



吲哚-2-羧酸双核铜配合物的生物活性研究

王祥聪, 张久惠, 王正阳, 徐美玉, 马蔼丽 (济宁医学院药学院, 山东 日照 276826)
指导老师 张震

摘要: 以活性小分子吲哚-2-羧酸为前驱物合成其铜配合物(ICA-Cu), 解析其结构为[Cu₂(C₈H₆O₂N)₄(H₂O)₂]·2H₂O。生物活性研究表明ICA-Cu配合物具有良好的抗氧化活性, 与DNA以经典插入方式相互作用, 且对人乳腺癌细胞系MCF-7和MDA-MB-231具有较强的抑制作用, 且呈浓度依赖关系。

关键词: 吲哚-2-羧酸; 铜配合物; 抗氧化活性; CT-DNA; 抗癌活性

1 前言

近年来, 癌症已严重威胁人类健康, 抗癌药物的研究也成为人们研究的热点。吲哚类化合物是一类具有生理活性的杂环生物碱, 特别是抗癌方面表现出广谱生物活性。吲哚-2-羧酸是药物合成过程中重要的小分子中间体, 本研究旨在合成吲哚-2-羧酸铜配合物研究其与小牛胸腺DNA的相互作用, 抗氧化活性以及细胞毒性作用, 以期新型抗癌药物的研制提供信息支持。

2 实验部分

2.1 配合物ICA-Cu的合成

将2.0 mmol的吲哚-2-羧酸溶于水中, 加入等当量的KOH, 形成吲哚-2-羧酸钾盐溶液。搅拌下, 滴入1.0 mmol醋酸铜的水溶液, 40-50°C反应3h, 逐渐产生深绿色沉淀, 过滤, 洗涤, 干燥, 得到吲哚-2-羧酸铜配合物(图1), 收率63%。元素分析[Cu₂(C₈H₆O₂N)₄(H₂O)₂]·2H₂O, 计算值(%): C, 51.49; H, 3.84; N, 6.67。实测值: C, 51.57; H, 3.90; N, 6.62。IR(KBr, cm⁻¹): 3437.61 ν(-NH-); 1510.92; ν_{as}(COO⁻); 1344.34 ν_s(COO⁻); 484.64 ν(Cu-O)。¹H NMR(DMSO-d₆, 600 MHz): δ(ppm) 7.012, 7.183 (1H, indole ring); 7.235, 7.471, 7.608 (1H, indole ring); 10.297 (s, -NH-, indole ring); 热重分析: 在25-120°C范围失重率4.34% (4.29%, 2H₂O); 残率19.75% (19.05%, CuO)。λ_m(S·cm⁻¹): 16.52。

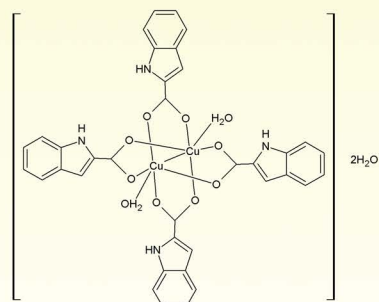


图1 ICA-Cu配合物的结构

2.2 荧光光谱法研究ICA-Cu配合物与DNA的作用方式

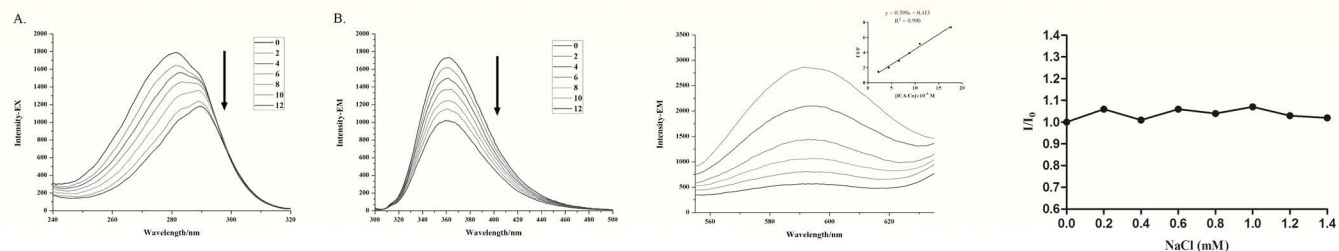


图2 不同浓度的DNA溶液对ICA-Cu配合物荧光光谱和发射光谱的影响
r = 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 (r = [DNA]/[ICA-Cu])

图3 不同浓度ICA-Cu对EB-DNA体系的荧光猝灭
r = 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 (r = [ICA-Cu]/[EB-DNA])

图4 不同浓度NaCl对ICA-Cu-DNA的荧光强度的影响曲线

图2结果表明, DNA溶液浓度的增加对ICA-Cu配合物的荧光光谱有较为明显的影响, 激发光谱和发射光谱的强度随之减弱, 且激发峰发生了明显红移, 说明ICA-Cu配合物与DNA发生相互作用。

图3结果表明, 在594 nm处, EB-DNA体系的荧光强度随着ICA-Cu配合物的加入, 发生了明显的减弱, 当ICA-Cu与EB-DNA体系的浓度比12:1, 荧光强度基本猝灭。表明ICA-Cu配合物可以取代EB-DNA体系中的部分EB分子, 从而减弱EB-DNA体系的荧光强度。因此, ICA-Cu配合物以插入方式与DNA发生了相互作用。

图4结果表明, 随着Na⁺浓度的增加, 配合物-DNA体系的荧光强度并没有发生明显变化, 说明ICA-Cu与DNA之间并不是以静电结合发生相互作用, 验证ICA-Cu以插入的方式与DNA作用。

2.3 黏度法研究ICA-Cu配合物对DNA溶液粘度的影响

图5结果表明, 混合体系的相对粘度随着[ICA-Cu]/[DNA]比例增大而增大, 说明ICA-Cu配合物可能以经典插入方式与DNA发生相互作用。

2.4 ICA-Cu配合物体外抗氧化活性

图6结果表明, 铜配合物对DPPH自由基、ABTS自由基和羟基自由基的清除率均随着浓度的增加而增大。当浓度达到50 μM时, 清除率分别达到55%、65%、90%, 且对ABTS自由基的清除作用优于DPPH自由基和羟基自由基。

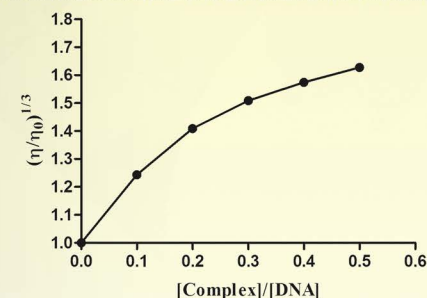


图5 ICA-Cu与DNA溶液作用后的相对粘度
r=0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 (r=[ICA-Cu]/[DNA])

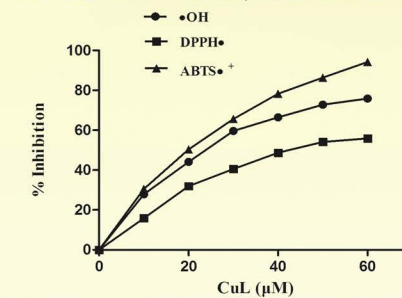


图6 ICA-Cu对DPPH, OH和ABTS自由基的清除作用

2.5 体外抗肿瘤活性研究

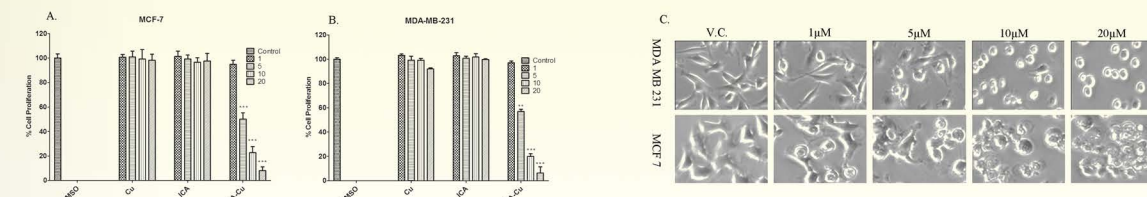


图7 不同浓度ICA-Cu对人乳腺癌MCF-7和MDA-MB-231细胞增殖的抑制作用和细胞形态分析

图7结果表明, 与DMSO处理相比, 配合物ICA-Cu对人乳腺癌MCF-7和MDA-MB-231细胞增殖的抑制作用均随浓度的增加而增强, 浓度达到20 μM, 抑制率达到90%以上。配体ICA对肿瘤细胞几乎没有抑制作用。不同浓度配合物ICA-Cu处理人乳腺癌MCF-7和MDA-MB-231细胞24h后, 均出现不同程度的细胞形态变化, 浓度达到20 μM, 肿瘤细胞几乎全部凋亡。

3 结论

本研究以吲哚-2-羧酸为配体合成了其铜配合物, 通过元素分析, 红外光谱, 紫外-可见光谱, ¹H NMR对其进行结构表征, 推断其结构为[Cu₂(C₈H₆O₂N)₄(H₂O)₂]·2H₂O。生物活性实验结果表明ICA-Cu配合物与小牛胸腺DNA发生了作用, 且以经典插入方式与DNA发生作用。在体外清除自由基结果表明ICA-Cu配合物表现出了良好的清除DPPH自由基、ABTS自由基及羟基自由基的能力。细胞增殖分析结果表明ICA-Cu对人乳腺癌细胞系MCF-7和MDA-MB-231均具有良好的抑制作用, 且呈浓度依赖关系。细胞形态结果表明配合物可能是通过诱导肿瘤细胞凋亡的途径抑制肿瘤细胞增殖。本研究为新型金属抗肿瘤药物的研发提供了理论依据, 然而还需在动物实验对其药效和毒性进一步研究。

*基金项目: 国家级大学生创新创业训练计划项目 (No: 201510443003); 济宁医学院大学生创新训练计划项目 (No: cx2015055)

参考文献

[1] SKROTT Z, CVEK B: Diethyldithiocarbamate complex with copper: the mechanism of action in cancer cells[J]. Mini Rev Med Chem, 2012, 12: 1184-1192.
[2] BERNERS-PRICE SJ, et al: Gold compounds as therapeutic agents for human diseases[J]. Metallomics, 2011, 3:863-873.
[3] CHEN D, CUI QC, YANG H, et al: Clioquinol, a therapeutic agent for Alzheimer's disease, has proteasome-inhibitory, androgen receptor-suppressing, apoptosis-inducing, and antitumor activities in human prostate cancer cells and xenografts[J]. Cancer Res, 2007, 67: 1636-1644.
[4] KUMAR L, BALA S, JEET K. The Diverse Pharmacological Importance of Indole Derivatives: A Review [J]. Int. J. Res. Pharm. Sci., 2012, 2(2) :23-33.
[5] ZHANG Z, BI CF, et al. 1, 10-Phenanthroline promotes copper complexes into tumor cells and induces apoptosis by inhibiting the proteasome activity[J]. Journal of Biological Inorganic Chemistry, 2012, 17: 1257-1267.