

两个取代苄基锡配合物的合成、抗癌活性及其与DNA相互作用

陈乐 邓欣 谭宇星* 张复兴 邝代治 蒋伍玖*

(衡阳师范学院化学与材料科学学院, 金属有机新材料湖南省高校重点实验室,
功能金属有机化合物湖南省重点实验室,
湘江上游重金属污染监测与治理湖南省工程研究中心, 衡阳 421008)

摘要: 利用二(2,4-二氯苄基)二氯化锡分别与对甲基苯甲酰肼或对叔丁基苯甲酰肼、丙酮酸钠在甲醇中发生反应, 合成了2个二(2,4-二氯苄基)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NCI-H460(人肺癌细胞)、HepG2(人肝癌细胞)和MCF7(人乳腺癌细胞)的体外抑制活性, 发现配合物**C1**对癌细胞均表现较好的抑制作用。利用UV-Vis光谱、荧光光谱以及黏度法研究了2个配合物与ct-DNA之间的相互作用, 结果表明配合物是以经典的嵌入模式与DNA结合。

关键词: 有机锡配合物; 合成; 晶体结构; 抗肿瘤; 脱氧核糖核酸

中图分类号: O614.43*2

文献标识码: A

文章编号: 1001-4861(2022)06-1081-09

DOI: 10.11862/CJIC.2022.124

Synthesis, Anti-tumor Activity, and Interaction with DNA of Two Substituted Benzyltin Complexes

CHEN Le DENG Xin TAN Yu-Xing* ZHANG Fu-Xing KUANG Dai-Zhi JIANG Wu-Jiu*

(Key Laboratory of Functional Metal-Organic Compounds of Hunan Province, Key Laboratory of Organometallic New Materials of College of Hunan Province, Hunan Provincial Engineering Research Center for Monitoring and Treatment of Heavy Metals Pollution in the Upper Reaches of Xiangjiang River, College of Chemistry and Materials Science, Hengyang Normal University, Hengyang, Hunan 421008, China)

Abstract: Two organotin complexes (**C1**, **C2**) were synthesized by di(2,4-dichlorobenzyl)tin dichloride reacting with *p*-methyl benzoyl hydrazide or *p*-tert-butyl benzoyl hydrazide, and sodium pyruvate. The structure of the complexes were characterized through elemental analysis, IR, ¹H NMR, ¹³C NMR, ¹¹⁹Sn NMR, HRMS, and X-ray single crystal diffraction. The thermal stability of complexes **C1** and **C2** were analyzed, and the antitumor activities of the complexes were evaluated by MTT against three cell lines (human lung cancer cells NCI-H460, human liver cancer cells HepG2, and human breast cancer cells MCF7). It was found that complex **C1** showed a good inhibitory effect on NCI-H460, HepG2, and MCF7. The interaction of the complexes with DNA was investigated using UV-Vis spectroscopy, fluorescence spectroscopy, and viscosity measurement. It is found that the complexes can bind to DNA through an intercalation mode. CCDC: 2124763, **C1**; 2124764, **C2**.

Keywords: organotin complex; synthesis; crystal structure; antitumor activities; deoxyribonucleic acid

收稿日期: 2021-11-30。收修改稿日期: 2022-04-12。

衡阳师范学院大学生创新创业训练计划项目(No.cxcy2021072)和衡阳师范学院大学生课外学术科技作品竞赛项目(No.14)资助。

*通信联系人。E-mail: tanyuxing@hynu.edu.cn, jwj_china@163.com

0 引言

化学药物治疗是目前临床主要的癌症治疗方法之一^[1-2]。在抗癌药物的研发过程中,药物对体外癌细胞的生长抑制试验是验证药物抗癌效能的第一步,在明确药物抗癌谱、筛选高效抗癌药物等方面有着重要意义。铂类药物是临床治疗癌症应用最广泛的金属抗癌药物,它具有较好的抗癌活性,主要是通过抑制癌细胞的DNA复制达到抑制恶性细胞增殖的目的^[3-6],故已有报道的大多数抗肿瘤金属抗癌药物的研究都是基于DNA作为靶向分子而设计的^[7-8]。因此,研究金属配合物抗癌药物的体外抗癌活性和与DNA之间的相互作用模式,成为了研发新一代金属抗癌药物的关键。

有机锡配合物因其结构的多样性以及显著的生物活性得到广泛关注^[9-11]。大量研究表明,有机锡配合物在体外都显示出良好的抗肿瘤活性,并且与DNA结合能力较强,能够抑制细胞增殖、诱导细胞凋亡等^[12-14],所以它被认为是替代铂类金属抗癌药物的候选化合物之一。其中,二烷基锡配合物因更具有突出的抗增殖和诱导肿瘤细胞凋亡的特性而常被人们研究。作为配体而言,酰胺类配体大多具有抑菌、抗癌和抗病毒等生物活性^[15-17],文献报道作为配体的酰胺类化合物在形成配合物后,其配合物的生物活性比配位前要明显加强。因此,我们设计、合成了基于酰胺类配体的烷基锡配合物,探讨了它们与DNA的作用方式和细胞毒性,为后续的抗肿瘤药物的设计以及临床应用提供基础。

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 II元素分析仪测定。HRMS用Thermo Scientific LTQ Orbitrap XL(ESI源)测定。UV-Vis光谱用日本岛津公司UV-2550型紫外可见光谱仪测定。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,在空气气氛下,加热速度为 $20\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$,气体流速为 $20\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,在 $40\sim 800\text{ }^\circ\text{C}$ 范围内对配合物进行测试。熔点用北京泰克X-4双目体视显微镜熔点测定仪测定(温度计未经校正)。

二(2,4-二氯苄基)二氯化锡参考文献^[18]方法合成,合成方法见Supporting information。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。其它试剂均为市售分析纯,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 $\text{pH}=7.40$ 配制而成,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的缓冲溶液配制,浓度通过测定260 nm处的吸光度计算而得($\epsilon_{260}=6\ 600\text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$),其储备液在 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 下保存;溴化乙锭溶液通过称取适量溴化乙锭固体,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。在25 mL圆底烧瓶中,加入1 mmol对甲基苯甲酰肼或对叔丁基苯甲酰肼、1 mmol丙酮酸钠、1 mmol二(2,4-二氯苄基)二氯化锡、10 mL甲醇,搅拌回流3 h。冷却,过滤,通过控制溶剂挥发得到淡黄色晶体C1或C2。

配合物C1:产率70%。m.p. $222\sim 224\text{ }^\circ\text{C}(\text{dec})$ 。元素分析($\text{C}_{52}\text{H}_{48}\text{Cl}_8\text{N}_4\text{O}_8\text{Sn}_2$)实测值(计算值, %): C, 45.31(45.32); H, 3.51(3.51); N, 4.06(4.07)。IR(KBr,

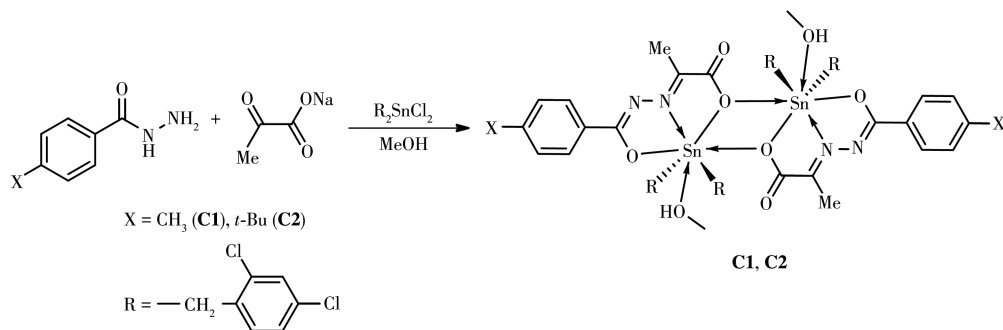


图1 配合物的合成线路

Fig.1 Synthesis route of the complexes

cm^{-1}): 3 063, 2 920, 1 614, 1 582, 1 472, 1 389, 1 317, 1 290, 1 204, 1 179, 1 157, 1 107, 1 070, 1 024, 918, 841, 818, 748, 727, 653, 592, 540, 449。 ^1H NMR(500 MHz, CDCl_3): δ 7.80(d, $J=8.2$ Hz, 4H), 7.27(s, 4H), 7.22(d, $J=8.0$ Hz, 4H), 7.04(d, $J=2.0$ Hz, 8H), 3.17(d, $J=12.0$ Hz, 4H), 3.10(d, $J=12.0$ Hz, 4H), 2.49(s, 6H), 2.43(s, 6H)。 ^{13}C NMR(126 MHz, CDCl_3): δ 174.77, 163.69, 155.10, 143.49, 133.34, 132.85, 132.28, 130.81, 129.07, 128.88, 128.46, 127.43, 50.92, 27.62, 21.79, 13.77。 ^{119}Sn NMR(187 MHz, CDCl_3): δ -243.58。 HRMS(ESI) m/z : $\text{C}_{25}\text{H}_{21}\text{Cl}_4\text{N}_2\text{O}_3\text{Sn}^+[\text{M}-\text{CH}_3\text{OH}+\text{H}]^+$ 计算值 656.929 33, 实验值 656.929 57; $\text{C}_{50}\text{H}_{41}\text{Cl}_8\text{N}_4\text{O}_6\text{Sn}_2^+[\text{2M}-2\text{CH}_3\text{OH}+\text{H}]^+$ 计算值 1 314.850 79, 实验值 1 314.849 85。

配合物 **C2**: 产率 72%。 m.p. 229~231 $^\circ\text{C}$ (dec)。元素分析($\text{C}_{29}\text{H}_{30}\text{Cl}_4\text{N}_2\text{O}_4\text{Sn}$)实测值(计算值, %): C, 47.68(47.64); H, 4.16(4.14); N, 3.81(3.83)。 IR(KBr, cm^{-1}): 2 963, 2 905, 2 870, 1 674, 1 607, 1 580, 1 474, 1 393, 1 364, 1 321, 1 290, 1 271, 1 207, 1 192, 1 161, 1 115, 1 072, 1 047, 920, 849, 822, 766, 725, 656, 596, 554, 446。 ^1H NMR(500 MHz, CDCl_3): δ 7.74(dt, $J_1=8.5$ Hz, $J_2=1.9$ Hz, 4H), 7.40(dt, $J_1=8.6$ Hz, $J_2=1.9$ Hz, 4H), 7.21(d, $J=2.2$ Hz, 4H), 7.05(d, $J=8.3$ Hz, 4H),

6.95(dt, $J_1=8.3$ Hz, $J_2=2.1$ Hz, 4H), 3.27(d, $J=12.0$ Hz, 4H), 3.16(d, $J=12.0$ Hz, 4H), 2.48(s, 6H), 1.35(s, 18H)。 ^{13}C NMR(126 MHz, CDCl_3): δ 174.76, 164.60, 156.21, 154.22, 133.35, 133.22, 132.07, 131.09, 129.19, 128.76, 128.27, 127.23, 125.18, 50.85, 35.09, 31.13, 29.39, 13.68。 ^{119}Sn NMR(187 MHz, CDCl_3): δ -282.87。 HRMS(ESI) m/z : $\text{C}_{28}\text{H}_{27}\text{Cl}_4\text{N}_2\text{O}_3\text{Sn}^+[\text{M}-\text{CH}_3\text{OH}+\text{H}]^+$ 计算值 698.979 23, 实验值 698.978 27; $\text{C}_{56}\text{H}_{53}\text{Cl}_8\text{N}_4\text{O}_6\text{Sn}_2^+[\text{2M}-2\text{CH}_3\text{OH}+\text{H}]^+$ 计算值 1 398.944 69, 实验值 1 398.947 51。

1.3 晶体结构测定

选取尺寸分别为 0.22 mm×0.20 mm×0.19 mm (**C1**)和 0.23 mm×0.22 mm×0.20 mm (**C2**)的配合物单晶,在 Bruker SMART APEX II CCD 单晶衍射仪上,采用经石墨单色化的 Mo $K\alpha$ 射线($\lambda=0.071\ 073$ nm),以 φ - ω 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。对非氢原子坐标及其各向异性热参数和氢原子坐标及其各向同性热参数进行全矩阵最小二乘法修正,全部结构分析计算工作采用 SHELX-97 程序系统完成。

CCDC: 2124763, **C1**; 2124764, **C2**。

表 1 配合物晶体学数据和精修参数

Table 1 Crystallographic data and refinement parameters of the complexes

Parameter	C1	C2
Empirical formula	$\text{C}_{52}\text{H}_{48}\text{Cl}_8\text{N}_4\text{O}_8\text{Sn}_2$	$\text{C}_{29}\text{H}_{30}\text{Cl}_4\text{N}_2\text{O}_4\text{Sn}$
Formula weight	1 377.92	731.04
T / K	296(2)	293(2)
Crystal system	Monoclinic	Triclinic
Space group	$P2_1/n$	$P\bar{1}$
a / nm	1.391 57(3)	0.967 6(3)
b / nm	1.143 113(3)	1.115 9(3)
c / nm	1.806 56(5)	1.665 8(5)
$\alpha / (^\circ)$		76.750(4)
$\beta / (^\circ)$	103.000 0(10)	89.867(4)
$\gamma / (^\circ)$		66.112(3)
Volume / nm^3	2.800 07(2)	1.592 5(8)
Z	2	2
$D_c / (\text{Mg} \cdot \text{m}^{-3})$	1.634	1.525
Absorption coefficient / mm^{-1}	1.329	1.173
$F(000)$	1 376	736
θ range / $(^\circ)$	1.68-25.10	2.52-25.10
Limiting indices	$-16 \leq h \leq 16, -13 \leq k \leq 13, -17 \leq l \leq 21$	$-11 \leq h \leq 11, -13 \leq k \leq 13, -19 \leq l \leq 19$

续表1

Reflection collected, unique	18 094, 5 002 ($R_{\text{int}}=0.021\ 9$)	16 418, 5 657 ($R_{\text{int}}=0.013\ 9$)
Completeness	1	0.996
Max. and min. transmission	0.786 3 and 0.758 6	0.799 2 and 0.774 1
Data, restraint, parameter	5 002, 0, 341	5 657, 0, 370
Goodness-of-fit on F^2	1.047	1.057
Final R indices [$I>2\sigma(I)$]	$R_1=0.027\ 3$, $wR_2=0.063\ 6$	$R_1=0.028\ 9$, $wR_2=0.078\ 6$
R indices (all data)	$R_1=0.032\ 4$, $wR_2=0.065\ 6$	$R_1=0.031\ 1$, $wR_2=0.080\ 0$
$(\Delta\rho)_{\text{max}}, (\Delta\rho)_{\text{min}} / (\text{e}\cdot\text{nm}^{-3})$	449, -389	1 646, -575

1.4 配合物对癌细胞的抑制活性

NCI-H460(人肺癌细胞)、HepG2(人肝癌细胞)和MCF7(人乳腺癌细胞)细胞株取自美国组织培养库(ATCC)。HepG2、NCI-H460、MCF-7细胞株用含10%胎牛血清的RPMI 1640(GIBICO公司)培养基,在含CO₂(体积分数5%)的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(噻唑蓝)比色法测定。数据处理使用Graph Pad Prism version 7.0程序,配合物的半抑制浓度(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 配合物与DNA相互作用研究

荧光光谱法研究:在5 mL的容量瓶中分别加入EB、ct-DNA及不同浓度的配合物溶液,摇匀,在25℃下放置3.5 h,分别扫描荧光光谱。将激发波长设为258 nm,测定540~700 nm范围内的荧光光谱,发射和激发光谱扫描狭缝均为5.0 nm。

UV-Vis光谱法研究:将配合物用DMSO配制成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(0~100 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230~800 nm范围内的UV-Vis光谱。

黏度法研究:使用乌氏黏度计进行黏度测量,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。用DMSO作为溶剂来配制1 mmol·L⁻¹的配合物储备液。向乌氏黏度计中加入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,混匀后分别测定该溶液流经毛细管所需的时间,用精度为0.01 s的电子秒表测量时间,每次添加完溶液后测量3次时间,最后取平均值。按照公式 $\eta=(t-t_0)/t_0$ 来计算相对黏度,式中 t_0 为Tris-HCl缓冲溶液流经毛细管所需的时间, t 为ct-DNA和配合物的混合溶液流经毛细管所需时间。以 η_0 表示没有加入配合物时

ct-DNA溶液的相对黏度,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黏度的影响。

2 结果与讨论

2.1 谱学表征

在配合物C1、C2的IR谱图中,2个配合物分别在1 582、1 580 cm⁻¹处的吸收峰归属为酰肼(C=N—N=C)键的特征吸收^[20-21],C1、C2分子中羧基的反对称伸缩振动峰和对称伸缩振动峰分别在1 614和1 389 cm⁻¹、1 608和1 393 cm⁻¹处,两者频率之差分别为225和215 cm⁻¹,表明2个配合物中的羧酸根均是以单齿形式与Sn配位,这与X射线单晶衍射所得结果保持一致。此外,C1、C2配位键的特征峰 $\nu(\text{Sn—O—Sn})$ 、 $\nu(\text{Sn—O})$ 和 $\nu(\text{Sn—C})$ 分别位于653、592、449 cm⁻¹和656、596、446 cm⁻¹处,与文献^[22-24]报道的类似化合物的出峰位置一致,由此证明2个目标配合物的形成,并且从各个基团的出峰位置可以得出,我们合成的2个二(2,4-二氯苄基)锡配合物具有相似的化学结构。

在¹H NMR谱中,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。配合物C1和C2中芳环上氢的出峰位置分别在 $\delta=7.04\sim 7.80$ 和 $\delta=6.95\sim 7.74$;值得注意的是,2,4-二氯苄基的亚甲基上2个氢分别在 $\delta=3.10$ 附近呈现2组双重峰,这是亚甲基上的2个氢质子发生同碳耦合所致,说明这2个氢的化学环境不同。从谱图中可以看到,2个配合物的氢出峰基本保持一致,说明2个配合物具有相似的最简结构单元。

在¹³C NMR谱中,C1和C2各组峰与理论推测结构的碳原子数相吻合。2个配合物中苯环上碳原子以及羧基碳、酰肼碳、亚氨基碳均在低场位置出峰,出峰位置均一一对应。

在¹¹⁹Sn NMR谱中,C1和C2分别在 $\delta=-243.58$ 和 -282.87 处仅呈现一个单峰,表明2个配合物中均

仅存在一种化学环境的中心锡原子。

2.2 晶体结构

配合物的主要键长和键角数据列于表2,分子结构见图2和3。**C1**和**C2**均为双锡核分子,分子中心存在1个 Sn_2O_2 平面四元环,环的中心就是分子的对称中心, Sn_2O_2 四元环是由羧基氧原子以 μ_3 -桥联配位Sn原子构成,四元环的2条边长不相等,在**C1**中Sn—O键长:Sn1—O2 0.231 79(2) nm, Sn1—O2ⁱ 0.269 6 nm;**C2**中Sn—O键长:Sn1—O2 0.233 72(2) nm, Sn1—O2ⁱ 0.269 6 nm;其中Sn1—O2均属于正常Sn—O共价键长,而Sn1—O2ⁱ均大于正常Sn—O共价键长,但是小于锡原子与氧原子范德华半径之和,与文献报道^[25-26]相似配合物的Sn—O相差不大。

在配合物**C1**中,Sn1与来自配体中的2个氧原子O1和O2、1个亚氨基氮原子N1、1个配位甲醇氧原子O4、来自2个2,4-二氯苄基中的亚甲基碳原子C12和C19以及来自另一个配体分子中的O2ⁱ配位,形成七配位五角双锥构型。O1、O2、O4、N1、O2ⁱ占

据了赤道平面的5个位置,2个亚甲基碳原子C12和C19则占据了该平面两侧的轴向位置。配合物**C2**中心锡原子的配位模式与**C1**相同,均为七配位的五角双锥构型。对比2个配合物中的轴向夹角,**C1**中轴向C12—Sn1—C19键角为162.33°,**C2**中轴向C15—Sn1—C22键角为158.43°,分别相比180°偏离了17.67°和21.57°,初步说明配合物**C2**中心锡原子与配位原子所构成的五角双锥构型的畸变程度大于配合物**C1**。在配合物**C1**中,赤道平面的5个原子与中心锡原子的键长不等(Sn1—O1 0.216 34(2) nm, Sn1—O2 0.231 79(2) nm, Sn1—O4 0.244 8(2) nm, Sn1—N1 0.222 4(2) nm, Sn1—O2ⁱ 0.269 6 nm),且键角也不相等(O1—Sn1—O4 76.31(8)°, O1—Sn1—N1 70.58(7)°, N1—Sn1—O2 70.58(7)°, O2—Sn1—O2ⁱ 65.75°, O4—Sn1—O2ⁱ 76.81°),这进一步说明该配合物中心锡原子为七配位畸变五角双锥构型。配合物**C2**与**C1**分子结构类似,键参数差异不大,中心锡原子也为七配位畸变五角双锥构型。此外,在2个

表2 配合物的部分键长和键角

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

C1					
Sn1—C19	0.213 9(3)	Sn1—C12	0.215 7(3)	Sn1—O1	0.216 34(2)
Sn1—N1	0.222 4(2)	Sn1—O2	0.231 79(2)	Sn1—O4	0.244 8(2)
Sn1—O2 ⁱ	0.269 6				
C19—Sn1—C12	162.32(1)	C19—Sn1—O1	94.21(9)	C12—Sn1—O1	93.75(9)
C19—Sn1—N1	100.73(9)	C12—Sn1—N1	96.80(1)	O1—Sn1—N1	70.58(7)
C19—Sn1—O2	90.60(9)	C12—Sn1—O2	93.09(9)	O1—Sn1—O2	141.09(7)
N1—Sn1—O2	70.58(7)	C19—Sn1—O4	82.87(1)	C12—Sn1—O4	83.71(1)
O1—Sn1—O4	76.31(8)	N1—Sn1—O4	146.85(8)	O2—Sn1—O4	142.56(7)
O2—Sn1—O2 ⁱ	65.75	C12—Sn1—C19	162.33	O4—Sn1—O2 ⁱ	76.81
C2					
Sn1—O1	0.213 41(2)	Sn1—C22	0.213 8(3)	Sn1—C15	0.216 0(3)
Sn1—N1	0.222 9(2)	Sn1—O2	0.233 72(2)	Sn1—O4	0.239 1(2)
Sn1—O2 ⁱ	0.277 6				
O1—Sn1—C22	98.43(1)	O1—Sn1—C15	96.75(1)	C22—Sn1—C15	158.44(1)
O1—Sn1—N1	70.97(8)	C22—Sn1—N1	104.08(1)	C15—Sn1—N1	95.29(1)
O1—Sn1—O2	140.54(7)	C22—Sn1—O2	86.18(1)	C15—Sn1—O2	91.76(1)
N1—Sn1—O2	69.91(8)	O1—Sn1—O4	78.63(8)	C22—Sn1—O4	84.59(1)
C15—Sn1—O4	83.49(1)	N1—Sn1—O4	149.24(9)	O2—Sn1—O4	140.75(8)
O2—Sn1—O4	140.75(8)	C7—O1—Sn1	116.25(2)	C9—O2—Sn1	116.42(2)
C29—O4—Sn1	134.4(3)	O2—Sn1—O2 ⁱ	65.93	C15—Sn1—C22	158.43
O4—Sn1—O2 ⁱ	74.89				

Symmetry codes: ⁱ 1-x, 2-y, 1-z for **C1**; ⁱ 1-x, -y, 1-z for **C2**.

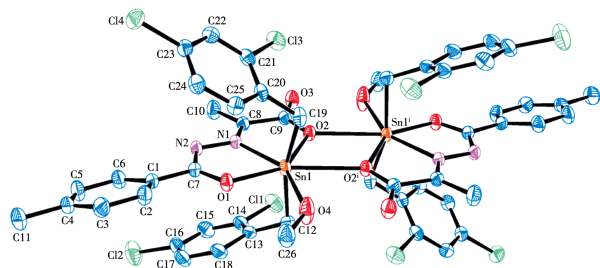
Symmetry code: $i 1-x, 2-y, 1-z$

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

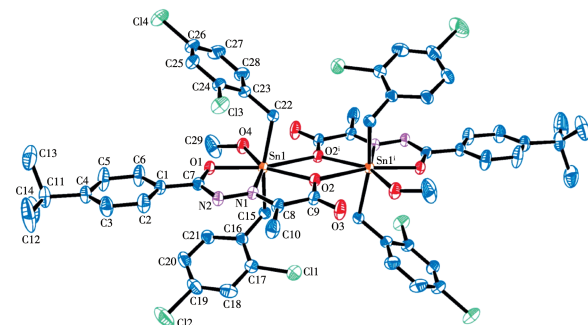
Symmetry code: $i 1-x, -y, 1-z$

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

配合物结构中, Sn—N键长为 0.222 4(2) nm(C1)和 0.222 9(2) nm(C2), 与文献报道相似^[25-26]。

2.3 热稳定性

配合物的TGA曲线如图4和5所示。随温度的升高, 2个配合物发生相似的失重过程。在整个测试温度范围内, 配合物C1首次失重出现在初始阶段 120~140 °C范围, 失重比例为 4.77%(理论值: 4.64%), 配合物C2首次失重出现在 110~140 °C, 失

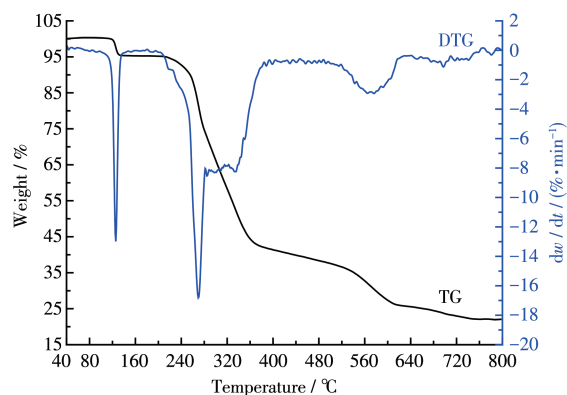


图4 配合物C1的TGA曲线

Fig.4 TGA curve of complex C1

重比例为 4.35%(理论值: 4.38%), 两者分别对应配合物失去配位的甲醇分子。之后, 2条TGA曲线均在 140~200 °C范围出现一段恒重平台。最后, 配合物C1、C2分别在 210~750 °C和 200~750 °C范围内失去酰肼配体及与锡原子相连的 2,4-二氯苄基, 重量最终稳定在约 22.03% (C1)和 21.21% (C2), 残余物与 SnO₂ 的计算含量 21.77% (C1)及 20.52% (C2)吻合。上述热分析结果表明配合物C1、C2中均存在配位的甲醇分子, 且2个配合物的结构相似。

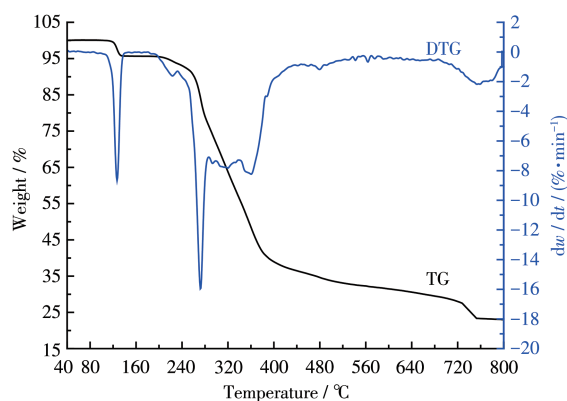


图5 配合物C2的TGA曲线

Fig.5 TGA curve of complex C2

2.4 体外抗癌活性

以临床上应用的抗癌药物顺铂为对照药物, 测定了配合物C1、C2对NCI-H460、HepG2和MCF7的体外抑制活性, 实验结果见表3。不同配体、相同烷基锡形成的配合物中, 对甲基苯甲酰肼缩丙酮酸烷基锡配合物(C1)具有更好的体外抑制活性, 特别是对于 HepG2 和 MCF7, 其 IC₅₀ 分别为 (6.64±0.26) μmol·L⁻¹和 (7.15±0.15) μmol·L⁻¹。对比2个配合物, 仅有酰肼配体上芳环的取代基不同, 分别为甲基和叔丁基, 结合表3中的 IC₅₀值可以看出二者对3种癌细胞的体外抑制活性大小均为甲基(C1)>叔丁基(C2)。因此, 推测配合物C1、C2的抗肿瘤活性可能与配合物的空间位阻有关, 空间位阻越小, 配合物越容易嵌入到DNA的双螺旋链中改变和破坏DNA

表3 配合物对三种癌细胞的体外抑制活性

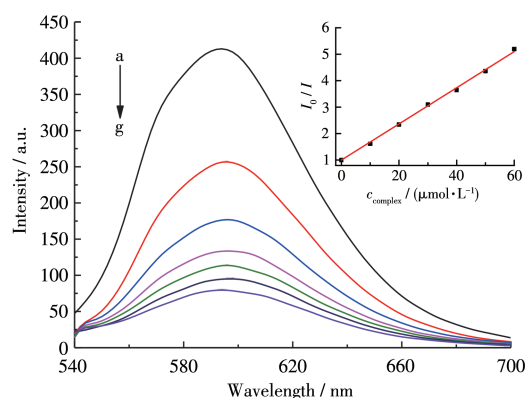
Table 3 Inhibition activity of the complexes to three kinds of cancer cells *in vitro*

Complex	IC ₅₀ / (μmol·L ⁻¹)		
	NCI-H460	HepG2	MCF7
C1	11.04±0.19	6.64±0.26	7.15±0.15
C2	19.27±0.24	13.84±0.14	9.46±0.09
Cisplatin	5.63±0.43	17.56±1.84	16.47±1.45

的结构和功能,阻碍 DNA 复制和合成,从而抑制肿瘤细胞增殖。

2.5 配合物与DNA的相互作用

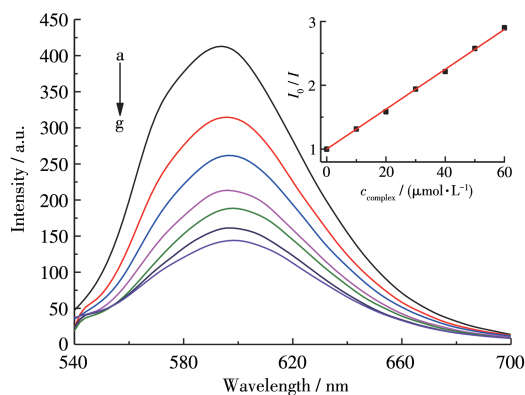
图6和7分别为不同浓度的配合物 **C1**、**C2** 对 EB-DNA 复合体系荧光光谱的影响。从图上可以看出,随着配合物 **C1**、**C2** 浓度的增加,EB-DNA 复合体系的荧光逐渐猝灭,说明配合物 **C1**、**C2** 与 DNA 作用后,同 EB 竞争 DNA 的结合位点使 EB 从 DNA 分子中游离出来,由此可进一步说明它们与 DNA 发生了嵌入作用;并且从猝灭程度上来看,配合物 **C1** 使复合体系荧光强度的下降趋势更大,初步说明它与 DNA 的作用更强。为了定量地研究配合物与 DNA



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

图6 配合物 **C1** 对 EB-DNA 体系荧光光谱的影响

Fig.6 Effects of complex **C1** on the fluorescent spectra of EB-DNA system



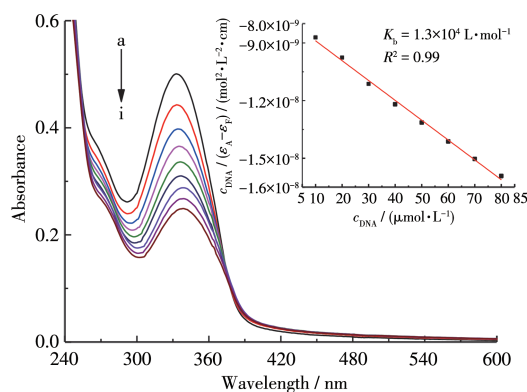
$c_{\text{DNA}}=30 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; $c_{\text{EB}}=3 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; From a to g, $c=0, 10, 20, 30, 40, 50, 60 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, respectively; $\lambda_{\text{ex}}=258 \text{ nm}$; Inset: plot of I_0/I vs c_{complex}

图7 配合物 **C2** 对 EB-DNA 体系的荧光光谱的影响

Fig.7 Effects of complex **C2** on the fluorescent spectra of EB-DNA system

的结合能力,采用经典 Stern-Volmer 方程: $I_0/I=1+K_{\text{sq}}c_{\text{complex}}$,由曲线拟合推断其作用属于静态猝灭,并计算出配合物 **C1**、**C2** 与 DNA 作用的猝灭常数 K_{sq} 分别为 6.8×10^4 和 $3.1\times 10^4 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}$,与文献^[27-28]报道其他金属配合物的结合常数在同一数量级,但是配合物 **C1** 的猝灭常数略大于 **C2**,说明它的作用强度也略大。

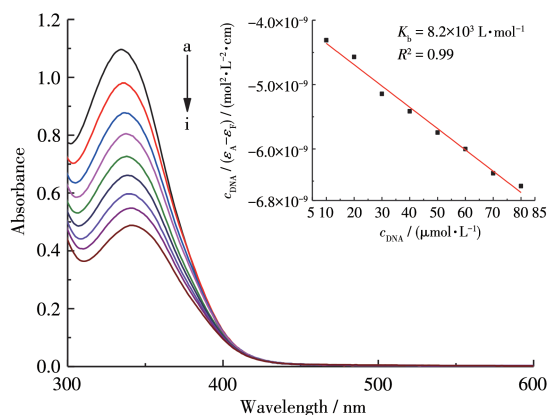
为了准确表达配合物与 DNA 相互作用的强度,可以根据公式求得两者间的结合常数(K_b): $c_{\text{DNA}}/(\epsilon_A - \epsilon_F) = c_{\text{DNA}}/(\epsilon_B - \epsilon_F) + 1/[K_b(\epsilon_B - \epsilon_F)]$,其中 ϵ_A 、 ϵ_F 、 ϵ_B 分别为任意 DNA 浓度下溶液的摩尔消光系数、自由配合物的摩尔消光系数、配合物被 DNA 完全结合时的摩尔消光系数。根据方程式,以 $c_{\text{DNA}}/(\epsilon_A - \epsilon_F)$ 对 c_{DNA} 作图并进行线性拟合(图8和9插图),通过直线的斜率和截距计算出2个配合物的结合常数 K_b 分别为 1.3×10^4 和 $8.2\times 10^3 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}$;并且该结合常数与文献^[29-30]报道的类似配合物与 DNA 作用的结合常数大小相近,均在同一数量级。配合物 **C1** 与 DNA 作用的结合常数略大于 **C2**,由此说明,配合物 **C1** 和 **C2** 可与 DNA 结合,且 **C1** 与 DNA 的作用略强于 **C2**。从图8和9中可以看出当配合物与 DNA 发生作用时,它们的 UV-Vis 光谱吸收峰均表现出了减色和红移现象,减色率分别为 55.5% 和 50.2%,红移均为 7 nm,减色越明显表明配合物与 DNA 相互作用越强。出现这种现象的原因可能是配合物通过嵌入作用与 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 **C1**、



$c_{\text{complex}}=50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; 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 $c_{\text{DNA}}/(\epsilon_A - \epsilon_F)$ vs c_{DNA}

图8 加入 ct-DNA 后配合物 **C1** 的 UV-Vis 谱图

Fig.8 UV-Vis spectra of **C1** upon addition of ct-DNA



$c_{\text{complex}} = 50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; 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 $c_{\text{DNA}} / (\epsilon_A - \epsilon_F)$ vs c_{DNA}

图9 加入 ct-DNA 后配合物 **C2** 的 UV-Vis 谱图

Fig.9 UV-Vis spectra of **C2** upon addition of ct-DNA

C2通过嵌入作用与双链 ct-DNA 结合。

黏度测定是检测配合物与 DNA 结合方式最有效的方法之一。当平面小分子以嵌入方式与 DNA 作用时, DNA 相邻碱基对的距离会变大, 以容纳嵌入该分子, 并导致 DNA 双螺旋长度增加, 从而增大溶液的黏度^[31]; 当小分子以部分嵌入方式进入碱基对时, 常产生 DNA 双链的扭结, 导致溶液黏度下降; 而当化合物分子以沟面或静电方式与 DNA 作用时, 则 DNA 溶液黏度变化不大, 据此可区分不同的键合模式。图 10 是 DNA 在不同浓度的 **C1**、**C2** 溶液存在下黏度的变化趋势, 从图中可以看出, 加入配合物后, DNA 的相对黏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 **C1** 强于 **C2**, 说明配合物以嵌入的方式与 DNA 结合。

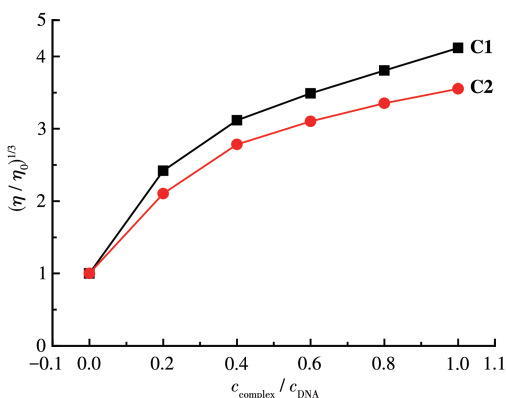


图 10 不同浓度的配合物 **C1**、**C2** 对 ct-DNA 黏度的影响

Fig.10 Effect of increasing concentrations of complexes **C1** and **C2** on the relative viscosity of ct-DNA

3 结论

以二(2,4-二氯苄基)二氯化锡分别与对甲基苯甲酰肼缩丙酮酸及对叔丁基苯甲酰肼缩丙酮酸反应, 合成了 2 个 2,4-二氯苄基配合物(**C1**、**C2**)。结构分析表明, **C1**、**C2** 均为双锡核分子, 2 个中心锡原子均形成七配位畸变五角双锥构型。热分析结果进一步证明 2 个配合物中均含有配位的溶剂分子; 在空气中 120 °C 以下, 配合物 **C1**、**C2** 的骨架结构可稳定存在。抗癌活性结果表明配合物 **C1** 对 HepG2 和 MCF7 两种癌细胞的抑制效果优于顺铂。利用 UV-Vis 光谱、荧光猝灭光谱以及黏度法研究了配合物 **C1**、**C2** 与 ct-DNA 之间的相互作用, 结果表明配合物 **C1**、**C2** 均以嵌入模式与 DNA 结合, 且配合物 **C1** 的作用力更强。

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

参考文献:

- [1] Zhou S Y, Zou H Y, Chen G Y, Huang G L. Synthesis and Biological Activities of Chemical Drugs for the Treatment of Rheumatoid Arthritis. *Top. Curr. Chem.*, **2019**, *377*(5):28
- [2] Kazakov A S, Lepakhin V K, Bukatina T M, Snegireva I I, Zatulochina K É. Efficacies and Chemical Structures of Modern Drugs for Hepatitis C Virus Treatment. *Pharm. Chem. J.*, **2018**, *52*(6):497-500
- [3] Zhang M, Saint-Germain C, He G, Sun R W Y. Drug Delivery Systems for Anti-cancer Active Complexes of Some Coinage Metals. *Curr. Med. Chem.*, **2018**, *25*(4):493-505
- [4] Damia G, Brogini M. Platinum Resistance in Ovarian Cancer: Role of DNA Repair. *Cancers*, **2019**, *11*(1):119
- [5] Pages B J, Garbutcheon-Singh K B, Aldrich-Wright J R. Platinum Intercalators of DNA as Anticancer Agents. *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2017**, *2017*(12):1613-1624
- [6] Brabec V, Hrabina O, Kasparkova J. Cytotoxic Platinum Coordination Compounds. DNA Binding Agents. *Coord. Chem. Rev.*, **2017**, *351*:2-31
- [7] Tüzün B. Investigation of Pyrazoly Derivatives Schiff Base Ligands and Their Metal Complexes Used as Anti-cancer Drug. *Spectrochim. Acta A*, **2020**, *227*:117663
- [8] Ott I, Gust R. Non Platinum Metal Complexes as Anti-cancer Drugs. *Arch. Pharm.*, **2007**, *340*(3):117-126
- [9] Annur S N S, Kamaludin N F, Awang N, Chan K M. Cellular Basis of Organotin (IV) Derivatives as Anticancer Metallo drugs: A Review. *Front. Chem.*, **2021**, *9*(522):657599
- [10] Shah S A S, Ashfaq M, Waseem A, Ahmed M M, Najam T, Shaheen S, Rivera G. Synthesis and Biological Activities of Organotin (IV) Complexes as Antitumoral and Antimicrobial Agents. A Review. *Mini-Rev. Med. Chem.*, **2015**, *15*(5):406-426

- [11] Snoeijs N J, Penninks A H, Seinen W. Biological Activity of Organotin Compounds—An Overview. *Environ. Res.*, **1987**, **44**(2):335-353
- [12] Jiang W J, Fan S J, Zhou Q, Zhang F X, Kuang D Z, Tan Y X. Diversity of Complexes Based on *p*-Nitrobenzoylhydrazide, Benzoylformic Acid and Diorganotin Halides or Oxides Self-Assemble: Cytotoxicity, the Induction of Apoptosis in Cancer Cells and DNA-Binding Properties. *Bioorg. Chem.*, **2020**, **94**:103402
- [13] Devi J, Pachwania S. Recent Advancements in DNA Interaction Studies of Organotin(IV) Complexes. *Inorg. Chem. Commun.*, **2018**, **91**:44-62
- [14] Piro V, Di Simone F, Madonia G, Silvestri A, Giuliani A M, Ruisi G, Barbieri R. The Interaction of Organotins with Native DNA. *Appl. Organomet. Chem.*, **1992**, **6**(6):537-542
- [15] Poletto J, da Silva M J V, Jacomini A P, Bidóia D L, Volpato H, Nakamura C V, Rosa F A. Antiparasitic Activities of Novel Pyrimidine *N*-Acylhydrazone Hybrids. *Drug Dev. Res.*, **2021**, **82**(2):230-240
- [16] Zhao Z X, Cheng L P, Li M, Pang W, Wu F H. Discovery of Novel Acylhydrazone Neuraminidase Inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.*, **2019**, **173**:305-313
- [17] Chen L W, Xie J L, Song H J, Liu Y X, Gu Y C, Wang L Z, Wang Q M. Design, Synthesis, and Biological Activities of Spirooxindoles Containing Acylhydrazone Fragment Derivatives Based on the Biosynthesis of Alkaloids Derived from Tryptophan. *J. Agric. Food. Chem.*, **2016**, **64**(34):6508-6516
- [18] Sisido K, Takeda Y, Kinugawa Z. Direct Synthesis of Organotin Compounds. I. Di- and Tribenzyltin Chlorides. *J. Am. Chem. Soc.*, **1961**, **83**(3):538-541
- [19] Tan C P, Liu J, Chen L M, Shi S, Ji L N. Synthesis, Structural Characteristics, DNA Binding Properties and Cytotoxicity Studies of a Series of Ru(III) Complexes. *J. Inorg. Biochem.*, **2008**, **102**(8):1644-1653
- [20] 黄妙龄, 骆耿耿, 林金清. 吡啶-2-甲醛酰胺锡配合物的合成、晶体结构与荧光性质. *无机化学学报*, **2021**, **37**(2):251-258
HUANG M L, LUO G G, LIN J Q. Synthesis, Crystal Structure and Fluorescence Properties of Cadmium Complexes of Pyridine-2-formaldehyde Hydrazone. *Chinese J. Inorg. Chem.*, **2021**, **37**(2):251-258
- [21] 樊善继, 徐家墀, 胡泽成, 崔莺, 谭宇星, 蒋伍玖. 对氯苄基锡酰胺配合物的合成、抗肿瘤活性及其与DNA相互作用. *无机化学学报*, **2021**, **37**(4):684-692
FAN S J, XU J X, HU Z C, CUI Y, TAN Y X, JIANG W J. Syntheses, Antitumor Activity and DNA Interaction of *p*-Chlorine-Benzyltin Complexes Based on Acylhydrazone Ligand. *Chinese J. Inorg. Chem.*, **2021**, **37**(4):684-692
- [22] El-bendary M M, Etais S E H. Structure and Applications of Organotin Complex Based on Trimethyltin Cation and Quinaldic Acid. *Appl. Organomet. Chem.*, **2018**, **32**(3):e4152
- [23] Tan Y X, Zhang Z J, Liu Y, Yu J X, Zhu X M, Kuang D Z, Jiang W J. Synthesis, Crystal Structure and Biological Activity of the Schiff Base Organotin(IV) Complexes Based on Salicylaldehyde-*o*-aminophenol. *J. Mol. Struct.*, **2017**, **1149**:874-881
- [24] Tan Y X, Zhang Z J, Feng Y L, Yu J X, Zhu X M, Zhang F X, Kuang D Z, Jiang W J. Syntheses, Crystal Structures and Biological Activity of the 1D Chain Benzyltin Complexes Based on 2-Oxo-propionic Acid Benzoyl Hydrazone. *J. Inorg. Organomet. Polym. Mater.*, **2017**, **27**(1):342-352
- [25] Wang M, Yu F, Jiang W J, Tan Y X, Zhang F X, Kuang D Z. Syntheses, Crystal Structures and Biological Activity of the Diorganotin 2-(2-(4-Methoxybenzoyl)hydrazono)-3-phenylpropanoic Carboxylate Complexes. *Chin. J. Struct. Chem.*, **2020**, **39**(11):56-63
- [26] Li Y X, Yu H T, Zeng H T, Liu M Q, Kuang D Z, Tan Y X, Jiang W J. Syntheses, Crystal Structures and Biological Activities of the 2-Oxo-3-phenylpropionic Acid Arylformylhydrazone Dibenzyltin Complexes. *Chin. J. Struct. Chem.*, **2019**, **38**(11):124-132
- [27] Nath M, Mridula, Kumari R. Microwave-Assisted Synthesis of Mixed Ligands Organotin(IV) Complexes of 1, 10-Phenanthroline and L-Proline: Physicochemical Characterization, DFT Calculations, Chemotherapeutic Potential Validation by *In Vitro* DNA Binding and Nuclease Activity. *J. Photochem. Photobiol. B*, **2017**, **174**:182-194
- [28] Arjmand F, Yousuf I. Synthesis, Characterization and *In Vitro* DNA Binding of Chromone Schiff Base Organotin(IV) Complexes. *J. Organomet. Chem.*, **2013**, **743**:55-62
- [29] Noureen S, Sirajuddin M, Ali S, Shaheen F, Tahir M N. Synthesis, Structural Elucidation and DNA Binding Study of Fluorine Substituted Organotin(IV) Dithiocarbamates. *Polyhedron*, **2015**, **102**:750-758
- [30] Tariq M, Ali S, Shah N A, Muhammad N, Tahir M N, Khalid N. Catalytic, Biological and DNA Interaction Studies of 3-(4-Cyanophenyl)-2-methylacrylate Organotin(IV) Carboxylates Derivatives: Synthesis, Spectroscopic Characterization and X-ray Structures. *Inorg. Chim. Acta*, **2013**, **405**:444-454
- [31] Alsaedi S, Babgi B A, Abdellattif M H, Arshad M N, Emwas A H M, Jaremko M, Humphrey M G, Asiri A M, Hussien M A. DNA-Binding and Cytotoxicity of Copper(I) Complexes Containing Functionalized Dipyriddyphenazine Ligands. *Pharmaceutics*, **2021**, **13**(5):764