

六氮杂大环希夫碱与银(I)系列配合物的抗肿瘤活性研究

陈 琪¹, 朱海亮², 戚穗坚¹, 彭文烈¹, 徐安龙¹

(1. 中山大学生命科学学院, 广东 广州 510275;

2. 中山大学化学与化学工程学院, 广东 广州 510275)

摘 要: 研究9个Ag(I)与双螯合六氮杂环希夫碱(L)配合物的体外抗肿瘤活性. 结果显示9个配合物对癌细胞生长都有较强的抑制作用. 其生物活性的大小可能与配合物单元中Ag(I)原子的多少及其空间位阻有关.

关键词: 银(I)配合物; 六氮杂环希夫碱; 抗肿瘤活性; 细胞毒性

中图分类号: R979.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579(2001)02-0065-03

在过去的30年中, 一价货币金属配合物, 及其生物活性方面的研究, 已引起人们极大的重视. 一个很明显例子是其作为治疗风湿性关节炎的细胞毒性试剂^[1]. 另一个例子是¹¹¹Ag和¹⁰⁸Ag用于恶性肿瘤的放射治疗. 而近年来, 对于贵金属铂的配合物——顺铂及卡铂抗癌活性的研究所取得的成就, 更提示了这类贵金属配合物可能在抗癌生物活性上具有广阔的前景. 银是到目前为止研究得最少的贵重金属. 这可能是由于它的化合物在普通溶剂中较为难溶, 以及其对光不稳定等因素, 使得其研究有较大困难. 我们通过认真分析、筛选, 使用对Ag(I)原子有稳定作用的双螯合大环希夫碱(见图L)

与各种银盐反应, 制备出9种新化合物, 通过X-射线单晶结构分析^[2]表征了其

中6个化合物(1~6)分子和晶体结构, 其余3个(7~9)通过红外和元素分析确定了其组成. 本文报道这些配合物对几种人体常见的实体恶性肿瘤细胞株的毒性研究.

1 实验部分

1.1 试剂和仪器 所有试剂均是国产AR级, 均按通常方法处理. 9个配合物的合成及结构分析已在文[2]中报道过.

1.2 肿瘤细胞毒性实验

(1) 细胞培养. 人胃癌(BGC)、人宫颈癌

(HeLa)、人高转移肺癌(95-D)、人肝细胞癌(HepG2)、人鼻咽癌(CNE)、人正常肝细胞(L-02)分别从中国科学院上海细胞研究所、中国科学院生物物理所和第一军医大学购得, 由本实验室传代及冻存. 采用含 $\rho=10\%$ FBS的RP-MI1640培养基, 于37℃, 饱和湿度及 $\varphi=5\%$ CO₂的培养箱中培养. 培养基粉购自美国Gibico公司, 血清购自美国Hyclone公司.

(2) 抗肿瘤活性实验. 抗肿瘤活性大小是用MTT法^[3]测量Ag(I)配合物1~9对各种肿瘤细胞的IC₅₀的大小比较而来的. 在96孔细胞培养板上培养细胞, 接种密度大约为50 000/mL, 培养至对数生长期, 加入按梯度配制的Ag(I)配合物溶液, 作用细胞48 h. 加入显色剂噻唑蓝(MTT). MTT是一种能接受H原子的染料, 活细胞线粒体中的琥珀酸脱氢酶在细胞内可将黄色的MTT还原为难溶性的蓝紫色结晶物甲臞(formazan)并沉积在细胞内, 而死亡细胞则无此现象. 二甲基亚砜(DMSO)能溶解细胞中的蓝紫色甲臞结晶物, 用酶联免疫检测仪在490 nm波长处测定其光吸收值, 可反映活细胞数量. MTT结晶物形成的量与活细胞数成正比.

IC₅₀值用SPSS软件计算.

2 结果与讨论

1~5以及7和9分别是双核、三核和四核化合物, 6和8是无限链的多核化合物(见表1). 1~6的分子结构, 见图1.

各化合物抑制半数癌细胞时的浓度IC₅₀($\mu\text{g/mL}$)列于表2.

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目; 国家创新医药博士基金资助项目(027-422026)

收稿日期: 2000-08-17; 作者简介: 陈琪(1974-), 女, 博士研究生; 通讯联系人: 徐安龙.

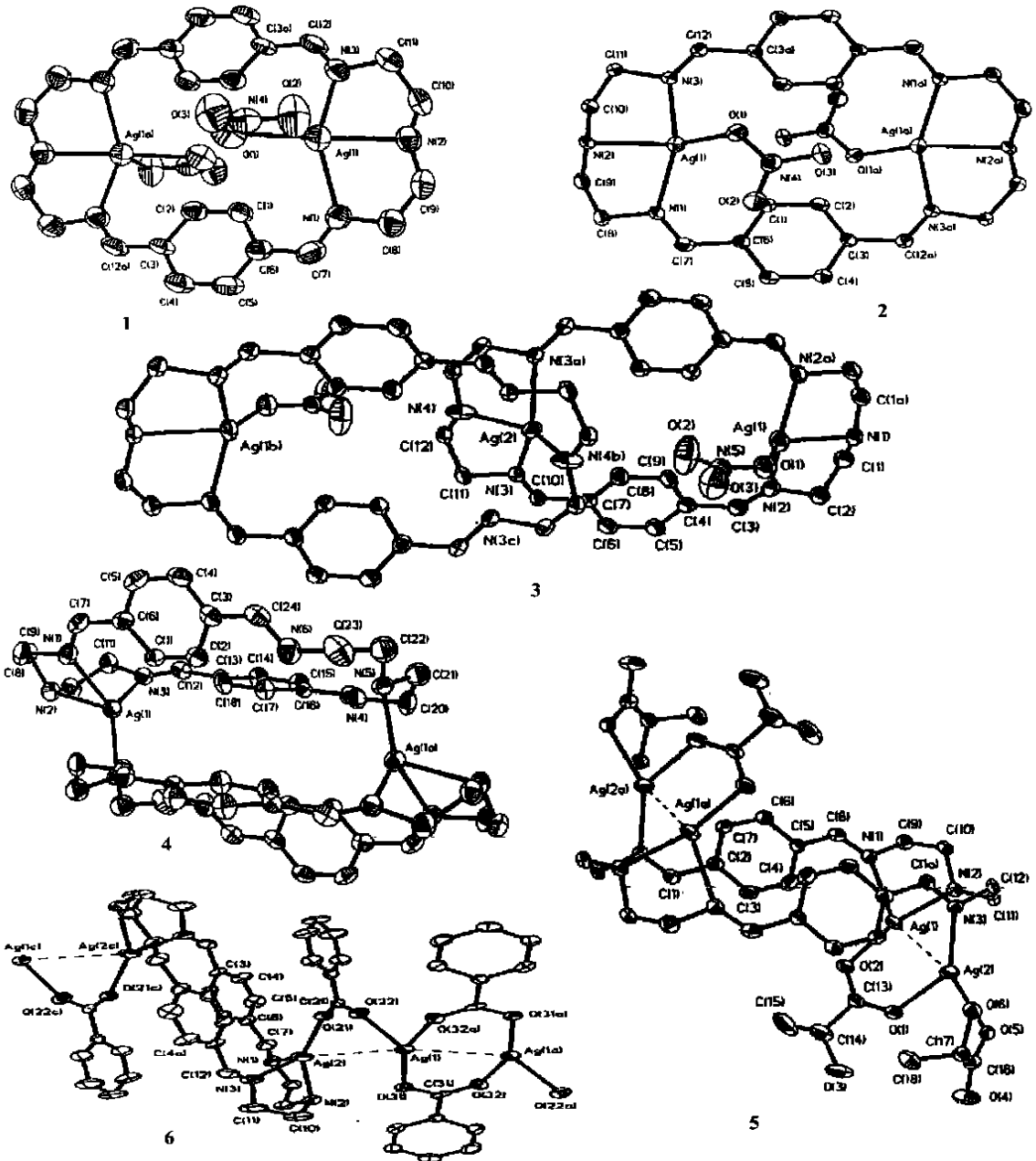


图 1 1~6 的结构图

Fig 1 The structures of complexes 1~6

由表 2 可以看出，9 种化合物在体外都有较强的细胞毒性。研究发现，贵金属化合物（如顺铂等）的抗癌活性是由化合物中的金属原子按一定的方式与细胞 DNA 发生配位作用的。顺铂化合物只对某些肿瘤细胞作用较大，可能是因为其中的铂原子只能以一定的构型与 DNA 发生配位。而本文的 9 个化合物中 Ag（I）原子的配位是没有方向性的，因此它们的细胞毒性可能也没有特异性。由上表可以看出，除了 1 而外，其余化合物都没有明显的细胞特异性。

1 对 HeLa、HepG2、BGC、95-D 都有较强

的细胞毒性，而对 CNE 及 L-02 的 IC₅₀ 却大于 80 μg/mL。

2 对各种细胞的毒性大小没有明显差别。1 和 2 具有相同的分子式，区别只是 1 中的 Ag（I）原子是与硝酸根中的 2 个氧原子络合，具有较大的空间位阻，影响了 Ag（I）原子自由地与 DNA 结合。而 2 中的 Ag（I）原子则只与其中 1 个氧原子结合。因而 2 中的 Ag（I）原子自由度较大，空间位阻较小。由此可以看出，活性的差别可能是由于 2 种化合物中 Ag（I）原子的空间位阻不同造成的。

表 1 化合物 1~9 的分子式类型

Tah 1 The molecular formulas of complexes 1~9

化合物	类型	分子式	阴离子名称
1	双核	[Ag ₂ L(NO ₃) ₂]	硝酸根
2	双核	[Ag ₂ L(NO ₃) ₂]	硝酸根
3	三核	[Ag ₃ L ₂ (NO ₃) ₂](ClO ₄)	硝酸根+ 高氯酸根
4	双核	[Ag ₂ L ₂](PF ₆) ₂	六氟磷酸根
5	四核	[Ag ₄ L(MeCH(OH)CO ₂) ₄]	乳酸根
6	多核	[Ag ₄ L(PhCO ₂) ₄] _n ⁺ nAg ₂ (PhCO ₂) ₂	苯甲酸根
7	双核	[(山梨酸银) ₂ L](MeCN)	山梨酸根
8	多核	[(丙酸银) _m L _n]	丙酸根
9	双核	[Ag ₂ L ₂](ClO ₄) ₂	高氯酸根

表 2 1~9 对各种实验细胞株的 IC₅₀值

Tah 2 The IC₅₀ values of complexes 1~9

		for the cell lines tested					μg/mL
细胞株	HeLa	HepG2	BGC	95-D	CNE	L-02	
1	8 38	30 37	8 02	20 00	> 80	> 80	
2	39 45	50	8 26	8 56	11. 18	29. 10	
3	> 80	45. 40	12 66	11. 96	34 16	26 38	
4	55 10	30 00	9 03	12 14	29. 65	27. 41	
5	74 00	40 18	8 37	8 64	24 88	16 68	
6	54 72	10 92	3 97	5 82	11. 84	10 96	
7		11. 50	15. 17	16 46	> 80	20 78	
8	29 18	24 23	4 94	9 86	15. 19	16 47	
9	40 90	18 63	4 71	6 16	16 50	19 59	

(6) 的每一个单元中含有 6 个 Ag (I) 原子, Ag (I) 原子在化合物中的含量较多, 理论上说毒性应该比其他几个化合物大, 但由于它又是一个无限链的大分子化合物, 其空间位阻影响了 Ag (I) 原子的活性发挥, 又会使它的活性有一定程度降低. 由表 2 可以看出, 6 的 IC₅₀ 值其他几种化合物略小, 但差别并不明显.

4 的结构与 9 是类似的, 所不同的只是与 Ag (I) 原子配位的阴离子. 4 中 Ag (I) 原子的配位阴离子是六氟磷酸根, 而 9 中是高氯酸根. 表 2 显示它们的细胞毒性没有明显差异. 可见配位阴离子的不同可能对化合物的活性没有影响. 而 3, 4 中的 Ag (I) 原子空间位阻相差不大, 所以活性也看不出显著差异. 5 虽然一个结构单元里含有 4 个 Ag (I) 原子, 但每 2 个 Ag (I) 原子分别与 2 个乳酸根结合, 构成 1 个小环状结构 (见图 1), 因而大大地增加了空间位阻, 所以毒性并不强于其他二核或三核配合物.

总而言之, 虽然 Ag (I) 配合物的生物活性与其化学结构之间的关系有待进一步研究, 其确切的关系不能仅从有限的研究资料中明确, 但本文提供的初步探索表明, Ag (I) 配合物中 Ag (I) 原子的含量多少及其空间位阻对配合物的抗肿瘤活性有一定影响.

Ag (I) 的化合物多数是难溶的, 且易感光; 而本文的 9 个化合物在 60 ℃以下对阳光能长期稳定. 并且在水和常见的有机溶剂中都有一定的溶解度, 其可溶性及稳定性为其能作为新药的开

开发提供了潜在条件. 进一步的研究正在进行中.

参考文献:

[1] SADLER P J, SUE R E. Handbook of metal-ligand interactions in biological fluids[J]. Marcel Dekker, Basel, 1995(2): 1039—1051.

[2] ZHU H L, TONG Y X, LONG L S et al. Anion-controlled formation of silver(I) complexes of a hexaazamacrocyclic schiff base; synthesis, structures and electrochemistry[J]. Supramol Chem, 1999, 11: 119.

[3] GERHARD P. Manual of methods for general bacteriology [A]. In: CASTELLO R N, ed. American society for microbiology[M]. New York, 1981.

Studies on Antitumor Activity of Several Complexes of Hexaaza-macrocyclic Schiff Base with Silver (I)

CHEN Qi¹, ZHU Hai-liang², QI Sui-jian¹, PENG Wen-lie¹, XE An-long¹

(1. School of Life Sciences, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China;
2. School of Chemistry and Chemical Engineering, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: Nine silver (I) complexes (1~9) of macrocyclic Schiff base (L) with different anions have been prepared and structurally characterized, where L is a hexaaza macrocyclic Schiff base derived from the [2=2] condensation of terephthalaldehyde and 3-azapentane-1, 5-diamine. The results of activity assay indicated that 1~9 strongly inhibit the growth of several human solid carcinoma cell lines. Their anti-tumor activities are possibly related to the amount and the emplacement of Ag (I) in the complexes.

Keywords: silver (I) complex; macrocyclic Schiff base; anti-tumor activity; cytotoxicity