

二正丁基锡(IV)-邻菲咯啉-单核苷酸 混配配合物的合成与表征

李青山^{a,b} 杨 频^{b*} 田燕妮^a 郭茂林^b

(^a南京大学配位化学国家重点实验室 南京 210093) (^b山西大学分子科学研究所 太原 030006)

吴文士 万嘉铸

(华侨大学化学系 泉州 362011)

摘要 本文研究了二正丁基邻菲咯啉二氯锡(IV) ($(n-Bu)_2SnCl_2(phen)$)与单核苷酸(Nu)在近生理 pH 水溶液中的作用,结果表明,二正丁基邻菲咯啉二氯锡(IV)的一个顺氯原子被单核苷酸取代,得到了 $(n-Bu)_2Sn(phen)(Nu)Cl$ 型混配新配合物,单核苷酸以磷酸根氧原子与锡(IV)键合,并给出了其结构.

关键词 有机锡配合物,单核苷酸,合成,表征

自八十年代初, Crowe 等^[1]首次报道六配位有机锡(IV)配合物 $R_2SnX_2(N\curvearrowright N)$ (R=烷基, 苯基; X=F, Cl, Br, I, NCS; N \curvearrowright N=双齿 N 螯合配体)对 P388 淋巴白血病有抗癌活性以来,对此类配合物已进行了大量的合成和抗癌活性筛选工作^[2,3]. 但其抗癌机理迄今仍不清楚,这方面的研究报道也不多^[2]. 一般认为,锡(IV)配合物可能是通过其在生理条件下的水解中间物与核酸作用进而抑制癌细胞核酸的复制^[4]. 因此,深入研究此类有机锡(IV)配合物与核酸的基本单元核苷酸和核苷的作用对于阐明它与 DNA 作用的方式无疑是十分重要的. 但目前未见 $R_2SnX_2(N\curvearrowright N)$ 型抗癌药物与核苷酸和核苷作用的报道,对其水溶液化学和与核酸作用的模式缺乏了解. 此类配合物与顺铂的结构相似,是否也有类似的作用机理模式? 为此,我们在前文^[5]的基础上集中研究此类有机锡(IV)配合物与核苷酸在生理条件下的作用,本文报道 $(n-Bu)_2SnCl_2(phen)$ ($n-Bu$ =正丁基, phen=邻菲咯啉)与 5'-AMP, 5'-CMP 和 5'-GMP 的反应,并对由此而析出的三个多元混配配合物用 500MHz 1H , ^{31}P NMR 和 FT-IR 对其结构进行表征.

1 实验

1.1 仪器

用 Perkin-Elmer 983 型红外光谱仪,以 KBr(4000~400 cm^{-1})和 CsI(400~200 cm^{-1})压片制样和用 Bruker AM-500MHz 超导核磁共振仪. 元素分析用 Perkin-Elmer 240c 元素分析仪测定. 热分析用 Shimadzu DT-40 热分析仪. 氯含量是先将样品用硝酸处理后,再用 $AgNO_3$

滴定法测定,并用热重分析法^[6]和分光光度法^[7]分别测定锡含量和磷的含量.

1.2 试剂

$(n-Bu)_2SnCl_2(phen)$ 按文献方法合成和重结晶^[8],并经熔点和 IR 谱验证与文献相符. 5'-鸟苷单磷酸(5'-GMP), 5'-腺苷单磷酸(5'-AMP)和 5'-胞苷单磷酸(5'-CMP)均为生化试剂,其它试剂均为分析纯.

1.3 合成方法

$(n-Bu)_2Sn(phen)(5'-AMP)Cl(1)$ 将 1mmol $(n-Bu)_2SnCl_2(phen)$ 溶于甲醇-水的混合溶剂中,并与 1mmol 5'-AMP 的水溶液混合,在 37°C 下作用 48h 后,此时 pH 值降为约 3.5,然后用 0.1mol/L 的 NaOH 溶液缓慢地调节 pH 至 6.0,得一微浊溶液,37°C 下继续作用 24h,滤去不溶物后滤液于 50~60°C 水溶液上缓慢蒸发析出大量白色粉末状固体,过滤,用水和甲醇多次洗涤,产物置于 P_2O_5 上真空干燥. m. p. 193.1~194.7°C (分解). $C_{30}H_{39}ClN_7O_7PSn$ (计算值:C, 45.33; H, 4.91; N, 12.34; Cl, 4.47; Sn, 14.95; P, 3.91. 实测值:C, 45.11; H, 5.13; N, 12.24; Cl, 4.45; Sn, 15.11; P, 3.98). ν_{max} : 1648(s, δ_{NH_2}), 1471(s, $\delta_{C(2)-H} + \delta_{C(8)-N(7)}$), 1426(m, $\nu_{N(1)-C(6)}$), 1371(m, $\nu_{pyrimidine\ ring}$), 1330(m, $\nu_{C(2)-N(3)} + \nu_{C(8)-N(9)} + \nu_{N(5)-C(7)}$), 1300(m, $\delta_{C(8)-H} + \nu_{C(8)-N(7)}$), 1097(s, ν_a, PO_3^{2-}), 1007(m, ν_s, PO_3^{2-}), 810(m, ν_{P-O}), 727(s, ν_{phen}), 539(m, ν_{Sn-O}), 508, 465(m, ν_{Sn-C}), 418(m, ν_{Sn-N}), 230(m, ν_{Sn-Cl}) cm^{-1} .

$(n-Bu)_2Sn(phen)(5'-CMP)Cl(2)$ 在 1mmol $(n-Bu)_2SnCl_2(phen)$ 的甲醇-水的溶液中加入 1mmol 5'-CMP 的水溶液,在 37°C 下作用 48h 后,其 pH 降为 3.2,然后用 0.1mol/L 的 NaOH 溶液调节至 6.0. 37°C 下继续作用 24h,并维持 pH 值不变,滤去少量不溶物,在 50~60°C 下浓缩至析出白色固体,过滤,用水、甲醇多次洗涤,置于 P_2O_5 上真空干燥. m. p. 196.9~198.7°C (分解). $C_{29}H_{39}ClN_5O_8PSn$ (计算值:C, 45.18; H, 5.06; N, 9.09; Cl, 4.61; Sn, 15.41; P, 4.02. 实测值:C, 45.03; H, 5.29; N, 9.47; Cl, 4.57; Sn, 15.32; P, 4.13). ν_{max} : 1698(sh, $\nu_{C(2)=O} + \delta_{NH_2}$), 1648(s, $\delta_{NH_2} + \nu_{C=N}$), 1492(s, $\nu_{C(4)-N(3)} + \nu_{C(2)-N(3)}$), 1377(w, δ_{C-C-H}), 1103, 1079, (s, ν_a, PO_3^{2-}), 1008(m, ν_s, PO_3^{2-}), 853(m, ν_{P-O}), 727(s, ν_{phen}), 558(w, ν_{Sn-O}), 543, 508(m, ν_{Sn-C}), 419(w, ν_{Sn-N}), 227(m, ν_{Sn-Cl}) cm^{-1} .

$(n-Bu)_2Sn(phen)(5'-GMP)Cl(3)$ 在 1mmol $(n-Bu)_2SnCl_2(phen)$ 的甲醇-水溶液中加入 1mmol 5'-GMP 的水溶液,立即析出白色沉淀, pH 降为 3.5. 在 37°C 下作用 48h 后,用 0.1mol/L NaOH 溶液缓慢调节 pH 为 6.0. 37°C 下,继续反应 12h,过滤,白色粉末状固体经水、甲醇多次洗涤以后置于 P_2O_5 上真空干燥. m. p. 257°C (分解). $C_{30}H_{39}ClN_7O_8PSn$ (计算值:C, 44.43; H, 4.82; N, 12.10; Cl, 4.38; Sn, 14.65; P, 3.83. 实测值:C, 44.75; H, 4.75; N, 12.26; Cl, 4.42; Sn, 14.75; P, 3.92). ν_{max} : 1689(s, $\nu_{C(6)=O}$), 1631(s, $\delta_{NH_2} + \nu_{C=N}$), 1488(m, $\nu_{C(8)-N(7)}$), 1359(m, $\nu_{pyrimidine\ ring}$), 1102, 1078(s, ν_a, PO_3^{2-}), 1009(m, ν_s, PO_3^{2-}), 835(m, ν_{P-O}), 729(s, ν_{phen}), 523(m, ν_{Sn-O}), 508, 462(m, ν_{Sn-C}), 421(m, ν_{Sn-N}), 226(m, ν_{Sn-Cl}) cm^{-1} .

2 结果和讨论

根据元素分析数据的计算,确定二正丁基锡-邻菲咯啉-单核苷酸多元配合物 **1, 2, 3** 的分子组成,红外光谱和 1H NMR 的数据也支持分子组成. 对配合物进行热分析时未观察到失水现象,表明配合物不含结晶水.

2.1 FT-IR 分析

由单核苷酸与金属离子作用前后其红外特征吸收峰的变化来判断单核苷酸与金属离子的结合位点已做了不少工作^[9,10]. 本文根据单核苷酸与二正丁锡(IV)键合后一些红外特征峰的位置移动或分裂可以判断配位点,并由二正丁基邻菲咯啉二氯锡(IV)特征吸收峰的变化来推断配合物的基本结构.

5'-AMP 与锡(IV)键合后, C(8)-H 键弯曲振动和 C(8)-N(7) 键伸缩振动吸收峰没有发生明显移动,表明嘌呤环上 N(7) 没有与锡(IV)直接配位^[9]. PO_3^{2-} 的非对称伸缩振动强峰移向高频处,同时其对称伸缩峰强度减弱,与 P-O 伸缩振动峰一样都移向高频,表示 PO_3^{2-} 可能与锡(IV)直接配位^[9].

5'-CMP 与锡(IV)配位后, $\nu_{\text{C}(2)=\text{O}}$ 和 δ_{NH_2} 均发生了明显移动,这可能是因分子内氢键强度变化和氢键更迭所致^[10]. 但其碱基环特征吸收峰以及 C(2)-N(3), C(4)-N(3) 伸缩振动峰未发生明显位移,表明 N(3) 可能未与锡(IV)直接配位; $\nu_{\text{a},\text{PO}_3^{2-}}$ 吸收峰分裂为两个峰, $\nu_{\text{s},\text{PO}_3^{2-}}$ 和 $\nu_{\text{P}-\text{O}}$ 吸收峰发生明显位移,且 $\nu_{\text{s},\text{PO}_3^{2-}}$ 强度减弱,表明 PO_3^{2-} 可能与锡(IV)直接配位^[10].

5'-GMP 与锡(IV)配位后, $\nu_{\text{C}(6)=\text{O}}$ 变化不大. $\delta_{\text{C}(8)-\text{H}}$ 和 $\nu_{\text{C}(8)-\text{N}(7)}$ 也未明显位移,且其嘌呤环特征吸收峰变化很小,表明嘌呤环上 N(7) 未与锡(IV)直接配位^[9]; 与 2 相似, $\nu_{\text{a},\text{PO}_3^{2-}}$ 吸收峰亦产生了分裂,观察到 $\nu_{\text{s},\text{PO}_3^{2-}}$ 和 $\nu_{\text{P}-\text{O}}$ 吸收峰的明显位移,且 $\nu_{\text{s},\text{PO}_3^{2-}}$ 的强度减弱,表明 PO_3^{2-} 可能与锡(IV)直接配位^[10].

螯合于二氯二正丁基锡(IV)上的邻菲咯啉在 728cm^{-1} 处有一很强的特征吸收峰,当锡(IV)与单核苷酸作用后,此特征吸收峰位移较小,且保持强度不变,同时,邻菲咯啉与锡(IV)配位后,产生的处于 415cm^{-1} 的特征 Sn-N 吸收峰,在锡(IV)与单核苷酸作用后,亦保持不变,表明邻菲咯啉未离去,也未发现单核苷酸以碱基氮原子与 Sn(IV)直接配位所产生的 Sn-N 吸收峰,此峰应位于 235cm^{-1} 左右^[5]. 二正丁基邻菲咯啉二氯锡(IV)在配位前有两个特征 Sn-Cl 峰,位于 240cm^{-1} 和 220cm^{-1} 处,当与单核苷酸键合以后,位于 240cm^{-1} 处峰消失,表明一个顺氯原子被单核苷酸取代^[11]. 二烷基锡一般易于形成六配位配合物,因此,单核苷酸是以单齿氧原子取代一个顺氯原子,并与其它配体一起与锡(IV)形成畸变八面体结构. 在配合物中都存在着 Sn-C 的对称和反对称两个振动峰,亦表明两个正丁基处于畸变八面体的反位^[5].

2.2 ^1H 及 ^{31}P NMR

核磁共振是确定核酸与金属离子配位方式的重要工具. 在顺铂、二氯二茂钛以及二茂钼等抗癌配合物与核酸、核苷作用研究中已广泛使用^[12,13].

表 1 单核苷酸和其相应的配合物 ^1H , ^{31}P NMR 数据(δ)

化合物	化学位移						
	H(2)	H(5)	H(6)	H(8)	H(1')	NH ₂	^{31}P
(<i>n</i> -Bu) ₂ Sn(phen)(5'-AMP)Cl	8.155s			8.365s	5.947d	7.230s	-1.938br
(<i>n</i> -Bu) ₂ Sn(phen)(5'-CMP)Cl		5.821d	7.850d		5.739d	7.053s	-7.997br
(<i>n</i> -Bu) ₂ Sn(phen)(5'-GMP)Cl				7.833s	5.712d	6.450s	-7.493br
5'-AMP	8.195s			8.332s	5.948d	7.296s	-0.281s
5'-CMP		5.805d	7.818d		5.717d	7.051s	0.534s
5'-GMP				7.884s	5.714d	6.441s	0.046s

溶剂为 DMSO-*d*₆, ^1H NMR 的内标为 TMS, ^{31}P NMR 以 85% 的 H_3PO_4 作外标.

表 1 为单核苷酸和相应的二正丁基锡(IV)配合物的核磁共振数据. 对 5'-AMP 和 5'-

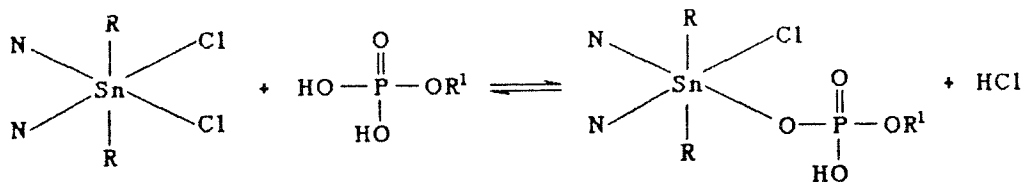
GMP,在与锡(IV)配位后,H(8)峰没有发生明显移动,证实其嘌呤碱基 N(7)未与锡(IV)直接配位;5'-AMP之H(2)峰在配位前后位移很小,亦表明 N(3)未与锡直接键合;对于5'-CMP,在与锡(IV)配位前后其H(5)和H(6)峰未发现有明显位移,表明其碱基 N(3)没有与锡(IV)直接配位,因此,由 FT-IR 和 ^1H NMR 的推断是一致的。

对于三个核苷酸和其相应的配合物,碱基上胺基质子峰无明显化学位移差别.证明胺基未与锡(IV)直接键合.同时,H(1')的质子峰在单核苷酸与锡(IV)配位前后变化很小,也排除了糖环氧原子与锡(IV)的直接配位^[14].由 ^1H NMR 的上述分析结果,可以推断唯一与锡(IV)配位的位点是磷酸根,并为 ^{31}P NMR 所证实。

^{31}P NMR 谱数据显示,单核苷酸与锡(IV)配合后,P峰明显移向高场并且宽化,对于CMP和GMP其位移值达8,这是单核苷酸与锡(IV)强烈作用所致,因此证实是磷酸根与锡(IV)直接配位,与由 IR, ^1H NMR 谱得到的推断一致。

通过对配合物中邻菲咯啉、二正丁基和单核苷酸特征质子峰积分面积的计算表明配合物中邻菲咯啉与正丁基和单核苷酸摩尔比为1:2:1,与元素分析结果相符。

据我们所知,本文是首次报道二正丁基邻菲咯啉二氯锡(IV)这一典型有机锡类抗癌配合物与核苷、核苷酸的作用研究.通过上述结构分析,二正丁基邻菲咯啉二氯锡(IV)与单核苷酸反应时,双氮配体并未离去,仅通过磷酸根氧原子取代其一个顺氯原子而形成畸变八面体结构。



R = 正丁基, R¹ = 鸟苷基, 腺苷基和胞苷基

我们曾报道二乙基邻菲咯啉二氯锡(IV)与碱基类似物5'-氟尿嘧啶在水相中的作用,其结果也是一个顺氯原子被5'-氟尿嘧啶取代^[5].因此,我们认为,二烃基邻菲咯啉二氯锡(IV)配合物在水相中的解离方式与顺铂是相似的^[5],即都是顺氯原子首先离去后与核苷酸作用,但与核苷酸结合位点却明显不同.顺铂可与鸟嘌呤 N(7)键合,而有机锡仅与磷酸根键合.Pt(II)是典型的软 Lewis 酸,而 Sn(IV)为硬 Lewis 酸,其配位化学性质必然不同,这些差别也会在配合物与 DNA 作用时反映出来.谢冰芳、唐雯霞等在研究二乙基邻菲咯啉二氯锡(IV)对 DNA 的损伤时发现,当双氮配体为平面邻菲咯啉时,配合物可切断 DNA,认为这可能是邻菲咯啉可嵌入到 DNA 中,通过金属离子的氧化还原作用,致使 DNA 断裂^[15].我们通过电子光谱、循环伏安法和以溴化乙锭(EB)作荧光探针法对二乙基邻菲咯啉二氯锡(IV)与 DNA 作用方式的研究,发现二乙基邻菲咯啉二氯锡(IV)首先作用于 DNA 的磷酸基并导致 DNA 构象改变,然后其邻菲咯啉配体嵌入到 DNA 中使 DNA 解旋断裂,其作用机制与顺铂可能不同.支持谢冰芳、唐雯霞等的结论^[16].进一步的研究正在进行之中。

参考文献

- 1 A. J. Crowe, P. J. Smith, G. Atassi, *Chem. Biol. Interact.*, **1980**, *32*, 171.
- 2 A. K. Saxena, F. Huber, *Coord. Chem. Rev.*, **1989**, *95*, 109.
- 3 C. Y. Wong, J. D. Wollins, *Coord. Chem. Rev.*, **1994**, *130*, 17.
- 4 R. Barbieri, G. Alonzo, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1987**, 789.
- 5 万嘉铸, 黄进所, *Inorg. Chim. Acta*, **1988**, *152*, 68.
- 6 P. G. Harrison, "Dictionary of Organometallic Compounds.", Vol. II. Chapman and Hall Ltd., New York, **1984**, p. 2152.
- 7 D. N. Fogg, *Analyst*, **1958**, *83*, 406.
- 8 W. P. Neumann, *Annalen*, **1962**, *653*, 157.
- 9 A. Grigoratou, N. Katsaros, *J. Inorg. Biochem.*, **1985**, *24*, 147.
- 10 H. A. Jajmir-Riad, *Can. J. Chem.*, **1983**, *61*, 1813.
- 11 C. J. Cardin, A. Roy, *Inorg. Chim. Acta.*, **1985**, *107*, 60.
- 12 Y. T. Fanchiang, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1986**, 138.
- 13 Y. K. Louis, G. K. Mercoui, *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, *113*, 9027.
- 14 C. J. Cardin, A. Roy, *Inorg. Chim. Acta*, **1986**, *125*, 65.
- 15 谢冰芳, 唐雯霞, 癌症, **1990**, *9*, 470.
- 16 李青山, 杨 频, 科学通报, 待发表.