

## 桑色素与III<sub>B</sub>族金属的合成、 抗癌与抗氧性的研究<sup>②\*</sup>

<sup>a c)</sup>张岐 <sup>a)</sup>顾尚香 <sup>a)</sup>王流芳<sup>①</sup> <sup>c)</sup>李树本 <sup>b)</sup>李克勤 <sup>a)</sup>刘培念

(<sup>a)</sup>兰州大学应用有机国家重点实验室, <sup>b)</sup>生物学系, 730000, 兰州)

(<sup>c)</sup>中科院兰州化学物理所 OSSO 国家重点实验室, 730000, 兰州)

随着癌基因( oncogenes)的揭秘<sup>[1]</sup>,人们开始认识到外界因素的影响可诱使脊椎动物的原癌基因突变为癌基因,并按其表达,即诱发癌症.近年来的研究表明自由基对 DNA 具有很大的损伤,并逐渐查明一些化疗抗癌药物在体内会产生大量自由基<sup>[2]</sup>.这种作用对杀伤癌细胞可能是有利的,但在杀伤癌细胞的同时正常细胞无疑也将受到损伤.按 Bishop 的观点,对 DNA 产生损伤的物质将面临诱发原癌基因突变为癌基因的可能,即诱发新的癌症<sup>[1]</sup>.这种假设在临床中得到证实(如经常服用烷化剂类药物的病人,在以后常易患白血病<sup>[3]</sup>).那么寻找既具有较高抗肿瘤活性同时又具有较高的清除自由基活性的药物将是一项有意义的工作.桑色素(Morin)是一种天然黄酮类化合物(2',3,4',5,7-五羟基黄酮).其抗菌、抗病毒、抗氧化性和抗癌活性已有不少的报导<sup>[4,5]</sup>,但无论其抗氧化性还是抗肿瘤活性都不很高.合成 Sc(III), Y(III), La(III) 种金属离子与桑色素形成的金属配合物,其目的是想通过金属离子的协同作用来提高其活性.

### 1 配合物的合成

桑色素与 Sc(III), Y(III), La(III) 配合物的合成: 将 0.1 mmol Morin·2H<sub>2</sub>O 的无水乙醇溶液(含一定量碱性物质)和 0.1 mmol 金属醋酸酸盐在回流温度下混合搅拌反应 8h,冷却后加入溶液体积的 3 倍水,经陈化,吸滤,用 V(乙醇): V(水)= 1: 3 溶液洗涤后干燥至恒重.

### 2 配合物的组成

配合物中 C, H 含量用意大利产 1106 型元素分析仪测定,金属含量用络合滴定法测定.由元素分析结果(表 1)和红外光谱可以确定形成的 Sc(III), Y(III), La(III) 桑色素配合物的组成

表 1 配合物的元素分析值(括号内为理论值)

化合物	C%	H%	M(III)%
ScL <sub>2</sub> Aé·3H <sub>2</sub> O	50.24(50.40)	3.29(3.57)	5.98(5.89)
YL <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O	49.43(48.97)	3.62(3.56)	7.51(8.05)
LaL <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O	46.72(46.97)	3.59(3.68)	12.19(12.07)

(见表 2). Sc(III) 与 Y(III) 和 La(III) 的配合物的组成略有不同,这可能是 Sc 的离子半径较小,

\* 收稿日期: 1996-03-15.

张岐, 3 岁, 男, 博士研究生.

① 通讯联系人. ② 甘肃省自然科学基金资助项目.

不能同时与三个配体络合的缘故. Y(III), La(III)的桑色素配合物则组成比相同.

表2 桑色素及其配合物的主要吸收频率  $\text{cm}^{-1}$

化合物	$\nu_{\text{O-H}}$	$\nu_{\text{C=O}}$	$\nu_{\text{COO}^-}$		$\nu_{\text{C-O-C}}$	$\nu_{\text{M-O}}$
			$\nu_{\text{as}}$	$\nu_{\text{s}}$		
Moniri 2H <sub>2</sub> O (HL 2H <sub>2</sub> O)	3 477	3 299	1 652	—	—	1 245
ScL <sub>2</sub> : Ac 3H <sub>2</sub> O	3 324	3 188	1 651	1 554	1 340	1 187, 479, 421
YL <sub>3</sub> : 6H <sub>2</sub> O	3 360	3 233	1 650	—	—	1 238, 487
LaL <sub>3</sub> : 6H <sub>2</sub> O	3 365	3 197	1 651	—	—	1 238, 488

### 3 配合物的红外光谱

由表2数据可知, YL<sub>3</sub>: 6H<sub>2</sub>O与 LaL<sub>3</sub>: 6H<sub>2</sub>O的吸收峰极为相似.在  $488\text{cm}^{-1}$ 处出现金属氧键的吸收峰,这说明金属与桑色素有成键作用.而 ScL<sub>2</sub>: Ac 3H<sub>2</sub>O除在  $479\text{cm}^{-1}$ 处有吸收峰外,在  $421\text{cm}^{-1}$ 处还有一新吸收峰.这说明 Sc(III)配合物中除金属离子与桑色素配位外,一分子的醋酸根也参与了配位.这可从羧基  $\nu_{\text{as}}$  和  $\nu_{\text{s}}$  的吸收峰得到证实.

### 4 配合物的核磁共振氢谱

在以  $\text{d}_6\text{-DMSO}$ 作溶剂,测定了 ScL<sub>2</sub>: Ac 3H<sub>2</sub>O和 LaL<sub>3</sub>: 6H<sub>2</sub>O的核磁共振氢谱,从中发现两者的谱图较为相似,只是 ScL<sub>2</sub>: Ac 3H<sub>2</sub>O在高场还有一吸收峰:  $\delta 2.5(3\text{H})$ ,这进一步说明 Sc(III)与 La(III)的桑色素配合物有所不同,有一醋酸根存在.

### 5 抗氧化性实验

配体及配合物清除超氧阴离子自由基 ( $\text{O}_2^-$ )按文献 [6]方法测定,抑制脂质过氧化按文献 [7]方法测定.结果见表3,可见配合物的清除  $\text{O}_2^-$ 和抑制脂质过氧化活性都高于桑色素本身,且 ScL<sub>2</sub>: Ac 3H<sub>2</sub>O的活性高于 LaL<sub>3</sub>: 6H<sub>2</sub>O.

表3 配体、配合物抑制脂质过氧化及清除  $\text{O}_2^-$ 作用

化合物	抑制脂质过氧化作用		清除 $\text{O}_2^-$ 自由基作用	
	剂量 $\mu\text{mol}$	抑制率 %	剂量 $\mu\text{mol}$	清除率 %
Moniri 2H <sub>2</sub> O (HL 2H <sub>2</sub> O)	15	16.1	30	13.3
	60	27.8	50	20.4
ScL <sub>2</sub> : Ac 3H <sub>2</sub> O	15	40.1	30	63.3
	60	79.5	50	88.8
YL <sub>3</sub> : 6H <sub>2</sub> O	15	28.5	30	45.5
	60	56.3	50	71.1
LaL <sub>3</sub> : 6H <sub>2</sub> O	15	22.7	30	51.0
	60	76.8	50	84.7

### 6 抗肿瘤活性体外筛选

以桑色素和其配合物作对比,对 Hep-2, BHK-21, KB, HL60, Bel-7402细胞的抑制作用进行了观察.结果发现,配体和配合物对 Bel-7402无明显抑制作用,配合物对 BHK-21和 Hep-2的抑制作用高于桑色素本身(最大相差两个数量级,见表4,5).对 HL60的抑制作用桑色素高于 Sc(III)配合物,但 Sc(III)配合物的作用结果较为有趣:在较低剂量时已显示出高的抑制作用,但随着浓度的增大,抑制率反而下降(表6).这一结果有待进一步分析研究.

当然,目前还不能断定有抗氧活性的抗癌化合物用于动物实验的效果一定比产生自由基的抗癌药物(或化合物)更好,这涉及到药物在体内的代谢过程和毒理作用的综合结果.况且合成的这三种配合物抑制癌细胞的最好结果也仅刚刚达到显效剂量( $10^{-5}$  mol/L).但通过实验证明了金属

离子与桑色素的抗癌作用的确有协同效应,同时还说明抗癌活性与抗氧活性是可兼于同一个化合物的.因此,继续寻找既具有高抗氧性;又同时具有高效低毒的抗癌药物是可能的.

表4 对 Hep-2 瘤株的抑制作用

化合物	c (样品) /mol L <sup>-1</sup>				病变特点
	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	
Morini 2H <sub>2</sub> O (HL 2H <sub>2</sub> O)	++++	-----	-----	-----	单个圆缩
ScL <sub>2</sub> Ac 3H <sub>2</sub> O	++++	++++	-----	-----	单个圆缩
LaL <sub>3</sub> 6H <sub>2</sub> O	++++	++++	++++	-----	单个圆缩

表5 对 BHK-2 瘤株的抑制作用

化合物	c (样品) /mol L <sup>-1</sup>				病变特点
	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	
Morini 2H <sub>2</sub> O (HL 2H <sub>2</sub> O)	++++	++++	-----	-----	单个圆缩
ScL <sub>2</sub> Ac 3H <sub>2</sub> O	++++	++++	++++	-----	单个圆缩
LaL <sub>3</sub> 6H <sub>2</sub> O	++++	++++	+-+-	-----	单个圆缩

表6 对其它几种瘤株的作用结果

测试模型	化合物	剂量 /mol	抑制率 %	测试模型	化合物	剂量 /mol	抑制率 %
KB瘤株 (MTT法)	Morini 2H <sub>2</sub> O (HL 2H <sub>2</sub> O)	10 <sup>-6</sup>	12.158	HL60瘤株 (MTT法)	Morini 2H <sub>2</sub> O (HL 2H <sub>2</sub> O)	10 <sup>-7</sup>	35.35
		10 <sup>-5</sup>	13.982			10 <sup>-6</sup>	37.59
		10 <sup>-4</sup>	31.991			10 <sup>-5</sup>	32.38
	ScL <sub>2</sub> Ac 3H <sub>2</sub> O	10 <sup>-6</sup>	- 11.34	10 <sup>-4</sup>	51.34		
		10 <sup>-5</sup>	- 17.40	10 <sup>-7</sup>	41.39		
		10 <sup>-4</sup>	50.30	10 <sup>-6</sup>	59.51		
				10 <sup>-5</sup>	16.40		
				10 <sup>-4</sup>	2.60		

## 参 考 文 献

- 1 Stehelin D, Varmus H E, Bishop J M, *et al.* DNA related to the transforming gene(s) of avian sarcoma viruses is present in normal avian DNA. *Nature*, 1976, 260: 170~ 173
- 2 郑荣梁. 自由基与癌. 见: 方允中, 李文杰主编. 自由基与酶. 北京: 科学出版社, 1989. 268~ 271
- 3 Schmahl D. Carcinogenicity of anticancer drugs and especially alkylating agents, in carcinogenicity of alkylating cytostatic drugs. In Schmahl D, Kddor J M, eds. IARC Scientific Publications No 78, International Agency for Research on Cancer, Lyon, 1986, 29~ 36
- 4 句海松. 抗氧化剂研究进展. *中国药学杂志*, 1990, 25: 712~ 715
- 5 周秀芳, 郑荣梁. 桑色素对癌细胞的光敏作用机理. *兰州大学学报(自然科学版)*, 1991, 27(3): 101~ 104
- 6 Slater T F, Sawyer B C. The stimulatory effects of carbon tetrachloride and other halogenoalkanes on peroxidative reactions in rat liver fractions in vitro. *J Biochem*, 1971, 123: 805~ 814
- 7 Robert R C Stetart, J Bewley Derek. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. *Plant Physiol*, 1980, 65: 245~ 251