

氧氟沙星金属配合物的光谱与抗肿瘤活性

王岩楼^{1, 2}, 傅旭春³, 雷群芳¹, 陈威¹, 王国平^{1*}

- 1 浙江大学理学院, 浙江 杭州 310027
- 2 大庆油田第九采油厂, 黑龙江 大庆 163853
- 3 浙江大学城市学院药学院, 浙江 杭州 310015

摘要 合成了以氧氟沙星为配体的钴(II)、镍(II)配合物 $M(\text{ofo})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ($M = \text{Co}, \text{Ni}$; ofo = ofloxacin, I), 通过元素分析、红外光谱和热分析等方法对配合物的结构进行了表征, 钴(II)、镍(II)分别为中心原子, 与氧氟沙星配体 3 位羧基的一个氧原子和 4 位酮基氧原子配位, 推测了配合物的可能结构, 讨论了配合物的荧光光谱性质, 利用液体稀释法测定了药物配体和配合物对两种革兰氏阳性菌和两种革兰氏阴性菌的体外抑制活性, 采用 MTT 比色法测定了配体及配合物对 HL-60 (人急性早幼粒白血病) 细胞的抑制作用, 采用 SRB 蛋白染色法测定了配体及配合物对 BEL-7402 (人肝细胞性肝癌) 细胞的抑制作用, 结果表明配合物与药物配体的抗菌活性和抗菌谱相同, 配合物对 BEL-7402 细胞没有抑制作用, 对 HL-60 细胞在较高浓度时有一定的抑制作用。

关键词 配合物; 氧氟沙星; 光谱分析; 抗菌活性; 抗肿瘤活性

中图分类号: R282.7 文献标识码: A DOI: 10.3964/j.issn.1000-0593(2008)10-2388-04

引言

氟喹诺酮是一类高效、低毒的广谱抗菌药物, 对治疗各类感染疾病有广泛用途。喹诺酮药物的作用机理目前认为有两种^[1, 2]: 抑制 DNA 促旋酶(拓扑异构酶 II)或者通过与金属形成配合物与 DNA 分子相互作用。实际上, 金属与喹诺酮的羧基和酮基配位, 形成配合物与 DNA 作用, 可能是喹诺酮发挥抗菌效果的先决条件。尽管金属离子在喹诺酮体系中起重要作用, 但对这类配合物的研究较少^[2]。氟哌酸、环丙沙星和氧氟沙星(ofloxacin, ofo, I)是目前临床应用最广的喹诺酮药物, 氟哌酸和环丙沙星等与金属的配位行为已有研究^[2], 不少课题组还研究了配合物的抗菌活性, 但 ofo 具有较大的体积效应(氧氟沙星的结构见图 1), 对这类配合物的合成、结构、谱学和生物活性研究相对较少。本课题组曾报道了一系列喹诺酮配合物的抗菌活性和抗肿瘤活性^[3-7], 发现配合物的抗菌活性与药物本身的活性相近, 部分配合物同时具有一定的抗肿瘤活性。本文利用水热合成法合成 ofo 与 Co(II)、Ni(II)配位的两个新配合物, 对配合物的红外光谱、紫外-可见光谱、固体荧光光谱、热分解和生物活性等

进行了探讨。

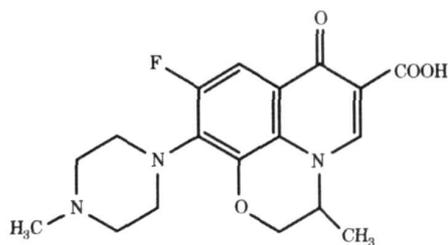


Fig 1 Structure of ofloxacin

1 实验部分

1.1 试剂、仪器和测试方法

Ofo 由浙江医药股份公司新昌制药厂提供, 纯度大于 99.2%。Ni(CH₃COO)₂ · 4H₂O 和 Co(SO₄)₂ · 7H₂O 等试剂为分析纯。

C, H, N 元素含量用 Carlö Erba 1110 元素分析仪测定; 在 Nicolet FTIR 上, 采用 KBr 压片法测定 4000~400 cm⁻¹ 范围内的红外光谱; 在 RF-540U-4 0 型荧光光谱仪上测定固

收稿日期: 2007-05-09, 修订日期: 2007-08-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(20673098), 浙江省自然科学基金项目(Y407091)和浙江省医药卫生科学研究基金项目计划(2005A071)资助

作者简介: 王岩楼, 1965年生, 浙江大学理学院博士研究生 * 通讯联系人 e-mail: chewanggp@zju.edu.cn

体样品的荧光光谱; 热分析: 采用美国 TA 公司的 SDT Q600 型热重-差热联用仪, 程序控温, 范围 35.0~800.0 °C, 升温速率 10.0 °C·min⁻¹, 氮气保护, 流速为 120.0 mL·min⁻¹。

1.2 配合物的合成

取 0.5 mmol I 溶于 10 mL 的氨水(1 mol·L⁻¹)中, 得到淡黄色透明溶液, 再加入 0.25 mmol 硫酸钴或醋酸镍, 搅拌使其溶解, 继续搅拌 0.5 h 后, 转移到反应釜中, 放入恒温箱, 在 120 °C 下反应。冷却后, 过滤, 用去离子水洗涤沉淀, 放入干燥箱中干燥。元素分析符合化学式 $M(\text{ofo})_2(\text{H}_2\text{O})_4$ ($M = \text{Co}, \text{Ni}$), 其中 $\text{Co}(\text{ofo})_2(\text{H}_2\text{O})_4$ (II) 计算值(%): C, 50.65; H, 5.67; N, 9.84; 测定值(%): C, 50.65; H, 5.40; N, 9.60; $\text{Ni}(\text{ofo})_2(\text{H}_2\text{O})_4$ (III) 计算值(%): C, 50.66; H, 5.67; N, 9.85; 测定值(%): C, 50.93; H, 5.41; N, 9.56。

1.3 体外抗菌、抗肿瘤活性测定

1.3.1 抗菌活性测定

采用微孔板液体稀释法, 每块板均采用阳性及阴性对照。所用菌株分别为金黄色葡萄球菌(*S. Aureus*, G+), 藤黄八迭球菌(*M. Lutens*, G+), 大肠杆菌(*E. Coli*, G-), 绿脓杆菌(*P. Aeruginosa*, G-); 注: G+, 革兰氏阳性菌; G-, 革兰氏阴性菌。采用微孔板液体稀释法测定药物的最低抑制浓度(MIC)。

1.3.2 抗肿瘤活性实验

采用 MTT (四氮唑盐) 比色法(作用时间: 48 h)测定了配体及配合物对 HL-60 (人急性早幼粒白血病)细胞的抑制作用; 采用 SRB (磺酰罗丹明 B) 蛋白染色法(作用时间: 72 h)测定了配体及配合物对 BEL-7402 (人肝细胞性肝癌)细胞的抑制作用, 用二甲亚砜作溶剂对照, 测试方法参见文献[8]。

2 结果与讨论

2.1 配合物的红外光谱

配体 I 和配合物 II 的 IR 谱如图 2 所示。在 I 中两个强度非常大的特征吸收峰: 1713 和 1622 cm⁻¹, 前者归属于 I 中 3 位羧基的振动吸收峰, 后者归属于 I 中 4 位酮基的振动吸收峰。与 I 相比, 配合物 II 在 1713 cm⁻¹ 处的吸收峰消失, 在 1612 和 1473 cm⁻¹ 处出现新的吸收峰, 说明羧基上氧原子与金属离子配位^[2], 1612 和 1473 cm⁻¹ 指认为羧基的 $\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$ 和 $\nu_{\text{s}}(\text{COO}^-)$, $\Delta[\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-) - \nu_{\text{s}}(\text{COO}^-)] = 139 \text{ cm}^{-1} \approx 140 \text{ cm}^{-1}$ 。结合已知晶体结构的喹诺酮配合物的 IR 谱^[2-7], 可知 I 中的羧酸根属于单齿配位。Bayaril^[9] 等通过分子力学计算得到相同结论。配合物 II 中, 4 位酮基参与金属离子的配位, 其伸缩峰移至 1570 cm⁻¹ 处。配合物 II 3421 cm⁻¹ 附近有可归属于水分 $\nu_{\text{O-H}}$ 的强而宽的吸收峰, 表明 II 中含有结晶水, 且在 550 cm⁻¹ 附近未出现配位水分子的面内摇摆振动吸收峰, 表明水分子未参与配位^[10], 因此配合物中的水分子全部为结晶水。

配位前后, 芳香环 IR 吸收峰也有明显的改变。对于 II 而言, 1524 cm⁻¹ 处很强的吸收峰移至 1526 cm⁻¹, 1290

($\nu_{\text{C-F}} + \nu_{\text{COOH}}$) 移至 1274 cm⁻¹ 处, 配合物 II 的 IR 谱中出现在 1400~1000 cm⁻¹ 区域的峰明显减弱, 这些结果都证实了金属离子对喹诺酮分子体系的影响。配合物中 Co—O 伸缩振动频率为 502 cm⁻¹。

配合物 III 的 IR 谱与 II 的 IR 光谱相似, Ni—O 伸缩振动频率为 506 cm⁻¹。上述结果与文献中 $\text{Co}(\text{ofo})\text{Cl} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{Ni}(\text{ofo})\text{Cl} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 的 IR 谱有一定程度的区别^[9], 文献中 I 配位后在 1622 和 1476 cm⁻¹ 处出现新的吸收峰, Co—O 伸缩振动频率为 508 cm⁻¹, Ni—O 伸缩振动频率为 511 cm⁻¹。

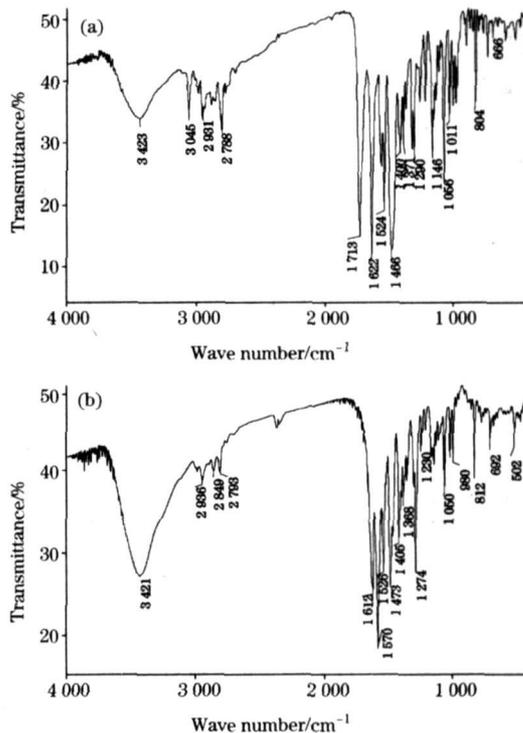


Fig 2 FTIR spectra of the compounds:

I (a) and II (b)

2.2 新配合物的热分解

配合物 III [$\text{Ni}(\text{ofo})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$] 热分解主要有两个过程: 第一步从 68.1 到 140.3 °C 为脱结晶水过程, 在 134.8 °C 出现强吸热峰, DTG 曲线在 129.8 °C 出现峰温, 共失重 8.55%, 配合物脱去 4 个结晶水(理论计算值为 8.44%)生成无水配合物 $\text{Ni}(\text{oflo})_2$; 第二步从 321.0 到 800.0 °C 为无水配合物的热裂解过程, DSC 曲线 326.9 °C 处出现强吸热峰, DTG 曲线在 334.0 °C 为大的峰温, 并在 588.7 和 696.6 °C 处出现较小的峰温, 此过程先失去两个甲基咪唑($\text{C}_5\text{H}_7\text{N}_2$), 再失去其中一个氧氟沙星的剩余结构 $\text{C}_{13}\text{H}_9\text{FN}_4\text{O}_4$ 和另一个氧氟沙星中的 $\text{C}_3\text{H}_4\text{O}$, 生成中间体 $\text{NiC}_{10}\text{H}_4\text{FN}_3\text{O}_3$, 共失重 60.40% (理论值为 60.75%)。配合物在 800 °C 尚未彻底裂解。配合物 II 的热分解过程与 III 相似。

根据上述分析, 两个配合物具有相似的结构, 配合物 II 的配位模式可推测见图 3。

2.3 配合物的固体荧光光谱

文献[11, 12]应用荧光法研究了环丙沙星、诺氟沙星与

- [10] MA Ai zeng, LI Lai ming, LIN Yong hua(马爱增, 李来明, 林永华). Chin. J. Inorg. Chem. (无机化学学报), 1993, 9(4): 401.
- [11] LI Yan ping, LI Lai sheng, HUANG Zhi bing, et al(李艳平, 李来生, 黄志兵, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2007, 27(1): 108.
- [12] HE Hua, WANG Ling li, LIU Xi hui, et al(何华, 王玲丽, 刘旭辉, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2006, 26(8): 1516.
- [13] LIU Cui ge, XU Yi zhuang, WEI Yong ju, et al(刘翠格, 徐怡庄, 魏永巨, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2005, 25(4): 584.
- [14] CHEN Zhen feng, XIONG Ren gen, ZHANG Jing, et al. Inorganic Chemistry, 2001, 40(16): 4075.
- [15] LI Yong xiu, CHEN Zhen feng, XIONG Ren gen, et al. Inorg. Chem. Commun., 2003, 6: 819.
- [16] CHEN Zhen feng, YU Liang cai, ZHONG Di chang, et al. Inorg. Chem. Commun., 2006, 9: 839.
- [17] LIN Yong, CHEN Zhen yun, YU Xiaolan, et al(林勇, 陈梓云, 余小岚, 等). Chin. J. Inorg. Chem.(无机化学学报), 2006, 22(8): 1467.

Synthesis, Spectral Analysis, Antibacterial and Antitumor Activities of Co(II) and Ni(II) Ofloxacin Complexes

WANG Yan lou^{1, 2}, FU Xi chun³, LEI Qun fang¹, CHEN Wei¹, WANG Guo ping^{1*}

1. College of Science, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China

2. Ninth Oil Recovery Plant of Daqing Oilfields Co., Daqing 163853, China

3. Department of Pharmacy, City College, Zhejiang University, Hangzhou 310015, China

Abstract The interactions of cobalt sulphate and nickel acetate with ofloxacin (I), a 4 quinoline derivative, were studied. The hydrothermal technique was adopted in this work. The isolated solid complexes were characterized by elemental analysis, infrared spectra, electronic spectra, fluorescence spectra and thermal analysis. The results support the formation of complexes of the formula $\text{Co}(\text{I})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (II) and $\text{Ni}(\text{I})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (III). The infrared spectra of the isolated solid complexes suggested that I acts as bidentate ligands through one of the oxygen atoms of the carboxylic group and the ring carbonyl oxygen atom. Thermogravimetric (TG) and its differential (DTG) were carried out for the complexes. The data obtained indicated that the thermal decomposition of the two complexes in inert atmosphere proceeded approximately with two main degradation steps. I showed a intense fluorescence in solid state at $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}} = 365 \text{ nm}/461 \text{ nm}$, and two complexes displayed weakly similar emission maximum at 470 nm in the powder samples at ambient temperature, while the emission of II and III may be mainly originated from the intraligand excited states of I. I, II and III were assayed against two kinds of gram positive and two kinds of gram negative bacteria by in vitro doubling dilutions method. The results indicated that II and III have the similar minimal inhibitory concentration (MIC) as the I against *S. Aureus*, *M. Lutens*, *E. Coli* and *P. Aeruginosa*. The inhibitory effect of I, II and III on leukemia HL-60 cell line has been measured by using MTT (Methyl Thiazol Tetrazolium) method and that on liver cancer BEL-7402 cell line measured by SRB (Sulphurhodamin B) method. The results indicated that the complexes in the high concentration have inhibitory effect on HL-60 cell line.

Keywords Ofloxacin; Complex; Spectral analysis; Antibacterial activity; Antitumor activity

(Received May 9, 2007; accepted Aug. 16, 2007)

* Corresponding author