

Н. В. Логинова



# МЕТАЛЛОКОМПЛЕКСЫ В МЕДИЦИНЕ: ОТ ДИЗАЙНА К ХИМИОТЕРАПИИ И ДИАГНОСТИКЕ



# МЕТАЛЛОКОМПЛЕКСЫ В МЕДИЦИНЕ: ОТ ДИЗАЙНА К ХИМИОТЕРАПИИ И ДИАГНОСТИКЕ

*Допущено*

*Министерством образования Республики Беларусь в  
качестве учебного пособия для студентов  
учреждений высшего образования по специальностям  
«Химия (по направлениям)», «Биохимия»,  
«Химия лекарственных соединений»,  
«Медико-биологическое дело»*

УДК 546.3:61(075.8)

**Логинова, Н. В.** Металлокомплексы в медицине: от дизайна к химиотерапии и диагностике / Н. В. Логинова. — Минск : БГУ, 2006. — 203 с. : ил. — ISBN 985-485-580-5.

В монографии обобщены данные литературы о различных классах биоактивных координационных соединений металлов: комплексах платины, производных металлоценов, ванадийсодержащих инсулиномиметиках, ингибиторах ферментов и др. Рассмотрена роль металлокомплексов в норме и развитии патологических процессов, а также их разработка и применение в качестве средств химиотерапии, диагностики и коррекции металлолигандного гомеостаза.

Для научных сотрудников, преподавателей, аспирантов и студентов химических, биологических и медицинских специальностей высших учебных заведений.

Табл. 10. Ил. 80. Библиогр.: 646 назв.

Рекомендовано Ученым советом  
химического факультета БГУ  
27 октября 2005 г., протокол № 3

Рецензенты:  
член-корреспондент НАН Беларуси,  
доктор химических наук *О. А. Ивашкевич*;  
доктор биологических наук, профессор *В. М. Шкуматов*

ISBN 985-485-580-5

© Логинова Н. В., 2006  
© БГУ, 2006

## ВВЕДЕНИЕ

Если вы полагаете, что биохимия — это органическая химия живых систем, то вы ошибаетесь, биохимия — это координационная химия живых систем.

*Дж. Вуд*

Поиск новых лекарственных средств в течение многих лет был ограничен преимущественно органическими соединениями и природными веществами, при этом синтетические координационные соединения металлов (металлокомплексов) оставались без должного внимания. Одним из важнейших аспектов современной медицины является рассмотрение организма как высокоорганизованной полиметаллической и полилигандной системы, в которой концентрации эссенциальных (жизненно важных) элементов поддерживаются постоянными за счет металлолигандного гомеостаза<sup>1</sup>. И хотя металлы составляют всего 3 % массы тела человека, без их участия просто невозможно протекание многих жизненно важных процессов в организме: функционирование многих ферментов, осуществление осмотического равновесия в клетках, построение необходимых структур и др.

В организме жизненно важные металлы находятся в основном в виде металлокомплексов. Избыток или недостаток таких металлов, вмешательство токсичных веществ, бактерий и вирусов, являющихся потенциальными комплексообразующими агентами, в конкуренцию за биометалл с полезными комплексообразующими соединениями (например, компонентами клетки) приводят к нарушению нормальных процессов в организме и болезням.

---

<sup>1</sup> Хьюз М. Неорганическая химия биологических процессов. М.: Мир, 1983; Уильямс Д. Металлы жизни. М.: Мир, 1975; Неорганическая биохимия: В 2 т. / Под ред. Г. Эйхгорна. М.: Мир, 1978; Биологические аспекты координационной химии / Под ред. К. Б. Яцимирского. Киев: Наук. думка, 1979; Metal Ions in Biological Systems: In 14 vols / Ed. H. Sigel. New York; Basel: Dekker, 1975—1983.

Не менее важна и химическая форма, в которой биометалл присутствует в организме, а также установление способа его координации с тем или иным лигандом с точки зрения выбора соответствующих соединений — мембраннопроницаемых или таких, из которых данный металл легко извлекается при взаимодействии с трансферринами или другими белковыми молекулами. Для решения этих проблем необходимо изучать структуры комплексов с простейшими лигандами — компонентами клеток или лекарственных веществ. Кроме того, особое значение приобретает определение кинетической устойчивости комплексов, от которой зависит скорость лигандного замещения и, следовательно, биодоступность и биосовместимость координированных молекул лекарственных веществ.

В связи с этим исследование на молекулярном уровне протекающих в организме процессов как сложных координационных взаимодействий ионов металлов с биологически активными соединениями позволяет выработать новый эффективный подход к решению некоторых фундаментальных проблем фармацевтической химии и фармакологии. Изучение особенностей этих взаимодействий — одно из направлений бионеорганической химии, которая сформировалась в самостоятельную научную область в 70-х гг. XX в. на базе достижений биохимии, медицины и неорганической химии.

Еще 40 лет назад координационные соединения использовались в медицине в основном для выведения из организма избытка токсичных металлов и радионуклидов (хелатотерапия). С этой целью проводился подбор малотоксичного подходящего хелатообразующего лиганда, прочно связывающего токсичный металл в легко выводимый из организма нейтральный комплекс. В настоящее время одним из быстро развивающихся современных направлений исследований в химии координационных соединений является синтез и изучение свойств металлокомплексов с органическими биоактивными веществами для выявления новых потенциальных химиотерапевтических агентов<sup>2</sup>. Их систематический поиск начался в связи с выяснением роли микроэлементов в жизнедеятельности человека и открытием различных биоактивных металлокомплексов: противовоспалительных (комплексы меди (II), золота (I, III)), противоопухолевых (комплексы платины (I, IV)), противоанемичных (соединений железа (II), кобальта (II)) и металлоферментов.

---

<sup>2</sup> Uses of Inorganic Chemistry in Medicine / Ed. N. P. Farrell. RCS, 1999.

Актуальность таких исследований обусловлена тем фактом, что многие биологически активные (в том числе и лекарственные вещества) действуют в организме как комплексообразующие агенты и большая часть из них проявляет свою фармакологическую активность, по-видимому, только при взаимодействии с ионами металлов. Поэтому целесообразно обращаться к функциональной модификации биологически активных и лекарственных веществ с помощью комплексообразования с целью повышения фармакологического эффекта и сведения к минимуму побочного действия. Так, с помощью металлокомплексов могут быть преодолены негативные эффекты, возникающие при использовании лекарственных препаратов, содержащих неорганические соли, практически полностью диссоциирующие в биосредах с образованием ионов металлов<sup>3</sup>.

Побочное действие препаратов также может быть обусловлено тем, что многие лекарственные вещества благодаря наличию разнообразных функциональных групп являются активными лигандами и в организме взаимодействуют с эссенциальными биометаллами, образуя с ними прочные комплексы, что приводит к нарушению металлолигандного гомеостаза. Потенциальными лигандами по отношению к биометаллам являются более половины из известных на сегодняшний день природных и синтетических лекарственных веществ, хотя комплексообразующие свойства охарактеризованы не более чем для 10 %. Исследования координационных взаимодействий биоактивных веществ, в том числе и лекарственных, с ионами биометаллов в растворе позволяют оценить возможность конкуренции между ними за ион биометалла<sup>4</sup>.

Исследования особенностей взаимодействия органических лекарственных средств с ионами металлов позволяют не только получать препараты с более высокой фармакологической активностью, но и определять условия рационального применения их в химиотерапии. В первую очередь это относится к ингибиторам металлоферментов, сердечным гликозидам, диуретикам и др.<sup>5</sup>.

Результаты исследований биологической активности металлокомплексов показали, что они являются удобными (эффектив-

---

<sup>3</sup> Координационные соединения металлов в медицине. Киев: Наук. думка, 1986.

<sup>4</sup> Яцимирский К. Б., Крисс Е. Е., Гвяздовская В. Л. Константы устойчивости комплексов металлов с биолигандами. Киев: Наук. думка, 1979.

<sup>5</sup> Ферменты, металлы, металлоферменты в диагностике и лечении. Ивано-Франковск, 1982.



ными) реагентами для решения фармакологических проблем. Благодаря особенностям строения, пространственного расположения функциональных групп, размера, распределения зарядов, стереохимии, окислительно-восстановительным потенциалам и другим характеристикам металлокомплексов, отдельные соединения способны реализовывать одновременно несколько механизмов терапевтического действия с участием таких потенциальных биомишеней, как ферменты, мембраны, ДНК, РНК, протеины, что создает благоприятные возможности для создания на их основе препаратов с широким спектром действия<sup>6</sup>.

Для объяснения механизмов терапевтического действия комплексов металлов на молекулярном уровне привлекается концепция<sup>7</sup>, согласно которой действующим началом в металлокомплексе может быть лиганд, ион металла или комплекс в целом. Известны случаи, когда в индивидуальном состоянии ни лиганд, ни ион металла не обладают терапевтическим действием, но активны при совместном применении в виде металлокомплекса. Активные металлокомплексы достаточно эффективны в борьбе с инфекциями, вызываемыми грибами, бактериями, вирусами, а также в химиотерапии онкологических заболеваний<sup>8</sup>.

Еще одна область перспективного использования металлокомплексов в медицине — диагностика патологических состояний. В настоящее время на основе комплексов радионуклидов (<sup>99m</sup>Tc, <sup>111</sup>In и др.) разрабатываются диагностические средства, нацеленные на определенные органы (для изучения мозгового кровообращения, работы сердца и др.). Они характеризуются удобными для медицинских целей энергией гамма-лучей и периодом полураспада (несколько часов). Постепенно раскрываются возможности применения магниторезонансных контрастных средств на основе комплексов гадолиния(III) и др., а также средств диагностики и терапии за счет захвата нейтронов<sup>6</sup>.

Хорошие перспективы открывает применение металлокомплексов не только в химиотерапии и диагностике, но и в методе полного парентерального питания, позволяющем вводить непо-

<sup>6</sup> *Metallotherapeutic Drugs and Metal-Based Diagnostic Agents. The Use of Metals in Medicine* / Eds. M. Gielen, E. R. T. Tiekink. Weinheim: Wiley-VCH, 2005.

<sup>7</sup> *Sadler P. J.* // *Adv. Inorg. Chem.* 1991. Vol. 36. P. 1—48.

<sup>8</sup> *Metal Complexes in Cancer Chemotherapy* / Ed. B. K. Keppler. Weinheim: VCH, 1993; *Platinum and Other Metal Coordination Compounds in Cancer Chemotherapy 2* / Eds. H. M. Pinedo, J. H. Schornagel. New York.: Plenum Press, 1996; *Guo Z., Sadler P.* // *Angew. Chem. Int. Ed.* 1999. Vol. 38. P. 1512—1531.

средственно в кровеносную систему помимо необходимых компонентов питания (аминокислот, полипептидов, углеводов, липидов, витаминов) микроэлементы в виде координационных соединений. С другой стороны, не менее актуальной для современной медицины является проблема металлотоксикозов и металлоаллергических заболеваний. При металлотоксикозах в качестве детоксикантов, как отмечалось выше, применяются хелатообразующие лиганды (например, комплексоны). Показано, что они способны существенно повысить эффективность лечения аллергий, вызванных металлами. (Этим проблемам посвящено немало научных публикаций, в том числе и монографий, поэтому в данной работе они не рассматривались.)

Возможности более широкого использования металлокомплексов в медицине не в последнюю очередь определяются тем, насколько успешно решается проблема их токсичности. Это один из основных моментов, который следует учитывать химикам при разработке лекарственных и диагностических средств: необходимо создавать высокоспецифичные и нетоксичные препараты. Тем более, что исследования в области бионеорганической химии показали, что в естественных биохимических процессах при тщательном их регулировании в организме вполне безопасно действуют такие токсичные с привычной точки зрения соединения-лиганды, как цианиды, оксид азота(II), сульфиды, гипохлориты и др.<sup>9</sup>. Поэтому создатели современных лекарственных средств, в том числе и металлокомплексов, должны часто прибегать к очень своеобразной стратегии, которую можно охарактеризовать словами писателя К. Чапека: “Для того чтобы осуществить то, что делает природа, он <человек> ...вынужден подходить к делу совершенно иначе. В этом и состоит невероятность и парадоксальность изобретений”.

Роль металлокомплексов в биологических системах рассмотрена в монографиях и обзорах, в которых с разной степенью подробности освещены фундаментальные химические и биохимические аспекты этой пограничной области науки<sup>10</sup>.

<sup>9</sup> New Trends in Bioinorganic Chemistry / Eds. R. J. P. Williams, J. R. Da Silva. London etc.: Acad. Press., 1978.

<sup>10</sup> Хьюз М. Неорганическая химия биологических процессов. М.: Мир, 1983; Уильямс Д. Металлы жизни. М.: Мир, 1975; Неорганическая биохимия: В 2 т. / Под ред. Г. Эйхгорна. М.: Мир, 1978; Биологические аспекты координационной химии / Под ред. К. Б. Яцимирского. Киев: Наук. думка, 1979; Metal Ions in Biological Systems: In 14 vols / Ed. H. Sigel. New York; Basel: Dekker, 1975—1983.; Inorganic Biochemistry: In 3 vols / Ed. H. A. O. Hill. London: Royal Soc. Chem. Burlington House, 1980—1982.



Бионеорганическая химия — быстроразвивающаяся наука, она далеко шагнула вперед от рубежей 70—80-х гг. XX в. Ежегодно публикуется большое количество статей в таких журналах, как *Journal of Inorganic Biochemistry*, *Journal of Medicinal Chemistry*, *Current Medicinal Chemistry*, *Coordination Chemistry Reviews*, *Polyhedron*, *Inorganica Chimica Acta*, *Inorganic Chemistry*, *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, *Journal of Organometallic Chemistry*, *Organometallics*, *Journal of Coordination Chemistry* и др.

Достижения в этой области науки в последние десятилетия оказались столь значительными, что стало актуальным рассмотрение их в учебных программах по предметам специализации и некоторым общим дисциплинам, изучаемым студентами старших курсов и аспирантами соответствующих специальностей высших учебных заведений (химико-фармацевтических, биологических, медицинских).

Следует отметить, что литература, посвященная проблемам биокоординационной химии, немногочисленна, а основные издания, доступные для научных работников, аспирантов и студентов, были изданы в 70—80-х гг. XX в. и в них отсутствует информация о новых достижениях в этой области науки. Таким образом, в настоящее время остро ощущается потребность в публикациях (обзорах, монографиях), обобщающих результаты многочисленных работ, которые представлены в основном в периодических изданиях.

В этой монографии автором предпринята попытка на основании анализа литературы и собственного опыта работы в данной научной области подвести некоторые итоги и рассмотреть возможные направления дальнейшего развития исследований биоактивных металлокомплексов в медицине, причем среди них были выбраны именно те соединения, которые в настоящее время оцениваются по результатам исследований как наиболее перспективные для практического применения или уже используются в медицине.

Автор приносит глубокую благодарность члену-корреспонденту НАН Беларуси, доктору химических наук О. А. Ивашкевичу и доктору биологических наук, профессору В. М. Шкуматову за рецензирование рукописи и полезные замечания и советы.

## Глава I

---

# ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ КОМПЛЕКСЫ ПЛАТИНЫ (II, IV): СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ

---

Современная химиотерапия рака начала развиваться с применением в 1940 г. азотистого иприта для лечения лейкемии и вошла в клиническую практику наряду с более старыми методами — хирургической и лучевой терапией. Возможность лечения больных с нелокализованными и метастазированными опухолями химическими соединениями стимулировала поиск других противоопухолевых средств, обладающих большей селективностью, широтой спектра действия и эффективностью, а также меньшей токсичностью.

Поиск противоопухолевых агентов среди неорганических соединений имел случайный характер. Идея использования соединений тяжелых металлов в онкологии возникла задолго до появления современных противоопухолевых препаратов. Первый обзор по противоопухолевому действию неорганических соединений появился в 1931 г., в нем обобщались результаты действия на карциномы Эрлиха у мышей 64 соединений меди, свинца, хрома, железа, кобальта, никеля, рутения и родия, включая оксиды, галогениды, цианиды и амины. В 1960-х гг. была выдвинута гипотеза о роли хелатирования в развитии рака [1]. При ее проверке обнаружены противоопухолевые свойства у соединений палладия (II), платины (II, IV) и висмута (III). Выказывались предположения, что хелаты рутения (II) могут функционировать как онкостатики.

В большинстве же случаев металлы и их соединения привлекали интерес как канцерогены или в связи с возможностью диагностики рака на основе нарушения гомеостаза ионов ме-

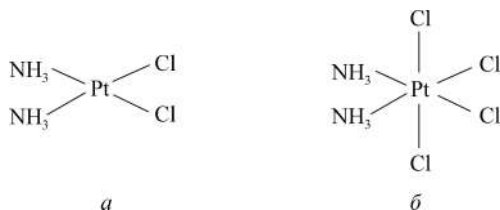


Рис. 1.1. Схематическое изображение структуры платиновых комплексов:

*a* — *цис*-диамминдихлороплатины (II);  
*б* — *цис*-диамминтетрахлороплатины (IV)

таллов в организме при развитии злокачественных новообразований. В настоящее время это представление о соединениях тяжелых металлов как об общих биологических ядах не утратило актуальности и рассматривается в современной химиотерапии в сочетании с изучением терапевтических свойств металлокомплексов.

Интерес к противоопухолевым препаратам на основе соединений платины возник в начале 60-х гг. XX в., когда Розенберг в 1964 г. обнаружил явление ингибирования деления клеток комплексами платины (II, IV): *цис*-диамминдихлороплатиной (II), *цис*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] (рис. 1.1, *a*) и *цис*-диамминтетрахлороплатиной (IV), *цис*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>4</sub>] (рис. 1.1, *б*) [2, 3].

Это открытие изменило представление о соединениях тяжелых металлов только как об общих биологических ядах и заложило фундамент нового и перспективного направления в медицине, отличающегося целенаправленным изучением терапевтических свойств неорганических соединений. В связи с этим к актуальным проблемам медицинской неорганической химии и химиотерапии злокачественных образований относят следующие [1]:

- синтез активных металлосодержащих противоопухолевых средств, различающихся природой металла-комплексобразователя и лиганда;
- установление связи между химической структурой металлокомплекса и его биологической активностью;
- всесторонние медико-биологические и химические исследования выявленных активных соединений;
- выяснение механизма действия металлокомплексов.

Было установлено, что *цис*-диамминдихлороплатина (II) проявляет противоопухолевую активность на перевиваемом

лейкозе мышей L1210 и в отношении саркомы 180 [3—7]. Этот комплекс также способен инактивировать трансформацию ДНК и ДНК-содержащие вирусы, вызывать мутации и убивать мутантные кишечные палочки. Кроме того, *цис*-диамминдихлороплатина (II) ингибирует синтез ДНК и связывается с ДНК, обладает бактериостатической и антиартритной активностью и другими свойствами.

В конечном итоге это привело к внедрению *цис*-диамминдихлороплатины (II), известного как препарат цисплатин, в первую фазу клинических испытаний в 1971 г. [8]. Однако до 1977 г. его применение было очень ограничено. Препаратом лечили только опухоли в последней стадии с приобретенной устойчивостью к воздействию других химиотерапевтических средств, что связано с высокой почечной недостаточностью, которая вызывалась цисплатином и ранее не проявлялась в такой степени ни для одного из противоопухолевых агентов. Хотя из опытов на животных было ясно, что после прекращения введения препарата функция почек со временем восстанавливается, побочное действие цисплатина сильно лимитировало лечебную дозу препарата и возможность его широкого внедрения. Однако высокая антибластическая активность цисплатина против опухолей животных и человека продолжала привлекать внимание, особенно когда стало ясно, что препарат действует на тестикулярные опухоли, которые до 1974 г. считались неизлечимыми и были главной причиной смерти от раковых заболеваний среди мужчин в возрасте от 15 до 35 лет [1].

Применение цисплатина для лечения тестикулярного рака и рака яичников началось в 1978 г. Сегодня цисплатин — один из трех самых широко используемых противоопухолевых препаратов в мире, а его ежегодные продажи составляют около 500 млн долл. [9]. Он оценивается как уникальный противоопухолевый препарат и рекомендуется в числе лучших средств для химиотерапии рака мочеполовой системы, а также может быть использован в терапии различных видов карцином, лимфомы, остеосаркомы, меланомы и нейробластомы [9]. В комбинированной терапии это лекарство используется также в сочетании с известными препаратами — винбластином, блеомицином, метотрексатом и др. Следует отметить, что такому успешному применению цисплатина в настоящее время даже “не мешают” побочные эффекты, характерные для него (высокая нефро-, ото- и нейротоксичность, тошнота, рвота, выпадение волос, миелосупрессия и др.) [10].

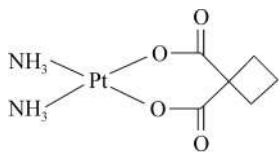


Рис. 1.2. Схематическое изображение структуры карбоплатина

Однако некоторые опухоли имеют природную устойчивость к цисплатину, в то время как другие развивают ее после начала лечения. Цисплатин также имеет ограниченную растворимость в водных растворах и назначается внутривенно, что вызывает неудобства при амбулаторном лечении.

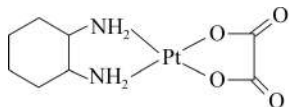
Эти недостатки в совокупности с токсичностью цисплатина послужили толчком к развитию и усовершенствованию противоопухолевых комплексов платины (II, IV).

С момента появления цисплатина тысячи соединений платины были синтезированы и исследованы на предмет противоопухолевой активности. Более 30 прошли клинические испытания, но только препарат *цис*-диамминциклобутандикарбоксилатоплатина (II), карбоплатин (рис. 1.2), получил всемирное признание и успешно используется в повседневной клинической практике [9, 11].

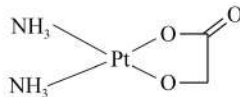
Карбоплатин менее токсичен, чем цисплатин и может применяться в более высоких дозах [12]. Однако использование карбоплатина не привело к заметному расширению спектра чувствительных опухолей, поскольку он активен в отношении тех же видов опухолей, что и цисплатин, и также вводится внутривенно.

За последние годы в некоторых странах ограниченное применение получили два других соединения платины (II): [транс-(1*R*,2*R*)-диаминоциклогексан]оксалаатоплатина (II), оксалиплатин (рис. 1.3, а) был рекомендован по Франции и других европейских странах как вспомогательное средство в терапии метастазов при раке прямой кишки, а *цис*-диаммингликолатоплатина (II), недаплатин (рис. 1.3, б) получил разрешение к использованию в Японии [11].

До сих пор оксалиплатин и недаплатин не продемонстрировали заметного преимущества по сравнению с цисплатином или



а



б

Рис. 1.3. Схематическое изображение структуры комплексов платины (II):

а — оксалиплатина; б — недаплатина

карбоплатином, хотя для оксалиплатина во время доклинических испытаний была показана возможность применения в лечении опухолей, устойчивых к цисплатину. Тем не менее поиск, направленный на улучшение характеристик противоопухолевых агентов на основе комплексов платины (II, IV), продолжается. Он мотивирован желанием создать менее токсичные соединения, пригодные к пероральному применению, с широким спектром чувствительных опухолей, а также способные преодолеть устойчивость к цисплатину и карбоплатину.

В последующие годы после внедрения цисплатина моделирование новых противоопухолевых препаратов на основе соединений платины (II, IV) было направлено преимущественно на создание прямых аналогов цисплатина, структура которых непосредственно связывалась с активностью [13, 14]. К комплексам платины (IV) проявляется интерес еще и как к потенциальным средствам для перорального применения.

В последнее время осуществляется оптимизация дизайна новых комплексов платины (II, IV), основанная на более глубоком понимании механизмов устойчивости к платиносодержащим препаратам [15—20]. Новые комплексы платины (II, IV) имеют особые химические и структурные свойства, позволяющие этим средствам “обходить” специфический механизм лекарственной устойчивости. Также были сделаны попытки, направленные на создание “нестандартных” комплексов, нарушающих традиционное для комплексов платины (II, IV) соответствие структура—активность, а именно *транс*-соединений [21] и полиядерных комплексов платины (II) [30]. Поведение этих комплексов в организме и их механизм действия отличались от соответствующих характеристик цисплатина и карбоплатина, поэтому были основания для предположения, что они способны преодолеть устойчивость опухолей к этим препаратам и смогут применяться в лечении более широкого спектра раковых заболеваний. Подробнее эти “нестандартные” комплексы будут рассмотрены ниже.

Со времен открытия Розенберга объем исследований в области противоопухолевых препаратов платины (II, IV) достиг весьма значительных масштабов. Регулярно появляющиеся обзоры отражают все наиболее значимые результаты в области дизайна комплексов платины (II, IV), доклинических наблюдений, механизма действия и клинических испытаний препаратов [9, 11, 12, 15—32].



## ОСОБЕННОСТИ КООРДИНАЦИОННОЙ ХИМИИ ПЛАТИНЫ (II, IV)

Металлы платиновой группы в растворах существуют исключительно в виде комплексных соединений и отличаются выраженной склонностью к взаимодействию ковалентного типа. Их ионы относятся к “мягким” кислотам Льюиса и образуют устойчивые связи с “мягкими” основаниями.

Известны комплексы со степенью окисления платины +2, +4 и +2,25. Наиболее распространены и изучены плоско-квадратные комплексы платины (II) и октаэдрические комплексы платины (IV) [33]. К комплексам с дробной степенью окисления относятся так называемые платиновые сини. Плоско-квадратные комплексы платины (II) термодинамически устойчивы: чем тяжелее донорные атомы, тем стабильнее комплексы [33]. Их стабильность зависит от природы донорных атомов лигандов и изменяется следующим образом:  $F < O < N < Cl < Br < I < C \sim S$ . Такие комплексы достаточно инертны. Реакции обмена протекают по двум путям: по первому пути лабильная группа первоначально замещается молекулой растворителя, после чего следует быстрый процесс замещения растворителя входящей группой с образованием конечного продукта; по второму пути лабильная группа комплекса непосредственно замещается на новый лиганд. В обоих случаях образуются промежуточные соединения и сохраняется стереохимия первоначального комплекса.

Реакционная способность комплексов определяется их термодинамической и кинетической устойчивостью. Особую роль играет направленное влияние лигандов — термодинамическое *цис*- и *транс*-влияние и кинетические *цис*- и *транс*-эффекты. Направление реакций замещения лигандов в растворах комплексов определяется *транс*-эффектом и помогает в изучении механизма реакций *цис*- и *транс*-диамминдихлороплатины (II) с азотистыми основаниями ДНК и другими биомолекулами. При планировании синтезов изомерных плоско-квадратных комплексов необходимо учитывать ряд *транс*-влияния [33]:  $H_2O < OH^- < NH_3 < Cl^- < Br^- < I^- \sim NO_2^- \sim PR_3 \ll CO \sim C_2H_4 \sim CN^-$ . Используя ряд *транс*-влияния, можно предсказать направление реакций *in vivo* и *in vitro*. Стереоспецифичность связей также важна, так как влияет на биологические свойства изомеров (*цис*-платин активен, а *транс*-платин — нет).

Следует учитывать, что такие связи в координационных соединениях, как Pt–N и Pt–S существенно не изменяются под физиологическим воздействием, в то время как стабильность связей с галогенид-ионами и особенно с водой намного ниже.

Заслуживает внимания и способность комплексов платины (II) к димеризации и полимеризации с лигандами, содержащими донорные атомы, которые могут выполнять функции мостиков между двумя и более атомами металла [33].

Растворимость лекарственных металлокомплексов в воде и липидах очень важна для химиотерапии, так как она вместе с другими факторами влияет на их транспорт через клеточные мембраны, взаимодействие с различными клеточными субстратами и рецепторами, а также на их удаление из организма через экскреторные органы [1, 16—18]. Одна из трудностей получения количественных данных противоопухолевого скрининга заключается в сравнительно низкой растворимости в воде многих электронейтральных комплексов платины (II), в результате чего их вводят животным внутрибрюшинно в виде масляных суспензий или в растворах диметилсульфоксида. При этом важно, с какой скоростью комплекс проникает в плазму крови. В целом же между растворимостью и биологической активностью соответствия нет. Комплексы платины (IV) часто лучше растворимы, чем соответствующие комплексы платины (II) [34].

## МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ КОМПЛЕКСОВ ПЛАТИНЫ (II, IV)

Комплексы платины (II, IV) — эффективные цитостатики и противоопухолевые агенты, причем цитотоксичность в отличие от противоопухолевой активности не селективна [15, 17—22, 30]. Не все клеточные яды имеют свойства противоопухолевых агентов. Например, в соответствующих дозах *цис*- и *транс*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] служат цитостатиками, но только *цис*-изомер обладает противоопухолевыми свойствами.

Существуют прямые и косвенные доказательства того, что в организме основной мишенью для противоопухолевых комплексов платины (II, IV) является ДНК, о чем свидетельствуют следующие биологические эффекты: ингибирование деления клеток бактерий и образование нитеподобных форм микроорганизмов,

индуцирование фагов лизогенных бактерий, инактивация вирусов и функций ДНК, иницирование репарационных процессов, восстанавливающих повреждения ДНК, мутагенные и канцерогенные свойства этих комплексов [34]. При изучении процессов биосинтеза в опухолевых клетках на биохимическом уровне показано, что в терапевтических дозах активные комплексы платины (II, IV) ингибируют синтез ДНК и не влияют на синтез РНК, протеинов и предшественников ДНК, а также на транспорт через мембраны. Неактивные комплексы в таких же дозах не действуют на процессы биосинтеза в клетках [35, 36].

Существует две гипотезы о том, каким образом взаимодействие активных комплексов платины (II, IV) и ДНК приводит к противоопухолевому эффекту. Первая принадлежит Розенбергу [37] и основана на представлении о модификации реакции иммунной системы организма под действием этих комплексов. На уровне организма действие комплекса, в частности цисплатина, селективно, так как он ингибирует процессы образования и развития опухолей животных и человека, по размерам превышающих многие важные органы, без существенного разрушения нормальных тканей. Так как цисплатин не накапливается в опухолях, его селективность не связана с непосредственным действием на опухоль, а избирательность, по-видимому, обусловлена действием комплекса на иммунную систему организма. Согласно Розенбергу [37], комплекс может повышать антигенность опухолевых клеток, которые в отличие от нормальных имеют на своей поверхности ДНК. Из-за низкой иммуногенности нуклеиновые кислоты путем тривиального механизма “антигенного маскирования” понижают антигенные свойства опухолевых клеток. Под действием цисплатина нуклеиновые кислоты могут удаляться с поверхности клеток, увеличивая их антигенность. Вовлечение иммунной системы в противоопухолевый эффект цисплатина подтверждается некоторыми фактами, но до сих пор не считается окончательно установленным и нуждается в дальнейших уточнениях [15, 17, 29, 34].

В соответствии со второй гипотезой предполагается, что природа противоопухолевой активности комплексов платины (II, IV) обусловлена их действием на биопроцессы, протекающие на клеточном уровне. Для выяснения механизма их действия исследуются реакции активных и неактивных комплексов с биомолекулами. Основываясь на данных по реакционной способности этих комплексов, можно в общих чертах предсказать их поведение в

биологической среде [33, 34]. Так как ионы платины (II, IV) считаются относительно “мягкими” кислотами Льюиса, следует ожидать, что они будут образовывать наиболее прочные связи с биомолекулами, содержащими донорные атомы серы и/или азота. Это взаимодействие, по крайней мере, в начальный момент будет кинетически контролироваться природой уходящей группы и константами нуклеофильности потенциальных лигандов. К важным факторам относятся также концентрации потенциальных лигандов и степень структурного соответствия взаимодействующих групп.

Было установлено, что селективное взаимодействие цисплатина с ДНК и ингибирование ее синтеза в клетках является результатом действия комплекса на матричную ДНК [34], и, следовательно, необходимо исследовать взаимодействие комплексов платины (II, IV) с самой ДНК или с ее компонентами. К важным с этой точки зрения соединениям в первую очередь можно отнести гетероциклические основания (аденин, гуанин, цитозин, тимин); затем нуклеозиды, содержащие гетероциклическое основание и углеводный остаток, и нуклеотиды, в состав которых входят нуклеозиды, соединенные эфирной связью с остатками фосфорной кислоты. Взаимодействие этих веществ с комплексами платины (II, IV) — вот круг проблем, определивших на несколько десятилетий вперед содержание исследований в этой области биokoординационной химии.

На примере цисплатина обычно рассматривают основной механизм действия противоопухолевых комплексов платины (II), схожих с ним по структуре. Действие цисплатина связывают со способностью к бифункциональному связыванию нитей ДНК, ведущему к длительному подавлению биосинтеза нуклеиновых кислот и гибели клетки [15—20, 29, 30]. Фосфорсодержащие фрагменты расположены вдоль макромолекулы ДНК; они пространственно доступны и могут взаимодействовать с ионами платины (II). Однако в комплексах платины (II) фосфорсодержащая группа очень лабильна, поэтому *in vivo* реакция взаимодействия комплексов с фосфорсодержащими фрагментами ДНК не играет существенной роли в противоопухолевой активности комплексов [34]. Взаимодействие комплексов платины (II) с нуклеофильными центрами углеводных остатков ДНК маловероятно из-за электронных и стерических факторов. Тем не менее при рассмотрении механизма биологического действия комплексов платины (II) учитывается возможность такого взаимодействия [34].

Наиболее устойчивые комплексы платина (II) образует с азотистыми основаниями ДНК, что подтверждается изменением УФ-спектров растворов нативной нуклеиновой кислоты в присутствии *цис*- и *транс*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] [34]. Основания ДНК содержат два или более донорных атома, способных связывать ионы металла. Для выяснения природы донорных атомов, с которыми реагируют комплексы платины (II), изучались реакции активных и неактивных соединений с природными и синтетическими компонентами ДНК (пуриновыми и пиримидиновыми основаниями, нуклеозидами и нуклеотидами [15, 25, 29, 30]). В свободном состоянии все основания нуклеиновых кислот в той или иной степени реагируют с комплексами платины (II), но наибольшую склонность к взаимодействию проявляет гуанин. Оказалось, что наиболее реакционноспособным центром присоединения к ДНК таких электрофильных агентов, как аквакомплекс цисплатина (см ниже), является атом N-7 гуанинового основания [25, 29, 30].

Точный механизм действия цисплатина не установлен, но считается, что он аналогичен другим алкилирующим средствам. Общая особенность молекулярного механизма действия некоторых классов противоопухолевых лекарственных средств заключается в связывании в положении N-7 двух смежных гуаниновых оснований в последовательности ДНК (так называемые “сшивки”). В этом случае связывание цисплатина и его аналогов с ДНК может происходить тремя способами:

- соединение комплекса с азотистыми основаниями противоположных нитей (межнитевая сшивка) (рис. 1.4, а);
- соединение комплекса с двумя соседними основаниями одной нити через N-7 гуанина ДНК (внутринитевая сшивка) (рис. 1.4, б);
- бидентатное хелатообразование одного основания через O-6, N-7.

Первичное место связывания — позиция N-7 азотистого основания гуанина, но ковалентные взаимодействия также происходят с аденином, цитозином, однако в меньшей степени, и имеют меньшую энергию связи [19]. В ряду нуклеотидов нуклеофильность по отношению к *цис*- и *транс*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] изменяется в ряду: ГМФ > АМФ > ЦМФ [38, 39].

Согласно [19], реализуются все три вышеуказанные способа взаимодействия. Еще неокончательно установлено, какие из бифункциональных аддуктов платина (II)—ДНК обуславливают

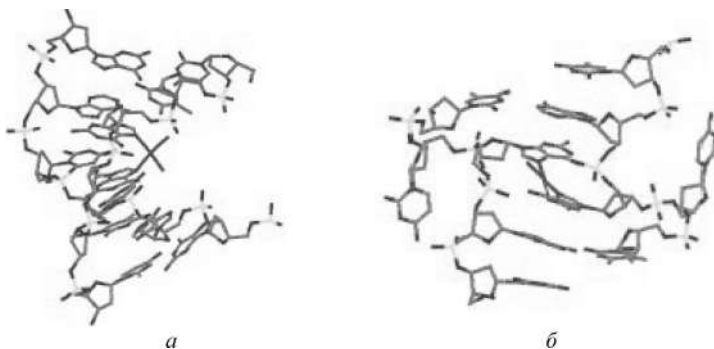


Рис. 1.4. Схематическое изображение связывания в положении N-7 двух смежных гуаниновых оснований в последовательности ДНК при образовании аддуктов цисплатин—ДНК:  
 а — 1,2-внутринитевая сшивка [40];  
 б — межнитевая сшивка [41]

цитотоксическую активность. Дискуссии об этом велись со времен начала их исследования и продолжаются по сей день. На ранних этапах исследований предпочтение отдавалось межнитевым аддуктам — частично потому, что они легко поддавались идентификации и частично потому, что не трудно представить себе, каким образом аддукт, связывающий две цепи ДНК, будет препятствовать ее репликации [34].

В середине 1980-х гг. были идентифицированы основные аддукты с ДНК, образованные цисплатином [42—46]. Основными соединениями оказались 1,2-внутринитевые перекрестные сшивки *цис*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>{d(GpG)}] (47—50 % образовавшихся аддуктов) и *цис*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>{d(ApG)}] (23—28 % аддуктов). Кроме того, 8—10 % аддуктов содержали 1,3-внутринитевые поперечные сшивки, в которых не были задействованы соседние основания, и межнитевые сшивки; а оставшиеся 2—3 % аддуктов были образованы за счет монофункционального связывания основания. Во всех случаях платина (II) связывалась с N-7 атомами пуриновых оснований.

Таким образом, было обнаружено, что при взаимодействии комплексов платины (II) с ДНК 80—90 % аддуктов представляют собой внутринитевые сшивки, которые стали рассматривать как критические повреждения [1, 23, 28, 47—52]. Что же касается межнитевого связывания, то оно способствует наиболее выраженному ингибированию синтеза ДНК, которое вызывает нарушение клеточных функций и гибель клетки [19, 53].



Трансплатин, который не образует 1,2-внутринитевые повреждения вследствие стереохимических особенностей, характеризуется *in vitro* низкой цитотоксичностью в отличие от цисплатина и не проявляет противоопухолевой активности [54—58]. Основные аддукты, образованные трансплатином с ДНК, находятся в следующем соотношении: 50 % *транс*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>{d(GMP)}{d(CMP)}], 40 % *транс*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>{d(GMP)}<sub>2</sub>] и 10 % *транс*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>{d(GMP)}{d(AMP)}], причем преобладают 1,3-внутринитевые или межнитевые сшивки [56—58].

Таким образом, в течение нескольких десятилетий *цис*-конфигурация комплекса платины (II) рассматривалась как одно из необходимых условий для реализации его противоопухолевой активности, что безусловно оказало влияние на большинство работ по дизайну аналогов цисплатина с модифицированными уходящими и необмениваемыми лигандами (лигандами-носителями).

Связывание молекулы цисплатина с молекулой ДНК происходит посредством замещения лабильных хлоридных групп [59—64]. Их лабильность во многом определяется *транс*-влиянием молекул аммиака комплекса. Небольшое различие в таком *транс*-влиянии также определяет термодинамическую устойчивость и достаточную инертность цисплатина. Это является одним из объяснений столь выраженных различий в терапевтических свойствах цисплатина и трансплатина и их аналогов.

Исследования показали, что связывание цисплатина с ДНК в большей степени определяется кинетикой, а не термодинамикой процесса [59, 61—64]. Лимитирующей реакцией связывания ДНК и платины (II) является стадия гидролиза с удалением лиганда — хлорид-иона (рис. 1.5). Гидролиз происходит при прохождении цисплатина в клетку и сопровождается образованием аквакатиона *цис*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl(H<sub>2</sub>O)]<sup>+</sup>, который затем связывается с атомом N-7 гуанинового основания. Основание может замещать молекулу воды с образованием монофункционального аддукта. Замыкание монофункционального аддукта и, как следствие, образование бифункционального аддукта происходит при замещении второго хлорид-иона в составе цисплатина [65, 66].

Высокая концентрация хлорид-ионов во внеклеточной жидкости ( $\approx 100$  мМ) приводит к подавлению реакции гидратации и позволяет незаряженным комплексам проникать внутрь клеточных мембран. Однако при вхождении в клетку, где концентрация хлорид-ионов намного ниже (4 мМ), происходит замещение

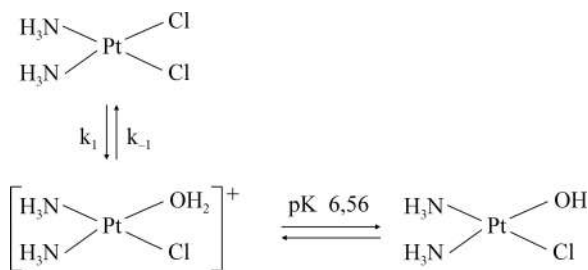


Рис. 1.5. Схематическое изображение гидролиза цисплатина [29]

хлоридных лигандов на биолиганды, в особенности на хелатирующие [35].

Предполагается, что механизм противоопухолевой активности цисплатина в значительной степени может обуславливаться гидролизом молекулы комплекса и образованием его активной формы — моноаквакомплекса, который реагирует с ДНК и оказывает цитотоксическое действие. При гидратации нелабильный комплекс платины (II) превращается в алкилирующий агент с функциями, во многом аналогичными классическим алкилирующим противоопухолевым средствам.

Для объяснения влияния анионов  $X^-$  на противоопухолевую активность электронейтральных комплексов *цис*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{X}_2]$  привлекаются кинетические характеристики. Противоопухолевая активность убывает в ряду  $\text{Cl}^- > \text{Br}^- > \text{SCN}^- > \text{NO}_2^- > \text{I}^-$ , и примерно в такой же последовательности уменьшается скорость некоторых реакций нуклеофильного замещения комплексов платины (II) [18, 21].

При рассмотрении всех факторов, определяющих кинетику реакций замещения в плоско-квадратных комплексах цисплатина и его аналогов, найдено, что часто скорость реакции определяется процессами образования связей и возрастает с увеличением  $\sigma$ -донорной и  $\pi$ -акцепторной способности входящего лиганда, перекрывания между  $(n+1)s$ ,  $p$ -орбиталями металла и лиганда, степени поляризуемости входящего лиганда,  $\sigma$ -донорной способности *цис*-лиганда, а также с понижением  $\sigma$ -донорной способности *транс*-лиганда и уходящей группы [33, 34].

Это также одно из объяснений различия свойств *цис*- и *транс*-изомеров  $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$  и некоторых его аналогов [65, 66], поскольку гидратация *транс*-изомера происходит быстро.

Известны и другие факты, которые связывают с различной активностью *цис*- и *транс*-изомеров [15, 21, 28, 29]:

- способность изомеров образовывать в водных растворах полиядерные комплексы, обладающие различными биологическими свойствами;

- особенности повреждения изомерами ДНК в процессе ее репликации (более выгодно пространственное положение *цис*-изомера при межнитеевой сшивке ДНК, одновременно блокирующей репликацию и рост обеих нитей);

- особенности образующихся комплексов ДНК, РНК и их компонентов; их структура, реакционная способность (более устойчивые соединения образуются при взаимодействии с *цис*-изомерами, что дает значительно больше возможностей нарушения функций клетки и ее гибели, а соответственно и общей противоопухолевой активности соединения);

- природа донорных атомов, с которыми связана платина (II);
- природа продуктов их превращения в водных растворах;
- гидролитическая устойчивость *цис*- и *транс*-изомеров;
- возможность лабильзации амминного лиганда и его замещение в *цис*-изомере при замене хлорид-иона сильным *транс*-ориентирующим лигандом.

В последнем случае различие в активности *цис*- и *транс*-изомеров  $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$  рассматривается в рамках представлений о влиянии на замещение сильного пуринового основания [34]. При замещении одного хлорид-иона гетероциклическим атомом азота N-7 гуанинового основания ДНК молекула аммиака оказывается лабильзированной сильным *транс*-ориентирующим лигандом. В результате может произойти потеря молекулы аммиака, и в конечном счете *цис*-комплекс потеряет все четыре свои исходные лиганда. В образовавшемся комплексе платина (II) прочно связана с ДНК и не удаляется внутриклеточными репаративными системами. Для *транс*-комплекса такой тип взаимодействия с ДНК невозможен. Замещение первого хлорид-иона лишь облегчает отщепление второго, а молекула аммиака остается нелабильзированной [33].

Дальнейшего изучения требует и неожиданно сильная зависимость биологической активности от природы нелабильной аминогруппы в комплексах такого типа. Для них активность, как правило, уменьшается при переходе от молекулы аммиака и первичных аминов к третичным:  $\text{NH}_3 \sim \text{NH}_2\text{R} > \text{NHR}_2 \gg \text{NR}_3$ . Поэтому важно было выяснить, действительно ли эта зависи-

мость может быть обусловлена уменьшением способности указанных лигандов стабилизировать комплексы платины (II) с ДНК с помощью водородных связей [67, 68].

Для того чтобы ответить на перечисленные выше вопросы о механизме действия комплексов платины (II), был привлечен метод молекулярного моделирования. Применительно к изучению главных аддуктов — внутринитевых d(GpG) и d(ApG) — метод основан на использовании хиральных соединений, предназначенных для энантиоселективного связывания на этих центрах [30, 69, 70]. В частности, в начале 1990-х гг. этим методом с использованием соединения с низкой активностью *in vitro*, специально предназначенного для межнитевого связывания с ДНК, удалось подтвердить, что межнитевый аддукт не может быть ответственен за смерть клетки, и этот эффект связан с образованием внутринитевых аддуктов [71].

Моделирование позволило установить, что при образовании цисплатином внутринитевых аддуктов d(GpG) и d(ApG) возникают водородные связи между амминными лигандами комплекса и соответственно атомом кислорода фосфорсодержащей группы и атомом О-6 гуанинового основания (рис. 1.6) [70]. Образование водородной связи не является определяющим фактором при образовании внутринитевых аддуктов, но исследования показали, что нарушение водородной связи с атомом О-6 основания, может повлиять на степень связывания на этих центрах.

Следовательно, можно ожидать, что пара энантиомеров, представленная на рис. 1.6, должна по-разному реагировать при образовании бифункциональных внутринитевых аддуктов. У од-

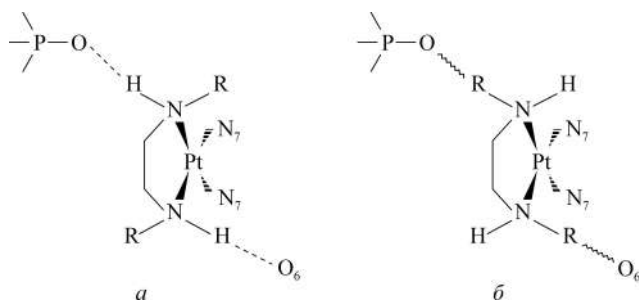


Рис. 1.6. Схематическое изображение структур энантиомеров-лигандов, отличающихся способностью к образованию водородных связей во внутринитевых аддуктах [70]

ного из них атомы водорода расположены таким образом, что водородная связь легко возникает (рис. 1.6, *а*), а у того, который имеет объемные заместители, расположенные в направлении водородной связи, ее образование затруднено (рис. 1.6, *б*), и, соответственно, активность первого должна быть значительно выше. Реализация такой модели осложняется из-за потенциальной рацемизации хиральных центров на координационно связанном амине [70].

Для преодоления этих трудностей было предложено использовать такую структуру лиганда, в которой имеются инертные хиральные центры, придающие необходимую хиральность атомам азота. В качестве индикаторов внутринитевых аддуктов исследовались соединения со структурами, схематически представленными на рис. 1.7 и 1.8. Комплексы  $[Pt(R,R-1,2-chxn)Cl_2]$  и  $[Pt(S,S-1,2-chxn)Cl_2]$  (1,2-*chxn*=1,2-циклогександиамин) продемонстрировали умеренную энантиоселективность и определили направление дальнейшего поиска оптимальных структур (рис. 1.7) [69].

Наиболее успешными оказались эксперименты, в которых использовались комплексы платины (II) с более жесткими каркасными структурами лигандов — производными 3-аминогексагидроазипина (*ahaz*) (рис. 1.7):  $[Pt(R-ahaz)Cl_2]$  и  $[Pt(S-ahaz)Cl_2]$  [70]. Такие лиганды содержат эндоциклическую вторичную аминогруппу и экзоциклическую первичную аминогруппу, причем атом углерода, связанный с экзоциклической аминогруппой, является хиральным. Кроме того, при координации с ионами платины (II) они характеризуются ограниченными возможностями для конформационных превращений. Присоединение алкильного заместителя к экзоциклической аминогруппе дает лиганды, при координации которых к платине (II) в металло-

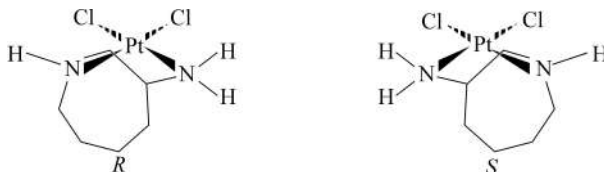


Рис. 1.7. Схематическое изображение структуры индикаторов внутринитевых аддуктов  $[Pt(R,R-1,2-chxn)Cl_2]$  и  $[Pt(S,S-1,2-chxn)Cl_2]$ : 1,2-*chxn*=1,2-циклогександиамин [69]

комплексах  $[\text{Pt}(\text{R-meahaz})\text{Cl}_2]$  и  $[\text{Pt}(\text{S-meahaz})\text{Cl}_2]$  (me=метил),  $[\text{Pt}(\text{R-etahaz})\text{Cl}_2]$  и  $[\text{Pt}(\text{S-etahaz})\text{Cl}_2]$  (et=этил) образуется второй хиральный центр у экзоциклического амина (рис. 1.8). Для оценки степени влияния на биоактивность увеличения объема заместителей и замещения протона аминогруппы использовался комплекс состава  $[\text{Pt}(\text{dimeahaz})\text{Cl}_2]$ , в котором лиганд содержит два алкильных заместителя в аминогруппе.

С помощью таких индикаторов внутринитевых аддуктов были получены следующие результаты [70]:

- при оценке *in vitro* цитотоксичности комплексов обнаружена существенная и воспроизводимая тенденция к энантиоселективности, причем *R*-энантиомеры более активны, чем *S*-энантиомеры для всех клеточных линий;

- введение алкильных заместителей в лиганд в 5—6 раз снижает активность комплексов;

- активность комплекса  $[\text{Pt}(\text{dimeahaz})\text{Cl}_2]$  практически не отличается от активности комплексов  $[\text{Pt}(\text{meahaz})\text{Cl}_2]$  и  $[\text{Pt}(\text{etahaz})\text{Cl}_2]$  для всех клеточных линий;

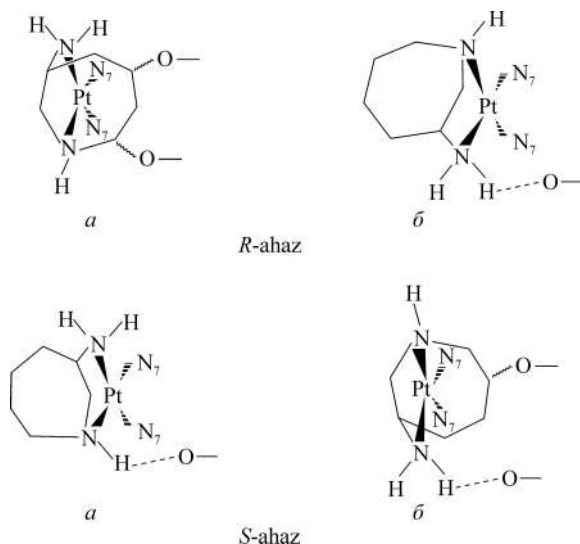


Рис. 1.8. Схематическое изображение структуры индикаторов внутринитевых аддуктов  $[\text{Pt}(\text{R-ahaz})\text{Cl}_2]$  и  $[\text{Pt}(\text{S-ahaz})\text{Cl}_2]$ , если  $R=\text{H}$  [70]



- для всех комплексов  $[Pt(ahaz)Cl_2]$  установлено, что *S*-энантиомеры легко образуют внутринитевые бифункциональные аддукты, а *R*-энантиомеры менее склонны к этому; однако *R* — более цитотоксичны.

Таким образом, существование корреляции между склонностью комплекса к образованию бифункциональных внутринитевых аддуктов и цитотоксичностью пока убедительно не подтверждено.

Тем не менее не вызывает сомнения факт, что бифункциональные аддукты платины (II) с ДНК способны блокировать ее репликацию. Однако клинически активные и неактивные комплексы повреждают ее различным образом. Приведенные выше результаты свидетельствуют о том, что существуют другие, не учтенные в этих экспериментах, факторы, которые могут вносить вклад в наблюдаемую для цитотоксической активности энантиоселективность. Эти предположения подтверждаются в работе [72, 73], где обнаружено, что при образовании комплексами платины (II) внутринитевых аддуктов d(GpG) значительный вклад в энантиоселективность могут осуществлять стерические межлигандные взаимодействия и водородные связи во второй координационной сфере.

Не последнюю роль в возможных механизмах потенцирования действия цисплатина и его аналогов играют так называемые структурно-специфические распознающие белки (ССРБ), которые были идентифицированы в 1990-х гг. [74—76]. Они содержат белковый домен HMG из 75 аминокислот (он присутствует в некоторых хромосомных белках) и обладают общим свойством избирательно связываться с бифункциональными аддуктами платины (II) с ДНК. Поддержка идеи о том, что внутринитевые аддукты ответственны за цитотоксическую активность цисплатина пришла с открытием специфического распознавания 1,2-внутринитевых сшивок ССРБ, которые могут регулировать обработку главных повреждений цисплатином за счет изменения клеточной чувствительности к препарату. Предложены следующие основные модели взаимодействия ССРБ с аддуктами [74]:

- распознавание повреждения цисплатином ДНК в опухолевой клетке и защита путем вырезания главных аддуктов платины (II) с ДНК от репарации; в результате этого сохраняется их способность блокировать репликацию ДНК, необходимую для опухолевой пролиферации (т. е. роста за счет размножения клеток);

- совпадение изменений геометрии двойной спирали при связывании с ДНК цисплатина и белкового домена НМГ; облегчение взаимодействия комплекса цисплатина с ДНК и белка, мешающего репарации поврежденной ДНК;

- ССРБ распознают повреждения ДНК, образованные цисплатином, а повреждения трансплатина — нет. Описан метод скрининга комбинаторных смесей потенциальных противоопухолевых препаратов, основанный на способности соединений платины (II) связываться с ССРБ [19, 74].

Необходимо отметить и то, что цисплатин и его аналоги взаимодействуют не только с ядерной ДНК. Эти соединения могут влиять на другие вещества, способствующие пролиферации, например, РНК, а также, возможно, протеины, энзимы и другие соединения, о чем свидетельствуют их нефро- и ототоксичность [17—21, 30, 77]. Так, для модельных реакций *in vitro* степень и тип взаимодействия комплексов платины (II) с протеинами, как и в случае с ДНК, зависят от строения комплекса и условий проведения реакции: анионные комплексы с прочносвязанными лигандами присоединяются электростатическими силами; анионы с лабильными лигандами образуют с протеинами ковалентные связи; электронейтральные комплексы могут проникать в гидрофобную часть третичной структуры протеина, тогда как для заряженных комплексов это невозможно [78]. Исследования некоторых комплексов платины (II) с протеинами и полипептидами показали, что главными центрами присоединения платины (II) являются атомы серы метионина и цистеина, а также азот гистидинового остатка [79].

К фактам, которые позволяют усомниться в ДНК как единственной внутриклеточной мишени для этих комплексов, относятся и данные о внутриклеточном распределении платины (II) в клетках, предварительно экспонированных с цисплатином [80]: 70—75 % общего количества платины обнаруживается в цитозоле и плазматической мембране, и только 20—25 % — в ядре, причем только 10 % обнаруженной в ядре платины (II) непосредственно связано с ДНК. Это предполагает разнообразие неядерных лигандов, интенсивно связывающих поступающие в клетку соединения платины (II). Среди них обнаружены многие  $\text{Ca}^{2+}$ -связывающие ферменты:  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаза,  $\text{K}^+/\text{Na}^+$ -АТФаза и др. [81, 82].

Результаты исследований обнаруживают реактивность внутриклеточных систем передачи сигнала на воздействие цисплати-

на и его аналогов. Цисплатин способен индуцировать образование внутриклеточной цАМФ, а циклоплатам — модулировать  $\beta$ -акцепторную активность плазматической мембраны [83]. Установлено, что протеинкиназа С (ПК-С), один из ключевых ферментов трансмембранной передачи сигнала, вовлечена в регулирование клеточной пролиферации [84], и, следовательно, потенциально может участвовать в реализации цитотоксичности цисплатина и его аналогов. Как показано в работе [85], цисплатин и циклоплатам способны ингибировать ПК-С не только в бесклеточной системе, но и в клетках меланомы ВРО, а концентрации этих препаратов, способные ингибировать ПК-С, согласуются с их цитотоксичностью. По мнению авторов работы [85], наблюдаемое снижение активности ПК-С в клетках ВРО после культивирования их с цисплатином, может быть только следствием прямого связывания препаратов с ДНК.

Цисплатин и его аналоги действуют на парамагнитные центры металлоферментов, являющиеся структурными элементами энергетической и детоксикационной систем клеток. Выявлены изменения активности негемовых железосерных белков митохондрий, цитохрома Р-450, церулоплазмينا и трансферрина [86]. Показано, что в механизме действия этих препаратов *in vivo* большое значение имеют активация железосерных белков, служащих центрами сопряжения биологического окисления с фосфорилированием, и восстановление активности медьсодержащих ферментных систем (церулоплазмينا и др.), что открывает возможность контролировать эффективность применения препаратов при лечении злокачественных опухолей. Установлено, что некоторые комплексы платины (II) ингибируют активность тиоредоксинредуктазы [87].

Таким образом, взгляд на цитотоксичность цисплатина и его аналогов как ДНК-тропных постепенно трансформируется в сторону признания двойственности их внутриклеточных эффектов. Предполагается, что антипролиферативный эффект препаратов складывается из двух воздействий: на внутриклеточном пути передачи информации и на ДНК. Изучение механизмов их противоопухолевого действия и побочных эффектов позволит укрепить и развить тот потенциал, на котором строится рациональная химиотерапия опухолей и стратегия дизайна новых более совершенных препаратов для онкологии.

## ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРЫ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ КОМПЛЕКСОВ ПЛАТИНЫ (II, IV) И ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ ИХ ДИЗАЙНА

Для большинства соединений платины (II, IV), прошедших противоопухолевый скрининг, отчетливо наблюдалась зависимость структура—активность [88, 89]. Данная зависимость предполагает, что комплексы платины (II) и платины (IV) должны иметь *цис*-конфигурацию с общей формулой *цис*-[Pt<sup>II</sup>X<sub>2</sub>(Am)<sub>2</sub>] или *цис*-[Pt<sup>IV</sup>X<sub>2</sub>Y<sub>2</sub>(Am)<sub>2</sub>], где X — уходящая группа, а Am — инертная аминогруппа, по крайней мере, с одной NH-связью. Уходящая группа X должна быть анионом, обладающим промежуточной связывающей способностью с платиной (II, IV) и обеспечивающим слабый *транс*-эффект для избежания подвижности аминогруппы.

Соотношение структура—активность доминировало в дизайне средств на основе этих комплексов более 20 лет и считалось единственно правильным до недавнего времени. Это отражается в том, что все комплексы, прошедшие или проходящие клинические испытания, соответствовали данному принципу. Стало вполне очевидно, что создаваемые на основе этих принципов аналоги цисплатина или карбоплатина не будут обладать преимуществами перед существующими препаратами.

В связи с этим были предложены иные подходы к дизайну комплексов платины (II, IV) и в соответствии с ними синтезированы обладающие противоопухолевой активностью соединения [17, 20, 21, 29]. Особое внимание уделялось дизайну комплексов, пригодных для создания пероральных средств, а также способных к преодолению устойчивости к цисплатину и его аналогам [30]. Ниже рассмотрены примеры, в которых сопоставлены как исторически сложившиеся принципы дизайна, так и современная стратегия развития новых противоопухолевых комплексов платины (II, IV).

1. Особенности структуры комплексов. Среди биологически активных выделяются три группы соединений: электронейтральные комплексы платины (II) *цис*-строения — аналоги цисплатина; комплексы платины (IV); катионные комплексы платины с дробной степенью окисления — платиновые сини.

Показано, что среди соединений первой группы активны только комплексы электронейтрального типа и *цис*-строения. Количество активных соединений среди комплексов платины (II) анионного и катионного типа, а также комплексов *транс*-строения очень ограничено [34]. Чаще всего катионные комплексы действуют как нейромышечные яды, хотя токсичность и противоопухолевая активность во многом зависят от природы амминного лиганда. При его варьировании в комплексах типа *цис*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]X<sub>2</sub> можно получить менее токсичные катионные аквакомплексы, проявляющие противоопухолевую активность. Анионные комплексы не токсичны в терапевтических дозах, но они не обладают противоопухолевым эффектом. Отсутствие противоопухолевой активности у заряженных комплексов платины можно объяснить их неспособностью проникать через мембраны клеток [34].

Изучено влияние природы уходящего лиганда X на противоопухолевую активность комплексов [PtA<sub>2</sub>X<sub>2</sub>], содержащих амминные лиганды (табл. 1.1) и различные аминокгруппы (табл. 1.2) [36, 90, 91]. При исследовании большой серии комплексов, различающихся природой амина, оказалось, что между реакционной способностью комплексов, их кинетическими характеристиками и биологическими свойствами нет соответствия.

Таблица 1.1

**Влияние природы лиганда X  
на противоопухолевые свойства  
комплексов *цис*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>X<sub>2</sub>]  
(саркома180) (Т/С — активность) [34]**

X	Уровень токсичности, мг/кг	Т/С, %	Доза, мг/кг
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	7	54	6
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	11	8	10
Cl <sup>-</sup>	9	1	8
Br <sup>-</sup>	15	30	14
I <sup>-</sup>	> 25	110	19—25
SCN <sup>-</sup>	~ 50	70	20—35
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	~ 100	99	5—100
H <sub>2</sub> O	5	—	—

Таблица 1.2

**Влияние карбоксилатного аниона на противоопухолевую активность комплексов платины (II) (саркома180) [34]**

Комплекс	Уровень токсичности, мг/кг	T/C, %	Доза, мг/кг
Оксалатодиаминплатина (II)	16—20	9	15—20
Оксалато-бис(метиламин)платина (II)	20—30	21	30
Оксалато-бис(этиламин)платина (II)	20—40	21	10
Малонатодиаминплатина (II)	35	7	30
Метилмалонатодиаминплатина (II)	65	7	60
Этилмалонатодиаминплатина (II)	80	17	70—80
Малонато-бис(метиламин)платина (II)	> 180	20	120—180
Малонато-1,2-пропилендиаминплатина (II)	65	9	60
Малонато-1,3-пропилендиаминплатина (II)	90	28	60—80
Малонатоэтилендиаминплатина (II)	45—60	18	40
Метилмалонатоэтилендиаминплатина (II)	> 90	4	90
Этилмалонатоэтилендиаминплатина (II)	> 120	51	90—120

Активные соединения найдены среди лабильных и инертных комплексов, которые можно разделить на три группы [34]:

1) лабильные комплексы, которые быстро гидролизуются и превращаются в хлорокомплексы при концентрациях хлорид-ионов, близких к физиологическим;

2) комплексы средней лабильности по отношению к воде и хлорид-ионам, в первую очередь хлорокомплексы и соединения, содержащие бромид-ионы и галогеноацетатные лиганды;

3) инертные комплексы с бидентатными карбоксилат-ионами; их противоопухолевое действие, вероятно, обусловлено активацией *in vivo* с помощью энзимов.

Таким образом, реакционная способность комплексов типа *cis*-[PtA<sub>2</sub>X<sub>2</sub>] с точки зрения термодинамики и кинетики определяется в первую очередь природой лабильного лиганда X, однако биологическое действие комплексов сильно зависит от природы обмениваемого лиганда.

При исследовании комплексов *cis*-[PtA<sub>2</sub>X<sub>2</sub>] найдено, что их активность заметно уменьшается при переходе от амминных ли-



гандов и первичных аминов к третичным [92], что, по-видимому, обусловлено уменьшением способности лигандов стабилизировать с помощью водородных связей комплексы платины (II) с ДНК [67—70].

Амминные комплексы с очень лабильными группами  $\text{NO}_3^-$  и  $\text{H}_2\text{O}$  обладают высокой токсичностью, а комплексы с прочносвязанными лигандами  $\text{SCN}^-$  и  $\text{NO}_2^-$  малотоксичны и неактивны. Большинство комплексов с хелатирующими карбоксилат-ионами так же активны, как и хлоро- и бромок комплексы.

В противоопухолевых комплексах  $[\text{PtA}_2\text{X}_2]$  амины, находящиеся в *транс*-положении по отношению к уходящим группам, обладают высокой устойчивостью по отношению к реакциям обмена. Замещение амина на молекулы, содержащие донорные атомы кислорода, фосфора и серы, приводит к понижению или полной потере активности. Комплексы с кислород-, фосфор- и серосодержащими лигандами более реакционноспособны, чем с аминами, вследствие чего способны к неспецифическим реакциям [1, 15, 29].

Из хелатирующих аминов наиболее активны комплексы с 1,2-диаминоциклогексаном и фенилендиаминами [34, 93]. Сульфатный комплекс платины (II) с 1,2-диаминоциклогексаном хорошо растворим в воде, активен против лейкемии L1210, проявляет синергизм в комбинации с другими противоопухолевыми агентами и действует на опухоли с приобретенной устойчивостью к цисплатину. Терапевтический эффект комплекса зависит от пространственного строения 1,2-диаминоциклогексана, что указывает на широкие возможности изменения противоопухолевого действия комплексов платины (II) путем модификации их структуры. Наиболее активен комплекс с левовращающим *транс*-диамином.

Среди комплексов с нормальными, пространственно затрудненными и ациклическими аминами наиболее перспективны соединения, содержащие амины с углеродной цепью из трех-четырех атомов и анионы  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^-$ , малоновой кислоты и ее производных, хлоруксусной и циклобутандикарбоновой кислот. Эти комплексы обладают высокой активностью против лейкемии L1210. По предварительной оценке, некоторые из них менее токсичны, чем цисплатин [1, 15, 17, 29, 34].

2. Комплексы платины (IV). Начиная с исследований Розенберга, в 1960-х гг. было известно, что комплексы платины (IV) также обладают противоопухолевыми свойствами [2, 3]. Однако

разработка платиносодержащих лекарственных средств на протяжении более 20 лет после введения цисплатина в клиническую практику была ориентирована преимущественно на комплексы платины (II).

За последние 10—15 лет попытки получить пероральные платиносодержащие препараты (с целью улучшения качества жизни пациентов) и таким образом расширить применение такой химиотерапии в амбулаторном лечении привели к возрождению интереса к соединениям платины (IV) [1, 22]. Отсутствие перекрестной устойчивости с цисплатином, выявленное для некоторых соединений платины (IV), возможность перорального приема обусловило повышенный интерес к результатам клинических испытаний следующих комплексов платины (IV): амминдиацетатдихлор(циклогексиламин)платина (IV), JM216 (рис. 1.9, *а*), ипроплатин (рис. 1.9, *б*) и ормаплатин (рис. 1.9, *в*) (известный так же, как тетраплатин). В ходе этих испытаний была выявлена высокая нейротоксичность ормаплатина [11].

Интерес к комплексам платины (IV) также обусловлен возможностью получения более растворимых в воде соединений путем окисления активных комплексов платины (II). Показано [22, 34], что комплексы *цис*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>4</sub>] и *цис-транс*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub>] лучше растворяются в воде, чем цисплатин. В некоторых случаях наблюдается большая растворимость комплексов платины (IV) в хлороформе, что в определенной степени характеризует их отношение к липидам. К тому же комплекс *цис-транс*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub>] менее токсичен, чем цисплатин и имеет более высокое значение терапевтического индекса (ТИ).

Комплексы платины (IV) термодинамически и кинетически более устойчивы в реакциях замещения лигандов, чем их анало-

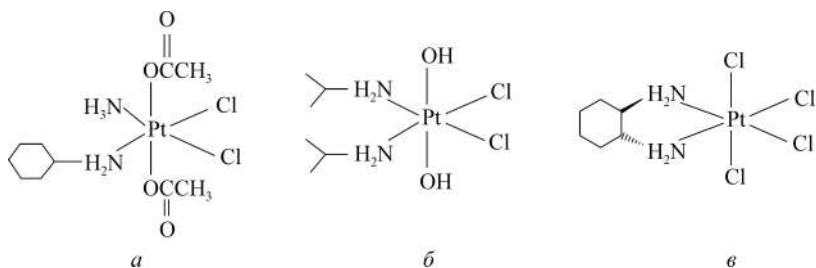


Рис. 1.9. Схематическое изображение структуры комплексов платины (IV):  
*а* — JM216; *б* — ипроплатин; *в* — ормаплатин

ги платины (II) [33]. Предполагают [35, 94—105], что противоопухолевая активность комплексов платины (IV) обусловлена их восстановлением внеклеточными и внутриклеточными агентами до соответствующих комплексов платины (II), хотя имеются данные, противоречащие такому предположению [91]. Например, комплексы платины (IV) с некоторыми производными этилендиамина при тестировании на плазмодцитоме *ADJ/PC6* показали активность, а соответствующие комплексы платины (II) оказались неактивными (табл. 1.3). Однако ипроплатин и ормаплатин восстанавливаются внутри- и внеклеточно до соответствующих активных комплексов платины (II) [106—108].

Реакция тетраплатина с ДНК протекает *in vitro* медленно, однако значительно ускоряется под действием двух стехиометрических эквивалентов глутатиона (GSH), что означает восстановление комплекса платины (IV) в комплекс платины (II) [103, 104]:



Таблица 1.3

**Сравнение противоопухолевой активности комплексов платины (II) и платины (IV) при тестировании на плазмодцитоме *ADJ/PC6* [34]**

Амин	<i>цис</i> -Pt(амин) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>		<i>цис</i> -Pt(амин) <sub>2</sub> Cl <sub>4</sub>	
	ЛД <sub>50</sub> , мг/кг	ТИ	ЛД <sub>50</sub> , мг/кг	ТИ
<i>n</i> -Pren	26,5	2,2	27	2,35
Me <sub>3</sub> en	132	Не активен	135	3,05
Me <sub>3</sub> Eten	132	Не активен	450	1,70

Примечание. Терапевтический индекс, ТИ=ЛД<sub>50</sub>/ЭД<sub>90</sub>, где ЭД<sub>90</sub> — эффективная доза, дающая 90 %-ное торможение роста опухоли.

Кинетическая стабильность связей аксиальных лигандов в октаэдрических комплексах платины (IV) оказывает сильное влияние на реакции с участием этих комплексов. Признано значительное влияние аксиального лиганда и инертного амина на редокс-процессы *in vivo* и на биологическую активность комплекса [22, 109—117]. Было исследовано электрохимическое восстановление и связывание с ДНК приведенных выше на рис. 9 комплексов и ряда комплексов платины (IV) [Pt(en)Cl<sub>2</sub>Y<sub>2</sub>] с хлоридными, гидроксильными и карбоксилатными лигандами

в аксиальном положении [22, 114]. Связывание комплексов коррелирует с их восстановительными потенциалами: чем легче комплекс восстанавливается, тем легче он связывается с ДНК. Согласно [22, 114], скорость восстановления зависит от электроноакцепторной способности и стерических препятствий, создаваемых аксиальными и несущими аминсодержащими лигандами. Сравнение скорости восстановления с цитотоксичностью в отношении чувствительных к цисплатину клеточных линий лейкемии L1210 выявило корреляцию между активностью и скоростью восстановления для комплексов платины (IV). Сопоставление комплексов с различными несущими, но одинаковыми аксиальными лигандами показало, что более высокая скорость восстановления наблюдается для комплексов с более высокой цитотоксической активностью. Данные результаты свидетельствуют о важности аксиальных и инертных аминсодержащих лигандов в восстановлении и цитотоксичности комплексов платины (IV).

Комплексы платины (IV) со структурой, аналогичной соединению JM216 (рис. 1.9, в), характеризуются весьма полезной для дизайна особенностью, которая состоит в том, что они могут быть химически модифицированы в трех положениях: в двух аксиальных (карбоксилатные лиганды) и экваториальном (амин). Комплексы с алифатическими или алициклическими аминами и алифатическими или ароматическими карбоксилатными лигандами были изучены на клеточных линиях лейкемии L1210 с приобретенной устойчивостью к цисплатину, ормаплатину и карбоплатину [22, 118—120]. Примечательно то, что все производные такого типа превзошли устойчивость к цисплатину, карбоплатину и ормаплатину. Цитотоксичность в отношении чувствительных к цисплатину клеточных линий лейкемии L1210 росла с увеличением числа атомов углерода в аксиальных алифатических карбоксилатных лигандах. Вне зависимости от природы экваториального лиганда (амин), наиболее цитотоксичные соединения имели ароматические аксиальные карбоксилатные лиганды. А максимальная цитотоксичность наблюдалась для комплекса JM221 (рис. 1.10). Полученные результаты наводили на мысль о том, что большая липофильность ком-

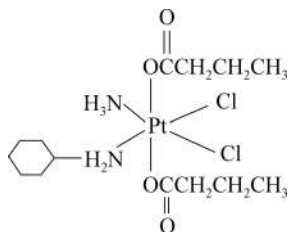


Рис. 1.10. Схематическое изображение структуры комплекса платины (IV) JM221

плексов дает им возможность преодолевать устойчивость за счет снижения накопления платины (IV) [22].

Отметим, что комплекс JM216 проходит клинические испытания как пероральный препарат.

С использованием комплексов платины (IV) разрабатывается новый оригинальный метод для применения в химиотерапии рака [121]. Внутриопухолевая активация комплексов состава  $[\text{Pt}(\text{en})(\text{OAc})_2\text{I}_2]$  облегчается при освещении их видимым светом, а образующиеся продукты фотолиза необратимо связываются с ДНК и оказывают цитотоксическое действие *in vitro* на опухолевые клетки. Выбор сочетания комплекса и видимого света вполне обоснован: видимый свет может быть подан ко многим локализованным опухолям эпителиального происхождения, а многие комплексные соединения платины (II, IV) обладают светочувствительностью в различных областях спектра в зависимости от природы лигандов [1].

3. Механизм устойчивости к противоопухолевым препаратам на основе комплексов платины (II, IV). В практике химиотерапии злокачественных новообразований пока нет настолько активных препаратов, чтобы один курс лечения приводил к полной регрессии опухолей. Обычно требуется повторное действие препаратов. Реакция клеток на различные поражающие воздействия во многом определяется степенью повреждения и активностью репарационных процессов. Восстановление клеток после повреждений, индуцированных химическими препаратами, — один из важных факторов, влияющих на чувствительность опухолей к повторной химиотерапии. Активные репарационные процессы, как правило, приводят к восстановлению жизнеспособности опухолевых клеток, но изменяют их биохимию. Клетки становятся устойчивыми по отношению к тем реагентам, которые ранее вызывали у них повреждения. Найдено, что опухоли, устойчивые к действию цисплатина *in vivo*, не реагируют на него и в клеточных линиях *in vitro*. Следовательно, резистентность к противоопухолевому действию цисплатина является внутриклеточной характеристикой. Знание этих процессов важно для разработки оптимальных схем лечения [29, 34].

Для решения этой проблемы осуществляется модифицирование инертных аммин- или аминоксодержащих лигандов, которые, согласно экспериментальным данным, модулируют спектр активности и токсичность лекарственных средств. Предполагается, что можно обеспечить отличие механизма взаимодействия

молекулы комплекса платины (II, IV) с ДНК-мишенью от механизма действия цисплатина созданием потенциально алкилирующих функций в инертной аммин- или аминокислотосодержащей части молекулы. В свою очередь, это будет способствовать активности молекулы комплекса на устойчивые к цисплатину клетки. В 1990-х гг. было предпринято немало попыток синтезировать и изучить такие комплексы, чтобы выяснить связь структуры с противоопухолевой активностью и устойчивостью к цисплатину, однако достигнут лишь небольшой успех в разработке препаратов, способных обходить как природную, так и приобретенную устойчивость. На некоторые соединения, проходившие клинические испытания, возлагались надежды, но по прошествии нескольких лет они не были разрешены к применению [17, 29].

В последние годы наметились определенные успехи в изучении механизма, лежащего в основе устойчивости опухоли к цисплатину. Так, устойчивость опухоли L1210/цисплатин к действию препаратов не зависит от природы уходящей группы ( $\text{Cl}^-$ , малонат-ион,  $\text{SO}_4^{2-}$ ) [34]. Это еще одно подтверждение в пользу того, что противоопухолевую активность проявляют образующиеся в клетке продукты гидролиза комплексов платины (II).

Известно, что природа аммин- или аминокислотосодержащего лиганда играет главную роль в способности комплексов ингибировать рост опухоли [15, 17, 25, 29, 34]. Так, клеточная линия L1210/цисплатин не реагирует на действие комплексов платины (II) с этилен- и *о*-фенилендиамином, изопропиламином и 1,2-диаминоциклопентаном. Однако комплексы платины (II), содержащие лиганды 1,2-диаминоциклогексан и 1,2-диаминоциклопентан, одинаково эффективно действуют на нормальную и устойчивую к цисплатину клеточные линии L1210, что имеет исключительно большое значение, так как комплексы платины (II) с 1,2-диаминоциклогексаном являются активными противоопухолевыми соединениями и могут играть важную роль в лечении опухолей, чувствительных к действию препаратов платины (II), но с уже приобретенной устойчивостью к цисплатину [122].

При организации и проведении исследований, направленных на выяснение механизма устойчивости, необходимо учитывать, что в основе ее возникновения много причин [17, 122—125]:

- сниженный внутриклеточный транспорт комплекса;
- повышенная цитоплазматическая детоксификация за счет роста уровня глутатиона и/или металлотионеина;

- интенсивная репарация ДНК (благодаря эффективной репарации/удалению аддуктов комплекса с ДНК);
- повышенная толерантность клеток к бифункциональным внутринитевым аддуктам комплекса с ДНК.

Доказано *in vitro*, что глутатион играет заметную роль в появлении промежуточной устойчивости к цисплатину и его аналогам [17, 125]. Он вовлекается в этот процесс не только за счет участия в снижении накопления препарата, которое происходит с помощью устойчивого ко многим лекарственным средствам белка, но также за счет взаимодействия с металлокомплексом и образования неактивных компонентов, приводящих к увеличению устойчивости ДНК. Неактивный тиоловый комплекс платины (II) обнаруживался как метаболит в моче пациентов, перенесших лечение цисплатином [126]. Установлена корреляция между уровнем глутатиона и чувствительностью к цисплатину и карбоплатину: для наиболее устойчивых линий уровень глутатиона в 4 раза больше, чем для наиболее чувствительных. Найдено количественное соотношение (1:2), в котором осуществляется связывание цисплатина и глутатиона в клетках опухоли и образование бис(глутатион)платины (II) [17].

Цитоплазматическая детоксификация препаратов может также осуществляться через связывание металлотioneина [17], поскольку имеются данные о понижении уровня металлотioneина в некоторых клеточных линиях с приобретенной устойчивостью к цисплатину.

4. Стерически затрудненные комплексы платины (II, IV). *Цис*-амминдихлоро(2-метилпиридин)платина (II), ZD0473 (рис. 1.11, а), и его аналог *цис*-амминдихлоро(3-метилпиридин)платина (II) (рис. 1.11, б) были рационально смоделированы, чтобы обойти устойчивость за счет создания стерического препятствия клеточной детоксикации глутатионом и другими клеточными тиолами, однако одновременно с сохранением у них способности образовывать цитотоксические повреждения ДНК [127].

Исследование кристаллической структуры этих комплексов показало, что наклон под углом  $102,7^\circ$  кольца 2-метилпиридина помещает 2-метильную группу прямо над плоскостью координационного узла платины (II) и создает стерические затруднения в аксиальном направлении [127]. Известно, что аксиальное стерическое препятствие уменьшает скорость реакций замещения в плоских квадратных комплексах [33]. Действительно, отмечаются более низкие скорости гидролиза для ZD0473 по сравнению



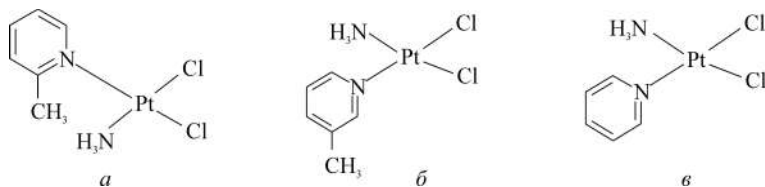


Рис. 1.11. Схематическое изображение структуры комплексов:

*a* — *цис*-амминдихлоро(2-метилпиридин)платина (II), ZD0473;

*б* — *цис*-амминдихлоро(3-метилпиридин)платина (II);

*в* — *цис*-амминдихлоро(пиридин)платина(II)

с цисплатином и 3-метилпиридиновым аналогом [128]. Реакционная способность ZD0473 по отношению к тиомочевине, пиридину, метионину и 5'-ГМФ также меньше, чем таковая для цисплатина и *цис*-амминдихлоро(пиридин)платины (II) (рис. 1.11, *в*). Пониженная скорость образования перекрестных связей может иметь место и во время восстановления ДНК [129].

Были проведены доклинические испытания ZD0473 на клетках яичников мышей и человека, пораженных карциномой и имеющих приобретенную устойчивость к цисплатину и карбоплатину. ZD0473 проявил высокую активность *in vitro* по отношению к клеткам обоих видов [128, 129], причем соединение было активно и при пероральном приеме. Следует отметить, что ZD0473 способен обходить приобретенную устойчивость к цисплатину в клетках, где детоксификация вследствие повышения уровня глутатиона включается в механизм устойчивости [130].

Другой пример цитотоксического комплекса — ди(1-метил-1Н-2-имидазолил)метанолдихлороплатина (II), *цис*-[Pt(bmic)Cl<sub>2</sub>] (рис. 1.12, *а*), проявившего значительную цитотоксичность в отношении клеточных линий лейкемии L1210, имеет характерный координационный узел (с так называемым пространственно наполненным платиновым центром). Напротив, комплекс 1-метил-2-(1-метил-1Н-2-имидазолил)-1Н-имидазолдихлороплатина (II), *цис*-[Pt(bmi)Cl<sub>2</sub>] (рис. 1.12, *б*), характеризующийся меньшими стерическими затруднениями относительно центра координационного узла, оказался неактивным [131]. Кристаллическая структура *цис*-[Pt(bmic)Cl<sub>2</sub>] имеет угол между двумя плоскостями через два имидазольных кольца в 30,6°, а угол в *цис*-[Pt(bmi)Cl<sub>2</sub>] составляет всего 3,1°. Между *цис*-[Pt(bmic)Cl<sub>2</sub>] и *цис*-[Pt(bmi)Cl<sub>2</sub>] наблюдалось различие в реакционной способности по отношению к нуклеофилу 5'-ГМФ, играющему важную роль в механизме цитотоксичности

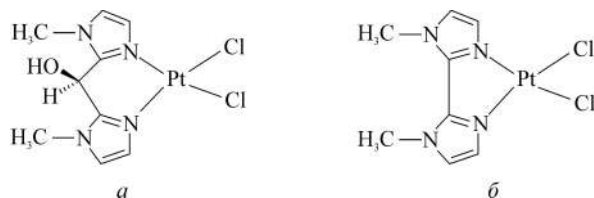


Рис. 1.12. Схематическое изображение структуры комплексов платины (II):  
а — *cis*-[Pt(bmic)Cl<sub>2</sub>]; б — *cis*-[Pt(bmi)Cl<sub>2</sub>]

(в модельных исследованиях он обычно используется для характеристики особенностей взаимодействия комплексов с ДНК). Большее стерическое экранирование центрального атома-комплексобразователя в *cis*-[Pt(bmic)Cl<sub>2</sub>] является причиной того, что он менее реакционноспособен, чем *cis*-[Pt(bmi)Cl<sub>2</sub>] и слабее поддается дезактивации клеточными тиолами.

Противоопухолевая активность комплексов *cis*-бис(пиридин)платины (II) (рис. 1.13) связана со значительным стерическим эффектом орстаноамидных лигандов [132, 133, 135].

Замена объемного орстаноамидного лиганда на хлорогруппы как в *cis*-[Pt(пиридин)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] уменьшает цитотоксичность соединения [132, 134]. По отношению к устойчивым и чувствительным к дисплатину клеткам была оценена активность ряда комплексов с различными орстаноамидными лигандами L (рис. 1.13) и установлено, что при варьировании лиганда значительного различия в активности соединений не наблюдалось [132, 133].

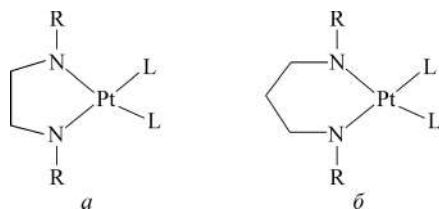


Рис. 1.13. Схематическое изображение структуры комплексов *cis*-бис(пиридин)платины (II):  
R = *n*-HC<sub>6</sub>F<sub>4</sub>, C<sub>6</sub>F<sub>5</sub>, *n*-ClC<sub>6</sub>F<sub>4</sub>,  
*n*-BrC<sub>6</sub>F<sub>4</sub>, *n*-IC<sub>6</sub>F<sub>4</sub>, 2,3,5-F<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>2</sub>,  
*n*-MeC<sub>6</sub>F<sub>4</sub>, *n*-C<sub>6</sub>F<sub>5</sub>C<sub>6</sub>F<sub>4</sub>;  
L = пиридин, 4-метилпиридин,  
2-метилпиридин, 2,4-диметилпиридин,  
2,5-диметилпиридин

Однако комплексы с 2-замещенным пиридином оказались менее активными, чем аналогичные комплексы с пиридином или 4-замещенным пиридином [133]. Вероятно, это связано со стерическим эффектом, создаваемым 2-метильной группой при образовании аддуктов комплекса с ДНК. Следует отметить, что комплексы *cis*-бис(пиридин) платины(II) с орстаноамидными лигандами и *cis*-[Pt(bmic)Cl<sub>2</sub>] нарушают

рассмотренную выше оригинальную зависимость структура — активность в отношении комплексов платины (II), поскольку, не имея NH-группы, они все же демонстрируют цитотоксическую активность [20].

5. *Транс-комплексы платины (II)*. При сопоставлении активности *цис*- и *трансплатина* и их аналогов довольно длительное время использовалось эмпирическое соотношение структура — активность, согласно которому *транс*-комплексы платины (II) неактивны [25, 134, 136—141]. Однако было показано, что некоторые *транс*-соединения активны *in vitro* и *in vivo* [21]. Экспериментальные данные, которые не соответствовали общепринятому утверждению о том, что наличие двух уходящих групп из *цис*-положения — необходимое условие для противоопухолевой активности комплексов платины (II), стали все чаще появляться с конца 1990-х гг. Эти “исключения”, которые нередко обладают активностью в отношении устойчивых к *цисплатину* опухолевых клеток, можно разделить на 4 группы:

1) *транс*-[Pt(L)(L')Cl<sub>2</sub>], где L и/или L' — пиридиноподобные лиганды [142—146];

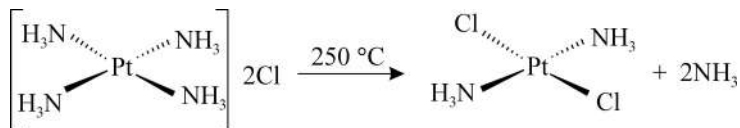
2) комплексы платины (IV) с общей формулой *транс*-[Pt(L)(L')Cl<sub>2</sub>X<sub>2</sub>], где X — гидроксильные или карбоксилатные лиганды, L — аммин, L' — амин [138, 147];

3) *транс*-[Pt(L)(L')Cl<sub>2</sub>], где L — алкилзамещенный амин, L' — изопропиламин [56, 148];

4) *транс*-[Pt(L)(L')Cl<sub>2</sub>], где L и/или L' — иминоэфирные лиганды [29, 139, 149].

Ниже дана сравнительная характеристика основных особенностей комплексообразования противоопухолевых *транс*-комплексов платины (II, IV) и их *цис*-изомеров.

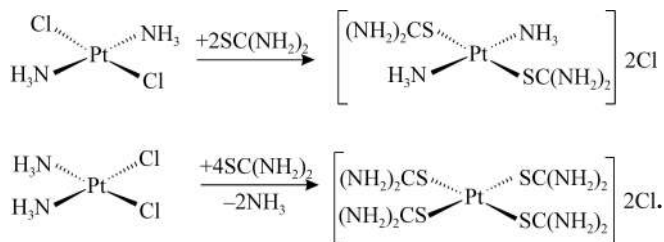
Синтез *трансплатина* осуществлялся одновременно с синтезом *цисплатина* [150]. *Трансплатин* был получен путем термического разложения хлорида тетрааммиаката платины (II):



Выход был достаточно низкий за счет интенсивного разложения до Pt(0), но он мог быть увеличен благодаря проведению разложения при 190—195 °C и пониженном давлении [151].

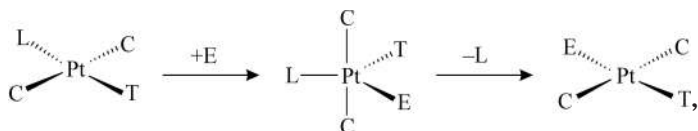
Вторая и наиболее общая процедура синтеза трансплатина заключается в действии HCl на водный раствор  $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_4]\text{Cl}_2$  [152, 153].

Получение производных тиомочевины (так называемый тест Курнакова [33]) используется для установления различия между двумя изомерами:



В случае цисплатина реакция приводит к полному замещению лигандов, в случае же трансплатина замещаются только хлоридные лиганды. Результат теста Курнакова может привести к неверному заключению о том, что аммин-лиганды сильнее связаны в *транс*-, чем в *цис*-комплексе, но это не так. С использованием  $^{15}\text{N}$ -ЯМР показано, что прочность этого связывания выше в *цис*-изомере, чем в *транс*-изомере [154]. Кроме того, обмен протонов аммин-лиганда осуществляется быстрее в *цис*-, чем в *транс*-изомере, что свидетельствует о большей кислотности этой группы. По-видимому, в тесте Курнакова удаление аммин-лиганда из *цис*-изомера энергетически выгоднее, чем из *транс*-изомера [21].

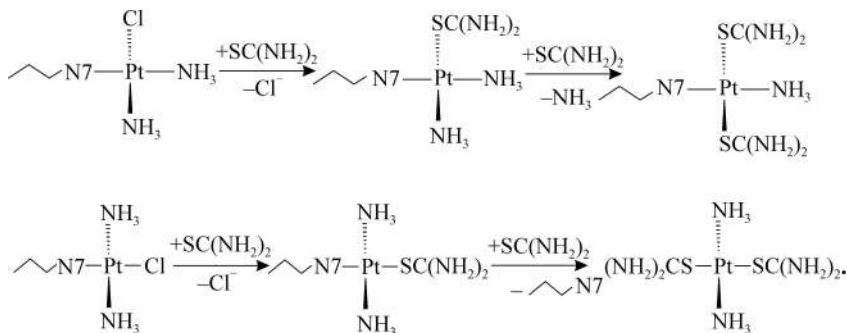
Лигандное замещение в плоско-квадратных комплексах обычно проходит по ассоциативному механизму, приводящему к пентакоординированному переходному состоянию, в котором входящая и уходящая группы, а также лиганд в *транс*-положении по отношению к уходящей группе образуют основание тригональной бипирамиды:



где лиганды: C=*цис*-лиганд (*cis*); E=входящая группа (entering); L=уходящая группа (leaving); T=*транс*-лиганд (*trans*).

Некоторые лиганды (обычно имеющие низкие энергии вакантных орбиталей) более склонны внедряться в плоскость пентакоординационного переходного комплекса и затем подвергаться собственному замещению или направлять замещение *транс*-лиганда [155]. Этот факт объясняет несколько явлений, таких как тест Курнакова; повышенную стабильность монофункциональных аддуктов платина (II)—ДНК, образованных цисплатином, по сравнению с аддуктами трансплатина; повышенную инертность *транс*-соединений к изомеризации по сравнению с *цис*-соединениями, сольволиз и др.

На основании сравнения рассмотренных выше свойств *транс*- и *цис*-комплексов платины (II) можно сделать несколько общих выводов [21]: *транс*-комплексы должны реагировать быстрее с нуклеофилами только в двух определенных формах (дихлоро- и хлоро-аква); моноаддукты *транс*-комплексов с ДНК, в отличие от аддуктов *цис*-комплексов, будут легко удаляться при действии *транс*-лабилизующих нуклеофилов, таких как тиомочевина и глутатион:



Таким образом, репарация моноаддуктов трансплатина может протекать химическим путем, тогда как для моноаддуктов цисплатина может потребоваться участие энзимов.

Следует также отметить, что расположение уходящих лигандов в *транс*-положении создает определенные препятствия для участия *транс*-комплексов платины (II) в реакциях хелатирования в отличие от *цис*-комплексов: 1,2-внутринитевые сшивки полностью запрещены, тогда как существует возможность образования 1,3-внутринитевых сшивок.

Причиной активности некоторых *транс*-соединений нередко считают изомеризацию в активную *цис*-форму. Однако такое

предположение не всегда оправдано, поскольку, как следует из рассмотренных ниже примеров, *цис*-изомер может быть менее активным, чем соответствующий *транс*-изомер. Различие между *цис*-платином и *транс*-платином заключается в том, что *транс*-платин кинетически более реакционноспособен, чем *цис*-платин, и более подвержен дезактивации [33, 156].

Тщательное моделирование с использованием лиганда, создающего стерическое препятствие, может уменьшить реакционную способность *транс*-комплексов платины (II) [33]. Поскольку *транс*-изомер образует аддукты платина (II)—ДНК, отличные от аналогов *цис*-платина, можно надеяться, что *транс*-комплексы смогут преодолеть устойчивость определенных опухолей к *цис*-платину [21, 156, 157].

Было проведено сравнительное исследование цитотоксичности трех серий *транс*-комплексов с общей формулой  $[Pt(L)(L')Cl_2]$  [25, 134, 142, 143]:

1)  $L=L'$ , где  $L$  и  $L'$  — пиридин (рис. 1.14, а), N-метилимидазол (рис. 1.14, б) и тиазол (рис. 1.14, в);

2)  $L=$ хинолин и  $L'=RR'SO$  (рис. 1.14, г), где  $R=$ метил и  $R'=$ метил, фенил, бензил;

3)  $L=$ хинолин и  $L'=NH_3$  (рис. 1.14, д).

В чувствительных и устойчивых к *цис*-платину клеточных линиях L1210 *транс*-комплексы из трех серий показали сравнимую активность с *цис*-платином и большую активность, чем *транс*-платин, а кроме того, *транс*-изомеры проявили большую активность, чем их *цис*-аналоги.

Особый интерес вызвала активность *транс*-комплексов в отношении резистентных клеточных линий, в которых механизм устойчивости был обусловлен снижением накопления комплекса платины (II), ее интенсивным удалением и/или повышенной толерантностью к аддуктам платина (II)—ДНК [134].

Большую активность, чем *транс*-платин, а также соответствующий *цис*-аналог JM149 (рис. 1.15, б), проявляет в отношении клеточных линий карциномы яичников комплекс JM335, *транс*, *транс*, *транс*-аммин(циклогексиламин)дихлородицианоплатина (IV) (рис. 1.15, а) [138].

Отсутствие перекрестной устойчивости наблюдалось в тех образцах, где она была связана с пониженным накоплением комплекса платины (II). Это согласуется с результатами, полученными при исследовании рассмотренных выше соединений платины

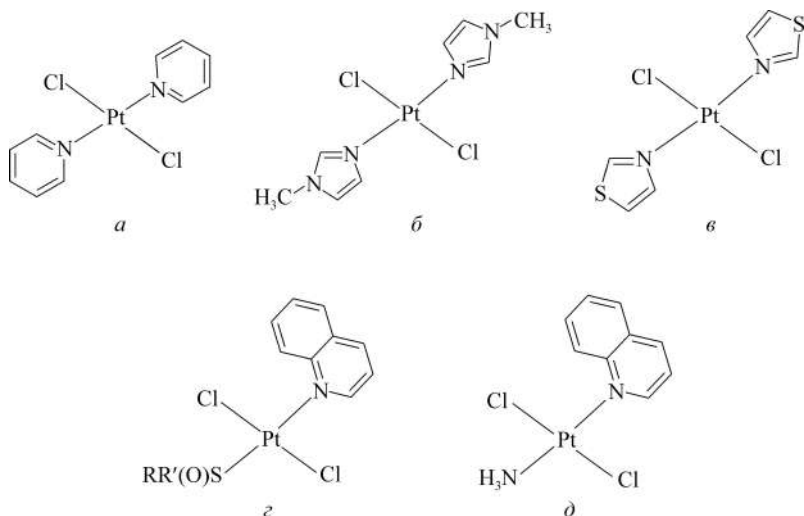


Рис. 1.14. Схематическое изображение структуры *транс*-комплексов платины (II) с общей формулой  $[PtCl_2(L)(L')]$ :

*a* — L и L' — пиридин; *б* — L и L' — N-метилимидазол;

*в* — L и L' — тиазол; *г* — L=хинолин и L'=RR'SO;

*д* — L=хинолин и L'=NH<sub>3</sub>

(IV) — JM216 (см. рис. 1.9, *a*) и JM221 (см. рис. 1.10). Однако в отличие от аммин/аминосодержащих *цис*-комплексов платины (IV), отсутствие перекрестной устойчивости было выявлено для комплекса JM335 в клетках, где устойчивость приписывали усиленной репарации и/или повышенной толерантности к платине (II)—ДНК аддуктам. Данный факт лишний раз подтверждает предположение о том, что особые аддукты платина (II)—ДНК, образуемые *транс*-комплексами, позволяют им преодолевать устойчивость опухолей к цисплатину. В клетках, где повышен-

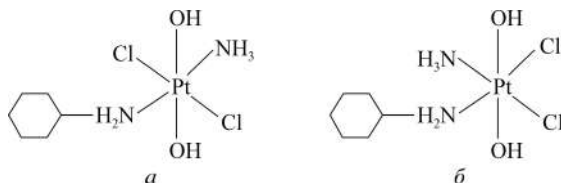


Рис. 1.15. Схематическое изображение структуры *цис*- и *транс*-комплексов платины (IV):

*a* — JM335; *б* — JM149



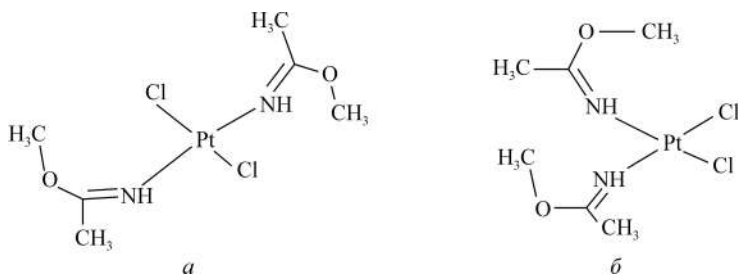


Рис. 1.16. Схематическое изображение структуры *цис*- и *транс*-комплексов платины (II) с иминоэфирными лигандами

ный уровень глутатиона играет роль в развитии механизма устойчивости к цисплатину, JM149 был более эффективен, чем JM335. Различия в восстановительном потенциале *цис*- и *транс*-изомеров также могли сыграть роль [21].

Особенности противоопухолевой активности *транс*-комплексов исследовались для комплексов платины (II) с иминоэфирными лигандами [25, 139]. Взаимодействие этих комплексов с ДНК (как *цис*-, так и *транс*-изомеров) осуществлялось значительно медленнее, чем в случае цисплатина и трансплатина. Это связывают с большими стерическими затруднениями, создаваемыми иминоэфирными лигандами. В отношении клеточных линий лейкемии *транс*-изомер (рис. 1.16, а) проявил большую противоопухолевую активность, чем *цис*-соединение (рис. 1.16, б). Против приобретенной устойчивости клеточных линий лейкемии к цисплатину *транс*-изомер проявил активность *in vivo*, в то время как *цис*-аналог оказался неактивным [25].

6. Комплексы платины (II, IV) с производными 1,2-диаминоциклогексана. Следует отметить, что среди первых препаратов платины (II, IV), проявляющих активность в отношении устойчивых к цисплатину клеточных линий лейкемии L1210, были комплексы, содержащие 1,2-диаминоциклогексан (рис. 1.17): *транс*-d1-(1,2-диаминоциклогексан)тетрахлороплатина (IV) (ормаплатин), *транс*-(1,2-диаминоциклогексан)оксалатоплатина (II) (оксалиплатин) и др. [158, 159].

Исследование комплексов платины (II, IV) с производными диаминоциклогексана показало, что они представляют собой отдельную оригинальную группу противоопухолевых комплексов, отличающуюся от цисплатина и карбоплатина по клеточным мишеням, механизмам действия и резистентности. Следовательно,

они могут быть потенциально эффективны в случае устойчивости к цисплатину и карбоплатину.

Из множества тестированных комплексов лишь 12 соединений были отобраны для клинических испытаний, среди них оксалиплатин, *транс*-(1,2-диаминоциклогексан)(неодеканоат)<sub>2</sub>платина (II), а также комплексы, содержащие *транс*- или *цис*-изомеры 1,2-диаминоциклогексана и моно- и/или дикарбоновые кислоты в качестве уходящей группы X (X — диацетат, оксалат, малонат и др.; Y — ацетат, трифторацетат), общая структурная формула которых представлена на рис. 1.17 [17, 29].

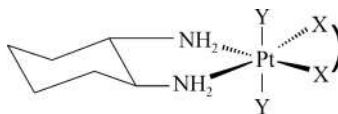


Рис. 1.17. Схематическое изображение структуры комплексов платины с производными 1,2-диаминоциклогексана

Оказалось, что оксалиплатин характеризуется меньшей нейротоксичностью, чем ормаплатин, и проявляет активность при колоректальном раке в комбинации с 5-фторурацилом.

Некоторые сочетания карбоксилатных лигандов в аксиальном и экваториальном положениях способны в достаточной степени оптимизировать противоопухолевые свойства комплексов с производными 1,2-диаминоциклогексана, причем аксиально-трифторацетатные комплексы значительно активнее, чем соответствующие аксиально-ацетатные [160].

Независимо от изомерии диаминоциклогексанового участка молекулы, соответствующие комплексы достаточно активны в отношении клеточных линий лейкемии L1210, а также проявляют сопоставимую с цисплатином активность в отношении модельной солидной опухоли (ретикулосаркомы), которая является клинически предсказательной, что указывает на целесообразность продолжения исследований комплексов такого типа [160].

7. Модифицирование лабильных групп комплекса. Одно из перспективных направлений разработки новых препаратов платины (II), в том числе и аналогов цисплатина *цис*-PtA<sub>2</sub>X<sub>2</sub>, связано с модифицированием лабильных уходящих групп X, поскольку, как отмечалось выше, реакционная способность связей Pt–X имеет прямое отношение к токсичности этих соединений [15, 17, 29]. Однако установить определенную связь между биоактивностью и реакционной способностью комплексов, исходя из кинетических соображений, пока не удалось.

Среди возможных типов уходящих групп — S-донорные лиганды (рис. 1.18). Особенности их поведения (цитотоксичность, реакционная способность в отношении наиболее важных бионук-

леофилов (например,  $\text{Cl}^-$  и 5'-ГМФ) изучались для аналогов цисплатина  $[\text{Pt}(\text{en})\text{L}]^+$  (где en — этилендиамин, L — анионы из ряда хелатирующих лигандов, в которых донорные метилсульфинил- или метилсульфанил-группы связаны с анионными боковыми участками карбоксилатов или фенолятов, причем L образует хелат с платиной (II) через атомы серы и кислорода [161—164]. Для соединений, структурные формулы которых схематически представлены на рис. 1.18, были получены следующие результаты, на основании которых оценена перспективность использования данного типа лигандов в качестве уходящих групп. Весьма вероятно, что комплексы с высоко-лабильными лигандами X могут реагировать с нуклеофильными центрами различных биомолекул, прежде чем достигнут мишени. В такой ситуации S-нуклеофилы — наиболее подходящие объекты для взаимодействия, поскольку, как известно, некоторые формы токсичности комплексов платины (II) обусловлены реакцией  $[\text{PtX}_2]$ -группы с нуклеофильными S-центрами некоторых белков [164]. Другое важное следствие реакции комплекса платины (II) *in vivo* с S-центрами для фармакологических свойств аналогов цисплатина связано, как указывалось выше, с его инактивацией внутриклеточным глутатионом.

С учетом этих факторов, некоторые S-донорные лиганды и были предложены для снижения токсичности и преодоления устойчивости к препаратам платины (II). Согласно [161—163],

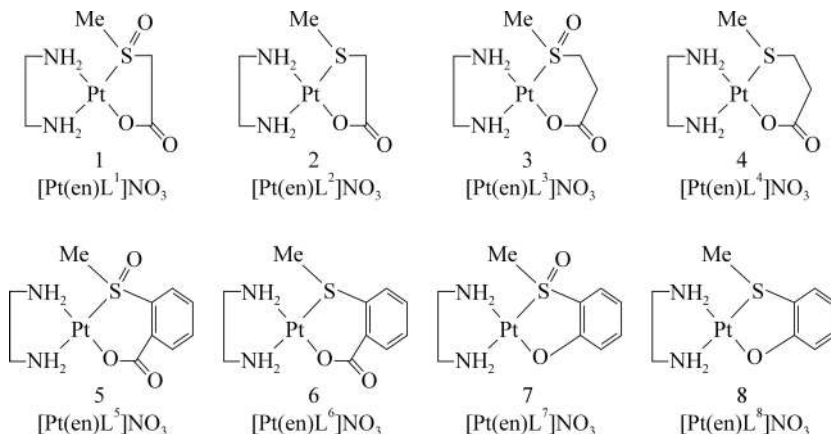


Рис. 1.18. Схематическое изображение (1—8) структуры комплексов платины (II) с S-донорными лигандами [161]

эти характеристики могут обуславливаться балансом относительной инертности и/или лабильности связей Pt–S. Предположительно, любой S-донорный лиганд, у которого связь Pt–S способна специфически реагировать с нуклеофильной биомолекулой, может выполнять функцию уходящей группы в составе аналога цисплатина малой токсичности. Однако обнаруженная в работах [161] низкая противоопухолевая активность малотоксичных комплексов  $[Pt(\text{диамин})(R_1R_2SO)X]^+$  указывает на ограниченные возможности оптимизации характеристик противоопухолевых средств такого типа:

ИД50, мМ/см <sup>3</sup>	0,43	> 71	11,1	5,7	0,9	7,6	5,5	7,8	0,07
Комплекс	1	2	3	4	5	6	7	8	ЦП

Следует отметить, что между реакционной способностью этих комплексов в реакциях с нуклеофилом 5'-ГМФ и их цитотоксичностью наблюдается лишь незначительная корреляция: наиболее реакционноспособные комплексы (1 и 5) характеризуются высокой цитотоксичностью, а инертный комплекс (8) имеет самую низкую цитотоксичность. В зависимости от природы лиганда L (L — монодентатный и координирует с платиной (II) через атом S) и нуклеофила (Nu) реакции либо останавливаются на стадии монозамещенного комплекса  $[Pt(en)L(Nu)]$ , либо образуется комплекс  $[Pt(en)(Nu)_2]$  [162, 163].

**7. Полинуклеарные комплексы платины (II).** Один из основных подходов к дизайну препаратов платины (II), способных преодолевать устойчивость опухолей к цисплатину и его аналогам, заключается в разработке соединений, образующих принципиально отличные от известных в настоящее время аддукты платины (II) с ДНК [15—19, 29, 30]. Рассмотренная выше активация *транс*-изомеров с объемными лигандами — один из эффективных вариантов такого подхода. Другой вариант этой стратегии, который был предложен еще в 1985 г., — дизайн полинуклеарных комплексов платины (II) с мостиковыми связями или олигомеризация соединений платины (II) [165]. Этот метод оказался полезен и для решения еще одной задачи при разработке эффективных противоопухолевых комплексов — создания их низких концентраций *in vivo*. В этой связи заслуживают внимания Pt-пиримидиновые и Pt-амидные олигомеры, среди которых наибольшую противоопухолевую активность проявили так называемые “зеленые” олигомеры, а “синие” были неактивны. Тем не

менее за соединениями такого типа сохранилось название, данное им еще на начальном этапе исследований, — платиновые сини [165, 166].

Платиновые сини получаются при действии производных урацила и тимина на продукты гидролиза диаквакомплексов платины (II) с аммин- или аминоксодержащими лигандами. Продукты хорошо растворимы в воде; многие из них проявляют высокую биологическую активность против клеток саркомы 180 (S-180), лейкемии L1210, асцита Эрлиха и других опухолей, причем в отдельных случаях она превышает активность цисплатина. Для большинства из платиновых синей токсичный предел достигает 200 мг/кг и выше (у цисплатина — 7 мг/кг).

Структура активных “зеленых” олигомеров до сих пор неизвестна. Ее исследование затруднено, так как платиновые сини невозможно выделить в кристаллическом состоянии [17]. Это аморфные вещества, обладающие необычными для соединений платины (II) физико-химическими свойствами (парамагнетизм, особенности поглощения света, окислительно-восстановительные свойства). Для некоторых синей (например, урациловой) выявлена прямая зависимость между интенсивностью сигнала ЭПР и противоопухолевой активностью [17, 29]. Установлено, что платиновые сини образуются не из мономерного аквакомплекса, а из полимерных соединений — продуктов превращения комплексов платины (II) в водных растворах.

В настоящее время изучаются комплексы, структуры которых проще полинуклеарных и могут быть определены. Для динуклеарных комплексов данные по их цитотоксичности в отношении клеток S-180 приведены в табл. 1.4 [167].

Подробно изучены биядерные комплексы с общей формулой  $[\{PtCl_m(NH_3)_{3-m}\}_\mu - H_2N-R-NH_2 - \{PtCl_n(NH_3)_{3-n}\}]^{(2-m)+(2-n)+}$  (где  $m, n=0\div 3$  и R — линейные или замещенные алифатические мостики) [168—171]. Среди синтезированных комплексов оказалось немало таких, которые продемонстрировали активность как в отношении чувствительных к цисплатину, так и в отношении устойчивых клеточных линий. В комплексах с двумя центрами  $[PtCl_2(NH_3)(NH_2R-)]$  наблюдалась ярко выраженная взаимосвязь между длиной цепи и активностью. Влияние на активность дикаationных комплексов с двумя центрами  $[PtCl(NH_3)_2(NH_2R-)]$  оказывало *цис*- или *транс*-положение уходящей хлорогруппы.

Таблица 1.4

**Характеристики бинуклеарных комплексов  
платины (II) и цисплатина [167]**

Лиганд	Тип	IC <sub>50</sub> (μM)
Цисплатин	Мононуклеарный	1,07
1-Метилурацил	Мононуклеарный	неактивный
1-Метилурацил	Бинуклеарный	1,63
1-Метилтимин	Бинуклеарный	1,75
1-Этилтимин	Бинуклеарный	неактивный
1-Пропилтимин	Бинуклеарный	2,21
1-Метилцитозин	Бинуклеарный	неактивный
Ацетат	Бинуклеарный	0,94
α-Пиридон	Бинуклеарный	неактивный

Связывание бинуклеарных комплексов платины (II) с ДНК происходит быстрее, чем для цисплатина, с образованием ряда аддуктов платина (II)—ДНК, которые не могут образовываться в случае мононуклеарных комплексов платины (II) [169—175].

Получены бинуклеарные комплексы платины (II) с другими лигандами: тиомочевинными, сперминовыми, спермидиновыми и модифицированными тетрааминными мостиками [168, 176—188]; появляются также три- и тетрануклеарные комплексы [17, 29, 178—180, 184, 189], среди которых особо выделяется тринуклеарное соединение BBR 3464 (рис. 1.19) [181—183]. В доклинических испытаниях этот комплекс продемонстрировал полное отсутствие перекрестной устойчивости к цисплатин-резистентным клеточным линиям; а также оказался значительно активнее цисплатина *in vitro* в клетках, пораженных остеосаркомой.

Согласно [17, 183], высокая активность может быть обусловлена увеличением клеточного захвата платины (II) из комплекса BBR 3464 по сравнению с цисплатином и связыванием на достаточно протяженном фрагменте ДНК.

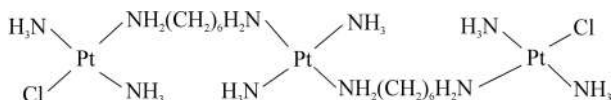


Рис. 1.19. Схематическое изображение структуры тринуклеарного комплекса платины (II) BBR 3464

Для тетрануклеарных комплексов  $[\text{Pt}_4(\text{NH}_3)_8(\text{GI})_4](\text{NO}_3)_5 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  и  $[\text{Pt}_4(\text{NH}_3)_8(\text{DMGI})_4](\text{NO}_3)_5 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , в составе которых присутствуют лиганды, представленные на рис. 1.20, изучены физико-химические свойства и особенности противоопухолевой активности [17, 29]. Установлено, что они неустойчивы в водном растворе и гидролизуются в несколько стадий с образованием мономеров состава *цис*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{GI})_2]$ , *цис*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{GI})(\text{OH}_2)]^+$ , *цис*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{OH}_2)_2]^{2+}$  (в случае лиганда DMGI образуются подобные продукты). В реакциях их водных растворов с бionуклеофилом 5'-ГМФ наблюдается образование того же продукта — *цис*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(5'\text{-ГМФ})_2]$ , что и в аналогичной реакции 5'-ГМФ с цисплатином. Эти комплексы имеют сопоставимую с цисплатином активность в отношении различных модельных опухолей *in vivo*.

Таким образом, в настоящее время есть все основания надеяться на то, что полинуклеарные комплексы платины (II) в перспективе составят новый класс противоопухолевых препаратов и помогут существенно расширить область их применения в химиотерапии.

8. Водорастворимые комплексы платины (II, IV). Наиболее общим требованием для всех лекарственных препаратов на основе соединений платины (II, IV) является достаточная для внутривенного введения растворимость в воде. Увеличение растворимости в воде таких соединений было важнейшей практической целью многих программ. Растворимость цисплатина (~1 мг/мл) достигает того предела, который необходим для обеспечения действия вводимого парентерально цитотоксического агента. Перорально вводимые соединения могут быть менее растворимы, но все же они должны обладать достаточной растворимостью для

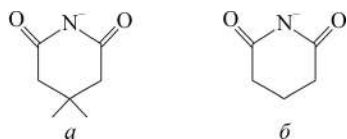


Рис. 1.20. Схематическое изображение структуры лигандов, образующих тетрануклеарные комплексы  $[\text{Pt}_4(\text{NH}_3)_8(\text{GI})_4](\text{NO}_3)_5 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  и  $[\text{Pt}_4(\text{NH}_3)_8(\text{DMGI})_4](\text{NO}_3)_5 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ :  
а — DMGI-3,3-диметилглутаримидат;  
б — GI-глутаримидат

абсорбции в организме. Однако большинство дихлоридов платины (II) имеют значительно меньшую растворимость в воде, чем цисплатин [18].

Основные методы увеличения растворимости в воде используют, как правило, замещение хлоридных лигандов на хелатирующие карбоксилаты (например, малонат и его производные), оксалаты и гликоля-



Таблица 1.5

**Растворимость и терапевтический индекс  
комплексов платины (II, IV)**

L	[PtL <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ]			[PtL <sub>2</sub> Cl <sub>4</sub> ]			[PtL <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (OH) <sub>2</sub> ]		
	S, ммоль/л		ТИ	S, ммоль/л		ТИ	S, ммоль/л		ТИ
	H <sub>2</sub> O	CHCl <sub>3</sub>		H <sub>2</sub> O	CHCl <sub>3</sub>		H <sub>2</sub> O	CHCl <sub>3</sub>	
NH <sub>3</sub>	8,9	<0,0712	8,1	4,58	не-раст.	—	6,26	не-раст.	28,1
Изо- C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NH <sub>2</sub>	0,22	0,0038	37	0,015	0,015	<2,0	44,1	0,053	12,0
Цикло- C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> NH <sub>2</sub>	0,013	0,0112	236	0,133	0,199	48	7,95	0,012	19,0
Изо- C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> NH <sub>2</sub>	0,012	0,016	13,4	0,359	1,05	11	0,024	—	21,0
Изо- C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> NH <sub>2</sub>	0,0013	0,0392	198	0,016	0,656	2,9	0,056	—	38,0

ты или на менее прочносвязанные ацидолиганды (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> и др.); введение гидрофильных групп в лиганд; а также переход к комплексным соединениям платины (IV) (табл. 1.5) [34, 117]. Например, замена хлорид-иона на малонат-ион увеличивает растворимость в 5—10 раз [34]. Следует отметить, что в общем случае растворимость и активность комплексов [PtL<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub>] выше, чем [PtL<sub>3</sub>Cl<sub>4</sub>], т. е. присоединение в аксиальные положения комплексов платины (II) гидроксильных групп повышает гидрофильность вещества, причем часто у гидроксокомплексов [PtL<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub>] сохраняются активность и селективность, характерные для аналогов платины (II) [34].

Описан ряд анионных фосфонокарбоксилатных комплексов с высокой растворимостью и стабильностью (рис. 1.21) [190]. Эти соединения продемонстрировали активность в отношении клеточных линий лейкемии L1210 и на других моделях.

Для увеличения растворимости соединения платины (II) может быть переведено в форму цвиттер-иона, а при физиологических pH (7,4—8,0) оно переходит в обычный диаминный комплекс платины (II) с противоопухолевой активностью *in vivo* [20].

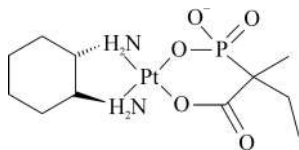


Рис. 1.21. Схематическое изображение структуры фосфонокарбоксилатного комплекса платины (II)

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В современной онкологии координационные соединения платины (II, IV) играют важную роль в лечении опухолей человека. Следует отметить, что в доклинических испытаниях лишь для очень небольшой их части были получены результаты, которые позволили продолжить работу с ними в фазе клинических испытаний и создать на их основе лекарственные средства для применения в химиотерапии.

Для усиления их активности, расширения спектра чувствительных опухолей, преодоления устойчивости к цисплатину, снижения токсичности и обеспечения возможности перорального применения основными направлениями, в которых ведется поиск и разработка новых комплексов, являются следующие:

- способы создания низких концентраций препарата *in vivo* (восстановление *in vivo* комплексов платины (IV); олигомеризация соединений платины (II); удаление блокирующих инертных лигандов);
- модифицирование инертных аммин- и аминокислотсодержащих лигандов и лабильных уходящих групп;
- изменение степени окисления платины и пространственной конфигурации комплексов.

В противоположность 1970—1980 гг., когда были разработаны препараты на основе комплексов платины (II, IV) первого и второго поколений, с начала 1990-х гг. и до настоящего времени современное моделирование комплексов третьего поколения приходит на смену использовавшемуся ранее эмпирическому подходу установления связи структура—активность и дизайну, ориентированному в основном на создание структурных аналогов цисплатина. В развитие этого ведется поиск и осуществляется дизайн принципиально новых в структурном отношении соединений, способных преодолевать специфические механизмы устойчивости к цисплатину и его аналогам, а также соединений с отличающимися от них механизмами действия [17, 18, 191—194]. Поскольку некоторые комплексы третьего поколения уже вступили в фазу клинических испытаний, есть надежда на то, что они продемонстрируют значительное клиническое превосходство над известными препаратами платины (II, IV).

## ЛИТЕРАТУРА

1. Organometallics in Cancer Chemotherapy / Eds. I. Haiduc, C. Silvestru. Vol. II. Boston: CRS Press, 1989.
2. Rosenberg B., Van Camp L., Krigas T. // Nature. 1965. Vol. 205. P. 698—699.
3. Rosenberg B., Van Camp L., Grimley E. B., Thomson A. J. // J. Biol. Chem. 1967. Vol. 242. P. 1347—1352.
4. Rosenberg B., Renshaw E., Van Camp L. et al. // J. Bacteriol. 1967. Vol. 93. P. 716—721.
5. Rosenberg B., Van Camp L., Trosko J. E., Mansour H. V. // Nature. 1969. Vol. 222. P. 385—386.
6. Rosenberg B., Van Camp L. // Cancer Res. 1970. Vol. 30. P. 1799—1804.
7. Kociba R. J., Sleight S. D., Rosenberg B. // Cancer Chemother. Rep. 1970. Vol. 54. P. 325—328.
8. Higby D. J., Wallace H. J., Albert D. J., Holland J. F. // Cancer. 1974. Vol. 33. P. 1219—1228.
9. Weiss R. B., Christian M. C. // Drugs. 1993. Vol. 46. P. 360—377.
10. Scrcenci D., McKeage M. J. // J. Inorg. Biochem. 1999. Vol. 77. P. 105—110.
11. Lebowitz D., Canetta R. // Eur. J. Cancer. 1998. Vol. 34. P. 1522—1534.
12. Reedijk J. // Chem. Commun. 1996. P. 801—806.
13. Cleare M. J., Hoeschele J. D. // Bioinorg. Chem. 1973. Vol. 2. P. 187—210.
14. Reedijk J. // Pure Appl. Chem. 1987. Vol. 59. P. 181—192.
15. Metal Complexes in Cancer Chemotherapy / Ed. B. K. Keppler. Weinheim: Wiley-VCH, 1993.
16. Platinum-Based Drugs in Cancer Therapy / Eds. L. R. Kendall, N. P. Farrell. NJ: Humana Press, 2000.
17. Use of Inorganic Chemistry in Medicine / Ed. N. P. Farrell. Cambridge: RSC, 1999.
18. Metallotherapeutic Drugs and Metal-Based Diagnostic Agents. The Use of Metals in Medicine / Eds. M. Gielen, E. R. T. Tiekink. Weinheim: Wiley-VCH, 2005.
19. Jamieson E. R., Lippard S. J. // Chem. Rev. 1999. Vol. 99. P. 2467—2498.
20. Wong E., Giandomenico C. M. // Chem. Rev. 1999. Vol. 99. P. 2451—2466.
21. Natile G., Coluccia M. // Coord. Chem. Rev. 2001. Vol. 216—217. P. 383—410.
22. Hall M. D., Hambley T. W. // Coord. Chem. Rev. 2002. Vol. 232. P. 49—67.
23. Farrell N. P. Transition Metal Complexes as Drugs and Chemotherapeutic Agents. Boston: Kluwer Academic Publishers, 1989.
24. Sundquist W. I., Lippard S. J. // Coord. Chem. Rev. 1990. Vol. 100. P. 293—322.
25. Platinum and Other Metal Coordination Compounds in Cancer Chemotherapy / Ed. S. B. Howell. New York: Plenum Press, 1991.

26. *Lempers E. L. M., Reedijk J.* // Adv. Inorg. Chem. 1991. Vol. 37. P. 175—217.
27. *Reedijk J.* // In: Handbook of Metal-Ligand Interactions in Biological Fluids. Bioinorganic Chemistry / Ed. G. Berthon. Vol. 2. New York: Marcel Dekker Inc. 1995. P. 967—968.
28. *Lippert B.* // Coord. Chem. Rev. 1999. Vol. 182. P. 263—295.
29. Platinum and Other Metal Coordination Compounds in Cancer Chemotherapy 2 / Eds. H. M. Pinedo, J. H. Schornagel. New York: Plenum Press, 1996.
30. *Hambley T. W.* Coord. // Chem. Rev. 1997. Vol. 166. P. 181—223.
31. *Sadler P. J., Guo Z.* // Pure Appl. Chem. 1998. Vol. 70. P. 863—871.
32. *Reedijk J.* // Chem. Rev. 1999. Vol. 99. P. 2499—2510.
33. *Кукучкин Ю. Н.* Химия координационных соединений. М.: Высш. шк., 1985.
34. Координационные соединения металлов в медицине. Киев: Наук. думка, 1986.
35. *Яцимирский К. Б.* Введение в бионеорганическую химию. Киев: Наук. думка, 1976.
36. *Roberts J. J.* // Metal ions genetic inform. transfer. 1981. Vol. 3. № 2. P. 273—332.
37. *Rosenberg B.* // Metal ions biol. syst. 1980. Vol. 11. P. 127—196.
38. *Banerjee P.* // Coord. Chem. Rev. 1999. Vol. 190—192. P. 19—28.
39. *Baik M. H., Friesner R. A., Lippard S. J.* // J. Am. Chem. Soc. 2003. Vol. 125. P. 14082—14092.
40. *Takahara P. M., Frederick C. A., Lippard S. J.* // J. Am. Chem. Soc. 1996. Vol. 118. P. 12309—12321.
41. *Huang H., Zhu L., Reid B. R.* et al. // Science. 1995. Vol. 270. P. 1842—1845.
42. *Fichtinger-Schepman A. M. J., van der Veer J. L., den Hartog J. H. J.* et al. // Biochemistry. 1985. Vol. 24. P. 707—713.
43. *Eastman A.* // Biochemistry. 1986. Vol. 25. P. 3912—3915.
44. *Fichtinger-Schepman A. M. J., van Oosterom A. T., Lohman P. H. M., Berends F.* // Cancer Res. 1987. Vol. 47. P. 3000—3004.
45. *Poirier M. C., Reed E., Zwelling L. A., Ozols R. F.* et al. // Environ. Health Perspect. 1985. Vol. 62 P. 89—94.
46. *Reed E., Yuspa S. H., Zwelling L. A.* et al. // J. Clin. Invest. 1986. Vol. 77. P. 545—550.
47. *Lilley D. M. J.* // J. Biol. Inorg. Chem. 1996. Vol. 1. P. 189—191.
48. *Chaney S. G., Vaisman A.* // J. Inorg. Biochem. 1999. Vol. 77. P. 71—81.
49. *Ano S. O., Intini F. P., Natile G., Marzilli L. G.* // Inorg. Chem. 1999. Vol. 38. P. 2989—2999.
50. *Spingler B., Whittington D. A., Lippard S. J.* // Inorg. Chem. 2001. Vol. 40. P. 5596—5602.
51. *Ling E. C. H., Allen G. W., Vickery K., Hambley T. W.* // J. Inorg. Biochem. 2000. Vol. 78. P. 55—62.
52. *Sullivan S. T., Ciccarese A., Fanizzi F. P., Marzilli L. G.* // Inorg. Chem. 2001. Vol. 40. P. 455—462.

53. *Malinge J.-M., Giraud-Panis M.-J., Leng M.* // J. Inorg. Biochem. 1999. Vol. 77. P. 23—29.
54. *Lepre C. A., Strothkamp K. G., Lippard S. J.* // Biochemistry. 1987. Vol. 26. P. 5651—5657.
55. *Janik M. B. L., Lippert B.* // J. Biol. Inorg. Chem. 1999. Vol. 4. P. 645—653.
56. *Perez J. M., Montero E. I., Gonzalez A. M. et al.* // J. Med. Chem. 2000. Vol. 43. P. 2411—2418.
57. *Erxleben A., Metzger S., Britten J. F. et al.* // Inorg. Chim. Acta. 2002. Vol. 339. P. 461—469.
58. *Eastman A., Jennerwein M. M., Nagel D. L.* // Chem. Biol. Interact. 1988. Vol. 67. P. 71—80.
59. *Bancroft D. P., Lepre C. A., Lippard S. J.* // J. Am. Chem. Soc. 1990. Vol. 112. P. 6860—6871.
60. *Johnson N. P., Hoeschele J. D., Rahn R. O.* // Chem. Biol. Interact. 1980. Vol. 30. P. 151—169.
61. *Barnham K. J., Berners-Price S. J., Frenkiel T. A. et al.* // Angew. Chem., Int. Ed. Engl. 1995. Vol. 34. P. 1874—1877.
62. *Davies M. S., Berners-Price S. J., Hambley T. W.* // Inorg. Chem. 2000. Vol. 39. P. 5603—5613.
63. *El-Khateeb M., Appleton T. G., Gahan L. R. et al.* // J. Inorg. Biochem. 1999. Vol. 77. P. 13—21.
64. *Davies M. S., Berners-Price S. J., Hambley T. W.* // J. Inorg. Biochem. 2000. Vol. 79. P. 167—172.
65. *Eastman A., Barry M. A.* // Biochemistry. 1987. Vol. 26. P. 3303—3307.
66. *Bernal-Mendez E., Boudvillain M., Gonzalez-Vichez F., Leng M.* // Biochemistry 1997. Vol. 36. P. 7281—7287.
67. *Carlone M., Fanizzi F. P., Intini F. P. et al.* // Inorg. Chem. 2000. Vol. 39. P. 634—641.
68. *Sullivan S. T., Ciccarese A., Fanizzi F. P., Marzilli L. G.* // Inorg. Chem. 2001. Vol. 40. P. 455—462.
69. *Fenton R. R., Easdale W. J., Meng Er. H. et al.* // J. Med. Chem. 1997. Vol. 40. P. 1090—1098.
70. *Rezler E. M., Fenton R. R., Easdale W. J. et al.* // J. Med. Chem. 1997. Vol. 40. P. 3508—3515.
71. *Ling E. C. H., Allen G. W., Hambley T. W.* // J. Am. Chem. Soc. 1994. Vol. 116. P. 2673—2674.
72. *Williams K. M., Scarcia T., Natile G., Marzilli L. G.* // Inorg. Chem. 2001. Vol. 40. P. 445—454.
73. *Robertazzi A., Platts J. A.* // Inorg. Chem. 2005. Vol. 44. P. 257—274.
74. *Lippard S. J.* // In: Bioinorganic Chemistry. An Inorganic Perspective of Life / Ed. D. P. Kessissoglou. Dordrecht: Kluwer Academic Publ., 1995. P. 131—140.
75. *Donahue B. A., Augot M., Bellon S. F. et al.* // Biochemistry. 1990. Vol. 29. P. 5872—5880.
76. *Pil P. M., Lippard S. J.* // Science. 1992. Vol. 256. P. 234—237.
77. *Cavigiolio G., Benedetto L., Boccaleri E. et al.* // Inorg. Chim. Acta. 2000. Vol. 305. P. 61—68.

78. *Roat-Malone R. M.* // Bioinorganic Chemistry. New York: John Wiley & Sons Inc., 2002.
79. *How-Grant M. E., Lippard S. J.* // Metal ions biol. syst. 1980. Vol. 11. P. 63—125.
80. *Parti R., Wolf W.* // J. Cancer Res. Clin. Oncology. Suppl. (part 1). 1990. Vol. 116. P. 429—430.
81. *Aggarwal S. K., Nicromand-rad I.* // J. Histochem. Cytochem. 1983. Vol. 31. № 2. P. 307—317.
82. *Vassilev P. M., Kanazirska M. P., Charamella L. J.* // Cancer Res. 1987. Vol. 47. P. 519—522.
83. *Just G., Holler E.* // J. Cancer Res. Clin. Oncology, Suppl. (part 1). 1990. Vol. 116. P. 431—433.
84. *Nishizuka Y.* // Science. 1986. Vol. 233. P. 305—312.
85. *Михаевич И. С., Власенкова Н. К., Герасимова Г. К.* // Хим.-фарм. журн. 1996. № 4. P. 3—5.
86. *Сидорик Е. П., Бурлака А. П., Сидорик О. А., Корчевая Л. М.* // Эксперим. Онкология. 1983. Т. 5. № 1. P. 13—19.
87. *Becker K., Herold-Mende C., Park J. J. et al.* // J. Med. Chem. 2001. V. 41. P. 2784—2792.
88. *Cleare, M. J.; Hoeschele, J. D.* // Plet. Met. Rev. 1973. Vol. 17. P. 3—5.
89. *Cleare M. J., Hoeschele J. D.* // Bioinorg. Chem. 1973. Vol. 2. P. 187—209.
90. *Cleare M. J.* // Coord. Chem. Rev. 1974. Vol. 12. P. 449—505.
91. *Cleare M. J.* // J. Clin. Hematol. Oncol. 1977. Vol. 7. № 1. P. 1—25.
92. *Cleare M. J.* // Coord. Chem. Rev. 1974. Vol. 12. P. 349—405.
93. *Khokhar A. R., Al-Baker S., Shamsuddin S., Siddik Z. H.* // J. Med. Chem. 1997. Vol. 40. P. 112—116.
94. *Pendyala L., Arakali A. V., Sansone P. et al.* // Cancer Chemother. Pharmacol. 1990. Vol. 27. P. 248—257.
95. *Van der Veer J. L., Peters A. R., Reedijk J.* // J. Inorg. Biochem. 1986. Vol. 26. P. 137—142.
96. *Eastman A.* // Biochem. Pharmacol. 1987. Vol. 36. P. 4177—4178.
97. *Chaney S. G., Gibbons G. R., Wyrick S., Podhasky P.* // Res. 1991. Vol. 51. P. 969—974.
98. *Van der Veer J. L., Peters A. R., Reedijk J.* // Inorg. Chem. 1987. Vol. 26. P. 3617—3622.
99. *Pendyala L., Cowens J. W., Chheda G. B. et al.* // Cancer Res. 1988. Vol. 48. P. 3533—3538.
100. *Bose R. N., Weaver E. L.* // J. Chem. Soc., Dalton Trans. 1997. P. 1797—1802.
101. *Talman E. G., Bruning W., Reedijk J. et al.* // Inorg. Chem. 1997. Vol. 36. P. 854—862.
102. *Lemma K., Shi T., Elding L. I.* // Inorg. Chem. 2000. Vol. 39. P. 1728—1734.
103. *Lemma K., Berglund J., Farrell N., Elding L.* // J. Biol. Inorg. Chem. Vol. 5. P. 300—306.
104. *Shi T., Berglung J., Elding L. I.* // Inorg. Chem. 1996. Vol. 35. P. 3498—3506.

105. *Talman E. G., Kidani Y., Mohrmann L., Reedijk J.* // *Inorg. Chim. Acta.* 1998. Vol. 283. P. 251—255.
106. *Pendyala L., Walsh J. R., Huq M. M. et al.* // *Cancer Chemother. Pharmacol.* 1989. Vol. 25. P. 15—21.
107. *Gibbons G. R., Wyrick S., Chaney S. G.* // *Cancer Res.* 1989. Vol. 49. P. 1402—1407.
108. *Chaney S. G., Wyrick S., Till G. K.* // *Cancer Res.* 1990. Vol. 50. P. 4539—4543.
109. *Hall M. D., Amjadi Sh., Zhang M. et al.* // *J. Inorg. Biochem.* 2004. Vol. 98. P. 1614—1624.
110. *Siddik Z. H., Al-Baker S., Thai G., Khokhar A. R.* // *Anti-Cancer Drug Des.* 1994. Vol. 9. P. 139—151.
111. *Yoshida M., Khokhar A. R., Zhang Y. P., Siddik Z. H.* // *Cancer Res.* 1994. Vol. 54. P. 4691—4696.
112. *Khokhar A. R., Deng Y., Kido Y., Siddik Z. H.* // *J. Inorg. Biochem.* 1993. Vol. 50. P. 79—89.
113. *Kido Y., Khokhar A. R., Siddik Z. H.* // *Biochem. Pharmacol.* 1994. Vol. 47. P. 1635—1642.
114. *Ellis L. T., Er H. M., Hambley T. W.* // *Aust. J. Chem.* 1995. Vol. 48. P. 793—798.
115. *Choi S., Filotto C., Bisanzo M. et al.* // *Inorg. Chem.* 1998. Vol. 37. P. 2500—2508.
116. *Kratochwil N. A., Guo Z., Murdoch P. D. S. et al.* // *J. Am. Chem. Soc.* 1998. Vol. 120. P. 8253—8254.
117. *Garnuszek P., Maurin M., Skierski J. S. et al.* // *J. Inorg. Biochem.* 2004. Vol. 98. P. 553—559.
118. *Orr R. M., O'Neill C. F., Nicolson M. C. et al.* // *Br. J. Cancer.* 1994. Vol. 70. P. 415—422.
119. *Song R., Kim K. M., Lee S. S., Sohn Y. S.* // *Inorg. Chem.* 2000. Vol. 39. P. 3567—3571.
120. *Jolley J. N., Yanovsky A. I., Kelland L. R., Nolan K. B.* // *J. Inorg. Biochem.* 2001. Vol. 83. P. 91—100.
121. *Kratochwil N. A., Zabel M., Range K.-J., Bednarski P. J.* // *J. Med. Chem.* 1996. Vol. 39. P. 2499—2507.
122. *Siddik Z. H., Hagopian G. S., Thai G. et al.* // *J. Inorg. Biochem.* 1999. Vol. 77. P. 65—70.
123. *Kelland L. R., Sharp Y. S., O'Neil C. F. et al.* // *J. Inorg. Biochem.* 1999. Vol. 77. P. 111—115.
124. *Pors K., Paniwnyk Z., Ruparella K. C. et al.* // *J. Med. Chem.*, 2004. Vol. 47. P. 1856—1859.
125. *Liu Q., Wei H., Lin J. et al.* // *J. Inorg. Biochem.* 2004. Vol. 98. P. 702—712.
126. *Murdoch P. S., Ranford J. D., Sadler P. J., Berners-Price S. J.* // *Inorg. Chem.* 1993. Vol. 32. P. 2249—2256.
127. *Chen Y., Guo Z., Parsons S., Sadler P. J.* // *Chem. Eur. J.* 1998. Vol. 4. P. 672—679.
128. *Holford J. F., Raynaud F. I., Murrer B. A. et al.* // *Anti-Cancer Drug Des.* 1998. Vol. 13. P. 1—8.



129. *Raynaud F. I., Boxall F. E., Goddard P. M.* et al. // Clin. Cancer Res. 1997. Vol. 3. P. 2063—2074.
130. *Holford J., Sharp S. Y., Murrer B. A.* et al. // Br. J. Cancer. 1998. Vol. 77. P. 366—374.
131. *Bloemink M. J., Engelking H., Karentzopoulos S.* et al. // Inorg. Chem. 1996. Vol. 35. P. 619—627.
132. *Webster L. K., Deacon G. B., Buxton D. P.* et al. // J. Med. Chem. 1992. Vol. 35. P. 3349—3354.
133. *Deacon G. B.* // In: Platinum and Other Metal Coordination Compounds in Cancer Chemotherapy / Ed. S. B. Howell. New York: Plenum Press. 1991. P. 139—140.
134. *Farrell N. P.* // Met. ions biol. syst. 1996. Vol. 32. P. 603—605.
135. *El-Mehasseb I. M., Kodaka M., Okada T.* et al. // J. Inorg. Biochem. 2001. Vol. 84. P. 157—158.
136. *Van Beusichem M., Farrell N. P.* // Inorg. Chem. 1992. Vol. 31. P. 634—642.
137. *Farrell N. P., Ha T. T. B., Souchard J. P.* et al. // J. Med. Chem. 1989. Vol. 32. P. 2240—2247.
138. *Kelland L. R., Barnard C. F. J., Mellish K. J.* et al. // Cancer Res. 1994. Vol. 54. P. 5618—5623.
139. *Coluccia M., Nassi A., Loseto F.* et al. // J. Med. Chem. 1993. Vol. 36. P. 510—516.
140. *Zakovska A., Novakova O., Balcarova Z.* et al. // Eur. J. Biochem. 1998. Vol. 254. P. 547—557.
141. *Bierbach U., Farrell N. P.* // Inorg. Chem. 1997. Vol. 36. P. 3657—3666.
142. *Farrell N. P., Ha T. T. B., Souchard J.-P.* et al. // J. Med. Chem. 1989. Vol. 32. P. 2240—2248.
143. *Van Beusichem M., Farrell N. P.* // Inorg. Chem. 1992. Vol. 31. P. 634—639.
144. *Farrell N. P., Kelland L. R., Roberts J. D., Van Beusichem M.* // Cancer Res. 1992. Vol. 52. P. 5065—5072.
145. *Zou Y., Van Houten B., Farrell N. P.* // Biochemistry. 1993. Vol. 32. P. 9632—9638.
146. *Farrell N. P.* // Metal ions boil. syst. 1996. Vol. 32. P. 603—608.
147. *Mellish K. J., Barnard C. F. J., Murrer B. A., Kelland L. R.* // Int. J. Cancer. 1995. Vol. 62. P. 717—723.
148. *Montero E. I., Diaz S., Gonzalez-Vadillo A. M.* et al. // J. Med. Chem. 1999. Vol. 42. P. 4264—4271.
149. *Coluccia M., Boccarelli A., Mariggio M. A.* et al. // Chem. Biol. Interact. 1995. Vol. 98. P. 251—259.
150. *Reiset J.* // Ann. Chim. Phys. 1844. Vol. 11. P. 417—425.
151. *Reiset J.* // Compt. Rend. 1844. Vol. 18. P. 1103—1110.
152. *Peyrone M.* // Ann. Chem. Pharm. 1846. Vol. 59. P. 1—11.
153. *Kauffman G. B., Cowan D. O.* // Inorg. Synth. 1963. Vol. 7. P. 239—244.
154. *Appletton T. G., Baily A. J., Barnham K. J., Hall J. R.* // Inorg. Chem. 1992. Vol. 31. P. 3077—3085.
155. *Maresca L., Natile G.* // Comments Inorg. Chem. 1993. Vol. 14. P. 349—354.

156. *Hoeschele J. D., Butler T. A., Roberts J. A.* // In: Inorganic Chemistry in Biology and Medicine / Ed. A. E. Martel. ACS Symposium Series 181. Washington: ACS, DC, 1980.
157. *Comess K. M., Lippard S. J.* // In: Molecular Aspects of Anticancer Drug-DNA Interactions / Eds. S. Neidle, M. Waring. Vol. 1. London: MacMillan Press. 1993. P. 134—137.
158. *Burchenal J. H., Kalaher K., Dew K.* // Biochimie. 1978. Vol. 60. P. 961—965.
159. *Burchenal J. H., Kalaher K., Dew K., Lokys L.* // Cancer Treat. Rep. 1979. Vol. 63. P. 1493—1498.
160. *Yang M., Pang R., Jia X. et al.* // J. Inorg. Biochem. 2005. Vol. 99. P. 376—382.
161. *Pasini A., Perego P., Balconi M., Lupetini M.* // J. Chem. Soc., Dalton Trans. 1995. P. 579—585.
162. *Bierbach U., Hambley T. W., Farrell N. P.* // Inorg. Chem. 1998. Vol. 37. P. 708—716.
163. *Sacht C., Datt M. S.* // Polyhedron. 2000. Vol. 19. P. 1347—1354.
164. *Deubel D. V.* // J. Am. Chem. Soc. 2004. Vol. 126. P. 5999—6004.
165. *Okuno H., Tonosaki K., Inoue T., Yonemitsu O.* // Chem. Lett. 1986. P. 1947—1950.
166. *Matsunami J., Urata H., Matsumoto K.* // Inorg. Chem. 1995. Vol. 34. P. 202—208.
167. *Rekonen P., Dohta Y., Kodaka M. et al.* // J. Med. Chem. 1997. Vol. 40. P. 515—519.
168. *Farrell N. P., Qu Y., Hacker M. P.* // J. Med. Chem. 1990. Vol. 33. P. 2179—2186.
169. *Wu P. K., Qu Y., Van Houten B., Farrell N. P.* // J. Inorg. Biochem. 1994. Vol. 54. P. 207—213.
170. *Wu P. K., Kharatishvili M., Qu Y., Farrell N. P.* // J. Inorg. Biochem. 1996. Vol. 63. P. 9—18.
171. *Farrell N. P.* // Comm. Inorg. Chem. 1995. Vol. 16. P. 373—380.
172. *Zou Y., Van Houten B., Farrell N. P.* // Biochemistry. 1994. Vol. 33. P. 5404—5410.
173. *Jansen B. A. J., van der Zwan J., den Dulk H. et al.* // J. Med. Chem. 2001. Vol. 44. P. 245—249.
174. *Komeda S., Lutz M., Spek A. L. et al.* // Inorg. Chem. 2000. Vol. 39. P. 4230—4236.
175. *Qu Y., Fitzgerald J. A., Rauter H., Farrell N. P.* // Inorg. Chem. 2001. Vol. 40. P. 6324—6327.
176. *Bierbach U., Roberts J. D., Farrell N. P.* // Inorg. Chem. 1998. Vol. 37. P. 717—725.
177. *Rauter H., Di Domenico R., Menta E. et al.* // Inorg. Chem. 1997. Vol. 36. P. 3919—3929.
178. *Appleton T. G., Qu Y., Hoeschele J. D., Farrell N. P.* // Inorg. Chem. 1993. Vol. 32. P. 2591—2599.
179. *Qu Y., Farrell N. P., Kasparkova J., Brabec V.* // J. Inorg. Biochem. 1997. Vol. 67. P. 174—182.

180. Quiroga A. G., Perez J. M., Lopez-Solera J. et al. // J. Med. Chem. 1998. Vol. 41. P. 1399—1406.
181. Di Blasi P., Bernareggi A., Beggiolin G. et al. // Anticancer Res. 1998. Vol. 18 P. 3113—3119.
182. Perego P., Caserini C., Gatti L. et al. // Mol. Pharm. 1999. Vol. 55. P. 528—534.
183. McGregor T. D., Hegmans A., Kasparkova J. et al. // J. Biol. Inorg. Chem. 2002. Vol. 7. P. 397—404.
184. Hegmans A., Qu Y., Kelland L. R. et al. // Inorg. Chem. 2001. Vol. 40. P. 6108—6114.
185. Teixeira L. J., Seabra M., Reis E. // J. Med. Chem. 2004. Vol. 47. P. 2917—2925.
186. Wheate N. J., Collins J. G. // Coord. Chem. Rev. 2003. Vol. 241. P. 133—145.
187. Qu Y., Scarsdale N. J., Tran M.-Ch., Farrell N. P. // J. Inorg. Biochem. 2004. Vol. 98. P. 1585—1590.
188. Qu Y., Harris A., Hegmans A. et al. // J. Inorg. Biochem. 2004. Vol. 98. P. 1591—1598.
189. Daghriri H., Huq F., Beale P. // J. Inorg. Biochem. 2004. Vol. 98. P. 1722—1733.
190. Hollis L. S., Miller A. V., Amundsen A. R. et al. // J. Med. Chem. 1990. Vol. 33. P. 105—111.
191. Ang W. H., Khalaila I., Allardyce C. S. et al. // J. Am. Chem. Soc. 2005. Vol. 127. P. 1382—1383.
192. Ziegler C. J., Silverman A. P., Lippard S. J. // J. Biol. Inorg. Chem. 2000. Vol. 5. P. 774—783.
193. Zak F., Turanek J., Kroutil A. et al. // J. Med. Chem. 2004. Vol. 47. P. 761—763.
194. Galanski M., Yasemi A., Slaby S. et al. // Eur. J. Med. Chem. 2004. Vol. 39. P. 707—714.

## Глава 2

---

### ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ СВОЙСТВА МЕТАЛЛОЦЕНОВ

---

В настоящее время химиотерапию опухолей часто называют “химической хирургией”, поскольку использование соответствующих препаратов приводит в конечном итоге к гибели опухолевых клеток, некрозам опухолевой ткани и ее элиминации из организма при участии иммунной системы. В этом заключается основной принцип действия известных противоопухолевых препаратов, к основным классам которых относятся следующие: алкилирующие агенты (циклофосфан, эмбихин, нитрозометилмочевина), антиметаболиты (метотрексат, меркаптопурин), активаторы окислительного метаболизма (прокарбазин), антибиотики (доксорубицин), интеркаляторы [1]. В частности, цитотоксические и другие эффекты алкилирующих агентов обусловлены тем, что они образуют ковалентные связи с нуклеофильными соединениями — структурными элементами ДНК (пуринами, пиримидинами), а действие метотрексата основано на структурном сходстве с фолиевой кислотой, антиметаболитом которой он и является. Однако химиотерапевтические агенты, как правило, неспецифичны: воздействуя на делящиеся, метаболически активные опухолевые клетки, они оказываются также токсичными по отношению и к другим клеткам с таким же типом поведения (клеткам лимфоидных органов, костно-мозговым, эпителиальным клеткам желудочно-кишечного тракта и другим). Неспецифичность приводит к тому, что терапевтические ( $ED_{50}$ ,  $ED_{90}$ ) и летальные ( $LD_{50}$ ) дозы препаратов отличаются не слишком значительно, что, в свою очередь, обуславливает низкие значения терапевтических индексов ( $TI = LD_{50}/ED_{50}$ ) и узкие терапевтические интервалы. В результате могут возникать

побочные эффекты в виде тяжелых токсических последствий интенсивной химиотерапии, подчас оказывающиеся непосредственной причиной смерти пациентов. Препараты влияют на кроветворные органы, обладают кардио-, нефро- и ототоксичностью [2]. Поэтому разработка новых нетоксичных противоопухолевых препаратов, действие которых основано на иных принципах, остается актуальной проблемой.

В этой связи особый интерес представляют активно предпринимаемые в последние 30 лет попытки разработать новые противоопухолевые препараты на основе производных бис( $\eta^5$ -циклопентадиенил)металлов — металлоценов, а также исследования, направленные на выяснение механизмов противоопухолевого эффекта металлоценов [3—5]. Необходимо установить, основано ли их действие на каких-то иных принципах, нежели уже известные цитотоксический и цитостатический эффекты.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИССЛЕДОВАНИЙ МЕТАЛЛОЦЕНОВ С ПРОТИВООПУХОЛЕВЫМИ СВОЙСТВАМИ

1. Ферроценильные производные. Ферроцен был впервые получен Посоном в 1951 г., а его строение установлено Вудвордом и Уилкинсоном [7]. Обычно металлоцены получают реакцией солей или ацетилацетонатов переходных металлов с циклопентадиенидами щелочных металлов, Mg или Tl; а также действием циклопентадиена на карбонил металла или соль (в присутствии основания). При взаимодействии же галогенидов некоторых металлов с  $C_5H_5Na^+$  образуются не сами металлоцены, а их производные — галогениды или гидриды, например,  $(C_5H_5)_2TiCl_2$ ,  $(C_5H_5)_2ReH$ ,  $(C_5H_5)_2MoH_2$ . В таких производных кольца расположены непараллельно (рис. 2.1) [8].

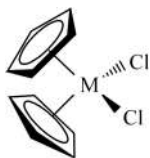


Рис. 2.1. Схематическое изображение структуры производных металлоценов

Бурное развитие химии металлоценов в 1960-х гг. привело к формированию самых разнообразных прикладных направлений в области металлоорганических соединений, в том числе и работ по синтезу металлоцен-

содержащих противоопухолевых соединений. Дополнительным стимулом явилась опубликованная в 1969 г. статья Розенберга с соавторами [9], в которой сообщалось о высокой противоопухолевой активности *цис*-диамминдихлороплатины (II). Эта работа во многом определила логику подхода к дизайну производных металлоценов с потенциально противоопухолевой активностью: в соединении с уже известной противоопухолевой активностью фенильный фрагмент заменялся на ферроценильный (Fc) или последний вводился в качестве дополнительного заместителя [10, 11].

Первые попытки получить препараты такого рода оказались не слишком удачными. Например, в 1963 г. Фрэнком и в 1973 г. Поппом было показано, что гидразоны ферроценилальдегида и моноацетилферроцена, в отличие от соответствующих *N*-нитрогуанилгидразина и дифенилбезальдегида противоопухолевой активности не обнаружили [12, 13]. Позднее, в 1978 г., не увенчалась успехом и попытка введением ферроценильных заместителей увеличить противоопухолевую активность таких алкилирующих химиотерапевтических агентов, как эмбихин и сарколизин [14]. Например, модифицирование сарколизина привело к соединению (рис. 2.2), не обнаружившему заметной активности. В комбинированном варианте терапии сарколизин и ферроценоном (Na-солью *o*-карбоксибензоилферроцена) противоопухолевый эффект оказался на уровне действия сарколизина.

В дополнение отметим, что введение ферроценилалкильного заместителя в циклофосфан, один из основных алкилирующих противоопухолевых препаратов, также привело к резкому снижению его противоопухолевого эффекта [6]. С учетом того, что в

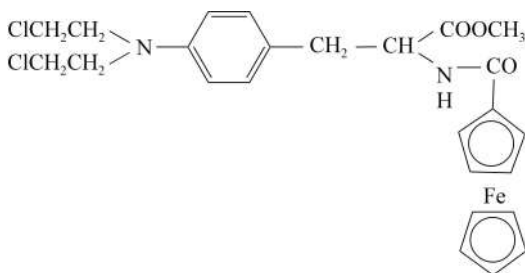


Рис. 2.2. Схематическое изображение структуры модифицированного ферроценильным заместителем сарколизина

молекулу полярного водорастворимого цитостатика вводился неполярный гидрофобный ферроценильный остаток, такой результат вполне закономерен, так как вследствие затруднения доставки соединения к мишени ухудшились его фармакокинетические характеристики.

С другой стороны, модифицирование противоопухолевого препарата путем введения в его структуру ферроценильного остатка способно значительно снизить острую токсичность препарата. Так, известна высокая токсичность эмбихина: его передозировка вызывает глубокое подавление функций кроветворной ткани, что обычно ограничивает терапевтическую дозу эмбихина в пределах 0,1—0,4 мг/кг. В то же время введение ферроценильного производного эмбихина в дозе 5 мг/кг не вызывает токсических эффектов [14].

На основании сформулированной в 1974—1978 гг. модели химического канцерогенеза было сделано предположение о потенциальной противоопухолевой активности “жестких” объемных структур с геометрическими параметрами, близкими к расстояниям между плоскостями нуклеиновых оснований в молекулах ДНК. С этой точки зрения, моно- и динуклеарные производные ферроцена в нейтральной или феррициниевой форме вполне могли обладать противоопухолевой активностью и низкой токсичностью [15], хотя формально и не относились ни к одному из известных классов противоопухолевых препаратов, в частности, алкилирующих агентов, антиметаболитов, противоопухолевых антибиотиков и др. [1, 2].

2. Производные металлоценов. Начало второго этапа исследований противоопухолевых металлоценов можно датировать 1979 г., когда появились работы [16—18] группы, возглавляемой Кепфом и Кепф-Майер, в которых сообщалось о противоопухолевой активности бис( $\eta^5$ -циклопентадиенил)титандихлорида (титаноцендихлорида,  $\text{Cp}_2\text{TiCl}_2$ ) (рис. 2.3). В своих экспериментах они руководствовались структурной аналогией между уже известным к тому времени противоопухолевым веществом — цисплатином и  $\text{Cp}_2\text{TiCl}_2$ .

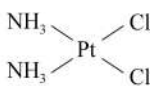
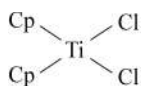


Рис. 2.3. Бис( $\eta^5$ -циклопентадиенил)титандихлорид и *цис*-диамминдихлороплатина (II)

В дозах 20—40 мг/кг  $\text{Cp}_2\text{TiCl}_2$  обнаруживал выраженный противоопухолевый эффект в случае асцитной карциномы Эрлиха (АКЭ), причем без значительных токсич-

ческих проявлений. Так, впервые была продемонстрирована противоопухолевая активность металлоцена.

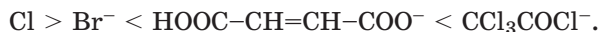
Определенные закономерности в эффективности действия производных бис( $\eta^5$ -циклопентадиенил)металлодигалогенидов были выявлены в ходе дальнейших исследований этих соединений [17—25]. В частности, было изучено влияние природы центрального атома — металла IVB—VIB групп — на противоопухолевую активность. Выяснилось, что для модели АКЭ ряд противоопухолевой активности (в соответствии с природой центрального атома) выглядит следующим образом:



Высокоактивными оказались производные титана (IVB группа) и ванадия (VB), несколько менее активными — производные ниобия и тантала (VB группа) и металлов VIB группы, но совершенно не проявили активности соединения более тяжелых металлов Hf, Zr (IVB группа). На основании этого авторы обзора [5] сделали вывод о диагональном соотношении активностей в зависимости от положения центрального атома-металла в периодической системе элементов:

<b>Ti</b>	V	Cr	Mn
Zr	<b>Nb</b>	<b>Mo</b>	Tc
Hf	Ta	W	<b>Re</b>

Различные титаноцены, проявляющие максимальную активность, были исследованы более детально. В частности, для выяснения влияния лигандов были испытаны аналоги титаноцендихлорида — соединения с общей формулой  $Cr_2TiX_2$ , где  $X=Br^-$ , малеинат  $COOH-CH=CH-COO^-$ , трихлорацетат  $CCl_3COO^-$ . Токсичность этих соединений оказалась ниже, чем у  $Cr_2TiCl_2$ , а терапевтический индекс соединений изменялся от 3,3 до 5,5 в следующем ряду:



Другие соединения типа  $Cr_2TiX_2$ , где  $X=F^-$ ,  $I^-$ ,  $NCS^-$ ,  $N_3^-$ , также показали антипролиферативную активность [26, 27].

Еще одним фактором, влияющим на противоопухолевую активность, является природа заместителей R в циклопентадиенильных кольцах. Например, монозамещенные ( $R=C_2H_5$ ,  $SiMe_3$ ,



SiBu<sub>3</sub>, GeMe<sub>3</sub>) титаноцендихлориды имеют меньшую активность по сравнению с незамещенными производными; гетероангулярные дизамещенные соединения обнаруживают лишь незначительные цитостатические свойства, а декаметильный гомолог является совсем неактивным [28, 29].

Из соединений ряда Cr<sub>2</sub>MX<sub>2</sub> наиболее полно исследованы Cr<sub>2</sub>TiCl<sub>2</sub> и Cr<sub>2</sub>VCl<sub>2</sub>. Дозы 75—100 мг/кг вызывают 70 %-ное ингибирование роста 30 % трансплантированных мышам человеческих опухолей. Наряду с этим у них отсутствует нефротоксичность и отрицательное влияние на кроветворные органы (но обнаружены небольшая гепато- и эмбриотоксичность) [30—35]. Титаноцендихлорид проходит вторую стадию клинических испытаний [8].

3. Соли феррициния. В 1984 г. Кепф и Нойзе сообщили о первых железосодержащих противоопухолевых препаратах — солях феррициния (рис. 2.4) [36—38].

Эффект был продемонстрирован на модели мышинной АКЭ, причем продолжительность жизни животных возрастала на 70—100 % по сравнению с контролем. Наблюдалась четкая корреляция активности солей F<sup>+</sup>X<sup>-</sup> с их растворимостью в воде. Нерастворимые или малорастворимые соли показали низкую активность или даже отсутствие ее. Следует отметить, что и сам ферроцен оказался не активен в этих экспериментах. Анализ результатов этих исследований ярко обозначил необычный характер проявления активности у этих соединений:

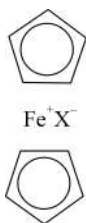


Рис. 2.4. Схематическое изображение структуры солей феррициния, X=FeCl<sub>4</sub><sup>-</sup>, Cl<sub>3</sub>FeOFeCl<sub>3</sub><sup>-</sup>, CCl<sub>3</sub>COO<sup>-</sup>, C<sub>6</sub>H<sub>2</sub>(NO<sub>2</sub>)<sub>3</sub>O<sup>-</sup>

- во-первых, наблюдавшийся эффект нельзя объяснить структурной аналогией с дигалогенидами переходных металлов, в частности с цисплатином и Cr<sub>2</sub>TiX<sub>2</sub>;

- во-вторых, сравнительно высокая эффективность, зависящая от дозы, сочетается с весьма низкой токсичностью на уровне сотен мг/кг (например, трихлорацетат феррициния имеет LD<sub>50</sub>=400 мг/кг, а препарат ферроцерон, который используется для лечения железодефицитной анемии, — всего 30 мг/кг.); в результате терапевтический индекс достигает 1,7—2,0;

- в-третьих, растущие опухолевые клетки, как известно, нуждаются в железе, и с этой точки зрения опухоль представляет собой своеобразную ловушку ионов железа.

Эффективность солей феррицина также была продемонстрирована на солидных опухолях (меланома В16, лейкоцитарная карцинома легких, толстокишечная карцинома 38). Однако по отношению к лейкозам (L1210, Р 388) эти соли оказались сравнительно малоэффективны. Хорошая антипролиферативная активность у них была выявлена по отношению к гетеротрансплантатам опухолей человека. В частности, рост опухолей сигмовидного и ректального отделов толстой кишки ингибировался на 70—80 % по сравнению с контролем [3].

В 1985 и 1989 гг. соли феррицина были запатентованы как компоненты композиций с цитостатическим действием [39, 40].

В работах [41—43] было изучено воздействие на культуры опухолевых тканей тетрафтороборатов феррицина  $\text{Me}_2\text{Fc}^+\text{BF}_4^-$  и  $\text{Me}_{10}\text{Fc}^+\text{BF}_4^-$ . Выяснилось, что введение двух метильных групп снижает активность по сравнению с  $\text{FcH}^+$  по отношению к асцитной опухоли Йошида. Однако декаметильный гомолог обнаружил высокую активность по отношению к лейкозу L1210.

Высокую эффективность в опытах *in vivo* и *in vitro* демонстрировали также трийодиды 1,1'-диэтилферрицина и феррицина (рис. 2.5) [44—46].

1,1'-Диэтилферрициний трийодид при дозе 12,5 мг/кг на 80 % ингибирует рост аденокарциномы 755 (АК-755) и на 90 % увеличивает продолжительность жизни животных; а феррициний трийодид обнаружил весьма сильное (почти в 10 раз) снижение титра вируса на модели вирусного лейкоза Раушера у мышей. Поскольку токсичность таких производных феррицина низкая (для  $\text{FcH}^+\text{I}_3^-$   $\text{LD}_{50}=797$  мг/кг), то в результате для них обеспечиваются высокие значения терапевтических индексов ( $\text{TI}=7,1$ ) по сравнению с цисплатином ( $\text{TI}=2,3$ ).

Активность солей феррицина исследовалась также с помощью так называемого клоногенного теста *in vitro*, в котором учитывается динамика колониеобразующих единиц (делящихся стволовых клеток) под влиянием противоопухолевого агента. Было показано, что в концентрации 100 мкг/мл соли проявляют высокую ингибирующую активность ( $\text{IC}_{50}=40$  мкг/мл для  $\text{FcH}^+\text{FeCl}_4^-$ ) [44—46].

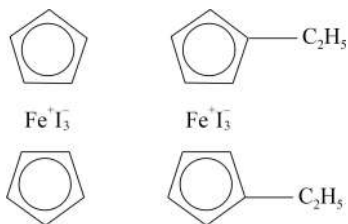


Рис. 2.5. Трийодиды феррицина и 1,1'-диэтилферрицина

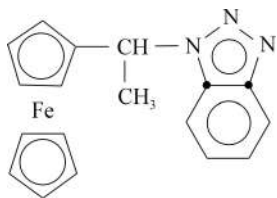


Рис. 2.6.  $\alpha$ -Ферроценил-этил-1*N*-бензотриазол

#### 4. Другие производные ферроцена.

Установлено, что противоопухолевая активность присуща не только солям феррицина, но и другим стабильным железоорганическим катионам, имеющим структуру сэндвича. В частности, такую активность проявили соли гомологов дибензолжелеза (II) [бис( $\eta^6$ -мезитиле)Fe]<sup>2+</sup> и арениклопентадиенилжелеза (II) [ $\eta^5$ -C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>Fe- $\eta^6$ C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>]<sup>+</sup> [43]. При этом незаряженный ферроцен и его гомологи не демонстрировали противоопухолевую активность. В связи с этим возник вопрос, какими факторами обусловлено это различие: зарядом, растворимостью или иными причинами (например, редокс характеристиками).

В 1985 г. были получены ферроценилалкильные производные бензотриазола, некоторых других бензазолов и их солей (рис. 2.6) [47, 48].

Исследование биологической активности ферроценилалкилазолов проводилось в развитие работ по химическому канцерогенезу, что позволило обнаружить противоопухолевую активность как у нейтральных соединений, так и у солей биядерных азолиевых катионов [1,3-(FcCHR)<sub>2</sub>Bt]<sup>+</sup> (где Bt — бензотриазолильное ядро), обладающих умеренной растворимостью в воде [46, 49—50]. Исследование биологической активности данных соединений показало, что они действительно обладают противоопухолевой активностью в сочетании с низкой токсичностью (токсичность оказалась даже ниже, чем у солей феррицина). Их летальные дозы LD<sub>50</sub> соответствуют 500—1500 мг/кг, что на 1,5—2 порядка ниже, чем токсичность у используемых в клинической практике препаратов. Так, для  $\alpha$ -ферроценилэтил-1*N*-бензотриазола (рис. 2.6) была показана высокая степень ингибирования роста опухолей (50 %) и увеличение продолжительности жизни животных до 50 % при дозе 75 мг/кг (меланомы В 16). Такие соединения имеют весьма высокие значения химиотерапевтических индексов, а именно 5,6—16,6 против 2,8 у цисплатины.

Хотя соединения, аналогичные по структуре  $\alpha$ -ферроценилэтил-1*N*-бензотриазолу, не являются непосредственными носителями положительного заряда, они могут приобретать его в результате метаболических превращений по схеме:



где Az — азолильный остаток.

На основании полученных данных возникло предположение, что наличие или возможность приобретения положительного заряда тем или иным соединением является необходимым условием для проявления противоопухолевой активности. Однако было показано, что активностью, в некоторых случаях даже в большей степени, чем соли феррицина, могут обладать и умеренно растворимые в воде соединения (ферроценилметилтиомалоновая и ферроценилуксусная кислоты) (рис. 2.7) [42].

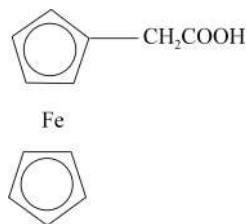


Рис. 2.7. Ферроценилуксусная кислота

Но в отличие от солей феррицина, эффект ингибирования роста опухолевых клеток развивался не сразу, а по истечении достаточно продолжительного периода. Эти результаты дают основание предполагать, что одной растворимости еще недостаточно для проявления противоопухолевой активности препаратов такого типа, необходима также стадия метаболической активации, возможно, до образования феррициниевых форм [42].

Таким образом, завершая общую характеристику исследованных металлоценов с противоопухолевыми свойствами, можно отметить следующее:

- объемные структуры сэндвичевого типа, к которым относятся и металлоцены, обладают противоопухолевой активностью;
- проявление этой активности зависит от наличия (или возможности приобретения молекулой) положительного заряда;
- растворимость в воде, по-видимому, желательна для проявления активности, хотя, в принципе и нерастворимые в воде металлоцены могут оказывать антинеопластическое действие;
- характерная связь (структура—функция) между природой заместителей в циклопентадиенильных лигандах и активностью металлоценов пока не выявлена.

## ФАРМАКОКИНЕТИКА И ТОКСИЧНОСТЬ МЕТАЛЛОЦЕНОВ

1. Фармакокинетика металлоценов. Известно [2], что для изучения механизмов, отвечающих за реакцию на те или иные фармакологические воздействия, необходимо знать, что происходит на первых этапах взаимодействия препарата с объек-

том, каким образом он оказывается во внутренней среде организма, как преодолевает естественные барьеры, каким трансформациям подвергается под действием защитных систем организма, как и какими путями распределяется по органам, с какими органами-мишенями взаимодействует. Первые работы по фармакокинетике металлоценов появились в 1964 г. [51, 52]. Они были посвящены изучению распределения  $^{57}\text{Fe}$ -меченого ферроцена и его динамики в организме и позволили выявить принципиальные различия фармакокинетики металлоценов и неорганических солей железа ( $\text{FeSO}_4$ ).

Характерной особенностью металлоценов является то, что благодаря липофильной группировке бис(циклопентадиенил)металла они способны проходить через липидные мембраны, и в то же время, приобретая тем или иным способом положительный заряд, могут распределяться в полярных средах. Поэтому фармакокинетические возможности металлоценов обширны: они способны мигрировать как в полярных средах (кровь, лимфоток, другие жидкие среды организма), так и проникать через липидные гематотканевые и мембранные барьеры. Во внутреннюю среду организма металлоцены могут проникать даже при кожной аппликации. Однако независимо от способа введения в организм, препарат прежде, чем достигнуть своей мишени, должен быть абсорбирован, пройти гематотканевые барьеры, затем через кровоток и, возможно, органы ретикулоэндотелиальной системы распределен по тканям организма, включая опухолевые. В тканях он, очевидно, взаимодействует с различными клеточными мишенями, претерпевая определенные метаболические превращения, а образовавшиеся метаболиты определенным способом выводятся из организма [2, 10, 11, 53].

При оральном введении ферроцена большая его часть попадает в ткани интактным (не претерпевшим метаболических превращений). В большом количестве ферроцен локализуется в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) и печени. В печени он подвергается гидроксилированию цитохромом P-450 с образованием нестабильного гидроксиферроцена, одна часть которого конъюгируется с глюкуроновой кислотой и в этой форме подвергается экскреции почками, а другая часть деградирует с распадом металлоценового ядра и включается в общий пул железа [54].

Показано, что в зависимости от способа введения металлоценов могут наблюдаться определенные различия в органном распределении [55]. В частности, при внутривенном и внутривенном

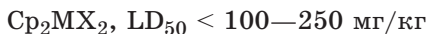
шинном введении металлоцена значительная часть метки регистрируется не только в печени, но и в селезенке, легких, а также в тимусе. В процессе метаболизма металлоценов и их транспорта важную роль играют макрофаги и Т-лимфоциты. Попадая в брюшную полость в виде суспензии, препарат становится объектом атак перитонеальных макрофагов (фагоцитов брюшной полости), подвергается фагоцитозу, окислительной и кислотно-основной деградации. Растворимые в воде препараты при внутрибрюшинном введении обычно быстро всасываются, попадая в системный кровоток. Именно этим, согласно [6], объясняется столь разительное различие эффективности между ферроценом и солями феррициния по отношению к АКЭ, наблюдавшиеся в работах [36—38], поскольку в модели клетки мишени диспергированы в асцитной жидкости, находящейся в брюшной полости. Поэтому соли феррициния не транспортируются дальше, а действуют *in situ* на раковые клетки.

Таким образом, авторы [6] предположили, что при попадании ферроценов в печень через порталный венозный кровоток (при внутрибрюшном или оральном введении препаратов) эффективная доза препарата снижается.

Что касается солей феррициния, то конкретные данные по их фармакокинетике и органному распределению в настоящее время не известны.

Довольно подробно изучено органное распределение бис-(циклопентадиенил)металлодихлоридов на примере  $\text{Cr}_2\text{TiCl}_2$  и  $\text{Cr}_2\text{VCl}_2$ . При фармакокинетическом анализе этих и подобных им соединений следует иметь в виду, что во внутренней среде организма вероятнее всего происходит замещение галогенидов в этих комплексах на аква-лиганды. Установлено, что эти соединения поступают в почки (вероятно, при экскреции). Показано, что  $\text{Cr}_2\text{TiCl}_2$  в небольшой степени аккумулируется в печени и вызывает по отношению к ней определенные функциональные изменения, а также может попадать в поджелудочную железу и надпочечники [34].

2. Токсичность металлоценов. Ранее уже отмечалось, что токсичность металлоценов значительно ниже, чем токсичность известных цитостатиков, в частности, цисплатина, алкилирующих агентов. По токсичности металлоцены подразделяют на три группы [6]:



$\text{Fc}^+\text{X}^-$ , LD<sub>50</sub> 200—400 мг/кг

$\text{FcCH}_2\text{Az}$ , LD<sub>50</sub> 500—1500 мг/кг.

Соединения первой группы токсичны *in vivo*. Установлено, что гепатотоксичностью обладают  $\text{Sr}_2\text{TiCl}_2$  и  $\text{SrVCl}_2$ : они влияют на функциональные характеристики печени, что обуславливает значительное увеличение уровня глутаматдегидрогеназы и некоторых трансаминаз. Более того, гистологически обнаруживают-ся тканевые повреждения печени (некрозы и явления жирового перерождения) [31, 34, 35, 56]. Чувствительными к этим препаратам оказываются и органы эндокринной системы [34, 35], а также свертывающая система крови, что выражается в уменьшении числа циркулирующих пластинок [57]. Но в отличие от цис-платина препараты  $\text{Sr}_2\text{MX}_2$  не проявляют нефротоксичности, а также не вызывают функциональных сдвигов в работе почек. Все эти наблюдения получены при дозах ED<sub>90</sub> и LD<sub>50</sub>.

Токсичность солей феррициния пока изучена недостаточно. Значения LD<sub>50</sub> для них в зависимости от аниона составляют 240—400 мг/кг. Для сравнения укажем, что для нейтральной формы ферроцена доза имеет тот же порядок величины (LD<sub>50</sub>=450 мг/кг) [6, 8, 58].

Исследована токсичность  $\text{Fc}^+\text{X}^-$  с различными анионами, в частности с  $[\text{H}_5\text{Mo}_7\text{O}_{24}]^-$ ,  $[\text{FeCl}_4]^-$ ,  $[\text{Cl}_3\text{FeOFeCl}_3]^{2-}$ ,  $\text{I}_3^-$  и др. [6, 35, 53]. Использование в качестве аниона триодида  $\text{I}_3^-$  понижает токсичность в два раза. У подопытных животных отсутствуют патолого-анатомические изменения во внутренних органах (почках, селезенке, лимфоузлах и тимусе) [44, 45]. Сходные токсикологические характеристики получены для ферроценилалкилазов, но для них наблюдаются значительно большие значения LD<sub>50</sub> [50].

## ВОЗМОЖНЫЕ КЛЕТОЧНЫЕ МИШЕНИ И МОДЕЛИ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ЭФФЕКТОВ МЕТАЛЛОЦЕНОВ

В настоящее время вопрос о клеточных рецепторах и мишенях, через которые опосредуются фармакоэффекты металлоценов, активно изучается [8, 58]. Но исходя из структурных и фи-

зико-химических характеристик этих соединений, и на основе данных фармакокинетики уже делаются достаточно обоснованные предположения относительно возможных клеточных мишеней, а также о наиболее вероятных механизмах наблюдаемых эффектов [8, 58].

Разнообразие металлоценов, особенно ферроценов, позволяет обозначить довольно длинный перечень возможных клеточных мишеней.

1. Мембраны (плазматическая, ядерная), мембраны митохондрий. Металлоценовое ядро, будучи липофильной структурой, способно легко проникать через липидные мембраны. Все рассматриваемые соединения могут находиться не только в нейтральной, но и в различных катионных формах:  $\text{FcH}^+$ ,  $[\text{Cr}_2\text{TiCl}(\text{H}_2\text{O})]^+$ ,  $[\text{FcCHR}-\text{AzH}]^+$  и т. д. Трансмембранное взаимодействие нейтральных и катионных форм облегчает миграцию заряда, например, анионов через мембраны. Так, для ферроцен-феррициниевых систем может осуществляться сопряженный электронно-ионный транспорт и становится возможной деполяризация мембран [6]. Деполяризация мембран митохондрий приводит к разобщению окислительного фосфорилирования и снижению уровня синтеза АТФ и энергообеспечения клеток. Митохондрии живых клеток способны удерживать катионные липофильные соединения с ароматическими кольцами [59]. Эта способность более присуща митохондриям опухолевых клеток (сарком, лимфом, нейробластом, остеосарком), нежели здоровых [60], поскольку электрохимические градиенты митохондриальных мембран опухолевых клеток обычно выше, чем у нормальных мембран. Своеобразная “накачка” катионных липофильных молекул в митохондрии приводит к деполяризации мембран и селективному токсическому воздействию на опухолевые клетки [61]. Как полагают, подобный механизм может играть определенную роль при использовании соединений типа титаноцендихлорида [8].

Таким образом, в рамках рассмотренного выше механизма металлоцены выступают как дыхательные яды. Однако из-за низкой токсичности этих соединений вклад такого механизма не считают значительным, хотя в принципе и не исключают его [6, 8].

Другой мембранолокализированный механизм действия металлоценов может быть связан с их влиянием на ферменты каскада арахидоновой кислоты. Ферроценильные производные способны селективно ингибировать циклооксигеназный (проста-



гландиновый) путь метаболизма арахидоновой кислоты, одновременно немного стимулируя липооксигеназный (лейкотриеновый). Это связано с тем, что циклооксигеназа — гемсодержащий фермент, а ферроцены являются хорошими субстратами гемсодержащих ферментов [6].

Известно, что некоторые простагландины стимулируют прогрессирование опухолей [62]. Вероятно, это происходит в результате подавления иммунного ответа, например при снижении активности естественных киллеров (НК-клеток). На снятии этого эффекта путем подавления биосинтеза простагландинов, возможно, и основывается противоопухолевое действие таких не слишком эффективных препаратов, как ферроценилсарколизин и ферроценилэмбихин. Для высокоэффективных металлоценов ряда  $\text{Cr}_2\text{MX}_2$ , а также солей феррициния и ферроценилалкилазолов такой механизм представляется маловероятным [63].

2. Ядро клетки, геном. Другой вероятной клеточной мишенью для металлоценов является ядро клетки, ее геном [55, 64]. Наиболее доступные молекулярные объекты ядра — это ДНК, РНК, белки хроматина (в первую очередь гистоны), структуры митотического аппарата. Но осевые элементы хромосом малодоступны для взаимодействия с металлоценами вследствие экранирования хроматином. Гистоны, благодаря их обогащенности основными аминокислотами и избыточности положительных зарядов, также едва ли могут быть рецепторами для металлоценов. Напротив, полианионы, каковыми являются нуклеиновые кислоты, вполне могут взаимодействовать с катионными или катионоидными молекулами металлоценов [6, 8].

Среди основных экспериментальных фактов, подтверждающих возможность взаимодействия металлоценов с ДНК, можно назвать следующие [55, 64, 65]:

- металлоцены имеют тенденцию к локализации в ДНК-богатом органе — тимусе;
- металлоцены ингибируют синтез ДНК, но не влияют на синтез РНК и белка;
- диферроценилнафталиндиимид способен интеркалировать между нуклеиновыми основаниями двойной спирали ДНК;
- соли моно- и диацетилферрициния разрывают двойную спираль ДНК;
- ферроценилэтилбензотриазол влияет на окислительно-восстановительные процессы в клетках.

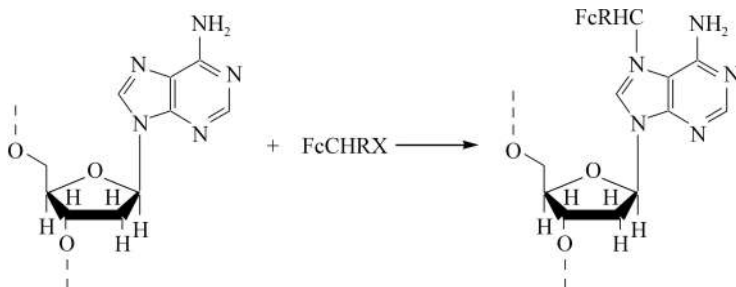


Рис. 2.8. Схема взаимодействия пуринового основания с производным металлоцена [6]

С учетом структурных особенностей и реакционной способности металлоценов, в работах [6, 8] представлены несколько вариантов взаимодействия ДНК с металлоценами.

1. Металлоценилалкилирование нуклеиновых оснований (в частности, аденина, гуанина) (рис. 2.8). Было установлено, что ферроценилалкилазолы, в частности ( $\alpha$ -ферроценилэтил)бензотриазол, являются хорошими алкилирующими агентами по отношению к нуклеиновым основаниям и нуклеозидам [6, 11]. Кроме того, сама ДНК легко подвергается ферроценилалкилированию. Исходя из этого, можно предположить, что противоопухолевый эффект *in vivo* реализуется через стадию ферроценилалкилирования ДНК.

Катализируемая кислотами реакция ферроценилалкилирования нуклеиновых оснований и самой ДНК происходит легко при комнатной температуре (рис. 2.9) [66]. Кислотность в непосредственной близости от межнуклеосомных (линкерных) участков ДНК достаточно велика. Известно также, что такая реакция может протекать не только на границе раздела жидкость—жидкость, но и в гетерогенных системах [67]. В рассмат-

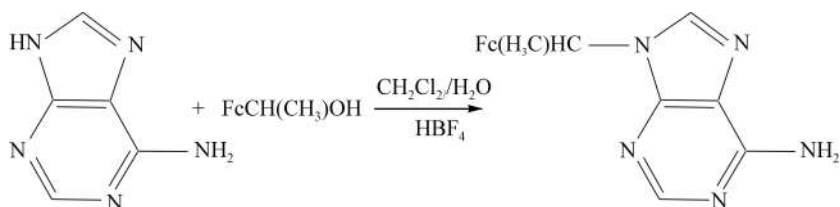


Рис. 2.9. Схема реакции ферроценилалкилирования нуклеиновых оснований [6]

риваемом случае границей раздела может служить поверхность нуклеосомы.

Поэтому предположение о реализации противоопухолевого эффекта через механизм ферроценилалкилирования оснований в ДНК со структурной точки зрения рассматривается некоторыми авторами как достаточно обоснованное [6].

Вместе с тем, как известно, препараты, относящиеся к алкилирующим агентам, обычно реагируя с N<sub>9</sub>-положениями пуриновых оснований, вызывают множественные повреждения ДНК, нарушения процессов репликации и транскрипции [10, 11, 53]. Это приводит к митотическому блоку и в конечном итоге к гибели клеток. Однако такой механизм неспецифичен, он порождает повреждения и нормальных делящихся клеток, обуславливая тем самым высокую токсичность алкилирующих средств [68], что не согласуется с токсикологическими характеристиками ферроценилалкилазолов и вызывает обоснованное сомнение в реализации механизма ферроценилалкилирования ДНК, определяющего противоопухолевый эффект. Однако это противоречие снимается, если предположить, что ферроценилалкилазолы могут связываться с ДНК-мишенью не только посредством лабильных ковалентных связей между пуриновыми и пиримидиновыми основаниями и ферроценилалкильными фрагментами. Эти связи не блокируют полностью репликацию, однако они могут тормозить процессы репликации, препятствовать рекомбинации и, вероятно, инициировать запуск механизма программированной гибели клеток — апоптоза, который нарушается у популяций опухолевых клеток.

2. Координационные взаимодействия с основаниями одной и той же или различных нитей ДНК. Такой вариант реализуется при взаимодействии цисплатина с ДНК, и он может определять противоопухолевые эффекты соединений типа  $\text{Cr}_2\text{TiCl}_2$  (рис. 2.10) [6, 10, 11, 53].

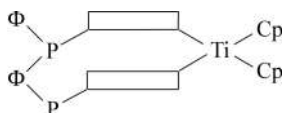


Рис. 2.10. Схема координационного взаимодействия производного металлоцена с основаниями ДНК[6]:  
Ф — фосфат, Р — рибоза

Такая идея подсказана структурной аналогией между  $\text{Cr}_2\text{MX}_2$  и соединениями типа *цис*-диамминдихлороплатины(II) [3]. Считается, что эти комплексы платины легко теряют хлорид-лиганды внутри клетки, поскольку концентрация хлорид-ионов в цитоплазме намного меньше, чем в плазме крови [69]. При этом происходит заме-

щение хлорид-ионов на аква-лиганды, и комплекс приобретает способность атаковать молекулы ДНК. Хотя координация атомов платины возможна и через фосфатные группы, основным способом связывания с ДНК считаются внутри- и межнитевые сшивки через гуанин и аденин (иногда цитозин) [70]. Межплоскостные расстояния в ДНК  $\approx 3,4$  Å весьма близки к расстоянию между хлоридными лигандами в *цис*-(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>PtCl<sub>2</sub> (3,35 Å).

Предполагается, что такой же механизм реализуется и для соединений типа Cr<sub>2</sub>MCl<sub>2</sub>, где  $r(\text{Cl}\dots\text{Cl})$  близко к 3,4 Å [5, 19, 23]. Цисплатин и металлоценилхлориды, подобно алкилирующим агентам, вызывают блок митоза на переходе из фазы G<sub>2</sub> в митоз и из синтетической S-фазы в фазу G<sub>2</sub> клеточного цикла [68]. Морфологически это проявляется в образовании гигантских клеток и в некрозе клеток [27, 71]. Такое предположение относительно механизма действия соединений типа Cr<sub>2</sub>MX<sub>2</sub> вполне согласуется с их структурой, реакционной способностью и сравнительно высокой токсичностью.

Авторы работы [6] считают, что если эффект соединений типа Cr<sub>2</sub>MX<sub>2</sub> действительно опосредован путем связывания с ДНК, то с учетом высокой стабильности фрагментов Cr<sub>2</sub>M<sup>2+</sup>, за него ответственны именно металлоценовые структуры, а не продукты их деградации до ионов металла.

Что касается солей феррицина и ферроценилалкилазолов, то на основании данных фармакокинетики предполагают, что их металлоценовые фрагменты в значительной степени остаются интактными при попадании препаратов во внутреннюю среду организма. Их структурные свойства и реакционная способность таковы, что “допускают” непосредственное взаимодействие с ДНК [8]. Как было указано выше, бис (циклопентадиенил)металлы VIII группы обладают сродством к ДНК-богатым тканям тимуса.

Однако для производных ферроцена и феррицина механизм, обусловленный образованием прочных ковалентных или координационных связей с теми или иными фрагментами ДНК, рассматривается как маловероятный. К такому выводу приводят и структурные соображения, и то обстоятельство, что эти соединения не обнаруживают высокой токсичности, которую естественно связывать с возникновением прочных ковалентных или координационных связей с ДНК.

3. Ионные взаимодействия с фосфатными группами нуклеотида с образованием ионных пар (рис. 2.11). Так, высокое сродство

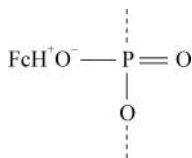


Рис. 2.11. Схема ионного взаимодействия металлоцена с фосфатными группами [6]

Ti (IV) к фосфатным группам может играть значительную роль в его биологической активности. Взаимодействие между фосфатной группой нуклеотида и ионом металла играет определяющую роль в биологических системах [73]. Связывание  $\text{Mg}^{2+}$ - или  $\text{Mn}^{2+}$ -фосфат является ключевым в репликации ДНК и транскрипции РНК. Также металл-фосфатные взаимодействия влияют на стабильность и конформационные состояния вторичной и третичной структуры ДНК и РНК.

Металл-фосфатные взаимодействия могут быть более важны *in vivo* по сравнению с частичными взаимодействиями металла с основаниями нуклеотидов и углеводными остатками. В частности, при рассмотрении механизма действия цисплатина предполагают, что Pt (II)—фосфатное связывание может быть первым шагом в Pt (II)—ДНК взаимодействиях [53]. А после применения  $\text{Sr}_2\text{TiCl}_2$ , по-видимому, не случайно в той же самой области клетки, где обнаруживается титан, наблюдается накопление фосфата в высоких концентрациях [8]. Кроме того, металл-фосфатное связывание может обеспечивать внутриклеточный транспорт для легкогидролизуемых катионов некоторых переходных металлов (в частности титана, ванадия и др.), иначе они подвергнутся гидролизу с образованием неактивных соединений при клеточных значениях pH ( $\text{pH} \approx 7$ ).

4. Межмолекулярные взаимодействия интеркаляционного типа между нуклеиновыми основаниями и циклопентадиенильными или азотистыми основаниями металлоценов. В таких взаимодействиях могут принимать участие нуклеиновые основания, принадлежащие одной либо разным нитям ДНК (рис. 2.12).

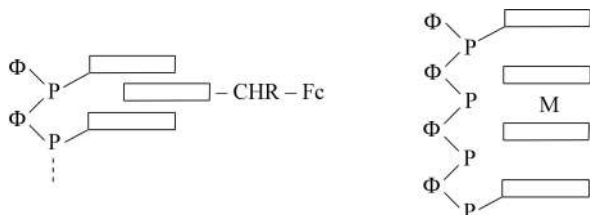


Рис. 2.12. Схема межмолекулярного взаимодействия интеркаляционного типа с участием металлоцена (M — металл)[6]

5. Механизм действия ферроценилалкильных производных, имеющий иммунную природу. Как известно, ферроценильные группы являются хорошими гаптенами (гаптен — низкомолекулярный фрагмент, придающий антигенные свойства высокомолекулярной, но не иммуногенной структуре) и при конъюгировании с белками индуцируют образование соответствующих антител [72]. Что касается ДНК, то сама по себе она неантигенна, но гаптенизация ее (т. е. модификация заместителями, приводящая к возникновению иммунного ответа) порождает иммунный ответ. Это подтверждено авторами [6], показавшими, что гаптенизация ДНК ферроценилалкильными группами приводит к образованию антител. Следовательно, действие ферроценилалкильных производных может осуществляться также при посредстве аутоантител к гаптенизированным ДНК.

Пока нет обоснованных предположений о вкладе такого механизма в противоопухолевый эффект металлоценов. Однако очевидно, что и в этом случае иммунному ответу должна предшествовать реакция алкилирования. Поэтому при реализации такого механизма должна проявляться достаточно высокая токсичность препаратов при небольших значениях терапевтических индексов [73].

6. Механизм действия, непосредственно не связанный с цитотоксическими свойствами соединений. Действие традиционных противоопухолевых препаратов основано на деструкции ими делящихся клеток, приводящей к гибели последних. Это относится к алкилирующим агентам, антиметаболитам, противоопухолевым антибиотикам и другим используемым в онкологической клинике препаратам [1, 2]. Альтернативный подход предполагает не уничтожение пролиферирующих клеток, а нормализацию их гено- и фенотипического поведения [15]. В качестве рабочей гипотезы для дизайна новых химических структур с противоопухолевой активностью авторами этой работы была предложена модель химического канцерогенеза. В ее основу положены представления о том, что при воздействии химических канцерогенов, наряду с гибелью многих клеток в результате множественных повреждений, в частности разрывов молекул ДНК, некоторые клетки трансформируются в опухолевые за счет индукции так называемой рекомбинационной системы репарации. Предполагалось, что при этом происходит не разборка поврежденных участков и матричный синтез новой ДНК, как при обычной репарации, а миграция и “вшивание” в поврежденные

участки генома крупных фрагментов ДНК. В результате после воздействия канцерогена опухолевые клетки не только выживают, но даже способны преодолевать порог репродуктивной гибели (порог Хейфлика). Функционирование рекомбинационной системы репарации стимулирует также миграцию перемещающихся генетических элементов, значительно увеличивает нестабильность генома, делает его гетероплоидным, способствуя возникновению популяционной неоднородности, что наряду с “выключением” механизма апоптоза является другим важным признаком опухолевых клеток.

В соответствии с такой моделью химического канцерогенеза для нормализации поведения клеток необходимо подавить миграционно-рекомбинационную активность их генома. Исходя из структурных соображений, было предложено [6, 15], что эту роль могут играть молекулы, способные связываться с ДНК в местах ее разрывов таким образом, чтобы препятствуя интеграции перемещающихся элементов ДНК в этих точках, не блокировать репликацию и репарацию. Такие молекулы должны иметь координационные центры для связывания разрывов ДНК, причем эти связи должны быть достаточно прочными (ионными, водородными, интеркаляционными) и в то же время настолько лабильными, чтобы не препятствовать репликации; молекулы должны обладать достаточно жесткими объемными структурными фрагментами, способными воспрепятствовать сближению мигрирующих и резидентных фрагментов ДНК в местах разрывов последних.

Таким структурным требованиям хорошо удовлетворяют молекулы некоторых функциональных производных ряда ферроцена.

Повышенная нестабильность генома раковых клеток показана на множестве примеров. В частности, продемонстрировано увеличение частоты рекомбинаций между сестринскими хроматидами в некоторых типах опухолевых клеток [74]. Обменные процессы в геноме стимулируются многими канцерогенными факторами [75—77].

Таким образом, можно полагать, что в опухолевых клетках возрастают вклад и роль рекомбинационных процессов. Вопрос о роли рекомбинационной репарации пока является лишь предметом дискуссий. Однако известно, что при действии канцерогенов репарационный синтез вначале интенсифицируется, а затем активность обычных репарационных систем снижается [78]. Со-

гласно [79, 80], ингибирование (или повреждение) ферментных систем, обслуживающих эксцезионную систему репарации, под действием канцерогенных факторов приводит к более интенсивно работающей системе рекомбинационной репарации на фоне общего увеличения нестабильности генома.

Установлено [81], что при опухолевом процессе в плазме крови появляются низкомолекулярные фрагменты ДНК, которые, как предполагают, ответственны за подавление иммунитета. Геному опухолевых клеток присущи большие генетические различия. На популяционном уровне это выражается в большей гетерогенности популяций [10, 11, 82]. С одной стороны, это делает опухолевые ткани более чувствительными к воздействиям, но, с другой стороны, придает им большую пластичность и устойчивость. Известно, например, что опухолевые клетки, подобно бактериальным, способны вырабатывать факторы лекарственной резистентности [53, 83]. В целом приведенные факты можно рассматривать в пользу гипотезы, которая была предложена еще в конце 70-х гг. XX в. в работе [15].

В работах [6, 8, 11, 53] рассмотрены “возможности” вмешательства производных ферроцена и солей феррициния в процесс рекомбинационной репарации, “незаконной” опухолевой рекомбинации и соответствующие последствия этого. Предполагают, что соли феррициния могут образовывать ионные связи с фосфатными группами, встраиваться в нить ДНК и давать интеркаляционные комплексы в тех участках ДНК, где произошло отщепление пары оснований и/или возник разрыв фосфоэфирной связи. Ферроценилалкилазолы также могут вступать в интеркаляционные взаимодействия за счет ферроценового ядра или гетероциклического фрагмента, давать водородные связи с участием азольного ядра и нуклеиновых оснований и ионные связи с участием гетероцикла, феррициниевого ядра (если прошло окисление) и фосфатных групп ДНК (рис. 2.13). Возможно, в реальных условиях будут возникать комбинации различных вариантов связи, причем более эффективные взаимодействия будут осуществляться в местах разрывов ДНК. Поскольку эти связи менее прочны, чем ковалентные, они могут тормозить, но не прекращать репликацию и вызывать блок

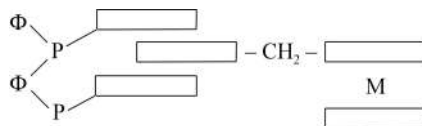


Рис. 2.13. Схема интеркаляционных взаимодействий с участием ферроценилалкилазолов (М — металл) [6]



митозов. Именно этим, в частности, в работах [6, 8], объясняется меньшая токсичность ферроценилалкилазолов по сравнению с алкилирующими агентами и комплексами типа цисплатина и  $\text{Cr}_2\text{TiCl}_2$ .

Структурным, химическим и фармакокинетическим требованиям вполне удовлетворяет молекула ( $\alpha$ -ферроценилэтил)-бензотриазола, поскольку она обладает следующими свойствами [9, 85]:

1) гидрофильным (бензотриазольный) и липофильным (ферроценильный) фрагментами, которые обеспечивают возможность транспорта как в водных средах (кровь и лимфа, цитоплазма), так и прохождение через гидрофобные мембранные структуры;

2) группами, способными образовывать ионные связи (при окислении до феррициниевой формы) и водородные связи (при протонировании) с фосфатными группами в точках разрыва ДНК типа  $\sim \text{P}-\text{O}^- \text{Fc}^+ \sim$  или  $\sim \text{P}-\text{O}^- \dots \text{H}-\text{N}^+ \sim$ ;

3) плоскими гетероциклическими кольцами, которые могут встраиваться (интеркалировать) между плоскостями соседних пар нуклеиновых оснований;

4) объемным ферроценовым фрагментом, который геометрически соответствует межнуклеотидным расстояниям в ДНК (0,34 нм) и препятствует сближению мигрирующих и резидентных фрагментов ДНК в местах разрывов;

5) “шарнирным” алкильным мостиком, облегчающим “подстройку” при образовании лиганд-рецепторного комплекса.

Следовательно, ферроценилалкилазолы потенциально способны путем образования связей в местах разрыва углеводно-фосфатного остова препятствовать интеграции мобильных элементов ДНК.

7. Механизм действия, основанный на способности металлоценов катализировать свободнорадикальные превращения за счет реакций электронного переноса. Для некоторых противоопухолевых препаратов такой механизм действия считается вполне реальным. Так, в работе [86] изложены представления о существенной роли свободнорадикальных процессов в опухолевых клетках. Поэтому, согласно [6], для феррициниевых форм вполне возможен механизм окислительно-восстановительного инициирования повреждений в геноме по свободнорадикальному механизму.

8. Механизмы, обусловленные активацией определенных компонентов системы иммунитета. Еще один иммуноопосредованный механизм может быть связан с воздействием металлоценов на надпочечники. Одна из таких возможностей рассмотрена

выше и связана с образованием аутоантител к ДНК. Введение животным титаноцендихлоридов и ванадоцендихлоридов приводит к временному, но значительному увеличению уровня глюкокортикоидов в плазме крови [33, 35]. Известно, что некоторые кортикостероиды обнаруживают противоопухолевые эффекты и даже включаются в отдельные схемы химиотерапии.

Возможно, что металлоцены, попадая в тимус, стимулируют Т-лимфоциты и усиливают иммунный ответ [55]. Предполагают также, что взаимодействие металлоценов с перитонеальными макрофагами приводит к активации макрофагов и выбросу лимфокинов, оказывающих противоопухолевый эффект.

9. Ингибирование человеческой топоизомеразы II как механизм противоопухолевой активности металлоценов. Механизм активности ряда противоопухолевых лекарственных средств включает ингибирование или интоксикацию человеческой топоизомеразы II [2, 87, 88]. Наиболее общий класс лекарственных средств — это топоизомеразные яды, для которых характерно как ДНК, так и топоизомеразное связывание, позволяющее препарату стабилизировать распадающийся ДНК-топоизомеразный комплекс [88]. Класс топоизомеразы II-ингибиторов включает препараты, не связывающие ДНК, или ингибиторы реакции гидролиза АТФ, необходимой для функционирования фермента. По сравнению с другими комплексами металлов, ранее изучавшимися как ингибиторы топоизомеразы II, металлоцен-дигалогениды имеют специфическую структуру. В связи с этим образование стабильного ДНК-металлоцен-топоизомеразного комплекса для любого противоопухолевого металлоцена, согласно работе [89], считается маловероятным, и проводимые исследования преимущественно были нацелены на выявление и анализ ингибирования топоизомеразы II, а не на образование стабильного комплекса, характерного для топоизомеразных ядов.

Была протестирована способность ингибировать восстановление суперспирали ДНК человеческой топоизомеразой II при разных концентрациях следующими металлоценами:  $\text{Cr}_2\text{TiCl}_2$ ,  $\text{Cr}_2\text{VCl}_2$ ,  $\text{Cr}_2\text{MoCl}_2$ ,  $\text{Cr}_2\text{NbCl}_2$ ,  $(\text{MeCr})_2\text{TiCl}_2$  [89]. Металлоцены предварительно тестировали *in vivo* на АКЭ: первые четыре металлоцена давали оптимальный результат лечения порядка 100 %, метилзамещенный комплекс не проявлял никакого эффекта. Эти исследования *in vivo* подтвердили, что механизм противоопухолевого действия металлоцен-дигалогенидов включает ингибирование топоизомеразы II. Однако дихлориды ванадоцена

и ниобоцена ингибируют топоизомеразу II при более низких концентрациях, чем остальные металлоцены. Поскольку все соединения подвергаются быстрому гидролизу *in vitro* с образованием при пониженных pH соединений  $\text{Cr}_2\text{M}^{n+}$ , то предполагается [89], что с энзимом связывается такой агент, как  $\text{Cr}_2\text{M}^{n+}$ . Исследования показывают, что если такие соединения, как  $\text{Cr}_2\text{M}^{n+}$ , попадая внутрь раковой клетки, затем ингибируют топоизомеразу II, то, скорее всего, путем прямого взаимодействия с ферментом. Немаловажную роль, как предполагают, играет лиганд Cr, который как гидрофобный лиганд облегчает транспорт металла внутрь клетки и затем высвобождение активной формы [90], или обеспечивает транспорт в крови (аналогично трансферрину) [91, 92]. А поскольку ингибирование топоизомеразы II — АТФ-зависимый процесс, образование металлоцен—АТФ комплексов может также повлечь снижение активности ферментов.

10. Образование комплексов металлоценов с глутатионом. Глутатион — важный внутриклеточный трипептид, который необходим клетке для выполнения различных функций, например, взаимодействия с различными цитотоксическими электрофильными лекарственными средствами или с ДНК-разрушающими веществами, такими как пероксиды [93]. Благодаря присутствию определенного числа участков, которые могут связывать металл, глутатион образует комплексы с переходными металлами [94, 95]. Поэтому возможность образования комплексов глутатион—металл, в принципе, исследуется для любого потенциального химиотерапевтического средства на основе металлов с неустойчивыми лигандами. Например, была изучена роль аддуктов цисплатина—GSH в приобретении резистентности к цисплатину (см. гл. 1) [96—98]. Было также обнаружено, что при совместном приеме глутатиона и цисплатина существенно снижалась нефротоксичность препарата, а противоопухолевая активность оставалась на прежнем уровне [53].

С учетом этих фактов в работе [99] рассматривается возможность участия глутатиона в механизме действия металлоценов. Установлено образование комплексов  $\text{Cr}_2\text{MoCl}_2$  с глутатионом, в результате чего может происходить дезактивирование металлоцена (рис. 2.14).

11. Ингибирование регенерации тканей опухоли. Ангиогенез или регенерация тканей играет определяющую роль для прогрессивного, инвазивного, и метастатического роста злокачественных опухолей [53]. Ингибирование регенерации тканей опу-

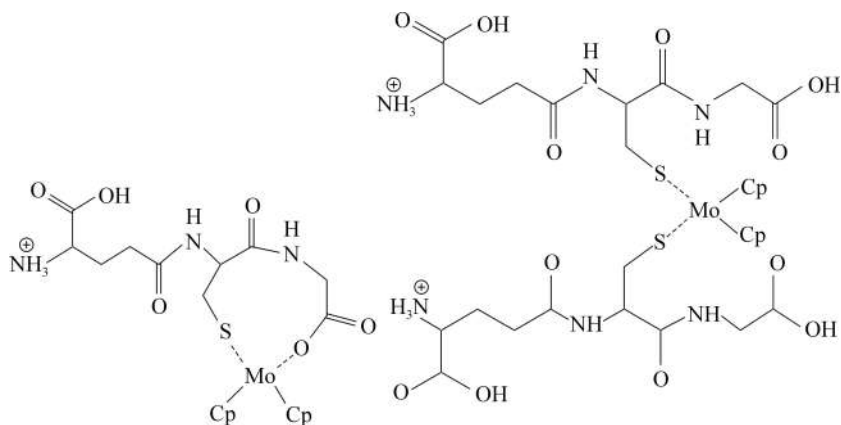


Рис. 2.14. Схема образования комплекса металлоцена с глутатионом [102]

холи может вызвать остановку роста опухоли или регрессию и препятствует системам метастаза. Поэтому идентификация мощных ингибиторов регенерации тканей как нового класса противоопухолевых средств — актуальная область современных исследований [8, 58]. Установлено, что среди металлоценов мощным ингибитором регенерации тканей является хелатный комплекс ванадоцена (IV),  $[\text{VCp}_2(\text{acac})](\text{CF}_3\text{SO}_3)$  [100]. Его ангиогенный эффект был исследован *in vitro* на стандарте “chorioallantoic membrane” (CAM) в пробирных анализах с использованием 4—6-дневных эмбрионов. В метилцеллюлозных дисках в дозах 1—100 мкг он быстро замедлял регенерацию тканей и произвел в пределах 1 часа большую бессосудистую зону в CAM вокруг метилцеллюлозного диска.

В настоящее время еще затруднительно среди приведенных выше возможных молекулярных механизмов, ответственных за противоопухолевый эффект, однозначно выделить наиболее вероятные. Очевидно одно: механизм противоопухолевого действия металлоценов очень сложен, по-видимому, включает большое количество различных агентов, которые участвуют в транспорте и доставке активных веществ в раковые клетки. Скорее всего, он обусловлен взаимодействиями металлоценов с ядерными кислотами и протеинами или другими агентами, которые присутствуют во внутриклеточной жидкости. Однако различная стабильность и специфика координационной химии каждого из

металлоценов, особенно в растворах [8, 73], по-видимому, обуславливает специфичность их механизмов действия. Например, выявлено значительное отличие противоопухолевого действия ниободендихлорида от механизмов титаноцен-, молибдоцен- и ванадоцендихлоридов [101]. В связи с этим было отмечено, что ДНК-связывание с  $\text{Cr}_2\text{MX}_2$  *in vitro*, не коррелирует с противоопухолевой активностью. Известно, что перспективные в противоопухолевом скрининге комплексы  $\text{Cr}_2\text{NbCl}(\text{OH})$  и  $\text{Cr}_2\text{NbCl}_2$  не взаимодействуют с нуклеотидами, а  $\text{Cr}_2\text{VCl}_2$ , являющийся наиболее активным из металлоценов *in vitro*, образует лишь весьма слабые комплексы с нуклеотидами [102—104]. И хотя были зафиксированы аддукты проявляющих противоопухолевый эффект  $\text{Cr}_2\text{TiCl}_2$  и  $\text{Cr}_2\text{MoCl}_2$ , ДНК-аддукты обнаружены и для  $\text{Cr}_2\text{ZrCl}_2$ ,  $\text{Cr}_2\text{HfCl}_2$ , которые не обладают противоопухолевой активностью [102—104].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Комплексы металлоценов — это металлоорганические комплексы, в которых два (циклопентадиен)-компонента находятся в смещенной конформации относительно центрального атома металла. В отличие от цисплатина, который образует ковалентные связи с ДНК и потенциально мутагенен, металлоцены ингибируют синтез ДНК и имеют антимитотическую активность. Проведенный выше анализ возможных молекулярных механизмов, ответственных за противоопухолевый эффект, пока порождает больше вопросов, чем ответов. Это объясняется, с одной стороны, все еще недостаточной изученностью проблемы, а с другой — сложностью объектов, которые, попадая в организм, могут вовлекаться в сложные метаболические превращения и подключать различные системы и механизмы. Тем не менее достаточно уверенно можно полагать, что рассмотренный в этом разделе класс соединений обнаруживает своеобразную противоопухолевую активность, которая выделяет его среди известных химиотерапевтических агентов.

В настоящее время пока еще трудно определенно утверждать, что исследования в области химии и фармакологии металлоценов приведут к успеху и принципиальным качественным изменениям химиотерапии злокачественных опухолей. Однако несомненно, что исследования в этой области перспективны. Об

этом свидетельствует сравнительно высокая активность полученных соединений, широта их химиотерапевтического спектра, а также обнаружение ряда закономерностей между строением и противоопухолевой активностью металлоценов. Можно полагать, что наступил период, когда становится реальным осуществление направленного синтеза наиболее активных противоопухолевых соединений и проведение их клинических испытаний.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Машковский М. Д. Лекарственные препараты. Т. 2. Вильнюс: Беларусь, 1993.
2. Харкевич Д. А. Фармакология. М., 1999.
3. Köpf-Maier P., Köpf H. // Chem. Rev. 1987. Vol. 87. P. 1137—1149.
4. Haiduc J., Silvestru C. // Coord. Chem. Rev. 1990. Vol. 99. P. 253—272.
5. Dombrowski K., Baldwin W., Sheats J. E. // J. Organomet. Chem. 1986. Vol. 302. P. 281—290.
6. Бабин В. Н., Раевский П. М., Щитков К. Г. // Рос. хим. журн. 1995. Т. 39. №2. С. 19—29.
7. Кукушкин Ю. Н. Химия координационных соединений. М.: Высш. шк., 1985.
8. Metallotherapeutic Drugs and Metal-Based Diagnostic Agents. The Use of Metals in Medicine / Eds. M. Gielen, E. R. T. Tiekink. Weinheim: Wiley-VCH, 2005.
9. Rosenberg B., Van Camp L., Trosko J. L., Mansour V. H. // Nature. 1969. Vol. 222. P. 385—388.
10. Organometallics in Cancer Chemotherapy / Eds. I. Haiduc, C. Silvestru. Vol. II. Boston: CRS Press, 1989.
11. Metal Complexes in Cancer Chemotherapy / Ed. B. K. Keppler. Weinheim: Wiley-VCH, 1993.
12. Popp F. D., Roth S., Kirby J. // J. Med. Chem. 1963. Vol. 6. P. 83—89.
13. Popp F. D. // J. Pharm. Sci. 1973. Vol. 62. P. 679.
14. Яценко Г. Н., Шашмурина А. А., Аношина Г. М. // Хим.-фарм. журн. 1978. Т. 12. № 10. С. 68—70.
15. Бабин В. Н., Раевский П. М., Дубинин А. В. и др. // В кн.: Модели. Алгоритмы. Принятие решений. Модель химического канцерогенеза. М.: Наука, 1979. С. 153.
16. Köpf-Maier P. // Angew. Chem. 1979. Bd. 91. S. 509—515.
17. Köpf-Maier P., Köpf H. // Z. Naturforsch. 1979. Bd. 34c. S. 805—812.
18. Köpf-Maier P., Leitner M., Voigtlander R., Köpf H. // Z. Naturforsch. 1979. Bd. 34c. S. 1174—1183.
19. Köpf-Maier P., Leitner M., Köpf H. // J. Inorg. Nucl. Chem. 1980. Vol. 42. P. 1789—1795.
20. Köpf-Maier P., Hesse B., Köpf H. // J. Cancer. Res. Clin. Oncol. 1980. Vol. 96. P. 43—48.

21. Köpf-Maier P., Hesse B., Köpf H. // J. Cancer. Res. Clin. Oncol. 1981. Vol. 97. P. 31—35.
22. Köpf-Maier P., Köpf H. // Naturwiss. 1980. Bd. 67. S. 273—277.
23. Köpf-Maier P., Wagner W., Köpf H. // Cancer Chemother. Pharmacol. 1981. Vol. 5. P. 237—243.
24. Köpf-Maier P., Priess F., Marx T. et al. // Anticancer Res. 1986. Vol. 6. P. 33—37.
25. Köpf-Maier P., Moorman A., Köpf H. // Eur. J. Cancer. Oncol. 1985. Vol. 21. P. 853—857.
26. Köpf-Maier P., Wagner W., Hesse B., Köpf H. // Eur. J. Cancer. 1981. Vol. 17. P. 665—670.
27. Köpf-Maier P. J. // Cancer. Res. Clin. Oncol. 1982. Vol. 103. P. 145—150.
28. Köpf-Maier P., Kafil W., Klouras N. et al. // Eur. J. Med. Chem. Chim. Ther. 1981. Vol. 16. P. 275—281.
29. Köpf-Maier P., Grabowski S., Köpf H. // Eur. J. Med. Chem. Chim. Ther. 1984. Vol. 19. P. 347—352.
30. Köpf-Maier P., Funke-Kaiser P., Greift D. // Verh. Anat. Ges. 1984. Bd. 78. S. 603—609.
31. Platinum and Other Metal Coordination Compounds in Cancer Chemotherapy / Ed. S. B. Howell. New York: Plenum Press, 1991.
32. Köpf-Maier P., Erkenswick P. // Toxicology. 1984. Vol. 33. P. 171—176.
33. Köpf-Maier P. // Toxicology. 1985. Vol. 37. P. 111—117.
34. Köpf-Maier P., Köpf H. // Anticancer Res. 1986. Vol. 6. P. 227—234.
35. Köpf-Maier P., Gerlach S. // J. Cancer. Res. Clin. Oncol. 1986. Vol. 111. P. 243—249.
36. Köpf-Maier P., Köpf H., Neuse E. W. // Angew. Chem. 1984. Bd. 96. S. 446—452.
37. Köpf-Maier P., Köpf H., Neuse E. W. // Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 1984. Vol. 23. P. 456—461.
38. Köpf-Maier P., Köpf H., Neuse E. W. // J. Cancer Res. Clin. Oncol. 1984. Vol. 108. P. 330—335.
39. Köpf-Maier P., Köpf H., Neuse E. W. // Ger. Offen. DE. 1985. № 3403443.
40. Köpf-Maier P., Köpf H., Neuse E. W. // US Patent. 1989. № 4851430.
41. Wenzel M., Wu J., Liss E., Neuse E. W. // Z. Naturforsch. 1988. Bd. 43c. S. 963—967.
42. Neuse E. W., Kanzawa F. // Appl. Organomet. Chem. 1990. Vol. 4. P. 19—26.
43. Houlton A., Roberts R. M. G., Silver J. // J. Organomet. Chem. 1991. Vol. 418. P. 107—116.
44. Попова Л. В., Бабин В. Н., Щитков К. Г. // Патент РФ. 1994. № 2025125.
45. Морозова Н. Б., Попова Л. В., Ильина А. И. // В кн.: Химиотерапия в лечении онкологических больных. М.: Медицина, 1993. С. 91—92.
46. Popova L. V., Babin V. N., Belousov Yu. A. // Appl. Organomet. Chem. 1993. Vol. 7. P. 85—91.
47. Кочеткова Н. С., Боев В. И., Попова Л. В., Бабин В. Н. // Изв. АН СССР. Сер. Хим. 1985. № 6. С. 1397—1402.
48. Кочеткова Н. С., Боев В. И., Бабин В. Н. // А. с. СССР № 1320212, 1985.



49. *Popova L. V., Babin V. V., Materikova R. V.* // Proc. V IUPAC Symp. Organomet. Chem. Florence, 1989. P. 28—29.
50. *Щитков К. Г., Попова Л. В., Морозова Н. Б.* // В кн.: Химиотерапия в лечении онкологических больных. М.: Медицина, 1993. С. 95—97.
51. *Dratz A. F., Coberly J. C., Goldstein J. H.* // J. Nucl. Med. 1964. Vol. 5. P. 40—46.
52. *Goldberg L., Martin L. E.* // Life Sci. 1964. Vol. 3. P. 1465—1467.
53. Platinum and Other Metal Coordination Compounds in Cancer Chemotherapy 2 / Eds. H. M. Pinedo, J. H. Schornagel. New York: Plenum Press, 1996.
54. *Hanzlik R. P., Soine W. H.* // J. Am. Chem. Soc. 1978. Vol. 100. P. 1290—1291.
55. *Wenzel M., Herken Я., Klose W.* // Z. Naturforsch. 1977. Bd. 32c. S. 473—476.
56. *Köpf-Maier P., Funke-Kaiser P.* // Toxicology. 1986. Vol. 38. P. 81—85.
57. *Köpf-Maier P., Gerlach S.* // Anticancer Res. 1986. Vol. 6. P. 235—238.
58. Use of Inorganic Chemistry in Medicine / Ed. N. P. Farrell. Cambridge: RSC, 1999.
59. *Johnson L. V., Walsh M. L., Chen L. B.* // Proc. Nat. Acad. Sci. 1980. Vol. 77. P. 990—992.
60. *Summerhayes J. C., Wong L., Chen L. B.* // J. Cell. Sci. 1983. Vol. 61. P. 87—92.
61. *Chen L. B., Weiss M. J., Davis S.* // Cancer Cells. 1985. Vol. 3. P. 433—437.
62. *Borgesson C. E.* // Lipids. 1989. Vol. 24. P. 290—296.
63. *Кудрявцев И. П.* // Бюлл. эксп. биол. мед. 1988. № 4. С. 471—476.
64. *Köpf-Maier P., Köpf H.* // Naturwiss. 1980. Bd. 68. S. 415—419.
65. *Köpf-Maier P., Wagner W., Köpf H.* // Naturwiss. 1981. Bd. 68. S. 275—280.
66. *Снегур Л. В.* Автореферат канд. дисс. М.: ИХЭОС РАН, 1993.
67. *Боев В. И.* Автореферат докт. дисс. СПб.: ЛТИ, 1993.
68. *Белюсова А. К.* // В кн.: Химиотерапия злокачественных опухолей. М.: Медицина, 1977. С. 76—82.
69. *Уайт А., Хендер Ф., Смит З.* Основы биохимии. Т. 3. М.: Медицина, 1981.
70. *Ban P., Gellert R. W., Lehovec S. M., Louie S.* // J. Clin. Hemat. Oncol. 1977. Vol. 7. P. 51—58.
71. *Köpf-Maier P., Köpf H.* // Dev. Oncol. 1984. Vol. 17. P. 279—283.
72. *Gill J., Mann L. T.* // J. Immunol. 1966. Vol. 96. P. 902—909.
73. *Roat-Malone R. M.* Bioinorganic Chemistry. New York: John Wiley & Sons Inc., 2002.
74. *Fonatsch C., Schaadt M., Diehl V.* // Hum. Genetics. 1979. Vol. 52. P. 107—114.
75. *Хесин Р. Б.* Непостоянство генома. М.: Наука, 1985.
76. *Latt S. A., Allen Y., Bloom S. E.* // Mutat. Res. 1981. Vol. 87. P. 17—22.
77. *Виленчик М. М.* // Усп. соврем. биол. 1973. Т. 75. С. 388—394.
78. *Виленчик М. М.* Закономерности молекулярно-генетического действия химических канцерогенов. М., Наука, 1977.



79. *Takebe H.* // *Radial. Res.* 1974. Vol. 59. P. 177—184.
80. *Morse L., Pauling C.* // *Proc. Nat. Acad. Sci.* 1975. Vol. 72. P. 4645—4650.
81. *Belokhvostov A. S., Zelenkova N. K.* // *Cancer Lett.* 1978. Vol. 5. P. 351—357.
82. *Ambrus C. M., Bardos T. J., Fiel R. J.* // *Progr. Chemother.* 1974. Vol. 3. P. 145—151.
83. *Картнер Х.* // *В мире науки.* 1989. № 5. С. 14—20.
84. *Снегур Л. В., Некрасов Ю. С., Глуменюк В. В.* // *Рос. хим. журн.* 1998. Т. 37. № 5. С. 178—183.
85. *Эмануэль Н. М.* *Кинетика экспериментальных опухолевых процессов.* М.: Наука, 1977.
86. *Wang J. C. Annu.* // *Rev. Biochem.* 1996. Vol. 65. P. 635—692.
87. *Gatto B., Capranico G., Palumbo M.* // *Curr. Pharm. Design.* 1999. Vol. 5. P. 195—215.
88. *Mokdsi G., Harding M. M.* // *J. Inorg. Bioch.* 2001. Vol. 83. P. 205—209.
89. *Köpf-Maier P., Köpf H.* // *Drugs of the Future.* 1986. Vol. 11. P. 297—320.
90. *Guo M., Sun H., Sadler P. J.* // *J. Inorg. Biochem.* 1999. Vol. 74. P. 150—157.
91. *Guo M., Sadler P. J.* // *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* 2000. P. 7—9.
92. *Coleman C. L., Bump E. A., Kramer R. A.* // *J. Clin. Oncol.* 1988. Vol. 6. P. 709—716.
93. *Krezel A., Bal W.* // *Acta Biochim. Polon.* 1999. Vol. 46. P. 567—580.
94. *Cheng C.-C., Pai C.-H.* // *J. Inorg. Biochem.* 1998. Vol. 71. P. 109—113.
95. *Berners-Price S. J., Kuchel P. W.* // *J. Inorg. Biochem.* 1990. Vol. 38. P. 327—345.
96. *Berners-Price S. J., Kuchel P. W.* // *J. Inorg. Biochem.* 1990. Vol. 38. P. 305—326.
97. *Reedijk J.* // *Chem. Rev.* 1999. Vol. 99. P. 2499—2510.
98. *Mokdsi G., Harding M. M.* // *J. Inorg. Biochem.* 2001. Vol. 86. P. 611—616.
99. *Ghosh P., Ghosh S., Navara C.* // *J. Inorg. Biochem.* 2001. Vol. 84. P. 241—253.
100. *Harding M. M., Prodigalidad M., Lynch M. J.* // *J. Med. Chem.* 1996. Vol. 39. P. 5012—5016.
101. *Guo M., Guo Z., Sadler P. J.* // *J. Biol. Inorg. Chem.* 2001. Vol. 6. P. 698—707.
102. *Kopf-Maier P., Kopf H., Wagner W.* // *Naturwiss.* 1981. Bd. 68. S. 272—273.
103. *Harding M. M., Mokdsi G., Makay J. P. et al.* // *J. Inorg. Chem.* 1998. Vol. 37. P. 2432—2437.

## Глава 3

---

### МЕТАЛЛОКОМПЛЕКСЫ КАК ИНГИБИТОРЫ ФЕРМЕНТОВ В ХИМИОТЕРАПИИ

---

Ингибированию ферментов как основному принципу действия химиотерапевтических неорганических средств (в том числе и металлокомплексов) довольно продолжительное время, вплоть до 90-х гг. XX в., не уделялось должного внимания [1—3]. Отчасти это обусловлено тем, что общепринятым подходом к поиску новых лекарственных средств является фармакологический скрининг потенциальных претендентов, а вопрос о механизме действия будущего химиотерапевтического агента не рассматривается как имеющий первостепенное значение для его использования в медицинской практике. Для некоторых лекарственных средств механизм действия до сих пор не выяснен даже после долгих лет клинического использования [4].

В последние годы значительный прогресс в развитии молекулярной биологии позволил корректно определить принципы взаимодействия между белковыми структурами и терапевтическими агентами, что помогло объяснить механизмы их действия и аргументированно прогнозировать активные участки в структурах потенциальных лекарственных веществ, в том числе и металлокомплексов [1, 2, 5—7]. Точное выяснение природы взаимодействия лекарственных средств — ключ для контроля их специфичности и, таким образом, уменьшения нежелательных побочных эффектов.

В настоящее время уже существуют возможности привлечения детальной структурной информации для дизайна молекул, способных взаимодействовать со специфическими мише-

ниями, многие из которых являются ферментами. Субстратная специфичность ферментов дает возможность направленного дизайна лекарственных средств с определенными, заранее заданными свойствами. Более того, ферменты являются естественной мишенью для лекарственных веществ, особенно для неорганических, поскольку ионы металлов играют ключевую структурную роль в металлоферментах [8—10]. Для одной группы ферментов характерно наличие одного или нескольких прочно связанных ионов металлов, принимающих участие в каталитических процессах (собственно металлоферменты). Другая группа ферментов не содержит непосредственно связанных ионов металлов, но проявляет каталитическую активность только в их присутствии (металлозависимые или металлоактивируемые ферменты). В третьей группе ферментов металлы не являются обязательными участниками каталитической реакции, однако их присутствие в системе влияет на активность ферментов (металлонезависимые ферменты) [10]. Поэтому изменение состояния эндогенного металла, жизненно необходимого для функционирования определенного энзима, может привести к его дезактивации. Такие изменения происходят в основном из-за координации экзогенного лиганда к иону металлу, замещения или удаления последнего.

Механизм ингибирующего действия ионов металлов и их металлокомплексов на каталитическую активность ферментов установить достаточно трудно. Металл может конкурировать с субстратом за места связывания в активном центре. В то же время он может взаимодействовать с различными группами белковой молекулы, находящимися вне активного центра, но влияющими на каталитические функции фермента, т. е. связываться с аллостерическим центром с последующим изменением конформации и потерей сродства фермента к запрограммированному субстрату [3, 10].

Наиболее распространенным является предположение о том, что ингибирующее действие ионов переходных металлов на молекулу фермента обусловлено образованием сульфидов как с цистеином, входящим в состав ферментов, так и с продуктами распада [8, 9]. Если остаток цистеина входит в структуру активного центра фермента или ответственен за поддержание соответствующей конформации белковой молекулы, то модификация его тиольных групп инактивирует фермент. Кроме того, ионы

переходных металлов могут катализировать окисление тиольных остатков до дисульфидов [9, 10].

Нередко ингибирующее действие ионов металлов (и металлокомплексов) объясняют их способностью образовывать координационные связи [8—10]. Как известно, входящие в активные центры ферментов нуклеофильные остатки некоторых аминокислот склонны к образованию координационных связей с ионами переходных металлов. Различие в ингибирующей способности металлов объясняют разницей в ионном радиусе катионов.

Среди используемых в терапевтической практике ингибиторов ферментов, как правило, преобладают органические молекулы, несмотря на то что подобные агенты образуют с мишенями слабые водородные связи или участвуют в электростатических взаимодействиях. Это обстоятельство рассматривается как одна из причин многочисленных побочных эффектов из-за сравнительно малого времени нахождения агента у мишени и большой вероятности неспецифического взаимодействия со “случайными” эндогенными молекулами [11].

В данном разделе практически не рассматриваются примеры таких ингибиторов, которые, не имея в своем составе ионов металла, способны проявлять ингибирующую активность в основном за счет связывания с металлами, входящими в состав активных центров соответствующих ферментов. Хотя это весьма перспективный для медицинского применения класс ингибиторов, их подробное рассмотрение выходит за пределы содержания данной монографии. Приведем лишь несколько примеров из этого ряда терапевтически активных ингибиторов, чтобы еще раз перед тем, как излагать основной материал по данной проблеме, подчеркнуть важность координационных взаимодействий с участием ионов металлов в ингибировании ферментов лекарственными средствами [2, 3, 7]: тетрациклины ингибируют коллагеназы и другие металлопротеиназы, главным образом, связываясь с активными металлическими центрами этих ферментов; а фосфонаты и сульфаниламиды способны связывать ионы цинка (II) соответственно в динуклеарном активном центре фосфодиэстеразы и в моонуклеарном центре карбоангидразы.

Таким образом, с точки зрения фармакологии координирующая способность ионов металлов обеспечивает многообещающую возможность образования более стабильных биоккомплексов за счет ковалентных и ионных связей.

## КООРДИНАЦИОННЫЕ ИНГИБИТОРЫ ФЕРМЕНТОВ КАК ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ СРЕДСТВА

Одним из наиболее заметных достижений в медицинской химии считается обнаружение высокой эффективности комплексов платины (II), и прежде всего цисплатина, против тестикулярного рака [12, 13]. Эти события инициировали широкие исследования, направленные на поиск новых неорганических химиотерапевтических агентов, обладающих более выраженной специфичностью и малыми токсическими и побочными эффектами [1, 2, 5—7]. Механизм антинеопластического эффекта цисплатина и его производных был определен как прямое взаимодействие с ДНК, однако во многих сообщениях как возможное рассматривалось также взаимодействие комплексов платины (II) с некоторыми ферментами (РНК- и ДНК-полимеразами; аденилатциклазой (КФ4.6.1.1), моноаминоксидазой (КФ1.4.3.4), ферментами дыхательной цепи и др.) [14—21]. Преинкубация очищенных ферментов с комплексами платины (II) показала прямое взаимодействие между ними, причем в большинстве случаев происходило ингибирование активности фермента. Результаты дали основание предполагать, что ингибирование энзимов является причиной некоторых побочных эффектов таких препаратов, и лучшее понимание взаимодействий, не связанных с ДНК, необходимо для уменьшения губительных последствий химиотерапии [19—21].

Комплексы платины (II, IV) представляют собой пример соединений, у которых терапевтический эффект был обнаружен до выявления механизма действия. Альтернативным подходом в настоящее время является направленный дизайн лекарственных средств, то есть создание химиотерапевтического агента с планируемой мишенью для появления и развития фармакологического эффекта [11]. Ферменты являются специфическими мишенями, которые играют ключевую роль в раковом клеточном метаболизме: они могут быть уникальны или наиболее характерны для раковых клеток. К числу таких перспективных мишеней для направленного дизайна лекарственных средств в терапии раковых заболеваний принадлежит рибонуклеозиддифосфат-редуктаза (рибонуклеотид-редуктаза, КФ1.17.4.1) [3]. Рибонуклеотид-редуктаза представляет собой ключевой фермент, ответственный за стадию, лимитирующую скорость в синтезе ДНК: он

контролирует образование четырех дезоксирибонуклеотидных блоков [22]. Фермент состоит из двух димерных субъединиц (R1 и R2), которые кодируются двумя разными генами и образуются в несвязанных друг с другом процессах. Сам фермент находится под комплексной аллостерической регуляцией различных нуклеотидов. Субъединица R1 включает связывающие участки для субстратов и регуляторных эффекторов, а субъединица R2 имеет двухъядерный негемный центр, содержащий железо, и свободный тирозильный радикал, который необходим для энзиматической функции рибонуклеотид-редуктазы. Фермент контролирует баланс пулов дезоксирибонуклеотидов, и изменение в ферментной активности может вызвать спонтанный мутагенез в клетках [22, 23]. Повышенная активность рибонуклеотид-редуктазы может стать причиной различных заболеваний, в том числе и рака. Поэтому ингибирование этого фермента представляет собой, с точки зрения авторов работы [3], перспективную мишень в терапии онкологических заболеваний.

Для ингибирования рибонуклеотид-редуктазы довольно успешно использовался нитрат галлия (III) [24—26]. Галлий (III) имеет близкий ионный радиус с железом (III), в связи с чем можно предположить, что он способен конкурировать с железом в активном центре R2 субъединицы. Эффект ингибирования нитратом галлия (III) возрастает, когда ион металла доставляется в комплексе с необходимой для транспорта железа (III) молекулой, трансферрином. Исследования на клеточном уровне показывают, что применение трансферрин-галлиевого комплекса ( $\text{Tf-Ga}^{\text{III}}$ ) блокирует поглощение клеткой  $^{59}\text{Fe}$  и ингибирует пролиферацию [25]. Уменьшение рибонуклеотид-редуктазной активности можно зафиксировать по уменьшению сигнала в спектре ЭПР от тирозильного радикала в R2 субъединице фермента. Эффект ингибирования в настоящее время рассматривается как железо-зависимый обратимый процесс, однако это не означает, что полученные результаты полностью исключают иные железо-зависимые процессы, которые так же могут влиять на клеточную пролиферацию. Установлено, что комплексы галлия (III) с аденозиндифосфатом и цитидиндифосфатом полностью ингибируют взаимодействие фермента и субстрата [26]. Кроме того, показано, что галлий (III) синергистически взаимодействует с рядом рибонуклеотид-редуктазных ингибиторов при подавлении клеточной пролиферации и в то же время демонстрирует антагонизм в отношении других рибонуклеотид-редуктазных

ингибиторов [23]. Эти факты имеют большое значение при выборе препаратов комбинированной химиотерапии, однако механизм такого синергизма и антагонизма пока не выяснен.

Исследовано влияние ионов других металлов на активность в отношении рибонуклеотид-редуктазы. Выбор железа (III), меди (II) и цинка (II) был не случаен, поскольку они являются известными регуляторами железо-транспортного цикла, которые влияют на клеточный рост. Активность ионов этих металлов в отношении рибонуклеотид-редуктазы оценивалась на свежевыделенных нормальных и лейкемических лейкоцитах человека [22, 23]. Показано, что ионы цинка (II) ингибируют фермент в обоих видах клеток, тогда как ионы меди (II) и железа (III) являются его активаторами. Подобные результаты могут представлять интерес для регулирования активности рибонуклеотид-редуктазных ингибиторов примесями ионов металлов.

Рибонуклеотид-редуктазу способны ингибировать обладающие противораковой активностью металлокомплексы карботиоамидов [27—29] и тиосемикарбозонов [30]. Металлокомплексы  $\alpha$ -(N)-гетероциклических карбоксиальдегидтиосемикарбазонов значительно сильнее ингибируют клеточный рост, чем свободный лиганд [28]. Металлокомплексы 2,2'-дипиридил-6-карботиоамида структурно и функционально сходны с комплексами производных  $\alpha$ -(N)-гетероциклических карбоксиальдегидтиосемикарбазонов (рис. 3.1), однако не обладают столь отчетливым, как у последних, ингибирующим эффектом. Кроме того, у него обнаружен синергистический эффект при совместном использовании с таким ингибитором рибонуклеотид-редуктазы, как гидроксимочевина, что допускает возможность комбинированной терапии [3].

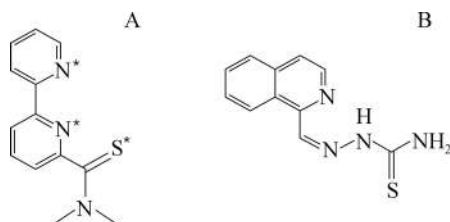


Рис. 3.1. Схематическое изображение структуры 2,2'-дипиридил-6-карботиоамида (А) и 1-формил-изохинолинтиосемикарбазона (В) (\* отмечены атомы, образующие координационные связи с металлом) [3]

Исследования железосодержащих и медьсодержащих комплексов 2,2'-дипиридил-6-карботиоамида показали, что этот лиганд имеет большее сродство к меди (II), причем его медьсодержащий комплекс демонстрирует большую противоопухолевую активность, чем свободный лиганд или железосодержащий комплекс.

Следует отметить, что исследования со свободным лигандом нельзя считать достаточно корректными, поскольку в растворе лиганд практически сразу же образует комплекс со свободным ионом металла. Антипролиферативный эффект медьсодержащих комплексов на клеточных линиях лейкемии крыс значительно больше при непродолжительных многократных контактах, чем у не связанного в комплекс лиганда. Обратный эффект, когда комплекс менее активен нежели свободный лиганд, наблюдается при продолжительном контакте.

Хотя механизмы действия металлокомплексов окончательно не установлены, но, скорее всего, они заметно различаются. Так, антипролиферативный эффект железосодержащих комплексов можно объяснить ингибированием рибонуклеотид-редуктазы и, как предполагается, повреждением R2 субъединицы. Что же касается медьсодержащего комплекса, то он реагирует не только с рибонуклеотид-редуктазой, но и с другими мишенями [29, 31].

Еще одной потенциальной энзиматической мишенью для противоопухолевых агентов являются ПК-С. Известно, что к семейству протеинкиназ принадлежат многие белки, кодируемые протоонкогенами [32]. Протеинкиназы подразделяются на группы как по механизму активации, так и по типу субстрата. ПК-С активируются диацилглицерином и ионами кальция и относятся к семейству серин/треонинкиназ. Девять представителей этого семейства были охарактеризованы в качестве непосредственных участников таких процессов в клетке, как преобразование сигнала, клеточный рост/дифференциация и гормональная секреция [33]. Известно, что ПК-С активируются в ответ на присутствие опухолевых промоторов для их окисления и последующей ферментной активности [34]. Таким образом, ингибирование ПК-С представляет несомненный интерес в качестве способа сдерживания опухолевого роста. Недавние исследования показали, что регуляторный домен ПК-С содержит два гомологических участка, состоящих из шести цистеинов и двух гистидинов, кроме того, в нем присутствуют не связанные между собой координационные центры — ионы цинка (II) [35].



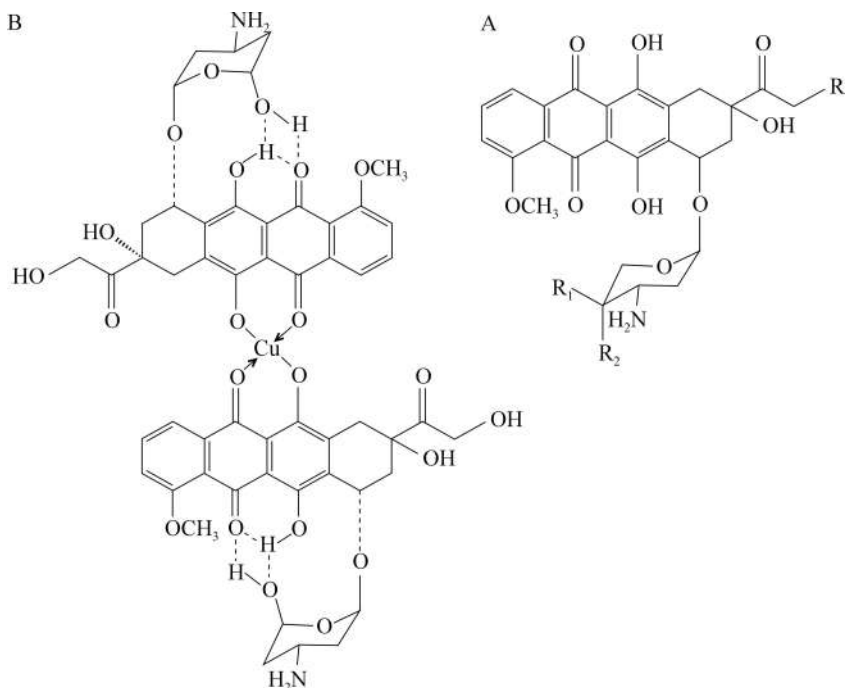


Рис. 3.2. Схема координационного взаимодействия антрациклинового производного (А) и ионов  $\text{Cu}^{2+}$  с образованием комплекса (В):

А — доксорубин, если  $\text{R}=\text{OH}$ ,  $\text{R}_1=\text{H}$ ,  $\text{R}_2=\text{OH}$ ;  
или эпидоксорубин, если  $\text{R}=\text{OH}$ ,  $\text{R}_1=\text{OH}$ ,  $\text{R}_2=\text{H}$  [3]

Противоопухолевые агенты, которые реагируют с ПК-С, содержат антрациклиновые фрагменты, способные координироваться к ионам переходных металлов (рис. 3.2). Исследования на очищенной ПК-С показали, что антрациклиновый комплекс с медью (II) более эффективен как ингибитор ПК-С, чем компоненты комплекса в отдельности, и что этот эффект, по результатам ЭПР исследования, достигается при непосредственном взаимодействии ионов меди (II) и ПК-С [33]. Производные антрациклинов оказывают различные воздействия и на топоизомеразу II [36], однако об аналогичных свойствах их металлокомплексов не сообщалось.

Ингибирующий эффект в отношении ПК-С проявляют некоторые селенсодержащие соединения, которые уже в настоящее время используются для профилактики онкологических заболе-

ваний [34, 37]. Предполагают, что селенсодержащие соединения с такой активностью инактивируют ПК-С посредством редокс-механизма, реагируя с цистеинами в реакционном домене фермента [34]. В некоторых исследованиях делается акцент на то, что селенсодержащие соединения инактивируют ПК-С, но не затрагивают другие две протеинкиназы, имеющие сходные реакционные домены: киназу фосфорилазы (КФ2.7.1.38) и протеинфосфатазу 2А (КФ3.1.3.16). Однако авторы не исключают возможности того, что другие ферменты, содержащие цистеиновые кластеры, могут подвергнуться воздействию таких соединений.

Соединения ванадия, более известные как инсулиномиметики (см. гл. 4), также проявляют противоопухолевую активность [38]. Эти соединения, особенно ванадаты (IV, V) и пероксованадаты, являются конкурирующими ингибиторами протеинтирозин-фосфатаз. Ванадаты, обратимо связывая тиольную группу энзиматического домена, реагируют с образованием переходного состояния и тем самым блокируют или существенно снижают вероятность протекания редокс-реакций, а пероксованадаты окисляют реакционный цистеиновый фрагмент в энзиматическом домене [39]. В серин/треонин-фосфатазах, ванадат способен связывать гидроксильные группы в активной части фермента, в то время как для пероксованадатов не характерно такое взаимодействие. Последние способны блокировать клеточные циклы на стадии G2–М перехода (G2=фаза роста 2, подготовительная фаза для митоза; М=митоз, фаза активного клеточного деления) благодаря ингибированию протеинтирозин-фосфатазы, активность которой необходима для перехода к митозу [39, 40]. Подобная блокировка относится к цитотоксическому эффекту. Здесь уместно отметить, что активность серин/треонин-фосфатаз также подавляется в присутствии ионов некоторых переходных металлов, таких как цинк (II), ртуть(II), медь (II), скандий (III) и др. [41].

Ранее (см. гл. 2) были приведены данные об ингибировании таких ферментов, как ПК-С и топоизомераза II металлоценами. Они лишь подтверждают, что ДНК не является единственной мишенью в химиотерапии онкологических заболеваний, и, значит, расширяют область поиска новых эффективных антипролиферативных средств.

Таким образом, дизайн эффективного агента против рака представляет собой очень сложную задачу, в решении которой, безусловно, должны учитываться не только ингибирующие свой-

ства лекарственного вещества, но и его транспорт и доставка к мишени, биодоступность и время действия *in vivo*. Существенным преимуществом металлокомплексов перед некоторыми индивидуальными препаратами-ингибиторами ферментов является образование сильных ковалентных связей с энзимом-мишенью, что демонстрирует их своеобразие и перспективность для создания новых специфичных агентов для клинического использования.

## КООРДИНАЦИОННЫЕ ИНГИБИТОРЫ ФЕРМЕНТОВ В ТЕРАПИИ ГЕМ-ЗАВИСИМЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Гипербилирубинемия является гем-зависимым заболеванием и возникает из-за излишнего накопления билирубина в крови и тканях ( $> 10$  мг/л) [42]. Билирубин образуется как продукт катаболизма гема при его деградации гем-оксигеназой (КФ1.14.99.3) до биливердина, который затем восстанавливается биливердинредуктазой (КФ1.3.1.24) до билирубина [43]. Билирубин в печени дважды конъюгируется с активированной глюкуроновой кислотой при участии фермента глюкуронозилтрансферазы, в результате чего значительно повышается его растворимость в воде. Образовавшееся водорастворимое соединение впоследствии экскретируется. Причинами патологического накопления билирубина могут быть излишнее разрушение гема и недостаточная активность трансферазы. Гипербилирубинемия сопутствует таким заболеваниям (часто генетической природы), когда активность глюкуронозилтрансферазы в печени крайне низка или практически отсутствует (синдром Криглера, талассемия и некоторые виды анемии) [44]. С целью подавления гипербилирубинемии исследовалась возможность ингибирования распада гема на гем-оксигеназной стадии [45, 46].

Способность металлопорфиринов ингибировать гем-оксигеназу известна уже давно. Среди ингибиторов этого фермента первые позиции занимают цинк (II)- и олово (IV)-порфирины, которые успешно применяются в клинической практике для подавления избыточной выработки билирубина (рис. 3.3). Так, лечение желтухи новорожденных успешно осуществляется дихлоро(протопорфирин IX)оловом (IV). Причиной заболевания является очень медленное обезвреживание печенью новорожденных

билирубина, а гем-производное соединение олова (IV) может быстро уменьшить количество билирубина в кровяном русле, так как является эффективным ингибитором активности фермента гем-оксигеназы в печени, селезенке, почках и коже [45, 46].

Установлено, что протопорфирин олова (IV) является эффективным ингибитором адреностероидогенеза, тогда как протопорфирин цинка (II) не обладает такой активностью [47, 48]. Синтез стероидов осуществляется при участии ряда гемопротеинов, в том числе цитохромов P-450. Концентрация цитохромов связана с изменениями в системах синтеза и разрушения гема. В тестах с использованием тканей крыс было обнаружено, что протопорфирин олова (IV) значительно уменьшает активность ферментов в биосинтезе стероидов, в частности митохондриальной  $11\beta$ -гидроксилазы и микросомальной  $21\alpha$ -гидроксилазы, а также снижает активность микросомального цитохрома P-450 и значительно уменьшает содержание неиндуцируемой гем-оксигеназы. Предполагается [47, 48], что протопорфирин олова (IV) более склонен к разрушению неиндуцируемой гем-оксигеназы, нежели к ее ингибированию. Что касается протопорфирина цинка (II), то он ингибирует активность гем-оксигеназы, не затрагивая активность ферментов в биосинтезе стероидов.

У многих порфиринов была обнаружена способность ингибировать кишечную гем-оксигеназу и уменьшать всасывание железа (III) из кишечника с последующей его экскрецией, что может быть использовано для лечения интоксикаций при передозировке железосодержащих препаратов. Наилучшие результаты при оральном способе употребления демонстрируют метапорфирины олова (IV) и хрома (III) и протопорфирин олова (IV) [49—51].

Для эффективного использования металлопорфиринов в клинической практике, по-видимому, необходим еще более продолжительный исследовательский процесс, нежели для рассмотренных выше противоопухолевых агентов. В отношении такой

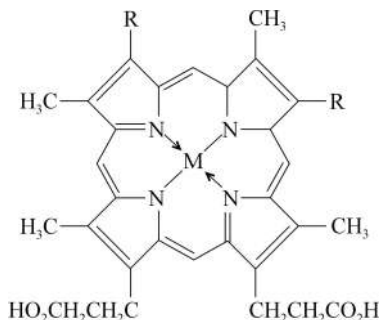


Рис. 3.3. Схематическое изображение структуры различных порфиринов: протопорфирина (R=винил), мезопорфирина (R=этил), дейтеропорфирина (R=2,4-бисгликоль) [3]

мишени, как гем-оксигеназа, некоторые клинические успехи порфиринов обнадеживают. Однако главная мишень является частью взаимосвязанного комплекса ферментов, вовлеченных в разнообразные процессы и часто имеющих схожее строение (как в случае с биосинтезом стероидов), что существенно осложняет задачу создания препаратов на основе металлопорфиринов со специфической активностью из-за необходимости оценки степени влияния побочных процессов и поиска оптимальных структур веществ и их комбинаций.

## **КООРДИНАЦИОННЫЕ ИНГИБИТОРЫ ФЕРМЕНТОВ В ТЕРАПИИ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА**

Ревматоидный артрит — одно из наиболее распространенных хронических воспалительных заболеваний. Хронический воспалительный процесс увеличивает риск развития сопутствующих заболеваний (инфарктов, инсультов, инфекций) [4]. Его причины остаются пока неизвестными. Полагают, что на долю генетического фактора приходится не более 30—40 %, а 60—70 % составляют факторы внешней среды. Базисными средствами, тормозящими прогрессирование болезни являются соединения золота (I), основными среди которых являются тиолаты золота (I). Применение этих соединений известно как “хризотерапия” [2, 7, 9, 10].

Соединения золота (I), миокризин, солганол, ауранофин и др. (рис. 3.4) стали использовать для лечения ревматоидного артрита задолго до того, как стали предпринимать попытки разобраться в механизме их действия. В организм человека солганол и миокризин вводятся внутривенно, а ауранофин в виде таблеток (курсовая доза для человека составляет 1—50 мг в неделю) [4]. Показано, что препараты золота (I) эффективны в той же степени, что и другие известные средства для лечения артритов, однако при их применении часто возникает токсическое побочное действие и, кроме того, отчетливо наблюдается тенденция постепенного накапливания золота (I) в организме [2, 7]. В литературе имеются некоторые противоречия по поводу активности тиомалата золота (I), но тем не менее контрольные испытания показали, что это соединение подавляет развитие как первичных, так и вторичных повреждений при экспериментальных артритах у

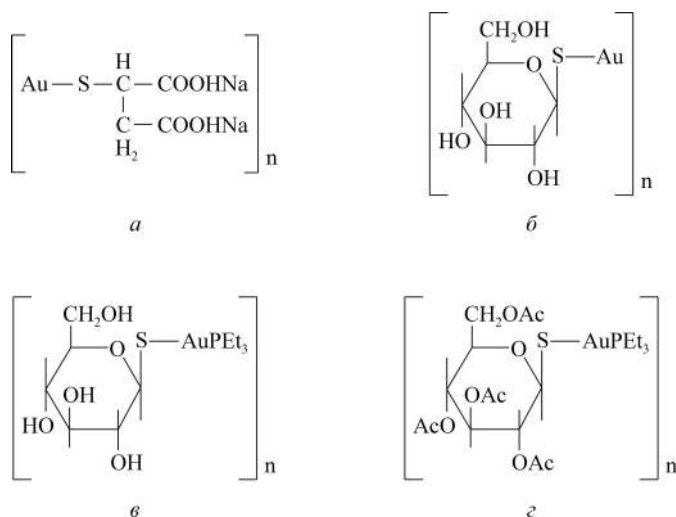


Рис. 3.4. Схематическое изображение структуры соединений золота (I):  
*a* — ауротиомалат натрия (миокризин); *б* — ауротиоглюкоза (солганол);  
*в, г* — триэтилфосфиновые производные золота (I) (*г* — ауранофин)

крыс, хотя и оказывает очень слабый эффект при лечении уже развившихся артритов [2].

Основной недостаток современных препаратов для хризотерапии состоит в необходимости их парентерального введения в дозах порядка 50 мг в неделю и в относительной трудности контроля токсического эффекта, который может продолжаться в течение значительного времени после окончания хризотерапии. В этом отношении препараты, предназначенные для перорального приема, имеют определенное преимущество. К таким препаратам относятся триалкилфосфиновые комплексы золота (I), при применении которых подавляется развитие экспериментальных артритов у крыс и достигается высокий уровень золота в сыворотке [2, 5, 7]. Ауранофин — второе поколение средств против артритов; он подвергается многочисленным клиническим оценкам, и полученные к настоящему моменту результаты свидетельствуют, что по сравнению с миокризином и солганолом он обладает улучшенным балансом между терапевтическим и токсическим эффектами.

Установлено, что эффективность препаратов зависит главным образом от природы координированных фосфинсодержа-

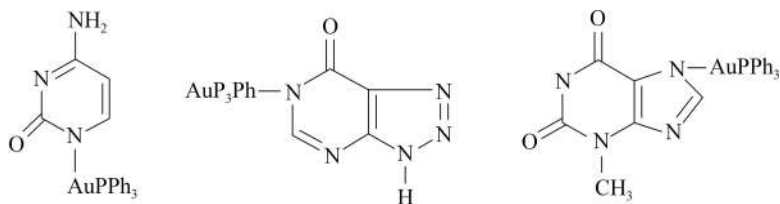


Рис. 3.5. Схематическое изображение структуры фосфиновых комплексов золота (I) с азотсодержащими гетероциклами [2]

щих лигандов, причем максимальная эффективность наблюдается для триэтилфосфиновых производных. Природа же анионной группы значительно меньше влияет на эффективность препарата. Роль третичного фосфина, как полагают, сводится к увеличению растворимости препарата золота (I) и таким образом к облегчению его всасывания и распределения в организме [2, 7]. В частности, при применении фосфиновых комплексов регистрируемая концентрация золота (I) в почках и соответствующее побочное действие препаратов значительно меньше.

Перспективными противодартритными агентами считаются фосфиновые комплексы золота (I) с азотсодержащими гетероциклами (рис. 3.5).

Достоверно неизвестно, чем обусловлена эффективность этих соединений в терапии артритов. Установлено, что они оказывают противовоспалительное действие, но одно это не может объяснить их эффективность. Препараты золота (I) рассматриваются как химиотерапевтические агенты, которые тормозят, а иногда становятся причиной ремиссии болезненного состояния. Дополнительными благоприятными эффектами, которые могут обуславливать высокую эффективность этих препаратов являются антимикробная активность, снижение гуморального иммунитета, воздействие на лимфоциты, моноциты, нейтрофилы (особенно ингибирование размножения Т-клеток), а также ингибирование ферментов. В многочисленных экспериментах было продемонстрировано ингибирование соединениями золота (I) лизосомальных ферментов в клетках фагоцитов, ответственных за причины воспаления суставов [52, 53], а в последнее время — ингибирование ПЖ-С (что может объяснить характерный для них иммуносупрессорный эффект) [54, 55], а также инактивация эластазы и других ферментов гранулоцитов (токсическое действие). Отмечено влияние препаратов золота (I) на структуру сустава за счет стабилизации коллагена путем сшивания (образо-

вания поперечных связей). Некоторые механизмы могут действовать параллельно, и ни один из них нельзя рассматривать как оказывающий первостепенное фармакологическое действие [2, 5, 7].

Стремление уменьшить побочное действие этих препаратов, инициировало поиск новых эффективных средств для лечения артритов. Известна высокая эффективность комплексов меди (II) как противовоспалительных агентов, в том числе и с нестероидными противовоспалительными лекарственными средствами [56]. Согласно [56—59], комплексы меди (II) взаимодействуют с рядом ферментов, участвующих в развитии воспалительного процесса, а сама медь (II) может играть определенную роль в патогенезе болезни: содержание меди (II) в сыворотке и плазме крови при острых ревматоидных артритах выше нормального [56, 60]. Повышение концентрации меди (II) в крови при различных заболеваниях коррелирует с изменением концентрации медьсодержащего фермента — церулоплазмينا [61]. Повышение его концентрации в крови рассматривается как компенсаторная реакция организма при патологии, направленная на катализируемое церулоплазмином разрушение субстратов — медиаторов заболевания [62]. У больных ревматоидным артритом содержание других форм меди, не связанных с церулоплазмином, практически не меняется. Установлено также, что медь (II) ингибирует глутатион-S-трансферазу, и его пониженная активность является характерным симптомом хронического артрита.

Церулоплазмин ингибирует индуцированную аскорбиновой кислотой деполимеризацию гиалуроновой кислоты (активного агента синовиальной жидкости), в норме находящейся в ней в полимеризованной форме [63], а при патологиях (в частности при ревматоидных артритах) — в деполимеризованной [64]. Удаление и последующее встраивание меди (II) в ходе реакции



сопровождается обратимым исчезновением и появлением ферментативной активности. Образованию апо-формы способствуют различные хелатирующие агенты, в том числе и лекарственные средства. Низкомолекулярные комплексы меди (II), полученные из меди (I, II) ферментов и лекарственных веществ-лигандов, могут обладать и самостоятельным терапевтическим действием [7, 60]. Они предпочтительнее высокомолекулярных медьсодержащих соединений, поскольку способны проникать через биологи-



ческие мембраны к пораженному участку и оказывать лечебное действие.

При различных формах артритов в разрушение хрящей вовлекаются металлопротеиназы, сериновые протеиназы, цистеиновые протеиназы, которые связаны с природными ингибиторами [3]. В последнее время большое внимание уделяется так называемой калпаин-калпастатиновой системе, после выяснения, что калпастатин (ингибитор калпаина) является аутоантигеном у более 50 % пациентов с ревматоидным артритом, а повышенное содержание калпаина — одним из характерных признаков артрита [65]. Калпаин представляет собой  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимую цистеиновую протеиназу, существующую в двух изоформах: калпаин I, который требует низкой концентрации кальция для активации, и калпаин II, который требует более высокой концентрации кальция. Обе изоформы чувствительны к ионам алюминия, однако последние действуют на изоформы по-разному. В присутствии миллимолярного количества ионов кальция ингибирующая способность ионов алюминия в отношении калпаин II зависит от концентрации, тогда как калпаин I ингибируется только в концентрационном промежутке 0,1—0,5 ммоль  $\text{Al}^{3+}$ . В отсутствие ионов кальция  $\text{Al}^{3+}$  активирует калпаин II, который в противном случае инертен.

В заключение еще раз отметим, что ревматоидный артрит является характерным примером заболеваний, в терапии которых широко применяются средства, в том числе и металлокомплексы с неизвестным механизмом действия. В настоящее время роль протеолитических ферментов в прогрессировании болезни становится все определеннее, выявляются новые мишени для терапии, которые, безусловно, должны повлечь за собой возникновение новых химиотерапевтических агентов на основе металлокомплексов.

## **КООРДИНАЦИОННЫЕ ИНГИБИТОРЫ ФЕРМЕНТОВ В ТЕРАПИИ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ**

Различные вирусы являются возбудителями таких заболеваний, как грипп, герпес, гепатиты, корь, энцефалит, синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД). С 70-х гг. XX в. начался и в настоящее время продолжается пересмотр уже сложив-

шегося традиционного отношения к вирусам только как к инфицирующим агентам. Доказана их роль в этиологии и патогенезе ряда аутоиммунных, аллергических и онкологических заболеваний [66]. Антивирусные препараты в клинике инфекционных заболеваний преследуют три основные задачи: подавление возбудителя, стимуляцию защитных сил организма, коррекцию возникающих в процессе болезни функциональных нарушений. Строго говоря, к антивирусным относятся лишь препараты первого типа — действующие на вирус, т. е. обладающие этиотропным эффектом. Отсюда основной принцип химиотерапии вирусных инфекций — это избирательное подавление отдельных звеньев репродукции вируса без существенного нарушения жизнедеятельности макроорганизма. Решение этой проблемы осложняется тем, что вирус способен к воспроизводству лишь в клетках более высокоорганизованных хозяев, причем большинство процессов при размножении вируса в клетке идут по обычным клеточным механизмам и лишь немногие из них — вирус-специфичные. Сложность борьбы с вирусными инфекциями заключается в многообразии, изменчивости вирусов, уникальности организации, хранения, передачи их генетической информации [66].

Научно обоснованные подходы к разработке антивирусных препаратов по времени совпали с выяснением закономерностей репродукции вирусов на клеточном уровне. Однако многолетний скрининг сотен тысяч химических соединений показал, что антивирусными свойствами обладают лишь немногие из них. Так, металлокомплексы могут действовать на вирус разными путями [67]: инактивировать, заняв на его поверхности активные центры; проникать через клеточную мембрану; препятствовать размножению вируса в клетке; разрушать вирус вне клетки. Известно также, что многие металлокомплексы являются факторами активации макрофагов и индукторами интерферона, чем может быть опосредовано противовирусное действие.

Среди наиболее опасных вирусных инфекций вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) является проблемой, над решением которой работают многие ученые в мире, и трагедией человечества вот уже 22 года. Первые больные, пораженные вирусом, были зарегистрированы в 1981 г., а сам вирус выделен в 1983 г. К настоящему времени количество переносчиков ВИЧ выросло до 34,3 млн. ВИЧ поражает Т-лимфоциты и таким образом угнетает иммунитет. При поражении иммунной системы организм чело-

века утрачивает способность бороться с какими бы то ни было инфекциями. Любое заболевание в данном случае может привести к летальному исходу и такое состояние характеризуется как СПИД [66].

В настоящее время описываются вирусы иммунодефицита человека различных типов. Наиболее известными среди них являются ВИЧ-1, распространенный по всему миру, и ВИЧ-2, распространенный преимущественно в западной Африке [67]. Появление различных типов вируса связано с быстрой репликацией и склонностью к мутированию. Возникновение различных штаммов является также проблемой для создания эффективных средств против вируса. Так, многие селективные препараты достаточно быстро вызывают появление мутаций в геноме вируса и изменение в его белковой структуре именно в тех участках, на которые действуют агенты. Таким образом, развивается устойчивость практически ко всем ингибиторам репликативного цикла ВИЧ.

Основные направления химиотерапии ВИЧ связаны с повышением иммунитета больных и ингибированием репликативного цикла ВИЧ на всех стадиях его жизнедеятельности, начиная от адсорбции, проникновения и раскрытия вируса и заканчивая регуляторными процессами — через ингибирование ферментативного аппарата вируса. Известно, что вирусы используют для обеспечения своих жизненных циклов несколько ферментов, которые представляют собой актуальные мишени для разработки антивирусных препаратов [67].

Чтобы отметить успехи, которых добились ученые в борьбе с вирусом иммунодефицита человека, укажем основные группы лекарственных препаратов-ингибиторов репликативного цикла ВИЧ на основных стадиях его жизнедеятельности, применяемых в химиотерапии [67]:

- ингибиторы адсорбции вируса;
- ингибиторы обратной транскриптазы;
- ингибиторы интегразы;
- ингибиторы протеазы.

Следует отметить, что металлокомплексы пока не нашли своего применения в терапии ВИЧ, но определенные предпосылки для выдвижения их на фармацевтический рынок уже наметились. Именно перспективе использования препаратов на основе металлокомплексов и посвящен этот параграф.

1. Ингибиторы адсорбции вируса — полиоксометаллаты. Полианионные соединения, в том числе и полиоксометаллаты, в

той или иной степени проявляют противовирусную активность в отношении ВИЧ [68—70]. Первые исследования на клеточных культурах проводились с несколькими базовыми полиоксометаллатами еще в 80-х гг. XX в. Характерными примерами соединений такого типа являются производные структур:  $[\text{SiW}_{12}\text{O}_{40}]^{4-}$ ,  $[\text{Sb}_9\text{W}_{21}\text{O}_{86}]^{9-}$ ,  $[\text{As}_4\text{W}_{10}\text{O}_{140}]^{28-}$ .

Было синтезировано более 2000 полиоксометаллатов для определения их ингибирующего эффекта на репликацию ВИЧ-1 и ВИЧ-2 в МТ4-клетках. Все соединения проявляли активность против ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Установлено, что более 70 % гетерополивольфрамовых имеют высокую активность и сравнительно низкую токсичность, причем эти характеристики в значительной степени зависят от их химической структуры. Противовирусная активность простых, двойных и тройных Кеггин-структур на репликацию ВИЧ-1 сравнима ( $\text{IC}_{50}=0,4\text{—}0,5$  мкг/мл), в то время как ВИЧ-2 становится менее чувствительным при росте числа Кеггин-структур, участвующих в образовании соединения. Такая же тенденция наблюдается для простых и двойных структур Даусона (рис. 3.6).

Полиоксометаллаты представляют собой класс полианионных соединений, которые являются ингибиторами связывания гликопротеина gp120 оболочки ВИЧ-1 с  $\text{CD4}^+$ -клетками, но не препятствуют его проникновению в клетку. В этом отношении самым активным соединением является  $\text{Na}_{16}[\text{Mn}_4(\text{H}_2\text{O})_2(\text{P}_2\text{W}_{15}\text{O}_{56})_2]$  (двойная структура Даусона) [68, 69].

Модификация полиоксометаллатов органическими группами не снижает их ингибирующей активности и не повышает токсичности, однако последние определяются природой катиона: ком-

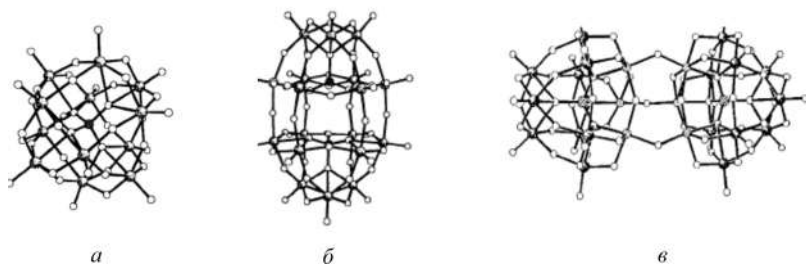


Рис. 3.6. Схематическое изображение структуры полиоксометаллатов: а — простая Кеггин-структура  $[\text{XW}_{12}\text{O}_{40}]^{x-}$  (х — заряд, который зависит от природы гетероатома); б — простая Даусон-структура,  $[\text{X}_2\text{W}_{18}\text{O}_{62}]^{x-}$ ; в — двойная Кеггин-структура  $[\{\text{A-A-SiO}_4\text{W}_9\text{O}_{30}(\text{OH})_3\text{M}_3\}_2(\text{OH})_3]^{11-}$  (М — ион металла)

плексы, включающие катион аммония и протонированные формы аминокислот, менее токсичны, чем свободная анионная форма, например:  $[(\text{CH}_3)_3\text{NH}]_7[\text{Si}(\text{NbO}_2)_3\text{W}_9\text{O}_{37}]$ ,  $\text{Cs}_7[\text{Si}(\text{NbO}_2)_3\text{W}_9\text{O}_{37}]$ ,  $\alpha\text{-K}_5[\text{Si}(\text{NbO}_2)\text{W}_{11}\text{O}_{39}]$  и  $[(\text{CH}_3)_3\text{NH}]_5[\text{Si}(\text{NbO}_2)\text{W}_{11}\text{O}_{39}]$ , которые проявляют активность в отношении ВИЧ-1, причем достаточно эффективны ( $\text{IC}_{50} < 1 \text{ мкМ}$ ) и не проявляют цитотоксичности в отношении здоровых клеток [70].

Полиоксометаллаты имеют сложное пространственное строение (рис. 3.6) и, по-видимому, во многом благодаря этому обладают ярко выраженной способностью блокировать рецепторный активный центр вируса. Согласно [69], с особенностями пространственного строения комплексов, а также с расположением и подвижностью катионов может быть связана ингибирующая активность в отношении вирусных РНК- и ДНК-полимераз.

2. Ингибиторы обратной транскриптазы. Установлено, что геном ВИЧ кодирует три фермента: обратную транскриптазу, которая ответственна за процесс превращения вирусной РНК в ДНК, интегразу, с участием которой вирусная ДНК интегрируется в геном-клетки хозяина, и протеазу, которая ответственна за превращение вирусных генетических продуктов в зрелые формы [71]. Одной из самых “актуальных” мишеней при лечении ВИЧ является обратная транскриптаза. Это весьма удобная мишень для ингибиторов, так как она отличается от нормальной клеточной полимеразы и физически отделена от репликационного аппарата клетки-хозяина (вирусная транскриптаза является в большей степени цитоплазматическим ферментом, чем нуклеарным). Обратная транскриптаза выполняет функции полимеразы при генерировании нитей ДНК, а также функции рибонуклеазы Н, которая разрушает РНК часть в РНК/ДНК гибридах [72]. Ингибирование вирусного процесса может быть осуществлено путем воздействия на любую из функций или сайтов фермента. В последние годы было открыто большое число нуклеозидных аналогов и ингибиторов ненуклеозидной природы, однако среди них металлокомплексы пока составляют лишь очень небольшую часть.

В работе [73] рассматривается комбинированный препарат, представляющий спермицидное средство и ненуклеозидный ингибитор обратной транскриптазы (ННИОТ). Спермицидную активность препарату придает присутствие тетраэдрических комплексов бис(циклопентадиенил)ванадия (IV) и тетрагонально-пирамидальных комплексов оксованадила (IV), а в качестве

ННИОТ выступают производные тиомочевины: *N*-[2-(2-хлорофенил)]-*N'*-[2-(5-бромопиридил)]тиомочевина и *N*-[2-(2-метоксифенил)]-*N'*-[2-(пиридил)]тиомочевина. Эти соединения при образовании комплексов с оксованадилем (IV) проявляют ингибирующую активность как в отношении чувствительных, так и резистентных к лекарственным средствам и комбинированным препаратам штаммов ВИЧ-1. Согласно данным ЭПР спектроскопии, степень окисления ванадия в данных комплексах составляет +5.

В качестве ингибиторов обратной транскриптазы охарактеризованы металлокомплексы производных тиосемикарбозонов с медью (II), кобальтом (II), оловом (IV) и др. (рис. 3.7) [74]. В результате многочисленных экспериментов было установлено, что металлокомплексы олова  $\text{Sn}(\text{Bu})_2(\text{L})$  и  $\text{Sn}(\text{Ph})_2(\text{L})$  обладают наибольшей активностью как ингибиторы обратной транскриптазы. Однако поскольку не проводились тесты на других полимеразах, то сложно определить специфичность такого ингибирования. Дальнейшие исследования показали, что эти производные тиосемикарбозонов могут ингибировать рибонуклеотид-редуктазу и дегидрофолат-редуктазу [30].

Поиск потенциальных противовирусных агентов проводился и среди таких соединений, как антибиотики [7, 11]. Антибиотик стрептонигрин показал широкий спектр противоопухолевой активности в отношении различных онкологических заболеваний, однако побочные токсические эффекты заставили прекратить его клинические исследования (рис. 3.8). Установлено, что стрептонигрин селективно ингибирует птичий миелобластный вирус и ВИЧ-обратную транскриптазу, не затрагивая нормальные клеточные полимеразы [75]. К изучению механизма действия стрептонигрина обратились лишь после отмены клинического использования антибиотика. Результаты недавних исследований, включая биологическую активность и детальный структурный анализ нескольких металлокомплексов стрептонигрина, по-

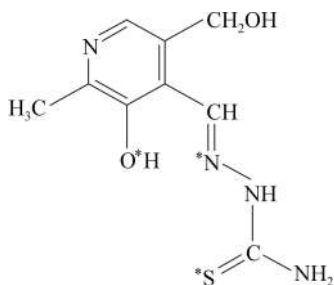


Рис. 3.7. Схематическое изображение структуры лиганда пиридоксальтиосемикарбозона, образующего металлокомплексы-ингибиторы обратной транскриптазы: R=метил, этил, бутил и фенил, \* — отмечены атомы, участвующие в комплексообразовании [3]

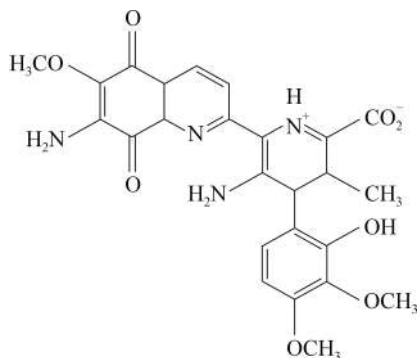


Рис. 3.8. Схематическое изображение структуры стрептонигрина [3]

казал, что комплексообразование с ионом металла — ключ к биологической активности и уменьшению побочных эффектов этого соединения [75].

Наряду с рассмотренными типами ингибиторов обратной транскриптазы ВИЧ, осуществляется направленный поиск соединений-ингибиторов, которые сами не содержат ион металла, а их ингибирующее действие достигается путем

образования металлокомплекса. Этот способ оптимизации ингибирования рассмотрен на примере комплексообразования активного вещества с ионом металла с участием [2',5'-бис-*O*-(*трет*-бутилдиметилсилил)-*b*-D-рибофуранозил]-3'-спиро-5''-(4''-амино-1'',2''-оксатиол-2'',2''-диоксид)нуклеозид (TSAO-T) (рис. 3.9) [76]. Предыдущее соединение, TSAO, способно связываться с аллостерической частью, примыкающей к каталитическому сегменту обратной транскриптазы. Связывающая часть ингибитора взаимодействует с ионом магния, координационно связанным в активном центре энзима.

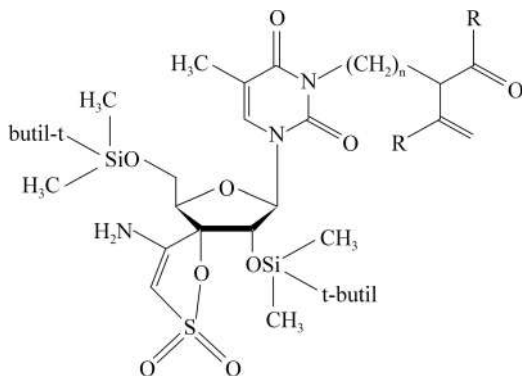


Рис. 3.9. Схематическое изображение структуры [2',5'-бис-*O*-(*трет*-бутилдиметилсилил)-*b*-D-рибофуранозил]-3'-спиро-5''-(4''-амино-1'',2''-оксатиол-2'',2''-диоксид)нуклеозид [3]

Направленный дизайн нового класса соединений, представителем которого является TSAO-T, был осуществлен для лучшего связывания с ионом магния путем образования бидентатного металлокомплекса с большим сродством к энзиму. Установлено, что аналоги с короткими алкильными мостиками характеризуются большей противовирусной активностью. Некоторые аналоги проявили такую же активность, как TSAO, но при использовании на порядок меньшей концентрации и с минимальными побочными эффектами.

Следует отметить, что для большей части ингибиторов вирусных энзимов не наблюдается эксклюзивной специфичности. Рассмотренное соединение TSAO-T представляет собой исключение: его дизайн был осуществлен непосредственно для взаимодействия с функционально-активной частью фермента.

2. Ингибиторы интегразы. Обратная транскриптаза является не единственной мишенью для дизайна противовирусных агентов, что может быть подтверждено созданием серии медьсодержащих комплексов, ингибирующих ВИЧ интегразу. Интегразы ВИЧ-1 необходима для включения двухцепочечной ДНК (копии вирусного РНК генома) в хромосому носителя и репликации ВИЧ. Четыре комплекса меди (II), содержащие в качестве лиганда неокупроин, 4-фенилнеокупроин, 2,3,4,7,8,9-гексаметилфенантролин, 2,3,4,7,8-пентаметилфенантролин ингибируют интегразу ВИЧ-1 при  $IC_{50}=1-10$  мкМ, в то время как фенантролины в отсутствие ионов меди (II) не активны при концентрации ниже 100 мкМ [77]. Подобные комплексы необратимо ингибируют интегразу по механизму, который, как полагают, сложнее, чем блокировка ферментного сегмента или связывание с ДНК. Интегразы имеют своеобразный выступ, содержащий цинк (II), и участок с N-терминальным фрагментом аспартат- и глутаматокончаний, принимающих участие в ДНК связывании. Подобные фрагменты и являются потенциальной мишенью для взаимодействия с металлокомплексами. Каталитический домен интегразы склонен к связыванию ионов металлов, что определяет возможность образования трехкомпонентного комплекса между ингибитором, ионом металла и ферментом [78].

3. Ингибиторы протеазы. Использование металлоорганических комплексов оказалось перспективным направлением для дизайна новых ингибиторов протеазы. В работе [79] описан комплекс меди (II) с *N*1-(4-метил-2-пиридил)-2,3,6-триметоксiben-



замидом, взаимодействующий с активным участком протеазы ВИЧ-1, что приводит к конкурентному ингибированию данного фермента. *N*2-пиридил-амидные и оксазинан-карбоксамидный лиганды являются плохими хелатирующими агентами для ионов меди (II). Они проявляют ингибирующее действие посредством высвобождения ионов меди (II), которые взаимодействуют с цистеиновыми остатками на поверхности протеазы. Таким образом, данные соединения являются примерами веществ с направленной доставкой к активному участку мишени.

Было обнаружено, что хлорид меди (I) в присутствии аскорбиновой кислоты ингибирует протеазу ВИЧ-1. Предположение о подавляющем действии хелата меди (I) привело к разработке комплекса батокупроиндисульфоната меди (I), который ингибировал протеазу ВИЧ-1. Другими возможными мишенями батокупроиндисульфоната меди (I) являются интегразы ВИЧ-1, а также стадия адсорбции вируса [80].

С появлением современных методов изучения и моделирования молекулярных структур дизайн ингибиторов достиг более высокого уровня, который позволяет конструировать селективные агенты, нацеленные на уже изученные мишени. Подобные знания применимы к дизайну металлокомплексов-ингибиторов, что должно позитивно сказаться на темпах развития этой области химиотерапевтических средств.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В области биомедицинских исследований ингибирования ферментов получен довольно большой объем экспериментальных и теоретических результатов. В дополнение к рассмотренным выше примерам можно еще аннотировать данные, свидетельствующие о более широких возможностях использования координационных ингибиторов ферментов в терапии других заболеваний (табл. 3.1).

Для эффективного использования металлокомплексов в качестве ингибиторов ферментов необходимо иметь информацию об определенных свойствах таких соединений [3]:

- специфичности;
- биодоступности;
- компенсаторных эффектах;
- стабильности комплексов.

Таблица 3.1

**Металлокомплексы-ингибиторы ферментов  
в терапии различных заболеваний**

Заболевание	Лиганд	Металл	Ингибируемый фермент	Лит.
Гипертензия	Сульфаниламиды	Cu, Zn	Карбоангидраза	81, 82
	Гетероциклические меркаптаны	Cu, Zn	Карбоангидраза	83
	Хлоротиазид	Hg, Pb	Карбоангидраза	84
	Каптоприл	Zn	Ангиотензин конвертирующий фермент	85
	Лизиноприл	Cu	Ангиотензин конвертирующий фермент	86
Неврологические заболевания	Порфирины	Fe, Zn	Ацетилхолинэстераза	87
	Порфирины	Cr, Zn	Гем-оксигеназа, NO-синтаза	88
	—	Li	Аденилатциклаза, инозитолмонофосфатаза	89
	—	Zn	Металлопротеиназы, NO-синтаза, эндонуклеазы, цитохром с оксидаза	90
Микробные инфекции	1-амино-3-(2-пиридил) изохинолин	Cu	НАДФ-оксидаза, лактатдегидрогеназа	91
	Сульфадиазин	Ag	Фосфоманнозаизомераза	92
	Тиосемикарбазоны	Cu	Дигидрофолатредуктаза	30

*Специфичность* является наиболее важным свойством при создании терапевтических агентов, так как практически любому лекарству в той или иной степени присущи побочные эффекты и неспецифические взаимодействия, которые приводят к нежелательным последствиям [11]. При нацеливании агентов на фермент учитывается уникальная чувствительность связывающего центра энзима к природе потенциальных субстратов. Поэтому для увеличения специфичности распознавания ферментом-ми-

шенью дизайн таких агентов осуществляется, как субстрат-миметиков (веществ, имитирующих их основные функциональные особенности). Многие ингибиторы рассматривали как специфические, основываясь лишь на информации об отсутствии у них активности в отношении только определенного перечня наиболее важных ферментов [3, 10]. Подобный подход, по-видимому, не является корректным, так как необходимо иметь информацию о взаимодействии с теми ферментами, которые потенциально могут быть участниками перекрестных реакций. Это особенно актуально для металлокомплексов, которые в большинстве своем реагируют путем координации к активным центрам ферментов [8, 9, 93]. Для направленного дизайна агента со специфическим ингибирующим действием необходимо тщательное исследование структуры комплексов фермент-ингибитор и кинетики процессов с их участием.

*Биодоступность*, необходимая для проявления ингибирующего эффекта, определяется, прежде всего, доступностью ингибитора для функционально-активной части фермента. От этого, а также от побочных реакций организма, зависит и концентрация агента-ингибитора. Биодоступность существенно зависит и от способа доставки ингибитора к активному центру. Так, если фермент является цитоплазматическим, ингибитор должен проникнуть через цитоплазматическую мембрану для доступа к его функционально-активной части. Если сам агент неспособен проникнуть через мембрану, этот момент необходимо учитывать в направленном дизайне и оптимизации его структуры.

Кроме того, следует учитывать влияние, оказываемое на активность ингибитора окружающей средой. Для этого особое внимание должно быть уделено сравнительным исследованиям *in vitro* и *in vivo*, причем максимально приближенным к реальным, дабы учесть все возможные мешающие факторы. В частности, к ним относится взаимодействие металлокомплексов или ионов металлов с биосоединениями в среде организма с последующим их осаждением или агрегацией.

*Компенсаторные эффекты* необходимо выявлять, потому что ингибитор может специфично и эффективно действовать на фермент *in vitro*, но очень сложно предвидеть окончательный результат его действия в живом организме. Один агент может принимать участие в нескольких метаболических процессах, вызывая не только ингибирование, но и другие процессы с участием ферментов. Например, вмешательство ингибитора в биосинтез

гема или другие участки его метаболизма влияет не только на концентрации гема и билирубина, но практически на все механизмы с участием структур, содержащих гем [10].

*Стабильность* металлокомплексов подробно изучается в связи с известным поведением ионов многих переходных металлов как биологических ядов. В большинстве случаев жизненно необходимо, чтобы потенциальный химиотерапевтический агент был стабильным относительно диссоциации в растворе металлокомплексом. Стабильность подразумевает подбор оптимального комплексообразователя и лиганда в соответствии с требованиями теории жестких и мягких кислот и оснований Пирсона. Известно [10], что наиболее термодинамически стабильные металлокомплексы образуются при сочетании жесткой кислоты с жестким основанием и мягкой кислоты с мягким основанием. Таким образом, подбор оптимальной комбинации иона-комплексообразователя и лиганда заключается в создании такого соединения, которое было бы способно сохранять структуру и ингибирующее действие в среде организма без проявления заметных побочных реакций и токсических эффектов, обусловленных диссоциацией комплекса. Так, успех препаратов на основе комплексов платины (II, IV) и порфиринов в лечении опухолевых заболеваний внушил определенную уверенность в перспективах применения в химиотерапии металлокомплексов, однако полностью не снял с повестки дня проблему преодоления их токсичности, которая, не в последнюю очередь, может быть обусловлена термодинамической нестабильностью этих соединений в растворах.

Анализ примеров использования металлокомплексов как ингибиторов ферментов в химиотерапии различных заболеваний, которые представлены в данной главе, свидетельствует о том, что они являются достаточно эффективными средствами в химиотерапии различных заболеваний, и подтверждают перспективность исследований в данном направлении.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Organometallics in Cancer Chemotherapy / Eds. I. Haiduc, C. Silvestru. Vol. II. Boston: CRS Press, 1989.
2. Use of Inorganic Chemistry in Medicine / Ed. N. P. Farrell. Cambridge: RSC, 1999.
3. Louie A. Y., Meade T. // Chem. Rev. 1999. Vol. 99. P. 2711—2734.
4. Харкевич Д. А. Фармакология. М., 1999.

5. Metal Complexes in Cancer Chemotherapy / Ed. B. K. Keppler. Weinheim: Wiley-VCH, 1993.
6. Platinum and Other Metal Coordination Compounds in Cancer Chemotherapy 2 / Eds. H. M. Pinedo, J. H. Schornagel. New York: Plenum Press, 1996.
7. Metallotherapeutic Drugs and Metal-Based Diagnostic Agents. The Use of Metals in Medicine / Eds. M. Gielen, E. R. T. Tiekink. Weinheim: Wiley-VCH, 2005.
8. Неорганическая биохимия: В 2 т. / Под ред. Г. Эйхгорна. М.: Мир, 1978.
9. Хьюз М. Неорганическая химия биологических процессов. М.: Мир, 1983.
10. Roat-Malone R. M. Bioinorganic Chemistry. New York: John Wiley & Sons Inc., 2002.
11. Граник В. Г. Основы медицинской химии. М.: Вузовская книга, 2001.
12. Lippard S. J. // In: Bioinorganic Chemistry / Eds. I. Bertini, H. B. Gray, S. J. Lippard, J. S. Valentine. Mill Valle, CA: University Science Books, 1994.
13. Lippard S. J. // In: Metal ions in Biology / Eds. A. Sigel, H Sigel. Vol. 32. New York: M. Dekker, 1996.
14. Aull J. L. Interactions of anticancer drugs with enzymes. New York: M. Dekker, 1980.
15. Mital R., Shah G. M., Srivastava T. S., Bhattacharya R. K. // Life Sci. 1992. Vol. 50. P. 781—790.
16. Kelley T. J., Moghaddas S., Bose R., Basu S. // Cancer Biochem. Biophys. 1993. Vol. 13. P. 135—146.
17. Endo T., Takahashi M., Minami M. et al. // Biogen. Amines. 1993. Vol. 9. P. 479—489.
18. Ganeva R. L., Spassovska N. C., Genchev D. D. // J. Inorg. Biochem. 1991. Vol. 43. P. 717—722.
19. Koch T., Gloddek B. // Eur. Arch. Oto-Rhino-Laryngol. 1991. Vol. 248. P. 459—464.
20. Ho B. T., Huo Y. Y., Lee J. H., Levin V. A. // Anti-Cancer Drugs. 1991. Vol. 2. P. 267—268.
21. Rosen M., Figliomeni M., Simpkins H. // Int. J. Exp. Pathol. 1992. Vol. 73. P. 61—74.
22. Wright J. A., Chan A. K., Choy B. K. et al. // Cell. Biol. 1990. Vol. 68. P. 1364—1371.
23. Oblender M., Carpentieri U. // Anticancer Res. 1990. Vol. 10. P. 123—128.
24. Myette M. S., Elford H. L., Chitambar C. R. // Cancer Lett. 1998. P. 199—204.
25. Chitambar C. R., Narasimhan J. // Pathobiology 1991. Vol. 59. P. 3—10.
26. Chitambar C. R., Narasimhan J., Guy J. et al. // Cancer Res. 1991. Vol. 51. P. 6199—6201.
27. Nocentini G., Federici F., Grifantini M., Barzi A. // Pharmacol. Res. 1992. Vol. 25. P. 312—313.
28. Nocentini G., Barzi A. // Biochem. Pharm. 1996. Vol. 52. P. 65—71.

29. *Nocentini G., Barzi A.* // Gen. Pharmac. 1997. Vol. 29. P. 701—706.
30. *West D. X., Liberta A. E.* // Coord. Chem. Rev. 1993. Vol. 123. P. 49—71.
31. *Byrnes R. W., Mohan M., Antholine W. E.* et al. // Biochemistry. 1990. Vol. 29. P. 7046—7053.
32. *Тюкавкина Н. А., Бауков А. Г.* Биоорганическая химия. М.: Дрофа, 2004.
33. *Monti E., Monzini F., Morazzoni F.* et al. // Inorg. Chim. Acta. 1993. Vol. 205. P. 181—184.
34. *Gopalakrishna R., Gundimeda U., Chen Z. H.* // Arch. Biochem. Biophys. 1997. Vol. 348. P. 25—36.
35. *Hubbard S. R., Bishop W. R., Kirschmeier P.* et al. // Science. 1991. Vol. 254. P. 1776—1779.
36. *Alsner J., Sorensen B. S., Schmidt V. K., Westergard O.* // Bone Marrow Transplant. 1993. Vol. 12. P. S154—S155.
37. *Gopalakrishna R., Chen Z. H., Gundimeda U.* // Arch. Biochem. Biophys. 1997. Vol. 348. P. 37—48.
38. *Crans D. C., Smee J. J., Gaidamauskas E., Yang L.* // Chem. Rev. 2004. Vol. 104. P. 849—902.
39. *Morinville A., Maysinger D., Shaver A.* // Trends Pharmacol. Sci. 1998. Vol. 19. P. 452—460.
40. *Faure R., Vincent M., Dufour M.* et al. // J. Cell Biochem. 1995. Vol. 58. P. 389—401.
41. *Zhuo S., Dixon J. E.* // Protein Eng. 1997. Vol. 10. P. 1445—1452.
42. *Cannon J. B.* // J. Pharm. Sci. 1993. Vol. 82. P. 435—446.
43. *Tsangaris J. M.; Williams D. R.* // Appl. Organomet. Chem. 1992. Vol. 6. P. 3—18.
44. Базисная и клиническая фармакология: В 2 т. / Под ред. Б. Г. Катцунга. СПб, 1998.
45. *Galbraith R., Drummond G., Kappas A.* // Pediatrics. 1992. Vol. 89. P. 175—182.
46. *Rubaltelli F., Dario C., Zancan L.* // Pediatrics. 1995. Vol. 95. P. 942—944.
47. *Maines M., Trakshel G. J.* // Pharmacol. Exp. Ther. 1992. Vol. 260. P. 909—916.
48. *Trakshel G., Sluss P., Maines M.* // Pediatr. Res. 1992. Vol. 31. P. 196—201.
49. *Drummond G., Rosenberg D., Kappas A.* // Gastroenterology. 1992. Vol. 102. P. 1170—1175.
50. *Boni R., Galbraith R., Drummond G., Kappas A.* // Pharmacology. 1993. Vol. 47. P. 318—329.
51. *Russo S., Pepe J., Donohue S.* et al. // J. Pharmacol. Exp. Ther. 1995. Vol. 272. P. 766—774.
52. *Pugh M. C., Pugh C. B.* // Clin. Pharm. 1987. Vol. 6. P. 475—491.
53. *Baker D. G., Rabinowitz J. L.* // J. Clin. Pharmacol. 1986. Vol. 26. P. 2—21.
54. *Danning C. L., Boumpas D. T.* // Clin. Exp. Rheumatol. 1998. Vol. 16. P. 595—604.

55. Hashimoto K., Whitehurst C. E., Matsubara T. et al. // J. Clin. Invest. 1992. Vol. 89. P. 1839—1848.
56. Sorenson J. R. J. // Metal ions biol. syst. 1982. Vol. 14. P. 77—79.
57. Sorenson J. R. J. // Prog. Med. Chem. 1989. Vol. 26. P. 437—468.
58. Baquial J. G. L., Sorenson J. R. J. // J. Inorg. Biochem. 1995. Vol. 60. P. 133—146.
59. Greenaway F. T., Hahn J. J., Xi N., Sorenson J. R. J. // Biometals. 1998. Vol. 11. P. 21—33.
60. Координационные соединения металлов в медицине. Киев: Наук. думка, 1986.
61. Василец И. М. // Успехи биол. химии. 1973. Т. 14. № 2. С. 172—201.
62. Niedermeier W. // Ann. Rheum. Diseases. 1965. Vol. 24. № 6. P. 544—548.
63. Niedermeier W., Dobson C., Laney R. P. // Biochim. Biophys. Acta. 1967. Vol. 141. № 3. P. 366—373.
64. Stafford C. T., Niedermeier W., Holley H. L., Pigman W. // Ann. Rheum. Diseases. 1964. Vol. 23. № 2. P. 152—157.
65. Menard H. A., Amine M. E. // Immunol. Today. 1996. Vol. 17. P. 545—547.
66. Ершов Ф. И. Антивирусные препараты. М.: Медицина, 1998.
67. Perrin D. D., Stunzi H. Metal ions and chelating agents in antiviral chemotherapy. New York: M. Dekker, 1982.
68. Myriam W. // J. Med. Chem. 2000. Vol. 43. P. 778—783.
69. Rhule J. T., Hill C. L., Judd D. A. // Chem Rev. 1998. Vol. 98. P. 327—357.
70. Kim G. S. // J. Med. Chem. 1994. Vol. 37. P. 816—820.
71. La Femina R. L., Schneider C. L., Robbins H. L. et al. // J. Virol. 1992. Vol. 66. P. 7414—7419.
72. Huang H., Chopra R., Verdine G. L., Harrison S. C. // Science. 1998. Vol. 282. P. 1669—1675.
73. D'Cruz O. J., Dong Y., Uckun F. M. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2003. Vol. 302. № 2. P. 253—264.
74. Ferrari M. B., Fava G. G., Tarasconi R. et al. // J. Inorg. Biochem. 1994. Vol. 53. P. 13—25.
75. Harding M. M., Long G. V. // Curr. Med. Chem. 1997. Vol. 4. P. 405—420.
76. Chamorro C., Camarasa M. J., Perez-Perez M. J. et al. // Antiviral Chem. Chemother. 1998. Vol. 9. P. 413—423.
77. Mazumder A. // AIDS Res Hum Retroviruses. 1995. Vol. 1. № 1. P. 115—125.
78. Farnet C. M., Wang B., Hansen M. et al. // Antimicrob. Agents Chemother. 1998. Vol. 42. P. 2245—2253.
79. Lebon F. // Biochem. Pharmacol. 2002. Vol. 63. № 10. P. 1863—1873.
80. Davis D. A. // Arch. Biochem. Biophys. 1995. Vol. 322. № 1. P. 127—134.
81. Supuran C. T., Mincione F., Scozzafava A. et al. // Eur. J. Med. Chem. 1998. Vol. 22. P. 247—254.
82. Pedregosa J. C., Casanova J., Alzueta G. et al. // Inorg. Chim. Acta. 1995. Vol. 232. P. 117—124.

83. *Supuran C. T., Scozzafava A., Saramet I., Banciu M. D.* // J. Enzyme Inhib. 1998. Vol. 13. P. 177—194.
84. *Supuran C. T.* // Main Group Met. Chem. 1996. Vol. 19. P. 347—353.
85. *Koppenhofer A., Hartmann U., Vahrenkamp H.* // Chem. Ber. 1995. Bd. 128. P. 779—785.
86. *Gonzalez E. B., Farkas E., Soudi A. A. et al.* // J. Chem. Soc., Dalton Trans. 1997. P. 2377—2379.
87. *Lee B. N., Park M. B., Yu B. S.* // Bioinorg. Med. Chem. Lett. 1998. Vol. 8. P. 1467—1470.
88. *Bing O., Grundemar L., Ny L. et al.* // Neuroreport. 1995. Vol. 6. P. 1369—1372.
89. *Mork A.* // Pharmacol. Toxicol. 1993. Vol. 71. P. 1—47.
90. *Cua Jungco M. P., Lees G. K.* // Neurobiol. Dis. 1997. Vol. 4. P. 137—169.
91. *DeZwart M., Van der Goot H., Timmerman H.* // Eur. J. Med. Chem. 1991. Vol. 26. P. 101—108.
92. *Wells T. N. C., Scully P., Paravicini G. et al.* // Biochemistry. 1995. Vol. 34. P. 7896—7903.
93. *Медянцева Э. П., Вертлиб М. Г., Будников Г. К.* // Успехи химии. 1998. Т. 67. № 3. С. 252—260.



## Глава 4

---

### КОМПЛЕКСЫ ВАНАДИЯ (IV, V) — НОВЫЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ИНСУЛИНОМИМЕТИКИ

---

Сахарный диабет — тяжелое хроническое заболевание, характеризующееся нарушением всех видов обмена веществ, и в первую очередь углеводного. Сахарный диабет распространен во всех странах и, по данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), в мире насчитывается более 150 млн больных. Широкое распространение, рост заболеваемости, частое развитие серьезных осложнений и в первую очередь сердечно-сосудистых, делают диабет одной из наиболее актуальных проблем современной медицины. Он определен ВОЗ как эпидемия особого неинфекционного заболевания, и борьба с ним является приоритетом для национальных систем здравоохранения.

Основным звеном в патогенезе сахарного диабета является абсолютная или относительная недостаточность инсулина, или же резистентность к нему. Соответственно сахарный диабет разделяется на два типа: инсулинзависимый (I тип) и инсулиннезависимый (II тип) диабет. При инсулинзависимом диабете в организме синтезируется недостаточное количество инсулина; в то время как при инсулиннезависимом диабете нормальное, а иногда даже избыточное, количество синтезированного инсулина не в состоянии вызвать в организме процессы, необходимые для энергетического регулирования в норме [1].

Для лечения сахарного диабета в настоящее время используется 4 вида лекарственных препаратов, регулирующих уровень глюкозы в крови (инсулин, производные сульфонилмочевины, бигуаниды и ингибиторы  $\alpha$ -глюкозидазы), которые различаются по механизму действия и могут применяться как индивидуаль-

но, так и в различных сочетаниях [3]. К новой группе антидиабетических препаратов относятся тиазолидиндионы, улучшающие действие инсулина и ингибирующие глюконеогенез [4].

Проблема получения синтетических аналогов инсулина всегда стояла остро, так как его использование сопряжено с определенными неудобствами: как правило, препарат вводится инъекционным путем, следовательно, больному всегда необходимо иметь при себе шприц, а также время и возможность ввести препарат.

Ванадийсодержащие соединения, которым посвящен данный раздел, рассматриваются в настоящее время как потенциальные антидиабетические средства, имитирующие действие инсулина [5—8]. При исследовании соединений ванадия в качестве потенциальных инсулиномиметиков оказалось, что они обладают такими необходимыми для практического использования свойствами, как высокая биодоступность, возможность перорального приема и низкие действующие концентрации. В настоящее время выделяют три основных класса ванадийсодержащих инсулиномиметиков [8]:

1) неорганические соли, в которых ванадий содержится как в анионной (ортованадаты (V)  $[\text{VO}_4]^{3-}$ ), так и в катионной (ванадил-ион  $\text{VO}^{2+}$ ) форме;

2) хелатные комплексы ванадия (IV);

3) пероксокомплексы ванадия (V) (моно- и дипероксованадаты,  $[\text{VO}(\text{O}_2)_2(\text{H}_2\text{O})_2(\text{L}-\text{L}')]^n$  и  $[\text{VO}(\text{O}_2)_2(\text{L}-\text{L}')]^n$ , где  $n=1, 2, 3$ ).

Далее каждый из вышеперечисленных типов ванадийсодержащих соединений рассмотрен подробнее.

## ИНСУЛИНОПОДОБНОЕ ДЕЙСТВИЕ СОЕДИНЕНИЙ ВАНАДИЯ

Основным симптомом сахарного диабета является гипергликемия. Баланс между образованием глюкозы в печени и потреблением ее тканями регулируется рядом гормонов, из которых только инсулин обладает гипогликемической активностью. Инсулин регулирует обмен углеводов, стимулируя транспорт глюкозы и ее утилизацию, и снижает высвобождение глюкозы печенью, ингибируя распад гликогена и глюконеогенез. Помимо углеводного обмена, инсулин регулирует белковый и жировой обмен [1].

В 80—90-х гг. XX в. было установлено, что некоторые соединения ванадия, селена, цинка, молибдена и вольфрама имитируют эффекты инсулина [9—13]. Среди них наиболее изучен инсулиноподобный эффект соединений ванадия, который привлекает внимание многих исследователей и рассматривается в монографиях и обзорах [5—8, 14—22].

Ванадий относится к эссенциальной группе переходных элементов, так как в опытах было продемонстрировано его влияние на рост и развитие различных животных [23, 24, 25]. Еще в XIX в. некоторые соединения ванадия были показаны к потреблению при таких патологических состояниях, как недостаточное питание, анемия, туберкулез и диабет [25]. В 1899 г. Лионне и Мартин в своих работах указывали на уменьшение экскреции глюкозы вместе с мочой у тех больных диабетом, которые принимали ортованадат (V) натрия [26]. Однако на протяжении десятилетий, даже после открытия инсулина, его миметики не рассматривались в качестве потенциальных терапевтических агентов.

Химия ванадия чрезвычайно сложна и разнообразна. Он весьма склонен к комплексообразованию, легко меняет свою степень окисления и может существовать как в катионной, так и в анионной формах. В физиологических условиях он преимущественно находится в степени окисления +5 в виде метаванадата (V) ( $\text{VO}_3^-$ ) и, возможно, в анионной форме  $\text{H}_2\text{VO}_4^-$  или ортованадата (V) ( $\text{VO}_4^{3-}$ ), а также в олигомерных равновесных формах ( $n=1\div 10$ ), в то время как в степени окисления +4 ванадий в основном присутствует в виде ванадил-иона  $\text{VO}^{2+}$  [27, 28]. Эти формы находятся в равновесии как вне, так и внутри клеток [18, 29, 30]. В плазме крови концентрация ванадия составляет около 20 нМ и основной его формой является метаванадат (V), который проникает в клетку при помощи анион-транспортирующих систем и там восстанавливается глутатионом до ванадил-иона  $\text{VO}^{2+}$  и, как полагают, около 98 % ванадия в клетках находится именно в этой форме [31]. Однако, согласно [32], восстановление ортованадата (V) до ванадил-иона внутри клетки не является быстрым и ванадил-ион *in vivo* способен подвергаться спонтанному окислению до ортованадата (V). По данным ЭПР исследования [33], около 90 % ванадия, обнаруженного в тканях животных после введения им сульфата ванадила, находилось в форме  $\text{VO}^{2+}$ ; причем, эндогенный ванадил-ион был связан с четырьмя кислородсодержащими лигандами (остатками гидроксикаминокислот в белках и водой). Аналогично другим катионам металлов, вана-

дий *in vivo* находится в основном в виде координационных соединений. Он легко взаимодействует с аминокислотами, протеинами (трансферрин, альбумин, гемоглобин), а также с низкомолекулярными биосоединениями, например, глутатионом, катехоламинами [21, 28, 34—39].

Инсулиноподобное действие проявляют обе биологически активные формы — ванадат (V)- и ванадил-ионы [9, 40]. В принципе, все основные эффекты инсулина, регулирующие метаболизм углеводов и липидов, имитируются соединениями ванадия *in vitro* и *in vivo*, поскольку в их присутствии осуществляются следующие процессы:

- 1) стимулируется транспорт глюкозы и ее метаболизм в жировой ткани, диафрагме, в скелетных мышцах и мозге [41—43];
- 2) в печени и мышцах усиливается синтез гликогена [44];
- 3) в печени ингибируется глюконеогенез, а в жировой ткани тормозится липолиз и стимулируется липогенез [16, 45].

Действие соединений ванадия на поглощение глюкозы в скелетных мышцах обусловлено его влиянием на экспрессию и транслокацию в плазматическую мембрану инсулин-регулируемого транспортера GLUT-4 [46, 47]. Наблюдаемое при диабете двукратное увеличение мРНК и белка глюкозного транспортера печени (GLUT-2) коррелируется при лечении ванадатом [48].

На животных с экспериментальным диабетом установлено, что соединения ванадия нормализуют гликемию [9, 40, 49, 50]. Этот эффект связан с изменением активности ряда ключевых ферментов метаболизма глюкозы, таких как гексокиназа (КФ 2.7.1.1), пируваткиназа (КФ 2.7.1.40), гликогенсинтаза (КФ 2.4.1.11), фосфоорилаза (КФ 2.4.1.1) [48, 51, 52]. Некоторые соли ванадия (ортованадат (V) натрия и сульфат ванадила), а также комплексы ванадия (IV, V) с органическими лигандами, подобно инсулину, увеличивают сниженный при диабете уровень мРНК гликолитических ферментов печени (глюкокиназы и пируваткиназы L-типа) [48, 53]. Под действием ортованадата (V) натрия нормализуется повышенное при диабете содержание мРНК фосфоенолпируваткарбоксикиназы (КФ 4.1.1.49) — одного из основных ферментов глюконеогенеза [48]. Метаболическим сигналом, контролирующим превращение углеводов по двум основным путям (гликолизу и глюконеогенезу), является фруктозо-2,6-бисфосфат [54]. Сахарный диабет приводит к резкому снижению концентрации фруктозо-2,6-бисфосфата в печени, в результате чего ингибируется гликолиз и усиливается глюконеогенез.

нез [54—56]. Установлено, что ортованадат (V) натрия препятствует падению уровня фруктозо-2,6-бисфосфата в гепатоцитах при инкубации их с глюкагоном, а также повышает сниженный при диабете уровень фруктозо-2,6-бисфосфата в сердечной мышце [57]. Подобно инсулину, ортованадат (V) натрия способен нормализовать повышенную при диабете активность в печени и почках фруктозо-1,6-бисфосфатазы — мишени в действии соединений ванадия [58]. Для сравнения отметим, что гипогликемический эффект известных антидиабетических препаратов (производных сульфонилмочевины, например, толбутамида, и препаратов, входящих в группу тиазолидиндионов, например, троглитазона) также опосредован их влиянием на систему фруктозо-2,6-бисфосфата. Эти соединения так же, как и ортованадат (V) натрия, стимулируют его биосинтез в печени [59, 60].

## МЕХАНИЗМ ИНСУЛИНОПОДОБНОГО ДЕЙСТВИЯ СОЕДИНЕНИЙ ВАНАДИЯ

Механизм инсулиноподобного действия соединений ванадия интенсивно изучается в течение последнего десятилетия, однако многие его аспекты пока не выяснены. В настоящее время в качестве основных рассматриваются два его варианта: классический (когда соединения ванадия действуют через инсулиновый рецептор) и альтернативный (действие минуя инсулиновый рецептор) [7, 17]. В обоих случаях соединения ванадия рассматриваются в качестве ингибиторов ферментов — протеинтирозинфосфатаз (КФ 3.1.3.48), которые дефосфорилируют остатки фосфотирозина в белках и пептидах и играют ключевую роль в передаче гормонального сигнала. При связывании гормона с инсулиновым рецептором, b-субъединица которого обладает тирозинкиназной активностью (КФ 2.7.1.112), происходит аутофосфорилирование трех регуляторных остатков тирозина в цитоплазматическом домене этой субъединицы, что приводит к активации тирозинкиназы [61]. Установлено, что далее происходит фосфорилирование белков — субстратов инсулинового рецептора (IRS), а затем следует характерный каскад реакций фосфорилирования—дефосфорилирования при участии различных киназ, которые могут участвовать в проявлении инсулиноподобного действия ванадийсодержащими соединениями [20, 22, 62, 63]. Пока-

зано, что эти соединения способны активировать тирозинкиназу рецептора инсулина, препятствуя дефосфорилированию этого фермента [17, 50, 64]. Также не вызывает сомнения, что инсулиноподобный эффект пероксокомплексов ванадия обусловлен фосфорилированием инсулинового рецептора в результате ингибирования связанной с рецептором протеинтирозинфосфатазы [65].

При альтернативном механизме соединения ванадия активируют растворимые тирозинкиназы, которые участвуют в проявлении, по крайней мере, некоторых инсулиноподобных эффектов (включая транспорт глюкозы) в жировых клетках [17, 66]. Доказательством того, что соединение ванадия может действовать, минуя инсулиновый рецептор, служат эксперименты, показавшие, что у животных с диабетом, получавших сульфат ванадила, снижение резистентности к инсулину, увеличение числа рецепторов, а также сродства к ним этого гормона происходят без изменения активности рецепторной тирозинкиназы [40, 49]. Кроме того, было установлено, что при стимулированном сульфатом ванадила синтезе гликогена активация фосфатидилинозитол-3-киназы происходит без изменения фосфорилирования b-субъединицы рецептора инсулина, но связана с усилением фосфорилирования субстрата IRS-1, который, в свою очередь, фосфорилирует фосфатидилинозитол-3-киназу, участвующую в регуляции активности гликогенсинтазы [63]. Таким образом, передача сигнала от тирозинкиназы до стадии реализации конечного биологического эффекта при действии соединений ванадия и инсулина может проходить по различным путям.

Способность ванадийсодержащих соединений “избегать” таких недостатков инсулина, как резистентность к нему, делают их особенно перспективными для лечения ожирения и сахарного диабета II типа, характеризующихся такой резистентностью. Полученные к настоящему времени экспериментальные данные подтверждают предположение о том, что соединения ванадия, взаимодействуя с инсулин-сигнальной системой (на уровне рецептора или же на пострецепторном уровне), могут имитировать метаболические эффекты инсулина, усиливать чувствительность к этому гормону и продлевать действие биологического ответа ткани на инсулин [67].

В отличие от инсулина, биологическое действие которого осуществляется за счет влияния на биосинтез энзимов (длительная регуляция) или же на процессы фосфорилирования—дефос-

фосфорилирования регуляторных ферментов (срочная регуляция), соединения ванадия могут оказывать и прямое воздействие на внутриклеточные ферменты. Известно, что соединения ванадия влияют на ферменты, связанные с переносом фосфатных групп [20, 22]. Структурные особенности ортованадат (V)-иона, имеющего форму тригональной бипирамиды, позволяют ему имитировать функции фосфат-иона. Таким образом, являясь стабильным аналогом переходного состояния ферментов, образующих в процессе катализа фосфорилированный интермедиат, ортованадат (V)-ион ингибирует их активность [68]. Кроме того, следует учитывать, что ванадил-ион  $VO^{2+}$  по размеру близок к катиону  $Mg^{2+}$  [7], который, как известно, является кофактором или аллостерическим регулятором для многих ферментов, участвующих в переносе фосфатных групп. Согласно [20, 22], ванадил-ион легче вступает в координационное взаимодействие с кислородсодержащими лигандами по сравнению с ионом  $Mg^{2+}$ , что способствует вытеснению  $Mg^{2+}$  ванадил-ионом в активных и (или) аллостерических центрах ферментов и тем самым объясняет ингибирующие свойства соединений ванадила.

Показано, что ортованадат (V) натрия способен ингибировать активность фосфодиэстеразы (КФ 3.1.4.1) и тем самым увеличивать внутриклеточный уровень аденозин-3',5'-циклофосфата, являющегося вторичным мессенджером в передаче гормональных эффектов. Согласно [7], регулируя его содержание, соединение ванадия влияет на такие важные функции, как торможение агрегации тромбоцитов, усиление сокращения сердечной мышцы, увеличение продукции тиреоидных гормонов, снижение внутриглазного давления. Некоторые из этих эффектов уже нашли экспериментальное подтверждение [9, 69].

Ингибирующий эффект ортованадат (V)- и ванадил-ионов на активность  $Ca^{2+}/Mg^{2+}$ -АТФазы приводит к увеличению внутриклеточной концентрации  $Ca^{2+}$ , что имитирует действие инсулина на такие процессы, как транспорт глюкозы и ее метаболизм [45].

На ранних этапах исследования инсулиномиметическое действие солей ванадия связывали с ингибированием  $Na^+/K^+$ -АТФазы. Однако в дальнейшем это предположение не нашло убедительного подтверждения. Ингибирование ортованадат (V)-ионом  $Na^+/K^+$ -АТФазы, согласно [70], лежит в основе эффекта, подобного действию сердечных гликозидов.

Обнаружено тормозящее действие соединений ванадия на ферменты, участвующие в метаболизме глюкозы (глюкозо-6-фосфатазу и др.) [71, 72], а также их прямое ингибирующее действие на активность фруктозо-1,6-бисфосфатазы печени крысы, что приводит к торможению глюконеогенеза и поступления глюкозы в кровь [56].

Исследования, выполненные в последние годы, показали, что положительный эффект сульфата ванадила на нормализацию уровня глюкозы в крови и толерантность к глюкозе сохраняется длительное время (до 4-х месяцев) после его отмены. Поскольку при приеме животными фармакологических доз соединения ванадия происходит его накопление в тканях (например, в костной и почечной) [73], высказывается предположение, что именно депонированные формы ванадия важны для обеспечения почти нормальной толерантности к глюкозе [74]. Это предположение согласуется с данными о том, что длительность эффекта сульфата ванадила совпадала со сроком, когда концентрация соединения ванадия в тканях приближалась к его уровню до лечения.

## **НЕОРГАНИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ ВАНАДИЯ (КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ)**

Клинические испытания неорганических соединений ванадия с участием больных диабетом (I и II типов) впервые были проведены в середине 90-х гг. XX в. Их результаты полностью подтвердили данные, полученные ранее на экспериментальных животных. Более того, хотя эти концентрации были в 10—20 раз ниже, чем при испытании на животных, можно говорить об определенных положительных эффектах такой терапии. У больных диабетом I типа, получавших метаванадат (V) натрия в дозе 125 мг в день в течение двух недель, происходило снижение суточной потребности в инсулине с 39,1 Ед до 33,8 Ед без увеличения секреции гормона. У больных диабетом II типа наблюдалось улучшение чувствительности к инсулину и существенное снижение уровня холестерина. Обнаружены также признаки имитации действия инсулина по увеличению активности митогенактивируемой протеинкиназы в моноклеарных клетках больных диабетом обоих типов. Основным побочным действием при приеме метаванадата (V) натрия была диарея [2, 8, 18—20, 22].



Определение биохимических показателей функции печени, почек и щитовидной железы, а также гематологических показателей не выявило токсичности при лечении соединениями ванадия [75]. У больных инсулиннезависимым диабетом (находившихся на диете или же получавших пероральные гипогликемические препараты) прием по 100 мг сульфата ванадила в день в течение трех недель приводил к снижению уровня глюкозы в крови и гликированного гемоглобина без изменения концентрации инсулина. Кроме того, обнаружено усиление индуцированного инсулином транспорта глюкозы и биосинтеза гликогена. Такое улучшение чувствительности к инсулину сохранялось еще в течение двух недель после прекращения лечения [76]. Обнаружено также усиление ингибирующего действия инсулина на липолиз при приеме сульфата ванадила больными диабетом II типа [77]. Оценка эффективности и безопасности сульфата ванадила была продолжена авторами работы [78] на больных инсулиннезависимым диабетом, которые получали это соединение по 50 мг дважды в день в течение четырех недель. В результате лечения уровень глюкозы в плазме снижался на 20 %, а объективное улучшение состояния больных продолжалось еще в течение четырех недель после отмены препарата.

В работе [79] представлены результаты исследования возможных механизмов гипогликемического действия неорганических соединений ванадия при использовании более высоких концентраций сульфата ванадила. Ежедневный прием в течение шести недель двумя группами больных диабетом II типа соответственно по 150 мг или 300 мг сульфата ванадила у пациентов обеих групп вызывал существенное падение уровня глюкозы и гликированного гемоглобина, а у больных, принимавших высокую дозу препарата, также приводил к снижению общего содержания холестерина и липопротеинов высокой плотности. Изменений артериального давления у больных обеих групп обнаружено не было. Указанные эффекты сульфата ванадила сопровождались модификацией белков, участвующих в ранних этапах передачи гормонального сигнала в скелетной мышце (увеличением базального уровня фосфорилирования тирозина рецептора инсулина, IRS-1 и активацией фосфатидилинозитол-3-киназы, что не было синергичным по отношению к действию инсулина. В отличие от ранее полученных данных [76], не было обнаружено влияния сульфата ванадила на стимуляцию синтеза гликогена под действием инсулина.

## КООРДИНАЦИОННЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ВАНАДИЯ С ОРГАНИЧЕСКИМИ ЛИГАНДАМИ

Известно, что сульфат ванадила в 6—10 раз менее токсичен, чем ортованадат (V) натрия, однако оба соединения плохо всасываются в желудочно-кишечном тракте [80]. С целью улучшения абсорбции, терапевтической безопасности и эффективности были синтезированы различные органические соединения ванадия [80—82]. Не вызывает сомнения тот факт, что любое повышение эффективности использования соединений ванадия в терапии диабета без увеличения токсических эффектов очень важно в перспективе. Поэтому исследователи пришли к выводу о необходимости использования хелатных соединений ванадия, которые оказались гораздо более действенными, чем его неорганические соединения. Эти хелаты имеют важное общее свойство — легкость проникновения в клетки и распространения в тканях организма и, как следствие, повышение эффективности инсулиноподобного действия при незначительном повышении (а то и сохранении) индексов токсичности [8, 20, 22].

Как отмечалось ранее в разделе “Введение”, при оценке любых металлокомплексов, в том числе и хелатов ванадия, в качестве потенциальных фармакологических агентов, весьма желательно, чтобы они обладали набором определенных свойств:

- низким молекулярным весом;
- нейтральным зарядом;
- достаточной термодинамической и гидролитической стабильностью;
- отсутствием токсичных продуктов метаболизма;
- пероральным способом введения;
- липофильно-гидрофильным балансом (т. е. необходимой для метаболизма растворимостью как в водной среде, так и в липидах);
- способностью к трансмембранному транспорту;
- высоким выходом при их синтезе;
- небольшой стоимостью.

Поскольку мембраны состоят в основном из липидов, полагают, что липофильные комплексы должны проникать через них гораздо легче; но гидрофильностью нельзя пренебрегать, потому что вода — основной компонент организма [83]. Лишь немногие ионы металлов имеют характерный активный или облегченный механизм трансмембранного транспорта и среди них ионы таких

эссенциальных металлов, как медь, цинк, железо [84]. Как отмечалось ранее, ванадий является условно эссенциальным элементом и в настоящее время для него неизвестны механизмы активного транспорта в клетки млекопитающих [22]. Ионы большинства неэссенциальных металлов, как полагают, проникают сквозь клеточные мембраны путем пассивной диффузии в виде нейтральных металлокомплексов, устойчивых к гидролизу и имеющих низкую молекулярную массу [85].

Лиганды, образующие такие металлокомплексы, должны обладать способностью к модулированию редокс-потенциала, скорости процесса переноса электрона и магнитного момента связанного с ними иона металла [86]. Физико-химические свойства лиганда, особенно его гидрофильно-липофильный баланс, как отмечалось выше, имеют важное значение для процесса транспорта иона металла через биомембрану. [87]

В зависимости от природы лигандов можно теоретически предсказать особенности стереохимии комплекса, в частности возможное искажение и внутреннее напряжение в его структуре [88], а также изменение электронных характеристик иона металла в результате комплексообразования [89]. Другие свойства, такие как сольватация, стабильность связи с различными биомолекулами прогнозировать значительно сложнее, особенно основываясь лишь на эмпирических предположениях [90].

Достаточно прочная связь между лигандом и металлом должна тормозить процесс его замещения в комплексе *in vivo* на эндогенные лиганды, как низкомолекулярные (например, цитрат, аскорбат, глутатион), так и высокомолекулярные (например, трансферрин и альбумин) [91]. Приемлемой стратегией для оптимизации функциональных возможностей лигандов может стать включение в их структуру атома серы, способного к координационному взаимодействию *in vivo* с ферментами [92], или фрагмента молекулы углевода, содействующего трансмембранному переносу [84].

Одной из проблем является то, что множество фармакологически важных металлокомплексов (в том числе и ванадия) активно подвергаются гидролизу в водной среде [93]. Особенно актуальна эта проблема для комплексов с органическими лигандами, так как их константы устойчивости не очень велики, а применяемые *in vivo* концентрации весьма малы (от микро- до миллимолярных). В связи с этим при дизайне фармакологически активных металлокомплексов необходимо учитывать термодина-

мические и кинетические характеристики процессов их образования и диссоциации. В случае координационных соединений ванадия с инсулиномиметическим действием, для доставки ионов металла к соответствующим мишеням (печени, жировым тканям и скелетным мышцам), участвующим в регулировании метаболизма глюкозы, их диссоциация должна происходить с относительно невысокой скоростью для предотвращения быстрого гомеостатического удаления ванадия, который может легко выводиться из организма в виде неорганических солей ванадия (IV, V) [94, 95].

В дополнение к перечисленным характеристикам, “идеальный металлокомплекс” не должен активизировать окислительный стресс, обычно сопровождающий диабет обоих типов [96].

Термин “инсулиномиметик” является не совсем точным отчасти по той причине, что, как отмечалось выше, соединения ванадия не могут полностью воспроизвести все многообразие эффектов инсулина [97]. Они способны имитировать лишь некоторые функции инсулина и, что наиболее существенно, эта способность не может быть реализована при полном отсутствии инсулина. Поэтому антидиабетические эффекты координационных соединений ванадия большинство исследователей рассматривает как усиление активности инсулина [98]. Следует подчеркнуть, что с биохимической точки зрения, для того чтобы металлокомплекс был эффективным при лечении диабета II типа, он не должен увеличивать секрецию инсулина, а действовать как агент, который частично замещает гормон или усиливает его активность [99].

На основании этого подхода к дизайну металлокомплексов были синтезированы соответствующие комплексы ванадия (IV, V), наиболее характерные из которых рассмотрены ниже.

1. Производные пирона и пиридинона. Из лигандов, подходящих для дизайна инсулиномиметических ванадийсодержащих комплексов, именно эти производные были признаны оптимальными. Мальтол и его производные обладают характерной биологической активностью и низкой токсичностью [100, 101]. Все приведенные ниже лиганды имеют заместители, которые улучшают растворимость в воде и устойчивость к гидролизу, а также обеспечивают необходимую липофильность соответствующих комплексов [89, 101—103].

На рис. 4.1 схематически представлены структуры лигандов, наиболее часто используемых на практике для получения ванадийсодержащих комплексов. Эти бидентатные лиганды,

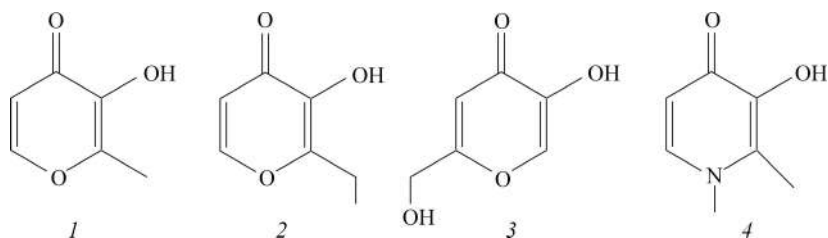


Рис. 4.1. Наиболее часто используемые лиганды для получения ванадийсодержащих комплексов:

1 — 3-гидрокси-2-метил-4-пирон (мальтол); 2 — 3-гидрокси-2-этил-4-пирон (этилмальтол); 3 — 5-гидрокси-2-гидроксиметил-4-пирон (койевая кислота); 4 — 1,2-диметил-3-гидрокси-4-пиридион

легко образующие депротонированные формы (соответственно  $pK_{a,1}=8,38$ ,  $pK_{a,2}=8,78$ ,  $pK_{a,3}=7,72$  [104]), могут образовывать ванадийсодержащие нейтральные комплексы.

Наиболее хорошо изученным является соединение (1), бис(мальтолато)оксованадий (IV) (BMOV), — комплекс ванадил-иона с мальтолом (широко распространенная пищевая добавка, в том числе в Канаде, Британии и США) [53, 73, 80, 104—108]. Его строение схематически представлено на рис. 4.2.

При синтезе выход этого соединения от теоретического составляет порядка 90 %. Комплекс имеет относительно небольшую молярную массу (317 г/моль) и в количествах, необходимых для терапевтических целей, хорошо растворим как в воде, так и в основных органических растворителях [104]. Он достаточно устойчив ( $pK_1=8,80$ ,  $pK_2=7,51$ ,  $\log\beta_2=16,31$ ), имеет квадратно-пирамидальную форму, а также характерный для ванадил-иона неспаренный электрон [104]. Комплекс характеризуется высокой биодоступностью при пероральном приеме, является эффек-

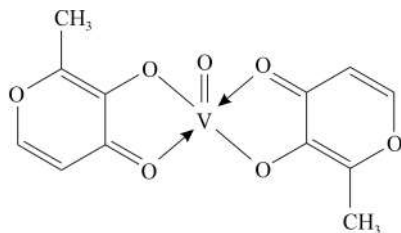


Рис. 4.2. Бис(мальтолато)оксованадий (IV) (BMOV)

тивным глюкозо- и липидопонижающим инсулиномиметиком, при этом его активность не зависит от того, насколько регулярно он принимается. В среднем этот комплекс способен депонироваться в костной ткани, печени и почках в 2—3 раза больше при пероральном приеме, чем сульфат ванадила [73]. Наряду с нормализацией уровня глюкозы

в крови ВМОВ предотвращает вторичные осложнения диабета, такие как сердечно-сосудистые нарушения и развитие катаракты [109]. Таким образом, этот комплекс имеет все необходимые для практического применения свойства и является наиболее перспективным для использования в терапии диабета.

Для сравнения следует отметить, что устойчивость к гидролизу и липофильность у комплекса ванадил-иона с этилмалтолом (2), бис(этилмалтолато)оксованадий (IV), (БЕОВ), несколько выше и метаболизирует он более продолжительное время, особенно в костной ткани и печени, чем ВМОВ, однако растворимость его в воде незначительно снижается; устойчивость же к окислению практически не изменяется [110]. Это соединение проходит клинические испытания.

2. Производные пиколиновой кислоты. Среди соединений общей формулы  $V^{IV}OL_2$ , где L — бидентатный лиганд, есть и другие примеры комплексов с установленной инсулиномиметической активностью *in vivo*, общая структурная формула которых схематически представлена на рис. 4.3. Из них следует выделить два производных: бис(пиколинато)оксованадий (IV) [111, 112], если  $R=H$ , и бис(метилпиколинато)оксованадий (IV), если  $R=CH_3$  [113, 114].

Они малорастворимы в воде, причем на воздухе водные растворы подвержены постепенному окислению. В инертной атмосфере в твердом состоянии или в виде 5 %-ной суспензии в гуммиарабике для перорального приема комплексы достаточно стабильны [8]. Установлено, что инсулиномиметическое действие этих комплексов в значительной степени зависит от дозы и способа введения. Оптимальные результаты были получены при пероральном приеме  $0,2 \text{ ммоль} \cdot \text{кг}^{-1}$  бис(пиколинато)оксованадий (IV) в течение 2 дней, а затем  $0,1 \text{ ммоль} \cdot \text{кг}^{-1}$  в течение 11 дней: уровень глюкозы в плазме приходил в норму при исследовании на модели стрептозотоцинового диабета у крыс (модели инсулинзависимого диабета) [115]. При интраперитонеальном введении этого комплекса в указанной выше дозировке уровень глюкозы в плазме снижался, что сопровождалось значительным увеличением билирубина.

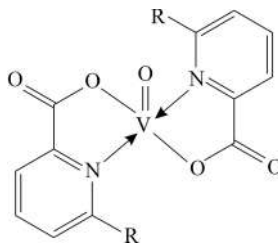


Рис. 4.3. Оксо-бис(пиколинато)ванадий (IV) ( $R=H, CH_3$ )

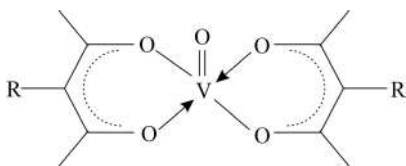


Рис. 4.4. Схематическое изображение структуры ацетилацетонатных комплексов

Поскольку инсулиномиметическое действие бис(метилпиколinato)оксованадия (IV) оказалось более продолжительным по сравнению с бис(пиколinato)оксованадием (IV) при равных условиях приема, то именно этот комплекс был выбран для дальнейших испытаний

[113, 115]. С другой стороны, сравнение этих производных пиколиновой кислоты с ВМОВ оказывается не в пользу первых: они имеют более низкую растворимость и оказывают раздражающее действие на желудочно-кишечный тракт, что лишь подтверждает необходимость дальнейшей структурной модификации комплексов для увеличения биодоступности и снижения побочных эффектов.

3. Ацетилацетонаты. Синтез и характеристики подобных соединений впервые были описаны примерно век назад, однако в качестве полноценных инсулиномиметиков их стали рассматривать сравнительно недавно [105, 116, 117]. Общая структурная формула таких соединений схематически представлена на рис. 4.4.

Наиболее распространенными комплексами подобного типа являются бис(2,4-пентандионато-*O,O*)оксованадий (IV) (если  $R=H$ ), бис(3-метил-2,4-пентандионато-*O,O*)оксованадий (IV) (если  $R=CH_3$ ) и бис(3-этил-2,4-пентандионато-*O,O*)оксованадий (IV) (если  $R=C_2H_5$ ).

В исследованиях *in vitro* эти комплексы показали более высокую эффективность по сравнению с сульфатом ванадила при стимулировании липогенеза в изолированных жировых клетках, а также при стимулировании активности протеинкиназы цитозоля [32]. Интраперитонеальное введение бис(2,4-пентандионато-*O,O*)оксованадия (IV) ( $25 \text{ ммоль} \cdot \text{кг}^{-1}$ ) незначительно понижало содержание глюкозы в плазме при исследовании на модели стрептозотоцинового диабета у крыс, но не приводило его в норму, а бис(3-этил-2,4-пентандионато-*O,O*)оксованадий (IV) в аналогичной дозировке вовсе не проявил активности [53]. Оказалось, что ВМОВ и ацетилацетонаты проявили сопоставимую умеренную эффективность относительно снижения уровня глюкозы при приеме перорально с питьевой водой ( $0,4 \text{ ммоль} \cdot \text{л}^{-1}$ ) на протяжении 8 недель, однако их активность значительно отличалась от действия сульфата ванадила в аналогичной дозировке.

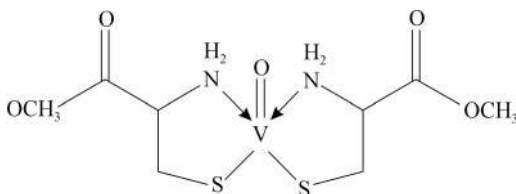


Рис. 4.5. Комплекс ванадия (IV) с метиловым эфиром цистеина

Если сравнить отношение введенного ванадия к его содержанию в плазме для вышеуказанных групп комплексов с органическими лигандами и сульфата ванадила, то у последнего оно значительно выше, что подчеркивает существенное различие в их физиологическом действии [53]. Подобно неорганическим формам, соединения ванадия с органическими лигандами снижали характерные симптомы диабета — полифагию и полидипсию у животных, но не вызывали диарею. По мнению авторов [8, 18, 20, 22, 53], эти органические соединения ванадия являются более эффективными и безопасными по сравнению с неорганическими.

4. Сложнолигандные комплексы оксованадия (IV). Серия билигандных комплексов оксованадия (IV) была исследована на модели стрептозотоцинового диабета у крыс [118]. В качестве лигандов использовали салицилат, оксалат, малонат, тартрат и метиловый эфир цистеина (рис. 4.5).

Одним из преимуществ этой группы комплексов является относительная легкость и доступность синтеза и высокий выход продукта. Высокую инсулиноподобную активность (определяемую по нормализации уровня глюкозы и свободных жирных кислот в крови экспериментальных животных) проявил бис(пирролидин-*N*-карбодитиоато)оксованадий (IV) (рис. 4.6) [119]. Комплекс синтезируется с 96 % -ным выходом из сульфата ванадила и пирролидин-*N*-карбодитиоата аммония в этаноле.

Этот комплекс известен достаточно давно, но лишь в последнее время был проверен на инсулиномиметическую активность. Следует отметить, что он хорошо растворим во многих органических растворителях (диметилсульфоксиде, пиридине, диметил-

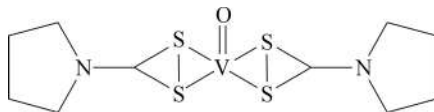


Рис. 4.6. Бис(пирролидин-*N*-карбодитиоато)оксованадий (IV)



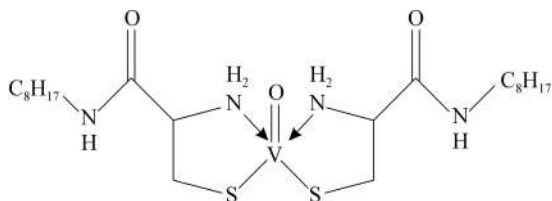


Рис. 4.7. Бис(*N*-октил-цистеинамидо)оксованадий (IV), “Нагливан”

формамиде), но мало растворим в воде, метаноле, этаноле, а также нестабилен при хранении на воздухе. Естественно, эти характеристики могут повлиять на его выбор для использования в медицинской практике. Однако результаты сравнительного исследования инсулиноподобного действия комплексов оксованадия (IV), включавших различные координационные узлы ( $\text{VO}(\text{S}_2\text{N}_2)$ ,  $\text{VO}(\text{S}_4)$ ,  $\text{VO}(\text{S}_2\text{O}_2)$ ,  $\text{VO}(\text{O}_2\text{N}_2)$ ,  $\text{VO}(\text{O}_4)$ ), показали, что комплексы, содержащие фрагменты  $\text{VO}(\text{S}_4)$  и  $\text{VO}(\text{S}_2\text{O}_2)$ , оказались наиболее эффективными инсулиномиметиками на модели стрептозотоцинового диабета у крыс при пероральном введении [120].

Бис(*N*-октилцистеинамидо)оксованадий (IV), под названием “Нагливан” (рис. 4.7), нерастворимый в воде, оказался в 7 раз более эффективным гипогликемическим агентом, чем сульфат ванадила [81]. Однако его синтез сложнее (двухэтапный), чем у рассмотренных выше сложнолигандных комплексов, и, к сожалению, выход конечного продукта в нем не превышает 10 %.

Это соединение плохо растворимо в воде, однако может применяться в виде суспензии в 3 %-ном гуммиарабике для перорального применения.

Наряду с рассмотренными выше лигандами в дизайне комплексов-инсулиномиметиков была предпринята попытка использовать лиганды, которые сами обладают гипогликемической активностью и используются как пероральные лекарственные средства [121], с тем, чтобы обеспечить синергистическое или, по крайней мере, аддитивное действие ванадил-иона и лиганда, а также минимизировать их нежелательные побочные эффекты. Такими лигандами являются бигуанидные производные: бигуанид (если  $\text{R}_1=\text{R}_2=\text{H}$ ) и метформин (если  $\text{R}_1=\text{R}_2=\text{CH}_3$ ). Например, метформин в фармацевтической практике используется для повышения уровня инсулина в крови как индивидуально, так и в комбинации с другими гипогликемическими препаратами [8, 20, 22]. Комплекс бис(бигуанидато)оксованадий (IV) син-

тезируется из водного раствора сульфата ванадила в соотношении 1:2 с калиевой солью соответствующего производного [121].

При депротонировании бидентатные бигуаниды действуют как сильные основания Льюиса, которые незамедлительно связываются с  $VO^{2+}$ , являющейся сильной кислотой Льюиса; при этом рассматривая возможную структуру комплекса (рис. 4.8), учитывая,

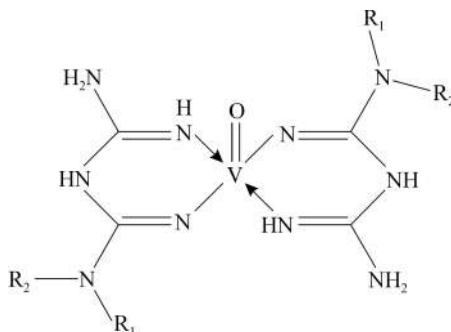


Рис. 4.8. Схематическое изображение структуры комплексов бис(бигуанидато)оксованадия (IV)

что бигуаниды имеют очень высокие первые константы диссоциации и гораздо более низкие вторые [8, 20, 22].

Способность этих комплексов понижать уровень глюкозы в плазме сопоставима с таковой у ранее рассмотренных в данном разделе комплексов BMOV и BEOV, а пролонгирующий эффект даже ниже. Кроме того, эти комплексы плохо растворимы в воде и в большинстве органических растворителей, что делает проблемным их дальнейшую разработку для медицинской практики.

Для решения проблемы повышения стабильности и растворимости комплексов-инсулиномиметиков в различных средах было предложено использовать вместо двух бидентатных лигандов один четырехдентатный. Согласно термодинамическим принципам комплексообразования, это должно обеспечивать повышение стабильности комплекса благодаря усилению хелатного эффекта [122]. Интересными для такого дизайна оказались Шиффовы основания — салицилиденимины [123]. Такие лиганды обеспечивают координационное окружение, эффективно стабилизирующее комплексы ванадия в различных степенях окисления, и, кроме того, обладают способностью связывать другие молекулы. Схематическое изображение структуры одного из таких комплексов представлено на рис. 4.9. Он может быть получен смешением эквимольных количеств метанольных растворов ацетилацетоната ванадия (III) и  $N,N'$ -дисалицилиденэтилендиамина и перемешиванием в течение не менее 12 ч в открытом сосуде; выход продукта составляет более 95 % [124].

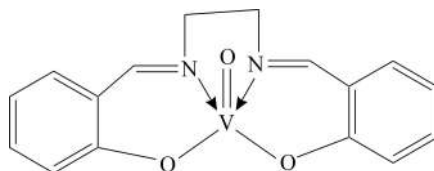


Рис. 4.9. (*N,N'*-дисалицилиденэтилендиамин)оксованадий (IV)

Этот комплекс стабилен на воздухе, достаточно растворим в воде и в органических растворителях и эффективно понижает уровень глюкозы в крови при пероральном приеме, однако его активность в отношении соответствующих ферментов углеводного обмена столь велика, что возникает серьезный риск развития гипогликемии, что пока не позволяет рассматривать его как потенциальный инсулиномиметик для практического использования.

Другие органические комплексы оксованадия (IV) с тетраденатными лигандами *N*-алкилированными производными глицина и метионина [ $[VO(X)(H_2O)]$ ], где X — производное аминокислоты) (рис. 4.10) показали хорошие результаты по снижению уровня глюкозы, холестерина и триглицеридов в крови и повышению содержания гликогена в тканях животных со стрептозотоциновым диабетом, особенно комплекс с метионином, и оказались значительно лучшими ингибиторами, чем сульфат ванадила [82].

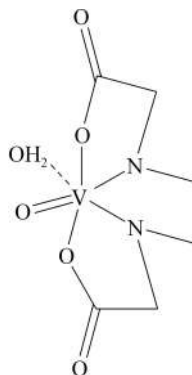


Рис. 4.10. Схематическое изображение структуры гидратированного комплекса оксованадия (IV) с производными аминокислот

Исследование комплексов-инсулиномиметиков с аминокислотами не является единственным вариантом комплексов ванадила с органическими лигандами, являющимися естественными метаболитами организма человека. Заслуживает внимания работа [2], в которой описан синтез нового комплекса L-яблочной кислоты — бис(L-малато)оксованадия (IV) (“Ванадола”), а также его гипогликемические и токсические свойства. По мнению авторов этой разработки, входящая в состав этого комплекса L-яблочная кислота, активируя малатный шунт, будет давать клеткам печени и сердца дополнительную энергию. Исследования острой токсичности ряда соединений ванадия на экспериментальных животных показали,

что значения  $LD_{50}$  для ортованадата (V) натрия, сульфата ванадила, ВMOV и бис(L-малато)оксованадия (IV) при введении их в желудок составляют соответственно 36, 95, 249 и 280 мг V/кг [2]. Таким образом, токсичность “Ванадола” существенно ниже, чем у неорганических соединений ванадия и несколько ниже, чем у ВMOV. В табл. 4.1 представлены сравнительные данные по оценке эффективности различных ванадийсодержащих соединений.

Таблица 4.1

**Сравнение эффективности гипогликемического действия соединений ванадия у крыс со стрептозотоциновым диабетом**

Соединения ванадия	Минимально эффективная доза (ммоль V/кг в день)
Сульфат ванадила	0,46
Ортованадат (V) натрия	0,20
Метаванадат (V) натрия	0,26
Бис(мальтолато)оксованадий (IV) (ВMOV)	0,18
Бис(L-малато)оксованадий (IV) (“Ванадол”)	0,04
Бис(N-октилцистеинамидо)оксованадий (IV) (“Нагливан”)	0,06

Как следует из этой таблицы, “Ванадол” оказался эффективнее ВMOV сравним с нагливаном, причем в отличие от последнего, хорошо растворим в воде. Отметим, что доклинические испытания ванадола не выявили противопоказаний для проведения его клинических испытаний.

5. Пероксованадаты (V) как потенциальные ингибиторы протеинтирозинфосфатазы. Были синтезированы также пероксованадиевые комплексы, которые обладали инсулиноподобным эффектом и в микромолярных концентрациях стимулировали липогенез, ингибировали липолиз и усиливали биосинтез белка в адипоцитах крыс [125]. Существует несколько структурных типов пероксованадатов (V), которые рассматриваются ниже.

Схематическое изображение координационной сферы дипероксованадатов (V) с общей формулой  $[VO(O_2)_2(L-L')]^n-$  представлено на рис. 4.11.

Одни из самых первых синтезированных дипероксованадатов (V), оксидипероксо(пиридин-2-карбоксилато)ванадат (V) ка-

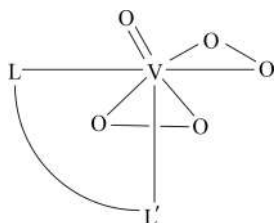


Рис. 4.11. Координационная сфера дипероксованадатов (V)

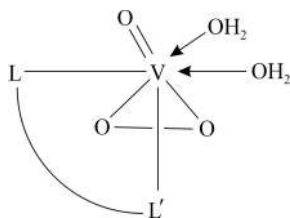


Рис. 4.12. Координационная сфера монопероксованадатов (V)

лия и оксодиперксо(3-гидроксипиридин-2-карбоксилато)ванадат (V) калия, были своеобразными последователями аналогичных комплексов хрома, которые улучшали проницаемость мембран и повышали уровень инсулина в крови [126—128]. Несмотря на то, что эти комплексы очень устойчивы в твердом состоянии, они имеют тенденцию к разложению в водных растворах. Были исследованы более десятка различных дипероксованадных комплексов. Самыми стабильными из них оказались производные 1,10-фенантролина, которые также продемонстрировали умеренную инсулиномиметическую активность [129, 130].

Исследованы также монопероксованадаты (V), состав которых соответствует общей формуле  $[VO(O_2)(H_2O)_2(L-L')]^{n-}$  (рис. 4.12), для выявления инсулиноподобного действия *in vitro* и *in vivo* при пероральном и подкожном введении [131].

Среди пероксокомплексов особо следует выделить — дигидрат оксопероксопиридинаванадат (V), который эффективно снижал содержание глюкозы в плазме крови на 20 % при исследовании на модели стрептозотоцинового диабета у крыс в дозах, не превышавших  $0,4 \mu\text{M} \cdot \text{кг}^{-1}$  (при этом летальная доза комплекса в 15 раз выше) [131]. Тем не менее, несмотря на исследования пероксокомплексов такого состава с самыми разными лигандами, в том числе и гетеролигандами (рис. 4.13), получить достаточно стабильный в водных растворах комплекс не удалось [132].

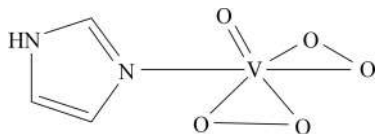


Рис. 4.13. Дипероксованадат (V), содержащий имидазол

К тому же все соединения такого типа являются, как правило, активными участниками окислительно-восстановительных процессов, протекающих в организме [20, 22]. Эти факторы лимитируют применение этих и аналогичных комплексов на практике.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Приведенные в этом разделе данные свидетельствуют о том, что соединения ванадия имитируют многие эффекты инсулина, и действие их обусловлено влиянием на активность целого ряда регуляторных ферментов тремя основными путями: на уровне биосинтеза ферментов, посредством влияния на процессы фосфорилирования-дефосфорилирования, регулирующие активность ферментов, и путем ингибирования активности ферментов, связанных с переносом фосфатных групп. Торможение активности протеинтирозинфосфатаз, по-видимому, является начальным звеном, запускающим цепь последовательных реакций, приводящих к биологическому ответу клетки. Промежуточные звенья на этом пути пока не установлены.

В настоящее время инсулин является необходимым средством для больных диабетом I типа, а также для многих больных диабетом II типа. У больных диабетом II типа соединения ванадия, улучшающие чувствительность к инсулину, по-видимому, смогут найти применение в качестве монотерапии или же совместно с другими антидиабетическими препаратами. Применение ванадийсодержащих соединений больными диабетом I типа позволит снизить дозу вводимого инсулина, а, возможно, и отказаться от него. Таким образом, можно надеяться, что открытие лекарственных агентов для лечения сахарного диабета на основе комплексов ванадия позволит создать новое поколение терапевтических средств для лечения сахарного диабета I и II типов.

Помимо гипогликемического эффекта, соединения ванадия обладают также антигипертензивной и антихолестеринемической активностью [133, 134]. Кроме того, ванадийсодержащие соединения проявляют противоопухолевое действие [135]. Известна программа по лечению ревматоидных артритов и остеоартритов, которая основывается на данных о том, что ортованадат (V) натрия ингибирует ферменты, участвующие в процессах, ведущих к разрушению суставов [18, 20, 22]. Следует подчеркнуть, что исходя из биологических эффектов, ванадийсодержащие соединения являются скорее лекарственными средствами, чем пищевыми добавками. Тем не менее многие фармацевтические фирмы, включая очень крупные, стараются продвинуть на рынок альтернативные средства для лечения сахарного диабета, известные как биодобавки — «нутрицевтики» [136]. Для больных диабетом используются биодобавки, содержащие витамины

С, Е, никотиновую кислоту в виде никотинамида и такие минеральные составляющие, как цинк, хром и ванадий [137]. В настоящее время за рубежом соединения ванадия в виде неорганических солей (в основном сульфата ванадила) рекомендуются в качестве биодобавок для больных сахарным диабетом, при этом ежедневное потребление соединения ванадия с пищей составляет от 10 мкг до 2 мг в зависимости от диеты.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Базисная и клиническая фармакология: В 2 т. / Под ред. Б. Г. Катцунга. СПб., 1998.
2. Голубев М. А., Городецкий В. К., Беллева Н. Ф. // Южно-Росс. мед. журн. 1999. № 4—5. С. 91—96.
3. Машковский М. Д. Лекарственные средства. Т. 2. Харьков: Торсинг, 1998. С. 20—27.
4. Fujiwara T., Okuno A., Yoshioka S., Horikoshi H. // Metabolism. 1995. Vol. 44. 486—490.
5. Poucheret P., Verma S., Grynpsas M. D., McNeill J. H. // Mol. Cell. Biochem. 1998. Vol. 188. P. 73—80.
6. Thompson K. H. // BioFactors. 1999. Vol. 10. P. 43—51.
7. Badmaev V., Prakash S., Majeed M. // J. Alternat. Complement. Medicine. 1999. Vol. 5. P. 273—291.
8. Thompson K. H., McNeill J. H., Orvig C. // Chem.. Rev. 1999. Vol. 99. P. 2561—2571.
9. Hylliger C. E., Tahiliani A. R., McNeill J. H. // Science. 1985. Vol. 227. P. 1474—1477.
10. McNeill J. H., Delgatty H., Batell M. L. // Diabetes. 1991. Vol. 40. P. 1448—1452.
11. Barbera A., Rodrigues-Gil J. E., Guinovart J. J. // J. Biol. Chem. 1994. Vol. 269. P. 20047—20052.
12. Sakurai H., Kojima Y., Yoshikawa Y. et al. // Coord. Chem. Rev. 2002. Vol. 226. P. 187—198.
13. Thompson K. H., Chiles J., Yuen V. G. et al. // J. Inorg. Biochem. 2004. Vol. 98. P. 683—690.
14. Brichard S. M., Lederer J., Henquin J. C. // Diabete Metabolisme. 1991. Vol. 17. P. 435—440.
15. Brichard S. M., Henquin J. C. // Trends Pharmacol. Sci. 1995. Vol. 16. № 8. P. 265—270.
16. Orvig C., Thompson K. H., Battel M., McNeill J. H. // Met. ions biol. syst. 1995. Vol. 31. P. 575—594.
17. Sekar N., Li J., Shechter Y. // Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol. 1996. Vol. 31. P. 339—359.
18. Thompson K. H., Orvig C. // Coord. Chem. Rev. 2001. Vol. 219—221. P. 1033—1053.

19. *Shechter Y., Goldwaser I., Mirinchik M.* et al. // *Coord. Chem. Rev.* 2003. Vol. 237. P. 3—11.
20. *Use of Inorganic Chemistry in Medicine* / Ed. N. P. Farrell. Cambridge: RSC, 1999.
21. *Crans D. C., Smee J. J., Gaidamauskas E., Yang L.* // *Chem. Rev.* 2004. Vol. 104. P. 849—902.
22. *Metallotherapeutic Drugs and Metal-Based Diagnostic Agents. The Use of Metals in Medicine* / Eds. M. Gielen, E. R. T. Tiekink. Weinheim: Wiley-VCH, 2005.
23. *Nechay B. R., Nanninga L. B., Nechay P. S. E.* et al. // *Fed. Proc.* 1986. Vol. 45. P. 123—132.
24. *Harland B. F., Harden-Williams B. A.* // *J. Am. Diet. Assoc.* 1994. Vol. 94. P. 891—894.
25. *Shechter Y., Shisheva A.* // *Endevour.* 1993. Vol. 17. C. 27—33.
26. *Lyonett B. M., Martin E.* // *La Press Medicale.* 1899. Vol. 1. P. 191—192.
27. *Aureliano M., Gandara R. M. C.* // *J. Inorg. Biochem.* 2005. Vol. 99. P. 979—985.
28. *Baran E. J.* // *J. Inorg. Biochem.* 2000. Vol. 80. P. 1—10.
29. *Rehder D.* // *BioMetals.* 1992. Vol. 5. P. 3—12.
30. *Garner M., Reglinski J., Smith W. E.* et al. // *J. Biol. Inorg. Chem.* 1997. Vol. 2. P. 235—241.
31. *Nechay B. R.* // *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1984. Vol. 24. P. 501—524.
32. *Li J., Elberg G., Crans D.C., Shechter Y.* // *Biochemistry.* 1996. Vol. 35. P. 8314—8318.
33. *Sakurai H., Tsuchiya K., Nukatsuka M.* // *J. Endocrinol.* 1990. Vol. 126. P. 451—459.
34. *Chasteen N. D.* // *Struct. Bond.* 1983. Vol. 53. P. 105—138.
35. *Crans D. C.* // *Comments Inorg. Chem.* 1994. Vol. 16. P. 35—76.
36. *Stankiewicz P. J., Tracey A. S., Crans D. C.* // *Met. ions biol. syst.* 1995. Vol. 31. P. 287—324.
37. *Aureliano M., Madeira V. M. C.* // In: *Vanadium in the Environment. Part 1: Chemistry and Biochemistry* / Ed. J. O. Nriagu. New York: John Wiley, 1998. P. 333—357.
38. *Aureliano M., Madeira V. M. C.* // *Biochim. Biophys. Acta.* 1994. Vol. 1221. P. 259—271.
39. *Chasteen N. D., Lord E. M., Thompson H. J., Grad J. K.* // *Biochim. Biophys. Acta.* 1986. Vol. 884. P. 84—91.
40. *Ramanadham S., Cros G. H., Mongold J. J.* // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 1990. Vol. 68. P. 486—491.
41. *Dubyak G. R., Kleinzeller A.* // *J. Biol. Chem.* 1980. Vol. 255. P. 5306—5312.
42. *Okumura N., Shimazu T.* // *J. Biochem. (Tokyo).* 1992. Vol. 112. P. 107—111.
43. *Amir S., Meyerovich J., Shechter Y.* // *Brain Res.* 1987. Vol. 419. P. 392—397.
44. *Brichard S. M., Bailey C. J., Henquin J. C.* // *Diabetes.* 1990. Vol. 11. P. 1126—1132.



45. Shechter Y. // Diabetes. 1990. Vol. 39. P. 1—5.
46. Paquet R. J., Romanek M. R., Sargeant R. G. // Mol. Cell. Biochem. 1992. Vol. 109. P. 149—155.
47. Strout H. V., Vicario P. P., Biswis C. // Endocrinology. 1990. Vol. 126. P. 2728—2732.
48. Brichard S. M., Desbuguiois B., Girard J. // Mol. Cel. Endocrinol. 1993. Vol. 91. P. 91—97.
49. Meyerovitch J., Rothenberg P., Shechter Y. // J. Clin. Invest. 1991. Vol. 84. P. 976—983.
50. Brichard S. M., Henquin J. C. // Trends Pharmacol. Sci. 1995. Vol. 16. P. 265—270.
51. Tamura S., Brown T. A., Dubler R. E., Larner J. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1983. Vol. 113. P. 80—86.
52. Gil J., Miralpeix M., Carreras J., Bartrons R. // J. Biol. Chem. 1988. Vol. 263. P. 1868—1871.
53. Reul B. A., Amin S. S., Buchet J. P. // Br. J. Pharmacol. 1999. Vol. 126. P. 467—477.
54. Pilkis S. J., El-Maghrabi // Ann. Rew. Biochem. 1988. Vol. 57. P. 755—783.
55. Van Schaftingen E. // Adv. Enzymol. 1987. Vol. 59. P. 315—395.
56. Коровкин Б. Ф., Беллева Н. Ф., Голубев М. А. // Клин. лаб. диагностика. 1994. № 2. С. 21—23.
57. Sochor M., Kunjara S., Ali M., McLean P. // Biochem. Int. 1992. Vol. 28. P. 525—531.
58. Gupta D., Raju J., Baquer N. Z. // Indian. J. Exp. Biol. 1999. Vol. 37. P. 196—199.
59. Monge L., Cabello M. A., Samper B. // Diab. Metab. 1988. Vol. 14. P. 712—716.
60. Murano K., Inoue Y., Emoto M. // Eur. J. Pharmacol. 1994. Vol. 254. P. 257—262.
61. White M. F., Kahn C. R. // J. Biol. Chem. 1994. Vol. 269. P. 1—5.
62. Hei Y. P., Farahbakhshian S., Chen X. // Mol. Cel. Biochem. 1998. Vol. 178. P. 367—375.
63. Pandey S. K., Anand-Srivastava M. B., Srivastava A. K. // Biochemistry. 1998. Vol. 37. P. 7006—7014.
64. Pugazhenthii S., Khandelwal R. L. // Mol. Cel. Biochem. 1993. Vol. 127—128. P. 211—218.
65. Shisheva A., Shechter Y. // Endocrinology. 1993. Vol. 133. P. 1562—1568.
66. Green A. // Biochem. J. 1986. Vol. 238. P. 663—669.
67. Fantus G., Tsiani E. // Mol. Cell. Biochem. 1998. Vol. 182. P. 109—119.
68. Macara I. G. // Trends Biochem. Sci. 1980. Vol. 5. P. 92—94.
69. Ramanadham S., Brownsey R. W., Cros G. H. // Metabolism. 1989. Vol. 38. P. 1022—1025.
70. Cantley L., Resh M., Guidotti G. // Nature. 1978. Vol. 272. P. 552—554.
71. Sekar N., Qian S., Shechter Y. // Endocrinol. 1998. Vol. 139. P. 2514—2518.

72. *Rider M. H., Bartrons R., Hue L.* // Eur. J. Biochem. 1990. Vol. 190. P. 53—56.
73. *Setyawati I. A., Thompson K. H., Yuen V. G.* // J. Amer. Physiol. 1998. Vol. 84. P. 569—575.
74. *Cros G. H., Cam M. C., Serrano J. J.* // Mol. Cel. Biochem. 1995. Vol. 153. P. 191—195.
75. *Goldfine A. B., Simonson D. C., Folli F.* // J. Clin. Endocrinol. Metab. 1995. Vol. 80. P. 3311—3320.
76. *Cohen N., Halberstam M., Shlimovich P.* // J. Clin. Invest. 1995. Vol. 95. P. 2501—2509.
77. *Halberstam M., Cohen N., Shlimovich P.* // Diabetes. 1996. Vol. 45. P. 659—666.
78. *Boden G., Chen X., Ruiz J.* // Metabolism. 1996. Vol. 45. P. 1130—1135.
79. *Goldfine A. B., Patti M. E., Zuberi L.* // Metabolism. 2000. Vol. 49. P. 400—410.
80. *McNeill J. H., Yuen V. G., Hoveyda H. R., Orving C.* // J. Med. Chem. 1992. Vol. 35. P. 1489—1491.
81. *Cam M. C., Cros G. H., Serrano J. J.* // Diabetes Res. Clin. Pract. 1993. Vol. 20. P. 111—121.
82. *Nandhini D., Maneemegalai S., Elangovan V.* // Ind. J. Biochem. Biophys. 1993. Vol. 30. P. 73—76.
83. *Heeg M. J., Jurisson S. S.* // Acc. Chem. Res. 1999. Vol. 32. P. 1053—1059.
84. *Roat-Malone R. M.* Bioinorganic Chemistry. New York: John Wiley & Sons Inc., 2002.
85. *Schwietert C. W., McCue J. P.* // Coord. Chem. Rev. 1999. Vol. 184. P. 67—87.
86. *Guo Z., Sadler P. J.* // Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 1999. Vol. 38. P. 1512—1531.
87. *Rai B. L., Liu Z. D., Liu D. Y. et al.* // Eur. J. Med. Chem. 1999. Vol. 34. P. 475—485.
88. *Bygott A. M. T., Sargeson A. M.* // Inorg. Chem. 1998. Vol. 37. P. 4795—4804.
89. *Comba P.* // Coord. Chem. Rev. 1993. Vol. 123. P. 1—48.
90. *Weber M., Kuppert D., Hegetschweiler K., Gramlich V.* // Inorg. Chem. 1999. Vol. 38. P. 859—868.
91. *Harris W. R., Yang B., Abdollahi S., Hamada Y.* // J. Inorg. Biochem. 1999. Vol. 76. P. 231—241.
92. *Zhang M., Zhou M., Van Etten R. L., Stauffacher C. V.* // Biochemistry. 1997. Vol. 36. P. 15—23.
93. *Clevette D. J., Orvig C.* // Polyhedron. 1990 Vol. 9. P. 151—160.
94. *Setyawati I. A., Thompson K. H., Sun Y. et al.* // J. Appl. Physiol. 1998. Vol. 84. P. 569—579.
95. *Thompson K. H., McNeill J. H., Orvig C.* // Rev. Port. Quim. 1997. Vol. 4. P. 3—10.
96. *Wolff S. P., Jiang Z. Y., Hunt J. V.* // Free Radical Biol. Med. 1991. Vol. 10. P. 339—352.

97. *Elberg G., Li J., Shechter Y.* // In: Vanadium in the Environment. Part 2: Health Effects / Ed. J.O. Nriagu. Ch. 14. New York: J. Wiley & Sons, 1998.
98. *Cam M. C., Brownsey R. W., McNeill J. H.* // Can. J. Physiol. Pharmacol. 2001. Vol. 78. P. 829—847.
99. *Reaven G. M.* // Annu. Rev. Med. 1993. Vol. 44. P. 121—131.
100. *Barrand M. A., Callingham B. A., Hider R. C.* // J. Pharm. Pharmacol. 1987. Vol. 39. P. 203—210.
101. *Clevette D. J., Nelson W. O., Nordin A.* et al. // Inorg. Chem. 1989. Vol. 28. P. 2079—2091.
102. *Finnegan M. M., Rettig S. J., Orvig C.* // J. Am. Chem. Soc. 1986. Vol. 108. P. 5033—5040.
103. *Lord S. J., Epstein N. A., Paddock R. L.* et al. // Can. J. Chem. 1999. Vol. 77. P. 1249—1260.
104. *Caravan P., Gelmini L., Glover N.* et al. // J. Am. Chem. Soc. 1995. Vol. 117. P. 12759—12761.
105. *Thompson K. H., Yuen V. G., McNeill J. H., Orvig C.* // In: Vanadium Compounds. Chemistry, Biochemistry and Therapeutic Applications. ACS Symposium Series, vol. 711. Ch. 26. / Eds. A. S. Tracey, D. C. Crans. Washington, DC: ACS, 1998. P. 329—340.
106. *Burgess J., De Castro B., Oliveira C.* et al. // Polyhedron. 1997. Vol. 16. P. 789—799.
107. *Krejsa C. M., Nadler S. G., Esselstyn J. M.* et al. // J. Biol. Chem. 1997. Vol. 272. P. 11541—11547.
108. *Yuen V. G., Caravan P., Gelmini L.* // J. Inorg. Biochem. 1997. Vol. 68. P. 109—123.
109. *Yuen V. G., Orvig C., Thompson K. H., McNeill J. H.* // Can. J. Physiol. Pharmacol. 1993. Vol. 71. P. 270—276.
110. *Dikanov S. A., Liboiron B. D., Thompson K. H.* et al. // J. Am. Chem. Soc. 1999. Vol. 121. P. 11004—11012.
111. *Melchior M., Thompson K. H., Jong J. M.* et al. // Inorg. Chem. 1999. Vol. 38. P. 2288—2297.
112. *Sakurai H., K. Fujii K., Watanabe H., Tamura H.* // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1995. Vol. 214. P. 1095—1096.
113. *Fujisawa Y., Sakurai H.* // Chem. Pharm. Bull. 1999. Vol. 47. P. 1668—1675.
114. *Kiss E., Garribba E., Micera G.* et al. // J. Inorg. Biochem. 2000. Vol. 78. P. 97—112.
115. *Fujimoto S., Fujii K., Yasui H.* et al. // J. Clin. Biochem. Nutr. 1997. Vol. 23. P. 113—122.
116. *Morgan G. T., Moss H. W.* // J. Chem. Soc. 1914. Vol. 103. P. 78—86.
117. *Amin S. S., Cryer K., Zhang B.* et al. // Inorg. Chem. 2000. Vol. 39. P. 406—416.
118. *Sakurai H., Tsuchiya K., Nukatsuka M.* // J. Clin. Biochem. Nutrit. 1990. Vol. 8. P. 193—201.
119. *Watanabe H., Nakai M., Komazawa K., Sakurai H.* // J. Med. Chem. 1994. Vol. 37. P. 876—877.

120. Sakurai H., Sano H., Takino T., Yasui H. // J. Inorg. Biochem. 2000. Vol. 80. P. 99—105.
121. Woo L. C. Y., Yuen V. G., Thompson K. H. et al. // J. Inorg. Biochem. 1999. Vol. 76. P. 251—160.
122. Кукушкин Ю. Н. Химия координационных соединений. М.: Высш. шк., 1985.
123. Aly M. M. // J. Coord. Chem. 1998. Vol. 43. P. 89—97.
124. Durai N., Saminathan G. // J. Clin. Biochem. Nutr. 1997. Vol. 22. P. 31—38.
125. Fantus I. G., Kadota S., Deragon G. // Biochemistry. 1989. Vol. 28. P. 8864—8871.
126. Shaver A., Ng J. B., Hall D. A. et al. // Inorg.Chem. 1993. Vol. 32. P. 3109—3113.
127. Stearns D. M., Armstrong W. H. // Inorg. Chem. 1992. Vol. 31. P. 5178—5186.
128. Evans G. W., Bowman T. D. // J. Inorg. Biochem. 1992. Vol. 46. P. 243—251.
129. Shaver A., Ng J. B., Hynes R. C., Posner B. I. // Acta Crystallogr. 1994. Vol. C 50. P. 1044—1050.
130. Shaver A., Hall D. A., Ng J. B. et al. // Inorg. Chim. Acta. 1995. Vol. 229. P. 253—259.
131. Yale J.-F., Lachance D., Bevan A. P. et al. // Diabetes. 1995. Vol. 44. P. 1274—1281.
132. Crans D. C., Keramidas A. D., Hoover-Litty H. et al. // J. Am. Chem. Soc. 1997. Vol. 119. P. 5447—5453.
133. Bhanot S., Michoulas A., McNeill J. H. // Mol. Cell. Biochem. 1995. Vol. 153. P. 205—209.
134. Poucheret P., Gross R., Cadene A. // Mol. Cel. Biochem. 1995. Vol. 153. P. 197—204.
135. Jackson J. K., Min W., Cruz T. E. // Br. J. Cancer. 1997. Vol. 75. P. 1014—1020.
136. Mozersky R. P. // J. Am. Osteopath. Assoc. 1999. Vol. 12. Suppl. P. 4—9.
137. Cunningham J. J. // J. Am. Coll. Nutr. 1998. Vol. 17. P. 7—10.

## Глава 5

---

### **ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ МЕТАЛЛОКОМПЛЕКСОВ**

---

Накопленная информация о химических и физических свойствах координационных соединений металлов, особенностях их фармакокинетики и фармакодинамики, сродстве к патологическим системам, синтез новых видов лигандов (особенно тропных к определенным тканям в норме и при патологии), а также существенное развитие медицинской техники стали предпосылками для развития методов диагностики патологических состояний и внедрения их в медицинскую практику. Как правило, появление технической базы для того или иного метода сопровождается многочисленными исследованиями, связанными с поиском соединений, повышающих эффективность диагностики различных заболеваний. В данном разделе рассматриваются основные результаты работ в этом направлении, которые показывают возможности и ограничения в исследовании металлокомплексов как потенциальных диагностических средств и перспективы их практического применения.

### **МАГНИТОРЕЗОНАНСНЫЕ КОНТРАСТНЫЕ СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ МЕТАЛЛОКОМПЛЕКСОВ**

Магниторезонансная томография — метод диагностики, использующий феномен ядерного магнитного резонанса. Для получения изображения используется резонансный сигнал — радиочастотное излучение протонов, входящих в большом количестве в состав биологических тканей организма. Растущая популя-

ность и востребованность таких диагностических методов обусловлена потребностью в селективно распределяющихся парамагнитных контрастных агентах, способных четко дифференцировать нормальные и патологические ткани или визуализировать специфические функции органов. В связи с этим магниторезонансная томография успешно конкурирует с рентгеновской компьютерной томографией в диагностике абдоминальных заболеваний, поскольку обладает рядом несомненных преимуществ: высоким тканевым контрастом с дифференцированным изображением большинства анатомических структур и патологических тканей; возможностью изображений в любой плоскости; отсутствием ионизирующего излучения и др. Ниже кратко охарактеризованы его основные принципы, необходимые для понимания механизма действия контрастных агентов [1—3].

Магнитный резонанс происходит в результате наложения продольной и поперечной релаксации атомов, вызываемой совпадением частоты внешнего электромагнитного поля и электромагнитного поля электронных оболочек. Сигнал увеличивается с ростом скорости продольной релаксации и уменьшается с увеличением скорости поперечной релаксации. Обе скорости включают аддитивные диамагнитную и парамагнитную составляющие, причем парамагнитная зависит от концентрации вещества, обладающего парамагнитными свойствами, т. е. контрастного агента. Других эффективных способов значительно влиять на скорость релаксации не существует.

Внутрисферная парамагнитная релаксация связана с взаимодействием парамагнитного иона с координационно связанными молекулами растворителя (обычно — воды), а внешнесферная — с остальными молекулами (сольватной оболочкой и т. д.). Показано, что наиболее весома первая составляющая, управляемая, главным образом, за счет обмена связанных с парамагнитным ионом молекул воды. Ее величина сильно зависит от сольватного числа — количества молекул растворителя, входящих в координационную сферу иона металла [2, 3]. Таким образом, ионы парамагнитных металлов функционируют как контрастные агенты посредством увеличения скорости релаксации находящихся рядом протонов через взаимодействие между спинами электронов парамагнитного центра и ядрами атомов водорода в молекулах воды.

Для получения магниторезонансных контрастных (МРК) снимков пациенту вводится контрастный агент (обычно внутри-

венно, однако возможны и другие способы в зависимости от цели исследования), и через определенный промежуток времени (в зависимости от особенностей фармакокинетики препарата) пациент подвергается кратковременному воздействию электромагнитного поля (обычно от 10 до 100 МГц) и воздействию излучения диапазона, близкого к рентгеновскому, но значительно меньшему по энергии. При этом в месте нахождения парамагнитных агентов при определенных значениях напряженности внешнего поля возникает резонанс и резкое увеличение степени поглощения проходящего излучения парамагнитным агентом. Весь остальной организм остается практически прозрачным для него. Детектор, который в современных аппаратах представляет высокочувствительную фотодиодную матрицу, поглощает прошедшие через организм лучи. Для удобства ЭВМ выдает картину, которая является негативом по отношению к тому, что восприняла матрица (т. е. поглощающие области будут светлыми, а остальной организм — темным, как и в рентгенографии). Обычно в течение суток после приема контрастный агент практически полностью выводится из организма [3].

Человеческий организм обладает рядом особенностей, вследствие которых не все парамагнитные вещества могут применяться для МРК-диагностики. Прежде всего, ограничения могут обуславливаться токсичностью соединений металлов. В общем случае МРК-агент — это комплексное соединение, в состав которого входит парамагнитный ион металла и хелатообразующий агент, улучшающий его фармакокинетику и уменьшающий токсичность [3—5]. Однако при разработке МРК-агентов учитываются и специфические факторы; некоторые из них будут рассмотрены ниже.

Потенциальные МРК-агенты были найдены среди комплексов ионов некоторых переходных металлов и лантаноидов. Наибольший интерес к МРК-диагностике пришелся на период активного изучения комплексных соединений гадолиния (III). Многие из них уже прошли клинические испытания и успешно используются в медицинской практике, другие находятся на стадии разработки и оцениваются как перспективные МРК-агенты. Именно поэтому производители контрастных агентов стали отдавать предпочтение выпуску гадолинийсодержащих агентов. Как следствие, новым соединениям было затруднительно пробиться на рынок диагностических средств. Так установилась своеобразная гадолиниевая монополия МРК-агентов, несмотря на

довольно успешные исследования других соединений, в частности комплексов марганца (II), железа (III) [6—20]. Поэтому в данном разделе рассматриваются наиболее широко представленные в публикациях и успешно внедряемые в медицинскую практику за последние 10—15 лет МРК-агенты на основе комплексов гадолиния (III).

1. Общая характеристика комплексов гадолиния (III). При комплексообразовании принадлежащего к группе лантаноидов иона Gd (III) его координационное число может быть равно 9.

При подборе соответствующего лиганда для МРК-металло-комплекса к числу критичных параметров относится способность лиганда изменять поведение ионов металлов в биологических системах таким образом, чтобы существенно снижать поглощение соединения металла *in vivo*. Гидрофильный лиганд, такой как этилендиаминтетрауксусная кислота (EDTA) или диэтилететрааминпентауксусная кислота (DTPA), обычно повышает экскрецию соответствующего комплекса почками. Напротив, липофильный хелатный лиганд, в частности *N,N'*-этоксibenзил-производное DTPA — DTPA-ЕОВ, повышает сродство комплекса к желчи и, как следствие, выводится с фекалиями [3, 21]. Рекомендуемая концентрация комплексов при диагностическом исследовании обычно составляет 10—100 мМ.

Следует отметить, что за два последних десятилетия был достигнут значительный прогресс в открытии и изучении биосовместимых хелатообразующих лигандов.

Большинство из них принадлежит к семейству полиаминополикарбоксилатных лигандов и являются хорошими лигандами для гадолиния (III), поскольку донорные атомы О и N формируют прочные координационные связи с ионами лантаноидов, которые являются жесткими кислотами Льюиса (рис. 5.1) [22]. В соответствии с особенностями структуры можно выделить два типа лигандов: линейные формы, которые включают EDTA и DTPA и их производные, и циклические формы, которые включают DOTA и DO3A и их производные (рис. 5.1).

Одно из основных требований к лигандам — высокая стабильность *in vivo* образованного ими комплекса с гадолинием (III). Гидратированные ионы гадолиния (III) очень токсичны и накапливаются преимущественно в печени. Изучение субклеточной кумуляции показало, что гадолиний (III) накапливается в лизосомах гепатоцитов и макрофагов в селезенке, костях и легких [2, 3]. Функ-



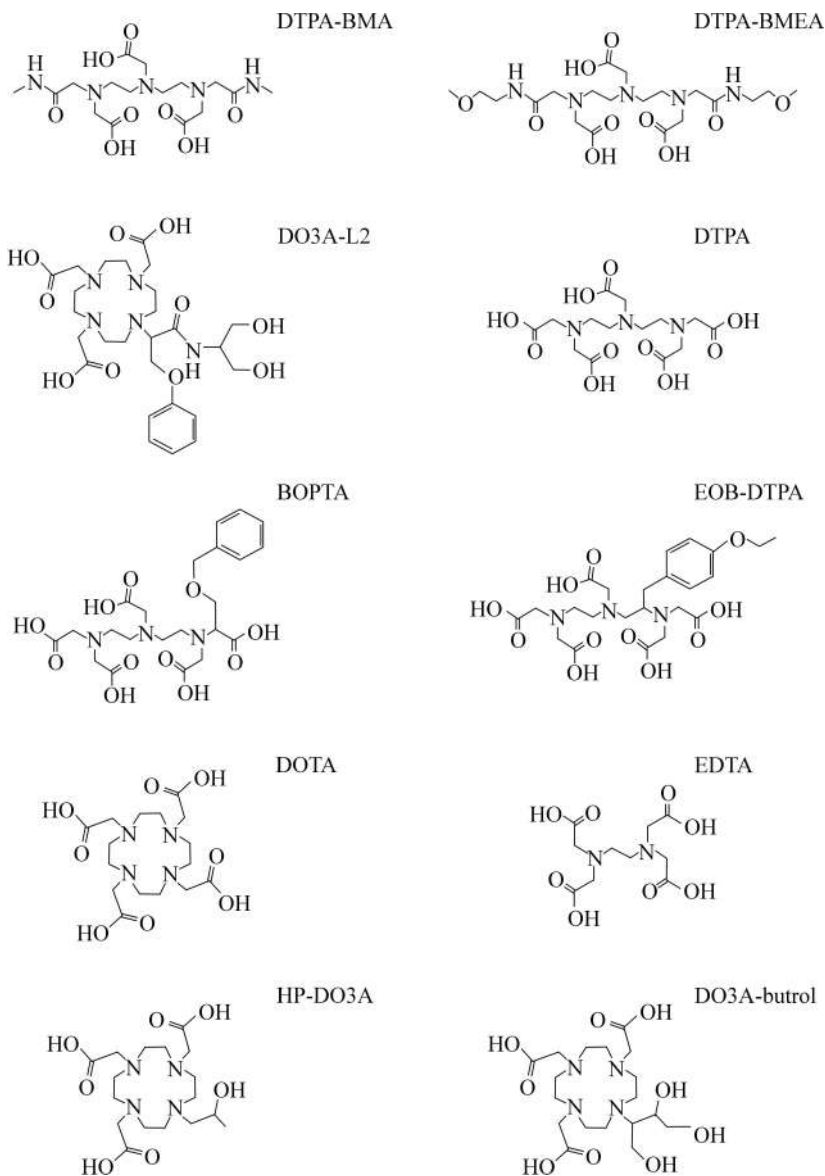


Рис. 5.1. Схематическое изображение структур некоторых лигандов, образующих комплексы с гадолинием (III) [3]

ция лигандов — не только предотвратить высвобождение гадолиния (III), который мог депонироваться в форме фосфата, но и вывести его из организма до проявления токсичности.

Константы устойчивости комплексов гадолиния (III) с производными полиаминополикарбоновых кислот представлены в табл. 5.1 [21].

Таблица 5.1

**Константы устойчивости комплексных соединений гадолиния (III) [21]**

Комплекс	$\log K_{\text{уст}}$
(NMG) <sub>2</sub> GdDTPA	22,4
GdDTPA-BMA	16,9
(NMG)GdDOTA	25,8
GdHP-DO3A	21,8
GdDOSA-butrol	23,8
(NMG) <sub>2</sub> GdDTPA-EOB	22,1
(NMG)GdEDTA	17,3

Примечание.

- DTPA-BMA — диэтилететрааминпентаацетил-*N,N'*-бис(метиламид);  
 DTPA-BMEA — диэтилететрааминпентаацетил-*N,N'*-бис(метоксиэтила-  
 мид);  
 DTPA-EOB — диэтилететрааминпентаацетил-*N,N'*-этоксibenзил;  
 DOTA — 1,4,7,10-тетраазациклодекан-1,4,7,10-тетрауксусная  
 кислота;  
 DO3A — 1,4,7-трис(карбоксиметил)-1,4,7,10-тетраазациклодо-  
 декан;  
 HP-DO3A — 1,4,7-трис(карбоксиметил)-10-(2-гидроксипропил)-1,4,7,  
 10-тетраазациклодекан;  
 DO3A-butrol — 1,4,7-трис(карбоксиметил)-10-[2-(1,2,4-тригидрокси-  
 бутил)-1,4,7,10-тетраазациклодекан];  
 NMG — *N*-метилглюкамин

Как видно из табл. 5.1, термодинамические характеристики комплексов гадолиния (III) — константы их устойчивости — отличаются незначительно, в то время как кинетические характеристики их образования и диссоциации заметно различаются: в случае циклических лигандов эти процессы протекают гораздо медленнее, чем для линейных форм [2, 3, 21]. Следовательно, металлокомплексы, содержащие циклический лиганд, кинетически являются более инертными.

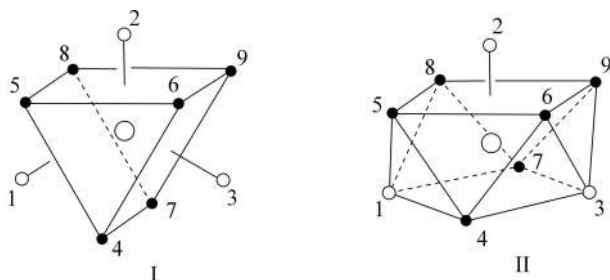


Рис. 5.2. Конформации комплексных соединений гадолиния (III) [23]

Установлено, что прогноз токсичности *in vivo* комплекса гадолиния, образованного линейными лигандами, нельзя осуществить, исходя только из величины его константы устойчивости. Более важным прогностическим параметром оказалась термодинамическая селективность данного лиганда к гадолинию (III) по сравнению с такими эндогенными биометаллами, как цинк (II) и медь (II). Аналогичное поведение характерно и для макроциклических лигандов [12].

Изучение биораспределения с использованием  $^{153}\text{Gd}$  (III) для некоторых МРК-агентов показало, что биологический период полуэлиминации для них составляет 5—20 мин [3].

Комплексы гадолиния (III) обычно существуют в виде двух конформационных форм: тригональной призмы (I) и квадратной антипризмы (II) (рис. 5.2) [23].

Как отмечалось выше, большинство лигандов, используемых для получения гадолинийсодержащих МРК-агентов, является производными полиаминополикарбоновых кислот. Этот выбор не случаен и обусловлен влиянием лигандов на скорость релаксации, которая заметно увеличивается в их присутствии. В этом механизме одним из основных параметров является время пребывания молекулы воды в связанном с парамагнитным центром состоянии, которое оказывает существенное влияние на величину внутрисферной релаксации [2].

Комплексы гадолиния (III) с полиаминополикарбоксилатными лигандами обычно обладают способностью координировать только одну молекулу воды во внутреннюю сферу [2—5]. На рис. 5.3 представлена схема взаимодействия между комплексом гадолиния (III) и молекулой воды, которая находится в координационном узле этого комплекса, влияющего на релаксацию протонов этой молекулы. Установлено, что скорость обмена мо-

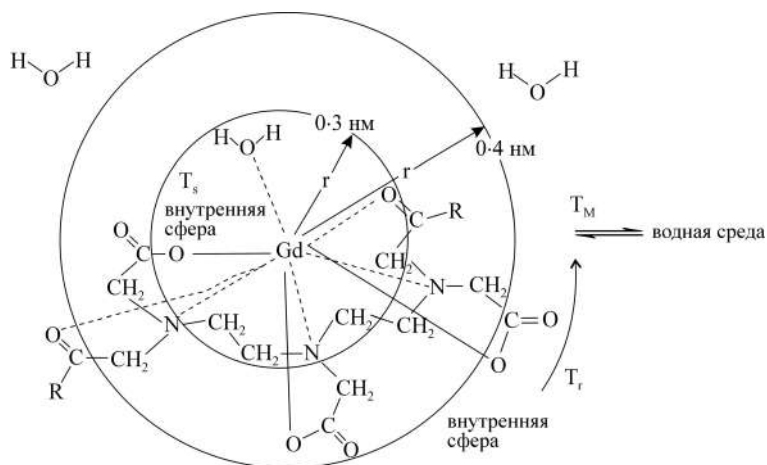


Рис. 5.3. Схема взаимодействия между комплексом гадолиния (III) и молекулой воды во внутренней сфере комплекса [31]

лекулы воды в комплексе гадолиния (III) в присутствии аминокарбоксилатных групп на два порядка ниже, чем в аквакомплексе гадолиния (III) (соответственно  $10^6$  и  $10^8$  с $^{-1}$ ).

Сопоставление времени пребывания молекулы воды в связанном с парамагнитным центром состоянии ( $T_M$ ) для комплексов GdDTPA и GdDTPA-ВМА показало, что его увеличение, необходимое для оптимизации данного метода, может быть обусловлено наличием широко простирающейся в координационном узле трехмерной сетки водородных связей между амидными, карбоксильными группами и молекулой воды, а также влиянием амидных групп на эффективный заряд атома гадолиния [3—5].

2. **МРК-агенты.** В табл. 5.2 приведены координационные узлы, а также дженерические и патентованные названия наиболее используемых МРК-агентов на основе комплексов гадолиния (III) [24—41]. В 1984 г. комплекс гадолиния (III) с DTPA был предложен в качестве МРК-агента, в котором токсичность гадолиния (III) была значительно снижена за счет связывания с полидентатным лигандом: для хлорида гадолиния (III) LD $_{50}$  составила 0,5 моль·кг $^{-1}$ , а для GdDTPA — 5,6 моль·кг $^{-1}$  [3, 31].

Комплекс (NMG) $_2$ GdDTPA с NMG в качестве противоиона стал первым металлокомплексом, который был одобрен для использования как диагностический МРК-агент (димеглюмина гадопентетат, Магневист). (NMG) $_2$ GdDTPA практически безопасен

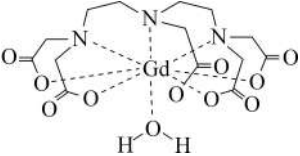
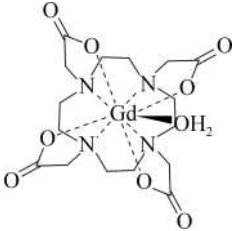
для человека. Он быстро всасывается, распределяется и выводится преимущественно почками (время полувыведения  $t_{1/2} = 94$  мин). Пациенты с почечной недостаточностью хорошо переносят  $(\text{NMG})_2\text{GdDTPA}$ ; его  $\text{LD}_{50} = 10,0$  моль·кг<sup>-1</sup> [42—44].

Комплекс  $\text{GdDTPA-BMA}$  (гадодиамид, Омнискан) — второй одобренный к применению МРК-агент. Лиганд содержит лишь три анионные карбоксилатные группы, вследствие чего комплекс с Gd (III) является нейтральным. Это привело к резкому снижению осмолярности соединения (в 2,5 раза) по сравнению с  $(\text{NMG})_2\text{GdDTPA}$  и уменьшило риск физиологических осложнений. Фармакокинетика  $\text{GdDTPA-BMA}$  подобна фармакокинетике  $(\text{NMG})_2\text{GdDTPA}$ ; можно отметить более быстрое выведение ( $t_{1/2} = 70$  мин) [45]. Комплекс не проникает через гематоэнцефалический барьер, а его  $\text{LD}_{50}$  равна 14,8 моль·кг<sup>-1</sup>.

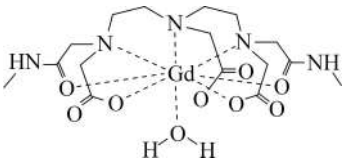
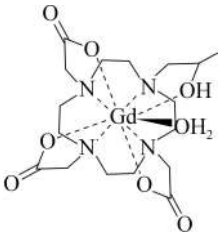
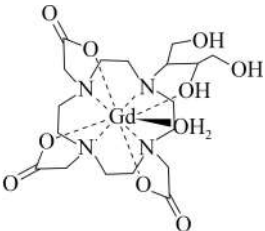
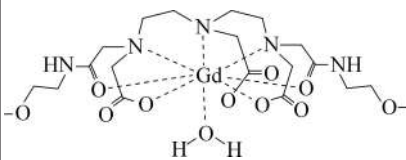
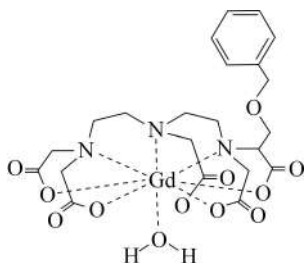
Лиганд  $\text{DO3A}$  был первым макроциклическим соединением, использовавшимся для получения нейтрального комплекса гадолиния. Он является гептадентатным, оставляя два места в координационной сфере гадолиния (III) для молекул воды. Хотя комплекс  $\text{GdDO3A}$  неплохо проявил себя при испытании, вскоре он был вытеснен новыми производными  $\text{DO3A} - \text{GdDO3A-butrol}$  и  $\text{GdHP-DO3A}$ .

Таблица 5.2

**МРК-агенты, используемые в клинической практике [3]**

Формула, дженерическое и брендовое названия	Структурная формула	Применение
$(\text{NMG})_2[\text{Gd}(\text{DTPA})(\text{H}_2\text{O})]$ Димеглюмина гадопентетат Магневист		Внеклеточный МРК-агент
$(\text{NMG})[\text{Gd}(\text{DOTA})(\text{H}_2\text{O})]$ Меглюмина гадотерат Дотарем		Внеклеточный МРК-агент

Окончание табл. 5.2

Формула, дженерическое и брендовое названия	Структурная формула	Применение
[Gd(DTPA-BMA)(H <sub>2</sub> O)] Гадодиамид Омнискан		Внеклеточный МРК-агент
[Gd(HP-DO3A)(H <sub>2</sub> O)] Гадотеридол Прохенс		Внеклеточный МРК-агент
[Gd(DO3A-butrol)(H <sub>2</sub> O)] Гадобутрол Гадовист		Внеклеточный МРК-агент
[Gd(DTPA-BMEA)(H <sub>2</sub> O)] Гадоверсетамид Оптимарк		Внеклеточный МРК-агент
(NMG) <sub>2</sub> [Gd(BOPTA)(H <sub>2</sub> O)] Димеглюмина гадобенат Мультихенс		Гепатобилиарный МРК-агент

GdDO3A-butrol (гадобутрол, Гадовист) — в настоящее время основной МРК-агент в клинической практике, а комплекс GdHP-DO3A (гадотеридол, Прохенс) проходит клинические испытания [46]. Они являются нейтральными комплексами, образованными циклическими хелатными лигандами, причем гидроксильная группа остается протонированной при физиологических условиях. Фармакокинетика GdHP-DO3A и GdDO3A-butrol практически не отличается от  $(\text{NMG})_2\text{GdDTPA}$  [46, 47]. При введении комплексы довольно быстро распределяются и выводятся преимущественно почками ( $t_{1/2}$  — около 90 мин). Во всех случаях больше чем 90 % введенной дозы выводится мочой в течение 24 часов. Испытания на животных продемонстрировали крайне низкую острую токсичность для GdHP-DO3A и GdDO3A-butrol по сравнению с  $(\text{NMG})_2\text{GdDTPA}$ . Очевидно, это связано с явно выраженной кинетической инертностью комплексов с циклическими лигандами, которые в некоторых случаях напоминают краун-эфиры [21].

GdDTPA-ЕОВ — МРК-агент второго поколения для печени и селезенки, который находится в завершающей фазе клинических испытаний [48—50]. Добавление липофильной 4-этоксibenзильной группы к углеродному остову DTPA существенно меняет его фармакокинетику, в частности биораспределение [21]. При введении этот комплекс быстро распределяется по всем сосудам организма. Однако в отличие от  $(\text{NMG})_2\text{GdDTPA}$ , который выводится исключительно почками, от 30 до 70 % GdDTPA-ЕОВ задерживается гепатоцитами (клетками печени), что позволяет получить качественный МРК-снимок печени и селезенки прежде, чем произойдет экскреция комплекса с фекалиями ( $t_{1/2}$  — приблизительно 2 часа) [51]. При высоких дозировках (до  $0,5 \text{ ммоль} \cdot \text{кг}^{-1}$ ), экскреция происходит преимущественно почками, что определенно свидетельствует о насыщаемости гепатоцитов [21]. При испытаниях препарата на крысах был отмечен высокий контраст между опухолевыми участками ткани печени, клетки которых совершенно не задерживают данный комплекс, и здоровыми. Этот факт способствовал очень быстрому и успешному внедрению в клиническую практику этого агента. Клинические исследования безопасности GdDTPA-ЕОВ показали, что  $\text{LD}_{50} = 5 \text{ ммоль} \cdot \text{кг}^{-1}$ , в то время как качественный снимок можно получить при значительно меньшей концентрации (менее  $0,5 \text{ ммоль} \cdot \text{кг}^{-1}$ ). Следует отметить, что систематическое приме-

нение не сопровождается ощутимым накоплением комплекса гепатоцитами.

Еще один пример комплекса гадолиния (III) с макроциклическим лигандом — GdDOTA, на основании которого в 1986 г. был создан один из первых МРК-агентов (гадотерат, Дотарем). В настоящее время он утвержден для применения в некоторых странах Европы [31]. Как и другие комплексы с макроциклическими лигандами, GdDOTA малотоксичен и достаточно быстро выводится почками.

С целью оптимизации контрастных характеристик комплексов для их получения стали применять более сложные по составу и структуре лиганды, связывающие в хелатный комплекс сразу несколько атомов гадолиния. Эти сложные лиганды, как правило, имеют в своей структуре несколько остатков лиганда DO3A (рис. 5.4). Их применение позволяет значительно увеличить число координируемых атомов гадолиния в единице объема МРК-агента [52—55].

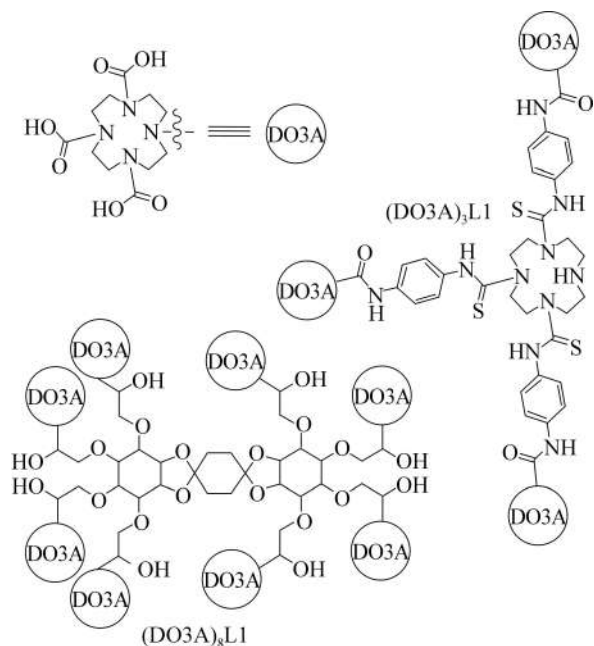


Рис. 5.4. Схематическое изображение структуры сложных лигандов, включающих несколько DO3A-хелатных группировок [3]



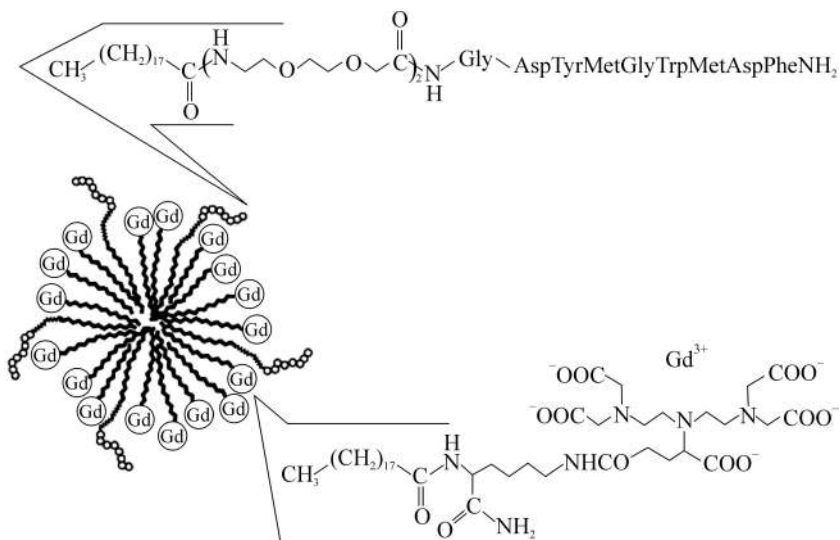


Рис. 5.5. Схематическое изображение сложных мицеллярных агрегатов, образованных комплексами гадолиния (III) [67]

Еще одна возможность улучшить качество МРК-диагностики связана с присоединением комплексов гадолиния (III) к другим молекулам для направленного транспорта к биомишеням, а также для оптимизации внутрисферной релаксации [3, 4]. Следует отметить, что почти все рассмотренные выше МРК-агенты — внеклеточные. Однако для проведения некоторых диагностических исследований возникает потребность в способных удерживаться пулом клеток крови интраваскулярных агентах, что можно обеспечить посредством увеличения молекулярной массы соединения.

При создании диагностических средств используется достаточно эффективный способ увеличения молекулярной массы агентов — их конъюгация с высокомолекулярными соединениями (липосомами, линейными полимерами, мицеллами, дендримерами, биомолекулами) [56—69] (рис. 5.5). Среди используемых для таких целей природных полимеров можно выделить полисахариды (декстран), белки (альбумин) и др.

Для создания липосомальных МРК-агентов парамагнитный комплекс либо вводится во внутреннюю гидрофильную часть ли-

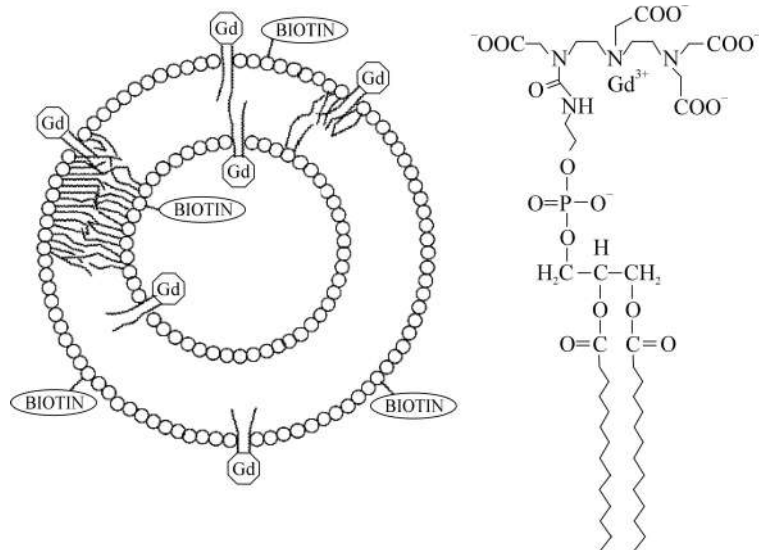


Рис. 5.6. Схематическое изображение липосомы, содержащей парамагнитный комплекс гадолиния (III) — производное 1,2-димиристоил-*sn*-глицеро-3-фосфоэтаноламиндиэтилтриаминпентаацетата (справа) [69]

посомы, либо ковалентно связывается с липидными полярными группами (рис. 5.6). При реализации такой структуры каждая липосомальная частица может содержать не менее  $10^4$  парамагнитных центров [69].

В результате были созданы МРК-агенты различного типа: высококонтрастные, специфичные к определенным тканям, а также соединенные с моноклональными антителами (рис. 5.7). Такие модифицированные МРК-агенты способны:

- создать высокую концентрацию гадолиния (III) в системе;
- обеспечить специфичное концентрирование комплекса, то есть тропность к определенным тканям, а, значит, и возможность эффективной диагностики конкретного органа, (например, печени в случае присоединения  $Gd\text{-DO3A}$  к холестеролу и др.);
- сконцентрировать комплекс в патогенной области (за счет конъюгирования к моноклональным антителам), а также повысить релаксационную способность и обеспечить эффективную диагностику;
- снизить токсичность металлокомплекса благодаря созданию для него биомиметической матрицы.

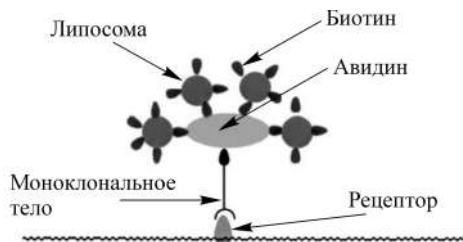


Рис. 5.7. Схема специфического связывания парамагнитной липосомы с рецептором за счет конъюгирования к моноклональным антителам [69]

Конъюгаты типа комплекс—биомолекула позволяют селективно визуализировать опухоли, а также ткани, пораженные инфекциями, или изучать процессы, в которых участвуют сами конъюгированные молекулы. Такие комплексы могут быть использованы в качестве меток низкомолекулярных биорегуляторов, пептидов, эритроцитов, лейкоцитов и др. [3—5].

Однако фармакокинетика сложных по составу МРК-агентов имеет особенности, которые необходимо учитывать при проведении диагностических исследований: их распределение из крови по тканям происходит очень медленно, период полувыведения выше, чем у более простых по составу комплексов, а доля почечного клиренса заметно ниже [2—4, 31].

К настоящему времени с помощью этого относительно молодого метода диагностики уже проведено множество исследований и продолжаются работы по повышению степени контрастности изображения в сравнении с фоном. Создана платформа для разработки МРК-агентов, высокоспецифичных к различным органам и тканям. Многие МРК-агенты с хорошими показателями уже вступили в последнюю фазу клинических испытаний, однако введенных в клиническую практику пока мало. Ниже приведено несколько примеров уже завоевавших рынок МРК-агентов — внеклеточных и гепатобилиарных.

Внеклеточные агенты — это доминирующий класс МРК-агентов в радиологии. После введения агенты неспецифически распределяются плазмой по всему организму, а затем они экскретируются почками ( $t_{1/2}=1,5$  час). Внеклеточные агенты используются в основном при диагностике коронарного кровотока и сердечно-сосудистой системы. Соединения гадолиния (III) ис-

пользуются в более низких дозах, чем рентгеноконтрастные агенты, и поэтому не вызывают почечную дисфункцию.

Одна из главных характеристик диагностического агента, используемого в ангиографии, является его фармакокинетика. Кроме того, необходима максимальная концентрация и довольно быстрое распределение его в кровяном русле в сочетании с медленным распространением по тканям организма. С этой целью применяют металлокомплексы, обладающие необходимой липофильностью, однако недостаточной для того, чтобы обеспечить приемлемую аффинность к альбумину и повысить период полувыведения из кровяного русла. В табл. 5.2 приведены примеры таких агентов: введенные в практику уже в 1990-х гг. Магневист, Гадовист и Омнискан, а также новый и очень перспективный Оптимарк —  $[\text{Gd}(\text{DTPA-BMEA})(\text{H}_2\text{O})]$  [3]. Приведенный на рис. 5.8 снимок, полученный при ангиографии с использованием МРК-агентов на основе комплексов гадолиния (III), наглядно демонстрирует преимущества этих диагностических средств: на снимке видны только кровеносные сосуды, а костная ткань не просматривается.

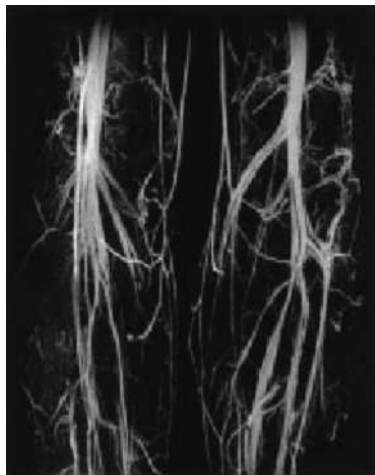


Рис. 5.8. Снимок, полученный при ангиографии с использованием комплексов гадолиния (III) [3]

Гепатобилиарные агенты как класс МРК-агентов особенно активно изучаются последние 10—15 лет. Одним из первых был одобрен для практического применения препарат Мультихенс, содержащий комплекс  $(\text{NMG})_2[\text{Gd}(\text{BOPTA})(\text{H}_2\text{O})]$ . Основное требование к составу — присутствие гидрофобных лигандов, которые способны обеспечить повышенное сродству комплекса к гепатоцитам. Очень удачным в этом плане оказался дизайн одного из последних препаратов — Эовиста  $[\text{Gd}(\text{DTPA-EOB})(\text{H}_2\text{O})]^{2-}$  [3, 31].

В настоящее время в мировой медицинской практике широко используются только четыре МРК-средства [1], поэтому создание таких препаратов, особенно с направленной органотропностью, продолжает оставаться крайне актуальной задачей.

## РЕНТГЕНОКОНТРАСТНЫЕ СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ МЕТАЛЛОКОМПЛЕКСОВ

При выборе потенциальных рентгеноконтрастных (РГК) агентов решающее значение, как и в любом другом методе диагностики, всегда имеет их эффективность для обнаружения патологии. Еще совсем недавно главная цель разработки таких средств состояла в том, чтобы получить достаточно объективные диагностические данные, а мерами безопасности при их использовании нередко пренебрегали.

В связи с ужесточившимися последние десятилетия требованиями к использованию безопасных для человека РГК-агентов в центре внимания специалистов оказались металлокомплексы и в первую очередь те из них, которые достаточно успешно использовались в других диагностических методах, в частности в МРК-диагностике [21].

1. РГК-агенты на основе комплексов гадолиния (III). Безопасность для человека рассмотренного выше комплекса  $(\text{NMG})_2\text{GdDTPA}$  способствовала проведению дополнительных исследований по выяснению возможности его использования в качестве РГК-агента [42]. Следует указать две причины обращения к металлокомплексам такого типа: во-первых, некоторым пациентам противопоказаны йодсодержащие РГК-агенты из-за аллергических реакций или почечной недостаточности [70]; во-вторых, известно [71], что тяжелые металлы, в том числе гадолиний, обеспечивают лучший контраст при более низких энергиях рентгеновского излучения, чем йодсодержащие агенты, и тем самым потенциально сокращают дозу облучения пациента.

Установлено, что пациенты с почечной недостаточностью хорошо переносят  $(\text{NMG})_2\text{GdDTPA}$ , поскольку данный комплекс характеризуется значительно меньшей нефротоксичностью, чем йодсодержащие РГК-агенты [72, 73].

Комплекс  $\text{GdDTPA-BMA}$  испытывался в качестве РГК-агента в артериальной ангиографии. Качество полученных изображений было хуже, чем при использовании йодорганических производных, хотя было достигнуто существенное сокращение дозы облучения [74]. Более успешным (по качеству снимков) было применение  $\text{GdDTPA-BMA}$  при ангиографии с целью диагностики сужения почечной артерии у пациентов с почечной недостаточностью [75].

Достоинство комплекса GdDO3A-butrol в качестве РГК-агента в компьютерной томографии убедительно продемонстрировано как *in vitro*, так и *in vivo* (в испытаниях на кроликах) уменьшением необходимой для диагностики интенсивности рентгеновского излучения по сравнению с йодорганическими производными на 18,1 % (80 кВ), 38,2 % (120 кВ), и 40 % (137 кВ) при эквивалентных массовых концентрациях [76]. GdHP-DO3A оказался весьма эффективным при обнаружении с помощью компьютерной томографии опухолей мозга [21]. Показана возможность использования в качестве РГК-агента в компьютерной томографии также и комплекса GdEOB-DTPA [21].

2. РГК-агенты на основе комплексов, содержащих полиметаллический остов. Как одну из перспективных современных разработок в области РГК-агентов для компьютерной томографии рассматривают комплексы, содержащие полиметаллический остов [21, 77, 78]. Установлено, что он может существенно ослабить рентгеновское излучение в пределах относительно малого молекулярного объема. В качестве РГК-агентов эти комплексы имеют два потенциальных преимущества [21]:

во-первых, более высокая степень ослабления потока рентгеновского излучения на одну молекулу позволяет получать снимки высокой контрастности или уменьшать концентрацию вводимого РГК-агента;

во-вторых, низкая энергия рентгеновского излучения, необходимая для эффективной диагностики, уменьшает поглощенную пациентом дозу радиации.

К сожалению, большинство комплексов с полиметаллическим остовом обычно неустойчивы или нерастворимы в воде. Поэтому основная задача дизайна пригодных в качестве РГК-агентов комплексов заключалась в обеспечении достаточной растворимости с помощью хелатообразующих лигандов. Стандартные требования к таким лигандам: отсутствие токсичности, устойчивость при физиологических условиях (температура, pH, присутствие конкурентных лигандов и ионов металлов), а также практически полное выведение из организма в короткий период времени.

Для получения растворимых комплексов металлов, наряду с таким общепризнанным для этой цели лигандом, как этилендиаминтетрауксусная кислота и ее производные, также используют и другие линейные полиаминополикарбоксилатные лиганды (рис. 5.9).

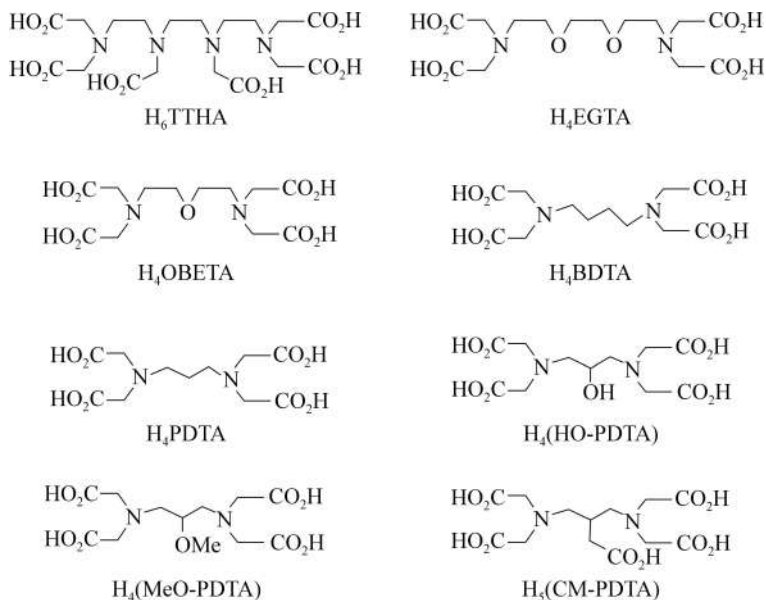


Рис. 5.9. Схематическое изображение структуры хелатообразующих лигандов для связывания кластеров металлов в РГК-агентах [78]

Наиболее перспективными для получения РГК-агентов вышеуказанного типа оказались соединения вольфрама [77, 78]. Во-первых, они образуют наиболее стабильные комплексы с полиметаллическим остовом по сравнению с другими металлами; во-вторых, катод источника рентгеновского излучения обычно изготавливается из вольфрама, что в значительной степени благоприятствует поглощению “родственных” лучей атомами вольфрама, входящих в состав РГК-агента (рис. 5.10).

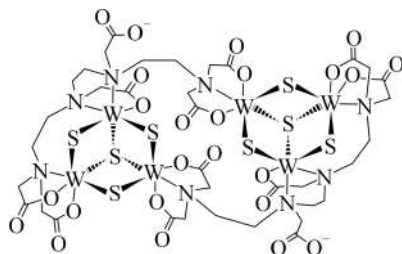


Рис. 5.10. Схематическое изображение структуры комплекса  $[(\text{W}_3\text{S}_4)_2(\text{TTHA})_2]^{4-}$ , содержащего остов  $\text{W}_3\text{S}_4$  [77]

В табл. 5.3 приведены растворимости и дозы острой токсичности, полученные в экспериментах на мышах, для наиболее перспективных в качестве

РГК-агентов комплексов с остовом  $W_3S_4$  [77, 78] (в некоторых случаях даны лишь минимальные летальные дозы, MLD).

Таблица 5.3

**Растворимость и токсичность  
вольфрамсодержащих комплексов [21]**

Комплекс	Молярная растворимость, моль·л <sup>-1</sup>	LD <sub>50</sub> , ммоль/кг
$Na_2[W_2O_2S_2(EDTA)]$	0,075	2,5 (MLD)
$NMG_2[W_2O_2S_2(EDTA)]$	0,3	5 (MLD)
$Na_2[W_3S_4(TTHA)]$	0,17	6,5
$(NMG)_2[W_3S_4(TTHA)]$	0,49	7,2
$Na_4[(W_3S_4)_2(EGTA)_3]$	0,04	—
$(NMG)_4[(W_3S_4)_2(EGTA)_3]$	0,072	4 (MLD)

В качестве одного из основных достоинств этих РГК-агентов отмечается способность обеспечивать очень высокий контраст изображения на РГ-снимках. Одна молекула такого комплекса способна обеспечить такой контраст, который создают четыре молекулы трийодбензольного производного [21]. Иными словами, комплексы с полиметаллическим остовом обладают высокой степенью поглощения рентгеновского излучения на единицу объема: поглощение рентгеновских лучей для  $W_3$ -производных в 2 раза больше, чем для трийодбензолов. Это позволяет добиться такого качества изображения, которое не под силу существующим трийодбензольным производным. Пожалуй, исследования именно в данном направлении могут стать основой для дизайна принципиально новых эффективных РГК-агентов на основе металлокомплексов.

В настоящее время требования для соединений, которые могут быть использованы в качестве РГК-агентов, включают следующие характеристики [21]:

- хорошая растворимость;
- устойчивость при физиологическом значении pH, комнатной температуре и при обычных условиях хранения;
- фармакокинетика должна быть аналогична трийодбензольным аналогам;
- соединение должно полностью выводиться из организма, как только оно выполнило свою диагностическую задачу;



- отсутствие как острой, так и хронической токсичности при использовании в дозировках, необходимых для достижения диагностической цели;

- соединение должно вводиться быстро, легко и безболезненно, причем введение не должно изменять осмотический баланс и вязкость плазмы;

- стоимость соединения не должна ограничивать его доступность.

К сожалению, среди металлокомплексов пока не найдено РГК-агентов, удовлетворяющих всем вышеперечисленным требованиям. Определенный потенциал есть у комплексов некоторых переходных и редкоземельных металлов, особенно у комплексов  $\text{DyEOB-DTPA}$  и  $\text{GdDO3A-butrol}$ , а также комплексов, содержащих полиметаллический остов. С их использованием, при условии оптимизации некоторых характеристик, можно в самое ближайшее время получить эффективные РГК-агенты для диагностики различных патологий человеческого организма. Предполагают, что они могли бы быть полезны в диагностике сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов, которым противопоказаны препараты трийодбензольных производных, а в диагностике заболеваний печени — даже превзойти последние.

## **РАДИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ МЕТАЛЛОКОМПЛЕКСОВ**

Радиофармацевтический препарат (РФП) — это разрешенный для введения человеку с диагностической или лечебной целью препарат, содержащий радионуклид. При введении РФП в организм человека он распределяется в нем в соответствии со своей фармакокинетикой и особенностями организма пациента в норме и при патологии, а детектирование и анализ радиоизлучения метки РФП используется для получения диагностической информации. Методы радионуклидной диагностики по специфике детектирования и анализа излучения метки делятся на радиометрию (измерение количества РФП в биомишени), радиографию (изучение кинетики накопления РФП) и сканирование (распределение РФП в мишени). Компьютерный анализ параметров излучения РФП (получение трехмерных изображений изучаемой мишени, автоматический анализ данных и диагностика с

оценкой достоверности результатов и т. п.) лежит в основе метода сцинтиграфии, представленного в вариантах однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ) и позитрон-эмиссионной томографии (ПЭТ). [79]. Реализация любого из этих методов подразумевает наличие специального оборудования и РФП с определенными свойствами.

Современные РФП позволяют осуществлять анатомо-функциональные исследования гепатобилиарной, мочевыделительной, бронхо-легочной, сердечно-сосудистой систем, головного мозга, скелета [4, 5, 80—82]. С их помощью отслеживают протекание процессов в организме, но сами РФП практически не влияют на их ход, что является главным достоинством радионуклидной диагностики.

В соответствии с особенностями фармакокинетики РФП можно разделить на два класса [2, 81]:

- низкомолекулярные комплексные соединения, фармакокинетика которых зависит от их физических и химических свойств;
- соединения, фармакокинетика которых зависит от аффинности к биологическим рецепторам или других биохимических взаимодействий.

Соединения второй группы часто называют сайт-специфическими соединениями, так как они чрезвычайно селективны.

Схема эксперимента в радионуклидной диагностике наиболее проста из всех рассматриваемых методов диагностики. Радиоактивное вещество вводится в организм. Через некоторое время, достаточное для его распределения в нужной области, получается снимок простым сканированием организма с помощью высокочувствительного детектора или выдерживанием напротив пленки. Метод напоминает рентгенографию, но в этом случае источник излучения внутри пациента. Энергия излучения составляет от 100 до 600 кэВ.

Данный метод получил широкое развитие в конце 40-х — начале 50-х гг. прошлого века благодаря бурному развитию ядерной энергетики, исследованиям в области радиоактивных элементов, появлению соответствующей аппаратуры. В это время был совершен значительный прорыв в открытии новых искусственных элементов и изотопов известных элементов. Это значительно расширило поле выбора радиофармацевтических средств, которые должны были иметь определенное время полураспада и нужные химические свойства.

1. Особенности дизайна РФП. Основные принципы дизайна РФП определяются исходя из их характеристик, которые, в свою очередь, зависят от свойств метки и соединения, подвергающегося мечению. Основными требованиями к характеристикам РФП являются следующие [2, 80, 81]:

- быстрое и селективное накопление в мишени после введения в организм (оценивается временем достижения (Т) рабочей концентрации (Сw), причем его концентрация должна быть достаточной для качественной визуализации;

- высокий контраст с фоном;
- высокая специфичность;
- высокая чувствительность;
- быстрое выведение из организма;
- стабильность *in vivo*;
- отсутствие токсичности и токсичных метаболитов.

Ниже приведены основные требования к радиационным, химическим и экономическим параметрам меток РФП [2]. Период полураспада — от 10 мин до суток — должен быть примерно равен времени достижения требуемого распределения вещества в организме. При диагностике сердечно-сосудистой системы и мозга — очень короткий; при диагностике онкологических заболеваний — намного выше, так как в данном случае используются моноклональные антитела с радиоизотопом и требуется значительный промежуток времени с тем, чтобы осуществить концентрирование их в патогенной области для создания приемлемого контраста со здоровой тканью. Тип распада — (сцинтиграфия) или + (ПЭТ-радиография); естественно, не применяется протонный, нейтронный распад и деление ядер. Что касается цены изотопа, то сравнительно дешевым может быть лишь использование генераторов нуклидов, где материнский нуклид достаточно дешев; а использование циклотронов и ускорителей могут себе позволить лишь крупнейшие клиники и научно-исследовательские центры. С помощью генераторов для радиофармацевтической диагностики получают лишь нуклиды  $^{67}\text{Ga}$ ,  $^{68}\text{Ga}$  и  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ . Кроме того, для диагностических РФП наиболее часто используются как метки следующие нуклиды:  $^{67}\text{Cu}$ ,  $^{64}\text{Cu}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{201}\text{Tl}$ ,  $^{199}\text{Tl}$  и др. [81]. Отметим, что основной фактор в дизайне РФП — метка, поскольку ее радиационные свойства определяют безопасность пациента и методику детектирования. Химические свойства метки должны быть такими, чтобы обеспечить возможность широкого выбора лигандов, сделать доступными методы синтеза, выделения и анализа РФП. Хе-

латообразующие лиганды требуются прежде всего для придания РФП желаемых фармакокинетических свойств.

Связывание метки с остальной частью молекулы РФП может осуществляться за счет ковалентного, ионного и донорно-акцепторного взаимодействия. В настоящее время общепризнанным считается, что донорно-акцепторное взаимодействие является наиболее оптимальным типом связывания метки [2], поскольку оно обеспечивает:

- возможность замены координационных узлов и лигандов для подбора оптимальных свойств РФП;
- относительно простую методику приготовления РФП *ex tempore* из специальных наборов реагентов, что обеспечивает ее надежность;
- быстрое образование комплекса, что существенно при работе с радионуклидами;
- возможность раздельного хранения метки и лиганда, что в целом увеличивает срок хранения препарата.

Таким образом, структуру любого РФП можно представить в виде основных функциональных частей: метки, сайта связывания метки (ССМ) и определяющего фармакокинетику профиля РФП, в качестве которого может выступать так называемая цель-селективная молекула, обладающая большим сродством к мишени (рецептору), например, антагонист соматостатиновых рецепторов или IgG (IgG — иммуноглобулин G) [2, 80—82]. При комплексообразовании ССМ служат донорные группы лиганда или, точнее, координационный узел образовавшегося металло-комплекса.

Если необходимо сохранить сродство к нужной метке и модифицировать РФП для придания определенных фармакокинетических свойств, то для этого не следует изменять соответствующие донорные группы и, следовательно, потенциальный координационный узел РФП. Или, наоборот, для улучшения излучательных характеристик метки и превращения диагностического РФП в терапевтический с сохранением его фармакокинетики следует модифицировать только ССМ или создать принципиально новый его вариант. Следовательно, независимо изменяя ССМ и профиль РФП, можно обеспечить оптимальные клинические показатели препарата и, в частности, наиболее важный из них — фармакокинетику.

Выше были рассмотрены основные факторы, определяющие фармакокинетику диагностических МРК- и РГК-агентов и влия-

ние на них состава и структуры их молекул. В связи с этим представляется целесообразным обобщить этот материал, отметив попутно основные принципы создания РФП.

К факторам, определяющим фармакокинетику диагностических агентов, используемых в различных методах, относятся: заряд частицы, ее размеры, липофильность и наличие высокоспецифичных фрагментов [2—5, 21, 80—82].

Известно, что частицы с отрицательным зарядом склонны к выведению через почки, а положительно заряженные — к накоплению в сердце и мышцах. Заряд можно изменить путем присоединения групп, способных к ионизации, а также варьированием состава координационного узла комплекса (например, заменой ОН группы на эфирную OR и т. п.).

Как отмечалось выше, липофильные комплексы легче проникают внутрь клетки и через гистогематический барьер, а также характеризуются более медленным клиренсом и возможностью кишечно-печеночной циркуляции [2]. Липофильность увеличивается при присоединении липофильных фрагментов к РФП (ароматические кольца, разветвленные и длинноцепочечные алкильные заместители). Отметим, что липофильность комплекса больше в случае, когда его структура более высокой симметрии, что обеспечивает большую делокализацию заряда, а полярные группы локализованы во внутренней сфере комплекса.

Поскольку ароматические группы — достаточно объемные, особенно при наличии заместителей в кольце, размеры комплекса заметно увеличиваются. Увеличение размера молекулы снижает ее способность покидать биокompартмент первоначального введения (кровеное русло, желчный пузырь или желудочно-кишечный тракт). Эту зависимость можно использовать для селективного исследования в биокompартменте различных процессов [81].

Как было показано выше, возможность селективного распределения РФП может обеспечить наличие в его структуре фрагмента (или конъюгированной молекулы), специфичного к биорецептору — мишени. В этом качестве используются антитела, молекулы лекарственных средств, эндогенных антагонистов и агонистов биорецепторов, поскольку известно, что большим сродством к рецепторам обладают конкурентные антагонисты [2, 81]. Все это обеспечивает широкий набор возможностей для радионуклидной диагностики.

Стабильность металлокомплекса *in vivo* также рассматривается как важный фармакокинетический показатель [80—82].

Для оценки стабильности РФП используют константы устойчивости образующих их комплексов. Но стабильность комплекса *in vivo* определяется, как подчеркивалось выше, не только термодинамической характеристикой, но и кинетическими параметрами конкуренции с биолигандами (например, ион Ga (III) вытесняет ион Fe (III) из его ферритинового комплекса) и биометаллами; возможностью биотрансформации комплекса (окисление углеродного скелета, гидролиз связей, конъюгация). По-видимому, константа устойчивости комплекса может характеризовать его стабильность *in vivo*, если комплекс не способен вступать в указанные взаимодействия, что в ряде случаев наблюдается на практике [81].

Сродство лигандов к метке в составе комплекса определяет природой донорных атомов, особенностями их состояния в конкретных донорных группах, средними расстояниями между ними и др., что удобно оценивать с позиций теории жестких и мягких кислот и оснований Пирсона [22, 80—82]. Согласно ей, основными критериями сродства лигандов к иону металла-комплексообразователя являются плотность заряда и поляризуемость, которые можно оценить с учетом особенностей электронной конфигурации иона металла, его радиуса и заряда. Соответственно жесткость и мягкость донорных атомов лигандов можно корректировать, изменяя как саму донорную группу, так и вводя в  $\alpha$ -положение к ней соответствующие заместители.

Прежде чем перейти к рассмотрению конкретных примеров РФП на основе металлокомплексов, следует отметить некоторые существенные особенности методик их синтеза и анализа. Показано, что при концентрациях, которые необходимы для визуализации ( $\sim 10^{-8}$ — $10^{-6}$  моль·л<sup>-1</sup>), воспользоваться методами ИК-, УФ-, ПМР- или рентгеновской спектроскопии для определения состава и структуры образующихся соединений весьма затруднительно [80]. Поэтому при разработке методик синтеза и анализа каждого нового РФП используют значительно большие концентрации нуклида или его нерадиоактивного аналога для установления параметров структуры и характеристик вещества, что не совсем корректно. Для характеристики РФП в реально используемых концентрациях необходимы такие методы, как HPLC, ТСХ, гель-электрофорез с применением радиодетектирования [80].

Синтез РФП на основе металлокомплекса должен происходить достаточно быстро, так как нуклид подвержен распаду, при-

внося радиоактивные примеси в реакционный раствор. Поэтому предложены два основных метода для присоединения метки к молекуле РФП: интеграция и бифункциональный метод [80].

Интеграция реализуется в случае замещения или присоединения координационного узла радиометки к “натуральным” или предварительно образованным сайтам связывания (восстановлением двух дисульфидных мостиков с образованием  $S_4$ -донорной группы). Интеграция происходит при образовании простых РФП с одним координационным узлом при обмене лигандами. В бифункциональном методе метка образует комплекс с так называемым бифункциональным хелатом, который, в свою очередь, может быть селективно присоединен к нужному участку цель-селективной молекулы (примеры см. ниже) [2, 80].

2. РФП на основе металлокомплексов. Период полураспада  $^{68}\text{Ga}$  — 68 мин,  $^{113}\text{In}$  — 102 мин, что позволяет применять их в небольших концентрациях. Однако снимок должен быть получен через достаточно короткое время после введения и, следовательно, применение ограничено диагностикой сердечно-сосудистой системы и тканей, имеющих интенсивный кровоток [81]. Как нуклид с наиболее подходящим периодом полураспада и доступной ценой,  $^{68}\text{Ga}$  (III) представляет наибольший интерес в этой области. Цитрат  $^{68}\text{Ga}$  (III) и был одним из первых диагностических РФП. Однако в плазме он быстро превращается в комплекс  $^{68}\text{Ga}$  (III) с трансферрином, что не позволяет варьировать параметры для селективной визуализации сердца, поэтому область применения комплекса ограничена общей ангиографией [2].

В связи с этим разработка галлий- и индийсодержащих РФП следует двум общим положениям [2, 83]:

1) они должны быть устойчивы к гидролизу; для этого лучше использовать полидентатные хелатирующие и циклические лиганды, которые бы создавали стерическое экранирование для молекул воды;

2) они должны иметь значительную термодинамическую стабильность, так как устойчивость комплексов ионов этих металлов с трансферрином очень высокая ( $\log K$  соответственно для комплекса  $^{68}\text{Ga}$  (III) 20,3 и для комплекса  $^{113}\text{In}$  (III) 18,7), как и концентрация трансферрина в плазме (250 мг/100 мл), что обуславливает термодинамическую возможность обмена.

Единственным случаем, когда допускается трансхелация с образованием трансферринового комплекса, является использование внутривенного введения цитрата  $^{68}\text{Ga}$  (III) или цитрата



$^{113}\text{In}$  (III). При этом происходит образование трансферринового комплекса, который посредством физиологического механизма фагоцитируется активно метаболизирующими раковыми клетками, а также быстро поглощается клетками легких, что используется для диагностики опухолевых заболеваний и легочно-капиллярной проходимости [2, 5, 81, 84].

Липофильные катионные или нейтральные комплексы  $^{68}\text{Ga}$  (III) или  $^{113}\text{In}$  (III) используются для визуализации миокарда благодаря высокой миокардиотропности (рис. 5.11). Схематическое изображение структур некоторых лигандов, которые наиболее часто встречаются в этих комплексах, приведено на рис. 5.12. Долгое время незаменимым РФП при радиографии миокарда и других диагностических исследованиях сердца был комплекс  $^{68}\text{Ga}$  (III) с трис(2-меркаптобензил)амином (позиция 2, рис. 5.12).

Чаще всего для образования комплексов галлия (III) и индия (III) используют полиаминополикарбоксилатные лиганды, производные пиридоксиэтилендиамина, гидроксисароматические диамины, макроциклические лиганды, полиаминополитиолы.

Следует отметить, что комплексы галлия (III) и индия (III) с производными пиридоксиэтилендиамина, гидроксисароматическими диаминами характеризуются большей стабильностью в водных растворах, чем комплексы с полиаминополикарбоксилатными производными. Безусловно, высока стабильность комплексов с макроциклическими лигандами [2].

Возможность визуализации воспаленных тканей основана на том, что при воспалении выделяется большое количество белков (антигенов, антител и т. д.), способных хорошо конкурировать с такими лигандами как цитрат, трансферрин и др. [81]. Вследствие этого со временем значительная часть металлокомплекса концентрируется в месте воспаления. В данной ситуации нужен комплекс с невысокой константой устойчивости, поэтому хорошие показатели в диагностике демонстрирует комплекс  $^{68}\text{Ga}$  (III)(Cit) $_2^{3-}$ .

Еще более специфичными являются способы диагностики, в которых в качестве нуклида используется  $^{111}\text{In}$  (III). Он образует с

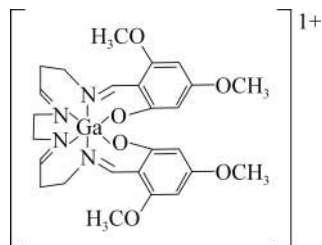


Рис. 5.11. Схематическое изображение структуры липофильного катионного комплекса галлия (III) с производным салицилальдиимина [2]



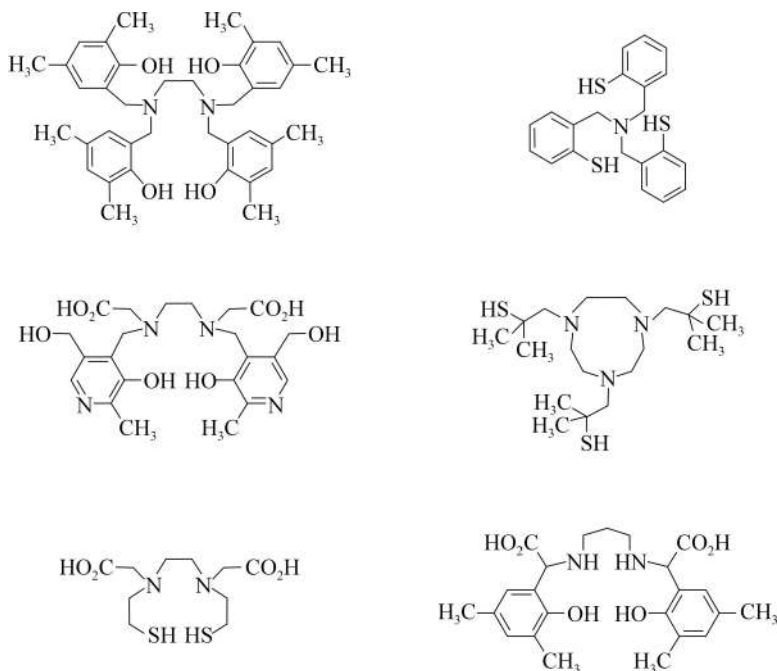


Рис. 5.12. Схематическое изображение структуры лигандов в комплексах галлия(III) и индия(III) для радиологии сердечно-сосудистой системы [2]

ДТРА октаэдрический комплекс, который используется для бифункционального мечения различных биомолекул [85]. Установлено, что содержащийся в некоторых комплексах нуклид  $^{111}\text{In}$  (III) может связываться с электронодонорными группами белков лейкоцитов, которые концентрируются в месте инфекции или воспаления и таким образом создается высокое содержание нуклида в области патологии, что позволяет провести ее диагностику [86].

При использовании иммуноглобулинов создается система нуклид—хелат—иммуноглобулин, где хелат и иммуноглобулин ковалентно связаны, например,  $^{111}\text{In}$ —ДТРА—IgG (IgG — иммуноглобулин G). Иногда может использоваться бифункциональное соединение, связывающее хелат и иммуноглобулин (рис. 5.13) [87, 88].

Однако вышеописанные средства имеют существенный недостаток — достаточно продолжительный период между инъекцией

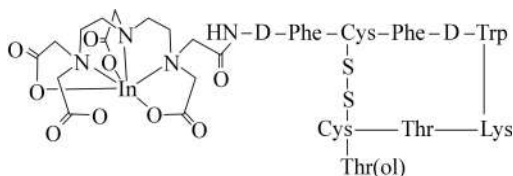


Рис. 5.13. Схематическое изображение структуры комплекса индия (III) с ДТРА, используемого для бифункционального мечения биомолекул [80]

РФП и моментом получения снимка. Для решения этой проблемы предложено использовать специальное соединение — *N*-формил—метионил—лейцил—фенилаланин (fMLF), которое имеет очень высокое сродство к мембране лейкоцитов. Поэтому после введения комплекс  $^{111}\text{In}$ —ДТРА—fMLF достаточно быстро (в течение 5 мин) связывается с лейкоцитами в области патологии [89].

Диагностика опухолей представляет собой, пожалуй, наиболее важное применение РФП. Эта область наиболее тесно связана, а иногда и перекрывается с терапией, поскольку один из основных методов терапии опухолей — радиотерапия. В связи с этим разработка диагностических РФП, особенно селективных, часто проводится одновременно с созданием и оптимизацией средств для радиотерапии.

Среди последних достижений в диагностике опухолей разных типов — применение меченых нуклидами моноклональных антител [80—83]. Моноклональные антитела — крупные полипептиды (160 kDa), имеющие высокое сродство к соответствующим антигенам, выделяемым клетками, против которых данные антитела направлены. Отсюда и четкое специфическое сродство антител к опухолевым тканям. Получены антитела практически ко всем видам опухолей, что значительно стимулирует развитие не только соответствующих контрастных, но и терапевтических средств [90—96].

Стандартная схема получения контрастного агента на основе антител включает следующие основные стадии [81]:

- получение моноклональных антител;
- ковалентное связывание к ним хелатообразующего агента;
- синтез комплекса определенного нуклида через присоединение к хелатному участку (лиганду).

Для присоединения хелатообразующего агента к моноклональному антителу, как правило, применяют так называемые

сшивающие бифункциональные реагенты: малеинимиды, *N*-гидроксисукцинимид, изотиоцианаты [2, 80, 81]. В качестве хелатообразующих агентов могут быть использованы многие из рассмотренных лигандов: ДТРА, DOTA и др.

Эта схема принципиально не отличается от рассмотренных выше схем получения конъюгатов для других целей (с участием иммуноглобулинов, лейкоцитов и других биоспецифических структур). Из-за большого размера такие РФП имеют очень медленный клиренс и выводятся исключительно через печень.

Для диагностики опухолей успешно применяют  $^{111}\text{In}$ —ДТРА—В72.3 (Онкосцинт) и  $^{111}\text{In}$ —ДТРА—7Е11.С5.3 (Проктасцинт) (третий компонент системы — моноклональное антитело). Препарат OctreoScan на основе сложного комплекса  $^{111}\text{In}$ —ДТРА—Octreotide (где Octreotide — пептид, соматостатиновый аналог) хорошо зарекомендовал себя при диагностике некоторых соматостатин-секретирующих опухолей [90, 91]. Препарат аналогичного назначения на основе Octreotide получен и для нуклидов  $^{67}\text{Ga}$  (III) и  $^{68}\text{Ga}$  (III), причем для хелатирования эффективным оказался дезферриоксамин В (полигидроксамовая кислота), обладающий большим сродством к ионам галлия (III) [97, 98].

Приемлемая стоимость нуклидов  $^{67}\text{Ga}$  (III) и  $^{68}\text{Ga}$  (III) способствовала включению РФП на их основе в перечень перспективных для практического применения.

Еще один вариант РФП разрабатывается на основании комплексов меди (II). Химические и биохимические свойства соединений меди (I, II) хорошо описаны в литературе, что облегчает поиск необходимой для успешного дизайна информации. Фармакокинетика и фармакодинамика многих комплексов меди (I, II) подробно исследована. Полученные нуклиды довольно успешно используются для разнообразных целей. Комплексы, содержащие нуклиды меди (II) с большим периодом полураспада ( $^{64}\text{Cu}$ ,  $^{67}\text{Cu}$ ), используются для получения опухоль-специфичных меченых моноклональных антител и пептидов, например, препарат  $^{64}\text{Cu}$ —ТЕТА—Octreotide (где ТЕТА — 1,4,8,11-тетраазациклотетра-декан-1,4,8,11-тетрауксусная кислота). Нуклиды с коротким периодом полураспада удобны для ангиографии и диагностики гипоксии [81].

Недостатком при использовании плоскоквадратных комплексов является легкий доступ к метке для трансхелляции с биолигандами. Осложняет применение таких препаратов и заметная диссоциация в плазме комплексов с такими лигандами, как

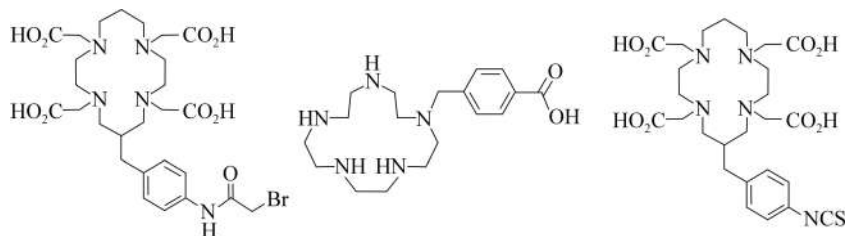


Рис. 5.14. Схематическое изображение структуры лигандов, наиболее часто применяемых для комплексообразования с нуклидами  $^{64}\text{Cu}$  (II) и  $^{67}\text{Cu}$  (II) [2]

EDTA и DTPA, с образованием комплекса меди (II) с альбумином, несмотря на их относительно высокую термодинамическую стабильность ( $\lg K_{\text{Cu-EDTA}}=18,7$  и  $\lg K_{\text{Cu-DTPA}}=21,4$ ) [2, 81].

На рис. 5.14 схематически представлены структуры макроциклических лигандов, наиболее часто используемых в дизайне РФП на основе комплексов меди. В качестве РФП такие комплексы меди оказались эффективны для бифункционального метчения пептидов и антител [5, 80].

Отметим, что для синтеза комплексов нуклидов  $^{60}\text{Cu}$  (II),  $^{61}\text{Cu}$  (II) и  $^{62}\text{Cu}$  (II) более пригодными оказались уже упоминавшиеся выше макроциклические лиганды DOTA, DO2A [2]. Плоскоквадратные комплексы меди (II) (рис. 5.15) проявили способность селективно восстанавливаться в гипоксических тканях. Для отображения участков ткани, подверженных гипоксии необходимо, чтобы контрастный комплекс имел окислительно-восстановительный потенциал, близкий к таковому для кислорода в соответствующих участках.

Комплекс  $^{62}\text{Cu}$  (II) с диацетил-бис( $N^4$ -метилтиосемикарбазоном),  $[\text{Cu}(\text{ATSM})]^{2+}$ , имеет потенциал восстановления  $-0,297$  В, а его аналог  $[\text{Cu}(\text{PTSM})]^{2+}$  соответственно  $0,208$  В. В настоящее

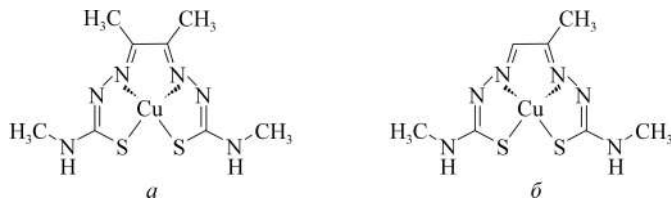


Рис. 5.15. Схематическое изображение структуры РФП на основе комплексов меди (II): а —  $[\text{Cu}(\text{ATSM})]^{2+}$ ; б —  $[\text{Cu}(\text{PTSM})]^{2+}$  [2]

время это самые эффективные РФП для диагностики гипоксической патологии при ишемической болезни сердца и локализации опухолей [2, 81].

Однако, несмотря на отмеченную выше эффективность, РФП на основе нуклидов меди (II) пока ограничено доступны, поскольку необходимый для их изготовления нуклид ( $^{62}\text{Cu}$ ) синтезируется в ускорителях и оказывается дороже других перспективных для РФП нуклидов, в частности — нуклида  $^{99}\text{Tc}$  [80, 81].

$^{99}\text{Tc}$  — третий сравнительно доступный нуклид для радиофармакологии ( $t_{1/2}=6$  часов) [80, 82]. Он может иметь степени окисления от  $-1$  до  $+7$ , но для радиофармакологии чаще всего используют нуклиды  $^{99}\text{Tc(III)}$  и  $^{99}\text{Tc(V)}$ . РФП на их основе наиболее изучены, а область применения чрезвычайно обширна.

У данного атома достаточно высокое сродство к атомам серы, азота и фосфора. Это отражается на составе и стереохимии образуемых им координационных узлов и структуре комплексов. Ниже рассмотрены наиболее характерные примеры этих координационных РФП.

Комплекс  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  (I) с шестью 2-метоксиизобутанизонитрильными лигандами ( $^{99\text{m}}\text{Tc-SESTAMIBI}$ , а также — Cardiolite, Технетрил, рис. 5.16) имеет общий заряд  $+1$ , характеризуется малыми размерами и октаэдрической геометрией координационного узла и, следовательно, достаточной липофильностью, то есть оптимальным соотношением свойств для проникновения внутрь клетки [2, 80]. Стабильность данного комплекса хорошо объясняется в рамках концепции жестких и мягких кислот и оснований, а его октаэдрическая геометрия —  $d^2sp^3$ -гибридизацией.

Показана возможность его применения для диагностики некоторых видов опухолей [99]. Внутри раковых клеток он селективно связывается Р-гликопротеином,

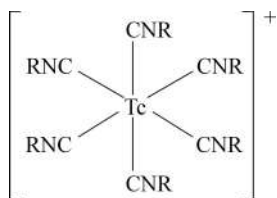


Рис. 5.16. Схематическое изображение структуры комплекса

$^{99\text{m}}\text{Tc-SESTAMIBI}$   
( $\text{R}=\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{OCH}_3$ ) [2]

кодируемым MDR1-геном опухолевых клеток (MRD — multi-drug resistance), который ответственен за транспорт из клетки многих химиотерапевтических лекарственных средств, и, следовательно, резистентность опухоли к химиотерапии [100—103].  $^{99\text{m}}\text{Tc-SESTAMIBI}$  также в достаточной концентрации накапливается в миокарде, что позволяет использовать его для выявления склеротизированных участков в нем [104]. Од-

нако наиболее эффективным этот препарат оказался в радиографии коронарного кровотока [2].

Нуклид  $^{99m}\text{Tc}$  (III) образует комплексы, представляющие собой аддукты борорганического производного и диоксидов технеция (III) (рис. 5.17, *а*). Структурные особенности этого комплекса — геометрия координационного узла в виде тригональной призмы, образованной донорными атомами  $\text{N}_6$  или  $\text{N}_3\text{O}_3$ , а также седьмым лигандом  $\text{Cl}^-$ , координируемым перпендикулярно одной из граней октаэдра [80].

Комплексы нуклида  $^{99m}\text{Tc}$  (III), образованные лигандами такого типа, являются эффективными бифункциональными связывающими агентами для мечения пептидов и антител [105], а также успешно используются для визуализации миокарда [106].

Для исследования состояния миокарда также используют РФП Technecard и Technescan, в состав которых входит липофильный комплекс нуклида  $^{99m}\text{Tc}$  (III) с лигандом, содержащим  $\text{N}_2\text{O}_2$ -донорную группу в координационном узле, и двумя фосфинowymi лигандами (рис. 5.17, *б*) [108].

Кроме того, нуклид  $^{99m}\text{Tc}$  (III) образует комплексы с ДТРА, которые используются для бифункционального мечения различных биомолекул, в частности пептидов и белков [82]. С этой же целью успешно применяются и комплексы, содержащие оксокаатион  $[\text{H}^{99m}\text{TcO}]^{3+}$  (рис. 5.18) [109—112].

Структура таких комплексов чаще всего представляет собой квадратную пирамиду, координационный узел которой образуют тетрадентатные лиганды с группами донорных атомов  $\text{N}_4$ ,  $\text{N}_3\text{S}$ ,  $\text{N}_2\text{S}_2$  (рис. 5.19).

У этих РФП достаточно широкие возможности для диагностических исследований: препарат Technescan MAG3 эффективен

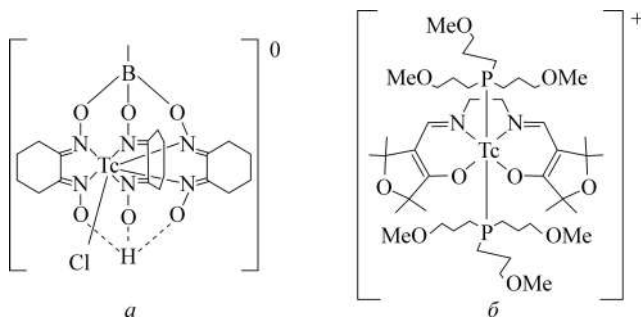


Рис. 5.17. Схематическое изображение структуры комплексов технеция (III) в РФП: *а* — Cardiotec; *б* — Technescan Q12 [107]

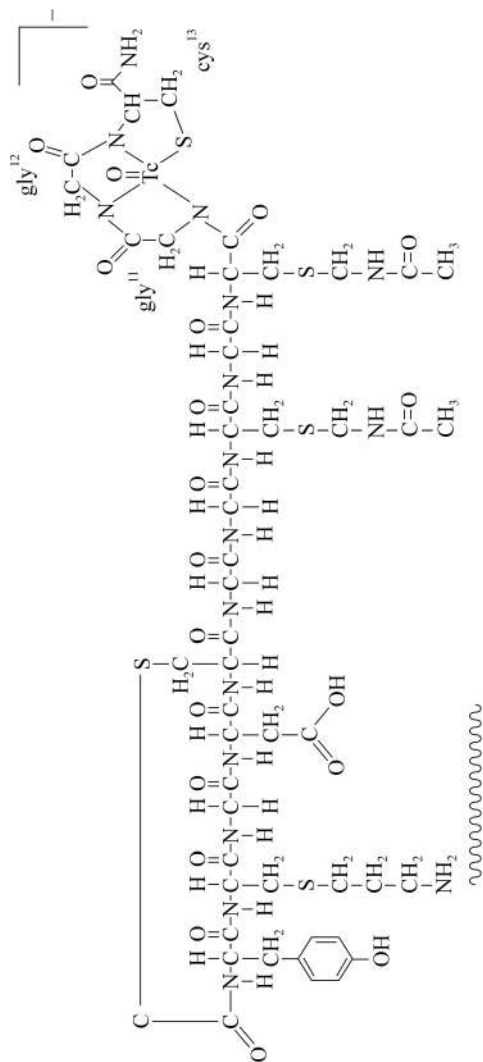


Рис. 5.18. Схематическое изображение комплекса оксокариона  $[^{99m}\text{TcO}]^{3+}$  с пептидом P246, обладающего свойством к GPIIb/IIIa рецепторам, участвующим в агрегации тромбоцитов и образовании тромба (~~~~~ — область связывания с рецептором) [112]

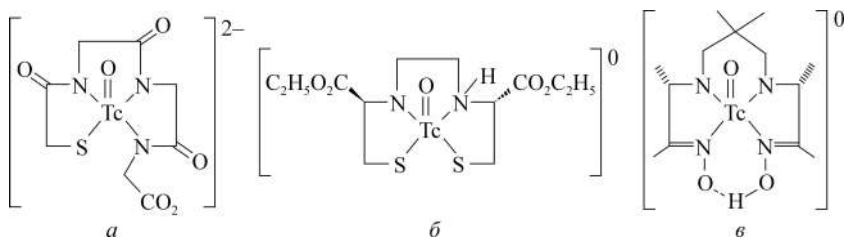


Рис. 5.19. Схематическое изображение структуры комплексов технеция (V) в РФП: *a* — Technescan MAG3 [109]; *б* — Neurolite [110]; *в* — Ceretec [111]

при диагностике почечной недостаточности, а способные быстро проникать через гематоэнцефалический барьер Neurolite и Ceretec — для радиографического исследования мозгового кровообращения.

Следует отметить способность РФП с лигандами, содержащими  $N_2S_2$ -группировку донорных атомов, благодаря высокой липофильности накапливаться в печени, создавая благоприятную возможность для ее радиографического обследования. На основании лигандов такого типа получены РФП, обладающие сродством к дофаминовым рецепторам [80, 82].

Комплексы оксокаатиона  $[^{99m}\text{TcO}]^{3+}$ , содержащие  $N_4$ -группировку донорных атомов в координационном узле, успешно используются для мечения биотина, нитроимидазола, аналогов соматостатина, а также для диагностики гипоксии (рис. 5.20) [2].

В настоящее время осуществляется разработка и испытания в различных областях радиографической диагностики комплексов, у которых узел сформирован катионом  $[^{99m}\text{TcN}]^{2+}$  (рис. 5.21).

Координационные характеристики таких комплексов во многом аналогичны рассмотренным выше оксосоединениям технеция (V), однако они демонстрируют более высокую стабиль-

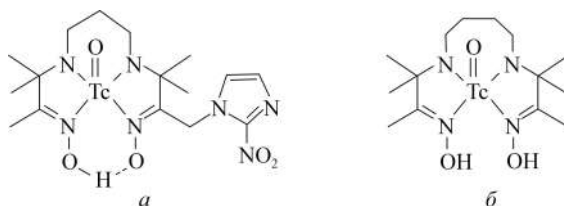


Рис. 5.20. Схематическое изображение структуры комплексов технеция (V) в РФП: *a* — BMS-181321; *б* — HL 91 [2]



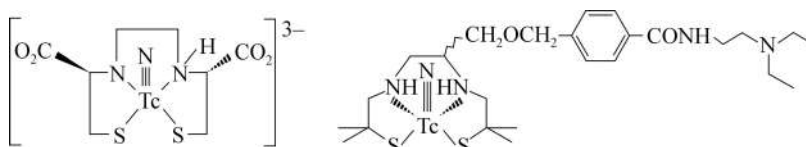


Рис. 5.21. Схематическое изображение структуры комплексов технеция (V), содержащих катион  $[^{99m}\text{TcN}]^{2+}$  [107, 113]

ность и расширение спектра возможных объектов для диагностики [107], в том числе и некоторых видов злокачественных опухолей, таких как меланома [113].

Комплексы с оксокатионом  $[\text{TcO}_2]^+$ , образованные линейными и макроциклическими лигандами, обычно имеют октаэдрическую структуру [2, 80, 82, 107]. Они эффективны при прямом мечении аналогов соматостатина и циклических биомолекул (пептидов), аналогично комплексам  $[\text{TcO}]^{3+}$ .

Особо следует выделить комплексы, образованные  $[\text{TcO}_2]^+$  с дифосфиновыми лигандами (рис. 5.22). Для них характерна  $P_4$ -группировка донорных атомов в координационном узле, обеспечивающая комплексам особую структурную устойчивость. Примером РФП на основе такого комплекса является широко используемый для визуализации миокарда и в радиографии коронарного кровообращения препарат “Myoview” ( $[\text{TcO}_2(\text{tetrafosmin})_2]^+$ , где tetrafosmin — 1,2-бис[бис(2-этоксиэтил)-фосфино]этан [114].

Комплексы, образованные  $[\text{TcO}_2]^+$  с дитиобисфосфиновыми лигандами, нашли применение как бифункциональные связывающие агенты для мечения некоторых антител и пептидов, в частности антагониста бомбезина, являющегося стимулятором секреции гастрина [115]. Гидрофильность таких комплексов

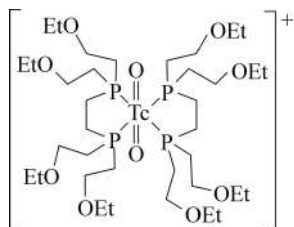


Рис. 5.22. Схематическое изображение структуры комплекса технеция (V) в РФП “Myoview” [114]

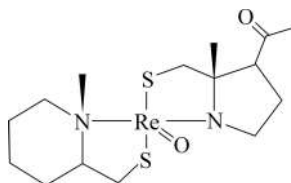


Рис. 5.23. Схематическое изображение структуры комплекса технеция (V) — координационного аналога прогестерона [5]

варьируют за счет изменения заместителей в фосфиновых лигандах [80].

Однако в диагностической практике нередко возникают ситуации, когда рассмотренные выше варианты РФП являются неэффективными. В частности, проблемной областью радиографии является выявление опухолей половых органов, которые диагностируются с помощью аналогов половых гормонов, обладающих средством к соответствующим рецепторам.

В настоящее время среди РФП потенциальными контрастными агентами для таких целей являются только координационные оксосоединения  $^{186}\text{Re}$  (V) и  $^{186}\text{Re}$  (V), имитирующие форму и рецептор-связывающие группы соответствующих стероидных гормонов (эстрадиола и прогестерона) (рис. 5.23) [5, 116—119].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам исследования химического состава крови и других биологических жидкостей можно лишь с определенной долей вероятности установить наличие или отсутствие той или иной патологии, но весьма сложно или невозможно определить ее локализацию. Поэтому весьма распространенными в медицинских центрах стали различные сканирующие методы: рентгенография, компьютерная томография, радиологическая сцинтиграфия, РЕТ-радиография, резонансная спектроскопия и другие. У каждого метода есть свои преимущества и недостатки, иначе не возникла бы необходимость постоянно расширять их спектр.

В настоящее время как наиболее перспективные рассматриваются препараты на основе гадолиний- и технецийсодержащих комплексов, а также комплексов с полиметаллическим остовом. Уже сейчас в клинической практике используются некоторые их производные, существенно повысившие диагностическую ценность соответствующих методов.

Из современных методов дизайна таких комплексов наиболее перспективными представляются возможности метода с использованием бифункциональных связывающих агентов для меченых биологически активных объектов, которыми могут быть не только низкомолекулярные регуляторы биохимических процессов, но и такие крупные высокоселективные образования,

как моноклональные антитела и лейкоциты. Использование последних существенно повышает тропность контрастных комплексов к интересующим медиков тканям или местам патологии и, следовательно, эффективность диагностики.

Несомненно, развитие контрастных агентов на основе металлокомплексов совместно с развитием технической составляющей сканирующей диагностики в значительной степени будет способствовать реализации ее высокой эффективности, безопасности и доступности.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Tweedle M. F.* // *J. Alloys and Compounds*. 1992. Vol. 180. № 1—2. P. 317—323.
2. *Reichert D. E., Lewis J. S., Anderson C. J.* // *Coord. Chem. Rev.* 1999. Vol. 184. P. 3—66.
3. *Caravan P., Ellison J. J., McMurry T. J., Lauffer R. B.* // *Chem. Rev.* 1999. Vol. 99. P. 2293—2352.
4. *Use of Inorganic Chemistry in Medicine* / Ed. N. P. Farrell. Cambridge: RSC, 1999.
5. *Metallotherapeutic Drugs and Metal-Based Diagnostic Agents. The Use of Metals in Medicine* / Eds. M. Gielen, E. R. T. Tiekink. Weinheim: Wiley-VCH, 2005.
6. *Lauffer R. B.* // *Chem. Rev.* 1987. Vol. 87. P. 901—905.
7. *Wolf G. L.* // *Radiology* 1989. Vol. 172. P. 709—715.
8. *Koenig S. H.* // *Acta Radiol. Suppl.* 1990. Vol. 374. P. 17—24.
9. *Lauffer R. B.* // *Magn. Reson. Quart.* 1990. Vol. 6. P. 65—72.
10. *White D. L.* // *Magn. Reson. Med.* 1991. Vol. 22. P. 309—314.
11. *Bydder G. M.* // *Top. Magn. Reson. Imaging*. 1991. Vol. 3. P. 74—80.
12. *Tweedle M. F., Hagan J.* // *J. Magn. Reson. Imaging*. 1991. Vol. 9. P. 408—412.
13. *Chang C. A.* // *Invest. Radiol.* 1993. Vol. 28. P. 21—26.
14. *Unger E. C., Shen D. K., Fritz T. A.* // *J. Magn. Reson. Imaging*. 1993. Vol. 3. P. 195—201.
15. *Rocklage S. M., Watson A. D.* // *J. Magn. Reson. Imaging*. 1993. Vol. 3. P. 167—172.
16. *Schuhmann-Giampieri G.* // *Invest. Radiol.* 1993. Vol. 28. P. 753—764.
17. *Hendrick R. E., Haacke E. M.* // *J. Magn. Reson. Imaging*. 1993. Vol. 3. P. 137—142.
18. *Mathur-De Vre R., Lemort M.* // *Br. J. Radiol.* 1995. Vol. 68. P. 225—231.
19. *Gupta H., Weissleder R.* // *Magn. Reson. Imaging Clin. N. Am.* 1996. Vol. 4. P. 171—176.

20. *Parker D., Williams J. A. G.* // J. Chem. Soc., Dalton Trans. 1996. P. 3613—3620.
21. *Yu S., Watson A. D.* // Chem. Rev. 1999. Vol. 99. P. 2353—2377.
22. Хьюз М. Неорганическая химия биологических процессов. М.: Мир, 1983.
23. *Guggenberger L. J., Muettterties E. L.* // J. Am. Chem. Soc. 1976. Vol. 98. P. 7221—7225.
24. *Ehnbom L., Fjaertoft Pedersen B.* // Acta Chem. Scand. 1992. Vol. 46. P. 126—130.
25. *Konings M. S., Dow W. C., Love D. B.* et al. // Inorg. Chem. 1990. Vol. 29. P. 1488—1491.
26. *Bligh S. W. A., Chowdhury A. H. M. S., McPartlin M.* et al. // Polyhedron. 1995. Vol. 14. P. 567—569.
27. *Wang Y.-M., Cheng T.-H., Sheu R.-S.* et al. // J. Chin. Chem. Soc. (Taipei). 1997. Vol. 44 P. 123—128.
28. *Aime S., Benetollo F., Bombieri G.* et al. // Inorg. Chim. Acta. 1997. Vol. 254. P. 63—70.
29. *Parker D., Pulukkody K., Smith F. C.* et al. // J. Chem. Soc. Dalton Trans. 1994. P. 689—693.
30. *Сергеев П. В., Болотова Е. Н., Коровин Ю. В.* et al. // Хим.-фарм. журн. 1996. № 3. С. 21—22.
31. *Thunus L., Lejeune R.* // Coord. Chem. Rev. 1999. Vol. 184. P. 125—155.
32. *Cohen S. M., Xu J., Radkov E., Raymond K. N.* // Inorg. Chem. 2000. Vol. 39. P. 5747—5756.
33. *Sun Y., Martell A. E., Reibenspies J. H.* et al. // Inorg. Chem. 2000. Vol. 39. P. 1480—1486.
34. *Aime S., Botta M., Frullano L.* et al. // J. Med. Chem. 2000. Vol. 43. P. 4017—4024.
35. *Toth E., Burai L., Merbach A. E.* // Coord. Chem. Rev. 2001. Vol. 216—217. P. 363—382.
36. *Supkowski R. M., De W., Horrocks W.* // Inorg. Chem. 1999. Vol. 38. P. 5616—5619.
37. *Baggio R., Garland M. T., Perec M.* // Inorg. Chem. 1997. Vol. 36. P. 950—952.
38. *Brumaghim J. L., Raymond K. N.* // J. Am. Chem. Soc. 2003. Vol. 125. P. 12066—12067.
39. *Chan K. W.-Y., Barra S., Botta M., Wong W.-T.* // J. Inorg. Biochem. 2004. Vol. 98. P. 677—682.
40. *Anelli P. L., Lattuada L., Lorusso V.* et al. // J. Med. Chem. 2004. Vol. 47. P. 3629—3641.
41. *Xu J., Churchill D. G., Botta M., Raymond K. N.* // Inorg. Chem. 2004. Vol. 43. P. 5492—5494.
42. *Janon E. A.* // Am. J. Roentgen. 1989. Vol. 152. P. 1348—1352.

43. Gibson R. J., Meanock C. I., Torre E. P. H., Walker T. M. // Clin. Radiol. 1993. Vol. 47. P. 278—284.
44. Weinmann H. J., Lanaido M., Mutzel W. // Physiol. Chem. Phys. Med. NMR. 1984. Vol. 16. P. 167—172.
45. VanWagoner M., O Toole M., Worah D. et al. // Invest. Radiol. 1991. Vol. 26. P. 980—984.
46. Staks T., Schuhmann-Giampieri G., Frenzel T. et al. // Invest. Radiol. 1994. Vol. 29. P. 709—713.
47. McLachlan S. J., Eaton S., DeSimone D. N. // Invest. Radiol. 1991. Vol. 27. P. S12—S16.
48. Schumann-Giampieri G., Schitt-Willich H., Frensel T. // J. Pharm. Sci. 1993. Vol. 82. P. 799—804.
49. Hamm B., Wolf K. J., Weinmann H. J., Lange L. // Radiology. 1995. Vol. 195. P. 785—792.
50. Schumann-Giampieri G., Schitt-Willich H., Press W. et al. // Radiology. 1992, Vol. 183. P. 59—64.
51. Schumann-Giampieri G., Mahler M., Roll G. et al. // J. Clin. Pharmacol. 1997. Vol. 37. P. 587—593.
52. Powell D. H., Ni Dhubhghaill O. M., Pubanz D. et al. // J. Am. Chem. Soc. 1996. Vol. 118. P. 9333—9346.
53. Toth E., Helm L., Merbach A. E. et al. // Inorg. Chem. 1998. Vol. 37. P. 4104—4113.
54. Ranganathan R. S., Fernande M. E., Kang S. I. et al. // Invest. Radiol. 1998. Vol. 33. P. 779—797.
55. Costes J.-P., Dahan F., Dupuis A. et al. // Inorg. Chem. 1998. Vol. 37. P. 153—155.
56. Brasch R. C. // Magn. Reson. Med. 1991. Vol. 22. P. 282—287.
57. Nunn A. D., Linder K., Tweedle M. // Quart. J. Nuc. Med. 1997. Vol. 41. P. 155—162.
58. Glogard C., Stensrud G., Hovland R. et al. // Int. J. Pharm. 2002. Vol. 233. P. 131—135.
59. Morel S., Terreno E., Ugazio E. et al. // Eur. J. Pharm. Biopharm. 1998. Vol. 45. P. 157—163.
60. Anelli P. L., Lattuada L., Lorusso V. et al. // Magn. Reson. Mater. Phys. Biol. Med. 2001. Vol. 12. P. 114—120.
61. Wiener E. C., Brechbiel M. W., Brothers H. et al. // Magn. Reson. Med. 1994. Vol. 3. P. 1—8.
62. Aime S., Bott M., Garino E. et al. // Chem. Eur. J. 2000. Vol. 6. P. 2609—2616.
63. Bligh S. W., Harding C. T., Sadler P. J. et al. // Magn. Reson. Med. 1991. Vol. 17. P. 516—521.
64. Egli A., Alberto R., Tannahill L. // J. Nucl. Med. 1999. Vol. 40. P. 1913—1917.

65. *Andre J. P., Toth E., Fischer H. et al.* // Chem. Eur. J. 1999. Vol. 5. P. 2977—2986.
66. *Torchilin V. P.* // Adv. Drug Delivery. 2002. Vol. 54. P. 235—242.
67. *Accardo A., Tesauro D., Roscigno P. et al.* // J. Am. Chem. Soc. 2004. Vol. 126. P. 3097—3107.
68. *Fossheim S. L., Fahlvik A. K., Klaveness J., Muller R. N.* // Magn. Reson. Imaging. 2000. Vol. 17. P. 83—89.
69. *Alhaique F., Bertini I., Fragai M. et al.* // Inor. Chim. Acta. 2002. Vol. 331. P. 151—157.
70. *Bush W. H., Swanson D. P.* // Am. J. Roentgen. 1991. Vol. 157. P. 1153—1159.
71. *Сеурудов Н. К., Нанолов Ю. К.* // Медицинская визуализация. 2002. № 4. С. 138—141.
72. *Matchett W. J., McFarland D. R., Russell D. K. et al.* // Radiology. 1996. Vol. 201. P. 569—574.
73. *Kaufman J. A., Geller S. C., Waltman A. C.* // Radiology. 1996. Vol. 198. P. 579—585.
74. *Fobbe F., Wachter F., Wagner S.* // Eur. Radiol. 1996. Vol. 6. P. 224—231.
75. *Spinosa D. J., Matsumoto A. H., Angle J. F. et al.* // Radiology. 1998. Vol. 209(p). P. 490—495.
76. *Schmitz S. A., Wagner S., Schuhmann-Giampieri G., Wolf K.* // Invest. Radiol. 1995. Vol. 30. P. 644—653.
77. *Yu S.-B., Droege M., Segal B. et al.* // Inorg. Chem. 2000. Vol. 39. P. 1325—1328.
78. *Yu S.-B., Droege M., Downey S. et al.* // Inorg. Chem. 2001. Vol. 40. P. 1576—1581.
79. Краткая медицинская энциклопедия. Т. 2. / Под ред. В. И. Покровского. М.: Медицинская энциклопедия, 1994.
80. *Liu S., Edwards D. S.* // Chem. Rev. 1999. Vol. 99. P. 2235—2268.
81. *Anderson C. J., Welch M. J.* // Chem. Rev. 1999. Vol. 99. P. 2219—2234.
82. *Jurisson S. S., Lydon J. D.* // Chem. Rev. 1999. Vol. 99. P. 2205—2218.
83. *Sun Y., Anderson C. J., Pajean T. S. et al.* // J. Med. Chem. 1996. Vol. 39. P. 458—470.
84. *Motekaitis R. J., Martell A. E., Koch S. A. et al.* // Inorg. Chem. 1998. Vol. 37. P. 5902—5911.
85. *Arano Y., Uezono T., Akizawa H. et al.* // J. Med. Chem. 1996. Vol. 39. P. 3451—3460.
86. *McAfee J. G., Thakur M. L.* // J. Nucl. Med. 1976. Vol. 17. P. 480—487.
87. *Fischman A. J., Rubin R. H., White J. A.* // J. Nucl. Med. 1990. Vol. 31. P. 1199—1205.
88. *Nijhof M. W., Oyen W. J. G., van Kampen A. et al.* // J. Nucl. Med. 1997. Vol. 38. P. 1300—1308.
89. *Fischman A. J., Pike M. C., Kroon D. et al.* // J. Nucl. Med. 1991. Vol. 32. P. 483—489.

90. Bakker W. H., Albert R., Bruns C. et al. // Life Sci. 1991. Vol. 49. P. 1583—1588.
91. Bakker W. H., Krenning E. P., Breeman W. A. et al. // Nucl. Med. 1991. Vol. 32. P. 1184—1192.
92. Goldenberg, D. M. Cancer Imaging and Therapy with Radiolabeled Antibodies. New York: Plenum Press, 1991.
93. Waldmann T. A. // Science. 1991. Vol. 252. P. 1657—1658.
94. McKearn T. J. // Cancer. 1993. Vol. 71. P. 4302—4308.
95. Delaloye A. B., Delaloye B. // Eur. J. Nucl. Med. 1995. Vol. 22. P. 571—577.
96. Nabi H. A. // Clin. Immunother. 1996. Vol. 6. P. 200—206.
97. Anderegg G., L'Eplattenier F., Schwarzenbach G. // Helv. Chim. Acta. 1963. Vol. 46. P. 1400—1406.
98. Moeschlin S., Scneider U. N. // Eng. J. Med. 1963. Vol. 269. P. 57—64.
99. Piwnica-Worms D., Holman B. L. // J. Nucl. Med. 1990. Vol. 31. P. 1166—1174.
100. Riordan J. R., Deuchars K., Kartner N. et al. // Nature. 1983. Vol. 316. P. 817—825.
101. Bradley G., Juranka P. F., Ling V. // Biochim. Biophys. Acta. 1988. Vol. 948. P. 87—95.
102. Juliano R. L., Ling V. // Biochim. Biophys. Acta. 1976. Vol. 455. P. 152—158.
103. Kartner N., Riordan J. R., Ling V. // Science. 1983. Vol. 221. P. 1285—1292.
104. Jones A. G., Abrams M. J., Davison A. et al. // Int. J. Nucl. Med. Biol. 1984 Vol. 11. P. 225—134.
105. Linder K. E., Wen M. D., Nowotnik D. P. et al. // Bioconjugate Chem. 1991. Vol. 2. P. 160—167.
106. Linder K. E., Malley M. F., Gougoutas J. Z. et al. // Inorg. Chem. 1990. Vol. 29. P. 2428—2436.
107. Nosco D. L., Beaty-Nosco J. A. // Coord. Chem. Rev. 1999. Vol. 184. P. 91—123.
108. Rossetti C., Paganelli G., Vanoli G. et al. // J. Nucl. Med. 1994. Vol. 35. P. 1571—1576.
109. Fritzberg A. R., Kasina S., Eshima D., Johnson D. L. // J. Nucl. Med. 1986. Vol. 27. P. 111—117.
110. Edwards D. S., Cheesman E. H., Watson M. W. et al. // In: Technetium and Rhenium in Chemistry and Nuclear Medicine 3 / Eds. M. Nicolini, G. Bandoli, U. Mazzi. Cortina International. Verona: Raven Press, 1990. P. 433—435.
111. Jurisson S., Schlemper E. O., Troutner D. E. et al. // In: Technetium in Chemistry and Nuclear Medicine 2 / Eds. M. Nicolini, G. Bandoli, U. Mazzi. Cortina International Verona: Raven Press, 1987. P. 37—40.

112. *Francesconi L. C., Zheng Y., Bartis J. et al.* // Inorg. Chem. 2004. Vol. 43. №. 9. P. 2867—2875.
113. *Auzeloux P., Papon J., Pasqualini R., Madelmont J.-C.* // J. Med. Chem. 2001. Vol. 44. P. 1116—1121.
114. *Konno T., Kirchhoff J. R., Heneman W. R., Deutsch E.* // Inorg. Chem. 1989. Vol. 28. P. 1174—1179.
115. *Smith C. J., Li N., Katti K. V. et al.* // Nucl. Med. Biol. 1997. Vol. 24. P. 685—694.
116. *Rouchias G.* // Chem. Rev. 1974. Vol. 74. P. 531—537.
117. *Goedemuans W. T., Panek K. J., Ensing G. J., Delong M. T.* // In: Technetium and Rhenium in Chemistry and Nuclear Medicine 3/ Eds. M. Nicolini, G. Bandoli, U. Mazzi. Cortina International. Verona: Raven Press, 1990. P. 595—596.
118. *Dizio J. P., Anderson C. J., Davison A. et al.* // J. Nucl. Med. 1992. Vol. 33. P. 558—564.
119. *Le Bideau F., Kaloum El B., Haquette P. et al.* // Chem. Commun. 2000. P. 211—212.



## **ПЕРСПЕКТИВЫ БИОКООРДИНАЦИОННОГО НАПРАВЛЕНИЯ В МЕДИЦИНЕ**

Систематический поиск координационных соединений металлов для применения в медицине, начавшийся в 70-х гг. XX в., в настоящее время успешно продолжается в следующих основных направлениях:

- синтез новых классов координационных соединений металлов с лигандами, которые являются метаболитами или лекарственными веществами;
- определение их строения и свойств; нахождение корреляции между физико-химическими свойствами полученных соединений и их биологической активностью;
- выяснение механизма терапевтического действия комплексов на молекулярном уровне;
- сравнение терапевтических свойств лекарств и комплексов на их основе;
- установление оптимальных концентраций микроэлементов и лечение путем коррекции их избытка или дефицита;
- разработка диагностических средств на основе металлокомплексов.

Поиск новых лекарственных средств преимущественно среди органических соединений, по-прежнему, является основным направлением современной фармакологии. Однако результаты исследований, в том числе и рассмотренные выше, свидетельствуют о существенном смещении акцентов в области изыскания новых лекарственных средств, когда возможности и перспективы дальнейшего развития направления, связанного с химией металлокомплексов, определяются несколькими обстоятельствами. Во-первых, металлокомплексы могут быть полезны в терапии или диагностике заболеваний, когда применение органических препаратов оказалось безуспешным. Во-вторых, они требуют создания новых оригинальных методов синтеза, технологических операций, которые не использовались ранее при изготовлении органических лекарственных и диагностических средств.

В-третьих, роль координационных соединений в медицине существенно возросла после того, как было обнаружено, что комплексообразование позволяет во многих случаях решить проблему устойчивости патогенных микроорганизмов по отношению к антимикробным традиционным средствам и ионам металлов, снизить токсичность и аллергенное действие известных лекарственных препаратов. Так, при создании антимикробных препаратов используются в качестве активного компонента ионы металлов, которые могут причинить вред человеку (например, Hg (II), Ag (I) относятся к тиоловым ядам). Поэтому для минимизации побочного действия и негативного влияния ионов металлов прибегают к комплексообразованию. Характерными примерами его положительного влияния на свойства лекарственных средств являются препараты дермазин, сульфаргин (действующее вещество — сульфадиазин Ag (I)), аргосульфам (действующее вещество — сульфатиазол Ag (I)), широко использующиеся в клинической практике. Наличие ионов Ag (I) позволяет использовать эти препараты для длительной терапии ожогов, поскольку антибактериальное действие сульфаниламида усиливается олигодинамическим эффектом Ag (I) при одновременном ослаблении аллергенных свойств сульфаниламида<sup>1</sup>.

Особенно актуальна проблема борьбы с вирусами. Вирусные заболевания являются особым типом патологии, препараты для лечения которых, в отличие, например, от бактериальных инфекций, имеют узкий спектр действия, направленный на семейство возбудителей одной инфекции или даже часть из них. И по этой причине этиотропные химиотерапевтические средства для лечения большинства вирусных инфекций, за исключением гриппа, герпеса и ВИЧ-инфекции, до настоящего времени практически отсутствуют. Известна противовирусная активность соединений некоторых переходных металлов (платины (II), палладия (II) и др.). Но прежде всего такие вещества привлекают внимание, как потенциальные противоопухолевые препараты. Кроме того, они проявляют выраженные побочные эффекты.

В научных центрах США, Германии, Японии, России, Франции, Испании, Канады, Индии, Китая и других стран ведется разработка методик синтеза и исследования свойств металлокомплексов преимущественно со специфической биоактивностью: антипролиферативных, противовирусных и антимикробных с селектив-

<sup>1</sup> Guo Z., Sadler P. // *Angew. Chem., Int. Ed.* 1999. Vol. 38. P. 1512—1531; Машковский М. Д. Лекарственные средства. Т. 2. М.: Новая волна, 2001.

ной активностью по отношению к определенным видам бактерий, дрожжей, грибов, вирусов и др. В последние годы основным направлением этих исследований является поиск металлокомплексов с широким спектром биоактивности в связи с заметной интенсификацией процессов изменчивости и приспособляемости возбудителей различных инфекций, и в особенности вирусов. В литературе информация о заметных результатах разработок в области металлокомплексов с широким спектром антимикробной и антивирусной активности практически отсутствует; не проводились до сих пор систематические исследования и в Беларуси.

Перспективной областью поиска потенциальных химиотерапевтических агентов с широким спектром антимикробной и антивирусной активности, на наш взгляд, являются металлокомплексы фенолсодержащих лигандов. Показано, что многие производные пространственно экранированных дифенолов и аминокислот могут замедлять процессы окисления и свободно-радикальные реакции фрагментации важнейших биомолекул, а оценка их биоактивности в модельных системах подтверждает перспективность использования в медицине, в частности и как антивирусных средств<sup>2</sup>. Присутствие в их структуре электронодонорных атомов обеспечивает возможность образовывать разнообразные по составу и структуре комплексы, в которых лиганды могут координироваться не только в различных депротонированных формах, но также в виде редокс-изомеров. Кроме того, они являются полидентатными лигандами и могут образовывать хелатные циклы, играющие важную роль в стабилизации комплексов, проявлении биологической активности, преодолении токсичности исходных лигандов.

При выборе Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II), Ag(I) и Bi (III) в качестве ионов-комплексобразователей учитывалась роль ионов этих металлов для жизнедеятельности человека либо как составной части многих ферментов и металлопротеинов, либо как фармакоактивных агентов, для которых характерен олигодинамический эффект, а также их способность участвовать в редокс-процессах и тем самым влиять на свойства фенолсодержащих лигандов<sup>3</sup>. Исследование в этом направлении в течение четырех

<sup>2</sup> Shadyro O. I., Edimecheva I. P., Glushonok G. K. et al. // Free Radical Res. 2003. Vol. 37. N 10. P. 1087—1097; Shadyro O. I., Sorokin V. L., Ksendzova G. A. et al. // Pharm. Chem. Journal. 2002. Vol. 36. № 8. P. 410—412.

<sup>3</sup> Чернявская А. А., Логинова Н. В., Полозов Г. И., Парфенова М. С. // В сб. "Благородные и редкие металлы. Тр. IV междунар. конф. «БРМ—2003»". 2003. Донецк. С. 391—393.

лет проводилось на кафедре неорганической химии Белорусского государственного университета и в Научно-исследовательском институте физико-химических проблем БГУ. Установлено, что комплексы Ag (I), Co (II) и Cu (II) с некоторыми производными пространственно экранированных дифенолов и аминифенолов являются достаточно активными в отношении вируса простого герпеса, а также ряда грамположительных, грамотрицательных бактерий и дрожжей (*E. coli*, *Ps. aeruginosa*, *S. marcescens*, *Pr. vulgaris*, *B. subtilis*, *S. lutea*, *St. aureus*, *St. saprophyticus*, *C. albicans*, *C. utilis*, *C. boidini*, *S. cerevisiae* и др.)<sup>4</sup>. Высокие значения IC<sub>50</sub> и ХТИ позволяют рассматривать эти соединения как потенциальные химиотерапевтические агенты с широким спектром фармакологического действия.

Механизмы действия ионов металлов на организм весьма разнообразны, но, к сожалению, пока еще очень мало изучены.

<sup>4</sup> Чернявская А. А., Логинова Н. В., Полозов Г. И. и др. // Рецепт. 2003. № 5. С. 31—33; Чернявская А. А., Логинова Н. В., Ковальчук Т. В. и др. // Вестник БГУ. Сер. 2. 2004. № 1. С. 20—25; Чернявская А. А., Логинова Н. В., Парфенова М. С. и др. // Материалы XVII Менделеевского съезда по общей и прикладной химии. Т. 2. Сер. А. Материалы и нанотехнологии. 2003. Казань. С. 398; Логинова Н. В., Чернявская А. А., Ковальчук Т. В. и др. // Материалы II Междунар. конф. “Медико-социальная экология личности: состояние и перспективы”. 2004. Минск. С. 191—194; Чернявская А. А., Логинова Н. В., Полозов Г. И., Парфенова М. С. // Сб. тр. IX Междунар. конф. “Физико-химические процессы в неорганических материалах (ФХП—9)”. Т. 2. 2004. Кемерово. С. 215—218; Ковальчук Т. В., Логинова Н. В., Полозов Г. И. и др. // Сб. тр. IX Междунар. конф. “Физико-химические процессы в неорганических материалах (ФХП—9)”. Т. 2. 2004. Кемерово. С. 46—49; Логинова Н. В., Чернявская А. А., Ковальчук Т. В. и др. // Рецепт. 2004. № 4. С. 24—27; Логинова Н. В., Полозов Г. И., Чернявская А. А. и др. // Материалы VII съезда фармацевтов Республики Беларусь “Фармация XXI века”. 2004. Витебск. С. 264—267; Чернявская А. А., Логинова Н. В., Шеряков А. А., Бондаренко Е. В. // Материалы VII съезда фармацевтов Республики Беларусь “Фармация XXI века”. 2004. Витебск. С. 205—206; Loginova N. V., Chernyavskaya A. A., Polozov G. I. et al. // Polyhedron. 2005. Vol. 24. № 5. P. 611—618; Chernyavskaya A. A., Loginova N. V., Parfenova M. S. et al. // Physics, Chemistry and Application of Nanostructures. Intern. Conf. “Nanomeeting-2005”. Minsk. P. 381—384; Логинова Н. В., Ковальчук Т. В., Чернявская А. А. и др. // Материалы III Междунар. конф. “Медико-социальная экология личности: состояние и перспективы”. Минск. 2005. С. 191—194; Ковальчук Т. В., Логинова Н. В., Полозов Г. И. и др. // Материалы XXII Междунар. Чугаевской конф. по координационной химии. Кишинев. 2005. С. 383—384; Чернявская А. А., Логинова Н. В., Полозов Г. И., Осипович Н. П. // Материалы XXII Междунар. Чугаевской конф. по координационной химии. Кишинев. 2005. С. 544—545.

Они, безусловно, не исчерпываются приведенными в данной монографии примерами, а анализ литературы показывает, что задача выяснения таких механизмов на различных уровнях биологической организации, по-видимому, не одно десятилетие будет оставаться чрезвычайно актуальной. Основная причина такого развития событий заключается в том, что ее решение требует определения широкого набора характеристик комплексообразования различных ионов металлов с низкомолекулярными (аминокислотами, нуклеотидами, азотистыми основаниями, нуклеозидами, углеводами, липидами, витаминами, гормонами и др.) и высокомолекулярными (полипептидами, протеинами, нуклеиновыми кислотами и др.) лигандами, а также ионов металлов с ферментами и металлоферментами с органическими лекарственными веществами — потенциальными лигандами.

Но самым существенным фактором в определении стратегии развития биокординационного направления является неспособность традиционной фармацевтической химии ксенобиотиков (чужеродных для организма химических веществ, в том числе и многих лекарственных средств) полностью удовлетворить потребности общества в эффективных и безопасных лекарственных средствах. В связи с этим на первый план в фармакологии все более уверенно выдвигается направление, связанное с синтезом метаболитов и эндогенных биорегуляторов обменных процессов. Основная идея этого направления в медицине, названного ортофармакологией, была сформулирована в работах Л. Полинга и его последователей: бороться с болезнями, изменяя концентрации веществ, которые содержатся в самом организме и жизненно ему необходимы, предпочтительно применению сильнодействующих средств, будь то сильнодействующие препараты или экстракты из растений, которые могут давать и почти всегда дают нежелательные эффекты<sup>5</sup>. С этих позиций становятся отчетливыми перспективы использования в медицине металлокомплексов, обусловленные ролью в организме человека ионов металлов, металлоферментов, коферментов. Многие из них, как отмечалось выше, участвуют в действии органических лекарственных средств в качестве мишеней. Особое значение последнего фактора было подчеркнуто еще в начале XX в. всемирно известным химиком, биологом, фармакологом, врачом Паулем Эрлихом в его определении биологически активных веществ: “Cor-

<sup>5</sup> Полинг Л. // Витамин С и здоровье. М.: Наука, 1974; Adams R. Megavitamin Therapy. New York: Lanhamaint Books, 1973.

*pora non actunt, nisi fixata*”, то есть, чтобы действовать на организм, молекула вещества должна быть связана с каким-то его рецептором. Освоение принципов функционирования биосистем обеспечивает возможность использования их в более простых химических молекулярно-организованных системах. Этот подход к решению поставленных задач получил название химической биомиметики (имитация, подражание живой природе). Поэтому успешная разработка новых лекарственных средств во многом зависит от результатов исследований состава, структуры, механизмов действия металлоферментов и других биологически активных металлокомплексов в организме человека. Постепенно ученые получают с помощью физико-химических методов информацию о механизме биохимических процессов, происходящих на молекулярном уровне, и могут направленно осуществлять дизайн молекул лекарственных веществ. И хотя сейчас новое биokoординационное направление в медицинской и фармацевтической химии делает лишь первые шаги, XXI в. должен стать его временем. Недаром одному из выдающихся ученых XX в. Э. Резерфорду принадлежат слова: “Научная истина проходит три стадии своего признания: сначала говорят — «это абсурд», потом — «в этом что-то есть» и, наконец, — «это давно известно!»”

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ .....</b>	<b>3</b>
<b>Глава 1. ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ КОМПЛЕКСЫ ПЛАТИНЫ (II, IV): СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ .....</b>	<b>9</b>
Особенности координационной химии платины (II, IV) .....	14
Механизмы действия противоопухолевых комплексов платины (II, IV) .....	15
Особенности структуры противоопухолевых комплексов платины (II, IV) и основные принципы их дизайна .....	29
Заключение .....	54
Литература .....	55
<b>Глава 2. ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ СВОЙСТВА МЕТАЛЛОЦЕНОВ .....</b>	<b>63</b>
Общая характеристика исследований металлоценов с противоопухолевыми свойствами .....	64
Фармакокинетика и токсичность металлоценов .....	71
Возможные клеточные мишени и модели молекулярных механизмов противоопухолевых эффектов металлоценов .....	74
Заключение .....	88
Литература .....	89
<b>Глава 3. МЕТАЛЛОКОМПЛЕКСЫ КАК ИНГИБИТОРЫ ФЕРМЕНТОВ В ХИМИОТЕРАПИИ .....</b>	<b>93</b>
Координационные ингибиторы ферментов как противо- опухолевые средства .....	96
Координационные ингибиторы ферментов в терапии гем-зависимых заболеваний .....	102
Координационные ингибиторы ферментов в терапии ревматоидного артрита .....	104
Координационные ингибиторы ферментов в терапии вирусных инфекций .....	108
Заключение .....	116
Литература .....	119

<b>Глава 4. КОМПЛЕКСЫ ВАНАДИЯ (IV, V) — НОВЫЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ИНСУЛИНОМИМЕТИКИ .....</b>	<b>124</b>
Инсулиноподобное действие соединений ванадия .....	125
Механизм инсулиноподобного действия соединений ванадия .....	128
Неорганические соединения ванадия (клинические исследования) .....	131
Координационные соединения ванадия с органическими лигандами .....	133
Заключение .....	145
Литература .....	146
 <b>Глава 5. ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ МЕТАЛЛОКОМПЛЕКСОВ .....</b>	 <b>152</b>
Магниторезонансные контрастные средства на основе металлокомплексов .....	152
Рентгеноконтрастные средства на основе металло- комплексов .....	168
Радиофармацевтические диагностические средства на основе металлокомплексов .....	172
Заклучение .....	189
Литература .....	190
 <b>ПЕРСПЕКТИВЫ БИОКООРДИНАЦИОННОГО НАПРАВЛЕНИЯ В МЕДИЦИНЕ .....</b>	 <b>196</b>



Научное издание

**Логинова Наталья Васильевна**

**МЕТАЛЛОКОМПЛЕКСЫ В МЕДИЦИНЕ:  
ОТ ДИЗАЙНА К ХИМИОТЕРАПИИ  
И ДИАГНОСТИКЕ**

В авторской редакции

Технический редактор *Г. М. Романчук*

Корректор *Н. П. Ракицкая*

Компьютерная верстка *Т. В. Шестаковой*

Ответственный за выпуск *А. Г. Купцова*

---

Подписано в печать 28.07.2006. Формат 60×84/16. Бумага офсетная.  
Гарнитура SchoolBook. Печать офсетная. Усл. печ. л. 11,8. Уч.-изд. л. 11,18.  
Тираж 100 экз. Зак.

Белорусский государственный университет.  
Лицензия на осуществление издательской деятельности  
№ 02330/0056804 от 02.03.2004.  
220030, Минск, проспект Независимости, 4.

Отпечатано с оригинала-макета заказчика.  
Республиканское унитарное предприятие  
«Издательский центр Белорусского государственного университета».  
Лицензия на осуществление полиграфической деятельности  
№ 02330/0056850 от 30.04.2004.  
220030, Минск, ул. Красноармейская, 6.