

((R)-(-)-1,2-丙二胺)(1,3-丙二酸)合铂(II)的 合成、表征及抗肿瘤活性研究

丛艳伟¹, 陈 宏^{1,2}, 栾春芳¹, 白忻劼¹, 普绍平^{1*}

(1. 昆明贵研药业有限公司, 昆明 650106; 2. 昆明贵金属研究所, 昆明 650106)

摘 要: 以 1,2-丙二胺为起始原料, 经手性拆分得到 R-(-)-1,2-丙二胺, 再同氯亚铂酸钾、碘化钾、硝酸银、1,3-丙二酸钠等物质反应, 制成((R)-(-)-1,2-丙二胺)(1,3-丙二酸)合铂(II), 通过元素分析、红外光谱、核磁共振等对其进行化学结构确证, 结果表明所合成产品同理论一致, 并进行初步体外活性评价, 表明该化合物对于肺癌 A-549 及白血病 HL-60 肿瘤细胞有一定活性。

关键词: 药物化学; 1,2-丙二胺; 铂配合物; 合成; 表征; 抗肿瘤活性

中图分类号: O627.8, R979.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0676(2014)04-0026-04

Synthesis, Characterization and Anticancer Activity of ((R)-(-)-1,2-diaminepropane)(1,3-malonate) Platinum(II)

CONG Yanwei¹, CHEN Hong^{1,2}, LUAN Chunfang¹, BAI Xinjie¹, PU Shaoping^{1*}

(1. Kunming Guiyan Pharmaceutical Co. Ltd., Kunming 650106, China;

2. Kunming Institute of Precious Metals, Kunming 650106, China)

Abstract: (R)-(-)-1,2-diaminepropane was obtained by rotation resolution of 1,2-diaminepropane as the starting material, and then was reacted with potassium tetrachloroplatinate, potassium iodide, silver nitrate, sodium 1,3-malonate to produce ((R)-(-)-1,2-diaminepropane)(1,3-malonate) platinum(II). Elemental analysis, infrared and nuclear magnetic resonance were used to characterize its chemical structure. Preliminary *in vitro* anticancer test showed that the complex was active against A-549 and HL-60 cancer cell line.

Key words: medicinal chemistry; 1,2-diaminepropane; platinum complex; synthesis; characterization; anticancer activity.

铂类抗肿瘤药物是肿瘤化疗药物的重要组成部分, 近年来一直是世界肿瘤化疗药物的研究热点之一^[1-2]。手性药物近年来发展迅猛, 含有手性基团的有机胺、羧酸同铂配位成为新型铂类药物开发的主要方向, 已上市的 7 个铂类抗肿瘤药物中稍晚上市的奥沙利铂、舒铂、络铂^[3-5]均为含有手性基团的药物, 在抗肿瘤活性、毒副作用以及克服同顺铂交叉耐药等方面均有良好表现。本文选取 1,2-丙二胺为

起始原料, 经手性拆分得到 R-(-)-1,2-丙二胺, 其化学结构如图 1 所示。

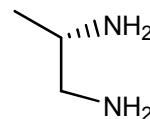


图 1 (R)-(-)-1,2-丙二胺的化学结构

Fig.1 Chemical structure of (R)-(-)-1,2-diaminepropane

收稿日期: 2013-11-20

基金项目: 昆明市重点科技计划项目(昆科计字 2012-03-01-B-H-04-0006)。

作者简介: 丛艳伟, 男, 硕士, 工程师, 研究方向: 新型铂类及有机类抗肿瘤药物的研发。E-mail: congyanwei2011@163.com

*通讯作者: 普绍平, 男, 博士, 教授级高工, 研究方向: 新型铂类抗肿瘤药物的研发。E-mail: pushaoping@163.com

将 R-(-)-1,2-丙二胺与氯亚铂酸钾、碘化钾、硝酸银、1,3-丙二酸钠等物质反应, 采用图 2 所示工艺路线, 合成了一个新结构铂配合物——((R)-(-)-1,2-丙二胺)(1,3-丙二酸)合铂(II) (以下简称目标化

合物, 如图 2 式 1 所示), 通过元素分析、红外光谱、核磁共振谱、质谱等仪器分析手段确证其化学结构, 并进行了初步体外抗肿瘤活性研究。

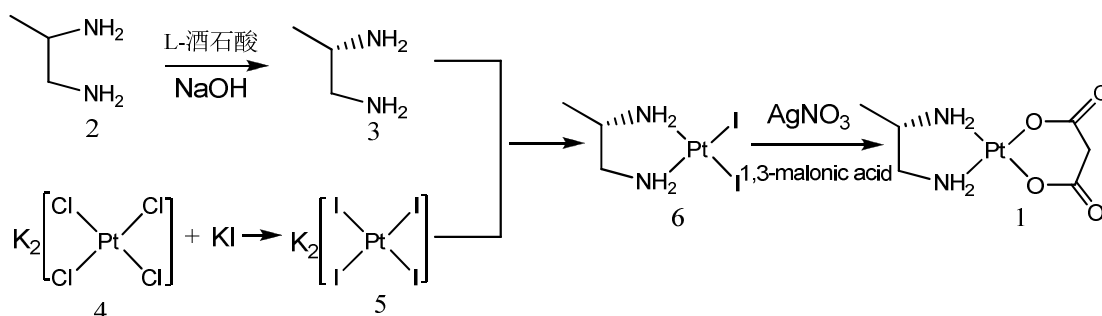


图 2 目标化合物的合成路线

Fig.2 Synthetic route of the object complex

1 实验

1.1 仪器与试剂

仪器: DF101S 磁力搅拌器, 巩义裕华; Vario ELIII 元素分析仪, 德国 Elementar; TJ270-30 型红外分光光度计, 天津市光学仪器厂; DRX-500 核磁共振分析仪, 德国 Bruker。

试剂: 1,2-丙二胺、L-酒石酸、西亚试剂, 纯度>99.0%; 自制氯亚铂酸钾、硝酸银, 纯度>99%; 氢氧化钠、碘化钾和二氯甲烷, 分析纯, 天津市风船化学试剂科技有限公司; 碘化钾、氯化钾、无水硫酸镁, 分析纯, 上海申博化工试剂有限公司。

1.2 (R)-(-)-1,2-丙二胺的制备

取 1,2-丙二胺 100 g、L-酒石酸 405.4 g, 分别以适量水溶解, 混合生成白色沉淀, 混合搅拌 1 h 后, 过滤沉淀, 以水、乙醇各洗 1 次, 干燥后以水重结晶, 滤出沉淀, 水洗 1 次, 60℃干燥, 称重 359.6 g, 收率 69.46%。

全部产品与 6 mol/L 的 NaOH 溶液在常温下搅拌反应 1 h, 终点为反应液 pH≈7, 以二氯甲烷萃取 3 次, 水相废弃, 有机相以无水硫酸镁干燥。滤除硫酸镁得(R)-(-)-1,2-丙二胺 (图 2 式 3, 以下简称产物 3)的二氯甲烷溶液。

1.3 顺式-二碘((R)-(-)-1,2 丙二胺)合铂(II)的制备

取 K₂PtCl₄ (图 2 式 4) 15 g, 以约 100 mL 水溶解, 水浴加热至 60℃, 取 KI 25.2 g, 水浴后加到 K₂PtCl₄ 的溶液中得到 K₂PtI₄ (图 2 式 5), 取产物 3

的二氯甲烷溶液约 500 mL, 滴加至反应液中, 约 1 h 滴完, 反应液 pH=9~10, 滴完后反应 1.5 h, 反应液 pH≈8, 生成棕黄色沉淀, 过滤, 滤饼水洗数次至滤出液 pH=6~7, 无水乙醇洗一次, 滤饼 80℃干燥, 得到顺式-二碘((R)-(-)-1,2 丙二胺)合铂(II) (图 2 式 6, 以下简称产物 6), 称重 15.9 g, 收率 84.12%, Pt%=37.93% (理论值 37.28%)。

1.4 合成((R)-(-)-1,2-丙二胺)(1,3-丙二酸)合铂(II)

取 8.1 g 产物 6 于烧杯中, 加入 150 mL 水搅拌均匀并水浴加热至 80℃, 取 AgNO₃ 5.0 g, 水溶后加入烧杯中, 恒温搅拌 40 min, 滤除 AgI 沉淀, 得淡黄色清亮溶液, 将溶液加热至 80℃。

取 1,3-丙二酸钠 2.8 g, 水溶后加入上述黄色溶液中, 恒温搅拌 2 h, 过滤生成的白色沉淀, 滤饼水洗 3 次, 无水乙醇洗 1 次, 80℃干燥称重得 3.6 g 白色结晶性粉末即为目标化合物顺式-二碘((R)-(-)-1,2 丙二胺)合铂(II), 收率 62.53%。

1.5 重结晶

将 1.4 所得白色结晶粉 3.5 g 置于烧杯中, 加入沸水 400 mL, 快速溶解、过滤不溶物, 滤液转移至冰水浴中, 快速搅拌, 析出白色沉淀, 过滤沉淀, 滤饼水洗 3 次, 无水乙醇洗 3 次, 80℃干燥, 得白色结晶性粉末 2.0 g, 重结晶收率 57.14%。

1.6 初步体外抗肿瘤活性实验

按文献[6]的方法进行体外抗肿瘤活性实验, 具体操作为:

(1) 接种细胞: 用含 10%胎牛血清的培养液配成单个细胞悬液, 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, 每孔终体积 200 μL , 每种处理均设 3 个复孔。

(2) 显色: 37℃ 培养 48 h 后, 吸弃孔内培养上清液, 每孔加 MTS 溶液 20 μL 以及培养液 100 μL 。继续孵育 1~4 h, 使反应充分进行。

(3) 比色: 选择 490 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 IC_{50} 值。

2 结果和讨论

2.1 元素分析

采用 Vario EL III 元素分析仪进行化合物的元素分析, 分析结果见表 1。从表 1 可以看出化合物的 C、N、H 和 Pt 的含量分析与目标化合物顺式-二碘((R)-(-)-1,2 丙二胺)合铂(II)分子式的理论计算值符合较好。

表 1 目标化合物的元素分析结果

Tab.1 Elemental analysis data of the object complex				
测定元素	C	N	H	Pt
测定值/%	19.72	7.17	3.53	52.54
理论值/%	19.41	7.55	3.23	52.28

2.2 核磁共振分析

参考本课题组前期工作^[7]的方法进行了核磁共振谱图解析。目标化合物的氢核磁共振(^1H -NMR, DMSO, DRX500)测定结果列数值及归属为: CH_3 : δ 1.14 (t); NH : δ 2.00 (s); DMSO: δ 2.63 (s); CH_2NH : δ 2.68 (t); CH : δ 3.13 (m); CH_2CO : δ 3.23 (s)。

目标化合物的碳核磁共振(^{13}C -NMR, DMSO, DRX500)测定结果数值及归属为: CH_3 : δ 22.82; CH_2CO : δ 36.15; DMSO: δ 39.00~39.83; CH_2 : δ 41.33; CH : δ 43.18; CO : δ 169.52。

2.3 红外光谱分析

目标化合物的红外光谱见图 3 (KBr 压片, 波数范围: 4000~400 cm^{-1}), 参考本课题组前期工作^[8]的方法进行谱图解析, 结果列于表 2。

表 2 目标化合物的红外光谱分析结果

Tab.2 IR analysis results of the object complex				
吸收峰/ cm^{-1}	归属	强度	官能团	
3176	ν_{NH}	S	胺基	
3096	ν_{CH}	S	烷基	
1660	$\nu_{\text{C=O}}$	S	羰基	
1380	$\nu_{\text{C-O}}$	S	羧基	
1300	$\nu_{\text{C-C}}$	M	丙二胺	
1108	$\nu_{\text{C-N}}$	M	丙二胺	
684	$\nu_{\text{Pt-O}}$	W	—	
604	$\nu_{\text{Pt-N}}$	W	—	

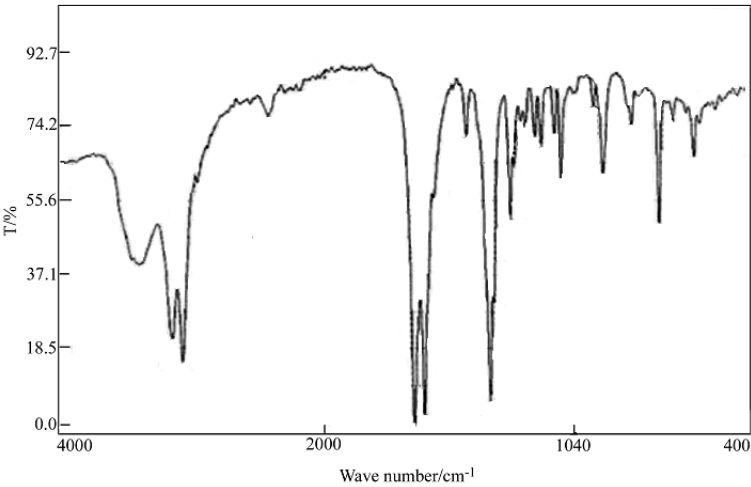


图 3 目标化合物的红外光谱图
Fig.3 IR spectrum of the object complex

2.4 初步体外抗肿瘤活性

目标化合物及阳性对照物对5株不同肿瘤细胞株的 IC_{50} 实验数据见表3。

表3 目标化合物初步体外抗肿瘤活性 ($IC_{50}/(\mu\text{mol/L})$)

Tab.3 Half maximal inhibitory concentration (IC_{50}) of the object complex against cancer cell lines

化合物	白血病 HL-60	肝癌 SMMC-7721	肺癌 A549	乳腺癌 MCF-7	结肠癌 SW480
目标化 合物	25.6	42.5	22.6	62.6	40.3
顺铂	1.11	4.80	5.82	14.02	16.84
紫杉醇	<0.008	<0.008	<0.008	<0.008	<0.008

表3结果表明,目标化合物对于白血病HL-6及肺癌A549肿瘤细胞株有一定活性,对于肝癌SMMC-7721、乳腺癌MCF-7、结肠癌SW480等肿瘤细胞株活性较差。

3 结论

合成了一个含(R)-(-)-1,2-丙二胺、1,3-丙二酸的手性铂配合物,元素分析、红外光谱、核磁共振等分析结果表明合成的化合物同理论结构相同,初步体外活性评价结果表明,该化合物对白血病HL-60、肺癌A549细胞株有一定活性,对于肝癌SMMC-7721等其他肿瘤细胞株活性较差。

参考文献:

- [1] Boretti A, Leone R, Muggia F M, et al. Platinum and Other Heavy Metal Compound in Cancer Chemotherapy Molecular Mechanisms and Clinical Application[M]. Humana Press, 2012.
- [2] 陈亿新, 刘天穗, 刘汝峰, 等. 手性药物技术与展望[J].

广州大学学报: 自然科学版, 2002, 1(1): 39-43.

Chen Y, Liu T, Liu R, et, al. Chirotechnology and advances of chiral drug[J]. Journal of Guangzhou University: Natural Science Edition, 2002, 1(1): 39-43.

- [3] Testa B. Mechanism of chiral recognition in xenobiotic metabolism and drug receptor interactions[J]. Chirality, 1989, 1(1): 7-9.
- [4] Yokoo S, Masuda S, Yonezawa A, et al. Significance of organic cation transporter 3 (SLC22A3) expression for the cytotoxic effect of oxaliplatin in colorectal cancer[J]. Drug Metabolism and Disposition, 2008, 36(11): 2299-2306.
- [5] Lee J W, Park J K, Lee S H, et al. Anti-tumor activity of heptaplatin in combination with 5-fluorouracil or paclitaxel against human head and neck cancer cells in vitro[J]. Anti-cancer Drugs, 2006, 17(4): 377-384.
- [6] Hilgard P, Voegeli R, Zechel H J, et al. Characterization of D-19466 a new platinum complex with anticancer efficacy[J]. Journal of Cancer Research and Clinical Oncology, 1990, 116(S1): 1(427).
- [7] 朱泽兵, 金全, 徐红花, 等. 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[J]. 贵金属, 2014, 35(1): 56-59.
Zhu Z, Jin Q, Xu H, et al. Synthesis, characterization and antitumor activities of cis-salicylicacid-[trans-(-)-1,2-cyclohexanediamine] platinum(II)[J]. Precious Metals, 2014, 35(1): 56-59.
- [8] 朱泽兵, 王庆琨, 徐红花, 等. 顺式-甲基丙二酸-二氨合铂(II)的合成、表征及抗癌活性[J]. 贵金属, 2013, 34(4): 40-42.
Zhu Z, Wang Q, Xu H, et al. Synthesis, characterization and antitumor activity of cis-diamine(methylmalonato) platinum(II)[J]. Precious Metals, 2013, 34(4): 40-42.