



УДК 577.113.7

# ПОЛИОКСОНИОБАТ ПЛАТИНЫ: СТАБИЛЬНОСТЬ, ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ И ПОГЛОЩЕНИЕ КЛЕТКАМИ

© 2025 г. А. В. Юдкина\*, \*\*, #, И. П. Вохтанцев\*, Д. А. Рычков\*\*, \*\*\*, В. В. Волчек\*\*\*\*, П. А. Абрамов\*\*\*\*, М. Н. Соколов\*\*\*\*, Д. О. Жарков\*, \*\*\*, #

\* Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,

Россия, 630090 Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 8

\*\* ЦКП “Сибирский кольцевой источник фотонов” ФИЦ “Институт катализа СО РАН”,

Россия, 630559, Новосибирская обл., р.п. Кольцово, Никольский просп., 1

\*\*\* Институт химии твердого тела и механохимии СО РАН,

Россия, 630128 Новосибирск, ул. Кутателадзе, 18

\*\*\*\* Институт неорганической химии им. А.В. Николаева СО РАН,

Россия, 630090 Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 3

\*\*\*\*\* Новосибирский национальный исследовательский государственный университет,

Россия, 630090 Новосибирск, ул. Пирогова, 2

Поступила в редакцию 15.10.2024 г.

После доработки 28.10.2024 г.

Принята к публикации 31.10.2024 г.

Полиоксометаллаты платины – комплексы Pt(IV), содержащие объемные кластерные лиганды. Ранее было показано, что полиоксониобат платины структуры  $[(\text{Nb}_6\text{O}_{19})_2\{\text{Pt}(\text{OH})_2\}_2]^{12-}$  (Pt-PON1), содержащий два платиновых центра, способен образовывать ковалентный конъюгат с ДНК. В настоящей работе исследована структурная стабильность Pt-PON1 и его конъюгата с гуанином по положению N7, цитотоксичность этого соединения и его накопление клетками. Квантово-механическое моделирование показало, что комплекс Pt-PON1 нестабилен вне кристаллической решетки, а его конъюгат с гуанином должен достаточно легко претерпевать структурную перестройку. Наблюдалось значительное снижение выживаемости *Escherichia coli* штаммов XL1-Blue и DH5α и клеток человека линий HEK293T и MCF-7 в присутствии Pt-PON1 уже в концентрации 20 мкМ, однако при более высоких концентрациях соединение было малорастворимо в биологически совместимых средах. Методом атомно-эмиссионной спектроскопии по Pt и Nb показано, что Pt-PON1 эффективно поглощается клетками человека в стехиометрии, соответствующей исходному комплексу. Таким образом, полиоксометаллаты платины при условии решения проблемы растворимости могут рассматриваться как перспективные противоопухолевые агенты.

**Ключевые слова:** полиоксометаллаты, препараты платины, повреждение ДНК, цитотоксичность

**DOI:** 10.31857/S0132342325020141, **EDN:** LBFJNY

## ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на развитие в последние годы новых высокоселективных методов терапевтической онкологии, традиционная химиотерапия до сих пор остается одним из главных подходов к лечению злокачественных новообразований. В частности, *цис*-диамминдихлорплатина(II) (*цис*-

платин) входит в число препаратов первого ряда при лечении рака яичника, яичка, мочевого пузыря, плоскоклеточного рака головы и шеи, герминогенных опухолей и некоторых других онкологических заболеваний [1, 2]. В связи с высокой эффективностью противоопухолевого действия соединений платины разработка новых средств на

Сокращения: DMEM – среда Игла, модифицированная Дульбекко;  $\text{EC}_{50}$  – концентрация токсичного соединения, вызывающая 50%-ную гибель клеток; MTT – 3-(4,5-диметилтиазолил-2)-2,5-дифенилтетразолийбромид; PBS – фосфатно-солевой буфер; PBS-Cs – фосфатно-солевой буфер с заменой Na на Cs; Pt-PON – полиоксониобат платины; Pt-PON1 –  $[(\text{Nb}_6\text{O}_{19})_2\{\text{Pt}(\text{OH})_2\}_2]^{12-}$ ; Pt-PON2 –  $[\text{Pt}(\text{Nb}_6\text{O}_{19})_2]^{12-}$ .

# Автор для связи: (тел.: +7 (383) 363-51-87; эл. почта: ayudkina@niboch.nsc.ru, dzharkov@niboch.nsc.ru).

их основе активно продолжается [3–6]. Поэтому поиск новых классов цитотоксичных платиновых комплексов, которые по своим биологическим свойствам отличаются от уже существующих и перспективны для разработки противоопухолевых средств, представляется весьма актуальной задачей. Так, активно исследуются соединения платины(IV), которые стабильны во внеклеточной среде, но внутри клеток могут восстанавливаться до высокореактивных комплексов платины(II) [7–9].

Полиоксометаллаты – анионные многоцентровые группировки переходных металлов – в последнее время вызывают значительный интерес в фармакологии [10–12]. Показано их бактерицидное и противовирусное действие [13–16], цитотоксичность в отношении раковых клеток [17, 18], ингибирование ряда метаболических и регуляторных ферментов [19] и подавление амилоидогенеза [20]. С точки зрения терапии онкологических заболеваний особый интерес вызывают пути проникновения полиоксометаллатов в клетку, отличные от механизмов большинства низкомолекулярных соединений, и медленное выведение из клеток, что затрудняет приобретение лекарственной устойчивости. В настоящее время активно развиваются способы синтеза разнообразных полиоксометаллатных кластеров, в том числе конъюгированных с биологически активными органическими лигандами [21, 22].

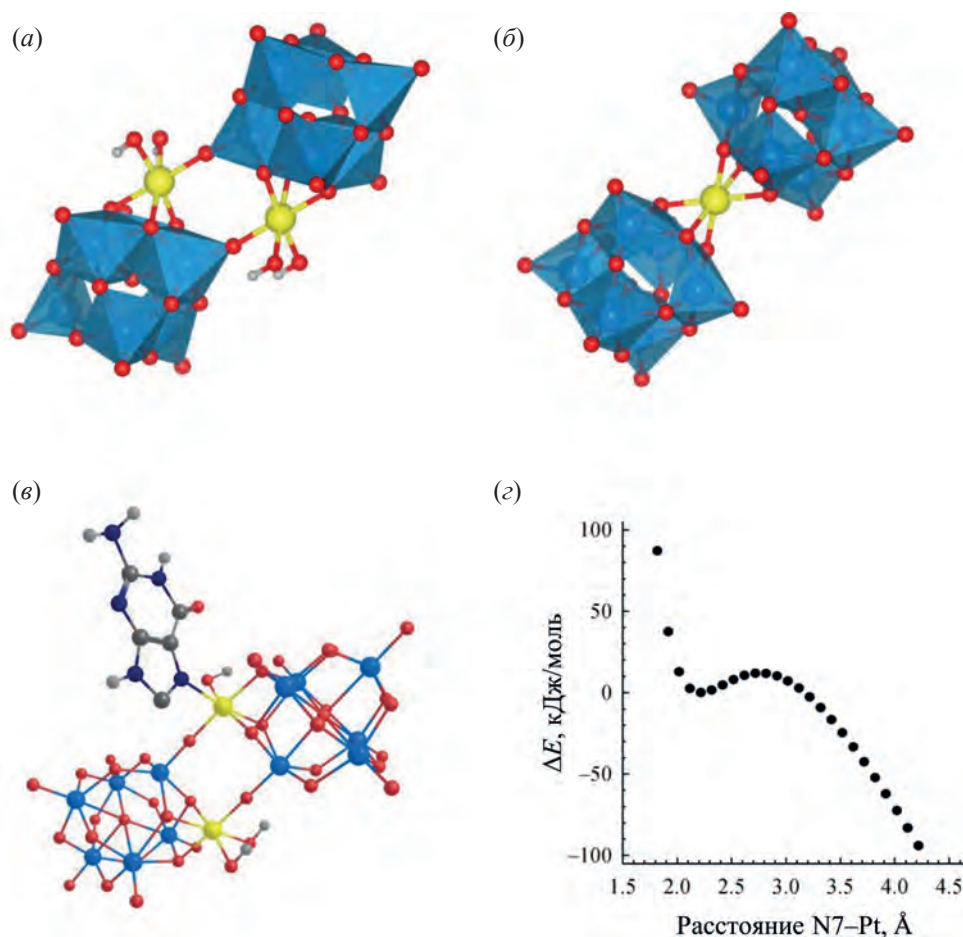
Несмотря на большой интерес как к платиновым агентам, так и к полиоксометаллатам, цитотоксичное действие полиоксометаллатных соединений, содержащих атомы Pt, практически не изучалось [23]. Ранее было показано, что соединение структуры  $[(\text{Nb}_6\text{O}_{19})_2\{\text{Pt}(\text{OH})_2\}_2]^{12-}$  (Pt-PON1, рис. 1а), содержащее два атома Pt(IV) и два координирующих кластера типа Линквиста [24], достаточно эффективно образует ковалентные аддукты с остатками гуанина в ДНК [25]. Однако структура таких аддуктов и биологические последствия их присутствия оставались неизученными.

Целью данной работы были компьютерное моделирование образования аддуктов Pt-PON1 с ДНК, оценка цитотоксичности этого соединения для клеток бактерий и человека и исследование его накопления в клетке.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

**Квантово-механическое моделирование образования аддукта полиоксониобата платины с гуанином.** Ранее было показано, что Pt-PON1 образует ковалентные аддукты с основанием Gua в составе ДНК, предположительно по механизму замещения гидроксигруппы при центральном атоме Pt нуклеофильной группой Gua аналогично реакции с *цис*-диамминдиакваплатиной  $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{OH}_2)_2]^{2+}$  [25, 26]. По данным масс-спектрометрического анализа, аддукты были легче ожидаемого комплекса Pt-PON1 с гидроксильным лигандом, замененным на Gua. В связи с этим было выдвинуто предположение, что после связывания с ДНК комплекс Pt-PON1 может подвергаться реорганизации, приводящей к потере одного атома Pt и перестройке координационной сферы оставшегося атома аналогично тому, как в водном растворе объемные полиоксометаллатные лиганды замещаются молекулами воды с переходом бицентрового комплекса  $[(\text{Nb}_6\text{O}_{19})_2\{\text{Pt}(\text{OH})_2\}_2]^{12-}$  в моноцентровый  $[\text{Pt}(\text{Nb}_6\text{O}_{19})_2]^{12-}$  (Pt-PON2) [24] (рис. 1а, 1б). Сам по себе комплекс Pt-PON2, очевидно, не может реагировать с ДНК ввиду занятости всех валентных связей металлоцентра.

Для интерпретации возможной природы аддукта Pt-PON с ДНК в рамках настоящей работы исследовали структурную стабильность и энергетические характеристики соединений платины методом теории функционала плотности в программном пакете Gaussian16. При попытке получения изменения энергии Гиббса для реакции перехода Pt-PON1 в смесь Pt-PON2 и  $\text{Pt}(\text{OH})_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$  (рис. 1а, 1б) путем оптимизации структур и расчета колебательного спектра при 298 К такие энергии были получены для Pt-PON2 и сольватированного гидроксида платины, однако полная оптимизация Pt-PON1 приводила к разрыву связи Pt–O. Одной из возможных причин такого поведения может быть то, что стартовые координаты атомов структуры в кристаллической упаковке [24] находятся вдали от локального минимума энергии системы в изолированной молекуле. Предварительное использование полуэмпирических методов PM6 и PM7, реализованных в программе MOPAC [27], применение других комбинаций функционалов (M06-2X, BLYP, B3LYP) и базисных наборов (3-21, 6-31 и



**Рис. 1.** Моделирование образования аддукта полиоксонниобата платины с гуанином. (а) – Структура бицентрального полиоксонниобата платины  $[(\text{Nb}_6\text{O}_{19})_2\{\text{Pt}(\text{OH})_2\}_2]^{12-}$  (Pt-PON1); (б) – структура моноцентрального полиоксонниобата платины  $[\text{Pt}(\text{Nb}_6\text{O}_{19})_2]^{12-}$  (Pt-PON2). Структуры приведены по данным работы [24]; (в) – структура аддукта Gua-Pt-PON1; (г) – профиль энергии связи N7[Gua]-Pt, рассчитанный на уровне теории B3LYP со смешанным базисным набором 6-31 и LANL2DZ.

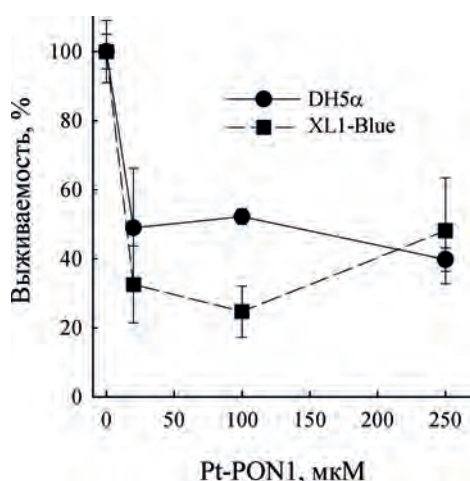
6-311+ для атомов H и O, LANL2DZ и SDD для атомов Pt и Nb) [28], ограничения на максимальный шаг изменения координат атомов и изменение алгоритма вычисления самосогласованного поля не привели к сохранению целостности системы. Вне зависимости от алгоритма оптимизация приводила к разрыву связи Pt–O между двумя фрагментами полиоксонниобата, что свидетельствует о нестабильности Pt-PON1 в газовой и жидкой фазе. Это согласуется с экспериментально наблюдаемым постепенным превращением Pt-PON1 в Pt-PON2 при длительном хранении в водном растворе [24].

Моделирование аддукта Pt-PON1 с Gua по положению N7 (рис. 1г) с использованием функ-

ционалов B3LYP и wB97X-D показало, что соединение Gua-Pt-PON1 также нестабильно и подвержено разрыву тех же связей Pt–O при сохранении связи Gua-Pt-PON1 через атомы N7 и Pt. При фиксировании связей Pt–O (в том числе с последующей релаксацией после оптимизации позиций других атомов) можно построить профиль энергии связи Gua-Pt-PON1. Как видно из рис. 1г, образование такой связи с длиной  $\sim 2.22$  Å выгодно, но стабильность ее невысока ( $\sim 12$  кДж/моль). Таким образом, расчеты подтверждают потенциальную возможность образования конъюгата Pt-PON1 с Gua, однако первоначальный аддукт, скорее всего, немедленно подвергнется структурной перестройке.

**Цитотоксичность Pt-PON1 для клеток *Escherichia coli*.** Для первичной оценки цитотоксического действия Pt-PON1 исследовали их способность подавлять рост *E. coli* штаммов XL1-Blue и DH5 $\alpha$ . Помимо подавленной за счет мутации *recA1* в обоих штаммах рекомбинационной репарации, в геноме DH5 $\alpha$  инактивированы гены репрессора дезоксирибозного оперона *deoR* и нуклеозидпермеазы *nupG*, что значительно повышает чувствительность клеток *E. coli* к соединениям, вызывающим репликативный стресс (триметоприм, метотрексат, азидотимидин и т.п.) [29]. При краткосрочной обработке соединением (30 мин) было обнаружено снижение выживаемости клеток обоих штаммов в 2–3 раза уже в присутствии 20 мкМ Pt-PON1 (рис. 2). Поскольку дальнейшее повышение концентрации Pt-PON1 сопровождалось частичным выпадением вещества в осадок в ходе предварительной инкубации с клетками (см. ниже), это значение следует рассматривать как верхнюю оценку EC<sub>50</sub> для проявления токсичности Pt-PON1 для указанных штаммов.

**Цитотоксичность Pt-PON1 для клеток человека.** Цитотоксичность Pt-PON1 для клеток человека линий НЕК293Т (иммortalизованные клетки эмбрионального надпочечника), А-549 (аденокарцинома легкого) и МСF-7 (карцинома молочной железы) оценивали в диапазоне концентраций 2–22 мкМ и при времени инкубации



**Рис. 2.** График зависимости выживаемости клеток *E. coli* от концентрации Pt-PON1 при краткосрочной обработке. Приведены средние значения и стандартное отклонение ( $n = 3$ ) для штаммов DH5 $\alpha$  и XL1-Blue.

24 ч. В более высоких концентрациях и при более длительной инкубации наблюдалось выпадение соединения в осадок в течение эксперимента при инкубации с ростовой средой и буферными растворами, содержащими ионы одновалентных металлов в концентрациях, необходимых для поддержания жизнеспособности клеток. В качестве положительного контроля использовали цисплатин (рис. 3а), измеренные значения EC<sub>50</sub> для которого ( $5.4 \pm 1.5$  мкМ для клеток НЕК293Т,  $15 \pm 3$  мкМ для клеток МСF-7,  $13 \pm 1$  мкМ для клеток А-549) находились в диапазоне значений, описанных в литературе для этих линий [30, 31]. В связи с невысокой растворимостью определение EC<sub>50</sub> для Pt-PON1 оказалось невозможным, однако можно видеть, что для линий НЕК293Т и МСF-7 с ростом концентрации соединения наблюдается дозозависимое падение выживаемости, которое достигает ~40% при максимальной концентрации Pt-PON1 (22 мкМ, рис. 3б). Жизнеспособность клеток А-549 слабо менялась во всем диапазоне исследованных концентраций Pt-PON1. Таким образом, Pt-PON1 проявляет токсичность, по крайней мере для некоторых клеточных линий.

В целом результаты экспериментов с клетками человека и *E. coli* говорят о цитотоксичности Pt-содержащих полиоксониобатов типа Линквиста в достаточно низких концентрациях, что делает эти соединения перспективными для дальнейшей разработки в качестве фармакологических агентов при условии решения проблемы растворимости в физиологических жидкостях, которая характерна и для полиоксометаллатов других структурных классов [18].

**Растворимость Pt-PON1 в биологически совместимых средах.** Для оценки возможности более точного определения параметров цитотоксичности Pt-PON1 было исследовано поведение этого соединения в нескольких типах растворов, применяемых для культивирования клеток человека, или их краткосрочной инкубации с фармакологически активными агентами. Pt-PON1 был растворим в воде и не выпадал в осадок при комнатной температуре на протяжении 72 ч вплоть до максимальной изученной концентрации (20 мМ), однако не растворялся в 20- и 40%-ном диметилсульфоксиде. При разведении водного раствора Pt-PON1 фосфатно-солевым раствором (PBS), сбалансированным солевым



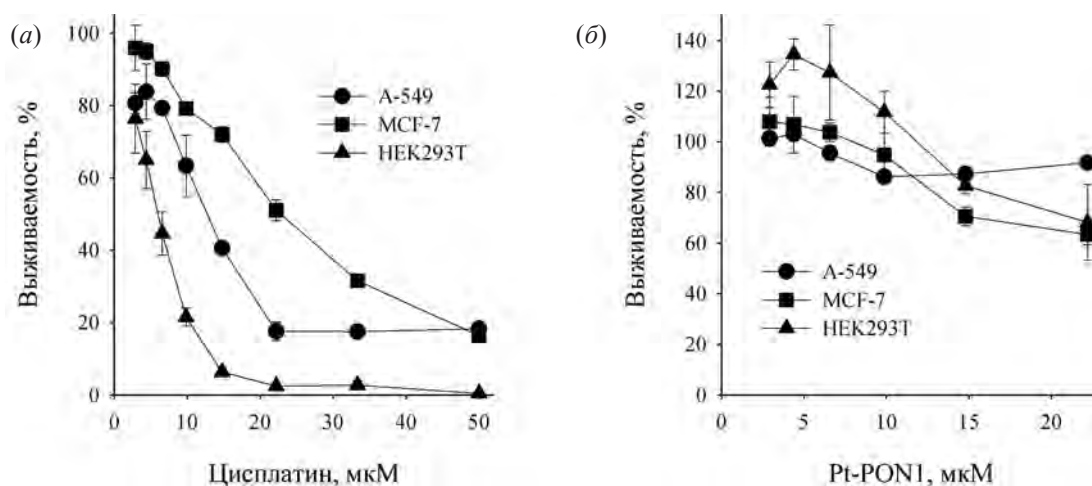


Рис. 3. График зависимости выживаемости клеток человека от концентрации цисплатина (а) и Pt-PON1 (б). Приведены средние значения и стандартное отклонение ( $n = 5$ ) для линий A-549, MCF-7 и HEK293T.

раствором Хэнкса или культуральной средой (DMEM с эмбриональной сывороткой крупного рогатого скота или без нее), выпадал аморфный осадок в диапазоне концентраций  $>125$  мкМ (рис. 4а). При дальнейшем разведении инкубация при  $37^{\circ}\text{C}$  в течение ночи вызывала образование моноклинных кристаллов в концентрациях Pt-PON1  $>10$  мкМ (рис. 4б). Поскольку все эти растворы содержат ионы  $\text{Na}^+$ , а при синтезе Pt-PON1 соединение кристаллизуется в виде смешанной калий-цезиевой соли [24], была исследована растворимость Pt-PON1 в изотоническом фосфатно-солевом растворе (PBS-Cs), где NaCl был полностью заменен на CsCl, а буферная емкость создавалась исключительно солями калия (156 мМ CsCl, 6.66 мМ  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$ , pH 7.5, ср. для стандартного PBS: 156 мМ NaCl,

6.66 мМ  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , pH 7.5). При разбавлении 20 мМ водного раствора Pt-PON1 таким буфером выпадения осадка не наблюдалось. Однако инкубация даже в течение 6 ч в PBS-Cs крайне негативно влияла на выживаемость всех типов клеток, что не позволило определить параметры токсичности в этих условиях. В литературе описано значительное нарушение ионного состава и морфологии клеток в присутствии  $\text{Cs}^+$  [32, 33]. Таким образом, вероятно, за счет вариации состава моновалентных катионов в среде можно достичь оптимального баланса между стабильностью растворов Pt-PON1 и выживаемостью клеток при кратковременной инкубации, достаточной для определения токсичной дозы соединения, однако этот вопрос требует дополнительного изучения.

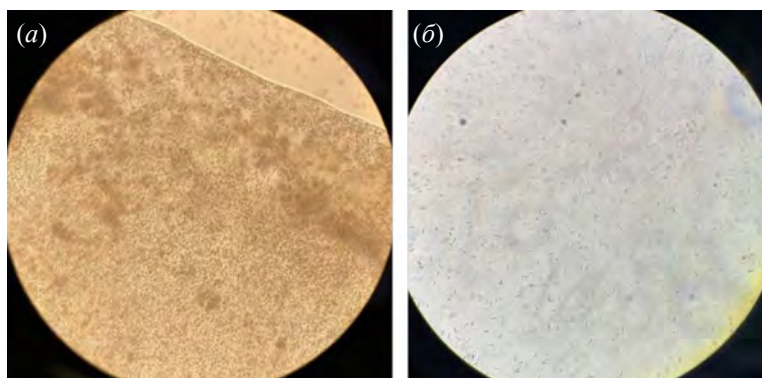
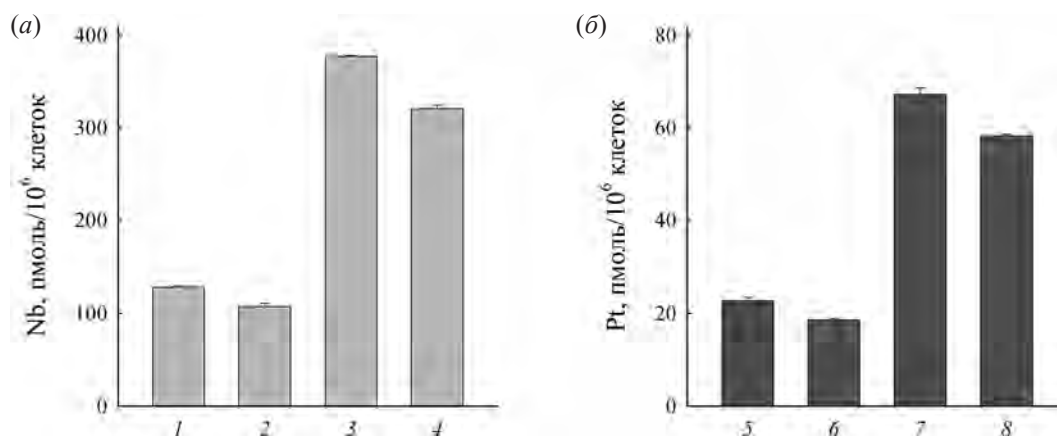


Рис. 4. Образование аморфного осадка (а) и моноклинных кристаллов (б) при взаимодействии Pt-PON1 с клеточными средами.

**Накопление Pt-PON1 в клетках человека.**

Для более детального анализа взаимодействия Pt-PON1 с клетками человека исследовали накопление этого соединения в клетках HEK293T методом атомно-эмиссионной спектроскопии по Pt и Nb (рис. 5). Содержание Pt и Nb в клетках оценивали после 4 ч инкубации при концентрациях Pt-PON1 5 и 15 мкМ, в которых выпадения осадка не наблюдалось. Количество обоих аналитов увеличивалось пропорционально концентрации Pt-PON1, при этом результаты практически не зависели от числа отмывок клеток от среды при пробоподготовке. Количественное соотношение Nb : Pt в образцах составило 5.63 : 1, что

хорошо соответствует стехиометрии Nb : Pt 6 : 1 в исходном комплексе Pt-PON1  $[\text{Nb}_6\text{O}_{19}\{\text{Pt}(\text{OH})_2\}_2]$ . Таким образом, можно предположить, что комплекс Pt-PON1 проникает в клетку в неизменном виде и претерпевает возможные перестройки уже внутри нее. При этом эффективность поглощения Pt ( $\sim 4.2$  пмоль/ $10^6$  клеток/1 мкМ соединения) находилась на одном уровне с описанной в литературе эффективностью поглощения Pt клетками нескольких линий плоскоклеточной карциномы при обработке цисплатином на протяжении того же времени ( $\sim 2\text{--}7$  пмоль/ $10^6$  клеток/1 мкМ соединения) [34].



**Рис. 5.** Содержание Nb (а) и Pt (б) в клетках HEK293T после инкубации с 5 мкМ (столбцы 1, 2, 5, 6) и 15 мкМ Pt-PON1 (столбцы 3, 4, 7, 8). После инкубации клетки отмывали от соединения 2 раза PBS (столбцы 1, 3, 5, 7) или 3 раза PBS (столбцы 2, 4, 6, 8).

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ**

**Материалы.** Полиоксониобат платины(IV)  $\text{Cs}_2\text{K}_{10}[\text{Nb}_6\text{O}_{19}\{\text{Pt}(\text{OH})_2\}_2] \cdot 13\text{H}_2\text{O}$  синтезировали по описанной методике [24]. В работе использовали следующие реактивы: цисплатин, 3-(4,5-диметилтиазолил-2)-2,5-дифенилтетразолий-бромид, сбалансированный солевой раствор Хэнкса (MilliporeSigma, США); фосфатно-солевой раствор (Lonza, Швейцария); среду Игла, модифицированную Дульбекко, эмбриональную сыворотку крупного рогатого скота (Thermo Fisher Scientific, США).

**Штаммы и клетки.** Использовали штаммы *E. coli* DH5 $\alpha$  ( $F^-$  *endA1 glnV44 thi-1 recA1 relA1 gyrA96 deoR nupG purB20*  $\phi 80\text{dlacZ}\Delta\text{M15}$   $\Delta(\text{lacZYA-argF})\text{U169 hsdR17}(r_K^-m_K^+) \lambda^-$ ) и

XL1-Blue (*endA1 glnV44 thi-1 recA1 relA1 gyrA96 lac F'[:Tn10 proAB<sup>+</sup> lacI<sup>q</sup>  $\Delta(\text{lacZ})\text{M15}$  hsdR17}(r\_K^-m\_K^+)*) и линии клеток человека HEK293T, A-549 и MCF-7 из коллекции лаборатории геномной и белковой инженерии ИХБФМ СО РАН. Клетки человека проверяли на отсутствие заражения микоплазмой методом ПЦР клеточных лизатов с использованием набора БиоМастер Мусо-визор (Биолабмикс, Россия).

**Квантово-химические расчеты.** Структурную стабильность и энергетические характеристики Pt-PON1, Pt-PON2 и аддукта Pt-PON с Gua исследовали методом теории функционала плотности. Расчеты проводили с использованием функционалов (B3LYP, M06-2x, PBE) и смешанных базисных наборов (6-31 и 6-311 для атомов водорода и кислорода, LANL2DZ и SDD для атомов платины

и ниобия) в программном пакете Gaussian16 [35]. Подбор параметров расчета показал наилучшее соотношение точности расчета и вычислительных ресурсов при использовании уровня теории B3LYP со смешанным базисным набором 6-31 и LANL2DZ соответственно, которые были выбраны далее для всех исследуемых объектов. Для моделирования растворителя (вода) использовали модель поляризованного континуума (scrf = pcm). Расчет профиля потенциальной энергии ковалентного присоединения основания Gua к комплексу Pt-PON1 проводили в режиме жесткого сканирования (без релаксации) с использованием функционалов B3LYP (базисные наборы 6-31 для атомов водорода и кислорода, LANL2DZ для атомов платины и ниобия) и wB97X-D (базисный набор def2-TZVP). Для визуализации структур использовали программы Chemcraft v1.8 ([www.chemcraftprog.com](http://www.chemcraftprog.com)) и VESTA v3.4.4 [36].

#### **Цитотоксичность Pt-PON1 для клеток *E. coli*.**

Ночную культуру *E. coli* собирали центрифугированием, клетки трижды промывали 10%-ным глицерином, инкубировали с водным раствором Pt-PON1 (0–250 мкМ) в течении 30 мин на льду и высевали на чашки со средой Лурия–Бертани в разведении 1 : 10<sup>7</sup>. Число колоний подсчитывали после инкубации при 37°C в течение 16 ч.

**Цитотоксичность Pt-PON1 для клеток человека.** Клетки культивировали в среде DMEM, содержащей 10%-ную эмбриональную сыворотку крупного рогатого скота, 0.45%-ную глюкозу и 6 мМ L-глутамин. Для эксперимента использовали клетки на третьем пассаже после разморозки. Pt-PON1 растворяли в деионизированной воде, цисплатин – в 0.9%-ном NaCl, затем оба соединения разводили до нужных концентраций водой. Клетки наращивали в течение 24 ч, затем добавляли 1/10 объема исследуемого вещества, инкубировали 24 ч, заменяли среду и продолжали рост в течение еще 24 ч. После промывки PBS оценивали цитотоксичность при помощи окрашивания 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолийбромидом (MTT-тест) [37].

#### **Поглощение Pt-PON1 клетками человека.**

Пробоподготовку проводили согласно опубликованному протоколу [34]: клетки выращивали до 90%-ной конфлюэнтности и инкубировали с Pt-PON1 (5 и 15 мкМ) в течение 4 ч. После трипсинизации 10<sup>7</sup> клеток промывали 2 или 3 раза

PBS, клеточные осадки сушили 2 ч при 65°C и растворяли в смеси азотной (200 мкл) и плавиковой (200 мкл) кислот с добавлением концентрированной H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (50 мкл) при нагревании на водяной бане. Полученные растворы количественно переносили в полипропиленовые пробирки и добавляли деионизированной водой до 4 мл. Для измерения концентрации Pt и Nb использовали атомно-эмиссионный спектрометр с индуктивно связанной плазмой iCAP-6500 Duo (Thermo Fisher Scientific, США). Раствор пробы вводили в плазму через инертный концентрический распылитель OneNeb Series 2 (Agilent Technologies, США) со скоростью 0.7 мл/мин. Для приготовления градуировочных растворов использовали одноэлементный раствор Pt (ГСО 8431-2003) и стандартный раствор, содержащий 50 мг/л Nb (МЭС-4, Скат, Новосибирск). Все растворы готовили с использованием деионизированной воды, очищенной на установке UltraClear (SG Wasser, Германия). Обработку полученных результатов проводили с помощью программного обеспечения iTEVA v2.8.0.97 (Thermo Fisher Scientific, США).

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

В работе исследованы свойства полиоксониобата платины структуры  $[(Nb_6O_{19})_2\{Pt(OH)_2\}_2]^{12-}$  (Pt-PON1) как представителя Pt-содержащих полиоксометаллатов типа Линквиста с целью оценки перспективности этого класса соединений в качестве противоопухолевых агентов. Несмотря на пристальное внимание научного сообщества к различным проявлениям биологической активности полиоксометаллатов разной структуры [10–12, 15, 17, 18, 38], до сих пор слабо изучены молекулярные механизмы их действия на клетки. В рамках предыдущей работы [25] было показано, что Pt-PON1 не ингибирует ДНК-полимеразы, но образует ковалентные аддукты с ДНК, претерпевая при этом структурную перестройку. В настоящей работе с привлечением квантово-химических расчетов подтверждена потенциальная возможность образования аддукта Pt-PON с ДНК. Pt-PON1 проявлял токсичность для клеток *E. coli* и человека даже при небольшом времени инкубации. Однако исследование цитотоксичности Pt-PON1 осложняется низкой растворимостью комплекса при взаимодействии с клеточными средами. Такое поведение характерно для многих полиоксометаллатов, однако их раст-

воримость может быть повышена за счет функционализации поверхности кластера [39]. На основании полученных результатов можно сделать вывод, что Pt-PON1 способен эффективно поглощаться клетками в неизменном виде, внутри клетки претерпевать реорганизацию и оказывать цитотоксичное действие, вероятно, связанное с повреждением ДНК. Дальнейшие исследования, направленные на повышение химической стабильности, растворимости и более детальную характеристику биологической активности полиоксониобатов платины(IV), приблизят перспективу использования этого класса соединений в противоопухолевой терапии.

### ФОНДОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований и правительства Новосибирской области (грант р\_мол\_а 19-44-543011) и государственного задания Центра коллективного пользования “Сибирский кольцевой источник фотонов” (FWUR-2024-0040).

### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит описания исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов исследования.

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### ВКЛАД АВТОРОВ

Авторы А.В. Юдкина. и И.П. Вохтанцев внесли равнценный вклад в написание статьи.

### ДОСТУПНОСТЬ ДАННЫХ

Данные, подтверждающие выводы настоящего исследования, можно получить у корреспондирующего автора по обоснованному запросу.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Kelland L.* // Nat. Rev. Cancer. 2007. V. 7. P. 573–584. <https://doi.org/10.1038/nrc2167>
2. *Dasari S., Tchounwou P.B.* // Eur. J. Pharmacol. 2014. V. 740. P. 364–378. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.07.025>
3. *Wheate N.J., Walker S., Craig G.E., Oun R.* // Dalton Trans. 2010. V. 39. P. 8113–8127. <https://doi.org/10.1039/c0dt00292e>
4. *Apps M.G., Choi E.H.Y., Wheate N.J.* // Endocr. Relat. Cancer. 2015. V. 22. P. R219–R233. <https://doi.org/10.1530/ERC-15-0237>
5. *Hu X., Li F., Noor N., Ling D.* // Sci. Bull. 2017. V. 62. P. 589–596. <https://doi.org/10.1016/j.scib.2017.03.008>
6. *Li X., Liu Y., Tian H.* // Bioinorg. Chem. Appl. 2018. V. 2018. P. 8276139. <https://doi.org/10.1155/2018/8276139>
7. *Gibson D.* // J. Inorg. Biochem. 2021. V. 217. P. 111353. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2020.111353>
8. *Marotta C., Giorgi E., Binacchi F., Cirri D., Gabbiani C., Pratesi A.* // Inorg. Chim. Acta. 2023. V. 548. P. 121388. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2023.121388>
9. *Aher S., Zhu J., Bhagat P., Borse L., Liu X.* // Top. Curr. Chem. 2024. V. 382. P. 6. <https://doi.org/10.1007/s41061-023-00448-3>
10. *Rhule J.T., Hill C.L., Judd D.A., Schinazi R.F.* // Chem. Rev. 1998. V. 98. P. 327–358. <https://doi.org/10.1021/cr960396q>
11. *Hasenknopf B.* // Front. Biosci. 2005. V. 10. P. 275–287. <https://doi.org/10.2741/1527>
12. *Van Rompuy L.S., Parac-Vogt T.N.* // Curr. Opin. Biotechnol. 2019. V. 58. P. 92–99. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2018.11.013>
13. *Shigeta S., Mori S., Yamase T., Yamamoto N., Yamamoto N.* // Biomed. Pharmacother. 2006. V. 60. P. 211–219. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2006.03.009>
14. *Wang S., Sun W., Hu Q., Yan H., Zeng Y.* // Bioorg. Med. Chem. Lett. 2017. V. 27. P. 2357–2359. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.04.025>
15. *Bijelic A., Aureliano M., Rompel A.* // Chem. Commun. 2018. V. 54. P. 1153–1169. <https://doi.org/10.1039/c7cc07549a>
16. *Gumerova N., Krivosudský L., Fraqueza G., Breibeck J., Al-Sayed E., Tanuhadi E., Bijelic A., Fuentes J., Aureliano M., Rompel A.* // Metallomics. 2018. V. 10. P. 287–295. <https://doi.org/10.1039/c7mt00279c>
17. *Yanagie H., Ogata A., Mitsui S., Hisa T., Yamase T., Eriguchi M.* // Biomed. Pharmacother. 2006. V. 60. P. 349–352. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2006.06.018>
18. *Bijelic A., Aureliano M., Rompel A.* // Angew. Chem. Int. Ed. 2019. V. 58. P. 2980–2999. <https://doi.org/10.1002/anie.201803868>



19. Zhao M., Chen X., Chi G., Shuai D., Wang L., Chen B., Li J. // *Inorg. Chem. Front.* 2020. V. 7. P. 4320–4332. <https://doi.org/10.1039/D0QI00860E>
20. Gao N., Sun H., Dong K., Ren J., Duan T., Xu C., Qu X. // *Nat. Commun.* 2014. V. 5. P. 3422. <https://doi.org/10.1038/ncomms4422>
21. Yang H.-K., Cheng Y.-X., Su M.-M., Xiao Y., Hu M.-B., Wang W., Wang Q. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2013. V. 23. P. 1462–1466. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.12.081>
22. Fu L., Gao H., Yan M., Li S., Li X., Dai Z., Liu S. // *Small.* 2015. V. 11. P. 2938–2945. <https://doi.org/10.1002/smll.201500232>
23. Sun T., Cui W., Yan M., Qin G., Guo W., Gu H., Liu S., Wu Q. // *Adv. Mater.* 2016. V. 28. P. 7397–7404. <https://doi.org/10.1002/adma.201601778>
24. Abramov P.A., Vicent C., Kompankov N.B., Gushchin A.L., Sokolov M.N. // *Chem. Commun.* 2015. V. 51. P. 4021–4023. <https://doi.org/10.1039/C5CC00315F>
25. Yudkina A.V., Sokolov M.N., Abramov P.A., Grin I.R., Zharkov D.O. // *Russ. J. Bioorg. Chem.* 2019. V. 45. P. 641–646. <https://doi.org/10.1134/S1068162019060414>
26. Wang D., Lippard S.J. // *Nat. Rev. Drug Discov.* 2005. V. 4. P. 307–320. <https://doi.org/10.1038/nrd1691>
27. Stewart J.J.P. // *MOPAC2016*. Colorado Springs: Stewart Computational Chemistry, 2016.
28. Mardirossian N., Head-Gordon M. // *Mol. Phys.* 2017. V. 115. P. 2315–2372. <https://doi.org/10.1080/00268976.2017.1333644>
29. Nichols R.J., Sen S., Choo Y.J., Beltrao P., Zietek M., Chaba R., Lee S., Kazmierczak K. M., Lee K.J., Wong A., Shales M., Lovett S., Winkler M.E., Krogan N.J., Typas A., Gross C.A. // *Cell.* 2011. V. 144. P. 143–156. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.11.052>
30. Garnett M.J., Edelman E.J., Heidorn S.J., Greenman C.D., Dastur A., Lau K.W., Greninger P., Thompson I.R., Luo X., Soares J., Liu Q., Iorio F., Surdez D., Chen L., Milano R.J., Bignell G.R., Tam A.T., Davies H., Stevenson J.A., Barthorpe S., Lutz S.R., Kogera F., Lawrence K., McLaren-Douglas A., Mitropoulos X., Mironenko T., Thi H., Richardson L., Zhou W., Jewitt F., Zhang T., O'Brien P., Boisvert J.L., Price S., Hur W., Yang W., Deng X., Butler A., Choi H.G., Chang J.W., Baselga J., Stamenkovic I., Engelman J.A., Sharma S.V., DeLattre O., Saez-Rodriguez J., Gray N.S., Settleman J., Futreal P.A., Haber D.A., Stratton M.R., Ramaswamy S., McDermott U., Benes C.H. // *Nature.* 2012. V. 483. P. 570–575. <https://doi.org/10.1038/nature11005>
31. Tusskorn O., Khunluck T., Prawan A., Senggunprai L., Kukongviriyapan V. // *Biomed. Pharmacother.* 2019. V. 111. P. 109–118. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.12.051>
32. Santini M.T., Paradisi S., Straface E., Malorni W. // *Cell Biol. Toxicol.* 1993. V. 9. P. 295–306. <https://doi.org/10.1007/BF00755607>
33. Kobayashi D., Kakinouchi K., Nagae T., Nagai T., Shimura K., Hazama A. // *FEBS Lett.* 2017. V. 591. P. 718–727. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.12579>
34. Welters M.J.P., Fichtinger-Schepman A.M.J., Baan R.A., Hermesen M.A.J.A., van der Vijgh W.J.F., Cloos J., Braakhuis B.J.M. // *Int. J. Cancer.* 1997. V. 71. P. 410–415. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0215\(19970502\)71:3<410::AID-IJC18>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0215(19970502)71:3<410::AID-IJC18>3.0.CO;2-J)
35. Frisch M.J., Trucks G.W., Schlegel H.B., Scuseria G.E., Robb M.A., Cheeseman J.R., Scalmani G., Barone V., Petersson G.A., Nakatsuji H., Li X., Caricato M., Marenich A., Bloino J., Janesko B.G., Gomperts R., Menucci B., Hratchian H.P., Ortiz J.V., Izmaylov A.F., Sonnenberg J.L., Williams-Young D., Ding F., Lipparini F., Egidi F., Goings J., Peng B., Petrone A., Henderson T., Ranasinghe D., Zakrzewski V.G., Gao J., Rega N., Zheng G., Liang W., Hada M., Ehara M., Toyota K., Fukuda R., Hasegawa J., Ishida M., Nakajima T., Honda Y., Kitao O., Nakai H., Vreven T., Throssell K., Montgomery J.A., Jr., Peralta J.E., Ogliaro F., Bearpark M., Heyd J.J., Brothers E., Kudin K.N., Staroverov V.N., Keith T., Kobayashi R., Normand J., Raghavachari K., Rendell A., Burant J.C., Iyengar S.S., Tomasi J., Cossi M., Millam J.M., Klene M., Adamo C., Cammi R., Ochterski J.W., Martin R.L., Morokuma K., Farkas O., Foresman J.B., Fox D.J. // *Gaussian 09*, Revision D.01. Wallingford: Gaussian, Inc., 2016.
36. Momma K., Izumi F. // *J. Appl. Crystallogr.* 2008. V. 41. P. 653–658. <https://doi.org/10.1107/S0021889808012016>
37. van Meerloo J., Kaspers G.J.L., Cloos J. // *Methods Mol. Biol.* 2011. V. 731. P. 237–245. [https://doi.org/10.1007/978-1-61779-080-5\\_20](https://doi.org/10.1007/978-1-61779-080-5_20)
38. Gumerova N.I., Rompel A. // *Nat. Rev. Chem.* 2018. V. 2. P. 0112. <https://doi.org/10.1038/s41570-018-0112>
39. Compain J.-D., Mialane P., Marrot J., Sécheresse F., Zhu W., Oldfield E., Dolbecq A. // *Chemistry.* 2010. V. 16. P. 13741–13748. <https://doi.org/10.1002/chem.201001626>

## Platinum Polyoxoniobate: Stability, Cytotoxicity, and Cellular Uptake

A. V. Yudkina<sup>\*, \*\*, #</sup>, I. P. Vokhtantsev<sup>\*</sup>, D. A. Rychkov<sup>\*\*, \*\*\*</sup>, V. V. Volchek<sup>\*\*\*\*</sup>,  
P. A. Abramov<sup>\*\*\*\*</sup>, M. N. Sokolov<sup>\*\*\*\*</sup>, and D. O. Zharkov<sup>\*, \*\*\*\*\*, #</sup>

<sup>#</sup> Phone: +7 (383) 363-51-87; e-mail: ayudkina@niboch.nsc.ru; dzharkov@niboch.nsc.ru

<sup>\*</sup> SB RAS Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine,  
prosp. Lavrentieva 8, Novosibirsk 630090, Russia

<sup>\*\*</sup> Synchrotron Radiation Facility – Siberian Circular Photon Source SKIF, SB RAS Boreskov Institute of Catalysis,  
Nikolskiy prosp. 1, Kol'tsovo, Novosibirsk Region 630559, Russia

<sup>\*\*\*</sup> SB RAS Institute of Solid State Chemistry and Mechanochemistry,  
ul. Kutateladze 18, Novosibirsk 630128, Russia

<sup>\*\*\*\*</sup> SB RAS Nikolaev Institute of Inorganic Chemistry, prosp. Lavrentieva 3, Novosibirsk 630090, Russia  
<sup>\*\*\*\*\*</sup> Novosibirsk State University, ul. Pirogova 2, Novosibirsk 630090, Russia

Platinum polyoxometalates are Pt(IV) complexes containing bulky cluster ligands. We have shown previously that platinum polyoxoniobate  $[(\text{Nb}_6\text{O}_{19})_2\{\text{Pt}(\text{OH})_2\}_2]^{12-}$  (Pt-PON1) containing two Pt centers can covalently bind DNA. Here we have addressed the structural stability of Pt-PON1 and its conjugate with guanine at the N7 position, cytotoxicity of this compound, and its accumulation in living cells. Quantum mechanical modeling showed that the Pt-PON1 complex is unstable outside the crystal lattice, while its conjugate with guanine likely undergoes structural rearrangement quite easily. A decrease in the survival of *Escherichia coli* XL1-Blue and DH5 $\alpha$  strains and human HEK293T and MCF-7 cell lines was observed already at 20  $\mu\text{M}$  Pt-PON1 but at higher concentrations the compound was poorly soluble in biologically compatible media. Atomic emission spectroscopy for Pt and Nb showed that Pt-PON1 is efficiently taken up by human cells in a stoichiometry corresponding to the original complex. Thus, platinum polyoxometalates, provided their solubility can be improved, may be considered as promising antitumor agents.

**Keywords:** polyoxometallates, platinum-based drugs, DNA damage, cytotoxicity