

## 顺式-甲基丙二酸-二氨合铂(II)的合成、表征及抗癌活性

朱泽兵<sup>1</sup>, 王庆琨<sup>1</sup>, 徐红花<sup>2</sup>, 普绍平<sup>1\*</sup>, 丛艳伟<sup>1</sup>, 贝玉祥<sup>1</sup>, 黄天俊<sup>1</sup>, 缪祥宏<sup>1</sup>

(1. 昆明贵研药业有限公司 云南省铂族金属抗肿瘤药物工程技术研究中心, 昆明 650106;

2. 云南省药物研究所, 昆明 650111)

**摘要:** 为合成新的铂配合物顺式-甲基丙二酸-二氨合铂(II), 以顺式二碘-二氨合铂(II)为起始原料, 先后与硝酸银和甲基丙二酸反应合成目标化合物。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, 采用 MTT 法对配合物进行了初步的体外活性评价。结果显示合成的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; 甲基丙二酸; 合成; 抗癌活性

中图分类号: O627.8 文献标识码: A 文章编号: 1004-0676(2013)04-0040-03

### Synthesis, Characterization and Antitumor Activity of *Cis*-diammine (methylmalonato)platinum(II)

ZHU Zebing<sup>1</sup>, WANG Qingkun<sup>1</sup>, XU Honghua<sup>2</sup>, PU Shaoping<sup>1\*</sup>, CONG Yanwei<sup>1</sup>,  
BEI Yuxiang<sup>1</sup>, HUANG Tianjun<sup>1</sup>, MIAO Xianghong<sup>1</sup>

(1. Yunnan Engineering and Technology Center of Platinum-based Anti-tumor Drug, Kunming Guiyan Pharmaceutical Co. Ltd., Kunming 650106, China; 2. Yunnan Institute of Materia Medica, Kunming 650111, China)

**Abstract:** *Cis*-diammine (methylmalonato)platinum(II), a platinum anticancer compound, was synthesized via the reaction of *cis*-diiododiaminoplatinum(II) with silver nitrate and characterized by elemental analysis, ESI-MS, <sup>1</sup>H-NMR and IR. The *in vitro* anticancer activity was measured by MTT method. The results showed that its structure was consistent with the title compound and had inhibitory effect on the growth of tumor cell lines.

**Key words:** organic chemistry; platinum complex; methylmalonic acid; synthesis; antitumor activity

1967年美国生理学家Rosenberg B教授发现顺铂具有抗肿瘤活性后, 至今顺铂已经成为世界上用于治疗癌症最为广泛的药物之一<sup>[1-2]</sup>。尽管顺铂的应用是成功的, 但同时也存在许多缺点, 如严重的肾、神经损伤和恶心呕吐等毒副作用; 有的癌种天生对顺铂就耐受, 而有的癌种首次使用顺铂后即对其产生耐药性, 这些缺点限制了顺铂更广泛的使用<sup>[3]</sup>。为克服顺铂的缺点, 各国科学工作者合成了3000多种铂配合物, 并对其抗肿瘤活性进行了筛选。从铂

类配合物的发展来看, 由Cleare和Hoeschele提出的铂类抗癌配合物的结构-活性关系规则是几十年来铂类抗癌配合物设计合成的主要理论依据, 而且从目前进入临床阶段和已经在少数国家批准上市的铂类配合物的化学结构来看, 大部分配合物也符合这一构型。本文参考这个设计规则合成了一种铂配合物, 以氨为伴随基团, 以甲基丙二酸为离去基团, 并采用MTT法对其体外活性进行初步评价。

收稿日期: 2013-03-20

基金项目: 云南省重点科技计划项目(2010DH021)。

第一作者: 朱泽兵, 男, 工程师, 研究方向: 铂类抗肿瘤药物生产与研究。E-mail: zhu99726@chinaren.com

\*通讯作者: 普绍平, 男, 博士, 教授级高级工程师, 研究方向: 铂族金属抗肿瘤药物研究与开发。E-mail: Pushaoping@163.com

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

恒温磁力搅拌器; 旋转蒸发仪; JY/T 017-1996型元素分析仪; TJ270-30型红外分光光度计; Auto Spec 3000 质谱仪; Bruker DRX-500 核磁共振仪。

顺式-二碘-二氨合铂(II)(以下简称碘铂, 由昆明贵研药业有限公司提供);  $\text{AgNO}_3$ 、 $\text{NaOH}$ 、甲基丙二酸、无水乙醇均为分析纯。

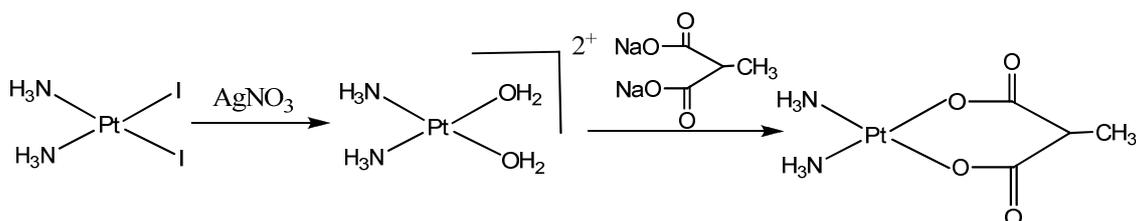


图2 标题化合物的合成路线

Fig.2 Synthetic route of the title compound

称取 4.8 g (10 mmol) 碘铂用水搅成悬浊液, 置于恒温磁力搅拌器上加热至  $60^\circ\text{C}$ , 称取 3.4 g (20 mmol) 硝酸银用水溶解后加入到碘铂的悬浊液中, 在水浴  $60^\circ\text{C}$  下搅拌反应 3 h, 过滤除去  $\text{AgI}$  沉淀后得到浅黄色透明溶液。浅黄色透明溶液置于恒温磁力搅拌器上继续加热至  $60^\circ\text{C}$ 。

称取 1.2 g (10 mmol) 甲基丙二酸用水溶解后, 滴加 5% 的氢氧化钠溶液调节溶液  $\text{pH} = 7\sim 8$ , 滴加到上述浅黄色透明溶液中, 反应 1 h 后, 将得到的沉淀过滤烘干, 得 2.1 g 类白色结晶性粉末, 产率 61.8%。用水重结晶后烘干得到 0.8 g 白色结晶性粉末, 产率 38.1%。经高温失重检测合成产物中铂的质量分数为 56.43% (理论值为 56.52%)。

## 2 结果与讨论

### 2.1 合成化合物的元素分析

合成化合物的元素分析结果见表 1, 从表 1 可以看出化合物的 C、N 和 H 的含量分析结果与分子式  $\text{N}_2\text{H}_6\text{PtC}_4\text{H}_4\text{O}_4$  的理论值符合得较好。

表 1 合成化合物的元素分析结果

Tab.1 Elemental analysis result of the compound

测定元素	C	N	H
理论值/%	13.91	8.12	2.90
测量值/%	13.95	7.49	3.26

### 1.2 顺式-甲基丙二酸-二氨合铂(II)的合成

标题化合物分子结构见图 1, 合成路线见图 2。

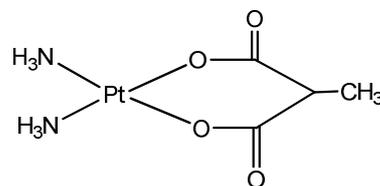


图 1 标题化合物的分子结构

Fig.1 Molecular structure of the title compound

### 2.2 合成化合物的质谱分析

以甲醇为溶剂, 测得合成化合物的 ESI-MS( $m/z$ ) 数据为 368 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ), 数据与标题化合物的理论分子量 (345) 一致。

### 2.3 合成化合物的 $^1\text{H-NMR}$ 分析

合成化合物的  $^1\text{H-NMR}$  分析结果见表 2, 从结果可以看出甲基丙二酸不同环境的 H 在  $^1\text{H-NMR}$  图中都有清楚的体现。

表 2 合成化合物的  $^1\text{H-NMR}$  数据

Tab.2  $^1\text{H-NMR}$  data of the compound

化学位移 $\delta/\text{ppm}$	归属的 H 原子
0.89~0.90 /m	甲基丙二酸中的 $\text{CH}_3$
3.71~3.75 /d	甲基丙二酸中的 $\text{CCH}(\text{CH}_3)\text{C}$

### 2.4 合成化合物的红外光谱分析

合成化合物在  $3232\text{ cm}^{-1}$  附近出现的强峰为 N-H 的伸缩振动峰, 较游离的  $V_{\text{NH}}/V_{\text{NH}_3}$  发生了红移, 表明氨与  $\text{Pt}^{2+}$  发生了配位, 在  $564\text{ cm}^{-1}$  附近出现了  $V_{\text{Pt-N}}$  伸缩振动, 进一步证实了 Pt(II) 与氨配位。化合物在  $1616\text{ cm}^{-1}$  和  $1304\text{ cm}^{-1}$  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  $V_{\text{as}(\text{COO})}$  与对称伸缩振动  $V_{\text{s}(\text{COO})}$  峰, 且  $\Delta V(V_{\text{as}(\text{COO})-\text{s}(\text{COO})})$  在  $238\sim 318\text{ cm}^{-1}$  范围内, 表明甲基丙二酸中的羧基以单齿形式与铂离子配位, 在  $596\text{ cm}^{-1}$  附近出现了  $V_{\text{Pt-O}}$  伸缩振动, 进一步证实了 Pt(II) 与甲基丙二酸的羧基配位。

## 2.5 体外活性初步评估

采用 MTT<sup>[4]</sup>法测定合成化合物的体外活性。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  $\mu\text{L}$ ，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  $\mu\text{mol/L}$  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  $\mu\text{L}$ ，每种处理均设 3 个复孔。显色：37 摄氏度培养 48 h 后，每孔加 MTT 溶液 20  $\mu\text{L}$ 。继续孵育 4 h，终止培养，吸弃孔内培养上清液，每孔加 200  $\mu\text{L}$  的 SDS 溶液(10%)，过夜孵育(温度 37 $^{\circ}\text{C}$ )，使结晶物充分融解。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  $\text{IC}_{50}$  ( $\mu\text{m}$ )值。对白血病(HL-60)、肝癌(SMMC-7721)、肺癌(A-549)、乳腺癌(MCF-7)、结肠癌(SW480)细胞株的  $\text{IC}_{50}$  ( $\mu\text{m}$ )值见表 3。从表 3 可以看出，化合物对白血病细胞株(HL-60)的  $\text{IC}_{50}$  值小于 40  $\mu\text{m}$ ，具有一定的体外肿瘤生长抑制活性。

表 3 合成化合物的体外抗肿瘤活性 /( $\text{IC}_{50}$ ,  $\mu\text{m}$ )

化合物	HL-60	SMMC -7721	A-549	MCF-7	SW480
顺铂	1.00	15.98	11.58	25.61	26.85
合成化合物	13.18	>40	>40	>40	>40

## 3 结论

(1) 采用元素分析、质谱、核磁共振氢谱和红外光谱等现代仪器分析手段对合成的化合物顺式-

甲基丙二酸-二氨合铂(II)进行了结构表征，结果表明合成的化合物结构与标题化合物一致。

(2) 采用 MTT 法测定了合成化合物对 HL-60、SMMC-7721、A-549、MCF-7、SW480 细胞株的体外抗肿瘤活性，研究结果表明合成化合物对白血病(HL-60)细胞株的  $\text{IC}_{50}$  值小于 40  $\mu\text{m}$ ，具有较强的体外肿瘤生长抑制活性。

## 参考文献:

- [1] 崔凯, 王联红, 陈永江, 等. 铂类抗肿瘤配合物的研究进展[J]. 无机化学学报, 2005, 21(8): 1115-1121.  
Cui Kai, Wang Lianhong, Chen Yongjiang, et al. Recent developments on platinum antitumor complexes[J]. Chinese Journal of Inorganic Chemistry, 2005, 21(8): 1115-1121.
- [2] 郭今心, 孙思修, 王慧才. 抗肿瘤铂配合物的研究进展[J]. 无机化学学报, 2002, 18(2): 125-129.  
Guo Jinxin, Sun Sixiu, Wang Huicai. Current development in antitumor platinum complexes[J]. Chinese Journal of Inorganic Chemistry, 2002, 18(2): 125-129.
- [3] 王伸勇, 张荣久, 张奕华, 等. 铂类抗肿瘤药物的研究现状[J]. 药学进展, 2004, 28(6): 253-257.  
Wang Shenrong, Zhang Rongjiu, Zhang Yihua, et al. Current status of antitumor coordination compounds of platinum[J]. Progress in Pharmaceutical Sciences, 2004, 28(6): 253-257.
- [4] 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 Weixue, Luo Yunpeng, Wang Ruixue. Determination of anticancer drug sensitivity test by the MTT colorimetric assay for human solid tumors[J]. Journal of Chongqing Medical University, 1992, 17(2): 103-108.