

基于席夫碱配体的锰羰基配合物可见光诱导释放一氧化碳性能

王雪梅 张俊蝶 金晶 李卓芹 马明慧 汪慧云 姜秀娟* 刘小明*

(嘉兴学院生物与化学工程学院, 嘉兴 314001)

摘要: 利用五羰基溴化锰和2-吡啶甲醛以及卤代苯胺通过一步法合成得到了3个含席夫碱配体的锰羰基配合物 $[\text{Mn}(\text{CO})_3(\text{py}(\text{CH}=\text{N})\text{ph-X})\text{Br}]$, 其中 $\text{X}=\text{Cl}$ (**1**)、 Br (**2**)、 I (**3**), 并采用核磁、X射线单晶衍射、红外光谱、紫外可见光谱和荧光光谱对其进行了表征。这类配合物在非光照下稳定, 在可见光(LED蓝光、绿光和红光)作用下分解释放CO, 可以作为光诱导的一氧化碳释放剂(photoCORMs)。研究表明蓝光是促进配合物分解释放CO的最有效光源。此外, CO释放动力学分析显示配合物分解释放CO过程符合一级动力学模型。配合物**3**的释放研究表明脱氧肌红蛋白能够捕捉所释放的CO。尽管这些配合物本身的细胞毒性(IC_{50})达到微摩尔级, 但光照下的细胞兼容性有显著改善, 上升为接近100微摩尔级。这些配合物具有荧光性质, 在450 nm激发波长下在500~700 nm范围内发射一定强度的荧光, 可以作为荧光标记物用以监测细胞或生物体内释放剂分布及CO释放情况。

关键词: 一氧化碳释放剂; 锰羰基配合物; 光诱导; 席夫碱配体; 生物兼容性

中图分类号: O614.71⁺¹

文献标识码: A

文章编号: 1001-4861(2023)04-0680-09

DOI: 10.11862/CJIC.2023.033

Visible light-induced CO-release from manganese carbonyl complexes based on Schiff base ligand

WANG Xue-Mei ZHANG Jun-Die JIN Jing LI Zhuo-Qin

MA Ming-Hui WANG Hui-Yun JIANG Xiu-Juan* LIU Xiao-Ming*

(College of Biological, Chemical Sciences and Engineering, Jiaxing University, Jiaxing, Zhejiang 314001, China)

Abstract: Three manganese carbonyl complexes $[\text{Mn}(\text{CO})_3(\text{py}(\text{CH}=\text{N})\text{ph-X})\text{Br}]$, where $\text{X}=\text{Cl}$ (**1**), Br (**2**), I (**3**), containing Schiff base ligands were synthesized by a one-step method using manganese pentacarbonyl bromide, 2-pyridine formaldehyde, and halogenated aniline. They were characterized by NMR, X-ray single crystal diffraction, IR spectrum, UV-Vis spectrum, and fluorescence spectrum. These complexes were stable under non-illumination, but they could decompose to release CO under visible light (LED blue, green, and red light), which can be used as photo-induced carbon monoxide release molecules (photoCORMs). The CO release rate could be conveniently controlled by selecting different lights. It has been shown that blue light was the most effective light source to promote the decomposition of these complexes to release CO. The differences in the electronic effects of the halogenated ligands in these complexes also contribute to the differences in their reaction rates. In addition, the kinetic analysis of CO release shows that the process conforms to the first-order kinetic model. The carbon monoxide release of complex **3** was also studied by standard myoglobin assay, showing that deoxymyoglobin was able to capture the released CO. Although the cytotoxicity of these complexes itself reached the micromolar level, the cell compatibility under light was significantly improved, rising to nearly 100 micromolar levels. These complexes had fluorescent properties, emitting a certain intensity of fluorescence in a range of 500-700 nm at the excitation wavelength of 450 nm, which can be used as fluorescent markers to monitor the distribution of release agents and CO release in cells or organisms. CCDC: 2216419, **1**; 2216420, **2**.

Keywords: CO-releasing molecules; manganese carbonyl complex; photo-induced; Schiff base ligand; biocompatibility

收稿日期: 2022-11-16. 收修改稿日期: 2023-02-27.

国家自然科学基金(No.82104197)和浙江省自然科学基金(No.LY18H300006)资助。

*通信联系人。E-mail: jiangxj@mail.zjxu.edu.cn, xiaoming.liu@mail.zjxu.edu.cn; Tel/Fax: 0573-83640303

0 引言

一氧化碳(CO)是一种无色无味、不易被察觉的气体,曾一度被认为是人类的“敌人”,被称为“沉默杀手”。但研究人员发现人体内每天都会产生少量的CO(大约 $10 \text{ mL} \cdot \text{d}^{-1}$)^[1],这种内源性CO主要来源于血红素的分解(约85%)。而且它与一氧化氮(NO)类似,是机体内一种重要的信使分子,参与调节体内许多生理和病理过程^[2-3],如抗炎、抗凋亡、降压、扩血管、抑制器官移植排斥反应、保护组织以及抗动脉硬化和细胞凋亡等。作为最简单、直接、易得的外源性CO治疗分子,CO气体在早期的研究中被广泛应用。但由于其给药途径、自身毒性以及在给药过程中无法控制给药剂量等问题,使得CO气体难以作为一种药物得到广泛的临床应用。为了更安全可控使用CO气体分子用于药物治疗,科学家们提出了一氧化碳释放剂(CORMs)的概念,它是指在一定的条件下利用CO载体来实现CO的可控释放^[2,4-5]。近10年来,CORMs已成为一个重要的研究领域^[4,6-8]。目前,研究报道的CORMs主要有不含金属的有机及无机化合物和过渡金属羰基类配合物^[6,9]。由于可调控的金属中心以及每个金属中心可以负载多个羰基的特点,金属羰基配合物CO释放剂成为这一领域的研究热点^[4,6,10]。

CORMs作为CO载体需要在一定刺激下释放CO,如配体取代、酶触发、光诱导和电磁加热等^[11-15]。与其他诱导方式相比,光触发CO释放,即光诱导一氧化碳释放具有独特优势,因为它更具可控性,且不会引入额外的物质^[9-10,16]。在过去的十几年中,基于光诱导一氧化碳释放剂(photoCORMs)的研究发展迅速。但目前该领域报道较多的是基于短波长紫外光的CORMs^[10,17-19],这种短波长的光对皮肤的穿透力非常有限,而且对身体有害,导致在实际应用方面存在很大困难。因此,需要开发长波长的可见光甚至近红外光诱导的CORMs。

席夫碱类化合物具有一定的药理学和生理学活性,一直是引人注目的研究对象。基于席夫碱的配合物表现出更强的生物活性,如具有抑菌、抗肿瘤、抗病毒等作用^[20-21]。锰是人体所必需的一种微量元素,对于维持人体健康有着重要的作用^[22],因此基于锰的CORMs可能会有较好的生物兼容性。文献报道的低价锰羰基配合物具有很好的光敏性,可以作为photoCORMs。但有关锰羰基配合物

photoCORMs的研究大部分采用的还是波长较短的紫外光作为光源^[17,23-24]。我们采用含芳香基团的席夫碱配体来提高锰羰基配合物的光化学性能。研究表明,通过一步法可以高效地合成基于芳香席夫碱配体的锰羰基配合物 $[\text{Mn}(\text{CO})_5(\text{py}(\text{CH}=\text{N})\text{ph-X})\text{Br}]$,其中X=Cl (**1**)、Br (**2**)、I (**3**)。该类配合物在可见光作用下能够分解释放CO,可以作为photoCORMs。此外,该类配合物释放CO的过程符合一级反应动力学模型,而且可以方便地通过选择不同可见光源和配合物来调控其释放CO速率,具有很好的可控性。肌红蛋白实验显示配合物**3**在蓝光和绿光作用下分解释放的CO可以被脱氧肌红蛋白有效捕捉,生成相应的碳氧肌红蛋白。细胞毒性实验表明这些配合物具有很强的毒性,但是光照后其分解产物毒性较小,具有很好的生物兼容性。此外,这些配合物在500~700 nm范围能发射一定强度荧光,可以作为荧光标记物监测CO在体内的释放及分布情况。

1 实验部分

1.1 试剂和仪器

吡啶-2-甲醛、对氯苯胺、对溴苯胺和对碘苯胺均购买于上海阿拉丁生化科技股份有限公司, $[\text{Mn}(\text{CO})_5\text{Br}]$ 购买于凯为化学科技试剂公司,肌红蛋白购买于上海弘顺生物科技有限公司。所有药品和试剂不经任何处理直接使用。

实验中使用的仪器型号如下:核磁共振仪400 MR(美国安捷伦公司)、红外光谱仪Cary 640(美国安捷伦公司)、紫外可见光谱仪Thermo EV201(赛默飞世尔科技公司)、荧光分光光度计Cary Eclipse(美国安捷伦公司)。

1.2 配合物1~3的合成

将吡啶-2-甲醛($28 \mu\text{L}$, 0.3 mmol)逐滴加入对氯苯胺(38 mg , 0.3 mmol)的5 mL甲醇溶液中,然后再加入 $[\text{MnBr}(\text{CO})_5]$ (82 mg , 0.3 mmol),该混合溶液避光回流5 h得到大量红色沉淀,待其冷却后抽滤得到配合物**1**(产率76%)。取适量固体产物用二氯甲烷和正己烷重结晶得到红色晶体。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 9.20(d, $J=4.8 \text{ Hz}$, 1H), 8.89(d, $J=6.7 \text{ Hz}$, 1H), 8.24(d, $J=4.4 \text{ Hz}$, 2H), 7.78(s, 1H), 7.64(d, $J=8.6 \text{ Hz}$, 2H), 7.58(t, $J=7.3 \text{ Hz}$, 2H)。元素分析按 $\text{C}_{15}\text{H}_9\text{BrClMnN}_2\text{O}_3$ 的计算值(%): C, 41.37; H, 2.08; N, 6.43。实验值(%): C, 41.25; H, 2.25; N, 6.50。FT-IR

(DMSO, cm^{-1}): 2 025, 1 936, 1 919。UV-Vis(DMSO, nm): 300, 450。

配合物 **2** 和 **3** 的合成与 **1** 类似, 只是用对溴苯胺和对碘苯胺分别代替对氯苯胺。产率分别为 75% 和 80%, 分别用二氯甲烷和正己烷重结晶得到红色晶体。配合物 **2** 的表征结果: ^1H NMR(400 MHz, DMSO- d_6): δ 9.21(s, 1H), 8.89(s, 1H), 8.25(s, 2H), 7.78(d, $J=6.3$ Hz, 3H), 7.51(d, $J=6.6$ Hz, 2H)。元素分析按 $\text{C}_{15}\text{H}_9\text{Br}_2\text{MnN}_2\text{O}_3$ 的计算值(%): C, 37.53; H, 1.89; N, 5.84。实验值(%): C, 37.42; H, 1.93; N, 5.91。FT-IR(DMSO, cm^{-1}): 2 025, 1 936, 1 919。UV-Vis(DMSO, nm): 305, 450。配合物 **3** 的表征结果: ^1H NMR(400 MHz, DMSO- d_6): δ 9.20(s, 1H), 8.87(s, 1H), 8.24(s, 2H), 7.93(d, $J=5.9$ Hz, 2H), 7.78(s, 1H), 7.35(d, $J=5.4$ Hz, 2H)。元素分析按 $\text{C}_{15}\text{H}_9\text{BrIMnN}_2\text{O}_3$ 的计算值(%): C, 34.19; H, 1.75; N, 5.30。实验值(%): C, 34.08; H, 1.93; N, 5.45。FT-IR(DMSO, cm^{-1}): 2 025, 1 936, 1 919。UV-Vis(DMSO, nm): 316, 450。

1.3 配合物 **1** 和 **2** 单晶衍射分析

挑选大小合适的单晶样品 **1** 和 **2** 在 Gemini X 单晶衍射仪(Xcalibur, Eos, $\lambda=0.071\ 073$ nm)上采集晶体数据。在 Olex 2 软件中, 通过 ShelXT 程序和 SHELXL 程序解析和精修结构, 通过理论加氢方法获得配合物的氢原子。

CCDC: 2216419, **1**; 2216420, **2**。

1.4 红外光谱法监测配合物 **1~3** 的 CO 释放

将配合物 **1** (4.4 mg, 0.01 mmol) 溶于 3.0 mL DMSO 溶液中, 该溶液置于不同 LED 光源下进行光照(光源与溶液间距离保持在 13 cm)。不同 LED 光源波长范围分别为蓝光: 470~475 nm; 绿光: 492~577 nm; 红光: 622~770 nm。LED 光源功率为 3 W, 电压为 220 V。整个反应装置需避光以排除其他杂光干扰。光照后间隔不同时间从溶液中取样并通过液体红外光谱监测反应。配合物 **2** 和 **3** 的 CO 释放监测方法和配合物 **1** 类似。

1.5 肌红蛋白法监测配合物 **3** 的 CO 释放

将浓度为 $60\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的马骨骼肌肌红蛋白的

磷酸缓冲盐溶液(PBS, $0.1\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, pH=7.4)加入 1 mL 石英比色皿中, 再加入过量连二亚硫酸钠(0.1%)使其还原为脱氧肌红蛋白, 然后加入适量配合物 **3** 的 DMSO 溶液(配合物 **3** 最终浓度为 $20\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。溶液最上面覆盖一层液体石蜡(0.05 mL)以防止 CO 逸出以及脱氧肌红蛋白氧化。将比色皿置于不同 LED 光源下进行光照(光源与溶液间距离保持在 13 cm), 并间隔不同时间通过紫外可见光谱监测脱氧肌红蛋白到碳氧肌红蛋白的转变。

1.6 配合物 **1~3** 的生物兼容性

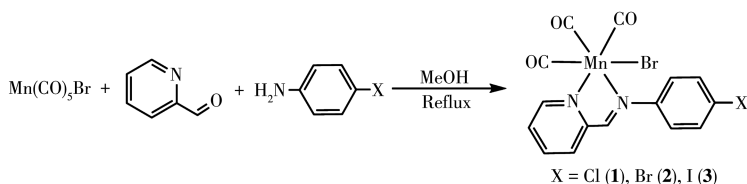
通过 MTT 法研究配合物 **1~3** 在避光以及蓝光光照后的细胞毒性。具体步骤如下: 将人膀胱癌细胞(RT112)接种到 96 孔板中, 每孔 5 000 个细胞, 待细胞贴壁生长 24 h。随后, 移去培养基, 在每孔中加入 $200\ \mu\text{L}$ 含不同浓度锰羰基配合物的新鲜培养基。未加配合物但有安全浓度 DMSO(0.1%)的孔作为对照。待细胞连续孵育 24 h 后, 去除培养基, 每孔加入 RPMI-1640 培养液($40\ \mu\text{L}$, $5\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)。细胞进一步培养 4 h, 然后用 DMSO(每孔 $150\ \mu\text{L}$)溶解。用酶标仪在 570 nm 处记录各孔的吸光度。细胞活性根据每个浓度的样品发色团吸光度计算。每种浓度在同一块板上平行重复 6 次。配合物的 IC_{50} 值用 GraphPad Prism 5 软件进行分析。配合物 **1~3** 的光分解产物毒性测定, 除 96 孔板在加入配合物后用蓝色 LED 灯照射 15 min 外, 其他步骤与上述过程相同。

2 结果与讨论

2.1 配合物 **1~3** 的合成及表征

配合物 **1~3** 由卤代苯胺、2-吡啶甲醛和五羰基溴化锰在甲醇溶液中回流一步合成(Scheme 1)。该方法无须单独合成席夫碱配体, 反应步骤简单、产率较高。配合物 **1~3** 易溶于常见的有机溶剂, 如二氯甲烷和二甲亚砜。此外, 这些配合物在黑暗中具有很好的稳定性, 但是对光敏感。

图 1 为配合物 **1~3** 在 DMSO 中的红外光谱图。从图中可以看出这些配合物都具有典型的羰基特



Scheme 1 Synthetic route of complexes **1~3**

征峰,即在 2 025、1 936、1 919 cm^{-1} 处呈现出 3 个强的特征红外吸收。图 2 为配合物 **1~3** 在 DMSO 中的紫外可见光谱图,这些配合物在 300~600 nm 范围内表现出较强紫外可见吸收。配合物 **1~3** 在 300~400 nm 的最大紫外吸收分别位于 300、305 和 316 nm,在 400~600 nm 处的最大可见吸收均位于 450 nm。这些配合物在 300 nm 左右的紫外吸收归因于席夫碱配体间的电荷跃迁(LLCT),而在 450 nm 处的可见吸收则归结为金属和席夫碱配体间的电荷跃迁(MLCT)。配合物 **1~3** 中席夫碱配体上卤素的差异对其在 300 nm 处紫外吸收有一定影响,从 Cl(**1**)到 I(**3**),紫外吸收均发生了一定程度红移,配合物 **3** 较配合物 **1** 和 **2** 红移了 10 nm 左右。但是卤素基团的差异对配合物 **1~3** 在 450 nm 处可见吸收基本没有影响。可能是席夫碱配体中卤素基团与锰离子距离较远,导致金属与配体间的电荷跃迁影响较小。这些配

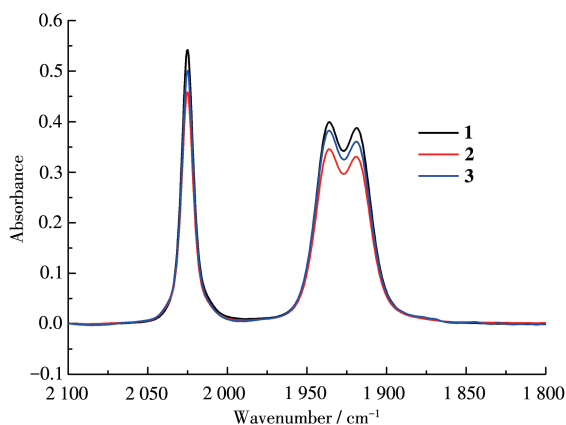
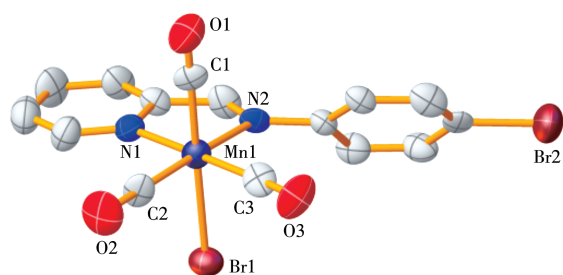
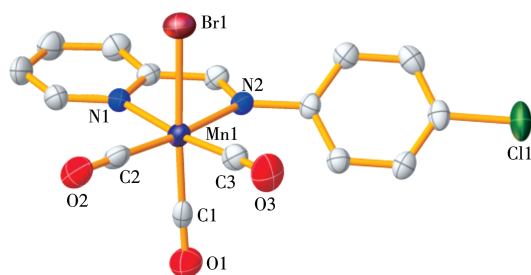


图 1 配合物 **1~3** 在 DMSO 中的红外光谱图

Fig.1 IR spectra of complexes **1~3** in DMSO



H-atoms are omitted for clarity

图 3 配合物 **1** (左)和 **2** (右)的热椭球率 50% 的 ORTEP 图

Fig.3 ORTEP diagram of complexes **1** (left) and **2** (right) shown with thermal ellipsoids at 50%

2.3 红外光谱法监测配合物 **1~3** 光诱导释放 CO

配合物 **1~3** 具有很好的光敏性,预期可以作为潜在的 photoCORMs。因此我们利用红外光谱研究

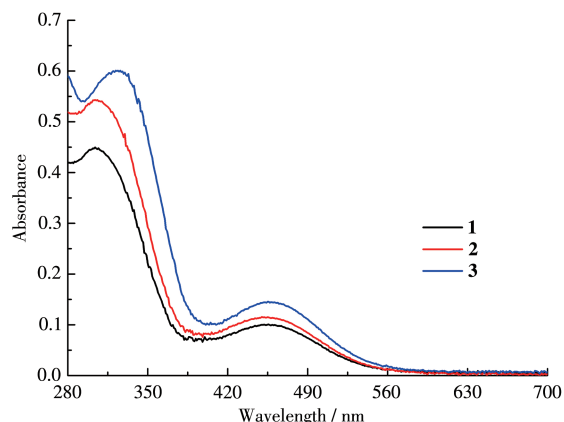


图 2 配合物 **1~3** 在 DMSO 中的紫外可见光谱图

Fig.2 UV-Vis spectra of complexes **1~3** in DMSO

合物在可见光区有一定强度吸收,预期可以作为可见光诱导的 CORMs。

2.2 配合物 **1** 和 **2** 的晶体结构分析

通过 X 射线单晶衍射法测定了配合物 **1** 和 **2** 的结构。配合物 **1** 和 **2** 的晶体学数据和结构精修参数见表 S1(Supporting information), 部分键长和键角见表 S2。如图 3 所示,每个 Mn(I) 中心呈现六配位的扭曲八面体几何构型,包括 3 个 CO 配体、2 个分别来自配体亚胺和吡啶的氮原子和 1 个溴原子。2 个氮原子和 2 个羰基处于八面体赤道平面,溴原子和另一羰基占据八面体的轴向位置。配合物 **1** 中 Mn—C 键平均键长为 0.181 2 nm,明显比配合物 **2** 中相应的 Mn—C 键平均键长(0.180 4 nm)长,这可能导致其 Mn—C 键在相同条件下更容易断裂,进而 CO 释放较快,后面的红外光谱和肌红蛋白实验结果也证实了这一点。

了配合物 **1~3** 在 DMSO 中不同可见光(LED 蓝光、绿光和红光)作用下的分解情况。如图 4 所示,在不同可见光照射下配合物 **1** 在 2 025、1 936、1 919 cm^{-1} 处

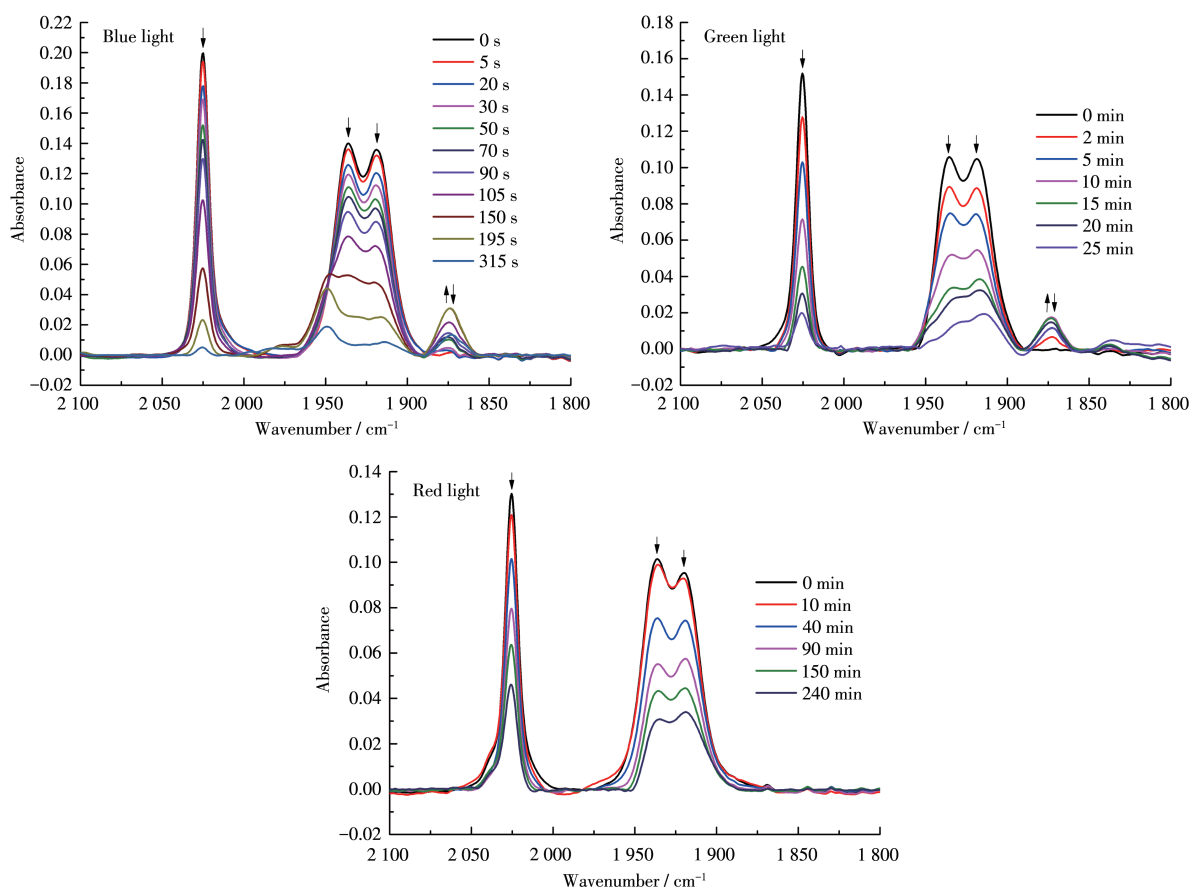


图4 在DMSO中配合物1在LED蓝、绿和红光作用下分解的红外光谱变化

Fig.4 Spectral variation of complex **1** ($0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) upon LED blue, green, and red light irradiation in DMSO

的羰基特征峰均逐渐减弱。只是在蓝光和绿光作用下,随着羰基峰的减弱在 1874 cm^{-1} 处又出现一个新的较弱的特征峰,该峰呈现先上升后下降的趋势,而红光下则没有新峰出现。此外,在光照同时还可以看到溶液中有气泡生成,蓝光下能快速产生大量气泡,绿光下生成气泡速度减慢,红光下则更慢,推测这些气泡即为配合物分解释放出的CO。配合物**2**和**3**在不同LED光作用下的红外光谱变化情况与配合物**1**类似(图S1~S6)。从这些配合物红外特征峰在光照下随时间变化情况可以看出,LED蓝光、绿光和红光均能使这些配合物分解释放CO,而且蓝光作用下分解最快,绿光次之,而红光下分解最慢。此外,蓝光和绿光下配合物分解产生新的红外吸收峰,表明该过程有中间体产生。而红光下仅表现为配合物羰基特征峰的逐渐减弱,没有新峰出现,说明该过程仅是配合物的缓慢分解,并没有产生中间体。

为了研究光诱导对这些配合物分解产生CO的影响,我们进一步分析了其反应动力学。配合物的

吸光度取自然对数后对时间作图呈现典型的线性关系,表明该反应符合准一级动力学过程(图5、S7~S8)。表1为配合物**1**~**3**在不同光作用下分解的

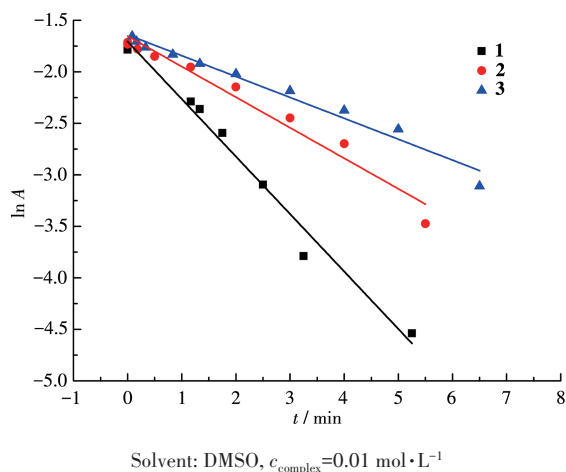


图5 配合物**1**~**3**在LED蓝光照下吸光度(2025 cm^{-1} 处)自然对数和时间的关系图

Fig.5 Plots of the natural logarithm of the absorbance at 2025 cm^{-1} of complexes **1**~**3** against reaction time upon LED blue light irradiation

表1 不同光源下配合物1~3在DMSO中分解的动力学数据

Table 1 Kinetic data of decomposing of complexes 1-3 in DMSO under different light sources

Complex	Blue light		Green light		Red light	
	k / min^{-1}	$t_{1/2} / \text{min}$	k / min^{-1}	$t_{1/2} / \text{min}$	k / min^{-1}	$t_{1/2} / \text{min}$
1	7.2×10^{-1}	1.0	7.9×10^{-2}	8.7	4.7×10^{-3}	147.4
2	2.9×10^{-1}	2.0	6.8×10^{-2}	10.2	4.5×10^{-3}	154.0
3	2.0×10^{-1}	3.5	3.7×10^{-2}	19.0	2.5×10^{-3}	277.2

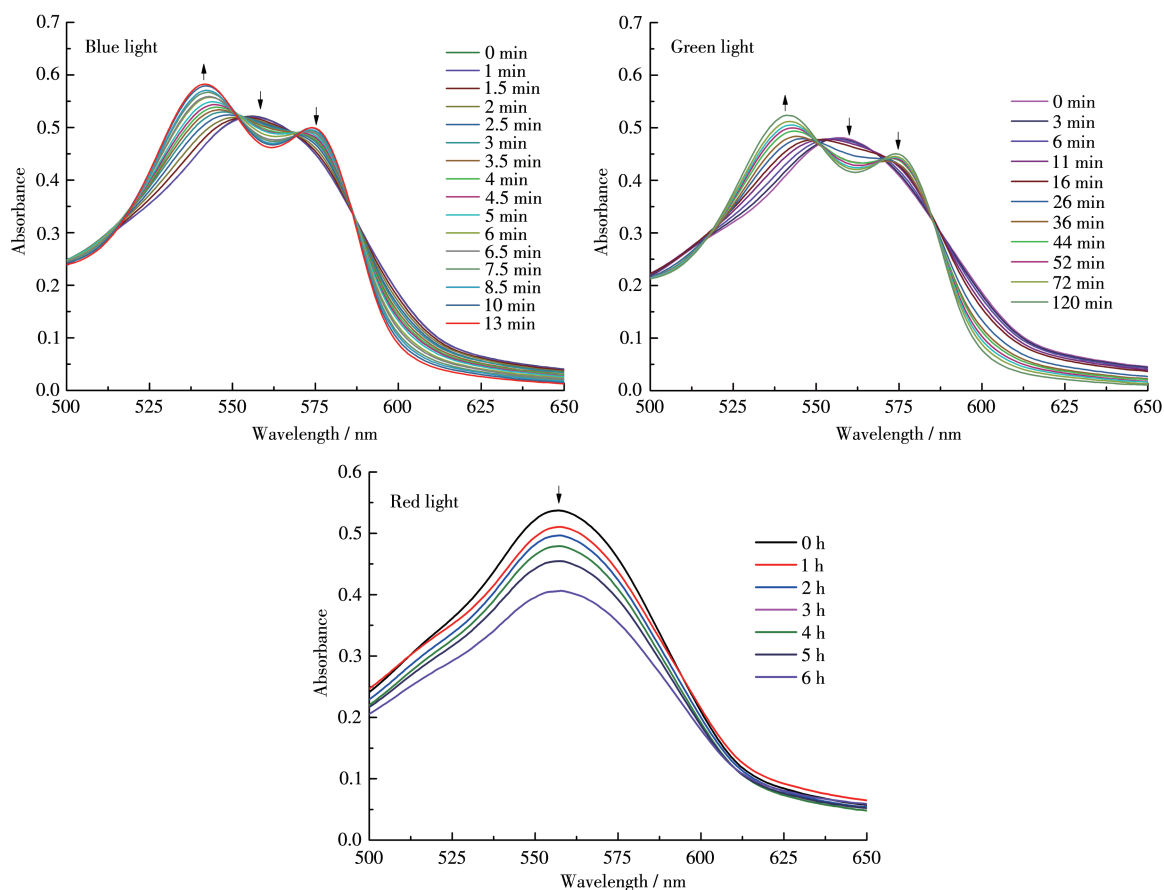
动力学数据。从表中可以看出,在蓝光下配合物1~3分解最快,反应半衰期最短;绿光下则分解速度减慢,反应半衰期也相应的变长;而红光下反应最慢,半衰期也最长。从数据可以看出,这些配合物在蓝光下分解的速率常数约为绿光下的5~9倍,为红光下的80~150倍。而对于同一光源,配合物1的分解速率约为配合物2的2倍,为配合物3的2~4倍。因此对于同一配合物,蓝光是最有效的促进其分解释放CO的光源。而对于同一光源,配合物1的分解速率最快,2分解较慢,3分解最慢。进一步分析发现不同光源下配合物分解释放CO的速率与其在可见光区的吸收强度有关。这些配合物在蓝光区吸收较强($\lambda_{\text{max}}=450 \text{ nm}$),因此蓝光对其分解促进作用最强。配合物在绿光区也有一定吸收(490~550 nm),因此分解也较快。配合物在红光区基本没有吸收峰,然而红光作用下这些配合物仍然能缓慢分解释放CO。这说明该反应不是单纯的光化学过程,可能是溶剂参与下的光诱导和取代诱导共同协同作用的结果。另外,配合物光致分解释放CO的过程符合一级动力学模型而不是单纯光化学的零级反应也能说明这一点。我们以前报道的铁配合物 $[\text{Fe}(\eta^5\text{-Cp})(\text{cis-CO})\text{X}](\text{X}=\text{Cl}, \text{Br}, \text{I})$ 在光诱导作用下释放CO也有类似现象^[15],并通过实验证实了具有配位作用的试剂能够在光照下促进配合物分解,说明该反应是光诱导和取代诱导共同作用的结果。

此外,席夫碱配体中卤素基团的差异对配合物分解速率也有一定影响。具体表现为在相同光源条件下,氯代席夫碱的锰配合物1更容易分解,溴代席夫碱的配合物2分解较慢,而碘代席夫碱的配合物3则分解最慢。这些反应速率的差异可以归因于配体上卤素的电子效应。在这些配合物中,取代基从氯到碘,其吸电子诱导效应逐渐减弱,而给电子共轭效应作用正好相反,逐渐增强。对于卤素来说通常是诱导效应大于共轭效应。因此,从氯代到碘代席夫碱配体,苯环上电子云密度减弱程度逐渐降低。而电子效应的总结果是席夫

碱配体C=N双键氮上电子向苯环方向转移,进而使锰与席夫碱配体的配位作用减弱,最终导致锰配合物的光化学稳定性不同,即从氯代到碘代配合物光化学稳定性逐渐增强。因此,这些卤代席夫碱配体的锰配合物随取代基从氯到碘,光化学反应活性逐渐降低。

2.4 肌红蛋白法监测配合物3光诱导释放CO

为了进一步定性和定量分析锰羰基配合物的CO释放性能,以配合物3为代表测试了其在不同LED光作用下肌红蛋白随时间变化情况。首先,研究了配合物3在脱氧肌红蛋白溶液中黑暗条件下的稳定性。结果表明,黑暗中脱氧肌红蛋白溶液的Q带基本不发生变化,说明配合物3在黑暗中有很好的稳定性(图S9)。此外,还原剂连二亚硫酸钠对配合物3的稳定性也不会产生影响(图S9)。当该溶液置于LED蓝光下时,脱氧肌红蛋白在560 nm处的吸收峰会快速下降并在540和577 nm处产生2个马鞍形吸收峰,即为碳氧肌红蛋白的特征峰(图6)。上述光谱变化表明在光照作用下,溶液中的脱氧肌红蛋白在锰配合物存在下逐渐转化为碳氧肌红蛋白,说明锰配合物在光照作用下释放出CO,而CO被脱氧肌红蛋白捕捉后转化为碳氧肌红蛋白。配合物3在绿光作用下也能发生类似的光谱变化,只是反应速率较蓝光下有所减慢(图6)。红光下该反应速率更慢,光照6 h仅能观察到脱氧肌红蛋白吸收峰缓慢下降(图6)。这说明绿光和红光作用下配合物也能分解释放CO,只是释放速率差异较大,绿光下较蓝光释放慢,红光下则最慢。图7为蓝光和绿光作用下配合物3的还原肌红蛋白溶液中生成的碳氧肌红蛋白浓度与时间的关系图。根据图7可以计算出每摩尔配合物3在蓝光和绿光照射下可以分别释放2.75和1.73 mol CO,该结果说明蓝光为最有效的促进配合物分解释放CO的光源。不同光源作用下,肌红蛋白可见光谱变化结果与上述红外光谱结果一致,都说明短波长的光更易诱导锰羰基配合物分解释放CO。



Conditions: PBS ($0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH=7.4) with sodium dithionite (0.1%); $c_3=20 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$

图6 不同LED光照下加入配合物3后脱氧肌红蛋白溶液吸光度随时间变化图

Fig.6 Variation of absorbance of deoxymyoglobin solution with time after adding complex **3** under different LED light irradiations

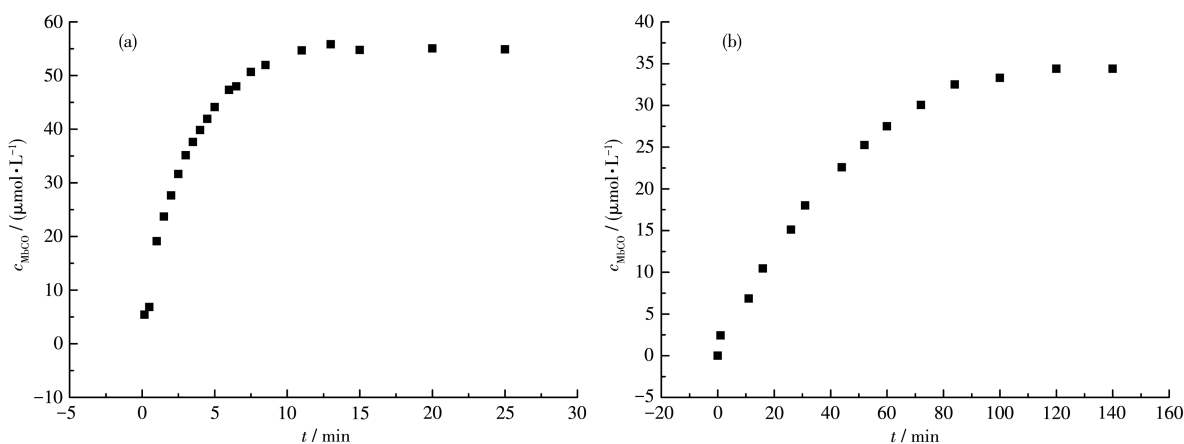


图7 配合物3($20 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)的还原肌红蛋白溶液在蓝光 (a)和绿光 (b)照射下生成的碳氧肌红蛋白(MbCO)浓度随时间变化图

Fig.7 Plots of concentration of carboxy myoglobin (MbCO) with time in reduced myoglobin solution of complex **3** ($20 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) under blue light (a) and green (b) light irradiation

2.5 配合物1~3的生物兼容性

为了研究这些配合物的生物兼容性,我们考察了它们在避光和蓝光照下的细胞毒性。结果表明:在无光照条件下这些配合物表现出显著的细胞

毒性, IC_{50} 值较低,席夫碱配体及其与金属的配位都可能导致配合物具有较大毒性;但是在光照条件下,它们的生物兼容性明显改善, IC_{50} 值增加近30倍(表2)。这种改善可能与配合物在光照条件下迅速

表2 配合物1~3在避光和LED蓝光作用下的细胞毒性
Table 2 Cytotoxicity of complexes 1-3 in the absence and presence of LED blue light

Complex	IC ₅₀ / (μmol·L ⁻¹)	
	Dark	Blue light
1	2.49	74
2	2.45	74
3	2.35	73

分解有关(包括席夫碱配体在光照下与金属的解离以及配体自身的分解),分解产物包括CO是否对降低细胞毒性有进一步的作用还需要进一步研究。

2.6 配合物1~3的荧光性能

作为具有潜在临床应用价值的photoCORMs,能够利用荧光成像技术追踪它们在细胞内以及生物体内的行踪具有重要意义。为此,我们研究了这些配合物的荧光性质,又进一步测试了其荧光发射光谱。图8为配合物1~3在DMSO溶液中的荧光发射光谱。在450 nm波长激发下,这些配合物在500~700 nm范围内能发射较强荧光,其最大发射波长均在515 nm。这是由于配合物1~3结构类似,导致其具有相似的发射光谱,而席夫碱配体上卤素基团的差异对其发射光谱不会产生较大影响。这些锰羰基配合物的荧光性质有可能被用于生物成像,监测它们在细胞内或者活体内的分布以及CO释放情况。

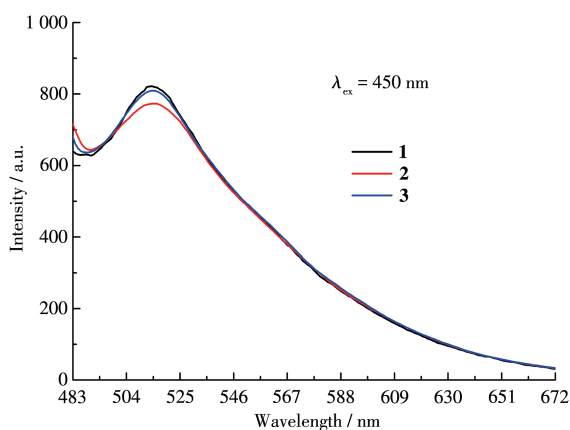


图8 室温下配合物1~3在DMSO中的荧光发射光谱

Fig.8 Luminescence emission spectra of complexes 1-3 in DMSO at room temperature

3 结论

本文报道了用一步法合成的3个含不同卤代席夫碱配体的锰羰基配合物,并研究了其光诱导释放CO的性能和生物兼容性。结果表明这些配合物均

具有很好的光敏性,在可见光作用下(LED蓝光、绿光和红光)能分解释放CO,其中蓝光诱导效率最高,是具有临床应用前景的photoCORMs。动力学分析表明它们的CO释放过程均符合一级动力学模型。配合物分解释放CO的行为与席夫碱配体中卤素基团的差异密切相关。生物兼容性结果显示这些配合物光致分解释放CO过程显示出较小的细胞毒性。此外,这些配合物在500~700 nm还能发射一定强度的荧光,有可能被用于生物成像,从而监测它们在细胞内或者活体内的分布以及CO释放情况。

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

参考文献:

- [1] Marks G S, Brien J F, Nakatsu K, McLaughlin B E. Does carbon monoxide have a physiological function? *Trends Pharmacol. Sci.*, **1991**, *12*: 185-188
- [2] Motterlini R, Clark J E, Foresti R, Sarathchandra P, Mann B E, Green C J. Carbon monoxide - releasing molecules - characterization of biochemical and vascular activities. *Circ. Res.*, **2002**, *90*(2):E17-E24
- [3] Motterlini R, Otterbein L E. The therapeutic potential of carbon monoxide. *Nat. Rev. Drug Discov.*, **2010**, *9*(9):728-743
- [4] Johnson T R, Mann B E, Clark J E, Foresti R, Green C J, Motterlini R. Metal carbonyls: A new class of pharmaceuticals. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2003**, *42*(32):3722-3729
- [5] Mann B E. Carbon monoxide: An essential signaling molecule. *Top. Organomet. Chem.*, **2010**, *32*:247-285
- [6] Romao C C, Blaettler W A, Seixas J D, Bernardes G J L. Developing drug molecules for therapy with carbon monoxide. *Chem. Soc. Rev.*, **2012**, *41*(9):3571-3583
- [7] Adach W, Błaszczak M, Olas B. Carbon monoxide and its donors - chemical and biological properties. *Chem. Biol. Interact.*, **2020**, *318*: 108973
- [8] Jiang X J, Xiao Z Y, Zhong W, Liu X M. Brief survey of diiron and mononuclear iron carbonyl complexes and their potentials as CO-releasing molecules (CORMs). *Coord. Chem. Rev.*, **2021**, *429*:213634
- [9] Lazarus L S, Benninghoff A D, Berreau L M. Development of triggerable, trackable, and targetable carbon monoxide releasing molecules. *Acc. Chem. Res.*, **2020**, *53*(10):2273-2285
- [10] Ford P C. Metal complex strategies for photo-uncaging the small molecule bioregulators nitric oxide and carbon monoxide. *Coord. Chem. Rev.*, **2018**, *376*:548-564
- [11] Wright M A, Wright J A. PhotoCORMs: CO release moves into the visible. *Dalton Trans.*, **2016**, *45*(16):6801-6811
- [12] Jiang X J, Long L, Wang H L, Chen L M, Liu X M. Diiron hexacarbonyl complexes as potential CO-RMs: CO-releasing initiated by a substitution reaction with cysteamine and structural correlation to

- the bridging linkage. *Dalton Trans.*, **2014**,**43**(26):9968-9975
- [13]Schatzschneider U. Novel lead structures and activation mechanisms for CO-releasing molecules (CORMs). *Brit. J. Pharmacol.*, **2015**,**172**(6):1638-1650
- [14]Kunz P C, Meyer H, Barthel J, Sollazzo S, Schmidt A M, Janiak C. Metal carbonyls supported on iron oxide nanoparticles to trigger the CO-gasotransmitter release by magnetic heating. *Chem. Commun.*, **2013**,**49**(43):4896-4898
- [15]Jiang X J, Chen L M, Wang X, Long L, Xiao Z Y, Liu X M. Photoinduced carbon monoxide release from half-sandwich iron(II) carbonyl complexes by visible irradiation: Kinetic analysis and mechanistic investigation. *Chem. Eur. J.*, **2015**,**21**(37):13065-13072
- [16]Schatzschneider U. PhotoCORMs: Light-triggered release of carbon monoxide from the coordination sphere of transition metal complexes for biological applications. *Inorg. Chim. Acta*, **2011**,**374**(1):19-23
- [17]Yang S H, Chen M J, Zhou L L, Zhang G F, Gao Z W, Zhang W Q. Photo-activated CO-releasing molecules (photoCORMs) of robust sawhorse scaffolds $[\mu^2 - \text{OOCR}^1, \eta^1 - \text{NH}_2\text{CHR}^2(\text{C}=\text{O})\text{OCH}_3, \text{Ru}(\text{I})_2\text{CO}_4]$. *Dalton Trans.*, **2016**,**45**(9):3727-3733
- [18]Hu M X, Yan Y L, Zhu B H, Chang F, Yu S Y, Alatan G. A series of Mn(I) photo-activated carbon monoxide-releasing molecules with benzimidazole coligands: Synthesis, structural characterization, CO releasing properties and biological activity evaluation. *RSC Adv.*, **2019**,**9**(36):20505-20512
- [19]Lee S X, Tan C H, Mah W L, Wong R C S, Manan N S A, Cheow Y L, Sim K S, Tan K W. Group 6 photo-activable carbon monoxide-releasing molecules (photoCORMs) with 1'-10-phenanthroline based ligand as potential anti-proliferative and anti-microbial agents. *Inorg. Chim. Acta*, **2022**,**537**:120931
- [20]Catalano A, Sinicropi M S, Iacopetta D, Ceramella J, Mariconda A, Rosano C, Scali E, Saturnino C, Longo P. A review on the advancements in the field of metal complexes with Schiff bases as antiproliferative agents. *Appl. Sci.-Basel*, **2021**,**11**(3):6027
- [21]Tadele K T, Tsega T W. Schiff bases and their metal complexes as potential anticancer candidates: A review of recent works. *Anticancer Agents Med. Chem.*, **2019**,**19**(15):1786-1795
- [22]Chen P, Bornhorst J, Aschner M. Manganese metabolism in humans. *Front. Biosci.*, **2018**,**23**:1655-1679
- [23]Hu M X, Zhu B H, Zhou H F, Qiao L, Fan J M, Du Y Q, Chang F, Yu S Y. Water-soluble UV/visible light activated Mn-CO-releasing molecules: Synthesis, structure, CO releasing and biological activities evaluation. *Inorg. Chem. Commun.*, **2020**,**119**:108093
- [24]Kumar U, Roy S, Jha R K, Vidhyapriya P, Sakthivel N, Manimaran B. Selenolato-bridged manganese(I)-based dinuclear metallacycles as potential anticancer agents and photo-CORMs. *ACS Omega*, **2019**,**4**(1):1923-1930