新型双核芳基钌配合物的合成、结构、抗癌活性及与DNA相互作用研究

孔亚琼^{1†}, 李季^{1†}, 胡晓莹², 王芳馨², 钱勇¹, 李利¹, 毛宗万², 刘红科^{1*}

1. 江苏省生物医药功能材料协同创新中心, 江苏省生物功能材料重点实验室; 南京师范大学化学与材料科学学院, 南京 210023

2. 生物无机与合成化学教育部重点实验室, 中山大学化学学院, 广州 510275

*通讯作者, E-mail: liuhongke@njsu.edu.cn

†共同第一作者

收稿日期: 2016-09-30; 接受日期: 2016-12-07; 网络版发表日期: 2017-01-13

国家自然科学基金重点国际合作项目(编号: 21420102002)、国家自然科学基金(编号: 21302094, 21401105, 21601088)、高等学校博士学科点专项科研基金联合资助项目、江苏省333工程人才专项基金、江苏省六大人才高峰-新医药人才项目和江苏省优势学科及江苏省科技支撑计划——社会发展项目(编号: BE2013716)资助

摘要 本文使用柔性配体1,3-二(1-咪唑-亚甲基)-2,4,6-三甲基苯(*m*-bitmb)与对甲基异丙基芳基钌反应, 合成了两种新型的M₂L₂双核环状芳基钌配合物[$\{\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cymene})\}_2(\text{m-bitmb})_2\text{Cl}_2\}(\text{SbF}_6)_2$ (**1**)和[$\{\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cymene})\}_2(\text{m-bitmb})_2\text{Cl}_2\}(\text{CF}_3\text{COO})_2$ (**2**), 通过单晶衍射、核磁共振波谱、质谱和元素分析等方法表征了它们的结构, 并用3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐(MTT)法、圆二色谱和琼脂糖凝胶电泳等方法研究了抗癌活性及其与DNA的相互作用. 结果表明, 两个配合物具有“椅式”构型; 均具有一定的抗癌活性, 其中**2**对HeLa细胞株有较强的杀伤作用; 均可使CT-DNA、PBR322质粒DNA的构象发生变化, 且**2**与DNA的作用较强, 这与其抗癌活性结果相一致.

关键词 芳基钌, 双核配合物, 抗癌活性, 晶体结构, DNA结合

1 引言

癌症已经成为人类健康的第2大杀手, 严重危害着人类的生命, 预计到2030年, 每年死于癌症的人数将超过1300万^[1]. 目前最为常用的抗癌药物有化疗药物、生物制剂及靶向药物等, 其中化疗药物是治疗癌症的主要手段. 在化疗药物中, 铂类药物的临床使用率超过50%^[2].

铂类药物与DNA结合, 通过改变DNA的空间结构来抑制癌细胞增殖^[3], 但铂类抗癌药物的抗药性阻碍

了该类药物的临床使用. 研究发现DNA构象发生某些方式的改变可以避免抗药性的出现, 多核金属配合物是实现这一目标的有效途径之一^[2,4-11]. 因此研究多核金属配合物与DNA的结合方式和结合能力受到了人们的广泛关注^[12-14].

另外, 在癌症治疗过程中, 铂类药物出现了严重的副作用, 如肾毒性、神经毒性、血小板减少症和嗜中性白血球减少症等^[15]. 为减少药物的毒副作用, 寻找新型金属抗癌配合物也是目前研究的热点. 芳基金属配合物因其低的毒副作用及较高抗癌活性引起了人

引用格式: 孔亚琼, 李季, 胡晓莹, 王芳馨, 钱勇, 李利, 毛宗万, 刘红科. 新型双核芳基钌配合物的合成、结构、抗癌活性及与DNA相互作用研究. 中国科学: 化学, 2017, 47: 277-283
Kong Y, Li J, Hu X, Wang F, Qian Y, Li L, Mao Z, Liu H. Novel dinuclear arene ruthenium(II) complexes: synthesis, structure, anticancer activity and interaction with DNA. *Sci Sin Chim*, 2017, 47: 277-283, doi: 10.1360/N032016-00189

们的广泛关注^[16], 芳基钌类配合物中配体与水的交换速率为 $10^{-3} \sim 10^{-2} \text{ s}^{-1}$, 与铂类配合物大体相当, 配体与水的交换速率与抗癌活性密切相关^[17]. 也有研究表明, 不同的阴离子对配合物的亲水性有一定的影响, 从而影响抗癌活性, 因此可以通过简单的调节配合物中的阴离子种类来调控金属抗癌配合物的抗癌活性^[18]. 此外, 芳基金属配合物还具有抗癌作用靶点多, 耐药性低及合成方法多样性等优点^[11,19-22]. 因此, 研究含不同阴离子种类的多核芳基钌配合物的抗癌活性及其与DNA相互作用具有非常重要的意义^[23-28]. 本研究中, 合成了两种新型的 M_2L_2 环状双核芳基钌类配合物, 通过单晶衍射、元素分析、质谱等方法表征了它们的结构, 并且利用圆二色谱、电泳等手段研究了它们与DNA的相互作用, 并对其抗癌活性进行了研究.

2 实验部分

2.1 试剂与仪器

实验所用溶剂均采用国产的分析纯试剂, 根据实验需要, 试剂在使用前均按照《实验室化学品纯化手册(第五版)》进行纯化. 所有的反应均在氩气保护氛围下进行. 溴化乙锭、琼脂糖、溴酚蓝、乙二胺四乙酸钠盐、PBR322、CT-DNA、RPMI1640、磷酸盐缓冲溶液(PBS)等购自于上海生物工程公司. 柔性配体 *m*-bitmb (图1)依照文献^[29,30]方法合成. C、H、N元素分析使用元素分析仪(vario ELIII, 贺力氏公司, 德国)测定, ESI-MS使用LCQ FLEET电喷雾质谱仪(赛默飞世尔科技, 美国)测定(Source Voltage 4.0 KV, Sheath Gas Flow Rate 8 arb, Capillary Voltage 70 V, Capillary Temp 275 K, 流动相为甲醇, 流速为 200 $\mu\text{L}/\text{min}$, 进样方式为

直接进样, 样品配成甲醇溶液), 琼脂糖电泳用电脑三恒多用电泳仪(DYY-12, 北京市六一仪器厂, 中国)测定, ^1H NMR用Bruck AVANCE 400 MHz核磁共振波谱仪(德国)测定; 数字圆二色谱使用Applied Photophysics公司(英国)生产的ChriScan仪器测定; 凝胶成像使用凝胶成像系统Bio-RAD ChemiDox XPS (美国)测定, 单晶结构使用Bruker Apex II型X射线单晶衍射仪测定.

2.2 配合物的合成

2.2.1 $[\{\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cymene})\}_2(m\text{-bitmb})_2\text{Cl}_2](\text{SbF}_6)_2$ (1) 的合成

$[\text{RuCl}_2(p\text{-cymene})]_2$ (61.2 mg, 0.1 mmol) 溶于二氯甲烷, 向溶液中加入 AgSbF_6 (51.2 mg, 0.2 mmol) 的乙酸乙酯溶液, 室温下搅拌过滤, 向滤液中加入 *m*-bitmb (56.0 mg, 0.2 mmol), 室温下搅拌12 h, 真空干燥, 所得固体经柱色谱分离, 得淡黄色固体粉末(94.4 mg, 60%). 固体粉末在二氯甲烷/甲苯体系中重结晶得到黄色棒状晶体. ^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$, 400 MHz): 7.69 (4H, s, H_{im}), 7.26 (4H, d, H_{im}), 7.07 (2H, s, H_{bz} , *m*-bitmb), 6.75 (4H, d, H_{im}), 5.90 (4H, d, H_{bz} , *p*-cymene), 5.66 (4H, d, H_{bz} , *p*-cymene), 5.20 (8H, d, CH_2), 2.54 (2H, m, CH), 2.19 (12H, s, CH_3), 1.78 (6H, s, CH_3), 1.73 (6H, s, CH_3), 1.09 (12H, d, CH_3). 元素分析: 按分子式 $\text{C}_{54}\text{H}_{68}\text{Cl}_2\text{P}_2\text{N}_8\text{F}_{12}\text{Ru}_2 \cdot 0.5(\text{CH}_3\text{OH})$ 计算值(%) C 40.50, H 4.30, N 6.93; 实验值(%) C 40.61, H 4.47, N 6.45. ESI-MS: 计算值 $\{[\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_{14})\text{Cl}]_2(\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_4)_2\text{SbF}_6\}^+$ m/z 1337.97, 实测 m/z 为 1339.17; 计算值 $\{[\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_{14})\text{Cl}]_2(\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_4)_2\}^{2+}$ m/z 为 551.11, 实测 m/z 551.50; 计算值 $\{[\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_{14})\text{Cl}](\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_4)_2\}^+$ m/z 831.49, 实测 m/z 831.17.

图1 *m*-bitmb及双核芳基钌配合物的合成路线

2.2.2 $[\{\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cymene})\}_2(m\text{-bitmb})_2\text{Cl}_2](\text{CF}_3\text{-COO})_2$ (**2**) 的合成

$[\text{RuCl}_2(p\text{-cymene})]_2$ (61.2 mg, 0.1 mmol) 溶于二氯甲烷, 向溶液中加入 AgCF_3COO (51.2 mg, 0.2 mmol) 的乙酸乙酯溶液, 室温下搅拌过滤. 向滤液中加入 $m\text{-bitmb}$ (56.0 mg, 0.2 mmol), 室温下搅拌 12 h, 真空干燥, 所得固体经柱色谱分离, 得淡黄色固体粉末 (98.3 mg, 74.0%). 固体粉末在二氯甲烷/甲苯体系中重结晶得到黄色棒状晶体. ^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$, 400 MHz): 7.78 (4H, s, H_{im}), 7.25 (4H, d, H_{im}), 7.05 (2H, s, H_{bz} , $m\text{-bitmb}$), 6.75 (4H, d, H_{im}), 5.90 (4H, d, H_{bz} , $p\text{-cymene}$), 5.69 (4H, d, H_{bz} , $p\text{-cymene}$), 5.19 (8H, d, CH_2), 2.53 (2H, m, CH), 2.18 (12H, s, CH_3), 1.79 (6H, s, CH_3), 1.74 (6H, s, CH_3), 1.10 (12H, d, CH_3). 元素分析: 按分子式 $\text{C}_{58}\text{H}_{68}\text{Cl}_2\text{F}_6\text{N}_8\text{O}_4\text{Ru}_2\cdot 3(\text{H}_2\text{O})$ 计算值 (%) C 50.40, H 5.40, N 8.11; 实验值 (%) C 50.66, H 5.82, N 8.61. ESI-MS: 计算值 $[\{\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_{14})\text{Cl}\}_2(\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_4)_2(\text{H}_2\text{O})_2\text{H}]^+$ m/z 1339.26, 实测 m/z 1339.08; 计算值 $[\{\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_{14})\text{Cl}\}_2(\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_4)_2]^{2+}$ m/z 551.11, 实测 m/z 551.50; 计算值 $[\{\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_{14})\text{Cl}\}(\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_4)_2]^+$ m/z 831.49, 实测 m/z 831.17.

2.3 结构测定

配合物 **1**、**2** 的单晶结构数据是用环氧树脂将单晶黏在毛细玻璃管上进行收集得到, 在石墨单色器单色化的 $\text{Mo K}\alpha$ 射线 ($\lambda=0.71073\text{ nm}$) 下利用 ω - 2θ 进行扫描收集, 配合物的测试温度为 100 K. 数据还原在 Bruker SA INT 程序上进行. 非氢原子进行各向异性修正, 有机分子的氢原子理论加氢, 所有的计算都是用 SHELX-97 程序包进行的^[31,32], 化合物的单晶结构数据见表 1, 化合物的部分键长、键角见表 2. 晶体的 CCDC 号为 1486827.

2.4 配合物的抗癌活性

本研究选用的细胞株宫颈癌细胞 HaLa 和肺癌细胞 A549 均来自于中山大学动物实验中心, 细胞在含 10% 的血清培养基 RPMI1640 (Gibco BRL) 中 37°C 培养. 配合物对癌细胞体外抗增殖活性试验方法为: 取对数期生长期的细胞, 调整细胞悬液浓度为 $5\times 10^4\text{ CFU mL}^{-1}$, 每孔 100 μL 细胞悬液接种于 96 孔细胞培养板中, 接种 24 h 后给药 (100 μL /孔). 分别设空白对照组、细胞对

表 1 配合物 **1** 的晶体数据

	1
Chemical formula	$\text{C}_{54}\text{H}_{68}\text{Cl}_2\text{F}_{12}\text{N}_8\text{Sb}_2\text{Ru}_2$
Formular weight	1573.72
Crystal system	Monoclinic
Space group	$P2(1)/n$
a ($\text{\AA}$)	12.4146(17)
b ($\text{\AA}$)	17.689(2)
c ($\text{\AA}$)	105.352(2)
α ($^\circ$)	90.00
β ($^\circ$)	105.352(2)
γ ($^\circ$)	90.00
V ($\text{\AA}^3$)	3597.7(8)
Z	2
D_c (g cm^{-3})	1.453
θ range ($^\circ$)	1.7~25.5
μ ($\text{Mo K}\alpha$) (mm^{-1})	1.30
Temperature (K)	100
Reflns. collected	6685
Independent reflns.	6194
Goodness-of-fit	1.1
R_i^a ($I>2\sigma(I)$)	0.026
wR_2^b ($I>2\sigma(I)$)	0.067

表 2 配合物 **1** 的部分键长和键角

	Bond length ($\text{\AA}$)		Bond angle ($^\circ$)
Ru1-arene (Centroid)	1.67	N1-Ru1-N2	85.72(8)
Ru1-Cl1	2.401(7)	N2-Ru1-Cl1	87.83(6)
Ru1-N1	2.112(2)	N3-Ru2-Cl2	87.83(6)
Ru2-N3	2.113(2)	N1-Ru1-Cl1	86.70(6)
Ru2-arene (Centroid)	1.67	N3-Ru2-N4	85.72(8)
Ru2-Cl2	2.401(7)	N4-Ru2-Cl2	86.70(6)
Ru1-N2	2.113(2)		
Ru2-N4	2.112(2)		

照组以及 6 个浓度 (5、10、20、40、80、100 μM) 受试配合物药物组. 继续培养 48 h 后每孔加入 20 μL 噻唑蓝 (MTT, 5 mg mL^{-1} , 以磷酸盐缓冲液 (PBS) 溶解), 37°C 培养 4 h. 弃去各孔内液体后加入 150 μL 二甲基亚砜, 避光放置 30 min. 用酶标仪测定 590 nm 处的吸光度, 计算受试药物对肺癌和宫颈癌细胞的增殖抑制率, 以及受试物对癌细胞增殖 (48 h) 的半数抑制浓度 (IC_{50})^[33,34].

2.5 配合物与DNA的相互作用研究

2.5.1 配合物与小牛胸腺DNA (CT-DNA)的相互作用

圆二色谱法是常见的研究DNA构型变化的方法. 因此利用圆二色谱法在PBS缓冲溶液(50 mM, pH 7.2)中测定配合物 $\mathbf{1}$ 、 $\mathbf{2}$ 与CT-DNA的作用, DNA的初始碱基对浓度恒为50 μM , 配合物 $\mathbf{1}$ 与碱基对的比例 r 分别为0、0.05、0.1、0.2、0.4, 配合物 $\mathbf{2}$ 与碱基对的比例 r 分别为0、0.05、0.1、0.2, $r = [\text{配合物}]/[\text{DNA}]$. 配合物与DNA于4℃冰箱中孵化24 h后再进行测试, 测试温度为25℃.

2.5.2 配合物与质粒PBR322的相互作用

用25 mM PBS缓冲液配制不同摩尔比 r ($r = [\text{配合物}]/[\text{DNA核苷酸}]$)的PBR322质粒DNA与配合物的反应液, 其中质粒DNA浓度为10 μM , 溶液在37℃条件下避光孵化24 h后, 加入4 μL 6 $\times$ 上样缓冲液. 以0.8%的琼脂糖凝胶, 70 mA的恒定电流进行80 min电泳. 实验后的凝胶用0.5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ 的溴化乙锭水溶液进行染色, 用Bio-Rad凝胶成像系统得到电泳图像.

3 结果与讨论

配合物 $\mathbf{1}$ 、 $\mathbf{2}$ 均采用相同方法合成, 并用核磁共振波谱、质谱及元素分析等手段进行了表征. 其中, 配合物 $\mathbf{1}$ 、 $\mathbf{2}$ 的质谱都有 m/z 551.50和831.17两个峰, 可以归属为 $\{[\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{Cl})\text{Cl}]_2(\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_4)_2\}^{2+}$ 和 $\{[\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{Cl})\text{Cl}](\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_4)_2\}^+$, 说明这两个配合物具有

组成相同的阳离子骨架 M_2L_2 . 而且它们在DMSO- d_6 中的 ^1H NMR谱图非常相似. 用常温挥发法得到了配合物 $\mathbf{1}$ 和 $\mathbf{2}$ 晶体并通过单晶数据分析发现它们具有相似结构.

3.1 配合物的晶体结构

X射线单晶衍射结果表明, 配合物 $\mathbf{1}$ 具有 M_2L_2 环状椅式结构, 其单晶结构如图2(a)所示. 每个Ru原子都与2个N和1个Cl原子配位, 同时2个配体以反式的构型与Ru原子配位, 从而形成1个 Ru_2L_2 结构的“椅式”24元环分子. Ru原子以6配位的方式与对甲基异丙基苯配位, 2个Ru-Cl键相互平行, 两个对甲基异丙基苯配体的苯环面也相互平行, 同时两个配体 $m\text{-bitmb}$ 的苯环面也相互平行. M_2L_2 分子内Ru1和Ru2之间的距离为12.64 Å, Cl1和Cl2之间的距离为3.66 Å, Cl1和Cl2的距离是13.46 Å. Ru-N键长范围为2.112(2)~2.113(2) Å, Ru-Cl键长为2.401(7) Å, N-Ru-Cl的键角值范围为86.70(6)~87.83(6)°, Ru-arene(centroid)的距离为1.67 Å, N-Ru-N键角为85.72(8)°, 这些与文献中已报道的钌类配合物相似^[35,36]. 配体中咪唑环与苯环之间的二面角均为81.68°, 同一配体中咪唑环平面间的二面角均为75.73°. 配合物 $\mathbf{1}$ 在空间为交错式堆积, 双核“椅式”单元 Ru_2L_2 在空间有2种取向(图2(b)). 用常温挥发法得到了配合物 $\mathbf{2}$ 的单晶, 通过X单晶衍射法收集了晶体数据, 其晶胞参数为 $a=9.583(6)$, $b=14.345(8)$, $c=14.650(9)$, $\alpha=98.548(8)$, $\beta=97.196(7)$, $\gamma=100.324(8)^\circ$. 由于外界阴离子具有很强的无序性导致晶体数据较差, 但仍然可以获得其阳离子单元的结构, 结果表明, 配合物 $\mathbf{2}$ 具有与 $\mathbf{1}$ 相同的 M_2L_2 环状椅式结构.

图2 (a) 配合物 $\mathbf{1}$ 的分子结构图; (b) 配合物 $\mathbf{1}$ 的二维堆积图(网络版彩图)

3.2 配合物的细胞活性测试

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 (3-(4, 5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐)还原为水不溶性的蓝紫色结晶甲臌并沉积在细胞中, 而死细胞无此功能. 二甲基亚砜(DMSO)能溶解细胞中的甲臌, 用酶标仪(Infinite M200, Tecan, Männedorf, 瑞士)在590 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.

由配合物 IC_{50} 数据(表3)可以看出, **1**、**2**对于HeLa细胞与A549细胞均具有一定的细胞毒性, 其中, 配合物**2**对于HeLa细胞具有较好的细胞活性, IC_{50} 值为 $26.1 \pm 1.2 \mu M$, 比顺铂的 IC_{50} 稍大一些($15.8 \pm 0.9 \mu M$).

3.3 配合物与DNA的相互作用

3.3.1 配合物与小牛胸腺DNA (CT-DNA)的相互作用

CT-DNA在~245 nm处有负吸收峰(来自于B-DNA右手螺旋结构), ~270 nm处有正吸收峰(来自于核酸碱基堆积), 这两个峰受外来作用分子的影响较大^[37]. 图3是配合物**1**、**2**与CT-DNA相互作用的圆二色谱图. 从图3(a)可以发现, CT-DNA的正峰随着配合物**1**浓度的增大而降低, 说明了配合物与DNA作用后减弱了DNA的碱基堆积作用, 且CT-DNA的负峰也随着**1**浓度的增加而发生较大程度的减弱现象, 当 $r=0.4$ 时, 其负峰消失, 表明配合物**1**可以改变CT-DNA的螺旋结构, 从而使DNA发生解旋. 在图3(b)中, 随着配合物**2**浓度的增加, CT-DNA的正峰强度有所下降, 负峰强度发生明显的减弱现象, 当 $r=0.2$ 时, 负峰消失. 上述结果表明, 配合物**1**、**2**和CT-DNA作用的变化趋势类似, 但配合物**2**比**1**对于改变CT-DNA螺旋结构的影响更大, 这可能是由于**2**的亲水性较配合物**1**强^[18,38].

表 3 配合物**1**、**2**和顺铂对人体外宫颈癌细胞和肺癌细胞的 IC_{50} (μM)

Compound	HeLa	A549
1	67.3 ± 1.6	65.5 ± 1.3
2	26.1 ± 1.2	49.3 ± 3.0
cisplatin	15.8 ± 0.9	14.2 ± 0.9

图 3 配合物**1** (a)和**2** (b)与CT-DNA相互作用的圆二色谱(网络版彩图)

3.3.2 配合物与质粒PBR322的相互作用

闭环质粒DNA与解旋试剂结合后, 会降低其超螺旋密度, 从而降低它在凝胶电泳中的迁移速率^[39]. 配合物**1**和**2**与PBR322凝胶电泳的结果如图4所示, 随着配合物**1**和**2**浓度增加, 超螺旋DNA带(Form I)的迁移速率逐渐减小, 直到带有切口的DNA (Form II)带出现. 然而, 随着药物浓度的增大, 质粒DNA会和配合物发生聚合反应, 出现(Form III)带. 配合物**1**与PBR322的相互作用结果显示, 当 r 达到4:1时出现共迁移点(图4(a)泳道5), 说明此时PBR322 DNA完全解旋^[32,39]. 配合物**2**的结果与**1**相似, 当 r 达到1:1时出现共迁移点(图4(b)泳道8). 以上结果表明, 配合物**1**和**2**均可使超螺旋DNA解旋, 且配合物**2**的解旋效果更为明显, 这与圆二色谱的结果相一致, 这可能与它们的阴离子以及配合物的亲水性不同有很大关系, 两种配合物均可以通过使DNA解旋的方式, 抑制DNA的正常复制, 从而发挥抗肿瘤的作用.

图4 配合物1和2与PBR322 DNA的琼脂糖凝胶电泳结果. (a) Lane 1为PBR322 DNA; Lane 2~6配合物与DNA的比率依次为1:1、2:1、3:1、4:1、5:1; Lane 7~11的比率依次为6:1、7:1、8:1、9:1、10:1. (b) Lane 1为PBR322 DNA; Lane 2~9配合物与DNA的比率依次为0.2:1、0.4:1、0.8:1、1:1、2:1、2.5:1、3:1、3.5:1; Lane 10~14比率依次为4:1、4.5:1、5:1、6:1、8:1

4 结论

本文设计合成了2种新型双核 M_2L_2 环状、椅式结构的芳基钕配合物. 两个配合物对癌细胞的体外抑制活性均具有一定的选择性, 与配合物1相比, 2对HeLa细胞的抑制作用较为明显, 与顺铂的结果接近. 配合物均可与DNA发生作用, 能改变DNA的空间构

形, 其中配合物2对DNA的作用强于配合物1, 其原因可能与外界阴离子具有较大的关系, 由于 CF_3COO^- 的亲水性较 SbF_6^- 好, 可能更有利于细胞对药物的吸收, 从而使配合物表现出更好的活性. 本研究为进一步设计合成新型抗癌金属配合物药物提供了一定的理论基础.

参考文献

- Gupta G, Garci A, Murray BS, Dyson PJ, Fabre G, Trouillas P, Giannini F, Furrer J, Süß-Fink G, Therrien B. *Dalton Trans*, 2013, 42: 15457–15463
- Fu Y, Romero MJ, Salassa L, Cheng X, Habtemariam A, Clarkson GJ, Prokes I, Rodger A, Costantini G, Sadler PJ. *Angew Chem Int Ed*, 2016, 55: 8909–8912
- Takahara PM, Rosenzweig AC, Frederick CA, Lippard SJ. *Nature*, 1995, 377: 649–652
- Hillard E, Vessières A, Thouin L, Jaouen G, Amatore C. *Angew Chem Int Ed*, 2006, 45: 285–290
- Li Z, David A, Albani BA, Pellois JP, Turro C, Dunbar KR. *J Am Chem Soc*, 2014, 136: 17058–17070
- Georgiades SN, Abd Karim NH, Suntharalingam K, Vilar R. *Angew Chem*, 2010, 122: 4114–4128
- Soldevila-Barreda JJ, Sadler PJ. *Curr Opin Chem Biol*, 2015, 25: 172–183
- Liu Z, Sadler PJ. *Acc Chem Res*, 2014, 47: 1174–1185
- Barry NPE, Sadler PJ. *Chem Commun*, 2013, 49: 5106–5131
- Barry NPE, Sadler PJ. *Chem Soc Rev*, 2012, 41: 3264–3279
- Chen H, Parkinson JA, Nováková O, Bella J, Wang F, Dawson A, Gould R, Parsons S, Brabec V, Sadler PJ. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 14623–14628
- Chellan P, Land KM, Shokar A, Au A, An SH, Taylor D, Smith PJ, Riedel T, Dyson PJ, Chibale K, Smith GS. *Dalton Trans*, 2014, 43: 513–526
- Therrien B. *CrystEngComm*, 2015, 17: 484–491
- Liu HK, Sadler PJ. *Acc Chem Res*, 2011, 44: 349–359
- Clavel CM, Păunescu E, Nowak-Sliwinska P, Griffioen AW, Scopelliti R, Dyson PJ. *J Med Chem*, 2014, 57: 3546–3558
- Weiss A, Berndsen RH, Dubois M, Müller C, Schibli R, Griffioen AW, Dyson PJ, Nowak-Sliwinska P. *Chem Sci*, 2014, 5: 4742–4748
- Reedijk BJ. *Platin Met Rev*, 2008, 52: 2–11
- Fu Y, Habtemariam A, Basri AMBH, Braddick D, Clarkson GJ, Sadler PJ. *Dalton Trans*, 2011, 40: 10553–10562
- Pizarro AM, Habtemariam A, Sadler PJ. *Top Organomet Chem*, 2010, 32: 21–56
- Sriskandakumar T, Behyan S, Habtemariam A, Sadler PJ, Kennepohl P. *Inorg Chem*, 2015, 54: 11574–11580
- Kostova I. *Curr Med Chem*, 2006, 13: 1085–1107
- 杨清, 罗文平, 王金涛, 刘红科. 芳基钕抗癌化合物的研究进展. *中国科学*, 2014, 44: 437–447
- Murray BS, Menin L, Scopelliti R, Dyson PJ. *Chem Sci*, 2014, 5: 2536–2545

- 24 Novakova O, Kasparkova J, Bursova V, Hofr C, Vojtiskova M, Chen H, Sadler PJ, Brabec V. *Chem Biol*, 2005, 12: 121–129
- 25 Liu HK, Berners-Price SJ, Wang F, Parkinson JA, Xu J, Bella J, Sadler PJ. *Angew Chem Int Ed*, 2006, 45: 8153–8156
- 26 Liu HK, Wang F, Parkinson JA, Bella J, Sadler PJ. *Chem Eur J*, 2006, 12: 6151–6165
- 27 Liu HK, Parkinson JA, Bella J, Wang F, Sadler PJ. *Chem Sci*, 2010, 1: 258–270
- 28 Liu HK, Sadler PJ. Interactions of metallodrugs with DNA. In: Bertini I, McGreevy KS, Eds. *NMR of Biomolecules: Towards Mechanistic Systems Biology*. New Jersey: Wiley-VCH, 2012. 282–296
- 29 Van der Made AW, Van der Made RH. *J Org Chem*, 1993, 58: 1262–1263
- 30 Haque RA, Salman AW, Nadarajan P, Hemamalini M, Fun HK. *Acta Cryst*, 2011, 67: o643
- 31 Sheldrick GM. *SHELXS 97, Program for the Solution of Crystal Structures*. Gottingen: University of Gottingen, 1997
- 32 Sheldrick GM. *SHELXL 97, Program for the Refinement of Crystal Structures*. Gottingen: University of Gottingen, 1997
- 33 van Rijt SH, Romero-Canelón I, Fu Y, Shnyder SD, Sadler PJ. *Metallomics*, 2014, 6: 1014–1022
- 34 Zhu Z, Wang X, Li T, Aime S, Sadler PJ, Guo Z. *Angew Chem Int Ed*, 2014, 53: 13225–13228
- 35 Vock CA, Scolaro C, Phillips AD, Scopelliti R, Sava G, Dyson PJ. *J Med Chem*, 2006, 49: 5552–5561
- 36 Pizarro AM, Melchart M, Habtemariam A, Salassa L, Fabbiani FPA, Parsons S, Sadler PJ. *Inorg Chem*, 2010, 49: 3310–3319
- 37 Kyrp J, Kejnovská I, Rencuk D, Vorlicková M. *Nucleic Acids Res*, 2009, 37: 1713–1725
- 38 Novohradsky V, Liu Z, Vojtiskova M, Sadler PJ, Brabec V, Kasparkova J. *Metallomics*, 2014, 6: 682–690
- 39 Keck MV, Lippard SJ. *J Am Chem Soc*, 1992, 114: 3386–3390

Novel dinuclear arene ruthenium(II) complexes: synthesis, structure, anticancer activity and interaction with DNA

Yaqiong Kong^{1†}, Ji Li^{1†}, Xiaoying Hu², Fangxin Wang², Yong Qian¹, Li Li, Zongwan Mao², Hongke Liu^{1*}

¹ Jiangsu Collaborative Innovation Center of Biomedical Functional Materials, Jiangsu Key Laboratory of Biofunctional Materials, School of Chemistry and Materials Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China

² MOE Key Laboratory of Bioinorganic and Synthetic Chemistry, School of Chemistry, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510275, China

†These authors contributed equally to this work.

*Corresponding author (email: liuhongke@njnu.edu.cn)

Abstract: Two new dinuclear Ru(II) arene M₂L₂ metallocycle complexes [Ru₂(η⁶-p-cymene)₂(m-bitmb)₂Cl₂](SbF₆)₂ (**1**) and [Ru₂(η⁶-p-cymene)₂(m-bitmb)₂Cl₂](CF₃COO)₂ (**2**) (m-bitmb=1,3-bis(imidazol-1-ylmethyl)-2,4,6-trimethylbenzene) were synthesized and characterized by single crystal X-ray diffraction, ¹H NMR, ESI-MS and elemental analysis. Results revealed that complex **1** and **2** are M₂L₂ dinuclear Ru–arene complexes with unique “chair-like” conformation. Both of complexes **1** and **2** had certain anti-cancer activity, and complex **2** performed good cytotoxic effect on HeLa cells. The results of circular dichroism and agarose gel electrophoresis experiments indicated that complexes **1** and **2** could change the conformation of CT-DNA and PRB322 DNA. Moreover, compared with **1**, **2** presented much stronger interaction with DNA, which was in accordance with their anti-cancer activities.

Keywords: ruthenium-arene, dinuclear complex, anticancer activity, crystal structure, DNA binding

doi: 10.1360/N032016-00189