

顺式-水杨酸-(反式-(-)-1,2-环己二胺)合铂(II)的合成、表征及抗肿瘤活性

朱泽兵¹, 金全¹, 徐红花², 普绍平^{1*}, 王庆琨¹, 李学杰¹, 温志寿¹, 王蒙¹

(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: 用顺式-二碘-(反式-(-)-1,2-环己二胺)合铂(II)先后与硝酸银和水杨酸反应, 制备得到新的铂配合物顺式-水杨酸-(反式-(-)-1,2-环己二胺)合铂(II)。采用元素分析、质谱、核磁共振氢谱和红外光谱等方法分析了其组成和结构, 采用SRB比色法对配合物进行了初步体外活性评价。结果显示合成的化合物结构与理论一致, 化合物对肺癌细胞株(A549)和口腔表皮样癌细胞株(KB)的IC₅₀值分别为2.3和3.1 μg/mL。

关键词: 有机化合物; 铂配合物; 水杨酸; 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(2014)01-0056-03

Synthesis, Characterization and Antitumor Activities of Cis-salicylic acid-[trans-(-)-1,2-cyclohexanediamine] Platinum(II)

ZHU Zebing¹, JIN Quan¹, XU Honghua², PU Shaoping^{1*}, WANG Qingkun¹,
LI Xuejie¹, WEN Zhishou¹, WANG Meng¹

(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: In order to obtain a salicylic acid platinum complex, the title compound was synthesized from (1R,2R)-1,2-cyclohexanediamine-N,N' platinum(II) diiodide by reacting with silver nitrate and salicylic acid. The complex structure and component were characterized by elemental analysis, ESI-MS, ¹H-NMR and IR, and the anticancer activity was measured by SRB method. The results showed that its structure was consistent with the title compound and the IC₅₀ value was 2.3 and 3.1 μg/mL against A549 and KB cell lines.

Key words: organic compound; platinum complex; salicylic acid; synthesis; antitumor activity

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^[1-2]。顺铂是第一个被批准上市的铂抗癌药物, 广泛应用于临床。但顺铂严重的毒副作用限制了其在临床上的应用。此外, 一些肿瘤对顺铂有先天性或获得性的耐药性, 也限制了其在临床上更广泛的应用。靶向给

药是降低药物毒性、提高疗效和克服其耐药性的最有效的方法之一, 而脂质体是其中比较成熟的靶向给药体系, 我国已经开展了较系统的研究^[3-5]。近几年来, 对铂配合物的研究范围更为广泛, 科研工作者们尝试着用包括混胺类、吡啶类、硫醚类等多类基团与铂配位制备化合物, 并进行活性评价, 以寻求疗效高、毒性低、能克服交叉耐药性的新型铂类

收稿日期: 2013-10-28

基金项目: 云南省重点科技计划项目(2010DH021)。

作者简介: 朱泽兵, 男, 工程师, 主要从事铂类抗肿瘤药物的生产与研究。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开发。E-mail: Pushaoping@163.com

抗癌药物^[6-9]。

水杨酸是医药、香料、染料、橡胶助剂等精细化学品的重要原料,在医药工业,水杨酸本身用作消毒防腐药,用于局部角质增生及皮肤霉菌感染。水杨酸具有脂溶性,为使合成的药物具有脂溶性,本文将水杨酸作为离去基团与铂配位,合成了一种新的化合物,并对其体外活性进行了初步评估。

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。

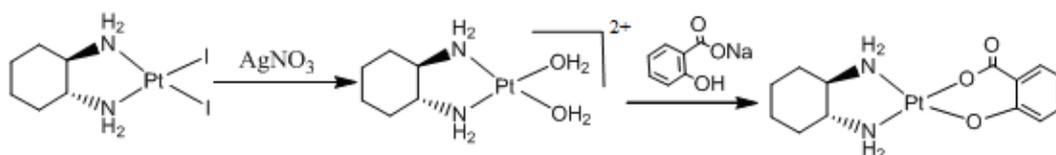


图 2 标题化合物的合成路线

Fig.2 Synthesis of the title compound

称取 5.6 g (10 mmol)环铂,用水搅成悬浊液,置于恒温磁力搅拌器上加热至 60℃,称取 3.4 g (20 mmol)硝酸银用水溶解后加入到环铂的悬浊液中,在水浴 60℃下搅拌反应 3 h,过滤除去 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℃。

称取 1.4 g (10 mmol)水杨酸,用水搅成悬浊液,滴加 5%的氢氧化钠溶液至水杨酸完全溶解,并调节溶液的 pH=7~8。将此溶液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,得到 1.9 g 类白色结晶性粉末(产率为 43.2%)。用无水乙醇和二甲基甲酰胺($V_1:V_2=2:8$)的混合溶剂重结晶后烘干得到 0.5 g 白色结晶性粉末(产率为 26.3%)。经高温失重检测铂的质量分数为 43.13%(理论值为 43.82%)。

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 $C_6N_2H_{14}PtC_7H_4O_3$ 的理论值符合较好。

顺式-二碘-(反式-(-)-1,2-环己二胺)合铂(II)(以下简称环铂)由昆明贵研药业有限公司提供; $AgNO_3$ 、NaOH、水杨酸、无水乙醇均为分析纯。

1.2 顺式-水杨酸-(反式-(-)-1,2-环己二胺)合铂(II)的合成

标题化合物的结构见图 1,合成路线见图 2。

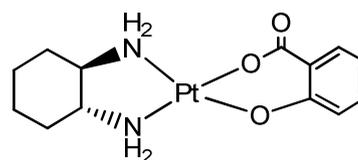


图 1 标题化合物的分子结构

Fig.1 Single molecular structure of title compound

表 1 合成化合物的元素分析结果

Tab.1 Element analysis result of the compound

测定元素	C	N	H
理论值 /%	35.06	6.29	4.04
测量值 /%	34.81	6.09	3.87

2.2 合成化合物的质谱(MS)分析

以甲醇为溶剂,测得合成化合物的 ESI-MS(m/z)数据为 468($[M+Na]^+$),与标题化合物的理论分子量(445)一致。

2.3 合成化合物的核磁共振氢谱(1H -NMR)分析

合成化合物的 1H -NMR 分析结果见表 2。从表 2 可以看出不同环境的 H 在 1H -NMR 图中都有清楚的体现。

2.4 合成化合物的红外光谱(IR)分析

合成化合物的红外光谱分析结果见表 3。表 3 中 3272 cm^{-1} 处的 ν_{N-H} 证明了氨基的存在, 1612 cm^{-1} 处有 $\nu_{as(C=O)}$ 产生,在 1388 cm^{-1} 和 1316 cm^{-1} 处有 $\nu_{s(C=O)}$ 产生, ν_{Pt-O} 的吸收峰在 532 cm^{-1} 处。红外光谱分析结果表明所得化合物的结构与目标化合物一致。

表 2 合成化合物的 $^1\text{H-NMR}$ 数据Tab.1 The $^1\text{H-NMR}$ data of the compound

化学位移 $\delta / 10^{-6}$	归属的 H 原子
0.89~0.90(m)	环己二胺中的 $\text{CH}_2\text{CHHCHHCH}_2$
1.20~1.21(d)	环己二胺中的 $\text{CH}_2\text{CHHCHHCH}_2$
1.48~1.49(d)	环己二胺中的 $\text{CHHCH}_2\text{CH}_2\text{CHH}$
1.87~1.88 (d)	环己二胺中的 $\text{CHHCH}_2\text{CH}_2\text{CHH}$
2.13(s)	环己二胺中的 $\text{CH}(\text{CH}_2)_4\text{CH}$
5.27~5.30(d)	2 NHH
5.54~5.56 (d)	2 NHH
6.71~6.72(d)	水杨酸中的 $\text{CHC}(\text{O})$
6.97~6.98(d)	水杨酸中的 $\text{CHCHCH}(\text{CO})$
7.13~7.14(m)	水杨酸中的 $\text{CHCHCH}(\text{COO})$
7.68~7.69(m)	水杨酸中的 $\text{CHC}(\text{COO})$

表 3 合成化合物的红外光谱数据

Tab.3 The IR data of compound

吸收峰 $/\text{cm}^{-1}$	谱带归属	强度*	官能团
3272	$\nu_{\text{N-H}}$	M	氨基
1612	$\nu_{\text{as}(\text{C}=\text{O})}$	S	羰基
1388, 1316	$\nu_{\text{S}(\text{C}=\text{O})}$	M/S	羰基
1644, 1480	$\nu_{\text{C}=\text{C}}$	M	苯环
1248, 1148	$\nu_{\text{C}-\text{O}}$	M	酚羟基
1032	$\beta_{\text{C}-\text{H}}$	W	苯环
864, 816, 760, 700	$\nu_{\text{C}-\text{H}}$	W/M	苯环
532	$\nu_{\text{Pt}-\text{O}}$	W	

*强度: S-强, M-中, W-弱。

2.5 合成化合物体外活性初步评估

采用 SRB 显色法^[10]测定合成化合物对肺癌细胞株(A549)和口腔表皮样癌细胞株(KB)的抑制作用,以奥沙利铂为阳性对照品,作用时间 72 h。药物浓度分别为 100、50、10、5、1、0.5、0.1、0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 共 8 组,观察在不同浓度下对肿瘤细胞生长的抑制情况,根据疗效评价计算抑制率及 IC_{50} 值结果见表 4。从表 4 可以看出,样品对 A549 及 KB 细胞的 IC_{50} 值均小于奥沙利铂。

表 4 合成化合物的体外抗肿瘤活性(IC_{50})Tab.4 The antitumour activity (IC_{50}) of the title compound

in vitro		
化合物	A549 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	KB($\mu\text{g}/\text{mL}$)
奥沙利铂	8.1	3.8
合成化合物	2.3	3.1

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 SRB 比色法测定了合成化合物对 A549 和 KB 细胞株的体外抗肿瘤活性,研究结果表明合成化合物对 A549 和 KB 细胞株的 IC_{50} 值分别为 2.3 和 3.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 具有明显的抗肿瘤活性。

参考文献:

- [1] Shamsuddin S, Van Hal J W, Stark J L, et al. Synthesis and characterization of novel axial dichloroplatinum(IV) cisplatin analogues: Crystal structure of an axial dichloro complex $[\text{Pt}(\text{cis-1,4-DACH})(\text{trans-Cl}_2)(\text{CBDCA})] \cdot 1/2\text{MeOH}$ [J]. *Inorganic Chemistry*, 1997, 36(25): 5969-5971.
- [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 J, Sun S, Wang H. Current development in antitumor platinum complexes[J]. *Chinese Journal of Inorganic Chemistry*, 2002, 18(2): 125-129.
- [3] 王庆琨, 普绍平, 栾春芳, 等. 铂类抗肿瘤药物米铂的合成及结构表征 [J]. *中国新药杂志*, 2011, 20(17): 1715-1717.
Wang Q, Pu S, Luan C, et al. Synthesis and structural characterization of miriplatin, a platinum-based anti-tumor drug[J]. *Chinese Journal Of New Durgs*, 2011, 20(17): 1715-1717.
- [4] 王庆琨, 普绍平, 朱泽兵, 等. 抗肿瘤药米铂的一种新合成方法及结构表征 [J]. *中国药物化学杂志*, 2011, 21(3): 213-215.
Wang Q, Pu S, Zhu Z, et al. A new synthetic method and characterization of miriplatin, an antitumor drug[J]. *Chinese Journal of Medicinal Chemistry*, 2011, 21(3): 213-215.
- [5] 王庆琨, 普绍平, 朱泽兵, 等. 抗肿瘤药米铂的合成工艺改进 [J]. *中国药物化学杂志*, 2012, 22(1): 36-37.
Wang Q, Pu S, Zhu Z, et al. Improved synthesis of miriplatin, an antitumor drug[J]. *Chinese Journal of Medicinal Chemistry*, 2012, 22(1): 36-37.

(下转第 62 页)