

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В.ЛОМОНОСОВА

На правах рукописи

Гук Дмитрий Александрович

**Медьсодержащие производные тиогидантоинов и их конъюгаты с редокс-
активными группировками**

02.00.03 – Органическая химия

02.00.08 – Химия элементоорганических соединений

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени кандидата химических наук

Москва – 2021

Работа выполнена на кафедре органической химии Химического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова

Научные руководители

Белоглазкина Елена Кимовна

доктор химических наук

Красновская Ольга Олеговна

кандидат химических наук

Официальные оппоненты

Климочкин Юрий Николаевич

доктор химических наук, профессор,
заведующий кафедрой органической химии
ФГБОУ ВО «Самарский государственный
технический университет».

Верещагин Анатолий Николаевич

доктор химических наук, ведущий научный
сотрудник лаборатории аналогов карбенов и
родственных интермедиатов ФГБУ науки
«Институт органической химии им Н. Д.
Зелинского Российской академии наук».

Грачев Михаил Константинович

доктор химических наук, профессор,
заведующий кафедрой органической химии
ФГБОУ ВО «Московский педагогический
государственный университет».

Защита состоится «03» ноября 2021 г. в 11 часов на заседании диссертационного совета МГУ.02.01 Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова по адресу 119991, Москва, ГПС-1, Ленинские горы, д.1, стр. 3, Химический факультет МГУ, ауд. 446.

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

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке МГУ имени М.В. Ломоносова по адресу: г. Москва, Ломоносовский проспект, д. 27 и на сайте ИАС «ИСТИНА»: <https://istina.msu.ru/dissertations/392059170/>

Автореферат разослан «__» _____ 2021 г.

Ученый секретарь

Диссертационного совета,

кандидат химических наук

О. А. Малошицкая

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы.

Диагностика и лечение злокачественных опухолей остается одной из основных проблем современной медицины. Онкологические заболевания занимают второе место по смертности после сердечно-сосудистой патологии. Поиск новых противоопухолевых препаратов является актуальным направлением в современной медицинской химии.

Противоопухолевые препараты, содержащие в своем составе ионы металлов, играют важную роль в химиотерапии при лечении опухолей. С момента открытия противоопухолевых свойств цисплатина и до сих пор цисплатин является одним из наиболее эффективных препаратов для лечения некоторых типов онкологических заболеваний. К настоящему времени разработаны и введены в клиническую практику препараты платины второго и третьего поколений: карбоплатин, оксалиплатин, пикоплатин.

Однако терапевтическое применение препаратов Pt сопряжено с неизбежным развитием ряда тяжелых побочных эффектов, связанных с абиогенностью платины и ее накоплением в организме пациента, обусловленным отсутствием естественных механизмов выведения этого металла из организма. К числу наиболее распространенных побочных эффектов, проявление которых во многих случаях перекрывает положительный эффект от химиотерапии в целом, относятся нефротоксичность, нейротоксичность, а также ототоксичность и миелосупрессия. Поэтому внимание исследователей все больше сосредотачивается не на модификации соединений платины, а на поиске новых цитотоксичных координационных соединений биогенных переходных металлов (прежде всего, меди, а также железа, цинка и кобальта), которые должны обладать меньшей общей токсичностью и легче выводиться из организма.

Степень разработанности темы К настоящему времени опубликовано множество исследований, показывающих возможность использования координационных соединений переходных металлов и, в частности, меди в качестве перспективных цитотоксических агентов для терапии злокачественных новообразований, однако систематических исследований корреляций структура-механизм цитотоксического действия и структура-цитотоксичность на библиотеках координационных соединений близких лигандов, но различной геометрии координационной сферы и степени окисления меди не проводилось.

Сведения о функциональных производных 2-тиогидантоинов и редокс-активных конъюгатах на их основе до наших исследований отсутствовали в литературе.

Целью исследования является создание общих универсальных методов синтеза производных 5-пиридилметилен-2-тиоимидазол-4-онов с ароматическими и редокс-активными заместителями в 3-м положении тиоимидазолонового цикла и селективного

получения на их основе моно- и биядерных координационных соединений меди (+1) и (+2), а также биметаллических координационных соединений Fe/Cu, с высокой цитотоксичностью по отношению к клеточным линиям злокачественных новообразований. Установление зависимости цитотоксической активности от строения и электронных свойств координационного соединения.

Задачами исследования были: 1) разработка и оптимизация синтетических подходов к синтезу 3-замещенных 2-тиоимидазол-4-онов на основе анилинов с донорными и акцепторными заместителями и функциональных аминов; 2) поиск и оптимизация синтетических методик получения функциональных производных редокс-активных молекул ряда менадиона, нитроимидазола и ферроцена для дальнейшей модификации производных 2-тиоимидазол-4-она; 3) синтез конъюгатов 5-пиридилметил-2-тиоимидазол-4-онов с производными менадиона, нитроимидазола и ферроцена, способных к окислительно-восстановительным превращениям при низких значениях электрохимических потенциалов; 4) разработка направленных методов синтеза координационных соединений замещенных 2-тиоимидазол-4-онов, содержащих ионы меди в различных степенях окисления; 5) изучение влияния структуры и электронных свойств лиганда на геометрию и степень окисления ионов меди в образующихся металлокомплексах 2-тиоимидазол-4-онов, установление механизмов образования различных структурных типов координационных соединений; 6) изучение цитотоксичности полученных комплексов меди, определение наиболее вероятных механизмов цитотоксического действия *in vitro* для комплексов различных структурных типов.

Объектами исследования являлись 3-замещенные 2-тиогидантоины и их производные, а также редокс-активные конъюгаты 2-тиогидантоинов с менадионом, нитроимидазолом и ферроценом и координационные соединения меди на их основе.

Предметом исследования являлись методы получения и свойства в реакциях комплексообразования с солями меди 3-замещенных 2-тиогидантоинов и их редокс-активных конъюгатов с менадионом, нитроимидазолом и ферроценом, а также методы селективного получения координационных соединений меди различных степеней окисления на основе лигандов 2-тиогидантоинового ряда.

Научная новизна состоит в том, что: 1) разработаны препаративные методики синтеза 3-замещенных-2-тиоимидазол-4-онов из анилинов и функциональных аминов; 2) оптимизированы методы синтеза ω -ферроценкарбоновых кислот и ω -ферроценалкинов с различной длиной полиметиленового линкера; 3) впервые разработаны подходы к синтезу новых классов моноядерных координационных соединений меди Cu(+1) и биядерных координационных соединений Cu(+2)Cu(+2) и Cu(+1)Cu(+1) на основе 3-арилзамещенных-2-алкилтиоимидазол-4-онов; 4) впервые получены редокс-активные биметаллические

координационные соединения Cu/Fe на основе ферроцен-замещенных 2-алкилтиоимидазол-4-онов, обладающие доказанной цитотоксичностью; 5) подробно изучены окислительно-восстановительные процессы, сопровождающие комплексообразование 2-тиоимидазол-4-онов с солями меди, установлено влияние структуры и электронных свойств лиганда, природы растворителя и соли меди на геометрию и степень окисления ионов меди в целевых координационных соединениях; 6) изучена цитотоксическая активность полученных комплексов и возможный механизм цитотоксического действия; для двух из полученных соединений проведены испытания *in vivo* как потенциальных противоопухолевых препаратов.

Практическая и теоретическая значимость работы: 1) показана возможность получения 3-арилзамещенных 2-тиоимидазол-4-онов с донорными и акцепторными заместителями в различных положениях ароматического фрагмента и конъюгатов 2-тиоимидазол-4-онов с различными редокс-активными группировками; 2) разработаны препаративные методы получения моноядерных и биядерных координационных соединений меди Cu(+1), Cu(+2), Cu(+2)Cu(+2), Cu(+2)Cu(+1), Cu(+2)Cu(+1), биметаллических координационных соединений Cu/Fe на основе 3-замещенных-2-тиоимидазол-4-онов; 3) изучены механизмы образования всех описанных классов координационных соединений в ходе редокс-процессов, протекающих при комплексообразовании между производными 2-тиоимидазол-4-онов и солями Cu⁺²; 4) изучена цитотоксичность полученных координационных соединений *in vitro*, для соединений лидеров установлены наиболее вероятные механизмы цитотоксического действия, два соединения лидера испытаны *in vivo* как потенциальные противоопухолевые препараты.

Методология диссертационного исследования Методическая часть исследования состояла в разработке методов синтеза производных 2-тиогидантоина и координационных соединений меди на их основе. Для этого был использован широкий спектр синтетических и инструментальных методов. Целевые лиганды были синтезированы с помощью методов, основанных на реакциях нуклеофильного присоединения, конденсации Кнёвенагеля, азид-алкинового циклоприсоединения и карбодиимидного синтеза. Очистка полученных соединений проводилась методами колоночной хроматографии, перекристаллизации. Разделение координационных соединений в ходе оптимизации условий селективного получения проводилось методом Пастера. Структура, состав и чистота полученных соединений определялись методами ЯМР, ЭПР, ИК, оптической и XANES спектроскопии, масс-спектрометрии высокого разрешения и LDI, а также ТСХ, ВЭЖХ, РСА, элементного анализа, циклической вольтамперометрии.

Положения, выносимые на защиту:

1) Новые классы органических и элементоорганических лигандов на основе 5-пиридилметилден-2-тиоимидазол-4-онов, эффективно координирующие ионы меди, могут быть получены на основе различных анилинов и функциональных первичных аминов с препаративными выходами;

2) Новые классы биметаллических координационных соединений Cu/Fe, проявляющие высокую редокс-активность в физиологических условиях, могут быть получены на основе конъюгатов ферроцен/2-тиоимидазол-4-он;

3) Новые классы моно- и биядерных координационных соединений меди Cu(+1), Cu(+2), Cu(+2)Cu(+2), Cu(+2)Cu(+1), Cu(+1)Cu(+1) могут быть направленно и селективно получены в ходе реакции 3-замещенных-2-тиоимидазол-4-онов с солями Cu(+2);

4) Изменение электронных характеристик ферроценсодержащих лигандов введением донорных и акцепторных заместителей позволяет изменять механизм окислительно-восстановительных реакций с ионами Cu(+2) с межмолекулярного на внутримолекулярный;

5) Основной механизм цитотоксического действия координационных соединений меди определяется структурным типом органического лиганда.

6) Ключевыми факторами, определяющими цитотоксичность полученных координационных соединений 2-тиоимидазол-4-онов в клетке, является степень окисления металла, геометрия координационного окружения и потенциал окисления/восстановления ионов меди в комплексе.

Личный вклад автора. Автором был осуществлен сбор, анализ и сопоставление литературных данных по тематике исследования. Автор принимал участие в составлении плана исследований, обсуждении полученных результатов и их подготовке к публикации. Автор проводил синтез описанных в работе органических и элементоорганических соединений и координационных соединений меди на их основе, регистрировал оптические спектры (поглощения и флуоресценции), проводил подготовку кинетических экспериментов и анализировал данные физико-химических исследований.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 19 печатных работ: 8 статей в рецензируемых научных журналах, индексируемых международными базами данных (Web of Science, Scopus) и рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности 02.00.03 – органическая химия, 02.00.08 – химия элементоорганических соединений, 2 статьи в журнале индексируемом РИНЦ, 9 тезисов докладов на российских и международных конференциях.

Апробация работы. Основные результаты диссертационной работы были доложены на российских и международных конференциях: Всероссийская научная конференция

«Марковниковские чтения» (WSOC-2020), Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2020», XXI Менделеевский съезд по общей и прикладной химии (Mendeleev-2019), The Fifth International Scientific Conference «Advances In Synthesis And Complexing».

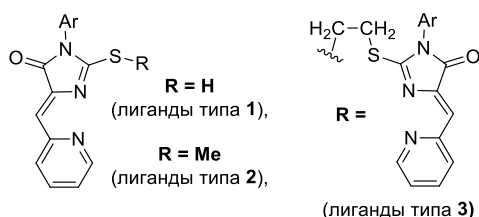
Структура и объем работы. Работа состоит из шести частей: введения, обзора литературы на тему «Координационные соединения биогенных металлов как цитотоксические агенты для терапии злокачественных новообразований», обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов и списка цитируемой литературы. Работа изложена на 245 листах машинописного текста, содержит 41 схему, 75 рисунков и 32 таблицы. Список цитируемой литературы включает 236 наименований.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

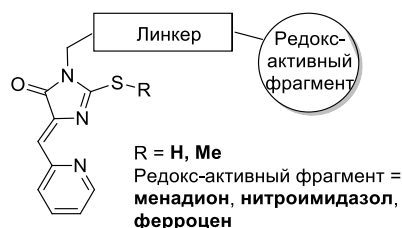
Результаты диссертационной работы представлены в трех разделах. В первом разделе обсуждения результатов рассмотрен синтез 3-арилзамещенных 2-тиогидантоинов, их алкилирование иодистым метилом и 1,2-дибромэтаном с получением лигандов ряда 5-пиридилметилден-2-тиоимидазолонов трех структурных типов и последующим синтезом на их основе координационных соединений Cu(+1), Cu(+2), Cu(+2)Cu(+2), Cu(+2)Cu(+1), Cu(+1)Cu(+1) в реакциях с хлоридом меди (+2). В данном разделе также рассмотрены механизмы образования всех описанных классов координационных соединений. Во втором разделе описан синтез конъюгатов на основе 2-тиоимидазол-4-онов с различными редокс-активными группировками (ферроцен, нитроимидазол и менадион). Общие структуры синтезированных классов органических соединений и их металлических производных представлены на Рис. 1.

Структурные типы синтезированных лигандов:

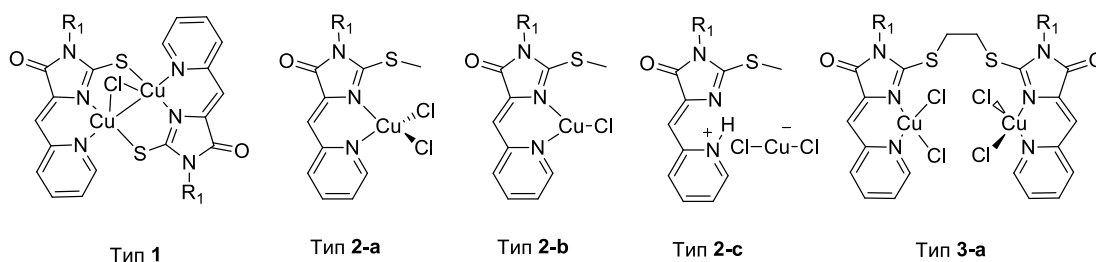
5-Пиридилметилден-2-тиоимидазолоновые лиганды

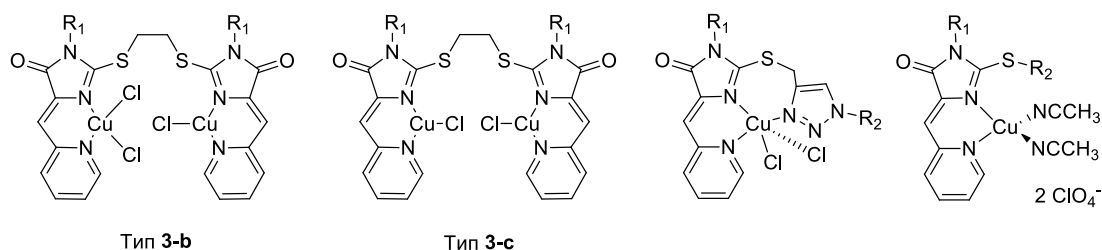


5-Пиридилметилден-2-тиоимидазолоны с редокс-активными группировками



Структурные типы полученных координационных соединений:





Тип 3-б

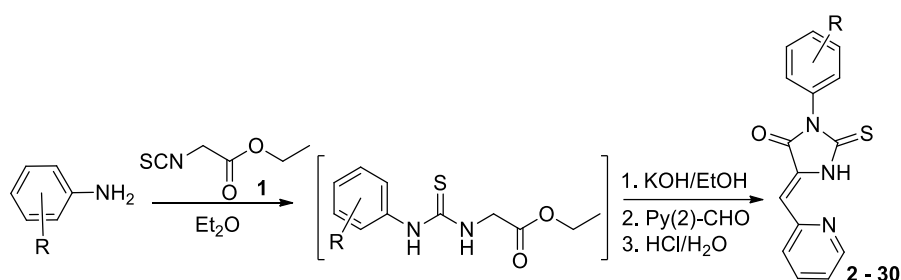
Тип 3-с

Рисунок 1. Полученные в работе классы органических и элементоорганических лигандов и координационные соединения меди на их основе.

Третий раздел обсуждения результатов посвящен подробному изучению цитотоксической активности полученных лигандов и координационных соединений, установлению закономерностей структура – активность, определению механизма цитотоксического действия соединений лидеров.

1. Синтез органических лигандов на основе 3-арил-2-тиогидантоинов

Показанный на Схеме 1 синтез целевых 3-арилзамещенных 2-тиогидантоинов **2-30**, содержащих в пятом положении 2-пиридилметиленовый фрагмент, был осуществлен как *one-pot* реакция, в которой образующаяся при взаимодействии ароматического амина и этилизотиоцианатоацетата **1** тиомочевина без выделения вступала в конденсацию Кнёвенагеля с 2-пиридинкарбальдегидом:



№	R =	№	R =	№	R =	№	R =	№	R =
2	4-F	8	2-Br-4F	14	3,4-OMe	20	3-Cl,4-F	26	2,6-Cl
3	3-F	9	4-Cl	15	4-tBu	21	2-Me,3-Cl	27	2,4,6-Cl
4	2-F	10	3-Cl	16	2-tBu	22	2,4,6-Me	28	2,6-Br
5	4-Br	11	2-Cl	17	4-NO ₂	23	4-SMe	29	2,5-F
6	3-Br	12	4-OMe	18	2-Me,4-NEt ₂	24	4-I	30	3,5-F
7	2-Br	13	4-OEt	19	2-OMe,4-Cl,5-Me	25	2-Me,4-NMe ₂		

Схема 1. Синтез 3-арил-2-тиогидантоинов.

3-Замещенные 2-тиогидантоины **2-30** далее вводились в реакции алкилирования метилиодидом в водно-спиртовой смеси в присутствии гидроксида калия в качестве основания с получением соединений **31-52**, и 1,2-дибромэтаном в ДМФА в присутствии карбоната калия с получением бис-(5-пиридилметилден-2-тиоимидазолонов) **53-74** (Схема 2).

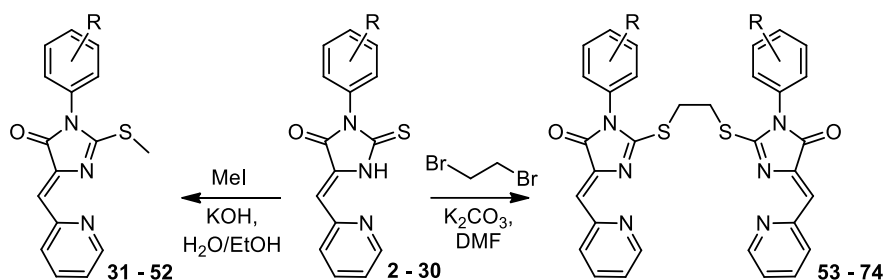


Схема 2. Алкилирование 3-арил-2-тиогидантоинов

2. Синтез координационных соединений меди на основе лигандов 2-74

Полученные органические лиганды **2–74** содержат в своей структуре хелатирующие фрагменты, способные эффективно координировать ионы меди при помощи двух донорных атомов азота и серы (Тип 1), двух атомов азота (Тип 2) или четырех атомов азота (Тип 3) (Рис. 1). Все лиганды были введены в реакции комплексообразования с $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ с получением координационных соединений различных структурных типов.

При смешивании растворов органических лигандов Типа 1 (**2–30**) в хлористом метиле с раствором хлорида меди (+2) в *n*-бутаноле были получены биядерные координационные соединения **2к–30к**, относящиеся к одному структурному классу.

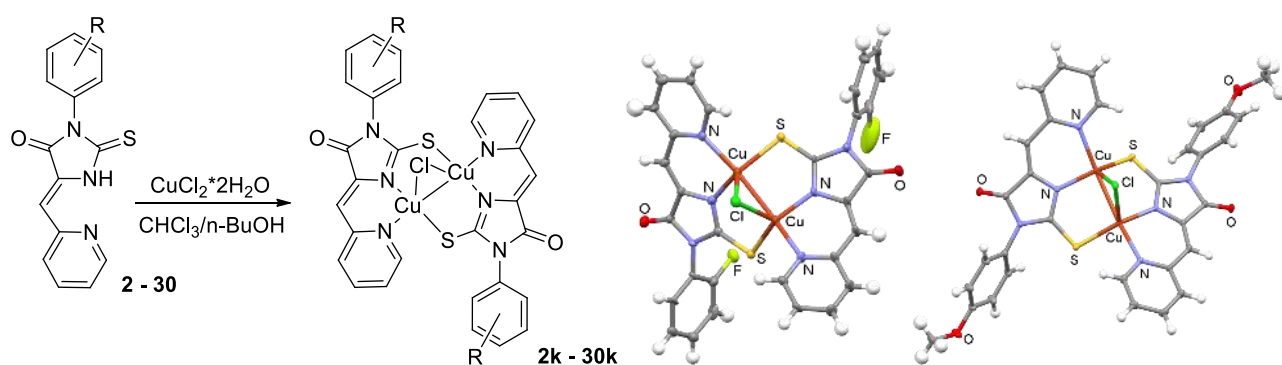


Рисунок 2. Получение координационных соединений **2к–30к**, и молекулярная структура соединений **4к** (слева) и **13к** (справа) по данным рентгеноструктурного анализа.

Строение двух представителей данного класса координационных соединений (**4к**, **13к**) было установлено по данным рентгеноструктурного анализа (Рис. 2)¹. Оба иона меди эквивалентны, имеют одинаковое локальное окружение и распределение электронной плотности, а также обладают связью $\text{Cu} - \text{Cu}$ по данным РСА, что позволяет отнести соединения данного структурного типа к валентному состоянию «+1.5/+1.5».

Аналогичные реакции комплексообразования с лигандами Типа 2 (**31–52**) привели к медьсодержащим производным трех различных структурных классов, образующимся в ходе последовательных реакций окисления/восстановления и комплексообразования. Структуры отдельных представителей каждого типа координационных соединений также были установлены методом рентгеноструктурного анализа (Рис. 3).

¹ Рентгеноструктурный анализ выполнен научными группами к.х.н., в.н.с Тафеенко В. А. и д.х.н., проф. Лысенко К. А.

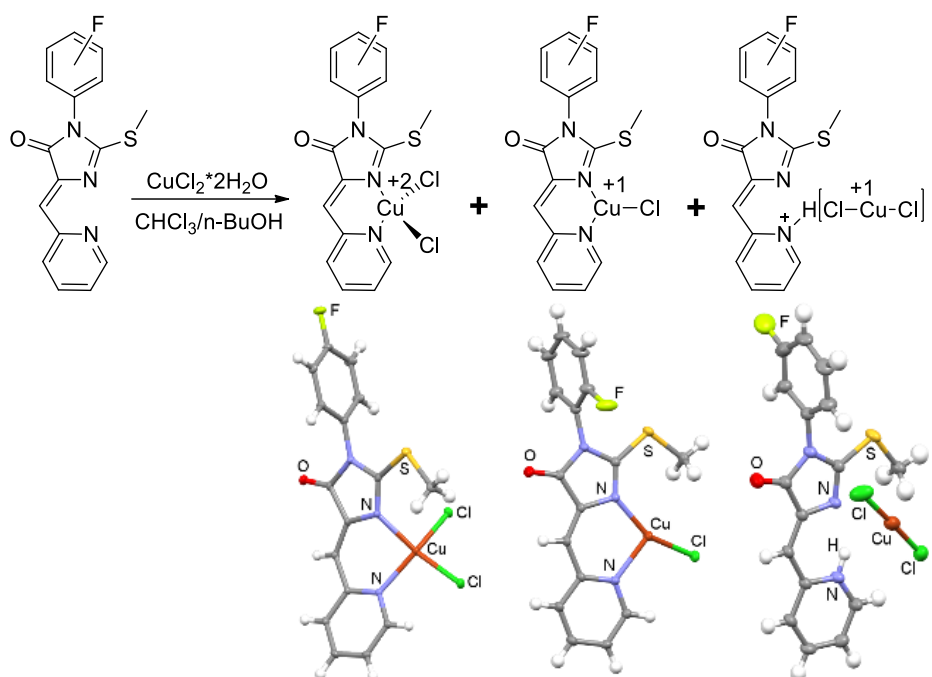


Рисунок 3. Получение и молекулярная структура координационных соединений **31k-a** (слева), **33k-b** (в центре) и **32k-c** (справа) на основе органических лигандов **31–33** соответственно по данным РСА.

Механизм образования всех полученных типов координационных соединений был установлен при помощи анализа кинетики процессов, протекающих в реакционных смесях, методами ЦВА/ВДЭ, а также оптической и ЭПР спектроскопии². Было установлено, что во всех случаях комплексообразование предшествует восстановлению меди, координационные соединения типов 2-b и 2-c последовательно образуются из соединений типа 2-a за счет восстановления меди присутствующими в системе восстанавливающими растворителями. Лиганды не являются восстановителями, переводящими Cu^{+2} в Cu^{+1} .

Реакции комплексообразования органических лигандов **53–74** с CuCl_2 протекали по аналогичным механизмам, и также приводили к координационным соединениям трех структурных классов, которые можно селективно выделить из реакционных смесей при кристаллизации из разных смесей растворителей, согласно Схеме 3.

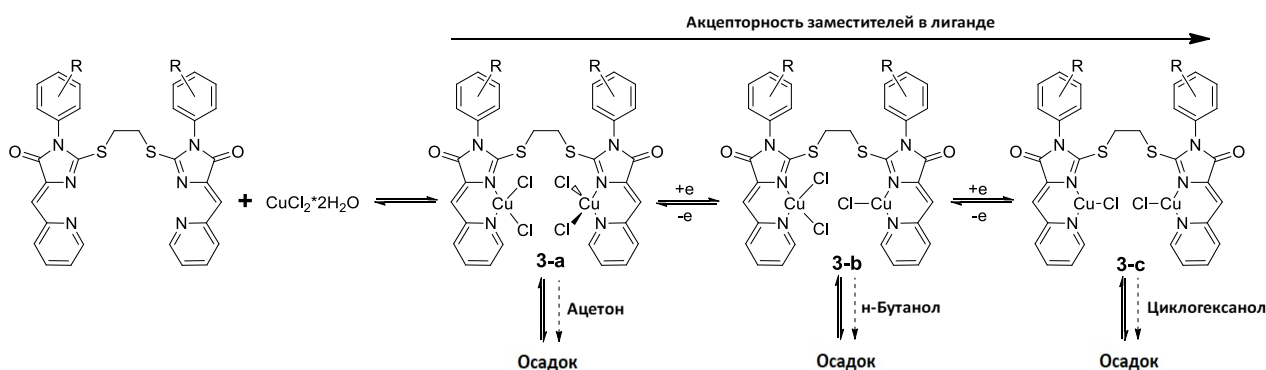


Схема 2. Образование координационных соединений типов **3-a**, **3-b**, **3-c** из лигандов Типа **3**.

² ЦВА исследования выполнены совместно с к.х.н, н.с. Моисеевой А. А., ЭПР исследования выполнены совместно с д.х.н. Мельниковым М. Я. и к.х.н., с.н.с. Пергушовым В. И.

Структуры отдельных представителей каждого из классов соединений **3-a, 3-b, 3-c** также были установлены методом рентгеноструктурного анализа.

Определение степеней окисления ионов меди, входящих в координационные соединения типов 1 – 3 было проведено комплексом физико-химических методов:

1) циклическая вольтамперометрия на вращающемся дисковом электроде позволяет отличить $\text{Cu}(+2)$ и $\text{Cu}(+1)$ по природе тока перехода $\text{Cu}(+2)/\text{Cu}(+1)$ – Для комплексов $\text{Cu}(+1)$ он анодный, для комплексов $\text{Cu}(+2)$ катодный, а для комплексов $\text{Cu}(+1)\text{Cu}(+2)$ – смешанный;

2) спектроскопия ЭПР регистрирует сигнал только от парамагнитных ионов $\text{Cu}(+2)$ и позволяет оценить симметрию координационных соединений в растворе и определить соотношение различных ионов меди в образце по интегральной интенсивности спектра. Для соединений $\text{Cu}(+2)\text{Cu}(+2)$ интенсивность сигнала в спектре вдвое выше чем для $\text{Cu}(+1)\text{Cu}(+2)$;

3) спектроскопия XANES позволяют оценить различие в геометрии координационных соединений и локальном окружении ионов меди, а сравнение со стандартными образцами солей меди позволяет точно определить степень окисления;

4) оптические спектры поглощения координационных соединений позволяют различить не только типы координационных соединений 1, 2 и 3, но и их подтипы 3-a, 3-b, 3-c по положениям максимумов поглощения. В рамках одного типа координационных соединений положения максимумов поглощения практически совпадают.

Обобщая результаты исследования реакций комплексообразования 5-(2-пиридилметил)-2-тиоимидазолоновых лигандов Типов 1-3 с CuCl_2 , можно сформулировать следующие закономерности влияния электронных и пространственных характеристик заместителей в арильном фрагменте при атоме N(3) 2-тиогидантоина и условий реакции на глубину восстановления меди (+2) в образующихся комплексах: (1) донорные заместители мезомерного типа в пара-положении бензольного кольца препятствуют восстановлению меди, сильные индуктивные акцепторы в орто- и пара-положениях бензольного кольца способствуют восстановлению меди до $\text{Cu}(+1)\text{Cu}(+1)$, донорные и акцепторные заместители средней силы, а также заместители в мета-положении бензольного кольца способствуют лишь частичному восстановлению меди до $\text{Cu}(+2)\text{Cu}(+1)$ (2) растворитель определяет растворимость каждого из образующихся типов координационных соединений и одновременно является восстановителем в реакции, ацетон (невосстанавливающий растворитель) оптимален для кристаллизации координационных соединений $\text{Cu}(+2)$ и $\text{Cu}(+2)\text{Cu}(+2)$, *n*-бутанол для соединений $\text{Cu}(+2)\text{Cu}(+1)$, а циклогексанол для соединений $\text{Cu}(+1)\text{Cu}(+1)$ и $\text{Cu}(+1)$.

Таким образом для того, чтобы избежать восстановления меди в ходе комплексообразования предпочтительно использовать лиганд с донорным заместителем при

N(3)-атоме 2-тиогидантоина в смеси ацетона и хлористого метилена, а для того чтобы восстановление меди в процессе комплексообразования прошло наиболее глубоко – лиганд с акцепторным заместителем N(3)-атоме 2-тиогидантоина в смеси циклогексанола и хлористого метилена.

3. Синтез редокс-активных конъюгатов на основе 2-тиоимидазол-4-онов

После подробного изучения закономерностей образования координационных соединений меди $\text{Cu}(+2/+1)$ на основе 3-арилзамещенных 5-пиридилметилден-2-тиоимидазол-4-онов, а также окислительно-восстановительных реакций, протекающих в ходе комплексообразования указанных лигандов с дигидратом хлорида меди (+2), мы разработали методы получения более сложных редокс-активных органических лигандов алкилтиоимидазолонового ряда, потенциально способных принимать участие в окислительно-восстановительных реакциях с ионами меди непосредственно в опухолевых клетках.

Все полученные лиганды можно в общем виде представить как конъюгаты, состоящие из трех элементов (Рис. 4): медь-хелатирующий фрагмента 5-(пиридил-2-метилен)-2-тиоимидазолин-4-она (**A**), редокс-активного фрагмента (**C**), и соединяющего их линкера различной химической природы (**B**).

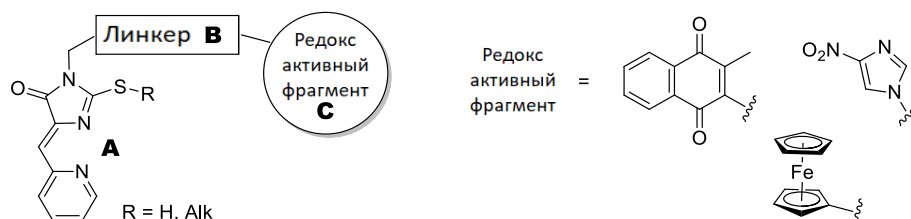
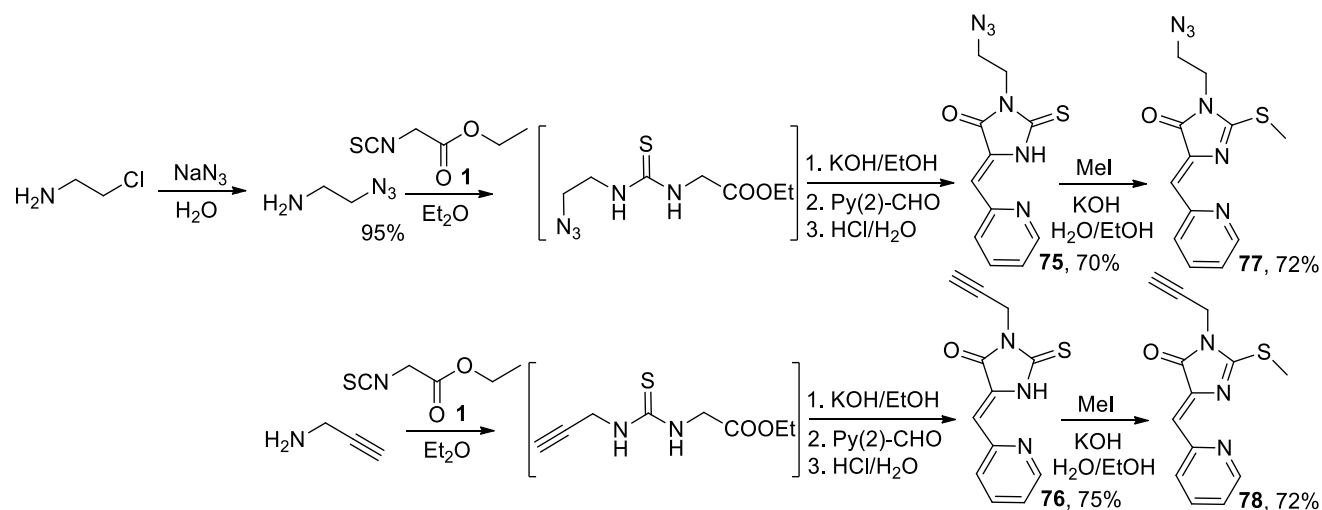


Рисунок 4. Обобщенное строение синтезированных редокс-активных конъюгатов.

Разработанные методы синтеза производных 2-тиогидантоинов и 2-алкилтиоимидазол-4-онов, содержащих функциональные фрагменты, необходимые для последующего конъюгирования с редокс-активными молекулами, представлены на Схеме 3.



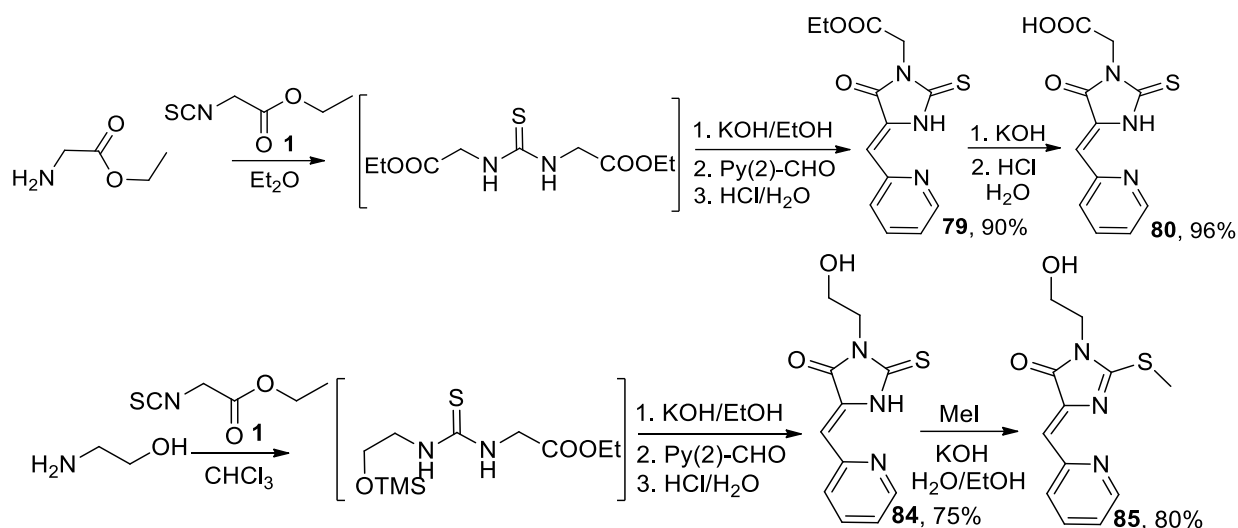


Схема 3. Синтез функциональных производных 2-тиоимидазол-4-онов.

3.1. Синтез редокс-активных конъюгатов на основе менадиона

В качестве одного из перспективных для разработки цитотоксических препаратов редокс-активных фрагментов, способных вступать в циклические окислительно-восстановительные реакции с ионами меди в клетке и генерировать активные формы кислорода, был выбран менадион – природный предшественник витамина K2.

Функционализация менадиона проводилась по оптимизированной методике прямого аминирования первичными функциональными аминами (Схема 4).

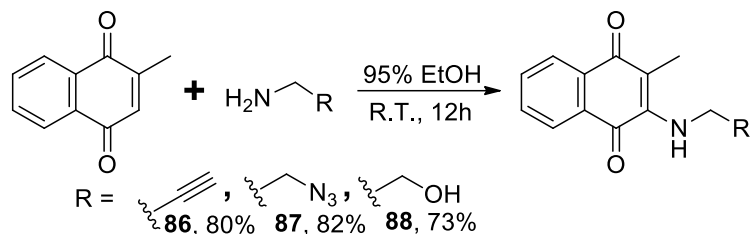


Схема 4. Синтез функциональных производных менадиона.

Получение целевых конъюгатов (Схема 5) проводилось по реакциям карбодиимидного синтеза (сложноэфирный линкер) и медькатализируемого азид-алкинового циклоприсоединения CuAAC (1,2,3-триазольный линкер). Проведение реакции CuAAC на субстратах, эффективно координирующих ионы меди, потребовало тщательной оптимизации условий и разработки методики проведения клик-реакции в двухфазной системе хлористый метилен – вода.

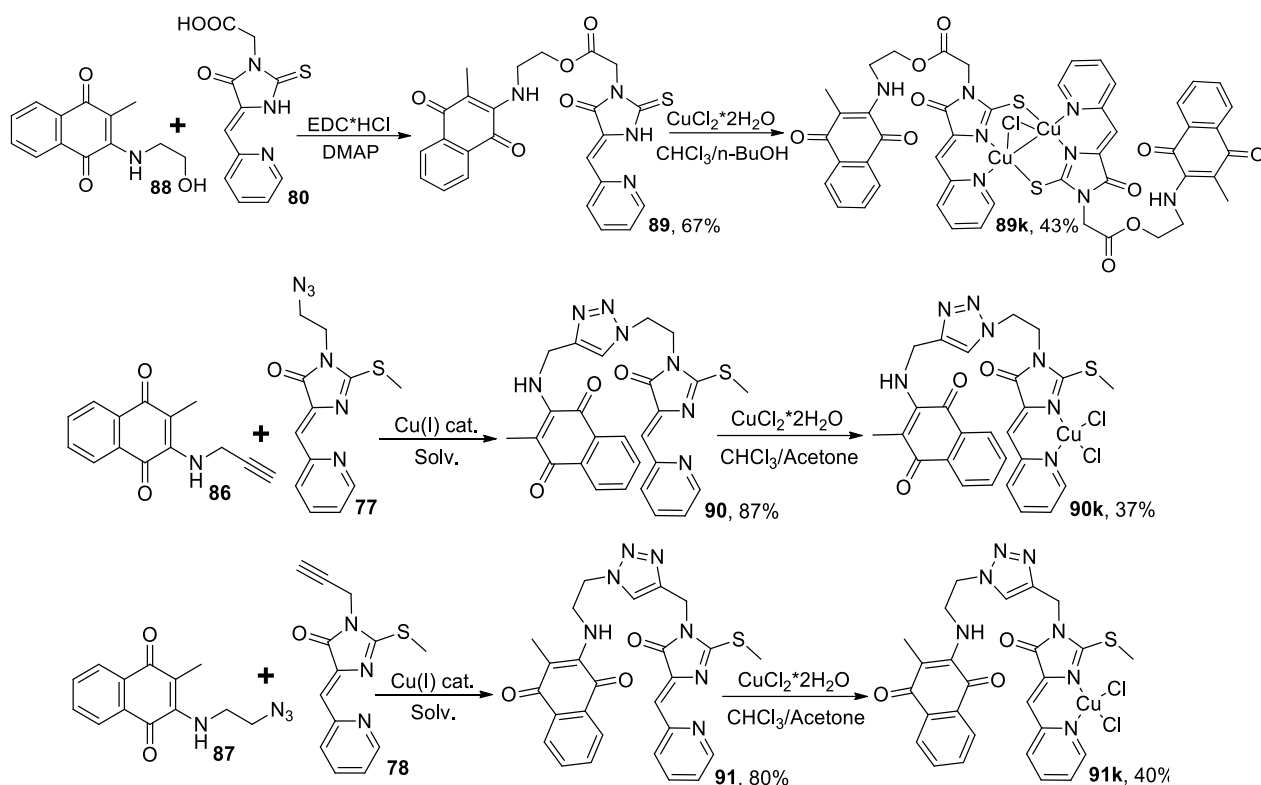


Схема 5. Синтез редокс-активных конъюгатов 2-тиоимидазол-4-она и менадиона и соответствующих координационных соединений меди.

На основе лигандов **89–91** были получены координационные соединения меди, относящиеся к классам 1 (**89k**) и 2-а (**90k**, **91k**).

3.2. Синтез редокс-активных конъюгатов на основе нитроимидазола

Другим типом перспективных редокс-активных фрагментов для модификации цитотоксичных координационных соединений меди являются производные нитроимидазола. Ранее было показано, что производные нитроимидазола претерпевают сложную последовательность окислительно-восстановительных реакций под действием внутриклеточных редуктаз, таких как нитроредуктаза и азоредуктаза, и могут рассматриваться одновременно как цитотоксические и векторные фрагменты благодаря различным свойствам окисленных и восстановленных форм.

Производные нитроимидазола, содержащие терминальную тройную связь и азидогруппу для введения в реакцию азид-алкинового циклоприсоединения, были синтезированы из коммерчески доступных исходных соединений по Схеме 6:

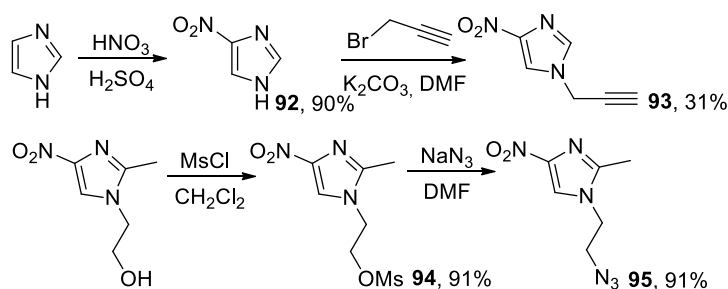


Схема 6. Синтез функциональных производных нитроимидазола.

Целевые конъюгаты описанных функциональных производных и 2-тиоимидазол-4-онов **75**, **77** были получены по разработанной в разделе 3.2.2.2 двухфазной методике азид-алкинового циклоприсоединения. Целевой продукт удалось выделить только при взаимодействии трех из четырех возможных пар реагентов (Схема 7); в случае взаимодействия 2-тиогидантоина **76** и производного 2-метилнитроимидазола **95** были выделены лишь медные комплексы исходных соединений.

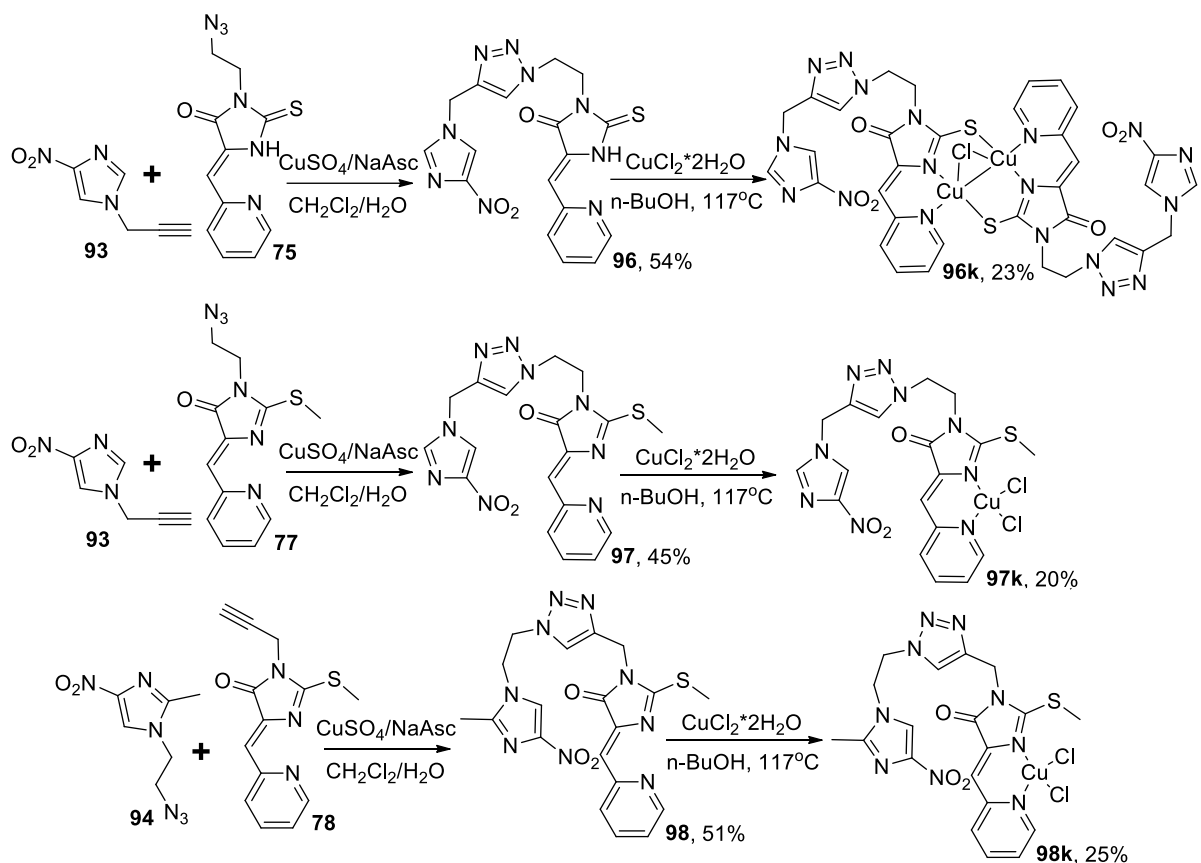


Схема 7. Синтез редокс-активных конъюгатов 2-тиоимидазол-4-она и нитроимидазола.

На основе лигандов **96–98** были получены координационные соединения меди **96k–98k** относящиеся к структурному типу **2-a** (См. рисунок 1).

3.3. Синтез редокс-активных конъюгатов на основе ферроцена

Одним из наиболее перспективных редокс-активных фрагментов для получения цитотоксичных координационных соединений меди представляется ферроцен. Он стабилен в физиологических условиях, способен к циклическим редокс-переходам без изменения структуры, а потенциал редокс-перехода $E^0\text{Cp}_2\text{Fe}^{+2}/\text{Cp}_2\text{Fe}^{+3}$ близок к потенциалу $E^0\text{Cu}^{+2}/\text{Cu}^{+1}$ и чувствителен к наличию донорных и акцепторных заместителей в цикlopентадиенильных кольцах.

Функционализация ферроцена проводилась по двум путям (Схема 8): с использованием этинилферроцена **100** и бутинилферроцена **103**, и исходя из серии ω -ферроценкарбоновых кислот **104**, **107**, **111**, **113** с различной длиной углеводородного линкера между ферроценом и

карбоксильной группой. В обоих случаях длина углеводородной цепи между ферроценом и функциональной группой влияет на окислительно-восстановительный потенциал ферроцена и очень важна для тонкой подстройки редокс-активности и цитотоксических свойств целевых конъюгатов.

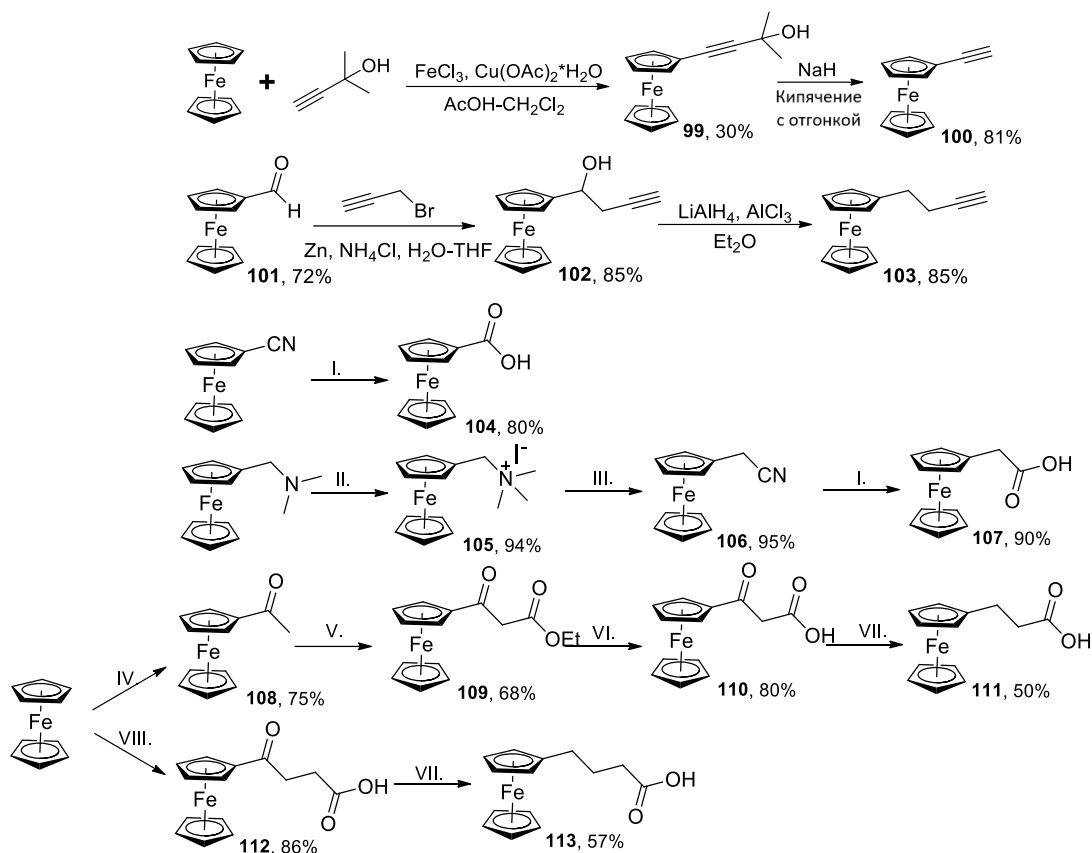
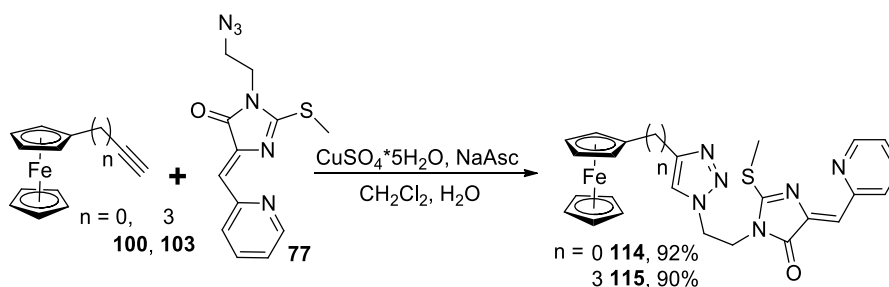


Схема 8. Синтез функциональных производных ферроцена. Условные обозначения на схеме: I. KOH, EtOH/H₂O, затем H₂SO₄ конц. II. MeI, абс. Et₂O. III. KCN, H₂O, Кипячение. IV. Ac₂O, H₃PO₄. V. DEC, NaH, бензол, кипячение. VI. 40% KOH/H₂O. VII. NaBH₄, CH₂Cl₂/TFA 1/1. VIII. Янтарный ангидрид, AlCl₃, CH₂Cl₂.

Клик-реакции между алкинильными производными ферроцена **100**, **103** и азидсодержащим соединением **77** были проведены в оптимизированных ранее условиях и позволили получить триазол-содержащие лиганды **114**, **115** с высокими выходами (Схема 8). Для получения конъюгатов ферроценкарбоновых кислот **104**, **107**, **111**, **113** с гидроксисодержащими производными 2-тиоимидазол-4-онов **84**, **85**, соединенных сложноэфирным линкером, была использована классическая активирующая система EDC/ДМАП.



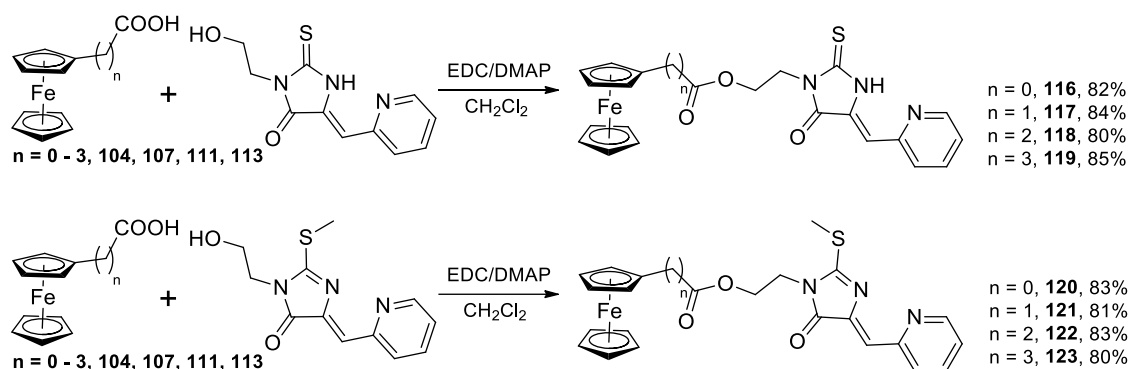


Схема 8. Синтез редокс-активных конъюгатов 2-тиоимидазол-4-она и ферроцена.

Механизм реакций комплексообразования между конъюгатами **114**, **115**, **120–123** и перхлоратами меди (+1) и меди (+2), приводящих к биметаллическим координационным соединениям Fe/Cu (Схема 9) был подробно изучен методами циклической вольтамперометрии, оптической и ЭПР спектроскопии и масс-спектрометрии высокого разрешения в реальном времени. Было установлено, что для лигандов с акцепторными заместителями в ферроценовом фрагменте **120**, **121** комплексообразование предшествует окислительно-восстановительному переходу, а для лигандов с донорными заместителями **122**, **123**, наоборот, окислительно-восстановительный переход происходит межмолекулярно, а комплексообразование протекает позже и с низкими выходами.

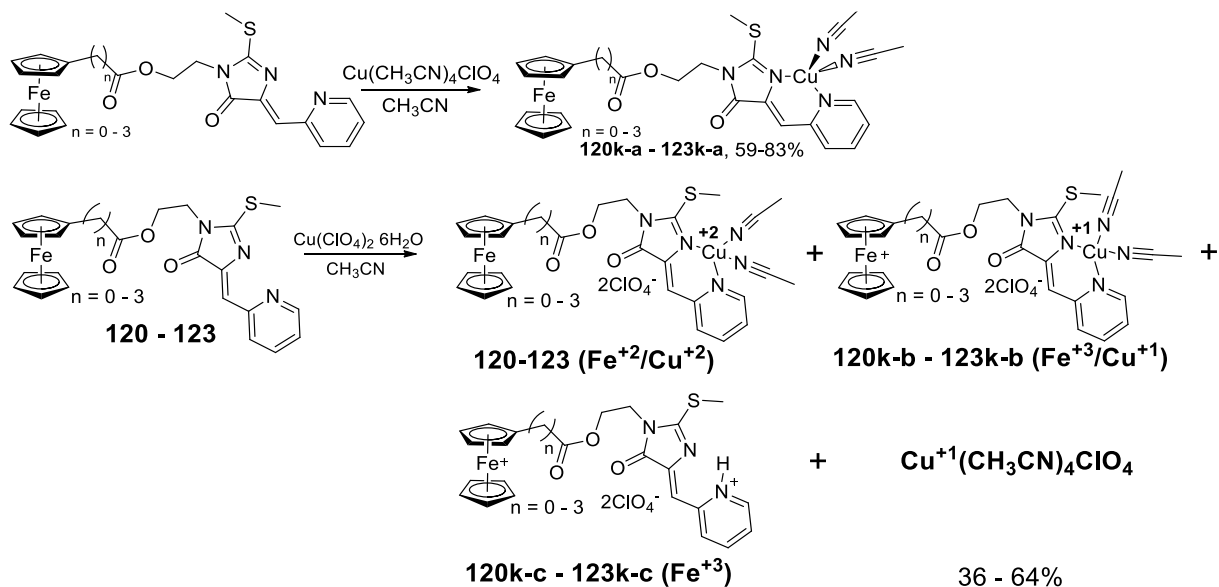


Схема 9. Синтез координационных соединений меди на основе редокс-активных конъюгатов 2-тиоимидазол-4-она и ферроцена.

Структуры всех полученных типов координационных соединений были подтверждены данными рентгеноструктурного анализа и XANES спектроскопии, а состав - данными элементного анализа и масс-спектрометрии высокого разрешения.

4. Изучение биологической активности полученных соединений³

Поскольку полученные в работе координационные соединения предназначались для исследования в качестве потенциальных противораковых препаратов, было проведено их биологическое тестирование для определения цитотоксичности на клеточных линиях НЕК-293, MCF-7, A549 и Va-13, и установления наиболее вероятного механизма цитотоксического действия каждого из полученных типов металлокомплексов.

Стабильность координационных соединений в физиологических условиях.

Устойчивость координационных соединений всех полученных структурных типов **3k, 9k, 31k, 32k, 55k, 62k, 73k, 120k-a, 120k-b, 123k-a, 123k-b** к гидролизу и диссоциации в водных средах была доказана путем записи спектров оптического поглощения растворов координационных соединений в присутствии пятикратного избытка аскорбата натрия, гистидина, цистеина и цитрата натрия (восстановителей и нуклеофильных агентов цитоплазмы клетки). Снижение концентрации всех исследованных соединений не превышало 3 – 7% за 3 часа.

Цитотоксичность in vitro. Полученные в работе органические лиганды и координационные соединения на их основе были протестированы в качестве цитотоксических агентов в МТТ тесте на четырех клеточных линиях различного происхождения: MCF-7 (аденокарцинома молочной железы), A-549 (аденокарцинома легкого), НЕК-293 (эмбриональная почка человека) и Va-13 (делящиеся клетки зародышевого легкого человека).

Практически во всех случаях цитотоксичность координационных соединений ($CC_{50} \sim 0.07 - 10$ мкМ) во много раз превышает цитотоксичность соответствующих лигандов ($CC_{50} \sim 10 - 90$ мкМ). Большинство соединений **2k-74k** имеют цитотоксичность, сравнимую с цисплатином. Координационные соединения Cu^{+2}/Cu^{+1} **62k** ($CC_{50} = 0.3 \pm 0.1$ Нек-293, 0.5 ± 0.1 MCF-7, 1 ± 0.4 A549, 2.2 ± 0.8 Va-13) и Cu^{+1}/Cu^{+1} **73k** ($CC_{50} = 0.5 \pm 0.0$ Нек-293, 0.6 ± 0.0 MCF-7, 1.3 ± 0.2 A549, 0.8 ± 0.1 Va-13)) можно рассматривать как соединения-лидеры.

Для более подробных биологических тестов были выбраны соединения-лидеры, продемонстрировавшие наименьшие величины CC_{50} в рамках каждого из классов координационных соединений: **3k, 7k, 9k, 12k, 17k** (тип 1), **31k, 37k, 40k, 41k** (тип 2), **53k, 54k** (тип 3-1), **58k, 61k, 62k, 66k** (тип 3-2), **72k, 73k** (тип 3-3), **114k, 115k** (ферроценсодержащие координационные соединения).

³ Данная часть работы выполнена совместно с научными группами к.х.н., с.н.с. Скворцова Д. А. (МТТ, нуклеазная активность, ингибирование теломеразы, определение механизма клеточной смерти), Семкиной А. С., м.н.с. Власовой К. Ю. (Внутриклеточное проникновение и распределение), научной группой к.ф.-м.н., н.с. Ерофеева А. С. (генерация АФК, 3D МТТ), научной группой профессора Покровского В. С. (Определение максимальной дозы с отсутствующими побочными эффектами).

Изучение внутриклеточного проникновения и распределения координационных соединений Типов 1–3. Внутриклеточное накопление/распределение трех типов координационных соединений изучали методом атомно-абсорбционной спектроскопии.

Координационные соединения 1-го типа обладают наибольшим внутриклеточным проникновением (~ 40%), координационные соединения 2-го и 3-го типов также обладают высокой проникающей способностью (за исключением координационных соединений $\text{Cu}^{+2}/\text{Cu}^{+2}$ **53k** и **54k**), преимущественно накапливаясь в цитоплазме. Среди координационных соединений типа 3, координационные соединения $\text{Cu}^{+2}/\text{Cu}^{+2}$ (**53k** и **54k**) обладают низкой проникающей способностью, в то время как $\text{Cu}^{+1}/\text{Cu}^{+1}$, $\text{Cu}^{+2}/\text{Cu}^{+1}$ (**73k** и **62k**) показали лучшее клеточное накопление и, как следствие, более сильные цитотоксические свойства.

Изучение нуклеазной активности координационных соединений Типов 1–3. Ни одно из исследованных координационных соединений Типа 1 **6k**, **9k**, **11k**, **17k** не проявило нуклеазной активности. Комплексы Типа 2 **31k**, **37k**, **40k**, **41k** концентрациях 100 мкМ, напротив, оказались эффективными химическими нуклеазами. Соединение-лидер **62k** (Тип 3-а) показало слабую нуклеазную активность, что означает, что этот механизм не является основным для его цитотоксического действия. Соединение-лидер **73k** (Тип 3-с) вовсе не продемонстрировало нуклеазной активности. Ферроценсодержащие координационные соединения **114k**, **115k**, проявили значительную нуклеазную активность при более высоких концентрациях (250 мкМ).

Изучение интеркаляции ДНК координационными соединениями Типов 1–3. Изучение взаимодействия с молекулами ДНК по интеркаляционному механизму проводилось по классическому методу конкурентного вытеснения бромистого этидия из его комплекса с ДНК. Было показано, что все протестированные координационные соединения **2k**, **3k**, **5k – 9k**, **11k**, **13k**, **17k**, **31k**, **41k**, **54k**, **60k**, **72k**, **73k** способны интеркалировать ДНК с константами $K_{\text{app}} \sim 10^5 \text{M}$, что соответствует значениям для ряда описанных ранее координационных соединений меди с противоопухолевой активностью.

Все органические лиганды, за исключением соединения **17**, ожидаемо, не обладают способностью интеркалировать ДНК. Производные ферроцена и координационные соединения меди на их основе также не обладают способностью интеркалировать ДНК.

Взаимодействие координационных соединений с БСА. Связывание с альбуминами крови во многом определяет эффективность транспорта препарата по кровотоку и время выведения из организма. Связывание органических лигандов **1**, **2**, **4**, **6**, **10**, **12**, **16**, **53**, **59**, **71**, **72**, **114**, **115** и их координационных соединений с бычьим сывороточным альбумином (БСА) было исследовано по методу Скетчарда. Рассчитанные значения констант связывания с БСА ($K_b \sim 10^7 \text{M}$) для всех исследованных соединений попадают в диапазон оптимума, при

котором связывание достаточно сильное для транспорта веществ по крови в связанной с альбуминами форме, но недостаточно велико для необратимого связывания и, следовательно, потери активности в тканях.

Изучение способности координационных соединений Типов 1-3 ингибировать теломеразу. Среди представителей всех трех типов координационных соединений были обнаружены соединения, способные ингибировать теломеразу (**2к**, **9к**, **37к** и **41к**). При этом соединение-лидер **62к** показало самую высокую степень ингибирования. Единственным ферроценсодержащим соединением, продемонстрировавшим заметное снижение активности теломеразы, оказалось соединение **115**, обладающее наибольшей токсичностью среди всех конъюгатов на основе ферроцена.

Изучение механизма клеточной смерти (некроз/апоптоз) под действием координационных соединений Типов 1–3. Индукцию апоптоза в клетках линии MCF-7 под действием координационных соединений **3к**, **9к**, **12к**, **13к**, **17к**, **31к**, **37к**, **42к**, **45к**, **53к**, **54к**, **62к**, **66к**, **72к**, **73к** исследовали методом двойного окрашивания красителями Annexin V-FITC/PI. Было показано, что координационные соединения Типа **1** вызывают ранний апоптоз клеток, а комплексы Типов **2** и **3** – поздний апоптоз. Эти результаты подтверждают, что полученные в работе координационные соединения меди вызывают клеточную смерть по механизму апоптоза, а не некроза.

Изучение способности координационных соединений типов 1 – 3 генерировать активные формы кислорода (АФК). Образование активных форм кислорода и АФК-опосредованные повреждения ДНК и митохондрий, приводящие к началу апоптоза, являются ключевыми механизмами действия многих координационных соединений меди и ожидаемым механизмом действия координационных соединений, полученных в рамках данной работы. Для выявления вклада АФК в цитотоксичность полученных координационных соединений представители каждого их класса были протестированы двумя независимыми методами: CellRox Deep Red (флуоресцентная проба на АФК) и электрохимически с использованием вводимого в клетку платинового нанoeлектрода.

Результаты, полученные двумя методами, хорошо коррелируют (См. Рис. 5).

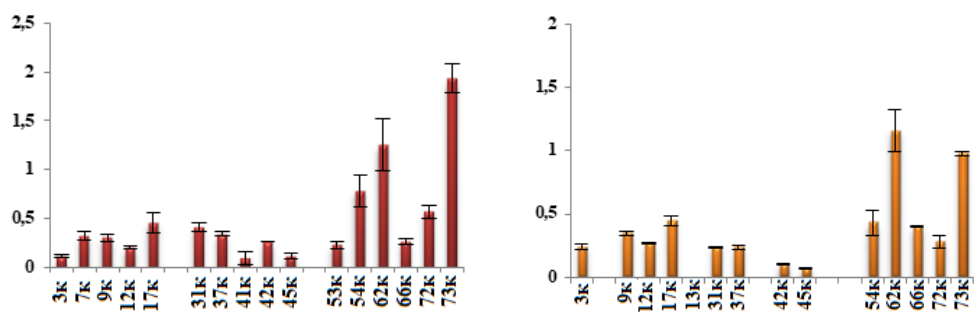


Рисунок 5. Определение АФК в клетке MCF-7 флуоресцентной пробой CellRox Deep Red (слева) и платиновым нанoeлектродом (справа).

Было установлено, что способность генерировать АФК коррелирует с окислительно-восстановительными потенциалами исследованных координационных соединений. Среди координационных соединений Типов 1 и 2 только соединения с наименьшими потенциалами редокс-перехода $\text{Cu}^{+2}/\text{Cu}^{+1}$ ($E_{1/2} \sim 0.37 - 0.44$ В) способны генерировать заметные количества АФК. Наиболее активно генерируют АФК координационные соединения 3-го типа, и, в частности **62k** и **73k** – соединения с наибольшей цитотоксичностью. Более высокий окислительно-восстановительный потенциал **72k** ($E_{1/2} = 0.51$ В) по сравнению с **73k** ($E_{1/2} = 0.46$ В) объясняет более низкую электронодонорную способность первого из них, и, как следствие, меньшее накопление активных форм кислорода.

Наибольший вклад активных форм кислорода в суммарную величину цитотоксичности был показан для редокс-активных конъюгатов ферроцен-2-тиоимидазол-4-онов. Так, для серии соединений **120k–123k** величина IC_{50} коррелирует со способностью генерировать АФК в клетках, и наиболее цитотоксичное соединение **120k-a** (IC_{50} на клеточной линии MCF-7 = 4.39 ± 0.2) повышает уровень АФК в клетке MCF-7 более чем на 300% по сравнению с контрольным значением.

Изучение цитотоксичности координационных соединений лидеров в 3D модели опухоли. Для оценки цитотоксичности и механизма действия полученных в работе координационных соединений **7k, 9k, 17k, 31k, 42k, 43k, 45k, 53k, 54k, 62k, 72k, 73k** была использована модель 3D сфероидов из клеток линии MCF-7, более достоверно отражающая биохимические процессы, протекающие в солидных опухолях, чем классические *in vitro* эксперименты на монослоях опухолевых клеток.

Координационные соединения Типа 1 обладали высокой проникающей способностью (согласно экспериментам по внутриклеточному накоплению/распределению) и высокой цитотоксичностью (анализ МТТ), однако оказались наименее эффективны в 3D МТТ. Координационные соединения 2-го типа продемонстрировали высокую эффективность наряду с неспособностью генерировать АФК в сфероиде, что подтверждает тот факт, что этот тип координационных соединений имеет редокс-независимый механизм цитотоксического действия. Координационные соединения 3-го типа показали высокую эффективность на 3D-модели. Комплексы **62k** и **73k** оказались эффективными окислительно-восстановительными противоопухолевыми агентами, генерирующими АФК по всему объему сфероида MCF-7.

Определение максимальной дозы с отсутствующими побочными эффектами при внутривенном введении мышам. Для соединений-лидеров **62k** и **73k** были проведены исследования максимально переносимой дозы *in vivo*. Дозы 0.79 мг/кг **62k** и 1.1 мг/кг **73k** были выбраны в качестве переносимых доз с минимальными побочными эффектами.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

1) Разработаны и оптимизированы методы получения N(3)-замещенных 5-пиридилметилден-2-тиоимидазол-4-онов реакцией первичных аминов, 2-пиридинкарбальдегида и этилизотиоцианатоацетата, позволяющие вводить в реакцию анилины как с донорными, так и акцепторными заместителями, а также амины с широким кругом функциональных групп (пропаргиламин, 2-азидоэтиламин, 2-аминоэтанол, аминокислоту).

2) Впервые предложена универсальная методология синтеза редокс-активных конъюгатов 2-тиоимидазол-4-онов с менадином, нитроимидазолом и ферроценом реакциями азид-алкинового циклоприсоединения и карбодиимидного синтеза функциональных производных соответствующих редокс-активных молекул с 2-тиоимидазол-4-онами, содержащими азидную, пропаргильную, карбоксильную и гидроксильную группы, а также биметаллических координационных соединений Cu/Fe на их основе.

3) Показано, что реакции 3-арилзамещенных 2-тиогидантоинов с CuCl_2 приводят к координационным соединениям $\text{Cu}(+2)$, $\text{Cu}(+2)\text{Cu}(+2)$, $\text{Cu}(+2)\text{Cu}(+1)$, $\text{Cu}(+1.5)\text{Cu}(+1.5)$, $\text{Cu}(+1)\text{Cu}(+1)$, $\text{Cu}(+1)$; медьсодержащие продукты образуются в ходе последовательных окислительно-восстановительных реакций, а глубина восстановления меди определяется σ-акцепторными свойствами заместителей при атоме N(3) и природой растворителя.

4) Методами ЭПР и оптической спектроскопии, циклической вольтамперометрии и масс-спектрометрии высокого разрешения установлено, что для ферроцен-тиогидантоиновых конъюгатов с донорными заместителями в ферроценовом фрагменте окислительно-восстановительная реакция с CuCl_2 протекает межмолекулярно, а в случае конъюгатов с акцепторными заместителями - внутримолекулярно.

5) Биологические исследования *in vitro* наиболее цитотоксичных представителей каждого из структурных типов полученных медьсодержащих комплексов 2-тиоимидазолонов показали, что наиболее вероятными механизмами цитотоксического действия координационных соединений $\text{Cu}(+1.5)\text{Cu}(+1.5)$ является ингибирование теломеразы и интеркалирование ДНК, соединений $\text{Cu}(+2)$ – расщепление ДНК и ингибирование теломеразы, а соединений $\text{Cu}(+2)\text{Cu}(+1)$ и $\text{Cu}(+1)\text{Cu}(+1)$ – ингибирование теломеразы и индукция образования активных форм кислорода.

6) С использованием библиотеки впервые синтезированных координационных соединений меди шести структурных типов (88 соединений) подтверждена гипотеза о ключевой роли электронных характеристик лиганда, геометрии координационной сферы и степени окисления металла в определении механизма цитотоксического действия металлокомплекса.

Основные результаты работы изложены в публикациях:

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

1. Beloglazkina E. K., Krasnovskaya O. O., **Guk D. A.**, Tafeenko V. A., Moiseeva A. A., Zyk N. V., Majouga A. G. Synthesis, Characterization and Cytotoxicity of Binuclear Copper(II) Complexes with Tetradentate Nitrogen-Containing Ligands bis-5-(2-Pyridylmethylidene)-3,5-dihydro-4H-imidazol-4-ones. // *Polyhedron*. – 2018. – V. 148. – P. 129-137. (IF = 2.88 WoS).
2. **Guk D. A.**, Krasnovskaya O. O., Dashkova N. S., Skvortsov D. A., Rubtsova M. P., Dyadchenko V. P., Yudina E. S., Kosarev M. A., Soldatov A. V., Shapovalov V. V., Semkina A. S., Vlasova K. Y., Pergushov V. I., Shafikov R. R., Moiseeva A. A., Andreeva A. V., Melnikov M. Ya, Zyk N. V., Majouga A. G., Beloglazkina E. K. New ferrocene-based 2-thio-imidazol-4-ones and their copper complexes. Synthesis and cytotoxicity. // *Dalton Trans.* – 2018. – V. 47. – P. 17357-17366. (IF = 4.39 WoS).
3. **Guk D. A.**, Naumov A. V., Krasnovskaya O. O., Tafeenko V. A., Moiseeva A. A., Pergushov V. I., Melnikov M. Ya, Zyk N. V., Majouga A. G., Beloglazkina E. K. Three types of copper derivatives formed by CuCl₂·2H₂O interaction with (Z)-3-aryl-2-(methylthio)-5-(pyridine-2-ylmethylene)-3,5-dihydro-4H-imidazol-4-ones. // *Dalton Trans.* – 2020. – V. 49. – P. 14528-14535. (IF = 4.39 WoS).
4. Krasnovskaya O. O., **Guk D. A.**, Naumov A. V., Nikitina V. N., Semkina A., Vlasova K. Yu., Pokrovsky V., Ryabaya O. O., Karshieva S., Skvortsov D. A., Zhirkina I., Shafikov R. R., Gorelkin P., Vaneev A., Erofeev A., Mazur D., Tafeenko V. A., Pergushov V. I., Melnikov M. Ya., Soldatov M. A., Shapovalov V. V., Soldatov A. V., Akasov R., Gerasimov V., Sakharov D. A., Moiseeva A. A., Zyk N. V., Beloglazkina E. K., Majouga A. G. Novel copper-containing cytotoxic agents based on 2-thioxoimidazolones. // *J. Med. Chem.* – 2020. – V. 63. – № 21. – P. 13031-13063. (IF = 7.45 WoS).
5. Krasnovskaya O. O., Naumov A. V., **Guk D. A.**, Gorelkin P., Erofeev A., Beloglazkina E. K., Majouga A. G. Copper Coordination Compounds as Biologically Active Agents. // *Int. J. Mol. Sci.* – 2020. – V. 21. – № 11. – P. 3965. (IF = 5.92 WoS).
6. **Guk D. A.**, Krasnovskaya O. O., Zyk N. V., Beloglazkina E. K. Convenient Synthesis of 2-Thioimidazolone/Menadione Conjugates via a Two-Step Sequence Starting with Direct Amination of Menadione. // *SynOpen*. – 2020. – V. 4. – № 2. – P. 38-43.
7. **Guk D. A.**, Krasnovskaya O. O., Beloglazkina E. K. Coordination compounds of biogenic metals as cytotoxic agents for the cancer therapy. // *Russ. Chem. Rev.* – 2021. – V. 90. – DOI:10.1070/RCR5016 (IF = 6.93 WoS).
8. **Guk D. A.**, Krasnovskaya O. O., Moiseeva A. A., Tafeenko V. A., Ul'yanovskii N. V., Kosyakov D. S., Pergushov V. I., Melnikov M. Ya., Zyk N. V., Skvortsov D. A., Lopatukhina E. V., Majouga A. G., Beloglazkina E. K. New Fe-Cu bimetallic coordination compounds based on ω -ferrocene carboxylic acids and 2-thioimidazol-4-ones: structural, mechanistic and biological studies. // *Inorg. Chem. Front.* – 2021. – DOI: 10.1039/d1qi00714a. (IF = 6.17 WoS).

Дополнительные публикации:

1. **Гук Д. А.**, Малинников В. М., Красновская О. О., Мажуга А. Г., Белоглазкина Е. К., Зык Н. В. Биядерное координационное соединение Cu(II),(I) на основе 2тиоксо-тетрагидро-4н-имидазол-4-она: модификация для адресной доставки к опухолевым тканям. // *Сборник «Успехи синтеза и комплексообразования: тезисы докладов I всероссийской молодёжной школы-конференции»*, серия 1, Типография РУДН. Москва. – 2016. – Т. 1, – С. 109.
2. **Гук Д. А.**, Малинников В. М., Красновская О. О., Белоглазкина Е. К., Зык Н. В., Мажуга А. Г. Биядерные координационные соединения меди (II), (I) на основе 2-тиоксо-тетрагидро-4н-имидазол-4-она: модификация для стабилизации Cu (I) в физиологических жидкостях. // *Российский биотерапевтический журнал*. – 2017. – Т. 16. – С. 48-49. (IF = 0.603 РИНЦ).

3. **Guk D. A.**, Makarov M. M., Malinnikov V. M., Krasnovskaya O. O., Beloglazkina E. K., Zyk N. V., Majouga A. G. Binuclear coordination compounds of Cu (II), (I) on the basis of 2-thioxotetrahydro-4h-imidazole-4-one: a modification to stabilize Cu 1+ valence state in physiological fluids. // *Сборник «Успехи синтеза и комплексообразования = Advances in Synthesis and Complexing Сборник тезисов четвертой Международной научной конференции. В 2-х частях»*. РУДН. Москва. – 2017. – Т. 1. – С. 68.

4. **Гук Д. А.**, Красновская О. О., Белоглазкина Е. К., Скворцов Д. А., Бачева А. В., Дядченко В. П., Косарев М. А., Солдатов А. В., Зык Н. В., Мажуга А. Г. Новые цитотоксичные координационные соединения Cu (II/I), Fe (III/II) как противоопухолевые терапевтические агенты. // *Российский биотерапевтический журнал*. – 2018. – Т. 17. – С. 24-24. (**IF = 0.603 РИНЦ**).

5. Beloglazkina E. K., Krasnovskaya O. A., Udina A. V., **Guk D. A.**, Salimova I. O., Skvortsov D. A., Zyk N. V., Majouga A. G. Synthesis and cytotoxicity of mono- and binuclear copper (I,II) coordination compounds with 2-thio-hydantoin derivatives. // *Сборник «THE RUSSIAN CLUSTER OF CONFERENCES ON INORGANIC CHEMISTRY “INORGCHEM 2018”. Abstracts reports». 1st Russian Conference on Bioinorganic Chemistry (RuBIC) with International Participation*». Издательство АГТУ Россия, Астрахань, – 2018. – С. 191-192.

6. **Гук Д. А.**, Красновская О. О., Белоглазкина Е. К. Синтез функциональных производных 2-тиогидантоина для дальнейшей модификации редокс-активными и векторными фрагментами. // *Сборник «Инициатива в образовании и развитие творческого потенциала современной науки»*, ООО "СитИвент" Казань, – 2019. – С. 160-162.

7. Shashkovskaya V. S., Krasnovskaya O. O., **Guk D. A.**, Bacheva A. V. Non-protein effectors of the proteasome. // *Сборник «Abstracts of 12th International Conference BIOCATALYSIS-2019: fundamentals & applications»*, Innovations and High Technologies MSU Ltd Moscow. Moscow, – 2019. – V. 1. – P. 42.

8. **Гук Д. А.**, Моисеева А. А., Белоглазкина Е. К. Синтез новых редокс-активных производных 2-тиоимидазол-4-она на основе ферроцензамещенных карбоновых кислот. // *Сборник «Материалы Международного молодежного научного форума «Ломоносов-2020»»*. Издательство ООО "МАКС Пресс" (Москва), – 2020. – С. 747-747.

9. **Гук Д. А.**, Белоглазкина Е. К., Красновская О. О., Зык Н. В., Дядченко В. П. Разработка синтетических подходов к pH-чувствительным конъюгатам с редокс-активными ферроценборными кислотами. // *Сборник «Science, Technology and Life – 2019: Proceedings of articles the VI International scientific conference»*, Skleněný Můstek; MCNIP LLC Karlovy Vary, Czech Republic; – 2020. – P. 8-15.

10. **Гук Д. А.**, Красновская О. О., Скворцов Д. А. Новые цитотоксичные биядерные координационные соединения Cu (II/II) , (II/I) ,(I/I), на основе 2-тиоимидазол-4-онов: структура и биологическая активность. // *Сборник тезисов всероссийской научной конференции «Марковниковские чтения: органическая химия от марковникова до наших дней»*. – 2020. – С. 115-115.

11. **Гук Д. А.**, Моисеева А. А., Белоглазкина Е. К. Биядерные Fe/Cu содержащие координационные соединения на основе ферроценсодержащих карбоновых кислот и 2-тиоимидазолонов. // *Сборник «Материалы Международного молодежного научного форума «Ломоносов-2020»»*. Издательство ООО "МАКС Пресс" (Москва), – 2020. – С. 76. (Орг. хим.).