

[研究简报]

四[对-(羧基甲氧基)苯基]卟啉金属配合物 (M=Zn, Cu, Ni)的 π - π 配合及其二丁基 锡(IV)酯衍生物的抗癌活性

韩高义^{1,2} 杨 频²

(1. 南京大学配位化学国家重点实验室, 南京 210093; 2. 山西大学分子科学研究所, 太原 030006)

关键词 四[对-(羧基甲氧基)苯基]卟啉配合物; 二丁基锡(IV); 体外抗癌活性

中图分类号 O643

文献标识码 A

文章编号 0251-0790(2001)12-1993-03

自1924年 Policard 发现血卟啉在癌组织内聚集以来, 人们对利用卟啉的荧光性质检测及治疗癌症进行了广泛的研究^[1,2]. 卟啉及金属卟啉的自聚合及与配体的 π - π 配合反应对理解卟啉的生物功能具有重要意义^[3~6]. 有机锡(IV)类化合物自被发现有抗癌活性以来一直受到极大的关注^[7~9]. Mirisola 等^[9]研究了四[对-羧基苯基]卟啉有机锡(IV)酯化合物的体内抗癌活性. 我们合成了四[对-(羧基甲氧基)苯基]卟啉的 Zn^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} 配合物及其二丁基锡(IV)酯衍生物, 测定了它们的体外抗肿瘤活性, 并研究了四[对-(羧基甲氧基)苯基]卟啉的 Zn^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} 配合物在水溶液中的 π - π 配合反应.

1 实验部分

1.1 仪器和试剂 Hewlett Packard-8453E 型二极管矩阵式 UV-Vis 光谱仪, Bruker-DRX 300型核磁共振仪, Shimadzu FTIR 8000型红外光谱仪(KBr 压片), PE-2000型元素分析仪.

所用试剂均为分析纯, 4-羟基苯甲醛用前重结晶, 吡咯购自 Fluka 公司, 用前重蒸.

1.2 四[4-(羧基甲氧基)苯基]金属卟啉二丁基锡酯衍生物的制备 用100 mg 四[4-(乙氧羰基甲氧基)苯基]卟啉^[10](TPPOE)在 DMF 中与过量相应金属醋酸盐(M=Zn, Cu, Ni)于80 °C下反应制备四[4-(乙氧羰基甲氧基)苯基]卟啉的金属配合物. 用硅胶柱色谱提纯. 锡(IV)配合物在吡啶中以 $SnCl_4 \cdot 2H_2O$ 与卟啉反应2 h 制得. 由相应的金属卟啉化合物(MTPPOE)水解制备四[4-(羧基甲氧基)苯基]卟啉金属配合物(MTPPOC), 以物质的量比为1:2的 MTPPOC 与二丁基氧锡在无水甲醇中回流反应6 h, 冷却后抽滤, 收集沉淀, 得金属卟啉的二丁基锡(IV)酯化合物(MTPPOCSn). 表征数据列于表1.

Table 1 The ¹H NMR, IR and elemental analysis data of compounds

Compd.	Formula	¹ H NMR(δ)	IR, $\bar{\nu}/cm^{-1}$		Elemental analysis data(% , calcd.)		
			Bu C—H	C=O	C	H	N
ZnTOPPC	$C_{52}H_{36}N_4O_{12}Zn \cdot 4H_2O$	9.00(s, 8H), 8.48(s, 8H) 7.46(s, 8H), 4.88(s, 8H)	1 732s	59.29(59.71)	3.89(4.24)	5.17(5.35)	
CuTOPPC	$C_{52}H_{36}N_4O_{12}Cu \cdot 4H_2O$		1 732s	59.62(59.79)	3.88(4.24)	5.18(5.36)	
NiTOPPC	$C_{52}H_{36}N_4O_{12}Ni \cdot 4H_2O$	8.75(s, H), 7.91(d, 8H) 7.27(d, 8H), 4.89(s, 8H)	1 732s	59.87(60.11)	3.90(4.27)	5.21(5.39)	
SnTOPPC	$C_{52}H_{36}N_4O_{12}Sn(OH)_2 \cdot 4H_2O$	9.29(s, 8H), 8.26(d, 8H) 7.43(d, 8H), 4.95(s, 8H)	1 733s	54.94(55.23)	3.81(3.89)	4.86(4.80)	
ZnTPPOCSn	$C_{68}H_{68}N_4O_{12}ZnSn_2 \cdot 2H_2O$		2 954—2 968m	1 602s	55.02(55.49)	4.96(4.93)	3.67(3.80)
NiTPPOCSn	$C_{68}H_{68}N_4O_{12}NiSn_2 \cdot 2H_2O$		2 956—2 864m	1 606s	55.41(55.76)	4.97(4.95)	3.67(3.82)
CuTPPOCSn	$C_{68}H_{68}N_4O_{12}CuSn_2 \cdot 2H_2O$		2 956—2 869m	1 606s	55.30(55.54)	4.99(4.94)	3.76(3.81)

收稿日期: 2000-09-25.

基金项目: 国家自然科学基金(批准号: 29871020)和山西省自然科学基金(批准号: 991012)资助.

联系人简介: 杨 频(1933年出生), 男, 教授, 博士生导师, 主要从事生物无机和药物化学研究.

2 结果与讨论

红外光谱结果表明, 当 MTPPOC 和二丁基氧锡反应后, 在 $2956\sim 2862\text{ cm}^{-1}$ 范围内出现了丁基的 C—H 振动峰, 位于 1733 cm^{-1} 处的 C=O 振动峰移至 $1600\sim 1610\text{ cm}^{-1}$ 处, 有时因为谱峰重叠以至不能指认, 这说明二丁基氧锡的确与卟啉的羧基反应生成了目标化合物. 元素分析支持红外光谱结果. 二丁基锡卟啉酯化合物不易溶于大多数有机溶剂, 可能以聚合物形式存在^[9].

2.1 卟啉自聚合 在 $\text{pH}=7.4$ 的 Tris-HCl 缓冲液中 ($t=25\text{ }^\circ\text{C}$) 配制一系列不同浓度的 MTPPOC 溶液, 测其吸光值, 以吸光值对 MTPPOC 浓度作图. 结果表明, ZnTPPOC, NiTPPOC, CuTPPOC 的 Soret 吸收带分别位于 $421, 411, 412\text{ nm}$, 并分别在 $1\times 10^{-8}\sim 3\times 10^{-6}, 8\times 10^{-7}, 7\times 10^{-7}\text{ mol/L}$ 浓度范围内遵守郎伯-比尔定律. 用最小二乘法拟合得到它们的摩尔消光系数分别为 $6.05\times 10^5, 3.13\times 10^5, 4.41\times 10^5\text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$. 在包含有 0.10 mol/L KNO_3 , $\text{pH}=7.40$ 的 Tris-HCl 缓冲液中 ($t=25\text{ }^\circ\text{C}$), 在线性浓度范围内测定不同浓度 MTPPOC 的吸光值, 以吸光值对 MTPPOC 浓度作图, 结果表明, KNO_3 的存在使得 NiTPPOC, CuTPPOC 的 Soret 吸收带减色, 与不存在 KNO_3 时相同浓度下的吸光值相比有较大偏差. 而 ZnTPPOC 吸光值基本上符合线性关系. 电解质的存在引起的减色是由于电解质降低了卟啉周边负电荷的库仑斥力, 促使卟啉分子相互靠近, 通过分子间的范德华力形成卟啉二聚体^[11,12], 并符合以下关系式:

$$A_m - A_{\text{app}} = [(2\epsilon_m - \epsilon_D)(4Kc_0 + 1 - (1 + 8Kc_0)^{1/2})]/8K \quad (1)$$

式中, A_{app} 为所测波长下的表观吸光值, A_m 为不存在电解质时相同浓度下的吸光值, c_0 为卟啉的总浓度, ϵ_m, ϵ_D 分别为卟啉单体及二聚体的消光系数. 对所得数据进行非线性拟合, 求得 CuTPPOC, NiTPPOC 的二聚体生成常数分别为 $(2.31\pm 0.225)\times 10^6, (1.54\pm 0.16)\times 10^6\text{ L/mol}$, 而 ZnTPPOC 并没有明显的自聚合现象. 二聚体生成常数按 $\text{CuTPPOC} > \text{NiTPPOC} > \text{ZnTPPOC}$ 的顺序减小. 与文献^[11]中 MTCPP 与 MTSP 的二聚体生成常数顺序一致.

2.2 π - π 配合 用 UV-Vis 差光滴定法, 在 0.10 mol/L 的 NaOH 溶液中 ($t=25\text{ }^\circ\text{C}$) 测定金属卟啉与配体邻菲罗啉 (phen) 的 π - π 配位反应的平衡常数, 如图1. 随配体浓度变化, 卟啉配合物的 Soret 带呈规律性变化并存在一个等吸收点, 说明在体系中主要存在自由卟啉及与 phen 配合卟啉两种组分. 所得数据用式(2)进行曲线拟合.

$$A_{\text{obs}} - A_0 = \Delta\epsilon\{K(c_L + c_P) + 1 - \sqrt{[K(c_L + c_P) + 1]^2 - 4K^2c_Lc_P}\}/2K \quad (2)$$

式中 $A_{\text{obs}} - A_0$ 为所测得的光谱吸光值, $\Delta\epsilon$ 为反应前后卟啉的消光系数之差, c_L, c_P 分别为配体和卟啉的浓度. 求得 $K_{\text{Cu}} = (7.24\pm 0.67)\times 10^3, K_{\text{Ni}} = (1.74\pm 0.16)\times 10^3, K_{\text{Zn}} = (4.99\pm 0.35)\times 10^2\text{ L/mol}$. π - π 配位反应的平衡常数也按 $\text{CuTPPOC} > \text{NiTPPOC} > \text{ZnTPPOC}$ 顺序减小. 并在不超过 $20\text{ }^\circ\text{C}$ 的范围内测定了 CuTPPOC 与 phen 反应, 其 $\Delta H = -32.1\text{ kJ/mol}, \Delta S = -33.76\text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$, 说明这类反应为放热、熵减小过程.

2.3 体外抗癌活性研究 二丁基锡(IV)酯衍生物的体外抗肿瘤活性在上海药物研究所国家药物筛选中心测试. 结果见表2. 从表2数据可知, 四[对-(羧基甲氧基)苯基]卟啉的金属配合物 [$M = \text{Ni}^{2+}, \text{Cu}^{2+}, \text{Zn}^{2+}, \text{Sn}^{4+}(\text{OH})_2$] 均无明显抗癌活性, 只有当其周边连接有二丁基锡(IV)基团时, 才显示出良好的抗癌活性. 这说明化合物对癌细胞的抑制不是由卟啉环内的 $\text{Ni}^{2+}, \text{Cu}^{2+}, \text{Zn}^{2+}$ 离子和 $\text{Sn}^{4+}(\text{OH})_2$ 引起的, 而是由卟啉周边连接的二丁基锡(IV)基团所致. 而且卟啉环内金属离子的不同, 二丁基锡(IV)卟啉酯衍生物的抗肿瘤活性也不同. 文献^[2]指出, 连有卟啉基团药物的药效与卟啉中心金属离子有关. 本文所得体外抗肿瘤活性顺序为 $\text{CuTPPOCSn} \approx \text{NiTPPOCSn} > \text{ZnTPPOCSn}$. 卟啉化合物在肿

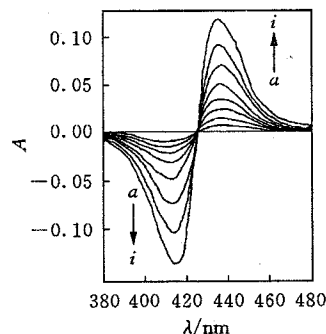


Fig. 1 The different spectra in Soret band of ZnTPPOC

$c_P = 6\times 10^{-7}\text{ mol/L}; c_L/\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$: a. 0.0; b. 5.24×10^{-4} ; c. 9.38×10^{-4} ; d. 1.68×10^{-3} ; e. 3.01×10^{-3} ; f. 3.68×10^{-3} ; g. 4.34×10^{-3} ; h. 5.00×10^{-3} ; i. 5.67×10^{-3} .

瘤组织中的富集与卟啉的相对疏水性有关, 而卟啉的自聚合能力及 π - π 配合能力基本上反映了卟啉的相对疏水性. 根据以上研究结果, 我们认为四(4-羧基甲氧基苯基)卟啉金属配合物(M=Ni²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺)的二丁基锡酯衍生物的抗肿瘤活性与它们的自聚合及 π - π 配合能力可能有相关性.

Table 2 The inhibition (%) of compound against P388 and A-549 tumor cell in different concentrations*

Compound	c/(mol·L ⁻¹)					Evaluation
	1×10 ⁻⁴	1×10 ⁻⁵	1×10 ⁻⁶	1×10 ⁻⁷	1×10 ⁻⁸	
ZnTPPOC	60.5(25.9)	0.0(0.0)	0.0(0.0)	0.0(0.0)	0.0(0.0)	N. E. (N. E)
CuTPPOC	13.4(59.7)	0.0(0.0)	0.0(0.0)	0.0(0.0)	0.0(0.0)	N. E. (N. E.)
NiTPPOC	14.7(60.0)	0.0(0.0)	0.0(0.0)	0.0(0.0)	0.0(0.0)	N. E. (N. E.)
SnTPPOC	68.6(30.9)	8.1(0.0)	2.3(0.0)	4.7(0.0)	0.0(0.0)	N. E. (N. E.)
ZnTPPOCSn	84.9(92.6)	79.1(96.3)	47.7(45.7)	5.8(0.0)	0.0(0.0)	N. E. (W. E.)
CuTPPOCSn	74.1(93.8)	96.5(97.5)	82.6(96.3)	72.1(76.5)	59.3(4.9)	S. E. (S. E.)
NiTPPOCSn	100.0(91.5)	100.0(93.4)	100.0(85.9)	100.0(66.8)	100.0(27.6)	S. E. (S. E.)

* Data in parentheses are against A-549 tumor cell; N. E., W. E. and S. E. represent no, weak and strongly effective respectively.

感谢中国科学院上海药物研究所国家药物筛选中心对药物活性的测试.

参 考 文 献

- 1 Latouche C., Pereyre M., Verlhac J. B.. Tetrahedron Lett. [J], 1995, **36**(10): 1 655—1 666
- 2 Ali H., van Lier J. E.. Chem. Rev. [J], 1999, **99**: 2 379—2 450
- 3 Schneider H. J., Wang M. X.. J. Org. Chem. [J], 1994, **59**(24): 7 464—7 472
- 4 Dancil K. P. S., Hilario L. F., Khoury R. G. et al.. J. Heterocycl. Chem. [J], 1997, **34**: 749—755
- 5 Pasternack R. F., Gibbs E. J., Gaudemer A. et al.. J. Am. Chem. Soc. [J], 1985, **107**(26): 8 179—8 186
- 6 Shelnutt J. A.. Inorg. Chem. [J], 1983, **22**(18): 2 535—2 544
- 7 Gielen M., Khlouf A. E., Blesmans M. et al.. Appl. Organomet Chem. [J], 1993, **7**: 119—125
- 8 LI Qing-Shan(李青山), LIU Rui-Ling(刘锐铃), HUANG Ji-Jun(黄计军) et al.. Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报)[J], 2000, **21**(4): 513—516
- 9 Mirisola M. G., Pellerito A., Fiore T. et al.. Appl. Organomet Chem. [J], 1997, **11**(6): 499—511
- 10 Keinan E., Benory E., Sinha C. et al.. Inorg. Chem. [J], 1992, **31**(26): 5 433—5 438
- 11 Pasternack R. F., Francesconi L., Raff D. et al.. Inorg. Chem. [J], 1973, **12**(11): 2 606—2 611
- 12 Pasternack R. F., Peter R., Huber P. et al.. J. Am. Chem. Soc. [J], 1972, **94**(8): 4 511—4 517

Aggregation and π - π Coordination of Tetra[4-carboxymethoxyphenyl] Porphyrin Metal Complex(M=Ni, Cu, Zn) and the Vitro Antitumor Activity of Dibutyltin(IV) Tetra[4-carboxymethoxyphenyl]porphyrinate

HAN Gao-Yi^{1,2}, YANG Pin^{2*}

(1. State Key Laboratory of Coordination Chemistry, Nanjing University, Nanjing 210093, China;

2. Institute of Molecule Science Research, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

Abstract Tetra[4-carboxymethoxyphenyl]porphyrin copper(II), nickel(II), zinc(II) complex and their dibutyltin(IV) ester derivatives have been synthesized and characterized. The equilibrium constants of the aggregation of the metal porphyrin and the equilibrium constant of the π - π coordination with phenothoroline have been measured by using UV-Vis titration method. The results show that the equilibrium constants decrease in the order of $K_{CuP} > K_{NiP} > K_{ZnP}$. The vitro anti-tumor activities of the dibutyltin(IV) metal porphyrinate has some relation with the ability of aggregation and coordination with ligand of the metal porphyrin.

Keywords Tetra[4-carboxymethoxyphenyl]porphyrin complex; Dibutyltin(IV); Vitro anti-tumor activity (Ed.: M, G)