), II национальной кристаллохимической конференции (Черноголовка, 2000), XIX всероссийском Чугаевском совещании по химии комплексных соединений (Иваново, 1999), школе-конференции молодых ученых «Биология - наука XXI века» (Пушино, 2002), школе-конференции «Горизонты физико-химической биологии» (Пушино, 2000), IX всероссийской студенческой научной конференции, посвященной 130-летию открытия периодического закона Д.И. Менделеева (Екатеринбург, 1999), а также докладывались на итоговом семинаре по физике и астрономии по результатам конкурса грантов 2000 года для молодых учёных Санкт-Петербурга.

По теме работы опубликовано 3 статьи в реферируемых научных журналах.

По результатам анализа современных литературных данных по теме работы опубликовано учебное пособие «Современная бионеорганическая химия платины», соответствующее рабочей программе дисциплины «Молекулярная биология» СПбГТИ(ТУ).

Структура и объём работы: Диссертация изложена на 179 страницах, содержит 60 рисунков и 16 таблиц и состоит из введения, 5 глав, содержащих обзор литературы, результаты работы и их обсуждение, выводов, списка использованной литературы и приложения. Список цитированной литературы включает 188 наименований.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во *введении* обоснована актуальность темы настоящей работы, сформулированы цель и задачи исследования.

Первая глава посвящена анализу литературы по биологической активности комплексов платиновых металлов. Отмечены основные достижения в традиционной и наиболее хорошо разработанной области – изучении механизмов повреждения ДНК платиновыми комплексами. Описаны известные в настоящий момент молекулярно-биологические события, вызываемые платинированием ДНК и наиболее доказанные гипотезы, связывающие эти первичные молекулярные события и гибель раковых клеток. Подчёркнута необходимость учёта реакций с серасодержащими природными соединениями для правильного понимания и описания механизмов действия платиновых цитостатиков.

Во *второй главе* описаны материалы и методы исследования, использованные в работе. Оптически чистый хиральный сульфоксидный лиганд (+)-*R*-метил-*пара*-толилсульфоксид (МТСО) синтезирован в СПбГТИ(ТУ) по стандартной методике. Нейтральные комплексы вида $[Pt(MTSCO)LCl_2]$, где L – нейтральный лиганд, синтезированы по ранее описанным методикам. Чистота исходных соединений проверена с помощью спектроскопии 1H ЯМР. Данные рентгеноструктурного анализа получены на дифрактометре Enraf-Nonius CAD-4 лаборатории рентгеноструктурных исследований НИФХИ им. Карпова (г. Москва, зав. лаб. д.х.н., проф. В.К. Бельский). Визуализация и обработка структурных данных осуществлены с помощью программы PLATON (A.L. Spek, 1999). Спектры ^{13}C ЯМР и большинство спектров 1H ЯМР получены на приборе Bruker AC-200 (1H 200.13 МГц) НИИ антибиотиков и ферментов, Санкт-Петербург. Для исследования зависимости эффектов релаксации от величины постоянного поля также были получены 1H ЯМР спектры на приборах JEOL MN 100 (100.13 МГц), Bruker WM-250 (250.13 МГц), Bruker DPX-300 (300.13 МГц) и Bruker AM-500 (500.13 МГц).

Спектры оптического поглощения были записаны на приборе Specord-M40. Спектры кругового дихроизма (КД) получены на спектрополяриметре-дихрографе Cary-60CD и дихрографе Mark-V в кварцевых кюветах. В ходе выполнения работы приборы Specord-M40 и Mark-V были усовершенствованы разработкой и созданием PC-совместимых интерфейсов, что обеспечило полную автоматизацию измерения спектров и кинетических кривых. Кинетические зависимости для реакций хиральных комплексов платины с различными нуклеофилами получены путем периодического автоматического съёма спектров реакционной смеси по авторским программам управления приборами. Анализ кинетических кривых и разложение спектров на полосы производились с помощью программы MicrocalTM ORIGIN версии 5.0. Предположения о кинетическом характере (порядке) реакции проверялись сравнением остаточных разностей квадратов для различных видов кинетических кривых.

Дополнительная проверка гипотез производилась сравнением значений констант скоростей, полученных из спектров КД и спектров УФ-поглощения.

Взаимодействие комплексов платины с ДНК изучалось с помощью спектроскопии УФ и КД. В качестве высокомолекулярной ДНК использовался коммерческий препарат ДНК эритроцитов курицы (Reanal, Венгрия).

Главы 3-5 содержат результаты работы и их обсуждение.

Структурные и спектральные свойства комплексов, содержащих хиральный сульфоксидный лиганд МТСО.

В качестве основного подхода для исследования механизмов реакций платиновых комплексов с биомолекулами было выбрано изменение оптических свойств асимметричного серасодержащего лиганда (+)-метил-*пара*-толилсульфоксида (МТСО). Уникальным свойством этого соединения является высокая устойчивая оптическая активность, которая сильно изменяется при координации МТСО к атомам металлов. Изменение угла оптического вращения (ОВ) α^{20}_D было успешно использовано ранее для изучения некоторых реакций комплексов платины (II) с МТСО [9]. Однако, ОВ в видимой области содержит косвенную информацию об оптически активных переходах сульфоксида, лежащих в УФ-области. В качестве развития описываемого подхода в настоящей работе нами разработан метод с использованием спектроскопии КД в УФ-области. Метод спектроскопии КД даёт прямую информацию об оптически активных переходах, а также обладает большей чувствительностью. Преимущество спектроскопии КД перед классическим методом спектроскопии УФ-поглощения состоит в том, что поглощением обладают все вещества, в то же время, как было показано в работе, сильной оптической активностью в исследуемых системах обладает только асимметричный сульфоксид.

Нами проведены сравнительные спектральные (ЯМР ^1H и ^{13}C , КД) исследования хиральных комплексов вида $[\text{Pt}(\text{MTCO})\text{LCl}_2]$ (L-нейтральный лиганд; Cl) [5]. Для изучения типа координации МТСО, его *транс*-эффекта и взаимного стерического влияния лигандов нами проведены рентгеноструктурный анализ (-)-*цис*- и (-)-*транс*- изомеров пиридинсульфоксидного комплекса $[\text{Pt}(\text{MTCO})\text{PyCl}_2]$ (Py – пиридин) (рисунок 1) и сравнение полученных результатов с имеющимися структурными данными по комплексам с МТСО [2]. Подобие изомеров $[\text{Pt}(\text{MTCO})\text{PyCl}_2]$ биологически активным комплексам *цис*- и *транс*- $[\text{Pt}(\text{RR}'\text{SO})(\text{quin})\text{Cl}_2]$ (RR'SO – сульфоксид, quin – 2,3-бензопиридин) и устойчивость их к изомеризации были основными причинами, обусловившими их выбор в качестве основных объектов исследования в данной работе. Рентгеноструктурным анализом однозначно подтверждается координация МТСО через атом серы с сохранением относительного расположения заместителей (рисунок 1). Координация через атом серы косвенно подтверждается методом спектроскопии ^1H ЯМР и для других исследованных нами МТСО-содержащих комплексов платины [5]. Сравнение наших данных с литературными данными по другим комплексам

платины с сульфоксидами и пиридинами показывает, что изменение структурных параметров МТСО и пиридина при координации находится в согласии с общими закономерностями. Структурное *транс*-влияние сульфоксидного лиганда выражено не сильно и приводит к небольшому увеличению длины связи платина-лиганд, находящейся в *транс*-положении к связи Pt-S. Структурное *транс*-влияние в пиридинсульфоксидных комплексах убывает в следующем порядке: ДМСО > МТСО > Cl > Py [2].

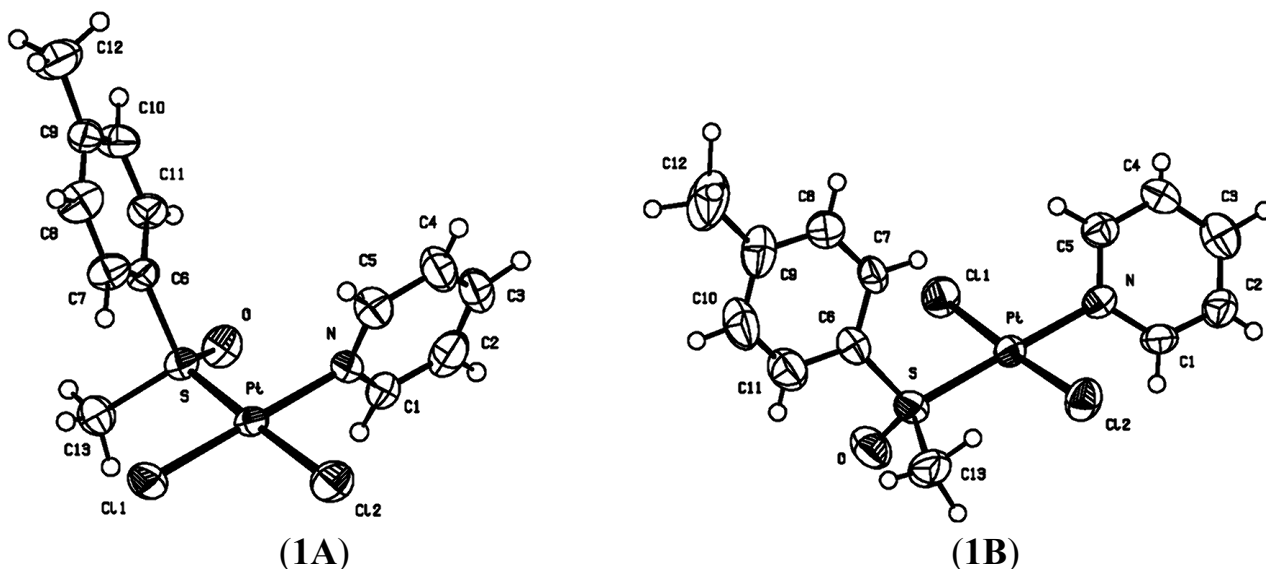


Рисунок 1. Молекулярная структура и абсолютная конфигурация комплексов (-)-*цис*-{Pt[(S)-МТСО-S]PyCl₂} (**1A**) и (-)-*транс*-{Pt[(S)-МТСО-S]PyCl₂} (**1B**).

Исследование молекулярных моделей, построенных на рентгеноструктурных данных, показывает, что в *транс*-изомере **1B** может происходить свободное вращение пиридинового и сульфоксидного лигандов вокруг связей Pt-N и Pt-S. *Цис*-изомер **1A** также не является стерически напряжённым, хотя количество возможных взаимных расположений лигандов мало по сравнению с *транс*-изомером.

Оптические свойства свободного и координированного МТСО

Несмотря на достаточно интенсивное использование МТСО в химии, его оптическая активность до сих пор не подвергалась детальному изучению. Мы провели количественный анализ УФ-поглощения и КД свободного и координированного МТСО в различных физико-химических условиях (рисунок 2) с использованием разложения спектров на полосы логнормальной формы. Для интерпретации полученных спектров также привлечено исследование электронной структуры молекулы методами квантовой химии (таблица 1).

В спектре УФ-поглощения свободного МТСО выявляется 2 интенсивных полосы S_1 и S_2 , и слабая полоса A с заметной колебательной тонкой структурой (рисунок 2) [2]. Все полосы оптически активны, при этом S_1 и S_2 имеют противоположный знак кругового дихроизма. Квантовохимический расчёт *ab initio* в базисе STO-3G* (хорошо зарекомендовавшем себя для качественной

оценки свойств сульфоксидов) показывает наличие сопряжения между электронами группы S=O и ароматического кольца, эффект сопряжения сильно зависит от угла φ между связью S=O и плоскостью кольца. Поэтому строгий подход требует рассматривать МТСО как единый хромофор с внутренней асимметрией (хромофор I типа по классификации Моффита и Московича), что подтверждается совместным анализом спектров поглощения и КД. Полосы S_1 и S_2 , присутствующие в спектрах других асимметричных сульфоксидов, могут быть лишь условно отнесены к сульфоксидной группе. При увеличении дипольного момента молекул растворителя происходит сдвиг всех полос МТСО в коротковолновую область, и увеличение интенсивности полосы S_1 [2]. Спектр КД водного раствора МТСО практически не меняется при изменении температуры (10-60°C), ионной силы, pH (2-9), объёма примеси этанола (до 15%) и концентрации вещества в пределах 10^{-2} - 10^{-6} М, что делает МТСО хорошей хиральной меткой.

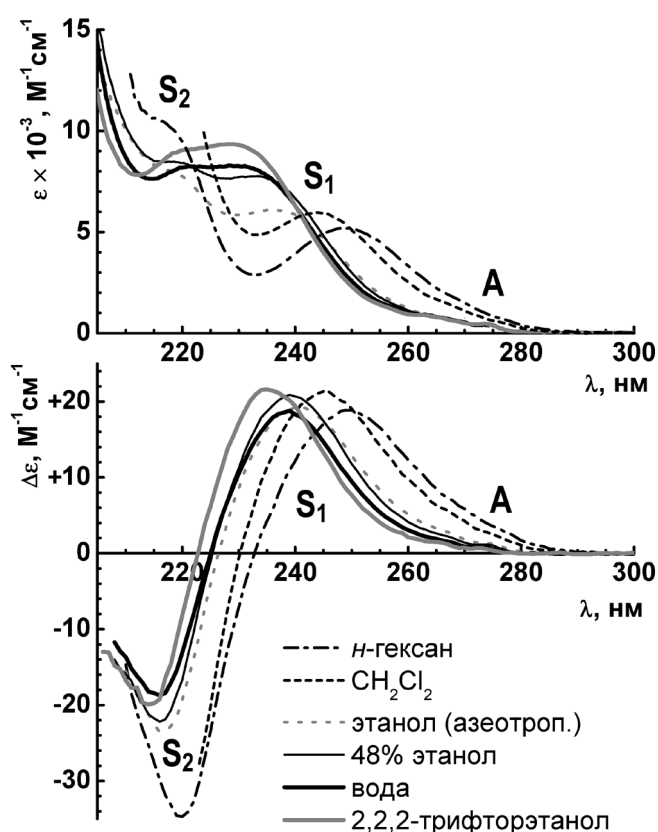


Рисунок 2. Спектры поглощения и КД МТСО в разных растворителях.

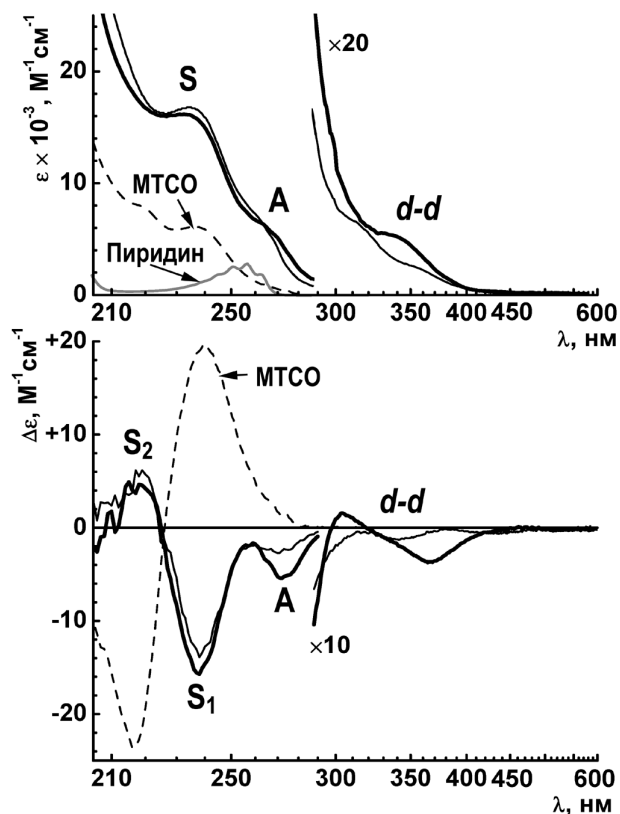


Рисунок 3. спектры поглощения и КД: (---) *-цис-* {Pt[MTCO]PyCl₂} (—) и (—) *-транс-* {Pt[MTCO]PyCl₂} (—) в этаноле.

Поведение спектральных полос хорошо предсказывает проведённый нами квантовохимический расчёт МТСО методом конфигурационного взаимодействия с учётом зависимостей свойств молекулы от степени сопряжения (угла φ). Расчёт выявил три низколежащих возбуждённых состояния, соответствующих наблюдаемым спектральным полосам. Большая ширина полос обусловлена в основном вращением сульфоксидной группы

относительно ароматического кольца. Возбуждённое состояние, соответствующее полосе S_1 , представляет собой перенос электрона с σ -донорной ВЗМО (участвующей в образовании координационной связи) на НСМО (π -орбиталь кольца). Поэтому свойства полосы S_1 наиболее существенно должны меняться при координации, что действительно подтверждается экспериментом.

Таблица 1. Характеристики полос УФ-поглощения и КД МТСО в разных растворителях (анализ с использованием полос логнормальной формы) и свойства возбуждённых состояний рассчитанных методом КВ *ab initio* в базисе STO-3G*.

Величина	Условия	Полоса А (возбуждённое состояние 1)	Полоса S_1 (возбуждённое состояние 2)	Полоса S_2 (возбуждённое состояние 3)
Положение максимума спектральной полосы λ_{\max} , нм	<i>n</i> -гексан (0.08Д) ^{а)}	271.6±0.8	249.76±0.17	219.45±0.07
	CH ₂ Cl ₂ (1.6Д)	267±5	245.24±0.13	218.1±1.2
	Этанол (1.69Д)	269.2±1.7	238.9±0.5	217.49±0.18
	Вода (1.84Д)	267.7±1.7	234.0±0.8	218.1±0.3
	ТФЭ (>2Д)	265.4±1.5	232.2±0.5	216.1±0.2
$ d_i $ ^{б)}	Расчёт	2.9	4.1	0.7
$(d_0-d_i)d_0$ ^{в)} , Д ²	Расчёт	0.38	16.5	8.6
Ширина полосы w_i , ×100	<i>n</i> -гексан	2.803±0.07	4.29±0.03	3.07±0.01
	Вода	2.3±0.2	5.20±0.08	4.12±0.03
$\delta(\Delta E(\varphi))$ ^{г)} , эВ	Расчёт	0.02	0.46	0.34
Интегральная сила диполя перехода D_i , Д ²	<i>n</i> -гексан	0.32±0.04	5.17±0.05	4.5±0.2
	CH ₂ Cl ₂	0.56±0.05	5.30±0.17	3.0±1.5
	Этанол	0.19±0.03	6.59±0.16	3.1±0.3
	вода	0.31±0.03	8.29±0.10	3.5±0.5
	ТФЭ	0.36±0.03	9.07±0.07	3.9±0.4
	Расчёт	0.10	8.1	5.2
Вращательная сила перехода R_i , Д μ_B	<i>n</i> -гексан	+0.043±0.005	+0.498±0.002	-0.669±0.005
	CH ₂ Cl ₂	+0.062±0.010	+0.543±0.003	-0.73±0.13
	Этанол	+0.0146±0.0012	+0.628±0.002	-0.565±0.006
	вода	+0.0102±0.0013	+0.732±0.007	-0.657±0.018
	ТФЭ	+0.0128±0.0012	+0.770±0.005	-0.648±0.012

а) Указан дипольный момент молекул растворителя в газовой фазе

б) Расчитанный дипольный момент состояния. Для основного состояния $|d_0|$ **3.0 Д**.

в) величина, косвенно определяющая относительную дестабилизацию возбуждённого состояния, за счёт поляризации растворителя основным состоянием.

г) диапазон изменения энергии перехода при изменении угла φ .

Как следует из рентгеноструктурных данных, координация МТСО к платине (II) через атом серы происходит с сохранением *относительного* расположения заместителей. Вследствие образования координационной связи *абсолютная* конфигурация изменяется, и происходит инверсия знака оптической активности переходов *S*-координированного МТСО, наиболее чётко прослеживаемая в спектрах КД нейтральных комплексов платины (II) (рисунок 3). Мы получили спектры поглощения и КД для ряда таких комплексов (таблица 2), с целью анализа влияния других лигандов на

оптическую активность МТСО [2,5]. В спектрах комплексов, не имеющих других сильно поглощающих лигандов кроме МТСО, наблюдаются полосы S_1 , S_2 и A , знак которых противоположен знаку соответствующих полос в свободном МТСО. Интенсивность полос КД несколько снижается, но является достаточной для надёжного обнаружения и идентификации комплекса методом спектроскопии КД при концентрациях $2 \cdot 10^{-5}$ М. Отрицательный знак оптического вращения $[\alpha]_D$ комплексов с S -координированным МТСО определяется, в соответствии с соотношениями типа Крамерса-Кронига, преимущественно знаком полосы S_1 .

Таблица 2. Основные характеристики спектров поглощения и КД в УФ–диапазоне для комплексов платины (II) с хиральным лигандом МТСО (20°C).

Соединение	Растворитель	Спектр КД: $\lambda_{\text{пик}}$, нм, $[\Delta\epsilon_{\text{пик}}]$, $M^{-1}\cdot\text{см}^{-1}$	Спектр УФ-поглощения: λ , нм, $[\epsilon \times 10^{-3}]$, $M^{-1}\cdot\text{см}^{-1}$	ОВ $[\alpha]_D^{20}$, в ацетоне
(+)-МТСО	Этанол	216.5 [-23.9], 226 [0.0], 240.2 [+19.5], 274.5 [+1.3].	217 [8.0] ^a , 237 [6.1].	+143
(-)- <i>цис</i> - [(МТСО)PyCl ₂]	Этанол	218 [+4.6], 238.5 [-15.6], 272.5 [-5.0], 304 [+0.16], 366 [-0.37].	234.5 [16.4], 262 [6.4] ^a , 332 [0.28].	
(-)- <i>транс</i> - [Pt(МТСО) PyCl ₂]	Этанол	219 [+6.0], 240.0 [-13.7], 271.0 [-2.8], 342 [-0.13], 435 [-0.05].	235 [16.8], 260 [7.3] ^a , 347 [0.13] ^a .	
(-)- <i>цис</i> -[Pt(МТСО) (Bu ₃ P)Cl ₂]	Этанол	220 [+18.8], 237.7 [-11.8], 272 [-4.9], 332 [-0.7],		-37 (CH ₂ Cl ₂)
(-)- <i>цис</i> -[Pt(МТСО) (NH ₂ Me)Cl ₂]	Этанол	215 [+2.9], 237.5 [-11.5], 273 [-1.6].		
(-)- <i>цис</i> -[Pt (МТСО)PyCl ₂]	CH ₂ Cl ₂	241 [-22.3], 277 [-6.8], 305 [+0.16], 370 [-0.50].	238 [19.6], 264 [8.0] ^a , 338 [0.36] ^a .	-117
(-)- <i>транс</i> -[Pt (МТСО)PyCl ₂]	CH ₂ Cl ₂	241 [-17.3], 272 [-3.8], 345 [-0.2], 440 [-0.09].	239 [18.9], 261 [9.1] ^a , 347 [0.15] ^a .	-22
(-)- <i>цис</i> -[Pt (МТСО) ₂ Cl ₂]	CH ₂ Cl ₂	252.5 [-28], 275 [+2.0], 290 [-4.3], 320 [+2.3], 360 [-0.4].		-220
(-)- <i>цис</i> -[Pt (МТСО)(Ph ₃ PS)Cl ₂]	CH ₂ Cl ₂	225 [+2], 245 [-21], 270 [+4.1], 297 [-3.7].		-121 ^b

a) слабая полоса, проявляющаяся в виде искажения (плеча) более интенсивных полос

Полоса S_1 при S -координации сужается и сдвигается в коротковолновую область, так что полоса A становится хорошо разрешённой. Интенсивность полосы A в спектрах КД комплексов, по нашему предположению, отражает степень конформационных ограничений на вращательные движения сульфоксида. Кроме полос МТСО в спектрах КД комплексов присутствуют слабые полосы в области более 300 нм, соответствующие индуцированной оптической активности $d-d$ переходов атома платины. Спектры КД комплексов, содержащих наряду с МТСО другой сильно поглощающий лиганд усложнены за счёт взаимодействия хромофоров. Оптические свойства растворов

комплексов **1A** и **1B** в этаноле и CH_2Cl_2 не изменяются в течение месяцев, указывая на стабильность этих соединений и отсутствие изомеризации. Интенсивность полос КД аминокислот и комплексов платины с аминокислотами существенно ниже, чем характеристический КД МТСО. Поэтому МТСО можно использовать в качестве хиральной метки и при исследовании взаимодействия комплексов платины с аминокислотами.

Анизотропия химического сдвига ядра ^{195}Pt в комплексах Pt(II) и её проявление в спектрах ^1H ЯМР

Ядерный магнитный резонанс является наиболее информативным методом доказательства строения комплексов платины с самыми различными лигандами. К сожалению, этот метод недостаточно чувствителен, и его применение ограничено областью довольно больших концентраций. Главным способом увеличения чувствительности в ЯМР является увеличение постоянного поля спектрометра. Однако, в больших полях начинают проявляться новые эффекты. Один из таких эффектов – исчезновение виртуальных триплетов протонов, спин-связанных с ядрами платины (II), при увеличении поля спектрометра [4]. Данный эффект известен для комплексов платины (II) с аминокислотами и пептидами, и очень чётко проявляется в исследуемых нами комплексах (рисунок 4).

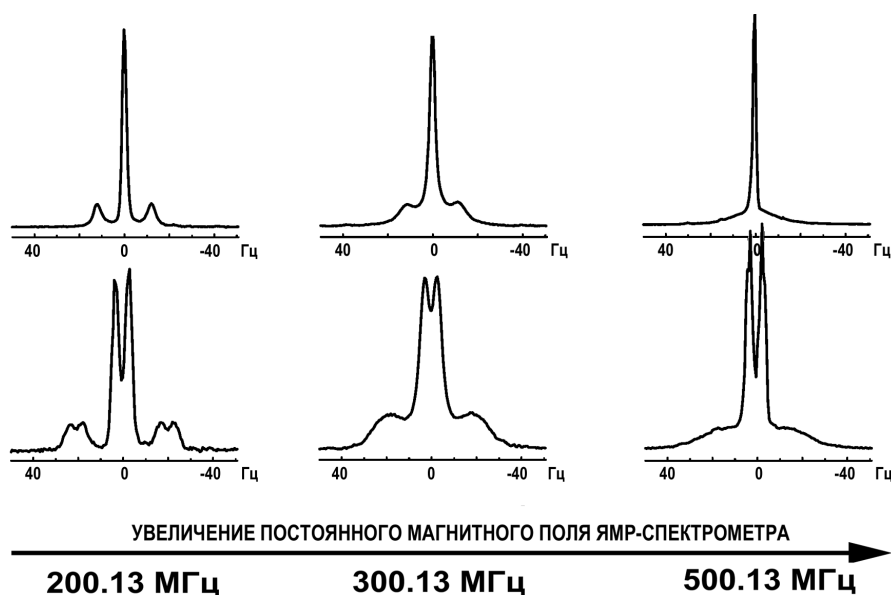


Рисунок 4. Уширение и слияние ^{195}Pt -сателлитов в спектре ^1H ЯМР *cis*-[Pt(МТСО)PyCl₂] при увеличении постоянного магнитного поля ЯМР-спектрометра. *вверху* – сигнал H^α пиридинового лиганда, 8.63 м.д.; *внизу* – сигнал группы SCH₃ сульфоксидного лиганда, 3.59 м.д. (Сигналы группы SCH₃ и пиридина приведены в разном масштабе интенсивности)

Причиной описываемого эффекта являются сильная анизотропия химического сдвига (АХС) платины в плоскоквадратном окружении и связанный с ней механизм релаксации ядра ^{195}Pt . Проявление этого процесса в протонном спектре объясняется скалярной релаксацией II рода для спин-связанных с ^{195}Pt протонов. Сближение сателлитов приводит к потере структурной информации, заключенной в константе спин-спинового взаимодействия (КССВ) $^3J_{\text{Pt-H}}$, и даже

может привести к неправильной интерпретации спектра. Поэтому требуется метод, позволяющий вычислить значение КССВ ${}^3J_{\text{Pt-H}}$ путём детального анализа формы виртуального триплета с учётом релаксационных эффектов.

Предложенные ранее методы учёта эффектов АХС являются упрощёнными, применимы только для оценки скоростей относительно медленной релаксации и не дают искомого значения КССВ. Мы предложили для анализа виртуальных триплетов хорошо известную теорию динамического ЯМР. Эта теория, созданная для изучения химического обмена, хорошо применима и к скалярной релаксации второго рода, так как с формальной точки зрения неважно, каким образом происходит хаотическое изменение состояния ядер. В качестве модели наблюдаемого сигнала предлагается использовать выражение:

$$G(\omega) = 0.662 \frac{A}{J'} \frac{Q}{1 + Q^2 Z^2} + 0.338 \frac{A}{J'} \frac{Q \left\{ Z^2 + \left(\frac{2}{t} + \frac{1}{Q} \right) \left[\left(\frac{2}{t} + \frac{1}{Q} \right) + \frac{Q}{4} \right] \right\}}{Q^2 Z^4 + Q^2 Z^2 \left[\left(\frac{2}{t} + \frac{1}{Q} \right)^2 + \frac{1}{Q^2} - \frac{1}{2} \right] + \left[\left(\frac{2}{t} + \frac{1}{Q} \right) + \frac{Q}{4} \right]^2},$$

числа 0.662 и 0.338 отвечают природному содержанию немагнитных и магнитных ядер платины соответственно. Q , t и Z – безразмерные переменные теории химического обмена:

$$Q = T_2 J' \quad t = \tau J' \quad Z = (\omega - \omega_{\text{рез}}) / J',$$

где J' – КССВ (в рад/с: $2\pi J_{\text{IS}}(\text{Гц}) = J'$), T_2 – типичное время поперечной релаксации протонов (не возмущаемых обменом), $\omega_{\text{рез}}$ - резонансная частота, τ - среднее время между переходами ядра, подвергающегося химическому обмену, из одного состояния в другое (показано, что $\tau = 2T_{I(\text{Pt})}$).

$1/T_{I(\text{Pt})}$, с⁻¹

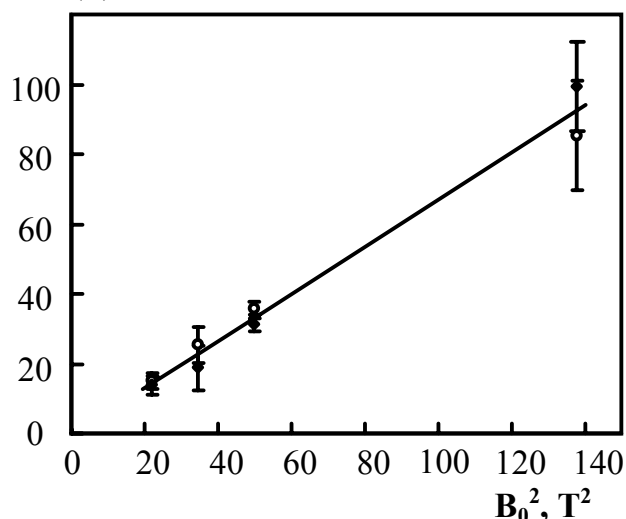


Рисунок 5. Зависимость рассчитанной скорости релаксации ядер ${}^{195}\text{Pt}$ комплекса **1A** от квадрата поля спектрометра. \blacklozenge - расчёт по сигналу H^α , \circ - расчёт по сигналу SCH_3 . (—) линейная регрессия по всем точкам.

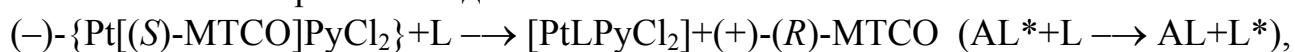
Для численного анализа осуществлён переход от параметров Q и t к параметрам $1/Q$ и $1/t$ – при этом процесс минимизации в методе наименьших квадратов устойчив и быстрее сходится.

Рассчитанные по нашей модели КССВ при различных напряжённостях поля одинаковы в пределах ошибки. Зависимость рассчитанной скорости релаксации ${}^{195}\text{Pt}$ от постоянного магнитного поля B_0 оказывается квадратичной (рисунок 5), что однозначно доказывает механизм, связанный с АХС (другие механизмы релаксации не имеют столь существенной зависимости от постоянного поля).

Время молекулярной реориентации τ_C для комплекса **1A** в условиях эксперимента оценивается в $2 \cdot 10^{-10}$ с. Оценка по графику на рисунке 5 величины АХС ^{195}Pt $|\sigma_{\parallel} - \sigma_{\perp}|$ дает значение ~ 2800 м.д., что по порядку величины совпадает с АХС $\text{K}_2[\text{PtCl}_4]$ в твёрдом теле. АХС $^{195}\text{Pt(II)}$ является главной причиной уширения линий ^{195}Pt и накладывает ограничение на размер объектов (влияющий на τ_C), в которых Pt(II) может быть обнаружена с помощью ЯМР ^{195}Pt . Ограничение становится более жёстким при увеличении поля спектрометра. АХС является очень серьёзным препятствием для изучения платиновых аддуктов к биополимерам методами ЯМР ^{195}Pt . Фактически, эффекты АХС не позволяют рассчитывать на увеличение чувствительности спектроскопии ЯМР ^{195}Pt в плоскоквадратной геометрии только за счёт увеличения поля.

Замещение лигандов в комплексах цис-[Pt(МТСО)PyCl₂] (1A) и транс-[Pt(МТСО)PyCl₂] (1B)

Изменение знака полос КД МТСО при координации может быть легко использовано для изучения обмена лигандов в МТСО-содержащих комплексах. Наиболее просто может быть зарегистрировано вытеснение МТСО (L*) из комплекса некоторым лигандом L:

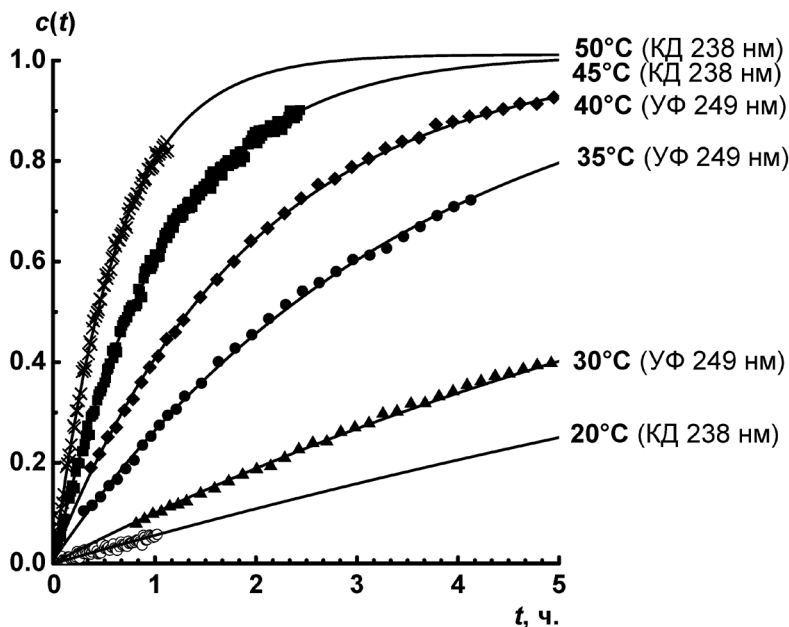


При этом доля $c(t)$ МТСО, вытесненного из комплекса к моменту времени t

определяется выражением: $c(t) = \frac{[\text{L}^*]}{[\text{AL}^*]_0} = \frac{X_{\text{AL}^*}^{\lambda} - \{X^{\lambda}(t)\}}{X_{\text{AL}^*}^{\lambda} - X_{\text{L}^*}^{\lambda}}$, где X_{AL^*} , X_{L^*} - удельный

спектральный отклик (КД или поглощение) комплекса и МТСО на длине волны λ , $\{X(t)\}$ – наблюдаемый спектральный отклик (приведенный к 1М МТСО). На длине волны 238 нм (максимум полосы S_1) изменение КД составляет более $30 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ и позволяет надёжно работать с концентрациями веществ ~ 10 мкМ. Замещение нехиральных лигандов в комплексах, содержащих МТСО, влияет на положение и форму полос КД, но не на знак (таблица 2). Этот эффект может быть использован для изучения замещения других лигандов. Дополнительное преимущество даёт сочетание спектроскопии КД со спектроскопией УФ-поглощения. Разностные спектры УФ-поглощения обычно не дают возможности судить о направлении реакции, но позволяют получить кинетические кривые и вычислить константы скорости. Пример совместной обработки кинетических кривых, полученных разными методами, приведён на рисунке 6.

На основе проведенного анализа кинетики реакций комплексов **1A** и **1B** с различными нуклеофилами (Таблица 3) был выявлен ряд закономерностей [1]. Основным свойством, определяющим реакционную способность комплексов, является сильный кинетический *транс*-эффект сульфоксида. При этом разница в реакционной способности **1A** и **1B** объясняется тем, что в **1A** напротив сульфоксида расположен сам по себе достаточно лабильный хлоридный лиганд, а в **1B** напротив сульфоксида расположен инертный пиридиновый лиганд, который частично препятствует проявлениям *транс*-эффекта.



$$R^2 \ 0.998;$$

$$\Delta H^\ddagger \ 19.9 \pm 0.5 \ \text{кКал/моль}$$

$$\Delta S^\ddagger \ -12 \pm 2 \ \text{э.е.}$$

Рисунок 6. Пример обработки кинетических кривых (модель псевдопервого порядка) и зависимости констант скорости реакции от температуры (теория Эйринга-Аррениуса): реакция вытеснения МТСО из комплекса **1A** большим избытком (2М) NaCl. • – константы, полученные обработкой УФ-спектров, о – обработкой КД-спектров. Отображены рассчитанные доверительные интервалы, соответствующие $\alpha \ 0.95$.

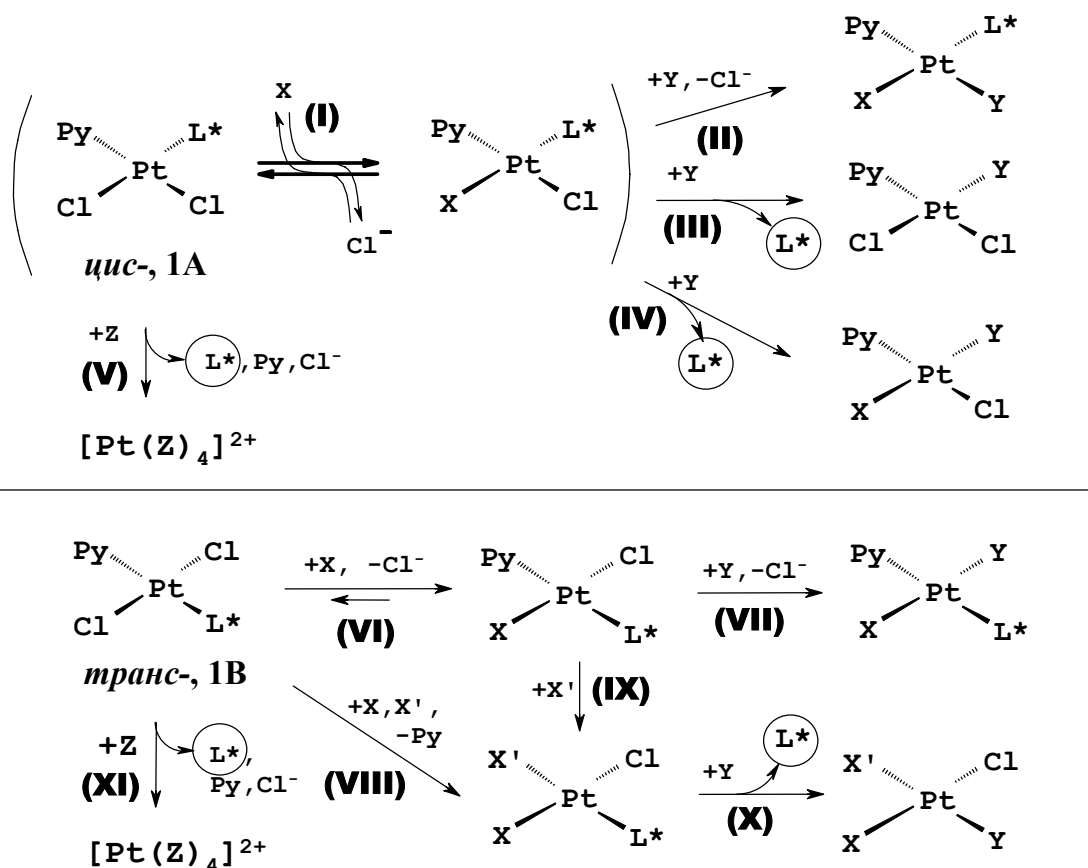


Рисунок 7. Основные направления реакций комплексов **1A** и **1B** с различными нуклеофилами. Py – пиридин, L* – хиральный МТСО; X, X', Y, Z – нуклеофильные (электродонорные) группы.

Характерным свойством комплекса **1A** в реакции с самыми разнообразными нуклеофилами (в том числе – с водой) является быстро устанавливаемое равновесие замещения лиганда в *транс*-положении к сульфоксидному (Рисунок 7-I). Скорость установления этого равновесия высока, а поэтому не всегда может быть измерена используемым методом. В изомере **1B** замещение хлоридных лигандов происходит относительно медленно, подобно аналогам цисплатина оно протекает через стадию гидролиза. Была показана возможность замещения пиридинового лиганда в комплексе **1B**, в том числе и в процессе гидролиза (7-VIII).

Все изученные нуклеофилы по типу взаимодействия с комплексами **1A** и **1B** в водно-спиртовых растворах можно условно разбить на группы, различающиеся *транс*-эффектом донорного центра нуклеофилов.

Лиганды первой группы (сульфоксиды, метионин, тиомочевина) обладают сильным *транс*-эффектом и быстро реагируют с комплексами **1A** и **1B**. В комплексе **1A**, замещая хлорид-ион в *транс*-положении к сульфоксиду (7-I), они приводят к лабильзации хирального сульфоксида и его последующему быстрому вытеснению (7-III, IV). В комплексе **1B** лиганды первой группы приводят к образованию продуктов, которые склонны к изомеризации (7-VII), либо замещают пиридиновый лиганд (7-VIII, IX), в результате комплексы тоже теряют хиральный сульфоксид (7-X), но в целом существенно медленнее, чем **1A**. Характерной особенностью реакции **1A** и **1B** с метионином является изомеризация, предшествующая замыканию (*S,N*)-хелатных циклов и приводящая кинетически к *цис*-[Pt(Met-*S,N*)]₂.

Взаимодействие комплексов **1A** и **1B** с наиболее сильными нуклеофилами (CN⁻, тиомочевина) приводит к быстрому вытеснению всех лигандов (7-V, XI) и может быть использовано для проверки реального содержания МТСО в системе и анализа продуктов реакций.

Лиганды второй группы (амины, пиридины, вода) обладают слабым *транс*-эффектом. При взаимодействии комплекса **1A** с этими лигандами наблюдается только их быстрый обмен в *транс*-положении к сульфоксиду (7-I), и медленный – в *транс*-положении к пиридину. С комплексом **1B** эти лиганды реагируют через промежуточную стадию гидролиза хлоридных лигандов (7-VI, VII). Вытеснение хирального сульфоксида избытком этих лигандов не происходит, либо происходит очень медленно. Метионинсульфон (продукт полного окисления атома серы метионина), неспособный координироваться через атом серы, ведёт себя как лиганд второй группы.

Лиганд с промежуточным *транс*-эффектом – хлорид-ион – при низкой концентрации ведёт себя как лиганд второй группы, а при высоких концентрациях или при снижении полярности растворителя (уменьшении степени сольватации хлорид-иона) – как лиганд первой группы (рисунок б).

Таблица 3. Константы скорости, предположительные механизмы и оцененные параметры активации для реакций комплексов 1А и 1В с различными нуклеофилами.

Нуклеофил	Комплекс ^{а)}	Растворитель	t°С	Стадия (рис. 7)	Константа скорости или равновесия (K _д)	T _{1/2}	ΔH [‡] , кКал/моль	ΔS [‡] , э.е.
H ₂ O	1А	вода ^{б)}	35	I II	(1.5±0.3)·10 ⁻³ с ⁻¹ (2.5±0.1)·10 ⁻⁵ с ⁻¹	7 мин. 6.8 ч.	12±3 16.7±0.7	-30±8 -25±2
	1В	вода	35	VI, VIII VII	(2.3±0.2)·10 ⁻³ с ⁻¹ (4.2±0.5)·10 ⁻⁵ с ⁻¹	5 мин 4 ч.	16.8±0.5 11±3	-16.1±1.5 -40±5
СГ	1А	вода	35	I	K _д 0.59±0.09 мМ			
СГ, 2М (NaCl)	1А	вода	35	I+III	(9.0±0.3)·10 ⁻⁵ с ⁻¹	2.1 ч.	19.9±0.5	-12±2
	1В	вода	35	VIII X(?)	(2.4±0.1)·10 ⁻³ с ⁻¹ (2.8±0.1)·10 ⁻⁵ с ⁻¹	5 мин. 6.9 ч.		
CN ⁻ , 0.2 мМ	1А	вода	20	V	- ^{в)}	~1 мин.		
	1В	вода	20	XI	-	~1 мин		
тиомочевина	1А	вода	20	V	~10 ³ М ⁻¹ с ⁻¹			
	1В	вода	20	XI	~10 ³ М ⁻¹ с ⁻¹			
ДМСО 36 мМ	1А	вода	35	I+IV	(9.4±0.2)·10 ⁻² М ⁻¹ с ⁻¹	3.4 мин.	× ^{г)}	×
	1В	вода	35	X	(1.6±0.1)·10 ⁻² М ⁻¹ с ⁻¹	19 мин.	9.1±1.6	-34±2
	1А	этанол	35	I+IV	(1.7±0.1)·10 ⁻² М ⁻¹ с ⁻¹	19 мин.	7.5±1.2	-42±4
	1В	этанол	35	X	(7.8±0.1)·10 ⁻³ М ⁻¹ с ⁻¹	41 мин.	17.3±0.3	-11±1
пиридин 0.4-0.04 мМ	1А	вода	35	I IV	K _д 2.6±0.4 мкМ ~5·10 ⁻⁶ с ⁻¹	~2 мин 1.6 сут.		
	1В	вода	35	VI ^{д)}	(3.3±0.1)·10 ⁻⁵ с ⁻¹	5.8 ч.		
	1А	этанол	20	I	K _д 2.5±0.5 мкМ			
	1В	этанол	20	X (?)	~10 ⁻⁶ М ⁻¹ с ⁻¹	>7 сут.		
ДНК	1А	вода	35	I, ? хелат.(?)	(1.1±0.1)·10 ⁻⁴ с ⁻¹ (9.6±0.3)·10 ⁻⁶ с ⁻¹	1.8 ч. 20 ч.		
	1В	вода	35	VI ^{д)} (?) хелат.(?)	(4.6±0.2)·10 ⁻⁴ с ⁻¹ (7.5±0.8)·10 ⁻⁶ с ⁻¹	25 мин. 24 ч.		
L-Met, 0.4-0.04 мМ	1А	вода	15	I	(2.0±0.6)×10 ⁻² с ⁻¹	30 с		
	1А	вода	35	I+IV изомер. (?)	(1.4±0.1)·10 ⁻³ с ⁻¹ (3.3±0.2)·10 ⁻⁵ с ⁻¹	8 мин. 6 ч.	7.5±2.2 ×	-47±10 ×
	1В	вода	35	VIII+X изомер. (?)	47±3 М ⁻¹ с ⁻¹ (2.9±0.2)×10 ⁻⁵ с ⁻¹	6.8 мин 6.6 ч.	13±1	-9.2±0.7
	1А	этанол	25	I IV	40±5 М ⁻¹ с ⁻¹ 1.5±0.2 М ⁻¹ с ⁻¹	8 мин. 3.5 ч.	4±0.5 21±4	-38±5 13±7
	1В	этанол	25	VIII+X	5.5±0.4 М ⁻¹ с ⁻¹	1 ч.	10±2	-21±4
L-MetSO ₂	1А	вода	35	I+II ^{д)} (?)	(1.1±0.2)·10 ⁻³ с ⁻¹	10 мин		
	1В	вода	35	VI ^{д)} (?)	(9±2)·10 ⁻⁴ с ⁻¹	13 мин		

а) использовались концентрации комплексов 2-4·10⁻⁵ М

б) 150мМ раствор NaClO₄, примесь 9%об. этанола

в) константа скорости слишком высока для надёжного определения используемыми методами

г) зависимость наблюдаемой k(T) не подчиняется уравнению Эйринга-Аррениуса

д) стадия предположительно протекает через предварительный гидролиз комплекса

Параметры активации изученных реакций имеют значения, типичные для ассоциативного механизма замещения лигандов в комплексах платины (II). Энтальпии активации ΔH^\ddagger в среднем ниже, чем для изомеров ДДП и для $[\text{Pt}(\text{en})\text{Cl}_2]$ в соответствии с ожидаемой большей подвижностью лигандов в комплексах, содержащих сульфоксидный лиганд с сильными кинетическими *транс*- и *цис*-эффектами. Первичные реакции комплекса **1A** характеризуются более отрицательными энтропиями активации ΔS^\ddagger в соответствии с меньшей конформационной подвижностью лигандов в этом комплексе.

По направлению и скоростям замещения лигандов *транс*- $[\text{Pt}(\text{MTCO})\text{PyCl}_2]$ более близок к классическим биологически активным платиновым комплексам, чем гораздо более реакционноспособный *цис*-изомер. Оба изомера быстро теряют нейтральные лиганды при взаимодействии с природными серасодержащими соединениями (метионин). Но первоначальное внедрение S-донорного лиганда в *цис*-изомер происходит в среднем на порядок быстрее, чем в *транс*-изомер. Поэтому бóльшая цитотоксическая активность *транс*-изомеров по сравнению с *цис*-изомерами, известная для пиридин-сульфоксидных комплексов, возможно, объясняется более быстрой инактивацией *цис*-изомеров в реакциях с серасодержащими соединениями.

Взаимодействие комплексов *цис*- и *транс*- $[\text{Pt}(\text{MTCO})\text{PyCl}_2]$ с ДНК

Относительная способность комплексов *цис*- и *транс*- $[\text{Pt}(\text{MTCO})\text{PyCl}_2]$ повреждать ДНК была проверена с использованием метода спектроскопии КД. Изменения спектров КД при взаимодействии изомеров с ДНК (рисунок 8) выявляет сходство в поведении двух изомеров: в обоих случаях процесс носит двухстадийный характер, хотя механизм первичного связывания различен. Вторая стадия с характерным временем около суток, сопровождается вытеснением МТСО (вид спектра КД МТСО позволяет отдельно анализировать изменения состояния ДНК и комплекса в процессе реакции).

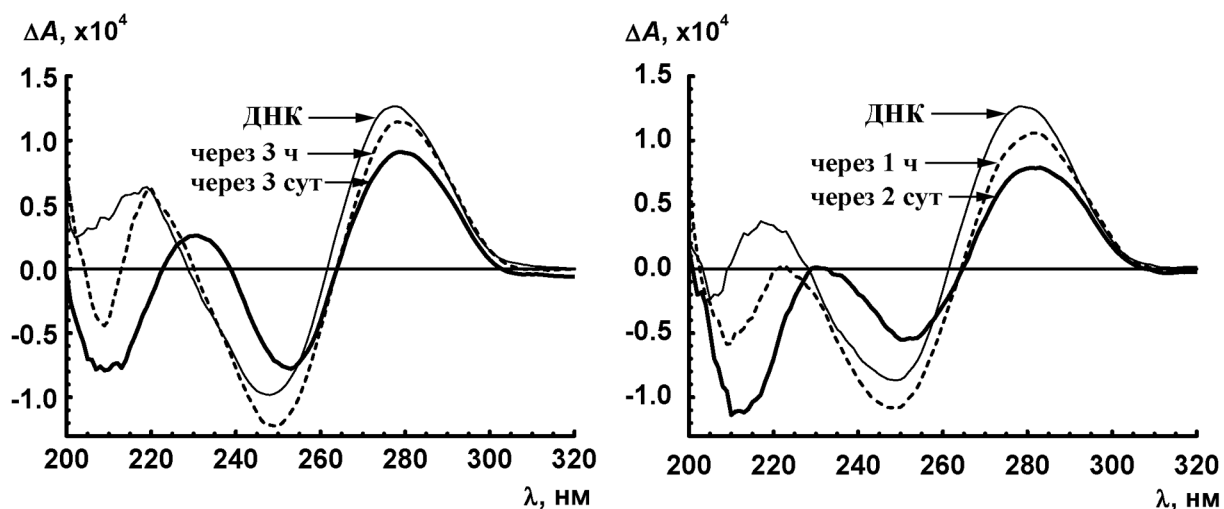


Рисунок 8. Спектры КД систем ДНК+**1A** (слева) и **1B** (справа). $C_{\text{ДНК}} 50$ мкг/мл, $r_{\text{вх}} 0.1$, 35°C . ΔA – наблюдаемый круговой дихроизм образцов, приведенный к оптическому пути 1 см.

Характерные времена стадий для двух комплексов различаются несущественно (Таблица 3). Наблюдаемая картина изменений спектров КД и поглощения ДНК отличается от возникающей при реакции ДНК с цисплатином и близка к известной для цитотоксических комплексов *цис*- и *транс*-[Pt(Py)₂Cl₂].

Обработка платинированной ДНК NaCN (обращение реакций платинирования) приводит к восстановлению её исходных спектральных свойств. Проведённые исследования показывают, что изомеры [Pt(MTSCO)PyCl₂] эффективно повреждают ДНК, но различия в характере структурных повреждений ДНК и кинетике их образования недостаточны для однозначного объяснения бóльшей цитотоксичности *транс*-изомеров пиридинсульфоксидных комплексов по сравнению с *цис*-изомерами.

ВЫВОДЫ

1. Совместное применение методов спектроскопии ЯМР, кругового дихроизма и поглощения в УФ-области и рентгеноструктурного анализа к исследованию нейтральных сульфоксидных комплексов платины (II) позволило сопоставить их реакционную способность, определить направление реакций, и получить информацию, важную для понимания молекулярного механизма биологического действия этих комплексов.
2. В нейтральных комплексах платины (II) с хиральным сульфоксидным лигандом МТСО координация лиганда через атом серы приводит к перемене знака интенсивных полос в спектре кругового дихроизма по сравнению с некоординированным МТСО. Данное явление использовано для наблюдения реакций замещения МТСО.
3. В спектрах ЯМР ¹N плоскокватратных комплексов платины проявляются релаксационные эффекты, связанные с анизотропией химического сдвига ¹⁹⁵Pt, для учёта которых предложен метод на основе теории химического обмена.
4. Направление реакций изученных комплексов с различными нуклеофилами в водном растворе сильно зависит от геометрии комплекса, нуклеофила, природы растворителя. В *транс*-изомере высокий кинетический *транс*-эффект сульфоксида частично компенсируется низкой лабильностью пиридинового лиганда, что является главной причиной различия скорости и направления реакций *цис*- и *транс*-изомеров. Природные S-донорные нуклеофилы (метионин) реагируют с изученными комплексами значительно быстрее, чем N-донорные. Гидролиз комплексов, в отличие от аналогов цисплатина, не является лимитирующей стадией и слабо ингибируется высокой концентрацией хлорид-ионов.
5. Изученные пиридинсульфоксидные комплексы эффективно повреждают ДНК *in vitro*. Характер индуцированных повреждений и скорость их образования для двух изомеров сходны между собой и отличаются от повреждений, образуемых цисплатином. С учётом высоких скоростей реакций с метионином, вероятность непосредственного присоединения исходного комплекса к ДНК в клетках довольно мала.

6. Бóльшая цитотоксическая активность *транс*-изомеров по сравнению с *цис*-изомерами, известная для пиридин- и хинолинсульфоксидных комплексов, скорее всего, объясняется более быстрой инактивацией *цис*-изомеров в реакциях с серосодержащими соединениями.

СПИСОК ОСНОВНЫХ ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. А.Н. Скворцов, В.Н. Спевак, В.И. Воробьёв. Исследование взаимодействия сульфоксидных комплексов платины (II) с *S*- и *N*-донорами на биомолекулах // 4-ый международный симпозиум по химии и применению фосфор-, сера- и кремнийорганических соединений «Петербургские встречи» (ISPM-IV) (26-31 мая, 2002). Сборник научных трудов. – Санкт-Петербург. – 2002. – С. 178.
2. Skvortsov A. N., de Vekki D.A., Stash A.I., Belsky V.K., Spevak V.N. Skvortsov N.K. Synthesis, crystal structures and optical activity of *cis*- and *trans*-(-)-dichloro[(*S*)-methyl *p*-tolylsulfoxide]pyridyl platinum(II) complexes. // Tetrahedron: Asymmetry. – 2002. – Vol. 13., – N. 15. – P. 1663-1671.
3. Скворцов А.Н., Спевак В.Н., Гарабаджиу А.В., Скворцов Н.К. Современная бионеорганическая химия платины. : Учебное пособие/ СПбГТИ(ТУ). – СПб., 2001.– 58 с.
4. Скворцов А.Н. Необходимость учета анизотропии химического сдвига при изучении комплексных соединений платины. Как найти "исчезающую" константу J_{Pt-H} ? // Журнал Общей Химии. – 2000. – Т. 70, – Вып. 7. – С. 1092-1097.
5. Спевак В.Н., Лобадюк В.И., Скворцов А.Н., Коновалов В.Э., Бельский В.К., Скворцов Н.К. Спектральные свойства комплексов платины с (+)-метил-*n*-толилсульфоксидом. Молекулярная структура и абсолютная конфигурация (-)-трихлоро{(*S*)-метил-*n*-толилсульфоксид}платината (II) калия. // Журнал Общей Химии. –1999. –Т. 69, –Вып. 5. – С. 745-750.
6. Skvortsov A.N., de Vekky D. A., Belsky V.K., Vorobyev V.I., Spevak V.N. Interaction of Pt(II) Complexes, Containing Chiral Sulfoxide Ligand with Aminoacids. Crystal and Molecular Structures of *cis*- and *trans*-[(*S*)-Pt(Me-*p*-TolSO)PyCl₂] // Abstracts of ICC34 (34th Conf. on Coord. Chem.). –Edinburgh. –2000. –P. P0684.
7. Skvortsov A.N., Chikhirzhina E.V., Spevak V.N. Interaction of platinum (II) complexes, containing chiral sulfoxide ligand with aminoacids. // Abstracts of papers of 14th Summer School on Coordination Chemistry. –Polanica-Zdroj (Poland). –1999. –P. P64.
8. Скворцов А.Н., Спевак В.Н., Воробьёв В.И. Учет анизотропии химического сдвига при изучении серосодержащих комплексов платины (II), или "Почему исчезает константа спин-спинового взаимодействия?" // Тезисы докладов XVII международного Черняевского совещания по химии, анализу и технологии платиновых металлов. –2001. –С. 111.

9. Де Векки Д.А., Скворцов А.Н., Спевак В.Н., Скворцов Н.К. Применение метода дисперсии оптического вращения для изучения реакционной способности хиральных сульфоксидных соединений платины. // Тезисы докладов XVII международного Черняевского совещания по химии, анализу и технологии платиновых металлов. –Москва. –2001. –С. 111.
10. Скворцов А.Н., Спевак В.Н., Чихиржина Е.В., Воробьев В.И. Взаимодействие аминокислот с сульфоксидными комплексами платины (II), обладающими биологической активностью. // Тезисы стендовых сообщений школы-конференции «Горизонты физико-химической биологии». –Пушино. –2000. –С. 58.
11. де Векки Д.А., Скворцов А.Н., Спевак В.Н., Скворцов Н.К., Бельский В.К. Молекулярная структура и абсолютная конфигурация цис- и транс-изомеров дихлоропиридин (*S*-метил-*n*-толилсульфоксид) платины // Тезисы II национальной кристаллохимической конференции. –Черноголовка . –2000. –С.147.
12. Скворцов А.Н., Чихиржина Е.В., Воробьев В.И., Спевак В.Н. Исследование взаимодействия сульфоксидных комплексов платины с аминокислотами. // Тезисы докладов XIX всероссийского Чугаевского совещания по химии комплексных соединений. –Иваново. –1999. –С. 304.
13. Скворцов А.Н., Чихиржина Е.В., Воробьев В.И., Спевак В.Н. Взаимодействие производных метионина с комплексами платины (II), обладающими биологической активностью. // Проблемы теоретической и экспериментальной химии. Тезисы докладов IX всероссийской студенческой научной конференции, посвященной 130-летию открытия периодического закона Д.И. Менделеева. –Екатеринбург. –1999. –С. 170.