

На правах рукописи



КРАСНОВСКАЯ ОЛЬГА ОЛЕГОВНА

**СИНТЕЗ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
КООРДИНАЦИОННЫХ СОЕДИНЕНИЙ Co(II), Cu(II), Cu(I) НА
ОСНОВЕ ИМИДАЗОЛИН-4-ОНОВ ДЛЯ БИМЕДИЦИНСКОГО
ПРИМЕНЕНИЯ**

02.00.03 – органическая химия

02.00.16– медицинская химия

Автореферат диссертации
на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Москва – 2016

Работа выполнена на кафедре органической химии Химического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова».

Научные руководители: Доктор химических наук, профессор
Белоглазкина Елена Кимовна
Доктор химических наук, доцент
Мажуга Александр Георгиевич

Официальные оппоненты: Д.х.н., профессор

Шестопалов Анатолий Михайлович
заведующий лабораторией химии
гетерофункциональных соединений
ФГБУН Институт органической химии им.
Н.Д.Зелинского Российской академии наук (ИОХ
РАН);

Кандидат химических наук, доцент

Зубков Федор Иванович
Доцент кафедры органической химии факультета
физико-математических и естественных наук
Российского Университета дружбы народов

Ведущая организация: Институт Физиологически активных веществ
РАН, г. Черноголовка

Защита состоится 15 июня 2016 г. в 11:00 часов на заседании диссертационного совета Д.501.001.69 при Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова по адресу: 119991, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 3, Химический факультет МГУ, аудитория 446.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке МГУ имени М.В. Ломоносова по адресу: г. Москва, Ломоносовский проспект, д. 27 и на сайте Химического факультета <http://www.chem.msu.ru>.

Автореферат разослан « ____ » _____ 2016 г.

Учёный секретарь диссертационного совета
д.х.н.

Т.В. Магдесиева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Поиск препаратов, обладающих противоопухолевой активностью, является одной из основных задач современной медицинской химии. Открытие цисплатина в 1965 году привело к разработке широкого спектра металлосодержащих противоопухолевых препаратов. Предполагается, что координационные соединения на основе эндогенных металлов, таких как Cu(II), Cu(I), Co(II) будут менее токсичными по сравнению с платиновыми аналогами. Известно, что свойства координационных соединений сильно зависят от природы лигандов и донорных атомов, координирующих ион металла. Производные 2-тиоксотетрагидро-4Н-имидазол-4-онов, 2-алкилтиоимидазол-4-онов, 2-аминоимидазол-4-онов обладают широким спектром применения и разнообразной фармакологической активностью.

Таким образом, разработка методов получения координационных соединений на основе функционализированных производных 2-тиоксо-тетрагидро-4Н-имидазол-4-онов (2-тиогидантоинов), 2-алкилтиоимидазол-4-онов (2-алкилтиогидантоинов) и 2-аминоимидазол-4-онов, исследование их физико-химических свойств и биологической активности являются актуальной задачей.

В настоящее время в терапевтической практике применяется большое число противоопухолевых препаратов, различных по природе и механизму действия, однако, тяжелые побочные эффекты ограничивают их применение. Первостепенной задачей становится поиск путей снижения токсичности уже известных препаратов, а также дизайн новых молекул, обладающих высокой селективностью к опухолевым клеткам по отношению к здоровым тканям. Данная задача может быть достигнута несколькими путями: путем изменения формуляции препарата, механической доставки, а также путем изменения структуры препарата – введения фрагмента, отвечающего за направленную доставку препарата к опухолевым тканям.

Цель работы. Целями данной диссертационной работы являлись:

1. Получение и исследование биологической активности серии координационных соединений Cu(II), Cu(I), Co(II) с органическими лигандами - производными 2-тиоксо-тетрагидро-4Н-имидазол-4-онов, 2-алкилтиоимидазол-4-онов и 2-аминоимидазол-4-онов.

2. Разработка синтетических подходов к получению производных 2-аминоимидазол-4-онов.

3. Исследование биологической активности координационных соединений вышеуказанных лигандов с Cu(II), Cu(I), Co(II) *in vitro* и *in vivo*.

4. Установление механизма цитотоксичности препаратов на основе медьсодержащих производных 2-тиогидантоинов.

Научная новизна. Предложены новые и оптимизированы известные методы направленного синтеза 2-тиокситетрагидро-4Н-имидазол-4-онов, 2-аминоимидазолин-4-онов. Синтезированы перспективные лиганды на основе 2-тиогидантоинов, 2-алкилтиогидантоинов, 2-аминоимидазолин-4-онов, в том числе,

содержащие векторные группировки, отвечающие за направленную доставку препарата к опухолевым тканям - фрагменты биотина и углеводов. Исследованы координационные свойства 2-алкилтиоимидазол-4-онов и 2-аминоимидазол-4-онов. Показана биологическая активность ряда координационных соединений на основе 2-алкилтиоимидазол-4-онов и 2-аминоимидазол-4-онов. Впервые исследовано внутриклеточное распределение координационного соединения Cu(II),(I) с лигандом – производным 2-алкилтиоимидазол-4-она. Впервые изучено биораспределение координационных соединений Co(II) на основе 2-алкилтиоимидазол-4-онов, в том числе содержащих векторные фрагменты, отвечающие за направленную доставку препарата к опухолевым клеткам.

Практическая значимость Впервые осуществлены click-реакции производных 2-алкилтио-5-(пиридилметил)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-онов. Предложен метод синтеза 2-аминоимидазолин-4-онов реакцией 2-алкилтио-5-пиридилметил-имидазол-4-онов с вторичными аминами в присутствии каталитических количеств трифлата иттербия(III). Показано, что конъюгат координационного соединения Co(II) с лигандом - производным 2-алкилтиоимидазолин-4-она с меченным флуоресцентной меткой олигонуклеотидом проникает через клеточную мембрану, что делает его перспективным для доставки терапевтических олигонуклеотидов. Показана способность координационного соединения Cu(II),(I) на основе 2-алкилтиоимидазолин-4-она проникать сквозь клеточную мембрану и накапливаться в клеточном ядре, что открывает возможности для получения селективных ДНК-взаимодействующих препаратов.

На защиту выносятся следующие положения:

- Оптимизированные подходы к получению 2-тиокситетрагидро-4Н-имидазол-4-онов, 2-алкилтиоимидазолин-4-онов. Результаты изучения физико-химических свойств и биологической активности полученных лигандов.
- Новые и оптимизированные подходы к получению 2-аминоимидазолин-4-онов. Результаты изучения физико-химических свойств и биологической активности полученных лигандов.
- Новые подходы к синтезу лигандов и координационных соединений на основе 2-алкилтиоимидазолин-4-онов, содержащих векторные фрагменты, отвечающие за направленную доставку к опухолевым клеткам печени и молочной железы.
- Разработка методов синтеза координационных соединений Cu(II), Cu (I), Co(II) на основе 2-тиокситетрагидро-4Н-имидазол-4-онов, 2-алкилтиоимидазолин-4-онов, 2-аминоимидазолин-4-онов. Результаты изучения физико-химических свойств и биологической активности полученных координационных соединений.

Апробация работы Результаты работы докладывались I и II Всероссийской научной конференции «Успехи синтеза и комплексообразования», Москва, Россия, 2012 и 2014; кластере конференции по органической химии «Оргхим-2013»; Санкт–

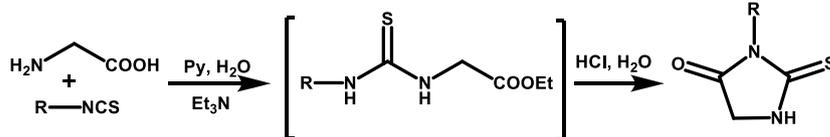
Петербург, Россия, 2013; VI молодежной конференции ИОХ РАН, Москва, Россия, 2014; международном конгрессе «Кост-2015» Москва, Россия, 2015; VI международной конференции по гетероциклической и биорганической химии «Bioheterocycles-2015», Метц, Франция, 2015; VIII Российской конференция по радиохимии «Радиохимия 2015», Железногорск, Россия, 2015.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 3 статьи (в журналах из списка ВАК и/или WOS), 11 тезисов докладов.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

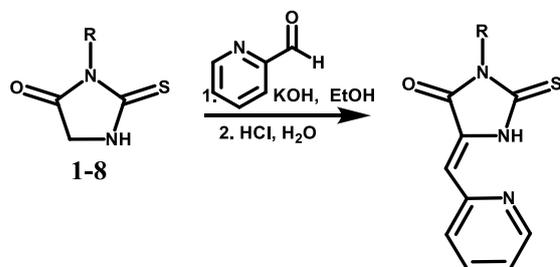
1. Синтез производных 2-тиогидантоинов

2-Тиогидантоины, содержащие в третьем положении тиогидантоинового цикла алифатические и ароматические заместители, были получены взаимодействием соответствующих изотиоцианатов с глицином в смеси пиридин-вода в присутствии триэтиламина. Образующуюся тиомочевину обрабатывали соляной кислотой с получением 2-тиогидантоинов **1-8**:



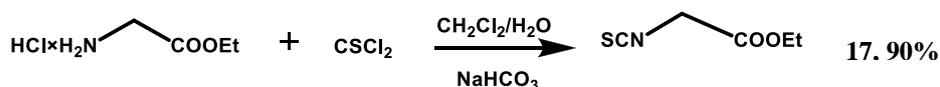
- 1, R = метил 62%
- 2, R = втор-бутил 72%
- 3, R = 2-метилбутил 90%
- 4, R = аллил 74%
- 5, R = циклопропил 69%
- 6, R = фенил 86%
- 7, R = бензил 92%
- 8, R = 2-фенилэтил 76%

Далее полученные 2-тиогидантоины вводились в реакцию конденсации с 2-пиридинкарбальдегидом в щелочной среде с получением 5(Z)-пиридилметилзамещенных 2-тиогидантоинов **9-16**:



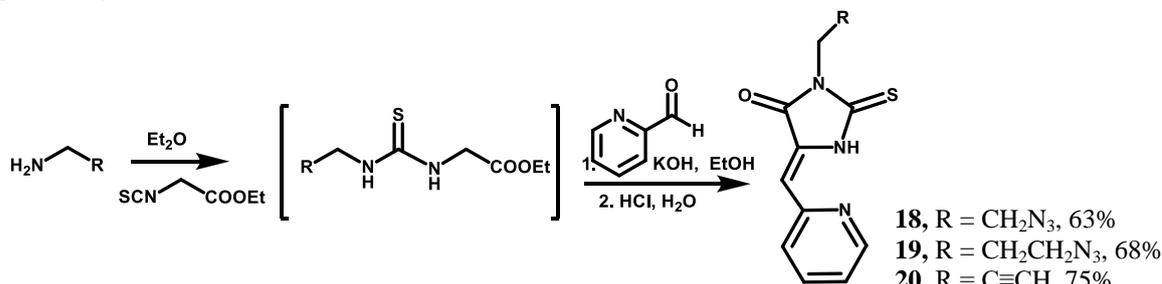
- 9, R = метил, 85%
- 10, R = втор-бутил, 79%
- 11, R = 2-метилбутил, 85%
- 12, R = аллил, 74%
- 13, R = циклопропил, 69%
- 14, R = фенил, 95%
- 15, R = бензил, 95%
- 16, R = 2-фенилэтил, 90%

Также для получения 5(Z)-пиридилметилзамещенных 2-тиогидантоинов нами был разработан новый альтернативный метод синтеза, в котором в реакцию конденсации с 2-пиридикарбальднгидом вводят не 2-тиогидантоин, а предшествующую ему в синтезе тиомочевину. Исходная тиомочевина может быть получена путем взаимодействия амина с изотиоцианатэтилацетатом. Изотиоцианатэтилацетат **17** был синтезирова реакцией этилового эфира глицина с тиофосгеном:



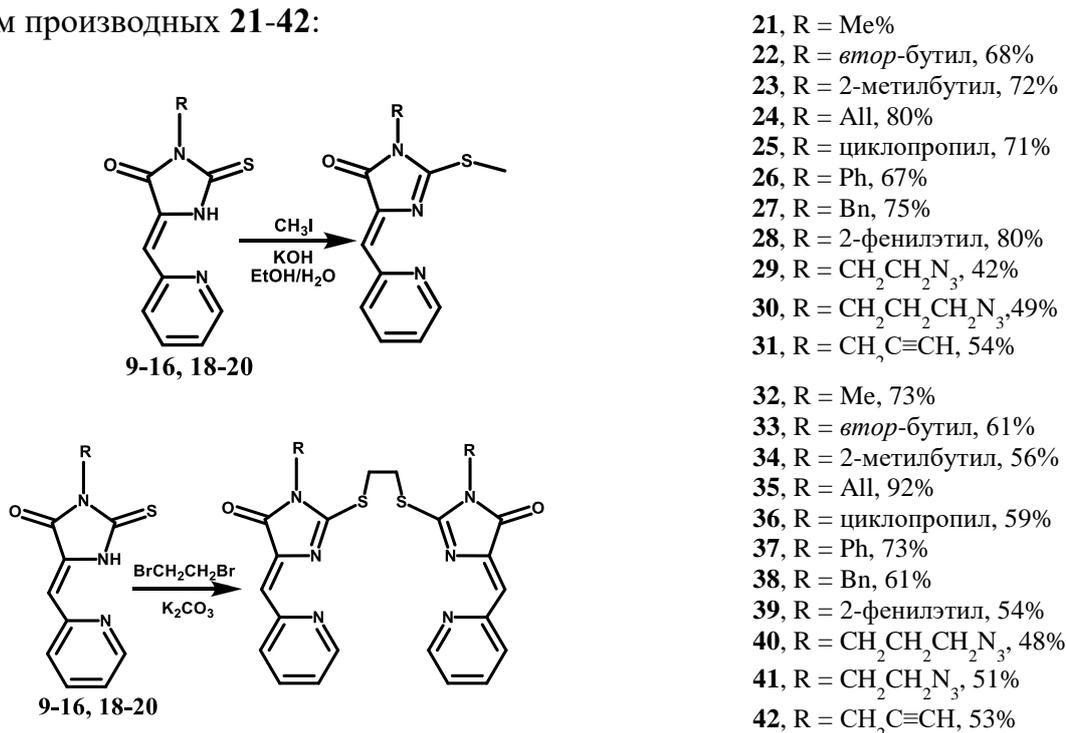
Данный подход позволяет избежать стадии кипячения с соляной кислотой, что позволяет вводить в третье положение тиогидантоинового цикла

кислоточувствительные функциональные группировки, например, алкилазидную и пропаргильную.



Поскольку одной из целей данной работы является синтез лигандов, содержащих фрагменты, отвечающих за направленную доставку к опухолевым тканям, в 3-е положение тиогидантоинового цикла вводились векторные фрагменты с использованием click-реакции между азидом и алкином. Для этой цели были получены 5(Z)-пиридилметилзамещенные-2-тиогидантоины **18–20**, содержащие в третьем положении тиогидантоинового цикла алкилазидные и пропаргильные группировки:

Замещенные в 3-положении производные 2-тиогидантоинов **9-16**, **18-20** вводились далее в реакции алкилирования метилиодидом, а также 1,2 – дибромэтаном с получением производных **21-42**:



Таким образом нами были синтезированы 2-алкилтиогидантоины, которые являются перспективными соединениями для изучения их биологических свойств, а также потенциальными лигандами для исследования в реакциях комплексообразования с солями Cu(II) и Co(II).

2. Получение производных 2-аминоимидазолонов

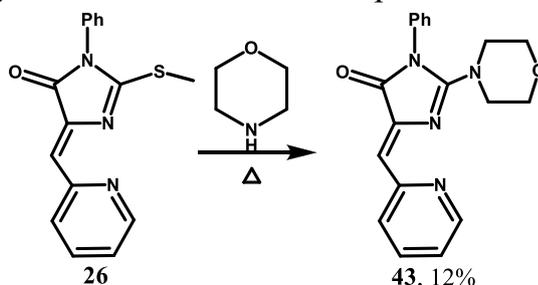
2-аминоимидазолин-4-оновый фрагмент представляет собой фармакофор, присутствующих во многих природных биологически активных органических

соединениях. В рамках следующего этапа работы была получена серия лигандов - производных 2-аминоимидазол-4-онов. Предполагалось, что такая замена улучшит биологические характеристики полученных лигандов.

В литературе описано 2 основных подхода к синтезу производных 2-аминоимидазолин-4-онов из доступных 2-алкилтиоимидазолин-4-онов: с применением микроволнового излучения или путем кипячения исходного 2-алкилтиоиминадазол-4-она в жидком амине.

2.1 Получение производных 2-аминоимидазолин-4-онов в растворе

Проведение реакции без использования микроволнового излучения возможно при длительном кипячении S-алкилированных производных 2-тиогидантоинов в амине как растворителе. Были проведены реакции 5-пиридилметилзамещенных 2-тиогидантоинов **21**, **24**, **26** с морфолином и пиперидином при длительном кипячении. Используя данный подход, удалось выделить лишь производное **43**:



Из-за низких выходов целевых соединений и длительного времени реакции, было предложено катализировать данные превращения кислотами Льюиса. В качестве кислот Льюиса были использованы хлорид алюминия AlCl_3 , хлорид цинка ZnCl_2 , трифлат иттербия $\text{Yb}(\text{OTf})_3$. Первоначально были проведены модельные реакции соединения **26** с амином в присутствии 10 мольных % кислот Льюиса. Результаты представлены в Таблице 1.

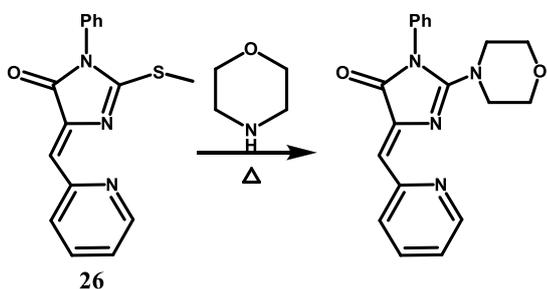
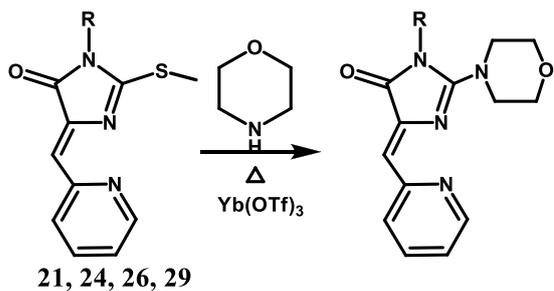


Таблица 1. Исследование каталитических свойств различных кислот Льюиса в реакции получения 2-аминоимидазолин-4-онов

AlCl_3	ZnCl_2	$\text{Yb}(\text{OTf})_3$
Кипячение в течении трех дней. Реакция не идет.	Кипячение в течении трех дней, выход 10%	Кипячение в течении 2 часов, выход 50%

Как видно из приведенных данных, наилучшие результаты были получены при использовании в качестве катализатора трифлата иттербия. Предложенная методика не требует длительного кипячения реакционной смеси и увеличивает выходы по сравнению с некаталитическим подходом:

С использованием данной методологии была синтезирована серия 2-аминоимидазолин-4-онов **43-50**:



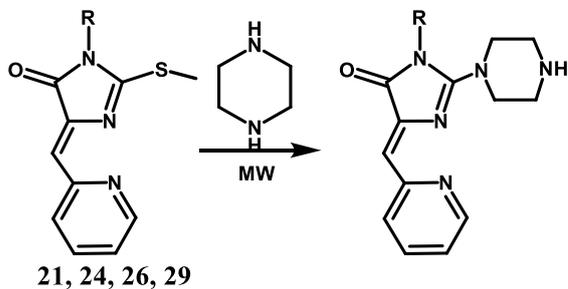
- 43, R' = O, R = Ph, 50%
 44, R' = O, R = Me, 64%
 45, R' = O, R = All, 71%
 46, R' = O, R = CH₂CH₂N₃, 46%
 47, R' = CH₂, R = Ph, 71%
 48, R' = CH₂, R = Me, 82%
 49, R' = CH₂, R = All, 61%
 50, R' = CH₂, R = CH₂CH₂N₃,

Таким образом, были получены целевые производные 2-аминоимидазолин-4-онов, при этом впервые предложено использовать кислоты Льюиса в качестве катализаторов реакций замещения алкилтио-группы на аминную группировку в производных 2-тиогидантоинов.

Далее, мы исследовали возможность получения 2-аминоимидазолин-4-онов, используя в качестве исходного амина пиперазин. В литературе описано проведение подобных реакций в расплаве амина с использованием микроволнового излучения.

2.2 Получение 2-аминоимидазолин-4-онов с использованием микроволнового облучения

Реакции, активированные микроволновым излучением, обычно протекают гораздо быстрее по сравнению с реакциями в традиционных органических растворителях. Взаимодействие протекает в расплаве пиперазина с образованием исключительно продуктов моно-замещения **51-54**:



- 51, R = Me, 31%
 52, R = All 24%
 53, R = Ph 18%
 54, R = (CH₂)₂N₃, 23%

Таким образом, нами были получены 5-(Z)-пиридилметилзамещенные 2-аминоимидазолин-4-оны, представляющие собой перспективные лиганды для изучения их биологической активности, а также введения в реакции комплексообразования.

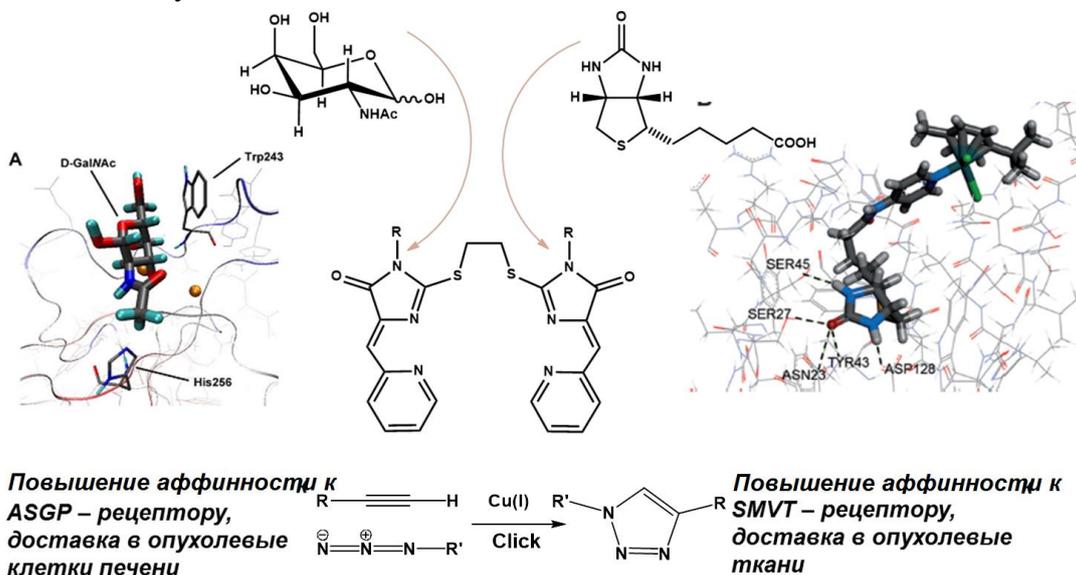
3. Синтез производных 2-тиогидантоинов, содержащих векторный фрагмент

Одним из путей снижения общей токсичности противоопухолевых препаратов является введение в структуру лекарственного средства фрагмента, отвечающего за направленную доставку препарата к опухолевым клеткам.

Гепатоклеточная карцинома является одним из самых опасных видов злокачественных новообразований, при этом она поражает только определенный вид клеток – гепатоциты. Перспективным рецептором-мишенью для создания лекарств с векторным фрагментом является асиалогликопротеиновый рецептор ASGPR,

экспрессия которого повышена на поверхности гепатоцитов, и имеющий высокую аффинность к молекулам, содержащим остатки галактозы и N-ацетиламиногалактозы.

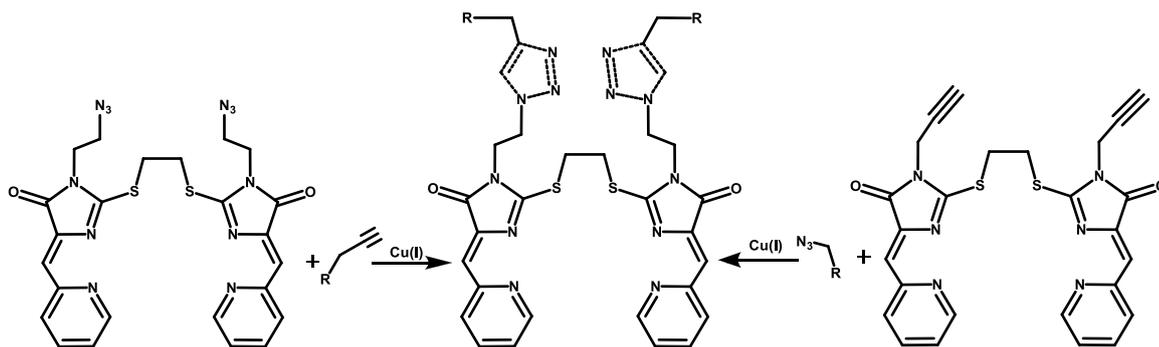
Другой перспективной мишенью для создания высокоаффинных терапевтических агентов является натрий-зависимый мультивитаминный транспортер SMVT. Клетки злокачественных новообразований требуют большого количества витаминов для поддержания высоких темпов их роста, что создает предпосылки к потенциальному использованию витаминов в качестве векторов адресной доставки. Водорастворимый витамин биотин необходим для нормального клеточного функционирования, роста и развития. Основной системой связывания биотина в клетках эпителия кишечника человека является SMVT, который активирован во многих линиях опухолевых клеток.



Таким образом, введение в молекулу лиганда остатка N-ацетиламиногалактозы повышает его аффинность к ASGP-рецептору, что делает возможным в перспективе использовать препарат для терапии гепатоклеточной карциномы. Введение в молекулу фрагмента биотина увеличивает аффинность молекулы к SMVT-рецептору, что делает возможным в перспективе использовать данный препарат для терапии злокачественных новообразований, например, при злокачественных новообразованиях молочной железы.

Для введения векторной группировки препаративно удобной является click-реакция между азидом и алкином, приводящая к образованию триазольного цикла.

Введение векторных фрагментов в производные 2-тиогидантоинов осуществлялось двумя способами. Первый - синтез производных 2-алкилтиоимидазолин-4-онов, содержащих в третьем положении цикла алкилазидный фрагмент, и его дальнейшее введение в click-реакции с пропаргильными производными векторов. Второй путь - синтез производных 2-алкилтиоимидазолин-4-онов с пропаргильным фрагментом в третьем положении цикла, и их дальнейшие click-реакция с азидными производными векторов:



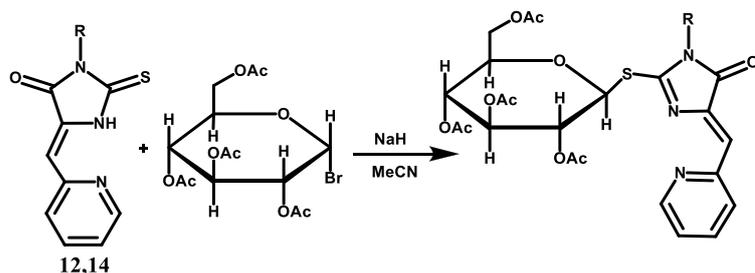
В нашей работе мы использовали оба варианта модификации.

Для проведения click-реакции между азидом и алкином нами был использован классический метод с использованием CuSO_4 и аскорбата натрия в качестве восстановителя.

3.1 Синтез модельных соединений с углеводными фрагментами

Удобным методом введения фрагмента углеводов в производные 2-тиогидантоинов является реакция алкилирования тиогидантоинов по атому серы тетраацетатом 1-бром- α -D-глюкопиранозы.

В качестве модельных соединений нами были получены производные глюкозы **55**, **56**:



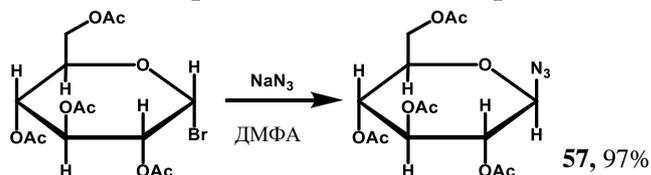
55, R = All, 27%

56, R = Ph, 32%

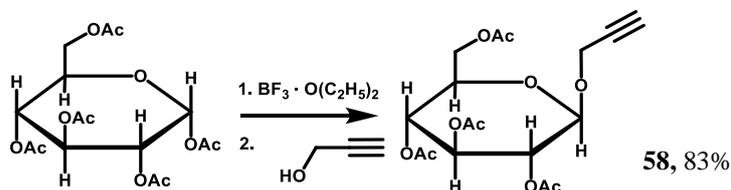
Полученные лиганды **55**, **56** далее были введены в реакции комплексообразования (см. раздел 4).

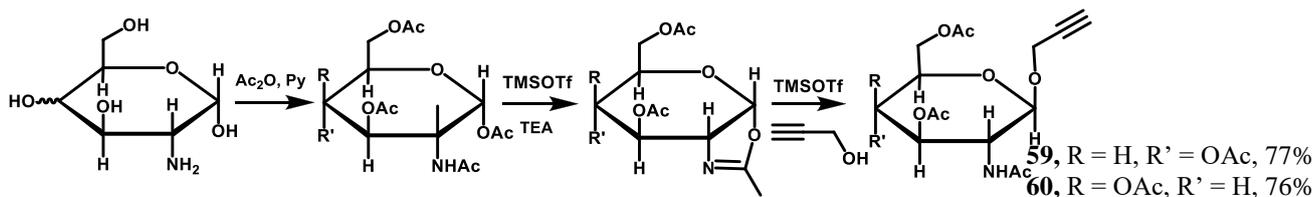
3.2 Синтез производных биотина и углеводов

В качестве модельных векторных фрагментов первоначально был синтезировано азидопроизводное β -D-глюкопиранозы **57** реакцией тетраацетатом 1-бром- α -D-глюкопиранозы с азидом натрия в диметилформиде:

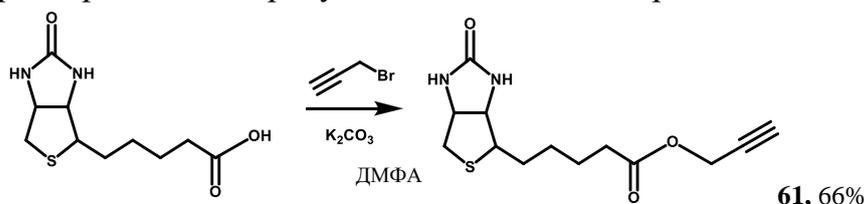


Кроме того, было получено пропаргильное производное β -D-глюкопиранозы **58** и пропаргильные производные N-ацетилглюкозы и N-ацетилгалактозы **59**, **60**:



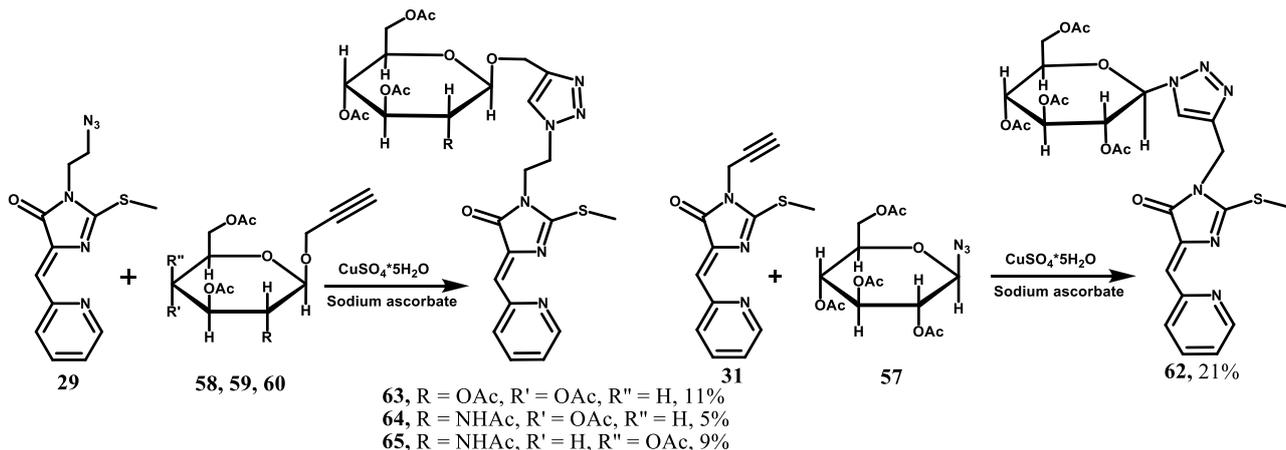


Пропаргильный эфир биотина **61** был получен реакцией биотина с пропаргилбромидом в присутствии безводного карбоната калия:

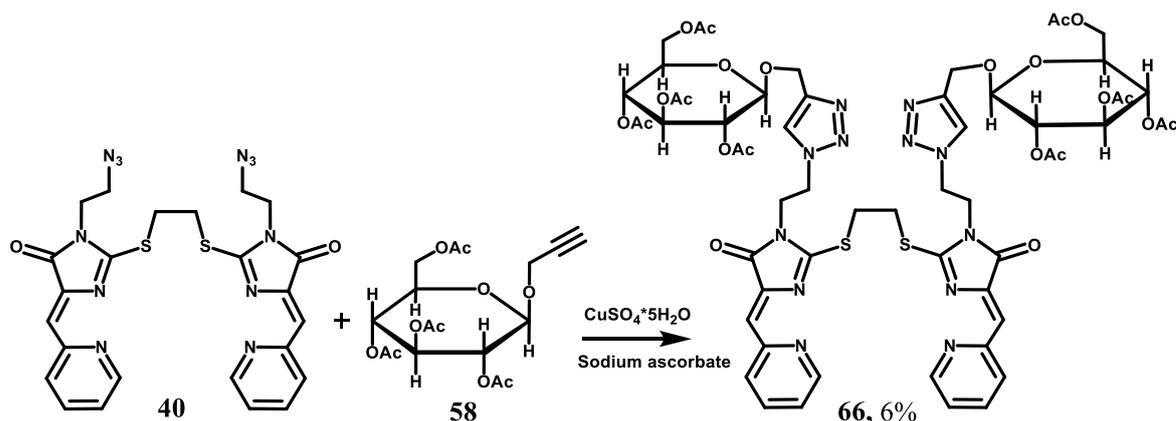


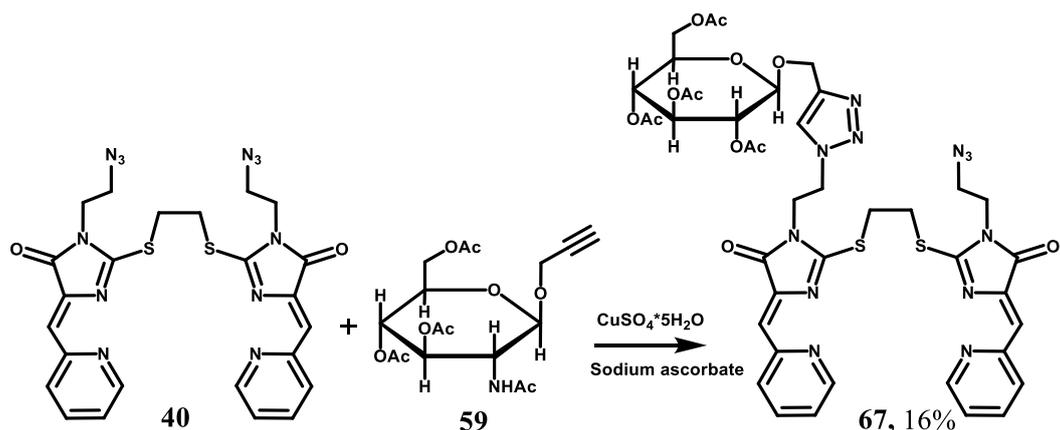
3.3 Проведение click-реакций с производными углеводов

Для изучения возможности введения векторных фрагментов путем click – реакции, а также для сравнения двух направлений введения векторного фрагмента, нами были проведены реакции полученного азидопроизводного **29** с пропаргильными производными глюкозы **58, 59** и N-ацетиламиногалактозы **60**:



При попытке введения азидсодержащего углеводного фрагмента в лиганд **42** продуктов click-реакции выделить не удалось. При взаимодействии азидсодержащего лиганда **40** с пропаргильными эфирами глюкозы и галактозы были получены соединения **66** и **67**:

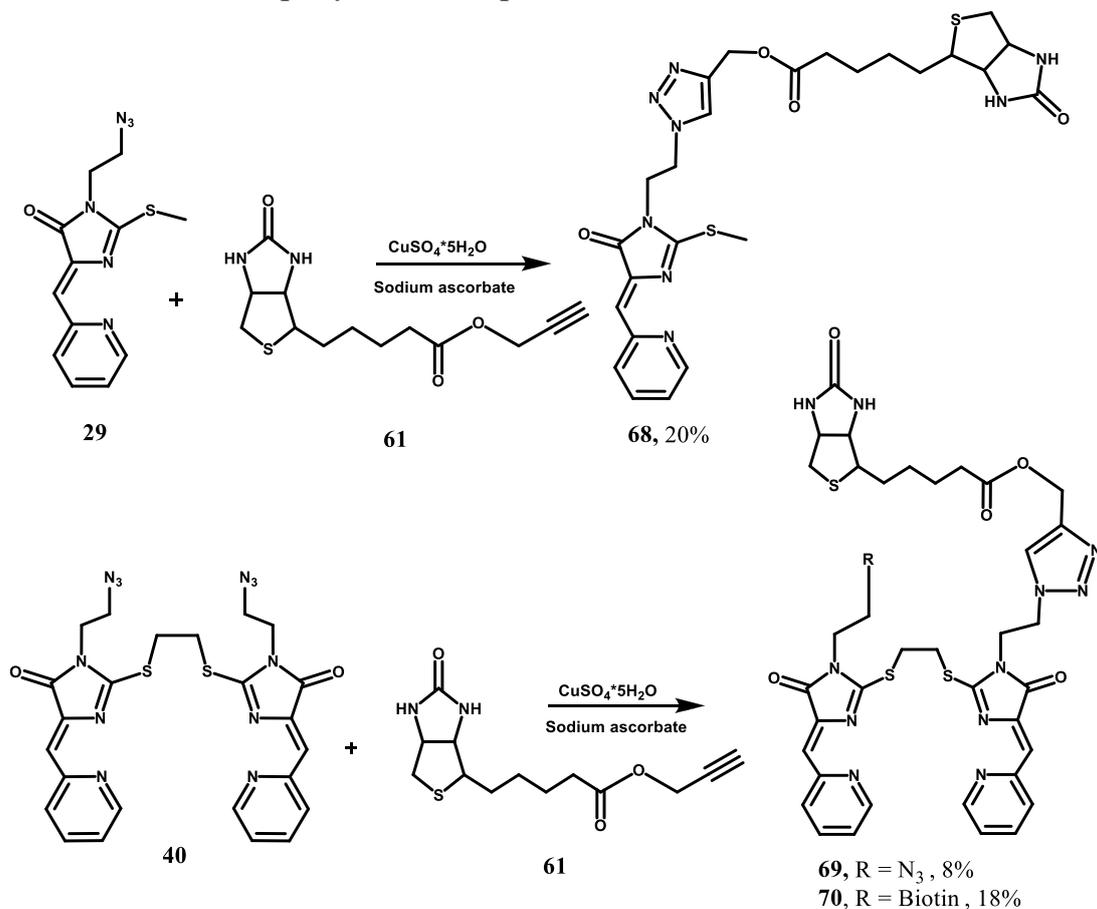




Полученные продукты **62-67** были выделены в индивидуальном виде путем многократной колоночной хроматографии, чем объясняется невысокий выход продуктов в данных реакциях. Синтезированные продукты click-реакций представляют собой перспективные лиганды для проведения реакции комплексообразования и изучения биологической активности.

3.4 Проведение click-реакций с пропаргиловым эфиром биотина

С использованием пропаргилового эфира биотина было получено модельное соединение **68**, а также продукты click-реакций **69** и **70**:

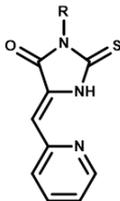
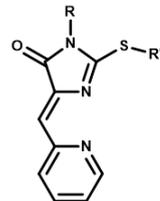
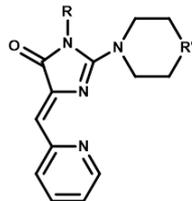
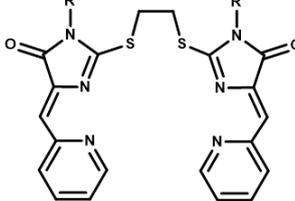


Таким образом, в первой части работы нами были получены новые органические лиганды ряда 2-тиоксотетрагидро-4Н-имидазол-4-онов, 2-алкилтиоимидазолин-4-онов, 2-аминоимидазолин-4-онов, а также модифицированные лиганды на основе 2-алкилтиоимидазолин-4-онов, содержащих векторные группировки. Все полученные соединения были охарактеризованы данными ЯМР ^1H и ИК-спектроскопии и масс-спектрометрии.

4. Получение координационных соединений

Синтезированные лиганды исследовались нами в реакциях комплексообразования с солями Cu(II) и Co(II) . На основании результатов исследований, полученные лиганды можно разделить на 3 типа (Таблица 2).

Таблица 2. Типы полученных координационных соединений

Тип 1	Тип 2		Тип 3
			
<p>9, R = Me 10, R = втор-бутил 11, R = 2-метилбутил 12, R = All 13, R = циклопропил 14, R = Ph 15, R = Bn 16, R = 2-фенилэтил 18, R = $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$ 19, R = $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$ 20, R = $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$</p>	<p>21, R = Me, R' = Me 22, R = втор-бутил, R' = Me 23, R = 2-метилбутил, R' = Me 24, R = All, R' = Me 25, R = циклопропил 26, R = Ph, R' = Me 27, R = Bn, R' = Me 28, R = 2-фенилэтил, R' = Me 29, R = $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$, R' = Me 30, R = $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$, R' = Me 31, R = $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$, R' = Me 55, R = All, R' = β-пентаацетилглюкоза 56, R = Ph, R' = β-пентаацетилглюкоза Продукты клик-реакций, 62, 63, 64, 65, 68</p>	<p>43, R = Ph, R' = O 44, R = Me, R' = O 45, R = All, R' = O 46, R = $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$, R' = O 47, R = Ph, R' = CH_2 48, R = Me, R' = CH_2 49, R = All, R' = CH_2 50, R = $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$, R' = CH_2 51, R = Me, R' = NH 52, R = All, R' = NH 53, R = Ph, R' = NH 54, R = $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$, R' = NH</p>	<p>32, R = Me 33, R = втор-бутил 34, R = 2-метилбутил 35, R = All 36, R = циклопропил 37, R = Ph 38, R = Bn 39, R = 2-фенилэтил 40, R = $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$ 41, R = $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$ 42, R = $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$</p> <p>Продукты клик-реакций, 66, 67, 69, 70</p>

Лиганды типа 1 образуют биядерные комплексы состава $(\text{L-H})_2\text{M}_2\text{Cl}$. При этом они координируют ионы металлов атомами азота тиогидантоинового и пиридинового циклов, а также атомом серы. Лиганды типа 2 образуют мооядерные координационные соединения состава LMCl_2 с образованием хелатных комплексов, в которых атом меди координирован атомами азота пиридинового и тиогидантоинового циклов. Лиганды типа 3, содержащие в своем составе два алкилированных тиогидантоиновых фрагмента, образуют биядерные комплексы типа LM_2Cl_3 или

LM_2Cl_4 . Координация ионов металла осуществляется по двум пиридиновым атомам азота и двум атомам азота N(1) тиогидантоинового цикла.

4.1 Получение координационных соединений с лигандами типа 1

В реакциях лигандов типа 1 с хлоридом меди(II) были получены биядерные комплексы состава $(L-H)_2Cu_2Cl$ (**18a**, **19a**). Каждый из ионов металла в комплексе координирован двумя атомами азота, атомом серы и мостиковым хлорид-анионом (Рис. 1) :

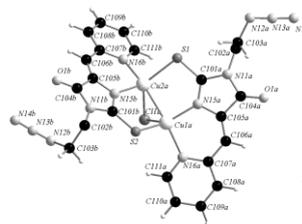
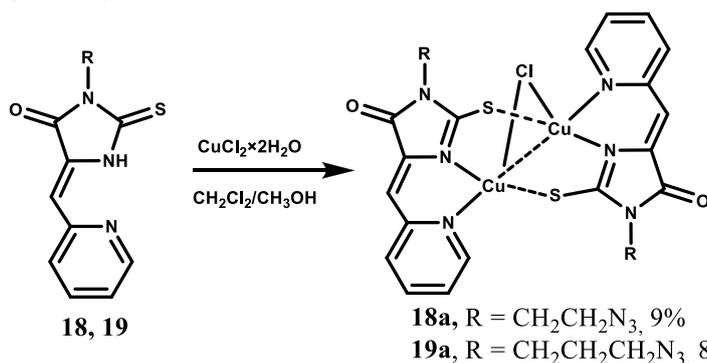


Рис.1 Молекулярная структура координационного соединения **18a**

При введении в реакции комплексообразования лигандов **55**, **56** также образуются координационные соединения типа 1. Состав комплекса **55a** подтвержден данными РСА (Рис. 2). Таким образом, в процессе комплексообразования происходит S-деалкилирование органического лиганда с образованием анионного тиогидантоинового фрагмента.

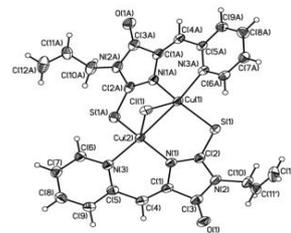
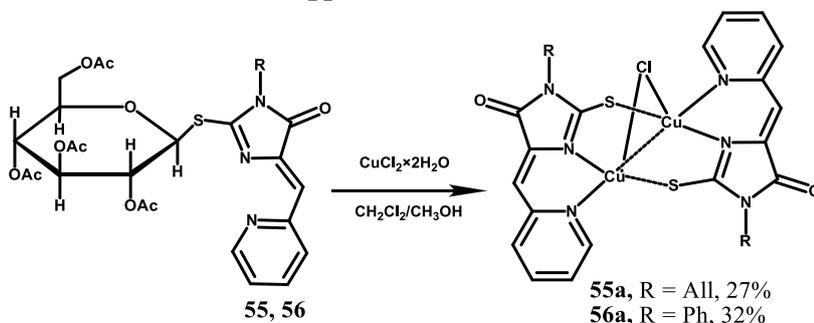
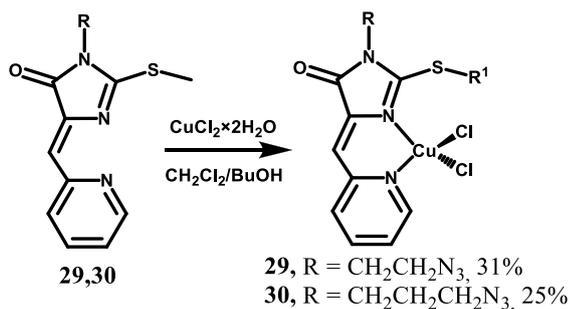


Рис.2 Молекулярная структура координационного соединения **55a**

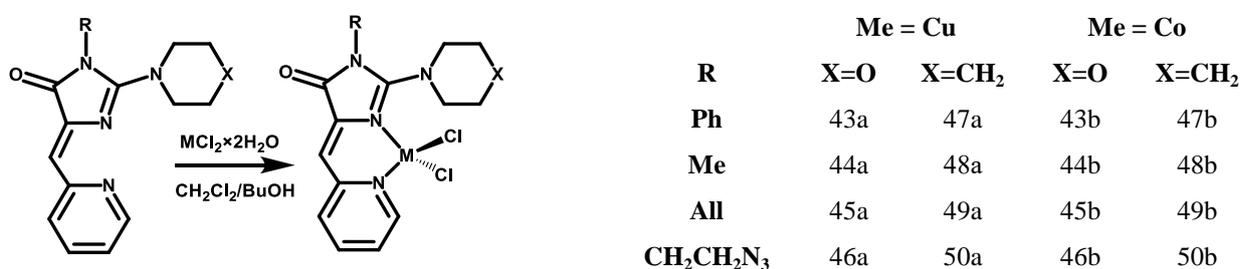
Идентичная геометрия координационной сферы обоих атомов меди в соединениях **18a**, **55a** позволяет сделать вывод, что они представляют собой делокализованные смешанновалентные комплексы типа $[Cu^{+1.5} Cu^{+1.5}]$. Аналогичная комплексам **18a**, **55a** структура комплексов **19a**, **56a** была подтверждена данными электронной спектроскопии.

4.2 Получение координационных соединений с лигандами типа 2

Лиганды **30**, **31** при взаимодействии с $CuCl_2$ образуют координационные соединения $Cu(II)$ **30a**, **31a** с тетраэдрическим лигандным окружением иона меди. Координация меди осуществляется двумя атомами азота (пиридинового и тиогидантоинового цикла) и двумя атомами хлора.



Лиганды ряда 2-аминоимидазолин-4-онов были исследованы в реакциях комплексообразования с хлоридами Cu(II) и Co(II). При смешивании растворов 2-аминоимидазолин-4-оновых лигандов и растворов солей меди и кобальта при комнатной температуре образуются окрашенные порошкообразные или кристаллические координационные соединения **43-50a**, **43-50b**.



Состав всех полученных соединений подтвержден данными элементного анализа.

Структура координационных соединений **43b**, **46b**, **47a**, **48a** была подтверждена данными рентгеноструктурного анализа (Рис. 3):

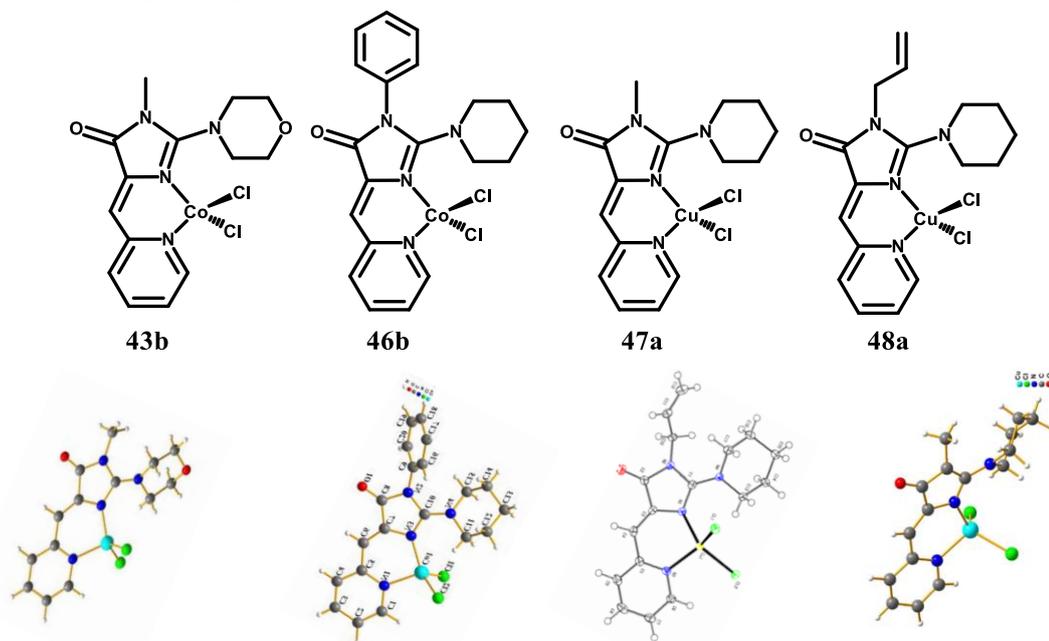


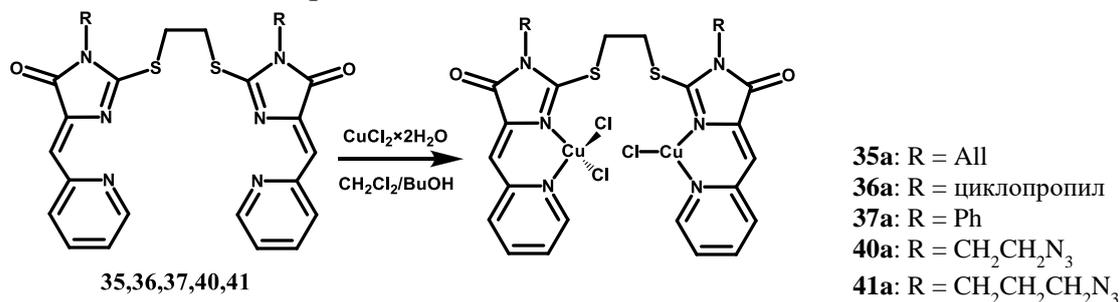
Рис.3 Молекулярная структура координационных соединений **43b**, **46b**, **47a**, **48a**

Таким образом, нами впервые были синтезированы координационные соединения меди(II) и кобальта(II) с лигандами ряда 2-аминоимидазолин-4-онов.

4.3 Получение координационных соединений с лигандами типа 3

Комплексы с лигандами типа 3 представляли наибольший интерес для изучения, поскольку ранее было показано, что координационные соединения этого типа проявляют высокую цитотоксичность по отношению к опухолевым клеткам. Лиганды **32–42** были введены нами в реакции комплексообразования с $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

В ходе предварительных исследований было установлено, что в процессе реакции комплексообразования происходит восстановление Cu(II) до Cu(I) с образованием смешанновалентных координационных соединений. В случае лигандов **35, 36, 37, 40, 41** также были получены смешанновалентные координационные соединения ожидаемого строения:



Состав координационных соединений **36a, 40a, 41a** был подтвержден данными рентгеноструктурного анализа (Рис. 4):

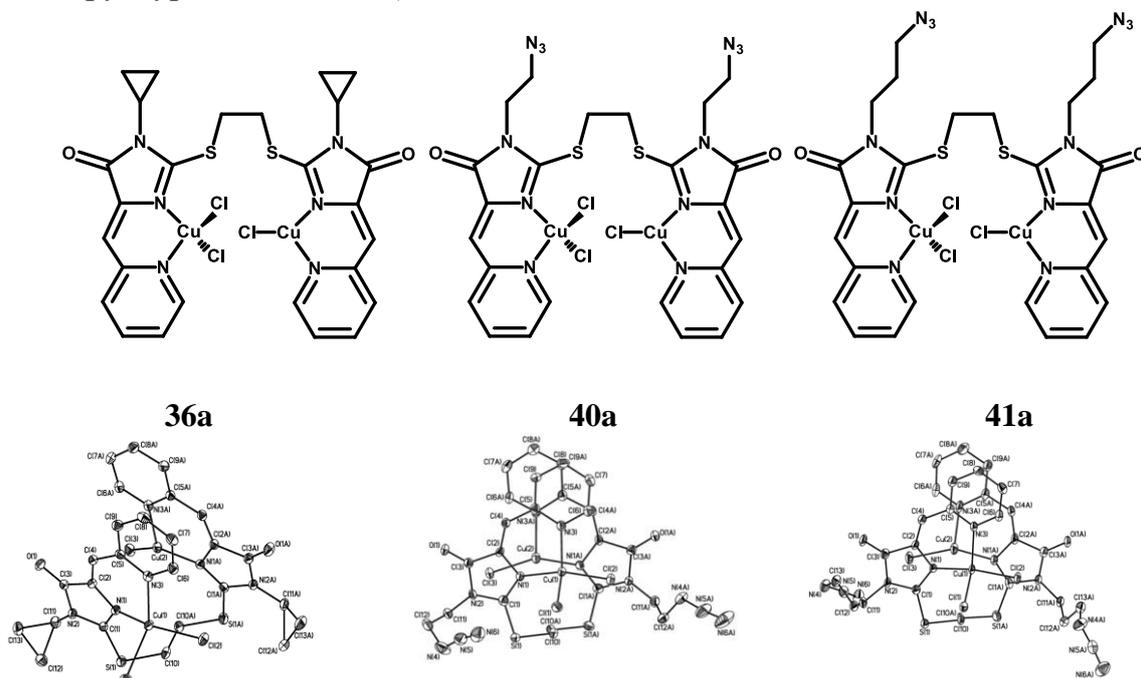
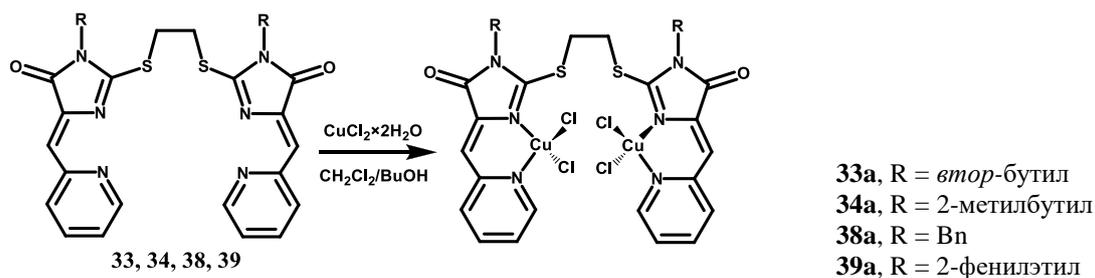


Рис. 4. Молекулярная структура координационных соединений **36a, 40a, 41a**

Однако, в случае лигандов **33, 34, 38, 39** были получены симметричные координационные соединения, в которых оба атома меди(II) имеют тетраэдрическое лигандное окружение:



Состав координационных соединений был подтвержден данными элементного анализа, а в случае координационных соединений **33a**, **38a**, **39a** – также данными рентгеноструктурного анализа (Рис. 5):

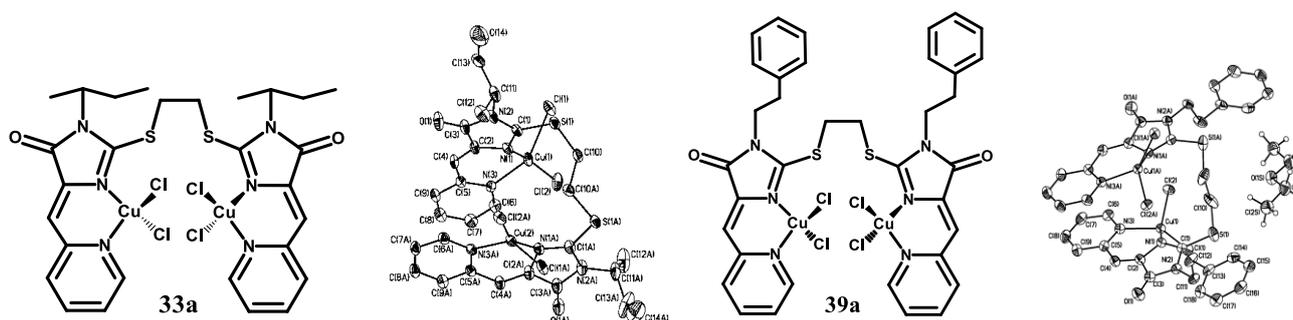
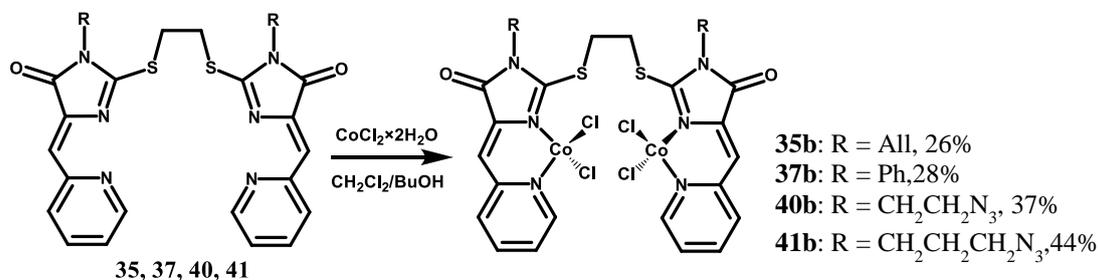


Рис. 5. Молекулярная структура координационного соединения **33a**, **39a**

В реакциях комплексообразования с хлоридом кобальта (II) также были получены координационные соединения симметричного строения, в которых оба иона кобальта(II) имеют тетраэдрическое лигандное окружение.



Состав координационных соединений был подтвержден данными элементного анализа, а в случае координационного соединения **40b** – данными рентгеноструктурного анализа (Рис. 6):

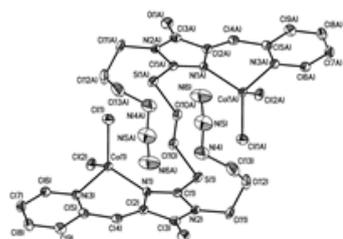


Рис.6 Молекулярная структура координационного соединения **40b**

Таким образом, нами были получены координационные соединения Co(II), Cu(II),(I) на основе 2-тиоксо-тетрагидро-4Н-имидазол-4-онов, 2-алкилтиоимидазолин-4-онов и показано, что протекание внутримолекулярной реакции восстановления Cu(II) до Cu(I) в процессе реакции комплексообразования зависит от природы заместителя в третьем положении

тиогидантоинового цикла. Полученные металлокомплексы являются перспективными для изучения их биологической активности.

5. Изучение биологической активности полученных лигандов и координационных соединений*¹

На первом этапе исследований была определена цитотоксичность ряда синтезированных координационных соединений методом МТТ. Данные представлены в Таблице 3.

Исходя из полученных данных, можно отметить, что во всех случаях координационные соединения обладают более высокой цитотоксичностью по сравнению с соответствующими лигандами. Координационные соединения кобальта менее цитотоксичны по сравнению с аналогичными координационными соединениями меди.

Таблица 3. Исследование цитотоксичности полученных координационных соединений на клеточных линиях MCF-7, SiHa, HEK293, A549:

№	IC ₅₀ , μМ MCF-7	IC ₅₀ , μМ SiHa	IC ₅₀ , μМ HEK293	№	IC ₅₀ , μМ MCF-7	IC ₅₀ , μМ SiHa	IC ₅₀ , μМ HEK293	A549, мкМ
18	-	-	16,3±7,4	40	-	-	24±13,6	-
18a	-	-	1,3±0,15	40a	-	-	4,2±1,8	-
19	-	-	38±11,2	41	12,0±10	54,8±10,5	37,3±15,9	-
19a	-	-	2,3±0,22	41a	13,4±3,8	8,5±0,4	12,7±3,7	-
29a	-	-	16,6±6,1	43a	26,00±2,47	-	18,84±2,11	43,34±3, 16
34a	1,34±1,12	1,5±0,31	2,06±0,5	44a	83,36±14,05	-	38,52±7,45	67,0±17,2
35	15,9±1,4	61,4±25,5	>100	45a	67,0±11,82	-	29,29±8,76	48,63±10,1
35a	4,0±1,6	2,96±0,2	2,5±0,4	47a	10,94±1,57	-	6,79±1,44	13,61±0,83
35b	38,8±5,6	81,1±16,5	38,4±9,0	48a	22,00±3,91	-	10,58±1,15	32,57±3,99
36a	7,41±1,4	3,91±2,3	25,3±1,2	48b	87,28±22,33	-	81,41±12,10	>100
37	11,3±2,6	>100	53±4,4	49b	>100	-	>100	46,82±13,6 3
37a	2,1±0,8	3,08±0,2	2,11±0,8	49a	13,67±0,81	-	6,20±0,33	18,27±1,42
39	34,7±4,8	59,5±31,5	-	Цисплатин	64.1	80	12.4	-
39a	1,27±0,34	0,66±0,33	1,38±0,45	Доксорубин	2,1±0,8	2,0±0,8	1,1±0,1	-

¹ Данная часть работы выполнена совместно с сотрудниками кафедры химии природных соединений МГУ имени М.В. Ломоносова к.х.н., с.н.с. Скворцовым Д.А., к.х.н., доцентом Зверевой М.Э. и член-корр. РАН, профессором Донцовой О.А.

Координационные соединения 2-аминоимидазолонов обладают цитотоксичностью более низкой по сравнению с 2-тиогидантоиновыми аналогами. Среди координационных соединений лигандов 1 типа наиболее активным является координационное соединение **19a**.

Среди координационных соединений лигандов 3 типа наиболее цитотоксичным является координационное соединение **39a**, что делает его перспективным для дальнейшего изучения.

Соединение **35a** является наиболее активным среди полученных смешанновалентных координационных соединений. Была дополнительно исследована цитотоксическая активность координационного соединения **35a** по отношению к опухолевым линиям тройного негативного рака молочной железы, устойчивого к применяемому в клинической практике цисплатину, MDA-MB-231, гепатокарциномы HepG2, рака предстательной железы PC3 (Таблица 4).

Таблица 4. Исследование цитотоксичности координационного соединения **35a** на клеточных линиях MDA-MB-231, HepG2, PC3:

IC ₅₀ , μM	MDA-MB-231	HepG2	PC3
35a	4,14±0,26	5,04±1,10	3,97±0,13

Ввиду высокой активности координационное соединение **35a** было выбрано для дальнейших исследований по установлению механизма цитотоксичности.

6. Исследование внутриклеточного распределения координационных соединений

Важным фактором, определяющим механизм действия препарата, является накопление координационных соединений в различных компартментах клетки. В связи с тем, что полученное нами координационное соединение **35a** не обладает собственной флуоресценцией, для визуализации комплексов в клетках был использован подход, основанный на конъюгации флуоресцентного красителя с азидосодержащими комплексами click-реакцией внутри клетки. Для этой цели клеточную линию HEK293 обрабатывали сходным с **35a** по строению смешанновалентным координационным соединением **40a** и соответствующим лигандом **40**. После

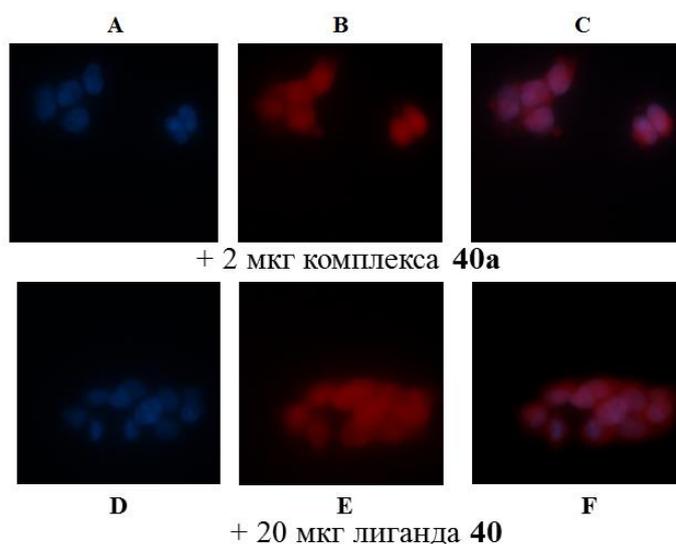


Рис.7 Визуализация распределения соединений **40**, **40a** в клеточном объеме: А, D – визуализация ядра с использованием реагента DAPI; В, Е – Click-реакция соединений **40**, **40a** с флуоресцентным алкином diSulfo Cy5 ; С, F – наложение рисунков В и Е.

инкубирования клетки фиксировались и обрабатывались алкином diSulfo Cy5 в присутствии сульфата меди и аскорбата натрия.

Из полученных данных видно (Рис. 7), что уже через 15 мин координационное соединение **40a** визуализируется в ядре. На серии микрофотографий, полученных методом конфокальной микроскопии, отчетливо видно совпадение контуров ядра, полученных при помощи реагента DAPI и флуоресцентного аддукта азида **40a** с Cy5. В случае лиганда **40** также происходит трансфекция, однако лиганд равномерно распределяется по клеткам HEK293.

Следует отметить, что в литературе описаны лишь единичные примеры препаратов, способных накапливаться в клеточном ядре, что делает полученный нами класс координационных соединений перспективным для разработки терапевтических агентов. Факт локализации в ядре позволяет предположить, что мишенью данного класса соединений являются ДНК- и РНК-оперирующие ферменты.

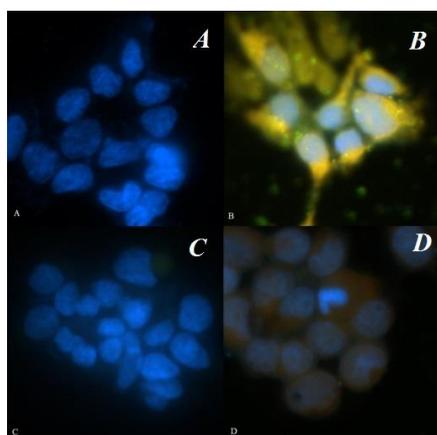


Рис.8 Исследование интернализации конъюгатов координационных соединений с меченым олигонуклеотидом (Клетки HEK-293 + DAPI). A:**41b**, B:**41b**+oligoFAM, C:**41a**, D:**41a**+oligoFAM.

Также было проведено сравнительное исследование внутриклеточной интернализации конъюгатов предварительно полученных комплексных соединений Co(II) (**41b**) и Cu(II) (**41a**) с олигонуклеотидом (5'-FAM - CGCTACCTCTCTTCCTCGTGGTTTTTCGGTGC TCTACACGTTTCAGAGAAAC-3') меченным флуоресцентной меткой (Рис 8). Комплексные соединения кобальта и меди без олигонуклеотида показали схожие уровни интернализации; в то же время конъюгат на основе меди показал значительно более высокий уровень внедрения по сравнению с аналогичным соединением на основе кобальта.

Полученные данные свидетельствуют о возможности использования подобных комплексных соединений кобальта (ввиду отсутствия у них собственной токсичности) в качестве носителей цитотоксических агентов и терапевтических олигонуклеотидов

7. Исследование механизма цитотоксичности координационного соединения **35a**

Одной из основных мишеней металлсодержащих химиотерапевтических агентов является ДНК, и, следовательно, изучение механизма взаимодействия координационного соединения с ДНК является ключевым для оценки терапевтического действия и возможных побочных эффектов.

7.1 Исследование способности вызывать деградацию ДНК

Одним из возможных механизмов цитотоксичности терапевтических агентов является способность вызывать деградацию ДНК. Способность координационного соединения **35a** вызывать деструкцию ДНК была оценена методом TUNEL (Рис. 9):

На серии микрофотографий (Рис. 9) видно, что апоптотический сигнал был выявлен в клетках, обработанных раствором координационного соединения **35a**, в то время как в клетках, обработанных лигандом **35**, апоптотический сигнал не регистрировался.

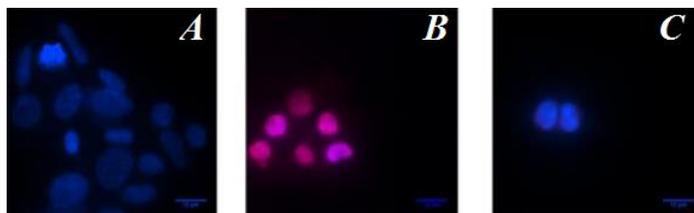


Рис.9 А: Клетки HER293 (ядра, меченные реагентом DAPI), В: +6,5μМ 35a, С: +16μМ 35

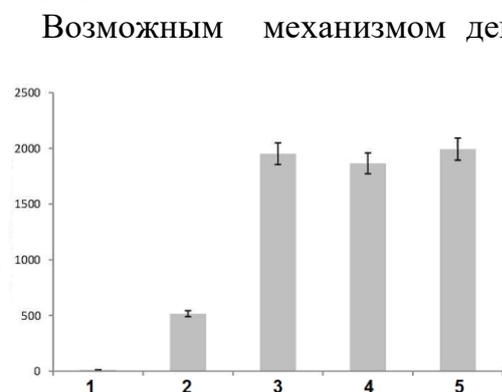


Рис.10 Результаты проточной цитометрии соединений **35** и **35a**:

- 1: Клетки HEK293,
- 2: HEK293+SM-H₂DCFDA,
- 3: HEK293+SM-H₂DCFDA+H₂O₂,
- 4: HEK293+SM-H₂DCFDA+2,6 μМ **35a**,
- 5: HEK293+SM-H₂DCFDA+16 μМ **35**

Возможным механизмом деградации ДНК является окислительный стресс вследствие взаимодействия с активными формами кислорода. Способность координационного соединения **35a** и лиганда **35** образовывать активные формы кислорода была оценена методом проточной цитометрии. Результаты представлены на Рис. 10.

Из представленных данных видно, что координационное соединение **35a** и лиганд **35** способны образовывать активные формы кислорода в одинаковой степени, однако, деградация ДНК наблюдается только в случае

координационного соединения **35a**. Таким образом, деградация ДНК под действием координационного соединения **35a** происходит без участия активных форм кислорода.

7.2 Исследование способности соединений **35** и **35a** интеркалировать ДНК

Для изучения способности координационного соединения **35a** интеркалировать ДНК был использован метод конкурентного связывания. Растворы комплекса ДНК с классическим флуоресцентным интеркалятором – бромистым этидием (EB) – титровались растворами лиганда **35** и координационного соединения **35a**. Из полученных данных видно, что добавление к раствору ДНК возрастающих количеств соединения **35a** приводит к тушению флуоресценции, свидетельствующее о том, что координационное соединение **35a** способно взаимодействовать с ДНК,

предположительно, путем интеркаляции. По тушению флуоресценции была оценена константа устойчивости комплекса **35a** с ДНК, $K_b = 8,0 \cdot 10^6$. В случае титрования раствора ДНК + ЕВ раствором лиганда **35** тушения флуоресценции не наблюдалось, что свидетельствует об отсутствии интеркаляции.

7.3 Изучение связывания соединений **35** и **35a** с БСА

Человеческий сывороточный альбумин является главным белком-

носителем в кровеносной системе человека. Способность препарата образовывать устойчивый комплекс с альбумином оказывает существенное влияние на фармакодинамику, метаболизм и эффективность лекарственного средства. Были проведены исследования связывания координационного соединения **35a** с бычим

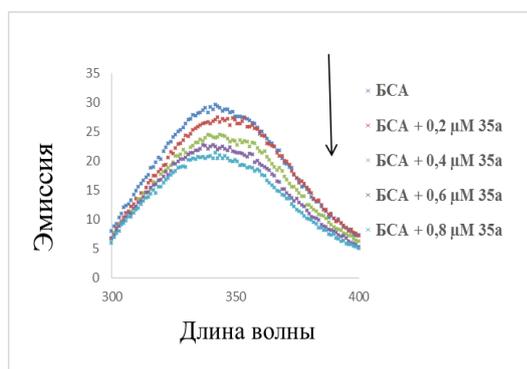


Рис.12 Титрование раствора БСА координационным соединением **35a**, $[БСА] - 1 \mu M$, $[35a] - [0,2] - [0,8] \mu M$

сывороточным альбумином (БСА) - структурным гомологом человеческого сывороточного альбумина. Раствор БСА титровали растворами лиганда **35** и координационного соединения **35a**. Из полученных данных (Рис.12) видно, что добавление к раствору БСА возрастающих количеств координационного соединения **35a** приводит к тушению флуоресценции, что свидетельствует о том, что координационное соединение **35a** способно образовывать устойчивый комплекс с БСА. При добавлении к раствору БСА возрастающих количеств лиганда **35** не удается зафиксировать устойчивого тушения флуоресценции. Используя уравнение Штерна – Вольмера, была оценена константа устойчивости комплекса **35a** с БСА, $K_b = 1,9 \cdot 10^6$, а также число сайтов связывания **35a** с белком, $n=1$. Способность координационного соединения **35a** связываться с БСА позволяет предположить, что координационное соединение скорее всего будет транспортироваться альбумином после внутривенного введения.

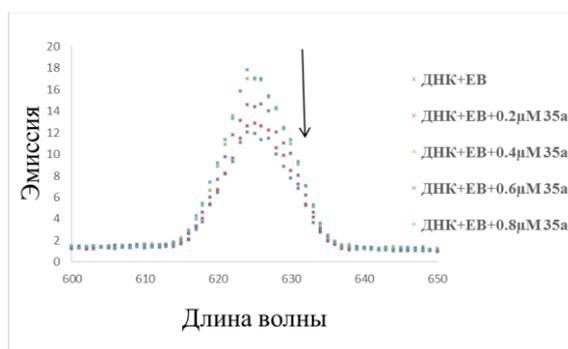


Рис.11 Титрование раствора ДНК+бромистый этидий (ЕВ) координационным соединением **35a** $[ДНК] - 1 \mu M$, $[ЕВ] - 1 \mu M$, $[35a] - [0,2] - [0,8] \mu M$

8. Исследования in vivo

8.1 Исследования биораспределения координационного соединения 35a в организме мыши²

В качестве контрольного препарата было выбрано координационное соединение **35b***, содержащий радиоактивную метку. В качестве радиоактивной метки был выбран ⁵⁷Co (T_{1/2} = 271 день). Координационное соединение с радиоактивной меткой было получено по аналогичной соединению **35b** схеме.

Исследуемая группа мышей была разделена на 2 подгруппы. Первой подгруппе был введен раствор комплексного соединения **35b*** в дозе 20 мг/кг, второй – раствор ⁵⁷CoCl₂*2H₂O в дозе 6,5 мг/кг. Контроль распределения был проведен дважды: через 8 часов после введения и через сутки. Результаты представлены в таблице 5.

Таблица 5. Распределение препарата **35b*** и Co⁵⁷Cl₂*6H₂O в организме мыши

Орган/Время	Co ⁵⁷ Cl ₂ *6H ₂ O		35b*	
	8часов	24часа	8часов	24часа
Печень	78,6±1	73,8±1,6	70,8±1,7	70,4±1,9
Почки	8,3±1,1	10,3±0,9	12,2±1,1	14,0±1,1
Сердце	3,7±1,2	6,1±1,2	6,3±1,0	5,3±1,2
Легкие	5,9±1,3	5,9±1,3	6,0±1,3	6,3±1,3
Селезенка	2,7±0,5	2,8±0,6	3,8±0,5	2,7±0,5
Мозг	0,8±0,4	1,2±0,5	0,9±0,4	1,1±0,5

Как видно из приведенных данных, наибольшая часть введенного препарата остается в печени (как для соли кобальта, так и для его координационного соединения). Однако, через 24 часа после введения концентрация координационного соединения **35b*** в печени возрастает, в отличие от концентрации ⁵⁷CoCl₂*2H₂O.

Связывание препарата и соли печенью может быть объяснено несколькими путями. Печень является мишенью для нехелатированных ионов металла, что объясняется связыванием металлов металлотioneинами. Также, накопление препарата в печени может быть объяснено липофильностью препарата.

8.2 Доклинические исследования координационного соединения 35a³

8.2.1 Исследования на здоровых особях

В ходе предварительных испытаний была оценена острая токсичность координационного соединения **35a**, максимально переносимая доза, а также LD₅₀. В качестве биологической модели для исследования использовали самцов мышей аутбредной линии Balb/C. Были получены значения для максимальной переносимой дозы, которая составила 30 мг/кг. LD₅₀ составляет 50 мг/кг.

² Данная часть работы выполнена совместно с сотрудниками кафедры радиохимии МГУ имени М.В. Ломоносова

³ Работа выполнена совместно с ФГБУН НИЦ ТБП ФМБА России, г. Серпухов

8.2.2 Исследования на особях с привитой аденокарциномой молочной железы Ca755

По данным исследования соединения **35a** на серии мышей с привитой аденокарциномой молочной железы Ca755 терапевтическое окно препарата составляет 2.1

В подопытной группе мышей с Ca755, получивших курс введения исследуемого вещества в дозе 24 мг/кг, показатель торможения роста опухоли составил 73,5% на седьмые сутки после окончания курса лечения и 59,5% – на четырнадцатые сутки после окончания курса лечения.

Таким образом, показан ингибирующий эффект координационного соединения **35a** на серии мышей с Ca755, что делает его перспективным соединением – лидером для дальнейшей оптимизации и биологического тестирования.

Выводы:

1. Предложены новые и оптимизированы известные методы направленного синтеза органических лигандов - серосодержащих производных пиридина, имидазола, 2-тиоксо-тетрагидро-4Н-имидазол-4-онов.

2. Разработан новый синтетический подход к синтезу 2-аминоимидазолин-4-онов: реакции замещения алкилтиогруппы в производных 2-тиогидантоинов на аминную группировку в присутствии кислот Льюиса.

3. Изучено соотношение структура – цитотоксичность для полученных лигандов и координационных соединений.

4. Впервые изучена click-реакция в ряду производных 2-алкилтио-5-(пиридилметил)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-онов; получены триазолы, содержащие фрагменты биотина и углеводов.

5. Методом конфокальной флуоресцентной микроскопии впервые показана локализация конъюгата медьсодержащего координационного соединения в клеточном ядре.

6. Определена максимально переносимая доза соединения **35a** – координационного соединения (5Z, 5'Z)-2,2'-(этан-1,2-диилдисульфанилдиил)бис(5-(2-пиридилметил)-3-аллил-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-она) с хлоридом меди (II). Установлено, что для мышей линий C₅₇Bl/6 и DBA/2 МПД в 4% проксаноле составляет 30 мг/кг.

7. Проведено исследование терапевтического эффекта координационного соединения **35a** на серии мышей с привитой аденокарциномой молочной железы Ca755. Установлено, что при введении соединения **35a** в терапевтической дозе 24мг/кг торможение роста опухоли составило 73% на 7 день после окончания курса лечения.

Публикации:

1. Majouga A.G., Zvereva M.I., Rubtsova M.P., Skvortsov D.A., Mironov A., Azhibek D. M., **Krasnovskaya O. O.**, Gerasimov V. M., Udina A.V., Vorozhtsov N.I., Beloglazkina E.K., Agron L., Mikhina L.V., Tretyakova A. V., Zyk N. V., Zefirov N. S., Kabanov A.V., Dontsova O. A.. Mixed Valence Copper(I,II) Binuclear Complexes with Unexpected Structure: Synthesis, Biological Properties and Anticancer Activity/ *Journal of Medicinal Chemistry*, 2014, 57, с. 6252-6258

2. Kuznetsova O.Y., Antipin R. L., Udina A.V., **Krasnovskaya O.O.**, Beloglazkina E.K., Terenin V. I., Koteliansky V.E., Zyk N. V., Majouga A.G. «An Improved Protocol for Synthesis of 3-Substituted 5-Arylidene-2-thiohydantoins: Two-step Procedure Alternative to Classical Methods»/ Journal of heterocyclic chemistry, 2015, DOI: 10.1002/jhet.2464
3. Миронов А. В., Антипов Е. В., Белоглазкина Е. К., Мажуга А. Г., **Красновская О. О.**, Герасимов В. М., Зык Н. В. Определение структуры бис[(4Z)-2-тиолято-4-[(пиридин-2-ил)метил]-1-(2-азидоэтил)-имидазол-5(4H)-он]димедь хлорида из порошковых рентгеновских данных Известия академии наук. Серия химическая. 2013, с.671.
4. **Красновская О.О.**, Федоров Ю.В., Белоглазкина Е.К., Зык Н.В., Скворцов Д.А., Донцова О.А., Мажуга А.Г. Новые 5-пиридилметилден-2-амино-имидазол-4-оны координационные соединения на их основе, материалы в сборнике Международный конгресс "Kost-2015", Москва, с. 236, 2015
5. Белоглазкина Е.К., Мажуга А.Г., Юдина А.В., **Красновская О.О.**, Моисеева А.А., Зык Н.В. Трансформации 2-тиогидантоинов и их производных в реакциях комплексообразования. / материалы в сборнике Международный конгресс "Kost-2015", Москва, с. 93, 2015
6. Алешин Г.Ю., **Красновская О.О.**, Мажуга А.Г., Калмыков С.Н. Распределение препаратов на основе меченых биядерных комплексов кобальта в организме лабораторной мыши / VIII Российская конференция по радиохимии «Радиохимия 2015», Железногорск, Россия, 2015.
7. **Krasnovskaya O.O.**, Ivanishin T.V., Majouga A.G., Zyk N. V., Beloglazkina E.K., Skvortsov D.A., Doncova O.A. Mixed Cu(II)/ Cu(I) Complexes with Bioheterocycles as the Platform for Construction of Novel Anticancer Agents. Материалы в сборнике XVI International Conference on Heterocycles in Bioorganic Chemistry, Metz, Франция, тезисы, с. 61, 2015.
8. Федоров Ю.В., **Красновская О.О.**, Чистов Д.Л., Мажуга А.Г., Белоглазкина Е.К., Зык Н.В. Новые 2-пиридилметилден-2-аминоимидазол-4-оны: синтез из 2-тиогидантоинов и 2-алкилтио-4Р-имидазол-4-онов / в сборнике Тезисы докладов III Всероссийской научной конференции с международным участием "Успехи синтеза и комплексообразования", Москва, тезисы, с. 308, 2014.
9. Бунятов М.И., Пугач А.В., **Красновская О.О.**, Кузнецова О.Ю., Мажуга А.Г., Белоглазкина Е.К., Зык Н.В. Синтез нового класса низкомолекулярных стабилизаторов G4- Квадруплексов / Материалы в сборнике «VI молодёжная конференция ИОХ РАН посвящённая 80-летию со дня основания ИОХ РАН», г. Москва, с.105, 2014
10. **Красновская О.О.**, Федоров Ю.В., Чистов Д.Л., Мажуга А.Г., Белоглазкина Е.К., Зык Н.В. Синтез новых 5-пиридилметилден – 2 аминокимидазол-4-онов реакцией нуклеофильного замещения в 2-тиогидантоинах и 2- алкилтио-имидазолин-4-онов / Материалы в сборнике «VI молодёжная конференция ИОХ РАН посвящённая 80-летию со дня основания ИОХ РАН», г. Москва, с.180, 2014
11. **Красновская О.О.**, Герасимов В.М., Мажуга А.Г., Белоглазкина Е.К., Зык Н.В. 2 – Алкилтио-4Н-имидазол-4-оны, содержащие азидные и пропаргильные группировки, их исследования в Click – реакциях. Тезисы докладов III Всероссийской научной конференции с международным участием "Успехи синтеза и комплексообразования", Москва, с. 21-25, 2014
12. **Красновская О.О.**, Кузнецова О.Ю., Белоглазкина Е.К., Мажуга А.Г., Клячко Н.Л., Кабанов А.В., Зык Н.В. Синтез и координационные свойства производных 2-тиогидантоинов, потенциально проявляющих противоопухолевую активность / Материалы в сборнике «Кластер конференций по органической химии "ОргХим-2013", Санкт-Петербург, с.152, 2013
13. Герасимов В.М., **Красновская О.О.**, Кузнецова О.Ю., Мажуга А.Г., Белоглазкина Е.К., Зык Н.В. Синтез и координационные свойства производных 2-тиогидантоинов, содержащих алкилазидные фрагменты / Материалы в сборнике «Кластер конференций по органической химии "ОргХим-2013", Санкт-Петербург, с.75, 2013
14. **Красновская О.О.**, Мажуга А.Г., Белоглазкина Е.К., Зык Н.В., Клячко Н.Л., Кабанов А.В. / Синтез и координационные свойства производных 2-тиогидантоинов содержащих алкиламинные заместители / Материалы в сборнике «II Всероссийская научная конференция «Успехи синтеза и комплексообразования», Москва, с.128, 2012