

На правах рукописи



Тохтуева Мария Дмитриевна

**ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ
ЦИКЛОПЛАТИНИРОВАННЫХ СОЕДИНЕНИЙ И ОЦЕНКА ИХ РОЛИ В
ЗАПУСКЕ ПРОГРАММИРУЕМОЙ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ В
ЗЛОКАЧЕСТВЕННО ПЕРЕРОЖДЕННЫХ КЛЕТКАХ**

1.4.16 – Медицинская химия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Екатеринбург – 2026

Работа выполнена в Химико-технологическом институте ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина».

**Научный
руководитель:**

Мелехин Всеволод Викторович

кандидат медицинских наук, доцент Научно-образовательного и инновационного центра химико-фармацевтического технологий ХТИ ФГАОУ ВО УрФУ, г. Екатеринбург

**Официальные
оппоненты:**

Груздев Дмитрий Андреевич

Доктор химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории медицинской химии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского» Уральского отделения Российской академии наук (ИОС УрО РАН), г. Екатеринбург

Назаров Алексей Анатольевич

Кандидат химических наук, доцент кафедры медицинской химии и тонкого органического синтеза химического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (МГУ), г. Москва

**Ведущая
организация:**

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр проблем химической физики и медицинской химии Российской академии наук (ФИЦ ПХФ и МХ РАН), г. Черноголовка

Защита состоится «30» октября 2026 г. в 11:30 на заседании диссертационного совета 24.1.192.02, созданного на базе НИОХ СО РАН по адресу: Российская Федерация, 630090, г. Новосибирск, проспект акад. Лаврентьева, д. 9.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке НИОХ СО РАН и на сайте по адресу: <http://web.nioch.nsc.ru/>. Текст автореферата размещен на сайте Высшей аттестационной комиссии при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации по адресу: <https://vak.gisnauka.ru/>.

Отзывы на автореферат в 2-х экземплярах, заверенные печатью, просим отправлять по адресу: Российская Федерация, 630090, г. Новосибирск, проспект Академика Лаврентьева, д. 9, Новосибирский институт органической химии, ученому секретарю диссертационного совета 24.1.192.02; e-mail: dissovet@nioch.nsc.ru.

Автореферат разослан «10» сентября 2026 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат химических наук



Патрушев С.С.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность и степень разработанности темы исследования

Актуальность темы исследования обусловлена проблемой распространённости онкологических заболеваний и статистикой летальных исходов.

Среди основных подходов к борьбе с онкологическими заболеваниями важное место занимают лекарственные препараты на основе платины – например, цисплатин, оксалиплатин и карбоплатин. Однако, даже при подтверждённой эффективности в клинике, их использование ограничено двумя серьёзными факторами: опухолевые клетки часто приобретают устойчивость к таким препаратам, а также высок риск тяжёлых нежелательных реакций. Следовательно, поиск способов преодоления лекарственной устойчивости и уменьшения токсичности платиновых соединений – это важная и актуальная научная и практическая задача.

Возникновение резистентности и токсичности напрямую связано с доминирующим апоптотическим механизмом действия платиновых лекарств. В связи с этим, перспективной стратегией является поиск соединений, индуцирующих альтернативные, неапоптотические пути гибели клеток.

Одним из перспективных подходов к преодолению описанных выше ограничений является создание новых соединений платины, принципиально отличающихся по структуре от применяемых в настоящее время. Сохранение в их составе иона платины позволяет рассчитывать на удержание уже доказанной противоопухолевой активности, характерной для данного класса препаратов. В то же время модификация лигандного окружения, геометрии комплекса или общей архитектуры молекулы способна изменить механизм цитотоксического действия и/или спектр поражаемых мишеней в опухолевой клетке.

В настоящее время в литературе описаны отдельные комплексы платины(II), структурно отличающиеся от цисплатина и способные индуцировать альтернативные механизмы гибели опухолевых клеток. Однако большими перспективами в контексте преодоления резистентности обладают комплексы платины(IV), которые представляют собой пролекарства, восстанавливающиеся до активных форм Pt(II) внутри клетки. Для таких соединений также продемонстрирована активность *in vitro*, в том числе способность запускать альтернативные пути индукции клеточной смерти. При этом важно отметить, что те пролекарства Pt(IV), которые в настоящее время проходят клинические испытания, реализуют механизм действия, аналогичный таковому у традиционных препаратов платины, и, следовательно, не позволяют в полной мере решить проблему приобретённой резистентности.

В этой связи актуальным представляется изучение комплексов платины(II) как потенциальных индукторов неапоптотических путей клеточной гибели. В случае подтверждения того, что такие комплексы реализуют требуемый механизм действия (отличный от ДНК-повреждающего), целесообразен дальнейший дизайн соответствующих пролекарств на основе платины(IV), которые будут высвобождать активные формы Pt(II) внутри опухолевой клетки. Такой подход

позволяет сочетать структурное разнообразие Pt(II)-комплексов с фармакокинетическими преимуществами Pt(IV)-пролекарств.

Цель работы

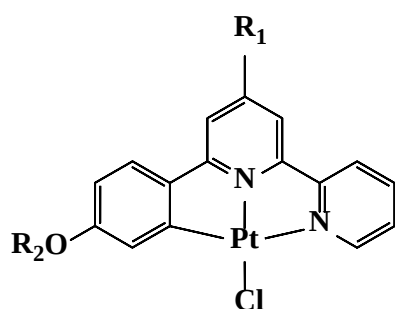
Цель данной работы – изучить противоопухолевые свойства серии комплексов платины(II) арилбипиридинов, определить механизм индукции клеточной смерти для соединения-лидера и разработать на его основе потенциальное пролекарство в виде комплекса платины(IV) с верификацией мишени.

Для достижения цели были определены следующие задачи:

1. Первичный скрининг цитотоксической активности серии комплексов платины(II) *in vitro* и определение соединения-лидера;
2. Установление основного противоопухолевого механизма действия. Оценка вклада апоптоза, блокировки репликации ДНК и окислительного стресса, в том числе в сравнении с существующими препаратами платины, на примере цисплатина;
3. Идентификация мишени и характеристика механизма клеточной гибели соединения-лидера, изучение эффектов, вызванных индукцией определенного в исследовании механизма действия комплекса платины(II);
4. Исследование цитотоксической активности разработанного потенциального пролекарства – комплекса платины(IV);
5. Определение механизма действия и мишени разработанного комплекса платины(IV).

Объекты исследования

Объектами настоящего исследования являются хлорплатиновые(II) комплексы арилбипиридинов.



$R_1=H, R_2=H$ (a); $R_1=H, R_2=CH_3$ (b); $R_1=H, R_2=C_2H_5$ (c);
 $R_1=H, R_2=iso-C_5H_{11}$ (d); $R_1=H, R_2=iso-C_8H_{17}$ (e);
 $R_1=Ph, R_2=H$ (f); $R_1=Ph, R_2=CH_3$ (g); $R_1=Ph, R_2=iso-C_8H_{17}$ (h)

Научная новизна и теоретическая значимость работы

Научная новизна работы заключается в том, что впервые предложен и обоснован подход использования комплексов платины(II) как индукторов ферроптотических механизмов клеточной гибели с последующей трансформацией наиболее перспективного соединения в пролекарство на основе платины(IV). В отличие от известных стратегий, ориентированных на модификацию классического ДНК-повреждающего действия, в данной работе акцент сделан на

структурно обусловленную переориентацию механизма активности. Новизна также состоит в том, что в качестве исходной матрицы для создания Pt(IV)-пролекарств выступают не стандартные клинические аналоги (цисплатин, карбоплатин), а предварительно отобранные Pt(II)-комплексы с доказанной способностью индуцировать альтернативные пути гибели злокачественных клеток. Теоретическая значимость работы определяется расширением современных представлений о взаимосвязи «структура соединения платины – механизм цитотоксического действия».

Практическая значимость работы

Практическая значимость состоит в создании научного фундамента для разработки перспективных противоопухолевых препаратов нового поколения, лишенных ключевых недостатков существующих лекарств на основе платины – высокой системной токсичности и приобретенной резистентности.

Методология и методы научного исследования

Методология данного исследования заключается в комплексном подходе, объединяющем методы исследования активности химических соединений, начиная от первичного скрининга, заканчивая идентификацией внутриклеточной мишени, и синтез нового вещества с подтверждением структуры с применением необходимого набора инструментальных методов. Исходные комплексы платины(II) были синтезированы согласно описанным методикам, которые были воспроизведены с необходимой точностью.

Положения, выносимые на защиту

1. Из серии выбранных хлорплатиновых(II) комплексов арилбипиридинов одно соединение обладает выраженной противоопухолевой активностью против клеток ЗНО и является веществом-лидером;
2. Определен основной противоопухолевый механизм соединения-лидера, связанный с окислительным стрессом и не обусловленный образованием сшивок с ДНК в отличие от классических препаратов платины, индуцирующих апоптоз;
3. Установлена внутриклеточная мишень хлорплатинат(II) 6-(4-(2-этилгексил)оксифенил)-2,2'-бипиридина – глутатион и антиоксидантная система NRF2/GSH, блокировка которой приводит к запуску ферроптоза, одного из вариантов программируемой неапоптотической гибели клеток;
4. На основе соединения-лидера Pt(II) разработано потенциальное пролекарство – комплекс Pt(IV), цитотоксическая активность которого значительно превышает предшественник;
5. Определен механизм действия комплекса платины (IV), включающий индукцию ферроптоза и блокировку глутатионовой системы. Идентифицированы дополнительные мишени, вызывающие также апоптотические механизмы клеточной гибели.

Достоверность полученных результатов обеспечена применением современных методов исследования и воспроизводимостью:

1. Использовались паспортизированные клеточные линии, входящие в коллекцию АТСС;
2. Применяемые методы выполнялись согласно протоколам, описанным в научных статьях или инструкциях производителей;
3. Все эксперименты проводились в нескольких независимых повторах и обрабатывались с применением статистических методов анализа, что подтверждает релевантность полученных данных;
4. Анализ структур, полученных соединений, осуществлялся на поверенном оборудовании УрФУ.

Апробация результатов и публикации

Основные результаты работы представлены на 12 международных и всероссийских конференциях. Основное содержание диссертационного исследования изложено в 3 статьях в журналах, индексируемых библиографическими базами Scopus и/или включенных в перечень рецензируемых научных изданий ВАК РФ; 12 тезисах докладов на конференциях всероссийского и международного уровней.

Благодарность

Автор выражает глубокую и искреннюю благодарность коллективу лаборатории первичного биоскрининга, клеточных и генных технологий НОиИЦ ХФТ ХТИ УрФУ, в частности научному руководителю к.м.н., доценту В.В. Мелехину за неоценимую помощь в проведении исследований и подготовке работы, инженерам-исследователям А.В. Парамоновой и Е.И. Андреевой; заведующему лабораторией Комплексных исследований и экспертной оценки органических материалов ЦКП УрФУ, к.х.н., доценту О.С. Ельцову и аспиранту кафедры ТОС ХТИ УрФУ, инженеру лаборатории Комплексных исследований и экспертной оценки органических материалов ЦКП УрФУ В.М. Абрамову за проведение экспериментов ЯМР, постановку синтеза и отработку методик получения изучаемых соединений, а также д.х.н. Д.Н. Кожевникову, к.х.н. В.Н. Кожевникову и к.х.н. А.Ф. Сулеймановой, без первоначальных исследований которых эта работа могла не состояться.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 23-23-00375.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. Аналитический обзор литературы

В литературном обзоре рассмотрены ключевые аспекты применения платиновых препаратов в медицинской практике, их преимущества и недостатки, проанализированы и описаны последние разработки и соединения, находящиеся на различных стадиях доклинических и клинических испытаний, разобраны механизмы индукции программируемой клеточной гибели, в том числе под действием платинатов.

2. Обсуждение результатов

Для поиска активного противоопухолевого вещества на основе комплексов платины(II), содержащих хлор, была отобрана серия соединений, ранее описанных в литературе. В данной работе были выбраны комплексы с иной, отличной от цисплатина и других применяющихся в настоящее время препаратов платины структурой. Такой подход продиктован предположением, что изменение структуры может привести к иному механизму противоопухолевого действия, который и является объектом поиска.

2.1. Объекты исследования – комплексы платины(II)

В качестве объектов исследования была выбрана серия хлорплатиновых комплексов арилбипиридинов, так как в литературе была описана противоопухолевая активность похожих соединений *in vitro*, что позволило предположить наличие данных свойств у выбранных соединений. Для получения комплексов платины(II) применялся метод Крэнке (схема 1)¹.

Первый вариант заключался во взаимодействии пиридиниевой соли **A** (1-(2-оксо-2-(пиридин-2-ил)этил)пиридин-1-ий йодид), полученной из метил-2-пиридил кетона и пиридина в присутствии йода при 2-х часовом кипячении с ацетатом аммония, аддуктами Манниха **B** и избытком ацетата аммония в кипящей уксусной кислоте.

Второй вариант заключался во взаимодействии пиридиниевой соли **A** с халконами **C**, полученными из ацетофенона и альдегида, и избытком ацетата аммония в кипящей уксусной кислоте. В ходе процесса происходит образование йодида пиридиния, α,β -ненасыщенного кетона и последующая циклизация под действием ацетата аммония.

В результате двух вышеописанных реакций были синтезированы гидроксилпроизводные, которые затем подверглись алкилированию с использованием алкилбромидов и карбоната калия кипячением в ацетонитриле при 120 °C в течение 18 часов. Полученные лиганды **2.1a–2.1h** взаимодействием с K_2PtCl_4 в кипящей $AcOH$ были превращены в соответствующие платиновые комплексы **2.2a–2.2h**.

Доказательство строения синтезированных соединений проводили с использованием данных элементного анализа, масс-спектрометрии, спектроскопии

¹ Синтез изучаемых соединений был проведен в УрФУ к.х.н., доцентом О.С. Ельцовым и инженером В.М. Абрамовым

ИК и ЯМР, включая одномерные спектры на ядрах ^1H , ^{13}C , ^{195}Pt , а также двумерные эксперименты 2D ^1H - ^{13}C gHMBC, 2D ^1H - ^{15}N gHMBC и 2D ^1H - ^{195}Pt gHMBC. Использование комплекса спектральных данных позволило выполнить однозначное отнесение сигналов в спектрах ЯМР ^1H и ^{13}C для всех соединений.

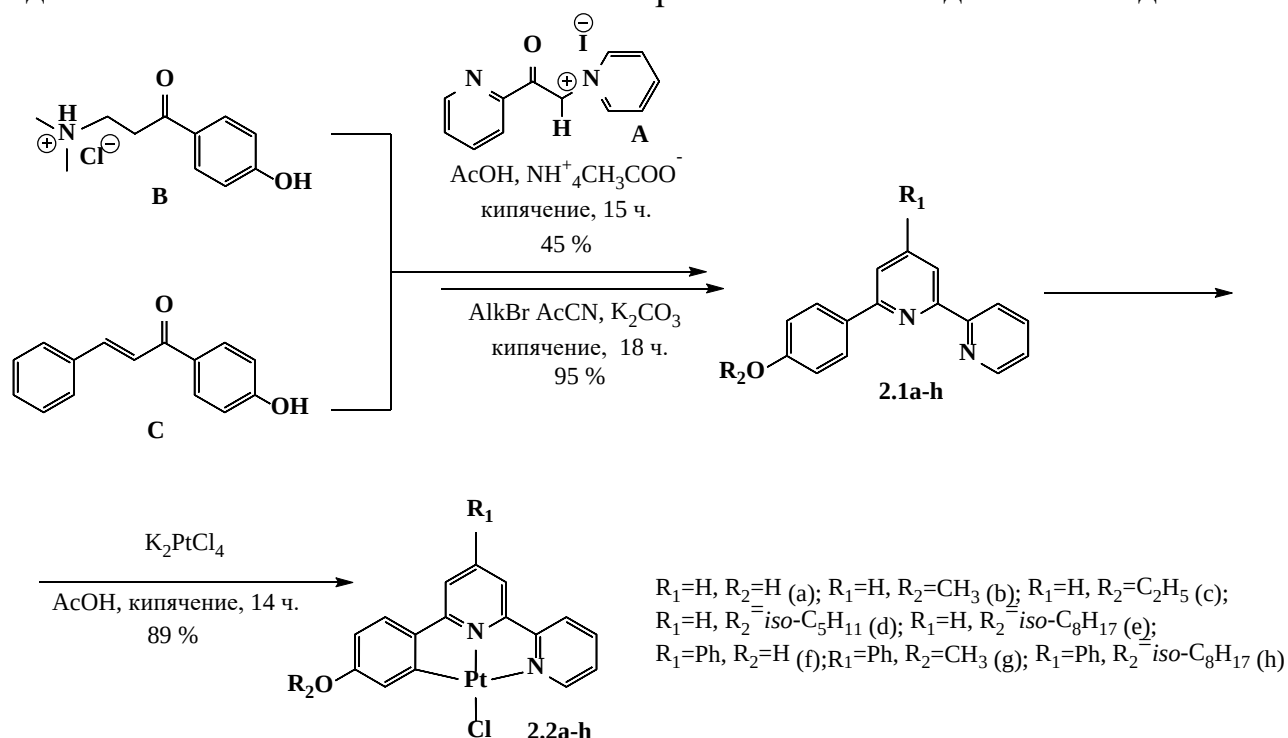


Схема 1 – Схема синтеза комплексов платины(II) **2.2a-h**

2.1.1. Биологическое тестирование соединений платины (II)

2.1.1.1. Проверка растворимости

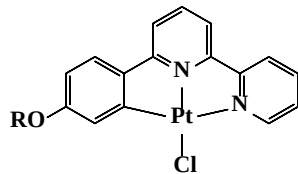
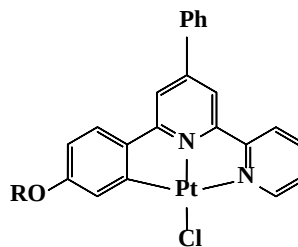
Растворимость оценивалась в 100 % растворе диметилсульфоксида (ДМСО) с последующим разведением в фосфатно-солевом буфере до максимальной выбранной концентрации, равной 48,6 мкмоль/л, таким образом, чтобы концентрация ДМСО в конечном счете не превышала 0,5 %. Все комплексы платины растворились в обозначенном диапазоне.

2.1.1.2. Изучение цитотоксичности *in vitro*

По результатам МТТ-теста были рассчитаны значения концентраций полумаксимального ингибирования жизнеспособности клеток (IC_{50}), представленные в табл. 2.

Из таблицы 1 следует, что комплексы **2.2a**, **2.2b**, **2.2c**, **2.2f** и **2.2g** не обладают противоопухолевой активностью и IC_{50} для данных соединений превышает максимальную исследованную концентрацию 48,6 мкмоль/л. **2.2d** и **2.2h** проявляют слабые противоопухолевые свойства, **2.2e**, в свою очередь, проявляет наибольшую активность в отношении неопластических клеток и является соединением-хитом.

Таблица 1 – Индекс цитотоксичности (IC_{50}) $\pm$ стандартная ошибка (SE) исследуемых хлорсодержащих соединений платины(II) на клетках почки эмбриона человека (HEK293), глиобластомы (A172), карциномы легкого (A549) и карциномы печени (HepG2) человека, мкмоль/л

№	Соединение			Клеточная линия			
	Шифр	Структурная формула	R	A549	HEK293	HepG2	A172
1	2.2a		H	>48,6	>48,6	>48,6	>48,6
2	2.2b		CH ₃	>48,6	>48,6	>48,6	>48,6
3	2.2c		C ₂ H ₅	>48,6	>48,6	>48,6	>48,6
4	2.2d		<i>iso</i> -C ₅ H ₁₁	>48,6	>48,6	>48,6	23,2 ± 1,6
5	2.2e		<i>iso</i> -C ₈ H ₁₇	11,4 ± 1,4	31,7 ± 3,4	24,2 ± 1,9	8,2 ± 1,5
6	2.2f		H	>48,6	>48,6	>48,6	>48,6
7	2.2g		CH ₃	>48,6	>48,6	>48,6	>48,6
9	2.2h		<i>iso</i> -C ₈ H ₁₇	33,0 ± 4,1	41,8 ± 2,7	>48,6	>48,6
10	Цисплатин (препарат сравнения)			24,4 ± 5,4	19,5 ± 2,9	32,2 ± 5,6	4,2 ± 0,5

Из кривых «доза-эффект» следует, что **2.2e** обладает некоторой селективностью, так как наблюдается так называемое «фармакологическое окно» между кривой ингибирования жизнеспособности HEK293 и A172, а также HEK293 и A549. Это область концентраций вещества, в которой комплекс оказывает токсический эффект против клеток ЗНО, не влияя при этом на условно-нормальные клетки почки эмбриона человека. Важно отметить, что цисплатин, использовавшийся в качестве положительного контроля, имеет меньшую эффективность в отношении карциномы лёгкого и карциномы печени и, несмотря на меньшее значение IC_{50} и, казалось бы, большую эффективность цисплатина против глиобластомы A172, из кривых «доза-эффект» видно, что у препарата нет столь выраженного «фармакологического окна» и при концентрации, равной концентрации полумаксимального ингибирования жизнеспособности клеток A172, нормальные клетки также подвергаются токсическому действию и больше 25 % из них погибают. Концентрация цисплатина, способствующая гибели 75 % клеток глиобластомы, способствует снижению жизнеспособности клеток почки эмбриона человека на 50 %. В свою очередь, концентрации **2.2e**, подавляющие жизнеспособность клеток A172 на 50 % и 75 %, не влияют на клетки HEK293, и их выживаемость сохраняется на 100 %-ном уровне (рис. 1).

Таким образом, среди всех синтезированных и протестированных хлорсодержащих комплексов платины(II) можно выделить одно соединение-лидер, обладающее выраженной противоопухолевой активностью и селективностью – **2.2e**. Важно отметить, что наиболее выраженный селективный эффект вещество

оказало против клеток глиобластомы (ГБМ), в связи с чем линия A172 была выбрана в качестве модельной для изучения потенциального механизма противоопухолевого действия соединения-лидера.

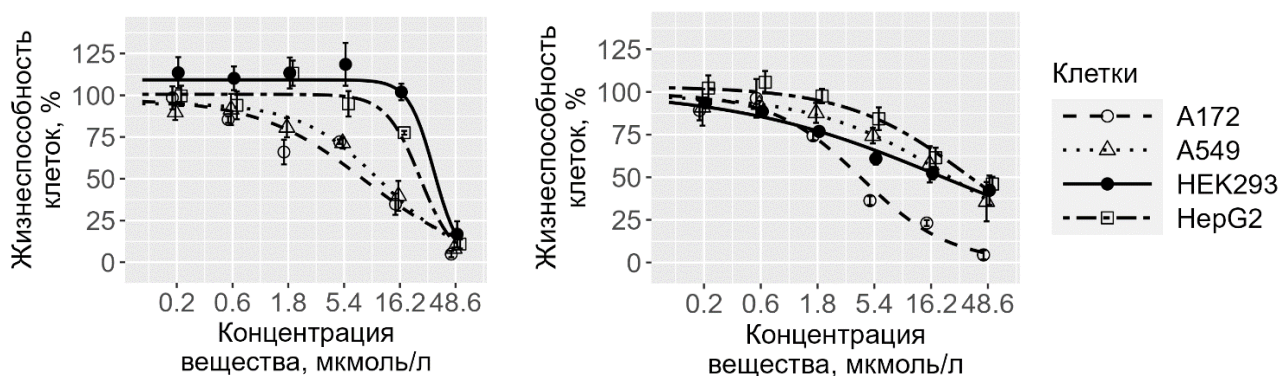


Рисунок 1 – Кривые зависимости жизнеспособности клеток от концентрации вещества, слева – **2.2e**; справа – цисплатин, $n = 3$, $M \pm SD$

2.1.1.3. Взаимосвязь «структура-активность» (SAR)

Полученные результаты цитотоксичности позволили проанализировать и сделать выводы о взаимосвязи «структура соединения платины – активность». Так, H-; CH₃- заменили (**2.2a**, **2.2b**, **2.2f**, **2.2g**) вне зависимости от наличия фенильной группы в молекуле, остаются неактивными. Более того, установлено, что чем длиннее алкильный фрагмент, тем эффективнее работает вещество. C₂H₅- заместитель еще не дает активности (**2.2c**), в то время как введение *iso*-C₅H₁₁- уже начинает (**2.2d**), а *iso*-C₈H₁₇- (**2.2e**) дает наибольший эффект и наилучшие показатели цитотоксичности, однако только без фенильного фрагмента, так как вещество **2.2h** не сопоставимо с ним по эффективности. Таким образом, можно заключить, что введение фенильного заместителя затрудняет работу комплексов, а более длинных и разветвленных алкильных заместителей, напротив, ее облегчают.

Предполагается, что активность комплексов обусловлена платиной и хлором в структуре, тогда как заместители влияют на растворимость, липофильность и стабильность. Так, судя по всему, в данном случае, фенил снижает лиофильные свойства молекул, они хуже проникают в клетки и работают не так эффективно, в то время как более длинный алкильный хвост, наоборот, позволяет комплексу проникнуть в клетку быстрее и атаковать внутриклеточную мишень. Однако, такая гипотеза требует подтверждения, в отсутствии платины и хлора, лиганд, в таком случае, должен проникать в клетку, но при этом оставаться неактивным. В целях контроля данного утверждения был проведен МТТ-тест на тех же клеточных линиях для лиганда **2.1e**, из которого было получено соединение хит **2.2e**. Результаты анализа представлены в табл. 2.

Основываясь на полученных данных, выдвинутая гипотеза была подтверждена: в отсутствии в структуре Pt и Cl молекула оказалась неактивна, показатели IC₅₀ превышают максимальную концентрацию 48,6 мкмоль/л.

Таблица 2 – Индекс цитотоксичности (IC_{50}) $\pm$ стандартная ошибка (SE) на клетках почки эмбриона человека (HEK293), глиобластомы (A172), карциномы легкого (A549) и карциномы печени (HepG2) человека, мкмоль/л

№	Соединение	Клеточная линия			
		A549	HEK293	HepG2	A172
1	2.1e лиганд	>48,6	>48,6	>48,6	>48,6
2	2.2e комплекс Pt(II)	11,4 $\pm$ 1,4	31,7 $\pm$ 3,4	24,2 $\pm$ 1,9	8,2 $\pm$ 1,5

Таким образом, заместители влияют на активность, однако за счет изменения проницаемости внутрь клетки и стабильности, а не за счет прямого влияния на какую-либо внутриклеточную мишень. Важно отметить, что для подтверждения стабильности комплекса **2.2e** в физиологических условиях, с целью получения дополнительных данных для однозначного утверждения того, что активна именно цельная молекула, содержащая в своей структуре металлокомплекс, был проведен ЯМР эксперимент: к раствору 3 мг соединения **2.2e** в 0,5 мл ДМСО- d_6 добавили 33 мкл физиологического раствора (соответствует 10 эквивалентам NaCl по отношению к исходному комплексу) и выдержали в течение 45 дней (1080 часов). Изменений сигналов в спектре ЯМР 1H не наблюдалось, что доказало стабильность комплекса **2.2e** в условиях, близких к физиологическим.

2.1.2. Определение общего противоопухолевого механизма действия соединения-лидера

2.1.2.1. Индукция апоптоза

Для способности соединения-лидера индуцировать клеточную гибель по типу апоптоза было проведено двойное флуоресцентное окрашивание культивируемых клеток с использованием Аннексина V-FITC и пропидия йодида (PI) – таблица 3.

Таблица 3 – Количество клеток, находящихся в раннем апоптозе (AnV+/PI–), позднем апоптозе (AnV+/PI+), погибших иным механизмом (AnV–/PI+) и живых (AnV–/PI–) после воздействия на них соединением **2.2e** и цисплатином

Образец	Аннексин V-FITC + (AnV+/PI–)	Пропидия йодид + (AnV–/PI+)	(Аннексин V-FITC и пропидия йодид) – (AnV–/PI–)	(Аннексин V-FITC и пропидия йодид) + (AnV+/PI+)
2.2e	178 (11,1 %)	32 (2,0 %)	1292 (80,5 %)	102 (6,4 %)
Цисплатин	426 (21,0 %)	64 (3,2 %)	1386 (68,4 %)	150 (7,4 %)
Контроль	100 (2,2 %)	32 (0,7 %)	4316 (94,1 %)	140 (3,0 %)

Обработка глиобластомы **2.2e** в некоторой степени индуцировала апоптоз, однако данный эффект является слабо выраженным, но в то же время наблюдалось уменьшение общего количества клеток в пробе до 35 % от отрицательного контроля. Цисплатин проявлял выраженную проапоптотическую активность и общий пул клеток уменьшался до 44,2 %. Таким образом, несмотря на то, что соединение-лидер проявляет цитотоксическую активность, индукция апоптоза для него не является ведущим механизмом.

2.1.2.2. Влияние на активность репликации ДНК и клеточного деления

Использование EdU-теста позволило зафиксировать ингибирование синтеза ДНК под действием цисплатина, в то время как соединение **2.2e** не оказывало ингибирующего действия на процесс репликации, что указывает на принципиально иной механизм его цитотоксического действия. В противоположность этому, цисплатин снижал активность клеточного деления до 15,5 %, что согласуется с его известным механизмом действия, связанным с образованием сшивок с ДНК и остановкой клеточного деления (рис. 2).

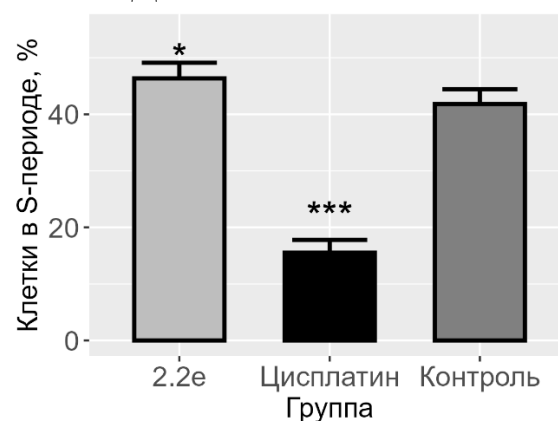


Рисунок 2 – Результат окрашивания клеток A172, флуоресцентным зондом iF 555. Проценты клеток в S-фазе, $M \pm \text{ДИ-95\%}$ (* $p < 0,05$; *** $p < 0,001$)

Таким образом, отсутствие блокировки репликации ДНК может свидетельствовать о том, что макромолекула ДНК не является первичной мишенью **2.2e**.

2.1.2.3. Индукция окислительного стресса

В результате эксперимента с флуоресцентным красителем H_2DCFDA установили, что **2.2e** индуцирует выработку значительного количества активных форм кислорода (АФК). Цисплатин не приводил к столь активному образованию АФК, как **2.2e**, что подтверждает отличия в механизмах действия образцов. Наличие АФК в опухолевых клетках под действием данного вещества может свидетельствовать о том, что механизм его действия, вероятно, основан на индукции окислительного стресса. При этом известно, что неконтролируемое образование АФК может быть опосредованно нарушением работы антиоксидантных систем защиты клетки и, в отсутствии признаков апоптоза может быть маркером такого типа клеточной смерти, как ферроптоз.

2.1.3. Идентификация мишени и характеристика неапоптотического механизма клеточной гибели

2.1.3.1. Изучение механизма индуцируемой клеточной гибели по типу ферроптоза

Наиболее выраженные изменения зафиксированы для центрального фермента антиферроптотической защиты – глутатионпероксидазы 4 (GPX4). В ответ на воздействие обоих агентов зафиксирована также и активация редокс-чувствительного транскрипционного фактора NRF2. Уровень ацил-КоА синтетазы 4 (ACSL4) практически не изменился, как под действием **2.2e**, так и под действием эрастина. Динамика фактора, индуцируемого гипоксией (HIF1A), различалась при действии двух агентов. Эрастин вызвал умеренное повышение уровня HIF1A, а

2.2e, напротив, привел к подавлению HIF1A. Совокупность полученных данных позволяет уверенно констатировать, что **2.2e** индуцирует гибель опухолевых клеток по механизму ферроптоза. Более того, характер изменений свидетельствует о том, что мишенью соединения является глутатионовая система. При оценке транскрипционной активности генов, кодирующих ключевые маркеры ферроптоза, было обнаружено статистически значимое повышение уровня мРНК *ACSL4*: более чем в 4 раза под действием **2.2e** и более чем в 2.5 раза под действием эрастина. При этом уровень мРНК *GPX4* в обоих случаях достоверно не отличался от контроля. Отсутствие изменений в уровне мРНК *GPX4* на фоне падения количества белка свидетельствует о том, что регуляция *GPX4* при индукции ферроптоза происходит на посттранскрипционном уровне. Совокупность полученных данных позволяет заключить, что мишенью действия **2.2e** является глутатионовая система защиты клетки, а индукция гибели реализуется по механизму ферроптоза (рис. 3).

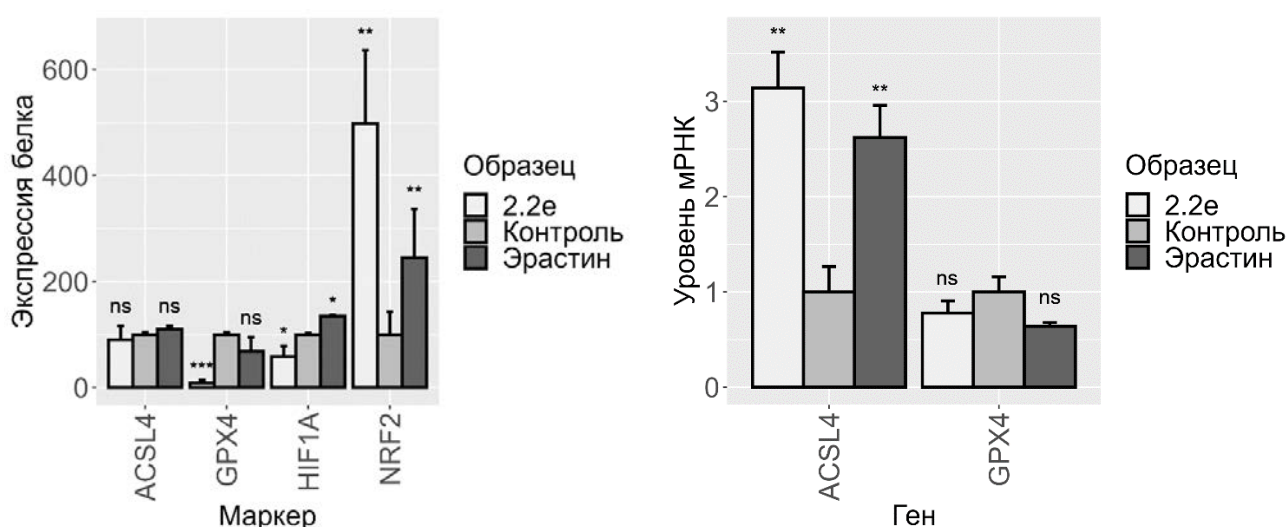


Рисунок 3 – Анализ экспрессии маркеров ферроптоза в клетках глиобластомы – Слева: Изменение активности белков в сравнении с интактным контролем, принятым за 100 %; Справа: Анализ экспрессии маркеров ферроптоза в клетках глиобластомы A172 методом ПЦР в реальном времени, $n = 3$ (ns – без статистически значимых отличий; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$)

2.1.3.2. Подтверждение мишени

В качестве одного из наиболее информативных методов исследования пути протекания реакции, подтверждения взаимодействия и структуры полученных продуктов была выбрана ЯМР спектроскопия, а результате проведения которой было установлено образование комплекса по S-Pt связи и сделан однозначный вывод о взаимодействии комплекса **2.2e** с глутатионом².

При постановке реакции комплекса Pt(II) **2.2e** с глутатионом в ДМСО-*d*₆ при 25 °С наблюдали значительное смещение химических сдвигов сигналов продуктов реакции в ¹H ЯМР спектре, по отношению к исходным реагентам, причём данный эффект наиболее выражен для атомов водорода, находящихся в непосредственной близости от металла-комплексобразователя.

² ЯМР эксперименты с глутатионом были проведены в УрФУ к.х.н., доцентом О.С. Ельцовым и инженером В.М. Абрамовым

^{195}Pt ЯМР спектр позволил зафиксировать смещение сигнала платины с -3550 до -3676 м.д., что говорит об однозначном изменении окружения платинового иона. В то же время корреляция протонов глутатиона (GSH) при 2.80–3.15 м.д. в двумерном спектре ^1H - ^{195}Pt gHMBC с сигналом платины позволяет сделать однозначный вывод об образовании комплекса по S-Pt связи (рис. 4).

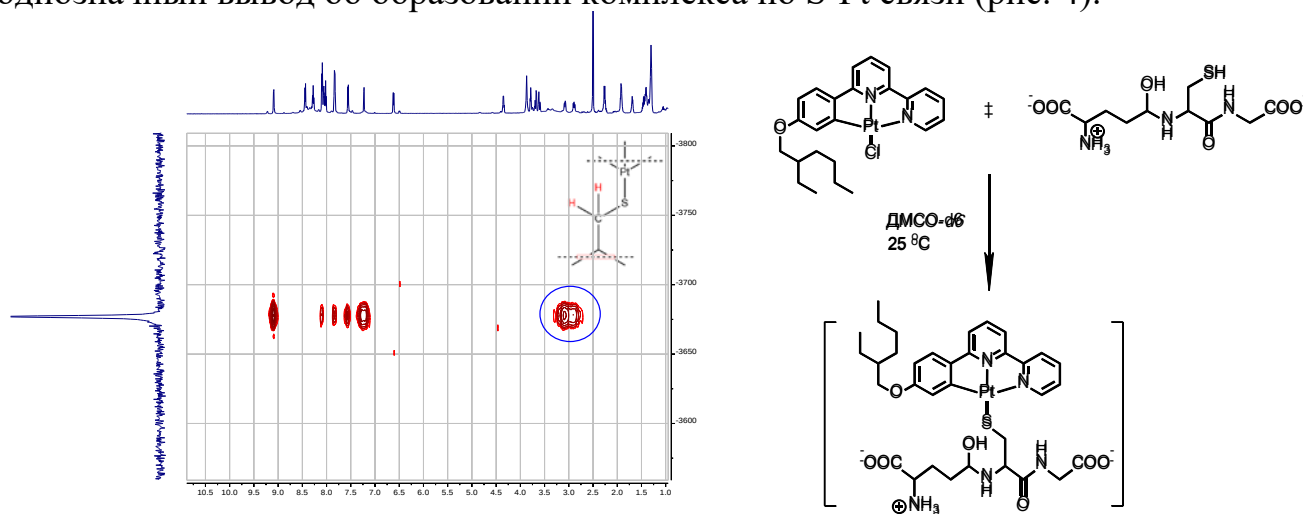


Рисунок 4 – ^1H - ^{195}Pt HMBC спектр комплекса **2.2e** с глутатионовым лигандом и схема реакции

2.1.4. Изучение эффектов, опосредованных ферроптозом и блокировкой глутатиона

2.1.4.1. Эффекты, ассоциированные с ферроптозом

2.1.4.1.1. Перекисное окисление липидов

Экспериментальное подтверждение АФК-механизма требует оценки перекисного окисления липидов (ПОЛ) как показателя биологической значимости радикалов.

На рис. 5 представлены микрофотографии, на которых зеленым флуоресцирует окисленный кардиолипид, а красным – восстановленный. Было обнаружено, что комплекс **2.2e** выраженным образом окисляет кардиолипид, содержащийся в митохондриях живых клеток (на 94 % процента от отрицательного контроля, $p < 0,001$). Для сравнения: цисплатин также инициировал окислительный процесс (на 86 % от интактной пробы, $p < 0,001$), однако выраженность его была ниже и имела статистически значимые различия с **2.2e** ($p < 0,001$).

Полученный результат подтверждает ранее установленный механизм индукции клеточной смерти под действием **2.2e**, так как наблюдаемое по результатам экспериментальной оценки ПОЛ является еще одним важным признаком ферроптоза. Высокая степень окисления кардиолипина свидетельствует о том, что генерируемые **2.2e** активные формы кислорода достигают липидных мембран и вызывают их повреждение.

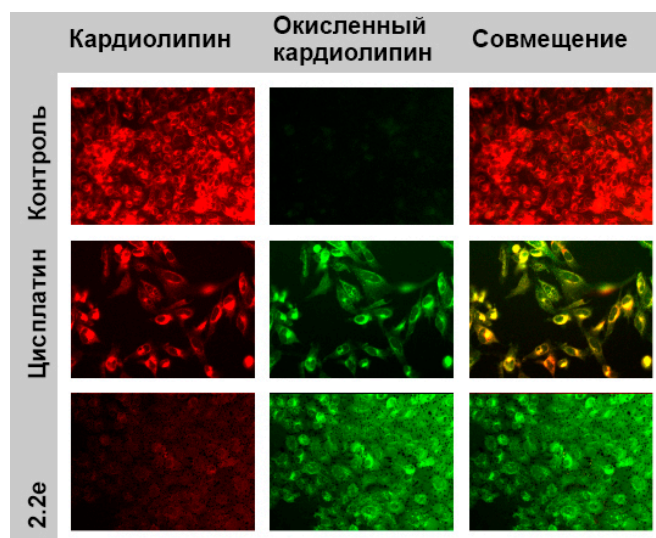


Рисунок 5 – Результат окрашивания клеток A172 красителем MitoCLox в концентрации 200 нмоль/л. Увеличение 200х

2.1.4.2. Сопутствующие изменения

2.1.4.2.1. Молекулярные эффекты, вызванные веществом

Поскольку в условиях оксидативного повреждения в клетке активируются стресс-адаптационные механизмы, была проведена оценка экспрессии генов белков теплового шока *HSP27* и *HSP70*, вовлечённых в ответ на окислительный стресс и регуляцию клеточной гибели. В соответствии с полученными результатами **2.2e** статистически значимо повышал экспрессию генов *HSP27* и *HSP70* в клетках A172 ($p < 0,001$) – в 4 и в 10 раз относительно отрицательного контроля соответственно, что согласуется с данными об индукции АФК и ПОЛ. Цисплатин, использовавшийся в качестве препарата сравнения, также вызывал статистически значимое повышение экспрессии мРНК *HSP27* и *HSP70* ($p < 0,001$) – в 16 и 11 раз от интактной пробы, что говорит о общем стресс-ответе клетки на оказываемое токсическое действие.

2.1.4.2.2. Морфологические изменения

Следующим этапом исследования стало изучение изменения морфологических свойств клеток A172. В результате окрашивания клеток глиобластомы A172 по методу Романовского – Гимзы установлено, что **2.2e** оказывает выраженное влияние на морфологию культивируемых клеток. Наблюдаемое разрушение клеточных мембран в сочетании с изменением формы клеток и вакуолизацией цитоплазмы, может свидетельствовать о некротическом морфотипе клеточной гибели, что хорошо согласуется с выявленной способностью соединения индуцировать окислительный стресс и перекисное окисление липидов. Выявленные морфологические изменения значимо отличаются как от отрицательного контроля (интактные клетки), так и от действия цисплатина, который вызывает преимущественно уменьшение клеточного монослоя без столь выраженной деформации клеток.

Разница в эффектах, вызванных цисплатином и **2.2e** обусловлена различным механизмом действия веществ. **2.2e** приводит к разрушению мембраны и вакуолизации цитоплазмы, что связано с нарушением целостности цитоплазматической мембраны (ЦПМ) из-за окисления (рис. 6).



Рисунок 6 – Изменение морфологии клеток глиобластомы A172 под влиянием **2.2e** в сравнении с цисплатином. Увеличение 400х

2.1.4.2.3. Влияние на потенциал ($\Delta\Psi_m$) внутренней митохондриальной мембраны (ВММ)

В результате проведения эксперимента установили, что **2.2e** приводит к статистически значимому снижению потенциала внутренней митохондриальной мембраны ВММ до 32,97 % от контрольных значений ($p < 0,001$), в то время как цисплатин при тех же условиях не вызывает сопоставимых эффектов и $\Delta\Psi_m$ после обработки им снижется только до 92,66 % ($p > 0,05$). Положительный контроль, в качестве которого использовался карбонилцианид-м-хлорфенилгидразон (СССР), вызывал практически полное падение потенциала ВММ ($p < 0,001$ от контроля).

2.1.4.3. Выводы по эффектам, связанным с индукцией ферроптоза и блокировкой глутатиона

В результате изучения эффектов, опосредованных **2.2e**, установлено, что вещество вызывает выраженное перекисное окисление липидов мембран митохондрий, что согласуется с ферроптотическим профилем индукции клеточной смерти и подтверждает установленный механизм. Блокировка глутатиона и индукция ферроптоза посредством **2.2e** приводит к выраженным морфологическим изменениям, снижению потенциала ВММ и повышенной экспрессии белков теплового шока.

2.1.4.4. Модуляция эффектов соединения антиоксидантом

Исходя из полученных данных, демонстрирующих что соединение **2.2e** индуцирует гибель опухолевых клеток через окислительный стресс, блокируя глутатионовую систему защиты клетки, была проведена оценка его цитотоксического действия в присутствии и в отсутствии антиоксиданта N-ацетил-L-цистеина (NAC). Проведенные эксперименты позволили дополнительно подтвердить глутатион-зависимый механизм действия вещества и установить взаимосвязь между эффектами **2.2e** и присутствием или отсутствием антиоксиданта в системе. В результате исследований было установлено, что цитотоксическая активность **2.2e** зависит от функционального состояния глутатионовой системы. Так, в отсутствии NAC потенциал ВММ снижался до 57 %, в то время как добавление антиоксиданта возвращало состояние потенциала в норму, даже в некоторой степени превышающую отрицательный контроль – 116 %.

Эффект от цисплатина, в свою очередь, не зависел от наличия или отсутствия НАС – рис. 7.

Важно отметить, что введение НАС также блокировало и процесс выработки АФК в клетках глиобластомы A172 под влиянием **2.2e**. Цисплатин же демонстрировал умеренную индукцию АФК в клетках данной линии, которая лишь частично снижалась в присутствии НАС.

Таким образом, совокупность полученных данных подтверждает, что механизм действия соединения **2.2e** реализуется через индукцию окислительного стресса, опосредованного блокадой глутатионовой системы защиты клеток глиобластомы.

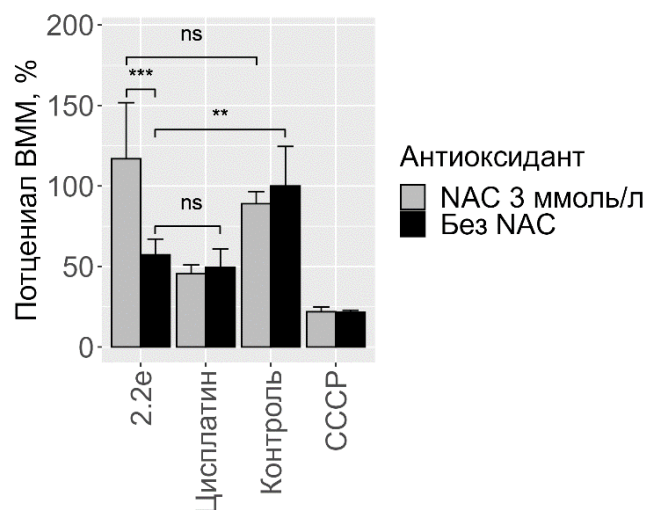


Рисунок 7 – Исследование влияния **2.2e** на потенциал ВММ клеток глиобластомы линии A172 в присутствии НАС: ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, $^{ns}p > 0,05$. За 100 % принято соотношение, полученное на интактных клетках в отсутствие НАС, $n = 4$

2.1.5. Выводы по комплексам платины (II)

Таким образом, определённое по результатам МТТ-теста соединение-лидер **2.2e** индуцирует гибель опухолевых клеток по механизму, отличному от цисплатина. Изучаемый комплекс платины(II) блокирует глутатион, в результате чего происходит неконтролируемая выработка АФК, приводящая к ПОЛ и смерти клеток по типу ферроптоза. Однако конструирование на основе **2.2e** комплекса Pt(IV) потенциально может привести к созданию пролекарства, сохраняющего неапоптотический способ индукции гибели клеток и обладающего преимуществами. В отличие от Pt(II), комплексы Pt(IV) обладают более высокой стабильностью в кровотоке, что снижает системную токсичность и побочные эффекты. Кроме того, Pt(IV) активируется преимущественно в восстановительной среде опухолевых клеток, что повышает селективность действия. Такая избирательность также позволяет частично преодолевать приобретенную резистентность, с которой часто сталкиваются препараты Pt(II). Более высокая стабильность комплексов Pt(IV) открывает возможность для их перорального применения, а наличие дополнительных позиций для функционализации дает возможность создавать комбинированные препараты с таргетными свойствами.

Таким образом, на основе ранее разработанного комплекса платины(II), продемонстрировавшего высокую противоопухолевую эффективность, было принято решение создать его аналог в степени окисления платины(IV). Данная модификация направлена на снижение системной токсичности, обеспечение пролонгированного действия и расширение возможностей для дальнейшей функционализации молекулы.

2.2. Синтез потенциального пролекарства – комплекса платины (IV)

Схема синтеза комплексов платины(IV) **2.3a-b** представлена на схеме 2³. Полученные комплексы платины(II) **2.2b** и **2.2e** растворяли в ДМСО при комнатной температуре, медленно добавляли HCl до образования осадка, нагревали до 60 °C и проводили реакцию в течение 3 часов.

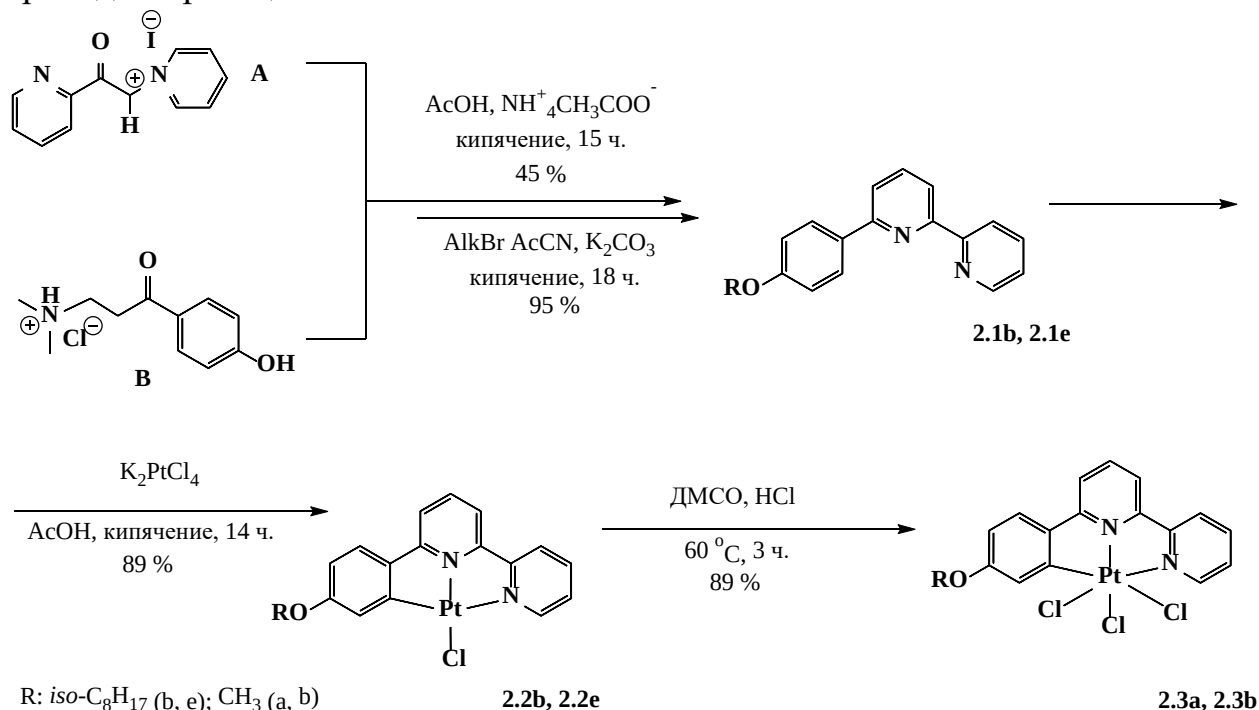


Схема 2 – Схема синтеза комплексов платины(IV) **2.3a-b**

Доказательство строения проводили с использованием данных элементного анализа, спектроскопии ИК и ЯМР, включая одномерные спектры на ядрах ^1H , ^{13}C , ^{195}Pt , а также двумерные эксперименты 2D ^1H - ^{13}C gHMBC, 2D ^1H - ^{15}N gHMBC и 2D ^1H - ^{195}Pt gHMBC. Использование комплекса спектральных данных позволило выполнить однозначное отнесение сигналов в спектрах ЯМР ^1H и ^{13}C . Для комплекса **2.3b**, синтезированного на основе соединения-лидера **2.2e**, была осуществлена попытка проведения рентгеноструктурного анализа (РСА), однако качество дифракционных данных полученного кристалла было ограничено из-за высокой подвижности алкильного фрагмента. С целью структурного подтверждения и проверки методики, был выполнен синтез комплекса платины(IV) **2.3a** на основе соединения **2.2b**, отличающегося наличием более короткого метильного заместителя, структура была надежно установлена с помощью РСА.

2.2.1. Изучение цитотоксичности платины (IV) *in vitro*

Комплекс **2.3b** обладал достаточной растворимостью для проведения экспериментов и по результатам МТТ-теста были рассчитаны индексы цитотоксичности (IC_{50}), представленные в таблице 4. Из таблицы 4 следует, что комплекс платины(IV) **2.3b** не только в разы превосходит по активности свой предшественник **2.2e**, но также обладает значительно большей эффективностью в

³ Синтез был проведен в УрФУ к.х.н., доцентом О.С. Ельцовым и инженером В.М. Абрамовым

сравнении с положительным контролем, в качестве которого использовался цисплатин.

Таблица 4 – Индекс цитотоксичности (IC_{50}) $\pm$ стандартная ошибка (SE) **2.2e** и **2.2** на клетках почки эмбриона человека (HEK293), глиобластомы (A172), карциномы легкого (A549) и карциномы печени (HepG2) человека, мкмоль/л

Соединение	Клеточная линия				Валентность Pt
	HEK293	A172	A549	HepG2	
Цисплатин	19,5 $\pm$ 2,9	4,2 $\pm$ 0,5	24,4 $\pm$ 5,4	32,2 $\pm$ 5,3	II
2.2e	31,7 $\pm$ 3,4	8,2 $\pm$ 1,5	11,4 $\pm$ 1,4	24,2 $\pm$ 1,9	II
2.3b	2,9 $\pm$ 0,5	0,3 $\pm$ 0,1	7,4 $\pm$ 0,7	2,6 $\pm$ 0,6	IV

Таким образом, расчетные значения индекса селективности для линии A172 (10,8 для **2.3b** и 3,9 для **2.2e**) и данные цитотоксичности позволяют сделать предварительный вывод об успешной модификации вещества и создании более активного, селективного и эффективного соединения.

2.2.2. Подтверждение мишени и механизма действия комплекса платины (IV)

2.2.2.1. Антиоксидантная система NRF2/GSH

В результате проведения вестерн-блоттинга установлено, что **2.3b** активирует NRF2, повышая его экспрессию в 2,3 раза в сравнении с отрицательным контролем ($p < 0,01$). Эрастин приводит к сопоставимому увеличению активности NRF2 – в 2,5 раза. Сохраняя механизм активации белка, комплекс Pt(IV) **2.3b** обеспечивает более устойчивый и мягкий фармакологический ответ (2,3-кратная активация), позволяя снизить риск токсического воздействия, связанного с высокой и резкой стимуляцией ответа (5-кратная активация для **2.2e**). Обработка эрастином приводила к небольшому, но статистически значимому повышению экспрессии ACSL4 (1,3 от контроля; $p < 0,001$), соединение **2.3b** не вызывало статистически значимых изменений экспрессии ACSL4 (0,98 от контроля; $p > 0,05$), что свидетельствует о том, что необходимый субстрат для перекисного окисления липидов в клетках присутствует. Для оценки динамики и пролонгированности действия соединения **2.3b** было принято решение изучить его влияние на GPX4 в нескольких режимах. Уровень глутатионпероксидазы 4 в клетках глиобластомы после добавления к ним десятикратной концентрации IC_{50} вещества **2.3b** снижался до 0,65, аналогичный эффект наблюдался при 24-часовой инкубации в IC_{50} . Это говорит о том, что повышение концентрации и сокращение времени выдержки для изучения эффектов в данном случае является неэффективным и подтверждает накопительный механизм **2.3b**. 72-часовая инкубация же приводила к существенным изменениям количества GPX4, его активность снижалась до 0,3 единиц от отрицательного контроля ($p < 0,001$), это подтверждает пролонгированный эффект и статус пролекарства, которому для превращения из неактивного вещества в активное требуется время (т.е. для активации необходимо восстановление, которое происходит внутри опухолевой клетки) – рис. 8.

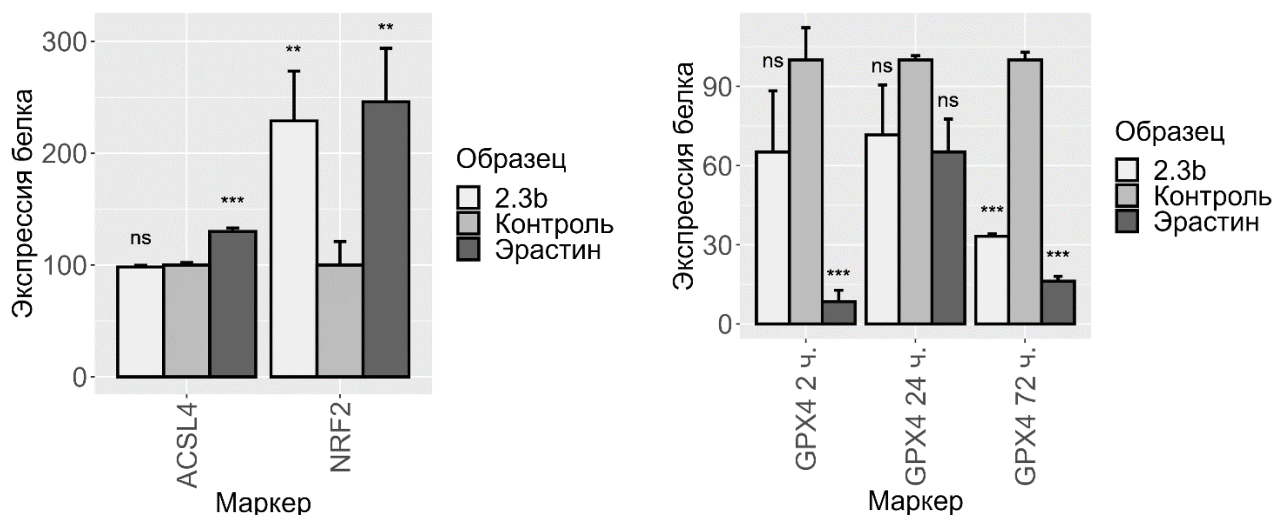


Рисунок 8 – Анализ экспрессии ACSL4, NRF2 и GPX4 в клетках глиобластомы A172 под влиянием **2.3b**: столбчатые диаграммы, отражающие изменение активности ACSL4 и NRF2 соответственно в сравнении с интактным контролем, принятым за 100 %, $n = 3$, (ns – без статистически значимых отличий; $**p < 0,01$; $***p < 0,001$)

2.2.2.2. Реакция с глутатионом

Для комплекса **2.3b** был проведен аналогичный **2.2e** эксперимент по оценке его способности связывать глутатион. В данном случае ход реакции значительно отличался: восстановление $Pt(IV)$ до $Pt(II)$ шло с помощью GSH, что подтверждалось с помощью ЯМР спектроскопии, тогда как GSH переходил в окисленную форму – глутатиондисульфид GSSG, который под действием глутатионредуктаз (GR) в клетках восстанавливается обратно до GSH. Окисленная форма GSSG не вступала в реакцию с образовавшимся комплексом платины(II), а восстановленный GSH блокировался ей. Таким образом, введение комплекса платины(IV) **2.3** в данном случае имеет пролонгированный и усиленный эффект, так как, с одной стороны, идет расходование глутатиона на то, чтобы восстановить комплекс платины(IV) до комплекса платины(II), а, с другой стороны, оставшийся и восстановленный глутатионредуктазами глутатион блокируются $Pt(II)$ ⁴. Предполагаемый механизм протеканий реакции представлен на схеме 3.

Таким образом, мишень и механизм действия для оптимизированного комплекса платины(IV) **2.3b** сохранены, однако в данном случае наблюдается несколько иная картина, связанная с накопительным и пролонгированным действием **2.3b**. Так, комплекс $Pt(II)$ **2.2e** сразу же представляет собой активную молекулу, которая нацеливается на клеточную и мишень и проявляет свои эффекты в первые часы добавления к культуре, комплексы $Pt(IV)$ же необходимо восстановление, на которое затрачивается некоторое время. И, поскольку восстановление платины протекает постепенно и растянуто во времени, ожидается, что высвобождение активной формы металлокомплекса в организме будет происходить не мгновенно, а в течение какого-то продолжительного периода. Это,

⁴ ЯМР эксперименты с глутатионом были проведены в УрФУ к.х.н., доцентом О.С. Ельцовым и инженером В.М. Абрамовым

в свою очередь, может обеспечить пролонгированное действие препарата, снижение токсических эффектов и избирательность.

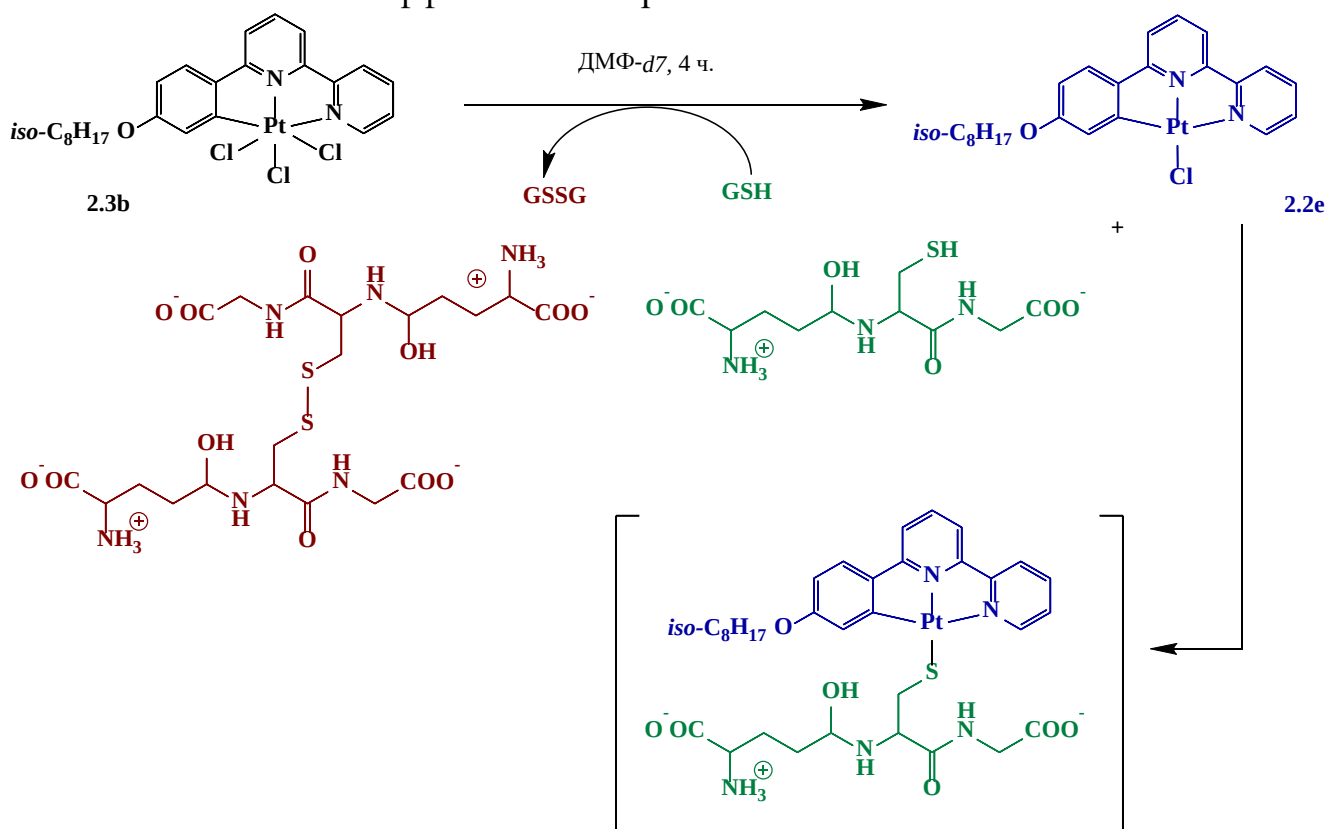


Схема 3 – Предполагаемая схема превращений комплекса платины(IV) **2.3b** в присутствии глутатиона (GSH) в **2.2e** с последующей блокировкой GSH

2.2.3. Вовлечение апоптоза и дополнительные мишени

Учитывая значительное возрастание цитотоксической активности комплекса платины(IV) **2.3b** по сравнению с исходным лидером, нельзя исключать вовлечение дополнительных механизмов гибели. Для проверки гипотезы о возможном двойном механизме действия проведена оценка индукции апоптоза методом с Аннексин V-FITC/PI, а также анализ маркера апоптоза PARP1 методом вестерн-блоттинга. В результате эксперимента с Аннексин V-FITC и PI было установлено, что комплекс **2.3b** индуцирует гибель более чем 74 % клеток в пробе, вызывая при этом разрушение цитоплазматической мембраны (AnV-/PI+) в 71 % случаев. Совершенно иная картина представлялась после обработки клеток цисплатином, который в большей степени индуцировал ранний апоптоз (49 % – AnV+/PI–), сопровождающийся менее выраженными позднеапоптотическими изменениями клетки (26 % – AnV+/PI+). При этом нарушение целостности ЦПМ без транслокации фосфатидилсерина отмечалось значительно реже (4 % – AnV–/PI+). Интересно отметить, что наблюдалось выраженное расщепление PARP1 под действием **2.3b**, причем эффект от комплекса был намного сильнее, чем от цисплатина или эрастина. Количество расщепленного каспазами PARP1 после воздействия на клетки A172 Pt(IV) в 3,6 раза превышало отрицательный контроль, в то время как обработка цисплатином и эрастином способствовала лишь 1,5

кратному увеличению. Полученные данные позволяют сделать вывод о вовлечении механизмов апоптоза в индукцию клеточной смерти под действием 2.3.

2.2.4. Выводы по комплексу платины(IV)

Таким образом, синтезированный на основе соединения-лидера комплекс платины(IV) сохранил установленный механизм и индуцировал ферроптоз в клетках злокачественных новообразований, однако, в данном случае, наблюдалось вовлечение дополнительных способов индукции клеточной смерти, таких, как апоптоз.

В клетке происходит восстановление комплекса Pt(IV) до комплекса Pt(II) посредством окисления глутатиона, за счет чего наблюдается пролонгированный эффект при меньших значениях цитотоксичности (рис. 9).

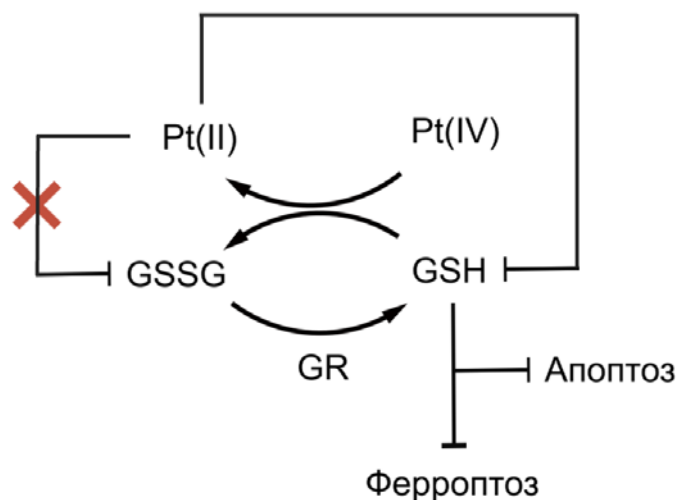


Рисунок 9 – Установленный противоопухолевый механизм разработанного комплекса платины(IV). GSH: восстановленный глутатион; GSSG: окисленный глутатион; GR: глутатионредуктаза

Образовавшийся комплекс платины(II), в свою очередь, блокирует глутатион, индуцируя ферроптоз, но, в отличие от использования сразу же комплекса двухвалентной платины, из-за более плавного истощения пула глутатиона в ответ на накопительную стресс-реакцию клетка дополнительно запускает и апоптоз.

Заключение

В рамках данной диссертационной работы было проведено исследование противоопухолевой активности серии комплексов платины и получены следующие результаты:

1. Из серии хлорплатиновых(II) комплексов арилбипиридинов одно соединение – хлорплатинат(II) 6-(4-(2-этилгексил)оксиифенил)-2,2'-бипиридина – обладает выраженным противоопухолевым действием и некоторой селективностью, превышающей цисплатин.

2. Установлена неапоптотическая природа индуцированной клеточной смерти клеток ЗНО под действием хлорплатинат(II) 6-(4-(2-этилгексил)оксиифенил)-2,2'-бипиридина, вызванная окислительным стрессом. Подтверждено, что ДНК не является основной мишенью изученного соединения, в отличие от классических препаратов платины, находящихся в применении и на стадиях клинических испытаний.

3. Впервые показана способность комплекса платины(II) индуцировать ферроптоз через блокировку глутатиона и ингибирование антиоксидантной системы защиты клетки.

4. Описан синтез пролекарства – комплекса платины(IV) на основе определённого соединения-лидера комплекса платины(II) и описана его цитотоксическая активность в разы превышающая предшественник.

5. Установлен и описан механизм разработанного потенциального пролекарства, заключающийся в индукции ферроптоза из-за блокировки глутатиона через предварительное восстановление Pt(IV) до Pt(II) посредством GSH с его переходом в окисленную форму, не вступающую в дальнейшую реакцию с Pt(II).

Перспективы дальнейшей разработки темы включают в себя исследования на моделях *in vivo*, а также изучение преодоления резистентности при комбинированном использовании препаратов платины, таких как цисплатин, и соединений, описанных в диссертации, так как глутатион, являющийся основной мишенью описанных веществ, является одним из центральных звеньев в приобретении клетками злокачественных новообразований резистентности к терапии.

Основные результаты исследований изложены в следующих работах:

1. Tokhtueva M.D. Synthesis of derivatives of 6-aryl-2,2'-bipyridine complexes with PtII as potential antitumor agents / Abramov, V. M., Cheremnykh, L. A., El'tsov, O. S., Tokhtueva, M. D., Melekhin, V. V., Paramonova, A. V., ... & Makeev, O. G. // Russ. Chem. Bull. – 2023 – Vol. 72 – P. 2848–2859. (*Scopus, Web of Science; BAK по специальности «1.4.16 Медицинская химия»*).

2. Tokhtueva M.D. The arylbipyridine platinum (II) complex increases the level of ROS and induces lipid peroxidation in glioblastoma cells / Tokhtueva, M. D., Melekhin, V. V., Abramov, V. M., Ponomarev, A. I., Prokofyeva, A. V., Grzhegorzhevskii, K. V., ... & El'tsov, O. S. // Biometals – 2025 – Vol. 38 – P. 185–202. (*Scopus, Web of Science*).

3. Тохтуева М.Д. Хлор платиновый (II) комплекс 6-(4-((2-этилгексил)окси)фенил)-2,2'-бипиридина как индуктор АФК и неапоптотической гибели клеток глиобластомы / М.Д. Тохтуева, В.В. Мелехин, А.И. Пономарев, В.М. Абрамов, О.С. Ельцов // Вестник ДВО РАН – 2026 – № 3 – С. 84–99 (*BAK по специальности «1.4.16 Медицинская химия»*).

Материалы конференции и прочие публикации:

1. Тохтуева М.Д. и др. Влияние новых циклоплатинированных комплексов на жизнеспособность культивируемых клеток глиобластомы и остеосаркомы человека // Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения – 2021 – С. 1481–1485.

2. Тохтуева М.Д. и др. Влияние соединений платины на жизнеспособность культивируемых клеток злокачественных новообразований // Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения – 2022 – С. 1569–1575.

3. Тохтуева М.Д. и др. Хлорплатиновые комплексы арилбипиридинов, обладающие противоопухолевой активностью // Тезисы докладов, посвященные 120-летию со дня рождения академика Б.А. Арбузова «Молекулярный дизайн биологически активных веществ: биохимические и медицинские аспекты» – 2023 – С. 113.
4. Тохтуева М. Д. и др. Хлорплатиновые комплексы арилбипиридинов подавляют рост опухолевых клеток и индуцируют апоптоз // Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения – 2024 – С. 1292–1298.
5. Тохтуева М.Д. и др. Противоопухолевая и апоптотическая активность циклоплатинированных комплексов в клетках глиобластомы // Инновационные технологии диагностики и лечения в многопрофильном медицинском стационаре – 2023 – С. 390–394.
6. Тохтуева М.Д. и др. Перспективы моделирования неапоптотической гибели культивируемых клеток человека с использованием комплексов платины (II) // Сборник тезисов 27-й Пущинской школы-конференции молодых ученых с международным участием. Пущино – 2024 – С. 159.
7. Тохтуева М.Д. и др. Платиновые комплексы (II) с высокой противоопухолевой активностью // Тезисы докладов IX Молодежной школы-конференции по молекулярной и клеточной биологии – 2024 – С. 149.
8. Тохтуева М.Д. и др. Индукция неапоптотической гибели клеток глиобластомы // Тезисы докладов Всероссийской конференции с международным участием «Физико-химическая биология в год 270-летия МГУ» – 2025 – С. 39–40.
9. Тохтуева М.Д. и др. Комплекс платины(II) запускает в опухолевых клетках неапоптотическую гибель через генерацию АФК и активацию перекисного окисления липидов // Сборник тезисов Международной конференции «Актуальные вопросы биотехнологии» – 2025 – С. 199–200.
10. Tokhtueva M.D. et al. Synthesis of Pt(IV) complexes of arylbipyridines as potential anticancer prodrugs. // Book of abstracts XIII International Conference on Chemistry for Young Scientists «MENDELEEV 2024» – 2024 – Р. 396.
11. Тохтуева М.Д. и др. Синтез Pt(II), Pt(IV) комплексов арилпиридинов как перспективных противоопухолевых препаратов // Сборник тезисов VIII Всероссийской (заочная) молодежной конференции – 2023 – С. 42.
12. Тохтуева М.Д. и др. Комплексы платины(II) с неапоптотическим механизмом подавления роста неопластических клеток и описание противоопухолевой активности соединений платины(IV), полученных на их основе // Тезисы докладов 3-й Всероссийской школы-конференции, посвященной памяти профессора В.Г. Винтера – 2024 – С. 22–24.