

## 甲基丙二酸-(反式-1,2-二甲氨基环丁烷)合铂(II) 的合成、结构及抗肿瘤活性

李 军<sup>1,2</sup>, 丛艳伟<sup>2</sup>, 张林涛<sup>2</sup>, 王应飞<sup>2</sup>, 刘其星<sup>2</sup>, 郭明里<sup>2</sup>, 陈红娟<sup>2</sup>, 普绍平<sup>2\*</sup>

(1. 昆明贵金属研究所 稀贵金属综合利用国家重点实验室, 昆明 650106)

2. 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)

**摘要:** 通过水解法合成了甲基丙二酸-(反式-1,2-二甲氨基环丁烷)合铂(II)。采用元素分析、质谱(ESI-MS)、红外光谱(IR)和核磁共振氢谱(<sup>1</sup>H NMR)确证了该配合物的组成和化学结构。采用 MTS 法评价其抗肿瘤活性, 发现该配合物对常见 5 种癌细胞的生长有明显的抑制活性。

**关键词:** 药物化学; 铂化合物; 合成; 结构; 抗肿瘤活性

中图分类号: O627.8 文献标识码: A 文章编号: 1004-0676(2019)S1-0121-06

### Synthesis, Structure and Antitumor Activity of Methyl Malonic Acid-[trans-1,2-dimethylamino cyclobutane] Platinum(II) Compound

LI Jun<sup>1,2</sup>, CONG Yanwei<sup>2</sup>, ZHANG Lintao<sup>2</sup>, WANG Yingfei<sup>2</sup>,  
LIU Qixing<sup>2</sup>, GUO Mingli<sup>2</sup>, CHEN Hongjuan<sup>2</sup>, PU Shaoping<sup>2\*</sup>

(1. State Key Laboratory of Advanced Technologies for Comprehensive Utilization of Platinum Metals,  
Kunming Institute of Precious Metals, Kunming 650106, China;

2. Yunnan Engineering and Technology Center of Platinum-based Anti-tumor Drug,  
Kunming Guiyan Pharmaceutical Co. Ltd., Kunming 650106, China)

**Abstract:** Platinum compound was synthesized from potassium chloroplatinite, methylmalonic acid and trans-1,2-dimethylamine cyclobutane (or oxalate) by hydrolysis, named methyl malonic acid-[trans-1,2-dimethylamino cyclobutane] platinum(II) compound. It was analyzed by elemental analysis, ESI-MS, IR and <sup>1</sup>H NMR. The structure and composition of the compound are consistent with the theory. MTS method was applied to evaluate its anti-tumor activity. The results showed that the compound has obvious inhibitory activity on the growth of Five common cancer cells.

**Key words:** pharmaceutical chemistry; platinum compound; synthesis; structure; inhibitory activity

近年来, 由于环境污染, 生活压力导致的不良习惯, 以及人口老龄化等众多因素, 癌症发病率和死亡率日益增加, 严重威胁人类健康和生命。顺铂自 1978 年上市以来<sup>[1-3]</sup>, 为广大癌症患者带来了治疗和缓解的希望, 并为无机化学抗肿瘤药开辟了一个前所未有的研究领域。此后, 经过快速发展, 合成各种铂化合物, 但大部分由于抗癌效果差或者毒

副作用强被淘汰。目前, 市场上紧存在的铂类化合物有: 顺铂、卡铂、奥沙利铂、奈达铂、庚铂、洛铂、米铂<sup>[4-5]</sup>。通过对近几年 FDA 所批准的新药观察, 发现抗肿瘤药物就占很大比例, 而铂族金属抗肿瘤药物又在临床应用化学药物中占有举足轻重的地位, 因此铂配合物的抗癌药仍然是当今药物研发的热门药物<sup>[6]</sup>。

收稿日期: 2019-09-02

基金项目: 云南省科技创新平台建设计划(2016DH008)

第一作者: 李 军, 男, 硕士研究生, 研究方向: 新型铂族金属抗肿瘤药物的研发和分析。E-mail: 1140937169@qq.com

\*通讯作者: 普绍平, 男, 博士, 正高级工程师, 研究方向: 新型铂族金属抗肿瘤药物的研发。E-mail: pushaoping@163.com

尽管铂类药物因为抗癌作用好被应用于临床研究,但其任有不可避免的副作用,其主要缺陷是毒副作用和交叉耐药性<sup>[7-10]</sup>。铂类化合物通常在杀死癌细胞的同时,对人类身体正常细胞也会产生不同程度的损伤。常常表现为肾毒性、肠胃毒性、耳毒性及神经毒性等<sup>[10-12]</sup>。同时,在治疗癌症患者时,一些铂化合物对某些癌细胞活性低,易产生交叉耐药性,并有可能伴随在体类不易代谢等缺点。因此,寻找毒副作用小,对癌细胞活性好的新型铂化合物是目前抗癌药物研发的一重要领域<sup>[13-15]</sup>。

本文设计了一种以甲基丙二酸为离去基团的铂化合物,对其进行了结构确认及体外抗肿瘤活性的研究。

## 1 实验

### 1.1 试剂与仪器

试剂:氯亚铂酸钾(>98%,昆明贵研药业有限公司);碘化钾(>98%,国际集团化学试剂有限公司);反式-1,2-二甲胺基环丁烷(>98%,药明览博化学科技有限公司);硝酸银(>98%,上海申博化工有限公司);甲基丙二酸(99%,国药集团化学试剂有限公司);氢氧化钾(分析纯)和无水乙醇(分析纯),汕滇药业有限公司。

实验仪器:BSA2202S 电子天平;DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器,SHZ-D(III)循环水式真空泵(巩义市予华仪器有限公司);CA-1111 低温冷却循环泵(上海爱郎);FD-53 型干燥箱(德国 Binder);SK3200H 超声波清洗仪(上海汉克科学仪器场);SX-4-10 型高温箱式电阻炉(北京永光明医疗仪器有限公司);N-1200B 旋转蒸发仪(日本 Eyela)。

检测表征设备:高效液相色谱仪(Waters-717 plus);双通道紫外检测器(美国 Waters);Vario EL III 有机元素分析仪(德国元素分析系统公司);傅里叶变换红外光谱仪(赛默飞世尔);LC-IT-TOF 新型质谱仪(日本岛津);AVANCE DRX500 核磁共振波谱仪(德国 Bruker 公司)。

### 1.2 制备顺式-二碘[反式-1,2-二甲胺基环丁烷]合铂

称取氯亚铂酸钾 20.03 g (48.27 mmol)于 500 mL 烧杯中,加入 200 mL 纯水溶解,用 G3 砂芯漏斗滤出不溶物,滤液为酒红色;另取碘化钾 43.91 g (264.52 mmol),加入 60 mL 纯水溶清。待水浴锅升温至 35℃,将氯亚铂酸钾溶液转移至水浴锅中加热搅拌 1 min,然后将配好的碘化钾溶液缓慢滴加到

氯亚铂酸钾溶液。反应液立即变黑色,反应 2 h,所得溶液为四碘合铂酸钾溶液。称取反式-1,2-二甲胺基环丁烷 5.80 g (50.88 mmol),用 50 mL 纯化水稀释,测其 pH 值在 12~13 之间,将其缓慢滴加至四碘合铂酸钾溶液中,边加边搅拌,立即产生棕黄色沉淀。反应 3 h 后,停止搅拌,取出静置,取上清液测其 pH 值,为 8~9。抽滤后,滤饼用纯化水洗涤至滤液为中性,用冰的无水乙醇洗涤一次。将滤饼于 50℃烘箱中烘干。得顺式-二碘[反式-1,2-二甲胺基环丁烷]合铂(II)共 26.70 g,收率为 98.24%。

### 1.3 制备甲基丙二酸-(反式-1,2-二甲胺基环丁烷)合铂(II)

称取顺式-二碘[反式-1,2-二甲胺基环丁烷]合铂 5.05 g (8.97 mmol)于 100 mL 烧杯中,加入 60 mL 纯水备用;称取硝酸银 2.98 g (17.53 mmol)于 100 mL 烧杯中,加入 30 mL 纯水溶解备用。待水浴锅升温至 35℃后,将顺式-二碘[反式-1,2-二甲胺基环丁烷]合铂悬浊液于水浴锅内搅拌 1 min,然后将配好硝酸银溶液缓慢滴加至悬浊液中。反应 2 h 后,停止搅拌,静置,取上清液少许,滴加两滴氯化钾溶液,未出现白色沉淀,表明反应液中银离子未过量;再取少量上清液,滴加两滴硝酸银溶液,未出现黄色沉淀,表明反应液中碘离子未过量。用 G3 漏斗抽滤,滤液为透明清亮色溶液(偏黄)。将滤液转移至冰箱中,冷藏一夜。该步骤为铂配合物的水解过程,故将该滤液称为水解液。

将隔夜的水解液经 G4 漏斗二次抽滤,然后将其转移至水浴锅内 40℃加热搅拌。称取甲基丙二酸 2.12 g (17.95 mmol)于 100 mL 烧杯中,加入 30 mL 纯化水溶清,测其 pH 值为 1~2。再用 1.2 mol/L 的氢氧化钠溶液调节 pH 值为 6~7,得到甲基丙二酸钠溶液。然后将配好的甲基丙二酸钠溶液缓慢滴加至水解液中。1 h 后,溶液中产生少许气泡。反应 2 h 后,称取 0.2 g 活性炭加入反应液中,搅拌 30 min。停止搅拌,取出反应液,经 G4 漏斗抽滤,滤液为清亮色,将滤液 60℃下减压浓缩,浓缩至 15 mL 左右时,析出大量白色晶体(偏黄)。停止旋蒸,将固体转移至 100 mL 烧杯中,加入 15 mL 冰水;转移至冰箱中冷藏 1 h。然后抽滤,滤饼用 10 mL 冰水和乙醇各自洗涤一次。得白色(偏黄)晶体颗粒。于 50℃烘箱中干燥。得到甲基丙二酸-(反式-1,2-二甲胺基环丁烷)合铂(II) 2.23 g,收率为 58.53%。

### 1.4 对癌细胞抑制活性的研究

通过 MTS 法检测目标化合物对癌细胞的抑制

活性<sup>[16]</sup>。通过被测物质溶液的颜色或加入显色剂后生成的有色溶液的颜色,颜色深度和物质含量成正比,则根据光被有色溶液吸收的强度,即可测定溶液中物质的含量。本次对癌细胞抑制活性的研究过程中,活性细胞中的琥珀酸脱氢酶将 MTS 还原成甲臞(Formazan)化合物,甲臞生成量与活细胞数成正比,反应完成后用酶标测定仪测定 490 nm 时的吸

光度,可以通过光密度 OD 值推测出活细胞的数目。

## 2 结果与讨论

### 2.1 合成路线

合成路线分为 2 步,图 1 所示。

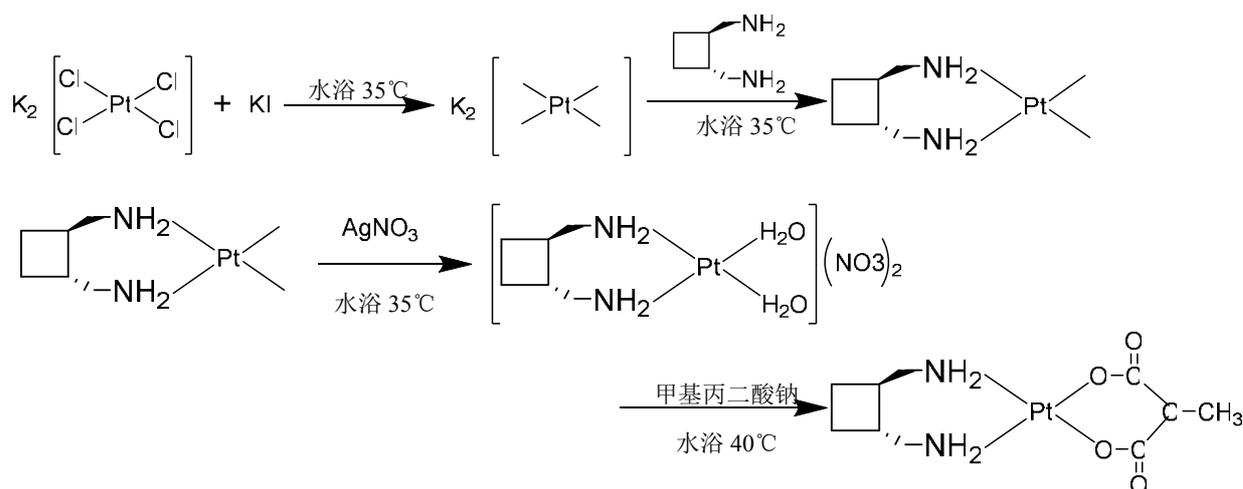


图 1 目标化合物的合成路线 Fig.1 Synthesis route of the target compound

### 2.2 元素分析

通过对所得化合物灼烧后的重量来测定化合物中铂含量是否与目标化合物一致。利用该方法测得目标化合物中铂含量与理论值基本相符。目标化合物中 C、N、H 元素的含量采用有机元素分析仪进行测定,其测定值与理论值基本一致,如表 1 所列。

### 2.3 质谱

用电喷雾电离质谱仪<sup>[17]</sup>测定所得化合物的质谱图,如图 2 所示。由图 2 可以看出,其分子离子峰 $[M^+Na]^+$ 质荷比( $m/z$ )为 448,与目标化合物一致。

### 2.4 红外光谱

所得化合物红的红外光谱图如图 3 所示。由图 3 可以观察到 $-NH_2$ 、C-H、 $COO^-$ 、Pt-O 以及 Pt-N 的特征吸收峰,因为每个羧酸根是以单齿形式与 Pt(II)配位,所以  $COO^-$  的不对称伸缩震动峰比对称伸缩震动峰高,与目标化合物结构解析一致。对该化合物的红外光谱解析如表 2。

### 2.5 核磁共振氢谱( $^1H$ NMR)

以氘代水( $D_2O$ )为溶剂测试了所得化合物的核磁共振氢谱,如图 4 所示(图内已出分子结构式),主要数据列于表 3。根据表 3 结果, $^1H$  NMR(500 MHz,  $D_2O$ ):  $\delta=1.27$  (d, 6.8Hz, 3H,  $CH-CH_3$ ), 1.62~1.70 (m, 2H,  $CH_2-CH_2$ ), 1.94~2.04 (m, 2H,

$CH_2-CH_2$ ), 2.46~2.54 (m, 2H,  $CH_2-NH_2$ ), 2.66~2.83 (m, 2H,  $CH-CH$ ), 2.93~2.97 (m, 2H,  $CH_2-NH_2$ ), 4.13(q,  $J=6.8$ Hz, 1H,  $CH-CH_3$ )。测定化合物所用溶剂为氘代水( $D_2O$ ),环丁烷是椅式结构,即:

1 号 C 原子位置处的 2H 在谱图中对应化学位移是 1.62~1.70; 2 号 C 原子位置处的 2H 在谱图中对应化学位移是 1.94~2.04; 3,4 号 C 原子上各一个 H 在谱图对应化学位移是 2.66~2.83; 5 号 C 原子位置处的 2H 在谱图中对应化学位移是 2.46~2.54; 6 号 C 原子位置处的 2H 在谱图中对应化学位移是 2.93~2.97; 7 号 C 原子位置处的 1H 在谱图中对应化学位移是 4.13; 8 号 C 原子位置处的 3H 在谱图中对应化学位移是 1.27。由于化合物氨基上氢原子比较活泼,容易发生氘-氢交换,在谱图中,易出现较强溶剂峰,所以化合物中氨基上 H 均以溶剂峰形式出现,其化学位移是 4.67。

### 2.6 体外抗肿瘤活性评价

根据 1.4 中方法,对目标化合物进行癌细胞的抑制活性测定。主要对白血病(H-60)、人体肺癌(A549)、肝癌(SMMC-7721)、乳腺癌(MCF-7)以及结肠癌(SW480) 5 种癌细胞进行体外抗肿瘤活性测试。另外选择顺铂、紫杉醇作为阳性对照,与目标化合物进行比较。结果如表 4 所列。表 4 结果表明,

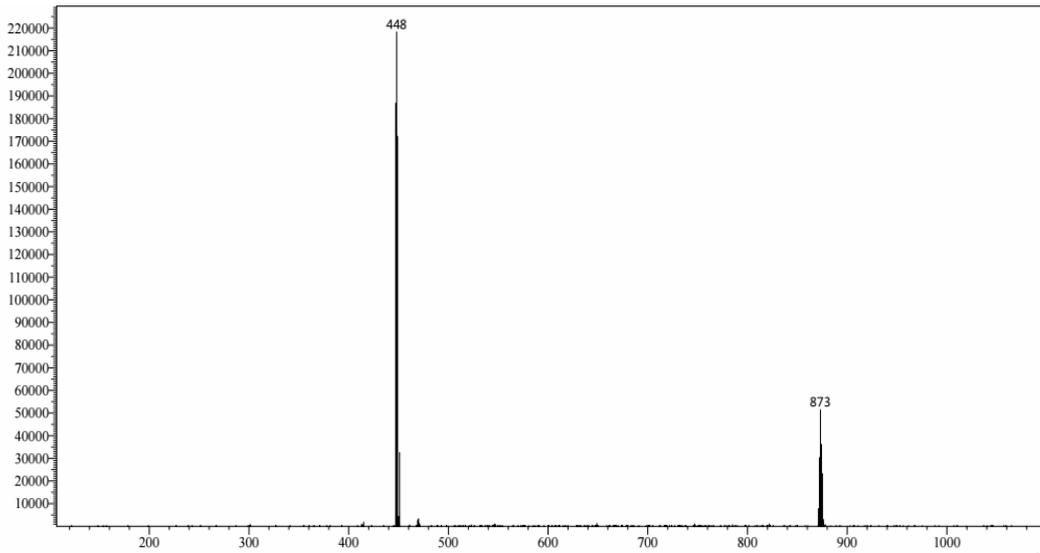


图 2 化合物的质谱图 Fig.2 The mass spectrum of the compound

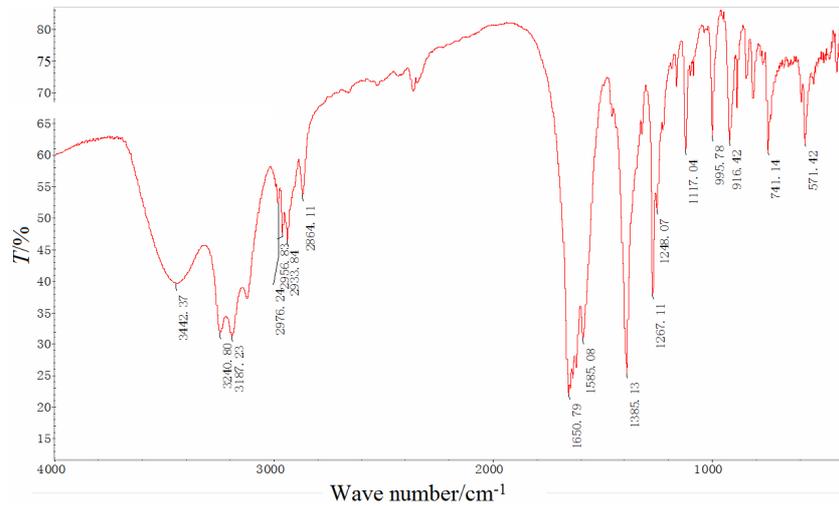


图 3 化合物的红外谱图 Fig.3 The IR spectrum of the target compound

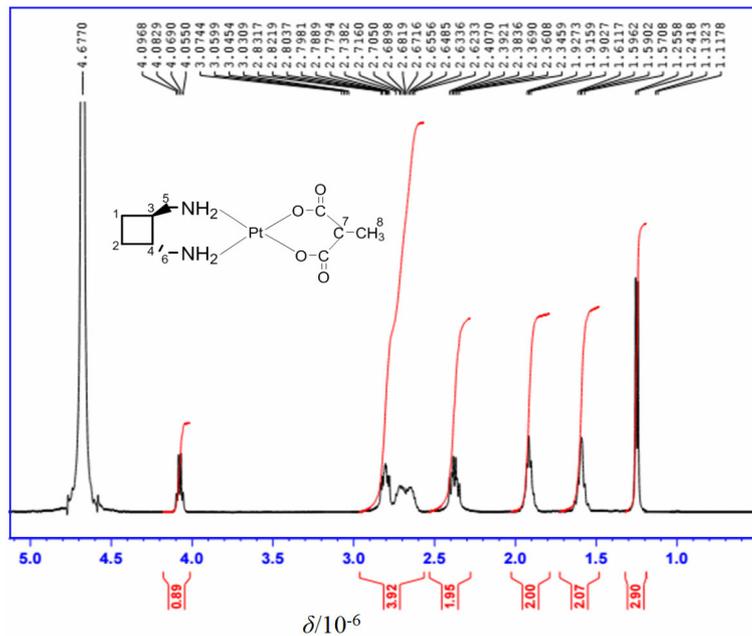


图 4 目标化合物的 <sup>1</sup>H NMR 谱图 Fig.4 The <sup>1</sup>H NMR spectra of the target compound

表 1 化合物元素分析结果

Tab.1 Elemental analysis of compound

元素	Pt	C	N	H
理论含量/%	45.89%	28.23%	6.59%	4.23%
实测含量/%	45.82%	28.17%	6.55%	4.21%

表 2 目标化合物的红外光谱分析

Tab.2 Infrared spectrum analysis of target compound

吸收峰	归属	官能团	备注
3240.80, 3187.23	$\nu_{\text{N-H}}$	-NH <sub>2</sub>	/
2938.3	$\nu_{\text{C-H}}$	-CH <sub>2</sub>	碳氢伸缩振动
1650.79	$\nu_{\text{C=O}}$	-COO	不对称伸缩振动
1585.08	$\nu_{\text{C=O}}$	-COO	对称伸缩振动
1385.13	$\nu_{\text{C-H}}$	-CH <sub>2</sub>	碳氢弯曲振动
1248.07	$\nu_{\text{C-C}}$	/	/
741.14	$\nu_{\text{Pt-O}}$	/	O 与 Pt 配位
571.42	$\nu_{\text{Pt-N}}$	/	N 与 Pt 配位

表 3 目标化合物的核磁氢谱图分析

Tab.3 The <sup>1</sup>H NMR analysis of target compound

化学位移( $\delta$ )/10 <sup>-6</sup>	归属
1.27	d, 6.8Hz, 8-CH-CH <sub>3</sub> , 3H
1.62~1.70	1-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> , 2H
1.94~2.04	2-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> , 2H
2.46~2.54	5-CH <sub>2</sub> -NH <sub>2</sub> , 2H
2.66~2.83	3,4-CH-CH, 2H
2.93~2.97	6-CH <sub>2</sub> -NH <sub>2</sub> , 2H
4.13	q, J=6.8Hz, 7-CH-CH <sub>3</sub> , 1H
4.67	D <sub>2</sub> O 溶剂峰

表 4 目标化合物对 5 种肿瘤细胞的 IC<sub>50</sub> 值Tab.4 The IC<sub>50</sub> values of target compound against 5 cell lines

化合物	IC <sub>50</sub> /( $\mu\text{mol/L}$ )				
	白血病 (H-60)	肺癌 (A549)	肝癌(SMM C-7721)	乳腺癌 (MCF-7)	结肠癌 (SW480)
目标化合物	1.42±0.09	13.52±0.77	13.67±0.16	14.87±0.11	11.71±0.20
顺铂	3.76±0.14	27.63±1.51	27.04±2.62	25.80±0.50	19.25±0.63
紫杉醇	/	<0.008	<0.008	<0.008	<0.008

在本次实验条件下, 目标配合物对 5 种癌细胞均有较好的抑制作用。

### 3 结论

1) 对合成的铂化合物, 通过元素分析、质谱、红外光谱、核磁共振氢谱一系列表征手法, 确定了产物为目标化合物甲基丙二酸-(反式-1, 2-二甲胺基环丁烷)合铂(II)。

2) 利用 MTS 法, 对化合物进行癌细胞抑制活性评价, 结果显示化合物对多种癌细胞有抑制活性作用。

#### 参考文献:

[1] ROSENBERG B. Platinum complexes for the treatment of cancer[J]. Interdisciplinary science reviews, 1978, 3(2): 134-147.

[2] 陈万青, 张思维, 曾红梅, 等. 中国 2010 年恶性肿瘤发病与死亡[J]. 中国肿瘤, 2014, 23(1): 1-10.

[3] TORRE L A, FREDDIE B, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA: a cancer journal for clinicians, 2015, 65(2): 87-108.

[4] KOMEDA S, CASINI A. Next-generation anticancer metallodrugs[J]. Current topics in medicinal chemistry, 2012, 12(3): 219-235.

[5] WAGSTAFF A J, WARD A, BENFIELD P, et al. Carboplatin[J]. Drugs, 1989, 37(2): 162-190.

[6] 陈玲, 赵天笑, 邹翔, 等. 2014 年美国 FDA 批准上市新药回顾及重点药物分析[J]. 中国新药杂志, 2015, 24(4): 361-370.

[7] WAGSTAFF A J, BROWN S D, HOLDEN M R, et al. Cisplatin drug delivery using gold-coated iron oxide nanoparticles for enhanced tumour targeting with external magnetic fields[J]. Inorganica chimica acta, 2012,

- 393(12): 328-333.
- [8] 杨旭清, 金祥林, 宋勤华, 等. 超分子抗癌药物双环铂的结构研究[J]. 中国科学: 化学, 2010, 40(5): 485-491.
- [9] WHEATE N J, WALKER S, CRAING G E, et al. The status of platinum anticancer drugs in the clinic and in clinical trials[J]. Dalton transactions, 2010, 39(35): 8113-8127.
- [10] 张林涛, 丛艳伟, 王应飞, 等. 顺式-乙二酸-(反式-1,2-二甲氨基环丁烷)合铂(II)的合成、表征及抗肿瘤活性[J]. 贵金属, 2017, 39(3): 27-32.
- [11] WEISS R B, CHRISTIAN M C. New cisplatin analogues in development[J]. A review drugs, 1993, 46(3): 360-377.
- [12] MOMEKOV G, BAKA LOVA A, KARAIIVANOVA M, et al. Novel approaches towards development of non-classical platinum-based antineoplastic agents: design of platinum complexes characterized by an alternative DNA-binding pattern and/or tumor-targeted cytotoxicity [J]. Curr Med Chem. 2005, 12: 2177-2191.
- [13] CHEN X, WU Y, DONG H, et al. Platinum-based agents for individualized cancer treatment[J]. Current molecular medicine, 2013, 13(10): 1603-1612.
- [14] HAN X, SUN J, WANG Y, et al. Recent advances in platinum(IV) complex-based delivery systems to improve platinum(II) anticancer therapy[J]. Medicinal research reviews, 2015, 35(6): 1268-1299.
- [15] 高安丽, 邱洁, 侯树谦, 等. cis-[(trans-1,2-双(氨基)环丁烷)(3-羟基-1,1-环丁烷二羧酸根)合铂(II)]的合成和抗癌活性[J]. 无机化学学报, 2017, 33(5): 837-842.
- [16] KOK S H, GAMBARI R, CHUI C H, et al. Paradoxical proliferative potential of iron(II) sulphate on cancer cells after the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium (MTS) assay[J]. International journal of molecular medicine, 2007, 19(6): 971-975.
- [17] 白进发, 刘志强, 再帕尔 阿布力孜, 等. 抗癌药物与 DNA 作用的电喷雾质谱研究[J]. 药学学报 2007, 42(6): 643-648.