

## Витамин В<sub>12</sub> как вектор для транспорта лекарственных веществ в опухоль

Д. В. Бейгуленко,<sup>a</sup> Н. Ю. Шепета,<sup>b</sup> К. А. Кочетков,<sup>b@1</sup> С. Э. Гельперина<sup>a@2</sup>

<sup>a</sup>Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, 125047 Москва, Российская Федерация

<sup>b</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова Российской академии наук (ИНЭОС РАН), 119334 Москва, Российская Федерация

<sup>@1</sup>E-mail: const@ineos.ac.ru;

<sup>@2</sup>E-mail: svetlana.gelperina@gmail.com

*Исследования разных аспектов действия витамина В<sub>12</sub> приносят интересные, часто неожиданные результаты, и открывают новые перспективы их практического применения. В обзоре упор сделан на последние достижения в применении природных кобаламинов и их синтетических аналогов в медицинской практике в качестве векторов для адресной доставки лекарственных веществ в опухоли. Особое внимание уделено обоснованию применения корриноидов в данной области с точки зрения их биораспределения и метаболизма в организме человека. Последовательно рассмотрены наиболее распространённые в природе кобаламины и ряд важнейших синтетических производных витамина В<sub>12</sub>, абсорбция и распределение кобаламинов, основные функции витамина В<sub>12</sub> в клетке, общие подходы к биоортогональной (т.е. сохраняющие биологические функции молекулы) модификации, а также рассмотрению сайтов в структуре данного соединения, являющихся наиболее подходящими для конъюгации. Отдельно рассмотрено применение корриноидов для диагностики опухолей и доставки лекарственных веществ. Проанализированы примеры синтеза конъюгатов кобаламинов и различных низкомолекулярных лекарственных веществ, а также белков и олигонуклеотидов и направленного транспорта полученных соединений в опухоли. В заключение приведены примеры использования кобаламинов в качестве перспективных векторов для разнообразных коллоидных систем доставки, включая микро и наночастицы. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности этого направления. Особенно важным авторам представляется разработка векторизованных кобаламинами средств доставки ЛВ для химиотерапии опухолей, для которых наблюдается повышенная экспрессия транспортных белков витамина В<sub>12</sub>.*

**Ключевые слова:** Витамин В<sub>12</sub>, гаптокоррин, кобаламин, наночастицы, системы доставки.

## Vitamin B<sub>12</sub> as a Vector for the Transport of Drugs to the Tumor

Dmitry V. Beigulenko,<sup>a</sup> Nadezhda Yu. Shepeta,<sup>b</sup> Konstantin A. Kochetkov,<sup>b@1</sup> and Svetlana E. Gelperina<sup>a@2</sup>

<sup>a</sup>Mendeleev University of Chemical Technology of Russia, 125047 Moscow, Russia

<sup>b</sup>Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds, Russian Academy of Sciences, 119334 Moscow, Russia

<sup>@1</sup>Corresponding author E-mail: const@ineos.ac.ru;

<sup>@2</sup>Corresponding author E-mail: svetlana.gelperina@gmail.com

*Studies of various aspects of the action of vitamin B<sub>12</sub> bring interesting, often unexpected results and open up new prospects for their practical application. The review focuses on recent advances in the use of natural cobalamins and their synthetic analogues in medical practice as vectors for targeted drug delivery to tumors. Particular attention is paid to the rationale for the use of corrinoids in this area in terms of their biodistribution and metabolism in the human body. The most common in nature cobalamins and a number of the most important synthetic derivatives of vitamin B<sub>12</sub>, the absorption and distribution of cobalamins, the main functions of vitamin B<sub>12</sub> in the cell, general approaches to bioorthogonal (i.e., preserving the biological functions of the molecule) modification, as well as consid-*

eration of sites in the structure of this compound, which are most suitable for conjugation, are successively discussed. The use of corrinoids for the diagnosis of tumors and drug delivery is considered separately. Examples of the synthesis of conjugates of cobalamins and various low molecular weight drugs, as well as proteins and oligonucleotides and targeted transport of the resulting compounds in tumors are analyzed. In conclusion, examples of the use of cobalamins as promising vectors for various colloidal delivery systems, including micro and nanoparticles, are given. The obtained results testify to the prospects of this direction. Of particular importance to the authors is the development of cobalamin-vectored drug delivery vehicles for chemotherapy of tumors, for which an increased expression of vitamin B<sub>12</sub> transport proteins is observed.

**Keywords:** Vitamin B<sub>12</sub>, haptocorrin, cobalamin, nanoparticles, delivery systems.

## Принятые сокращения:

Ado – 5'-дезоксаденозил; АТФ – аденозинтрифосфат; Cbi – кобинамид; Cbl – кобаламин; Cbu – кобириновая кислота; CoA – кофермент А; CsA – циклоспорин А; Cub – кубилин; HC – гаптокоррин; IF – внутренний фактор Касла; MAT – метионинаденозилтрансфераза; MCM – метилмалонил-СоА-мутаза; Me – метил; N5-Me-THF – N5-метилтетрагидрофолат; N10-CHO-THF – N10-формилтетрагидрофолат; PEG – полиэтиленоксид; TC – транскобаламин; TCbIR (CD320) – рецептор транскобаламина; THF – тетрагидрофолиевая кислота; ЖКТ – желудочно-кишечный тракт; КТ – компьютерная томография; ЛВ – лекарственное вещество; ПЭТ – позитронно-эмиссионная томография.

## Введение

Витамины – группа низкомолекулярных органических физиологически активных соединений, необходимых для нормальной жизнедеятельности живых организмов. Соединения данного класса различаются по элементному составу, строению и выполняемым в организме функциям. Наиболее сложную структуру среди них имеет витамин B<sub>12</sub>, производные которого именуют корриноидами.

Витамин B<sub>12</sub> принимает участие во многих биохимических процессах, таких как биосинтез метионина и β-окисление жирных кислот, и в организме подвергается сложному, многоступенчатому метаболизму.

Различные производные витамина B<sub>12</sub> в организме играют роль кофакторов жизненно важных ферментов (например, метионинсинтазы и метилмалонил-СоА-мутазы), без которых невозможно нормальное функционирование живых систем. Особая потребность в корриноидах присутствует у опухолевых клеток. Являясь своего рода лимитирующим фактором, необходимым для активной пролиферации, кобаламины, связанные со специальными транспортными белками, в большей степени эндцитируются раковыми клетками ввиду их быстрого темпа деления и, следовательно, большей скорости метаболических процессов. Эта особенность

позволяет рассматривать кобаламины в качестве потенциальных векторов для повышения селективности доставки лекарственных веществ (ЛВ) в клетки злокачественных опухолей, причём витамин B<sub>12</sub> может быть компонентом как водорастворимых систем доставки (конъюгатов с ЛВ), так и систем доставки на основе микро- и наночастиц.

Настоящий обзор посвящён рассмотрению различных аспектов использования витамина B<sub>12</sub> и других его производных в качестве векторов для таргетной доставки лекарственных веществ в опухоли. Особое внимание уделено обоснованию применения корриноидов в данной области с точки зрения их биораспределения и метаболизма в организме человека.

## Природные кобаламины и основные синтетические производные витамина B<sub>12</sub>

Витамин B<sub>12</sub> был открыт Джорджем Майнотом и Вильямом Мёрфи в 1926 г. при изучении пернициозной анемии, за что в 1934 г. они были удостоены Нобелевской премии по физиологии и медицине.<sup>[1]</sup> Строение витамина B<sub>12</sub> было установлено с помощью рентгеноструктурного анализа лишь в 1955 г. биохимиком Дороти Ходжкин. В 1964 г. она получила за эту работу Нобелевскую премию по химии. Полный химический синтез витамина B<sub>12</sub>, состоящий из десятков стадий, был впервые осуществлён в 1973 г. двумя выдающимися химиками – Робертом Вудвордом и Альбертом Эшенмозером.<sup>[2]</sup> Данная работа подтвердила структуру B<sub>12</sub> и доказала возможность полного синтеза природных соединений весьма сложной структуры. Витамин B<sub>12</sub> обладает достаточно высокой растворимостью в воде и представляет собой семейство комплексных соединений кобальта с корриновым лигандом (корриноидов), состоящим из четырёх частично восстановленных фрагментов пиррола. Каждое кольцо в макроцикле имеет обозначение «А», «В», «С» или «D» (Рисунок 1). Центральный ион металла координируется четырьмя атомами азота, именно он и придаёт насыщенно красный цвет большинству соединений данного класса.<sup>[1]</sup> Кроме того, корриновый лиганд содержит несколько амидных групп, имеющих буквенное наименование (a-g).

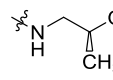
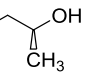
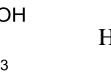
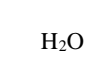
Лиганд, присоединённый к кобальту «сверху», называется β-аксиальным, а «снизу» – α-аксиальным. Последний непосредственно у природного витамина

B<sub>12</sub> представлен бензимидазольным нуклеотидом, состоящим из остатка фосфорной кислоты, рибозы и 5,6-диметилбензимидазола. Такие соединения называются кобаламинами. Помимо этого, существуют и другие различные синтетические производные, у которых нуклеотидный фрагмент отсутствует.

Наиболее распространённые в природе кобаламины представлены в Таблице 1. В биологических системах встречаются метил-, 5'-дезоксаденозил, гидроксо- и аквакобаламин; также существуют и другие биологические формы витамина B<sub>12</sub>, например, глутатионилкобаламин, сульфитокобаламин и др.<sup>[3]</sup> Цианокобаламин – это наиболее стабильная форма витамина B<sub>12</sub>, именно поэтому он чаще применяется в медицинской практике. Стоит отметить интересный факт, что метил- и аденозилкобаламин являются единственными природными металлоорганическими соединениями, то есть соединениями со связью углерод-металл. При этом лишь эти два представителя соединений класса кобаламинов непосредственно проявляют коферментную активность.

Существует также большое число разнообразных синтетических производных витамина B<sub>12</sub> (Таблица 2). Так, отрыв бензимидазольного нуклеотида, сопровождаемый гидролизом фосфатной группы, приводит к образованию кобинамидов. Классическим считается осуществление данного процесса по методу Бернхауэра,<sup>[1]</sup> но известны также и другие способы.<sup>[4,5]</sup> Расщепление 2-гидроксипропиламидной группы в *f*-положении кобинамида даёт новое производное витамина B<sub>12</sub> – кобиновую кислоту. Полный же гидролиз всех амидных групп кобаламина позволяет получать кобириновую кислоту. В то же время, гидролиз в мягких условиях фосфатной группы и всех амидных функций, кроме находящейся в *f*-положении, приводит к получению кобиновой кислоты. Помимо производных по карбоксильным группам, существуют также модификации витамина B<sub>12</sub> по аксиальным положениям атома кобальта.

Таблица 2. Основные синтетические производные витамина B<sub>12</sub>.

Название	Обозначение	R	R <sub>1</sub>	X <sup>a</sup>	Y <sup>b</sup>
Дицианокобинамид	(CN) <sub>2</sub> Cbi	NH <sub>2</sub>		CN	CN
Дигидроксикобинамид	(OH) <sub>2</sub> Cbi	NH <sub>2</sub>		OH	OH
Аквацианокобинамид <sup>2</sup>	(H <sub>2</sub> O)CNCbi <sup>+</sup>	NH <sub>2</sub>		H <sub>2</sub> O	CN
Дицианокобириновая кислота	(CN) <sub>2</sub> Cby	OH	OH	CN	CN
Гептаметиловый эфир диаквакобириновой кислоты	(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> Cby <sup>2+</sup> (OMe) <sub>7</sub>	OMe	OMe	H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O
Дицианокобировая кислота	(CN) <sub>2</sub> Cby(NH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> ( <i>f</i> -OH)	NH <sub>2</sub>	OH	CN	CN
Диаквакобириновая кислота	(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> Cbi <sup>2+</sup> (OH) <sub>6</sub>	OH		H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O

<sup>a</sup>при наличии в качестве аксиального лиганда молекулы воды производное витамина B<sub>12</sub> содержит анион, представленный остатком сильной кислоты (например, хлорид, перхлорат и др.).

<sup>b</sup>при наличии двух разных лигандов в аксиальных положениях иона кобальта первым перечисляется заместитель, находящийся в  $\beta$ -положении (в сокращённой записи структуры соединения указывается в скобках), затем – в  $\alpha$ -положении.

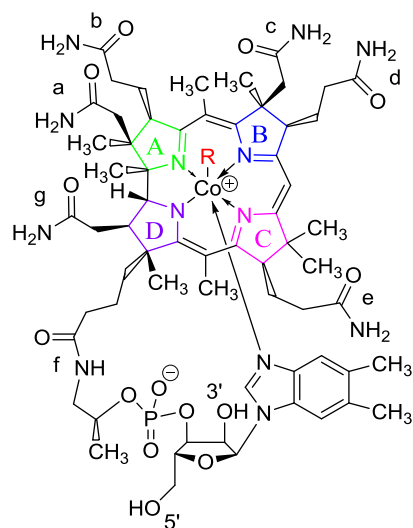
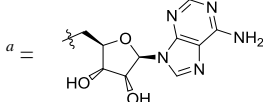
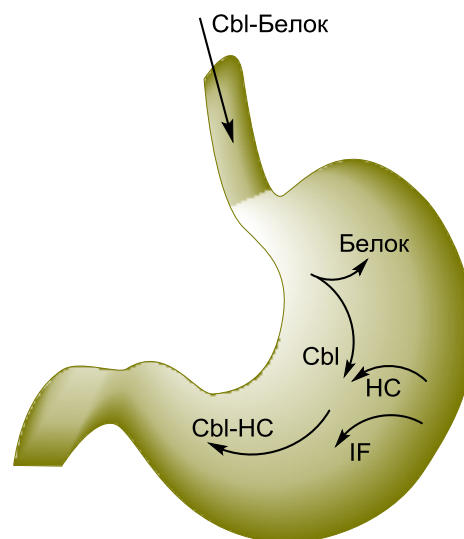
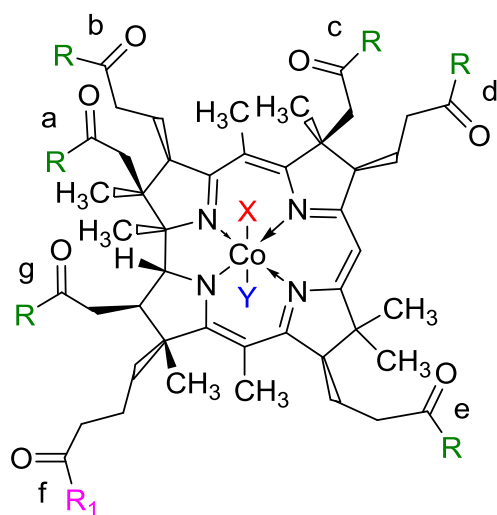


Рисунок 1. Общая химическая структура кобаламинов (см. R в Таблице 1).

Таблица 1. Природные кобаламины.

$\beta$ -аксиальный лиганд R	Название	Обозначение
CN	Цианокобаламин	CN-Cbl
OH	Гидроксокобаламин	OH-Cbl
CH <sub>3</sub>	Метилкобаламин	Me-Cbl
5'-дезоксаденозил <sup>a</sup>	Аденозилкобаламин	Ado-Cbl
H <sub>2</sub> O	Аквакобаламин	H <sub>2</sub> O-Cbl

<sup>a</sup> = 



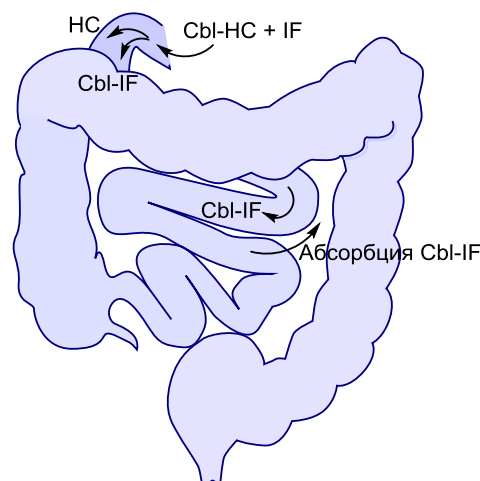
Производные витамина  $V_{12}$  имеют высокую температуру плавления (порядка  $300\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), которая обусловлена тем, что данное соединение, по сути, является комплексной солью кобальта. Большинство корриноидов превосходно растворимы в воде и диметилсульфоксиде и плохо – в неполярных растворителях. Напротив, производные витамина  $V_{12}$ , содержащие гидрофобные заместители, например, гептаметилловый эфир кобириновой кислоты, не растворяются в воде, но зато хорошо растворимы в неполярных растворителях. Ранее в работах сотрудников ИНЭОС РАН было показано, что некоторые производные  $V_{12}$  могут катализировать образование активных форм кислорода в физиологических условиях.<sup>[6]</sup> В дальнейшем эта способность была использована для исследования возможности применения в каталитической терапии онкологических заболеваний.<sup>[7,8]</sup>

### Абсорбция и распределение кобаламинов

Кобаламины являются одними из немногих представителей витаминов, которые могут быть синтезированы лишь микроорганизмами, в том числе входящими в состав микрофлоры толстого кишечника человека. В растительной пище содержание корриноидов крайне мало, поэтому вегетарианцы часто страдают гиповитаминозом  $V_{12}$ .<sup>[9]</sup> Тем не менее, относительно высокое содержание кобаламинов обнаруживается в некоторых растениях и грибах (например, в облепихе и трюфелях), что предположительно обусловлено их симбиотическими связями с бактериями.<sup>[10]</sup>

Поступая в организм в виде комплекса с пищевыми белками (Cbl-Белок), витамин  $V_{12}$  проходит ряд последовательных преобразований (Рисунок 2). В желудке данное соединение высвобождается под действием кислой среды и фермента пепсина и сразу образует комплекс с гапторрином (HC, ранее назывался «транскобаламин I») – белком, выделяемым клетками желудочного эпителия и слюнными железами и предохраняющим поступающие корриноиды от разрушения под действием желудочного сока.<sup>[9,11,12]</sup>

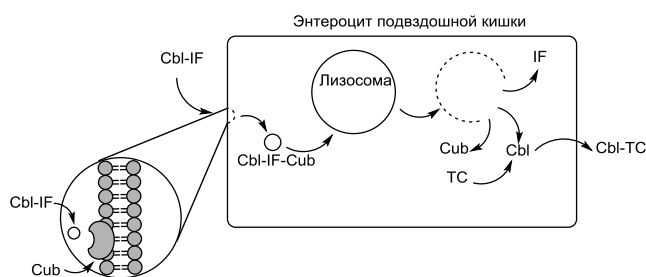
**Рисунок 2.** Связывание витамина  $V_{12}$  в желудке (пояснения см. в тексте).



**Рисунок 3.** Преобразование комплекса с витамином  $V_{12}$  в тонком кишечнике (пояснения см. в тексте).

В двенадцатиперстной кишке в слабощелочной среде, создаваемой гидрокарбонат-ионами, входящими в состав секрета поджелудочной железы, комплекс гапторрина и кобаламина (Cbl-HC) медленно и необратимо диссоциирует под действием панкреатических протеаз (Рисунок 3). Выделяющийся витамин  $V_{12}$  сразу связывается с внутренним фактором Касла (IF), представляющим собой гликопротеид, выделяемый париетальными клетками желудка. Именно в таком виде кобаламины способны к абсорбции.<sup>[11]</sup>

Комплекс Cbl-IF всасывается только в подвздошной кишке, где связывается со специфическими рецепторами кубилинами (Cub), расположенными на эпителиальных клетках, относящихся к группе энтероцитов, и поступает в эти клетки путём эндоцитоза (Рисунок 4). В клетках Cbl-IF деградирует под действием лизосомальных ферментов, высвобождая кобаламин в цитоплазму.<sup>[13]</sup>



**Рисунок 4.** Абсорбция витамина В<sub>12</sub> энтероцитом подвздошной кишки (пояснения см. в тексте).

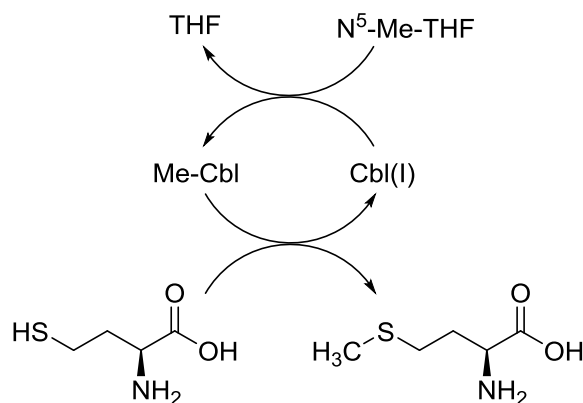
Стоит отметить, что действие данных ферментов также приводит к отщеплению  $\beta$ -аксиального лиганда. Например, цианокобаламин теряет цианид-ион под влиянием специального шаперона ММАСНС, метил- и аденозилкобаламин утрачивают свои «верхние» лиганды при воздействии CblC-белка.<sup>[14,15]</sup> Отщепленные лиганды подвергаются немедленному окислению в лизосомах, особенно это касается токсичных цианид-ионов. В дальнейшем витамин В<sub>12</sub> образует комплекс с транскобаламином (ТС, ранее назывался «транскобаламин II») или гаптокоррином и в таком виде поступает в плазму крови. Связанные с гаптокоррином корриноиды поступают на хранение в гепатоциты, причём запаса кобаламинов в печени человеку может хватить на пять лет.<sup>[12]</sup> Витамин В<sub>12</sub> может также всасываться пассивно, но этот путь не предпочтителен – таким способом абсорбируется лишь 1–2 % поступивших в желудочно-кишечный тракт корриноидов.<sup>[9]</sup>

### Функции витамина В<sub>12</sub> в клетке

В плазме кобаламин присутствует только в виде комплексов с белками-транспортёрами – гаптокоррином (70–80 %) и транскобаламином (20–30 %); причём если комплекс кобаламина с гаптокоррином попадает только в клетки печени – гепатоциты, то транскобаламин доставляет витамин В<sub>12</sub> и в другие клетки, экспрессирующие специфический рецептор транскобаламина TCb1R/CD320. Таким образом, комплексы кобаламина с транскобаламином попадают в клетку путём рецептор-опосредованного эндоцитоза.<sup>[16]</sup> После эндоцитоза комплекс с транскобаламином разрушается в лизосоме, а рецептор вновь возвращается на клеточную мембрану. При этом витамин В<sub>12</sub> высвобождается в цитоплазму в виде гидроксокобаламина.<sup>[11]</sup>

В клетке у витамина В<sub>12</sub> есть два пути: он либо остаётся в цитозоле и превращается в метилкобаламин, либо переходит в митохондрию, где трансформируется в аденозилкобаламин.<sup>[2,11]</sup> Однако перед таким распределением гидроксокобаламин с Со(III), находящийся при физиологическом значении рН в равновесии с аквакобаламином, восстанавливается до Cbl(II), теряя  $\beta$ -аксиальный лиганд в виде молекулы воды под действием CblC-белка.

Если кобаламин(II) остаётся в цитозоле, то он восстанавливается до кобаламина(I), метилируется

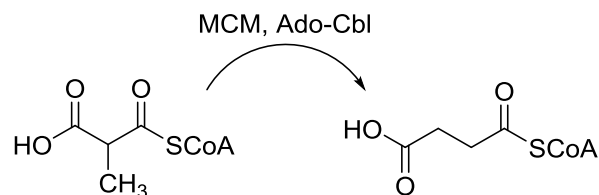


**Рисунок 5.** Биосинтез метионина из гомоцистеина при участии метилкобаламина (пояснения см. в тексте).

$N^5$ -метилтетрагидрофолатом ( $N^5$ -Me-THF) по иону кобальта (I), который возвращается в трёхвалентное состояние (Рисунок 5).

Образующийся метилкобаламин участвует в жизненно важном процессе – биосинтезе метионина из гомоцистеина, выступая в роли кофактора метионинсинтетазы, относящейся к классу метилтрансфераз (метиониновый и фолатный циклы).<sup>[17]</sup> После переноса метильной группы на гомоцистеин ион кобальта становится одновалентным; образующийся при этом коб(I)аламин затем принимает её уже с  $N^5$ -метилтетрагидрофолата – таким образом происходит регенерация кофактора метионинсинтетазы.

Если же кобаламин(II) переходит в митохондрию, то он подвергается дальнейшему восстановлению кобаламин(II) редуктазой. В одновалентном состоянии атом кобальта обладает сильными нуклеофильными свойствами, что облегчает процесс аденозилирования кобаламин(I)аденозилтрансферазой. Образующийся аденозилкобаламин выступает в роли кофактора фермента метилмалонил-СоА-мутазы (МСМ) (Рисунок 6), которая способствует изомеризации метилмалонилкофермента А, образующегося в качестве конечного продукта при  $\beta$ -окислении жирных кислот, разветвлённых или с нечётным числом атомов углерода, в сукцинилкофермент А, участвующий в цикле трикарбоновых кислот; также аденозилкобаламин является кофактором других аденозилкобаламин-зависимых энзимов, катализирующих свободно-радикальные перегруппировки.<sup>[2,11,18]</sup>



**Рисунок 6.** Изомеризация метилмалонилкофермента А в сукцинилкофермент А в присутствии метилмалонилмутазы (МСМ) и аденозилкобаламина.

## Общие подходы к биоортогональной модификации кобаламинов

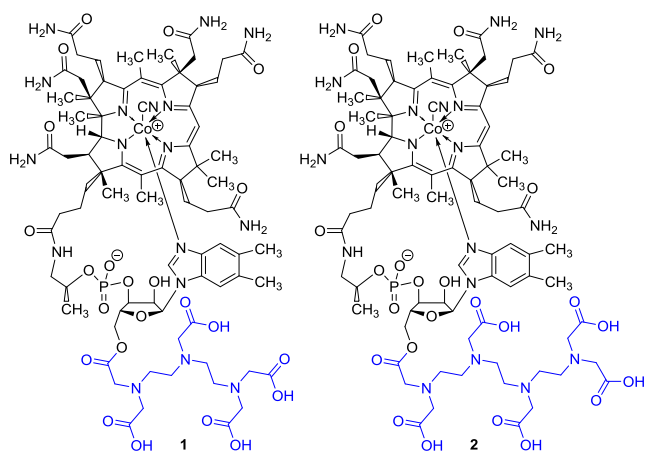
Несмотря на сложную структуру и обилие функциональных групп у витамина В<sub>12</sub> имеется лишь небольшое число положений, по которым возможна его модификация с сохранением способности к специфическому взаимодействию с транскобаламином, а, следовательно, и к поступлению в клетку путём рецептор-опосредованного эндоцитоза. Такие подходы к модификации, сохраняющие биологические функции молекулы (то есть, биоортогональные), позволяют использовать способность кобаламинов проникать как в нормальные клетки (например, астроциты), так и в клетки злокачественных опухолей.<sup>[19,20]</sup> Причём в последнем случае гиперэкспрессия рецепторов к комплексу витамина В<sub>12</sub> с транскобаламином на мембранах опухолевых клеток (например, клеток гепатоцеллюлярной карциномы<sup>[21]</sup>) обеспечивает определённую селективность противоопухолевого действия производных В<sub>12</sub> за счёт их более эффективного, по сравнению со здоровыми тканями, поступления в опухоль.

Для того, чтобы «воспользоваться» этой особенностью биораспределения витамина В<sub>12</sub>, необходимо знать, какие сайты в структуре данного соединения являются наиболее подходящими для биоортогональной конъюгации. Так, на примере конъюгатов витамина В<sub>12</sub> с биотином было установлено, что к наиболее подходящим положениям относятся модификации по *b*- и *e*-пропионамидным фрагментам, а также по 5'-ОН группе рибозы и аксиальным положениям иона кобальта.<sup>[22]</sup> При введении же заместителя в состав *d*-пропионамидной и *c*-ацетамидной групп наблюдалось снижение сродства полученных конъюгатов к транскобаламину. В дальнейшем подобные выводы были подтверждены авторами работы<sup>[23]</sup> на основании данных рентгеноструктурного анализа. В ходе исследований было установлено, что 5'-ОН группа углеводного остатка практически не участвует во взаимодействии с белком-переносчиком и конъюгаты, полученные этерификацией по данному фрагменту, эффективно проникают в опухолевые клетки посредством транспортной системы кобаламинов. В качестве таких соединений были использованы цитотоксические комплексы гадолиния **1** и **2**, полученные взаимодействием аддуктов цианокобаламина с диэтилен-триаминпентауксусной и триэтилентетрамингексауксусной кислотами (Рисунок 7), соответственно, и GdCl<sub>3</sub> *in situ*. Сразу обратим внимание на то, что конъюгат **1** ввиду своей координационной ненасыщенности проявил несколько больший цитотоксический эффект по сравнению с **2** на клетках линии K562 острого миелоидного лейкоза за счёт более лёгкой диссоциации комплекса и высвобождения ионов гадолиния непосредственно в цитозоле.

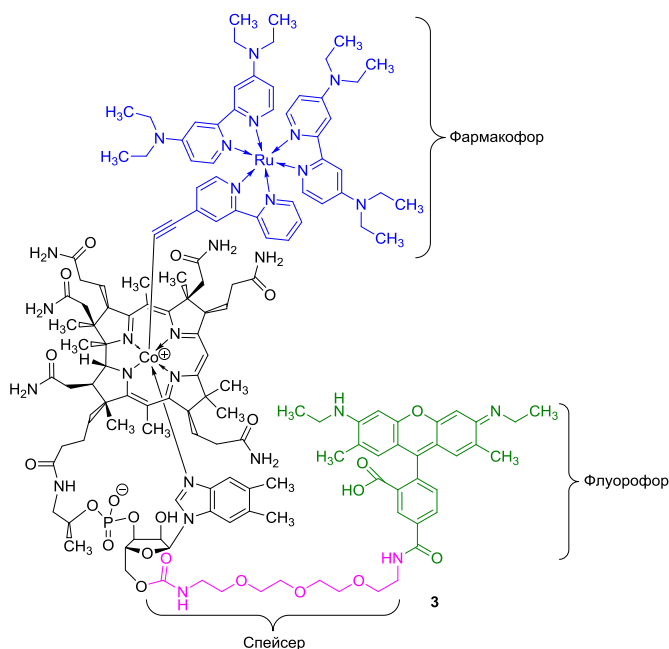
Как было отмечено выше, введение новых заместителей в аксиальное положение иона кобальта также позволяет полученным соединениям взаимодействовать со специфическим белком-переносчиком в плазме крови. Для восстановленных производных витамина В<sub>12</sub>, содержащих Со(I), было разработано множество спосо-

бов подобных модификаций с помощью различных электрофилов, таких как эпоксиды, алкилгалогениды, хлорангидриды карбоновых кислот и акцепторы реакции Михаэля.<sup>[1]</sup> Для корриноидов, содержащих Со(II), оказалось возможным вводить в аксиальное положение по центральному иону арильные заместители по радикальной реакции с солями диазония.<sup>[24]</sup> Однако недостатками вышеперечисленных методов модификации атома кобальта являются условия реализации таких синтетических схем: они, как правило, осуществляются в инертной и/или безводной среде и приводят иногда к образованию сложной смеси продуктов. К тому же получаемые подобными способами производные витамина В<sub>12</sub> зачастую оказываются чувствительными к воздействию света и повышенных температур.<sup>[25]</sup> Атом Со(III) в структурах соответствующих корриноидов может быть модифицирован посредством замещения аксиального лиганда на терминальный алкин. Для этого был разработан эффективный, не требующий предварительного восстановления центрального иона металла метод сочетания в присутствии основания и соли Cu(I), приводящий к образованию связи Со-С<sub>sp</sub>.<sup>[26]</sup> Удобство приведённого способа модификации атома кобальта по сравнению с описанными выше заключается также в мягких условиях проведения реакции (комнатная температура, нет необходимости в инертной атмосфере и безводных растворителях) и стабильности получаемых продуктов. В дальнейшем на основе данного метода был разработан подход к синтезу биоортогональных производных витамина В<sub>12</sub> алкинированием центрального иона спейсером, содержащим на концах две терминальные -C≡CH группы, вторая из которых оставалась доступной для медь-катализируемого азид-алкинового сочетания.<sup>[27]</sup> Таким образом, удалось получить конъюгат витамина В<sub>12</sub> с биотином, способный взаимодействовать с транскобаламином.

Аналогичный подход был использован Дж. Россом и сотр. при получении конъюгатов цианокобаламина с бипиридилиевыми комплексами переходных металлов, таких как платина, рений и рутений.<sup>[28]</sup> Поскольку последовательное присоединение спейсера с двумя терминальными алкиновыми фрагментами к центральному иону кобальта, а затем к цитотоксичному комплексу приводило к существенному понижению выхода целевого продукта, был предложен более рациональный подход: для конъюгации с цианокобаламином использовали бипиридилиевое производное, которое уже содержало фрагмент -C≡CH. Отметим, что при сочетании ионы Cu(I), используемые в качестве катализатора, не приводили к какой-либо деструкции комплексов переходных металлов. Для визуализации биораспределения с помощью флуоресцентной микроскопии модифицированный по 5'-ОН комплексом рутения корриноид конъюгировали с родамином 6G (Рисунок 8). Несмотря на наличие объёмных заместителей в соответствующих положениях, комплекс **3** не только эффективно связывался с транскобаламином, но и накапливался в клетках аденокарциномы молочной железы линии MCF-7, которые в больших количествах продуцируют этот транспортный белок.



**Рисунок 7.** Лиганды цитотоксических комплексов гадолиния, полученные взаимодействием цианокобаламина с диэтилен триаминпентауксусной (1) и триэтилен тетрамингексауксусной (2) кислотами.



**Рисунок 8.** Комплекс витамина B<sub>12</sub> с бипиридил-производным рутения, меченный родамином 6G.

### Применение корриноидов для диагностики опухолей и доставки лекарственных веществ

Как отмечалось выше, среди здоровых тканей значительная экспрессия HC наблюдается только в печени. В то же время экспрессия белков-транспортёров B<sub>12</sub> обнаруживается во многих злокачественных опухолях, что позволяет быстро растущим клеткам удовлетворять возросшую потребность в кобаламинах.<sup>[29–32]</sup> Так, иммуногистохимическое исследование выявило экспрессию транскобаламина и рецептора к нему (TCbIR) в опухолях, развившихся в результате имплантации иммунодефицитным мышам человеческих опухолевых клеток.<sup>[33]</sup> Наиболее высокая экспрессия TCbIR была

обнаружена в опухолях В-клеточной лимфомы (Granta-4), лимфомы Беркитта (Ramos), немелкоклеточном раке лёгких (NCI:H460) и карциномы простаты (DU-145). Результаты сходного исследования показали также гиперэкспрессию гаптокоррина в различных опухолях; наиболее высокая экспрессия гаптокоррина была найдена в опухолях молочной железы, лёгких (аденокарцинома и плоскоклеточный рак), серозных папиллярных карциномах яичников и матки, мультиформной глиобластомы, меланомы и пр.<sup>[29]</sup>

Высокая экспрессия транспортных белков кобаламина в опухолях наряду с весьма ограниченным распространением в здоровых тканях послужила стимулом для исследования возможности их применения в онкологии в качестве диагностических агентов или векторов для доставки лекарственных веществ.

Принципиальная возможность применения радиоактивно меченных производных кобаламина для ПЭТ/КТ диагностики различных опухолей, экспрессирующих транскобаламин и рецептор TCbIR, была впервые показана Sah и соавт., которые использовали <sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>-[(4-амидо-бутил)-пиридин-2-ил-метил-амино-ацетат] кобаламин для обнаружения аденокарцином толстой кишки, лёгких и молочной железы, а также плоскоклеточной гипофарингеальной карциномы.<sup>[31]</sup> Позднее эту стратегию успешно использовали и другие авторы.<sup>[34]</sup> Эффективная визуализация опухоли молочной железы MDA-MB-453, экспрессирующей рецептор гаптокоррина CD320, была достигнута методом ПЭТ при использовании кобаламина, меченного изотопом <sup>89</sup>Zr. Этот диагностический агент обеспечил поддержание высокого уровня радиоактивности в имплантированной мышам опухоли в течение 48 часов при весьма низком накоплении в почках.

Исследование серии конъюгатов B<sub>12</sub> с хелатными комплексами радиоактивных изотопов металлов (<sup>99m</sup>Tc и <sup>111</sup>In) по *b*-пропионамидной группе через спейсеры различной длины показало, что увеличение длины спейсера способствует взаимодействию конъюгатов с транскобаламином из-за меньших стерических препятствий.<sup>[29]</sup> Интересно, что конъюгаты, способные связываться с транскобаламином, имели довольно низкую селективность по отношению к опухолям – их наибольшие концентрации обнаруживались в тканях печени, желудка и почек подопытных мышей.<sup>[29]</sup> В то же время конъюгаты, потерявшие способность образовывать комплекс с транскобаламином из-за недостаточной длины спейсера, активно связывались с гаптокоррином (HC) и внутренним фактором Касла (IF). Как показали исследования методом ПЭТ/КТ, такие конъюгаты накапливались в различных экспериментальных опухолях у мышей, причём в большинстве случаев высокий уровень их накопления в опухоли коррелировал с повышенной экспрессией гаптокоррина. Особенно высокое накопление было обнаружено в меланоме B16, где отношения уровней радиоактивности опухоль/кровь и опухоль/почки составляли 90 и 2, соответственно. Таким образом, таргетная доставка противоопухолевых ЛВ производными витамина B<sub>12</sub>, которые могут связываться исключительно с гаптокоррином, также может рассматриваться как перспективный подход к терапии злокачественных новообразований.

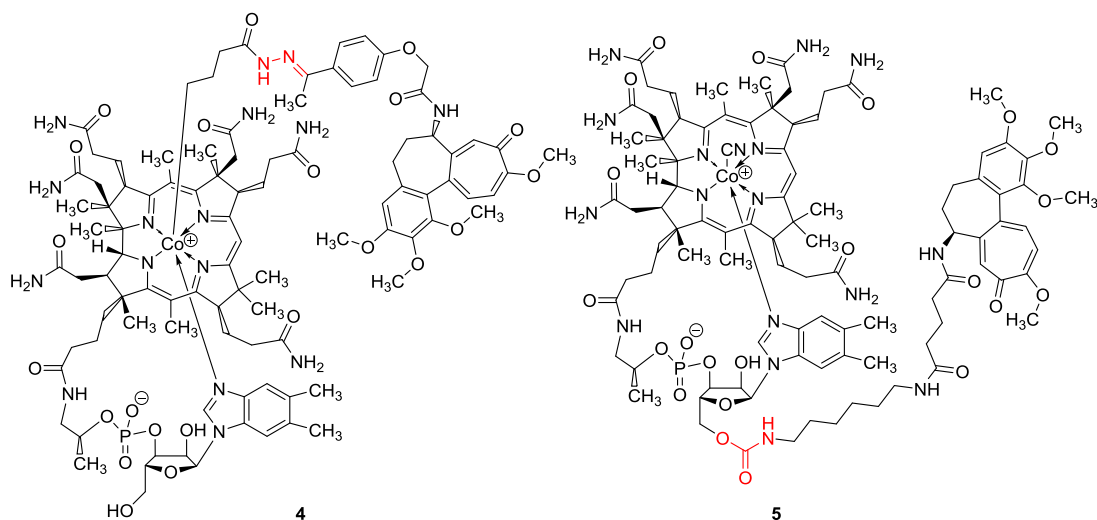


Рисунок 9. Структура конъюгатов цианокобаламина и колхицина с различными линкерами: 4 – гидразон, 5 – карбамат.

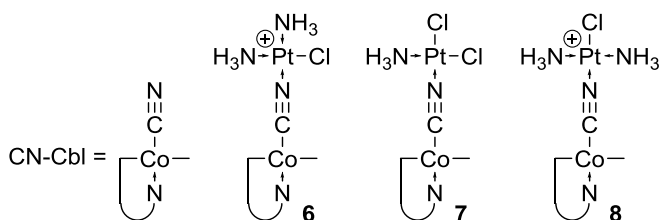


Рисунок 10. Структура гетеродиядерных комплексов цианокобаламина и цисплатина.

Одна из первых попыток модификации структуры цитостатического препарата производным витамина В<sub>12</sub> с учётом представлений о биоортогональности описана в работе.<sup>[35]</sup> В качестве ЛВ был использован колхицин – соединение, которое ингибирует полимеризацию тубулина, образующего веретено деления в ходе митотического цикла. Авторы предположили, что активность конъюгата зависит от его способности быстро выделять активное начало при попадании в клетку. Таким образом, поскольку конъюгат попадает в клетку путём эндоцитоза и затем оказывается в лизосоме, его активность зависит от возможности деградации линкера при рН 4,5. Для проверки этой гипотезы были получены конъюгаты с цианокобаламином через аксиальное положение центрального иона (4) и 5'-ОН группы углеводного остатка (5) (Рисунок 9).

Действительно, как показали эксперименты *in vitro*, наибольшую цитотоксичность в отношении ряда опухолевых клеток проявил конъюгат 4, в котором цианокобаламин и колхицин были связаны линкером, представляющим собой гидразон; в слабокислой среде лизосом гидразон подвергается быстрому гидролизу, выделяя колхицин, в то время как в нейтральной и слабощелочной средах распада линкера не происходит. В то же время конъюгат 5 с гидролитически более устойчивым карбаматным линкером оказался значительно менее активным.

Интересный подход предложен для синтеза конъюгата цисплатина с цианокобаламином.<sup>[36]</sup> В этом случае предварительной модификации структуры витамина В<sub>12</sub> не потребовалось – в роли спейсера выступала CN-группа цианокобаламина, взаимодействие иона платины с которой приводило к образованию смеси гетеродиядерных комплексов 6-8 (Рисунок 10).

Как было отмечено ранее, кобаламины при попадании в клетку подвергаются расщеплению по β-аксиальному положению, поэтому необходимо было определить, происходит ли в схожих условиях деградация структур конъюгатов и высвобождение цитотоксичных соединений платины. Для установления их строения смесь 6, 7 и 8 подвергали восстановлению кобальтоценом, способным переводить центральный ион Со(III) в Со(II). При этом, с помощью теста Курнакова, позволяющего различать *цис*- и *транс*-изомеры комплексов платины, с последующим хромато-масс-спектрометрическим определением выяснилось, что при подобном расщеплении цианид-анион полностью переходит на атом благородного металла. Так как в основе токсического действия цисплатина лежит его способность блокировать процесс репликации за счёт связывания пар азотистых оснований в молекулах ДНК, ингибирующую активность полученных в ходе восстановления кобальтоценом продуктов оценивали по реакции образования комплекса с гуанозином. При этом обнаружилось, что, как и исходный цисплатин, данные соединения также образуют комплекс с двумя молекулами нуклеозида. В ходе испытаний *in vitro* на клетках линий MCF-7 и A-2780 было установлено, что соединения 6, 7 и 8 проявляют высокую цитостатическую активность, во много раз превосходящую активность цисплатина, только в присутствии транскобаламина в среде, что подтверждает способность конъюгатов проникать в клетку путём рецептор-опосредованного эндоцитоза и доставлять туда цисплатин.

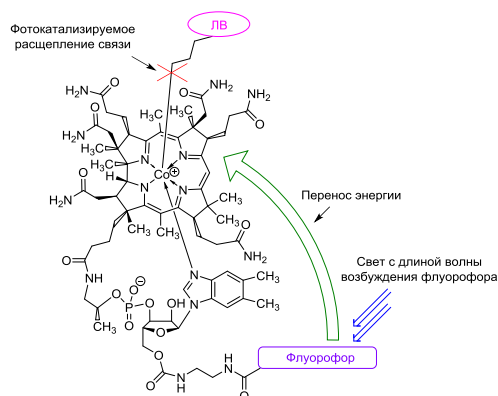
Для того, чтобы высвобождение переносимого ЛВ из состава конъюгата не лимитировалось его взаимодействием с расщепляющими клеточными ферментами,



относительно недавно был предложен способ контролируемого расщепления связи ЛВ с витамином В<sub>12</sub> под воздействием облучения<sup>[37,38]</sup> (Рисунок 11). Первоначально в структурах алкилированных по центральному иону корриноидов исследовали возможность разрыва связи Со-С под действием конъюгатов витамина В<sub>12</sub> с флуоресцентными красителями, такими как Водіру650, родамин В и др.<sup>[37]</sup> При этом для каждого из таких конъюгатов фотокатализируемое расщепление β-аксиального лиганда наблюдалось лишь при строго определённой длине волны падающего света, соответствующей энергии перехода хромофора в возбуждённое состояние. Эксперименты *in vitro* на клетках рака шейки матки HeLa показали, что полученные соединения способны проникать в цитозоль путём эндоцитоза. Облучение клеток HeLa в присутствии доксорубина, конъюгированного с кобаламином по β-аксиальному положению, приводило к быстрой гибели клеток, причём данный конъюгат продемонстрировал несколько большую эффективность по сравнению с исходным доксорубином. Без облучения же не наблюдалось какого-либо цитотоксического действия. *In vivo* конъюгат витамина В<sub>12</sub> с красителем Водіру650 эффективно накапливался в имплантированной аденокарциноме поджелудочной железы у мышей,<sup>[38]</sup> причём высвобождение красителя происходило не только под воздействием света с длиной волны 650 нм, но и при рентгеновском облучении в диапазоне доз 0,2-2,0 кГр. Таким образом, В<sub>12</sub>, конъюгированный с активным ингредиентом чувствительной к облучению связью, может быть использован для селективной радиохимиотерапии. Этот важный результат свидетельствует также о возможности создания тераностиков с контролируемым выделением ЛВ на основе кобаламинов.

## Доставка белков и олигонуклеотидов

Помимо направленного транспорта различных низкомолекулярных лекарственных веществ в опухоли, корриноиды нашли применение в доставке различных макромолекул, таких как белки и олигонуклеотиды.



**Рисунок 11.** Иллюстрация применения флуорофорных фрагментов в составе конъюгатов на основе витамина В<sub>12</sub> (адаптировано из<sup>[38]</sup>).

Так, одним из примеров получения полипептидных производных витамина В<sub>12</sub> стал его конъюгат с инсулином.<sup>[39]</sup> В исследовании, проведённом на мышках сахарным диабетом первого типа, оказалось, что полученный конъюгат не разрушается в желудочно-кишечном тракте из-за связывания с транспортными гликопротеинами и может всасываться в кровь в подвздошной кишке, оказывая необходимый терапевтический эффект. Возможность перорального введения инсулина в виде конъюгата с цианокобаламином позволило бы использовать более безопасный неинъекционный метод лечения диабета. Отметим, что существуют и другие аналогичные примеры использования витамина В<sub>12</sub> для пероральной доставки различных белков (глобулин, альбумин и др.), которые подробно рассмотрены в обзоре<sup>[40]</sup>.

Нашли применение также корриноидные конъюгаты с различными олигонуклеотидами. В одном из первых подобных исследований были получены олигодезоксирибонуклеотиды, модифицированные по концам каталитически активным производным витамина В<sub>12</sub> – е-карбоновой кислотой дигидроксибионамида (см. Таблицу 2).<sup>[41]</sup> Сочетание проводили по 3'- и 5'-концевым фосфатным группам олигонуклеотида и е-карбокисильной группе корриноида с использованием как синтеза в водном растворе, так и более эффективного твердофазного синтеза. Особенностью полученных конъюгатов является их способность в присутствии аскорбиновой кислоты приводить к селективному расщеплению комплементарных фрагментов ДНК за счёт образования активных форм кислорода. Подобные конъюгаты корриноидов с олигонуклеотидами могут быть перспективными препаратами для генной терапии рака.<sup>[42]</sup>

В дальнейшем в работах<sup>[43,44]</sup> было установлено, что схожие конъюгаты с пептидо-нуклеиновыми и рибонуклеиновыми кислотами, полученные по 5'-ОН группе цианокобаламина, могут эндоцитироваться бактериями *Escherichia coli* и *Salmonella Typhimurium*, открывая путь к новым препаратам для лечения бактериальных инфекций.

## Использование кобаламинов в системах направленной доставки лекарственных веществ на основе наночастиц

Как упоминалось выше, витамин В<sub>12</sub> и его производные можно использовать для повышения эффективности микро- и наноразмерных систем доставки ЛВ. Разработка таких систем является одним из ведущих направлений фармацевтической нанотехнологии.<sup>[45,46]</sup> Так, наночастицы позволяют повышать эффективность ЛВ, влияя заданным образом на их фармакокинетику и профиль биораспределения, в том числе, повышают время циркуляции ЛВ в кровотоке, помогают преодолеть гистогематические барьеры, включая гематоэнцефалический барьер,<sup>[47,48]</sup> способствуют их проникновению в клетки,<sup>[49]</sup> повышают безопасность ЛВ.<sup>[50]</sup> Особый интерес представляют системы, снабжённые биологическим лигандом-вектором, которые могут обеспечить высокую специфичность доставки ЛВ в мишень –

опухоль или клетку.<sup>[51]</sup> Тем не менее, несмотря на определённые успехи в области создания систем доставки на основе наночастиц поиск новых векторов остаётся актуальным. Отмеченные выше особенности биораспределения – высокая специфичность связывания с транскобаламином и гаптокоррином и выраженная гиперэкспрессия рецепторов к этим белкам в опухолях при низкой экспрессии их в здоровых тканях (исключение составляет высокий уровень экспрессии рецепторов гаптокоррину в гепатоцитах) позволяют считать кобаламины весьма перспективными векторами для коллоидных систем доставки.<sup>[52]</sup>

В работе<sup>[53]</sup> была исследована возможность пероральной доставки цитостатиков, в том числе цисплатина, 5-фторурацила и бипиридилиевого комплекса рутения(II), с помощью микрочастиц из гидратированного диоксида кремния – диатомита (DEM) – модифицированных цианокобаламином для терапии злокачественных новообразований толстого кишечника. Для модификации диатомитовых микрочастиц цианокобаламином в состав носителя вводили аминокруппы, по которым через линкер – остаток янтарной кислоты – проводили конъюгацию с витамином В<sub>12</sub>, содержащим в 5'-ОН положении триэтиленгликоль-бис-аминный спейсер, а в β-аксиальном – флуоресцентный краситель. Высвобождение гидрофильных цитостатиков – цисплатина и 5-фторурацила – из DEM микрочастиц оказалось слишком быстрым – 85 % и 100 %, соответственно, в течение первого часа инкубации в модельной среде (фосфатный буфер, pH = 7,4). Гидрофобный комплекс рутения, напротив, в водной среде оставался связанным с частицами в течение 48 ч инкубации, однако полностью высвобождался за 1 ч инкубации в октанол, который в данном исследовании использовали как модельную липофильную среду. Эксперименты *in vitro* на клетках колоректального рака линии HT-29 показали, что хотя во всех случаях размер микрочастиц, составлявший ~10 мкм, препятствовал их интернализации в клетки, микрочастицы, конъюгированные с В<sub>12</sub>, эффективно связывались с опухолевыми клетками, вероятно, за счёт взаимодействия с рецептором к транскобаламину TCbIR, экспрессированным на поверхности этих клеток. Интересно, что клетки рака молочной железы линии MCF-7 связывали микрочастицы еще эффективнее, чем клетки HT-29, что коррелировало с их более высоким уровнем экспрессии транскобаламина и рецептора TCbIR по сравнению с HT-29. Связывание микрочастиц с поверхностью клеток способствовало проникновению гидрофобного рутениевого комплекса через цитоплазматическую мембрану, обеспечивая таким образом его цитотоксический эффект. Этот результат предполагает, что использование векторизованных кобаламины микрочастиц способствует доступу гидрофобных противоопухолевых веществ в клетки опухоли и может повысить эффективность химиотерапии опухолей желудочно-кишечного тракта (ЖКТ).

Помимо микрочастиц, для пероральной доставки ЛВ нашли применение также наноразмерные носители, конъюгированные с корриноидами. Так, была изучена способность мицелл, образованных гидрофобизированным производным декстрана (цетиловый эфир декстран-*g*-декаэтиленоксида), конъюгированных с витами-

ном В<sub>12</sub> и нагруженных труднорастворимым в воде иммуносупрессором циклоспорином А (CsA), проникать в клетки колоректальной аденокарциномы человека линии Caco-2, которые часто используют для оценки абсорбции ЛВ в тонком кишечнике *in vitro*.<sup>[54]</sup> Преимуществом этой клеточной модели для изучения транспорта систем доставки, содержащих В<sub>12</sub>, является экспрессия как транскобаламина, так и внутреннего фактора Касла на апикальных мембранах Caco-2 после образования монослоя. Конъюгированные мицеллы размером ~30 нм содержали 1,68 % CN-Cb1 и 6,5 % CsA. Векторизованные цианокобаламином мицеллы доставляли в клетки Caco-2 в 2 раза больше CsA, чем мицеллы без вектора. При введении в среду IF концентрация CsA в клетках выросла ещё примерно в 1,3 раза. Таким образом, несмотря на то, что у человека абсорбция В<sub>12</sub> осуществляется в основном путём эндоцитоза, опосредованного IF, в данном эксперименте в транспорте мицелл, конъюгированных с В<sub>12</sub>, были задействованы как TC, так и IF.

Витамин В<sub>12</sub> был использован также для доставки в ЖКТ куркумина, отличающегося низкой растворимостью, низкой биодоступностью и низкой проницаемостью через клеточные мембраны (IV класс по Биофармацевтической классификации).<sup>[55]</sup> Многослойная наноразмерная система доставки размером 130 нм состояла из содержащего куркумин твёрдого полимерно-липидного ядра, покрытого конъюгированным с В<sub>12</sub> хитозаном. Полученная наночастица была затем заключена в гидрофильную оболочку из поли-N-(2-гидроксипропил)метакриламида. Гидрофильная поверхность и отрицательный заряд, приобретённые носителем благодаря присутствию поли-N-(2-гидроксипропил)метакриламида на поверхности, способствовали прохождению наноносителя через слизистую оболочку, затем эта оболочка отделялась, и уже следующий слой – положительно заряженный хитозан, конъюгированный с В<sub>12</sub>, обеспечивал интернализацию наночастицы в клетки. В целом использование этой системы доставки приводило к повышению биодоступности куркумина при пероральном введении.

Противоопухолевую активность паклитаксела, включённого в модифицированные витамином В<sub>12</sub> мицеллы из производного серицина (клейкий белок, получаемый из коконов шелковичных червей) и поли-(γ-бензил-L-глутамата), исследовали на мышцах имплантированной карциномой желудка человека, гиперэкспрессирующей рецепторы к транскобаламину CD320.<sup>[56]</sup> Нагруженные паклитакселом мицеллы размером ~120 нм содержали 3,5 % паклитаксела; содержание В<sub>12</sub> составляло 49,5 мкг на 1 мг полимера. Мышам имплантировали как чувствительные (BGC-823), так и резистентные к паклитакселу (BGC-823/PR) клетки карциномы. При внутривенном введении мицеллярная форма паклитаксела отличалась меньшей токсичностью и значительно эффективнее тормозила рост опухоли по сравнению с субстанцией. Важно, что противоопухолевый эффект мицеллярной формы был отмечен в случае не только чувствительной, но и резистентной к паклитакселу опухоли.

Наночастицы из сополимера молочной и гликолевой кислот (PLGA), конъюгированные с витамином В<sub>12</sub> через полиэтиленоксидный (PEG) спейсер, использова-

ли для доставки микроРНК miR-532-3p, снижающей экспрессию репрессора апоптоза с помощью домена рекрутирования каспаз, в клетки желудка линии BGC-823, гиперэкспрессирующих рецепторы к транскобаламину CD320.<sup>[57]</sup> В эксперименте *in vitro* наночастицы продемонстрировали способность эффективно проникать внутрь опухолевых клеток и подавлять их пролиферацию. В экспериментах *in vivo* векторизованные B<sub>12</sub> наночастицы подавляли рост гетеротопической опухоли BGC-823 почти на 90 % по сравнению с контрольной группой, а не векторизованные – на 75 %. В случае содержащих микроРНК липосом без вектора (miR-532-3p@Lipo3000) торможение роста опухоли составляло не более 45 %. Следует отметить также низкую токсичность частиц, нагруженных микроРНК: динамика изменения массы тела животных в испытываемой и контрольной группах отличалась незначительно.

### Заключение

В настоящее время работ, описывающих применение витамина B<sub>12</sub> и его производных в качестве векторов для повышения селективности действия лекарственных веществ, относительно немного. Однако полученные результаты свидетельствуют о перспективности этого направления. Особенно важным по мнению авторов является разработка векторизованных кобаламинами средств доставки ЛВ для химиотерапии онкологических заболеваний. Подобные системы на основе корриноидов имеют все перспективы стать в будущем эффективной основой для разработки инновационных препаратов, предназначенных для терапии опухолей, для которых наблюдается повышенная экспрессия транспортных белков витамина B<sub>12</sub>.

**Финансирование.** Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках государственного задания в том числе по проекту FSSM-2020-0004.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Соблюдение этических норм.** Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

### Список литературы

#### References

- Proinsias K., Giedyk M., Gryko D. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 6605–6619. DOI: 10.1039/c3cs60062a.
- Takahashi-Iñiguez T., Garcia-Hernandez E., Arreguin-Espinosa R., Flores M.E. *J. Zhejiang Univ. Sci. B* **2012**, *13*, 423–437. DOI: 10.1631/jzus.b1100329.
- Hannibal L., Axhemi A., Glushchenko A.V., Moreira E.S., Brasch N.E., Jacobsen D.W. *Clin. Chem. Lab. Med.* **2008**, *46*, 1739–1746. DOI: 10.1515/CCLM.2008.356.
- Butler P.A., Murtaza S., Kräutler B. *Monatsh. Chem.* **2006**, *137*, 1579–1589. DOI: 10.1007/s00706-006-0556-3.
- Wedemeyer-Exl C., Darbre T., Keese R. *Synthesis* **2008**, *21*, 3429–3432. DOI: 10.1039/b703421k.
- Volpin M.E., Krainova N.Yu., Levitin I.Ya., Mityaeva Z.Ya., Novodarova G.N., Oganezov V.K., Pankratov A.A., Chissov V.I., Yakubovskaya R. *Ros. Khim. Zh.* [Вольпин М.Е., Крайнова Н.Ю., Левитин И.Я., Митяева З.Я., Новодарова Г.Н., Оганезов В.К., Панкратов А.А., Чиссов В.И., Якубовская Р.И. *Рос. Хим. Ж.*] **1998**, *17*, 116–127.
- Romanova V.S., Shepeta N.Yu., Klemenkova Z.S., Babievskii K.K., Beigulenko D.V., Yamskov I.A., Kochetkov K.A. *INEOS OPEN* **2019**, *2*, 41–44. DOI: 10.32931/ios1907a.
- Romanova V.S., Shepeta N.Yu., Klemenkova Z.S., Kochetkov K.A. *Mendeleev Commun.* **2021**, *31*, 844–846.
- Shipton M.J., Thachil J. *Clin. Med.* **2015**, *15*, 145–150. DOI: 10.7861/clinmedicine.15-2-145.
- Watanabe F., Bito T. *Exp. Biol. Med.* **2017**, *243*, 148–158. DOI: 10.1177/1535370217746612.
- Kumar N. *Handbook Clinical Neurology* **2014**, *120*, 915–926. DOI: 10.1016/b978-0-7020-4087-0.00060-7.
- Andrès E., Serraj K., Zhu J., Vermorken A.J.M. *QJM-Int. J. Med.* **2013**, *106*, 505–515. DOI: 10.1093/qjmed/hct051.
- Christensen E., Birn H. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2002**, *3*, 256–266. DOI: 10.1038/nrm778.
- Kim J., Gherasim C., Banerjee R. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2008**, *105*, 14551–14554. DOI: 10.1073/pnas.0805989105.
- Hannibal L., Kim J., Brasch N.E., Wang S., Rosenblatt D.S., Banerjee R., Jacobsen D.W. *Mol. Genet. Metab.* **2009**, *97*, 260–266. DOI: 10.1016/j.ymgme.2009.04.005.
- Quadros E.V., Nakayama Y., Sequeira J.M. *Blood* **2009**, *113*, 186–192. DOI: 10.1182/blood-2008-05-158949.
- Lan X., Field M.S., Stover P.J. *WIREs Syst. Biol. Med.* **2018**, *10*, 1426. DOI: 10.1002/wsbm.1426.
- Carmel R. *Annu. Rev. Med.* **2000**, *51*, 357–375. DOI: 10.1146/annurev.med.51.1.357.
- Begley J.A., Colligan P.D., Chu R.C. *J. Neurol. Sci.* **1994**, *122*, 57–60. DOI: 10.1016/0022-510x(94)90051-5.
- Gick G.C., Arora K., Sequeira J.M., Nakayama Y., Lai S.-C., Quadros E.V. *Exp. Cell Res.* **2020**, *396*, 112256. DOI: 10.1016/j.yexcr.2020.112256.
- Simonsen K., Rode A., Nicoll A., Villadsen G., Espelund U., Lim L., Angus P., Arachchi N., Vilstrup H., Nexø E., Grønbaek H. *Scand. J. Gastroenterol.* **2014**, *49*, 1096–1102. DOI: 10.3109/00365521.2014.921325.
- Pathare P.M., Wilbur D.S., Heusser S., Quadros E.V., McLoughlin P., Morgan A.C. *Bioconjugate Chem.* **1996**, *7*, 217–232. DOI: 10.1021/bc9600022.
- Siega P., Wuerges J., Arena F., Gianolio E., Fedosov S.N., Dreos R., Geremia S., Aime S., Randaccio S. *Chemistry* **2009**, *15*, 7980–7989. DOI: 10.1002/chem.200802680.
- Reutz M., Gherasim C., Gruber K., Fedosov S., Banerjee R., Kräutler B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 2606–2610. DOI: 10.1002/anie.201209651.
- Kräutler B. *Met. Ions Life Sci.* **2009**, *6*, 1–51. DOI: 10.1039/bk9781847559159-00001.
- Chromiński M., Lewalska A., Gryko D. *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 11406–11408. DOI: 10.1039/c3cc47210h.
- Chromiński M., Lewalska A., Karczewski M., Gryko D. *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 7532–7542. DOI: 10.1021/jo501271g.
- Rossier J., Hauser D., Kottelat E., Rothen-Rutishauser B., Zobi F. *Dalton Trans.* **2017**, *46*, 2159–2164. DOI: 10.1039/c6dt04443c.
- Waibel R., Treichler H., Schaefer N.G., Staveren D.R., Mundwiler S., Kunze S., Küenzi M., Alberto R., Nüesch J., Knuth A., Moch H., Schibli R., Schubiger P.A. *Cancer Res.* **2008**, *68*, 2904–2911. DOI: 10.1158/0008-5472.can-07-6771.

30. Sheppard K., Bradbury D.A., Davies J.M., Ryrie D.R. *J. Clin. Pathol.* **1984**, *37*, 1336–1338. DOI: 10.1136/jcp.37.12.1336.
31. Sah B.-R., Schibli R., Waibel R., Boehmer L., Bläuenstein P., Nexo E., Johayem A., Fischer E., Müller E., Soyka J.D., Knuth A.K., Haerle S.K., Schubiger P.A., Schaefer N.G., Burger I.A. *J. Nucl. Med.* **2014**, *55*, 43–49. DOI: 10.2967/jnumed.113.122499.
32. Collins D.A. *Mol. Imaging Biol.* **2019**, *21*, 356–367. DOI: 10.1007/s11307-018-1232-9.
33. Sysel A.M., Valli V.E., Nagle R.B., Bauer J.A. *Anticancer Res.* **2013**, *33*, 4203–4212.
34. Kuda-Wedagedara A.N.W., Workinger J.L., Nexo E., Doyle R.P., Viola-Villegas N. *ACS Omega* **2017**, *2*, 6314–6320. DOI: 10.1021/acsomega.7b01180.
35. Bagnato J.D., Eilers A.L., Horton R.A., Grissom C.B. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 8987–8996. DOI: 10.1021/jo049953w.
36. Ruiz-Sánchez P., König C., Ferrari S., Alberto R. *J. Biol. Inorg. Chem.* **2011**, *16*, 33–44. DOI: 10.1007/s00775-010-0697-z.
37. Shell T.A., Shell J.R., Rodgers Z.L., Lawrence D.S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 875–878. DOI: 10.1002/anie.201308816.
38. Gendron L.N., Zites D.C., LaRochelle E.P.M., Gunn J.R., Pogue B.W., Shell T.A., Shell J.R. *Photodiagn. Photodyn.* **2020**, *30*, 101637. DOI: 10.1016/j.pdpdt.2019.101637.
39. Petrus A.K., Vortherms A.R., Fairchild T.J., Doyle R.P. *ChemMedChem* **2007**, *2*, 1717–1721. DOI: 10.1002/cmcd.200700239.
40. Petrus A.K., Fairchild T.J., Doyle R.P. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 1022–1028. DOI: 10.1002/anie.200800865.
41. Belkov V.M., Krynetskaya N.F., Volkov E.M., Shabarova Z.A., Krainova N.Yu., Novodarova G.N., Volpin M.E. *Bioorganic Chemistry* [Белков В.М., Крынецкая Н.Ф., Волков Е.М., Шабарова З.А., Крайнова Н.Ю., Новодарова Г.Н., Вольпин М.Е. *Биоорг. Химия*] **1995**, *21*, 446–453.
42. Mollaei H., Safaralizadeh R., Rostami Z. *J. Cell. Physiol.* **2019**, *234*, 12369–12384. DOI: 10.1002/jcp.28058.
43. Równicki M., Wojciechowska M., Wierzbza A.J., Czarnecki J., Bartosik D., Gryko D., Trylska J. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 7644. DOI: 10.1038/s41598-017-08032-8.
44. Giedyk M., Jackowska A., Równicki M., Kolanowska M., Trylska J., Gryko D. *Chem. Commun.* **2019**, *55*, 763–766. DOI: 10.1039/c8cc05064c.
45. Hare J.I., Lammers T., Ashford M.B., Puri S., Storm G., Barry S.T. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2017**, *108*, 25–38. DOI: 10.1016/j.addr.2016.04.025.
46. Gagliardi A., Giuliano E., Venkateswararao E., Fresta M., Bulotta S., Awasthi V., Cosco D. *Front. Pharmacol.* **2021**, *12*, 601626. DOI: 10.3389/fphar.2021.601626.
47. Maksimenko O., Malinovskaya J., Shipulo E., Osipova N., Razzhivina V., Arantseva D., Yarovaya O., Mostovaya U., Khalansky A., Fedoseeva V., Alekseeva A., Vanchugova L., Gorshkova M., Kovalenko E., Balabanyan V., Melnikov V., Baklaushv V., Chekhonin V., Kreuter J., Gelperina S. *Int. J. Pharm.* **2019**, *572*, 118733. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2019.118733.
48. Zybina A., Anshakova A., Malinovskaya J., Melnikov P., Baklaushv V., Chekhonin V., Maksimenko O., Titov S., Balabanyan V., Kreuter J., Gelperina S., Abbasova K. *Int. J. Pharm.* **2018**, *547*, 10–23. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2018.05.023.
49. Malinovskaya Y., Melnikov P., Baklaushv V., Gabashvili A., Osipova N., Mantrov S., Ermolenko Y., Maksimenko O., Gorshkova M., Balabanyan V., Kreuter J., Gelperina S. *Int. J. Pharm.* **2017**, *524*, 77–90. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2017.03.049.
50. Pereverzeva E., Treschalin I., Treschalin M., Arantseva D., Ermolenko Y., Kumsikova N., Maksimenko O., Balabanyan V., Kreuter J., Gelperina S. *Int. J. Pharm.*, **2019**, *554*, 161–178. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2018.11.014.
51. Sanna V., Sechi M. *ACS Med. Chem. Lett.* **2020**, *11*, 1069–1073. DOI: 10.1021/acsmchemlett.0c00075.
52. Russell-Jones G., McTavish K., McEwan J. *J. Drug Target.* **2011**, *19*, 133–139. DOI: 10.3109/10611861003734027.
53. Delasoie J., Rossier J., Haeni L., Rothen-Rutishauser B., Zobi F. *Dalton Trans.* **2018**, *47*, 17221–17232. DOI: 10.1039/c8dt02914h.
54. Francis M.F., Cristea M., Winnik F.M. *Biomacromolecules* **2005**, *6*, 2462–2467. DOI: 10.1021/bm0503165.
55. Liu Y., Jiang Z., Hou X., Xie X., Shi J., Shen J., He Y., Wang Z., Feng N. *Nanomedicine* **2019**, *21*, 102075. DOI: 10.1016/j.nano.2019.102075.
56. Guo W., Deng L., Chen Z., Chen Z., Yu J., Liu H., Li T., Lin T., Chen H., Zhao M., Zhang L., Li G., Hu Y. *Nanomedicine* **2019**, *14*, 353–370. DOI: 10.2217/nnm-2018-0321.
57. Chen Z., Liang Y., Feng X., Liang Y., Shen G., Huang H., Chen Z., Yu J., Liu H., Lin T., Chen H., Wu D., Li G., Zhao B., Guo W., Hu Y. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* **2021**, *120*, 111722. DOI: 10.1016/j.msec.2020.111722.

Received 09.03.2022

Accepted 31.03.2022