

研究简报

双核铜(II) - 氟喹诺酮 - 邻菲咯啉混配配合物的合成、
晶体结构和抗肿瘤活性王国平^{*,1} 傅旭春² 朱龙观¹⁽¹⁾ 浙江大学化学系, 杭州 310027)⁽²⁾ 浙江大学城市学院药理学系, 杭州 310015)

关键词: 双核铜(II)配合物 氟喹诺酮 环丙沙星 合成 晶体结构 抗菌与抗肿瘤活性
 分类号: O614. 81

过渡金属配合物是一类重要的 DNA 靶向化合物, 通过研究金属离子、药物和其它配体 (或 DNA 等) 的相互作用, 对探索和研究药物分子抗菌、抗肿瘤的作用机制具有重要意义。氟喹诺酮类药物是一类重要的抗菌药物, 金属离子对该类药物在体内的活性有重要影响, 许多金属离子可与喹诺酮分子中的 3 位羧基和 4 位酮基配位形成配合物。对喹诺酮与金属离子配合物的合成和结构性质研究已有不少文献, 并有文献报道了部分配合物的抗菌活性^[1-5], 但少见文献报道该类配合物的抗肿瘤活性^[6]。环丙沙星 (ciprofloxacin, Hcpf, (1- 环丙基 -6- 氟 -7(1- 哌嗪基) -1, 4- 二氢 -4- 氧喹啉 -3- 羧酸), 参见图 1) 是目前临床应用最广泛的喹诺酮药物之一。目前, 已有不少学者对环丙沙星与金属离子的配位化学进行了研究^[7-13], 我们在研究金属离子与环丙沙星和 N-N 配体的配位行为时, 发现了一些新的变化, 即

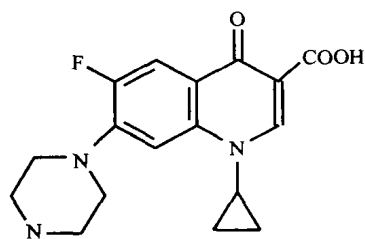


图 1 Hcpf 的结构

Fig. 1 Structure of Hcpf

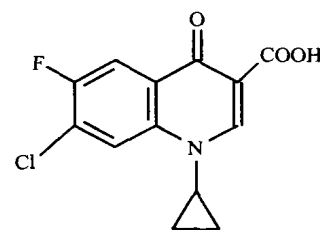


图 2 Hcfc 的结构

Fig. 2 Structure of Hcfc

Hcpf 中哌嗪基 (pip) 在配位过程中脱离了环丙沙星母环, 我们将其称为 Hcfc (图 2)^[6, 14]。本文在此基础上报道了 Hcpf、铜(II)与 1, 10- 邻菲咯啉 (phen) 形成配合物的合成、晶体结构与抗菌、抗肿瘤活性。

1 实验部分

1.1 合成

0.5mmol $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 溶于 10mL 水中, 0.5mmol phen 溶于 10mL 乙醇中, 混合二溶液; 在上述混合溶液中加入 60mL 盐酸环丙沙星 (0.5mmol) 碱性溶液 (NaOH, 2mmol)。用稀硝酸和氢氧化钠调溶液的 pH 至一定值, 得蓝色溶液, 加热至一定温度浓缩, 冷却。室温下放置两周后长出晶体, 过滤后, 选用适当溶剂重结晶, 滤液放置缓慢挥发溶剂, 约 2 个月后得蓝色晶体产物。元素分析符合化学式 $[\text{Cu}_2(\text{cfc})_2(\text{phen})_2(\text{pip})](\text{NO}_3)_2(\text{CO})_2$, 计算值 (%): C, 50.92; H, 3.66; N, 10.06; 测定值 (%): C,

收稿日期: 2003-03-12。收修改稿日期: 2003-06-04。

国家自然科学基金资助项目 (No. 50073019)。

* 通讯联系人。E-mail: chewanggp@zju.edu.cn or chewang@mail.nsysu.edu.tw

第一作者: 王国平, 男, 34 岁, 博士, 讲师; 研究方向: 配位化学及生物无机化学。现在台湾中山大学化学系。

50.79; H, 3.74; N, 10.18。

1.2 晶体结构测定

使用 Bruker Smart CCD X-射线衍射仪 (Mo K α 线, $\lambda = 0.071073\text{ nm}$, 石墨单色器) 收集单晶衍射数据 ($t = 20 \pm 1^\circ\text{C}$), 使用 ϕ 和 θ 扫描方式, θ 在 2.29° 到 28.35° 。总共收集衍射点 13816 个, 其中 5483 个独立衍射点 ($R_{\text{int}} = 0.0520$)。对衍射数据进行了线性校正、Sadabs 吸收校正、Lp 校正。晶体结构由重原子 Patterson 法和 Fourier 合成技术解析。非氢原子进行各向异性精修, 氢原子由 Fourier 法找出或用理论加氢。最后的全矩阵最小二乘精修基于 5483 个独立衍射点, 其中可观察点 4846 个 ($I > 2\sigma$) 以及 446 个可变参数。最终偏离因子 $R_1 = 0.0627$, $wR_2 = 0.1684$, $\omega = 1/[\sigma^2(F_o^2) + (0.0946P)^2 + 1.3301P]$, 其中 $P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$ 。结构解析及精修采用 SHELXS-97^[15]。

CCDC: 203964。

1.3 FT-IR 光谱测定

在 Nicolet NEXUS FTIR-470 型红外光谱仪上, 采用 KBr 压片法, 于 $4000 \sim 400\text{ cm}^{-1}$ 范围内测定配体和配合物的红外光谱。

1.4 体外抗菌、抗肿瘤活性测定

1.4.1 抗菌活性测定

采用微孔板液体稀释法, 每块板均采用阳性及阴性对照。所用菌株分别为金黄色葡萄球菌 (*S. Aureus*, G+ (革兰氏阳性菌)), 藤黄八迭球菌 (*M. Lutens*, G+), 大肠杆菌 (*E. Coli*, G- (革兰氏阴性菌)), 绿脓杆菌 (*P. Aeruginosa*, G-)。用微量加样器依次于微孔板上加入稀释的样品, 再在每孔中加入菌液, 振荡 1min, 37°C 培养 24h。肉眼观察无细菌生长, 即微孔内液体清亮、无混浊或沉淀生成的最低药物浓度为该药物的最低抑制浓度 (MIC)。

1.4.2 抗肿瘤活性实验

采用 MTT(四氮唑盐) 比色法 (作用时间: 48h) 测定了配体及配合物对 HL-60(人急性早幼粒白血病) 细胞的抑制作用; 采用 SRB(磺酰罗丹明 B) 蛋白染色法 (作用时间: 72h) 测定了配体及配合物对 BEL-7402(人肝细胞性肝癌) 细胞的抑制作用, 用二甲亚砜作溶剂对照, 测试方法参见文献^[16]。

2 结果与讨论

2.1 晶体结构描述

晶体结构解析表明, 配合物化学式为: $\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{ClCuFN}_3\text{O}_7$, 式量为 660.51, 属三斜晶系, 空间群 $P\bar{1}$, $a = 0.80372(6)\text{ nm}$, $b = 0.94712(7)\text{ nm}$, $c = 1.67826(13)\text{ nm}$, $\alpha = 88.5650(10)^\circ$, $\beta = 80.9920(10)^\circ$, $\gamma = 70.2780(10)^\circ$, $V = 1.18722(6)\text{ nm}^3$, $Z = 2$, $D = 1.848\text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$, $F(000) = 676$, $\mu = 1.107\text{ mm}^{-1}$ 。

采用 Farrugia 的程序^[17] 画出配合物 ORTEP 图见图 3, 晶胞堆积图见图 4, 主要键长和键角列于表 1。配合物为双核铜四元混配配合物 $[\text{Cu}_2(\text{cfc})_2(\text{phen})_2(\text{pip})](\text{NO}_3)_2(\text{CO})_2$, Cu^{2+} 配位数为 5, 2 个氮原子来自 phen, 2 个氧原子来自 Hcfc 上的羧酸根和酮基, 即羧酸根为单齿配位, $\text{Cu}-\text{O}(1)-\text{C}(1)-\text{O}(2)$ 的扭曲角为 166.4° , 为顺式共面配位。Hcfc 的 3 位羧基和 4 位酮基与铜离子配位形成一个六元环的稳定结构。哌嗪基脱离环丙沙星母环后, 其 N 原子参与配位, 成为 Cu(II) 的第五个配位原子。铜离子形成了一个畸变的四方锥形配位几何构型。 $\text{Cu}-\text{O}(1)$ 和 $\text{Cu}-\text{O}(3)$ 的键长分别为 $0.1903(3)\text{ nm}$ 和 $0.1923(3)\text{ nm}$, 与另一配合物 $[\text{Cu}_2(\text{cfc})_2(\text{bpy})_2(\text{pip})] \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 的 Cu-O 键长不同, 其 $\text{Cu}-\text{O}(1)$ 和 $\text{Cu}-\text{O}(3)$ 的键长分别为 $0.1922(6)\text{ nm}$ 和 $0.1924(7)\text{ nm}$ ^[6], 与配合物 $[\text{Cu}$

表 1 主要键角和键长

Table 1 Selected Bond Lengths(nm) and Angles($^\circ$) for the Complex

Cu-O(1)	0.1903(3)	Cu-O(3)	0.1923(3)	Cu-N(3)	0.2006(3)
Cu-N(2)	0.2013(3)	Cu-N(5)	0.2280(5)		
O(1)-Cu-O(3)	94.14(11)	O(1)-Cu-N(3)	92.52(12)	O(3)-Cu-N(3)	169.11(12)
O(1)-Cu-N(2)	168.77(12)	O(3)-Cu-N(2)	90.26(12)	N(3)-Cu-N(2)	81.69(12)
O(1)-Cu-N(5)	101.24(18)	O(3)-Cu-N(5)	91.16(18)	N(3)-Cu-N(5)	95.98(18)
N(2)-Cu-N(5)	88.97(18)	N(1)-C(11)-C(13)	117.9(4)	N(1)-C(11)-C(12)	117.4(4)
C(13)-C(11)-C(12)	60.3(3)	C(11)-C(12)-C(13)	59.6(3)	C(11)-C(13)-C(12)	60.1(3)
F-C(7)-C(6)	117.9(3)	F-C(7)-C(8)	120.2(4)	C(5)-C(6)-Cl	121.1(3)
C(7)-C(6)-Cl	118.9(3)				

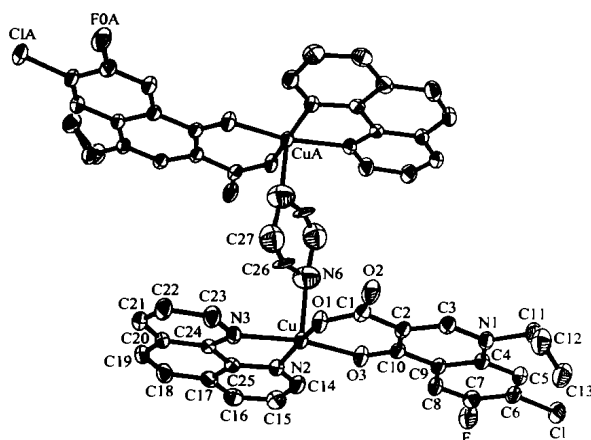


图 3 配合物 ORTEP 图

Fig. 3 ORTEP plot of the complex

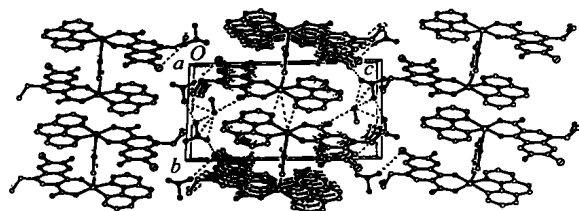


图 4 晶胞堆积图

Fig. 4 Packing drawing of the complex

(L)(bpy)](C₂H₅OH)(5H₂O)}_n 的 Cu-O 键长的情况也不同, 键长分别为 0.1918(3) nm(acid) 和 0.1947(3) nm(keto) [18]。配合物中配体之间存在着芳环堆积作用, 相邻分子的 phen 和 cfc 之间的距离为 0.34 ~ 0.36 nm, 观测到的堆积效应表明 π - π 相互作用的距离与 DNA 中碱基对堆积效应相近 [19]。

2.2 配合物红外光谱

在药物配体 Hcpf 的 FT-IR 中有两个特征吸收峰 1707.6 cm⁻¹ 和 1627 cm⁻¹, 前者归属于药物配体羧基上的羰基振动峰, 而后者可归属于 Hcpf 母环 4 位上酮基的振动吸收峰。与配体的红外光谱相比, 羧基 $\nu_{C=O}$ 在 1707.6 cm⁻¹ 的吸收峰消失, 表明羧基上的羰基氧原子与金属离子配位; 而在 1627 cm⁻¹ 处

的吸收峰也发生了改变, 配合物 IR 中在 1633.6 cm⁻¹ 出现新的吸收峰。根据晶体结构, 酮基参与金属离子的配位, 其伸缩峰将向低波数方向移动, 即 1600 cm⁻¹ 处, 与此相应, 1633.6 cm⁻¹ 和 1476.8 cm⁻¹ 可指认为为羧基的 ν_s 和 ν_a , $\Delta\nu = 156$ cm⁻¹。而 Hcpf 7 位哌嗪基末端 N 原子上 N-H 的 ν_{N-H} 在 2778 ~ 2467 cm⁻¹ 的吸收峰非常明显, 在配合物 IR 谱中未能观察到 ν_{N-H} 吸收峰。

自由的 phen · H₂O 的环振动峰位于 1560 cm⁻¹ 处, C-H 面外弯曲振动峰在 855 cm⁻¹ 和 740 cm⁻¹ 处, 在配合物中 phen 的环振动峰位于 1522 cm⁻¹, C-H 面外弯曲振动峰在 848 cm⁻¹ 和 723 cm⁻¹ 处, 表明 phen 参与配位。在配合物 IR 谱中观察到只有 NO₃⁻ 的特征振动峰 (1385 cm⁻¹), 但未观察到 NO₃⁻ 参与配位所显示的特征峰。

2.3 体外生物活性

药物配体及配合物的体外抗菌活性结果列于表 2, 对白血病 (HL-60) 细胞、肝癌 (BEL-7402) 细胞的抑制作用结果参见表 3。

表 2 药物配体及配合物的体外抗菌活性

Table 2 Minimal Inhibitory Concentration (MIC, μ g · mL⁻¹) of the Drugs for the Assayed Bacteria

compound	microorganism			
	<i>S. Aureus</i>	<i>M. Lutus</i>	<i>E. Coli</i>	<i>P. Aeruginosa</i>
Hcpf	< 20	< 20	< 20	< 20
the complex	< 20	< 20	< 20	> 20

由抗菌活性实验结果可以看出: 药物配体和配合物对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和藤黄色八叠球菌的抑制活性几乎相同, 而对绿脓杆菌的抑制活性, 药物配体强于铜配合物。与文献 [20] 报道的金属离子影响药物分子在体内活性的结论相一致。与文献 [6] 相比, 药物配体与铜配合物的抗菌活性基本一致。

按照抗肿瘤生物活性体外筛选试验的结果评定标准, 药物浓度为 10⁻⁵ mol · L⁻¹ 时, 对肿瘤细胞生长抑制率低于 85%, 则视为无效; 而高于 85% 或者在浓度为 10⁻⁶ mol · L⁻¹ 时抑制率高于 50%, 均视为

表 3 化合物对肿瘤细胞生长的抑制率

Table 3 Inhibitory Activity Data of the Compounds Against Liver Cancer BEL-7402 Cell Line and Leukemia HL-60 Cell Line (%)

compound	BEL-7402 / (mol · L ⁻¹)				HL-60 / (mol · L ⁻¹)			
	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷
Hcpf	31.0	4.6	0	0	3.4	0	0	0
the complex	—	75.2	92.7	8.7	95.9	100	100	71.1

弱效; 当浓度为 $10^{-6} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时抑制率不低于 85%, 或者浓度为 $10^{-7} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时抑制率高于 50%, 均视为强效。由表 3 抗肿瘤活性实验结果可知: 药物配体 Hcpf 对两种肿瘤细胞没有抑制作用, 该配合物对于 BEL-7402 人肝癌细胞和 HL-60 人白血病细胞均有很强的抑制作用, 当其浓度为 $10^{-6} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 对 BEL-7402 的抑制率可达 92.7%, 对 HL-60 的抑制率达到 100%; 而当其浓度为 $10^{-7} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 对 HL-60 的抑制率仍可达到 71.1%, 而对 BEL-7402 的抑制率为 8.7%, 即配合物对 HL-60 的抑制作用比对 BEL-7402 的作用更强。

与以 2, 2-bipy 为 N-N 配体的同类配合物^[6]相比, 本文中以 1, 10-phen 为 N-N 配体的配合物的抗肿瘤活性略强, 前者浓度为 $10^{-6} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 对 BEL-7402 的抑制率为 81.4% (<85%, 弱效), 当前者浓度为 $10^{-7} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 对 HL-60 的抑制率为 63.6%, 均比后者相应浓度的抑制率低。

文献^[21, 22]认为, 配体 phen 与 bipy 分别形成配合物与 DNA 作用, phen 配合物除沟结合外, 还可以借助疏水作用和 π 电子作用使芳环平面部分插入 DNA 双螺旋结构中的碱基对之间, 增强配合物与 DNA 之间的作用, 而 bipy 配合物仅有沟结合作用。文献^[6]和本文中的配合物均具有芳环堆积作用, π - π 相互作用的距离与 DNA 中碱基对堆积效应相近, 表明 phen 与 bipy 配体形成的配合物与 DNA 作用不只是有沟结合, 同样均有嵌插式结合模式, 但从药物活性结果初步推测, phen 为配体的配合物与 DNA 之间的嵌插式作用相对较强。

由此可见, 通过合成以药物分子为配体的配合物是发现新型抗癌药物的新思路, 对于开发喹诺酮药物的应用和金属配合物抗癌新药具有理论意义和实践意义。目前, 我们正在开展该类配合物的体内抗肿瘤实验。

感谢: 中国科学院药物所国家新药筛选中心为本文两个化合物做了抗菌和抗肿瘤活性测试, 特此致谢。

参 考 文 献

- [1] Lecomte S., Baron M. H., Chenon M. T. et al *Agents Chemother.*, **1994**, **38**, 2810.
- [2] Ruiz M., Perello L., Ortiz R. et al *J. Inorg. Biochem.*, **1995**, **59**, 801.
- [3] Gao F., Yang P., Xie J. et al *J. Inorg. Biochem.*, **1995**, **60**, 61.
- [4] Turel I., Leban I., Klitschar G. et al *J. Inorg. Biochem.*, **1997**, **66**, 77.
- [5] Turel I., Leban I., Bukovec N. *J. Inorg. Biochem.*, **1997**, **66**, 241.
- [6] WANG Guo-Ping(王国平), ZHU Long-Guan(朱龙观), YU Qing-Sen(俞庆森) *Wuji Huaxue Xuebao* (Chin. J. Inorg. Chem.), **2003**, **19**(2), 179.
- [7] Wallis S. C., Gahan L. R., Charles B. G. et al *J. Inorg. Biochem.*, **1996**, **62**, 1.
- [8] Yang P., Li J. B., Tian Y. N. et al *Chin. Chem. Lett.*, **1999**, **10**(10), 879.
- [9] Turel I., Golic L., Bukovec P., Gubina M. *J. Inorg. Biochem.*, **1998**, **71**, 53.
- [10] Prasanna M. D., Guru Row T. N. *J. Molecular Structure*, **2001**, **559**, 255.
- [11] Turel I., Golic L., Ramirez O. L. R. *Acta Chim. Slov.*, **1999**, **46**(2), 203.
- [12] Wallis S. C., Gahan L. R., Charles B. G. et al *Polyhedron*, **1995**, **14**(20-21), 2835.
- [13] Turel I., Bukovec N., Farkas E. *Polyhedron*, **1996**, **15**(2), 269.
- [14] WANG G. P., ZHU L. G. *Frontiers of Solid State Chemistry*, Ed., Feng S. H., Chen J. S. World Scientific, Singapore, **2002**, 327.
- [15] Sheldrick G. M. *SHELXL-97, Program for Refinement of Crystal Structures*, University of Göttingen, Germany, **1997**.
- [16] HAN Rui(韩锐) *Research and Development of Anticancer Drugs and Experiments and Techniques* (抗癌药物研究与实验技术), Beijing: Beijing Medical University and China Xiehe Medical University Press, **1997**.
- [17] Farrugia L. J. *J. Appl. Cryst.*, **1997**, **30**, 565.
- [18] WANG Guo-Ping(王国平), CAI Guo-Qiang(蔡国强), ZHU Long-Guan(朱龙观) *Wuji Huaxue Xuebao* (Chin. J. Inorg. Chem.), **2000**, **16**(6), 987.
- [19] Janiak C. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **2000**, 3885.
- [20] Wolfson J. S., Hooper D. C. *Clin. Microbio. Rev.*, **1989**, **2**, 378.
- [21] YI Ping-Gui(易平贵), SHANG Zhi-Cai(商志才), YU Qing-Sen(俞庆森) *Wuji Huaxue Xuebao* (Chin. J. Inorg. Chem.), **2001**, **17**(1), 77.
- [22] SONG Yu-Min(宋玉民), KANG Jing-Wan(康敬万), GAO Jin-Zhang(高锦章) et al *Wuji Huaxue Xuebao* (Chin. J. Inorg. Chem.), **2000**, **16**(1), 53.

Synthesis, Crystal Structure, Antibacterial and Antitumor Activities of a New Binuclear Copper (II) Complex with 1, 10-phen and Fluoroquinolone

WANG Guo-Ping^{*1} FU Xu-Chun² ZHU Long-Guan¹

(¹ Department of Chemistry, Zhejiang University, Hangzhou 310027)

(² Department of Pharmacy, City College, Zhejiang University, Hangzhou 310015)

A new binuclear copper (II) complex with 1, 10-phen and fluoroquinolone ligands, $[\text{Cu}_2(\text{cfc})_2(\text{phen})_2(\text{pip})](\text{NO}_3)_2(\text{CO})_2$, was synthesized and its crystal structure was solved. The formula of the complex is $\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{ClCuFN}_5\text{O}_7$, and the crystallography data are as follows, triclinic, space group $P\bar{1}$, $a = 0.80372(6)\text{nm}$, $b = 0.94712(7)\text{nm}$, $c = 1.67826(13)\text{nm}$, $\alpha = 88.5650(10)^\circ$, $\beta = 80.9920(10)^\circ$, $\gamma = 70.2780(10)^\circ$, $V = 1.18722(6)\text{nm}^3$, $Z = 2$, $D = 1.848\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$, $F(000) = 676$. $R_1 = 0.0627$ and $wR_2 = 0.1684$ ($I > 2\sigma(I)$). The copper atom is five-coordinate with square-based pyramidal geometry and involves two nitrogen atoms from phen, two oxygen atoms from cfc and one nitrogen atom from pip anion. The stacking effect between cfc and phen ligands from two neighboring molecules was observed. FT-IR spectrum of the complex was also discussed. Both ligand and complex were assayed against gram-positive and gram-negative bacteria by doubling dilutions method; the complex shows the same minimal inhibitory concentration (MIC) as the corresponding ligand against *S. Aureus*, *E. Coli* and *M. Lutens* bacteria. The inhibitory effect of the ligand and complex on leukemia HL-60 cell line and liver cancer BEL-7402 cell line have been measured by using MTT (Methyl-Thiazol-Tetrazolium) and SRB (Sulphurhodamin B) assay methods, respectively. The results indicated that the complex has strong inhibitory effect on HL-60 and BEL-7402 cell line. CCDC: 203964.

Keywords: copper complex fluoroquinolone ciprofloxacin synthesis crystal structure
antibacterial and antitumor activity