

УДК 547.598.5+547.599.6+547.304.2+546.98+546.47+546.562+615.01

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ПАЛЛАДИЯ(II), ЦИНКА(II) И МЕДИ(II) С ТЕРПЕНОВЫМИ ЛИГАНДАМИ – ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ

© 2023 г. Я. А. Гурьева¹, *, О. А. Залевская¹, А. В. Кучин¹

¹Институт химии Федерального исследовательского центра “Коми НЦ УрО РАН”, Сыктывкар, Россия

*e-mail: jana.aleksandrovna@yandex.ru

Поступила в редакцию 23.01.2023 г.

После доработки 25.02.2023 г.

Принята к публикации 13.03.2023 г.

Представлен итоговый обзор результатов исследования разноплановой биологической активности (*in vitro*) хиральных металлокомплексов с терпеновыми производными бензиламина и этилендиамин. Определен цитотоксический профиль палладациклов, содержащих связь Pd–C, и хелатных комплексов палладия и цинка. Для ряда соединений проведен анализ возможных механизмов потенциального противоопухолевого действия, таких как модулирование процессов, связанных с функционированием митохондрий, а также влияние на параметры гликолитической функции опухолевых клеток. Исследована антибактериальная и противогрибковая активность комплексов палладия различного типа и хелатных комплексов меди. Для комплексов меди установлена корреляция между высокой противомикробной активностью и антиоксидантными свойствами ряда соединений. Материал дополнен расширенным анализом литературы по соответствующим разделам.

Ключевые слова: комплексы палладия(II), цинка(II), меди(II), терпеновые лиганды, противоопухолевая активность, антимикробная активность, антиоксиданты

DOI: 10.31857/S0132344X23700305, EDN: MVMZUU

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время число металлсодержащих фармакологических препаратов, используемых в клинической практике, исчисляется сотнями [1–3]. Это и диагностические вещества, и терапевтические лекарства. Интерес к таким соединениям постоянно растет. Особую группу составляют металлокомплексные соединения, в которых органический лиганд координирован с ионом металла. Ионы металлов играют важную роль в различных биологических процессах [4]. Координация органического лиганда к металлу позволяет модифицировать его свойства. Это подтверждается тем фактом, что практически в 90% исследованных пар лиганд–металлокомплекс биологическая активность исходного лиганда значительно ниже [5–9]. В терапии открывается множество возможностей, которые традиционные органические молекулы не могут выполнять из-за растущей лекарственной устойчивости. Обзоры, посвященные последним достижениям и перспективам использования металлокомплексных соединений в качестве лекарственных препаратов, активно публикуются [5–11].

Достоверно установлено, что важнейшим фактором эффективности фармпрепаратов является их хиральность, так как практически все мишени-

биомолекулы являются также хиральными и существуют, как правило, в индивидуальной стереоизомерной форме. Однако доступность энантиомерно чистых лигандов ограничена, поэтому их поиск продолжает оставаться актуальной проблемой. Природные монотерпеноиды – камфора [12], α -пинен [13] – недорогие коммерчески доступные соединения, что позволяет успешно использовать их производные в качестве прекурсоров для синтеза лигандов и получения хиральных металлокомплексов различного типа. Разноплановая биологическая активность синтетических производных природных терпеноидов достоверно установлена [14–18], в том числе их металлокомплексных соединений, отмеченных в обзоре [19].

В качестве N-донорных лигандов для синтеза металлокомплексов различного типа нами были получены пинановые и борнановые производные бензиламина HL¹–HL⁵ (схема 1) и этилендиамин HL⁶–HL¹⁶ (схема 2). Стартовыми хиральными соединениями для этих целей выбраны камфора и α -пинен, при этом мы использовали их в виде различных стереоизомеров с высокой энантиомерной чистотой. Таким образом, в нашем распоряжении были две группы лигандов: терпеновые производные бензиламина представляют интерес с точки зрения возможного получения палладациклов, а этилендиаминовые лиганды образуют

хелатные металлокомплексы. В представленном итоговом обзоре обсуждаются результаты исследования разноплановых биологических свойств комплексов палладия, цинка и меди с терпеновыми лигандами. Описание методов синтеза, строе-

ния и характеристики этих металлокомплексов и исходных лигандов можно найти в соответствующих наших публикациях. Лиганды — терпеновые производные бензиламина и этилендиамина представлены на схемах 1 и 2 соответственно:

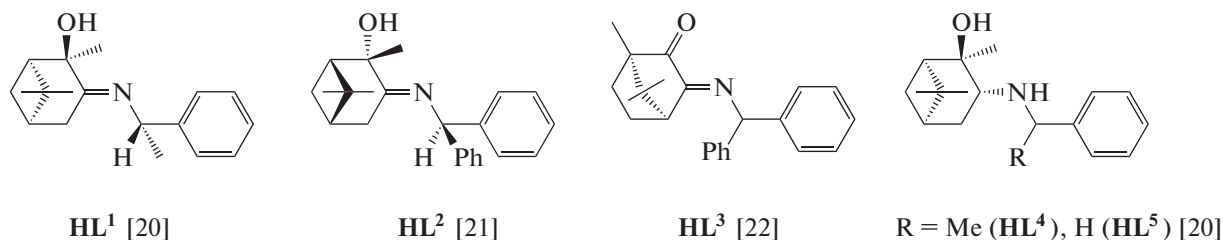


Схема 1.

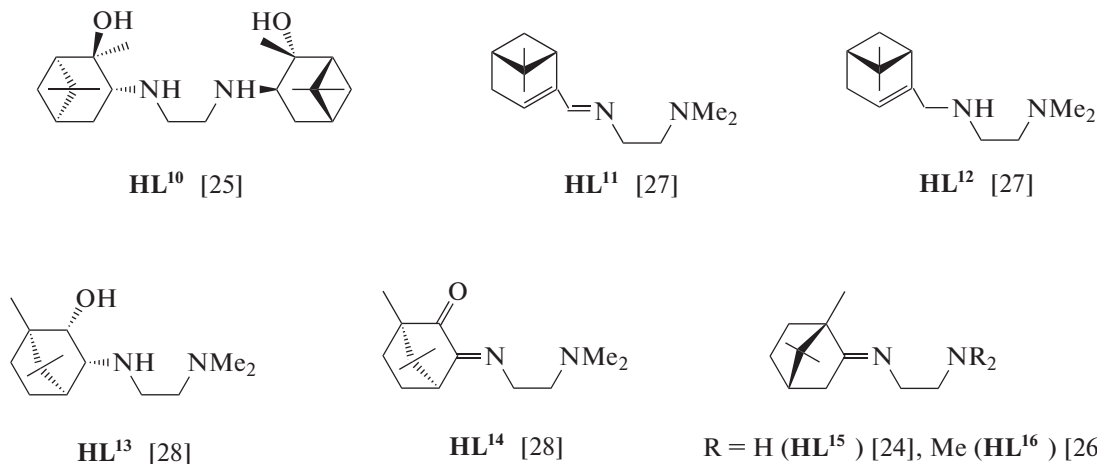
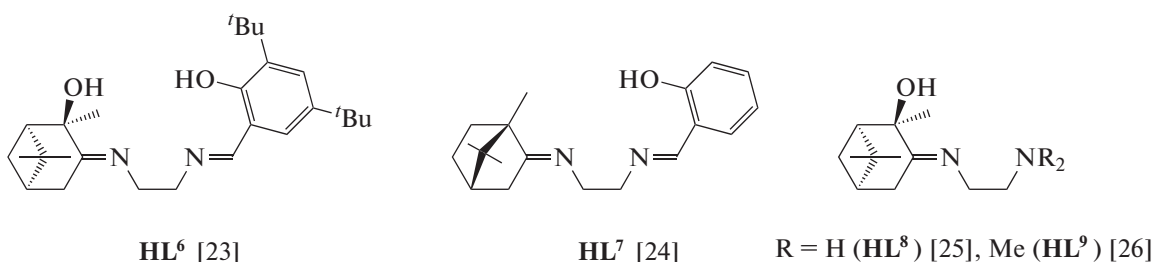


Схема 2. ^tBu

АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ И ПРОТИВОГРИБКОВАЯ АКТИВНОСТЬ КОМПЛЕКСОВ ПАЛЛАДИЯ(II) РАЗЛИЧНОГО ТИПА

Растущее число микробов с множественной лекарственной устойчивостью представляет собой серьезную угрозу для современной противомикробной терапии, а отсутствие технических инноваций препятствует разработке новых лекарств для борьбы с растущими показателями резистентности. Это привело к возрождению нетрадиционных подходов

разработки противомикробных препаратов, которые не вписываются в традиционную парадигму низкомолекулярных препаратов прямого действия. В обзорах [9, 29] приведен анализ данных по оценке 906 металлосодержащих соединений, проверенных на антимикробную активность в рамках международного проекта Community for Open Antimicrobial Drug Discovery (CO-ADD). Результат показал, что 9.90% исследованных металлосодержащих соединений обладают активностью, а для органических молекул эта цифра составляет 0.87%. Полученные данные позволяют предположить, что на восприим-

чивость бактерий к химиотерапевтическим металлокомплексам существенное влияние оказывает как природа иона металла, так и связанная с ним координационная сфера.

Для установления корреляций “структура–биологическая активность” нами исследованы хиральные комплексы палладия(II) двух типов.

Комплексы Pd1–Pd5 (схема 3) – это палладациклы, содержащие связь углерод–палладий, полученные прямым циклопалладированием терпеновых производных бензиламинов. Вторая группа – соединения Pd6–Pd12 (схема 4) – это хелатные комплексы палладия, полученные на основе терпеновых производных этилендиамина.

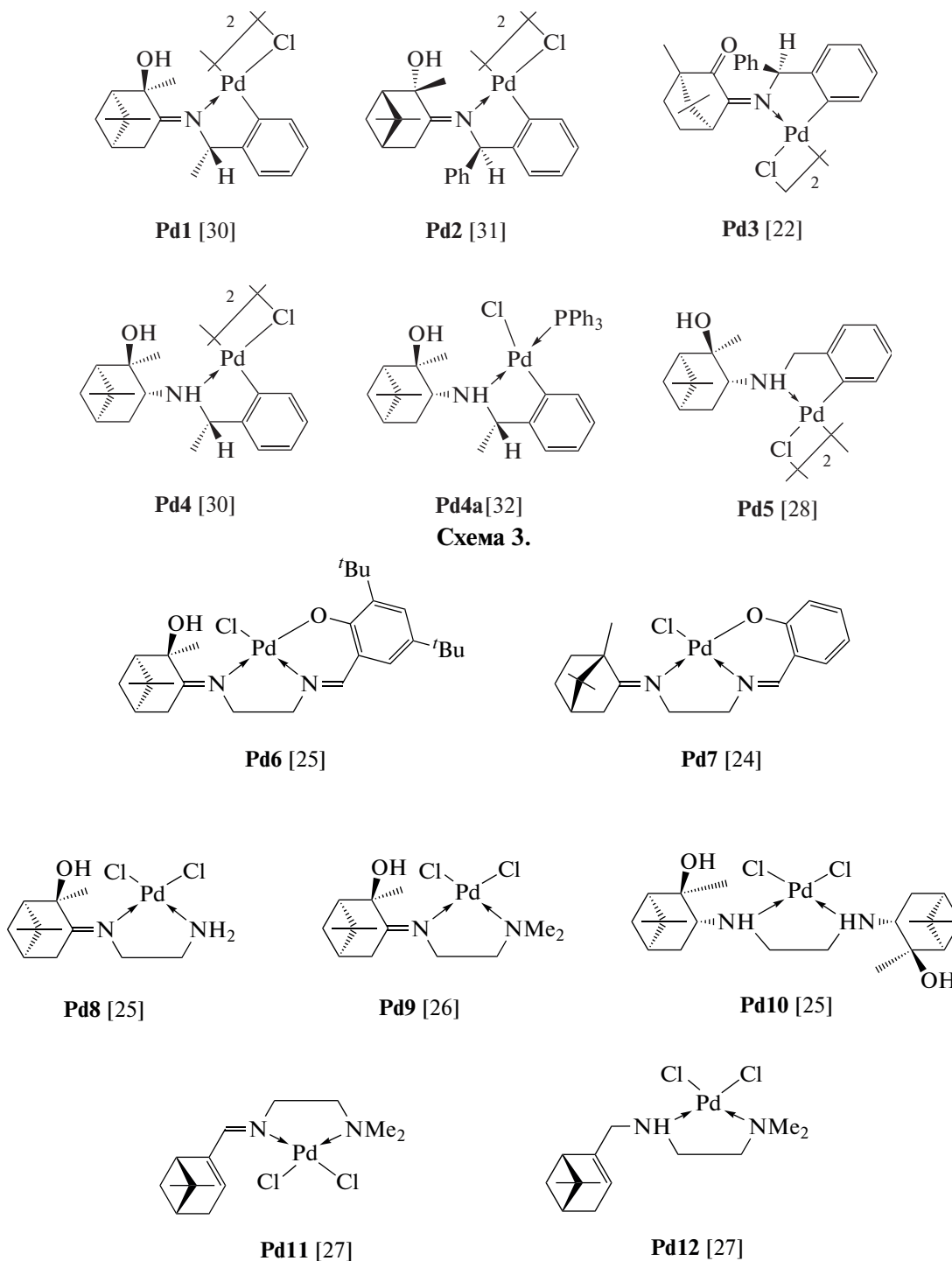


Схема 4.

Биологические испытания проводились *in vitro* в рамках международного проекта CO-ADD (Австралия) [32]. Активность определяли по ингибированию роста клеток пяти видов бактерий (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*) и двух видов грибов (*Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*). Данные виды широко распространенных бактерий и грибов обладают множественными механизмами резистентности по отношению к ряду клинических препаратов, что делает поиск новых бактерицидных и фунгицидных препаратов актуальным.

Полученные результаты свидетельствуют о высокой избирательности ингибирующего действия комплексов палладия различного строения в отношении различных бактериальных штаммов. Все исследованные соединения оказались неактивными в отношении грамм-отрицательных бактерий *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*. В отношении грамм-положительных бактерий золотистого стафилококка *Staphylococcus aureus* высокую ингибирующую активность проявляют комплексы палладия Pd1–Pd4a, относящиеся к группе циклометаллированных соединений (табл. 1). Лидером является палладацикл Pd2, имеющий минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) 1 мкг/мл, что соответствует активности антибиотика ванкомицина. Сравнивая ингибирующую активность ближайших аналогов, можно отметить, что комплексы Pd1 и Pd2 на основе пинановых иминов более активны, чем соответствующие аминные производные (например, Pd4). Трансформация биядерного палладацикла Pd4 в моноядерный комплекс Pd4a, содержащий дополнительный трифенилфосфиновый лиганд, приводит к снижению МИК в 2 раза. Эти факты говорят о том, что антимикробная активность комплексов палладия существенно определяется структурными особенностями лигандов. При этом следует отметить, что соответствующие свободные лиганды неактивны в отношении *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213, музейный штамм). Качественные исследования антимикробной активности лигандов выполнено в Институте фундаментальной медицины и биологии Казанского федерального университета.

Согласно результатам испытаний все исследованные комплексы палладия (Pd1–Pd4a и Pd6–Pd12) показали высокую противогрибковую активность в отношении *Candida albicans* и *Cryptococcus neoformans* (табл. 1). МИК не выше 16 мкг/мл, а в ряде случаев менее 0.25 мкг/мл. Четко выраженной зависимости структура–свойство не наблюдается.

Проведена оценка клеточной токсичности комплексных соединений палладия Pd1–Pd4a и Pd6–Pd12 (табл. 1). Для оценки цитотоксичности

в качестве тест-систем были использованы эмбриональные клетки почек человека НЕК293 (Human embryonic kidney cells). Данные представлены в виде показателя CC_{50} , что соответствует концентрации препарата (мкг/мл), при которой достигается 50% ингибирования роста клеток. Оценена также гемолитическая активность исследуемых препаратов в отношении клеток эритроцитов человека RBC (Human red blood cells). Данные представлены в виде показателя HC_{10} , что соответствует концентрации препарата при 10%-ной гемолитической активности. Все образцы с CC_{50} и HC_{10} больше максимально испытанной концентрации (32 мкг/мл) классифицируются как нетоксичные. Таковыми являются палладокомплексы Pd7, Pd9 и Pd12. Этот результат позволяет считать, что токсичность координационных соединений палладия зависит от лигандного окружения иона металла и может быть, таким образом, целенаправленно снижена. Комплекс Pd12 с индексом селективности ($SI = CC_{50}/МИК$) больше 128 вошел в группу соединений, отобранных для исследования противогрибковой активности *in vivo* [9].

ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КОМПЛЕКСОВ ПАЛЛАДИЯ РАЗЛИЧНОГО ТИПА

Хотя история препаратов на основе металлов в химиотерапии рака насчитывает около 40 лет, все еще растет интерес к разработке новых противоопухолевых средств на основе металлов для решения проблем, связанных с резистентностью, наличием побочных эффектов, повышением эффективности и селективности действия лекарственного препарата. Линейка исследуемых металлокомплексов расширяется, о чем свидетельствуют обзоры, посвященные последним достижениям и перспективам использования металлокомплексных соединений в качестве противораковых препаратов [5, 7, 33–37]. Комплексы палладия с различными органическими лигандами активно исследуются в этом направлении [5, 7, 33–35]. При этом следует отметить огромное структурное разнообразие лигандов, лидерами среди которого являются N-донорные полидентатные молекулы. Весьма информативным является всесторонний обзор [7], посвященный комплексам палладия (847 соединений!), исследованным на противораковую активность *in vivo* или *in vitro* с эпохи открытия цисплатина до 2015 г. Многие разработанные палладиевые комплексы проявляют значительную противоопухолевую активность, причем некоторые из них превосходят цисплатин или другие клинически используемые препараты. Авторами выполнен анализ структура–свойства, а выявленные закономерности весьма полезны при разработке новых соединений палладия с большей цитотоксической активностью.

Таблица 1. МИК комплексов палладия(II) в отношении *S. aureus* (MRSA), *C. albicans* and *C. neoformans* var. *grubii* H99 (мкг/мл), CC₅₀ (мкг/мл), HC₁₀ (мкг/мл)

Соединение	<i>S. aureus</i> ATCC 43300	<i>C. albicans</i> ATCC 90028	<i>C. neoformans</i> ATCC 208821	CC ₅₀	HC ₁₀
Pd1	4	1	0.5	11.9	3.9
Pd2	1	0.5	≤0.25	12.4	1.8
Pd3	16	2	0.5	6.0	>32
Pd4	32	1	≤0.25	16.6	5.6
Pd4a	16	2	1	2.9	5.6
Pd6	8	8	4	4.5	7.8
Pd7	>32	16	4	>32	>32
Pd8	>32	8	4	>32	6.9
Pd9	>32	16	2	>32	>32
Pd10	>32	4	4	>32	4.6
Pd11	>32	≤0.25	≤0.25	10.8	>32
Pd12	>32	2	≤0.25	>32	>32
Vancomycin	1				
Fluconazole		0.125	8		
Tamoxifen				9	
Melittin					2.7

Во многих работах [5, 7, 33–35] отмечается, что комплексы Pd(II) проявляют удовлетворительную цитотоксическую активность в отношении опухолевых клеток, причем значительно превосходящую активность исходных лигандов. Однако вызывает беспокойство их низкая стабильность. Комплексы Pd(II) проявляют большую склонность к обмену своими лигандами, примерно в 10⁵ раз выше, чем комплексы Pt(II) [38]. Это может вызвать быстрый гидролиз препаратов на основе палладия. Диссоциация лиганда порождает очень активные виды частиц (ионов, молекул), которые могут легко взаимодействовать с донорами, встречающимися в кровотоке и клеточной среде, тем самым препятствуя достижению лекарством своей мишени. Этого процесса можно избежать, используя объемные хелатирующие лиганды, тем самым достигая более высокой стабилизации и оптимальной скорости обмена лигандов с целью сохранения структурной целостности соединения *in vivo* в течение достаточно длительного периода для достижения его терапевтического действия [38]. В работах [7, 39–42] акцентируется внимание на циклопалладированные соединения, в которых хелатное кольцо содержит прочную связь углерод–металл. Такие соединения демонстрируют повышенную стабильность и удовлетворительную цитотоксичность. В аналитической работе [7] C,N-палладациклы отмечены в группе соединений с повышенной активностью. С точки зрения

наших интересов, можно выделить работы испанских [39–42] и иранских [43–45] ученых, объектами исследования которых являются циклопалладированные производные бензиламинов. Результаты свидетельствуют, что такие палладациклы имеют высокий потенциал для клинического применения, особенно против рака, устойчивого к химиотерапии.

Еще одним объектом наших интересов, как отмечено выше, являются хелатные комплексы палладия(II) с производными этилендиамина. Цитотоксическая активность палладокомплексов такого типа исследована сербскими учеными [46–50]. В этой группе металлокомплексов нет выдающихся результатов, но четко проявляется тонкая зависимость активности от малейших изменений в строении лиганда.

Биологическая активность синтезированных нами комплексов палладия различного типа исследована в Институте физиологически активных веществ ФИЦ ПХФ и МХ РАН [28]. С точки зрения строения, среди тестируемых соединений можно выделить две группы: комплексы палладия Pd1,1a,4,5,5a с терпеновыми лигандами, производными бензиламина, и хелатные комплексы Pd6,8,9,13,14,15 с производными этилендиамина. Комплексы палладия(II) различного типа, исследованные на цитотоксичность, представлена на схеме 5.

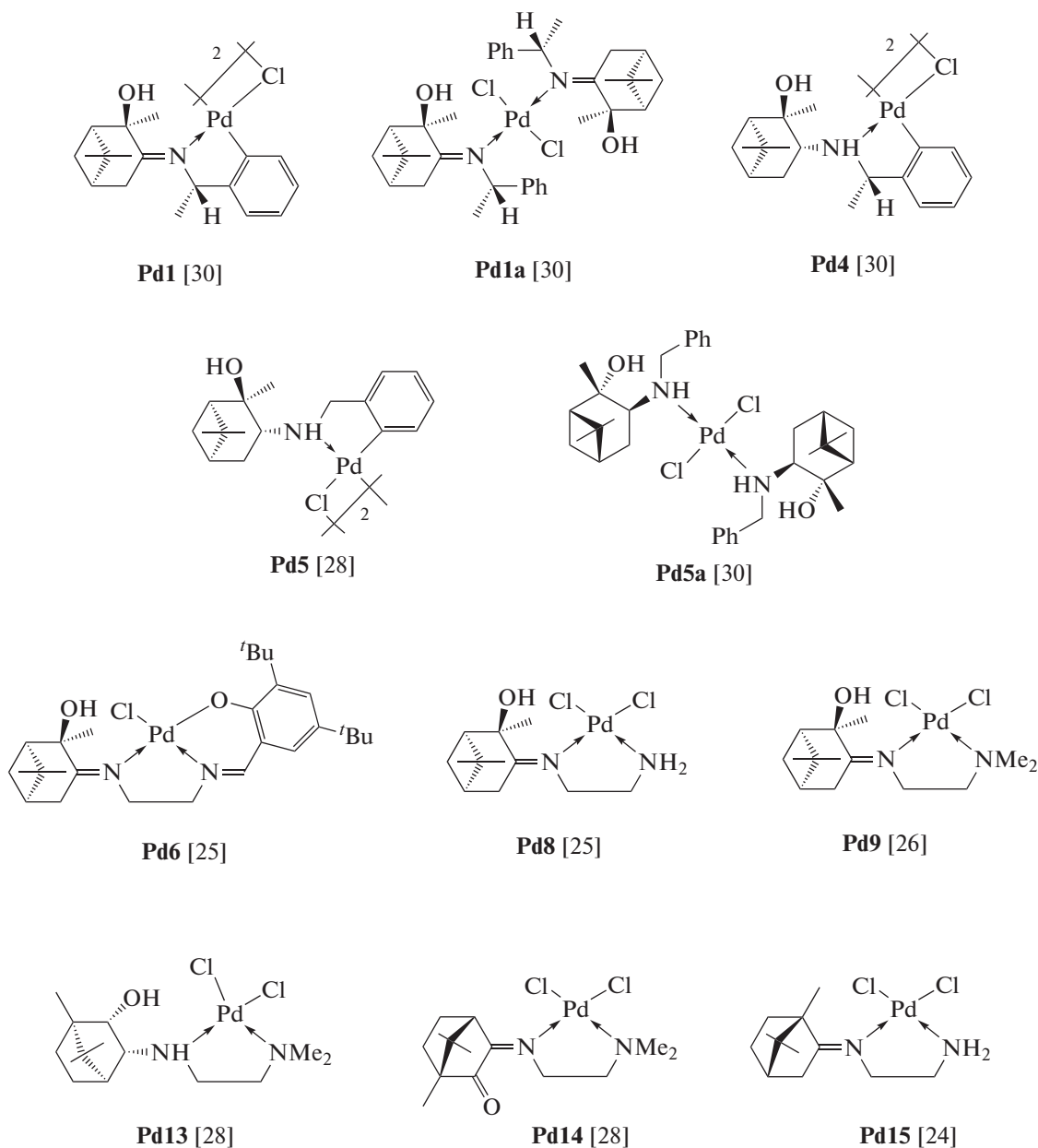


Схема 5.

Определен цитотоксический профиль в отношении панели клеточных линий опухолевого происхождения — легочной аденокарциномы (A549), нейробластомы (SH-SY5Y), эпидермоидной карциномы гортани (Hep-2), карциномы шейки матки (HeLa). Для определения IC_{50} (концентрация, при которой наблюдается 50% гибели клеток) комплексов палладия клеточные линии инкубировали в течение 24 ч с исследуемыми соединениями в концентрациях 0,1, 1, 10, 30, 100 мкМ (по три повтора для каждого). В качестве положительного контроля использовали клинический противоопухолевый препарат цисплатин (цис-диамминдихлорплатина(II)). Жизнеспособ-

ность клеток определяли с помощью теста МТТ. Полученные данные представлены в табл. 2.

Способность снижать выживаемость опухолевых клеток была обнаружена для группы палладо-комплексов (Pd1,1a,4,5,5a), содержащих в своем составе бензиламинный фрагмент. Хелатные комплексы палладия Pd8,9,13,14,15 с N,N-донорными лигандами (терпеновыми производными этилендиамина) в максимальной концентрации 100 мкМ не были эффективны ни на одной культуре клеток. Наиболее выраженное токсическое действие было показано для хелатного палладо-комплекса саленового типа Pd6. Для данного вещества на всех клеточных линиях были выявлены

Таблица 2. Цитотоксичность комплексов палладия(II) в отношении клеточных линий опухолевого происхождения SH-SY5Y, HeLa, Hep-2, A549

Соединение	IC ₅₀ , мкМ			
	SH-SY5Y	HeLa	Hep-2	A549
Pd1	5.86 ± 0.31	6.79 ± 0.44	53.47 ± 1.56	31.62 ± 2.32
Pd1a	28.25 ± 0.70	28.44 ± 0.18	68.32 ± 0.28	41.22 ± 0.58
Pd4	6.27 ± 0.14	22.45 ± 2.65	53.94 ± 1.99	34.08 ± 0.71
Pd5	5.62 ± 0.46	9.43 ± 0.31	61.40 ± 0.97	43.35 ± 2.93
Pd5a	5.94 ± 0.30	4.28 ± 0.09	66.70 ± 0.57	9.45 ± 0.86
Pd6	<0.1	4.66 ± 0.84	20.41 ± 0.82	8.07 ± 0.19
Pd8	≥100	≥100	≥100	≥100
Pd9	≥100	≥100	≥100	≥100
Pd13	≥100	≥ 00	≥100	≥100
Pd14	≥100	≥100	≥100	≥100
Pd15	≥100	≥100	≥100	≥100
Цисплатин	10.08 ± 1.12	9.03 ± 0.74	5.41 ± 0.36	19.15 ± 2.31

наиболее низкие значения IC₅₀ цитотоксического эффекта, особенно в отношении SH-SY5Y (IC₅₀ < 0.1 мкМ), что может свидетельствовать о более предпочтительной токсичности соединения Pd6 к клеткам нейрональноподобного фенотипа. Отметим, что для всех палладокомплексов наблюдалась сниженная токсичность в отношении клеточной линии Hep-2, о чем свидетельствуют более высокие значения величины IC₅₀ цитотоксического эффекта. Для определения возможных механизмов цитотоксического действия были выбраны соединения Pd1,1a,4,5,5a,6 способные снижать выживаемость опухолевых клеток в низких рабочих концентрациях вплоть до наномолярного диапазона.

Для соединений Pd1,1a,4,5a,6 был проведен анализ некоторых возможных механизмов потенциального противоопухолевого действия, таких как модулирование процессов, связанных с функционированием митохондрий, а также влияние на параметры гликолитической функции опухолевых клеток. Обобщенные количественные данные исследования биологической активности комплексов палладия представлены в табл. 3.

В патогенезе многих заболеваний человека, в частности рака, важным звеном являются аномальные функции митохондрий [51], приводящие к нарушениям клеточной биоэнергетики и метаболическому перепрограммированию раковых клеток за счет нарушений в выработке АТФ, Ca²⁺-гомеостаза и окислительно-восстановительного баланса. Показано, что за счет гиперполяризации митохондриальной мембраны, а также нарушения высвобождения проапоптотических факторов в цитозоль опухолевые клетки приобретают резистентность к апоптозу [36]. Таким образом, это

указывает на прямую связь между аномальными функциями митохондрий и опухолевым генезом. Поэтому было изучено влияние комплексов Pd1,1a,4,5,5a,6 на функциональные характеристики изолированных митохондрий печени крыс, используемых в качестве модельной системы, с целью исследования потенциальной проапоптотической активности соединений. Анализ проводили по двум параметрам: изменению “набухания” митохондрий по светопропусканию суспензии органелл и трансмембранного потенциала с использованием потенциал-зависимой метки Сафранин А.

Показано, что преинкубация изолированных митохондрий печени крыс с комплексами палладия(II) приводит к эффективному нарушению функционирования данных органелл. Наиболее выраженная индукция свеллинга наблюдалась для соединений Pd1a и Pd6, о чем свидетельствует значительно более высокая скорость формирования поры митохондриальной проницаемости по сравнению с действием стандартного триггера процесса открытия МРТР – ионов Ca²⁺, использованных в качестве эталона [52] (табл. 3). Кроме того, для данных соединений была выявлена способность снижать трансмембранный потенциал органелл, тем самым оказывая деполяризующее действие на митохондриальную мембрану (63.63% для Pd1a и 83.75% для Pd6). Очевидно, такой коллапс Ψ_m , возникающий под действием соединений, свидетельствует о митохондриальной дисфункции, дальнейшей пермеабиллизации внутренней мембраны органелл путем открытия пор перехода проницаемости митохондрий, выходе проапоптотических факторов в цитозоль и, в конечном итоге, гибели опухолевых клеток. Таким

Таблица 3. Биологическая активность комплексов палладия Pd1,1a,4,5,5a,6

Соединение	Митохондриальные характеристики		Гликолиз ^В
	Мито ^А , SW	Мито ^Б , ψ	
Pd1	127.08 $\pm$ 11.68	85.89 $\pm$ 5.76	110.79 $\pm$ 12.77
Pd1a	303.08 $\pm$ 14.30	63.63 $\pm$ 5.02	63.51 $\pm$ 10.15
Pd4	41.01 $\pm$ 5.49	33.38 $\pm$ 2.59	
Pd5	32.18 $\pm$ 9.24	32.09 $\pm$ 9.79	61.74 $\pm$ 13.34
Pd5a	132.39 $\pm$ 5.78	30.61 $\pm$ 2.04	
Pd6	307.23 $\pm$ 12.35	83.75 $\pm$ 10.39	98.44 $\pm$ 15.47

^А Мито, SW – $V_{\max}$ свеллинга митохондрий печени крыс после добавления 100 мкМ вещества, % от контроля.

^Б Мито, ψ – деполяризация митохондрий печени крыс после добавления 100 мкМ вещества, % от контроля.

^В Гликолиз – ингибирование максимального гликолиза в клетках HeLa после добавления 100 мкМ вещества, % от контроля.

образом, полученные результаты позволяют предположить проапоптотический механизм противоопухолевого действия исследованных соединений за счет модуляции функций митохондрий в клетке.

Определено влияние соединений Pd1,1a,4,5,5a,6 на процесс гликолиза опухолевой культуры рака шейки матки человека HeLa. Еще в середине прошлого века Отто Варбург впервые описал пролиферативный метаболический фенотип, при котором опухолевые клетки демонстрируют повышенную гликолитическую активность и сниженное дыхание митохондрий в отличие от нормальных клеток организма. Это явление стало известно как “эффект Варбурга” [53]. Так, опухоли генерируют до 90%-ного клеточного адезинтрифосфата (АТФ) путем гликолиза, и лишь оставшиеся 10% поступают в результате окислительного фосфорилирования, в то время как в аэробных непролиферативных клетках митохондрии участвуют в образовании АТФ на 95% [54]. В ряде работ показано, что соединения, способные ингибировать гликолиз, обладают выраженным противоопухолевым потенциалом, приводя к гибели опухолевых клеток [55, 56]. В связи с этим нацеливание на aberrantный метаболизм является многообещающей стратегией для ингибирования роста раковых клеток и метастаза.

Влияние металлокомплексов с терпеновыми лигандами на анаэробный гликолиз было исследовано с использованием анализатора клеточного метаболизма Agilent Seahorse XF96e Analyzer (Seahorse Bioscience, США) по уровню продукции протонов водорода в клетках опухолевого происхождения с помощью гликолиз стресс-теста [57]. Скорость внеклеточного закисления среды измерялась в режиме реального времени в условиях поочередного введения модуляторов, что позволило оценить интенсивность гликолиза в клетках посредством фиксирования основных парамет-

ров гликолитической функции: гликолиза, гликолитической емкости и гликолитического резерва.

Показано, что комплексы Pd1,1a,5,6 обладают выраженными гликолиз-ингибирующими свойствами. Эти вещества достоверно снижали гликолитическую способность опухолевой культуры рака шейки матки человека HeLa более чем на 50%: Pd5 (на 83.86 $\pm$ 4.96% гликолиз; 61.94 $\pm$ 3.90% гликолитическую емкость; 97.79 $\pm$ 3.78% гликолитический резерв), Pd1 (на 91.37 $\pm$ 3.61% гликолиз; 95.63 $\pm$ 3.90% гликолитическую емкость; 97.19 $\pm$ 3.78% гликолитический резерв) и Pd1a (на 53.52 $\pm$ 1.98% гликолиз; 64.10 $\pm$ 2.95% гликолитическую емкость; 79.59 $\pm$ 0.92% гликолитический резерв), а также палладокомплекс саленового типа Pd6 (на 93.40 $\pm$ 3.21% гликолитическую емкость; 97.79 $\pm$ 0.43% гликолитический резерв). Полученные данные коррелируют с результатами исследования цитотоксического профиля: для вышеуказанных комплексов было обнаружено наиболее высокое токсическое действие в отношении большинства клеточных культур. Очевидно, иницируя каскад ингибирования гликолиза, данные соединения обладают способностью нарушать энергетический метаболизм и тем самым приводить к гибели опухолевой клетки.

Полученные результаты позволяют подтвердить перспективность нашего синтетического подхода к созданию эффективных противоопухолевых соединений на основе комплексов палладия различного типа с терпеновыми лигандами. Выявлены соединения-лидеры, обладающие выраженными цитотоксическими свойствами на различных линиях опухолевых клеток. Это, прежде всего, комплекс палладия Pd6 с N,N,O-лигандом, а также соединения палладия Pd1,1a,4,5,5a, содержащие в качестве лиганда терпеновые производные бензиламина. В последней группе не выявлено зави-

симости цитотоксической активности палладат-комплекса от характера координации исходного лиганда. Механизм цитотоксического действия данных веществ может быть обусловлен как их способностью оказывать повреждающее действие на митохондрии, так и влиянием на энергетическую функцию опухолевых клеток — гликолиз.

ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПАЛЛАДАЦИКЛОВ, СОДЕРЖАЩИХ АМИНОКИСЛОТУ В КАЧЕСТВЕ СОЛИГАНДА

Биядерный комплекс Pd₄ мы выбрали в качестве стартового соединения для синтеза на его основе серии смешанолигандных мооядерных производных Pd₄b-e, содержащих, кроме C,N-палладацикла, аминокислоту в качестве второго N,O-донорного хелатного лиганда (схема 6). Биядерные палладациклы (ПЦ) легко вступают в реакцию с дополнительными лигандами (как монодентат-

ными, так и бидентатными) за счет раскрытия хлоридных (или ацетатных) мостиков с образованием соответствующих мооядерных комплексов [31, 58]. В качестве такого солиганда мы использовали протеиногенные L-аминокислоты — пролин (**Pro**), тирозин (**Tyr**), серин (**Ser**) — и изолейцин (**Ile**). Биологическая активность этих соединений, входящих в состав белков, вполне очевидна. В работах иранских ученых [58, 59] описан синтез фосфорсодержащих ПЦ с дополнительными аминокислотными лигандами. Установлена четкая зависимость активности ПЦ от природы аминокислотного фрагмента. К сожалению, авторы не приводят данные для исходных биядерных ПЦ, чтобы оценить вклад аминокислотного фрагмента. Следует отметить, что на фоне высокой противоопухолевой активности отмечается низкая токсичность ПЦ в отношении нормальных клеток человека [58, 59].

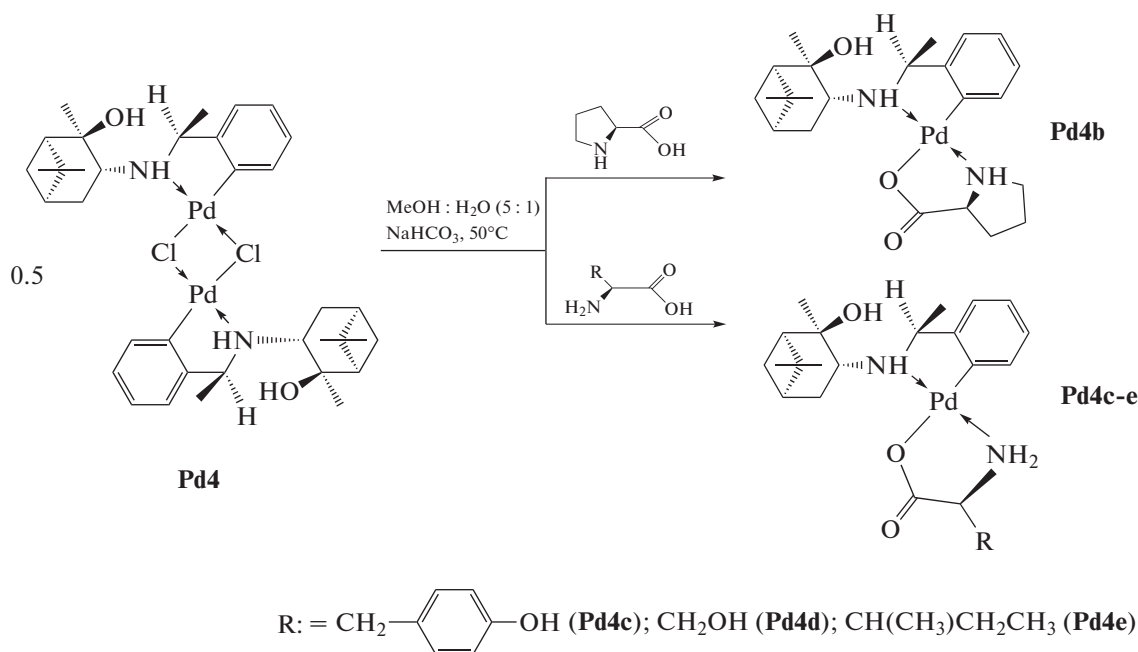


Схема 6.

Биологическая активность синтезированных нами смешанолигандных мооядерных комплексов палладия с аминокислотными лигандами исследована в Институте физиологически активных веществ ФИЦ ПХФ и МХ РАН [60]. При изучении противоопухолевого потенциала новых C,N-ПЦ, содержащих L-аминокислоты, был проведен анализ степени влияния исследуемых соединений на выживаемость клеток опухолевого происхождения нейробластомы (SH-SY5Y), легочной аденокарциномы (A549), эпидермоидной карци-

номы гортани (Нер-2) и карциномы шейки матки (HeLa). Определение жизнеспособности клеток проводили с помощью МТТ-теста, основанного на способности митохондриальных дегидрогеназ живых клеток восстанавливать МТТ (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолий бромид) до кристаллов нерастворимого формазана. Для валидирования метода в наших условиях в качестве референсного вещества использовали известный противоопухолевый препарат Цисплатин. В качестве препаратов сравнения исследо-

дованы соответствующие свободные лиганды — терпеновый амин (HL⁴) и аминокислоты (Pro, Tyr, Ser и Ile).

Данные по цитотоксической активности представлены в табл. 4. Установлено, что все смешанолигандные металлокомплексы Pd4b-е оказывали умеренное влияние на выживаемость клеток использованных линий. Наиболее выраженным цитотоксическим эффектом обладали соединения Pd4c и Pd4e в отношении клеточной линии SH-SY5Y, IC₅₀ для которых составили 28.65 ± 0.36 и 23.66 ± 0.41 мкмоль л⁻¹ соответственно. Однако эти значения оказались выше, чем IC₅₀ исходного биядерного комплекса Pd4 (6.27 ± 0.14 мкмоль л⁻¹). Только для соединения Pd4d в отношении Нер-2 токсический эффект более чем в 3 раза превышал таковое у исходного соединения Pd4. Для исходных лигандов (HL⁴ и Pro, Tyr, Ser и Ile) значения IC₅₀ в отношении всех опухолевых линий превышало 100 мкмоль л⁻¹.

На основании полученных данных можно сделать два важных вывода. Первый заключается в том, что введение аминокислотного лиганда в большинстве случаев не обеспечивает усиления цитотоксического эффекта полученных моноядерных комплексов палладия Pd4b-е по сравнению с исходным биядерным комплексом Pd4, содержащим только терпеновые лиганды. Второй — за цитотоксическую активность в целом отвечает координированный терпеновый лиганд, так как для некоординированного амина HL⁴ активность не обнаружена.

Анализ влияния цитотоксичных металлокомплексов Pd4 и Pd4b-е на трансмембранный потенциал митохондрий проводили на изолированных митохондриях печени крыс, используемых в качестве модельной системы, с регистрацией флуоресценции потенциал-зависимой метки А. Сафранина. Установлено, что предварительная инкубация изолированных митохондрий печени крысы с комплексами палладия Pd4 и Pd4b-е вызывала нарастающую во времени деполяризацию митохондриальной мембраны (рис. 1а). Уровень наблюдаемой деполяризации митохондриальной мембраны по истечении 10 мин соединениями Pd4b-е был ниже, чем у исходного металлокомплекса Pd4 (рис. 1б), что, вероятно, и обуславливает их более низкую цитотоксичность в отношении опухолевых линий клеток. Полученные результаты свидетельствуют о том, что введение аминокислотных лигандов в молекулу снижает эффективность действия моноядерных комплексов Pd4b-е в отношении мембранного потенциала.

Установлено, что цитотоксическое действие палладациклов может быть связано со способностью данных веществ вызывать деструкцию ми-

тохондрий путем деполяризации митохондриальной мембраны, что, в свою очередь, способствует запуску процессов апоптоза за счет выхода проапоптотических факторов в цитоплазматическое пространство клетки. Анализ выявленных закономерностей структура—свойства позволяет сделать вывод о том, что за цитотоксическую активность в целом отвечает координированный с палладием терпеновый лиганд, а введение аминокислотного лиганда в большинстве случаев не обеспечивает усиления цитотоксического эффекта полученных моноядерных комплексов палладия Pd4b-е по сравнению с исходным биядерным комплексом Pd4.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КОМПЛЕКСОВ ЦИНКА С ТЕРПЕНОВЫМИ ПРОИЗВОДНЫМИ ЭТИЛЕНДИАМИНА

Комплексы цинка с органическими лигандами имеют большие перспективы как основа для создания потенциальных терапевтических препаратов. При сопоставлении биоактивности комплексов цинка с другими лекарственными средствами на основе металлов показано, что они обладают меньшей общей системной токсичностью, сниженным количеством побочных эффектов, но при этом имеют сравнимую эффективность [61]. Металлокомплексы, содержащие цинк, проявляют широкий спектр биологической активности, в том числе антибактериальную [62–64], противогрибковую [65–68], противоопухолевую [60, 69–73], противодиабетическую [74, 75] и противопаразитарную [76].

Цитотоксичность комплексов цинка Zn7,8,9,13,15,16 с терпеновыми производными этилендиаминa (схема 7) исследована в Институте физиологически активных веществ ФИЦ ПХФ и МХ РАН [77]. Установлено, что их активность существенно ниже, чем активность комплексов палладия аналогичного строения. Тем не менее представляло интерес изучить их модулирующее действие на функциональное состояние изолированных митохондрий крыс. Как было отмечено выше, митохондрии как центр клеточного метаболизма и основные регуляторы окислительно-восстановительного баланса играют решающую роль в развитии и прогрессировании широкого спектра различных заболеваний. В связи с этим, влияя на различные функциональные характеристики данных органелл, можно модулировать процессами жизнедеятельности клетки с целью достижения желаемого фармакологического действия.

Таблица 4. Цитотоксичность (*in vitro*) комплексов палладия(II) и исходных лигандов в отношении клеточных линий опухолевого происхождения

Соединение	IC ₅₀ , мкмоль л ⁻¹			
	SH-SY5Y	HeLa	A549	Hep-2
Цисплатин	11.31 ± 0.92	9.56 ± 1.01	17.65 ± 1.28	6.07 ± 0.04
Pd4	6.27 ± 0.14	22.45 ± 2.65	34.08 ± 0.71	53.94 ± 1.99
Pd4b	53.36 ± 0.31	47.32 ± 0.29	95.99 ± 1.91	77.20 ± 0.97
Pd4c	28.65 ± 0.36	60.03 ± 0.42	73.83 ± 0.02	70.01 ± 1.65
Pd4d	58.08 ± 0.27	52.97 ± 0.05	58.74 ± 0.01	15.80 ± 0.71
Pd4e	23.66 ± 0.41	57.09 ± 0.29	61.13 ± 0.78	65.20 ± 0.04
HL ⁴	≥100	≥100	≥100	≥100
Pro	≥100	≥100	≥100	≥100
Tyr	≥100	≥100	≥100	≥100
Ser	≥100	≥100	≥100	≥100
Ile	≥100	≥100	≥100	≥100

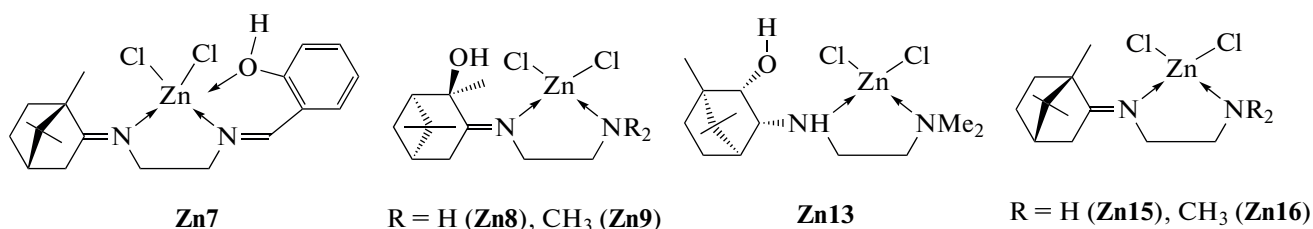


Схема 7.

Воздействие комплексов Zn7,8,9,13,15,16 и препаратов сравнения на функционирование митохондрий изучали по анализу влияния синтезированных соединений на следующие параметры: трансмембранный потенциал, “набухание” органелл и работа комплексов электрон-транспортной цепи. Так, митохондриальный мембранный потенциал ($\delta\Psi$), поддерживаемый протонной движущей силой дыхательной цепи, используется для генерации АТФ [78], и сильная деполяризация мембраны в первую очередь приводит к провоцированию открытия митохондриальных пор перехода проницаемости и индукции апоптоза. Поэтому влияние на “набухание” и $\delta\Psi$ является одним из механизмов ингибирования пролиферации опухолевых клеток [79], а также действия различных терапевтических агентов, таких как антипротоzoйные, противогрибковые и другие.

Хиральные комплексы цинка(II) Zn7,8,9,13,15,16 вызывают сильную деполяризацию митохондрий печени крыс и провоцируют их “набухание” (рис. 2). В качестве референсных соединений были использованы хлорид цинка и известный цитостатик цисплатин. Деполяризация митохондриальной мембраны и провоцирование “набухания” органелл, вызванные исследуемыми соединениями, сравнимы с действием цисплатина, в то

время как для хлорида цинка и производных этилендиамина L⁸, L¹⁶ и L¹³ активность в данных тестах отсутствует.

Хорошо известно, что дыхательная цепь митохондрий вносит важный вклад в физиологическую и патологическую продукцию активных форм кислорода – ключевых медиаторов гибели клеток [80]. На сегодняшний день достигнут значительный прогресс в исследовании функционирования комплексов (I, II, III, IV) электрон-транспортной цепи в качестве сенсоров апоптотической гибели клеток, а также роли их дисфункции при различных патологиях. Так, например, было показано, что ингибирование комплекса II дыхательной цепи в результате связывания митохондриального шаперона TRAP1 (tumor necrosis factor receptor associated protein 1) с сукцинатдегидрогеназой индуцирует онкогенез посредством формирования псевдогипоксического состояния [81, 82], а снижение ферментативной активности данного комплекса сопровождается ростом опухолей параганглиомы [83], феохромоцитомы [84] и других злокачественных новообразований [85, 86]. В свою очередь, нацеливание на электрон-транспортную цепь и, как следствие, стимулирование гибели клеток специфическим образом было выявлено для соединений различной химической структуры и те-

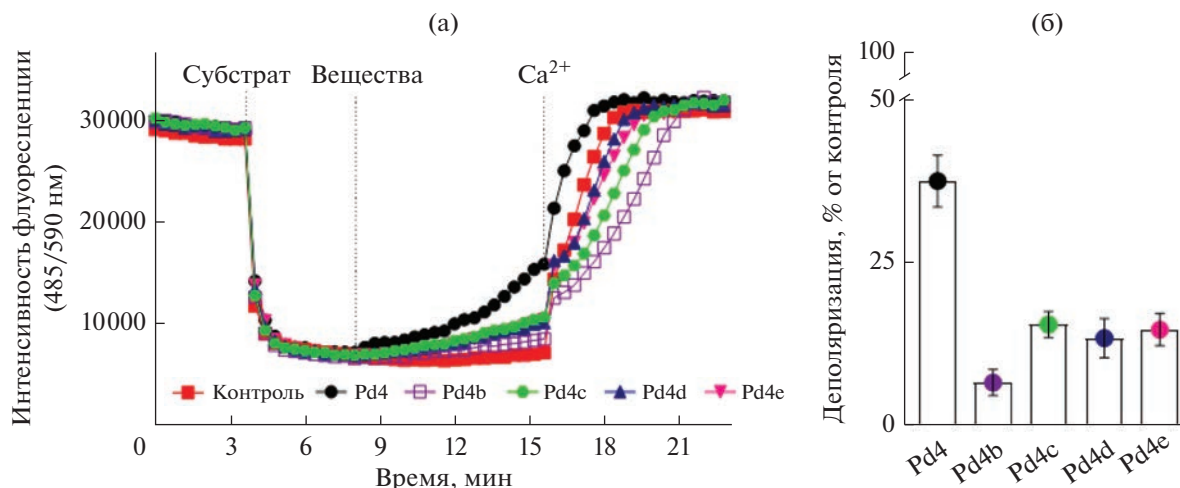


Рис. 1. Влияние комплексов палладия Pd4 и Pd4b-e на мембранный потенциал митохондрий печени крыс (0.5 мг мл): кинетические кривые изменения мембранного потенциала митохондрий (а), гистограммы для количественного отражения полученных результатов по истечении 10 мин инкубации с исследуемыми веществами при $\lambda_{\text{возб}} = 485$ нм, $\lambda_{\text{исп}} = 590$ нм (б). Концентрации соединений – 100, Ca^{2+} – 25 мкмоль л^{-1} ; в качестве контроля использовали эквивалентный объем растворителя (ДМСО); энергизацию митохондрий проводили сукцинатом калия (5 мкмоль л^{-1}) и ротеноном (1 мкмоль л^{-1}).

рапевтической направленности. Перспективным направлением также является разработка терапевтических стратегий для лечения малярии, где в качестве ключевой мишени фармакологического действия создаваемых препаратов рассматривается электрон-транспортная цепь [87]. На основе большого количества экспериментальных данных, становится очевидным тот факт, что попытки фармацевтического воздействия на дыхательную цепь переноса электронов для целенаправленной элиминации клеток являются многообещающей стратегией.

Добавление ротенона (специфического ингибитора комплекса I электрон-транспортной цепи) вызывало снижение потребления кислорода энергизованными митохондриями печени крыс (рис. 3). При инъекции сукцината (субстрата комплекса II) было обнаружено, что все исследуемые металлокомплексы Zn7,8,9,13,15,16 обладают способностью стимулировать сукцинатдегидрогеназный комплекс и усиливать интенсивность потока электронов, в то время как для исходных терпеновых производных этилендиамина L8, L16 и L13 не было обнаружено достоверных от контроля отличий (рис. 3). После добавления антимицина в контроле, как в норме, наблюдается снижение потребления кислорода, однако комплексы цинка Zn7,8,9,13,15,16 показывают нарушение тока электронов.

Полученные результаты позволяют считать, что исследованные хиральные комплексы цинка с терпеновыми производными этилендиамина обладают дестабилизирующим действием на митохондрии за счет деполаризации митохондриальной мембраны, индукции скачка митохондриальной

проницаемости и модулирующего действия на работу комплексов дыхательной цепи. Наличие таких свойств может иметь важное значение при поиске потенциальных лекарственных средств с возможным противоопухолевым, антипротозойным или антифунгицидным действием.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КОМПЛЕКСОВ МЕДИ(II) С ТЕРПЕНОВЫМИ ПРОИЗВОДНЫМИ ЭТИЛЕНДИАМИНА

Комплексы меди(II) характеризуются большим потенциалом биомедицинского применения, что подтверждается многочисленными исследованиями. В ряде работ сообщается об антиоксидантной активности комплексов меди [88–97]. В последнее время большое внимание уделяется разработке и применению низкомолекулярных комплексов меди, обладающих свойствами, подобными действию антиоксидантного фермента – супероксиддисмутазы (СОД) [93, 98–103]. СОД является одним из важнейших антиоксидантных ферментов, который катализирует реакцию дисмутации супероксидных анион-радикалов, превращая их в перекись водорода и кислород. Было показано [104], что металлокомплексы обладают способностью эффективно катализировать дисмутацию супероксидных радикалов и могут быть хорошей альтернативой СОД. Интерес исследователей к комплексам меди(II) связан с тем фактом, что медь является жизненно важным металлом, который входит в состав многих витаминов, гормонов, ферментов, дыхательных пигментов и участвует в процессах обмена веществ, в тканевом дыхании и в других биохимических процессах [4].

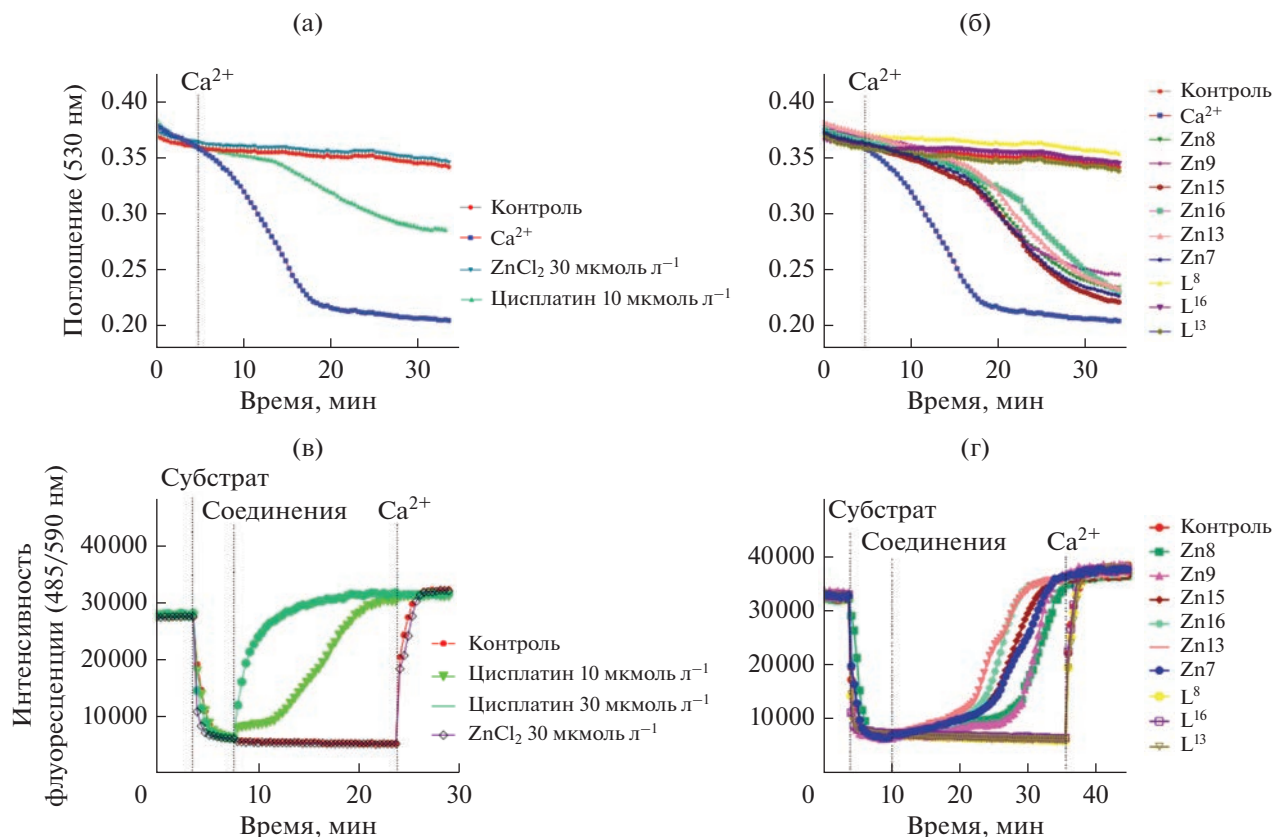
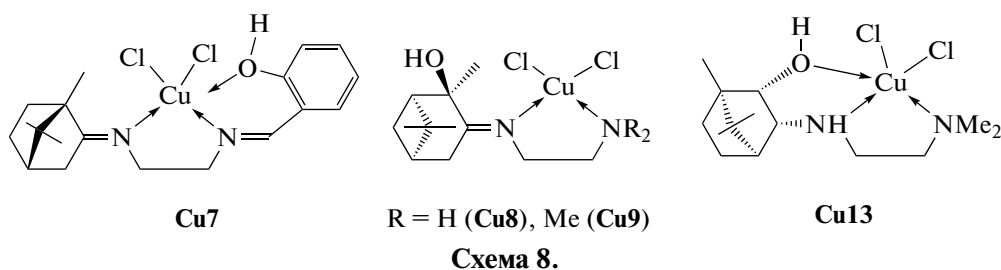


Рис. 2. Влияние введения исследуемых соединений Zn7,8,9,13,15,16, L^8 , L^{16} и L^{13} на мембранный потенциал (а, б) и “набухание” (в, г) изолированных митохондрий печени крыс. Концентрации соединений – 30, ротенона – 0.5, сукцината калия – 5, ZnCl_2 – 30, Ca^{2+} – 50 (а, б) и 25 (в, г), цисплатина – 10 и 30 (в) и 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (а). К – контроль, содержащий эквивалентное количество растворителя ДМСО. Данные представлены как среднее значение ($n = 3$).

Как избыток, так и недостаток меди может приводить к существенным нарушениям жизнеспособности организмов и развитию болезней [105, 106]. Анализ литературных данных позволяет сделать вывод о том, что синтез и исследование биологической активности комплексов меди(II) является весьма перспективным с точки зрения получения новых фармакологических препаратов. Тем не менее молекулярные механизмы действия комплексов меди исследованы недостаточно [107, 108].

Исследована антибактериальная и противогрибковая активность полученных нами хелатных комплексов меди(II) Cu7,8,9,13 (схема 8) с терпено-

выми производными этилендиамина [109]. Эффективность определяли по ингибированию роста клеток пяти видов бактерий (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium vaccae*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*) и трех видов грибов (*Candida albicans*, *Sporobolomyces salmonicolas*, *Penicillium notatum*). Эти виды широко распространенных бактерий и грибов обладают множественными механизмами устойчивости к ряду клинических препаратов, что делает актуальным поиск новых бактерицидных и фунгицидных препаратов. Исследования выполнены в Институте биохимии им. А.Н. Баха ФИЦ Биотехнологии РАН.



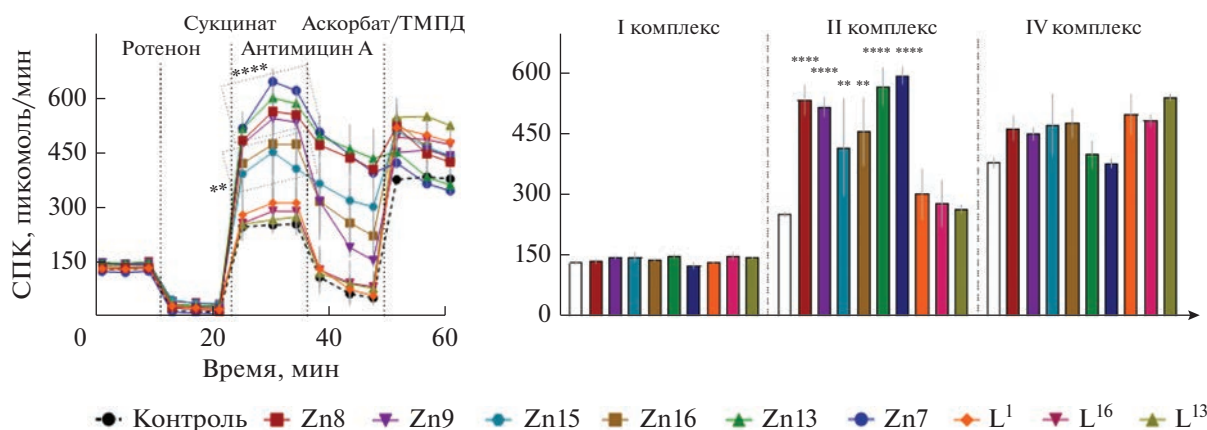


Рис. 3. Влияние соединений Zn7,8,9,13,15,16; L⁸, L¹⁶ и L¹³ на скорость потребления кислорода (СПК) изолированными митохондриями печени крыс (10 мкг на лунку) для оценки работы комплексов дыхательной цепи. Концентрация тестируемых веществ — 30 мкмоль л⁻¹, ротенона — 2 мкмоль л⁻¹, сукцината — 2, антимицина А — 4, аскорбат/тетраметилфенилендиамин (ТМПД) — 0.5 мкмоль л⁻¹. Данные представлены как среднее значение $\pm$ ошибка среднего ($n = 3$). ** $p \leq 0,01$, **** $p \leq 0.0001$ по сравнению с контролем (двусторонний дисперсионный анализ one-way ANOVA).

В целом комплексы меди Cu7,8,9,13 проявили высокую антибактериальную и противогрибковую активность (рис. 4 и 5). Антибактериальную и противогрибковую активность определяли диск-диффузионным методом [110, 111] по ингибированию роста клеток пяти видов бактерий (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium vaccae*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*) и трех видов грибов (*Candida albicans*, *Sporobolomyces salmonicolor*, *Penicillium notatum*). В частности, выявлена высокая антибактериальная активность комплексов меди Cu7,8,9,13 в отношении мультирезистентного штамма золотистого стафилококка *S. aureus* (MRSA), устойчивого в том числе к антибиотику сравнения — ципрофлоксацину. В отношении штамма *S. aureus* (511 B3) активность этих комплексов сопоставима с активностью ципрофлоксацина (рис. 5).

Все исследованные комплексы меди Cu7,8,9,13 показали значительно более высокую противогрибковую активность в отношении штаммов *Candida albicans*, *Sporobolomyces salmonicolor*, *Penicillium notatum* по сравнению с активностью клинического противогрибкового препарата амфотерицина (рис. 5).

Для сравнения оценена антимикробная активность свободных лигандов и установлено, что они неактивны в отношении линейки исследованных штаммов патогенных микроорганизмов. Полученные данные подтверждают установленную во многих работах закономерность — металлокомплексы проявляют высокую антимикробную активность, а исходные лиганды — нулевую [91, 99, 112, 113]. Авторы объясняют такой результат увеличением липофильности иона Cu(II) вследствие координации к органическому лиганду [112].

Исследована антиоксидантная активность (АОА) комплексов меди Cu7,8,9,13 с использованием различных тест-систем (*in vitro*). Проведена сравнительная оценка АОА по способности ингибировать процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) в субстрате, содержащем липиды головного мозга лабораторных мышей. При этом использовали два способа инициирования ПОЛ — Fe²⁺/аскорбат или H₂O₂. Содержание вторичных продуктов ПОЛ, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБА-RS) определяли спектрофотометрически (рис. 6). Из анализа данных, полученных при концентрации соединений 500 мкМ, следует, что вне зависимости от способа инициирования ПОЛ в обеих парах лиганд-комплекс наибольшая ингибирующая активность отмечена для комплексов. Высокой АОА при указанной концентрации характеризуются также медные комплексы Cu13 и Cu7. Отметим, что результаты, полученные при инициировании ПОЛ различными способами, тесно коррелируют между собой (коэффициент ранговой корреляции Спирмена $R_s = 0.75$, $p = 0.05$, $n = 7$).

При снижении концентрации до 100 мкМ комплекс Cu7 практически не теряет своей способности ингибировать ПОЛ и сохраняет лидирующее положение (рис. 6). Это соединение сопоставимо по активности со стандартным антиоксидантом — 2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилфенолом (ВНТ) при обоих способах инициирования ПОЛ (Fe²⁺/аскорбат- и H₂O₂). В структурном плане комплекс меди Cu7 имеет существенные отличия от соединений Cu8,9,13, так как содержит N,N,O-донорный тридентатный лиганд саленового типа. Можно предположить, что высокую АОА Cu7 обеспечивает наличие фенольного фрагмента. Для дальнейших

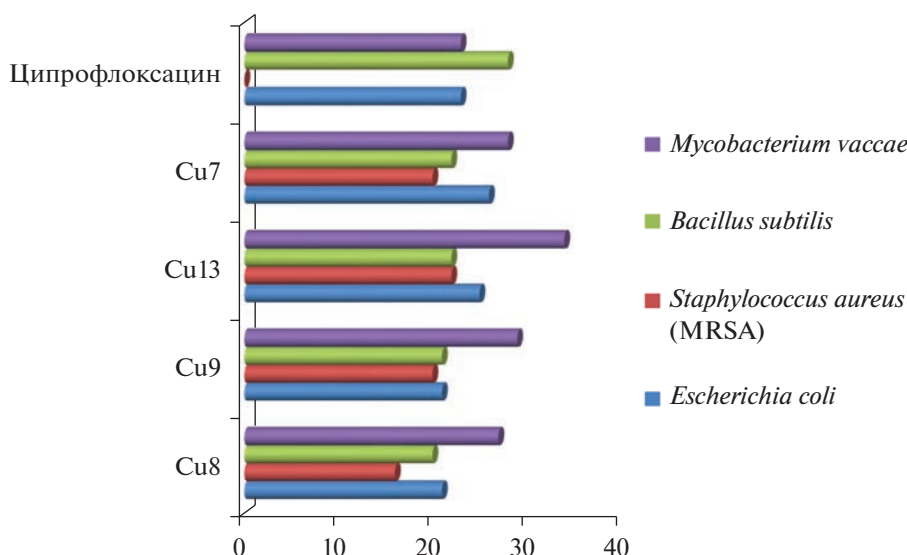


Рис. 4. Антибактериальная активность медных комплексов Cu7,8,9,13 в сравнении с антибиотиком Ципрофлоксацином.

исследований именно этот тип комплексов мы определяем как наиболее перспективный.

Прежде чем проводить сравнительное исследование мембранопротекторной активности (МПА) соединений Cu7,8,9,13, L8, L9 на модели окислительного гемолиза эритроцитов, мы оценили их токсичность по степени гемолиза эритроцитов. Установлено (рис. 7), что практически все исследуемые соединения в концентрации 10 мкМ характеризуются низкой гемолитической активностью — гибель эритроцитов в их присутствии незначительно превышает спонтанную. Лишь в присутствии комплекса Cu9 гемолиз эритроцитов превышает контрольные показатели в ~2 раза. Дальнейшие исследования биологической активности соединений с использованием клеток крови проводили при концентрации 1 мкМ.

Мембранопротекторную активность исследуемых медных комплексов Cu7,8,9,13 и лигандов L8, L9 определяли по степени ингибирования окислительного гемолиза эритроцитов крови лабораторных мышей. Для инициирования окислительного гемолиза использовали 2,2'-азо-бис-(2-амидинопропан)гидрохлорид (ААРН) либо H₂O₂. В водной среде при физиологических температурах путем мономолекулярного термического разложения ААРН с постоянной скоростью генерирует пероксильные радикалы, неспособные проникать внутрь клетки и воздействующие на мембрану с внешней стороны [114]. Окислительный гемолиз, инициированный ААРН, широко используется для выявления антиоксидантной и мембранопротекторной активности различных соединений и растительных экстрактов [114–117]. Установлено, что все исследованные соединения (медные ком-

плексы Cu7,8,9,13, лиганды L8, L9) обладают статистически значимой МПА, что следует из снижения темпов клеточной гибели в их присутствии под воздействием радикалов ААРН (табл. 5). Так, спустя 2 ч после индукции окислительного стресса, уровень гемолиза в контроле составил 23.2%, в присутствии комплексов меди Cu7,8,9,13 — только 6.2–10.9%, лигандов L8, L9 — 12.1–15.0%. Наибольшая МПА среди всех исследованных соединений выявлена для комплекса Cu9, который превосходил по активности не только соответствующий лиганд L9, но и ВНТ, замедляя темпы окислительного гемолиза в течение всего эксперимента (5 ч).

Гидропероксид, наряду с ААРН, также широко используется для инициирования окислительного гемолиза при исследовании антиоксидантных и мембранопротекторных свойств различных соединений [117–119]. В отличие от ААРН, это соединение легко проникает внутрь эритроцита, а его первичной мишенью является гемоглобин [120]. В табл. 2 представлены результаты сравнительной оценки МПА исследуемых соединений в условиях H₂O₂-индуцированного гемолиза. В данном эксперименте наибольшая активность среди комплексов Cu7,8,9,13 выявлена для соединения саленового типа Cu7, содержащего фенольный фрагмент и отличающегося наибольшей АОА на модели инициированного окисления субстрата, содержащего животные липиды. Именно комплекс Cu7 в наибольшей степени ингибировал гибель клеток под воздействием H₂O₂ в течение всего периода эксперимента (5 ч).

Таким образом, на основании результатов исследования АОА терпеновых лигандов и медных

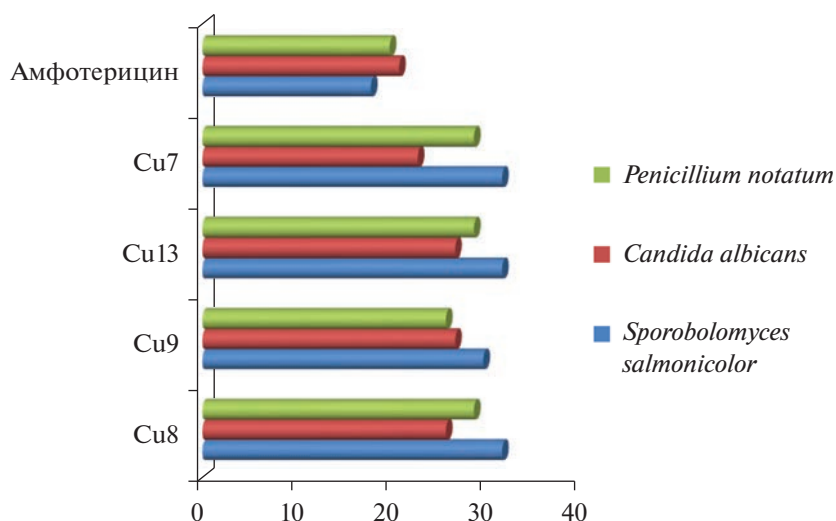


Рис. 5. Противогрибковая активность медных комплексов Cu7,8,9,13 в сравнении с фунгицидным препаратом Амфотерицином.

комплексов можно сделать следующие основные выводы: вне зависимости от способа инициирования окисления липидов (Fe^{2+} /аскорбат- или H_2O_2) в обеих парах лиганд–комплекс наибольшая ингибирующая активность отмечена для медных комплексов; показано, что комплекс саленового типа Cu7, отличающийся наибольшей АОА на модели инициированного окисления субстрата, содержащего животные липиды, и не проявляющий гемолитическую активность даже при концентрации 10 мкМ, превосходил другие медные комплексы по способности защищать эритроциты в условиях H_2O_2 -индуцированного гемолиза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выполнены исследования разноплановой биологической активности комплексов палладия, меди и цинка с терпеновыми лигандами различного типа. Полученные результаты позволяют рассматривать их как потенциальные фармакологические препараты и свидетельствуют о перспективности поиска эффективных соединений в этой группе металлокомплексов.

Важным выводом является тот факт, что исходные лиганды в отличие от соответствующих металлокомплексов неактивны (или существенно менее активны) в исследованных биологических тестах, что подтверждает важную роль ионов металлов.

Комплексы палладия(II) различного строения проявили высокую избирательность в отношении различных бактериальных штаммов. Все исследованные соединения оказались неактивными в отношении грамотрицательных бактерий. В отношении грамположительных бактерий золотистого

стафилококка *Staphylococcus aureus* высокую ингибирующую активность проявляют комплексы палладия(II), относящиеся к группе циклометаллированных соединений. Лидер имеет МИК 1 мкг/мл, что соответствует активности антибиотика ванкомицина. Все исследованные комплексы палладия показали высокую противогрибковую активность в отношении *Candida albicans* и *Cryptococcus neoformans*. Оценка гемолитической активности и цитотоксичности в отношении эмбриональных клеток почек человека (НЕК293) позволила выявить нетоксичные соединения (с индексом селективности выше 128) и определить вектор дальнейших исследований.

Оценка цитотоксической активности комплексов палладия с терпеновыми лигандами различного типа в отношении панели клеточных линий опухолевого происхождения позволила выявить соединения-лидеры, для которых IC_{50} цитотоксического эффекта (концентрация, при которой наблюдается 50% гибели клеток) сопоставима с активностью клинического препарата цисплатина. Это прежде всего циклопалладированные терпеновые производные бензиламина. В ходе изучения возможных механизмов антинеопластического действия эффективных комплексов палладия было обнаружено, что данные вещества способны модулировать функциональные характеристики митохондрий, запуская процесс “набухания” органелл и оказывая деполяризующее действие на митохондриальную мембрану, а также ингибировать процесс гликолиза в клетках опухолевого происхождения HeLa.

Биядерные палладациклы, цитотоксическая и антимикробная активность которых подтверждена, являются хорошей базой для получения мультимо-

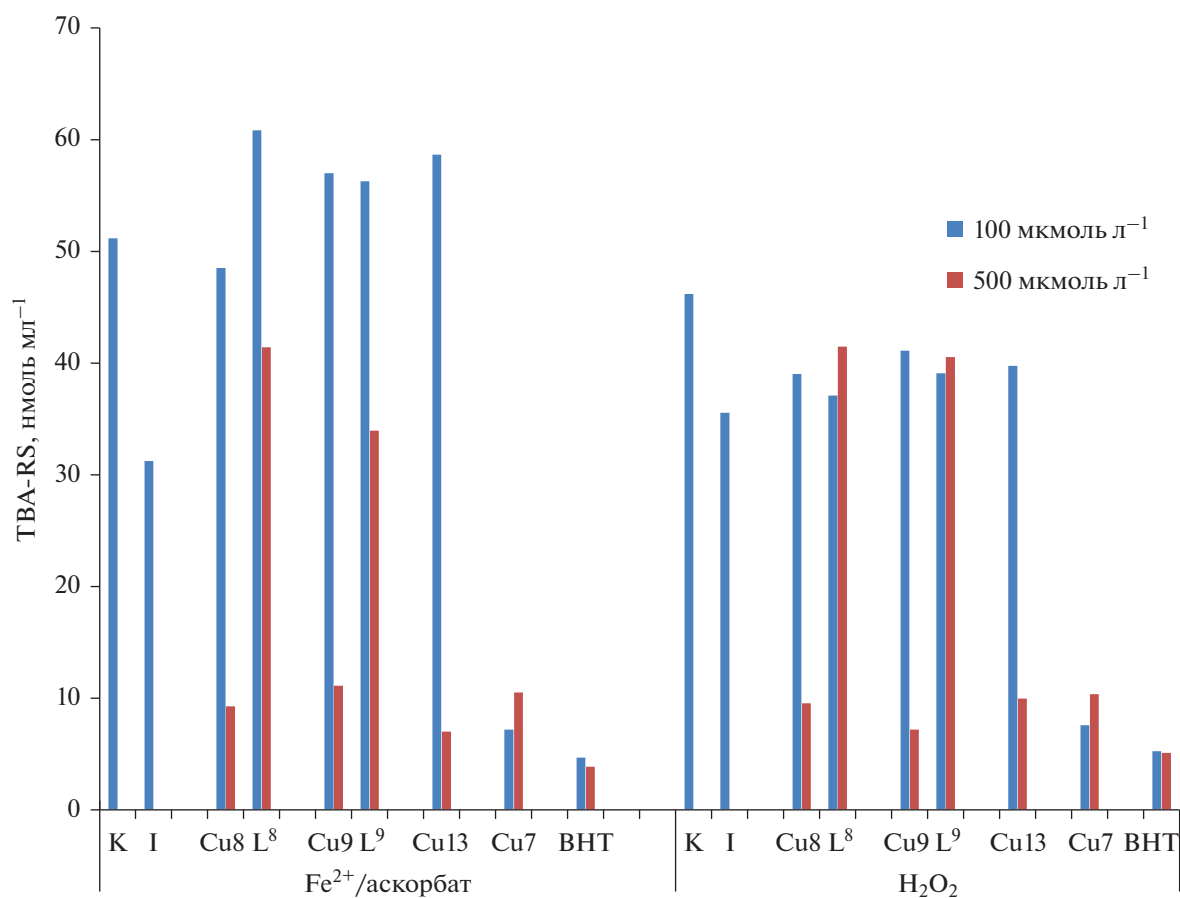


Рис. 6. Сравнительная оценка АОА исследуемых соединений (комплексы меди Cu7,8,9,13, лиганды L⁸, L⁹) в концентрациях 100 и 500 мкмоль л⁻¹. К — контроль без тестируемых соединений. I — интактные образцы (без инициированного окисления). ВНТ — стандартный антиоксидант 2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилфенол.

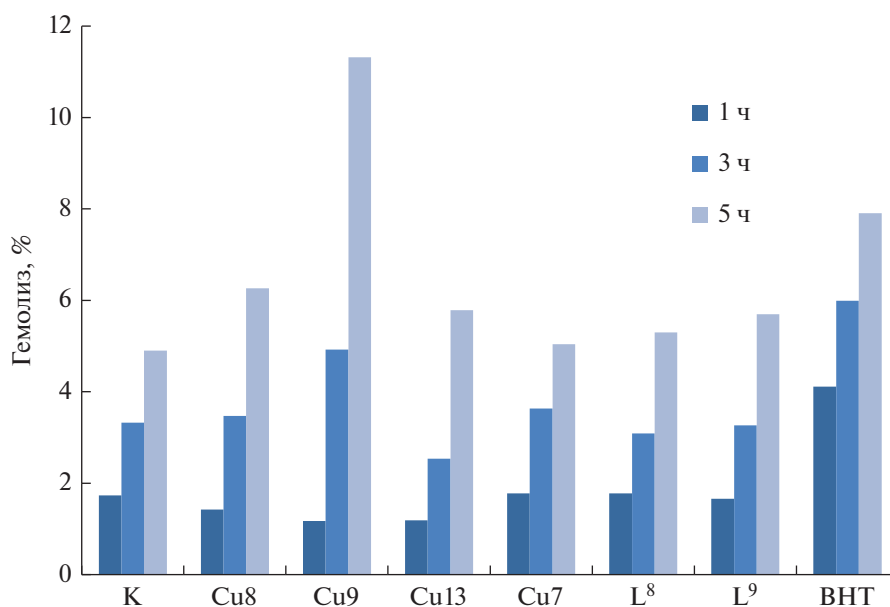


Рис. 7. Сравнительная оценка гемолитической активности исследуемых соединений (комплексы меди Cu7,8,9,13, лиганды L⁸, L⁹) в концентрации 10 мкмоль л⁻¹ через 1, 3 и 5 ч инкубации. К — контроль без тестируемых соединений. ВНТ — стандартный антиоксидант 2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилфенол.

Таблица 5. Сравнительная оценка МПА комплексов меди Cu7,8,9,13 и лигандов L⁸, L⁹ в концентрации 1 мкМ в условиях ААРН- и H₂O₂-индуцированного гемолиза (1–5 ч инкубации)

Соединение	Гемолиз, %		
	1 ч	3 ч	5 ч
ААРН-индуцированный гемолиз			
K*	2.7 ± 0.0	55.9 ± 0.7	81.8 ± 0.4
Cu7	2.5 ± 0.0	45.5 ± 0.6	82.9 ± 0.4
Cu8	2.8 ± 0.0	42.4 ± 0.6	81.3 ± 0.6
Cu9	2.4 ± 0.1	31.6 ± 0.1	75.5 ± 0.7
Cu13	2.8 ± 0.0	47.1 ± 1.4	81.2 ± 0.8
HL ⁸	2.7 ± 0.0	42.7 ± 0.6	79.0 ± 0.7
HL ⁹	2.9 ± 0.2	47.5 ± 1.2	80.7 ± 1.7
ВНТ	3.0 ± 0.1	46.2 ± 0.8	81.0 ± 0.3
H ₂ O ₂ -индуцированный гемолиз			
K	11.5 ± 0.7	30.7 ± 0.7	39.9 ± 0.4
Cu7	10.9 ± 0.6	20.9 ± 0.5	28.0 ± 0.7
Cu8	7.1 ± 0.4	24.8 ± 0.9	34.5 ± 0.8
Cu9	6.9 ± 0.5	25.5 ± 0.3	33.5 ± 0.4
Cu13	11.0 ± 0.5	29.1 ± 0.8	40.5 ± 0.8
HL ⁸	8.0 ± 0.5	29.8 ± 1.5	36.3 ± 1.0
HL ⁹	10.3 ± 0.6	26.7 ± 0.5	31.2 ± 0.3
ВНТ	5.6 ± 0.4	11.9 ± 0.5	22.3 ± 1.1

* K – контроль без тестируемых соединений; ВНТ – стандартный антиоксидант 2,6-ди-*т*-мет-бутил-4-метилфенол.

дальных структур с целью поиска более эффективных препаратов с высоким индексом селективности. За счет раскрытия хлоридных мостиков можно легко вводить дополнительные биогенные лиганды. Результаты исследования палладациклов, содержащих аминокислоту в качестве солиганда, подтвердили тот факт, что основным структурным фактором, определяющим цитотоксическую активность, является наличие терпенового фрагмента координированного лиганда.

Хелатные комплексы цинка с терпеновыми производными этилендиамина имеют существенно более низкую цитотоксическую активность по сравнению с комплексами палладия такого же типа. Тем не менее установлено, что они обладают дестабилизирующим действием на изолированные митохондрии крыс, а это, согласно литературным данным, может иметь важное значение при поиске потенциальных лекарственных средств с антипротозойным или антифунгицидным действием.

Хелатные комплексы меди(II) с терпеновыми производными этилендиамина проявили высокую антибактериальную активность в отношении мультирезистентного штамма золотистого стафилококка *S. aureus* (MRSA), устойчивого в том числе к антибиотикам сравнения – ципрофлоксацину.

Все исследованные комплексы меди(II) показали значительно более высокую противогрибковую активность в отношении штаммов *Candida albicans*, *Sporobolomyces salmonicolor*, *Penicillium notatum* по сравнению с активностью клинического противогрибкового препарата амфотерицина. Важно отметить, что на фоне низкой гемолитической активности комплексы меди проявили себя как эффективные антиоксиданты в тестах (*in vitro*) по способности ингибировать процессы перекисного окисления липидов.

Таким образом, полученные результаты по оценке биологической активности синтезированных нами металлокомплексов с терпеновыми лигандами различного типа позволяют считать данный класс соединений весьма перспективным с точки зрения поиска новых фармпрепаратов и определить “точки роста” для дальнейших исследований.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследования противоопухолевой активности металлокомплексов проводились в Институте физиологически

активных веществ ФИЦ ПХФ и МХ РАН. Антибактериальная и противогрибковая активность комплексов палладия(II) исследована в рамках международного проекта CO-ADD (Австралия), комплексов меди(II) – в Институте биохимии им. А.Н. Баха ФИЦ Биотехнологии РАН. АОА комплексов меди(II) с использованием различных тест-систем исследована на базе Института биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН. Все полученные данные включены в соответствующие публикации. Авторы выражают благодарность всем соавторам.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Medina-Franco J.L., López-López E., Andrade E. et al. // Drug Discov. Today. 2022. V. 27. P. 1420. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2022.02.021>
2. Miranda V.M. // Rev. Inorg. Chem. 2022. V. 42. P. 29. <https://doi.org/10.1515/revic-2020-0030>
3. Mjos K.D., Orvig C. // Chem. Rev. 2014. V. 114. P. 4540. <https://doi.org/10.1021/cr400460s>
4. Binding, Transport and Storage of Metal Ions in Biological Cells / Eds. Maret W., Wedd A. (Cambridge, UK): RSC, 2014. <https://doi.org/10.1039/9781849739979>
5. Garoufis A., Hadjikakou S.K., Hadjiladis N. // Coord. Chem. Rev. 2009. V. 253. P. 1384. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2008.09.011>
6. Medici S., Peana M., Nurchi V.M. et al. // Coord. Chem. Rev. 2015. V. 284. P. 329. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2014.08.002>
7. Alam M.N., Huq F. // Coord. Chem. Rev. 2016. V. 316. P. 36. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2016.02.001>
8. Cirri D., Pratesi A., Marzo T., Messori L. // Expert Opinion Drug Disc. 2021. V. 16. P. 39. <https://doi.org/10.1080/17460441.2020.1819236>
9. Frei A., Elliott A.G., Kan A. et al. // JACS Au. 2022. V. 2. № 10. P. 2277. <https://doi.org/10.1021/jacsau.2c00308>
10. Carneiro T.J., Martins A.S., Marques M.P.M., Gil A.M. // Frontiers Oncology. 2020. V. 10. e590970. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.590970>
11. Omae I. // Coord. Chem. Rev. 2014. V. 280. P. 84. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2014.07.019>
12. Mahdy A.H.S., Salem E.Z., Ahmed M.A.B., Entesar A.H. // Tetrahedron. 2022. V. 121. Art. e132913. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2022.132913>
13. Zielińska-Błajet M., Feder-Kubis J. // Int. J. Mol. Sci. 2020. V. 21. P. 7078. <https://doi.org/10.3390/ijms21197078>
14. Яровая О.И., Салахутдинов Н.Ф. // Успехи химии. 2021. Т. 90. С. 488 (Yarova O.I., Salakhutdinov N.F. // Russ. Chem. Rev. (Engl. Transl.) 2021. V. 90. P. 488). <https://doi.org/10.1070/RCR4969>
15. Ateba S.B., Mvondo M.A., Ngeu S.T. et al. // Curr. Med. Chem. 2018. V. 25. P. 3162. <https://doi.org/10.2174/0929867325666180214110932>
16. Kumar A., Jaitak V. // Eur. J. Med. Chem. 2019. V. 176. P. 268. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.05.027>
17. Mahizan N.A., Yang S.K., Moo C.L. et al. // Molecules. 2019. V. 24. P. 2631. <https://doi.org/10.3390/molecules24142631>
18. Silva E.A.P., Carvalho J.S., Guimarães A.G. et al. // Expert Opin. Ther. Pat. 2019. V. 29. P. 43. <https://doi.org/10.1080/13543776.2019.1558211>
19. Залевская О.А., Гурьева Я.А., Кучин А.В. // Успехи химии. 2019. Т. 88. С. 979 (Zalevskaya O.A., Gur'eva Y.A., Kutchin A.V. // Russ. Chem. Rev. (Engl. Transl.) 2019. V. 88. P. 979). <https://doi.org/10.1070/RCR4880>
20. Гурьева Я.А., Залевская О.А., Фролова Л.Л. и др. // Хим. природ. соед. 2010. № 6. С. 783 (Gur'eva Y.A., Zalevskaya O.A., Frolova L.L. et al. // Chem. Nat. Comp. 2011. V. 46. № 6. P. 920). <https://doi.org/10.1007/S10600-011-9783-X>
21. Кучин А.В., Гурьева Я.А., Фролова Л.Л. и др. // Изв. АН. Сер. хим. 2013. № 3. С. 745 (Kuchin A.V., Gur'eva Ya.A., Frolova L.L. et al. // Russ. Chem. Bull. (Int. Ed.). 2013. V. 62. № 3. P. 745). <https://doi.org/10.1007/s11172-013-0101-6>
22. Гурьева Я.А., Залевская О.А., Алексеев И.Н. и др. // Изв. АН. Сер. хим. 2014. № 7. С. 1543 (Gur'eva Y.A., Zalevskaya O.A., Alekseev I.N. et al. // Russ. Chem. Bull. (Int. Ed.). 2014. V. 63. № 7. P. 1543). <https://doi.org/10.1007/s11172-014-0633-4>
23. Дворникова И.А., Буравлев Е.В., Супонитский К.Ю. и др. // Журн. орган. химии. 2015. Т. 51. С. 498 (Dvornikova I.A., Buravlev E.V., Chukicheva I.Y. et al. // Russ. J. Org. Chem. 2015. V. 51. P. 480). <https://doi.org/10.1134/S1070428015040041>
24. Гурьева Я.А., Залевская О.А., Алексеев И.Н. и др. // Журн. орган. химии. 2018. V. 54. P. 1274 (Gur'eva Y.A., Zalevskaya O.A., Alekseev I.N. et al. // Russ. J. Org. Chem. 2018. V. 54. P. 1285). <https://doi.org/10.1134/S1070428018090026>
25. Gur'eva Y.A., Alekseev I.N., Dvornikova I.A. et al. // Inorg. Chim. Acta. 2018. V. 477. P. 300. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2018.03.015>
26. Гурьева Я.А., Алексеев И.Н., Залевская О.А. и др. // Журн. орган. химии. 2016. Т. 52. С. 796 (Gur'eva Y.A., Alekseev I.N., Zalevskaya O.A. et al. // Russ. J. Org. Chem. 2016. V. 52. P. 781). <https://doi.org/10.1134/S107042801606004X>
27. Gur'eva Y.A., Slepukhin P.A., Kutchin A.V. // Inorg. Chim. Acta. 2019. V. 486. P. 602. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2018.11.016>
28. Zalevskaya O.A., Gur'eva Y.A., Kutchin A.V. et al. // Inorg. Chim. Acta. 2021. V. 527. e120593 <https://doi.org/10.1016/j.ica.2021.120593>
29. Frei A., Zuegg J., Elliott A.G. et al. // Chem. Sci. 2020. V. 11. P. 2627. <https://doi.org/10.1039/C9SC06460E>
30. Zalevskaya O.A., Gur'eva Y.A., Frolova L.L. et al. // Natural Science. 2010. V. 2. № 11. P. 1189. <https://doi.org/10.4236/ns.2010.211147>
31. Гурьева Я.А., Залевская О.А., Алексеев И.Н. и др. // Хим. природ. соед. 2014. № 4. С. 562 (Gureva Y.A., Zalevskaya O.A., Alekseev I.N. et al. // Chem. Nat. Comp. 2014. V. 50. № 4. P. 648). <https://doi.org/10.1007/s10600-014-1044-3>
32. Zalevskaya O., Gur'eva Y., Kutchin A., Hansford K. // Antibiotics. 2020. V. 9. № 5. Art. e277. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9050277>
33. Fanelli M., Mauro F., Vieri F. et al. // Coord. Chem. Rev. 2016. V. 310. P. 41. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2015.11.004>

34. *Vojtek M., Marques M.P.M., Ferreira I.M.P.L.V.O. et al.* // Drug Discov. Today. 2019. V. 24. P. 1044.
<https://doi.org/10.1016/j.drudis.2019.02.012>
35. *Kapdi A.R., Fairlamb I.J.S.* // Chem. Soc. Rev. 2014. V. 43. P. 4751.
<https://doi.org/10.1039/C4CS00063C>
36. *Michelakis E.D., Webster L., Mackey J.R.* // Brit. J. Cancer. 2008. V. 99. P. 989.
<https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6604554>
37. *Štarha P., Trávníček Z.* // Coord. Chem. Rev. 2019. V. 395. P. 130.
<https://doi.org/10.1016/j.ccr.2019.06.001>
38. *Omondi R.O., Ojwach S.O., Jaganyi D.* // Inorg. Chim. Acta. 2020. V. 512. Art. e119883.
<https://doi.org/10.1016/j.ica.2020.119883>
39. *Albert J., García S., Granell J. et al.* // J. Organomet. Chem. 2013. V. 724. P. 289.
<https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2012.11.034>
40. *Albert J., Bosque R., Crespo M. et al.* // Eur. J. Med. Chem. 2014. V. 84. P. 530.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.07.046>
41. *Albert J., D'Andrea L., Granell J. et al.* // J. Inorg. Biochem. 2014. V. 140. P. 80.
<https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2014.07.001>
42. *Albert J., Granell J., Qadir R. et al.* // Organometallics. 2014. V. 33. P. 7284.
<https://doi.org/10.1021/om501060f>
43. *Karami K., Hosseini-Kharat M., Sadeghi-Aliabadi H. et al.* // Polyhedron. 2012. V. 50. P. 187.
<https://doi.org/10.1016/j.poly.2012.11.002>
44. *Karami K., Hosseini-Kharat M., Sadeghi-Aliabadi H. et al.* // Eur. J. Med. Chem. 2014. V. 73. P. 8.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.11.042>
45. *Karami K., Ramezanzpour A., Zakariazadeh M. et al.* // ChemSelect. 2019. V. 4. P. 5126.
<https://doi.org/10.1002/slct.201900707>
46. *Zmejkovski B.B., Savić A., Poljarević J. et al.* // Polyhedron. 2014. V. 80. P. 106.
<https://doi.org/10.1016/j.poly.2014.02.026>
47. *Stojković D.L., Jevtić V.V., Radić G.P. et al.* // J. Inorg. Biochem. 2015. V. 143. P. 111.
<https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2014.12.001>
48. *Franich A.A., Živković M.D., Milovanović J. et al.* // J. Inorg. Biochem. 2020. V. 210. e111158.
<https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2020.111158>
49. *Bošković M., Franich A.A., Rajković S. et al.* // ChemSelect. 2020. V. 5. P. Art. e10549.
<https://doi.org/10.1002/slct.202002350>
50. *Misirlic-Dencic S., Poljarevic J., Isakovic A.M. et al.* // Curr. Med. Chem. 2020. V. 27. P. 380.
<https://doi.org/10.2174/0929867325666181031114306>
51. *Srinivasan S., Guha M., Kashina A., Avadhani N.G.* // Biochim. Biophys. Acta Bioenerg. 2017. V. 1858. P. 602.
<https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2017.01.004>
52. *Li W., Zhang C., Sun X.* // J. Vis. Exp. 2018. V. 135. Art. e56236.
<https://doi.org/10.3791/56236>
53. *Warburg O.* // Science. 1956. V. 124. P. 269.
54. *Wallace D.C.* // Nat. Rev. Cancer. 2012. V. 12. P. 685.
<https://doi.org/10.1038/nrc3365>
55. *Zheng Y., Liu P., Wang N. et al.* // Oxid. Med. Cell Longev. 2019. V. 2019. Art. e8781690.
<https://doi.org/10.1155/2019/8781690>
56. *Korga A., Ostrowska M., Iwan M. et al.* // FEBS Open Bio. 2019. V. 9. P. 959.
<https://doi.org/10.1002/2211-5463.12628>
57. *Zhang J., Zhang Q.* Methods in Molecular Biology. N.Y.: Humana Press, 2019. V. 1928. P. 353.
<https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9027-618>
58. *Hashemi S., Karami K., Dehkordi Z.S. et al.* // J. Biomolec. Struct. Dynam. 2022. V. 40. P. 5000.
<https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1865202>
59. *Abedanzadeh S., Karami K., Rahimi M. et al.* // Dalton Trans. 2020. V. 49. Art. e14891.
<https://doi.org/10.1039/D0DT02304C>
60. *Гурьева Я.А., Залевская О.А., Николаева Н.С. и др.* // Изв. АН. Сер. хим. 2023. № 3. С. 793.
61. *Pellei M., Del Bello F., Porchia M., Santini C.* // Coord. Chem. Rev. 2021. V. 445. Art. e214088.
<https://doi.org/10.1016/j.ccr.2021.214088>
62. *Abendrot M., Chęcińska L., Kusz J. et al.* // Molecules. 2020. V. 25. P. 951.
<https://doi.org/10.3390/molecules25040951>
63. *Кипрова Н.С., Кондратенко Ю.А., Уголков В.Л. и др.* // Изв. АН. Сер. хим. 2020. Т. 69. С. 1789 (Kiprova N.S., Kondratenko Y.A., Ugolkov V.L. et al. // Russ. Chem. Bull. (Int. Ed.). 2020. V. 69. P. 1789).
<https://doi.org/10.1007/s11172-020-2963-8>
64. *Basu Baul T.S., Nongsiej K., Lamin Ka-Ot A. et al.* // Appl. Organomet. Chem. 2019. V. 33. Art. e4905.
<https://doi.org/10.1002/aoc.4905>
65. *Mastrolorenzo A., Scozzafava A., Supuran C.T.* // Eur. J. Pharm. Sci. 2000. V. 11. P. 99.
[https://doi.org/10.1016/S0928-0987\(00\)00093-2](https://doi.org/10.1016/S0928-0987(00)00093-2)
66. *Azevedo-França J.A., Borba-Santos L.P., Almeida Pimentel G. et al.* // J. Inorg. Biochem. 2021. V. 219. Art. e111401.
<https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2021.111401>
67. *Matiadis D., Tsironis D., Stefanou V. et al.* // J. Inorg. Biochem. 2019. V. 194. P. 65.
<https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2019.02.008>
68. *Zaltariov V.-F., Cazacu M., Avadanei M. et al.* // Polyhedron. 2015. V. 100. P. 121.
<https://doi.org/10.1016/j.poly.2015.07.030>
69. *Porchia M., Pellei M., Del Bello F., Santini C.* // Molecules. 2020. V. 9. Art. e5814.
<https://doi.org/10.3390/molecules25245814>
70. *Рукк Н.С., Кузьмина Л.Г., Давыдова Г.А. и др.* // Изв. АН. Сер. хим. 2020. Т. 69. С. 1394 (Rukk N.S., Kuzmina L.G., Davydova G.A. et al. // Russ. Chem. Bull. (Int. Ed.). 2020. V. 69. P. 1394).
<https://doi.org/10.1007/s11172-020-2914-4>
71. *Yu P., Deng J., Cai J. et al.* // Metallomics. 2019. V. 11. P. 1372.
<https://doi.org/10.1039/c9mt00124g>
72. *Garufi A., Giorno E., Gilardini Montani M.S. et al.* // Biomolecules. 2021. V. 11. P. 348.
<https://doi.org/10.3390/biom11030348>
73. *Shahraki S., Majd M.H., Heydari A.* // J. Mol. Struct. 2019. V. 1177. 536.
<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2018.10.005>
74. *Chukwuma C.I., Mashele S.S., Eze K.C. et al.* // Pharmacol. Res. 2020. V. 155. Art. e104744.
<https://doi.org/10.1016/j.phrs.2020.104744>
75. *Motloung D.M., Mashele S.S., Matowane G.R. et al.* // J. Pharm. Pharmacol. 2020. V. 72. P. 1412.
<https://doi.org/10.1111/jphp.13322>

76. Rice D.R., Mendiola M.D.L.B., Murillo-Solano C. et al. // Bioorg. Med. Chem. 2017. V. 25. P. 2754.
<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.03.050>
77. Гурьева Я.А., Залеская О.А., Николаева Н.С. и др. // Изв. АН. Сер. хим. 2022. № 12. С. 2612.
78. Fang D., Maldonado E.N. // Adv. Cancer Res. 2018. V. 138. P. 41.
<https://doi.org/10.1016/bs.acr.2018.02.002>
79. Zhao Y., Liu J., Liu L. // Mol. Med. Rep. 2020. V. 22. P. 3017.
<https://doi.org/10.3892/mmr.2020.11341>
80. Quinlan C.L., Orr A.L., Perevoshchikova I.V. et al. // J. Biol. Chem. 2012. V. 287. Art. e27255.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M112.374629>
81. Sciacovelli M., Guzzo G., Morello V. et al. // Cell Metab. 2013. V. 17. P. 988.
<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.04.019>
82. Guzzo G., Sciacovelli M., Bernardi P., Rasola A. // Oncotarget. 2014. V. 5. Art. e11897.
<https://doi.org/10.18632/oncotarget.2472>
83. Moog S., Lussey-Lepoutre C., Favier J. // Endocr. Relat. Cancer. 2020. V. 27. P. 451.
<https://doi.org/10.1530/ERC-20-0346>
84. Withey S.J., Perrio S., Christodoulou D. et al. // Radiographics. 2019. V. 39. P. 1393.
<https://doi.org/10.1148/rg.2019180151>
85. Ibrahim A., Chopra S. // Arch. Pathol. Lab. Med. 2020. V. 144. P. 655.
<https://doi.org/10.5858/arpa.2018-0370-RS>
86. Gill A.J. // Histopathology. 2018. V. 72. P. 106.
<https://doi.org/10.1111/his.13277>
87. Stocks P.A., Barton V., Antoine T. et al. // Parasitology. 2014. V. 141. P. 50.
<https://doi.org/10.1017/S0031182013001571>
88. Onwudiwe D.C., Ekennia A.C. // Res. Chem. Intermed. 2017. V. 43. P. 1465.
<https://doi.org/10.1007/s11164-016-2709-2>
89. Ganji N., Aveli R., Narendrula V., Sreenu D.S. // J. Mol. Struct. 2018. V. 1173. P. 173.
<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2018.06.100>
90. Oladipo S.D., Omondi B., Mocktar C. // Polyhedron. 2019. V. 170. P. 712.
<https://doi.org/10.1016/j.poly.2019.06.038>
91. El-Medani S.M., Abdelmoneim A.M., Hussein M. et al. // J. Mol. Struct. 2020. V. 1208. Art. e127860.
<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.127860>
92. Ramesh G., Daravath S., Ganji N. et al. // J. Mol. Struct. 2020. V. 1202. 127338.
<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2019.127338>
93. Psomas G. // Coord. Chem. Rev. 2020. V. 412. 213259.
<https://doi.org/10.1016/j.ccr.2020.213259>
94. Boussadia A., Beghidja A., Gali L. et al. // Inorg. Chim. Acta. 2020. V. 508. Art. e119656.
<https://doi.org/10.1016/j.ica.2020.119656>
95. Guerreiro J.F., Gomes M.A.G.B., Pagliari F. et al. // RSC Adv. 2020. V. 10. Art. e12699.
<https://doi.org/10.1039/d0ra00166j>
96. Said M. A., Al-unizi A., Al-Mamary M. et al. // Inorg. Chim. Acta. 2020. V. 505. Art. e119434.
<https://doi.org/10.1016/j.ica.2020.119434>
97. Boulguemha I.-E., Beghidja A., Khattabib L. et al. // Inorg. Chim. Acta. 2020. V. 507. e119519.
<https://doi.org/10.1016/j.ica.2020.119519>
98. Patel A.K., Jadeja R.N., Roy H. et al. // Polyhedron. 2020. V. 186. Art. e114624.
<https://doi.org/10.1007/s11164-016-2709-2>
99. Sakthivel A., Thangagiri B., Raman N. et al. // J. Biomol. Struct. Dyn. 2020. V. 39. P. 6500.
<https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1801508>
100. Mo D., Shi J., Zhao D. et al. // J. Mol. Struct. 2021. V. 1223. Art. e129229.
<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.129229>
101. Simunkova M., Lauro P., Jomova K. et al. // J. Inorg. Biochem. 2019. V. 194. P. 97.
<https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2019.02.010>
102. Singh Y.P., Patel S.K. // J. Mol. Struct. 2021. V. 1228. Art. e129457.
<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.129457>
103. Siqueira J.D., de Pellegrin S.F., dos Santos S.S. // J. Inorg. Biochem. 2020. V. 204. Art. e110950.
<https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2019.110950>
104. Riley D.P. // Chem. Rev. 1999. V. 99. P. 2573.
<https://doi.org/10.1021/cr980432g>
105. Hordyjewska A., Popiołek L., Kocot J. // Biometals. 2014. V. 27. P. 611.
<https://doi.org/10.1007/s10534-014-9736-5>
106. Balsano C., Sideri S. // Metallomics. 2018. V. 10. P. 1712.
<https://doi.org/10.1039/c8mt00219c>
107. Santini C., Pellei M., Gandin V. et al. // Chem. Rev. 2014. V. 114. P. 815.
<https://doi.org/10.1021/cr400135x>
108. Zalevskaya O.A., Gur'eva Y.A. // Russ. J. Coord. Chem. 2021. V. 47. P. 861.
<https://doi.org/10.1134/S1070328421120046>
109. Gur'eva Y.A., Zalevskaya O.A., Shevchenko O.G. et al. // RSC Advances. 2022. V. 12. P. 8841.
<https://doi.org/10.1039/d2ra00223j>
110. Davis W.W., Stout T.R. // Appl. Microbiology. 1971. V. 22. P. 659.
<https://doi.org/10.1128/am.22.4.659-665.1971>
111. Davis W.W., Stout T.R. // Appl. Microbiology. 1971. V. 22. P. 666.
<https://doi.org/10.1128/am.22.4.666-670.1971>
112. Santiago P.H.O., Tiago F.S., Castro M.S. et al. // J. Inorg. Biochem. 2020. V. 204. Art. e110949.
<https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2019.110949>
113. Gordon A.T., Abosede O.O., Ntsimango S., et al. // Inorg. Chim. Acta. 2020. V. 510. e119744.
<https://doi.org/10.1016/j.ica.2020.119744>
114. Takebayashi J., Chen A., Tai A.A. // Advanced Protocols in Oxidative Stress II. Totowa (NJ, USA): Humana Press, 2010. P. 287.
https://doi.org/10.1007/978-1-60761-411-1_20
115. Niki E. // Free Radical Biology Medicine. 2010. V. 49. P. 503.
<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.04.016>
116. Zou C.G., Agar N.S., Jones G.L. // Life Sciences. 2001. V. 69. P. 75.
[https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(01\)01112-2](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(01)01112-2)
117. Shiva Shankar Reddy C.S., Subramanyam M.V.V., Vani R., Asha Devi S. // Toxicol. Vitro. 2007. V. 21. P. 1355.
<https://doi.org/10.1016/j.tiv.2007.06.010>
118. Ajila C.M., Rao P.U.J.S. // Food Chem. Tox. 2008. V. 46. P. 303.
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.08.024>
119. Rocha S., Costa E., Coimbra S. et al. // Blood Cells Molecules Diseases. 2009. V. 43. P. 68.
<https://doi.org/10.1021/cr980432g>
120. Ko F.N., Hsiao G., Kuo Y.H. // Free Radical Biol. Med. 1997. V. 22. P. 215.
[https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(96\)00295-X](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(96)00295-X)