

УДК 541.64:547.322:547.422:547.412.92

СИНТЕЗ И ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ 1-(1,1,1,3,3,3-ГЕКСАФТОР-2-ФЕРРОЦЕНИЛПРОП-2-ИЛ)-1Н-ИМИДАЗОЛА

А. А. Сименел^{1,2}, В. И. Дяченко^{1*}, С. М. Игумнов^{1,3}

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова РАН, РФ
119991, ГСП-1, Москва, В-334, ул. Вавилова, 28

²НИТУ«МИСиС», РФ, 119049, Москва, Ленинский пр., 2

³ЗАО НПО «ПиМ-Инвест», 119991, Москва, ул. Вавилова, 28
e-mail: vic-d.60@mail.ru

Аннотация: 1-(1,1,1,3,3,3-гексафтор-2-ферроценилпроп-2-ил)-1Н-имидазол (3) был синтезирован по 2 методикам: при взаимодействии 1,1,1,3,3,3-гексафтор-2-ферроценилпропан-2-ола с N, N-карбонилдиимидазолом (CDI) в кипящем толуоле и при нуклеофильном замещении хлора имидазолом в 1-(2-хлор-1,1,1,3,3,3-гексафторпроп-2-ил) ферроцене в присутствии KI. В экспериментах *in vivo* была изучена противоопухолевая активность на модели солидной опухоли карциномы Ca755.

Ключевые слова: ферроцен, имидазол, 1,1,1,3,3,3-гексафтор-2-ферроценилпропан-2-ол, 1-(2-хлор-1,1,1,3,3,3-гексафторпроп-2-ил)ферроцен, противоопухолевая активность.

Включение ферроценового фрагмента в структуру органических соединений часто приводит к появлению биологической активности, которая связана с аномальной биодegradацией ферроценовых соединений. Ферроценсодержащие гетероциклические соединения с успехом зарекомендовали себя в качестве потенциальных лекарственных средств для лечения заболеваний различного генезиса [1-3]. Кроме того, было показано, что ферроценовые производные гетероциклов проявляют выраженную противоопухолевую активность в сочетании с низкой токсичностью, что было показано *in vitro* и *in vivo* на моделях трансплантируемых солидных опухолей [4-6]. В то же время, введение фторсодержащих или перфторированных алкильных заместителей в биологически активные соединения, по-прежнему, является важным методом синтеза потенциальных лекарственных препаратов. Так, введение фтора в биологически активные соединения, приводит к увеличению их липофильности и улучшению проникновения через клеточную мембрану [7]. Включению их в метаболизм также способствует «эффект маскировки», связанный с

карбонилдимидазола соответствующий 1-(1,1,1,3,3,3-гексафтор-2-ферроценилпроп-2-ил)-1H-имидазол **3** образуется с выходом 71%.

Впервые полученный нами действием на карбинол **1** тионилхлорида, стабильный 1-(1,1,1,3,3,3-гексафтор-2-хлорпроп-2-ил)-ферроцен (**2**) [9] лег в основу второго метода синтеза соединения **3**. Суть его заключается в нуклеофильном замещении хлора имидазолом в присутствии незначительного избытка KI и *трет*-бутилата калия. Так, при кипячении исходных реагентов в безводном толуоле на протяжении 24 часов целевой 1-(1,1,1,3,3,3-гексафтор-2-хлорпроп-2-ил)-ферроцен образуется с выходом 73%.

Исследование *in vivo* острой токсичности и противоопухолевой активности 1-(1,1,1,3,3,3-гексафтор-2-ферроценилпроп-2-ил)имидазола (**3**) было проведено на мышах (модель солидной опухоли карцинома Са-755). Было показано, что соединение (**3**) обладает противоопухолевым эффектом против карциномы Са-755, вызывая ингибирование ее роста на 80% (**2**) по сравнению с контролем (**1**) (см. Рис.1).



Рис.1. Влияние 1,1,1,3,3,3-гексафтор-2-ферроценилпроп-2-ил)имидазола **3** на подавление развитие карциномы Са-755 (**2**); контроль (**1**)

Внешний вид животных, получавших препарат, их аппетит, активность, подвижность, поведенческие реакции, деятельность желудочно-кишечного тракта соответствовали норме и свидетельствовали о физически бодром, здоровом состоянии мышей.

Необходимо особо отметить, что соединение **3** при однократном пероральном введении в диапазоне доз 400-800 мг/кг не только хорошо переносится животными, но и вызывает значительное (67-98%) увеличение массы их тела в сравнении с контролем.

Наблюдаемая чувствительность карциномы Са-755 к соединению (**3**) при хорошей переносимости этого соединения животными (MD = 800 мг/кг), а также значительное

увеличение массы их тела, указывает на необходимость дальнейшего углубленного изучения механизма противоопухолевого действия и иных фармакологических свойств фторалкил содержащих ферроценов этого типа.

Экспериментальная часть

Спектры ЯМР ^1H , ^{13}C и ^{19}F зарегистрированы на спектрометре Bruker Avance 400 (при 400, 100 и 375 МГц соответственно) в DMSO-d_6 и CDCl_3 при 30°C . Химсдвиги в ПМР и ^{13}C спектрах приведены относительно остаточных протонов D-растворителя, химсдвиги в спектрах ЯМР ^{19}F - относительно $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$. Константы спин-спинового взаимодействия приведены в МГц. Масс-спектры электронного удара получены на спектрометре FINNIGAN POLARIS Q при 70 эВ и температуре ионной камеры 250°C . Температуру плавления определяли на приборе Stuart SMP 30 (Bibby Scientific). Коммерчески доступные имидазол и *N,N*-карбонилдимидазол (CDI) (Acros Organics) использовались без дополнительной очистки. 1,1,1,3,3,3-Гексафтор-2-ферроценилпропан-2-ол (**1**) и 1-(1,1,1,3,3,3-гексафтор-2-хлорпропил-2)ферроцен синтезировали по описанным ранее методикам [9].

Онкобиологическое изучение соединения формулы **3** проведено в Федеральном Государственном бюджетном учреждении науки Институте биохимической физики им. Н. М. Эмануэля Российской академии наук (ИБХФ РАН).

Синтез 1-(1,1,1,3,3,3-гексафтор-2-ферроценилпропил-2)-1H-имидазола (**3**)

Метод 1. Смесь 0,352 г 1,1,1,3,3,3-гексафтор-2-ферроценилпропан-2-ола (**1**) и 0,18 г (1,2 ммоль) 1,1-карбонилдимидазола кипятили в безводном толуоле в течение трех часов. Реакционную массу охладили, добавили 50 мл эфира и экстрагировали 20%-ным раствором фосфорной кислоты (2' 50 мл). Объединенные водные фракции подщелачивали до pH 5 и экстрагировали хлористым метиленом (2' 50 мл). Органическую часть сушили над безводным сернокислым натрием. Растворитель удаляли. Продукт очищали колоночной хроматографией на силикагеле, элюент – хлористый метилен. Получали 0,285 г соединения **3** в виде красно-коричневого масла, которое кристаллизуется при охлаждении, т.пл. $30-31^\circ\text{C}$. Выход 71%. $T_{\text{пл}}$ $30-31^\circ\text{C}$, Масс-спектр, m/z : (%): 402 (100) $[\text{M}]^+$, 335 (55) $[\text{M-Im}]^+$. ^1H ЯМР спектр, (δ , ppm): 4,03-4,29 (м, 9H, Fc), 4,61 (кв, 1H, CH) 7,11 (с, 1H, CH); 7,19 (с, 1H, CH); 7,47 (с, 1H, CH). ^{19}F ЯМР спектр, (δ , ppm): -7.31 (с). ^{13}C ЯМР спектр, (δ , ppm): 68.36 (Cp); 69.24 (Cp); 70.01 (Cp); 70.28 (кв, $^2J=31$); 79.68 (*ipso*-Cp); 118.65 (Im(C-4)); 119.05 (Im(C-5)); 121.71 (кв, CF_3 , $^1J = 287$); 136.25 (Im(C-2)). Вычислено $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{F}_6\text{FeN}_2$: C, 47.79; H, 3.01; F, 28.35; Fe, 13.89; N, 6.97. Найдено: C, 47.40; H, 3.07; Fe, 13.76; N, 6.70;

Метод 2. Смесь 0,370 г (1 ммоль) 1-[1,1,1,3,3,3-гексафтор-2-хлорпроп-2-ил]-ферроцена (**2**), 0,102 г (1,2 ммоль) имидазола, 0,135 г (1,2 ммоль) *трет*-бутилата калия и безводного йодида калия (0,12 ммоль) кипятили в безводном толуоле в течение суток. Реакционную массу охлаждали, растворитель удаляли, остаток хроматографировали на колонке (силикагель, элюент – хлористый метилен). После удаления растворителя в вакууме получали 0,294 г соединения (**3**) в виде красно-коричневого масла, которое кристаллизуется при охлаждении, т.пл. 30-31°C. Выход 73%. $T_{пл}$ 30-31°C, Масс-спектр, m/z : (%): 402 (100) $[M]^+$, 335 (55) $[M-Im]^+$.

Изучение противоопухолевой активности

1-(1,1,1,3,3,3-гексафтор-2-ферроценилпропил-2)-1H-имидазола (3).

Карциному 755 (Ca755) трансплантировали подкожно мышам f1 (C57Bl / 6xDBA2) - самцам BDF1 (60 животных) весом 20-22 г в соответствии со стандартной процедурой. Соединение (**3**) вводили на следующий день после трансплантации опухоли. Суточные дозы составляли 10,0 и 20,0 мг/кг. Масляный раствор (10 мг/мл) соединения (**3**) вводили внутрибрюшинно, начиная со следующего дня после трансплантации опухоли. Каждая группа включала от пяти до семи животных, включая контрольную группу животных. Кинетику роста опухоли изучали путем измерения ее размера в течение всего периода развития. Были измерены два размера опухоли, и объем опухоли был рассчитан как $V = ab^2/2$, где a - длина, а b - ширина и высота опухоли. Как оценивалось ранее, плотность опухолевой ткани равна 1,0 г/см³. Поэтому, масса опухоли в граммах равна объему опухоли в см³. Индекс торможения роста опухоли (ТРО) рассчитывали как $(C-T) / C, \%$, где C и T - средняя масса опухоли в группах контрольных и обработанных животных, соответственно.

Таким образом в экспериментах *in vivo* было показано, что соединение **3** обладает ярко выраженным противоопухолевым действием в отношении карциномы Ca-755, вызывая ингибирование роста на 80% по сравнению с контролем.

Изучение острой токсичности

1-(1,1,1,3,3,3-гексафтор-2-ферроценилпропил-2)-1H-имидазола (3).

Определение острой токсичности соединения **3** проводили при однократном пероральном введении интактным мышам линии BDF1 в диапазоне доз от 400 до 800 мг/кг. Соединение вводили животным в виде раствора в подсолнечном масле в концентрации 10 мг/мл. Объем вводимого перорально раствора соединения **3** колебался в зависимости от дозы в пределах от 0,8 мл до 1,6 мл.

В исследованном диапазоне доз соединение **3** не вызывало гибели животных при наблюдении за ними в течение одного месяца, что позволяет отнести его к разряду малотоксичных веществ.

Выводы

1. Взаимодействие 1,1,1,3,3,3-гексафтор-2-ферроценилпропан-2-ола с N,N-карбонилдиимидазолом (CDI) в кипящем толуоле, а также нуклеофильное замещение хлора имидазолом в 1-(2-хлор-1,1,1,3,3,3-гексафторпроп-2-ил)-ферроцене в присутствии KI приводит к образованию 1-(1,1,1,3,3,3-гексафтор-2-ферроценилпроп-2-ил)-1H-имидазола (**3**) с высокими выходами.

2. В экспериментах *in vivo* на интактных мышцах линии BDF1 было показано, что соединение **3** обладает противоопухолевым действием в отношении карциномы Ca-755, вызывая ингибирование ее роста на 80% в сравнении с контролем.

3. Низкая токсичность CF₃-содержащего ферроценилимидазола **3**, хорошая его переносимость животными, а также значительное (1,6-2 раза) увеличение массы их тела, что не характерно при терапии противоопухолевыми препаратами, свидетельствует о необходимости дальнейшего углубленного изучения этого типа соединений.

Благодарности

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации с использованием научного оборудования Центра исследования строения молекул ИНЭОС РАН им. А. Н. Несмеянова.

Список литературы

1. E. W. Neuse, *J. Inorg. Organomet. Polymer. Mater.* **2005**, 15 (1), 3.
2. V. N. Babin, Yu A. Belousov, V. I. Borisov, V. V. Gumenyuk, Yu. S. Nekrasov, L. A. Ostrovskaya, I. K. Sviridova, N. S. Sergeeva; A. A. Simenel and L. V. Snegur. *Russ. Chem. Bull.* **2014**, 63, 2405.
3. F. A. Larik, A. Saeed, T. A. Fattah, U. Muqadar, P. A. Channar. *Appl Organometal Chem.* **2017**, 31, 1.
4. L. V. Snegur, S.I. Zykova, A. A. Simenel, Y. S. Nekrasov, Z. A. Starikova, S. M. Peregudova, M.M. Ilyin, V.V. Kachala, I.K. Sviridova, N.S. Sergeeva. *Russ. Chem. Bull.* **2013**, 62, 2056.
5. L. V. Snegur, Yu. S. Nekrasov, N. S. Sergeeva, Zh V. Zhilina, V. V. Gumenyuk, Z. A. Starikova, A. A. Simenel, N. B. Morozova, I. K. Sviridova and V. N. Babin. *Appl. Organomet. Chem.* **2008**, 22, 139.

6. G. Jaouen, A. Vessières, S. Top. Chem. Soc. Rev. **2015**, 44, 8802.

7. Hans-Joachim Böhm, David Banner, Stefanie Bendels, Manfred Kansy, Bernd Kuhn, Klaus Müller, Ulrike Obst-Sander, and Martin Stahl, Fluorine in Medicinal Chemistry, *ChemBioChem* **2004**, 5, 637-643. DOI: 10.1002/cbic.200301023

8. R. Filler, in «Organofluorine Chemicals and Their Industrial Applications», ed. by R. E. Banks, Ellis Horwood, Ltd., Chichester, UK (**1979**), Chap. 6.

9. V. I. Dyachenko, A. S. Peregudov, I. V. Anan'ev, M. Yu. Antipin, Yu. S. Nekrasov, V. I. Sokolov, and S. M. Igumnov. *Russ. Chem. Bull.*, **2011**, 60, 764.