

缩氨基硫脲 Ni(II)配合物的合成、晶体结构、 DNA 相互作用及抗肿瘤活性研究

闵 睿^{1,2} 范晓瑞¹ 周 攀³ 颜 军¹ 周建良¹ 张寿春^{*,1,2}

(¹ 中南大学化学化工学院, 长沙 410083)

(² 中南大学有色金属资源化学教育部重点实验室, 长沙 410083)

(³ 中国科学院福建物质结构研究所, 福州 350002)

摘要: 合成了一种缩氨基硫脲 Ni(II)配合物 $[\text{Ni}(\text{QCMT})_2]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{CH}_3\text{OH} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ (QCMT 为喹啉-2-甲醛-*N*⁴-甲基缩氨基硫脲)。该配合物晶体属于三斜晶系, $P\bar{1}$ 空间群, $a=1.000\ 2(2)\ \text{nm}$, $b=1.093\ 9(2)\ \text{nm}$, $c=1.583\ 6(3)\ \text{nm}$, $\alpha=93.99(3)^\circ$, $\beta=105.25(3)^\circ$, $\gamma=108.46(3)^\circ$ 。中心离子 Ni^{2+} 处于变形八面体配位环境中。电子吸收光谱、荧光光谱及圆二色谱分析表明该配合物通过静电作用方式与 DNA 相结合。测定了该 Ni(II)配合物与配体(QCMT)对人乳腺癌细胞系 MCF-7、人卵巢癌细胞系 SKOV-3 及人非小细胞肺癌耐顺铂细胞系 A-549/CDDP 的体外细胞毒活性。结果表明, Ni(II)配合物对 MCF-7 细胞系的细胞毒活性强于顺铂, 同时该配合物对 MCF-7 和 SKOV-3 两种细胞系的细胞毒活性明显优于其配体。

关键词: 镍配合物; 缩氨基硫脲; DNA 相互作用; 细胞毒活性

中图分类号: O614.81·3 文献标识码: A 文章编号: 1001-4861(2014)08-1771-07

DOI: 10.11862/CJIC.2014.271

Synthesis, Crystal Structure, DNA Interaction and Antitumor Activity of Nickel(II) Complex with Quinoline-2-carboxaldehyde *N*⁴-methyl-thiosemicarbazone

MIN Rui^{1,2} FAN Xiao-Rui¹ ZHOU Pan³ YAN Jun¹ ZHOU Jian-Liang¹ ZHANG Shou-Chun^{*,1,2}

(¹*School of Chemistry and Chemical Engineering, Central South University, Changsha 410083, China*)

(²*Key Laboratory of Resources Chemistry of Nonferrous Metals, Ministry of Education,
Central South University, Changsha 410083, China*)

(³*Fujian Institute of Research on the Structure of Matter, Chinese Academy of Sciences, Fuzhou 350002, China*)

Abstract: A nickel complex, $[\text{Ni}(\text{QCMT})_2]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{CH}_3\text{OH} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ (QCMT=quinoline-2-carboxaldehyde-*N*⁴-methyl-thiosemicarbazone), has been synthesized and characterized. The complex crystallized in a triclinic system with space group $P\bar{1}$, $a=1.000\ 2(2)\ \text{nm}$, $b=1.093\ 9(2)\ \text{nm}$, $c=1.583\ 6(3)\ \text{nm}$, $\alpha=93.99(3)^\circ$, $\beta=105.25(3)^\circ$, $\gamma=108.46(3)^\circ$. Nickel(II) ion is situated in a distorted octahedral geometry. Interaction of the nickel(II) complex with calf thymus DNA was investigated by electronic absorption spectra, circular dichroism (CD) spectra and fluorescence spectra. The results suggest that nickel(II) complex binds to DNA through a electrostatic binding mode. The in vitro cytotoxicity have been tested against the human breast adenocarcinoma cell line MCF-7, human ovarian carcinoma cell line SKOV-3 and cisplatin-resistant cell line A-549/CDDP. The nickel(II) complex is more cytotoxic than cisplatin against MCF-7 cell line and shows higher growth inhibitory rates against MCF-7 and SKOV-3 cell lines than the corresponding thiosemicarbazone ligand alone. CCDC: 974828.

Key words: nickel(II) complex; thiosemicarbazone; DNA interaction; cytotoxicity

收稿日期: 2013-12-16。收修改稿日期: 2014-04-13。

湖南省自然科学基金(No.12JJ3016)资助项目。

*通讯联系人。E-mail: zhang_shch@sina.cn; 会员登记号: S060019261M。

0 引言

缩氨基硫脲类化合物由于具有显著的抗菌、抗肿瘤和抗病毒等多种生物活性和潜在的药用价值,从而受到人们的广泛关注^[1-2]。研究表明,在缩氨基硫脲类化合物中,亚氨基上 N 原子和硫羰基上的 S 原子是该类化合物具有生物活性的基本活性原子^[3]。同时缩氨基硫脲类化合物具有 N-N-S 三齿电子给予体的稳定结构^[4],可与多种金属配位形成配合物,且形成的金属配合物可表现出更强的抗菌和抗肿瘤等生物活性^[5-6]。

镍是生物体中必需的微量元素,如促进生物体内铁的吸收、氨基酶的合成等,在许多生物过程和无氧新陈代谢过程中发挥着重要的作用^[7-8]。配合物中的镍离子与双螺旋 DNA 的主要结合位点是磷酸基团或鸟嘌呤 N7^[9],甚至在较低浓度下就可引起 DNA 凝聚^[10]。镍配合物对多种癌细胞都表现出较强的抑制作用,有较好的抗肿瘤活性^[11-18]。

本文合成了一种缩氨基硫脲 Ni(II)配合物 $[\text{Ni}(\text{QCMT})_2]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{CH}_3\text{OH} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ (QCMT 为喹啉-2-甲醛-*N*⁴-甲基缩氨基硫脲)。通过电子吸收光谱、荧光光谱和圆二色谱法研究了配合物与 DNA 之间的相互作用,并通过 MTT 法对该配合物的体外抗肿瘤活性进行了研究。

1 实验部分

1.1 试剂及仪器

喹啉-2-甲醛、4-甲基氨基硫脲购自百灵威。小牛胸腺 DNA(CT-DNA)购自 MBI Fermentas;溴化乙锭(EB)、三羟甲基氨基甲烷(Tris)购自 Sigma。顺铂购自 Sigma-Aldrich 公司。配合物和顺铂溶液用去离子水配制成一定浓度的母液,存放于 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱中备用。3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐(MTT) 购自 Sigma 公司。细胞培养所用的培养基 RPMI 1640、DMEM、MEM 及胎牛血清 FBS 购于美国 HyClone 公司。常用的无机药品和有机溶剂均为分析纯。多功能酶标仪是 Thermo Scientific 的 Multiskan MK3 型号;傅里叶红外光谱仪是美国 Nicolet 的 AVATR-360 型号;元素分析仪是德国 Elementra 的 Varion EL III 型号;荧光光谱仪是美国 Thermo 公司的 Aminco Bowman Series 2 型号;紫外可见分光光度计是美国 PE 公司的 LAMBDA-35 型号;圆二色谱仪是日本分光株式会社的 Jasco J-

810。

1.2 配合物的合成

称取 230 mg(1 mmol)配体 QCMT(配体的合成参考文献^[19])溶于 10 mL 甲醇,再滴加 5 mL 含 119 mg(0.5 mmol) $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 的甲醇溶液,室温搅拌 24 h 后得澄清溶液。将溶液静置,慢慢挥发 20 d,得深红色四方体晶体,产率 73.6%。元素分析 $\text{C}_{26}\text{H}_{35}\text{N}_8\text{NiS}_2\text{Cl}_2\text{O}_{3.5}$ 的计算值(%):C 44.01, H 4.94, N 15.80;实测值(%):C 44.15, H 4.73, N 15.68。IR(KBr, cm^{-1}): 3 180(w), 2 969(w), 1 524(m), 1 466(s), 1 384(s), 1 161(m)。

1.3 晶体结构测定

晶体的 X 射线衍射数据在 Bruker Smart Apex CCD 衍射仪上收集。293 K 温度下,衍射光源是经石墨单色器单色化的 $\text{Mo K}\alpha$ 射线 ($\lambda=0.071\ 073\ \text{nm}$),运用 ω - 2θ 扫描技术收集数据,得到了反射范围在 $4.4^\circ < \theta < 53.88^\circ$ 的 12 848 个衍射点,其中 6 998 个为独立衍射点($R_{\text{int}}=0.063\ 2$),用于最小二乘法修正的衍射点为 5 098 个($I > 2\sigma(I)$)。单晶结构用直接法,由 SHELX-97 程序^[20]解出,氢原子为理论加氢,配合物主体结构原子坐标和各向异性参数均用全矩阵最小二乘法由 SHELXL-97 程序精修,精修参数为 383 个;部分无序溶剂分子为进行理论加氢并采用各向同性限制精修。配合物的详细晶体学数据列于表 1。

CCDC:974828。

1.4 配合物与 DNA 之间的作用

1.4.1 电子吸收光谱

用 $5\ \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris-HCl/ $50\ \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 缓冲溶液 (pH=7.2)溶解一定量的 CT-DNA,并测得 CT-DNA 溶液的电子吸收光谱^[21]。测得的该电子吸收光谱图中,260 nm 处的吸收强度和 280 nm 处吸收强度的比值约为 1.9,则表示该 CT-DNA 中不含蛋白质,可以用于实验^[22]。配制的 CT-DNA 溶液的浓度数值,可通过测定 260 nm 处的吸光度进行计算得到,DNA 在 260 nm 处的摩尔吸光系数是 $6\ 600\ \text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 。将 CT-DNA 逐渐滴加到 $50\ \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ $[\text{Ni}(\text{QCMT})_2]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{CH}_3\text{OH} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ 溶液中, ($r=0.0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2$, r 为 DNA 与配合物的物质的量之比),分别记录下配合物的电子吸收光谱变化。通过以下公式计算出配合物与 DNA 的结合常数 K_b ^[23]:

$$c_{\text{DNA}}/(\varepsilon_a - \varepsilon_f) = c_{\text{DNA}}/(\varepsilon_b - \varepsilon_f) + 1/[K_b(\varepsilon_b - \varepsilon_f)]$$

其中 ε_a 为配合物的表观摩尔吸光系数,其值为 $A_{\text{obsd}} / c_{\text{Ni}}$, ε_f 为纯配合物的摩尔吸光系数, ε_b 为配合物与 DNA 充分结合后的摩尔吸光系数。以 $c_{\text{DNA}} / (\varepsilon_b - \varepsilon_f)$ 对 c_{DNA} 作图,得到的直线斜率与截距的比值即为结合常数 K_b 。

1.4.2 CD 光谱

将 $[\text{Ni}(\text{QCMT})_2]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{CH}_3\text{OH} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ 溶液与 CT-DNA 溶液 ($0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$), 分别以 $r=0.0, 0.2, 0.4, 0.6$ 的比值进行混合后(r 为配合物与 DNA 的物质的量之比), 在 Jasco J-810 光谱仪上分别测定这 3 组样品的 CD 曲线, 扫描的波长的范围是 $220 \sim 320 \text{ nm}$, 扫描速度为 $10 \text{ nm} \cdot \text{min}^{-1}$, 数据记录间隔为 0.1 nm , 每组样品均测试 3 次后取平均值, 扣除缓冲溶液的背景吸收。

1.4.3 荧光光谱

用 pH 为 7.2 的 $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris-HCl/ $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 缓冲溶液配制 $50 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ $[\text{Ni}(\text{QCMT})_2]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{CH}_3\text{OH} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ 溶液, 然后分别将配置好的配合物溶液慢慢滴加到含 $10 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ EB 和 $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ CT-DNA 的混合溶液中, 于室温条件下, 分别测定每次加入样品后的荧光光谱 (激发波长为 530 nm , 发射波长为 600 nm)。

1.5 体外细胞毒性

乳腺癌细胞(MCF-7)培养于含 10%(V/V)热失活胎牛血清的 DMEM 培养基中; 人卵巢癌细胞(SKOV-3) 培养于含 10%(V/V) 热失活胎牛血清的

RPMI 1640 培养基中; 人非小细胞肺癌细胞耐药株(A-549/CDDP)培养于含 10%(V/V)热失活胎牛血清的 RPMI 1640 培养基中并且在复苏、传代过程中加一定浓度($2 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)的顺铂进行刺激。细胞在 $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 、含 5% CO_2 、95%空气和 100%相对湿度的环境中培养。

以顺铂为阳性对照, 采用 MTT 法检测配合物 $[\text{Ni}(\text{QCMT})_2]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{CH}_3\text{OH} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ 及配体 QCMT 对不同类别肿瘤细胞株的体外毒活性^[24]。用 10 mm 塑料培养皿培养细胞至对数生长期, 然后收集细胞, 向 96 孔培养板的孔井中接种含有适量肿瘤细胞的培养液 $100 \text{ } \mu\text{L}$, 于 $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 培养箱中过夜培养使其充分贴壁。隔天加入含有不同浓度梯度配合物和配体的培养液 $100 \text{ } \mu\text{L}$, 每个细胞系与不同浓度的化合物作用 48 h 后每孔加入 $20 \text{ } \mu\text{L}$ 含 MTT ($5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 的 PBS 溶液, 每个浓度在 3 个孔井中平行试验。然后加入含 MTT 的 PBS 缓冲溶液($20 \text{ } \mu\text{L}$, $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), 反应 4 h 后, 吸出并去掉孔中培养液, 最后加入 DMSO (HPLC 级别) $200 \text{ } \mu\text{L}$ 振荡培养板使甲瓚晶体充分溶解, 用酶标仪读取 570 nm 波长的 OD 值。实验期间保持细胞处于对数生长期, 同时使得光密度(OD)值和活细胞之间成线性关系。配合物对细胞增殖抑制效果采用下面公式评估:

$$\text{抑制率}(\%) = (\text{OD}_{\text{对照}} - \text{OD}_{\text{化合物}}) / (\text{OD}_{\text{对照}} - \text{OD}_{\text{培养基}}) \times 100\%$$

表 1 配合物的晶体学数据

Table 1 Crystallographic data of the title complex

Empirical formula	$\text{C}_{26}\text{H}_{35}\text{N}_8\text{NiS}_2\text{Cl}_2\text{O}_{3.5}$	Absorption coefficient / mm^{-1}	0.97
Formula weight	709.35	$F(000)$	738
T / K	293	Crystal size / mm	$0.2 \times 0.2 \times 0.2$
Crystal system	Triclinic	θ range for data collection / ($^\circ$)	2.21 to 26.00
Space group	$P\bar{1}$	Limiting indices	$-10 \leq h \leq 12, -13 \leq k \leq 13, -19 \leq l \leq 19$
a / nm	1.000 2(2)	Reflection collected / unique	11 532 / 6 070 ($R_{\text{int}}=0.061$ 6)
b / nm	1.093 9(2)	Absorption correction	Semi-empirical from equivalents
c / nm	1.583 6(3)	Refinement method	Full-matrix least-squares on F^2
α / ($^\circ$)	93.99(3)	Data / restraints / parameters	6 070 / 2 / 369
β / ($^\circ$)	105.25(3)	Goodness-of-fit on F^2	0.957
γ / ($^\circ$)	108.46(3)	Final R indices [$I > 2\sigma(I)$] ^a	$R_1=0.066$ 5, $wR_2=0.167$ 5
V / nm^3	1.563(5)	R indices (all data)	$R_1=0.104$ 5, $wR_2=0.196$ 9
D_c / ($\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$)	1.507	Largest diff. Peak and hole / ($\text{e} \cdot \text{nm}^{-3}$)	904 and -778
Z	2		

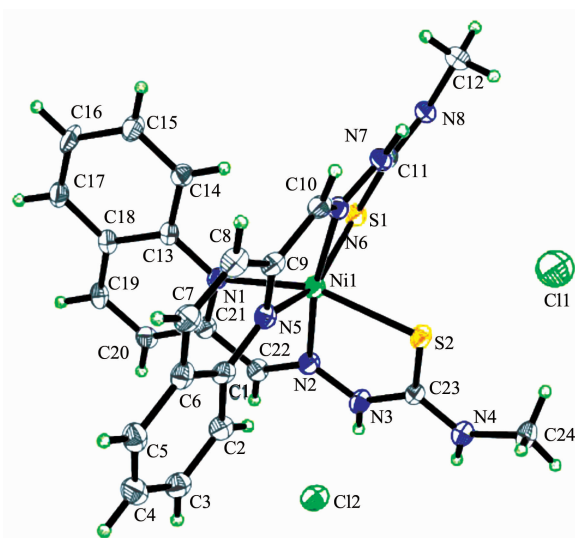
^a $R_1 = \sum ||F_o| - |F_c|| / \sum |F_o|$; $wR_2 = [\sum w(F_o^2 - F_c^2)^2 / \sum w(F_o^2)^2]^{1/2}$

2 结果与讨论

2.1 配合物的晶体结构

配合物 $[\text{Ni}(\text{QCMT})_2]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{CH}_3\text{OH} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ 的晶体结构图如图 1,其主要键长和键角列于表 2 中。由图可见,该配合物分子由 1 个金属中心 Ni(1)和 2 个 QCMT 配体配位而成,Ni(1)中心处于六配位的扭曲八面体构型的配位环境中,2 个 QCMT 配体上喹啉基的 2 个氮原子 N(1)、N(5)与 2 个硫原子 S(1)、S(2)位于赤道平面,QCMT 配体上亚胺基的 2 个氮原子 N(2)、N(6)占据 2 个极轴上的顶点。赤道平面上的键角 N(1)-Ni(1)-S(2) ($158.80(12)^\circ$) 和 N(5)-Ni(1)-S(1) ($156.30(11)^\circ$) 均小于 180° ,即常规八面体构型的理想值;同时,极轴上的键角 N(2)-Ni(1)-N(6) ($169.89(17)^\circ$)也偏离 180° ,表现为扭曲的八面体构型。2 个 QCMT 配体都是三齿配体并且 3 个配位原子表现为(Z,E,Z)构型,与已经报道的 Ni 双螯合缩氧硫脲类配合的 NNS 构型类似^[25]。2 个 QCMT 配体上的端甲基取向相反,C(12) 与同配体上的硫原子 S(1)形成反式构型,而 C(24)与相应配体上的硫原子 S(2)构成顺式构型,键角 C(23)-N(4)-C(24) ($122.7(5)^\circ$)

小于 C(11)-N(8)-C(12) ($123.7(5)^\circ$)。配合物中的 2 个氯离子为抗衡阴离子。如图 2 所示,在该配合物的晶



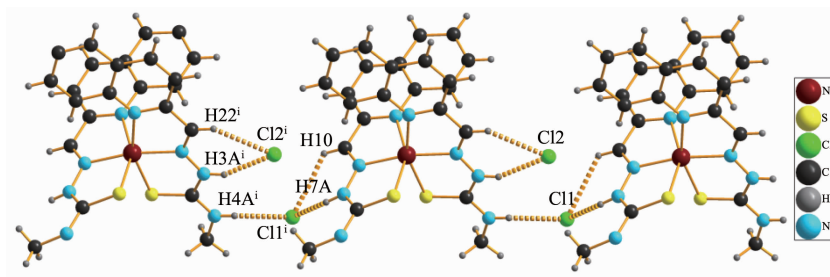
Thermal ellipsoids are drawn at 30% probability level; Solvent molecules and Hydrogen atoms are omitted for clarity

图 1 $[\text{Ni}(\text{QCMT})_2]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{CH}_3\text{OH} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ 的分子结构图
Fig.1 Molecular structure of $[\text{Ni}(\text{QCMT})_2]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{CH}_3\text{OH} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$

表 2 $[\text{Ni}(\text{QCMT})_2]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{CH}_3\text{OH} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ 的主要键长(nm)和键角($^\circ$)

Table 2 Selected bond lengths (nm) and bond angles ($^\circ$) for $[\text{Ni}(\text{QCMT})_2]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{CH}_3\text{OH} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$

Ni(1)-S(1)	0.244 87(19)	Ni(1)-S(2)	0.239 13(15)	Ni(1)-N(1)	0.215 9(4)
Ni(1)-N(2)	0.203 4(4)	Ni(1)-N(5)	0.222 2(5)	Ni(1)-N(6)	0.201 7(4)
S(1)-Ni(1)-S(2)	95.0(2)	S(1)-Ni(1)-N(3)	81.76(18)	S(1)-Ni(1)-N(4)	156.20(15)
N(6)-Ni(1)-N(2)	169.89(17)	N(6)-Ni(1)-N(1)	111.57(16)	N(2)-Ni(1)-N(1)	77.37(17)
N(6)-Ni(1)-N(5)	76.64(17)	N(2)-Ni(1)-N(5)	109.32(17)	N(1)-Ni(1)-N(5)	87.25(16)
N(6)-Ni(1)-S(2)	89.44(12)	N(2)-Ni(1)-S(2)	81.96(13)	N(1)-Ni(1)-S(2)	158.80(12)
N(5)-Ni(1)-S(2)	95.27(11)	N(6)-Ni(1)-S(1)	82.16(13)	N(2)-Ni(1)-S(1)	93.25(13)
N(1)-Ni(1)-S(1)	90.84(12)	N(5)-Ni(1)-S(1)	156.30(12)	S(2)-Ni(1)-S(1)	94.98(6)
C(23)-N(4)-C(24)	122.7(5)	C(11)-N(8)-C(12)	123.7(5)		



Symmetry code: $x, -1+y, z$

图 2 $[\text{Ni}(\text{QCMT})_2]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{CH}_3\text{OH} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ 的氢键结构图

Fig.2 Crystal packing of $[\text{Ni}(\text{QCMT})_2]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{CH}_3\text{OH} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ with hydrogen bond in dashed lines

表 3 $[\text{Ni}(\text{QCMT})_2]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{CH}_3\text{OH} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ 的氢键键长(nm)与键角($^\circ$)Table 3 Hydrogen bonding lengths (nm) and bond angles ($^\circ$) for $[\text{Ni}(\text{QCMT})_2]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{CH}_3\text{OH} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$

D-H...A	$d(\text{D-H}) / \text{nm}$	$d(\text{H...A}) / \text{nm}$	$d(\text{D...A}) / \text{nm}$	$\angle \text{D-H...A} / (^\circ)$
N(3)-H(3A)...Cl(2)	0.086	0.230	0.311 5(5)	157
N(4)-H(4A)...Cl(1)	0.086	0.243	0.313 5(5)	140
N(7)-H(7A)...Cl(1) ⁱ	0.086	0.237	0.316 6(5)	155
C(22)-H(22)...Cl(2)	0.093	0.268	0.344 4(6)	139
C(10)-H(10)...Cl(1)	0.093	0.249	0.334 9(8)	153

Symmetry code: ⁱ $x, -1+y, z$

体结构中,存在着氢键作用,氢键相关的键长与键角数据列于表 3 中。

2.2 配合物与 DNA 相互作用的研究

本文中利用电子吸收光谱、荧光光谱和圆二色谱研究了配合物 $[\text{Ni}(\text{QCMT})_2]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{CH}_3\text{OH} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ 与 DNA 之间的相互作用。

2.2.1 电子吸收光谱

$[\text{Ni}(\text{QCMT})_2]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{CH}_3\text{OH} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ 与 CT-DNA 相互作用的电子吸收光谱如图 3 所示。配合物在 305 nm 处的吸收峰可归属于配体 QCMT 的 $\pi-\pi^*$ 跃迁, 383 nm 和 431 nm 处的吸收峰为配体 QCMT 中硫原子到金属的电荷跃迁, 这种跃迁常见于缩氨基硫脲金属配合物的电子吸收光谱中^[26-27]。随着配合物溶液中 CT-DNA 浓度的逐渐升高, 配合物的吸收强度明显减弱 (减色效应)。在 305 nm 处减色率是 27.9%, 但吸收峰波长无明显变化, 说明该金属配合物不是通过典型的插入方式与 DNA 发生相互作用。通常情况下, 配合物以插入方式与 DNA 结合

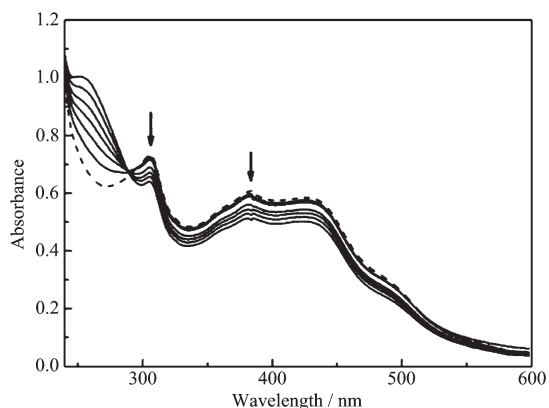


图 3 $[\text{Ni}(\text{QCMT})_2]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{CH}_3\text{OH} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ 在不同 CT-DNA 浓度下的电子吸收光谱 (图中箭头表示 CT-DNA 浓度逐渐增大时的变化趋势)

Fig.3 Electronic absorption spectra of $[\text{Ni}(\text{QCMT})_2]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{CH}_3\text{OH} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ in the absence (···) and presence (—) of increasing amounts of CT-DNA

时,其电子吸收光谱呈现明显的减色效应和一定程度的红移现象^[28-29]。该金属配合物与 DNA 的结合常数 K_b 为 $3.85 \times 10^3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$, 低于经典的插入试剂 EB 的结合常数 $1.0 \times 10^6 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ ^[30]。说明,与经典的插入试剂 EB 相比,配合物与 DNA 的相互作用较弱。

2.2.2 圆二色谱

将不同浓度的 $[\text{Ni}(\text{QCMT})_2]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{CH}_3\text{OH} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ 溶液加入到 CT-DNA 溶液中,测量其 CD 光谱变化,结果如图 4 所示。随着配合物溶液浓度的增加, 245 nm 处的负吸收峰强度有一定程度的降低,表明该金属配合物可以使 DNA 的双螺旋结构松散并最终导致其解旋;275 nm 处正吸收峰的强度变化很微弱,几乎没有变化,说明配合物的加入并没有引起 DNA 碱基堆积的变化,配合物和 DNA 的相互作用有可能是静电作用^[31]。

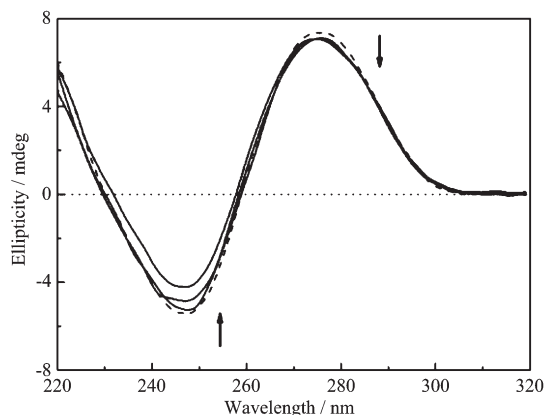


图 4 CT-DNA 在不同配合物浓度下的圆二色谱图 (图中箭头表示配合物 $[\text{Ni}(\text{QCMT})_2]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{CH}_3\text{OH} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ 浓度逐渐增大时的变化趋势)

Fig.4 CD spectra of $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ CT-DNA in the absence (···) and presence (—) of increasing amounts of $[\text{Ni}(\text{QCMT})_2]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{CH}_3\text{OH} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$

2.2.3 荧光光谱

进一步通过荧光光谱法验证了配合物与 DNA 之间的相互作用及作用的强弱。EB 分子能够强烈

地插入到 DNA 中,并且与 DNA 作用时能发出较强的荧光。其原因是 EB 插入 DNA 的碱基对中,形成大平面共轭体系,荧光强度显著增加的同时受到了 DNA 疏水环境的保护,避免了其激发态与水分子间发生能量交换产生的非辐射淬灭。配合物分子插入 DNA 中,将已经插入 DNA 分子中的 EB 置换,EB 被挤出,溶液荧光发生淬灭,荧光强度不断下降^[32]。一定浓度的 $[\text{Ni}(\text{QCMT})_2]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{CH}_3\text{OH} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ 与 DNA 发生相互作用的荧光光谱如图 5 所示。随着配合物不断滴加,荧光强度逐渐减弱。主要原因是+2 价金属配合物的阳离子与 DNA 的磷酸骨架通过静电方式发生作用,配合物浓度的增加,磷酸根的负电荷

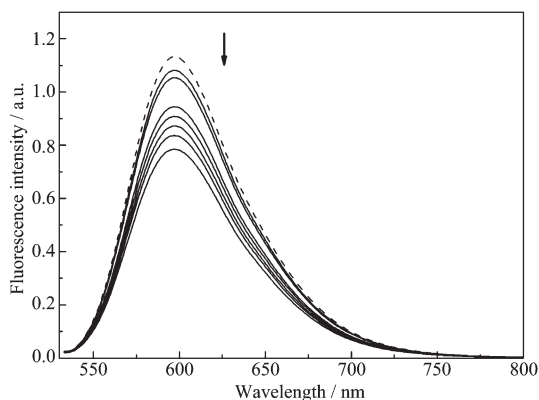


图 5 CT-DNA-EB 体系在不同配合物浓度下的荧光光谱图(图中箭头表示配合物 $[\text{Ni}(\text{QCMT})_2]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{CH}_3\text{OH} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ 浓度逐渐增大时的变化趋势)

Fig.5 Fluorescence emission spectra of CT-DNA-EB system in the absence (---) and presence (—) of increasing amounts of $[\text{Ni}(\text{QCMT})_2]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{CH}_3\text{OH} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$

逐渐被中和为中性,双链之间的排斥作用减弱直到消失,DNA 发生坍塌 EB 被挤出^[33]。

2.3 配合物的体外细胞毒活性测定

本文通过 MTT 法测定了配合物 $[\text{Ni}(\text{QCMT})_2]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{CH}_3\text{OH} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ 与配体 QCMT 对人乳腺癌细胞系 MCF-7、人卵巢癌细胞系 SKOV-3 及人非小细胞肺癌耐顺铂细胞系 A-549/CDDP 的体外细胞毒活性,并以顺铂作为阳性对照,结果如图 6 和图 7 所示。从图 6 可以看出,配合物 $[\text{Ni}(\text{QCMT})_2]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{CH}_3\text{OH} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ 对 MCF-7 细胞系的生产抑制率显著高于顺铂。例如,当浓度均为 $2 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,该 Ni(II)配合物的抑制率为 36.7%,而顺铂的抑制率仅为 14.8%;浓度均为 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, Ni(II)配合物的抑制率为 48.2%,而顺铂的抑制率为 29.6%;浓度均为 $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, Ni(II)配合物的抑制率达到 98.8%,而顺铂的抑制率仅为 81.6%。对 SKOV-3 细胞系而言,在较低浓度($2 \sim 5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)时, Ni(II)配合物的抑制率稍高于顺铂,当浓度进一步增大时,顺铂的活性则明显强于 Ni(II)配合物。对于 A549/CDDP 细胞系来说,在较低浓度($2 \sim 5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)时,顺铂的抑制率稍高于 Ni(II)配合物,在较高浓度时二者的活性基本相当。

从图 7 可以看出,配合物 $[\text{Ni}(\text{QCMT})_2]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{CH}_3\text{OH} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ 对细胞系 MCF-7 和 SKOV-3 的生长抑制率均明显高于配体 QCMT。而在相同浓度时,该 Ni(II)配合物与其配体 QCMT 对细胞系 MCF-7 的抑制率要高于细胞系 SKOV-3。在实验浓度范围内 ($2 \sim 50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), Ni(II)配合物对细胞系 A549/CDDP 的抑制率均稍高于配体 QCMT。

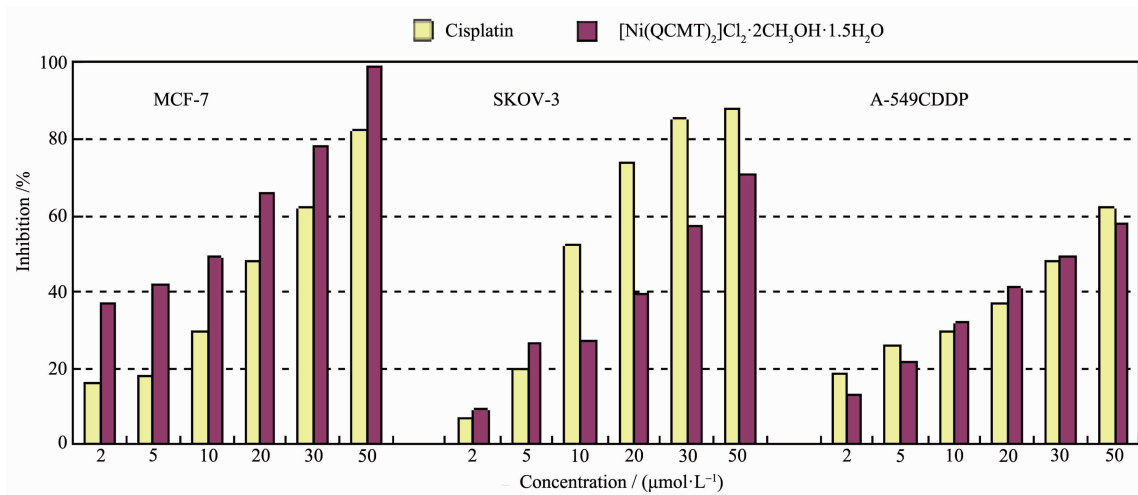
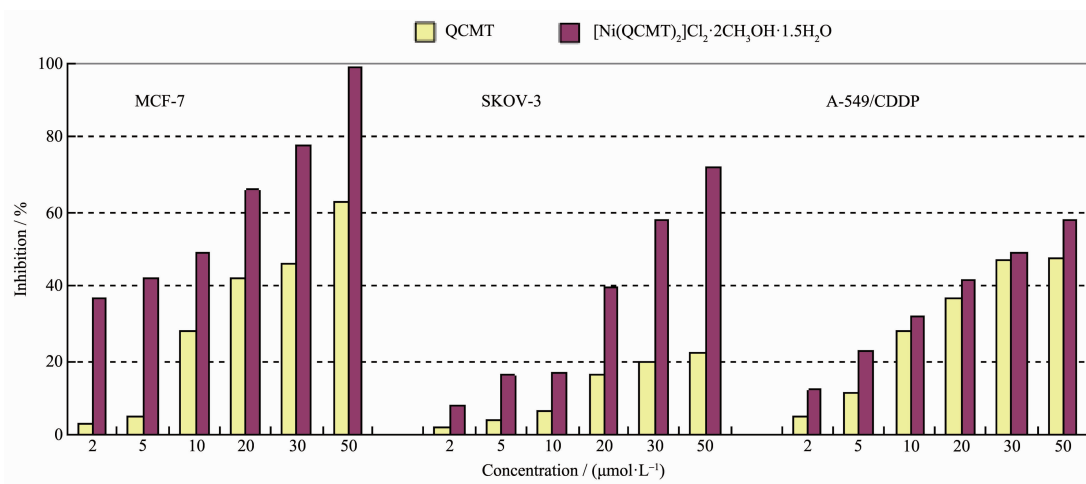


图 6 配合物 $[\text{Ni}(\text{QCMT})_2]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{CH}_3\text{OH} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ 体外细胞毒活性图(以顺铂作阳性对照)

Fig.6 Cytotoxic activity of $[\text{Ni}(\text{QCMT})_2]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{CH}_3\text{OH} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ with cisplatin as a positive control

图 7 配合物 $[\text{Ni}(\text{QCMT})_2]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{CH}_3\text{OH} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ 和配体 QCMT 体外细胞毒活性图Fig.7 Cytotoxic activities of $[\text{Ni}(\text{QCMT})_2]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{CH}_3\text{OH} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ and ligand QCMT

3 结 论

本文报道了一种喹啉-2-甲醛- N^4 -甲基缩氨基硫脲的新型 Ni(II)配合物, 其空间构型为变形八面体。该配合物能通过静电作用方式与 DNA 结合, 并对 MCF-7 细胞系表现出比顺铂更强的体外细胞毒活性, 有望发展成为一种新的抗肿瘤试剂。

参考文献:

- [1] Lobana T S, Sharma R, Bawa G, et al. *Coord. Chem. Rev.*, **2009**,**253**:977-1055
- [2] Ramachandran E, Natarajan K. *Metallomics*, **2012**,**4**:218-227
- [3] Prabhakaran R, Natarajan K. *Eur. J. Med. Chem.*, **2008**,**43**: 268-273
- [4] Demertzis D K, Demertzis M A. *Polyhedron*, **2007**,**26**:2871-2879
- [5] Genova P, Varadinova T, Matesanz A I, et al. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **2004**,**197**:107-112
- [6] Wang B D, Yang Z Y, Lu M H, et al. *J. Organomet. Chem.*, **2009**,**694**:4069-4075
- [7] Klayman D L, Bartosevich J F, Griffin T S, et al. *J. Med. Chem.*, **1979**,**22**:855-862
- [8] Huang W, Chen X, Ku L, et al. *J. Med. Chem.*, **2010**,**53**: 3048-3064
- [9] Carrington P E, Chiver P T, Al-Mjeni F, et al. *Nat. Struct. Biol.*, **2003**,**10**:126-130
- [10] Krüger M, Meyerdieck A, Glöcknerl F O. *Nature*, **2003**, **426**:878-881
- [11] Xi P X, Xu Z H, Chen F J, et al. *J. Inorg. Biochem.*, **2009**, **103**:210-218
- [12] Prabhakaran P, Kalaivani P. *J. Biol. Inorg. Chem.*, **2013**,**18**: 233-247
- [13] Wang J. *J. Photochem. Photobiol., A*, **2009**,**201**:183-190
- [14] Prabhakaran R, Kalaivani P, Poornima P. *Dalton Trans.*, **2012**,**41**:9323-9336
- [15] Krishnamoorthy P, Sathyadevi P. *Dalton Trans.*, **2012**,**41**: 4423-4436
- [16] Mukherjee T, Joo C P, Amit K. *Dalton Trans.*, **2013**,**42**: 2594-2607
- [17] Lubica K, Radek P, Lucie B. *Org. Biomol. Chem.*, **2013**,**11**: 78-89
- [18] Anbu S, Shanmugaraju S, Kandaswamy M. *RSC Adv.*, **2012**, **2**:5349-5357
- [19] Zhang S C, Dong J J, Fan X R, et al. *J. Coord. Chem.*, **2012**,**65**:3098-3110
- [20] Sheldrick G M, *SHELXTL V5, Reference Manual*, Siemens Analytical X-ray Systems, Madison, WI. **1996**.
- [21] Reichmann M E, Rice S A, Thomas C A, et al. *J. Am. Chem. Soc.*, **1954**,**76**:3047-3053
- [22] Marmur J. *J. Mol. Biol.*, **1961**,**3**:208-218
- [23] Wolfe A, Shimer G H, Meehan T. *Biochemistry*, **1987**,**26**: 6392-6396
- [24] Alley M C, Scudiero D A, Monks A, et al. *Cancer Res.*, **1988**,**48**:589-601
- [25] Ali M A, Mirza A H, Bujang F H, et al. *Polyhedron*, **2006**, **25**:3245-3252
- [26] Ainscough E W, Baker E N, Brodie A M. *Inorg. Chim. Acta*, **1990**,**172**:185-190
- [27] Ravooof S A, Crouse K A, Tahir M I. *Polyhedron*, **2007**,**26**: 1159-1165
- [28] Barton J K, Danishefsky A T, Goldberg J M. *J. Am. Chem. Soc.*, **1984**,**106**:2172-2176
- [29] Nair R B, Tang E S, Kirkland S L. *Inorg. Chem.*, **1998**,**37**: 139-141
- [30] Waring M J. *J. Mol. Biol.*, **1965**,**13**:269-282
- [31] Tang S, Hou L, Mao Z. *Polyhedron*, **2009**,**28**:586-592
- [32] Geall A, Hadithi D. *Bioconjugate Chem.*, **2002**,**13**:481-490
- [33] Le Ny A L M, Lee C T Jr. *Biophys. Chem.*, **2009**,**142**:76-83