

УДК 539.184:541.49

**МОЛЕКУЛЯРНАЯ И ЭЛЕКТРОННАЯ СТРУКТУРА ВОДНЫХ РАСТВОРОВ
ПЛАТИНОВЫХ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ
ПО ДАННЫМ СПЕКТРОСКОПИИ РЕНТГЕНОВСКОГО ПОГЛОЩЕНИЯ,
ИНФРАКРАСНОЙ И ОПТИЧЕСКОЙ СПЕКТРОСКОПИИ И DFT РАСЧЕТОВ**

О.Е. Положенцев, В.К. Кочкина, В.Л. Мазалова, А.В. Солдатов

МИЦ "Интеллектуальные материалы", Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия
E-mail: olegpolozhentsev@mail.ru

Статья поступила 6 июня 2016 г.

Работа посвящена исследованию электронной структуры биологически активных противоопухолевых препаратов платины(II): цисплатина $PtCl_2(NH_3)_2$, карбоплатина $PtC_6H_{12}N_2O_4$ и оксалиплатина $PtC_8H_{14}N_2O_4$, которые используются в противоопухолевом лечении. Целью работы являлось исследование молекулярной и электронной структуры координационных соединений платины(II) в процессе гидролиза, что является важным для понимания их противоопухолевых свойств. На основе теории функционала плотности исследована молекулярная и электронная структура данных соединений, проведено моделирование процесса гидролиза, определены структура и геометрические параметры водных комплексов. Представлено строение электронных уровней, энергетическое положение уровней занятых и свободных молекулярных орбиталей, распределение полных и парциальных плотностей электронных состояний, рассчитаны оптические и колебательные спектры водных соединений комплексов. Результаты теоретических расчетов подтверждены экспериментальными исследованиями на основе спектроскопии рентгеновского поглощения за PtL_3 -краем и методами УФ, оптической и инфракрасной спектроскопии.

DOI: 10.15372/JSC20160724

Ключевые слова: координационные соединения платины(II), противоопухолевые препараты, цисплатин, карбоплатин, оксалиплатин, молекулярная и электронная структура, гидролиз, спектроскопия рентгеновского поглощения, методы УФ, оптической, инфракрасной спектроскопии.

ВВЕДЕНИЕ

Объектом исследования являются координационные соединения платины(II), обладающие противоопухолевым эффектом: цисплатин ($PtCl_2(NH_3)_2$), карбоплатин ($PtC_6H_{12}N_2O_4$) и оксалиплатин ($PtC_8H_{14}N_2O_4$), широко применяемые для лечения онкологических больных. Противоопухолевый эффект координационных соединений платины(II) основан на их взаимодействии с азотистыми основаниями ДНК поврежденной клетки с образованием внутри- и межспиральных сшивков, что блокирует синтез ДНК и ее последующую репликацию. В процессе связывания препаратов с ДНК координационные соединения проходят стадии гидролиза, деградации, связывания с биологическими объектами и транспортными средствами организма. Исследование механизмов взаимодействия платиновых препаратов с ДНК поврежденной клетки является важным для понимания их противоопухолевого действия, повышения их эффективности и для развития новых противоопухолевых систем.

Противоопухолевые свойства цисплатина (*цис*-диаминдихлорплатина(II)) были обнаружены в 60-х годах прошлого столетия Розенбергом и соавт., а его клиническое применение было одобрено Управлением по санитарному надзору. Принцип действия заключается в том, что цисплатин взаимодействует с азотистыми основаниями ДНК, приводящим к искажению двойной спирали ДНК. Как следствие повреждения ДНК нарушаются клеточные процессы, в том числе их транскрипция и репликация, приводящая к гибели клетки путем апоптоза или некроза. Проникая в водный раствор цисплатин гидролизуется с образованием водных комплексов. Далее цисплатин проникает в клетку путем пассивной диффузии [1, 2], а также с использованием транспортного средства на основе меди (Ctr1p).

Карбоплатин (*цис*-диамин(1,1-циклобутандикарбоксилато)платина(II)), одобренный FDA в 1989 г., является препаратом платины второго поколения, который широко используется для лечения кисты и рака легких. По сравнению с цисплатином карбоплатин, имеющий низкую активность и токсичность, может использоваться в меньших дозах в сочетании с различными терапиями.

Оксалиплатин — противоопухолевый препарат платины третьего поколения, имеющий в своей структуре 1,2-диамминоциклогексан, который значительно усиливает степень связывания препарата с ДНК. Такое изменение структуры препарата предопределяет спектр противоопухолевой активности, отличный от других платиновых производных. Процесс образования перекрестных сшивок ДНК протекает быстрее, чем при применении цисплатина и карбоплатина. Экспериментальные исследования продемонстрировали цитостатический эффект на нескольких клеточных линиях опухолей человека. Противоопухолевый эффект платиносодержащих препаратов состоит из четырех последовательных стадий: 1) гидратация молекул; 2) накопление в клетках опухоли пассивным и активным поглощением; 3) активация платиносодержащего препарата; 4) связывание с нуклеиновыми кислотами с образованием различных аддуктов Pt-ДНК; 5) клеточный ответ на повреждение ДНК.

Токсичность препаратов платины(II) напрямую связана с тем, насколько легко гидролизуется молекула. Платиновые комплексы с высоколабильными лигандами, такими как вода или нитрат, очень токсичны, тогда как лиганды на основе бис-карбоксилата, которые гидролизуются очень медленно, значительно менее токсичны. Карбоплатин был разработан специально для уменьшения побочных эффектов, связанных с лечением с помощью цисплатина. Это достигается путем замены лигандов дихлорида с 1,1-циклобутандикарбоксилатом, который гидролизуется со скоростью 10^{-8} с^{-1} по сравнению с 10^{-5} с^{-1} для цисплатина. Из-за своей низкой реакционной способности карбоплатин можно вводить в гораздо более высоких дозах (300—450 мг/м²), чем цисплатин (20—120 мг/м²), в зависимости от схемы введения. После гидролиза карбоплатин дает тот же активный компонент, что и цисплатин, и образует те же аддукты с ДНК.

Целью работы являлось исследование молекулярной и электронной структуры координационных соединений платины(II) в процессе их гидролиза, что является первым звеном действия платиновых препаратов, важным для понимания их противоопухолевых свойств.

ЭКСПЕРИМЕНТ

В данной работе для исследования молекулярной и электронной структуры координационных соединений платины (цисплатин, карбоплатин и оксалиплатин) в процессе гидролиза использовали спектроскопию рентгеновского поглощения PtL₃-края, методы ультрафиолетовой (УФ), оптической и инфракрасной (ИК) спектроскопий. Для этого соединения платины растворяли в дистиллированной воде в разных концентрациях.

Спектры рентгеновского поглощения за PtL₃-краем измеряли на лабораторном спектрометре рентгеновского поглощения R-XAS Looper производства Rigaku (Япония). Измерения координационных соединений платины и их водных растворов проводили с использованием кристалла-монокроматора Si(620) в режиме на флуоресценцию, I₀ детектора Ar-300 и полупроводникового детектора SSC. Напряжение на рентгеновской трубке было $U = 25 \text{ кВ}$ и ток $I = 100 \text{ мА}$. Водные растворы платиновых препаратов измеряли в кювете в режиме на флуоресценцию.

Спектры поглощения в УФ и оптическом диапазоне водных растворов соединений платины(II) измеряли на спектрофотометре UV-2600 (Shimadzu, Япония) в диапазоне длин волн 190—900 нм с разрешением 1 нм.

Регистрацию ИК спектров порошков координационных соединений платины и водных растворов проводили на лабораторном ИК Фурье-спектрометре ФСМ 1202 (Инфраспек, Россия). Рабочая область ИК спектра составляла 400—5000 см⁻¹ со спектральным разрешением не более 0,5 см⁻¹. Для изготовления образцов использовали метод прессования таблеток, в качестве вещества матрицы применяли чистый KBr, предварительно осушенный и размельченный. Водные растворы платиновых препаратов измеряли в кювете в режиме на отражение.

ТЕОРИЯ

Теоретическое моделирование молекулярной и электронной структуры соединений платины (цисплатин, карбоплатин и оксалиплатин) проводили на основе программного комплекса ADF [3—5], предназначенного для квантово-химических исследований молекулярных систем в рамках теории функционала электронной плотности (DFT) Кона—Шэма. Программный комплекс ADF предназначен для моделирования химических и физических свойств молекулярных систем, поддерживает широкую разновидность обменно-корреляционных функционалов и позволяет учитывать релятивистские эффекты, включая спин-орбитальное взаимодействие. Базисные наборы построены на функциях со слэтеровским типом орбиталей. Программный комплекс содержит базисные наборы в диапазоне от минимального DZ до более точных TZ2P и QZ4P. Данный комплекс позволяет рассчитывать электронные плотности, строение электронных уровней, определять энергетическое положение уровней занятых и свободных молекулярных орбиталей (МО), распределение полных и парциальных плотностей электронных состояний (DOS) в области энергий верхних занятых и нижних свободных МО, рассчитывать энергии образования и проводить автоматическую оптимизацию структуры с целью минимизации энергии, без наложения ограничений на симметрию для одно-, двух- и трехмерных систем. Градиенты и вторые производные энергии, вычисляемые аналитически, позволяют определять энергетический минимум системы, переходные состояния, пути реакции и гармонические частоты с интенсивностью в инфракрасной области. ADF также позволяет учитывать наличие растворов, сольватацию и влияние окружающего электрического поля. В ADF осуществлены различные приближения на основе LDA и с включением поправок GGA. В настоящее время в программе реализовано большое число других современных теоретических подходов для вычисления обменно-корреляционного потенциала. Для оптимизации молекулярной структуры соединений платины и расчетов электронной структуры, оптических и колебательных спектров использовали базисные наборы TZ2P и приближение GGA с обменно-корреляционным потенциалом OPBE.

Для расчета полных и парциальных плотностей электронных состояний использовали формализм многократного рассеяния, реализованный в программном коде FEFF9.0 [6—9]. Для расчета и анализа спектров рентгеновского поглощения применяли метод конечных разностей, реализованный в программе FDMNES2011 [10, 11].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Программный пакет ADF позволяет проводить оптимизацию структуры координационного соединения с целью минимизации энергии для нахождения оптимальных длин и углов связей. На основе данного метода проведена геометрическая оптимизация исследуемых соединений платины(II). Пространственное строение оптимизированных координационных соединений платины и некоторые важные длины связи и углы показаны на рис. 1.

Исследование электронной структуры координационных соединений платины проводили в программном комплексе ADF. На рис. 2 приведено строение электронных уровней и энергетическое положение уровней занятых и свободных МО исследуемых координационных соединений платины. Разность энергетических положений уровней между верхней занятой и нижней свободной МО составляет примерно 2,5—2,9 эВ. Реакционная способность соединения зависит

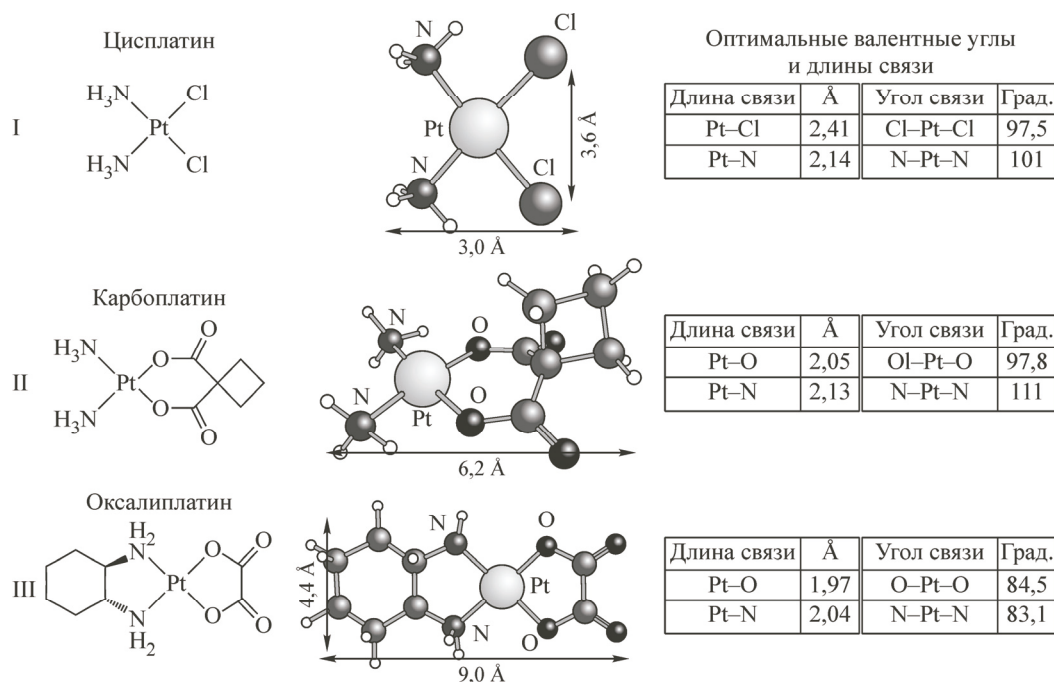


Рис. 1. Пространственная структура исследуемых координационных соединений платины

от энергетического положения валентных МО. В сравнении с цисплатином (ВЗМО: $-5,12$ эВ) карбоплатин (ВЗМО: $-5,23$ эВ) имеет более стабильные отщепляемые группы, тогда как оксалиплатин (ВЗМО: $-4,51$ эВ) — менее стабильное соединение.

Результаты расчетов плотностей электронных состояний позволяют сделать вывод о строении МО. Верхние занятые МО (ВЗМО, ВЗМО-1) цисплатина формируются главным образом за счет $3p$ -состояний Cl и $5d$ -состояний Pt, образуя связь Pt с ионами Cl. Верхние занятые МО карбоплатина формируются главным образом за счет $2p$ -состояний O и $5d$ -состояний Pt. Перекрывание электронных облаков в вершине валентных орбиталей формирует связи Pt—O и циклобутан-1,1-дикарбоксилатного лиганда. Молекулярные уровни, соответствующие связям Pt—N, расположены ниже по энергии, что определяет большую стабильность диамин-лиганда. Верхние занятые МО оксалиплатина формируются главным образом за счет $2p$ -состояний O и $5d$ -состояний Pt. Перекрывание электронных облаков в вершине валентных орбиталей формирует связи Pt—O и группу атомов оксалат-лиганда. Связи Pt—O находятся на более высоких уровнях энергий по сравнению с Pt—N, что говорит о том, что связи Pt—O слабее, чем Pt—N. При гидролизе разрываются связи Pt—O с оксалат-лигандом с образованием моно- и двуводных ком-

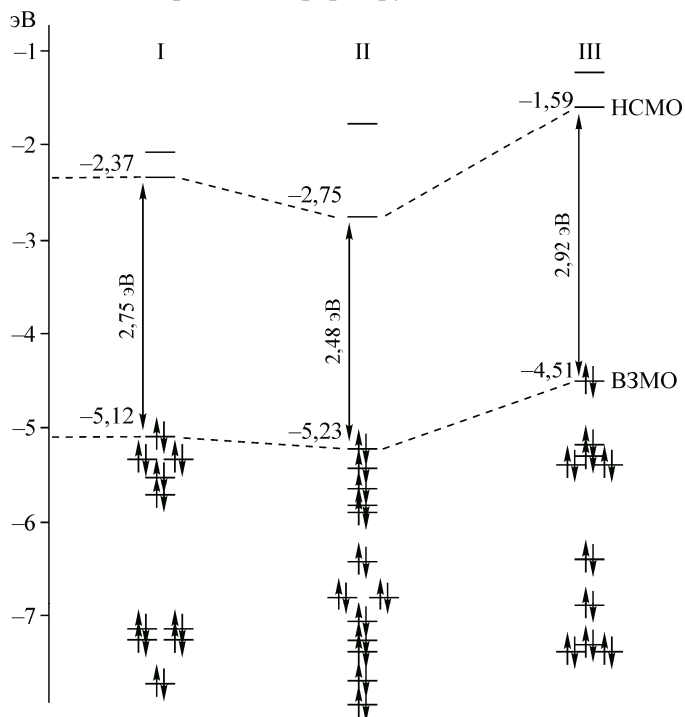


Рис. 2. Энергетические уровни молекулярных орбиталей координационных соединений платины(II)

Энергетические уровни МО оксалиплатина

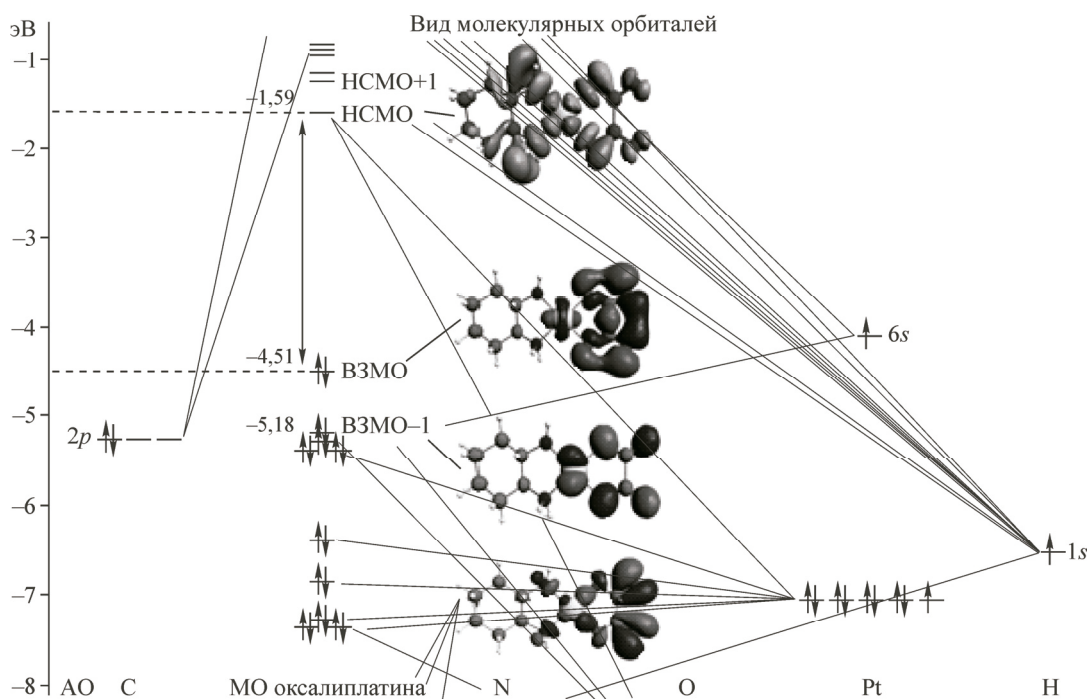


Рис. 3. Энергетические уровни и вид молекулярных орбиталей оксалиплатина

плексов. Вклады атомных уровней и вид верхних занятых и нижних свободных МО оксалиплатина представлены на рис. 3. Расчет полных и парциальных плотностей электронных состояний (DOS) молекулы оксалиплатина представлен на рис. 4.

Таким образом, гидролиз цисплатина будет проходить с отщеплением ионов Cl, циклобутан-1,1-дикарбоксилатного лиганда в случае карбоплатина и оксалат-лиганда в случае оксалиплатина, и дальнейшего связывания с моно- и двухводными комплексами. На примере комплексов цисплатина и карбоплатина представлено сопоставление энергетических уровней МО цисплатина и гидролизованных соединений с образованием моно- и двухводных комплексов. На рис. 5 сопоставлены энергетические уровни МО гидролизованных комплексов в сравнении с молекулой цисплатина. Для соединений платины в водном растворе более стабильной струк-

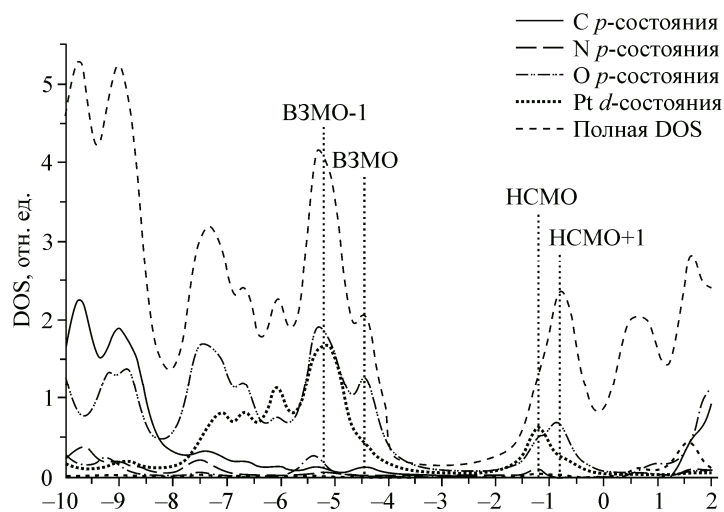


Рис. 4. Полные и парциальные плотности электронных состояний оксалиплатина

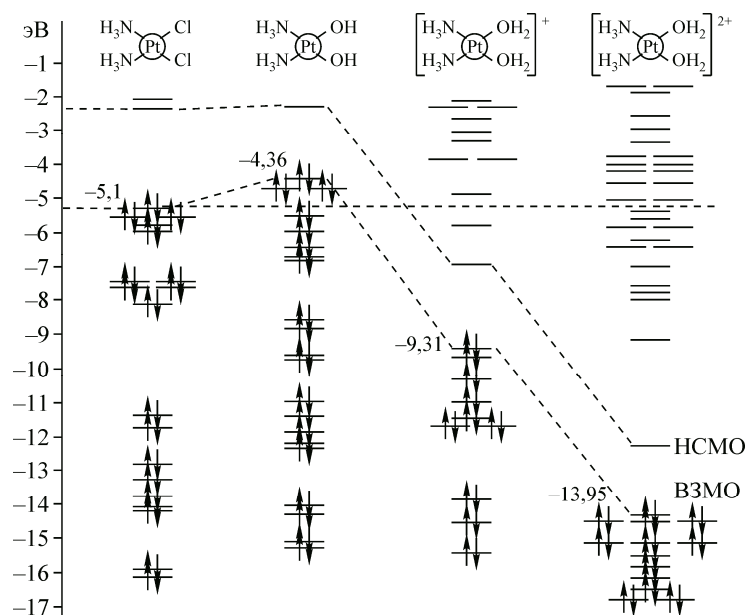


Рис. 5. Энергетические уровни молекулярных орбиталей водных комплексов цисплатина

турой является структура комплекса с OH_2 , образование комплекса с OH -лигандом менее выгодно, чем с ионами Cl . Длина связи в двухводном комплексе $\text{Pt}-\text{OH}_2$ составляет 2,25, а $\text{Pt}-\text{N}$ 2,17 Å. Длина связи в дигидроксикомплексе $\text{Pt}-\text{OH}$ составляет 2,11, а $\text{Pt}-\text{N}$ 2,25 Å.

Результаты моделирования водных комплексов были сопоставлены с экспериментальными данными водных растворов соединений платины(II), полученными методами спектроскопии рентгеновского поглощения за PtL_3 -краем, УФ, оптической и ИК спектроскопий.

На рис. 6 сопоставлены нормализованный экспериментальный спектр рентгеновского поглощения за PtL_3 -краем водного раствора карбоплатина и теоретические спектры молекулы карбоплатина, гидрокомплекса и двухводного комплекса карбоплатина. Как видно из визуального анализа кривых спектр поглощения за PtL_3 -краем чувствителен к локальному окружению атома Pt к лигандам, окружающим координационный центр. Основные отличия по форме и энергетическому положению особенностей спектров наблюдаются в области особенностей *C* и *D*.

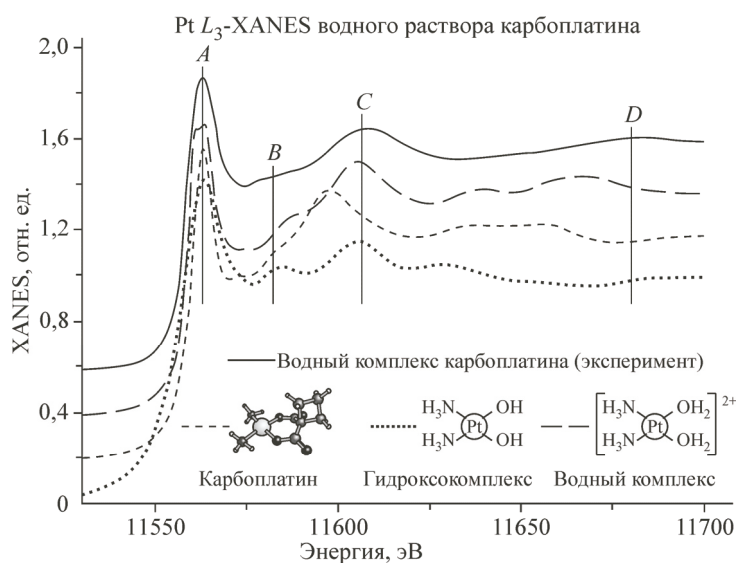


Рис. 6. Экспериментальный и рассчитанные спектры рентгеновского поглощения за PtL_3 -краем водного раствора карбоплатина

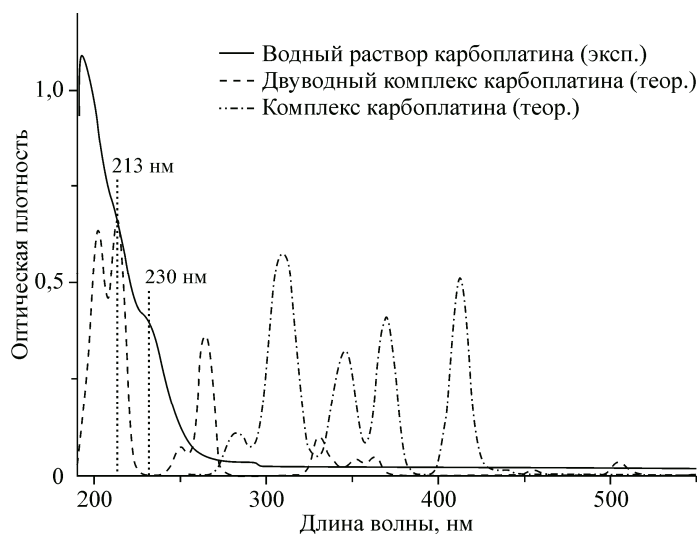


Рис. 7. УФ и оптические спектры карбоплатина и водных растворов соединения

Наиболее точно экспериментальный спектр описывается спектром модели двуводного комплекса соединения. Однако для описания экспериментального спектра водного комплекса соединения должны входить компоненты и от других гидролизованных комплексов.

Экспериментальный спектр поглощения водного раствора карбоплатина в УФ и оптическом диапазоне сопоставлен с теоретическими спектрами для карбоплатина и двуводного комплекса на рис. 7. Изменения в спектрах сопровождаются смещением полос поглощения карбоплатина из оптического диапазона в область УФ, соответствующим полосам поглощения двуводного комплекса соединения.

На рис. 8 сопоставлены экспериментальный ИК спектр карбоплатина и теоретический колебательный спектр молекулы карбоплатина, который хорошо согласуется с экспериментальным ИК спектром. Таким образом, результаты теоретического моделирования гидролиза соединений платины подтверждаются экспериментальными исследованиями на основе спектроскопии рентгеновского поглощения за PtL_3 -краем, методами УФ, оптической и инфракрасной спектроскопий. Данные экспериментальные методики оказались чувствительны к исследова-

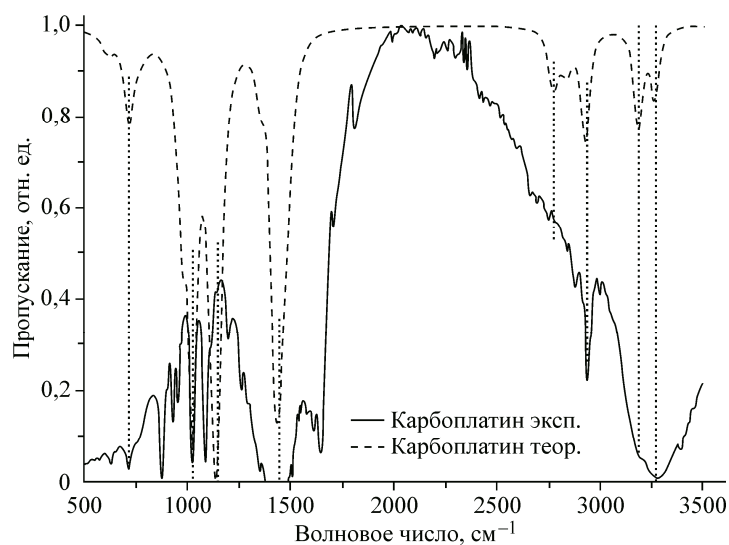


Рис. 8. Инфракрасный спектр пропускания и рассчитанные колебательные спектры карбоплатина

нию процесса гидролиза соединений платины, что может быть использовано для изучения противоопухолевого действия данных соединений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе исследована молекулярная и электронная структуры координационных соединений платины(II): цисплатина ($\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2$), карбоплатина ($\text{PtC}_6\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_4$) и оксалиплатина ($\text{PtC}_8\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_4$) в процессе гидролиза. На основе теории функционала плотности исследована электронная структура данных соединений, получена информация о реакционной способности и стабильности соединений. Проведено моделирование процесса гидролиза, определены структура и геометрические параметры водных комплексов. Результаты теоретических расчетов подтверждены экспериментальными исследованиями на основе спектроскопии рентгеновского поглощения за PtL_3 -краем, методами оптической и инфракрасной спектроскопии. Данные экспериментальные методики оказались чувствительны к исследованию процесса гидролиза соединений платины, что может быть использовано для изучения противоопухолевого действия данных соединений.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 14-35-00051).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Esteban-Fernandez D., Moreno-Gordaliza E., Canas B., Palacios M.A., Gomez-Gomez M.M.* // *Metalomics*. – 2010. – **2**. – P. 19 – 38.
2. *Wheate N.J., Walker S., Craig G.E., Oun R.* // *Dalton Trans.* – 2010. – **39**, N 35. – P. 8097 – 8340.
3. *te Velde G., Bickelhaupt F.M., van Gisbergen S.J.A., Fonseca Guerra C., Baerends E.J., Snijders J.G., Ziegler T.* // *J. Comp. Chem.* – 2001. – **22**. – P. 931 – 967.
4. ADF2009.01. SCM. Theoretical Chemistry. Vrije Universiteit, Amsterdam, The Netherlands, <http://www.scm.com>
5. *Vosko S.H., Wilk L., Nusair M.* // *Can. J. Phys.* – 1980. – **58**. – P. 1200 – 1211.
6. *Rehr J.J., Kas J.J., Prange M.P., Sorini A.P., Takimoto Y., Vila F.* // *Comptes Rendus Physique*. – 2009. – **10**. – P. 548 – 559.
7. *Rehr J.J.* // *Rad. Phys. Chem.* – 2006. – **75**. – P. 1547 – 1558.
8. *Ankudinov A.L., Ravel B., Rehr J.J., Conradson S.* // *Phys. Rev. B*. – 1998. – **58**, N 12. – P. 7565 – 7576.
9. *Rehr J.J., Ankudinov A.L.* // *Rad. Phys. Chem.* – 2004. – **70**. – P. 453 – 463.
10. *Joly Y.* // *Phys. Rev. B* – 2001. – **63**. – P. 125120 – 125129.
11. *Joly Y.* // *Phys. Rev. Lett.* – 1992. – **68**. – P. 950 – 953.
12. *Blaha P., Schwarz K. et al.* // *Wien2k*. – 2008.