

Краткие сообщения

УДК 547.514.722:546.73

Синтез ацетилсалицилата кобальтоцения и исследование его взаимодействий с ДНК методом кругового дихроизма

Л. В. Снегур,^{a*} М. В. Каверин,^b К. К. Бабиевский^a

^aИнститут элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова Российской академии наук, Российская Федерация, 119991 Москва, ул. Вавилова, 28.

Факс: (499) 135 6549. E-mail: snegur@ineos.ac.ru

^bРоссийский химико-технологический университет им. Д. И. Менделеева, Российская Федерация, 125047 Москва, Миусская пл., 9

Впервые синтезирован и охарактеризован ацетилсалицилат кобальтоцения (**1**). Методом кругового дихроизма (КД) изучены концентрационные зависимости, наблюдаемые при взаимодействии соли **1** с ДНК. При добавлении в возрастающих концентрациях соли **1** к раствору ДНК тимуса теленка в спектрах КД зафиксировано изменение положения и уменьшение интенсивности кривых в положительной и отрицательной областях. Причиной этого являются локальные изменения в конформации ДНК, вызванные взаимодействием положительно заряженных металлоценовых катионов с фосфатными фрагментами ДНК.

Ключевые слова: соль кобальтоцения, синтез, ДНК, эффект Коттона, круговой дихроизм.

Кобальтоцен, $(C_5H_5)_2Co$, и его производные, в отличие от ферроцена, изучены в значительно меньшей степени. Соединения ферроцена с момента его открытия в 1951 г. и до настоящего времени, а особенно в течение последних двух десятилетий, находятся в зоне особого внимания благодаря разнообразным видам биологической активности и рассматриваются как потенциальные препараты для лечения малярии, туберкулеза, онкологических заболеваний^{1–15}. Кобальтоценовые соединения, напротив, только недавно стали объектами исследований в биологии, медицине и биоэлектродкатализе^{16–21}.

Вместе с тем кобальт, являясь биогенным металлом, выполняет важные функции в организме. Так,

природное соединение цианкобаламин (или витамин B_{12}), содержащее кобальт, участвует в синтезе гемоглобина и в трансметилировании аминокислоты гомоцистеин при синтезе метионина²².

Кроме того, липофильная металлоценовая структура способствует проникновению металлоценов сквозь клеточные и ядерные мембраны¹⁶. Недавно было установлено, что модифицированные кобальтоценом соединения способны преодолевать гематоэнцефалический барьер, т.е. переходить из кровяного русла в цереброспинальную жидкость костного мозга и головной мозг¹⁷. Однако систематические исследования соединений кобальтоцена в качестве биологически активных объектов практически не проводились.

Следует отметить, что по синтезу кобальтоценовых соединений собран достаточно обширный материал в одной из монографий под редакцией академика А. Н. Несмеянова²³. Недавно двумя группами исследователей разработаны подходы для получения таких ключевых кобальтоценовых (Csc^+) соединений, как $[\text{Csc-Br}]^+$, $[\text{Csc-NO}_2]^+$, $[\text{Csc-N}_3]^+$, $[\text{Csc-COOH}]^+$ и $[\text{Csc-NH}_2]^+$.^{24–27} На основе кобальтоценового фрагмента получен концептуально новый тип мезоионного карбена²⁸.

Обсуждение полученных результатов

Нами предложен доступный способ синтеза ацетилсалицилата кобальтоцения (**1**) путем окисления кобальтоцена ацетилсалициловой кислотой (схема 1). Этот метод позволяет быстро получать целевой продукт с приемлемым выходом в аналитически чистом виде. Следует отметить, что ранее были получены и описаны соли кобальтоцения с разнообразными анионами^{24–27,29,30}, но ацетилсалициловая кислота использована для окисления кобальтоцена впервые. Особо отметим, что эта кислота имеет высокую степень биодоступности за счет быстрой биотрансформации в активный метаболит — салицилат. Для ацетилсалициловой кислоты потенциал первого пика электровосстановления равен -0.50 В .³¹ Кобальтоцен используется как восстанавливающий агент в таких растворителях, как пентан, толуол, ТГФ ($E^0 \sim 1.3 \text{ В}$), превращаясь в кобальтоцений-катион, $[\text{CoCp}_2]^+$.³² Реакция кобальтоцена с ацетилсалициловой кислотой в ТГФ при комнатной температуре привела к образованию соли кобальтоцения **1**, которую выделили в аналитически чистом виде, но с невысоким выходом из-за хорошей растворимости.

Таким образом, в результате использования ацетилсалициловой кислоты в качестве окислителя впервые синтезирована соль кобальтоцения **1**, в которой роль аниона играет остаток этой биологически активной кислоты.

Методом кругового дихроизма (КД) нами было исследовано взаимодействие хорошо растворимой в воде соли **1** с ДНК тимуса телят. Известно, что ДНК не индифферентна к действию металлоорганических соединений. Так, ранее при изучении антипролиферативной (противораковой) активности ферроценовых соединений были обнаружены разрыв двой-

ной спирали ДНК при воздействии солей моно- и *симм*-диацетилферроцения³³ и ингибирование синтеза ДНК ферроценсодержащими производными аденина и бензотриазола^{34,35}.

Метод КД особенно эффективен для мониторинга изменений вторичной структуры ДНК, возникающих под действием условий окружающей среды^{36,37}. Он был успешно использован нами ранее для изучения энантиомерно обогащенных ферроцениламинов³⁸.

При добавлении водного раствора соли **1** (в возрастающих концентрациях) к раствору ДНК тимуса телят в 0.9%-ном водном растворе NaCl были получены концентрационные зависимости в спектрах КД (рис. 1). Спектр КД хиральной молекулы ДНК имеет вид синусообразной кривой (см. рис. 1, кривая 1). Добавление ахиральной соли **1** к раствору хиральной ДНК приводит к постепенному уменьшению интенсивности кривых спектра в положительной и отрицательной областях (см. рис. 1, кривые 2–6). Кроме того, максимумы и минимумы этих кривых также монотонно сдвигаются соответственно bathochromно и гипсоchromно. Наблюдаемая картина, по-видимому, обусловлена локальными изменениями конформации ДНК (формально являющейся полианионом), вызванными взаимодействием положительно заряженных металлоценовых катионов с отрицательно заряженными фосфатными фрагментами ДНК.

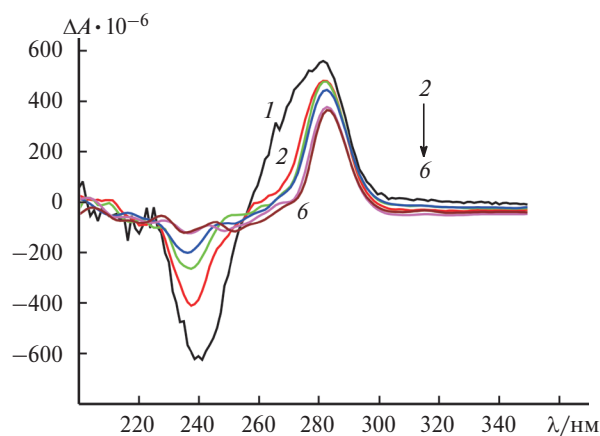
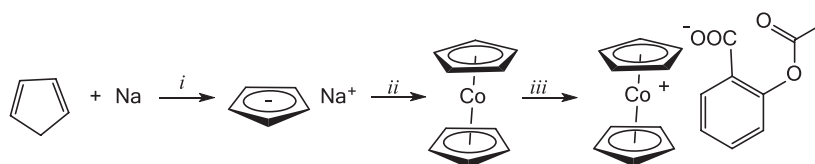


Рис. 1. Спектры КД, полученные при титровании раствора 5 мкМ ДНК (**1**) ацетилсалицилатом кобальтоцения **1** в возрастающих концентрациях (2–6) в 10 мМ фосфатном буфере физиологического раствора (pH 7.02), содержащем 10 ммоль · л⁻¹ KCl, 10 ммоль · л⁻¹ MgCl₂, 5 ммоль · л⁻¹ CaCl₂.

Схема 1



Реагенты и условия: i) ТГФ, 40 °С, 2 ч, аргон; ii) ТГФ, $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_2$, 1 ч, 40 °С, затем 3 ч, 60 °С, аргон; iii) ТГФ, ацетилсалициловая кислота, 22–25 °С, 10 мин, аргон.

Таким образом, обнаруженные эффекты, вызывающие конформационные изменения в ДНК, могут в дальнейшем прояснить механистические аспекты воздействия металлоорганических соединений на биологические мишени.

Экспериментальная часть

Кобальтоцен синтезирован в атмосфере аргона из свежеприготовленного циклопентадиенида натрия и хлорида гексаамминкобальта(II) ($[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_2$) в ТГФ при нагревании в течение 4 ч.³⁹ Т.пл. 173–174 °С. Выход 70%. Кристаллическое соединение темно-вишневого цвета, неустойчиво на воздухе. Кобальтоцен в кристаллическом виде может длительно храниться под аргоном при –20 °С.

Ацетилсалицилат кобальтоцена (1). К 2.85 г кобальтоцена (15.0 ммоль, 1.0 экв.) в 30 мл ТГФ в токе аргона при перемешивании добавили порциями 3.50 г ацетилсалициловой кислоты (19.0 ммоль, 1.3 экв.) в 150 мл ТГФ. Перемешивание продолжали в течение 5 мин. Раствор приобрел окраску желтого цвета. Затем реакционную смесь охлаждали в течение 12 ч. Выпавший осадок отфильтровали, промыли ТГФ и оставили в эксикаторе над CaCl_2 . Выход 35%. Порошок желтого цвета, т.пл. 128–130 °С. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3 , δ , м.д.): 2.19 (с, 3 H, CH_3); 5.63 (с, 10 H, Cc); 6.86 (т, 2 H, Ph, $J = 6.8$ Гц); 6.95 (д, 2 H, Ph, $J = 6.8$ Гц). Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , δ , м.д.): 17.85 (CH_3); 84.76 (C_5H_5); 93.12 (Ph); 99.43 (Ph); 105.91 (Ph); 116.84 (Ph); 118.44 (Ph, C(2)); 133.99 (Ph, C(1)); 156.75 (COO^-); 161.60 (CH_3COOAr). Найдено (%): C, 61.91; H, 4.65; Co, 16.4. $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{CoO}_4$. Вычислено (%): C, 61.97; H, 4.65; Co, 16.00. ИК-спектр (KBr), ν/cm^{-1} : 3127, 3108, 1701, 1638, 1586, 1487, 1458, 1415, 1364, 1253, 1141, 1114, 1094, 1011, 867, 760, 706, 652, 562, 498, 459.

Для титрования растворов ДНК готовили водные растворы соли **1**. В работе использовали высокомолекулярную ДНК тимуса теленка («Sigma», США). Комплексы с ДНК были получены при титровании растворов ДНК в 0.9%-ном растворе NaCl небольшими объемами растворов соли кобальтоцена **1**. Концентрация ДНК в комплексах составляла 60 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$.

Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C растворов комплекса **1** в CDCl_3 записаны на спектрометре «Bruker DRX-500» (^1H , 500.13 МГц; ^{13}C , 125.76 МГц) при 30 °С. Химические сдвиги приведены относительно остаточных протонов растворителя. ИК-спектры записаны на ИК-фурье-спектрофотометре «Bruker TЕМ37». Растворители очищены по стандартным методикам.

Элементный анализ выполнен в Лаборатории микроанализа ИНЭОС РАН.

Спектры КД получены при помощи автоматического регистрирующего дихрографа СКД-2 (совместная разработка Института молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН и Института спектроскопии РАН). Интенсивности экстремумов эффекта Коттона в спектрах КД калибровали по водному раствору D-10-камфорсульфоновой кислоты исходя из значения $\Delta\epsilon = 2.2 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ при 291 нм. Измерения проводили в кварцевой кювете толщиной 1 см при спектральном разрешении 3 нм и скорости сканирования 35 $\text{nm} \cdot \text{min}^{-1}$. Диапазон измерений спектра составлял от 200 до 400 нм. Значения КД на рисунке 1 приведены в виде разности в поглощении света (ΔA), соответствующего правой и левой поляризациям ($A = A_L - A_R$).

Строение полученных соединений изучено с использованием оборудования Центра исследования строения молекул ИНЭОС РАН.

Список литературы

1. E. W. Neuse, *J. Inorg. Organomet. Polym. Mater.*, 2005, **15**, 3.
2. G. Jaouen, *Bioorganometallics: Biomolecules, Labeling, Medicine*, Wiley-VCH, Weinheim, 2006, 465 p.
3. Л. В. Снегур, В. Н. Бабин, А. А. Сименел, Ю. С. Некрасов, Л. А. Островская, Н. С. Сергеева, *Изв. АН. Сер. хим.*, 2010, 2113 [L. V. Snegur, V. N. Babin, A. A. Simenel, Yu. S. Nekrasov, L. A. Ostrovskaya, N. S. Sergeeva, *Russ. Chem. Bull. (Int. Ed.)*, 2010, **59**, 2167].
4. C. Ornelas, *New J. Chem.*, 2011, **35**, 1973.
5. G. Gasser, I. Ott, N. Metzler-Nolte, *J. Med. Chem.*, 2011, **54**, 3.
6. G. Jaouen, A. Vessières, S. Top, *Chem. Soc. Rev.*, 2015, **44**, 8802.
7. P. Pigeon, Y. Wang, S. Top, F. Najlaoui, M. C. G. Alvarez, J. Bignon, M. J. McGlinchey, G. Jaouen, *J. Med. Chem.*, 2017, **60**, 8358; DOI: 10.1021/acs.jmedchem.7b00743.
8. G. M. Mague, J. Jakhil, M. Ladyman, A. Vallin, D. A. Ralambomanana, T. Bousquet, J. Maugein, J. Lebibi, L. Pélinski, *Eur. J. Med. Chem.*, 2011, **46**, 31.
9. В. Н. Куликов, Р. С. Никулин, А. Н. Родионов, Е. С. Бабусенко, В. Н. Бабин, Л. В. Коваленко, Ю. А. Белоусов, *Изв. АН. Сер. хим.*, 2017, 1122 [V. N. Kulikov, R. S. Nikulin, A. N. Rodionov, E. S. Babusenko, V. N. Babin, L. V. Kovalenko, Yu. A. Belousov, *Russ. Chem. Bull. (Int. Ed.)*, 2017, **66**, 1122]; DOI: 10.1007/s11172-017-1864-y.
10. F. A. Larik, A. Saeed, T. A. Fattah, U. Muqadar, P. A. Channar, *Appl. Organomet. Chem.*, 2017, **31**, e3664; DOI: 10.1002/aoc.3664.
11. В. Н. Бабин, Ю. А. Белоусов, В. И. Борисов, В. В. Гуменюк, Ю. С. Некрасов, Л. А. Островская, И. К. Свиридова, Н. С. Сергеева, А. А. Сименел, Л. В. Снегур, *Изв. АН. Сер. хим.*, 2014, 2405 [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, L. V. Snegur, *Russ. Chem. Bull. (Int. Ed.)*, 2014, **63**, 2405].
12. L. V. Popova, V. N. Babin, Y. A. Belousov, Y. S. Nekrasov, A. E. Snegireva, N. P. Borodina, G. M. Shaposhnikova, O. B. Bychenko, P. M. Raevskii, N. B. Morozova, A. I. Ilyina, K. G. Shitkov, *Appl. Organomet. Chem.*, 1993, **7**, 85.
13. L. V. Snegur, Yu. S. Nekrasov, N. S. Sergeeva, Z. V. Zhilina, V. V. Gumenyuk, Z. A. Starikova, A. A. Simenel, N. B. Morozova, I. K. Sviridova, V. N. Babin, *Appl. Organomet. Chem.*, 2008, **22**, 139.
14. A. A. Simenel, G. A. Dokuchaeva, L. V. Snegur, A. N. Rodionov, M. M. Ilyin, S. I. Zykova, L. A. Ostrovskaya, N. V. Bluchterova, M. M. Fomina, V. A. Rikova, *Appl. Organomet. Chem.*, 2011, **25**, 70.
15. L. V. Snegur, M. V. Lyapunova, D. D. Verina, V. V. Kachala, A. A. Korlyukov, M. M. Ilyin, Jr., V. A. Davankov, L. A. Ostrovskaya, N. V. Bluchterova, M. M. Fomina, V. S. Malkov, K. V. Nevskaya, A. G. Pershina, A. A. Simenel, *J. Organomet. Chem.*, 2018, 871, 10; DOI: 10.1016/j.jorganchem.2018.06.019.
16. F. Noor, A. Wüstholtz, R. Kinscherf, N. Metzler-Nolte, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 2005, **44**, 2429; DOI: 10.1002/anie.200462519.
17. A. Pinto, U. Hoffmann, V. Ott, G. Fricker, N. Metzler-Nolte, *ChemBioChem.*, 2009, **10**, 1852.
18. A. Maurer, H.-B. Kraatz, N. Metzler-Nolte, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2005, 3207.
19. R. Cai, R. D. Milton, S. Abdellaoui, T. Park, J. Patel, B. Alkotaini, S. D. Minter, *J. Amer. Chem. Soc.*, 2018, **140**, 5041.

20. M. Lauck, C. Förster, K. Heinze, *Organometallics*, 2017, **36**, 4968; DOI: 10.1021/acs.organomet.7b00790.
21. M. Lauck, C. Förster, D. Gehrig, K. Heinze, *J. Organomet. Chem.*, 2017, **847**, 33.
22. H. F. Bunn, B. G. Foget, *Hemoglobin: Molecular, Genetic, and Clinical Aspects*, Saunders Co, Philadelphia, 1986.
23. А. Н. Несмеянов, К. А. Кочешков, *Методы элементоорганической химии: кобальт, никель, платиновые металлы*, Наука, Москва, 1978, 783 с.
24. A. Wolter-Steingrube, B. E. C. Bugenhagen, C. Herrmann, J. Heck, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2014, **25**, 4115; DOI: 10.1002/ejic.201402443.
25. A. Wolter-Steingrube, K. Cordsen, J. Heck, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2017, 1314; DOI: org/10.1002/ejic.201601537.
26. S. Vanicek, H. Kopacka, K. Wurst, T. Müller, H. Schottenberger, B. Bildstein, *Organometallics*, 2014, **33**, 1152; DOI: 10.1021/om401120h.
27. S. Vanicek, H. Kopacka, K. Wurst, T. Müller, C. Hassenrück, R. Winter, B. Bildstein, *Organometallics*, 2016, **35**, 2101.
28. S. Vanicek, M. Podewitz, C. Hassenrück, M. P. Pittracher, H. Kopacka, K. Wurst, T. Müller, K. R. Liedl, R. F. Winter, B. Bildstein, *Chem. Eur. J.*, 2018, **24**, 3165; DOI: 10.1002/chem.201800147.
29. D. V. Zagorevskii, Y. S. Nekrasov, A. V. Malkov, E. V. Leonova, *J. Organomet. Chem.*, 1985, **284**, 109; DOI: org/10.1016/0022-328X(85)80016-4.
30. C. Degrand, B. Limoges, A. Gautier, R. L. Blankespoor, *Appl. Organomet. Chem.*, 1993, **7**, 233.
31. E. Wudarska, E. Chrzescijanska, E. Kusmieriek, *Port. Electrochim. Acta*, 2014, **32**, 295.
32. N. G. Connelly, W. E. Geiger, *Chem. Rev.*, 1996, **96**, 877.
33. H. Tamura, M. Miwa, *Chem. Lett.*, 1997, 1177; DOI: 10.1246/cl.1997.1177.
34. Л. В. Снегур, С. И. Зыкова, А. А. Сименел, Ю. С. Некрасов, З. А. Старикова, С. М. Перегудова, М. М. Ильин, В. В. Качала, И. К. Свиридова, Н. С. Сергеева, *Изв. АН. Сер. хим.*, 2013, 2056 [L. V. Snegur, S. I. Zyкова, A. A. Simenel, Yu. S. Nekrasov, Z. A. Starikova, S. M. Peregudova, M. M. Ilyin, V. V. Kachala, I. K. Sviridova, N. S. Sergeeva, *Russ. Chem. Bull. (Int. Ed.)*, 2013, **62**, 2056].
35. Л. В. Снегур, Ю. С. Некрасов, В. В. Гуменюк, Н. Б. Морозова, Ж. В. Жилина, И. К. Свиридова, И. А. Родина, Н. С. Сергеева, К. Г. Щитков, В. Н. Бабин, *Росс. хим. журн.*, 1998, **42**, 178 [L. V. Snegur, Yu. S. Nekrasov, V. V. Gumenyuk, N. B. Morozova, Zh. V. Zhilina, I. K. Sviridova, I. A. Rodina, N. S. Sergeeva, K. G. Shchitkov, V. N. Babin, *Mendeleev Chem. J. (Engl. Transl.)*, 1998, **42**, 151].
36. M. Vorlickova, I. Kejnovska, K. Bednarova, D. Renciuik, J. Kupr, *Chirality*, 2012, **24**, 691; DOI: 10.1002/chir.22064.
37. A. Y. Lebedeva, O. A. Fedorova, V. B. Tsvetkov, V. Y. Grinberg, N. V. Grinberg, T. V. Burova, A. S. Dubovik, K. K. Babievsky, Y. V. Fedorov, *Dyes Pigments*, 2018, **157**, 80.
38. К. К. Бабиевский, Т. Р. Качура, Е. Ю. Осипова, А. А. Сименел, Л. В. Снегур, *Изв. АН. Сер. хим.*, 2017, 1314 [K. K. Babievskii, T. R. Kachura, E. Yu. Osipova, A. A. Simenel, L. V. Snegur, *Russ. Chem. Bull. (Int. Ed.)*, 2017, **66**, 1314].
39. *Руководство по неорганическому синтезу*, под ред. Г. Брауэр, Мир, Москва, 1986, т. 6, с. 1961 [*Fieser and Fieser's Reagent for Organic Synthesis*, Wiley, 1986, **12**, p. 180].

Поступила в редакцию 17 апреля 2019;
после доработки — 7 июня 2019;
принята к публикации 3 июля 2019