

Обзоры

УДК 542.957:547.7:547.854:547.857:615.27.3

Ферроцены как потенциальные противоопухолевые препараты: факты и гипотезы*

В. Н. Бабин,^{a,б} Ю. А. Белоусов,^a В. И. Борисов,^в В. В. Гуменюк,^а Ю. С. Некрасов,^а
Л. А. Островская,^г И. К. Свиридова,^д Н. С. Сергеева,^д А. А. Сименел,^а Л. В. Снегур^{а*}

^аИнститут элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова Российской академии наук,
Российская Федерация, 119991 Москва, ул. Вавилова, 28.

Факс: (499) 135 5083. E-mail: snegur@ineos.ac.ru

^бНаучно-исследовательская фирма «Ультрасан»,
Российская Федерация, 125252 Москва, 2-я Песчаная ул., 57, корп. 4.
E-mail: ultrasan@mail.ru

^вОнкологический клинический диспансер № 1,
Российская Федерация, 105005 Москва, ул. Бауманская, 17/1.
Факс: (499) 267 5773. E-mail: okd1@mosgorzdrav.ru

^гИнститут биохимической физики им. Н. М. Эмануэля Российской академии наук,
Российская Федерация, 119334 Москва, ул. Косыгина, 4.
Факс: (499) 939 7416. E-mail: larros@list.ru

^дМосковский научно-исследовательский онкологический институт им. П. А. Герцена,
Российская Федерация, 125284 Москва, 2-й Боткинский проезд, 3.
Факс: (495) 945 7415. E-mail: prognos.06@mail.ru

Проанализированы результаты исследований противоопухолевого действия широкого круга соединений ферроцена и обсуждены возможные механизмы их биологической активности. Рассмотрены тенденции изучения противоопухолевого действия ферроценовых производных. Намечены перспективные пути создания малотоксичных противоопухолевых препаратов нового поколения на основе ферроцена.

Ключевые слова: ферроцен, ферроценил(алкил)азолы, противоопухолевая активность, механизмы противоопухолевого действия, теломеры, теломераза, апоптоз.

Поиск новых высокоэффективных малотоксичных препаратов, обладающих широким диапазоном

терапевтического действия, является одной из центральных и актуальных задач химиотерапии онкологических заболеваний. Современный уровень развития медицинской химии позволяет осуществлять направленный синтез разнообразных веществ с заданными свойствами и глубоко исследовать молекулярно-биологические механизмы опухолевого роста, что

* К 60-летию Института элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова Российской академии наук (ИНЭОС РАН). Обзор написан по инициативе и при активном участии профессора Ю. С. Некрасова, верой и правдой служившего в ИНЭОС РАН более 40 лет.

создает фундаментальную основу для разработки новых высокоэффективных противоопухолевых препаратов.

Рассматривая фундаментальные особенности биологии опухолевых клеток, следует прежде всего отметить их способность к неограниченному делению, преодолению порога репродуктивной гибели и нарушению естественных механизмов апоптоза. Вместе с тем хорошо известно, что опухолевый рост наряду с неограниченной пролиферацией популяции неопластических клеток характеризуется явлением прогрессии, выражающимся в инвазии опухолевых клеток в здоровые ткани, миграции их по гематогенным и лимфогенным путям и развитию процессов метастазирования.

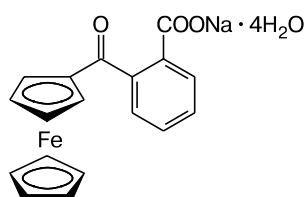
Основываясь на современных представлениях о биологии опухолевого роста, можно полагать, что для лечения опухолевых заболеваний должны использоваться такие классы многофункциональных соединений, которые благодаря своему строению, физико-химическим свойствам и реакционной способности способны воздействовать на фундаментальные механизмы жизнедеятельности опухолевых клеток и тканей.

Очевидно, что от таких соединений, способных эффективно воздействовать на опухолевые клетки, требуются свойства полиморфизма, структурной и реакционной пластичности, которые присущи также раковым клеткам, их популяциям и тканям. Этим требованиям вполне удовлетворяют металлоцены, что побудило нас обратиться к данному классу металлоорганических соединений. Открытие в 1951 г. ферроцена — первого представителя металлоорганических соединений нового класса^{1,2} — привело к интенсивному развитию химии металлоценов и их производных, что стимулировало поиск практически важных свойств этих веществ, в том числе биологической активности.

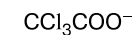
Противоопухолевую активность металлоценов, особенно ферроценов и рутеноценов, успешно исследуют в течение последних 25 лет. При этом число публикаций, в которых отражены различные аспекты биологических эффектов производных ферроцена, а также их использование для биомедицинских целей, неуклонно растет^{3–11}. Это обусловлено уникальными свойствами соединений ферроцена: устойчивостью в биологических средах, окислительно-восстановительной активностью, липофильностью, способствующей легкому проникновению через клеточные мембраны, низкой токсичностью, разнообразием способов взаимодействия с биологическими субстратами, а также легкостью и вариативностью химических модификаций и коммерческой доступностью.

Первым и пока единственным препаратом, используемым в клинической практике, является «Ферроцерон» (1) — натриевая соль *o*-карбоксибензоилферроцена, предназначенный для лечения железодефицитных патологий^{12,13}. Токсикологические исследования *in vivo* показали¹⁴ его относительно невысокую токсичность ($LD_{50} = 60 \text{ мг} \cdot \text{кг}^{-1}$), что в совокупности с низкой токсичностью других производных ферроцена^{15,16} послужило обнадеживающим фактором для поиска новых лекарственных средств, содержащих ферроценильную группу.

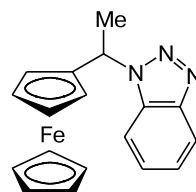
Характерными представителями биологически активных соединений этого класса являются соли феррициния (2), при изучении которых впервые была обнаружена антипролиферативная активность незамещенных ферроценов⁵, 1-(бензотриазолил)этилферроцен (3), относящийся к ферроценил(алкил)азолам, продемонстрировавшим широкий спектр противоопухолевой активности⁹, и ферроцен-модифицированные аналоги тамоксифена^{17–19} (4) — антиэстрогена, использующегося для лечения гормонзависимых видов рака груди. Для перечисленных соединений



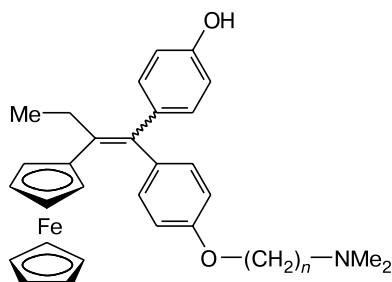
1



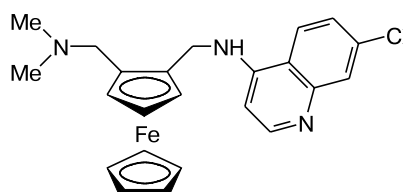
2



3



4



5

эксперименты проведены на моделях как *in vitro*, так и *in vivo*. Ферроценовый аналог противомаларийного препарата хлорохина (5) проходит первую стадию клинических испытаний^{8,20,21} и станет, возможно, эффективным противомаларийным препаратом. Для исследования противомаларийных свойств синтезированы также ферроценильные производные на основе артемизина²², хинина²³, мефлохина²³, модифицированного триазациклонона²⁴, халконов²⁵, солей бензимидазолия²⁶ и сахаров²⁷.

Противомикробную активность показали такие модифицированные ферроценом антибиотики, как пенициллины, цефалоспорины и рифамицины^{28–32}. В последнее время интенсивно исследуются производные ферроцена, содержащие различные гетероциклические фармакофорные группы⁹, а также структурные фрагменты биомолекул — аминокислот, пептидов, сахаров, нуклеиновых оснований и стероидов^{4,6}.

Весьма активно производные ферроцена используются в качестве амперометрических биосенсоров белков, зондов для ДНК и трейсеров в иммуноанализе^{3,8,33}. Это стало возможным благодаря идеальным электрохимическим свойствам ферроцена, а именно, высокой скорости электронного переноса, низкому редокс-потенциалу и химической стабильности восстановленной (ферроцен) и окисленной (феррициний) форм. Электрохимическое детектирование является дешевым и высокочувствительным аналитическим методом.

Исследования по биологической активности соединений ферроцена и перспективам их использования для биомедицинских целей обобщены в ряде обзоров^{3–11}. В данной работе проанализирована проблема применения производных ферроцена в химиотерапии опухолей и намечены перспективные пути создания малотоксичных противоопухолевых препаратов нового поколения на основе ферроцена.

Рассмотрим некоторые синтетические аспекты получения и реакционную способность соединений ферроцена, которые демонстрируют многовариантность современных способов модификации соединений этого класса. Детально вопросы ферроцен-модификации органических соединений были освещены нами недавно³⁴. Ферроценовая система может быть легко химически модифицирована как посредством одноэлектронного окисления, так и путем электрофильного замещения по циклопентадиенильным кольцам с последующей функционализацией полученных производных. В кислых средах ферроцен и его производные легко окисляются, образуя стабильные феррициниевые соли, например, с пикрат-анионом³⁵, трийодид-анионом, анионами PF_6^- ,³⁶ GaCl_4^- и CCl_3COO^- .³⁷ Эти соли представляют собой устойчивые на воздухе, растворимые в воде соединения. В ферроцене атомы водорода циклопентадиенильных колец могут быть легко замещены³⁸ посредством реакций прямого алкилирования ферроцена галогеналканами³⁹, ацилирования⁴⁰, формилирования⁴¹, аминотетилирования⁴², сульфирования⁴³ и металлирования⁴⁴.

Наиболее перспективными с точки зрения потенциальной биологической активности являются соединения ферроцена, содержащие широко используемые в фармакологии азотистые гетероциклы. Одним из способов синтеза таких соединений является реакция радикального замещения в ферроценовом ядре с использованием анионов азолов (Az^-)^{45–47} (схема 1), а также реакция ферроценилалкилирования азолов с помощью иодметилата *N,N*-диметиламинометилферроцена $[\text{FcCH}_2\text{NMe}_3]^+\text{I}^-$ (см. лит.⁴⁸) или ферроценилалканолов FcCH(R)OH в кислой среде^{34,49} (схема 2).

Схема 1

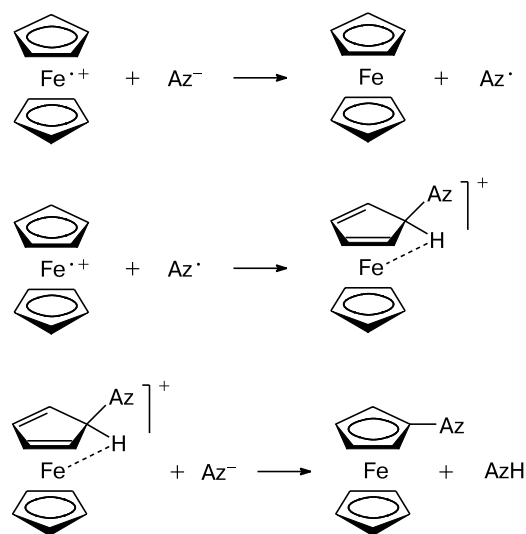
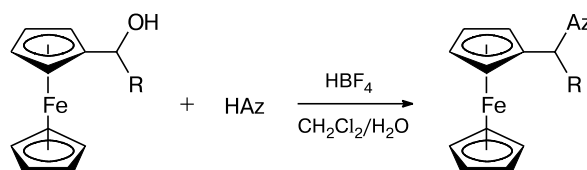


Схема 2



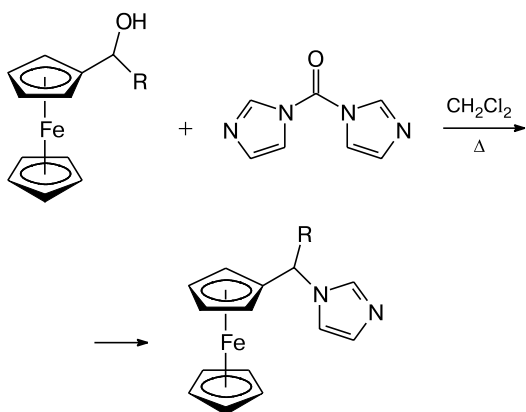
$\text{R} = \text{H, Me, Et, Ph}$

При проведении реакции в двухфазной водноорганической среде, когда реагенты находятся в органической фазе, например, в хлористом метиле, а борфтористоводородная кислота — в водной, уже при комнатной температуре получают с количественными или высокими выходами ферроценилалкильные производные низкоосновных органических субстратов широкого круга, таких как тетрафторэтилбензимидазол, бензотриазол, пиразол и многие другие^{49,50}. Разработаны также препаративные варианты реакции ферроценилалкилирования тиопиримидинов при действии каталитических количеств трифторуксусной кислоты в ацетоне⁵¹ и нуклеиновых (азотистых) оснований при кипячении их растворов с ферроценовыми спиртами в диметилсульфоксиде⁵².

Предложены также стереоселективные варианты этих методов с использованием оптически активных ферроценовых спиртов, например 1-(*S*)-ферроценилэтанола⁵³.

Вместе с тем эта реакция оказалась малоприменимой для синтеза ферроценилалкильных производных имидазола из-за их высокой основности. В связи с этим был разработан новый эффективный способ синтеза таких соединений, основанный на взаимодействии ферроценилкарбинолов с *N,N'*-карбонилдимидазолом⁵⁴ (схема 3).

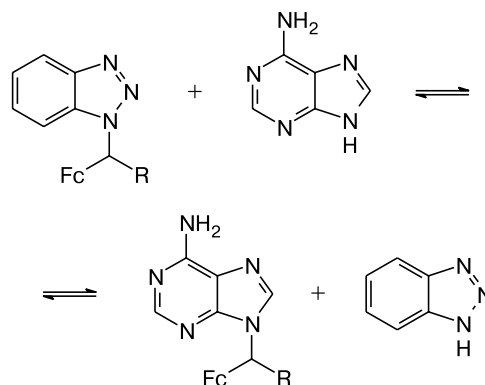
Схема 3



С помощью этих методов получены разнообразные гетероциклические производные ферроцена (схема 4).

Отметим, что 1-(ферроценилэтил)бензотриазол, обладающий выраженным противоопухолевым эффектом, является мягким алкилирующим агентом и способен обратимо алкилировать аденин при комнатной температуре в среде подкисленного метанола⁵⁵ (схема 5). При этом сахара и аминокислоты в этих условиях не алкилируются. Отсюда следует, что основной мишенью ферроценил(алкил)азолов могут являться нуклеиновые основания ДНК.

Схема 5



Исходя из доступного ацетилферроцена разработаны препаративные методы синтеза изомерных (фенилферроценил)пиразолкарбальдегидов^{56–62} (схема 6), из которых в условиях реакции окислительного

Схема 4

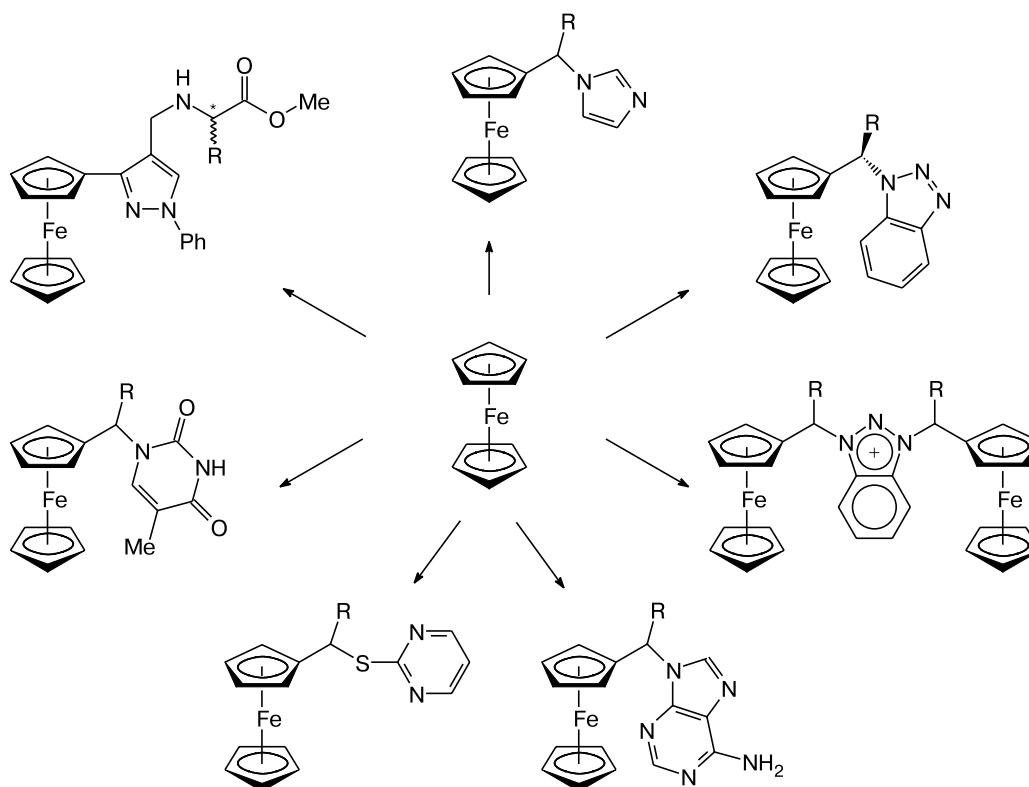
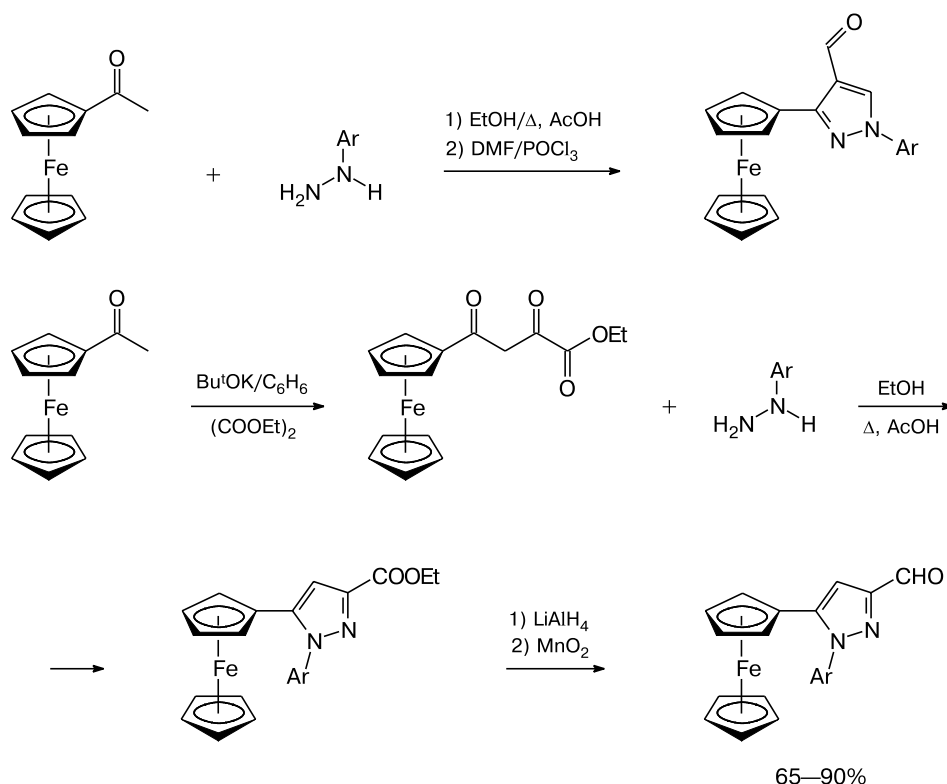


Схема 6



аминирования получены аминокислотные производные ферроценпиразолов как в виде рацемических смесей, так и в энантиомерно обогащенных формах⁵⁶.

Для региоселективного синтеза ферроценсодержащих нуклеиновых оснований использовали ферроценовые спирты $\text{FcCH}(\text{OH})\text{R}$ и гетероциклы (аденин, тимин, цитозин, 5-иодцитозин) в среде ДМСО при температуре 100 °С. Выходы составили до 85% (см. лит.⁵²).

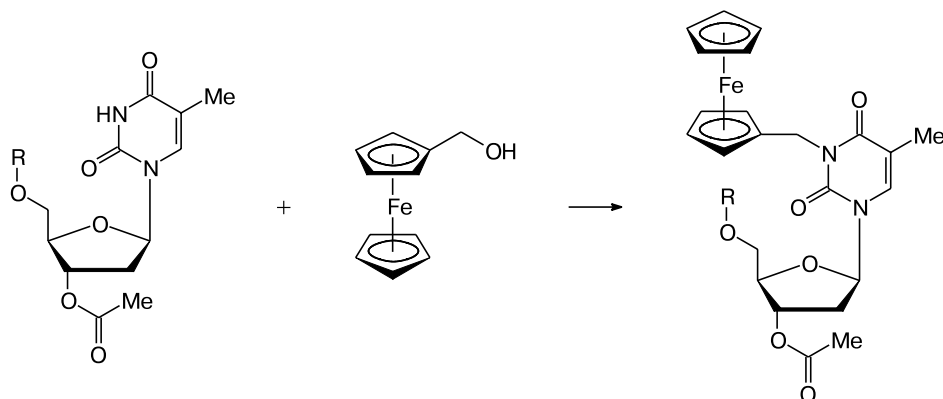
Для синтеза ферроценмодифицированных нуклеиновых оснований в нуклеозидах и нуклеотидах (биомаркеров) используют реакции кросс-сочетания (реакции Мицунобу, Соногаширы и Хека). В частности, с помощью реакции Мицунобу (реакция нуклеофила

со спиртом с использованием диэтилазодикарбоксилата (DEAD) и трифенилфосфина) и ее модификаций получено ферроценильное производное тимидина, которое применили для получения ферроценсодержащих олигонуклеотидов⁶³ (схема 7).

Реакция Соногаширы (кросс-сочетание галогенорганических соединений с терминальными алкинами, катализируемое солями палладия и меди в присутствии триэтиламина) также широко используется для введения ферроценовой метки в нуклеиновые основания^{64–67} (схема 8).

Катализируемое комплексами палладия взаимодействие галогенпроизводных или трифлатов с оле-

Схема 7



$\text{R} = (4\text{-MeOC}_6\text{H}_4)_2\text{PhC}$

Схема 8

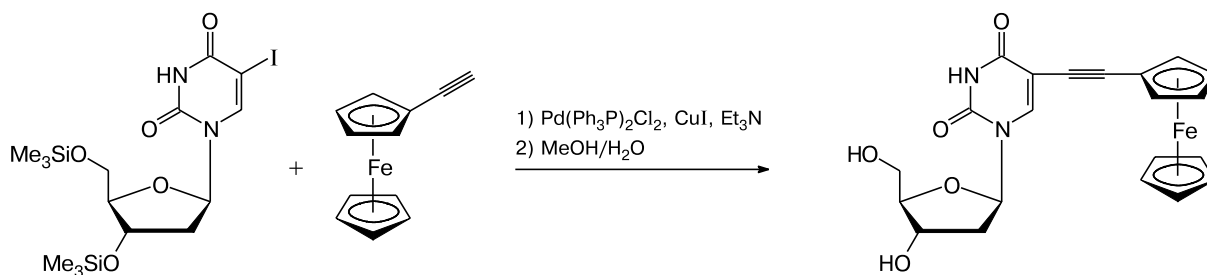
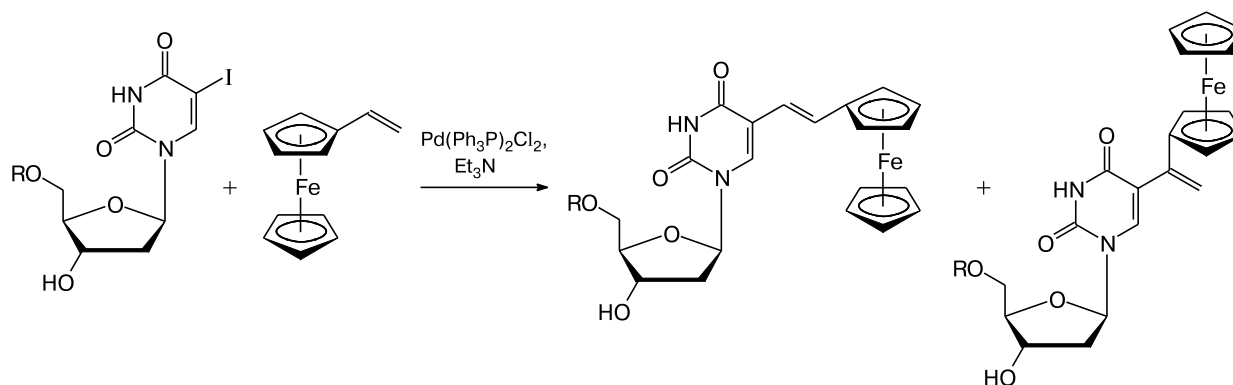


Схема 9



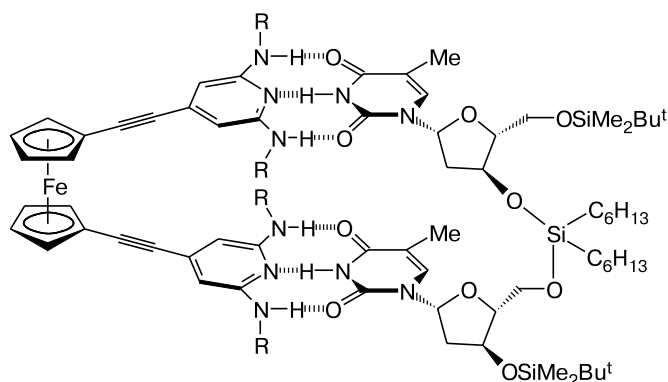
R = (4-MeOC₆H₄)₂PhC

финами (реакция Хека) также применяют для введения ферроценового фрагмента в нуклеозиды. Так, алкилирование защищенного 5-иод-2'-дезоксинуридина винилферроценом приводит к двум изомерным продуктам с общим выходом 60% (схема 9)^{68,69}.

Производные ферроцена, содержащие аминопиридиновые фрагменты, могут образовывать прочные комплексы **6** с нуклеотидами за счет водородных связей между функциональными группами ферроцена и нуклеиновых оснований⁷⁰.

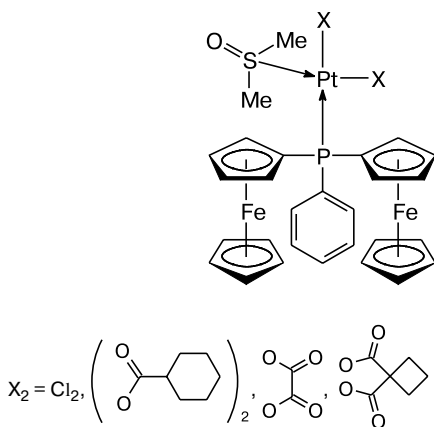
Проблема противоопухолевой активности ферроцена и его производных обсуждается с 1970 годов. Первые испытания ферроценсодержащих противоопухолевых препаратов — эмбихина и сарколизина — не привели к положительным результатам⁷¹.

В 1979 г. исходя из предложенной нами модели химического канцерогенеза предсказана возможность разработки на основе производных ферроцена малотоксичных противоопухолевых препаратов⁷². Впервые противоопухолевую активность обнаружили у некоторых солей феррицина пятью годами позже^{73,74}. В начале 1990 годов это направление получило развитие в работах научных групп в Германии⁷⁵, России^{76,77} и ЮАР⁷⁸. В настоящее время исследования противоопухолевой активности производных металлоценов интенсивно ведутся также в Японии^{70,79,80}, ЮАР^{81–83}, Канаде⁸⁴, европейских странах^{59,85–91}, Пакистане⁹² и Новой Зеландии⁹³. В XXI в. опубликовано несколько обзоров, посвященных биологической активности металлооргани-

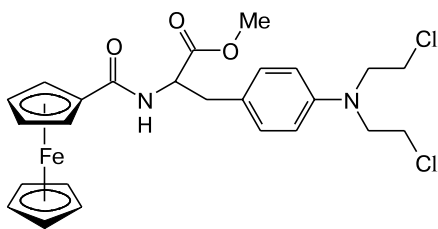


ческих соединений, включая производные ферроцена^{4–11,94}.

Логика первых работ по синтезу ферроценосодержащих соединений с потенциальной противоопухолевой активностью заключалась в модификации уже известных химиотерапевтических препаратов ферроценильными группами. В частности, позже были получены ферроценильные аналоги цисплатина, показавшие цитотоксическую активность в опытах *in vitro* на клетках лейкоза P388 на уровне цисплатина и 5-фторурацила⁹⁵.



Не все эти ранние попытки оказались успешными^{71,96–98}. Так, модификация эмбихина и сарколизина — противоопухолевых препаратов алкилирующего типа — путем введения ферроценильного заместителя привела к резкому снижению противоопухолевых эффектов (оценивали торможение роста опухолей на штаммах саркомы 37, саркомы 180, аденокарциномы 755, рака легкого Льюис, лейкоза L1210), а в некоторых случаях — к стимулированию роста опухолей⁷¹. Вместе с тем такая модификация значительно снижала острую токсичность препаратов. Для модифицированного ферроценильным фрагментом сарколизина значение LD_{50} составило более $1500 \text{ мг} \cdot \text{кг}^{-1}$ по сравнению с $LD_{50} 25 \text{ мг} \cdot \text{кг}^{-1}$ для сарколизина⁷¹.

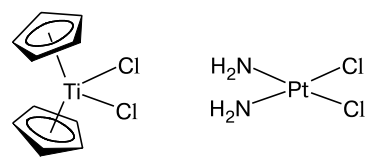


Скрининг противоопухолевой активности ферроценилполиаминов $Fc(CH_2)_nNH(CH_2)_nNH_2$ ($n \leq 4$) (соединения вводили животным в виде гидробромидов) показал отсутствие активности у всех протестированных соединений (лимфолейкоз P-388). Кроме того, эти амины оказались токсичными: $LD_{50} = 12.5 \text{ мг} \cdot \text{кг}^{-1}$ (см. лит.⁹⁸).

Таким образом, ранние попытки получения потенциальных противоопухолевых препаратов путем

введения ферроценильного фрагмента в соединения, заведомо обладающие клинически значимым противоопухолевым эффектом, вызывали снижение этого эффекта. Поэтому возник серьезный скептицизм в отношении возможности использования производных металлоценов в онкологии.

Другое направление исследований развивалось вполне успешно и связано с изучением противоопухолевой активности структурного аналога цисплатина — титаноцендихлорида^{99–101}. На модели асцитной карциномы Эрлиха мышей этот препарат в дозах $30–60 \text{ мг} \cdot \text{кг}^{-1}$ вызывал увеличение средней продолжительности жизни животных на 400% по сравнению с контролем без значительных токсических проявлений.



При исследовании металлоцендигалогенидов Cr_2MX_2 с центральным атомом металла IVB–VIB подгрупп установлен следующий ряд их противоопухолевой активности^{102–104} (по центральному атому металла): $V > Ti > Nb > Ta \approx Mo \approx W \gg Hf, Zr$. Наиболее активными оказались производные титана и ванадия, совершенно неактивными — соединения более тяжелых металлов (гафния и циркония). Поэтому титаноцендихлорид $(C_5H_5)_2TiCl_2$ и ванадоцендихлорид $(C_5H_5)_2VCl_2$ были исследованы наиболее полно^{105,106}. Определена их острая токсичность и при сопоставлении с цисплатином показано отсутствие у них нефротоксичности и отрицательного действия на кроветворные органы, хотя была обнаружена небольшая гепато- и эмбриотоксичность^{101–103}. Затем последовали сообщения о результатах доклинических и первой фазы клинических испытаний титаноцендихлорида¹⁰⁷. Однако клинические испытания препарата были прекращены по не вполне понятным причинам¹⁰⁸. В настоящее время активно изучаются производные титаноцендихлорида, содержащие бензильные заместители в Cr-кольцах^{108,109}. Обнаружено их действие на иммунную систему и предполагается, что они способны активировать апоптоз в раковых клетках^{110–112}.

Впервые противоопухолевая активность в ряду производных ферроцена была обнаружена у солей феррицина с «жесткими» анионами — тетрахлорферратом(II), пикратом и трихлорацетатом^{73,74}. Ферроцен и неорганические соли железа(III) с этими же анионами были неактивны. Соли оказались среднетоксичными ($LD_{50} = 240–400 \text{ мг} \cdot \text{кг}^{-1}$) и проявляли значимый противоопухолевый эффект по отношению к перевивным мышинным опухолям (асцитная карцинома Эрлиха); наблюдалось увеличение средней продолжительности жизни животных на 70–100% по сравнению с контрольными^{5,73,74}.

Соли ферриция проявили эффективность по отношению к другим асцитным опухолям, таким как МХ-11, приводя к увеличению средней продолжительности жизни и латентного периода выхода опухолей^{113–116}. Установлено, что триодид ферриция значительно снижает титр вируса у мышей (почти в 10 раз по сравнению с контролем) на модели вирусного эритролейкоза Раушера¹¹⁶. Триодид 1,1'-диэтилферриция (доза 12.5 мг·кг⁻¹) на 80% ингибирует рост аденокарциномы 755 и на 90% увеличивает продолжительность жизни животных в сравнении с контролем^{114,115}.

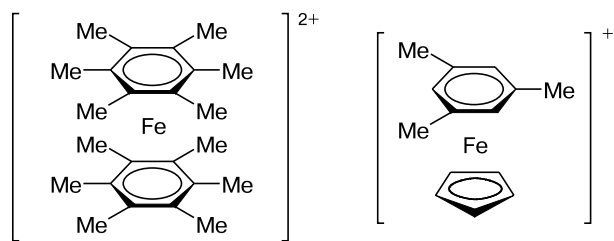
Обнаружена выраженная антипролиферативная активность некоторых солей ферриция по отношению к гетеротрансплантатам опухолей человека в опытах с использованием подкапсульного теста, т.е. с перевивкой опухолей человека под капсулу почки иммуносупрессированных мышей^{55,103,113–115}. Установлено, что происходит не только 100%-ное торможение роста опухолей, но и регрессия трансплантатов. На плоскоклеточном раке легкого (исследованы две гистологические формы рака) регрессия опухолей при использовании *сим*-1,1'-диэтилферриция триодида (EtC₅H₄)₂Fe⁺I₃⁻ достигала 10 и 15%. Наблюдавшийся эффект сопоставим с действием используемого в клинической практике препарата цисплатин, вызывавшего в том же эксперименте регрессию опухоли на 23%.⁵⁵ Триодид ферриция Cr₂Fe⁺I₃⁻ (суточная доза 1.5 мг·кг⁻¹) в отношении рака пищевода показал 100%-ное ростингибирующее воздействие и 30%-ную регрессию опухоли⁵⁵.

Изучено¹¹⁷ воздействие на культуры опухолевых клеток тетрафторборатов ферриция (Cr₂Fe⁺BF₄⁻), 1,1'-диметилферриция ((MeC₅H₄)₂Fe⁺BF₄⁻) и декаметилферриция (Me₁₀C₁₀Fe⁺BF₄⁻). Установлено, что введение метильной группы в оба циклопентадиенильных кольца снижает активность в отношении асцитной опухоли Йошида (по сравнению с незамещенным ферринием FcH⁺BF₄⁻), тогда как декаметильный гомолог обнаружил высокую активность по отношению к лейкозу L1210.

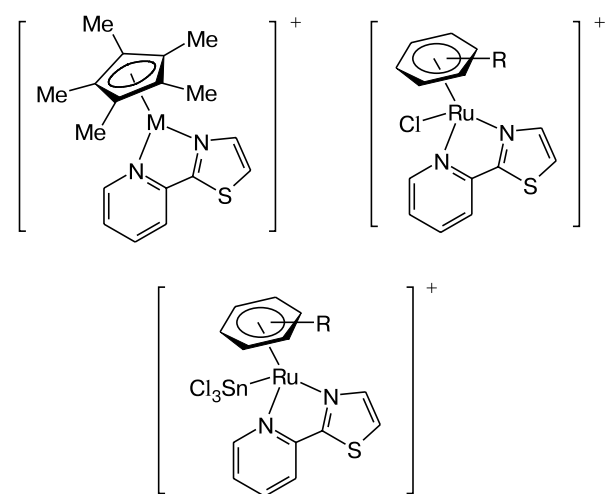
Активность солей ферриция исследовали также с помощью клоногенного теста *in vitro*⁷⁸, в котором изучается динамика колонийобразующих единиц (делящихся стволовых клеток) под влиянием противоопухолевого агента. Показано, что в концентрации 100 мкг·мл⁻¹ тетрахлорферрат ферриция FcH⁺FeCl₄⁻ проявляет ингибирующую активность, доза ингибирования IC₅₀ составила 40 мкг·мл⁻¹.

Противоопухолевой активностью обладают также некоторые стабильные железоорганические катионы, имеющие структуру сэндвича. В частности, такую активность проявили соли гомологов дибензолжелеза(II), [бис(η⁶-мезитил)Fe]²⁺ и аренциклопентадиенилжелеза(II) [(η⁵-C₅H₅Fe)-η⁶-C₇H₈]⁺.¹¹⁷

В отличие от солей ферриция, нейтральный ферроцен и его гомологи, а также рутеноцен не обладают противоопухолевыми эффектами^{118–121}. Вместе с тем рутенийареновые комплексы в опытах *in vivo*



продемонстрировали антиметастатические свойства и ростингибирующий эффект по отношению к опухолям^{122,123}. Антипролиферативными свойствами обладают также рутений-, родий- и иридийорганические полусэндвичевые комплексы с *N,N*-хелатирующими лигандами, которые в экспериментах *in vitro* продемонстрировали цитотоксичность, однако, меньшую, чем цисплатин¹²⁴.

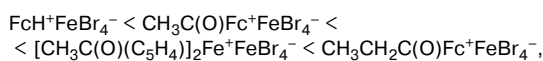


M = Ru, Rh, Ir

В опытах *in vivo* на моделях опухолей осуществлено сравнительное исследование противоопухолевой активности производных ферроцена в нейтральной (ферроцен в виде водорастворимого комплекса с модифицированным β-циклодекстрином, ферроценилкарбоновая (FcCOOH) и ферроценилуксусная (FcCH₂COOH) кислоты) и окисленной форм (тетрафторбораты ферриция (FcH⁺BF₄⁻), ферроценилкарбоновой (FcCOOH⁺BF₄⁻) и ферроценилуксусной (FcCH₂COOH⁺BF₄⁻) кислот)^{85,86}. Показано, что окисленные формы ферроцена активнее нейтральных. На основании этих результатов предполагают⁸⁵, что цитотоксическая активность изученных соединений связана не с их непосредственным взаимодействием с ДНК, а со способностью солей ферриция генерировать активные формы кислорода, которые взаимодействуют с ДНК клеток, вызывая их разрыв.

Методом гель-электрофореза установлено, что тетрабромферраты ферриция (FcH⁺FeBr₄⁻), моноацетилферриция (CH₃C(O)Fc⁺FeBr₄⁻), 1,1'-(диацетил)-ферриция ([CH₃C(O)(C₅H₄)₂Fe⁺FeBr₄⁻) и пропионилферриция (CH₃CH₂C(O)Fc⁺FeBr₄⁻) вызывают двунитевые разрывы ДНК¹²⁵. Предполагают, что активными частицами при этом являются гидр-

окисильные радикалы $\cdot\text{OH}$, образующиеся под действием солей феррицина. Степень разрыва ДНК (ДНК-разрывающая активность) увеличивалась в следующем ряду¹²⁵:



что хорошо коррелирует с дозой ингибирования ID_{50} (доза, при которой происходит 50%-ное замедление роста клеток), равной 19, 16, 8 и 6 $\text{мкг} \cdot \text{мл}^{-1}$ соответственно. Чем меньше величина ID_{50} (эксперимент *in vitro* на клетках меланомы B16 мышей), тем выше цитотоксичность вещества. Цитотоксичность, наблюдаемая для солей 1,1'-(диацетил)феррицина и пропионилферрицина ($\text{ID}_{50} = 8$ и 6 $\text{мкг} \cdot \text{мл}^{-1}$ соответственно), сравнима с таковой для цисплатины.

В экспериментах *in vivo* на модели опухоли, индуцированной метилхолантеном MX-11, установлено, что полуокисленный ферроценилметиленовый олигомер $(-\text{FcCH}_2\text{Fc}^+\text{CH}_2-)_n(\text{PF}_6)_n$ ($n = 15$)^{116,126} способен тормозить скорость гибели животных. При этом на кинетических зависимостях гибели животных от времени имеется два этапа: сначала происходит торможение скорости гибели животных, которая в 5 раз меньше, чем в контрольной группе, и в 3.3 раза меньше, чем при действии соли феррицина FcH^+I_3^- , а затем происходит ускорение по сравнению с контролем. Сделан вывод, что на первом этапе олигомер ингибирует опухолевый процесс. Затем происходит его метаболическая трансформация с выделением ионов железа, которые транспортируются в цитоплазму и активируют редокс-процессы в клетках, ускоряя таким образом рост опухолей.

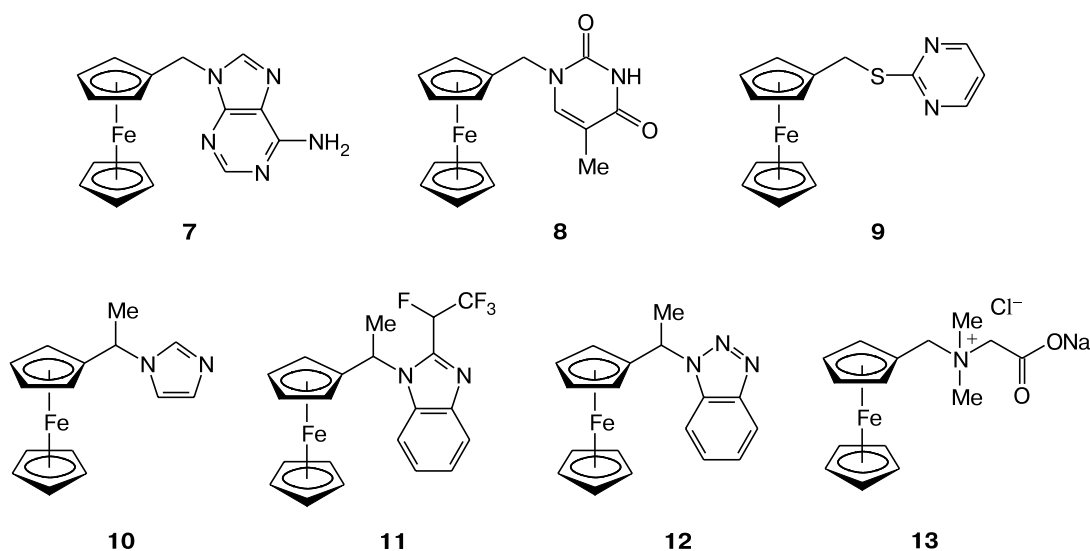
При исследовании ферроценилуксусной и ферроценилметилтиояблочной ($\text{FcCH}_2\text{SCH}(\text{COOH})\text{CH}_2\text{COOH}$) кислот в клоногенном тесте *in vitro* было установлено, что оба соединения ингибируют образование колоний клеток рака легких человека, а также культуры карциномы легких PC-9 даже в большей степени, чем соли феррицина⁷⁸. Вместе с тем, в отличие от солей феррицина, эти процессы развиваются не сразу после введения препаратов, а по истечении достаточно

продолжительного периода времени, и имеют пролонгированное действие. Это позволило предположить стадию метаболической активации — окисление ферроценилуксусной кислоты до солей феррицина или образование ферроценилметилкатиона FcCH_2^+ в случае ферроценилметилтиояблочной кислоты.

Наряду с солями феррицина противоопухолевой активностью обладают также нейтральные производные ферроцена. Так, нами осуществлен^{14,51,52,55,127} синтез различных ферроценилалкильных производных **7—13** нуклеиновых оснований (например, аденина, тимина), азотсодержащих гетероциклов (пиридина, имидазола, бензимидазола, бензотриазола), аминов и аминокислот (*N,N*-диметилглицина).

Выполнены исследования острой токсичности и противоопухолевой активности для 20 полученных соединений на различных моделях перевиваемых солидных (плотных) опухолей животных (карцинома Ca755, меланома B16, карцинома Льюис LLC, аденокарцинома «akatol», саркома, индуцированная метилхолантеном MCH-11, мастоцитомы P-815 и асцитные опухоли животных (вирусиндуцируемая лейкемия Раушера RLV, лейкозы L1210 и P388)). Установлено, что все изученные соединения обладают умеренной или низкой токсичностью: LD_{50} для них находится в пределах 180—1500 $\text{мг} \cdot \text{кг}^{-1}$ (см. лит.^{14,51,52,55,127}).

Положительным контролем в исследованиях противоопухолевой активности служила группа мышей, которым в терапевтической дозе вводили используемый в клинической практике препарат цисплатин или циклофосфан. Эффективность терапии оценивали по торможению роста опухоли и продолжительности жизни животных. Полученные результаты свидетельствуют о выраженной, сравнимой с цисплатином, противоопухолевой активности производных ферроцена, которые ингибируют рост опухолей до 90% при более чем на порядок низкой токсичности, составляющей 630—1500 $\text{мг} \cdot \text{кг}^{-1}$, тогда как для цисплатины LD_{50} всего 18 $\text{мг} \cdot \text{кг}^{-1}$. Более того, совместное применение ряда производных ферроцена с известным цитостатиком циклофосфаном выявило повышенный



эффект комбинаций по сравнению с индивидуальным применением, что свидетельствует о возможности использования таких соединений как индивидуально, так и в схемах полихимиотерапии⁵².

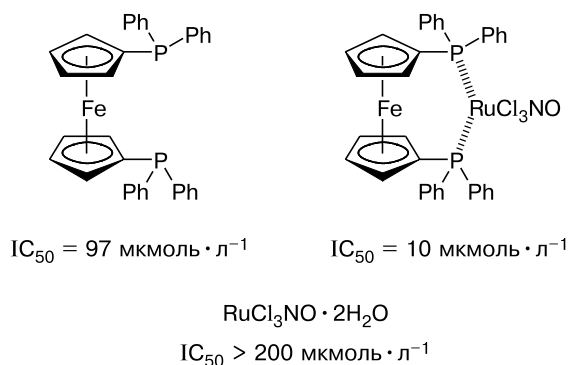
Проведена сравнительная оценка влияния 9-(ферроценилэтил)аденина и используемого в клинической практике противоопухолевого цитостатика циклофосфана на рост бактериальных культур *E. coli* и *Str. Pyogenes*. Циклофосфан (в отличие от ферроценилэтиладенина) обладает сильным цитотоксическим действием и, алкилируя ДНК, ингибирует рост бактерий. После введения цитотоксика в сублетальной дозе ($1.5 \text{ мг} \cdot \text{мл}^{-1}$), когда гибнет более 90% бактерий, через некоторое время происходит восстановление популяции. Однако при совместном введении циклофосфана в сублетальной дозе и ферроценил(алкил)аденина в дозах, не вызывающих гибели бактерий, восстановления популяции бактериальных культур не происходит¹¹³. Это позволяет предположить, что производное ферроцена может действовать не столько на репликацию, сколько на пострепликативные (например, на теломеразную активность) или репарационные процессы в ДНК.

Интересно, что рацемическая смесь и отдельные энантиомерные формы ферроценил(этил)бензотриазола проявили различные противоопухолевые эффекты в отношении аденокарциномы 755 и карциномы легкого Льюис¹²⁸.

Исследования в подкапсульном тесте иммуносупрессированных мышей на опухолях человека (операционный материал рака легкого и рака пищевода) показали, что 1-(ферроценилэтил)бензотриазол при дозе $0.5 \text{ мг} \cdot \text{кг}^{-1}$ приводит к 100%-ному торможению роста опухолей, а при повышении дозы до $5.0 \text{ мг} \cdot \text{кг}^{-1}$ наблюдается регрессия опухоли для рака легкого и рака пищевода на 40 и 36% соответственно в сравнении с контролем⁵⁵. Другие производные ферроцена, например ферроценилметилтимин, также оказывают выраженное противоопухолевое действие при введении препарата в сравнительно низких дозах ($2.5 \text{ мг} \cdot \text{кг}^{-1}$). Оценка эффектов торможения роста опухолей проведена *in vivo* на моделях карциномы 755 и карциномы легкого Льюис⁵².

Следует отметить, что некоторые малорастворимые в воде соединения демонстрируют значимый противоопухолевый эффект при пероральном введении их масляных растворов. Например, ферроценметильное производное бензимидазола вызывало торможение роста опухолей аденокарциномы 755 на 70%.¹²⁷ Некоторые соединения, например ферроценилэтил-2-тиопиримидин, обладают пролонгированным действием, и их ростингибирующий эффект сохраняется на уровне 40–80% в течение 9–13 суток после окончания введения препарата⁵¹.

Еще одно направление поиска потенциально биологически активных производных ферроцена связано с синтезом комплексов платины(II) и некоторых других металлов с моно- и бидентатными ферроценсодержащими лигандами^{117–119,124,129,130}. В частности, при изучении цитотоксичности бис(дифе-

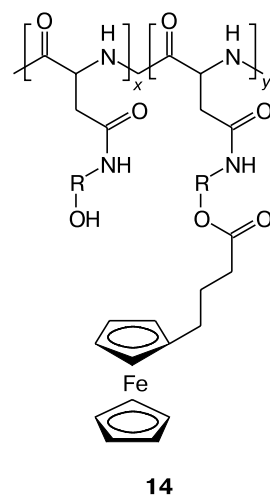


нилфосфин)ферроцена и его комплекса с трихлоридом нитрозилрутения по отношению к клеточной культуре рака груди (линия MDA-MB-231) найдено, что цитотоксичность (дифенилфосфин)ферроцена ($IC_{50} = 97 \text{ мкмоль} \cdot \text{л}^{-1}$) увеличивается почти на порядок при координации с неактивным трихлоридом нитрозилрутения (IC_{50} комплекса составляет $10 \text{ мкмоль} \cdot \text{л}^{-1}$)¹²⁹.

Противоопухолевой активностью обладают *цис*-дихлоробис(1-ферроценилэтиламин)платина(II), комплексы меди и золота с 1,1'-(дифенилфосфино)ферроценом^{131,132} и другими лигандами¹³³, ферроценилмалонатные комплексы платины¹³⁴, которые в экспериментах оказались эффективными по отношению к адриамицинрезистентной мышинной лейкемии P-388.

В опытах *in vitro* изучены цитотоксичность и противоопухолевые эффекты по отношению к клеткам саркомы *Hela*-229 комплексов ферроцена с золотосодержащими лигандами¹³³. Показано, что их цитотоксичность почти на 2 порядка ниже, чем у цисплатина. Вместе с тем максимальное ингибирование клеточного роста этими комплексами ($E_{\text{max}} = 80\text{--}90\%$) превышает действие цисплатина ($E_{\text{max}} = 62\%$), т.е. золотосодержащие комплексы ферроцена проявляют значимый противоопухолевый эффект, но менее цитотоксичны, чем цисплатин.

Для повышения биосовместимости и облегчения вхождения в опухолевые клетки были получены ферроценсодержащие полиаспартатамиды путем сдвигания 4-ферроценилбутановой кислоты $\text{Fc}(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$ с различными производными аспарагина $\text{H}_2\text{N}-\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH})$.^{135,136} Выбор полиаспартатамидов обусловлен тем, что аспарагин необходим для жизнедеятельности опухо-



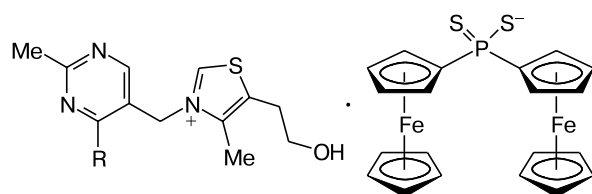
14

левых клеток, которые не способны его синтезировать. Выбор 4-ферроценилбутановой кислоты обусловлен ее сравнительно низким редокс-потенциалом ($E^0 = 0.172 \text{ В}$ в воде) по отношению к ферроцену ($E^0 = 0.199 \text{ В}$) и другим ферроценилкарбоновым кислотам,

что облегчает окисление олигомеров в биологических средах¹³⁷. В опытах *in vitro* на клетках *HeLa* (эпителиальные клетки ракового происхождения) было установлено, что соединения (14), с вторичными аминогруппами, способными протонироваться при физиологических pH, обладают наибольшей цитотоксичностью¹³⁵. Наименьшую активность проявляли поли(этиленоксид)содержащие конъюгаты с фрагментами ферроценилбутановой кислоты.

Изучено также влияние производных ферроцена на синтез ДНК. Так, при оценке действия 1-*N*-(ферроценилэтил)бензотриазола и 1-*N*-(ферроценилэтил)аденина на инкорпорацию ³H-тимидина в ДНК клеток рака яичников человека, т.е. на активность синтетических процессов ДНК, установлено, что оба соединения приводят к зависимому от дозы ингибированию включения тритиевой метки в ДНК опухолевых клеток, иными словами, к подавлению синтеза ДНК^{113,138,139}. Это позволяет рассматривать ДНК в качестве одной из основных мишеней ферроценил(алкил)азолов, которые в высоких дозах проявляют цитотоксичность, а в меньших дозах — противоопухолевый эффект, возрастающий с увеличением дозы.

В опытах *in vivo* на модели асцитного рака Эрлиха показано, что натриевая соль (диферроценил)дитиофосфиновой кислоты $\text{Na}^+(\text{Fc}_2\text{PS}_2)^-$, где ферроценовые фрагменты входят в состав аниона, не обладает противоопухолевой активностью¹⁴⁰. В то же время при исследовании интенсивности синтетических процессов ДНК посредством ³H-тимидинового теста на опухолевых клетках саркомы 37, гепатомы МГ-22а и лейкоза Р388 установлено, что конъюгаты этого соединения с тиаминами активируют синтез ДНК¹⁴⁰.



R = NH₂, OH

Таким образом, установлено влияние ферроценовых соединений на синтетические процессы ДНК. Катионные феррициниевые соли и нейтральные ферроценил(алкил)гетероциклы ингибируют синтез ДНК, а соединения, содержащие ферроценовые группы в составе анионов, напротив, активируют эти процессы.

На основании анализа приведенных выше данных можно сделать следующие заключения:

1) металлоцены с центральным атомом металла IV—VIБ и VIIIБ подгрупп проявляют противоопухолевую активность по отношению как к солидным (т.е. плотным), так и к асцитным (т.е. жидким) опухолям, причем отмечается избирательность нейтральных соединений к солидным опухолям, а ионных — по отношению к асцитным;

2) противоопухолевая активность в опытах *in vivo* может проявляться в форме ингибирования роста

опухоли, регрессии опухолевых трансплантатов, увеличении средней продолжительности жизни животных и времени индукции образования опухолей, а в опытах *in vitro* — в снижении скорости синтеза ДНК и цитотоксичности;

3) переход от нейтральных производных ферроцена к их окисленным (феррициниевым) формам не всегда приводит к усилению противоопухолевой активности, но, как правило, сопровождается повышением острой токсичности;

4) прямые зависимости между противоопухолевой активностью и электронными свойствами заместителей в ферроценильном фрагменте однозначно не проявляются; гетероциклические производные ферроцена, как правило, более активны, чем их нециклические аналоги;

5) можно выделить две группы производных металлоценов — среднетоксичные и малотоксичные, причем гетероциклические производные ферроцена значительно менее токсичны по сравнению с традиционными цитостатиками;

6) производные ферроцена преимущественно локализуются в ядре клеток и на липидных структурах.

Таким образом, имеющиеся данные свидетельствуют о принципиальной возможности создания нового класса малотоксичных противоопухолевых препаратов на основе производных ферроцена (особенно гетероциклических) для лечения и, предположительно, профилактики онкологических заболеваний.

Из большого числа работ, посвященных противоопухолевой активности производных ферроцена, лишь в немногих обсуждаются возможные механизмы биологического действия этих соединений^{5,8—10,55,72,76,85,87,90,103,113,116,126,138,139,141}. Один из механизмов, как и в случае традиционных противоопухолевых препаратов, связывают с цитотоксическим действием некоторых производных ферроцена, которое обусловлено их редокс-свойствами⁸⁵. Это окислительная деструкция ДНК с разрывами сахарофосфатного остова ДНК, осуществляемая супероксид-ионами, генерированными с участием производных ферроцена, которые в ферроценовой форме являются восстановителями, а в феррициниевой форме — окислителями.

Действие некоторых производных ферроцена, также как и традиционных алкилирующих агентов (циклофосфан, эмбихин, нитрозометилмочевина), заключается в алкилировании ДНК. Эти механизмы могут реализоваться в случае соединений, обладающих высокой общей токсичностью. Вместе с тем обнаружено достаточно много производных ферроцена с низкой или умеренной токсичностью, которые проявляют выраженную противоопухолевую активность^{9,55,76,77,113,116,138,139}.

Рассмотрим некоторые из возможных механизмов противоопухолевого действия таких соединений. Начнем с изменения механизмов репарации (залечивания) опухолевых клеток. В рамках этой модели предполагается, что процессы химического канцерогенеза индуцируют эффективную репарацию некоторых ключевых участков ДНК трансформированных

клеток. В результате опухолевые клетки не только выживают после воздействия канцерогенов, но способны преодолевать порог репродуктивной гибели (порог Хейфлика), приобретая «бессмертие» на популяционном уровне.

В современных терминах эта концепция ближе всего к ALT (alternative telomere-lengthening)-механизму репарации теломер, основанному на гомологичной рекомбинации конечных участков теломер. Известно, что не все опухолевые клетки являются теломеразазависимыми. Некоторые из них (5–10%) репарируют (восстанавливают длину) теломер по ALT-механизму. Функционирование рекомбинационной системы репарации стимулирует также миграцию перемещающихся генетических элементов, значительно увеличивает нестабильность генома, способствуя возникновению популяционной неоднородности, что согласно этой модели наряду с «выключением» механизма апоптоза является другим важным признаком опухолевых клеток.

В соответствии с этой моделью для нормализации поведения клеток необходимо подавить репарационную активность их концевых участков хромосом. Исходя из структурных соображений, можно полагать, что эту роль способны сыграть молекулы, способные связываться с ДНК в местах разрывов теломер таким образом, чтобы препятствовать интеграции перемещающихся элементов ДНК и блокировать их репарацию. Такие молекулы должны иметь: 1) координационные центры, способные образовывать связи в местах разрывов ДНК, причем эти связи должны быть и достаточно прочными (ионные, водородные, интеркаляционные, слабые ковалентные), и в то же время лабильными, чтобы не препятствовать репликации; 2) достаточно жесткие объемные структурные фрагменты, способные воспрепятствовать сближению между мигрирующими и резидентными фрагментами ДНК в местах разрывов последних.

Таким структурным требованиям хорошо удовлетворяют молекулы некоторых функциональных производных ферроценов, особенно ферроценил(алкил)азолов, которые были рассмотрены выше. Действительно, объемное ядро ферроцена способно мягко, но достаточно прочно подстроиться под одиночную нить ДНК, не допуская координации с другими структурами. Более того, ферроценил(алкил)азолы и другие ферроценилалкилированные гетероциклы имеют значительные возможности для связывания с ДНК. Во-первых, имеет место неполная интеркаляция ферроценового ядра с межплоскостным расстоянием между Sr -кольцами (~ 3.4 Å), которое сопоставимо с расстоянием между ближайшими парами нуклеиновых оснований в ДНК. Благодаря неполной интеркаляции ядро ферроцена может также связываться с нуклеиновыми основаниями за счет стекинг-взаимодействий или электростатических эффектов для феррициниевой формы. Во-вторых, возможна интеркаляция гетероцикла в межплоскостное пространство нуклеиновых оснований. В-третьих, возможно образование ионных связей с сахарофосфатным остовом ДНК (в феррициниевой форме). Формирование

феррициниевой формы может произойти во время транспорта производного ферроцена в ядро за счет электронного переноса на нуклеиновые основания или с участием третьего партнера. Еще одна возможность — образование комплексов с переносом заряда. В-четвертых, возможно образование водородных связей гетероцикла с функциональными группами нуклеиновых оснований ($\text{N}—\text{H}\dots\text{N}$, $\text{N}—\text{H}\dots\text{O}=\text{C}$ и т.д.).

Таким образом, одной из вероятных конечных мишеней для гетероциклических производных ферроцена может быть триплет нуклеотидов, например гуанин-гуанин-гуанин (GGG). Когда ферроценовое ядро находится в окисленном состоянии (в феррициниевой форме), такой контакт может упрочняться ионным взаимодействием феррициния с фосфатными группами ДНК. Такая рецепция способна стать либо препятствием для прикрепления участвующих в процессе репарации ДНК-полимераз, теломераз, либо, напротив, защищать от атак эндонуклеаз.

Следует учитывать, что с фармакокинетической точки зрения ферроценовые ядра, являясь, до известной степени, структурными аналогами полициклических ароматических углеводородов, способны связываться с Ah-рецепторами, активирующими белки теплового шока (hsp90), представляющие собой компоненты системы шаперонов, регулирующих стероид- и диоксинзависимые пути передачи сигнала.

Таким образом, липофильное ферроценовое ядро может преодолевать липидные преграды не только диффузионно, но также пользоваться готовым вектором, транспортирующим его в ядро.

Далее кратко представим некоторые предлагаемые нами гипотезы, пока не нашедшие достаточного экспериментального подтверждения.

Рассмотрим модель взаимодействия производных ферроцена с плазматической мембраной. В литературе такой механизм реализации противоопухолевой активности производных ферроцена пока не обсуждается. Наряду со специфическим взаимодействием ферроцена с мембранными Ah-рецепторами возможны также и неспецифические взаимодействия. Ферроцены хорошо растворимы в липидах и, кроме того, благодаря π -электрононасыщенной системе могут образовывать комплексы с переносом заряда с холестерином¹¹³, являющимся интегральным компонентом клеточных мембран. Поэтому производные ферроцена способны не только легко проходить через мембранные структуры, но и удерживаться там, что может приводить к определенным биохимическим последствиям, например, воздействию на трансмембранный перенос ионов. В частности, может возрастать текучесть мембран, что, в свою очередь, может вызывать неспецифическую активацию фагоцитирующих клеток — нейтрофилов и макрофагов, специально настроенных на лизис опухолевых клеток, например, естественных киллеров или NK-клеток.

Другой неспецифический эффект ферроценов связан с их способностью пребывать в нейтральной и катионной (феррициниевой) формах. Располагаясь как в толще мембраны, так и на границе раздела фаз, такая ферроцен-феррициниевая система может обес-

печить сопряженный трансмембранный электронно-ионный транспорт. Так как в норме плазматическая мембрана поляризована, то результатом электронно-ионного переноса будет деполяризация мембраны. Это приведет к ухудшению энергообеспечения клетки и снижению ее метаболической активности. Так как агрессивные опухолевые клетки метаболически более активны, чем нормальные клетки, то развивающийся энергодифицит может привести к торможению их роста. Однако специфичность этого эффекта будет невелика, поскольку аналогичная депрессия постигнет также здоровые клетки. Для проверки этой гипотезы следует провести измерение потенциалов на мембране.

Еще один неспецифический эффект может быть опосредован метаболитами эйкозантаэтраеновой кислоты — простагландинами и лейкотриенами. Эти «тканевые гормоны», например простагландин E_3 (PGE_3), стимулируют прогрессию опухоли путем ингибирования активности естественных киллеров. Однако производные ферроцена способны ингибировать активность фермента циклооксигеназы, ответственного за синтез PGE_3 . Это обусловлено тем, что циклооксигеназа содержит простетическую группу, подобную гемсодержащему цитохрому P-450, с которой легко взаимодействуют производные ферроцена.

Таким образом, противоопухолевая активность производных ферроцена может быть обусловлена также подавлением синтеза соответствующих простагландинов.

Митохондриальная модель как механизм реализации противоопухолевой активности также не рассматривается в литературе, однако возможность взаимодействия производных ферроцена с митохондриями представляется вполне возможной¹³⁸. Митохондрии нормальных клеток способны удерживать катионные липофильные соединения с ароматическими кольцами. Еще в большей степени эта способность свойственна опухолевым клеткам, которые «накачивают» такие молекулы в митохондрии. На этом основан химиотерапевтический подход, при котором для такой накачки используют катионные антибиотики, деполяризующие мембраны. Это может приводить к деструкции внутренних мембран, гибели митохондрий и инициированию апоптоза. Поскольку феррициний является катионным ароматическим соединением, можно предполагать, что один из механизмов противоопухолевой активности солей феррициния связан именно с этим обстоятельством.

При деполяризации внутренней мембраны митохондрий снижается энергообеспечение клетки. Это приводит к резкому повышению концентрации ионов кальция в цитоплазме и открывает так называемые митохондриальные поры диаметром 26–29 Å, которые проходят через обе митохондриальные мембраны. Когда этот комплекс связывается с ионом кальция, через мембранную пору могут проходить вещества с небольшой молекулярной массой, что приводит к падению мембранного потенциала и набуханию матрикса. Целостность внешней мембраны митохондрии нарушается, и из межмембранного пространства

в цитоплазму выходят белки, в том числе фактор, индуцирующий апоптоз. Такой механизм может обеспечить довольно высокую специфичность при сравнительно низкой токсичности.

При индукции иммунологических механизмов объемное ферроценовое ядро, присоединяясь к неантигенным носителям (например, повторам ДНК), может играть роль гаптенов, т.е. придавать дополнительную иммуногенность, стимулируя образование антигенспецифических антител.

Обобщая изложенные выше данные, мы рассматриваем способность запускать механизм апоптоза опухолевых клеток как основной и наиболее вероятный механизм противоопухолевой активности малотоксичных металлоценов, особенно гетероциклических производных ферроцена, что подтверждено, в частности, отсутствием некрозов при регрессии опухолевых трансплантатов в подкапсульном тесте⁵⁵.

Можно наметить два тесно взаимосвязанных пути включения механизма апоптоза у опухолевых клеток с помощью производных ферроцена: во-первых, экранирование теломер опухолевых клеток от действия теломеразы и/или, во-вторых, снижение активности теломеразы. Напомним, что при каждом делении клетки ее ДНК укорачивается, что ограничивает дальнейшее число делений клетки. Эти события происходят на самом конце хромосомы, называемой теломерой. Теломераза (обратная транскриптаза) — РНК-содержащий фермент (hTERT), который осуществляет синтез теломерной ДНК.

Активная работа теломеразы позволяет раковым клеткам сохранять длину теломер, блокирует механизм апоптоза и, в конечном итоге, позволяет преодолевать порог Хейфлика. Поэтому применение прямого антителимеразного воздействия обычно связано с токсичностью препаратов, т.е. мы вновь приходим к той же проблеме, что и при использовании цитостатиков.

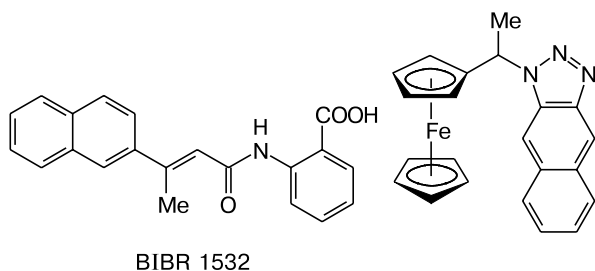
Теломеры в опухолевых клетках существенно короче, чем в половых и стволовых. Укорочение теломер вызывает гибель опухолевых клеток при подавлении активности теломеразы намного раньше, чем нормальных стволовых клеток организма. Это позволяет думать, что существует терапевтический диапазон для безопасного использования теломеразных ингибиторов. Злокачественные образования могут быть значительно более чувствительными, чем нормальные клетки, к поражающему действию ингибиторов теломеразы, и поэтому их теломеры будут быстрее сокращаться до критической длины.

Следовательно, нужно создать препараты, способные подавлять процессы восстановления длины теломер, чтобы помешать теломеразе работать в раковых клетках. Эту функцию может выполнить семейство однотипных препаратов, которые способны взаимодействовать с тремя участниками процесса: теломеразой РНК, фрагментом ДНК-матрицы и дуплексом ДНК/РНК, зафиксированном на hTERT.

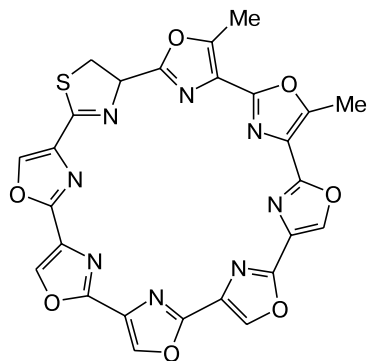
Использование в качестве ингибиторов теломеразы нуклеозидов, нуклеотидов и нуклеиновых оснований, модифицированных производными ферроцена,

обусловлено тем, что теломераза относится к обратным транскриптазам и, в отличие от других клеточных полимераз, характеризуется малой специфичностью к субстратам. Поэтому представляют интерес ферроценмодифицированные нуклеиновые основания, тем более что ферроценовые производные аденина и тимина проявляют выраженную противоопухолевую активность^{9,51,52,55,77,139}.

Низкомолекулярные планарные соединения также могут использоваться в качестве ингибиторов теломеразы. Например, продукт конденсации орто-аминобензойной кислоты и производного нафталина, имеющий в своем составе пептидную связь (торговая марка B1BR 1532), обладает выраженной анти-теломеразной специфичностью^{142–144}, активен в концентрациях ниже $100 \text{ нмоль} \cdot \text{л}^{-1}$ и не оказывает значительного токсического эффекта. Ферроценсодержащим аналогом этого соединения является препарат ферроцерон (**1**), который наряду с антианемийным эффектом обладает также противоопухолевой активностью¹⁴, или нафталиновый аналог ферроценилбензотриазола⁵⁵.



Стабилизаторы структуры G-4 также могут служить для ингибирования теломеразы. Одним из примеров таких соединений является теломестатин — природный продукт, выделенный из *Streptomyces anulatus* 3533-SV4. Он подавляет теломеразную активность в концентрации $5 \text{ нмоль} \cdot \text{л}^{-1}$ благодаря взаимодействию с G-квадруплексом. Однако это соединение весьма токсично.



Известно⁹, что введение ферроценового ядра в различные молекулы зачастую снижает их токсичность, поэтому модификация теломестатина ферроцениль-

ными фрагментами также может дать ожидаемый эффект. Модификацию можно осуществить либо заменив один или несколько оксазолов на ферроценильные остатки, либо вставив ферроценовые ядра в полость теломестатина, либо осуществив ферроценилалкилирование триазола. Вместо теломестатина можно использовать подобные структуры, например порфирины или хлорины, содержащие ферроценильную группу¹⁴⁵.

Еще одна возможность — введение в клетки олигонуклеотидов, комплементарных РНК-компоненте теломеразы. Обычно это олигонуклеотиды с тиофосфатными связями (для увеличения устойчивости к действию нуклеаз), пептидные нуклеиновые кислоты (для увеличения стабильности гибрида), 2'-О-метил-РНК и 2'-метоксиэтокси-РНК. Главное в дизайне этих соединений — снижение размера молекулы, для того чтобы она легче проникала в клетки, сохраняя способность специфического связывания с мишенью. Поэтому представляют интерес олигонуклеотиды, модифицированные ферроценилалкильными или ферроценовыми группами.

Триггер-комплекс POT1-TPP1 регулирует доступ теломеразы к ДНК-праймеру, поэтому в какой-то момент должно произойти замещение комплекса POT1-TPP1 обратной транскриптазой hTERT. В этот момент доступ к ДНК- и РНК-матрицам будет облегчен и станет возможным комплексообразование с производными ферроцена.

Иммунотерапия также способна повлиять на ингибирование теломеразы. Поскольку теломераза присутствует в большинстве опухолевых клеток, она является хорошим кандидатом на роль антигена, ассоциированного с опухолями. Возможно усиление иммунного ответа, если фрагменты белка hTERT будут появляться на поверхности антиген-представляющих клеток. Ферроценовое ядро является хорошим гаптенном и поэтому способно усилить иммунный ответ.

Таким образом, одним из подходов к включению механизма апоптоза опухолевых клеток является модификация ферроценом известных соединений, способных блокировать открытые участки теломеры или ингибировать теломеразу, с целью снижения их токсичности.

В заключение рассмотрим возможные пути подавления опухолевого роста при прямом воздействии на теломерные и теломеразные комплексы производных ферроцена. Это возможно в начале процесса подхода теломеразы к матрице, т.е. в переходном состоянии, когда шелтериновые белки уже покинули свои рецепторы, но теломеразные белки еще только начинают занимать свои места на матрице. В этом случае огромное значение имеет скорость лиганд-рецепторного взаимодействия, с одной стороны, и постоянное присутствие производных ферроцена в реакционной зоне, с другой.

В динамической фазе, когда в конце S-фазы клеточного цикла белки теломерного комплекса уступают место компонентам теломеразы, вероятно, происходит временное освобождение ДНК-матриц и РНК-

праймеров, и они становятся доступными для их атаки производными ферроцена. Следует учитывать, что в опухолевых клетках имеется примерно пятикратный избыток РНК-праймеров, поэтому их также можно рассматривать как возможную мишень для производных ферроцена. Значительный интерес и перспективу имеют ферроценосодержащие нуклеиновые основания и нуклеотиды, способные подстраиваться под теломеразу, приводя к ее необратимому ингибированию.

Таким образом, производные ферроцена могут препятствовать восстановлению теломеры в теломеразозависимых опухолевых клетках несколькими способами: путем образования связи с одонитевой частью ДНК «покоящейся» теломеры; посредством закрепления на двунитевом концевом фрагменте теломерной ДНК, непосредственно примыкающем к одонитевой части, препятствуя смещению TRF2 подходящей теломеразы; координацией на РНК-праймере, необходимом для включения теломеразной активности; путем взаимодействия по одному или нескольким механизмам с компонентами теломеразного комплекса, ингибируя их активность.

Наиболее перспективным, на наш взгляд, является создание комплексного препарата на основе группы производных ферроцена, каждый из которых должен обладать одной (или несколькими) из следующих функций: высоким сродством к одонитевой ДНК теломеры, высокой аффинностью к двунитевой ДНК, способностью связывать РНК-праймер теломеразы и выступать в роли субстрата для теломеразного синтеза.

Таким образом, производные ферроцена являются перспективными соединениями для создания нового класса высокоэффективных и малотоксичных противоопухолевых препаратов.

Наиболее вероятным механизмом противоопухолевого действия ферроценовых соединений является инициирование апоптоза опухолевых клеток путем защиты теломеры от действия теломеразы и/или путем снижения активности теломеразы.

Производные ферроцена могут препятствовать восстановлению теломеры в теломеразозависимых опухолевых клетках следующим образом: путем образования связи с одонитевой частью ДНК «покоящейся» теломеры; посредством закрепления на одонитевом 3'-концевом фрагменте теломерной ДНК, препятствуя подходу компонентов теломеразного комплекса; координацией на РНК-праймере; путем взаимодействия по одному или нескольким механизмам с компонентами теломеразного комплекса, ингибируя их активность.

Уникальность производных ферроцена заключается в огромном разнообразии их физико-химических свойств, а также в широких возможностях модификации их структуры с целью тонкой подстройки для взаимодействия с различными клеточными мишенями. Эти соединения отвечают фармакокинетическим требованиям (являются амфифильными молекулами, поэтому в состоянии мигрировать как

в гидрофильных, так и в гидрофобных средах, способны дойти до клетки-мишени, проникнуть в нее и попасть в ядро) и фармакодинамическим требованиям (полифункциональная структура этих молекул обеспечивает их взаимодействие с ядерными мишенями).

Обоснованность этих выводов подтверждают следующие факты. Сочетание выраженной активности с низкой токсичностью ферроценов свидетельствует о том, что опухолевые клетки погибают в результате апоптоза, а не некроза. Производные ферроцена эффективны в низких дозах. Действительно, для воздействия на конкретные локусы концов хромосом нет необходимости в поддержании высоких доз препаратов, особенно при условии их высокого сродства к теломерной одиночной ДНК. При исследованиях противоопухолевой активности производных ферроцена с использованием методики подкапсульного теста обнаружена не только регрессия некоторых типов опухолей⁵⁵, но и отсутствие летальности у экспериментальных животных в ходе опытов. Естественно предположить, что определяющим механизмом регрессии опухолей является апоптоз.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российской академии наук (программа Президиума РАН «Фундаментальные науки — медицине»), Отделения химии и наук о материалах РАН (программа фундаментальных исследований «Медицинская химия») и Российского фонда фундаментальных исследований (проекты № 09-03-00535 и № 14-03-00980).

Список литературы

1. T. J. Kealy, P. L. Pauson, *Nature*, 1951, **168**, 1039.
2. S. A. Miller, J. A. Tebboth, J. F. Tremaine, *J. Chem. Soc.*, 1952, 632.
3. Т. С. Зацепин, С. Ю. Андреев, Т. Гианик, Т. С. Орецкая, *Успехи химии*, 2003, **72**, 602 [T. S. Zatsepin, S. Yu. Andreev, T. Hianik, T. S. Oretskaya, *Russ. Chem. Rev.*, 2003, **72**, 537].
4. D. R. van Staveren, N. Metzler-Nolte, *Chem. Rev.*, 2004, **104**, 5931.
5. E. W. Neuse, *J. Inorg. Organomet. Polym. Materials*, 2005, **15**, 3.
6. H.-B. Kraatz, *J. Inorg. Organomet. Polym. Materials*, 2005, **15**, 83.
7. X. Wu, M. L. Go, *²⁶Fe The Use of Iron-Based Drugs in Medicine*, in *Metallotherapeutic Drugs and Metall-Based Diagnostic Agents: The Use of Metals in Medicine*, Eds M. Gielen, E. Tiepink, J. Wiley & Sons, Chichester, 2005.
8. *Биометаллоорганическая химия*, под ред. Ж. Жауэн, БИНОМ. Лаборатория знаний, Москва, 2010, 494 с. [*Biorganometallics: Biomolecules, Labeling, Medicine*, Ed. G. Jaouen, Wiley—VCH, Weinheim, 2006].
9. Л. В. Снегур, В. Н. Бабин, А. А. Сименел, Ю. С. Некрасов, Л. А. Островская, Н. С. Сергеева, *Изв. АН. Сер. хим.*, 2010, 2113 [L. V. Snegur, V. N. Babin, A. A. Simenel, Yu. S. Nekrasov, L. A. Ostrovskaya, N. S. Sergeeva, *Russ. Chem. Bull. (Int. Ed.)*, 2010, **59**, 2167].
10. C. Omelas, *New J. Chem.*, 2011, **35**, 1973.
11. G. Gasser, I. Ott, N. Metzler-Nolte, *J. Med. Chem.*, 2011, **54**, 3.

12. A. c. 263807 CCCP; *Бюл. изобрет.*, 1977, 41.
13. US Pat. 3957841.
14. A. A. Simenel, S. V. Samarina, L. V. Snegur, Z. A. Starikova, L. A. Ostrovskaya, N. V. Bluchterova, M. M. Fomina, *Appl. Organomet. Chem.*, 2008, **22**, 276.
15. J. T. Yarrington, K. W. Huffman, G. A. Lesson, D. J. Sprinkle, D. E. Loudy, C. Hampton, G. J. Wright, J. P. Gibson, *Fundam. Appl. Toxicol.*, 1983, **3**, 86.
16. R. W. Mason, K. McGrouther, P. R. R. Nantong-Bandarage, B. H. Robinson, J. Simpson, *Appl. Organomet. Chem.*, 1999, **13**, 163.
17. S. Top, J. Tang, A. Vessieres, D. Carrez, C. Provot, G. Jaouen, *Chem. Commun.*, 1996, 955.
18. S. Top, A. Vessieres, C. Cabestaing, I. Laios, G. Leclercq, C. Provot, G. Jaouen, *J. Organomet. Chem.*, 2001, **637**, 500.
19. S. Top, A. Vessieres, G. Leclercq, J. Quivy, J. Tang, J. Vaisermann, M. Huche, G. Jaouen, *Chem. Eur. J.*, 2003, **9**, 5223.
20. C. Biot, G. Glorian, L. A. Maciejewski, J. S. Brocard, *J. Med. Chem.*, 1997, **40**, 3715.
21. O. Domarle, G. Blampain, H. Agnani, T. Nzadiyabi, J. Lebibi, J. S. Brocard, L. A. Maciejewski, C. Biot, A. J. Georges, P. Millet, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1998, **42**, 540.
22. L. Delhaes, C. Biot, L. Berry, L. A. Maciejewski, D. Camus, J. S. Brocard, D. Dive, *Bioorg. Med. Chem.*, 2000, **8**, 2739.
23. C. Biot, L. Delhaes, L. A. Maciejewski, M. Mortuaire, D. Camus, D. Dive, J. S. Brocard, *Eur. J. Med. Chem.*, 2000, **35**, 707.
24. M. Blackie, P. Beagley, K. Chibale, C. Clarkson, J. R. Moss, P. J. Smith, *J. Organomet. Chem.*, 2003, **688**, 144.
25. X. Wu, P. Wilairat, M. L. Go, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2002, **12**, 2299.
26. J. Howarth, K. Hanlon, *Tetrahedron Lett.*, 2001, **42**, 751.
27. T. Itoh, S. Shirakami, N. Ishida, Y. Yamashita, T. Yoshida, H. S. Kim, Y. Wataya, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2000, **10**, 1657.
28. E. I. Edwards, R. Epton, G. Marr, *J. Organomet. Chem.*, 1976, **107**, 351.
29. E. I. Edwards, R. Epton, G. Marr, *J. Organomet. Chem.*, 1979, **168**, 259.
30. D. Scutaru, L. Tataru, I. Mazilu, E. Diaconu, T. Lixandru, C. Simionescu, *J. Organomet. Chem.*, 1991, **401**, 81.
31. D. Scutaru, I. Mazilu, M. Vata, L. Tataru, A. Vlase, T. Lixandru, C. Simionescu, *J. Organomet. Chem.*, 1991, **401**, 87.
32. D. Scutaru, I. Mazilu, L. Tataru, M. Vata, T. Lixandru, *J. Organomet. Chem.*, 1991, **406**, 183.
33. M. Salmain, *Labeling of Proteins with Organometallic Complexes: Strategies and Applications*, in *Bioorganometallics. Biomolecules, Labelling, Medicine*, Ed. G. Jaouen, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2006, 181.
34. Л. В. Снегур, А. А. Сименел, А. Н. Родионов, В. И. Боев, *Изв. АН. Сер. хим.*, 2014, 26 [L. V. Snegur, A. A. Simenel, A. N. Rodionov, V. I. Boev, *Russ. Chem. Bull. (Int. Ed.)*, 2014, **63**, 26].
35. D. W. Johnson, G. W. Rayner-Canham, *J. Chem. Educ.*, 1972, **49**, 211.
36. A. N. Nesmeyanov, R. B. Materikova, I. R. Lyatifov, T. Kh. Kurbanov, N. S. Kochetkova, *J. Organomet. Chem.*, 1978, **145**, 241.
37. D. M. Duggan, D. N. Hendrickson, *Inorg. Chem.*, 1975, 955.
38. Э. Г. Перевалова, М. Д. Решетова, К. И. Грандберг, *Методы элементоорганической химии. Железоорганические соединения. Ферроцен*, Наука, Москва, 1983, 40.
39. T. Leigh, *J. Chem. Soc.*, 1964, 3294.
40. R. B. Woodward, M. Rosenblum, M. C. Whiting, *J. Am. Chem. Soc.*, 1952, **74**, 3458.
41. M. Sato, H. Kono, M. Shiga, I. Motoyama, K. Hata, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1968, **41**, 252.
42. C. R. Hauser, J. K. Lindsay, *J. Org. Chem.*, 1956, **21**, 382.
43. V. Weinmayr, *J. Am. Chem. Soc.*, 1955, **77**, 3009.
44. M. Rausch, M. Vogel, H. Rosenberg, *J. Org. Chem.*, 1957, **22**, 900.
45. V. N. Babin, Yu. A. Belousov, I. R. Lyatifov, R. B. Materikova, V. V. Gumenyuk, *J. Organomet. Chem.*, 1981, **214**, C13.
46. V. N. Babin, Yu. A. Belousov, I. R. Lyatifov, R. B. Materikova, V. V. Gumenyuk, *J. Organomet. Chem.*, 1981, **214**, C11.
47. В. Н. Бабин, Ю. А. Белоусов, Т. А. Белоусова, Ю. А. Борисов, В. В. Гуменюк, Ю. С. Некрасов, *Изв. АН. Сер. хим.*, 2011, 2044 [V. N. Babin, Yu. A. Belousov, T. A. Belousova, Yu. A. Borisov, V. V. Gumenyuk, Yu. S. Nekrasov, *Russ. Chem. Bull. (Int. Ed.)*, 2011, **60**, 2081].
48. S.-C. Chen, *J. Organomet. Chem.*, 1980, **202**, 183.
49. В. И. Боев, Л. В. Снегур, В. Н. Бабин, Ю. С. Некрасов, *Успехи химии*, 1997, **66**, 677 [V. I. Boev, L. V. Snegur, V. N. Babin, Yu. S. Nekrasov, *Russ. Chem. Rev.*, 1997, **66**, 613].
50. L. V. Snegur, V. I. Boev, Yu. S. Nekrasov, M. M. Ilyin, V. A. Davankov, Z. A. Starikova, A. I. Yanovsky, A. F. Kolomiets, V. N. Babin, *J. Organomet. Chem.*, 1999, **580**, 26.
51. A. A. Simenel, G. A. Dokuchaeva, L. V. Snegur, A. N. Rodionov, M. M. Ilyin, S. I. Zykhova, L. A. Ostrovskaya, N. V. Bluchterova, M. M. Fomina, V. A. Rikova, *Appl. Organomet. Chem.*, 2011, **25**, 70.
52. A. A. Simenel, E. A. Morozova, L. V. Snegur, S. I. Zykhova, V. V. Kachala, L. A. Ostrovskaya, N. V. Bluchterova, M. M. Fomina, *Appl. Organomet. Chem.*, 2009, **23**, 219.
53. А. А. Сименел, Ю. В. Кузьменко, М. М. Ильин, В. В. Гуменюк, Л. В. Снегур, Ю. С. Некрасов, *Изв. АН. Сер. хим.*, 2004, 901 [A. A. Simenel, Yu. V. Kuzmenko, M. M. Ilyin, V. V. Gumenyuk, L. V. Snegur, Yu. S. Nekrasov, *Russ. Chem. Bull. (Int. Ed.)*, 2004, **53**, 939].
54. A. A. Simenel, E. A. Morozova, Yu. V. Kuzmenko, L. V. Snegur, *J. Organomet. Chem.*, 2003, **665**, 13.
55. L. V. Snegur, Yu. S. Nekrasov, N. S. Sergeeva, Zh. V. Zhilina, V. V. Gumenyuk, Z. A. Starikova, A. A. Simenel, N. B. Morozova, I. K. Sviridova, V. N. Babin, *Appl. Organomet. Chem.*, 2008, **22**, 139.
56. А. Н. Родионов, Дис. канд. хим. наук, Ин-т элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова РАН, Москва, 2010, 150 с.
57. А. Н. Родионов, А. А. Сименел, Ю. С. Некрасов, В. В. Качала, Е. Ю. Осипова, К. Я. Жеребкер, *Изв. АН. Сер. хим.*, 2010, 397 [A. N. Rodionov, A. A. Simenel, Yu. S. Nekrasov, V. V. Kachala, E. Yu. Osipova, K. Ya. Zherebker, *Russ. Chem. Bull. (Int. Ed.)*, 2010, **59**, 405].
58. A. N. Rodionov, A. A. Simenel, A. A. Korlyukov, V. V. Kachala, S. M. Peregodova, K. Ya. Zherebker, E. Yu. Osipova, *J. Organomet. Chem.*, 2011, **696**, 2108.
59. M. Joksović, Z. Ratković, M. Vukićević, D. Vukićević, *Synlett*, 2006, **16**, 2581.
60. I. Damljanović, M. Vukićević, N. Radulović, R. Palić, E. Ellmerer, Z. Ratković, M. D. Joksović, R. D. Vukićević, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2009, **19**, 1093.
61. M. D. Joksović, V. Marković, Z. D. Juranić, T. Stanojković, L. S. Jovanović, I. S. Damljanović, K. M. Szécsényi, N. Todorović, S. Trifunović, R. D. Vukićević, *J. Organomet. Chem.*, 2009, **694**, 3935.
62. I. Damljanović, M. Čolović, M. Vukićević, D. Malojloć, N. Radulović, K. Wurst, G. Laus, Z. Ratković, M. Joksović, R. D. Vukićević, *J. Organomet. Chem.*, 2009, **694**, 1575.
63. E. Bucci, L. D. Napoli, G. D. Fabio, A. Messere, D. Montesarchio, A. Romanelli, G. Piccialli, M. Varra, *Tetrahedron*, 1999, 14435.

64. P. Meunier, I. Ouattara, B. Gautheron, J. Tirouflet, D. Camboli, J. Besanson, *Eur. J. Med. Chem.*, 1991, **26**, 351.
65. A. Anne, B. Blanc, J. Moiroux, *Bioconjugate Chem.*, 2001, **12**, 396.
66. A. E. Beilstein, M. W. Grinstaff, *J. Organomet. Chem.*, 2001, **398**, 637.
67. P. Brázdilová, M. Vrábel, R. Pohl, H. Pivoňková, L. Havran, M. Hocek, M. Fojta, *Chem. Eur. J.*, 2007, **13**, 9527.
68. A. R. Pike, L. C. Ryder, B. R. Horrocks, W. Clegg, M. R. J. Etselgord, B. A. Connolly, A. Houlton, *Chem. Eur. J.*, 2002, **8**, 2891.
69. A. R. Pike, L. C. Ryder, B. R. Horrocks, W. Clegg, B. A. Connolly, A. Houlton, *Chem. Eur. J.*, 2005, **11**, 344.
70. M. Inouye, M. Takase, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2001, **40**, 1746.
71. Г. Н. Ященко, А. А. Шашмурина, Г. М. Аношина, Л. А. Горелова, Н. Г. Евстигнеева, Л. В. Алексеева, Л. Б. Радина, *Хим.-фарм. журн.*, 1978, **12**, No. 10, 68 [G. N. Yashchenko, A. A. Shashmurina, G. M. Anoshina, L. A. Gorelova, N. G. Evstigneeva, L. V. Alekseeva, L. B. Radina, *Pharm. Chem. J. (Engl. Transl.)*, 1978, **12**, 1317].
72. В. Н. Бабин, А. В. Дубинин, П. М. Раевский, А. Ф. Свиридов, А. Л. Шерман, *Модель химического канцерогенеза (молекулярные аспекты)*, в сб. *Модели. Алгоритмы. Принятие решений*, Наука, Москва, 1979, 153.
73. P. Köpf-Maier, H. Köpf, E. W. Neuse, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 1984, **23**, 456.
74. P. Köpf-Maier, H. Köpf, E. W. Neuse, *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 1984, **108**, 336.
75. P. Köpf-Maier, *Eur. J. Clin. Pharm.*, 1994, **47**, 1.
76. В. Н. Бабин, П. М. Раевский, К. Г. Щитков, Л. В. Снегур, Ю. С. Некрасов, *Журн. Рос. хим. о-ва им. Д. И. Менделеева (Рос. хим. журн.)*, 1995, **39**, 19 [V. N. Babin, P. M. Raevskii, K. G. Shitkov, L. V. Snegur, Yu. S. Nekrasov, *Mendeleev Chem. J.*, 1995, **39**, 17].
77. Л. А. Островская, С. Д. Варфоломеев, М. Г. Воронков, Д. Б. Корман, Н. В. Блюхтерова, М. М. Фомина, В. А. Рыкова, В. М. Гольдберг, К. А. Абзаева, Л. В. Жилицкая, Л. В. Снегур, А. А. Сименел, С. И. Зыкова, *Изв. АН. Сер. хим.*, 2014, 1211 [L. A. Ostrovskaya, S. D. Varfolomeev, M. G. Voronkov, D. B. Korman, N. V. Blyukhterova, M. M. Fomina, V. A. Rykova, V. M. Goldberg, K. A. Abzaeva, L. V. Zhilitskaya, L. V. Snegur, A. A. Simenel, S. I. Zyкова, *Russ. Chem. Bull. (Int. Ed.)*, 2014, **63**, No. 5].
78. E. W. Neuse, F. Kanzawa, *Appl. Organomet. Chem.*, 1990, **4**, 19.
79. S. Takenaka, Y. Uto, H. Saita, M. Yokoyama, H. Kondo, W. D. Wilson, *Chem. Commun.*, 1998, 1111.
80. S. Sato, S. Takenaka, *J. Organomet. Chem.*, 2008, **693**, 1177.
81. E. W. Neuse, *Polym. Adv. Technol.*, 1998, **9**, 786.
82. T. Smit, J. R. Snyman, E. W. Neuse, L. Bohm, C. E. van Rensburg, *Anti-Cancer Drugs*, 2005, **16**, 501.
83. T. Smit, E. W. Neuse, P. Becker, R. Anderson, C. E. J. van Rensburg, *Drug Development Res.*, 2005, **66**, 204.
84. H. S. Mandal, H.-B. Kraatz, *J. Organomet. Chem.*, 2002, **45**, 5786.
85. D. Osella, M. Ferrali, P. Zanello, F. Laschi, M. Fontani, C. Nervi, G. Cavigiolio, *Inorg. Chim. Acta*, 2000, **306**, 42.
86. G. Tabbi, C. Cassino, G. Cavigiolio, D. Colangelo, A. Ghiglia, I. Viano, D. Osella, *J. Med. Chem.*, 2002, **45**, 5786.
87. A. Vessières, S. Top, W. Beck, E. Hillard, G. Jaouen, *Dalton Trans.*, 2006, 529.
88. I. Zanellato, J.-M. Heldt, A. Vessieres, G. Jaouen, D. Osella, *Inorg. Chim. Acta*, 2009, **362**, 4037.
89. M. Gormen, D. Plašuk, P. Pigeon, E. A. Hillard, M. A. Plamont, S. Top, A. Vessières, G. Jaouen, *Tetrahedron Lett.*, 2010, **51**, 118.
90. U. Schatzschneider, N. Metzler-Nolte, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2006, **45**, 1504.
91. F. Noor, R. Kinscherf, G. A. Bonaterra, S. Walczak, S. Wölftl, N. Metzler-Nolte, *ChemBioChem.*, 2009, **10**, 493.
92. Z. H. Chohan, M. M. Nasser, *Appl. Organomet. Chem.*, 2007, **21**, 1005.
93. W. Henderson, S. R. Alley, *Inorg. Chim. Acta*, 2001, **322**, 106.
94. N. Metzler-Nolte, M. Salmain, *The Bioorganometallic Chemistry of Ferrocene*, in *Ferrocenes: Ligands, Materials and Biomolecules*, Ed. P. Štěpnička, J. Wiley and Sons, 2008.
95. T. A. K. Al-Allaf, L. J. Rashan, *Appl. Organomet. Chem.*, 1999, **13**, 63.
96. F. D. Popp, S. Roth, J. Kirbay, *J. Med. Chem.*, 1963, **6**, 83.
97. F. D. Popp, *J. Pharm. Sci.*, 1973, **62**, 679.
98. V. J. Fiorina, R. J. Dubois, S. Brynes, *J. Med. Chem.*, 1978, **21**, 393.
99. H. Köpf, P. Köpf-Maier, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 1979, **18**, 477.
100. P. Köpf-Maier, M. Leitner, H. Köpf, *J. Inorg. Nucl. Chem.*, 1980, **42**, 1789.
101. P. Köpf-Maier, B. Hesse, H. Köpf, *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 1980, **96**, 43.
102. P. Köpf-Maier, A. Moorman, H. Köpf, *Eur. J. Cancer Oncol.*, 1985, **21**, 853.
103. P. Köpf-Maier, H. Köpf, *Chem. Rev.*, 1987, **87**, 1137.
104. P. Köpf-Maier, P. Erkenwick, *Toxicology*, 1984, **33**, 171.
105. P. Köpf-Maier, *Toxicology*, 1985, **37**, 111.
106. P. Köpf-Maier, P. Funke-Kaiser, *Toxicology*, 1986, **38**, 81.
107. P. Köpf-Maier, *Eur. J. Clin. Pharm.*, 1994, **47**, 1.
108. K. Strohfeldt, M. Tacke, *Chem. Soc. Rev.*, 2008, **37**, 1174.
109. G. Kelter, N. Sweeney, K. Strohfeldt, H. H. Fiebig, M. Tacke, *Anti-Cancer Drugs*, 2005, **16**, 1091.
110. O. Oberschmidt, A. R. Hamauske, C. Pampillyn, K. Strohfeldt, N. J. Sweeney, M. Tacke, *Anti-Cancer Drugs*, 2007, **18**, 317.
111. M. Tacke, *Anti-Cancer Drugs*, 2007, **18**, 311.
112. I. Fichtmer, C. Pampillyn, N. J. Sweeney, K. Strohfeldt, M. Tacke, *Anti-Cancer Drugs*, 2006, **17**, 333.
113. Л. В. Снегур, Дис. докт. хим. наук, Ин-т элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова РАН, Москва, 2002, 192 с.
114. Н. Б. Морозова, Л. В. Попова (Снегур), А. И. Ильина, В. Н. Бабин, К. Г. Щитков, В. И. Борисов, И. Г. Русаков, Н. И. Дуняхина, А. Е. Снегирева, Н. С. Сергеева, О. И. Скотникова, Н. П. Бородин, Г. М. Шапошникова, *Изучение противоопухолевой активности трииодидов алкилзамещенных катионов феррициния в эксперименте*, в сб. *Химиотерапия в лечении онкологических больных*, Мин-во здравоохранения РФ, Москва, 1993, 91.
115. Пат. РФ 2025125; *Бюл. изобрет.*, 1994.
116. L. V. Popova (Snegur), V. N. Babin, Yu. A. Belousov, Yu. S. Nekrasov, A. E. Snegireva, N. P. Borodina, G. M. Shaposhnikova, O. B. Bychenko, P. M. Raevskii, N. B. Morozova, A. I. Ilyina, K. G. Shitkov, *Appl. Organomet. Chem.*, 1993, **7**, 85.
117. A. Houlton, R. M. G. Roberts, J. Silver, *J. Organomet. Chem.*, 1991, **418**, 107.
118. E. W. Neuse, *Polym. Adv. Technol.*, 1998, **9**, 786.
119. M. Wenzel, E. Nipper, W. Klose, *J. Nucl. Med.*, 1977, **18**, 367.
120. A. Taylor, M. Wenzel, *Naturwiss.*, 1977, **64**, 273.
121. M. Wenzel, M. Scheider, E. Liss, *Z. Naturforsch.*, 1979, **34**, 670.
122. W. H. Ang, P. J. Dyson, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2006, 4003.
123. A. Nazarov, Ch. Hartinger, B. Keppler, P. Dyson, *Appl. Organomet. Chem.*, 2008, **22**, 300.
124. M. Gras, B. Therrien, G. Süß-Fink, A. Casini, F. Edfae, P. J. Dyson, *J. Organomet. Chem.*, 2010, **695**, 1119.
125. H. Tamura, M. Miwa, *Chem. Lett.*, 1997, 1177.

126. Л. В. Снегур, Дис. канд. хим. наук, Ин-т элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова РАН, Москва, Москва, 1993, 129 с.
127. L. V. Snegur, A. A. Simenel, Yu. S. Nekrasov, E. A. Morozova, Z. A. Starikova, S. M. Peregodova, Yu. V. Kuzmenko, V. N. Babin, L. A. Ostrovskaya, N. V. Bluchterova, M. M. Fomina, *J. Organomet. Chem.*, 2004, **689**, 2473.
128. А. А. Сименел, Дис. канд. хим. наук, Ин-т элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова РАН, Москва, 2004, 120 с.
129. G. Von Poelhsitz, A. L. Bogado, M. P. de Araujo, H. S. Selistre-de-Araujo, J. Ellena, E. E. Castellano, A. A. Batista, *Polyhedron*, 2007, **26**, 4707.
130. E. W. Neuse, M. C. Meirim, N. F. Bloom, *Organometallics*, 1988, **7**, 2562.
131. G. Pilloni, R. Graziani, B. Longato, *Inorg. Chim. Acta*, 1991, **190**, 165.
132. D. T. Hill, G. R. Girard, F. L. McCabe, *Inorg. Chem.*, 1989, **28**, 3529.
133. J. S. Casas, M. V. Castaco, M. C. Cifuentes, J. C. García-Monteagudo, A. Sánchez, J. Sordo, U. Abram, *J. Inorg. Biochem.*, 2004, **98**, 1009.
134. A. Rosenfeld, J. Blum, D. Gibson, A. Ramu, *Inorg. Chim. Acta*, 1992, **201**, 219.
135. J. C. Swarts, E. W. Neuse, G. J. Lamprecht, *J. Inorg. Organomet. Polym.*, 1994, **4**, 143.
136. M. G. Meirim, E. W. Neuse, G. Caldwell, *J. Inorg. Organomet. Polym.*, 1997, **7**, 71.
137. N. F. Blom, E. W. Neuse, H. G. Tomas, *Trans. Met. Chem.*, 1987, **12**, 301.
138. Л. В. Снегур, Ю. С. Некрасов, В. В. Гуменюк, Н. Б. Морозова, Ж. В. Жилина, И. К. Свиридова, И. А. Родина, Н. С. Сергеева, К. Г. Щитков, В. Н. Бабин, *Рос. хим. журн.*, 1998, **42**, 178 [L. V. Snegur, Yu. S. Nekrasov, V. V. Gumenyuk, N. B. Morozova, Zh. V. Zhilina, I. K. Sviridova, I. A. Rodina, N. S. Sergeeva, K. G. Shchitkov, V. N. Babin, *Mendeleev Chem. J. (Engl. Transl.)*, 1998, **42**, 151].
139. Л. В. Снегур, С. И. Зыкова, А. А. Сименел, Ю. С. Некрасов, З. А. Старикова, С. М. Перегудова, М. М. Ильин, В. В. Качала, И. К. Свиридова, Н. С. Сергеева, *Изв. АН. Сер. хим.*, 2013, 2056 [L. V. Snegur, S. I. Zyкова, A. A. Simenel, Yu. S. Nekrasov, Z. A. Starikova, S. M. Peregodova, M. M. Il'in, V. V. Kachala, I. K. Sviridova, N. S. Sergeeva, *Russ. Chem. Bull. (Int. Ed.)*, 2013, **62**, 2056].
140. Д. А. Опарин, В. Д. Махаев, В. Д. Вильчевская, Т. И. Зиматкина, Ж. В. Мотылевич, С. М. Зиматкин, С. В. Забродская, А. И. Крылова, Ю. Ю. Гореликова, *Хим.-фарм. журн.*, 1996, **30**, № 2, 11 [*Pharm. Chem. J. (Engl. Transl.)*, 1996, **30**, 79].
141. R. Kovjazin, T. Eldar, M. Patya, A. Vanichkin, H. M. Lander, A. Novogrodsky, *The FASEB J.*, 2003, **17**, 467.
142. S. Mueller, U. Hartmann, F. Mayer, *Invest New Drugs*, 2007, **25(6)**, 519.
143. H. El Daly, U. M. Martens, *Methods Mol. Biol.*, 2007, **405**, 47.
144. D. Parsch, U. Brassat, T. H. Brümmendorf, J. Fellenberg, *Cancer Invest.*, 2008, **26(6)**, 590.
145. E. Yu. Osipova, A. N. Rodionov, A. A. Simenel, Yu. A. Belousov, O. M. Nikitin, V. V. Kachala, *J. Porphyrins Phthalocyanines*, 2012, **16**, 1225.

Поступила в редакцию 16 июня 2014;
после доработки — 19 сентября 2014