

Э. Лукевиц, Д. Зарума^а, Я. Ашакс^а, И. Шестакова,
И. Домрачева, А. Гулбе, В. Бридане

**СИНТЕЗ И ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ
МЕТИЛ- И МЕТОКСИЗАМЕЩЕННЫХ 8-ХИНОЛИНТИОЛАТОВ
МЕТАЛЛОВ**

Установлено, что характер заместителя и его положение в хинолиновом кольце, а также природа металла существенно влияют на противоопухолевую активность и токсичность 8-хинолинтиолатов металлов. Наибольшей цитотоксичностью по отношению к опухолевым клеткам НТ-1080 (фибросаркома человека) и МG-22А (гепатома мыши) обладают 6-метокси-8-хинолинтиолаты родия, осмия, иридия, индия, сурьмы и висмута, которые, однако, являются высокотоксичными и для нормальных фибробластов мышинных эмбрионов НИН 3Т3. Несколько меньшую активность на клетках МG-22А имеет 5-метил-8-хинолинтиолат иридия, вследствие значительно меньшей токсичности проявляющий достаточно хорошую селективность действия.

Ключевые слова: 3- и 5-метил-8-хинолинтиолаты металлов, 2- и 6-метокси-8-хинолинтиолаты металлов, синтез, токсичность, цитотоксичность.

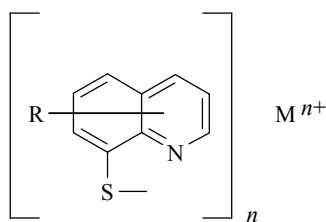
Комплексы платины уже более сорока лет занимают видное место в арсенале противоопухолевых средств [1–3]. За это время выявились и проблемы, связанные с их применением – высокая общая токсичность, приводящая к нежелательным побочным эффектам, и резистентность ряда опухолей к платиновым препаратам, которая может развиваться и во время химиотерапии. Эти явления пытаются преодолеть заменой лигандов в платиновых комплексах [3–6], а в последнее время – и заменой металла [4, 7–11].

Наиболее перспективными в этом отношении оказались комплексы рутения, обладающие низкой общей токсичностью и селективно аккумулирующиеся в опухолевых клетках [4, 7, 12–18]. Два из них уже проходят клинические испытания [14, 19, 20]. В то же время их родиевые и осмиевые аналоги проявили еще бóльшую цитотоксичность по отношению к клеткам карциномы легких А549 и молочной железы Т47D [21].

Нами установлено, что при использовании в качестве лиганда 8-хинолинтиола [22, 23] или 8-хинолинселенола [24, 25] высокой цитотоксичностью по отношению к опухолевым клеткам НТ-1080 (фибросаркома человека) и МG-22А (гепатома мыши) обладают не только комплексы, содержащие атом рутения, родия и осмия, но и комплексы иридия [22, 23]. Однако все эти соединения, проявляющие высокую активность к опухолевым клеткам, токсичны и по отношению к нормальным фибробластам мышинных эмбрионов НИН 3Т3 [22]. Токсичность высокоактивных 8-хинолинтиолатов родия и иридия можно существенно уменьшить введением в их молекулу метильной группы в положение 4 хинолинового

кольца [23]. Обнаружено также, что заместители в различных положениях хинолинового кольца способствуют увеличению селективности действия ди(8-хинолил)дисульфидов [26].

Поэтому нами с целью уменьшения токсичности и увеличения селективности действия цитотоксических комплексов 8-хинолинтиолатов синтезированы серии 3-метил- (**1**), 5-метил- (**2**), 2-метокси- (**3**) и 6-метокси-8-хинолинтиолатов (**4**) родия (**a**), осмия (**b**) и иридия (**c**), а также 6-метокси-8-хинолинтиолатов (**4**) меди (**d**), кадмия (**e**), индия (**f**), сурьмы (**g**), висмута (**h**), рутения (**i**) и палладия (**j**) (табл. 1) и изучена их цитотоксичность на двух линиях опухолевых клеток НТ-1080 и МG-22А, а также на нормальных фибробластах НИН 3Т3, которые служили и для оценки токсичности соединений (альтернативный метод определения LD_{50} [27]).



1a-c-3a-c, 4 a-j

1 R = 3-Me, **2** R = 5-Me, **3** R = 2-MeO, **4** R = 6-MeO; **1-4 a** M = Rh, **b** M = Os, **c** M = Ir;
4 d M = Cu, **e** M = Cd, **f** M = In, **g** M = Sb, **h** M = Bi, **i** M = Ru, **j** M = Pd;
1-4 a-c, 4 f-i $n = 3$; **4 d,e,j** $n = 2$

Полученные результаты (табл. 2) показывают, что введение метильной группы в хинолиновое кольцо комплексов родия, осмия и иридия уменьшает их токсичность по сравнению с незамещенным хинолиновым лигандом [22]. Наиболее существенно это отразилось на токсичности комплекса иридия **2c** с метильной группой в положении 5 (LC_{50} 220 мкг/мл, LD_{50} 1785 мг/кг). Токсичность комплексов иридия и родия с метильной группой в положении 4 (LC_{50} 85 и 78 мкг/мл, соответственно) тоже на порядок меньше токсичности комплексов с незамещенным лигандом [23]. Наименее токсичными производными иридия и осмия оказались 5-метилзамещенные, тогда как из производных родия наименьшей токсичностью обладает 4-изомер. Все 3-метилпроизводные **1** значительно более токсичны, причем комплекс иридия **1c** даже более токсичен для нормальных клеток, чем для опухолевых.

Цитотоксичность метилпроизводных мало зависит от положения заместителя (наблюдается некоторое ее уменьшение в ряду 4- > 3- > 5-) и характера металла (несколько более активны 4-метилпроизводные осмия). Зато по селективности действия 5-метилпроизводное иридия **2c** значительно превосходит незамещенные комплексы, которые по этому показателю уступают также и 4-метилпроизводным родия и иридия.

Т а б л и ц а 1

Характеристики 8-хинолинтиолатов металлов 1–4

Соединение	Брутто-формула	Найдено, % Вычислено, %			Выход, %
		C	H	N	
1a	C ₃₀ H ₂₄ N ₃ RhS ₃	<u>57.01</u>	<u>3.79</u>	<u>6.60</u>	75
		57.59	3.87	6.72	
1b	C ₃₀ H ₂₄ N ₃ OsS ₃	<u>51.04</u>	<u>3.48</u>	<u>6.02</u>	73
		50.54	3.39	5.89	
1c	C ₃₀ H ₂₄ IrN ₃ S ₃	<u>50.02</u>	<u>3.48</u>	<u>5.99</u>	74
		50.40	3.38	5.88	
2a	C ₃₀ H ₂₄ N ₃ RhS ₃	<u>57.98</u>	<u>3.74</u>	<u>6.80</u>	77
		57.59	3.87	6.72	
2b	C ₃₀ H ₂₄ N ₃ OsS ₃	<u>50.02</u>	<u>3.79</u>	<u>5.81</u>	75
		50.54	3.39	5.89	
2c	C ₃₀ H ₂₄ IrN ₃ S ₃	<u>50.85</u>	<u>3.49</u>	<u>5.96</u>	75
		50.40	3.38	5.88	
3a	C ₃₀ H ₂₄ N ₃ O ₃ RhS ₃	<u>53.95</u>	<u>3.67</u>	<u>6.13</u>	76
		53.49	3.59	6.24	
3b	C ₃₀ H ₂₄ N ₃ O ₃ OsS ₃	<u>47.76</u>	<u>3.26</u>	<u>5.65</u>	75
		47.35	3.18	5.52	
3c	C ₃₀ H ₂₄ IrN ₃ O ₃ S ₃	<u>47.65</u>	<u>3.10</u>	<u>5.65</u>	77
		47.23	3.17	5.51	
4a	C ₃₀ H ₂₄ N ₃ O ₃ RhS ₃	<u>53.98</u>	<u>3.70</u>	<u>6.35</u>	75
		53.49	3.59	6.24	
4b	C ₃₀ H ₂₄ N ₃ O ₃ OsS ₃	<u>47.12</u>	<u>3.27</u>	<u>5.65</u>	75
		47.35	3.18	5.52	
4c	C ₃₀ H ₂₄ IrN ₃ O ₃ S ₃	<u>47.65</u>	<u>3.25</u>	<u>5.63</u>	75
		47.23	3.17	5.51	
4d	C ₂₀ H ₁₆ CuN ₂ O ₂ S ₂	<u>54.46</u>	<u>3.71</u>	<u>6.20</u>	87
		54.10	3.63	6.31	
4e	C ₂₀ H ₁₆ CdN ₂ O ₂ S ₂	<u>48.98</u>	<u>3.17</u>	<u>5.79</u>	84
		48.73	3.27	5.68	
4f	C ₃₀ H ₂₄ InN ₃ O ₃ S ₃	<u>52.95</u>	<u>3.43</u>	<u>6.25</u>	85
		52.56	3.53	6.13	
4g	C ₃₀ H ₂₄ N ₃ O ₃ S ₃ Sb	<u>52.35</u>	<u>3.58</u>	<u>6.19</u>	85
		52.03	3.49	6.07	
4h	C ₃₀ H ₂₄ BiN ₃ O ₃ S ₃	<u>46.53</u>	<u>3.19</u>	<u>5.48</u>	85
		46.21	3.10	5.39	
4i	C ₃₀ H ₂₄ N ₃ O ₃ RuS ₃	<u>53.96</u>	<u>3.51</u>	<u>6.34</u>	74
		53.63	3.60	6.25	
4j	C ₂₀ H ₁₆ N ₂ O ₂ PdS ₂	<u>49.61</u>	<u>3.44</u>	<u>5.62</u>	88
		49.30	3.31	5.75	

Учитывая, что в этом ряду производные ди(8-хинолил)дисульфидов, имеющие заместители в положении 2 хинолинового кольца, принадлежат к группе малотоксичных соединений, а 2-метоксипроизводное проявило достаточно хорошую селективность [26], мы тестировали серию 2-метокси-8-хинолинтиолатов родия (**3a**), осмия (**3b**) и иридия (**3c**). Все эти комплексы

Цитотоксичность 4-метил-8-хинолинтиолатов 1–4*

Соединение	LC ₅₀ , мкг/мл							LD ₅₀ , мг/кг
	НТ-1080			МГ-22А			ЗТЗ	
	CV	МТТ	NO	CV	МТТ	NO	NR	
1a	4	4	91	4	5	122	1.4	187
1b	3	3	250	3	3	86	2	214
1c	3	3	450	3	2	400	0.7	143
2a	5	7	100	5	7	43	9	438
2b	3	3	467	4	4	111	20	641
2c	9	9	450	5	7	133	220	1785
3a	100	53	11	**	**	6	1000	3365
3b	30	34	167	100	**	22	789	3268
3c	100	85	8	**	**	5	830	3353
4a	<1	<1	550	2	2	133	0.8	135
4b	<1	<1	350	<1	<1	83	<0.3	<76
4c	<1	<1	160	<1	<1	67	0.9	152
4d	3	2	50	1	1	50	0.3	89
4e	3	2	50	3	3	38	2	197
4f	<1	<1	150	<1	<1	100	0.4	109
4g	<1	<1	750	<1	<1	450	<0.3	<69
4h	<1	<1	550	<1	<1	333	<0.3	<78
4i	1	1	433	<1	<1	550	0.5	121
4j	3	3	500	3	3	600	1.5	146

* CV – кристаллический фиолетовый (действие на клеточные мембраны); МТТ – бромид 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-2Н-тетразолия (влияние на активность митохондриальных ферментов в клетке); NR – нейтральный красный; NO – степень генерирования NO, определенная и вычисленная по методике [33].

** Цитотоксический эффект отсутствует.

оказались малотоксичными соединениями (LD₅₀ ~3300 мг/кг), но в то же время были и неактивными или проявляли незначительную цитотоксичность по отношению к опухолевым клеткам НТ-1080 (LC₅₀ комплекса осмия **3b** – 30 мкг/мл).

Из метоксипроизводных ди(8-хинолил)дисульфида хорошая противоопухолевая активность и наилучшая селективность была обнаружена у 6-изомера [26]. Комплексы 6-метокси-8-хинолинтиола с родием (**4a**), осмием (**4b**), иридием (**4c**) и рутением (**4i**) тоже проявили высокую цитотоксичность к опухолевым клеткам НТ-1080 (LC₅₀ < 1 мкг/мл) и МГ-22А (LC₅₀ 1–2 мкг/мл), однако они все были и высокотоксичны по отношению к нормальным клеткам. Замена металла в комплексе не улучшила ситуацию: высокой цитотоксичностью (LC₅₀ < 1 мкг/мл) обладали комплексы индия (**4f**), сурьмы (**4g**) и висмута (**4h**), несколько меньшей (LC₅₀ < 1–3 мкг/мл) – комплексы меди (**4d**), кадмия (**4e**) и палладия (**4j**), но все они уже в низкой концентрации (LC₅₀ ~0.3 мкг/мл) вызывали гибель нормальных клеток.

Интересно отметить, что ряд комплексов сурьмы **4g**, висмута **4h**,

палладия **4j**, родия **4a**, иридия **1c** и **2c**, рутения **4i** и осмия (**2b** > **1b** > **4b**), обладающих высокой цитотоксичностью по отношению к опухолевым клеткам, заметно индуцировали образование в них оксида азота (табл. 2).

Таким образом установлено существенное влияние характера заместителя, его положения в хинолиновом кольце, а также природы металла на противоопухолевую активность и токсичность 8-хинолинтиолатов металлов. Все 6-метоксипроизводные **4** оказались не только высокоактивными по отношению к опухолевым клеткам, но и высокотоксичными для нормальных клеток, а 2-метоксипроизводные, наоборот, малотоксичными, но и малоактивными. Хорошей активностью обладают 3-метилпроизводные **1**, но и они высокотоксичны. 5-Метилпроизводные **2** несколько менее активны, но их меньшая токсичность может привести к лучшей селективности. Так, например, у комплекса иридия **2c** LC_{50} для нормальных клеток в 24–44 раза больше средней летальной концентрации для опухолевых клеток.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Элементные анализы выполнены с помощью анализатора Analyser CHN (Чехословакия).

Синтез 6-метокси-8-хинолинтиолатов металлов 4 (общая методика). Растворяют 0.1 г (0.39 ммоль) гидрохлорида 6-метокси-8-хинолинтиола [28] в 15 мл 80% этанола, приливают 5 мл ацетатного буферного раствора (pH 5) и при перемешивании прибавляют раствор соли металла в 5 мл воды: 0.04 г (0.1 ммоль) $(NH_4)_3[RhCl_6] \cdot H_2O$, 0.08 г (0.11 ммоль) K_2OsBr_6 , 0.05 г (0.1 ммоль) $(NH_4)_3[IrCl_6] \cdot H_2O$, 0.03 г (0.18 ммоль) $CuCl_2 \cdot 2H_2O$, 0.03 г (0.14 ммоль) $CdSO_4$, 0.07 г (0.14 ммоль) $In_2(SO_4)_3$, 0.04 г (0.12 ммоль) $K(SbO)C_4H_4O_6 \cdot 0.5H_2O$, 0.05 г (0.11 ммоль) $Bi(NO_3)_3 \cdot 5H_2O$, 0.04 г (0.11 ммоль) $K_2[Ru(H_2O)Cl_5]$, 0.03 г (0.17 ммоль) $PdCl_2$. В случае солей Rh, Os, Ir и Ru реакционную смесь нагревают 10 мин на водяной бане. Образовавшийся осадок 6-метокси-8-хинолинтиолатов **4** отфильтровывают, промывают водой, сушат на воздухе и перекристаллизовывают из хлороформа (табл. 1).

5-Метил-8-хинолинтиолаты металлов 2 (общая методика). В 2 мл конц. HCl растворяют 0.12 г (0.28 ммоль) ди(5-метил-8-хинолил)дисульфида [29], прибавляют 2 мл 50% раствора H_3PO_2 и нагревают на водяной бане 20 мин. К полученному раствору прибавляют 10 мл этанола, 4 мл насыщенного раствора ацетата натрия и при перемешивании раствор соли металла в 5 мл воды: 0.06 г (0.15 ммоль) $(NH_4)_3[RhCl_6] \cdot H_2O$, 0.12 г (0.16 ммоль) K_2OsBr_6 , 0.08 г (0.16 ммоль) $(NH_4)_3[IrCl_6] \cdot H_2O$. Реакционную смесь нагревают на водяной бане 10 мин. Образовавшийся осадок 5-метил-8-хинолинтиолатов **2** отфильтровывают, промывают водой, сушат на воздухе и перекристаллизовывают из хлороформа.

3-Метил-8-хинолинтиолаты металлов 1 получают из ди(3-метил-8-хинолил)дисульфида [30] по приведенной выше методике.

2-Метокси-8-хинолинтиолаты металлов 3 получают из ди(2-метокси-8-хинолил)дисульфида [31] по аналогичной методике.

Цитотоксичность соединений 1–4 (табл. 2) *in vitro* в отношении монослойных опухолевых клеток HT-1080 (фибросаркома человека) и MG-22A (гепатома мыши) и нормальных клеток NIH 3T3 (эмбриональные фибробласты мыши) определены на 96 луночных панелях с использованием красителей CV, MTT и NR по методике, описанной в [32]. Ожидаемую острую токсичность (LD_{50} , мг/кг) вычисляли по методу [27], используя полученные на культуре клеток 3T3 данные.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. B. Rosenberg, L. Vancamp, T. Krigas, *Nature*, **205**, 698 (1965).
2. E. Wong, C. M. Giandomenico, *Chem. Rev.*, **99**, 2451 (1999).
3. V. Brabec, J. Kasparkova, in: *Metallotherapeutic Drugs & Metal-Based Diagnostic Agents*, M. Gielen, E. R. T. Tiekink (Eds.), J. Willey & Sons, Ltd., Chichester, 2005, p. 489.
4. C. X. Zhang, S. J. Lippard, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **7**, 481 (2003).
5. K. R. Barnes, A. Kutikov, S. J. Lippard, *Chem. Biol.*, **11**, 557 (2004).
6. W. H. Ang, I. Khalaila, C. S. Allardyce, L. Juillerat-Jeanneret, P. J. Dyson, *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 1382 (2005).
7. P. J. Dyson, G. Sava, *Dalton Trans.*, 1929 (2006).
8. S. Top, A. Vessières, G. Leclercq, J. Quivy, J. Tang, J. Vaissermann, M. Huché, G. Jaouen, *Chem.-Eur. J.*, **9**, 5223 (2003).
9. C. S. Allardyce, A. Dorcier, C. Scola, P. J. Dyson, *Appl. Organomet. Chem.*, **19**, 1 (2005).
10. A. R. Timerbaev, C. G. Hartinger, S. S. Aleksenko, B. K. Kepler, *Chem. Rev.*, **106**, 2224 (2006).
11. M. Hogan, J. Claffey, C. Pampillón, R. W. G. Watson, M. Tacke, *Organometallics*, **26**, 2501 (2007).
12. R. E. Aird, J. Cummings, A. A. Ritchie, M. Muir, R. E. Morris, H. Chen, P. J. Sadler, D. I. Jodrell, *Brit. J. Cancer*, **86**, 1652 (2002).
13. L. Morbidelli, S. Donnini, S. Filippi, L. Messori, F. Piccioli, P. Orioli, G. Sava, M. Ziche, *Brit. J. Cancer*, **88**, 1484 (2003).
14. O. Lentzen, C. Moucheron, A. Kirsch-De Mesmaeker, in: *Metallotherapeutic Drugs & Metal-Based Diagnostic Agents*, M. Gielen, E. R. T. Tiekink (Eds.), J. Willey & Sons, Ltd., Chichester, 2005, p. 359.
15. C. Scolaro, A. Bergamo, L. Brescacin, R. Delfino, M. Cocchietto, G. Laurency, T. J. Geldbach, G. Sava, P. J. Dyson, *J. Med. Chem.*, **48**, 4161 (2005).
16. C. A. Vock, C. Scolaro, A. D. Phillips, R. Scopelliti, G. Sava, P. J. Dyson, *J. Med. Chem.*, **49**, 5552 (2006).
17. C. Scolaro, T. J. Geldbach, S. Rochat, A. Dorcier, C. Gossens, A. Bergamo, M. Cocchietto, I. Tavernelli, G. Sava, U. Rothlisberger, P. J. Dyson, *Organometallics*, **25**, 756 (2006).
18. C. A. Vock, W. H. Ang, C. Scolaro, A. D. Phillips, L. Lagopoulos, L. Juillerat-Jeanneret, G. Sava, R. Scopelliti, P. J. Dyson, *J. Med. Chem.*, **50**, 2166 (2007).
19. M. Galanski, V. B. Arion, M. A. Jakupec, B. K. Kepler, *Curr. Pharm. Des.*, **9**, 2078 (2003).
20. J. M. Redemaker-Lakhai, D. Van den Bongard, P. Pluim, J. H. Beijnen, J. H. M. Schellers, *Clin. Cancer Res.*, **10**, 3717 (2004).
21. A. Dorcier, W. H. Ang, S. Bolaño, L. Gonsaloi, L. Juillerat-Jeanneret, G. Laurency, M. Peruzzini, A. D. Phillips, F. Zanobini, P. J. Dyson, *Organometallics*, **25**, 4090 (2006).
22. Э. Лукевиц, И. Шестакова, И. Домрачева, А. Нестерова, Д. Зарума, Я. Ашакс, *ХГС*, 870 (2006). [*Chem. Heterocycl. Comp.*, **42**, 761 (2006)].
23. Э. Лукевиц, И. Шестакова, И. Домрачева, Э. Ященко, Д. Зарума, Я. Ашакс, *ХГС*, 755 (2007). [*Chem. Heterocycl. Comp.*, **43**, 634 (2007)].
24. Я. Ашакс, Ю. Банковский, Д. Зарума, И. Шестакова, И. Домрачева, А. Нестерова, Э. Лукевиц, *ХГС*, 905 (2004). [*Chem. Heterocycl. Comp.*, **40**, 776 (2004)].
25. Э. Лукевиц, И. Шестакова, И. Домрачева, А. Нестерова, Я. Ашакс, Д. Зарума, *ХГС*, 59 (2006). [*Chem. Heterocycl. Comp.*, **42**, 53 (2006)].

- XГС, 750 (2007). [*Chem. Heterocycl. Comp.*, **43**, 629 (2007)].
27. *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.
28. П. И. Брусиловский, *Изв. АН ЛатвССР, сер. хим.*, 454 (1970).
29. А. П. Стурис, В. Н. Пурмаль, Т. И. Дичко, Ю. А. Банковский, *Изв. АН ЛатвССР, сер. хим.*, 282 (1979).
30. А. П. Стурис, А. К. Стурис, В. Н. Пурмаль, Ж. П. Дергунова, Ю. А. Банковский, *Изв. АН ЛатвССР, сер. хим.*, 718 (1981).
31. Я. Э. Леейс, Ю. А. Банковский, А. Я. Бруверс, *Latv. J. Chem.*, 100 (1991).
32. E. Lukevics, L. Ignatovich, I. Sleiksha, V. Muravenko, I. Shestakova, S. Belyakov, J. Popelis, *Appl. Organometal. Chem.*, **20**, 454 (2006).
33. G. Veinberg, M. Vorona, I. Shestakova, I. Kanepe, O. Zharkova, R. Mezapuke, I. Turovskis, I. Kalvinsh, E. Lukevics, *Bioorg. Med. Chem.*, **8**, 1033 (2000).

Латвийский институт органического синтеза,
Рига LV-1006
e-mail: sinta@osi.lv

Поступило 21.02. 2008

^aИнститут неорганической химии РТУ,
Саласпилс LV-2169, Латвия
e-mail: nki@nki.lv
