

新型铂(II)类配合物的合成、表征和抗肿瘤活性

彭 娟^{1,2}, 胡 劲¹, 王庆琨², 普绍平^{2*}, 何 健², 廖云星², 张志荣²

(1. 昆明理工大学, 昆明 650093; 2. 昆明贵研药业有限公司, 昆明 650106)

摘 要: 合成了以甲胺/环戊胺为伴随基团, 分别以氯离子、1,1-环丁基二羧酸根和草酸根作为离去基团的 3 种新的铂(II)配合物。以顺-二碘-二环戊胺合铂(II)、硝酸银、甲胺、氯化钾、1,1-环丁基二羧酸钾和草酸钾为原料合成目标化合物。采用元素分析、质谱、核磁共振氢谱和红外光谱分析其组成和结构, 利用 MTT 体外检测法进行了初步的体外活性评价, 表明合成的 3 种化合物结构与理论一致, 具有一定的体外肿瘤生长抑制活性。

关键词: 有机化学; 铂配合物; 合成; 表征; 抗癌活性

中图分类号: O614.82⁺6 文献标识码: A 文章编号: 1004-0676(2013)03-0020-04

Synthesis, Characterization and Antitumor Activities of Platinum(II) Complexes

PENG Juan^{1,2}, HU Jing¹, WANG Qingkun², PU Shaoping^{2*}, HE Jian², LIAO Yunxing², ZHANG Zhirong²

(1. Kunming University of Science and Technology, Kunming 650093, China;

2. Guiyan Pharmaceutical Co. Ltd., Kunming 650106, China)

Abstract: Three kinds of mixed methylamine/cyclopentylamine platinum(II) complexes were obtained with chloride, cyclobutane-1,1-dicarboxylic acid and oxalic acid ions as leaving groups respectively. The title compounds were synthesized from *cis*-(C₅H₁₁N)₂PtI₂, silver nitrate, methylamine, potassium chloride, potassium cyclobutane-1,1-dicarboxylic, potassium oxalate monohydrate as raw materials. The complex structure and component were characterized by elemental analysis, ESI-MS, ¹H-NMR and IR, and the anticancer activities were measured by MTT method. The results showed that their structures were consistent with the title compounds and had inhibiting effects on the growth of tumor cell lines in vitro.

Key words: organic chemistry; platinum complex; synthesis; characterization; antitumor activity

癌症是一种严重威胁人类健康和生命的疾病, 目前治疗癌症主要有三大手段: 手术治疗、放疗和化疗, 对发生全身多处转移的恶性肿瘤只能依赖化疗。化疗的基础是化疗药物, 因此世界各国每年都投入大量人力物力和财力进行抗癌药物的研究。铂类抗癌药物由于其抗癌活性强, 作用谱较广, 作用机制独特, 与非铂类抗癌药物不产生交叉耐药性, 是目前抗癌药物研究的热门领域之一。顺铂是第一个被批准上市的铂抗癌药物, 已在临床上应用, 但

顺铂严重的毒副作用限制了其在临床上的广泛应用。此外, 一些肿瘤对顺铂有先天性或获得性耐药性, 也限制了其在临床上的应用。为克服顺铂的缺点近年来多种铂配合物被设计合成, 以期待得到具有更高生物活性的化合物。研究表明一些混胺为伴随基团的化合物的体外活性要高于顺铂, 毒性要低于顺铂, 以混胺为伴随基团的甲胺铂和赛特铂已经进入临床研究^[1-2]。

为提高抗肿瘤活性和避免交叉耐药性, 本文将

收稿日期: 2012-04-03

基金项目: 云南省科技条件平台建设项目(2010DH021)。

第一作者: 彭 娟, 女, 工程师, 研究方向: 铂类抗肿瘤药物的研究和开发。E-mail: ynpengjuan@163.com

*通讯作者: 普绍平, 男, 高级工程师, 研究方向: 铂类抗肿瘤药物的研究和开发。E-mail: pushaoping@163.com

甲胺/环戊胺为伴随基团, 分别以氯离子、1,1-环丁基二羧酸根和草酸根作为离去基团与铂配位, 设计合成了3种铂配合物, 并对其体外活性进行了初步评价。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Vario EL III 元素分析仪(德国 Elementar);

AutoSpec 3000 质谱仪(美国 Applied Biosystems); TJ270-30 型红外分光光度计(天津市光学仪器厂); Bruker DRX-500 核磁共振仪(德国 Bruker Biospin)。

顺-二碘-二环戊胺合铂(II)、硝酸银由昆明贵研药业有限公司提供; 其余试剂均为国产分析纯。

1.2 化合物的制备

设计合成的3种目标化合物的结构如图1所示, 合成路线如图2所示。

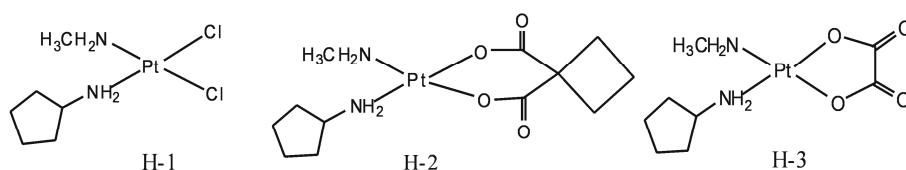


图1 标题化合物的分子结构

Fig.1 Single molecular structure of title compound

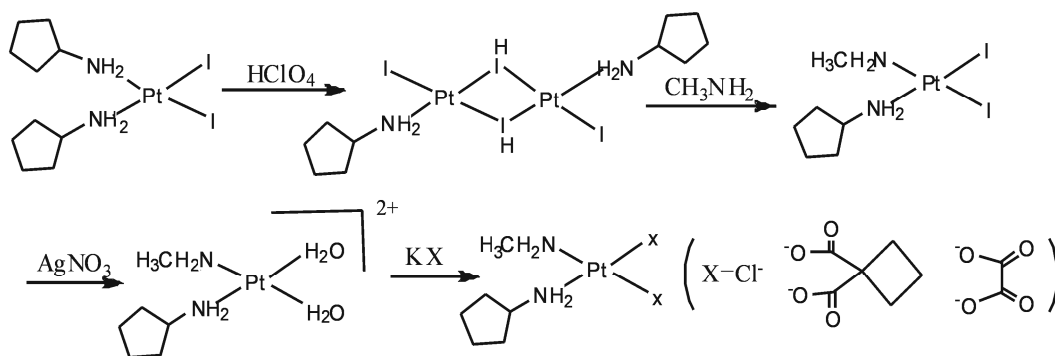


图2 标题化合物的合成路线

Fig.2 Synthesis of the title compound

1.2.1 I(环戊胺)Pt(u-I)₂Pt(环戊胺)I(II)的合成

称取 9.3 g (15 mmol)顺-二碘-二环戊胺合铂(II), 加入纯化水搅成悬浊液, 用 HClO₄ 调成强酸性, 在水浴 50℃下反应至浅黄色固体完全变为深棕色固体, 停止反应, 将得到的固体过滤, 用水洗至中性, 烘干, 得到 7 g 深棕色 I(环戊胺)Pt(u-I)₂Pt(环戊胺)I(II)固体。

1.2.2 顺式-二碘-甲胺, 环戊胺合铂(II)的合成

称取 I(环戊胺)Pt(u-I)₂Pt(环戊胺)I(II) 7 g (6.5 mmol), 用纯化水搅成悬浊液, 量取 10 mL 甲胺溶液稀释后, 加入到悬浊液中, 在室温下反应至深棕色固体完全变为黄色固体, 停止反应, 将得到的固体用水洗至中性, 烘干, 得到 6 g 黄色顺式-二碘-甲胺, 环戊胺合铂(II)固体。

1.2.3 目标化合物的合成

称取 3 份顺式-二碘-甲胺, 环戊胺合铂(II) 5.6 g (10 mmol), 分别用纯化水搅成悬浊液; 再称取 3 份 AgNO₃ 3.4 g (20 mmol), 分别用纯化水溶解加入到悬浊液中, 在水浴 60℃下反应 3 h, 过滤 AgI 后得到浅黄色水解溶液。

称取氯化钾 1.5 g (20.1 mmol), 溶解后加入到其中一份水解溶液中, 在室温下反应 1 h, 将得到的黄色固体烘干, 用水重结晶后得到 1.5 g 黄色化合物, 记为 H-1。

称取 1,1-环丁基二羧酸钾 2.2 g (10 mmol), 溶解后加入到另一份水解溶液中, 在室温下反应 3 h, 将得到的白色固体烘干, 用水重结晶后得到 1.7 g 化合物, 记为 H-2。

称取一水草酸钾 1.9 g (10.1 mmol), 溶解后加入到最后一份水解溶液中, 在室温下反应 2 h, 将得

到的白色固体烘干,用水重结晶后得到 1.1 g 化合物,记为 H-3。

2 结果与讨论

2.1 化合物的元素分析

3 种化合物的元素分析采用 Vario EL III 元素分析仪,分析结果见表 1。从表 1 可以看出 3 种化合物的 C、N 和 H 的含量分析结果与分子式的计算值符合较好。

表 1 化合物的元素分析结果

Tab.1 Element analysis results of the compounds

化合物	C/%	H/%	N/%	Pt/%
	理论值 /实际值	理论值 /实际值	理论值 /实际值	理论值 /实际值
H-1	18.85	4.19	7.33	51.05
(C ₆ H ₁₆ N ₂ Cl ₂ Pt)	/18.56	/3.89	/7.10	/50.99
H-2	31.79	4.86	6.18	43.05
(C ₁₂ H ₂₂ N ₂ O ₄ Pt)	/31.51	/4.49	/5.89	/42.99
H-3	24.06	4.01	7.02	48.87
(C ₈ H ₁₆ N ₂ O ₄ Pt)	/23.83	/3.54	/6.84	/48.75

2.2 化合物的质谱分析

3 种化合物的质谱分析采用 AutoSpec 3000 质谱仪,以水为溶剂,测得的 ESI-MS (m/z)数据: H-1, 405, [M+Na]⁺; H-2, 476, [M+Na]⁺; H-3, 422, [M+Na]⁺。测得的数据与标题化合物计算的分子理论值一致。

2.3 化合物的 ¹H 核磁共振(¹H-NMR)分析

3 种化合物的 ¹H-NMR 分析采用 Bruker DRX-500 核磁共振仪(DMSO, 500MHz),从分析结果可以看出,不同环境的 H 在 ¹H-NMR 图中都有清楚的体现,具体归属如下:

H-1, 1.47~1.54, m, 4H, 环戊胺的 CH₂CH₂CH₂CH₂; 1.63~1.66, d, 2H, 环戊胺的 CHHCH(NH₂)CHH; 1.93~1.98, m, 2H, 环戊胺的 CHHCH(NH₂)CHH; 2.24~2.26, m, 3H, 甲胺的 CH₃NH₂; 3.25~3.35, m, 1H, 环戊胺的 CH₂CH(NH₂)CH₂; 4.75~4.85, m, 4H, 2NH₂。

H-2, 1.48, s, 4H, 环戊胺的 CH₂CH₂CH₂CH₂; 1.63~1.65, d, 4H, 环戊胺的 CH₂CH₂CH₂CH₂; 1.96~1.97, d, 2H, 1,1-环丁基二羧酸的 CH₂CH₂CH₂; 2.14~2.16, m, 3H, 甲胺的 CH₃NH₂; 2.64~2.67, m, 4H, 1,1-环丁基二羧酸的 CH₂CH₂CH₂; 3.05~3.08,

m, 1H, 环戊胺的 CH₂CH(NH₂)CH₂; 4.91~4.92, d, 4H, 2NH₂。

H-3, 1.48, s, 4H, 环戊胺的 CH₂CH₂CH₂CH₂; 1.64, s, 2H, 环戊胺的 CHHCH(NH₂)CHH; 1.93~1.94, d, 2H, 环戊胺的 CHHCH(NH₂)CHH; 2.16~2.18, m, 3H, 环戊胺的 CH₃NH₂; 3.04~3.07, m, 1H, 环戊胺的 CH₂CH(NH₂)CH₂; 5.03~5.04, d, 2H, 甲胺的 CH₃NH₂; 5.18~5.19, d, 2H, 环戊胺的 CH₂CH(NH₂)CH₂。

2.4 化合物的红外光谱分析

化合物的红外光谱分析采用 TJ270-30 型红外分光光度计,化合物 H-1、H-2、H-3 分别在 3254 cm⁻¹、3267 cm⁻¹、3248 cm⁻¹ 附近出现的强峰为 V_{N-H} 伸缩振动峰,与游离的 V_{NH}/V_{NH₃} 进行比较,发生了红移,表明胺与 Pt²⁺ 发生了配位,分别在 480 cm⁻¹、463 cm⁻¹、4.97 cm⁻¹ 附近出现了 V_{Pt-N} 伸缩振动,进一步证实了 Pt²⁺ 与甲胺/环戊胺配位。化合物 H-2 和 H-3 分别在 1620 cm⁻¹ 和 1370 cm⁻¹、1616 cm⁻¹ 和 1364 cm⁻¹ 附近出现了 2 个强吸收峰,为羧酸根离子的反对称伸缩振动 V_{as(COO)} 与对称伸缩振动 V_{s(COO)} 峰,且 ΔV(V_{as(COO)}-V_{s(COO)}) 在 238~318 cm⁻¹ 范围内,表明有机酸中的羧基以单齿形式与铂离子配合,分别在 590 cm⁻¹ 和 578 cm⁻¹ 附近出现了 V_{Pt-O} 伸缩振动,进一步证实了 Pt²⁺ 与有机酸的羧基配位。

2.5 体外活性初步评估

采用 MTT^[3] 法测定化合物的体外活性。接种细胞:用含 10% 胎牛血清的培养液(DMEM 或者 RPMI1640)配成单个细胞悬液,以每孔 5000~10000 个细胞接种到 96 孔板,每孔体积 100 μL,贴壁细胞提前 12 h 接种培养。加入待测化合物溶液(固定浓度 40 μmol/L 初筛,在该浓度对肿瘤细胞生长抑制在 50% 附近的化合物设 5 个浓度进入梯度复筛),每孔终体积 200 μL,每种处理均设 3 个复孔。显色:37℃ 培养 48 h 后,每孔加 MTT 溶液 20 μL,继续孵育 4 h,终止培养,吸弃孔内培养上清液,每孔加 200 μL 的 SDS 溶液(10%),过夜孵育(温度 37℃),使结晶物充分溶解。比色:选择 595 nm 波长,酶联免疫检测仪(Bio-Rad 680)读取各孔光吸收值,记录结果,以浓度为横坐标,细胞存活率为纵坐标绘制细胞生长曲线,应用两点法(Reed and Muench 法)计算化合物的半抑制率 IC₅₀/μm 值。顺铂和 3 种标题化合物 H-1、H-2 和 H-3 的肝癌(SMMC-7721)、肺癌(A-549)、乳腺癌(MCF-7)和结肠癌(SW480)细胞株的 IC₅₀/μm 值见表 2。从结果可以看出,3 种铂配

合物对部分被测细胞株的 IC_{50} 值小于 $40\ \mu\text{m}$, 具有一定的体外肿瘤生长抑制活性。

表 2 化合物的体外抗肿瘤活性(IC_{50}) $/\mu\text{m}$

Tab.2 The antitumour activity of the title compound in vitro

(IC_{50})	$/\mu\text{m}$			
化合物	SMMC-7721	A-549	MCF-7	SW480
顺铂	5.58	8.55	13.42	12.10
H-1	24.04	28.44	39.78	>40
H-2	35.42	>40	>40	>40
H-3	39.01	27.89	34.78	>40

3 结论

本文设计并制备了 3 种新的铂配合物, 其结构主要特点为: 以甲胺/环戊胺的混胺结构作为伴随基团, 以氯离子、1,1-环丁基二羧酸根和草酸根作为离去基团。合成的化合物采用元素分析、质谱、核磁共振氢谱和红外光谱分析了其组成和结构, 结果

表明合成的化合物结构与标题化合物一致。

体外抗肿瘤活性数据显示: 在选用的 4 个细胞株中, 3 种铂配合物对部分被测细胞株的 IC_{50} 值小于 $40\ \mu\text{m}$, 具有一定的体外肿瘤生长抑制活性。

参考文献:

- [1] Plasencia C, Abad A, Martinez-Balibrea E, et al. Antiproliferative effects of ZD0473 (AMD473) in combination with 5-fluorouracil or SN38 in human colorectal cancer cell lines[J]. Invest New Drugs, 2004, 22(4): 398-409.
- [2] Doshi G, Sonpavde G, Sternberg C N. Clinical and pharmacokinetic evaluation of satraplatin[J]. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2012, 8(1): 103-111.
- [3] 汤为学, 骆云鹏, 王瑞雪. 人实体瘤抗癌药物敏感试验 MTT 法的建立[J]. 重庆医科大学学报, 1992, 17(2): 103-108.
Tang W X, Luo Y P, Wang R X. Establishment of MTT method for testing anticancer drug sensitivity on human tumor[J]. J Chongqing Med Univ, 1992, 17: 103-108.

(上接第 19 页)

- synthesize ZnO nanoparticles[J]. Materials Letters, 2008, 62(8): 1339-1341.
- [2] Anandan S, Vinu A, Sheeja Lovely K L P, et al. Photocatalytic activity of La-doped ZnO for the degradation of monocrotophos in aqueous suspension[J]. Journal of Molecular Catalysis A: Chemical, 2007, 266(1): 149-157.
 - [3] Height M J, Pratsinis S E, Mekasuwandumrong O, et al. Ag-ZnO catalysts for UV-photodegradation of methylene blue[J]. Applied Catalysis B: Environmental, 2006, 63(3): 305-312.
 - [4] Wu J J, Tseng C H. Photocatalytic properties of nc-Au/ZnO nanorod composites[J]. Applied Catalysis B: Environmental, 2006, 66(1): 51-57.
 - [5] Chai S Y, Kim Y J, Jung M H, et al. Heterojunctioned BiOCl/Bi₂O₃, a new visible light photocatalyst[J]. Journal of Catalysis, 2009, 262(1): 144-149.
 - [6] Baiqi W, Liqiang J, Yichun Q, et al. Enhancement of the photocatalytic activity of TiO₂ nanoparticles by surface-capping DBS groups[J]. Applied Surface Science, 2006, 252(8): 2817-2825.
 - [7] Lu Y, Zeng J, Hu W, et al. Improved photocatalytic performance of SiO₂-TiO₂ prepared with the assistance of SDBS[J]. Journal of Molecular Catalysis A: Chemical, 2012, 357: 101-105.