

对氯苄基锡酰肼配合物的合成、抗肿瘤活性及其与DNA相互作用

樊善继^{*,1} 徐家墀¹ 胡泽成¹ 崔 莺² 谭宇星² 蒋伍玖²

(¹南华大学附属第一医院乳甲外科, 衡阳 421001)

(²衡阳师范学院化学与材料科学学院, 衡阳 421008)

摘要: 用二对氯苄基二氯化锡分别与对甲基苯甲酰肼缩苯甲酰甲酸及苯甲酰肼缩苯甲酰甲酸反应, 合成了2个对氯苄基锡配合物(**C1**、**C2**), 通过元素分析、IR、¹H NMR、¹³C NMR、¹¹⁹Sn NMR、HRMS以及X射线单晶衍射等表征了配合物结构。测试了配合物**C1**、**C2**的热稳定性以及配合物对癌细胞NCI-H460、HepG2、MCF7的体外抑制活性, 发现配合物**C2**对癌细胞NCI-H460、HepG2、MCF7等均表现出良好的抑制作用。利用紫外吸收光谱、荧光猝灭光谱以及粘度法研究了配合物**C2**与ct-DNA之间的相互作用, 结果表明配合物**C2**以插入模式与DNA结合。

关键词: 有机锡配合物; 合成; 晶体结构; 抗肿瘤; DNA

中图分类号: O614.43⁺2 文献标识码: A 文章编号: 1001-4861(2021)04-0684-09

DOI: 10.11862/CJIC.2021.083

Syntheses, Antitumor Activity and DNA Interaction of *p*-Chlorine-Benzyltin Complexes Based on Acylhydrazide Ligand

FAN Shan-Ji^{*,1} XU Jia-Chi¹ HU Ze-Cheng¹ CUI Ying² TAN Yu-Xing² JIANG Wu-Jiu²

(¹Department of Thyroid Breast Surgery, The First Affiliated Hospital of University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China)

(²College of Chemistry and Materials Science, Hengyang Normal University, Hengyang, Hunan 421008, China)

Abstract: Two *p*-chlorobenzyltin complexes have been synthesized via the reaction of *p*-methyl benzoyl hydrazide-benzoyl formic acid or benzoyl hydrazide-benzoyl formic acid with di-*p*-chlorobenzyltin dichloride. The complexes **C1** and **C2** have been characterized by IR, ¹H NMR, ¹³C NMR, ¹¹⁹Sn NMR spectra, elemental analysis and HRMS, and the crystal structures have been determined by X-ray diffraction. The thermogravimetric of the complexes **C1** and **C2** were analyzed, and *in vitro* antitumor activities of both complexes were evaluated by MTT (3-(4,5-dimethylthiazole-2)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) against three human cancer cell lines (NCI-H460, HepG2 and MCF7). It was found that complex **C2** showed a good inhibitory effect on cancer cells NCI-H460, HepG2, MCF7. The interaction of complex **C2** with DNA was investigated using electronic absorption spectroscopy, fluorescence quench, and viscosity measurement. It was found that the complex could bind to DNA through an intercalation mode. CCDC: 2039991, **C1**; 2039990, **C2**.

Keywords: organotin complex; synthesis; crystal structure; antitumor activities; DNA

恶性肿瘤已严重影响并危害人类的健康水平与生命, 而癌症的转移和耐药是临床上肿瘤治疗面临的最棘手的问题。尽管世界各国在癌症的预防、

诊断以及治疗方面的研究已投入大量的财力和人力, 但癌症的发病率和死亡率仍呈逐年上升的趋势。金属配合物顺铂和其它的铂类抗肿瘤药物在

收稿日期: 2020-10-29。收修改稿日期: 2020-12-15。

湖南省自然科学基金(No.2020JJ8096)资助。

*通信联系人。E-mail: Firear333@hotmail.com

多种肿瘤临床化疗方案中被广泛应用^[1],然而由于铂类抗肿瘤药物长期使用,其弊端也日益凸显,主要临床表现为毒副作用和获得性耐药^[2-5],这些弊端严重制约了铂类药物的疗效。因此,新型金属抗肿瘤配合物的设计开发具有重大的理论和实际意义。

有机锡配合物在结构上具有多样性,易于改变配体的配位类型来调控其体外抗癌活性^[6-8],基于以上考虑,通过改变配体的类型,我们设计、合成了2个未见文献报道的有机锡配合物,测试了它们在体外的抗肿瘤活性以及研究了配合物与DNA的相互作用,为弥补临床铂类药物不足、为肿瘤疾病的治疗及开发新的金属抗肿瘤药物提供重要的理论基础。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

IR用日本岛津Prestige-21红外光谱仪(4 000~400 cm^{-1} , KBr压片)测定。 ^1H 、 ^{13}C 和 ^{119}Sn NMR用Bruker AVANCE-500核磁共振仪测定。元素分析用PE-2400(III)元素分析仪测定。晶体结构用Bruker SMART APEX II CCD单晶衍射仪测定。紫外可见(UV-Vis)光谱用日本岛津公司UV-2550型紫外-可见光谱仪测定。HRMS用Thermo Scientific LTQ Orbitrap XL(ESI源)测定。荧光光谱用日本日立F-7000荧光光谱仪测定。热重分析(TGA)用德国NETZSCH TG 209 F3热重分析仪进行。熔点用北京泰克X-4双目体视显微熔点测定仪测定(温度计未经校正)。

二对氯苄基二氯化锡参考文献^[9]方法合成,配体参考文献^[9]方法合成。溴化乙锭(EB)、小牛胸腺DNA、三羟甲基氨基甲烷(Tris)为Sigma-Aldrich公司产品。其它试剂均为分析纯,溶剂参考文献^[10]方法纯化,水为超纯水。Tris-HCl($0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)缓冲溶液通过称取一定量Tris用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的盐酸溶液调至 $\text{pH}=7.40$,使用前配制。小牛胸腺DNA的纯度通过比较260和280 nm处的吸光度来确定($A_{260}/A_{280}=1.8\sim 1.9$),用所需 pH 值条件下缓冲溶液配制,浓度通过测定260 nm处的吸光度计算而得($\epsilon_{260}=6\ 600 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$),其储备液置于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。EB溶液通过称取适量EB固体,用 $\text{pH}=7.40$ 的Tris-HCl($0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)缓冲溶液配制。

1.2 配合物的合成

配合物的合成路线如图1所示。具体过程如下:在50 mL圆底烧瓶中加入1 mmol对甲基苯酞肟缩苯甲酰甲酸(L1)或苯甲酞肟缩苯甲酰甲酸(L2)、1 mmol二对氯苄基二氯化锡、20 mL甲醇,搅拌回流3 h。冷却,过滤,通过控制溶剂挥发法得到淡黄色晶体C1或C2。

配合物C1:产率51.1%。m.p. $173\sim 175\text{ }^{\circ}\text{C}$ (dec)。元素分析($\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_4\text{Sn}$)实测值(括号内为计算值,%) : C, 48.71(48.69); H, 3.73(3.75); N, 4.72(4.73)。UV-Vis($V_{\text{DMSO}}:V_{\text{H}_2\text{O}}=1:1$): $\lambda_{\text{max}}=350 \text{ nm}$ 。IR(KBr, cm^{-1}): 3 474, 3 063, 3 013, 2 918, 2 841, 2 774, 1 661, 1 597, 1 491, 1 466, 1 443, 1 391, 1 281, 1 258, 1 179, 1 157, 1 090, 1 001, 827, 816, 802, 748, 735, 691, 644, 631, 598, 488, 473, 449。 ^1H NMR(500 MHz, CDCl_3): δ 7.94

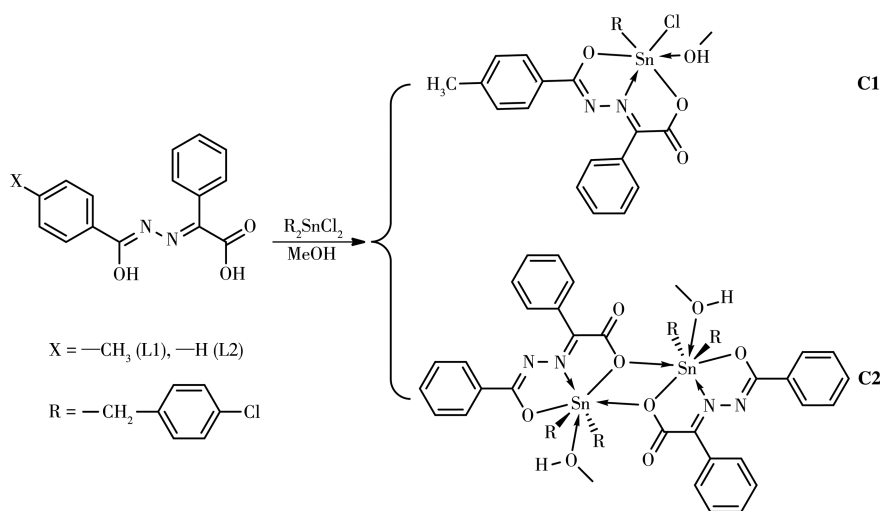


图1 配合物C1和C2的合成线路图

Fig.1 Synthesis of complexes C1 and C2

(d, $J=7.8$ Hz, 2H), 7.51(d, $J=7.2$ Hz, 2H), 7.36(d, $J=8.1$ Hz, 2H), 7.22~7.27(m, 3H), 6.80~6.82(m, 4H), 3.67(s, 2H), 2.45(s, 3H)。 ^{13}C NMR(125 MHz, CDCl_3): δ 174.53, 167.28, 144.75, 139.17, 133.22, 132.45, 130.98, 130.95, 130.90, 129.51, 129.29, 128.80, 128.67, 127.46, 126.66, 38.19, 21.92。 ^{119}Sn NMR(Me_4Sn , 187 MHz, CDCl_3): δ -445.95。 HRMS(ESI) m/z : $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_3\text{Sn}^+$ [$\text{M}-\text{CH}_3\text{OH}+\text{H}$] $^+$ 计算值 560.978 9, 实测值 560.978 0。

配合物 **C2**: 产率 70.7%。 m.p. 142~144 $^{\circ}\text{C}$ 。 元素分析($\text{C}_{60}\text{H}_{52}\text{Cl}_4\text{N}_4\text{O}_8\text{Sn}_2$) 实测值(括号内为计算值, %): C, 53.89(53.93); H, 3.93(3.92); N, 4.21(4.19)。 UV-Vis($V_{\text{DMSO}}: V_{\text{H}_2\text{O}}=1:1$): $\lambda_{\text{max}}=246, 341$ nm。 IR(KBr, cm^{-1}): 3 414, 3 084, 3 057, 2 945, 2 886, 1 630, 1 601, 1 587, 1 483, 1 435, 1 389, 1 287, 1 252, 1 169, 1 090, 1 001, 829, 802, 729, 714, 689, 648, 633, 592, 488, 469。 ^1H NMR(500 MHz, CDCl_3): δ 7.95(d, $J=8.1$ Hz,

2H), 7.54~7.57(m, 1H), 7.50(s, 5H), 7.45(t, $J=7.6$ Hz, 2H), 6.95~6.99(m, 8H), 3.25(s, 4H)。 ^{13}C NMR(125 MHz, CDCl_3): δ 175.84, 167.12, 148.29, 134.80, 132.65, 131.60, 131.30, 131.19, 130.24, 129.53, 128.96, 128.79, 128.70, 128.37, 127.62, 33.45。 ^{119}Sn NMR(Me_4Sn , 187 MHz, CDCl_3): δ -640.41。 HRMS(ESI) m/z : $\text{C}_{29}\text{H}_{23}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_3\text{Sn}^+$ [$\text{M}-\text{CH}_3\text{OH}+\text{H}$] $^+$ 计算值 637.010 2, 实测值 637.010 9; $\text{C}_{58}\text{H}_{45}\text{Cl}_4\text{N}_4\text{O}_6\text{Sn}_2^+$ [$2\text{M}-2\text{CH}_3\text{OH}+\text{H}$] $^+$ 计算值 1 273.009 6, 实测值 1 273.018 2。

1.3 晶体结构测定

采用经石墨单色化的 Mo $K\alpha$ 射线($\lambda=0.071\ 073$ nm), 以 $\varphi\sim\omega$ 扫描方式收集衍射数据。全部数据经 Lp 因子和多重扫描吸收校正。晶体结构由直接法解出, 全部非氢原子坐标在差值 Fourier 合成中陆续确定, 理论加氢法给出氢原子在晶胞中的位置坐标。对氢原子和非氢原子分别采用各向同性和各向异性热参数进行全矩阵最小二乘法修正, 全部结

表 1 配合物 C1 和 C2 的晶体学数据

Table 1 Crystallographic data of complexes C1 and C2

Complex	C1	C2
Empirical formula	$\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_4\text{Sn}$	$\text{C}_{60}\text{H}_{52}\text{Cl}_4\text{N}_4\text{O}_8\text{Sn}_2$
Formula weight	592.03	1 336.24
T / K	296(2)	293(2)
Crystal system	Monoclinic	Orthorhombic
Space group	$P2_1/n$	$P2_12_12_1$
a / nm	1.435 49(8)	0.945 83(5)
b / nm	0.744 62(4)	2.009 03(10)
c / nm	2.404 16(13)	3.042 86(16)
$\beta / (^{\circ})$	99.353 0(10)	
Volume / nm^3	2.535 6(2)	5.782 0(5)
Z	4	4
$D_c / (\text{Mg}\cdot\text{m}^{-3})$	1.551	1.535
Absorption coefficient / mm^{-1}	1.250	1.106
$F(000)$	1 184	2 688
Crystal size / mm	0.21 $\times$ 0.21 $\times$ 0.20	0.20 $\times$ 0.20 $\times$ 0.20
θ range / $(^{\circ})$	2.05~25.10	2.43~25.10
Limiting indices	$-17 \leq h \leq 12, -8 \leq k \leq 8, -28 \leq l \leq 28$	$-11 \leq h \leq 11, -23 \leq k \leq 23, -36 \leq l \leq 36$
Reflection collected, unique	12 416, 4 499 ($R_{\text{int}}=0.015\ 7$)	41 745, 10 281 ($R_{\text{int}}=0.025\ 5$)
Completeness	0.998	0.998
Max. and min. transmission	0.788 1 and 0.779 2	0.809 0 and 0.809 0
Data, restraint, parameter	4 499, 0, 304	10 281, 9, 714
Goodness-of-fit on F^2	1.090	1.048
Final R indices [$I > 2\sigma(I)$]	$R_1=0.024\ 6, wR_2=0.060\ 1$	$R_1=0.027\ 0, wR_2=0.061\ 5$
R indices (all data)	$R_1=0.027\ 3, wR_2=0.061\ 2$	$R_1=0.033\ 5, wR_2=0.063\ 9$
$(\Delta\rho)_{\text{max}}, (\Delta\rho)_{\text{min}} / (\text{e}\cdot\text{nm}^{-3})$	543, -566	619, -401

构分析计算工作采用SHELX-97程序系统完成^[11]。

CCDC:2039991, **C1**;2039990, **C2**。

1.4 配合物对细胞的毒性作用

将待测药物溶于少量DMSO,用水稀释至所需浓度,保持最终DMSO体积分数小于0.1%。NCI-H460、HepG2、MCF7细胞株取自美国组织培养库(ATCC),NCI-H460、HepG2、MCF7细胞株用含10%胎牛血清的RPMI 1640(GIBICO公司)培养基,在CO₂体积分数5%、37℃、饱和湿度培养箱内进行体外培养。体外抗癌药敏试验是通过MTT(3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐)法测定。数据处理使用Graph Pad Prism version 7.0程序,化合物的IC₅₀通过程序中具有S形剂量响应的非线性回归模型进行拟合得到。

1.5 紫外光谱研究

将配合物溶于DMSO以配制1 mmol·L⁻¹储备液。在5 mL容量瓶中分别加入配合物溶液(50 μmol·L⁻¹)及不同浓度的ct-DNA(0~80 μmol·L⁻¹),用Tris-HCl缓冲溶液定容,混匀,25℃下放置3.0 h,以不同浓度的ct-DNA溶液为参比,分别扫描230~600 nm范围内的紫外可见光谱。

1.6 荧光淬灭作用

用DMSO将配合物配制成1 mmol·L⁻¹储备液。在5 mL容量瓶中分别加入ct-DNA、EB及不同浓度的配合物溶液,用Tris-HCl缓冲溶液定容,混匀,25℃下放置3.5 h,分别扫描荧光光谱,激发波长为258 nm,测定540~700 nm波长范围内的荧光光谱,激发和发射光谱扫描狭缝宽度均为5.0 nm。

1.7 粘度测定

使用乌氏粘度计进行粘度测量,整个测量实验在温度恒定为(25.00±0.02)℃的超级恒温水浴槽中进行。以DMSO为溶剂配制配合物的1 mmol·L⁻¹储备液,向乌氏粘度计中加入ct-DNA(50 μmol·L⁻¹)及不同浓度的配合物溶液(0~50 μmol·L⁻¹),用Tris-HCl缓冲溶液定容,混合均匀后分别测定该溶液流经毛细管所需的时间,测量时间用精确度为0.01 s的电子秒表,每次加液后平均测量时间3次,取平均值。按照公式 $\eta=(t-t_0)/t_0$ 计算相对粘度,式中 t_0 为Tris-HCl缓冲溶液流经毛细管所需时间, t 为ct-DNA和配合物的混合溶液流经毛细管所需时间, η_0 为没有加入配合物时ct-DNA溶液的相对粘度。以 $(\eta/\eta_0)^{1/3}$ 对 $c_{\text{complex}}/c_{\text{DNA}}$ 作图,得到不同浓度配合物对ct-DNA粘度的影响。

2 结果与讨论

2.1 谱学研究

配合物**C1**、**C2**分子中均有甲醇分子参与配位,因而分别在其红外光谱的3 474、3 414 cm⁻¹处出现羟基的特征吸收;2个配合物在1 597、1 597 cm⁻¹处的吸收峰归属为酰肼(C=N—N=C)键的特征吸收^[12]。此外,**C1**、**C2**配位键的特征峰 $\nu(\text{Sn—O})$ 、 $\nu(\text{Sn—N})$ 和 $\nu(\text{Sn—C})$ 分别位于598、488、473 cm⁻¹和592、488、469 cm⁻¹处,与文献^[6,13-15]报道的类似化合物的出峰位置一致,由此表明2个目标配合物的生成,并且从各个基团的出峰位置可以看出,合成的2个对氯苄基锡配合物具有相似的最简结构单元。

在¹H NMR谱中,配合物**C1**和**C2**各组峰的积分面积之比与预期结构的各组质子数相对吻合^[16]。从谱图中可以看到,配合物**C1**和**C2**中芳环上氢质子的出峰位置分别在 $\delta=6.82\sim7.95$ 和 $\delta=6.95\sim7.96$ 。在配合物**C1**中,对甲基苯甲酰肼缩苯甲酰甲酸配体上甲基氢质子在 $\delta=2.45$ 处呈现一个单峰,对氯苄基上亚甲基氢质子在 $\delta=3.67$ 处呈现一个单峰。而在配合物**C2**中,对氯苄基上亚甲基氢质子在 $\delta=3.25$ 处则呈现出一种特殊的峰形,该峰由一个正常的单峰和一对小卫星峰组成,究其原因,这是由于¹¹⁹Sn-H耦合的结果^[17]。2个配合物的氢质子出峰基本保持一致,说明2个配合物具有相似的最简结构单元。

在¹³C NMR谱中,配合物**C1**和**C2**各组峰与理论推测结构碳原子数相吻合^[16]。配合物**C1**的特征峰为对甲基苯甲酰肼缩苯甲酰甲酸配体上甲基碳原子在 $\delta=21.92$ 处的出峰,对氯苄基上亚甲基碳原子在 $\delta=38.19$ 处的出峰;相应地在配合物**C2**中,特征峰为对氯苄基上亚甲基碳原子在 $\delta=33.45$ 处的出峰。2个配合物中其他特征峰羧基碳、酰肼碳以及亚氨基碳的出峰位置也均一一对应,这与X射线单晶衍射结果一致。

在¹¹⁹Sn NMR谱中,**C1**和**C2**分别在 δ 为-445.95和-640.41处呈现一个单峰,表明2个配合物中均仅存在一种单一的有机锡化合物。

2.2 晶体结构

配合物**C1**、**C2**的主要键长和键角数据列于表2,分子结构见图2、3。配合物**C1**中仅有一个锡核,该中心锡原子Sn1与来自配体中的2个氧原子O1和O2、1个亚氨基氮原子N2、1个配位甲醇氧原子O4、1个对氯苄基中的亚甲基碳原子C17以及1个氯原

表2 配合物 C1 和 C2 的部分键长和键角

Table 2 Selected bond lengths (nm) and bond angles (°) of complexes C1 and C2

C1					
Sn1—O1	0.210 17(17)	Sn1—O2	0.211 32(16)	Sn1—O4	0.230 26(19)
Sn1—N2	0.216 60(18)	Sn1—C17	0.213 7(3)	Sn1—Cl1	0.239 28(7)
O1—Sn1—O2	146.85(6)	O1—Sn1—C17	104.18(9)	O1—Sn1—N2	72.97(6)
O1—Sn1—Cl1	94.26(5)	O1—Sn1—O4	83.94(7)	O2—Sn1—C17	105.37(10)
O2—Sn1—N2	74.66(6)	O2—Sn1—O4	82.28(7)	O2—Sn1—Cl1	93.36(5)
O4—Sn1—Cl1	168.54(5)	C17—Sn1—O4	88.25(10)	C17—Sn1—Cl1	103.15(8)
C17—Sn1—N2	165.59(9)	N2—Sn1—Cl1	91.20(5)	N2—Sn1—O4	77.44(7)
C2					
Sn1—O1	0.214 0(2)	Sn1—O2	0.232 2(2)	Sn1—O4	0.236 6(3)
Sn1—O6	0.272 05(19)	Sn1—N2	0.224 4(3)	Sn1—C16	0.216 3(3)
Sn1—C23	0.213 7(4)	Sn2—O2	0.269 85(19)	Sn2—O5	0.214 1(2)
Sn2—O6	0.231 1(2)	Sn2—O8	0.239 4(3)	Sn2—N4	0.225 4(3)
Sn2—C46	0.213 9(4)	Sn2—C53	0.216 6(4)		
O1—Sn1—O2	140.66(8)	O1—Sn1—N2	70.83(9)	O1—Sn1—C16	97.46(11)
O1—Sn1—O4	77.51(9)	O1—Sn1—O6	153.10(7)	O2—Sn1—O6	65.97(6)
O2—Sn1—O4	141.83(9)	O4—Sn1—O6	75.97(8)	C16—Sn1—O2	88.54(12)
C16—Sn1—O4	85.03(14)	C16—Sn1—N2	93.95(12)	C16—Sn1—O6	84.69(10)
C23—Sn1—O1	91.80(12)	C23—Sn1—O4	86.38(14)	C23—Sn1—C16	165.70(13)
C23—Sn1—O6	82.15(12)	C23—Sn1—N2	99.38(13)	C23—Sn1—O2	91.19(12)
N2—Sn1—O2	69.99(8)	N2—Sn1—O4	147.93(10)	N2—Sn1—O6	135.95(8)
O5—Sn2—O6	140.66(8)	O5—Sn2—C53	96.53(11)	O5—Sn2—N4	70.54(9)
O5—Sn2—O8	76.90(10)	O5—Sn2—O2	152.79(8)	O6—Sn2—O8	142.38(9)
O6—Sn2—O2	66.50(6)	O8—Sn2—O2	75.90(9)	C46—Sn2—O2	83.32(11)
C46—Sn2—O6	89.87(12)	C46—Sn2—O8	84.55(15)	C46—Sn2—N4	97.56(12)
C46—Sn2—C53	164.99(13)	C46—Sn2—O5	93.25(12)	C53—Sn2—N4	96.42(12)
C53—Sn2—O8	86.61(16)	C53—Sn2—O6	89.76(12)	C53—Sn2—O2	82.77(10)
N4—Sn2—O2	136.66(8)	N4—Sn2—O6	70.17(8)	N4—Sn2—O8	147.44(10)

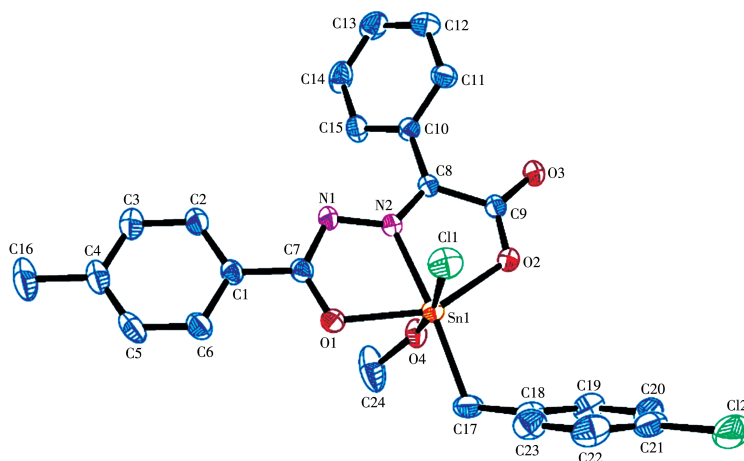


图2 配合物 C1 的椭球率 30% 的分子结构图

Fig.2 Molecular structure of complex C1 with 30% probability ellipsoids

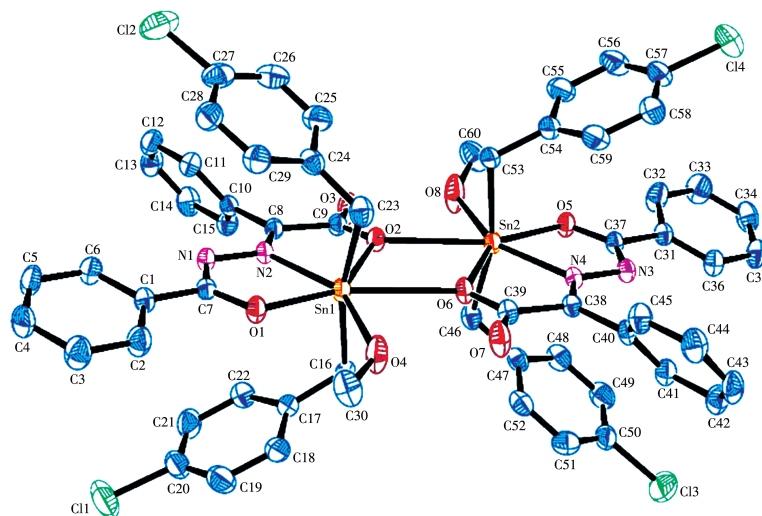


图3 配合物C2的椭球率30%的分子结构图

Fig.3 Molecular structure of complex C2 with 30% probability ellipsoids

子Cl1配位,形成六配位的八面体构型。O1、O2、N2、C17占据了赤道平面的4个位置,O4和Cl1则占据了该平面两侧的轴向位置,轴向O4—Sn1—Cl1键角为 $168.54(5)^\circ$,与 180° 相比偏离了 21.46° ,且赤道平面的4个原子与中心锡原子的键长不等(Sn1—O1 0.210 17(17) nm; Sn1—O2 0.211 32(16) nm; Sn1—N2 0.216 60(18) nm; Sn1—C17 0.213 7(3) nm),且键角也不相等($\angle O1—Sn1—N2$ $72.97(6)^\circ$; $\angle N2—Sn1—O2$ $74.66(6)^\circ$; $\angle O2—Sn1—C17$ $105.37(10)^\circ$; $\angle C17—Sn1—O1$ $104.18(9)^\circ$)。因此,该配合物中心锡原子为六配位畸变八面体构型。

配合物C2中含有2个锡原子,为双锡核分子,2个锡原子Sn1、Sn2的配位模式相同,但键参数略有差异。配合物C2分子中心存在1个 Sn_2O_2 平面中心四元环,四元环由羧基氧原子以 μ_3 -桥联配位Sn原子,且与2个锡原子的键长不等。与配合物C1不同的是配合物C2的中心锡原子Sn1、Sn2均采用七配位五角双锥构型,这种配位模式与大多数文献中报道的有机锡化合物类似^[18-19]。

2.3 热稳定性研究

为了研究配合物的热稳定性,在空气氛下,加热速度为 $20^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$,气体流速为 $20\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,在 $40\sim 800^\circ\text{C}$ 范围内对配合物进行TG测试。如图4和5所示,随温度的升高,配合物C1和C2发生相似的失重过程。在初始阶段 $40\sim 200^\circ\text{C}$,配合物C1失重为5.4%(理论值:5.4%),C2为5.2%(理论值:4.8%),分别对应配合物失去配位的甲醇分子;配合物C1、C2的中间失重阶段均相对模糊,在 $200\sim 800^\circ\text{C}$ 范围

内失重,对应配合物分子失去配体及烃基R,最终稳定在约25.4%(C1)和22.3%(C2),残余物与 SnO_2 的计算含量25.5%(C1)及22.6%(C2)吻合。上述TGA结果表明配合物C1、C2分别在 173 、 142°C 之前可稳定存在。

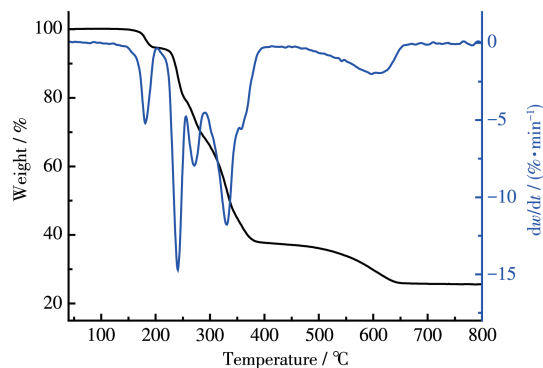


图4 配合物C1的TGA曲线

Fig.4 TGA curves of complex C1

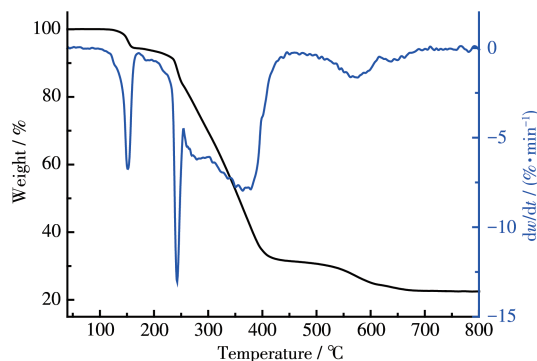


图5 配合物C2的TGA曲线

Fig.5 TGA curves of complex C2

2.4 体外抗癌活性研究

细胞活性的实验采用MTT法。基本原理为活细胞线粒体中的琥珀酸脱氢酶能使外源性MTT还原为水不溶性的蓝紫色结晶甲臜并沉积在细胞中,而死细胞无此功能。DMSO能溶解细胞中的甲臜,用酶标仪在570 nm波长处测定其光吸收值,在一定细胞数范围内,MTT结晶形成的量与细胞数成正比。根据测得的吸光度值(OD),来判断活细胞数量,OD值越大,细胞活性越强,药物毒性越小。

本实验以临床上应用的抗癌药物卡铂(carboplatin)为对照品,测定了配合物C1、C2对NCI-H460(人肺癌细胞)、HepG2(人肝癌细胞)和MCF7(人乳腺癌细胞)体外抗肿瘤活性。实验结果见表3。从表中数据可知,配合物C1、C2对NCI-H460、HepG2和MCF7三种癌细胞均有一定的抑制活性,但是配合

物C2对3种癌细胞相对更为敏感,其 IC_{50} 值均比配合物C1对癌细胞的要小。从表3及图6中数据还可以看出,配合物C2对NCI-H460和MCF7两种癌细胞的 IC_{50} 值分别为 $(6.37 \pm 0.17) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $(5.33 \pm 0.28) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,均小于carboplatin对该细胞的 IC_{50} 值,说明配合物C2对NCI-H460和MCF7两种癌细胞的抑制效果优于carboplatin。通过晶体结构分析发现,C1和C2之间的分子结构差异为与锡原子相连接的烃基R数目与配体苯环上的甲基取代基。基于该观察结果,推测可能的结构-活性关系如下:与锡原子相连接的烃基R数目对配合物的抗癌活性有重大影响,二烷基锡配合物的抗癌活性强于单烷基锡配合物;另一方面,二对氯苄基锡配合物具有抗癌活性。因此,可以考虑将C2进一步化学优化作为抗癌药物的候选化合物。

表3 配合物C1、C2和卡铂对癌细胞的体外抑制活性

Table 3 Inhibitory activity of complexes C1, C2 and carboplatin on cancer cells *in vitro*

Complex	$IC_{50} / (\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$		
	NCI-H460	HepG2	MCF7
C1	13.06 ± 0.24	10.54 ± 0.19	16.65 ± 0.23
C2	6.37 ± 0.17	7.78 ± 0.14	5.33 ± 0.28
Carboplatin	7.26 ± 0.32	7.70 ± 0.25	8.22 ± 0.41

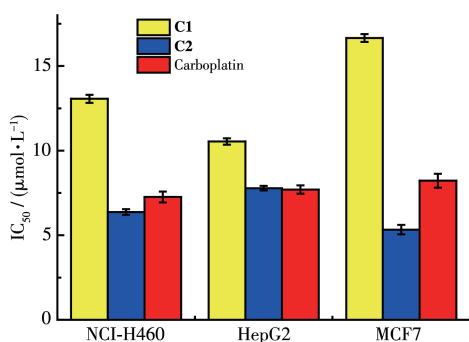


图6 配合物C1、C2和卡铂对癌细胞的体外抑制活性柱状图

Fig.6 Histogram of inhibitory activity of complexes C1, C2 and carboplatin on cancer cells *in vitro*

2.5 配合物与DNA作用的紫外光谱研究

为了准确表达配合物与DNA相互作用的强度,可以根据以下公式求得两者间的结合常数(K_b)^[20]:

$$c_{\text{DNA}}/(\varepsilon_A - \varepsilon_F) = c_{\text{DNA}}/(\varepsilon_B - \varepsilon_F) + 1/[K_b(\varepsilon_B - \varepsilon_F)] \quad (1)$$

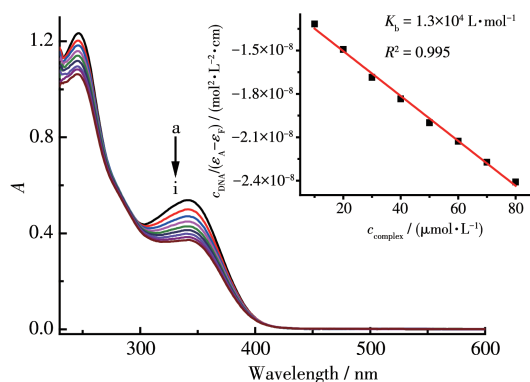
式中, ε_A 、 ε_F 、 ε_B 分别为任意DNA浓度(c_{DNA})下溶液的摩尔消光系数、自由配合物的摩尔消光系数、配合物被DNA完全键合时的摩尔消光系数。根据方程式线性拟合,通过斜率和截距计算出配合物C2的

结合常数 K_b 为 $1.3 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$;并且该结合常数与文献^[21-22]报道的类似配合物与DNA作用的结合常数大小相近,表明配合物C2与DNA的作用较强。

从图7中可以看出,当配合物C2与DNA发生作用时,它们的紫外光谱吸收峰表现出了减色和红移现象,减色率为30.86%,红移5 nm,减色越明显表明配合物与DNA相互作用越强^[24]。出现这种现象的原因可能是配合物通过插入作用与DNA结合后与碱基对发生 π 电子堆积,配体的 π^* 空轨道与DNA碱基对的 π 轨道发生偶合导致能级下降,偶合后的 π^* 轨道部分填充电子,使其 π - π^* 跃迁几率减小,从而产生减色效应。上述结果表明配合物C2可能通过插入作用与双链ct-DNA结合。

2.6 配合物与DNA-EB作用的荧光光谱研究

经典荧光探针EB自身的荧光强度很弱,但它能专一性地平行插入到DNA双螺旋内部的碱基对之间,使荧光强度显著增强。当EB分子从DNA双螺旋中脱出时,荧光强度又显著降低。如果共存于DNA-EB体系中的化合物分子也能与DNA发生类似于EB的插入作用,那么这个化合物分子就会竞争EB与DNA的结合位点,使DNA-EB体系的荧光减



$c_{\text{complex}} = 50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; from a to i, $c_{\text{DNA}} = 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively; Inset: plot of $c_{\text{DNA}} / (\varepsilon_{\text{A}} - \varepsilon_{\text{F}})$ vs c_{complex}

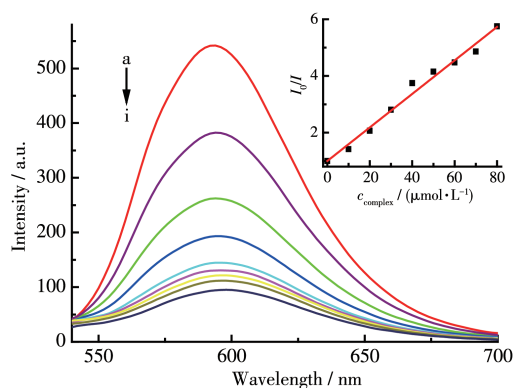
图7 配合物 **C2** 与DNA相互作用的UV-Vis谱图

Fig.7 UV-Vis spectra of **C2** upon addition of ct-DNA

弱。因此,利用DNA-EB体系的荧光猝灭程度可以说明化合物与DNA相互作用的方式和强度。

图8为不同浓度的配合物 **C2** 对DNA-EB复合体系荧光光谱的影响。从图上可以看出,随着配合物 **C2** 浓度的增加,DNA-EB复合体系的荧光逐渐猝灭,说明配合物 **C2** 与DNA作用后,同EB竞争DNA的结合位点使EB从DNA分子中游离出来,由此可进一步说明它们与DNA发生了插入作用,该结论与紫外光谱的测试结果一致。

为了定量地研究配合物与DNA的结合能力,采用经典Stern-Volmer方程^[23]: $I_0/I = 1 + K_{\text{SV}}c_{\text{complex}}$,由曲线拟合推断其作用属于静态猝灭,计算出配合物 **C2** 与DNA作用的猝灭常数 K_{SV} 为 $5.9 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$,比文



$c_{\text{DNA}} = 30 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; $c_{\text{EB}} = 3 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; from a to i, $c = 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively; Inset: plot of I_0/I vs c_{complex} ; $\lambda_{\text{ex}} = 258 \text{ nm}$

图8 配合物 **C2** 与EB-DNA体系相互作用的荧光光谱图

Fig.8 Effects of complex **C2** on fluorescent spectra of EB-DNA system

献^[25-26]报道的结合常数大,其大小定量地反映出配合物与DNA插入作用的能力,通过比较结合常数可以看出配合物 **C2** 与DNA存在较强的插入作用。

2.7 粘度实验

粘度测定是检测配合物与DNA结合方式最有效的方法之一。当平面小分子以插入方式与DNA作用时,DNA相邻碱基对的距离会变大,以容纳插入该分子,并导致DNA双螺旋长度增加,从而增大溶液的粘度^[24]。当小分子以部分插入方式进入碱基对时,常产生DNA双链的扭结,导致溶液粘度下降。而当化合物分子以沟面或静电方式与DNA作用时,则DNA溶液粘度变化不大,据此可区分不同的键合模式。

图9是DNA在不同浓度配合物 **C2** 或配体L2溶液存在下粘度的变化趋势,实心三角形所连曲线是L2与ct-DNA作用后的相对粘度变化曲线,实心圆所连曲线是配合物 **C2** 与ct-DNA作用后的相对粘度变化曲线。从图中可以看出,加入配合物 **C2** 后,DNA的相对粘度总体上都是随着配合物浓度的增大呈现上升的趋势,并且上升趋势比L2强烈,说明配合物以插入的方式与DNA结合。

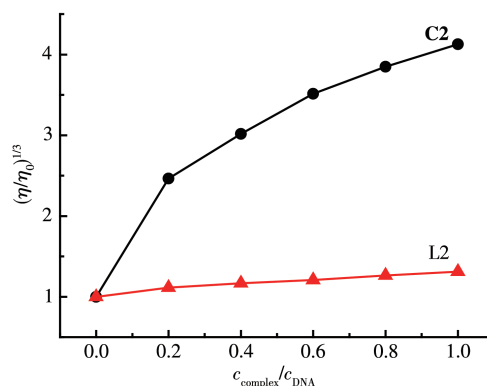


图9 不同浓度配合物 **C2** 和配体L2对ct-DNA相对粘度的影响

Fig.9 Effect of various concentrations of complex **C2** and ligand L2 on relative viscosity of ct-DNA

3 结论

二对氯苄基二氯化锡分别与对甲基苯甲酰肼缩苯甲酰甲酸及苯甲酰肼缩苯甲酰甲酸反应,合成了2个对氯苄基锡配合物 **C1** 和 **C2**。结构分析表明,**C1** 为单锡核分子,中心锡原子为六配位八面体构型;**C2** 为双锡核分子,2个中心锡原子均形成七配位畸变五角双锥构型。热分析结果表明,在空气

氛下,配合物 **C1** 在 173 ℃、**C2** 在 142 ℃ 以下可稳定存在。抗癌活性结果表明配合物 **C2** 对 NCI-H460 和 MCF7 两种癌细胞的抑制效果优于卡铂。利用紫外可见吸收光谱、荧光猝灭光谱以及粘度法研究了配合物 **C2** 与 ct-DNA 之间的相互作用,结果表明配合物以插入模式与 DNA 结合。

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

参考文献:

- [1] Dasari S, Bernard Tchounwou P. *Eur. J. Pharmacol.*, **2014**, **740**:364-378
- [2] Amable L. *Pharmacol. Res.*, **2016**, **106**:27-36
- [3] Köberle B, Tomicic M T, Usanova S, Kaina B. *Biochim. Biophys. Acta Rev. Cancer*, **2010**, **1806**(2):172-182
- [4] Shahid F, Farooqui Z, Khan F. *Eur. J. Pharmacol.*, **2018**, **827**:49-57
- [5] Karasawa T, Steyger P S. *Toxicol. Lett.*, **2015**, **237**(3):219-227
- [6] Jiang W J, Fan S J, Zhou Q, Zhang F X, Kuang D Z, Tan Y X. *Bioorg. Chem.*, **2020**, **94**:103402
- [7] 罗波, 余浩田, 刘梦琴, 张复兴, 邝代治, 谭宇星, 蒋伍玖. 无机化学学报, **2019**, **35**(7):1212-1220
LUO B, YU H T, LIU M Q, ZHANG F X, KUANG D Z, TAN Y X, JIANG W J. *Chinese J. Inorg. Chem.*, **2019**, **35**(7):1212-1220
- [8] 刘骄, 李卓群, 易雨阳, 钟依欣, 余浩田, 谭宇星, 蒋伍玖. 无机化学学报, **2019**, **35**(12):2200-2208
LIU J, LI Z Q, YI Y Y, ZHONG Y X, YU H T, TAN Y X, JIANG W J. *Chinese J. Inorg. Chem.*, **2019**, **35**(12):2200-2208
- [9] 蒋伍玖, 谭宇星, 邝代治, 张复兴, 刘梦琴. 中国科学:化学, **2019**, **49**(8):1083-1093
JIANG W J, TAN Y X, KUANG D Z, ZHANG F X, LIU M Q. *SCIEN-TIA SINICA Chimica*, **2019**, **49**(8):1083-1093
- [10] Armarego W L F, Chai C L L. *Purification of Laboratory Chemicals*. 6th ed. Oxford: Elsevier, **2009**.
- [11] Sheldrick G M. *SHELXL-97, a Program for Crystal Structure Refinement*. University of Göttingen, Germany, **1997**.
- [12] Jiang W J, Mo T Z, Zhang F X, Kuang D Z, Tan Y X. *Chin. J. Struct. Chem.*, **2020**, **39**(4):673-681
- [13] Salam M A, Hussein M A, Ramli I, SaifulIslam M. *J. Organomet. Chem.*, **2016**, **813**:71-77
- [14] Jiang W J, Zhou Q, Liu M Q, Zhang F X, Kuang D Z, Tan Y X. *Appl. Organomet. Chem.*, **2019**, **33**(9):e5092
- [15] Zhang Z J, Zeng H T, Liu Y, Kuang D Z, Zhang F X, Tan Y X, Jiang W J. *Inorg. Nano-Met. Chem.*, **2018**, **48**(10):486-494
- [16] Pretsch E, Bühlmann P, Badertscher M. *Structure Determination of Organic Compounds*. 4th ed. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, **2009**.
- [17] 蒋伍玖, 谭宇星, 庾江喜, 朱小明, 张复兴, 邝代治. 无机化学学报, **2016**, **32**(8):1383-1390
JIANG W J, TAN Y X, YU J X, ZHU X M, ZHANG F X, KUANG D Z. *Chinese J. Inorg. Chem.*, **2016**, **32**(8):1383-1390
- [18] Tan Y X, Zhang Z J, Tan Y H, Kuang D Z, Yu J X, Zhu X M, Jiang W J. *J. Coord. Chem.*, **2017**, **70**(15):2606-2624
- [19] Nath M, Saini P K. *Dalton Trans.*, **2011**, **40**(27):7077-7121
- [20] Pyle A M, Rehmann J P, Meshoyrer R, Kumar C V, Turro N J, Barton J K. *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, **111**(8):3051-3058
- [21] Yao G Y, Ye M Y, Huang R Z, Li Y J, Pan Y M, Xu Q, Liao Z X, Wang H S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2014**, **24**(2):501-507
- [22] Liu K, Yan H, Chang G L, Li Z, Niu M J, Hong M. *Inorg. Chim. Acta*, **2017**, **464**:137-146
- [23] Yan C Q, Zhang J L, Liang T G, Li Q S. *Biomed. Pharmacother.*, **2015**, **71**:119-127
- [24] Ganji N, Rambabu A, Vamsikrishna N, Daravath S, Shivaraj. *J. Mol. Struct.*, **2018**, **1173**:173-182
- [25] Tan C P, Liu J, Chen L M, Shi S, Ji L N. *J. Inorg. Biochem.*, **2008**, **102**(8):1644-1653
- [26] Zhao Y, Li Z, Li H H, Wang S N, Niu M J. *Inorg. Chim. Acta*, **2018**, **482**:136-143