

Памяти профессора Э. Лукевица

И. Сегал\*, А. Заблоцкая, Т. Книесс<sup>а</sup>, И. Шестакова

**СИНТЕЗ И ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ ОКСОРЕНИЕВЫХ(V)  
КОМПЛЕКСОВ ПИРИДИНА И ХИНОЛИНА  
С ТРИДЕНТАТНОЙ (NS<sub>2</sub>, S<sub>3</sub>)/МОНОДЕНТАТНОЙ (S)  
КООРДИНАЦИЕЙ**

Синтезированы новые оксорениевые комплексы с тридентатными 3-тиа- и 3-метилазапентан-1,5-дителиолатом и монодентатными пиридил- и хинолилпроизводными. В результате исследования биологической активности обнаружена высокая цитотоксичность синтезированных комплексов по отношению к опухолевым клеткам, а также специфичность цитотоксического действия 2-пиридилтиолато[3-(N-метил)-азапентан-1,5-дителиолато]оксорения(V) к клеткам гепатомы мыши MG-22A на фоне низкой острой токсичности.

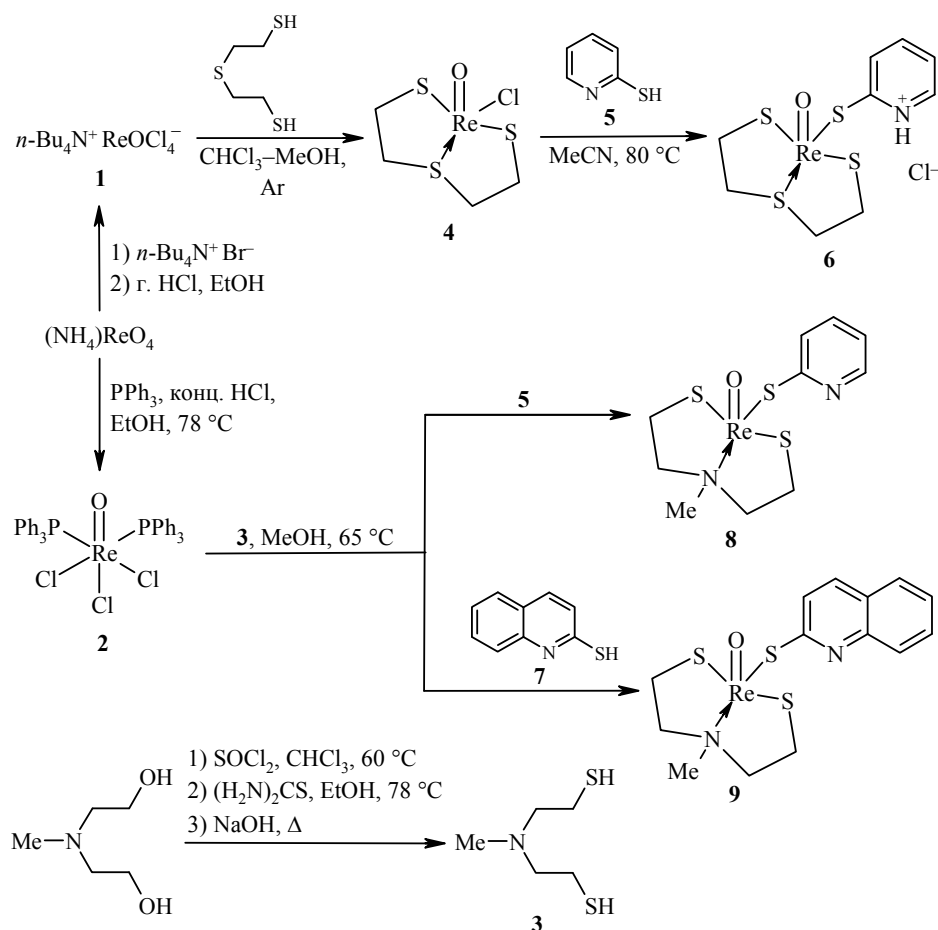
**Ключевые слова:** оксорениевые(V) комплексы, пиридин, рений, хинолин, цитотоксичность.

Производные хинолина и пиридина широко используются для синтеза разнообразных лекарственных средств, включая противоопухолевые препараты (роглетимид, пелдезин, пазеллиптин, оксисуран, ледакрин, луртотекан, эмитефур, бреквинар, акониазид и др.) [1]. В качестве структурных фрагментов они также входят в состав противоопухолевых антибиотиков нигрин [1], брунеомицин [2] и противоопухолевых алкалоидов камптотехина [3] и меридина [4]. С другой стороны, ряд комплексов переходных металлов [5, 6], в том числе хинолилсодержащие [7–10], а также комплексы рения [11–13], проявляют противоопухолевую активность и являются потенциальными биологическими транспортными средствами для лекарственных препаратов [14, 15].

В настоящей работе с целью изучения влияния природы лигандов на противоопухолевые свойства синтезированы нейтральные оксорениевые(V) комплексы, в которых оксорениевый(V) остов  $\text{ReO}^{3+}$  координирован с тридентатными 3-тиа- и 3-метилазапентан-1,5-дителиолатом, а также с монодентатными 2-меркаптопиридином и 2-меркаптохинолином. Образование комплексов протекало в соответствии с "3+1" методологией, с использованием двух различных рениевых предшественников **1** и **2** в зависимости от нейтрального донорного атома тридентатного лиганда.

Хлор(3-тиапентан-1,5-дителиолато)оксорений(V) (**4**) был получен из перрената тетра-*n*-бутиламмония (**1**) в качестве интермедиата для синтеза 2-пиридилтиолато(3-тиапентан-1,5-дителиолато)оксорения(V) (**6**). В результате его реакции с пиридин-2-тиолом (**5**) в кипящем ацетонитриле атом хлора в соединении **4** был успешно заменён на пиридилтиольный остаток с образованием соответствующего рениевого комплекса **6** с высоким выходом. Альтернативный подход был использован для синтеза комплексов **8** и **9**, которые были получены в результате взаимодействия предварительно син-

тезированного фосфинсодержащего оксорениевого(V) предшественника **2** с тридентатным лигандом **3** и монодентатными тиолами **5** или **7** в соотношении 1:1:1 в кипящем метаноле. Тридентатный 3-метилазапентан-1,5-дителиол (**3**) был синтезирован из *N*-метилдиэтанолamina в результате серии последовательных превращений. Реакцией *N*-метилдиэтанолamina с тионилхлоридом в хлороформе было получено соответствующее дихлорпроизводное, взаимодействие которого с тиомочевинной в кипящем этаноле и последующий щелочной гидролиз образовавшейся изотиуруниевой соли завершили образование целевого дителиола **3**.



Частота колебаний  $\nu_{(\text{Re}=\text{O})}$  в ИК спектрах синтезированных комплексов **6**, **8** и **9** больше зависит от центрального донорного атома тридентатного лиганда (комплексы **6** и **8**), чем от донорных свойств монодентатного лиганда (комплексы **8** и **9**). Сигналы варьируются от 960 (**6**) до 956 (**8**) и 953  $\text{cm}^{-1}$  (**9**), что является типичным для оксорениевых(V) комплексов со смешанными лигандами [16].

Биологические свойства синтезированных соединений изучались на четырёх линиях опухолевых клеток: HT-1080 (фибросаркома человека), MG-22A (гепатома мыши), B16 (меланома мыши) и SH-SY-5Y (нейробластома человека), а также по отношению к нормальным фибробластам NIH-3T3, которые служили и для оценки токсичности соединений (альтернативный метод определения  $\text{LD}_{50}$  [17]) (таблица).

**Цитотоксичность (LC<sub>50</sub>) и способность генерировать NO внутри клеток оксорениевыми(V) комплексами 6, 8 и 9\***

Соединение	HT-1080			MG-22A			B16		SH-SY-5Y		NIH-3T3	
	LC <sub>50</sub> , мкг/мл		NO, %	LC <sub>50</sub> , мкг/мл		NO, %	LC <sub>50</sub> , мкг/мл		LC <sub>50</sub> , мкг/мл		LC <sub>50</sub> NR	LD <sub>50</sub> , мг/кг
	CV	МТТ		CV	МТТ		CV	МТТ	CV	МТТ		
<b>6</b>	4	3	100	2	3	133	3	3	3	2	52	801
<b>8</b>	12	23	86	2	3	250	91	63	15	10	445	1877
<b>9</b>	3	2	167	3	3	250	3	3	2	2	4	256

\* CV – кристаллический фиолетовый; МТТ – бромид 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-2H-тетразолия; NR – нейтральный красный; NO – степень генерирования NO, определенная и вычисленная по методике [22].

Результаты исследований показали, что цитотоксическая активность 2-пиридил- и 2-хинолиптиолатов оксорениевых(V) комплексов зависит от природы как монодентатных, так и тридентатных лигандов, причём в ряде случаев проявляется селективность по отношению к определённой линии клеток. Также выявлены различия в характере действия: воздействие на клеточные мембраны – CV-тест, влияние на активность митохондриальных ферментов в клетке – МТТ-тест.

Комплексы рения(V) **6** и **9** обладают высокой цитотоксичностью (2–3 мкг/мл) по отношению ко всем изученным линиям опухолевых клеток по всем тестам. В свою очередь, комплекс **8** проявил высокую тканевую специфичность. Наиболее чувствительными к соединению **8** оказались клетки гепатомы MG-22A. По отношению к HT-1080 и SH-SY-5Y его ингибирующая активность была средней, относительно B16 – низкой, а к нормальным фибробластам NIH-3T3 – очень низкой (таблица).

Все изученные комплексы являются нетоксичными соединениями, причём наименее токсичным оказался 2-пиридилтиолато[3-(N-метил)азапентан-1,5-дителиолато]оксорений(V) (**8**). Замена монодентатного лиганда в комплексе **8** на хинолиптиолат (комплекс **9**) приводит к увеличению токсичности более чем в 7 раз. В свою очередь, замена тридентатного лиганда, а именно 3-(N-метил)азапентан-1,5-дителиолат на 3-тио-1,5-дителиолат (комплекс **6**), увеличивает токсичность соединения более чем в 2 раза (таблица).

Таким образом, установлено, что изученные соединения обладают селективным цитотоксическим действием по отношению к изученным опухолевым клеткам. Для соединения **8** выявлена специфичность цитотоксического эффекта относительно линии MG-22A.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

ИК спектры записаны на спектрометре Perkin Elmer FTIR Specord 2000 в таблетках KBr. Спектры ЯМР <sup>1</sup>H и <sup>13</sup>C зарегистрированы на приборе Varian Inova 400 (400 и 100 Мгц соответственно), внутренний стандарт – сигнал остаточных протонов растворителя (CDCl<sub>3</sub> – δ<sub>H</sub> 7.26 м. д., δ<sub>C</sub> 77.0 м. д., DMSO-d<sub>6</sub> – δ<sub>H</sub> 2.5 м. д., δ<sub>C</sub> 39.5 м. д.). Элементные анализы выполнены на анализаторе LECO CHNS 932. Контроль за ходом реакции и чистотой полученных соединений проводился методом ТСХ на пластинках Machery-Nagel в системе CHCl<sub>3</sub>–MeOH. Для колоночной хроматографии использовался силикагель марки Merck (0.040–0.063 мм).

**Тетрахлороксоренат(V) тетра-*n*-бутиламмония (1)** получают по методике [18] с небольшими изменениями. 4.51 г (9.17 ммоль) *n*-Bu<sub>4</sub>N·ReOCl<sub>4</sub>, полученного из водного раствора NH<sub>4</sub>ReO<sub>4</sub> осаждением с помощью *n*-Bu<sub>4</sub>N<sup>+</sup>Br<sup>-</sup>, растворяют в 70 мл абс. EtOH. Полученный раствор насыщают газообразным HCl. Затем реакционную смесь перемешивают в течение 3 ч, частично упаривают растворитель и охлаждают до –18 °С. Выпавший осадок отфильтровывают и промывают эфиром, затем сушат в вакууме в течение 4 ч. Выход 5.05 г (94%). Т. пл. 143–145 °С (разл.). ИК спектральные данные соответствуют описанным в литературе [18].

**транс-Монооксотрихлорбис(трифенилфосфин)рений(V) (2)** получают по методике [19]. 1.61 г (6 ммоль) NH<sub>4</sub>ReO<sub>4</sub> и 9.00 г (34 ммоль) PPh<sub>3</sub> растворяют в 100 мл абс. EtOH и добавляют 10 мл конц. HCl; полученную реакционную смесь кипятят в течение 1 ч, затем охлаждают и фильтруют. Осадок промывают горячим EtOH. Выход сырого продукта 4.92 г (98%). Продукт **2** используют для синтеза соединений **8** и **9** без дополнительной очистки.

**3-(*N*-Метил)азапентан-1,5-дитиол (3)** получают по методике [20] с изменениями. К охлажденному до 0 °С раствору 20.0 г (167.8 ммоль) *N*-метилдиэтиламина в 100 мл CHCl<sub>3</sub> при перемешивании прибавляют по каплям раствор 26.7 мл (369.2 ммоль) SOCl<sub>2</sub> в 10 мл CHCl<sub>3</sub>. Реакционную смесь кипятят в течение 24 ч. Затем лёгкие фракции удаляют упариванием смеси на ротационном испарителе. К остатку добавляют 50 мл EtOH и 28.3 г (369.2 ммоль) тиомочевины; полученную смесь кипятят в течение 6 ч, охлаждают и удаляют спирт упариванием на ротационном испарителе. К остатку приливают 280 мл 3 н раствора NaOH и кипятят при перемешивании в атмосфере аргона в течение 2 ч. После охлаждения до комнатной температуры реакционную смесь нейтрализуют с помощью 2 н раствора HCl, продукт экстрагируют эфиром (3 × 200 мл), эфирный экстракт сушат над MgSO<sub>4</sub>, затем экстракт упаривают на ротационном испарителе, а остаток перегоняют в вакууме. Выход 10.64 г (48%). Т. кип. 65–67 °С (4.1·10<sup>-1</sup> мм рт. ст.), что соответствует литературным данным [20].

**Хлор(3-тиапентан-1,5-дитиолато)оксорений(V) (4)** получают по методике [21] с небольшими изменениями. 1.17 г (2 ммоль) *n*-Bu<sub>4</sub>N·ReOCl<sub>4</sub> (**1**) растворяют в 100 мл смеси CHCl<sub>3</sub>–MeOH, 10:1, и охлаждают до 0 °С. К полученному раствору при перемешивании в атмосфере аргона прибавляют по каплям раствор 0.31 г (2 ммоль) бис-(2-меркаптоэтил)сульфида в 50 мл CHCl<sub>3</sub>. После чего температуру реакционной смеси доводят до комнатной и отфильтровывают выпавший осадок, промывают CHCl<sub>3</sub> и эфиром и сушат. Выход продукта 0.61 г (78%). Физико-химические параметры соответствуют литературным [21].

**Гидрохлорид 2-пиридилтиолато(3-тиапентан-1,5-дитиолато)оксорения(V) (6)**. 85.6 мг (0.22 ммоль) соединения **4** растворяют при перемешивании в 5 мл горячего ацетонитрила и к кипящему раствору осторожно по каплям прибавляют раствор 48.9 мг (0.22 ммоль) пиридин-2-тиола (**5**) в 5 мл ацетонитрила. Реакционную смесь кипятят дополнительно в течение 30 мин, охлаждают и фильтруют. Осадок промывают эфиром (5×20 мл) и сушат. Выход 105.6 мг (96%). Т. пл. 190–192 °С. ИК спектр,  $\nu$ , см<sup>-1</sup>: 960 (Re=O). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (DMCO-d<sub>6</sub>),  $\delta$ , м. д. (*J*, Гц): 2.42 (2H, м), 3.12 (2H, т. д., *J* = 14.0, *J* = 4.3), 4.17 (2H, д. д., *J* = 10.8, *J* = 3.0) и 4.27 (2H, д. д., *J* = 13.0, *J* = 4.5, 2SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>S); 7.21 (1H, м, H-5); 7.65 (1H, д., *J* = 7.6, H-3); 7.74 (1H, т. д., *J* = 7.6, *J* = 1.8, H-4); 8.50 (1H, д. д., *J* = 4.7, *J* = 0.9, H-6); 13.46 (1H, уш. с, NH). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (DMCO-d<sub>6</sub>),  $\delta$ , м. д.: 43.2 (SCH<sub>2</sub>); 46.1 (SCH<sub>2</sub>); 121.3; 129.7; 135.9; 149.2 (C Ar); 167.6 (C-2). Найдено, %: C 21.56; H 2.58; N 2.75; Cl 7.02; S 25.36. C<sub>9</sub>H<sub>13</sub>ClNOReS<sub>4</sub>. Вычислено, %: C 21.57; H 2.61; N 2.80; Cl 7.07; S 25.59.

**2-Пиридилтиолато[3-(*N*-метил)азапентан-1,5-дитиолато]оксорений(V) (8)**. 1.25 г (1.50 ммоль) соединения **2** растворяют в 100 мл MeOH, перемешивают при комнатной температуре в атмосфере аргона и прибавляют по каплям раствор 0.18 г (1.65 ммоль) пиридин-2-тиола (**5**) в 5 мл MeOH и 0.23 г (1.50 ммоль) 3-(*N*-метил)-азапентан-1,5-дитиола (**3**) в 2 мл MeOH. Реакционную смесь кипятят при перемешивании

вании в течение 2 ч и после охлаждения упаривают растворитель. Продукт выделяют колоночной хроматографией, элюент  $\text{CHCl}_3$ -MeOH, 10:1. Выход 0.39 г (56%). Т. пл. 268–269 °С. ИК спектр,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 956 (Re=O). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (DMCO- $d_6$ ),  $\delta$ , м. д. ( $J$ , Гц): 2.74 (2H, м), 2.93 (2H, м), 3.19 (2H, м) и 3.57 (2H, м, 2SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 3.36 (3H, с, NCH<sub>3</sub>); 7.15 (1H, м, H-5); 7.53 (1H, д,  $J = 7.7$ , H-3); 7.73 (1H, т. д,  $J = 6.3$ ,  $J = 1.1$ , H-4); 8.44 (1H, д. д,  $J = 4.9$ ,  $J = 0.9$ , H-6). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (DMCO- $d_6$ ),  $\delta$ , м. д.: 40.5 (SCH<sub>2</sub>); 53.9 (NCH<sub>3</sub>); 67.1 (NCH<sub>2</sub>); 120.7; 128.3; 135.8; 149.0 (C Ar); 175.0 (C-2). Найдено, %: C 26.00; H 3.26; N 5.99; S 20.87. C<sub>10</sub>H<sub>15</sub>N<sub>2</sub>OReS<sub>3</sub>. Вычислено, %: C 26.02; H 3.28; N 6.07; S 20.84.

**2-Хинолилтиolato[3-(N-метил)азапентан-1,5-дитиolato]оксорений(V) (9).**

1.13 г (1.4 ммоль) соединения **2** растворяют в 100 мл MeOH, перемешивают при комнатной температуре в атмосфере аргона и прибавляют по каплям раствор 0.24 г (1.5 ммоль) хинолин-2-тиола (**7**) в 5 мл MeOH и 0.21 г (1.4 ммоль) 3-(N-метил)азапентан-1,5-дитиола (**3**) в 5 мл MeOH. Реакционную смесь кипятят при перемешивании в течение 2 ч и после охлаждения упаривают растворитель. Продукт выделяют колоночной хроматографией, элюент  $\text{CHCl}_3$ -MeOH, 5:1. Выход 0.33 г (48%). Т. пл. 220–221 °С. ИК спектр,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 953 (Re=O). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (DMCO- $d_6$ ),  $\delta$ , м. д. ( $J$ , Гц): 2.75 (2H, м), 2.94 (2H, м), 3.22 (2H, м) и 3.57 (2H, м, 2SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 3.35 (3H, с, NCH<sub>3</sub>); 7.54 (1H, м, H-6); 7.65 (1H, д,  $J = 8.5$ , H-3); 7.74 (1H, м, H-5); 7.91 (2H, м, H-4,7); 8.26 (1H, д,  $J = 8.7$ , H-8). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$ , м. д.: 41.6 (SCH<sub>2</sub>); 54.2 (NCH<sub>3</sub>); 68.2 (NCH<sub>2</sub>); 126.0; 126.9; 127.5; 129.1; 129.5; 135.1; 148.1 (C Ar). Найдено, %: C 32.84; H 3.36; N 5.43; S 18.74. C<sub>14</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>OReS<sub>3</sub>. Вычислено, %: C 32.86; H 3.35; N 5.47; S 18.80.

**Цитотоксичность соединений 6, 8 и 9** (таблица) *in vitro* в отношении моно-слойных опухолевых клеток HT-1080, MG-22A, B16, SH-SY-5Y и нормальных клеток NIH-3T3 определены на 96 луночных пластиковых панелях при использовании красителей CV, МТТ и NR в соответствии с методиками [22, 23]. Концентрации соединений, вызывающие гибель 50% клеток (LC<sub>50</sub>, мкг/мл), приведены в таблице. Ожидаемая острая токсичность (LD<sub>50</sub>, мг/кг) вычислена по методу [17].

*Работа выполнена при финансовой поддержке Латвийского совета по науке (проекты 09.1321 и 10.0030).*

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Ashgate Handbook of Antineoplastic Agents*, G. W. A. Milne (Ed.), Aldershot, Gower, 2000.
2. М. Д. Машковский, *Лекарственные средства*, 16-е изд-е, Москва, Новая Волна, 2010, с. 1002.
3. A. Cagir, B. M. Eisenhauer, R. Gao, S. J. Thomas, S. M. Hecht, *Bioorg. Med. Chem.*, **12**, 6287 (2004).
4. J. A. Fuente, M. J. Martin, M. M. Blanco, E. Pascual-Alfonso, C. Avendano, J. C. Menendez, *Bioorg. Med. Chem.*, **9**, 1807 (2001).
5. E. R. T. Tiekink, P. D. Cookson, B. M. Linahan, L. K. Webster, *Met.-Based Drugs*, **1**, 299 (1994).
6. P. D. Cookson, E. R. T. Tiekink, M. W. Whitehouse, *Aust. J. Chem.*, **47**, 577 (1994).
7. Э. Лукевиц, И. Шестакова, И. Домрачева, А. Нестерова, Я. Ашакс, Д. Зарума, *ХГС*, 59 (2006). [*Chem. Heterocycl. Compd.*, **42**, 53 (2006).]
8. Э. Лукевиц, И. Шестакова, И. Домрачева, А. Нестерова, Д. Зарума, Я. Ашакс, *ХГС*, 870 (2006). [*Chem. Heterocycl. Compd.*, **42**, 761 (2006).]
9. Э. Лукевиц, И. Шестакова, И. Домрачева, Э. Яценко, Д. Зарума, Я. Ашакс, *ХГС*, 755 (2007). [*Chem. Heterocycl. Compd.*, **43**, 634 (2006).]
10. Э. Лукевиц, Д. Зарума, Я. Ашакс, И. Шестакова, И. Домрачева, А. Гулбе, В. Бридане, *ХГС*, 711 (2008). [*Chem. Heterocycl. Compd.*, **44**, 559 (2006).]

11. P. Koepf-Maier, T. Klapoetke, *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, **118**, 216 (1992).
12. J. Bernard, K. Ortner, B. Spingler, H.-J. Pietzsch, R. Alberto, *Inorg. Chem.*, **42**, 1014 (2003).
13. A. Zablotskaya, I. Segal, S. Germane, I. Shestakova, E. Lukevics, A. Drews, H. Spies, *Ann. Rep. FZR-312*, 64 (2001).
14. M. Shionoya, T. Ikeda, E. Kimura, M. Shiro, *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 3848 (1994).
15. S. Aoki, C. Sugimura, E. Kimura, *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 10094 (1998).
16. H. Spies, T. Fietz, H.-J. Pietzsch, B. Johannsen, P. Leibnitz, G. Reck, D. Scheller, K. Klostermann, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2277 (1995).
17. *Guidance Document on Using in vitro Data to Estimate in vivo Starting Doses for Acute Toxicity*, National Institute of Health, US Dept. of Health and Human Services, 2001, p. 12.
18. R. Alberto, R. Schibli, E. Egli, P. A. Schubiger, W. A. Herrmann, G. Artus, U. Abram, T. A. Kaden, *J. Organomet. Chem.*, **493**, 119 (1995).
19. N. P. Johnson, C. J. L. Lock, G. Wilkinson, *J. Chem. Soc.*, 1054 (1964).
20. M. Friebe, Dissertation, Technische Universität Dresden, 1999.
21. Th. Fietz, H. Spies, H.-J. Pietzsch, P. Leibnitz, *Inorg. Chim. Acta*, **231**, 233 (1995).
22. D. J. Fast, R. C. Lynch, R. W. Leu, *J. Leukocyte Biol.*, **52**, 255 (1992).
23. P. J. Freshney, in *Culture of Animal Cells (A Manual of Basic Technique)*, Willey-Liss, New York, 1994, p. 269.

Латвийский институт органического синтеза,  
ул. Айзкрауклес, 21, Рига LV-1006, Латвия  
e-mail: seg@osi.lv

Поступило 9.03.2011

<sup>a</sup> Forschungszentrum Dresden-Rossendorf,  
Postfach 51 01 19, Dresden, Germany  
e-mail: kniess@fz-rossendorf.de

---