

间氯苯基锰卟啉-5-氟尿嘧啶配合物的合成 及其对癌细胞的抑制活性

韩军兴 刘彦钦* 韩士田

(河北师范大学化学与材料科学学院 石家庄 050024)

摘 要 合成了4种5-氟尿嘧啶-卟啉衍生物:5-[3-(2-(5-氟尿嘧啶-1-基)乙氧基)苯基]-10,15,20-三(3-氯苯基)卟啉(**1a**)、5-[3-(2-(5-氟尿嘧啶-1-基)乙氧基)苯基]-10,15,20-三(3-氯苯基)锰卟啉(**2a**)、5-[3-(3-(5-氟尿嘧啶-1-基)丙氧基)苯基]-10,15,20-三(3-氯苯基)锰卟啉(**2b**)和5-[3-(4-(5-氟尿嘧啶-1-基)丁氧基)苯基]-10,15,20-三(3-氯苯基)锰卟啉(**2c**),通过UV-Vis、IR、MS及元素分析表征了它们的结构。用噻唑蓝法(MTT法)测定了化合物**2a**、**2b**和**2c**对人胃癌细胞株BGC-823的抑制活性。化合物**2b**的半数抑制浓度 IC_{50} 为1.34 $\mu\text{mol/L}$,表明有一定的细胞毒作用。

关键词 锰卟啉,氟尿嘧啶,合成,人胃癌细胞株 BGC-823

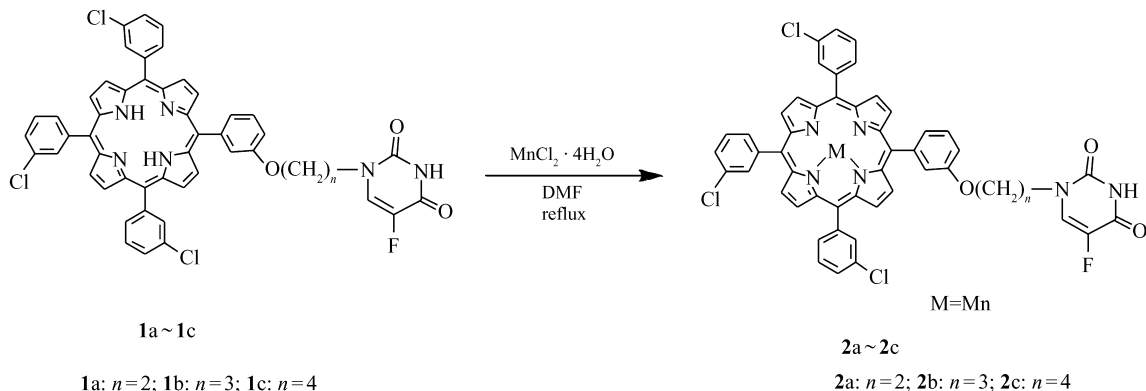
中图分类号:O626

文献标识码:A

文章编号:1000-0518(2012)06-0718-03

DOI:10.3724/SP.J.1095.2012.00354

5-氟尿嘧啶(5-Fu)是临床应用的广谱抗癌抗代谢药物,其主要缺点是药效剂量与中毒剂量相近。为了降低其毒副作用,合成了5-氟尿嘧啶的衍生物^[1-4]。我们曾将卟啉与氟尿嘧啶连接起来,合成了系列卟啉-5-氟尿嘧啶化合物^[5-7]。为了探索卟啉与5-氟尿嘧啶环间的碳链长度对其生物活性的影响,本文合成了由不同烷基链(—(CH₂)_n—, $n=2,3,4$)连接的间氯苯基锰卟啉-5-氟尿嘧啶配合物(**2a**, **2b**, **2c**),通过紫外-可见光谱、红外光谱、质谱以及元素分析对它们的结构进行了表征。初步测试了它们对体外培养人胃癌细胞株 BGC-823 的抑制活性。合成路线如 Scheme 1 所示。



Scheme 1 Synthetic route of Mn-porphyrin complexes (**2a**, **2b** and **2c**)

在化合物 **1a** ~ **1c** 的合成中,发现 5-氟尿嘧啶与无水 K₂CO₃ 的比例对产率影响较大。为此,将文献 [7] 中 5-氟尿嘧啶与无水 K₂CO₃ 的摩尔比优化为 1:1.2,使产率提高;在反应后处理中,发现减压蒸除 DMF,会使双取代卟啉-5-氟尿嘧啶副产物增多,改用常压蒸除 DMF,则有利于单取代卟啉-5-氟尿嘧啶 (**1a** ~ **1c**) 生成。经此改进化合物 **1b** 产率由 12.3% 提高至 34.5%,化合物 **1c** 由 11.4% 提高至 31.9%。

金属锰卟啉-5-氟尿嘧啶配合物 (**2a**, **2b** 和 **2c**) 的紫外可见光谱,与卟啉-5-氟尿嘧啶配体 (**1a**, **1b** 和 **1c**) 相比, Soret 带发生了红移,由 419 nm 红移至 478.5 nm; Q 带吸收峰减少为 3 个。这与生成锰卟啉配

合物后,卟啉分子对称性由 D_{2h} 增加至 D_{4h} 有关^[8]。锰卟啉配合物红外光谱中,原卟啉环内 3300 cm^{-1} 处的 N—H 谱带消失,出现 1011 cm^{-1} 的 Mn—N 特征吸收谱带^[9]。3 个配合物的 ESI-MS 谱中均出现 $[M]^+$ 分子离子峰,测定值与计算值相符。

以药物的不同浓度及对细胞的抑制率作图可得到剂量反应曲线,从中求出药物的半数抑制浓度(IC_{50}),结果见表 1。由 IC_{50} 值可知,化合物 **2b** 对人胃癌细胞 BGC-823 有细胞毒作用, IC_{50} 为 $1.34 \times 10^{-6}\text{ mol/L}$,较化合物 **2a** 和 **2c** 强,比文献[10]报道 5-氟尿嘧啶对人胃癌细胞 BGC-823 的 IC_{50} $153\text{ }\mu\text{mol/L}$ 低很多。说明连接间氯苯基锰卟啉与 5-氟尿嘧啶的烷基碳链长度可能对培养人胃癌 BGC-823 细胞的抑制活性有一定影响,说明间氯苯基锰卟啉可能起一定的协同抗癌作用。

以上结果说明,用卟啉或金属卟啉修饰 5-氟尿嘧啶对改善 5-氟尿嘧啶的抗癌顺应性有一定前景。

实验部分

3-氯苯甲醛、3-羟基苯甲醛、1,2-二溴乙烷、1,3-二溴丙烷、1,4-二溴丁烷、三氯甲烷、丙酮、氯化锰($MnCl_2 \cdot 4H_2O$)均为分析纯试剂;吡咯(使用前重蒸);5-氟尿嘧啶(用水重结晶,mp $281\text{ }^{\circ}C$);硅胶 G(青岛海洋化工厂),粒径 $40\text{ }\mu\text{m}$;N,N-二甲基甲酰胺(DMF)用分子筛干燥,使用前重蒸, bp $150 \sim 152\text{ }^{\circ}C$; K_2CO_3 烘干后使用;氧化铝(薄层层析用,粒径 $40\text{ }\mu\text{m}$);中间体 5-[3-(2-溴乙氧基)苯基]-10,15,20-三(3-氯苯基)卟啉、5-[3-(3-溴丙氧基)苯基]-10,15,20-三(3-氯苯基)卟啉、5-[3-(4-溴丁氧基)苯基]-10,15,20-三(3-氯苯基)卟啉、间氯苯基卟啉-5-氟尿嘧啶化合物(**1a**,**1b**,**1c**)按文献[7]方法合成。化合物 **1a** 产率 31.8%, mp $>300\text{ }^{\circ}C$; 化合物 **1b** 产率 34.5%, mp $>300\text{ }^{\circ}C$; 化合物 **1c** 产率 31.9%, mp $>300\text{ }^{\circ}C$ 。

人胃癌细胞株 BGC-823、胎牛血清和 RPMI-1640 培养基均购自中国医学科学院基础医学研究所。

RY-1 型熔点测定仪(天津市分析仪器厂),UV-2501(PC)S 型紫外-可见分光光度计(日本岛津公司),PE-M1730 型傅里叶变换红外光谱仪(日本日立公司),Mercury-500 型核磁共振仪(美国 Varian 公司),ZMD 型质谱仪(美国 Waters 公司),MT-3 型 CHN 元素分析仪(日本柳本公司)。

间氯苯基锰卟啉-5-氟尿嘧啶配合物(**2a**,**2b**,**2c**)的合成:在 50 mL 圆底烧瓶中,加入 0.05 mmol 化合物 **1a**、98.9 mg (0.50 mmol) $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ 和 20 mL DMF,磁力搅拌加热回流,反应 4 h,TLC 监测反应终点。减压蒸除溶剂后,真空干燥 24 h,再用少量水洗,真空干燥 24 h。粗产品用氯仿溶解上硅胶柱层析,用 $V(\text{氯仿}):V(\text{丙酮})=5:1$ 洗脱。收集第 1 最深绿色带,旋转蒸发浓缩,晾干,得墨绿色固体产物 **2a**,37.6 mg,产率 76.9%, mp $>300\text{ }^{\circ}C$;分别用化合物 **1b** 和 **1c** 代替化合物 **1a**,按同样方法合成化合物 **2b**,30.4 mg,产率 61.3%, mp $>300\text{ }^{\circ}C$; 化合物 **2c**,44.3 mg,产率 88.1%, mp $>300\text{ }^{\circ}C$ 。

化合物 **2a**:UV-Vis($CHCl_3$), $\lambda_{max}(\epsilon)/\text{nm}$:478.5(1.09×10^5),534.5(5.28×10^3),581.0(9.45×10^3),615.5(8.35×10^3);IR(KBr), σ/cm^{-1} :3060(苯环 C—H),1698(5-Fu C=O),1593 及 1471(苯环和卟啉环 C=C),1347(C—N),1240(C—F),1184(C—O—C),1095(C—Cl),1011(Mn—N),886 及 803(间二取代苯面外弯曲振动 C—H);ESI-MS(m/z) $C_{50}H_{30}Cl_3FN_6O_3Mn$ 计算值:943.12,实测值 943.04 $[M]^+$; $C_{50}H_{30}Cl_3FN_6O_3Mn$ 元素分析(计算值)/%:C 63.679(63.676), H 3.246(3.206), N 8.920(8.911)。

化合物 **2b**:UV-Vis($CHCl_3$), $\lambda_{max}(\epsilon)/\text{nm}$:478.5(1.01×10^5),524.0(4.84×10^3),582.0(8.85×10^3),616.0(7.83×10^3);IR(KBr), σ/cm^{-1} :3061(苯环 C—H),2922(CH_2),1697(C=O),1593,1472(苯环和卟啉环 C=C),1340(C—N),1235(C—F),1184(C—O—C),1095(氯苯基 C—Cl),1011(Mn—N),887 及 803(间二取代苯面外弯曲振动 C—H);ESI-MS(m/z) $C_{51}H_{32}Cl_3FN_6O_3Mn$ 计算值:957.15,实测值 957.07 $[M]^+$; $C_{51}H_{32}Cl_3FN_6O_3Mn$ 元素分析(计算值)/%:C 63.981(63.998), H 3.352(3.370), N 8.783(8.780)。

化合物 **2c**:UV-Vis($CHCl_3$), $\lambda_{max}(\epsilon)/\text{nm}$:478.5(1.00×10^5),524.5(4.85×10^3),581.0(8.83×10^3),614.5(7.89×10^3);IR(KBr), σ/cm^{-1} :3060(苯环 C—H),2924(CH_2),1697.0(5-Fu C=O),1593 及 1472(苯环和卟啉环 C=C),1234(C—F),1184(C—O—C),1096(C—Cl),1011(Mn—N),887 及 803(间二取代苯面外弯曲振动 C—H);ESI-MS(m/z) $C_{52}H_{34}Cl_3FN_6O_3Mn$ 计算值:971.18,实测值 971.19 $[M]^+$; $C_{52}H_{34}Cl_3FN_6O_3Mn$ 元素分析(计算值)/%:C 64.339(64.310), H 3.531(3.529), N 8.659(8.654)。

对培养癌细胞抑制活性测试:将传代培养的人胃癌细胞株 BGC-823 细胞,用 0.25% 胰酶 2 mL 消化贴壁的肿瘤细胞后,用含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养液配成浓度为 3×10^4 细胞/mL 细胞悬液。接种于 96 孔培养板内,每孔 $100\text{ }\mu\text{L}$ (含 3000 个肿瘤细胞), $37\text{ }^{\circ}C$ 培养 24 h。给药组加入药物浓度分别为 0.1×10^{-6} 、 1×10^{-6} 和 $10 \times 10^{-6}\text{ mol/L}$, 每组平行

3个孔,每孔药液 100 μL ,对照组加入与药液等体积的溶剂。置 37 $^{\circ}\text{C}$,5% CO_2 培养箱中。培养 72 h 后弃去培养液,每孔加入 20 μL (5 g/L) MTT 溶液(用 RPMI-1640 配制,避光保存于 -20°C)。37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 4 h,弃去上清,每孔加入 DMSO 150 μL 溶解 Formazan 颗粒,用酶标仪,在参考波长 450 nm、检测波长 570 nm,测光密度值(OD)。以无药肿瘤细胞培养为对照组,计算药物对肿瘤细胞的抑制率:

$$\text{抑制率} = \frac{\text{对照组平均 OD 值} - \text{给药组平均 OD 值}}{\text{对照组平均 OD 值}} \times 100\%$$

致谢:抑制活性由北京市医药器械学校生物技术制药科测试,特此感谢。

参 考 文 献

- [1] Udo K, Hokonohara K, Motoyama K, *et al.* 5-Fluorouracil Acetic Acid/ β -Cyclodextrin Conjugates: Drug Release Behavior in Enzymatic and Rat Cecal Media[J]. *Int J Pharm*, 2010, **388**:95-100.
- [2] Yang L, Zhao C Y, Liu Y Q. Synthesis and Biological Evaluation of Novel Conjugates of Camptothecin and 5-Fluorouracil as Cytotoxic Agents[J]. *J Braz Chem Soc*, 2011, **22**:308-318
- [3] Ouyang L, He D S, Zhang J, *et al.* Selective Bone Targeting 5-Fluorouracil Prodrugs: Synthesis and Preliminary Biological Evaluation[J]. *Bioorg Med Chem*, 2011, **19**:3750-3756.
- [4] LI Meirong, CAI Xiaoqing, ZHU Yifeng, *et al.* Synthesis and Biological Evaluation of Novel Coupling Derivatives of Photosensitizer and 5-Fluorouracil as Antineoplastic Agents[J]. *Acta Chim Sin*, 2011, **29**:425-430 (in Chinese).
李美容, 蔡晓庆, 朱易峰, 等. 5-氟尿嘧啶光敏性偶联衍生物的合成、表征及抗癌活性研究[J]. 化学学报, 2011, **29**: 425-430.
- [5] LIU Yanqin, ZHANG Huijuan, HAN Shitian. Synthesis and Antitumor Activity of 5-Fluorouracil-porphyrin Compounds[J]. *Chinese J Org Chem*, 2002, **22**:279-282 (in Chinese).
刘彦钦, 张慧娟, 韩士田. 5-氟尿嘧啶-卟啉化合物的合成及抗癌活性[J]. 有机化学, 2002, **22**:279-282.
- [6] LIU Yanqin, HAN Shitian, CHEN Suxia. Synthesis of Pyridylporphyrin-5-fluorouracil Compounds[J]. *Chinese J Appl Chem*, 2005, **22**:219-221 (in Chinese).
刘彦钦, 韩士田, 陈素霞. 新型吡啶卟啉-5-氟尿嘧啶化合物的合成[J]. 应用化学, 2005, **22**:219-221.
- [7] GAO Shutao, LIU Yanqin, HAN Shitian. Synthesis and Characterization of New *m*-Chlorophenyl Porphyrin-5-Fluorouracil Compounds[J]. *Chinese J Appl Chem*, 2007, **24**:1295-1298 (in Chinese).
高书涛, 刘彦钦, 韩士田. 新型间氯苯基卟啉-5-氟尿嘧啶化合物的合成与表征[J]. 应用化学, 2007, **24**:1295-1298.
- [8] Lamoen D, Parrinello M. Geometry and Electronic Structure of Porphyrins and Porphyrazines[J]. *Chem Phys Lett*, 1996, **248**:309-315.
- [9] Li Z Y, Zhu X J, Li L, *et al.* Synthesis of Glucoside Bonded Metal Porphyrins[J]. *Chinese Chem Lett*, 2001, **12**:425-428.
- [10] Wang J, Liu W, Zhao Q, *et al.* Synergistic Effect of 5-Fluorouracil with Gambogic Acid on BGC-823 Human Gastric Carcinoma[J]. *Toxicology*, 2009, **256**:135-140.

Synthesis of *m*-Chlorophenyl Mn-Porphyrin-5-Fluorouracil Complexes and Their Inhibition Activity to Cancer Cells

HAN Junxing, LIU Yanqin*, HAN Shitian

(College of Chemistry and Material Science, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050024, China)

Abstract Four porphyrin-5-fluorouracil conjugates, i. e. 5-[3-(2-(5-fluorouracil-1-yl)-ethoxy) phenyl]-10,15,20-tri(3-chlorophenyl) porphyrin (**1a**), 5-[3-(2-(5-fluorouracil-1-yl)-ethoxy) phenyl]-10,15,20-tri(3-chlorophenyl) Mn-porphyrin (**2a**), 5-[3-(3-(5-fluorouracil-1-yl)-propoxy) phenyl]-10,15,20-tri(3-chlorophenyl) Mn-porphyrin (**2b**) and 5-[3-(4-(5-fluorouracil-1-yl)-butoxy) phenyl]-10,15,20-tri(3-chlorophenyl) Mn-porphyrin (**2c**), were successfully synthesized and characterized by UV-Vis, IR, MS and elemental analysis. Inhibition activity of the synthesized compounds (**2a**, **2b** and **2c**) to human gastric cancer cell line BGC-823 was tested using the methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) method. The IC_{50} value of **2b** was 1.34 $\mu\text{mol/L}$, indicating that compound **2b** had certain cytotoxic effect.

Keywords manganoporphyrin, fluorouracil, synthesis, human gastric cancer cell line BGC-823