微波辅助自组装合成有机锡配合物及其生物活性

蒋伍玖, 谭宇星, 邝代治, 张复兴, 刘梦琴*

衡阳师范学院化学与材料科学学院, 功能金属有机材料湖南省普通高等学校重点实验室, 功能金属有机化合物湖南省重点实验室, 衡阳 421008

*通讯作者, E-mail: lmq2016@hynu.edu.cn

收稿日期: 2019-02-25; 接受日期: 2019-04-29; 网络版发表日期: 2019-06-12

湖南省自然科学基金(编号: 2017JJ3003)、湖南省教育厅重点科研基金(编号: 16A029)和衡阳师范学院学科群建设基金(编号: 18XKQ01)资助项目

摘要 利用微波“一锅法”合成了4个有机锡配合物(C1~C4), 通过红外光谱(IR)、紫外可见吸收光谱(Vis-UV)、 ^1H NMR、 ^{13}C NMR、 ^{119}Sn NMR、高分辨率质谱(HRMS)、X射线单晶衍射以及热重分析等表征了配合物的结构. 结构分析表明, 配合物C1~C4均为中心对称的平面 Sn_2O_2 四元环结构. 通过MTT法, 测试了配合物C1~C4对癌细胞NCI-H460、HepG2、MCF7以及正常人体肝细胞HL7702的体外抑制活性, 结果显示, 配合物C1对3种癌细胞的抑制活性优于其他配合物及卡铂, 有望成为金属有机抗癌药物候选化合物. 通过紫外光谱、荧光光谱、黏度、分子对接实验, 证实了配合物C1与DNA的相互作用是插入结合方式.

关键词 有机锡配合物, 酞肟, 合成, 晶体结构, 生物活性

1 引言

自Gedye等^[1]将微波用于有机合成以来, 由于其反应速度快、操作方便、产率高、产品易纯化等特点, 微波合成取得了迅速发展; 同时, 微波合成被认为是一种环境友好的合成方法. 目前, 微波辐射方法已应用到无机化学、有机化学、医药化工、食品化工等领域, 且产生了巨大的效益^[2-4].

有机锡化合物在化工、农业、医药等领域有着广泛的应用, 尤其是在体外抗癌活性方面, 其表现出优于顺铂等铂类药物的性质而受到广泛关注^[5,6], 被认为是最有希望替代铂类化合物成为新一代的金属有机抗癌

药物^[7]. 研究表明, 与锡原子相连接的烃基R、配体共同决定着有机锡化合物的生物活性^[8]. 因此, 有机锡配合物中烃基R及活性配体的筛选引起了人们极大的兴趣. 酞肟类化合物由于具有多配位点, 且生物兼容性好等特点而常被用作配体^[9-11]. 本课题组^[12-15]前期利用常规加热回流方法合成了一系列芳甲酞肟有机锡配合物, 并且研究了配合物的生物活性. 通过对比实验发现, 微波辐射方法和传统加热方法最鲜明的差别就是时间和产率, 微波反应能够以快速加热的优势使反应在较短时间内完成, 并且达到较高产率.

因此, 本文利用微波“一锅法”合成了4个酞肟配体苄基锡配合物, 并且初步研究配合物对人肺癌细胞

引用格式: Jiang W, Tan Y, Kuang D, Zhang F, Liu M. Microwave-assisted self-assembly synthesis of organotin complexes and biological activities. *Sci Sin Chim*, 2019, 49: 1083–1093, doi: [10.1360/SSC-2019-0023](https://doi.org/10.1360/SSC-2019-0023)

(NCI-H460)、人肝癌细胞(HepG2)、人乳腺癌细胞(MCF7)和正常人肝细胞(HL-7702)的体外抑制活性以及与DNA的相互作用。

2 实验部分

2.1 试剂与仪器

溴化乙锭(EB)、ct-DNA、三羟甲基氨基甲烷(Tris)为Sigma-Aldrich公司(美国)产品。其他试剂均为分析纯。Tris-HCl (0.01 M)缓冲溶液通过称取一定量Tris用0.1 M的盐酸溶液调至pH 7.40, 使用前配制。ct-DNA的纯度通过比较260和280 nm处的吸光度来确定($A_{260}/A_{280}=1.8\sim1.9/1$), 用所需pH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($\epsilon_{260}=6600 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), 其储备液置于4℃保存。溴化乙锭溶液通过称取适量溴化乙锭固体, 用pH 7.40的Tris-HCl (0.01 M)缓冲溶液配制。

红外光谱(IR)采用Shimadzu Prestige-21红外光谱仪($4000\sim400 \text{ cm}^{-1}$, KBr压片; 日本)测定; ^1H 、 ^{13}C 和 ^{119}Sn NMR采用Bruker AVANCE-500核磁共振仪(德国)测定; 元素分析采用PerkinElmer 2400(II)元素分析仪(美国)测定; 晶体结构采用Bruker SMART APEX II CCD单晶衍射仪(德国)测定; 荧光光谱采用Hitachi F-7000荧光光谱仪(日本)测定; 高分辨质谱采用Thermo Scientific LTQ Orbitrap XL (ESI源; 美国)质谱仪测定; 紫外光谱采用Shimadzu UV-2550型紫外-可见光谱仪(日本)测定; 热重分析采用NETZSCH TG 209 F3热重分析仪(德国)测定; 微波合成采用MILESTONE微波合成仪(意大利); 熔点测定采用泰克X-4双目体视显微熔

点测定仪(中国)测定(温度计未经校正)。

2.2 合成

在100 mL微波反应罐中加入1 mmol呋喃酰肼(或噻吩酰肼)、1 mmol苯甲酰甲酸、1 mmol二邻氯苄基二氯化锡(或二间氯苄基二氯化锡), 以及20 mL甲醇, 在100℃下微波反应30 min, 冷却到室温, 过滤至锥形瓶中, 控制挥发得淡黄色晶体C1~C4, 其合成线路如图1所示。

配合物C1: 产率: 84.2%. m.p.: 86~88 °C. FT-IR (KBr, cm^{-1}): 3419 (w), 3118 (w), 3059 (w), 3016 (w), 2939 (s), 1637 (s), 1605 (s), 1573 (s), 1498 (s), 1473(s), 1440(s), 1398(s), 1363 (m), 1251 (s), 1193 (s), 1083 (m), 887 (m), 815 (m), 750 (s), 723 (s), 690 (m), 630 (m), 592 (m), 565 (m), 522(w), 482 (m), 439(w). UV-Vis (DMSO + H_2O) λ_{max} : 362.0 nm. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)): 7.83~7.84 (m, 2H), 7.54 (s, 1H), 7.46~7.47 (m, 3H), 7.18~7.22 (m, 4H), 6.96~7.02 (m, 5H), 6.46~6.47 (m, 1H), 3.48 (s, 3H), 3.37 (d, $J=12.0 \text{ Hz}$, 2H), 3.33 (d, $J=12.0 \text{ Hz}$, 2H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)): 167.38, 163.22, 149.52, 147.20, 146.13, 134.32, 132.85, 131.67, 131.43, 130.61, 129.11, 128.52, 127.66, 127.30, 126.98, 117.05, 112.00, 50.83, 29.54. ^{119}Sn NMR (187 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)): -267.76. HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{21}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_4\text{Sn}^+ [\text{M}-\text{CH}_3\text{OH}+\text{H}]^+$ 626.98949, found 626.98969; $\text{C}_{54}\text{H}_{41}\text{Cl}_4\text{N}_4\text{O}_8\text{Sn}_2^+ [2\text{M}-2\text{CH}_3\text{OH}+\text{H}]^+$ 1252.96815, found 1252.97571.

配合物C2: 产率: 82.4%. m.p.: 103~105 °C (dec). FT-IR (KBr, cm^{-1}): 3485 (w), 3120 (w), 3055 (w), 2945

图1 配合物C1~C4的合成线路

Figure 1 The synthesis of C1-C4.

(s), 1622 (s), 1593 (s), 1496 (s), 1467 (s), 1402(s), 1363 (m), 1294(s), 1251 (s), 1195 (s), 1089 (m), 866 (m), 781 (s), 750 (s), 725 (s), 690 (m), 634 (w), 592 (w), 570 (w), 524(w), 472 (w), 430(w). UV-Vis (DMSO+H₂O) $\lambda_{\max}$: 364.6 nm. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ (ppm)): 7.61 (s, 1H), 7.47 (s, 5H), 7.11–7.13 (m, 3H), 6.90 (m, 6H), 6.52–6.53 (m, 1H), 3.49 (s, 3H), 3.40 (s, 4H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃, δ (ppm)): 169.61, 168.10, 147.30, 146.49, 138.79, 134.29, 131.27, 130.93, 129.71, 128.43, 128.07, 127.49, 126.37, 125.76, 117.82, 112.14, 50.85, 37.03. ¹¹⁹Sn NMR (187 MHz, CDCl₃, δ (ppm)): –389.63. HRMS (ESI) m/z calcd for C₂₇H₂₁Cl₂N₂O₄Sn⁺ [M-CH₃OH+H]⁺ 626.98949, found 626.98999; C₅₄H₄₁Cl₄N₄O₈Sn₂⁺ [2M-2CH₃OH+H]⁺ 1252.96815, found 1252.97595.

配合物C3: 产率86.0 %. m.p: 110~112 °C (dec). IR (KBr, cm⁻¹): 3437 (w), 3099 (w), 3068 (w), 2954 (s), 1676 (s), 1620 (s), 1587 (s), 1527 (s), 1494 (s), 1473 (s), 1427 (s), 1384 (m), 1298 (s), 1251 (s), 1141 (s), 1070 (m), 812 (m), 754 (s), 723 (s), 688 (m), 626 (w), 594 (w), 545 (w), 476 (w), 441(w). UV-Vis (DMSO+H₂O) $\lambda_{\max}$: 381.2 nm. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ (ppm)): 7.90–7.91 (m, 2H), 7.54 (d, J =3.5 Hz, 1H), 7.48–7.49 (m, 4H), 7.17–7.22 (m, 4H), 6.95–7.04 (m, 5H), 3.49 (s, 3H), 3.37 (d, J =12.0 Hz, 2H), 3.31 (d, J =12.0 Hz, 2H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃, δ (ppm)): 171.14, 163.38, 148.38, 136.56, 134.39, 132.85, 131.97, 131.83, 131.70, 130.53, 129.04, 128.56, 127.64, 127.53, 127.23, 126.98, 50.85, 29.38. ¹¹⁹Sn NMR (187 MHz, CDCl₃, δ (ppm)): –261.88. HRMS (ESI) m/z calcd for C₂₇H₂₁Cl₂N₂O₃SSn⁺ [M-CH₃OH+H]⁺ 642.96664, found 642.96692; C₅₄H₄₁Cl₄N₄O₆S₂Sn₂⁺ [2M-2CH₃OH+H]⁺ 1284.92247, found 1284.93030.

配合物C4: 产率: 85.3 %. m.p.: 90~92 °C (dec). IR (KBr, cm⁻¹): 3446 (w), 3111 (w), 3055 (w), 2943 (s), 1662 (s), 1620 (s), 1566 (s), 1525 (s), 1492 (s), 1469 (s), 1427 (s), 1386 (m), 1288 (s), 1251 (s), 1143 (s), 1080 (m), 864 (m), 781 (s), 725 (s), 690 (m), 628 (w), 549 (w), 501 (w), 474(w), 432 (w). UV-Vis (DMSO+H₂O) $\lambda_{\max}$: 384.0 nm. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ (ppm)): 7.82 (d, J =3.2 Hz, 1H), 7.55 (d, J =4.7 Hz, 1H), 7.50 (s, 5H),

7.11–7.13 (m, 3H), 6.85–6.88 (m, 6H), 3.49 (s, 3H), 3.41 (s, 4H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃, δ (ppm)): 172.00, 170.02, 145.35, 138.89, 136.64, 134.27, 132.60, 132.46, 131.36, 130.81, 129.62, 128.47, 128.19, 127.79, 127.34, 126.39, 125.64, 50.86, 37.41. ¹¹⁹Sn NMR (187 MHz, CDCl₃, δ (ppm)): –396.99. HRMS (ESI) m/z calcd for C₂₇H₂₁Cl₂N₂O₃SSn⁺ [M-CH₃OH+H]⁺ 642.96664, found 642.96765; C₅₄H₄₁Cl₄N₄O₆S₂Sn₂⁺ [2M-2CH₃OH+H]⁺ 1284.92247, found 1284.93201.

2.3 晶体结构测定

分别选取尺寸大小合适的配合物晶体C1~C4, 在Bruker SMART APEX II CCD单晶衍射仪上, 采用经石墨单色化的Mo K α 射线(λ =0.071073 nm), 以 φ - ω 扫描方式收集衍射数据. 全部数据经 L_p 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, 全部结构分析计算工作采用SHELX-97程序系统完成^[16]. 配合物C1~C4的晶体学数据见表1. 部分键长键角数据见表S1 (网络版补充材料).

2.4 体外抗癌活性测定

将待测药物溶于少量二甲基亚砜(DMSO)中, 用水稀释至所需浓度, 保持最终DMSO浓度<0.1%. MCF7、HepG2、NCI-H460细胞株取自美国组织培养库(ATCC), HL-7702细胞株购自中国科学院生物化学与细胞生物研究所. HL-7702细胞株用含10%胎牛血清、2% L-谷氨酰胺的RPMI 1640 (GIBICO公司)培养基, MCF7、HepG2和NCI-H460细胞株用含10%胎牛血清的RPMI 1640 (GIBICO公司)培养基, 在5% (体积分数) CO₂、37°C饱和湿度培养箱内进行体外培养48 h. 体外抗癌药敏试验通过MTT法测定. 数据处理使用Graph Pad Prism version 7.0程序, 化合物的半抑制浓度(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.

2.5 与DNA相互作用实验

2.5.1 紫外可见光谱

在5 mL容量瓶中分别加入配合物溶液(50 μ M)及

表 1 晶体学数据

Table 1 Crystallographic data of the complexes

	C1	C2	C3	C4
Empirical formula	C ₅₆ H ₅₂ Cl ₄ N ₄ O ₁₂ Sn ₂	C ₂₈ H ₂₄ Cl ₂ N ₂ O ₅ Sn	C ₅₆ H ₄₈ Cl ₄ N ₄ O ₈ S ₂ Sn ₂	C ₂₈ H ₂₄ Cl ₂ N ₂ O ₄ SSn
<i>T</i> (K)	296(2)	296(2)	296(2)	296(2)
Wavelength (nm)	0.071073	0.71073	0.071073	0.71073
Crystal system	Monoclinic	Triclinic	Monoclinic	Triclinic
Space group	<i>P</i> 2 ₁ / <i>c</i>	<i>P</i>	<i>P</i> 2 ₁ / <i>n</i>	<i>P</i>
<i>a</i> (nm)	1.41606(7)	0.95033(17)	1.39648(10)	0.95262(5)
<i>b</i> (nm)	0.99040(5)	1.116(2)	1.10017(8)	1.11386(6)
<i>c</i> (nm)	1.99254(10)	1.5146(3)	1.88150(13)	1.53077(9)
<i>α</i> (°)	90	97.981(2)	90	98.3390(10)
<i>β</i> (°)	90.048(10)	105.191(2)	93.6270(10)	104.9210(10)
<i>γ</i> (°)	90	110.939(2)	90	110.4560(10)
Volume (nm ³)	2.7945(2)	1.3933(4)	2.8849(4)	1.42013(14)
<i>Z</i>	2	2	2	2
<i>D</i> _c (Mg m ⁻³)	1.607	1.569	1.552	1.577
Absorption coefficient (mm ⁻¹)	1.151	1.149	1.179	1.198
<i>F</i> (000)	1360	660	1352	676
Crystal size (mm)	0.22×0.21×0.20	0.22×0.22×0.21	0.22×0.20×0.20	0.22×0.21×0.21
<i>θ</i> range (°)	2.30~25.10	2.45~25.10	1.87~25.10	2.36~25.10
Limiting indices	-16≤ <i>h</i> ≤16, -11≤ <i>k</i> ≤11, -23≤ <i>l</i> ≤23	-11≤ <i>h</i> ≤11, -13≤ <i>k</i> ≤13, -18≤ <i>l</i> ≤17	-16≤ <i>h</i> ≤16, -12≤ <i>k</i> ≤13, -22≤ <i>l</i> ≤17	-11≤ <i>h</i> ≤11, -13≤ <i>k</i> ≤13, -18≤ <i>l</i> ≤18
Reflections collected/unique	27336/4965 [<i>R</i> _{int} =0.0175]	10449/4891 [<i>R</i> _{int} =0.0266]	14246/5123 [<i>R</i> _{int} =0.0167]	14305/5030 [<i>R</i> _{int} =0.0174]
Completeness	0.998	0.986	0.997	0.994
Max. and min. transmission	0.8025 and 0.7859	0.7944 and 0.7861	0.7984 and 0.7814	0.7870 and 0.7786
Data/restraints/parameters	4965/34/392	4891/1/352	5123/112/361	5030/0/348
Goodness-of-fit on <i>F</i> ²	1.081	1.055	1.047	1.054
Final <i>R</i> indices [<i>I</i> >2σ(<i>I</i>)]	<i>R</i> ₁ =0.0443, <i>wR</i> ₂ =0.1441	<i>R</i> ₁ =0.0375, <i>wR</i> ₂ =0.0967	<i>R</i> ₁ =0.0498, <i>wR</i> ₂ =0.1320	<i>R</i> ₁ =0.0317, <i>wR</i> ₂ =0.0944
<i>R</i> indices (all data)	<i>R</i> ₁ =0.0469, <i>wR</i> ₂ =0.1462	<i>R</i> ₁ =0.0407, <i>wR</i> ₂ =0.0993	<i>R</i> ₁ =0.0556, <i>wR</i> ₂ =0.1362	<i>R</i> ₁ =0.0339, <i>wR</i> ₂ =0.0963

不同浓度的ct-DNA (0~50 μM), 用Tris-HCl缓冲溶液定容, 混匀, 25℃下放置3.0 h, 不同浓度的DNA溶液为参比, 分别扫描230~500 nm范围内的紫外吸收.

为了准确表达配合物与DNA相互作用的强度, 可以根据下面公式求得两者间的结合常数(*K*_b). 小分子化合物与DNA相互作用的结合常数与其紫外吸收符合以下公式^[17,18]:

$$c_{\text{DNA}} / (\varepsilon_{\text{A}} - \varepsilon_{\text{F}}) = c_{\text{DNA}} / (\varepsilon_{\text{B}} - \varepsilon_{\text{F}}) + 1 / K_{\text{b}}(\varepsilon_{\text{B}} - \varepsilon_{\text{F}}) \quad (1)$$

式中ε_A为任意DNA浓度下溶液的摩尔消光系数、ε_F为自由配合物的摩尔消光系数、ε_B是配合物被DNA完全键合时的摩尔消光系数. 由 $c_{\text{DNA}} / (\varepsilon_{\text{A}} - \varepsilon_{\text{F}})$ 对 c_{DNA} 作图, 得出斜率和截距, 斜率和截距之比即为结合常数. 结合常数的大小反映了配合物与DNA间相互作用的强弱.

2.5.2 荧光光谱

在5 mL容量瓶中分别加入ct-DNA (30 μM)、EB (30 μM)及不同浓度的配合物溶液(0~80 μM), 用Tris-HCl缓冲溶液定容, 混匀, 25 $^{\circ}\text{C}$ 下放置3.0 h, 分别扫描荧光光谱, 激发波长为258 nm, 发射波长见3.6.2小节中的图谱, 激发和发射光谱扫描狭缝宽度均为5.0 nm.

2.5.3 黏度实验

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 $\pm$ 0.02 $^{\circ}\text{C}$ 的超级恒温水槽中进行. 向乌氏黏度计中加入ct-DNA (50 μM)及不同浓度的配合物溶液(0~50 μM), 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的电子秒表测定, 每次加液后测量3次, 取平均值. 按照公式 $\eta=(t-t_0)/t_0$ 计算相对黏度^[19], 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.

2.6 分子对接

分子对接使用MOE (Molecular Operating Environment)软件进行, 用于对接的DNA分子从Protein Data Bank下载(编号: 453D), 经MOE软件去除内嵌小分子、去除水、加氢、计算点电荷及能量最低化后得到用于对接的DNA分子; 配合物通过Mercury 3.8将CIF文件转换为PDB文件, 然后导入MOE软件, 去除对称单元、配位溶剂分子及能量最低化后得到用于对接的配合物分子; 对接结果通过Discovery Studio 3.5绘图得到.

3 结果与讨论

3.1 合成

有机锡配合物(C1~C4)是通过杂环酰肼、苯甲酰甲酸、取代苄基锡在微波辐射条件下“一锅法”缩合而成的. 有机锡配合物常规的合成方法有搅拌回流法、溶剂热法及界面扩散法^[20], 最常用的为搅拌回流法. 本文在合成方法上改用微波辅助合成, 相比传统加热回流方式, 此方法具有反应时间短, 反应步骤简单, 环境污染少, 容易提纯, 且重现性好等特点.

不难发现, 本文合成的4个有机锡配合物的产率均在82%以上, 对比采用传统常规方法合成的类似配合物在产率上有了很大的提高; 并且本实验采用的是“一锅法”微波密闭合成反应, 将所有反应物一次性加入微波反应罐中, 再将装有反应物的密闭反应罐置于微波源中, 启动微波, 反应结束后冷却至室温再纯化, 整个反应时长为30 min, 显然, 反应操作简易、环保且时间短. 微波的加热效应对化学反应的促进作用来源于两个方面: 一方面是微波有极强的穿透作用, 可以在反应物内外同时均匀迅速地加热, 效率大大提高; 另一方面, 在密闭容器中压力增大、温度升高, 也能加快反应速度.

3.2 谱学研究

从配合物C1~C4的红外谱图中可以看出, C1~C4中羧基的反对称伸缩振动峰和对称伸缩振动峰的差值分别为239、259、236和234 cm^{-1} , 表明4个配合物中的羧酸根均以单齿形式与Sn配位^[21]. 此外, 配合物C1~C4在低波数区域均出现了Sn-O-Sn (626~634 cm^{-1})、Sn-O (545~570 cm^{-1})、Sn-N (472~482 cm^{-1})、Sn-C (430~441 cm^{-1})键的特征吸收峰, 表明有机锡配合物的形成, 并且初步证实4个配合物有着相似的化学结构^[7,22].

在 ^1H NMR谱中, 其各组峰的积分面积之比与预期结构的各组质子数之比相对吻合^[23]; 从谱图中可以看到, 配合物C2和C4中与锡原子相连的间氯苄基的亚甲基质子分别在3.40和3.41 ppm处出峰, 其峰形是由一个正常的单峰和一对小卫星峰组成, 这是Sn-H耦合的结果^[24], 其耦合常数 $J_{\text{Sn-H}}$ 分别为121.7和125.8 Hz; 而在配合物C1和C3中, 与锡相连的邻氯苄基的亚甲基质子分别呈现一组双重峰, 推测可能是由于与锡相连的邻氯苄基空间位阻比间氯苄基大, 导致邻氯苄基不能自由取向, 亚甲基的2个质子发生同碳耦合, 最终呈现双重峰. 4个配合物的其他氢质子出峰基本保持一致, 进一步说明了4个配合物具有相似的化学结构.

在 ^{13}C NMR谱中, 其各组峰与理论推测结构碳原子数相吻合^[23], 与X射线单晶衍射结果一致. 配合物C1~C4中苄基上亚甲基碳原子的出峰位置分别在29.54、37.03、29.38、37.41 ppm, 也是由一个正常的单峰和一对小卫星峰组成, 这是Sn-C耦合导致的.

在 ^{119}Sn NMR谱中, 配合物C1~C4分别在

-267.76、-389.63、-261.88、-396.99 ppm处呈现一个单峰, 对比二邻(间)氯苄基二氯化锡的Sn谱化学位移发生明显移动, 表明了配合物的生成; 同时, 从图谱可以发现, 氯原子在苄基上取代位置的变化对Sn谱的化学位移存在一定的影响。

在高分辨率质谱(HRMS)中, 配合物C1~C4均存在 $[M-CH_3OH+H]^+$ 和 $[2M-2CH_3OH+H]^+$ 质谱峰, 说明配合物在溶液状态下既有单体结构, 也有二聚结构, 且以单体结构为主, 结合X射线单晶衍射数据, 也说明晶体结构中的二聚Sn-O键强度有限, 在溶液状态下能够被解离。

3.3 晶体结构

配合物C1~C4的分子结构分别如图2所示。配合物C1~C4均为双锡核分子, 存在1个 Sn_2O_2 平面中心四元环, 环的中心就是分子的对称中心, 四元环由羧基氧原子以 μ_3 -桥连配位Sn原子, 且与2个锡原子的键长均不等。

以配合物C1为例, 在配合物C1结构中, Sn1与来自

配体中的2个氧原子O1和O2, 1个亚氨基氮原子N2, 1个配位甲醇氧原子O5, 来自2个邻氯苄基中的亚甲基碳原子C14和C21以及来自另1个配体分子中的 $O2^i$ 等配位, 形成七配位五角双锥构型。配体与中心锡原子形成两个五元($SnOCCN$ 和 $SnOCNN$)螯合环稳定结构, O1、O2、O5、N2、 $O2^i$ 占据了赤道平面的5个位置, 2个亚甲基碳原子C14和C21则占据了该平面两侧的轴向位置, 锡原子周围的键角O1-Sn1-N2 70.23°、N2-Sn1-O2 70.17°、O2-Sn1-O2ⁱ 65.17°、O2ⁱ-Sn1-O5 80.07°、O5-Sn1-O1 74.48°, 其加和为360.12°, 所以赤道平面的5个原子O1、O2、O5、N2、 $O2^i$ 基本位于同一平面; 轴向C14-Sn1-C21键角为161.64°, 与180°偏离了18.36°, 且赤道平面的5个原子与中心锡原子的键长不等(Sn1-O1 0.2160 nm; Sn1-O2 0.2314 nm; Sn1-O5 0.2415 nm; Sn1-N1 0.2265 nm; Sn1-O2ⁱ 0.2626 nm), 因此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、C3、C4与C1分子结构类似, 键参数差异不大, 中心锡原子也均为七配位畸变五角双锥构型, 与文献[25,26]报道的配合物相似。

图2 (a~d) 配合物C1~C4的分子结构(网络版彩图)

Figure 2 (a~d) The molecular structures of the complexes C1~C4 (color online).

3.4 热稳定性研究

为了研究配合物的热稳定性, 采用NETZSCH TG 209 F3热重分析仪, 在空气气氛下, 加热速度为 $20^{\circ}\text{C min}^{-1}$, 气体流速为 20 mL min^{-1} , 在 $40\sim 800^{\circ}\text{C}$ 范围内对配合物C1~C4进行热重测试, 随温度的升高, 配合物发生相似的失重过程. 以配合物C1为例, 当失去配位溶剂分子(甲醇)后, 在 $110\sim 250^{\circ}\text{C}$ 区间稳定, 之后有机配体氧化分解, 最终生成金属氧化物 SnO_2 , 残留量为22.35%, 与计算值22.18%接近. 上述热分析结果表明, 配合物C1的基本骨架结构可稳定存在于 250°C 之下(图3). 同理分析可知, 配合物C2~C4的基本骨架结构在 200°C 以下有较好的热稳定性(配合物C2~C4的TG-DTG曲线详见图S25~S27, 网络版补充材料).

3.5 体外抗癌活性研究

表2列出了配合物C1~C4和卡铂对体外培养癌细胞NCI-H460 (人肺癌细胞)、HepG2 (人肝癌细胞)、MCF7 (人乳腺癌细胞)以及HL7702 (正常人体肝细胞)的半抑制浓度(IC_{50}). 从表2数据可以看出, 配合物C1~C4对所测试的3种癌细胞均有一定的体外抑制活性, C1对NCI-H460、HepG2和MCF7 3种癌细胞最为敏感, 其 IC_{50} 值分别为4.18、2.41和 $3.19\text{ }\mu\text{M}$, 结合C1~C4的分子结构, 可以发现具有相同配体不同取代苯基锡的两组配合物(C1、C2和C3、C4)的活性差异比具有相同取代苯基锡不同配体的配合物(C1、C3和C2、C4)活性差异明显较大, 因此推测该类基于杂环酰胺配体取代苯基锡配合物的抗癌活性受烷基锡和杂环酰胺配体协同调控, 但是烷基锡对其影响比杂环酰胺配体更大. 而且, 从表中数据还可以看出, 邻位氯取代苯基的配合物(C1, C3)对3种癌细胞的体外抑制活性优于间位氯取代苯基的配合物(C2, C4), 由此进一

图3 配合物C1的TG-DTG曲线(网络版彩图)

Figure 3 The TG-DTG curve of C1 (color online).

步推测取代苯基锡上的邻位可能为主要药效团, 能够更好地调控配合物的抗癌活性.

测试药物的细胞毒性选择性可以用细胞毒性选择指数^[27-29](定义为 $\text{IC}_{50}(\text{正常细胞})/\text{IC}_{50}(\text{癌细胞})$)大小来区分. 细胞毒性选择指数大于3.0, 则表明对某肿瘤细胞具有明显的特异性. 对比配合物C1~C4和卡铂对正常肝细胞HL7702的毒性可以发现, 虽然配合物C1对正常肝细胞HL7702的毒性比卡铂略大, 但其细胞毒性选择指数4.69 (NCI-H460)、8.14 (HepG2)、6.15 (MCF7)均大于卡铂的3种癌细胞的细胞毒性选择指数(2.94 (NCI-H460)、2.78 (HepG2)、2.60 (MCF7)), 表明配合物C1比卡铂具有更好的细胞选择性. 因此, 配合物C1可以考虑做进一步化学优化, 成为金属有机抗癌药物候选化合物.

3.6 配合物与DNA的相互作用

3.6.1 紫外可见光谱

当配合物与DNA发生作用时, 紫外光谱吸收峰会

表2 配合物C1~C4对癌细胞的体外抑制活性

Table 2 *In vitro* inhibitory activities of the complexes C1~C4 towards cancer cells

化合物	IC_{50} (μM)			
	NCI-H460	HepG2	MCF7	HL7702
C1	4.18 ± 0.13	2.41 ± 0.11	3.19 ± 0.09	19.61 ± 0.43
C2	9.89 ± 0.35	10.90 ± 0.39	14.55 ± 0.43	16.77 ± 0.61
C3	8.93 ± 0.20	5.18 ± 0.21	6.89 ± 0.17	13.34 ± 0.56
C4	14.02 ± 0.44	8.40 ± 0.48	10.23 ± 0.28	11.73 ± 0.37
卡铂(Carboplatin)	7.26 ± 0.32	7.70 ± 0.25	8.22 ± 0.41	21.38 ± 1.03

表现出减色现象. 减色越明显, 表明配合物与DNA相互作用越强^[30]. 通过紫外光谱法研究了配合物C1与DNA相互作用. 在230~500 nm范围测定配合物C1与ct-DNA作用的吸收光谱, 结果如图4所示, 从图中可以发现, C1在250和360 nm附近有吸收, 并且C1的紫外吸收强度随着DNA浓度的增加出现减色效应, 减色率为14.4%, 红移并不明显. 出现这种差异的原因可能是配合物C1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, 配合物可能通过嵌入作用与双链ct-DNA结合.

通过式(1)计算可得, 配合物C1与DNA的结合常数 K_b 为 $8.2 \times 10^3 \text{ L mol}^{-1}$. 与文献[31,32]报道的类似配合物与DNA作用的结合常数大小相近.

3.6.2 荧光光谱

EB是研究小分子与DNA相互作用的荧光探针, 且其作用模式是一种典型的嵌插作用. 由于DNA自身荧光很弱, 与EB结合后其荧光增强, 当在EB-DNA复合体系加入受试物时, 受试物和EB竞争与DNA的结合位点, 使体系中的EB游离出来, 从而导致体系的荧光强度降低或猝灭.

图5显示, 在EB-DNA体系中, 在594 nm波长下, 随着配合物C1浓度的增加, 体系的荧光强度明显减弱.

图4 配合物C1与DNA相互作用的紫外谱图. $c_{\text{complex}} = 50 \mu\text{M}$; (a~f) 浓度分别为 $c_{\text{DNA}} = 0, 10, 20, 30, 40, 50 \mu\text{M}$; 插图为 $c_{\text{DNA}}/(\epsilon_A - \epsilon_F)$ vs. c_{complex} (网络版彩图)

Figure 4 UV-visible spectra of C1 upon addition of DNA ($c_{\text{complex}} = 50 \mu\text{M}$); from (a) to (f), $c_{\text{DNA}} = 0, 10, 20, 30, 40$, and $50 \mu\text{M}$, respectively. Inset: plot of $c_{\text{DNA}}/(\epsilon_A - \epsilon_F)$ vs. c_{complex} (color online).

因此说明配合物C1可能和EB竞争与DNA结合, 使体系中的EB游离出来, 从而导致体系荧光强度减弱, 其作用方式可能为嵌插作用, 与分子对接模拟出来的结果一致. 而且根据经典Stern-Volmer方程^[33,34]: $I_0/I = 1 + K_{\text{SV}}c_{\text{complex}}$, 由曲线拟合推断其作用属于静态猝灭, 计算出配合物与DNA作用的猝灭常数 K_{SV} 为 $7.4 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1}$, 比文献[35]报道的结合常数略大, 表明配合物与DNA存在较强的插入作用.

3.6.3 黏度实验

黏度测定是检测配合物与DNA结合方式最有效的方法之一, 含有平面芳香稠环的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, 以容纳插入配体, 并导致DNA双螺旋长度增加, 从而增大溶液的黏度^[36,37]. 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, 导致溶液黏度下降. 而当化合物以沟面或静电方式与DNA作用时, DNA溶液黏度变化不大, 据此可区分不同的键合模式.

EB是典型的DNA嵌入剂, 与DNA发生作用时会使其黏度增加. 图6是DNA在不同浓度配合物C1和EB溶液存在下黏度的变化趋势. 从图中可以看出, 加入配合物C1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, 类似于EB, 并且上升趋势比EB更明显, 说明配合物以嵌入的方式与DNA结合,

图5 配合物C1与EB-DNA体系相互作用的荧光光谱图. $c_{\text{DNA}} = 30 \mu\text{M}$; $c_{\text{EB}} = 3 \mu\text{M}$; (a~i) 浓度分别为 $c = 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 \mu\text{M}$; 插图为 I_0/I vs. c_{complex} ; $\lambda_{\text{em}} = 594 \text{ nm}$ (网络版彩图)

Figure 5 Effects of complex C1 on the fluorescence spectra of the EB-DNA system ($c_{\text{DNA}} = 30 \mu\text{M}$, $c_{\text{EB}} = 3 \mu\text{M}$); from (a) to (i), $c_{\text{complex}} = 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70$, and $80 \mu\text{M}$, respectively. Inset: plot of I_0/I vs. c_{complex} , $\lambda_{\text{em}} = 594 \text{ nm}$ (color online).

图 6 不同浓度C1和EB对ct-DNA黏度的影响(网络版彩图)
Figure 6 Effect of increasing amounts of complex C1 and EB on the relative viscosity (color online).

DNA与配合物C1的作用力更强。

3.7 分子对接

分子模拟法能更直观地从分子水平模拟药物分子与DNA相互作用的模式, 并提供可视化的结果作为光谱学理论研究的补充和支持。图7是配合物C1与DNA分子对接图, 计算结果为配合物分子与DNA结合的最优构象, 可以看出, 配合物分子的螯合环存在一定程度的畸变, 配体的部分基团和1个邻氯苄基完全插入到DNA的小沟区域中, 说明配合物与DNA是以插入模式相互作用, 并且主要是利用芳环的平面嵌入到DNA小沟疏水区域中; 插入DNA的苄基邻位氯原子与鸟嘌呤-N2氨基氢原子存在氢键作用, 氢键键长为0.2762 nm, 而酰肼上的咪唑环基团裸露在外, 并未插入DNA结构中, 也表明酰肼上的芳杂环基团并非药效团, 这与抗癌活性、紫外-可见光谱、荧光光谱以及黏度实验的结论一致。

补充材料

本文的补充材料见网络版<http://chemcn.scichina.com>. 补充材料为作者提供的原始数据, 作者对其学术质量和内容负责。

参考文献

- Gedye R, Smith F, Westaway K, Ali H, Baldisera L, Laberge L, Rousell J. *Tetrahedron Lett*, 1986, 27: 279–282
- Bilecka I, Niederberger M. *Nanoscale*, 2010, 2: 1358–1374
- Pan L, Liu X, Sun Z, Sun CQ. *J Mater Chem A*, 2013, 1: 8299–8326
- Hazervazifeh A, Moghaddam PA, Nikbakht AM. *J Food Process Eng*, 2017, 40: e12463
- Shang XM, Wu J, Li QS. *Sci China Ser B-Chem*, 2008, 38: 429–440 (in Chinese) [尚先梅, 吴军, 李青山. 中国科学B辑: 化学, 2008, 38: 429–

图 7 配合物C1与DNA分子模拟对接(网络版彩图)
Figure 7 Molecular modeling of the interaction between C1 and DNA (color online).

4 结论

利用微波“一锅法”合成了4个取代苄基锡配合物(C1~C4); 结构分析表明, 4个配合物分子均为双锡核分子, 以 Sn_2O_2 四元环为中心对称, 且锡原子与配位原子形成七配位畸变五角双锥构型。热分析结果表明, 在空气气氛下, 配合物C1~C4的基本骨架结构在200℃以下均可稳定存在。研究了配合物C1~C4对癌细胞NCI-H460、HepG2、MCF7以及正常人体肝细胞HL7702的体外抑制活性, 结果显示配合物C1有望作为抗癌药物的候选化合物; 用紫外光谱、荧光光谱、黏度、分子对接实验研究配合物C1与DNA的相互作用, 结果表明配合物C1与DNA的作用方式应为插入结合; 药效团可能为苄基邻位取代基团。

440]

- 6 Butt AF, Bhatti MH, Aamir M, Ch MA, Tahir MN, Sher M, Ahmed MJ, Akhtar J. *ChemistrySelect*, 2018, 3: 10325–10332
- 7 Nath M, Saini PK. *Dalton Trans*, 2011, 40: 7077–7121
- 8 Pellerito C, Nagy L, Pellerito L, Szorcsik A. *J Organomet Chem*, 2006, 691: 1733–1747
- 9 Wang K, Tang S, Hu ZB, Zou HH, Wang XL, Li Y, Zhang SH, Chen ZL, Liang FP. *RSC Adv*, 2018, 8: 6218–6224
- 10 Kawabata S, Ousaka N, Yashima E. *Chem Commun*, 2018, 54: 2417–2420
- 11 Jana A, Konar S, Mandal TN, Das K, Ray S, Sarkar A, Liu CM, Kar SK. *Polyhedron*, 2012, 46: 105–112
- 12 Jiang WJ, Tan YX, Yu JX, Zhu XM, Zhang FX, Kuang DZ. *Chin J Inorg Chem*, 2016, 32: 1383–1390 (in Chinese) [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: 1383–1390]
- 13 Tan YX, Zhang ZJ, Feng YL, Yu JX, Zhu XM, Kuang DZ, Jiang WJ. *Chin J Struct Chem*, 2017, 36: 925–936 (in Chinese) [谭宇星, 张志坚, 冯泳兰, 庾江喜, 朱小明, 邝代治, 蒋伍玖. 结构化学, 2017, 36: 925–936]
- 14 Tan Y, Zhang Z, Tan Y, Kuang D, Yu J, Zhu X, Jiang W. *J Coord Chem*, 2017, 70: 2606–2624
- 15 Tan YX, Zhang ZJ, Feng YL, Yu JX, Zhu XM, Zhang FX, Kuang DZ, Jiang WJ. *J Inorg Organomet Polym*, 2017, 27: 342–352
- 16 Sheldrick GM. SHELXTL Version 5.03. Madison: Siemens Analytical X-ray Division, 1994
- 17 Pyle AM, Rehmann JP, Meshoyrer R, Kumar CV, Turro NJ, Barton JK. *J Am Chem Soc*, 1989, 111: 3051–3058
- 18 Liu K, Yan H, Chang G, Li Z, Niu M, Hong M. *Inorg Chim Acta*, 2017, 464: 137–146
- 19 Tan C, Liu J, Chen L, Shi S, Ji L. *J Inorg Biochem*, 2008, 102: 1644–1653
- 20 Xu RR, Pang WQ, Huo QS. *Inorganic Synthesis and Preparative Chemistry*. Beijing: Higher Education Press, 2009
- 21 Javed F, Ali S, Shahzadi S, Sharma SK, Qanungo K, Tahir MN, Shah NA, Khan MR, Khalid N. *J Inorg Organomet Polym*, 2016, 26: 48–61
- 22 Wang F, Yin H, Cui J, Zhang Y, Geng H, Hong M. *J Organomet Chem*, 2014, 759: 83–91
- 23 Pretsch E, Buhlmann P, Martin B. *Structure Determination of Organic Compounds, Tables of Spectral Data*. Fourth. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2009
- 24 Davies AG. *Organotin Chemistry*. 2nd Ed. Berlin: Wiley VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2004
- 25 Feng YL, Zheng JH, Jiang WJ, Tan YX, Yu JX, Zhang ZJ, Zhang FX, Kuang DZ. *Chin J Inorg Chem*, 2014, 30: 2767–2774 (in Chinese) [冯泳兰, 郑建华, 蒋伍玖, 谭宇星, 庾江喜, 张志坚, 张复兴, 邝代治. 无机化学学报, 2014, 30: 2767–2774]
- 26 Shang X, Meng X, Alegria ECBA, Li Q, Guedes da Silva MFC, Kuznetsov ML, Pombeiro AJL. *Inorg Chem*, 2011, 50: 8158–8167
- 27 Breslow R, Overman LE. *J Am Chem Soc*, 1970, 92: 1075–1077
- 28 Qin QP, Wang SL, Tan MX, Liu YC, Meng T, Zou BQ, Liang H. *Eur J Med Chem*, 2019, 161: 334–342
- 29 Zhou HY, Dong FQ, Du XL, Zhou ZK, Huo HR, Wang WH, Zhan HD, Dai YF, Jing Meng YF, Sui YP, Li J, Sui F, Zhai YH. *Bioorg Med Chem Lett*, 2016, 26: 3876–3880
- 30 Qin QP, Meng T, Wei ZZ, Zhang CH, Liu YC, Liang H, Chen ZF. *Eur J Inorg Chem*, 2017, 2017(12): 1824–1834
- 31 Sirajuddin M, Ali S, Haider A, Shah NA, Shah A, Khan MR. *Polyhedron*, 2012, 40: 19–31
- 32 Nath M, Mridula M, Kumari R. *J Photochem Photobiol B-Biol*, 2017, 174: 182–194
- 33 Xu JG, Wang ZB. *Fluorescence Analysis*. 3rd Ed. Beijing: Science Press, 2006
- 34 Zhao GL, Shen JB, Xian HD. *Sci China Chem*, 2012, 42: 983–994 (in Chinese) [赵国良, 沈金杯, 咸会朵. 中国科学: 化学, 2012, 42: 983–994]
- 35 Yang Y, Hong M, Xu L, Cui J, Chang G, Li D, Li C. *J Organomet Chem*, 2016, 804: 48–58
- 36 Shah FA, Fatima K, Sabir S, Ali S, Qadri I, ud Din N. *J Photochem Photobiol B-Biol*, 2016, 154: 99–107
- 37 Zhang S, Yuan H, Tian L. *J Mol Struct*, 2017, 1130: 760–764

Microwave-assisted self-assembly synthesis of organotin complexes and biological activities

Wujiu Jiang, Yuxing Tan, Daizhi Kuang, Fuxing Zhang, Mengqin Liu*

Key Laboratory of Functional Metal-Organic Compounds of Hunan Province, Key Laboratory of Functional Organometallic Materials, University of Hunan Province, College of Chemistry and Material Science, Hengyang Normal University, Hengyang 421008, China

*Corresponding author (email: lmq2016@hynu.edu.cn)

Abstract: Four organotin complexes (**C1–C4**) were synthesized by microwave and characterized by elemental analysis, IR, Vis-UV, ^1H NMR, ^{13}C NMR, ^{119}Sn NMR, HRMS, X-ray single crystal diffraction, and thermogravimetric analysis. The structural analysis showed that complexes **C1–C4** are centrosymmetric dimer structure with a four-membered central endo-cyclic Sn_2O_2 unit. The inhibitory activities of **C1–C4** against cancer cells (NCI-H460, HepG2, MCF7) and normal human liver cell (HL7702) were tested by 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2-*H*-tetrazolium bromide (MTT). The results showed **C1** has the highest inhibitory activity and is a potential anticancer drug. Meanwhile, the UV spectroscopy, fluorescence spectroscopy, viscosity method and molecular docking experiment showed the interaction between the complex **C1** and DNA is intercalation.

Keywords: organotin complexes, hydrazone, self-assembly synthesis, crystal structure, biological activity

doi: [10.1360/SSC-2019-0023](https://doi.org/10.1360/SSC-2019-0023)