

УДК 54.546.56+546.562+546.02+546.05+579.83+51.8+519.6

## ФУРАНКАРБОКСИЛАТНЫЕ КОМПЛЕКСЫ МЕДИ(II) С 5-НИТРО-1,10-ФЕНАНТРОЛИНОМ – ПЕРСПЕКТИВНЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИЕ АГЕНТЫ

© 2023 г. К. А. Кошенкова<sup>1</sup>, Д. Е. Баравиков<sup>1, 2</sup>, Ю. В. Нелюбина<sup>3</sup>, П. В. Примаков<sup>3</sup>, В. О. Шендер<sup>4</sup>, И. К. Мальянц<sup>4</sup>, О. Б. Беккер<sup>5</sup>, Т. М. Алиев<sup>3</sup>, Е. А. Бородин<sup>6</sup>, Д. Д. Котельников<sup>6</sup>, Н. Ю. Леусова<sup>7</sup>, С. Н. Мантров<sup>2</sup>, М. А. Кискин<sup>1</sup>, И. Л. Еременко<sup>1, 3</sup>, И. А. Луценко<sup>1, \*</sup>

<sup>1</sup>Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup>Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия

<sup>3</sup>Институт элементарной органической химии им. А.Н. Несмеянова РАН, Москва, Россия

<sup>4</sup>Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины  
Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

<sup>5</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

<sup>6</sup>Амурская государственная медицинская академия, Благовещенск, Россия

<sup>7</sup>Институт геологии и природопользования ДВО РАН, Благовещенск, Россия

\*e-mail: irinalu05@rambler.ru

Поступила в редакцию 01.03.2023 г.

После доработки 18.04.2023 г.

Принята к публикации 03.05.2023 г.

Взаимодействие ацетата меди(II) с 2-фуранкарбоновой (HFur)/5-нитро-2-фуранкарбоновой (HNfur) кислотами и 5-нитро-1,10-фенантролином (Nphen) в метаноле привело к формированию биядерных координационных соединений состава  $[\text{Cu}_2(\text{L})_4(\text{Nphen})_2] \cdot \text{X}$  (L = Fur (I), Nfur (II); X = H<sub>2</sub>O (I)), строение которых установлено прямым методом рентгеноструктурного анализа (CCDC № 2244205 (I) и 2244206 (II)). По данным РСА, координационное окружение комплексообразователей в I и II складывается из двух атомов азота фрагментов Nphen и трех атомов кислорода анионов кислот, формируя тетрагональную пирамиду  $\{\text{CuN}_2\text{O}_3\}$  с координационным числом атома меди, равным 5. В стабилизации надмолекулярных уровней I и II участвуют межмолекулярные водородные связи и стэкинг-взаимодействия между ароматическими кольцами Nphen. Характерной особенностью супрамолекулярной организации II является наличие координационной связи между катионом  $\text{Cu}^{2+}$  и кислородом группы  $\text{NO}_2^-$  лиганда Nphen параллельных цепей. Исследование биологической активности комплексов I и II в отношении цитотоксических свойств на клеточной линии аденокарциномы яичника человека (SKOV3) и микобактериального штамма *Mycolicibacterium smegmatis* показало эффективность подавления жизнедеятельности клеток. Методом математического моделирования вероятности связывания катиона  $\text{Cu}^{2+}$  с аминокислотными остатками белков *M. smegmatis* было предположено сродство комплексообразователя Cu(II) к ряду аминокислот в полипептидных сайтах. Рассчитано, что связывание ионов металла в белках микобактерии в большей степени характерно для фрагментов, содержащих гистидин и глутаминовую кислоту.

**Ключевые слова:** медь(II), координационные соединения, фуранкарбоксилаты, 5-нитро-1,10-фенантролин, кристаллическая структура, биологическая активность, *Mycolicibacterium smegmatis*, SKOV3, математическое моделирование

DOI: 10.31857/S0132344X23600212, EDN: MYGCWR

Координационные соединения металлов привлекают внимание исследователей из-за их уникальной возможности формировать структуры различного размера и ядерности, а возможность варьирования состава путем подбора лигандов позволяет получать соединения с нужными свойствами [1–3]. Для металлокомплексов характерен широкий круг практического применения – в качестве красителей и пигментов, катализаторов, молекулярных магнитов, аналитических агентов,

фунгицидов [4–7]. В последние десятилетия актуальны исследования возможностей использования комплексов металлов в медицине: как контрастное вещество в магнитно-резонансной томографии (МРТ), в радиофармпрепаратах, при лечении анемии, артрита, язвы и т.д. [8–11]. А открытие высокоэффективного противоракового агента цисплатина (CP) и последующий выход на фармацевтический рынок его аналогов стимулировало изучение комплексов различных металлов

(не только платиновой группы) и возможность их потенциального использования при лечении различных линий рака [12–17]. В настоящее время в качестве перспективных биологических агентов активно исследуются фенантролиновые комплексы с эссенциальными (жизненно необходимыми) металлами (Co, Fe, Zn, Mn, Cu и др.), поскольку многочисленные исследования показывают, что тандем 3*d*-металлов с фенантролиновыми фрагментами обладают антибактериальными, противоопухолевыми, противопаразитарными и другими свойствами благодаря способности лиганда взаимодействовать (интеркалировать) с молекулами ДНК [18–26]. Например, известная группа антиканцерогенных препаратов под торговым названием Casioreinas® на основе меди(II) с производными 2,2'-бипиридина и 1,10-фенантролина находится на заключительных стадиях клинических испытаний в Мексике [27–29].

В представляемой работе в качестве комплексобразователя была выбрана медь, являющаяся незаменимым элементом для живых организмов — выполняет ряд жизненно важных окислительно-восстановительных функций (например, транспорт электронов дыхательной цепи, окислительное фосфорилирование и удаление супероксидных радикалов и др.) [30–33]. Ранее [34–41] проведенные нами исследования антибактериальной и противораковой активности фураотных комплексов Fe(III), Co(II), Ni(II), Cu(II) и Zn(II) и др. с различными N-донорными лигандами в отношении непатогенного микобактериального штамма *Mycobacterium smegmatis* и клеточного штамма — клеточной линии аденокарциномы рака яичников (*SKOV3*) — позволили установить, что наибольшую активность проявляют соединения Cu(II) и Au(III), содержащие в своем составе фенантролиновый фрагмент (подтверждение данного факта также встречается в публикациях [42, 43]). В связи с этим в представляемой работе приведены методики синтеза комплексов меди(II) с анионами 2-фуранкарбоновой (**HFur**) и 5-нитро-2-фуранкарбоновой (**HNfur**) кислот и 5-нитро-1,10-фенантролином (**Nphen**) —  $[\text{Cu}_2(\text{Fur})_4(\text{Nphen})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$  (I) и  $[\text{Cu}_2(\text{Nfur})_4(\text{Nphen})_2]$  (II). Структуры полученных соединений установлены методом РСА, стабильность комплексов при растворении в физиологическом растворе фиксировалась электронными спектрами поглощения (ЭСП), а биологическая активность *in vitro* определена в отношении клеток *SKOV3* и модельного непатогенного штамма *M. smegmatis*. Для определения сродства катиона  $\text{Cu}^{2+}$  к ряду белков *M. smegmatis* был проведен межмолекулярный докинг с выделением потенциальных фрагментов аминокислотных остатков в полипептидных последовательностях.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Синтез комплексов проводили на воздухе с использованием дистиллированной воды и растворителей без дополнительной очистки: метанол (х. ч., “Химмед”), ацетонитрил (х. ч., “Химмед”). Для синтеза использовали коммерчески доступные реактивы: моногидрат ацетата меди(II) (95%, “Acros”), 2-фуранкарбоновая кислота (98%, “Acros”), 5-нитро-2-фуранкарбоновая кислота (99%, “Aldrich”), 5-нитро-1,10-фенантролин (99%, “Fluorochem”).

Элементный анализ выполняли на автоматическом C,H,N-анализаторе Carlo Erba EA 1108. ИК-спектры соединений регистрировали на ИК-спектрофотометре с Фурье преобразованием Perkin-Elmer Spectrum 65 методом нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) в интервале частот 400–4000  $\text{cm}^{-1}$ .

ЭСП в УФ-видимой области снимали на спектрофотометре Shimadzu UV-2600 в 0.9%-ных растворах NaCl SoloPharm в диапазоне 220–400 нм. Стабильность комплексов I и II в растворе контролировали путем измерения спектров образца (50 мм) при комнатной температуре каждые 6 ч в течение 36 и 48 ч соответственно.

Биологическую активность I и II определяли в тест-системе *Mycobacterium smegmatis*  $\text{mc}^2$  155 диско-диффузионным методом с помощью бумажных дисков. Фиксировали величину зоны подавления роста штамма, засеянного газоном на агаризованной среде, вокруг бумажных дисков, содержащих вещество в различных концентрациях. Бактерии, смытые с чашек Петри со средой Триптон-соевый агар M-290 (Himedia), выращивали в течение ночи в жидкой среде Lemco-TW (Lab Lemco Powder 5  $\text{g l}^{-1}$  (Oxoid), Peptone special 5  $\text{g l}^{-1}$  (Oxoid), NaCl 5  $\text{g l}^{-1}$ , Tween-80) при 37°C до среднелогарифмической фазы роста при оптической плотности OD600, равной 1.5, смешивали с расплавленной агаризованной средой M-290 в соотношении 1 : 9 : 10 (культура : Lemco-TW : M-290). Культуру инкубировали в течение 24 ч при 37°C. Минимальной ингибирующей концентрацией (МИК) считали концентрацию вещества, при которой зона подавления роста минимальна. Исследуемые соединения наносили на диски в разных концентрациях и регистрировали диаметр зоны (halo) ингибирования роста культуры.

Цитотоксический эффект различных концентраций I и II на клетках *SKOV3* и первичной культуре дермальных фибробластов человека (*HDF*) измеряли с помощью МТТ-теста. Данный тест основан на измерении активности митохондриального фермента сукцинатдегидрогеназы и широко используется для оценки противораковой активности потенциальных препаратов *in vitro*. По данным МТТ-теста была вычислена доза по-

лумаксимального ингибирования ( $IC_{50}$ ) для обоих веществ. Клетки *SKOV3* получены из коллекции АТСС, первичная культура *HDF* получена от здорового донора. Клетки *SKOV3* и *HDF* культивировали в среде DMEM (10% FBS, 2 mM глутамин, 1% гентамицин). Культивирование клеток осуществляли в пластиковых флаконах в стерильных условиях, клетки инкубировали при 37°C в условиях 5% CO<sub>2</sub>. Стоковые растворы (50 мкМ) соединений I и II готовили в ДМСО, при добавлении к клеткам их разбавляли до необходимых концентраций в культуральной среде *SKOV3* и *HDF* и засеивали в 96-луночные планшеты в количестве  $4 \times 10^3$  и  $3.5 \times 10^3$  клеток на лунку соответственно. Клеткам давали прикрепиться в течение не менее 14 ч, после чего методом раститровки добавляли различные концентрации тестируемых соединений или ДМСО (в качестве контроля) в трех повторах. Конечный объем среды в лунках составлял 100 мкл. Через 48 ч с момента добавления препаратов жизнеспособность клеток измеряли с помощью реагента МТТ (Sigma). В лунки с клетками (к 100 мкл среды) добавляли по 10 мкл рабочего раствора МТТ (7 мг/мл), инкубировали в течение 3 ч, после чего среду заменяли на раствор ДМСО. С помощью планшетного спектрофотометра (TECAN Infinite M Plex) определяли оптическую плотность каждой лунки при 570 нм с последующим вычитанием фонового поглощения. Значение концентрации, вызывающее 50%-ное ингибирование роста популяции клеток ( $IC_{50}$ ), определяли на основе дозозависимых кривых.

**Синтез [Cu<sub>2</sub>(Fur)<sub>4</sub>(Nphen)<sub>2</sub>] · H<sub>2</sub>O (I).** Навески Cu(OAc)<sub>2</sub> · H<sub>2</sub>O (0.200 г, 1 ммоль), HFur (0.224 г, 2 ммоль) растворяли в 20 мл MeCN. К полученной суспензии добавляли Nphen (0.225 г, 1 ммоль), растворенный в 10 мл MeOH. Реакционную смесь выдерживали при 70°C в течение 3 ч. Полученный синий раствор отфильтровывали, концентрировали до объема 20 мл и выдерживали маточный раствор при комнатной температуре. Через несколько дней образовывались кристаллы синего цвета, которые отделяли от маточного раствора декантацией, промывали MeCN и сушили на воздухе. Выход I 0.42 г (81%).

Найдено, %: C 50.84; H 2.72; N 8.12.

Для C<sub>44</sub>H<sub>28</sub>N<sub>6</sub>O<sub>17</sub>Cu<sub>2</sub> (I)

вычислено, %: C 50.82; H 2.71; N 8.08.

ИК (НПВО; ν, см<sup>-1</sup>): 3096 уш. сл, 2972 о.сл, 2293 о. сл, 2255 сл, 1803 о. сл, 1598 о.с, 1554 с, 1515 о. с, 1478 о.с, 1401 с, 1347 о.с, 1220 ср, 1186 с, 1142 ср, 1075 ср, 1009 с, 930 ср, 902 ср, 880 ср, 832 с, 806 о.с, 776 о.с, 720 с, 654 ср, 614 с, 559 ср, 516 ср, 469 с, 429 ср.

**Синтез [Cu<sub>2</sub>(Nfur)<sub>4</sub>(Nphen)<sub>2</sub>] (II).** Навески Cu(OAc)<sub>2</sub> · H<sub>2</sub>O (0.200 г, 1 ммоль), HNfur (0.314 г, 2 ммоль) растворяли в 20 мл MeOH. К полученной суспензии добавляли Nphen (0.225 г, 1 ммоль), растворенный в 10 мл MeOH, и выдерживали реакционную смесь при 55°C в течение 3 ч. Полученный синий раствор отфильтровывали в шленк, концентрировали до объема 20 мл и выдерживали маточный раствор при комнатной температуре. Через несколько дней образовывались кристаллы бирюзового цвета, которые отделяли от маточного раствора декантацией, промывали MeCN и сушили на воздухе. Выход II 0.48 г (79%).

Найдено, %: C 44.01; H 1.89; N 11.59.

Для C<sub>44</sub>H<sub>22</sub>N<sub>10</sub>O<sub>24</sub>Cu<sub>2</sub> (II)

вычислено, %: C 43.97; H 1.85; N 11.66.

ИК (НПВО; ν, см<sup>-1</sup>): 3664 уш.сл, 3119 сл, 3086 уш. сл, 2980 уш. сл, 2903 уш. сл, 1638 с, 1575 ср, 1522 с, 1422 ср, 1393 ср, 1318 о.с, 1239 ср, 1152 ср, 1118 ср, 1064 ср, 1013 ср, 960 ср, 947 ср, 905 ср, 829 с, 809 с, 782 о.с, 723 с, 646 ср, 605 ср, 546 ср, 516 ср, 480 ср, 429 ср.

РСА комплексов I и II проведен при 100 К на дифрактометре Bruker Apex II DUO (CCD-детектор, MoK<sub>α</sub>-излучение, λ = 0.71073 Å, графитовый монохроматор). Структуры расшифрованы с использованием программы ShelXT [44] и уточнены в полноматричном МНК с помощью программы Olex2 [45] в анизотропном приближении для неводородных атомов. Атомы водорода молекулы воды локализованы из разностных Фурье-синтезов, а положения остальных атомов водорода рассчитаны геометрически. Все они уточнены в изотропном приближении в модели “наездника”. Диффузный вклад разупорядоченных молекул растворителя описан с помощью опции Bypass (a.k.a. squeeze) пакета программ [44]. Основные кристаллографические данные и параметры уточнения приведены в табл. 1.

Полный набор рентгеноструктурных параметров депонирован в Кембриджском банке структурных данных (CCDC № 2244205 (I) и 2244206 (II); deposit@ccdc.cam.uk).

Математическое моделирование вероятности связывания катиона Cu<sup>2+</sup> с аминокислотными остатками белков *M. smegmatis* проводили методом жесткого межмолекулярного докинга с использованием веб-сервера MIB2 [46], включающего разнообразные способы вычисления сходства катиона к аминокислотам. Структуры белков брали из открытой базы данных белков UniProtKB. Анализ результатов докинга проводили при помощи молекулярного визуализатора PyMol (The PyMOL Molecular Graphics System, Version 2.5.4 Schrödinger, LLC). Отбор стыкованных кон-

Таблица 1. Кристаллографические параметры и детали уточнения структур I и II

Параметр	Значение	
	I	II
Брутто-формула	$C_{44}H_{28}N_6O_{17}Cu_2$	$C_{44}H_{22}N_{10}O_{24}Cu_2$
<i>M</i>	1039.80	1201.79
<i>T</i> , К	100	
Сингония	Моноклинная	Триклинная
Пр. группа	$P2_1/c$	$P\bar{1}$
Размер кристалла, мм; цвет	0.3 × 0.2 × 0.1; голубой	0.2 × 0.1 × 0.1; бирюзовый
<i>a</i> , Å	12.6015(2)	8.8569(4)
<i>b</i> , Å	17.7797(2)	10.6206(5)
<i>c</i> , Å	9.71830(10)	12.9265(6)
$\alpha$ , град	90	74.247(2)
$\beta$ , град	108.3560(10)	84.403(2)
$\gamma$ , град	90	76.162(2)
<i>V</i> , Å <sup>3</sup>	2066.60(5)	1135.61(9)
<i>Z</i>	2	2
$\rho$ (выч.), г/см <sup>3</sup>	1.671	1.757
$\mu$ , мм <sup>-1</sup>	1.118	1.044
<i>F</i> (000)	1056	606
Область сбора данных по $\theta$ , град	2.05–26.00	2.043–25.494
<i>R</i> <sub>int</sub>	0.0333	0.0340
Число измеренных отражений	21 234	11 100
Число независимых отражений	4049	4219
Число отражений с $I > 2\sigma(I)$	3609	3887
Количество уточненных переменных	361	381
GOOF	1.017	1.087
<i>R</i> -факторы по $F^2 > 2\sigma(F^2)$	$R_1 = 0.0256, wR_2 = 0.0646$	$R_1 = 0.0500, wR_2 = 0.1347$
<i>R</i> -факторы по всем отражениям	$R_1 = 0.0304, wR_2 = 0.0666$	$R_1 = 0.0532, wR_2 = 0.1377$
Остаточная электронная плотность (max/min), е/Å <sup>3</sup>	0.432/–0.310	1.794/–0.707

формеров осуществляли по следующим параметрам: аминокислотных остатков (>2, связывающихся с ионом); связей (>2; связь должна удовлетворять параметрам ковалентной/ионной/координационной); ранг (рейтинг в перечне получившихся комплексов для каждого из белка, ранжированный от большего значения оценочной функции к меньшему) и оценку (score) комплекса (>2; наивысшие при выполнении предыдущих условий). Отметим, что в данной работе ввиду отсутствия информации от авторов MIB2 о четкой методике интерпретации оценки получившихся комплексов, их абсолютное значение не учитывалось в сравне-

нии между комплексами и интерпретировалось с качественной точки зрения: возможности или невозможности связывания. Данное условие было принято во избежание неправильной интерпретации полученных результатов докинга и минимизации допущения ошибки I рода, так как работа алгоритма MIB2 основана на предсказательной модели и является вероятностной. Валидацию стыкованных комплексов, а также параметров связей проводили в PyMol с помощью плагина Show Contacts, показывающего возможные связи Cu<sup>2+</sup> с атомами N и O в составе аминокислот ион-связывающих сайтов.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Синтез заключался в ионообменной реакции ацетата меди(II) с фуранкарбоновой кислотой в

ацетонитриле (I)/метаноле (II) с последующим добавлением Nphen, растворенного в метаноле (схема 1).

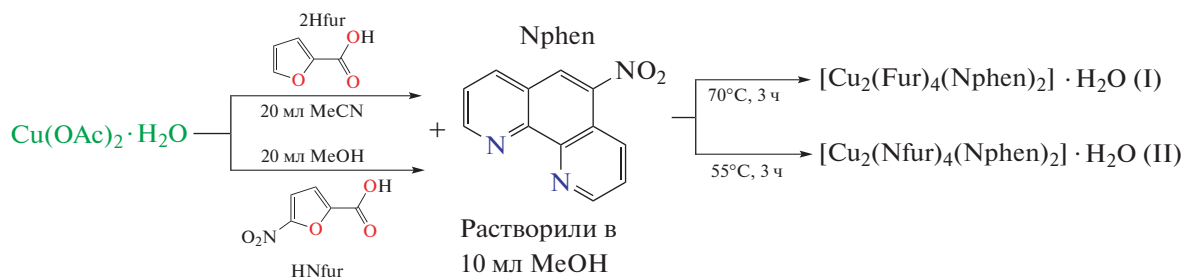


Схема 1.

На первой стадии образовывалась зеленая суспензия, дальнейшее добавление к которой Nphen приводило к образованию синего прозрачного раствора, который выдерживали еще в течение 3 ч и затем отфильтровывали. В результате медленного испарения маточного раствора были получены кристаллы, пригодные для рентгеноструктурного анализа.

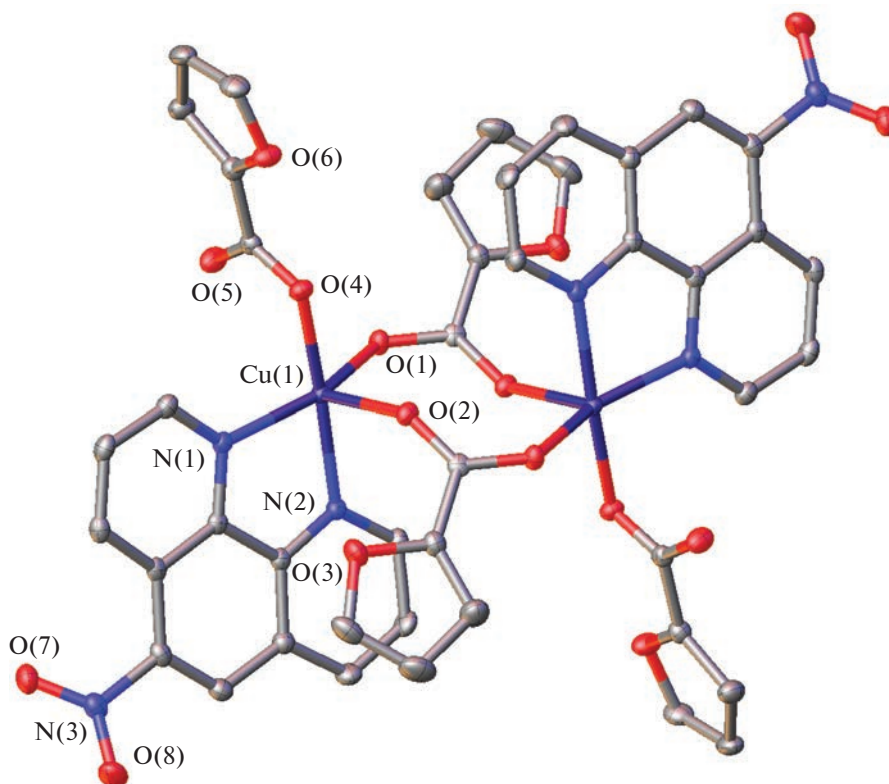
Соединение I, которое представляет собой молекулярный биядерный комплекс меди(II), кристаллизуется в пространственной группе  $P2_1/c$  моноклинной сингонии с одной молекулой воды, приходящейся на одну формульную единицу комплекса (табл. 1). Комплекс в кристалле занимает частное положение — центр инверсии, совпадающий с центром восьмичленного металлоцикла (рис. 1). Координационное окружение иона металла-комплексобразователя формируется двумя атомами азота лиганда Nphen и тремя атомами кислорода трех анионов Fur<sup>−</sup> и имеет форму искаженной тетрагональной пирамиды, КЧ(Cu) 5 (рис. 1; основные длины связей представлены в табл. 2). Два из трех анионов Fur<sup>−</sup> выполняют роль мостиковых лигандов, связывающих атомы меди(II) между собой, а третий образует водородную связь с сольватной молекулой воды (O...O 2.799(4) и 2.939(4) Å, ОНО 168(8)° и 170(5)°; табл. 3). За счет таких водородных связей молекулы I в кристалле формируют водородно-связанные цепи вдоль диагонали кристаллографической плоскости  $a0c$ , которые, в свою очередь, объединяются в слои за счет стэкинг-взаимодействий между параллельными фенантролиновыми кольцами (расстояние между центроидами 3.4215(10) Å, величина смещения 1.3313(14) Å) (рис. 2, табл. 3).

Комплекс II, кристаллизующийся в пространственной группе  $P\bar{1}$  триклинной сингонии (табл. 1), имеет структуру, аналогичную таковой для I (рис. 3, табл. 2). Ввиду отсутствия сольватных молекул воды основной супрамолекулярной единицей яв-

ляются бесконечные цепи (рис. 4), образованные стэкинг-взаимодействиями между параллельными ароматическими кольцами молекул Nphen (расстояние между центроидами 3.558(2) Å, величина смещения 1.347(3) Å) соседних молекул комплекса. Они дополнительно стабилизированы слабой координационной связью (3.090(7) Å) между катионом Cu<sup>2+</sup> и атомом кислорода одной из компонент разупорядоченной нитрогруппы Nphen-лиганда (рис. 4, табл. 2). Таким образом, в отличие от I, в котором комплексобразователь характеризуется КЧ 5, в II КЧ(Cu) составляет (5 + 1).

ЭСР I и II ( $2.5 \times 10^5$  М) были получены в физиологическом растворе (0.9% NaCl) в течение 48 ч при комнатной температуре (рис. 5). Оба соединения демонстрируют высокие скорости поглощения в области высоких энергий, полосы поглощения при длине волны около 275 нм соответствуют внутрелигандным переходам в молекуле Nphen, а полосы поглощения низкой интенсивности, лежащие в области 300–350 нм, связаны с переносом заряда металл–лиганд [47, 48]. Также следует отметить, исходя из спектров поглощения, солевой раствор I является высоко стабильным с течением времени, тогда как в растворе II отмечается небольшая деградация, связанная с гидролитическими процессами, происходящими в комплексе с течением времени. При этом важно отметить, что скорость гидролиза наиболее интенсивно протекает в первые 6 ч после растворения соединения, тогда как в оставшиеся 32 ч система находится в относительном равновесии.

Антибактериальная активность соединений I и II была определена в отношении непатогенного штамма *M. smegmatis*, который является модельным для вирулентного возбудителя туберкулеза *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ, палочка Коха). Известно, что устойчивость микобактерий к химиотерапевтическим агентам связана с низкой проницаемостью микобактериальной клеточной стенки, с ее необычной структурой. *M. smegmatis*



**Рис. 1.** Общий вид комплекса I. Здесь и далее атомы водорода (за исключением принадлежащих молекулам воды) не показаны, неводородные атомы представлены в виде эллипсоидов тепловых колебаний ( $p = 50\%$ ), а нумерация приведена только для гетероатомов независимой части элементарной ячейки.

являются быстрорастущими непатогенными микобактериями и используется в качестве модельных организмов для медленно растущих бактерий *M. tuberculosis*, а также для первичного скрининга противотуберкулезных препаратов [49]. Тест-система *M. smegmatis* проявляет более высокую степень устойчивости к антибиотикам и противотуберкулезным агентам, чем МБТ, поэтому критерием отбора является концентрация вещества  $< 100$  мкмоль/диск [50]. Все полученные результаты биоактивности *in vitro* исследованных соединений соотносились с активностью для изониазида (INH) и рифампицина (Rif) в данных условиях эксперимента. Вещества наносили на диски в разных концентрациях.

Результаты антибактериальной активности в тестовой системе *M. smegmatis* mc<sup>2</sup> 155 и ее изменение с течением времени для соединений I и II приведены в табл. 4. Полученные комплексы с Nphen обладают высокой активностью, в частности II проявляет такую же эффективность, как ранее полученный высокоактивный [Cu(Fur)<sub>2</sub>Phen] [34] — она сопоставима с активностью рифампицина. Активности свободных лигандов в несколько раз ниже активностей I и II. Следует отметить,

что результаты анализа области “halo” II позволили установить характер воздействия соединения на бактериальную культуру — прозрачная зона вокруг диска свидетельствует о бактерицидном действии комплекса — зона ингибирования роста бактерий не зарастает через 120 ч. В отличие от II, I проявляет бактериостатический эффект (зона ингибирования с течением времени зарастает). Таким образом, полученные комплексы I и II являются одними из наиболее активных и перспективных среди изученных соединений цинка, кобальта(II), меди(II) и никеля(II) по отношению к *M. smegmatis* [33–40].

Поиск возможных путей воздействия катионов меди(II) на белковые молекулы микобактериального штамма *M. smegmatis* и локализации эффектов в полипептидной цепи был осуществлен с использованием математического моделирования методом жесткого межмолекулярного докинга. На рис. 6 представлен пример типичной конформации белка с Cu<sup>2+</sup>. Структура белкового комплекса показывает потенциальное связывание N гистидина (His) и аргинина (Arg) — формируются координационные связи 2.3–3.0 Å, а также между комплексообразователем и O аспарагина (Asp) — 2.9 Å.

**Таблица 2.** Основные длины связей ( $d$ ) и валентные углы ( $\omega$ ) в структурах I и II\*

Связь	$d, \text{Å}$	Связь	$d, \text{Å}$
I		II	
Cu(1)–O(4)	1.9313(12)	Cu(1)–O(1)	1.928(2)
Cu(1)–O(2) <sup>1#</sup>	2.1985(12)	Cu(1)–O(4)	1.937(2)
Cu(1)–O(1)	1.9417(13)	Cu(1)–O(2) <sup>2#</sup>	2.358(2)
Cu(1)–N(1)	2.0331(15)	Cu(1)–N(1)	2.014(3)
Cu(1)–N(2)	2.0192(15)	Cu(1)–N(2)	2.0149(3)
Cu(1)...Cu(1) <sup>1#</sup>	4.5653(4)	Cu(1)...O(11') <sup>2#</sup>	3.090(7)
		Cu(1)...Cu(1) <sup>1</sup>	4.3003(9)
Угол	$\omega$ , град	Угол	$\omega$ , град
N(1)Cu(1)N(2)	81.18(6)	N(1)Cu(1)N(2)	81.08(12)
N(1)Cu(1)O(1)	155.14(6)	N(1)Cu(1)O(1)	165.45(11)
N(1)Cu(1)O(2) <sup>1#</sup>	98.62(5)	N(1)Cu(1)O(2) <sup>2#</sup>	88.85(10)
N(1)Cu(1)O(4)	92.60(6)	N(1)Cu(1)O(4)	91.24(11)
N(2)Cu(1)O(1)	98.9(6)	N(2)Cu(1)O(1)	87.90(11)
N(2)Cu(1)O(2) <sup>1#</sup>	88.62(5)	N(2)Cu(1)O(2) <sup>2#</sup>	93.54(10)
N(2)Cu(1)O(4)	171.72(6)	N(2)Cu(1)O(4)	172.31(11)

\* Коды симметрии: <sup>1#</sup>  $-x, 1-y, -z$ ; <sup>2#</sup>  $1-x, -y, 1-z$ .

**Таблица 3.** Геометрические параметры водородных связей в структуре I

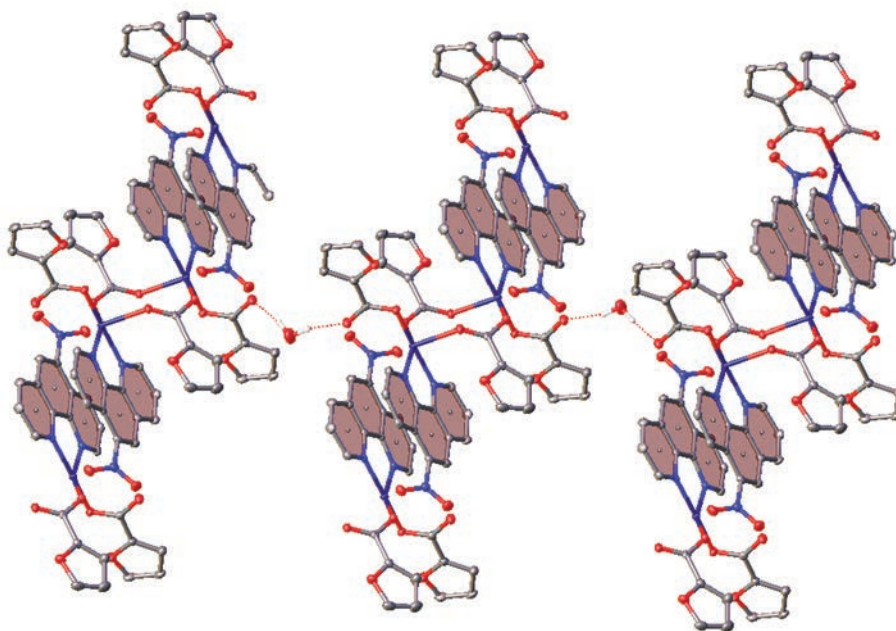
D–H...A	Расстояние, Å			Угол DHA, град
	D–H	H...A	D–A	
O(9)–H(9)...O(5)	0.86(6)	1.95(6)	2.799(4)	168(8)
O(9)–H(9)...O(5)	0.91(6)	2.04(6)	2.939(4)	170(5)

Результаты докинга для ряда белков *M. smegmatis* представлены в табл. 5. Эти данные показывают, что наиболее часто встречающимися аминокислотами в полипептидных сайтах белка, способными образовывать координационное связывание оказываются гистидин (**H** – 7 из общего количества связей для всех белков), глутаминовая кислота (**E** – 5 раз) и цистеин (**C** – 2); единичное связывание наблюдается для аргинина (**R**), глутамина (**Q**), серина (**S**), треонина (**T**) и аспарагиновой кислоты (**D**). Анализ результатов потенциального связывания катиона  $\text{Cu}^{2+}$  с аминокислотами выявил формирование координационных связей разной

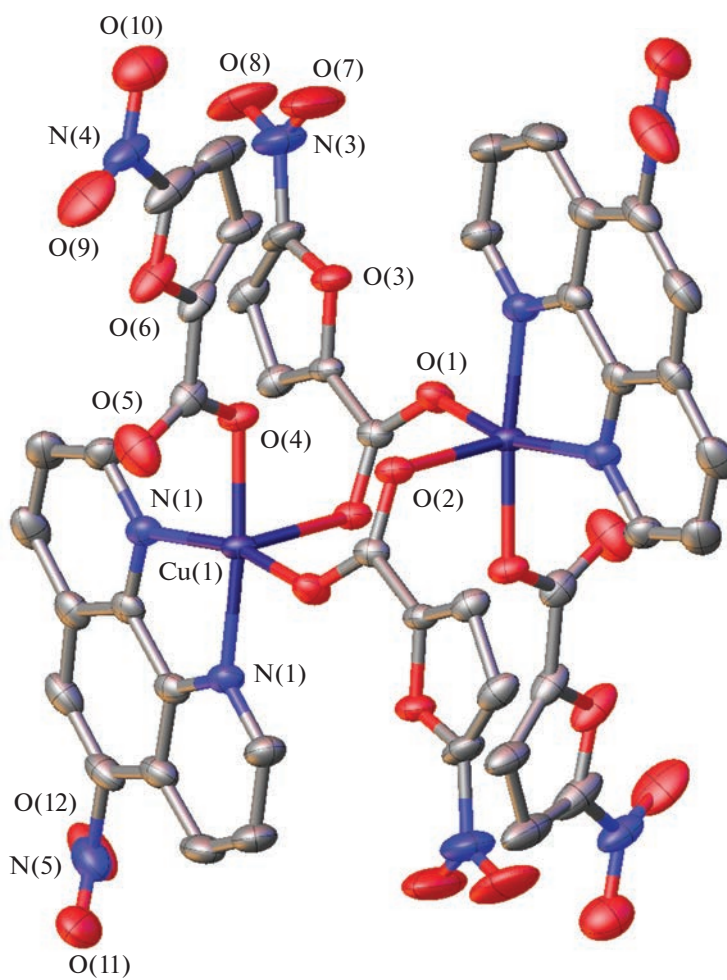
эффективности (2.3–3.7 Å), что подтверждает адекватность выбранной методики валидации результатов. Кроме этого, остатки Cys17 и Cys20 для белка MSMEG\_5014, а также остатки His68 и Cys72 для белка MSMEG\_0230 являются аннотированными ион-связывающими сайтами согласно базе данных NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/ABK71068.1>, MSMEG\_5014 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/ABK69823.1>, MSMEG\_0230).

Цитотоксичность комплексов I и II была определена в отношении клеток *SKOV3* и *HDF* в качестве контроля нормальных неопухолевых клеток. На основе данных МТТ-теста была вычислена



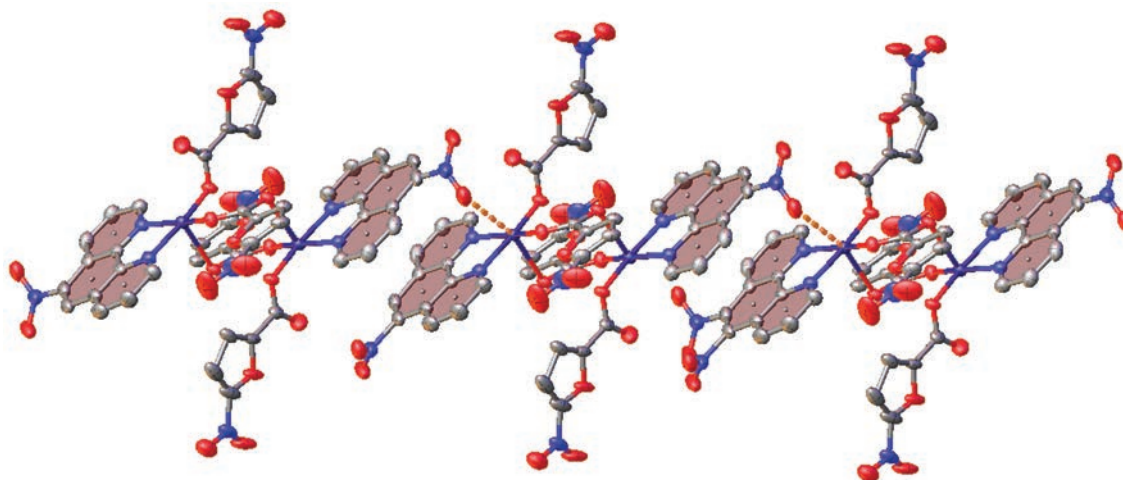


**Рис. 2.** Фрагмент кристаллической упаковки I. Пунктирными линиями обозначены водородные связи O—H...O, плоскости ароматических колец, участвующих в образовании межмолекулярных стэкинг-взаимодействий, выделены темным цветом.

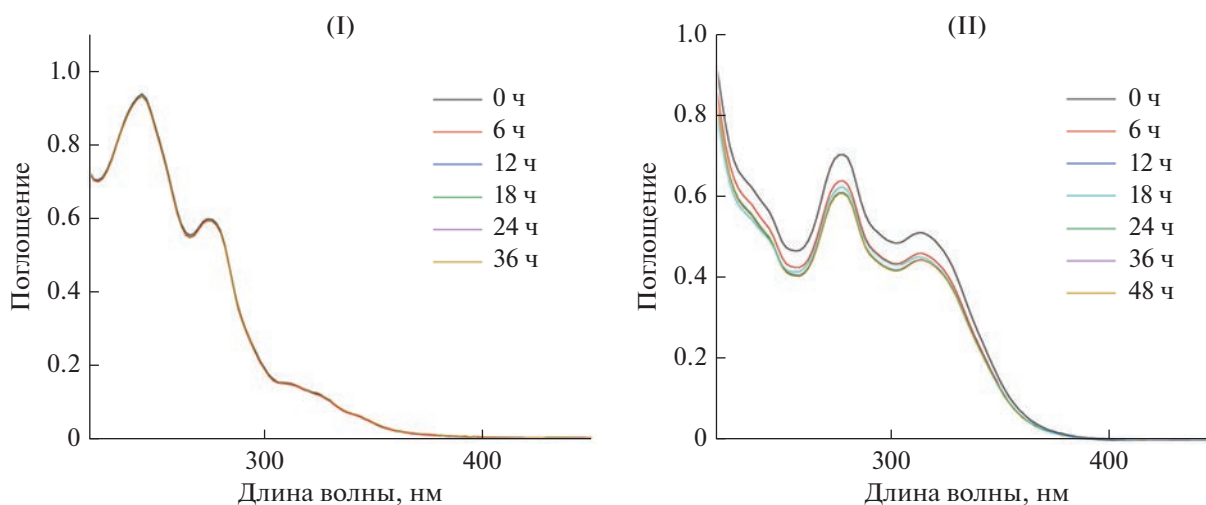


**Рис. 3.** Общий вид комплекса II. Минорные компоненты разупорядоченных нитрогрупп не показаны.





**Рис. 4.** Фрагмент кристаллической упаковки II. Пунктирными линиями обозначены дополнительные координационные связи Cu...O, плоскости ароматических колец, участвующих в образовании межмолекулярных стэкинг-взаимодействий, выделены темным цветом.



**Рис. 5.** УФ-видимые спектры I и II в физиологическом растворе (0.9% NaCl) при 25°C.

доза  $IC_{50}$  для каждого вещества. Перспективными считаются препараты, которые вызывают гибель опухолевых клеток при минимальных концентрациях, при этом в меньшей степени нарушая жизнеспособность нормальных клеток. Обсуждаемые комплексы в  $\sim 2$  раза оказались более токсичными для клеток аденокарциномы яичника, чем для здоровых фибробластов (рис. 7, 8; табл. 6). При сравнении с цисплатином показано, что комплексы более чем в 2 раза эффективнее по отношению к опухолевым клеткам, однако токсичнее по отношению к здоровым фибробластам (индекс селективности (SI)  $\sim 2$ ). При сравнении с ранее полу-

ченным медным комплексом  $[Cu_2(Fur)_4(MeCN)_2]$  [34] можно отметить, что введение Nphen привело к увеличению цитотоксической активности более чем в 30 раз по отношению к раковым клеткам и в  $\sim 9$  раз в сравнении с комплексом золота(III),  $(H_2Phen)[AuCl_4]Cl$  [41]. Таким образом, с учетом дальнейшего изучения токсичности и подбора соответствующих доз комплексы могут рассматриваться в качестве потенциальных противоопухолевых агентов.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

**Таблица 4.** Результаты антибактериальной активности *in vitro* комплексов I и II в отношении *Mycobacterium smegmatis*

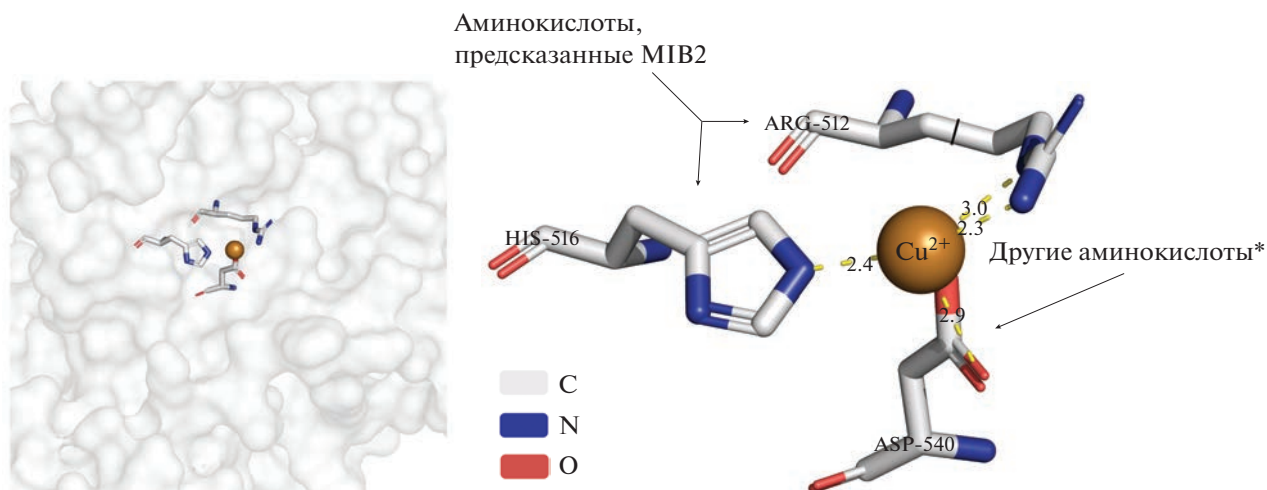
Соединение	МИК, нмоль/диск		Зона ингибирования, мм		Литература
	24 ч	24 ч	24 ч	120 ч	
I	10		7.0 ± 0.5	6.4 ± 0.17**	Настоящая работа
II	5		6.5 ± 0.5	6.47 ± 0.17	Настоящая работа
[Cu(Fur) <sub>2</sub> (Phen)]	5		7.0 ± 0.5	7.0 ± 0.5	[29]
[Cu <sub>2</sub> (Fur) <sub>4</sub> (Py) <sub>2</sub> ]	200		7.0 ± 0.5	7.0 ± 0.5**	[29]
[Cu(Fur) <sub>2</sub> (Py) <sub>2</sub> (H <sub>2</sub> O)]	400		7.0 ± 0.5	7.0 ± 0.5**	[29]
[Cu(Fur) <sub>2</sub> (Phpy) <sub>2</sub> (H <sub>2</sub> O)] · Phpy	250		7.0 ± 0.5	7.0 ± 0.5**	[33]
[Cu(Fur) <sub>2</sub> (NH <sub>2</sub> -Py) <sub>2</sub> ]	1000		7.0 ± 0.5	7.0 ± 0.5**	[33]
[Cu <sub>2</sub> (Fur) <sub>4</sub> (MeCN) <sub>2</sub> ]	187		7.0	7.0**	[34]
[Cu(Fur) <sub>2</sub> (Bipy)(H <sub>2</sub> O)]	100		7.0 ± 0.5	7.0 ± 0.5*	[30]
[Cu(Fur) <sub>2</sub> Neoc(H <sub>2</sub> O)]	25		6.7 ± 0.3	6.6 ± 0.1	[35]
[Cu(Nfur) <sub>2</sub> (H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ] · 2H <sub>2</sub> O	1000		6.7 ± 0.1	6.4 ± 0.1**	[36]
[Cu(Nfur) <sub>2</sub> (Py) <sub>2</sub> (H <sub>2</sub> O)]	800		6.8 ± 0.3	6.6 ± 0**	[36]
[Cu <sub>2</sub> (Nfur) <sub>4</sub> (Bipy) <sub>2</sub> ] · H <sub>2</sub> O	20		7.0 ± 0.0	6.9 ± 0.1**	[36]
[Co <sub>3</sub> (Fur) <sub>6</sub> (Phen) <sub>2</sub> ]	50		7.0 ± 0.5	7.0 ± 0.5	[31]
[Ni(Fur) <sub>2</sub> (Phen)(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> ] · H <sub>2</sub> O	484		6.7 ± 0.3	6.7 ± 0.3**	[32]
[Zn(Fur) <sub>2</sub> Neoc]	101		7.1 ± 0.3	6.5 ± 0.5**	[35]
2HFur	1000		6.5		
HNfur	>1000				
Nphen	25		6.2 ± 0.2		
1,10-Phen	45		7.5 ± 0.5		
Neoc*	100		6.46 ± 0.06		
Bipy*	500				
INH	100		7 ± 0.5*	6.5 ± 0.5**	
Rif	5		7.2 ± 0.3	7.0 ± 0.0	

\* Неос – 2,9-диметил-1,10-фенантролин (неокупроин) и Вир – 2,2'-бипиридин.  
 \*\* Зона ингибирования роста культуры бактерий, изначально возникшая после нескольких часов роста, начинает зарастать по всей поверхности зоны.

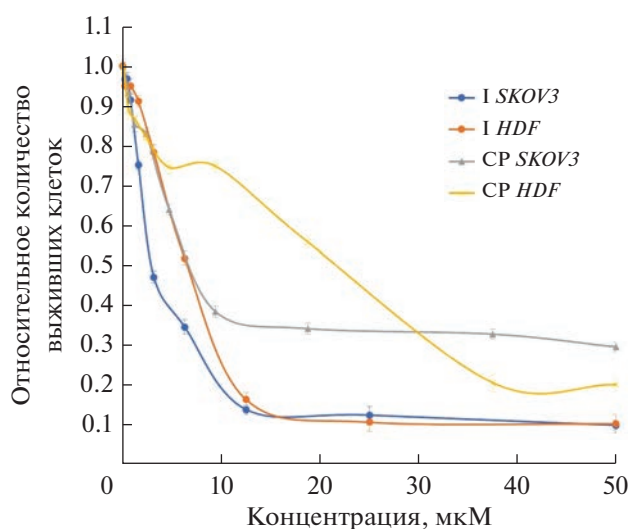
**Таблица 5.** Результаты математического моделирования MIB2

<i>M. smegmatis</i> (locus tag)	Cu <sup>2+</sup>					
	ранг	оценка	аминокислоты ион-связывающего сайта	другие аминокислоты*	количество связей	длины связей, Å
MSMEG_5636	2	8.353	512R, 516H	540D	4	~2.3–3.0
MSMEG_0017	1	5.348	39Q, 42E	38H	3	~3.1–3.6
MSMEG_5014	4	4.730	17C, 20C (аннотированы)	16T, 20S	5	~3.2–3.6
MSMEG_6383	1	3.019	89H, 91H	34H, 82E, 102D	5	~2.6–3.7
MSMEG_0230	4	2.162	68H, 72C (аннотированны)		1	~3.3
MSMEG_5836	4	2.491	71H, 75E, 161E		3	~2.2–2.6

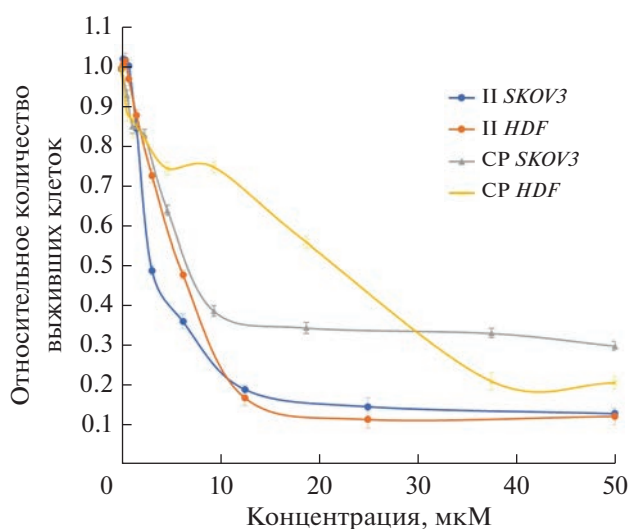
\* Параметр, определенный при помощи Show Contacts *via* PyMol.



**Рис. 6.** Комплекс белка MSMEG\_5636 с  $\text{Cu}^{2+}$ : план комплекса с полостью для катиона в структуре белка (а); изолированная структура ион-связывающего сайта и  $\text{Cu}^{2+}$  с указанием остатков аминокислот и координационных связей (пунктиров, обозначенных желтым цветом) (б); \* – аминокислоты, потенциально участвующие в связывании катиона (см. табл. 5).



**Рис. 7.** Выживаемость клеток *SKOV3* и *HDF*, инкубированных с различными концентрациями I или ДМСО в качестве контроля по сравнению с цисплатином. Представлено среднее значение МТТ-индекса  $\pm$  стандартное отклонение, рассчитанное по данным 3 измерений.



**Рис. 8.** Выживаемость клеток *SKOV3* и *HDF*, инкубированных с различными концентрациями II или ДМСО в качестве контроля по сравнению с цисплатином. Представлено среднее значение МТТ-индекса  $\pm$  стандартное отклонение, рассчитанное по данным 3 измерений.

**Таблица 6.** Результаты цитотоксической активности *in vitro* комплексов I и II в отношении *SKOV3* и *HDF*

Соединение	$\text{IC}_{50}$ <i>SKOV3</i> , мкМ	$\text{IC}_{50}$ <i>HDF</i> , мкМ	SI	Литература
I	2.9	6.5	2.3	Настоящая работа
II	3.0	6.0	2.0	Настоящая работа
$[\text{Cu}_2(\text{Fur})_4(\text{MeCN})_2]$	>100	55	<0.55	[34]
$(\text{H}_2\text{Phen})[\text{AuCl}_4]\text{Cl}$	27.0	>150	5.6	[37]
CP	6.5	22.0	3.4	Настоящая работа

БЛАГОДАРНОСТИ

Рентгенодифракционные исследования проведены с использованием научного оборудования Центра исследования строения молекул ИНЭОС РАН при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (госзадание № 075-03-2023-642). Элементный анализ и ИК-спектроскопия выполнены с использованием оборудования ЦКП ФМИ ИОНХ РАН.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 22-13-00175).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Thompson K., Orvig C.* // Dalton Trans. 2006. V. 6. P. 761.
2. *Allardyce C., Dyson P.* // Dalton Trans. 2016. V. 45. P. 3201.
3. *Storr T., Thompson K.H., Orvig C.* // Chem. Soc. Rev. 2006. V. 35. P. 534.
4. *Gregory P.* Comprehensive Coordination Chemistry II: From Biology to Nanotechnology, Oxford: Elsevier, 2005. V. 9. 1062 p.
5. *Jalal M., Hammouti B., Touzani R. et al.* // Mater. Today: Proceedings. 2020. V. 31. P. 122.
6. *Hamza A., Al-Sibaai A.A., Alwael H. et al.* // Results Chem. 2022. V. 4. P. 100422.
7. *Li J., Ren G., Zhang Y. et al.* // Polyhedron. 2019. V. 157. P. 163.
8. *Barry N., Sadler P.* // Chem. Commun. 2013. V. 49. P. 5106.
9. *Chan W., Wong W.* // Polyhedron. 2014. V. 83. P. 150.
10. *Medici S., Peana M., Nurchi V. et al.* // Coord. Chem. Rev. 2015. V. 284. P. 329.
11. *Che C.-M., Siu F.-M.* // Curr. Opin. Chem. Biol. 2010. V. 14. P. 255.
12. *Dilruba S., Kalayda G.V.* // Cancer Chemother. Pharmacol. 2016. V. 77. P. 1103.
13. *Porchia M., Pellei M., Del Bello F. et al.* // Molecules. 2020. V. 25. P. 5814.
14. *Ali I., Mahmood L.M.A., Mehdarassin T.H. et al.* // Inorg. Chem. Commun. 2020. V. 118. P. 108004.
15. *Zhang Y., Zhou Y., Zhang H. et al.* // J. Inorg. Biochem. 2021. V. 224. P. 111580.
16. *Pellei M., Del Bello F., Porchia M. et al.* // Coord. Chem. Rev. 2021. V. 445. P. 214088.
17. *Paprocka R., Wiese-Szadkowska M., Janciauskiene S. et al.* // Coord. Chem. Rev. 2022. V. 452. P. 214307.
18. *Viganor L., Howe O., McCarron P. et al.* // Curr. Top. Med. Chem. 2017. V. 17. P. 1280.
19. *Al-Omair M. A.* // Arab. J. Chem. 2019. V. 12. P. 1061.
20. *Ye J., Ma J., Liu C.* // Biochem. Pharmacol. 2019. V. 166. P. 93.
21. *Simunkova M., Lauro P., Jomova K. et al.* // J. Inorg. Biochem. 2019. V. 194. P. 97.
22. *Gordon A.T., Abosedo O., Nisimango S. et al.* // Inorg. Chim. Acta. 2020. V. 510. P. 119744.
23. *Eremina J.A., Smirnova K.S., Klyushova L.S. et al.* // J. Mol. Struct. 2021. V. 1245. P. 131024.
24. *Eremina J.A., Ermakova E.A., Smirnova K.S. et al.* // Polyhedron. 2021. V. 206. P. 115352.
25. *Eremina J.A., Lider E.V., Kuratieva N.V. et al.* // Inorg. Chim. Acta. 2021. V. 516. P. 120169.
26. *Eremina J.A., Lider E.V., Sukhikh T.S. et al.* // Inorg. Chim. Acta. 2020. V. 510. P. 119778.
27. *Bravo-Gómez M., Campero-Peredo C., García-Conde D. et al.* // Polyhedron. 2015. V. 102. P. 530.
28. *Davila-Manzanilla S., Figueroa-de-Paz Y., Mejia C. et al.* // Eur. J. Med. Chem. 2017. V. 129. P. 266.
29. *Correia I., Borovic S., Cavaco I. et al.* // J. Inorg. Biochem. 2017. V. 175. P. 284.
30. *Linder M.C., Hazegh-Azam M.* // Am. J. Clin. Nutr. 1996. V. 63. P. 797.
31. *Kaim W., Rall J.* // Angew. Chem. Int. Ed. 1996. V. 35. P. 43.
32. *Crichton R.R., Pierre J.-L.* // Biometals. 2001. V. 14. P. 99.
33. *Луценко И.А., Баравиков Д.Е., Кискин М.А. и др.* // Коорд. химия. 2020. Т. 46. № 6. С. 366 (*Lutsenko I.A., Baravikov D.E., Kiskin M.A. et al.* // Russ. J. Coord. Chem. 2020. V. 46. № 6. P. 411). <https://doi.org/10.1134/S1070328420060056>
34. *Луценко И.А., Ямбулатов Д.С., Кискин М.А. и др.* // Коорд. химия. 2020. Т. 46. № 12. С. 715 (*Lutsenko I.A., Yambulatov D.S., Kiskin M.A. et al.* // Russ. J. Coord. Chem. 2020. V. 46. № 12. P. 787). <https://doi.org/10.1134/S1070328420120040>
35. *Lutsenko I.A., Yambulatov D.S., Kiskin M.A. et al.* // Chem. Select. 2020. V. 5. P. 11837.
36. *Uvarova M.A., Lutsenko I.A., Kiskin M.A. et al.* // Polyhedron. 2021. V. 203. P. 115241.
37. *Луценко И.А., Кискин М.А., Кошенкова К.А. и др.* // Изв. АН. Сер. хим. 2021. Т. 3. С. 463 (*Lutsenko I.A., Kiskin M.A., Koshenskova K.A. et al.* // Russ. Chem. Bull. 2021. V. 70. № 3. P. 463). <https://doi.org/10.1007/s11172-021-3109-3>
38. *Луценко И.А., Никифорова М.Е., Кошенкова К.А. и др.* // Коорд. химия. 2022. Т. 48. С. 83 (*Lutsenko I.A., Nikiforova M.E., Koshenskova K.A. et al.* // Russ. J. Coord. Chem. 2021. V. 47. № 12. P. 879). <https://doi.org/10.31857/S0132344X22020049>
39. *Lutsenko I.A., Baravikov D.E., Koshenskova K.A. et al.* // RSC Advances. 2022. V. 12. P. 5173.
40. *Кошенкова К.А., Луценко И.А., Нелюбина Ю.В. и др.* // Журн. неорганической химии. 2022. Т. 67. С. 1398 (*Koshenskova K.A., Lutsenko I.A., Nelyubina Yu.V. et al.* // Russ. J. Inorg. Chem. 2022. V. 67. P. 1545). <https://doi.org/10.31857/S0044457X22700106>
41. *Луценко И.А., Лосева О.В., Иванов А.В. и др.* // Коорд. химия. 2022. Т. 48. С. 739 (*Lutsenko I.A., Loseva O.V., Ivanov A.V. et al.* // Russ. J. Coord. Chem. 2022. V. 48. P. 808). <https://doi.org/10.1134/S1070328422700178>
42. *Naletova I., Satriano K., Cursi A. et al.* // Oncotarget. 2018. V. 9. P. 36289.
43. *Pivetta T., Trudu F., Valletta E. et al.* // J. Inorg. Biochem. 2014. V. 141. P. 103.
44. *Sheldrick G.M.* // Acta Crystallogr. A. 2015. V. 71. P. 3.
45. *Dolomanov O.V., Bourhis L.J., Gildea R.J. et al.* // J. Appl. Cryst. 2009. V. 42. P. 339.
46. *Lu C.H., Chen C.C., Yu C.S.* // Bioinformatics. 2022. V. 38. № 18. P. 4428. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btac534>
47. *Toigo J., Farias G., Salla C.A.M. et al.* // Eur. J. Med. Chem. 2021. V. 31. P. 3177.
48. *Liu Y.-T., Yin X., Lai X.-Y. et al.* // Dyes Pigm. 2020. V. 176. P. 108244.
49. *Ramon-García S., Ng C., Anderson H. et al.* // Antimicrob. Agen. Chemother. 2011. V. 8. P. 3861.
50. *Bekker O.B., Sokolov D.N., Luzina O.A. et al.* // Med. Chem. Res. 2015. V. 24. P. 2926.