

吡啶甲酸铬衍生物的合成、安全性及降糖活性

柴 杰 杨斌盛* 刘 斌*

(山西大学分子科学研究所, 化学生物学与分子工程教育部重点实验室, 太原 030006)

摘要: 合成了 4 种新型吡啶甲酸铬衍生物并通过单晶衍射、电喷雾质谱、元素分析、电导率及红外光谱等手段对其结构进行了表征。通过循环伏安法研究了配体对配合物氧化还原活性的影响, 通过 Fenton-like 反应观察了配合物诱发产生自由基的程度, 发现其中有 3 个配合物诱发生成的自由基少于市售产品吡啶甲酸铬 $\text{Cr}(\text{pic})_3$ 。动物活体实验表明, 高剂量配合物 **3** 不会对小鼠脏器造成明显损伤, 低剂量喂食能降低糖尿病小鼠的空腹血糖及低密度脂蛋白, 其效果优于 $\text{Cr}(\text{pic})_3$ 。

关键词: 吡啶甲酸铬; 氧化还原性; 安全性; 降糖活性

中图分类号: O614.41+1

文献标识码: A

文章编号: 1001-4861(2018)10-1783-09

DOI: 10.11862/CJIC.2018.217

Syntheses, Safety and Antihyperglycemic Effects of Chromium Picolinate Derivatives

CHAI Jie YANG Bin-Sheng* LIU Bin*

(Institute of Molecular Science, Key Laboratory of Chemical Biology of Molecular Engineering
of Education Ministry, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

Abstract: Four new chromium picolinate derivatives were synthesized and characterized by X-ray crystal diffraction, ESI-MS, analytical element, conductivity and IR analysis. The effect of substituent groups on its redox property and hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$) generation induced by the complex were investigated by cyclic voltammetry and Fenton-like reaction. As a result, three complexes generate less $\cdot\text{OH}$ than $\text{Cr}(\text{pic})_3$. Besides, acute toxicity and antihyperglycemic effect indicated that high dose of complex **3** is hypotoxic and exhibited more efficiency than $\text{Cr}(\text{pic})_3$ in reducing fasten blood glucose (FBG) and low density lipoprotein by low dose. CCDC: 1500277, **3**.

Keywords: chromium picolinate; redox property; safety; antihyperglycemic effects

金属有机配合物由于其良好的生物活性常被应用于各种疾病的治疗并得到广泛的研究^[1], 如抗癌^[2-4]、抗菌^[5]及抗 II 型糖尿病等^[1]。上世纪五十年代, $\text{Cr}(\text{III})$ 首次被发现能够有效地降低糖尿病小鼠血糖并改善糖尿病状况, 因此被认为是一种必需微量元素^[6]。本课题组也在 21 世纪初开始对 $\text{Cr}(\text{III})$ 化学的研究并初步取得进展^[7-11]。此后很长的一段时间内 $\text{Cr}(\text{III})$ 被广泛应用于营养品及食品添加剂。以吡啶甲酸铬 $\text{Cr}(\text{pic})_3$ 为主的 $\text{Cr}(\text{III})$ 配合物销售额达一亿多美元, 在同类营养品添加剂中仅次于 $\text{Ca}(\text{II})$ 的销量^[12]。

近年来随着人们对 $\text{Cr}(\text{pic})_3$ 配合物研究的深入, 发现其可能存在潜在毒性: $\text{Cr}(\text{pic})_3$ 在还原剂存在下会导致质粒的损伤, 同时 $\text{Cr}(\text{pic})_3$ 给药会导致淋巴球细胞凋亡并使 DNA 断裂^[13-16]。Peter 认为该配合物对细胞的损伤可能归因于 $\text{Cr}(\text{III})$ 在氧化剂与还原剂共同存在下能够通过 Fenton-like 反应诱发生成 $\cdot\text{OH}$ 进而损伤 DNA^[17-18]。Rogers 等认为 $\text{Cr}(\text{III})$ 与配体配位后, $\text{Cr}(\text{III})/\text{Cr}(\text{II})$ 的氧化还原电位发生改变使得 $\text{Cr}(\text{III})$ 能够参与到 Fenton-like 反应中, 作为一个电子给体为该过程提供电子进而产生活性氧^[17]。我们推测通

收稿日期: 2018-04-07。收修改稿日期: 2018-06-21。

国家自然科学基金(No.21271122, 21571117)资助项目。

*通信联系人。E-mail: yangbs@sxu.edu.cn, liubin@sxu.edu.cn; 会员登记号: S06N8817M。

过改变 $\text{Cr}(\text{pic})_3$ 的取代基或结构有可能改变其氧化还原性进而降低其潜在毒性。

虽然在本世纪初 Vencent 提出 $\text{Cr}(\text{III})$ 的缺失不会直接导致任何疾病,得出了 $\text{Cr}(\text{III})$ 并不是人体必需微量元素的观点。但几乎所有的研究均表明 $\text{Cr}(\text{III})$ 可以有效控制糖尿病群体的血糖水平^[19]、抑制平滑肌细胞非正常增殖且具有抗动脉粥样硬化的效果^[20-22]。近期 Vincient 等研究又发现 $\text{Cr}(\text{III})$ 可以放大胰岛素信号,充当第二信使的作用^[23],同时 Raman 等研究发现 $\text{Cr}(\text{pic})_3$ 能够抑制糖尿病小鼠血小板反应蛋白(TSP-1)的表达,具有抗动脉粥样硬化的潜在应用价值^[20]。因而高效低毒 $\text{Cr}(\text{pic})_3$ 衍生物的合成及性质研究对于糖尿病及心脑血管病的辅助治疗仍具有重大意义。

基于以上研究,本文以 $\text{Cr}(\text{pic})_3$ 为主体结构,选取了包含有不同取代基团的吡啶甲酸衍生物合成了 4 种 $\text{Cr}(\text{III})$ 配合物,通过单晶衍射、元素分析、电喷雾质谱 (ESI-MS) 等手段对配合物的结构进行了表征;采用循环伏安法研究了配体对配合物的氧化还原活性的影响,采用 Fenton-like 反应及动物急性毒性实验评估了配合物的潜在毒性,通过降糖活性实验研究了该类衍生物的抗糖尿病活性,分析了其构效关系。发现所合成的配合物中基于三氟甲基-吡啶-2-甲酸($5\text{-CF}_3\text{-pic}$)的配合物 **3** 与 $\text{Cr}(\text{pic})_3$ 相比具有更高的安全性及更好的降血糖效果,即通过改变 $\text{Cr}(\text{pic})_3$ 结构可以提高其降糖效果。

1 实验部分

1.1 试剂和仪器

5-氨基-吡啶-2-甲酸($5\text{-NH}_2\text{-pic}$)、2-萘硼酸频那醇酯、5-溴-吡啶-2-甲酸(5-Br-pic)、5-三氟甲基-吡啶-2-甲酸($5\text{-CF}_3\text{-pic}$)、3-甲基-吡啶-2-甲酸($3\text{-CH}_3\text{-pic}$)、九水合硝酸铬($\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$)、三乙胺(TEA)、磷酸氢二钠(Na_2HPO_4)、柠檬酸及其他溶剂等试剂均为分析纯。

D8 Venture X 射线单晶衍射仪(Bruker, Germany), Vario EL III 元素分析仪, Agilent 6520 Accurate-Mass QTOF LC/MS 质谱分析仪, Bruker TENSOR 21 傅里叶变换红外光谱仪,电热式恒温水浴锅(天津市泰新特仪器), CHI 660C 电化学工作站(上海辰华),玻碳电极(直径 3.0 mm)。

1.2 配合物合成

1.2.1 配合物 **1** 的合成

将 $5\text{-NH}_2\text{-pic}$ (0.414 0 g, 3.0 mmol) 溶于蒸馏水 (15 mL), 逐滴加入 $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (0.400 0 g, 1.0 mmol), 加热回流 1.0 h, 得紫色沉淀。冷却、过滤、洗涤得到配合物 **1**。元素分析按 $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{CrN}_6\text{O}_6$ 计算的理论值(%): C 46.66, H 3.26, N 18.14; 实测值(%): C 46.54, H 3.65, N 18.02。ESI-MS(m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ 464.0517 (图 S1)。IR(cm^{-1}): 3 437, 3 332, 1 589 ($-\text{NH}_2$), 1 664 ($-\text{C}=\text{O}$), 1 358, 1 296 ($-\text{C}-\text{N}$) 及 447 ($\text{Cr}-\text{N}$) (图 S2)。

1.2.2 配合物 **2** 的合成

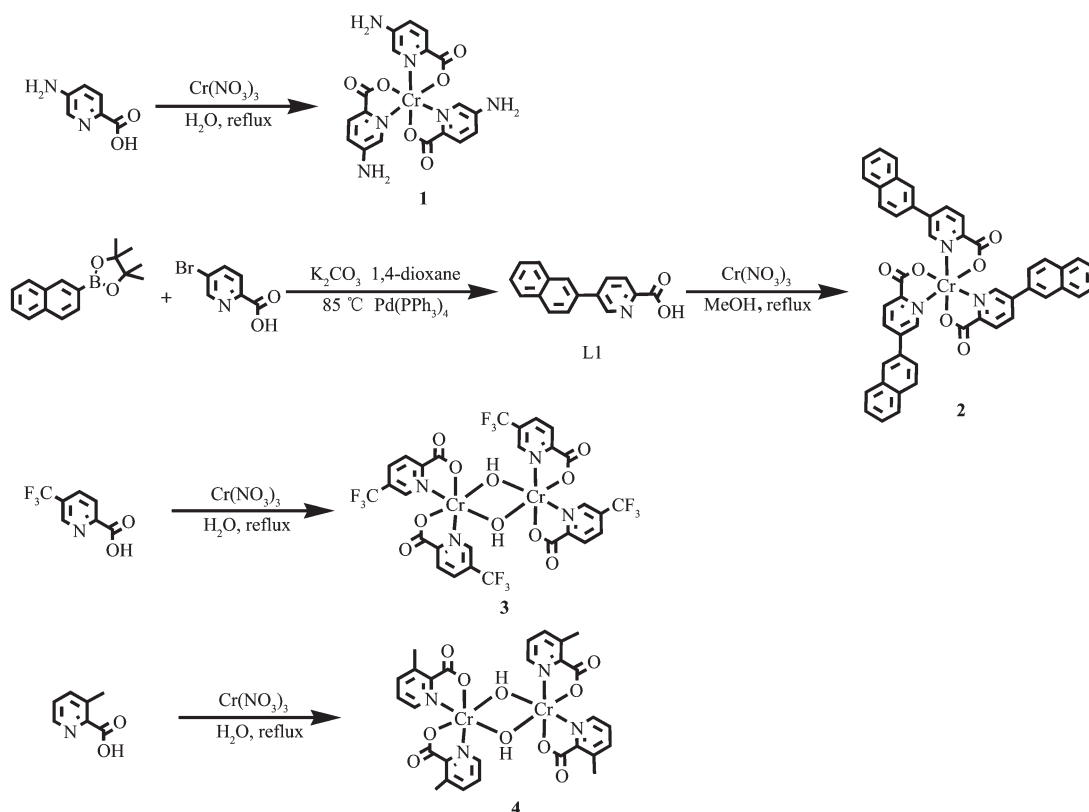
2-萘-硼酸频那醇酯 (0.387 0 g, 1.5 mmol), 5-Br-pic (0.202 0 g, 1 mmol), K_2CO_3 (0.276 0 g, 2.0 mmol) 及 $\text{Pd}(\text{Ph}_3)_4$ (40 mg) 溶于 1,4-二氧六环 (25 mL), 在氮气保护下 85 $^\circ\text{C}$ 回流 12 h 得到浅黄色固体。所得到的固体采用柱色谱 ($V_{\text{乙酸乙酯}}:V_{\text{石油醚}}=2:1$) 分离得到配体 L1, ESI-MS(m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ 250.086 4 (图 S3)。取配体 L1 (0.187 85 g, 0.75 mmol) 及 $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (0.100 0 g, 0.25 mmol) 在乙醇溶液中加热回流 1 h 得到白色粉末。洗涤, 烘干得到配合物 **2**。元素分析按 $\text{C}_{48}\text{H}_{30}\text{CrN}_3\text{O}_6$ 计算的理论值 (%): C 72.36, H 3.80, N 5.27; 实测值(%): C 72.28, H 3.92, N 5.19。ESI-MS(m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ 797.1612 (图 S4)。IR(cm^{-1}): 3 055 ($=\text{C}-\text{H}$), 1 684 ($-\text{C}=\text{O}$), 1 325, 1 160 ($\text{C}-\text{F}$) 与 478 ($\text{Cr}-\text{N}$, $\text{Cr}-\text{O}$) (图 S5)。

1.2.3 配合物 **3** 的合成

向回流中的 $5\text{-CF}_3\text{-pic}$ (0.382 0 g, 2.0 mmol) 及三乙胺 (TEA, 40 μL) 蒸馏水混合溶液中逐滴加入 $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (0.400 0 g, 1.0 mmol) 继续回流 1 h 得到紫色沉淀。所得到的紫色沉淀过滤、洗涤、干燥并用 DMSO 重结晶得到适合于 X 射线单晶衍射的晶体, 其晶体结构如图 1 所示。元素分析按 $\text{C}_{38}\text{H}_{46}\text{Cr}_2\text{F}_{12}\text{N}_4\text{O}_{16}\text{S}_5$ 计算的理论值 (%): C 34.92, H 3.55, N 4.29; 实测值(%): C 34.83, H 3.68, N 4.34。ESI-MS(m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ 898.442 6 (图 S6)。IR(cm^{-1}): 3 376 ($-\text{OH}$), 3 059 ($=\text{C}-\text{H}$), 1 684 ($-\text{C}=\text{O}$), 542, 513, 426 ($\text{Cr}-\text{N}$, $\text{Cr}-\text{O}$) (图 S7)。电导率: $16.5 \mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$ (1 mmol $\cdot \text{L}^{-1}$, DMSO)。

1.2.4 配合物 **4** 的合成

$3\text{-CH}_3\text{-pic}$ (0.274 0 g, 2.0 mmol) 与 NaOH (0.08 g, 2.0 mmol) 混合溶液加热回流至完全溶解后逐滴加入 $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (0.400 0 g, 1.0 mmol) 得到紫色沉淀。过滤、洗涤、干燥得到紫色产物。元素分析按 $\text{C}_{28}\text{H}_{26}\text{Cr}_2\text{N}_4\text{O}_{10}$ 计算的理论值(%): C 49.27, H 3.84, N 8.21; 实测值(%): C 48.88, H 4.02, N 8.24。ESI-MS(m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ 683.051 1 (图 S8); IR (cm^{-1}): 3 419 ($-\text{OH}$), 1 643 ($-\text{C}=\text{O}$), 1 332 ($\text{C}-\text{N}$), 547, 453 ($\text{Cr}-\text{N}$, $\text{Cr}-\text{O}$) (图



路线 1 配合物 1~4 的合成路线

Scheme 1 Synthetic routes for complexes 1~4

S9)。电导率: $18.5 \mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$ ($1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, DMSO)。

1.3 晶体结构的测定

配合物 3 的单晶结构数据以 Mo $K\alpha$ 射线 ($\lambda = 0.071\ 073 \text{ nm}$) 为光源采用 Bruker D8 Venture X 射线单晶衍射仪并采用 Bruker SMART 进行收集。所收集到的数据通过 L_p 因子和经验吸收校正并通过

直接法及最小二乘法解出且利用 SHELXL-97^[24]解析结构并对数据进行精修。对所有非氢原子坐标及其各向异性温度因子进行了全矩阵最小二乘法精修,氢原子坐标通过理论加氢法给出。配合物的晶体数据在表 1 列出。

CCDC:1500277, 3。

表 1 配合物 3 的晶体结构数据

Table 1 Crystal data and structure refinements of complex 3

Empirical formula	$\text{C}_{28}\text{H}_{14}\text{Cr}_2\text{F}_{12}\text{N}_4\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O} \cdot 5(\text{CH}_3)_2\text{SO}$	Z	4
Formula weight	1 307.09	$D_c / (\text{g} \cdot \text{cm}^{-3})$	1.585
Crystal system	Monoclinic	$F(000)$	2 664
Space group	$P2_1/n$	$\theta / (^\circ)$	2.83~28.34
a / nm	1.541 13(9)	h, k, l	-20~20, -25~25, -31~30
b / nm	1.909 81(11)	R_{int}	0.045 2
c / nm	2.355 15(10)	$N_{\text{ref}}, N_{\text{param}}$	13 591, 748
$\beta / (^\circ)$	127.786(3)	GOF on F^2	1.021
V / nm^3	5.478 3(5)	$R_1 [I > 2\sigma(I)], wR_2$	0.060 2, 0.155 4

1.4 电化学研究

配合物 1~4 ($1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的循环伏安特性曲线在 DMSO 溶液中进行采集。循环伏安实验采用三电

极电解池,工作电极:玻碳电极,参比电极:甘汞电极,辅助电极:铂网。实验在氮气保护下进行,支持电解质:四丁基过氯酸铵 (TBAP, $0.10 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$);扫描

范围: $-0.8 \sim 2.3$ V; 扫描速度: $50 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ 。

1.5 Fenton-like 反应

配合物 **1~4** ($100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 羟基自由基 ($\cdot\text{OH}$) 的产生通过 Fenton-like 反应进行测定。空白对照: 缓冲; 标准对照: Fe-EDTA; 配合物对照: 吡啶甲酸铬 ($\text{Cr}(\text{pic})_3$)。配合物在抗坏血酸 ($10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 及双氧水 ($100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 共同存在下生成 $\cdot\text{OH}$ 并对脱氧核糖 ($0.4 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 进行切割生成丙二醛。随后通过 2-硫代巴比妥酸显色法测定反应溶液在 532 nm 处的吸光度, 溶液的吸光度与所产生的羟基自由基成正比^[25]。

1.6 急性毒性及降糖活性

该实验委托山西医科大学第一医院病理科完成。将体重为 $20 \sim 30 \text{ g}$ 的健康 C57 小鼠随机分配为 4 组 (空白组: DMSO, $1\%(\text{V}/\text{V})$), 阳性对照组: $\text{Cr}(\text{pic})_3$, 金属离子对照组: $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$, 实验组: 配合物 **3**, 保证每组小鼠中雌雄小鼠的数目相。急性毒性实验给药量为 $1.0 \text{ g}_{\text{Cr}} \cdot \text{kg}_{\text{BW}}^{-1}$ (BW 表示小鼠体重), 并在给药的 1 周时间内观察小鼠的进食状况、活动行为并记录体重。给药完成后对小鼠采用二氧化碳安乐死, 取脏器切片染色观察。

降糖活性实验中采用链脲佐菌素 (STZ, $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}_{\text{BW}}^{-1}$) 诱导与高脂饲料喂养来构建糖尿病模型小鼠并通过空腹血糖 (FBG) 含量确定所构建模型是否成功 (FBG levels $\geq 11.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 表示模型构建成功)。实验中共 5 组 (正常组: 非糖尿病小鼠, 空白对照组: 糖尿病小鼠 ($1\%(\text{V}/\text{V})$ DMSO), 阳性对照组: $\text{Cr}(\text{pic})_3$, 金属离子对照组: $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$ 及实验组: 配合物 **3** 且配

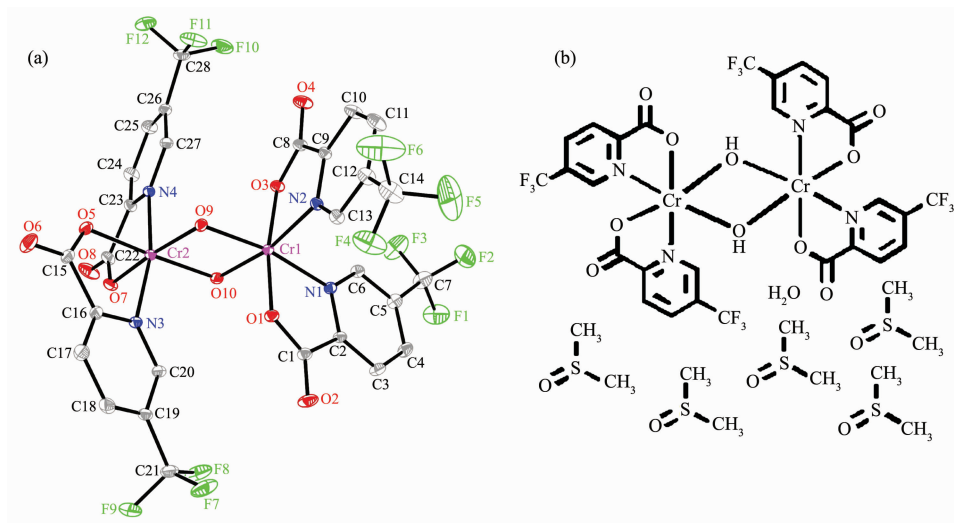
合物的给药量为 $1.0 \text{ mg}_{\text{Cr}} \cdot \text{kg}_{\text{BW}}^{-1}$, 给药方式为灌胃给药。实验过程为期 8 周, 期间小鼠均可自由进食及饮水。在实验初期、给药 4 周及给药 8 周分别记录小鼠的体重 (BW)、空腹血糖 (FBG)、空腹胰岛素 (FINS)、总胆固醇 (TC)、总甘油三酯 (TG)、低密度脂蛋白 (LDL) 及高密度脂蛋白 (HDL) 等生理参数。

2 结果与讨论

2.1 结构描述与讨论

根据文献报道方法合成了 4 种全新的配合物 **1~4**^[26], 获得了 **3** 号化合物的单晶结构。具体结构示意图见 Scheme 1。由元素分析可知, 配合物 **1** 与 **2** 中配体与金属离子的物质的量之比为 $1:3$, 而配合物 **3** 与 **4** 的配体与金属离子的物质的量之比为 $1:2$; 配合物 **3** 和 **4** 的电导率低于 $20 \mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$ ($1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, DMSO), 均呈电中性结构; 均通过电喷雾质谱确定了配合物的分子量。在 **3** 与 **4** 的 IR 光谱中不仅观察到了 Cr-N 及 Cr-O 的特征吸收, 同时观察到 -OH 振动峰的存在。推断 **1** 和 **2** 为单核结构, 与我们先前所合成吡啶甲酸铬配合物结构相似^[27], 即每个金属离子与 3 个吡啶甲酸配体以 CrN_3O_3 的配位模式形成一个六配位八面体结构; 而 **3** 与 **4** 是由 2 个羟基桥联而成的双核结构。

单晶结构分析结果表明配合物 **3** 是一个由羟基桥联的双核 Cr(III) 配合物。在配合物 **3** 的晶体结构中, 内界由 4 个 5- CF_3 -pic 配位分子, 2 个金属 Cr(III) 及 2 个羟基组成羟基桥联结构, 外界有 5 个 DMSO



Solvent molecules were omitted to clarify the skeleton structure; Ellipsoid probability: 20%

图 1 配合物 **3** 的分子结构椭圆图 (a) 和结构式 (b)

Fig.1 ORTEP structure (a) and chemical structure (b) of complex **3**

溶剂分子和 1 个水分子,整个分子呈电中性。配合物的晶胞结构中每个金属离子与 4 个氧原子(2 个来自 5-CF₃-pic,2 个来自羟基氧原子)及 2 个氮原子(来自 5-CF₃-pic) 配位形成一个畸变的六配位八面

体,其中 Cr-O 键平均键长为 0.195 4 nm,Cr-N 键的平均键长为 0.200 7 nm,2 个 Cr(Ⅲ)离子间的距离为 0.297 9 nm。配合物的晶体数据及部分键长、键角数据分别列于表 1 和表 2 中。

表 2 配合物 3 的键长(nm)与键角数据(°)

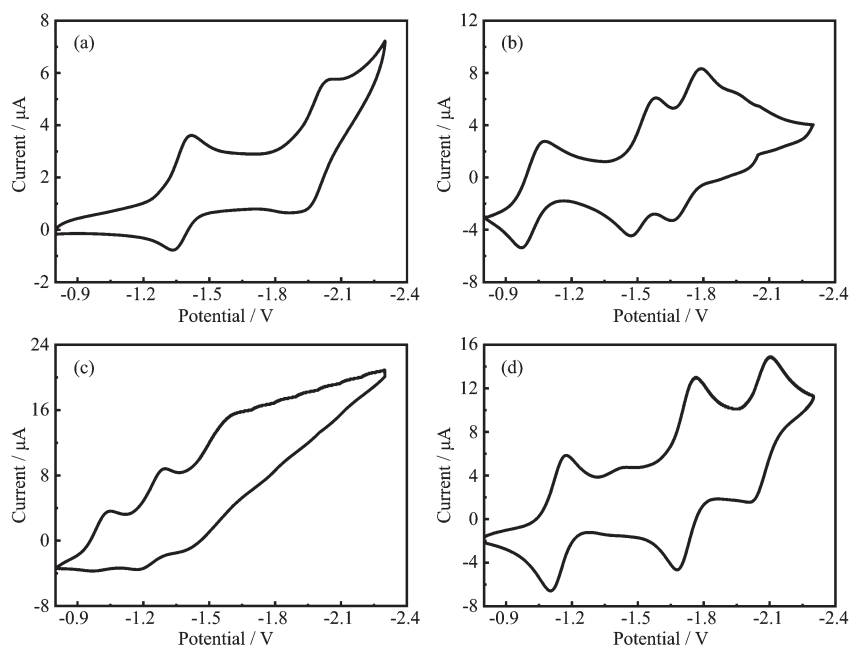
Table 2 Selected bond lengths (nm) and angles (°) of complexes 3

Cr1-N1	0.206 6(3)	Cr1-O3	0.196 7(2)	Cr1-Cr2	0.297 9(2)
Cr1-N2	0.206 5(3)	Cr1-O9	0.194 1(2)		
Cr1-O1	0.196 6(2)	Cr1-O10	0.194 1(2)		
N2-Cr1-N1	94.71(10)	O3-Cr1-N2	79.99(9)	O10-Cr1-N	193.90(9)
O1-Cr1-N1	80.17(9)	O9-Cr1-N1	169.94(9)	O10-Cr1-N2	168.81(9)
O1-Cr1-N2	93.30(10)	O9-Cr1-N2	92.31(10)	O10-Cr1-O1	95.20(9)
O1-Cr1-O3	170.18(10)	O9-Cr1-O3	95.16(9)	O10-Cr1-O3	92.42(9)
O3-Cr1-N1	93.14(10)	O9-Cr1-O1	92.26(9)	O10-Cr1-O9	80.10(9)

2.2 配合物的循环伏安曲线

为探究取代基对配合物氧化还原性质的影响,我们记录了配合物 1~4 在 -0.8~-2.3 V 范围内的循环伏安特性曲线,实验结果如图 2 所示。循环伏安曲线中由高电位到低电位的氧化还原峰被依次定义为第 1 对、第 2 对和第 3 对氧化还原信号。从图中可以看出化合物 1~4 在所测定的电化学窗口范

围内都表现出了良好的氧化还原特性:化合物 1 在所测定范围内出现了 2 对准可逆的氧化还原信号而配合物 2、3 和 4 出现了 3 对准可逆的氧化还原信号。化合物第 1 对氧化还原信号可归属为 Cr(Ⅲ)与 Cr(Ⅱ)的相互转化过程^[28], ΔE 均大于 0.065 V(1,0.08 V;2,0.103 V;3,0.079 V;4,0.66 V),因此该过程属于不完全可逆过程。配合物的第 2 对及第 3 对氧化



Working electrode is glassy carbon disk, reference electrode is calomel electrode with saturated KCl, counter electrode is platinum net, and scan rate is 50 mV·s⁻¹; $c_{\text{complex}}=1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$; supporting electrolyte: 0.1 mol·L⁻¹ tetrabutyl ammonium perchlorate

图 2 配合物 1~4 在 DMSO 中的循环伏安特性曲线

Fig.2 Cyclic voltammogram of 1~4 in DMSO

表 3 配合物 1~4 的氧化还原电位
Table 3 Redox potentials of complexes 1~4

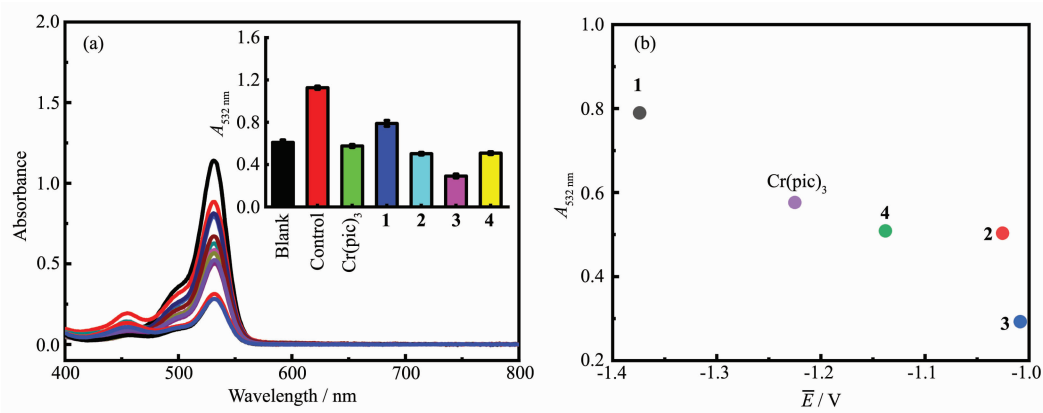
	Substitute group	Hammett constant $\sigma_m^{[31]}$	First		Second		Third	
			E_w / V	E_{ox} / V	E_w / V	E_{ox} / V	E_w / V	E_{ox} / V
Complex 1	-NH ₂	-0.16	-1.414	-1.334	-2.046	-1.940		
Complex 2	-naphthalene	0.13	-1.077	-0.974	-1.585	-1.473	-1.790	-1.661
Complex 3	-CF ₃	0.43	-1.048	-0.969	-1.297	-1.172	-1.591	-1.420
Complex 4	-CH ₃	-0.07	-1.171	-1.105	-1.760	-1.679	-2.100	-2.008
Cr(pic) ₃	-H	0	-1.26	-1.19 ^[29]				

还原信号被归属为金属离子存在下配体氧化还原的电位^[28]。在三吡啶甲酸配位的配合物 1 与 2 中, 1 的氧化还原电位负于 2; 在羟基桥联的化合物 3 与 4 中, 配合物 3 的电位正于 4。同时, 将配合物 1 和 2 的氧化还原电位与文献中所报道的 Cr(pic)₃(-1.26 V, -1.19 V)相比较^[29], 发现吡啶环上的吸电子基团(羧基)导致配合物氧化还原电位正移, 而给电子基团(氨基)导致配合物氧化还原电位负移, 该现象与先前所报道结论相一致^[30]。除此以外, 配合物 1~4 与吡啶甲酸铬相比表现出不同的氧化还原性质, 因此可以用于进一步探究氧化还原性对于 Cr(III)配合物生物毒性和活性的影响。

2.4 配合物诱导自由基的产生

根据相关文献报道, 生理条件下配合物诱发的自由基多少与配合物的氧化还原性质密切相关^[17]。为初步探测配合物的潜在毒性, 本文通过 Fenton-like 反应测定了配合物在 PBS 缓冲液中诱发产生的·OH。由图 3a 可知, 配合物在发生 Fenton-like 反

应并加入 2-巯代巴比妥酸显色剂后在 532 nm 处产生特征峰。反应后样品在 532 nm 处的吸光度与样品中·OH 的含量成正比, 因此可用 532 nm 处的吸光度值代替表示样品生成自由基的量。由图可知不同实验组的溶液 532 nm 处的吸光度不同, 即不同配合物诱发产生的·OH 量不同: (1) 所有配合物所产生的·OH 均少于标准对照组; (2) 配合物 2~4 产生的自由基略小于 Cr(pic)₃ 阳性对照组, 其中配合物中 3 产生的·OH 最少。由于·OH 产生与 Cr(III)/Cr(II)电位密切相关, 随后以配合物 Cr(III)/Cr(II)氧化还原电位平均值对·OH 作图, 研究了二者之间的相关性。由图 3b 可知, 随着氧化还原电位的增大, 样品产生的·OH 量减小, 即电位越正·OH 的产生越少, 这一现象与先前文献所报道相一致^[32]。综上可知 Cr(III)配合物的潜在毒性与其氧化还原电位密切相关; 配合物的配位模式相同, 即同样为单核或桥连时, 吡啶环上取代基吸电子能力越强, 配合物的氧化还原电位越正, 所诱发出的自由基越少。



$c_{\text{complex}}=0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, $c_{\text{H}_2\text{O}_2}=0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, $c_{\text{Fe}}=10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$; Buffer: PBS, pH 7.4; Inset: absorbance at 532 nm of the samples, PBS act as blank group, Fe(EDTA) act as control group

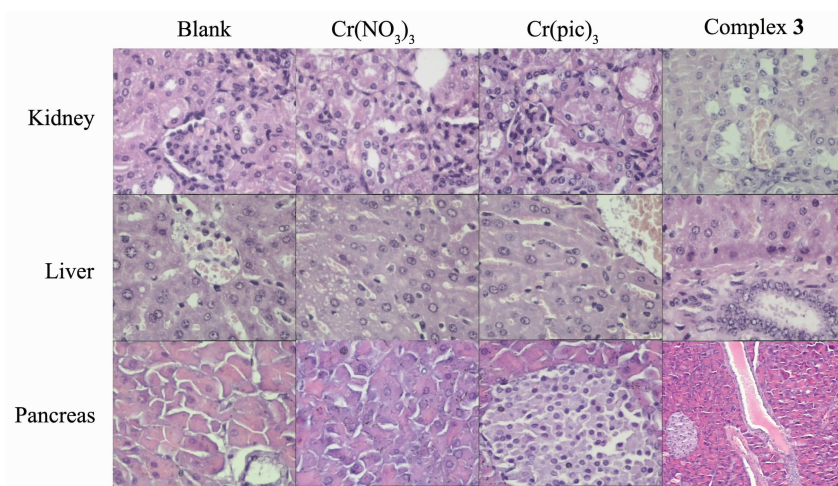
图 3 (a) 配合物在 Fenton-like 反应后在 2-巯代巴比妥酸显色剂存在下的紫外-可见吸收光谱;
(b) 配合物的氧化还原电位平均值对样品在 532 nm 处的吸光度作图

Fig.3 (a) UV-visible spectra of Cr(III) complexes through Fenton-like reaction in PBS; (b) Plot of average potential against absorbance at 532 nm

2.5 配合物的急性毒性评价

为进一步评估所得配合物的毒性,选取配合物 **3** 进行急性毒性实验研究($1.0 \text{ g}_{\text{Cr}} \cdot \text{kg}_{\text{BW}}^{-1}$), $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$ 、 $\text{Cr}(\text{pic})_3$ 为阳性对照。为期 1 周给药后取小鼠组织切片进行观察,在显微镜下所观察到的组织切片如图 4 所示。由图 4 可知,与未给药的空白组相比较,高剂量给药小鼠的肾脏、肝脏及胰腺等组织并未观察到明显的组织形态变化(注:图中所出现的一些外观差异是由于着色过程、切片选取或放大倍数不同导致的,配合物 **3** 的切片中出现的白色柱状物为暴露的胰腺导管),即小鼠的组织没有发生病理学意义上

的变化,这种现象与文献报道相一致^[33]。虽然发现配合物在体外试管实验中能诱发自由基的产生,但在生理条件下并没有表现出可观测到的毒性,说明即使配合物在体内局部产生一定量的自由基,也会被组织液中大量的还原性物质消耗掉^[34],是在机体控制范围之内,因此不会对机体产生毒害作用。另外从试验期间小鼠体重变化发现, $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$ 、 $\text{Cr}(\text{pic})_3$ 及配合物 **3** 给药后小鼠体重增长相对变缓,该现象表明高剂量 $\text{Cr}(\text{III})$ 在减肥方面可能发挥重要作用(图 5)。由此可知, $\text{Cr}(\text{III})$ 在生物体内是低毒性或无毒性的,且具有减肥作用。



Control group: DMSO, 1% (V/V), Experimental group: complex **3**, $1.0 \text{ g}_{\text{Cr}} \cdot \text{kg}_{\text{BW}}^{-1}$

图 4 急性毒性实验中 $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$ 、 $\text{Cr}(\text{pic})_3$ 以及配合物 **3** 给药后小鼠的肾脏、肝脏及胰腺组织切片

Fig.4 Effects of $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$, $\text{Cr}(\text{pic})_3$ and complexes **3** on kidney, liver and pancreas tissue slices of the mice in acute toxicity studies

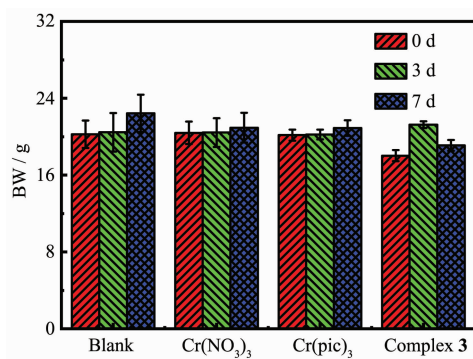


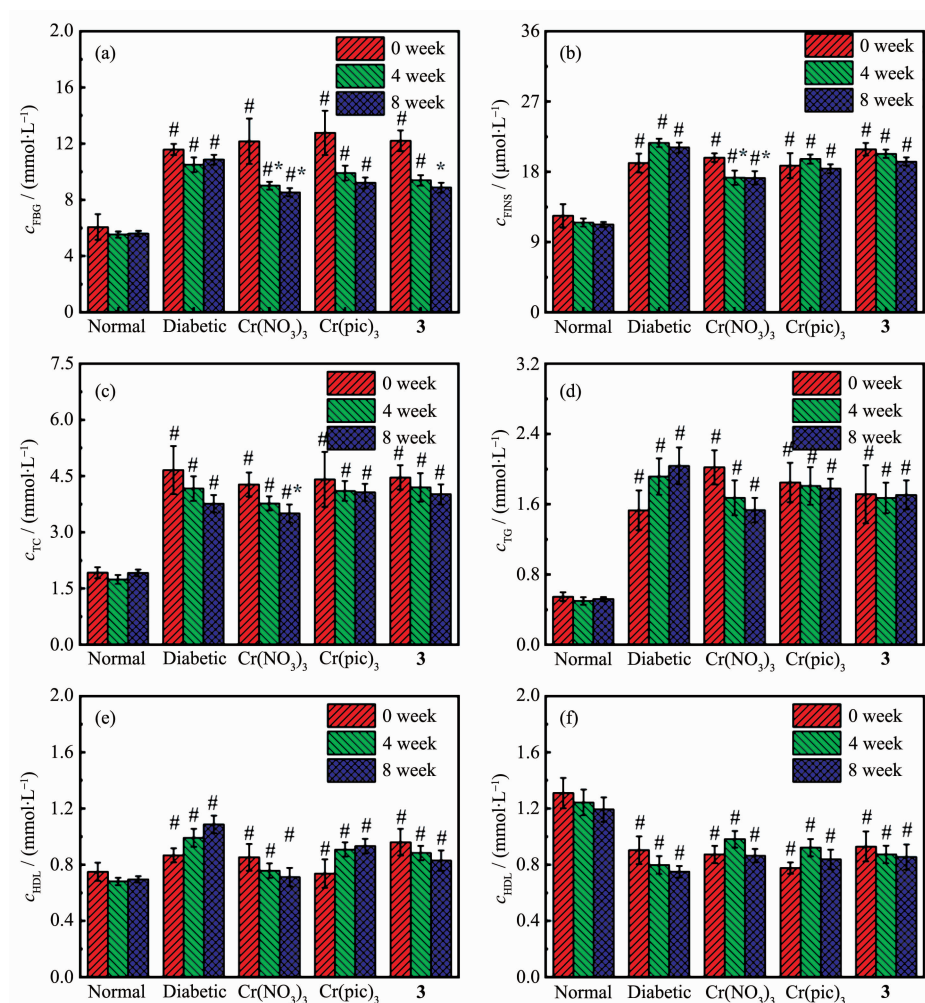
图 5 急性毒性实验中小鼠在 0、3 和 7 d 给药后小鼠的体重变化

Fig.5 Body mass alters of mice after 0, 3 and 7 d of treatment in acute toxicity study

2.6 配合物的降糖活性实验

选取潜在毒性较低的配合物 **3** 展开了配合物的降糖活性实验。分别在给药前、给药 4 周及给药 8

周时记录小鼠的与糖尿病相关的各项生理指标,包括空腹血糖(FBG)、空腹血清胰岛素(FINS)、总胆固醇(TC)、总甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白(LDL)、高密度脂蛋白(HDL)及体重(BW)等数据,结果如图 6、7 所示。实验过程中所有小鼠均存活到最后阶段,行为正常。由图 6a 所示,相对于正常组而言,糖尿病小鼠的 FBG 指标明显升高。与糖尿病小鼠的空白组相比较,在 $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$ 给药 4 周和配合物 **3** 给药 8 周后,均发现小鼠的 FBG 含量明显减低,而 $\text{Cr}(\text{pic})_3$ 给药组小鼠 FBG 值变化不明显,由此可知配合物 **3** 的降糖活性优于市售的 $\text{Cr}(\text{pic})_3$,但不及无机盐 $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$ 。由图 6b~6f 可知,与正常小鼠相比,糖尿病小鼠的 FINS、TC、TG 及 LDL 值均明显升高,而 HDL 含量明显降低。在给药组中,发现仅有 $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$ 组使小鼠的 FINS、TC 及 LDL 含量相对于空白组减小,其余配合物给药对除 FBG 含量以外其余各项生理



FBG: fasting blood glucose, FINS: fasting serum insulin, TC: Total cholesterol, TG: Triglyceride, LDL: low density lipoprotein, HDL: high density lipoprotein; # diabetic group versus normal control ($p < 0.05$); * other group versus diabetic group ($p < 0.05$)

图 6 $\text{Cr}(\text{III})$ 配合物在为期 8 周的降糖实验中对糖尿病小鼠的空腹血糖 (a)、空腹血清胰岛素 (b)、总胆固醇 (c)、总甘油三酯 (d)、低密度脂蛋白 (e) 及高密度脂蛋白 (f) 的影响

Fig.6 Effect of Cr supplementation on fasting blood glucose (a), fasting serum insulin (b), Total cholesterol (c), Triglyceride (d), low density lipoprotein (e) and high density lipoprotein (f) of mice

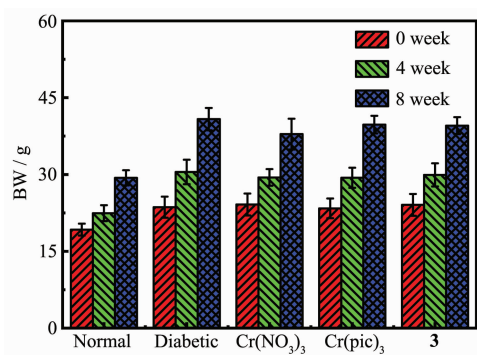


图 7 降糖实验中实验组与对照组小鼠的体重变化

Fig.7 Body mass alters of the control and experimental groups after treatment in anti-hypoglycemic activity study

指标影响甚微。除此而外,糖尿病小鼠与正常小鼠相比体重有明显的增长,但给药组并未对小鼠的体重造成明显的影响,或给药剂量不足以抑制小鼠的体重增长。需要说明的是,本次实验发现低剂量的 $\text{Cr}(\text{pic})_3$ 降糖减肥的药效并不明显,与无机盐 $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$ 相比,也并没有表现出明显的优势,一些文献此前也报道过类似的结果^[35],该现象可能是由于灌胃给药后小鼠对 $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$ 的生物利用率更高^[36],毕竟 $\text{Cr}(\text{pic})_3$ 的生物利用率不足 2%,97%的 $\text{Cr}(\text{pic})_3$ 随粪便排出体外^[37]。

3 结 论

合成了 4 种吡啶甲酸铬衍生物并对其部分性质

进行了研究,得到以下结论:(1) 吡啶甲酸铬衍生物的氧化还原性与配体密切相关,吡啶环上的吸电子基团使 Cr(III)/Cr(II)氧化还原峰位向高电位方向移动,而给电子基团使 Cr(III)/Cr(II)氧化还原峰位向低电位方向移动;(2) 配合物通过 Fenton-like 反应诱发产生自由基程度与配合物的氧化还原电位呈负相关,且本文制得的多数配合物所诱发的自由基量少于 Cr(pic)₃;(3) 高剂量小鼠急性毒性实验表明吡啶甲酸铬衍生物安全性高,低剂量给药组中配合物 **3** 能够降低糖尿病小鼠空腹血糖含量及低密度脂蛋白,其效果比 Cr(pic)₃ 更为显著。因此,可以通过向 Cr(pic)₃ 的吡啶环上引入取代基团来实现改善 Cr(pic)₃ 的降糖及降脂的性能,吡啶甲酸结构的修饰对与吡啶甲酸铬降糖及降脂性能的改善具有重大影响。

Supporting information is available at <http://www.wjhxxb.cn>

参考文献:

- [1] Levina A, Lay P A. *Dalton Trans.*, **2011**,**40**(44):11675-11686
- [2] FENG Yong-Lan(冯泳兰), YU Jiang-Xi(庾江喜), JIANG Wu-Jiu(蒋伍玖), et al. *Chinese J. Inorg. Chem.*(无机化学学报), **2018**,**34**(1):99-104
- [3] GE Chao(葛超), WANG Hong-Yan(王红艳), DONG Yi-Li(董益利), et al. *Chinese J. Inorg. Chem.*(无机化学学报), **2018**,**34**(6):1079-1085
- [4] LI Jing(李婧), WU Chun-Yang(吴春阳), ZHANG Ying(张莹), et al. *Chinese J. Inorg. Chem.*(无机化学学报), **2018**,**34**(1):135-141
- [5] BAI Feng-Ying(白凤英), WANG Xue-Min(王学敏), QU Chang-Qing(曲长庆), et al. *Chinese J. Inorg. Chem.*(无机化学学报), **2018**,**34**(4):639-646
- [6] Schwarz K, Mertz W. *Arch. Biochem. Biophys.*, **1959**,**85**(1):292-295
- [7] SUN Zhan-Guo(孙占国), LIU Bin(刘斌), YANG Bin-Sheng(杨斌盛). *Chinese Journal of Spectroscopy Laboratory*(光谱实验室), **2009**,**26**(3):564-566
- [8] DUAN Wen-Sheng(段文胜), LIU Bin(刘斌), YANG Bin-Sheng(杨斌盛). *Chinese Journal of Spectroscopy Laboratory*(光谱实验室), **2009**,**26**(2):376-378
- [9] LIU Bin(刘斌), SUN Zhan-Guo(孙占国), YANG Bin-Sheng(杨斌盛). *Acta Chim. Sinica*(化学学报), **2008**,**66**(21):2353-2359
- [10] NAN Jun-Xia(南俊霞), LIU Bin(刘斌), YANG Bin-Sheng(杨斌盛). *Acta Chim. Sinica*(化学学报), **2011**,**69**(6):640-646
- [11] DUAN Wen-Sheng(段文胜), LIU Bin(刘斌), SUN Zhan-Guo(孙占国), et al. *Acta Chim. Sinica*(化学学报), **2011**,**69**(15):1789-1794
- [12] Vincent J B. *Acc. Chem. Res.*, **2000**,**33**(7):503-510
- [13] Vaidyanathan V G, Weyhermuller T, Nair B U, et al. *J. Inorg. Biochem.*, **2005**,**99**(11):2248-2255
- [14] Vijayalakshmi R, Kanthimathi M, Subramanian V, et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **2000**,**271**(3):731-734
- [15] Parand A, Royer A C, Cantrell T L, et al. *Inorg. Chim. Acta*, **1998**,**268**(2):211-219
- [16] Jana M, Rajaram A, Rajaram R. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **2009**,**237**(3):331-344
- [17] Sugden K D, Geer R D, Rogers S J. *Biochemistry*, **1992**,**31**(46):11626-11631
- [18] Speetjens J K, Collins R A, Vincent J B, et al. *Chem. Res. Toxicol.*, **1999**,**12**(6):483-487
- [19] Biswas A, Divya S, Mandal A B, et al. *Anim. Reprod. Sci.*, **2014**,**151**(3/4):237-243
- [20] Ganguly R, Sahu S, Ohanyan V, et al. *Sci. Rep.*, **2017**,**7**:45279
- [21] Ganguly R, Wen A M, Myer A B, et al. *Nanoscale*, **2016**,**8**(12):6542-6554
- [22] Ganguly R, Sahu S, Chavez R J, et al. *Am. J. Physiol.*, **2015**,**308**(2):C111-C122
- [23] Vincent J B. *Biol. Trace Elem. Res.*, **2015**,**166**(1):7-12
- [24] Sheldrick G M. *SHELXL-97, Program for the Refinement of Crystal Structures*, University of Göttingen, Germany, **1997**.
- [25] Nair V, Turner G A. *Lipids*, **1989**,**18**(10):804-805
- [26] Steams D M, Armsbong W H. *Inorg. Chem.*, **1992**,**31**(25):5178-5184
- [27] Chai J, Liu Y F, Dong J L, et al. *Inorg. Chim. Acta*, **2017**,**466**:151-159
- [28] Weeks C L, Levina A, Dillon C T, et al. *Inorg. Chem.*, **2004**,**43**(24):7844-7856
- [29] Parajón-Costa B S, Wagner C C, Baran E J. *Z. Anorg. Allg. Chem.*, **2003**,**629**(6):1085-1090
- [30] Cabrera P J, Yang X, Suttill J A, et al. *Inorg. Chem.*, **2015**,**54**(21):10214-10223
- [31] Hansch C, Leo A, Taft R W. *Chem. Rev.*, **1991**,**91**(2):165-195
- [32] Liu B, Liu Y F, Chai J, et al. *J. Inorg. Biochem.*, **2016**,**164**(1):110-118
- [33] Levina A, Pham T H, Lay P A. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2016**,**55**(28):8104-8107
- [34] Kasetsuwan N, Wu F M, Hsieh F, et al. *Arch. Ophthalmol.*, **1999**,**117**(5):649-652
- [35] Bennett R, Adams B, French A, et al. *Biol. Trace Elem. Res.*, **2006**,**113**(1):53-66
- [36] Jain S K, Rains J L, Croad J L. *Antioxid. Redox Signal.*, **2007**,**9**(10):1581-1590
- [37] Vincent J B. *Polyhedron*, **2001**,**20**(68):1-26