



# 染料木素锌、铜金属配合物的制备及抗癌活性研究

王有娣<sup>1</sup>, 彭俊梅<sup>2</sup>, 刘铭美<sup>1</sup>, 徐娟娟<sup>1</sup>

(1. 广州新华学院 药学院, 广东 广州 510520; 2. 南华大学 药学院, 湖南 衡阳 421001)

**摘要:**为研究大豆中异黄酮类成分染料木素锌、铜金属配合物的制备方法及其抗癌活性,以染料木素为配体,设计并合成染料木素-锌、染料木素-铜配合物,利用红外光谱、紫外光谱、热重分析等方法对配合物进行表征,并通过MTT法考察染料木素及其锌、铜金属配合物对人非小细胞肺癌细胞 A549、人乳腺癌细胞 MCF-7 及人脐静脉内皮细胞 HUVEC 的增殖抑制作用。表征结果表明:试验成功制备得到染料木素-锌、染料木素-铜配合物。MTT 试验结果表明:染料木素-锌、染料木素-铜配合物均对 MCF-7 和 A549 细胞增殖有抑制效果,且抑制作用高于其配体染料木素,而对于正常细胞人脐静脉内皮细胞 HUVEC 的增殖无明显抑制活性。

**关键词:**大豆;染料木素;锌配合物;铜配合物;合成;抗癌活性

## Studies on the Preparation and Anticancer Activity of Genistein Zinc and Genistein Copper Complexes

WANG You-di<sup>1</sup>, PENG Jun-mei<sup>2</sup>, LIU Ming-mei<sup>1</sup>, XU Juan-juan<sup>1</sup>

(1. School of Pharmacy, Guangzhou Xinhua University, Guangzhou 510520, China; 2. College of Pharmacy, University of South China, Hengyang 421001, China)

**Abstract:** In order to study the preparation method and anticancer activity of genistein-zinc and genistein-copper metal complexes, genistein was used as a ligand, and then it was combined with zinc and copper to synthesize genistein-zinc and genistein-copper metal complexes. Metal complexes were characterized by IR, UV and thermogravimetric analysis. The inhibitory effects of genistein and its zinc and copper complexes on the proliferation of human non-small cell lung cancer cell line A549, human breast cancer cell MCF-7 and human umbilical vein endothelial cell HUVEC were investigated by MTT method. The results showed that genistein-zinc and genistein-copper complexes were successfully prepared, and the MTT assay results showed that genistein-zinc and genistein-copper complexes had inhibitory effects on the proliferation of MCF-7 and A549 cells, and the inhibitory effects were higher than genistein, however, genistein-zinc and genistein-copper complexes had no obvious inhibitory effects on the proliferation of HUVEC cells.

**Keywords:** soybean; genistein; zinc complex; copper complex; synthesis; anticancer activity

大豆是我国重要的经济作物和油料作物,富含蛋白质、异黄酮、皂苷、低聚糖等活性成分,具有预防糖尿病、骨质疏松、心血管疾病和癌症等功效<sup>[1-2]</sup>。大豆异黄酮是大豆中一类典型的次生代谢产物,有研究表明,大豆异黄酮在多种癌症治疗中表现出较好的活性<sup>[3-4]</sup>。

染料木素属于大豆中异黄酮类化合物的一种,也广泛存在于其他豆科植物中,别名染料木黄酮、金雀异黄素,具有广泛的生物活性,例如弱雌激素作用,也有抗炎、抗癌等活性,对预防和抑制多种癌症、心脑血管疾病等具有较好的疗效<sup>[5-7]</sup>,尤其是在对乳腺癌和前列腺癌的防治方面<sup>[8]</sup>。现有研究表明,染料木素可以通过下调 Bcl-2 and Akt 的表达,促进乳腺癌细胞凋亡<sup>[9]</sup>,可以抑制肝癌细胞生长,将肝癌细胞阻滞于 G<sub>2</sub>/M 期<sup>[10]</sup>。

染料木素虽然有诸多的生物学活性,但是在实践中发现,单独使用染料木素治疗癌症时,常需要与其他活性成分组合使用,才能达到显著抑制癌细胞生长的作用。人体所必需的微量元素如铜、锌、铁等在体内发挥着非常重要的生理作用,它可以与大分子蛋白质形成配合物,成为酶的活性中心,也可以参与一些维生素的构成<sup>[11]</sup>。染料木素等黄酮类化合物可以与金属离子络合,该类型的反应常被用于黄酮类化合物的鉴别,配位前后抗癌、抗氧化等生物活性变化的研究表明,和配体相比部分黄酮金属配合物的生物活性会变强,在抗癌方面以铜(II)、锌(II)配合物活性增强效果最为明显<sup>[12-15]</sup>。关于化合物抗癌活性的测试方法有很多,例如甲基噻唑蓝(MTT)法<sup>[16-17]</sup>,该方法的原理较为简单,主要是通过测得的吸光度值的大小来判断活细胞数量,从而判断药物对细胞的增殖抑制活

收稿日期:2021-08-04

基金项目:2020 年广东省普通高校创新特色项目(2020KTSCX200);2020 年度广东省大学生创新创业训练计划(S202013902035);2018 年广东省本科高校教学质量与教学改革工程建设项目(2018JPO01)。

第一作者:王有娣(1989—),女,硕士,助理研究员,主要从事天然活性成分研究开发。E-mail:497227317@qq.com。

通讯作者:徐娟娟(1980—),女,硕士,副教授,主要从事天然活性成分研究开发。E-mail:jjxu@xhsysu.cn。

性强弱,所以该方法是目前化合物抗癌活性测试使用最多的方法之一。

基于此,本研究以大豆中的异黄酮类成分染料木素为配体,合成染料木素锌、铜金属配合物,采用 MTT 法并以目前临床上用于乳腺癌、肺癌、肝癌等癌症治疗的抗代谢抗肿瘤药 5-氟尿嘧啶作为阳性对照药,研究染料木素及其金属配合物的抗癌活性,筛选活性较好的染料木素金属配合物,为高效、低毒抗癌药物的开发提供有价值的参考信息,也为大豆中的抗癌活性成分的进一步研究提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 主要仪器与试剂 染料木素(99.8%,广州赛沫生物科技有限公司);新生牛血清(Cat No:B15-001,奥地利 PAA);其余所用试剂均为市售分析纯。Q200X 射线能谱仪(德国布鲁克);红外光谱仪(美国赛默飞);TG209F3 热重(德国耐驰);UV 2201 紫外可见分光光度计(北京普析)。

1.1.2 细胞株 人非小细胞肺癌 A549 细胞株、人脐静脉内皮 HUVEC 细胞株和人乳腺癌 MCF-7 细胞株购于上海生物细胞库,均符合 ADCC 要求。

### 1.2 试验设计

金属配合物的合成:采用有机合成法合成染料木素锌和铜配合物,合成路线见图 3,以无水乙醇为溶剂,pH8、60℃恒温水浴加热 9 h,产物依次经 50%乙醇、水、乙醇清洗纯化后干燥。

金属配合物体外抗癌活性测试:采用 MTT 方法测试染料木素锌、铜金属配合物的抗癌活性,测试的细胞株选用常见的人非小细胞肺癌细胞 A549 细胞株和人乳腺癌细胞 MCF-7 细胞株。同时为考察染料木素及其金属配合物对癌细胞和人体正常细胞的生长抑制作用是否存在选择性,选用 HUVEC 细胞作为正常细胞对照。抗癌活性试验中,各试药[染料木素、染料木素-铜配合物、染料木素-锌配合物、5-氟尿嘧啶(阳性对照)]均设置 16,32,64 和 128  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  4 个药物浓度,并以等体积的 DMSO 作空白对照,各组均平行设置 3 个复孔,药物的作用时间为 48 h。

### 1.3 方法

1.3.1 金属配合物的合成 染料木素-锌配合物的合成:称取染料木素(2.7 g,0.01 mol),加入 175 mL 无水乙醇,加热,完全溶解后用氨水调节至 pH8,待 pH 稳定后加入  $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (2.63 g,0.012 mol),60℃水浴反应 9 h。反应液冷却离心得黄色固体,依次使用 50%乙醇、水、乙醇清洗,干燥得到淡黄色粉末(2.0 g,66.5%)。

染料木素-铜配合物的合成:称取染料木素(2.7 g,0.01 mol),加入 175 mL 无水乙醇,加热,完全溶解后用氨水调节至 pH8,待 pH 稳定后加入  $\text{CuCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (2.05 g,0.012 mol),60℃水浴反应 9 h。反应液冷却离心得绿色固体,依次使用 50%乙醇、水、乙醇清洗、最后干燥得到草绿色粉末(2.4 g,81%)。

1.3.2 金属配合物的表征 紫外光谱法:取染料木素及其金属配合物粉末,配置成 0.1  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  溶液,在波长 200~600 nm 范围内进行扫描,得到化合物的紫外吸收光谱。

红外光谱法:取染料木素及其金属配合物粉末 1 mg,与无水溴化钾粉末按照 1:100 比例混合后一起压片,得到均匀的薄片进行测试,波数范围为 4000~400  $\text{cm}^{-1}$ 。

热重分析法:取染料木素及其金属配合物粉末各约 10 mg,在下列条件下测试其失重情况:温度范围 30~800℃,升温速率 10  $\text{K}\cdot\text{min}^{-1}$ ,氮气气氛,气体流量 50  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

1.3.3 金属配合物抗癌活性测试 采用 MTT 方法测试金属配合物抗癌活性,分别将 A549 细胞、MCF-7 细胞、HUVEC 细胞接种于 96 孔板中,培养 24 h,再分别加入 4 个浓度梯度(16,32,64 和 128  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )的染料木素、5-氟尿嘧啶(阳性对照)、染料木素-锌配合物、染料木素-铜配合物。孵育 48 h 后加入 MTT,继续培养 4 h,弃去培养基,加入 DMSO,置摇

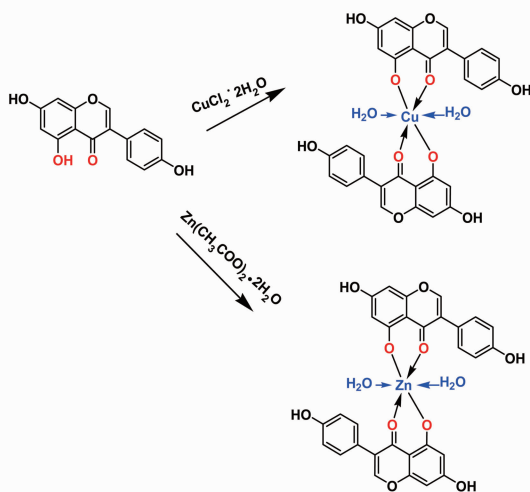


图1 金属配合物合成路线

Fig.1 The synthetic route of metal complexes

金属配合物的表征:合成获得的染料木素锌、铜金属配合物通过紫外光谱法、红外光谱法、热重分析等方法进行表征。

床溶解甲瓚结晶。在波长 490 nm 下测定各孔的吸光度值(OD),3 次重复。细胞增殖率计算公式:细胞增殖率(%) = (OD<sub>药物</sub> - OD<sub>空白</sub>)/(OD<sub>对照</sub> - OD<sub>空白</sub>) × 100。

1.4 数据分析

采用 Graph Pad Prism version 7.0 软件计算细胞增殖率,数据以均值 ± 标准差(x ± s)表示。同时进行非线性回归曲线拟合,得出各药物作用于不同细胞株的 IC<sub>50</sub> 值。

2 结果与分析

2.1 染料木素与金属配合效果的谱学表征

2.1.1 配位前后紫外光谱图对比分析 染料木素结构中具有 4 位羰基和 5 位羟基,从化学结构上分

析这个位点是可以发生配位反应的,假设发生配位,前后紫外光谱图会发生一定的变化。染料木素与铜离子、锌离子配位前后的紫外光谱检测结果如图 2 所示,染料木素配位前存在两个特征吸收峰,带I以肩峰的形式在 326 nm 出峰,带 II 在 266 nm 出峰,且强度远大于带 I ,符合异黄酮类化合物紫外光谱的特征。而染料木素与铜离子配位后两个吸收峰均向长波方向移动,带 I 仍然以肩峰的形式在 388 nm 出峰,带 II 在 270 nm 出峰,由此可以看出,配位反应主要影响的是带 I 的峰位。染料木素与锌离子配位后吸收峰也向长波方向移动,分别在 266,352 和 444 nm 位置出现了特征峰,由此可以推测染料木素分子当中 4 位的羰基( - C = O)和 5 位的羟基( - OH)确实参与了配位反应。

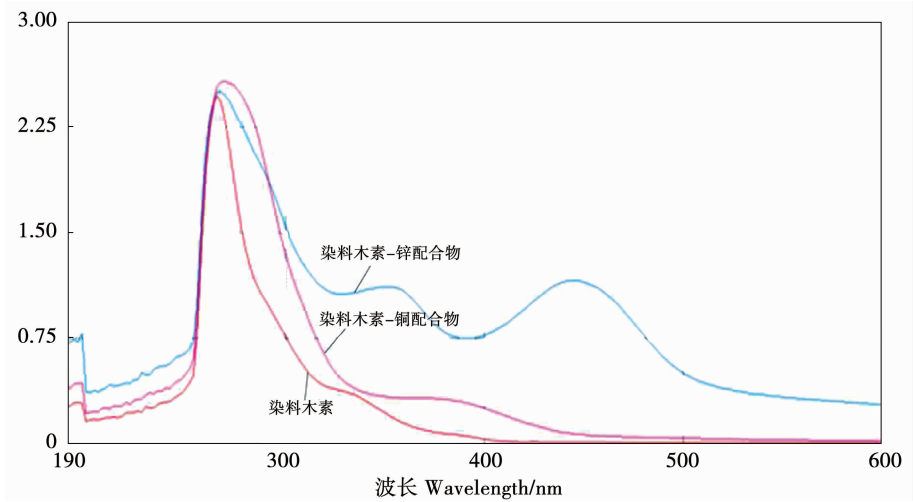
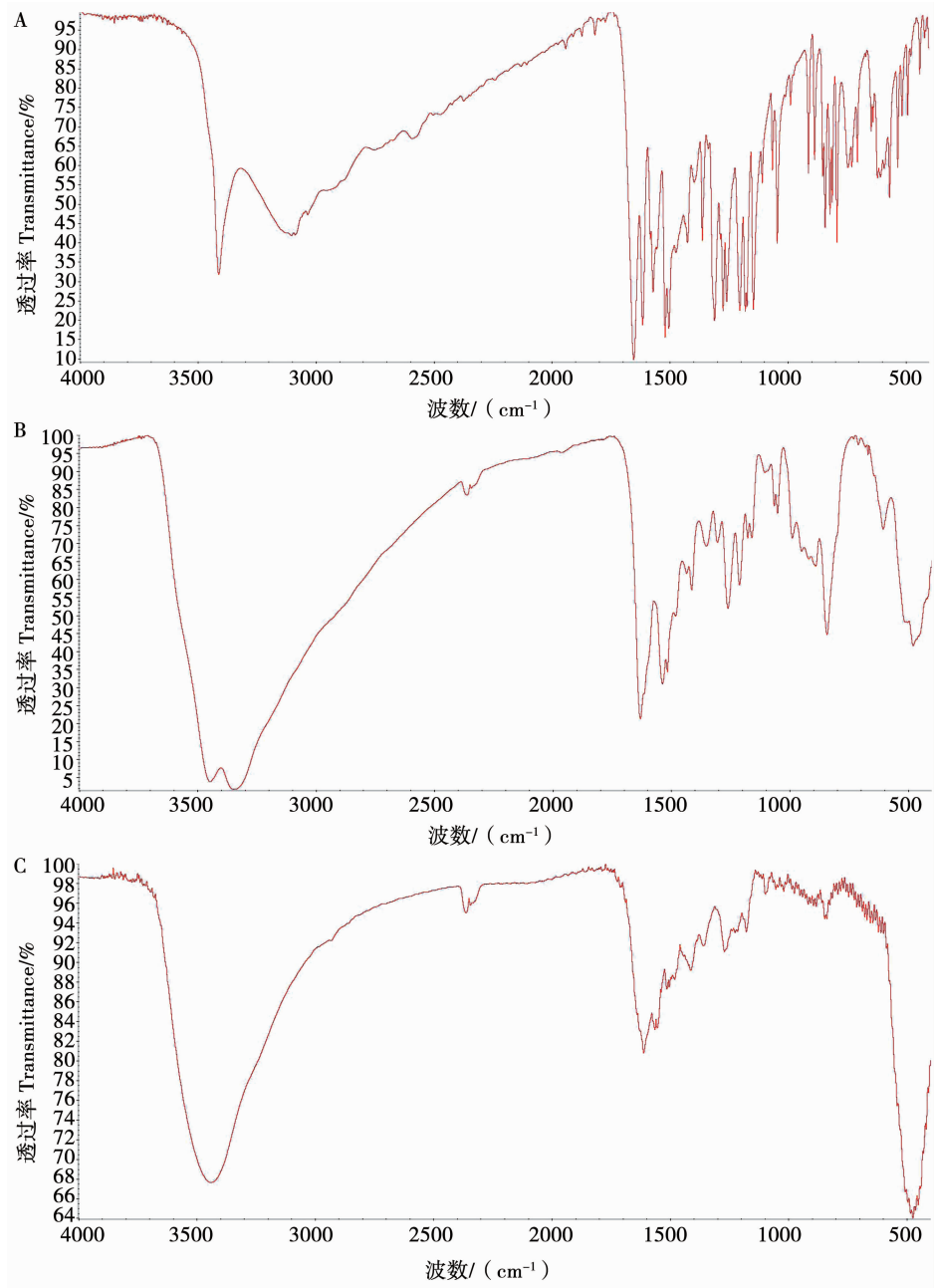


图 2 染料木素金属配位前后紫外光谱对比图  
Fig.2 The UV spectra of genistein and its metal complexes

2.1.2 配位前后红外光谱图对比分析 染料木素结构中具有 4 位羰基( - C = O)及 5 位、7 位、4' 位 3 个羟基( - OH),这些结构都会在红外谱图上有明显的特征,如果 4 位羰基及 5 位羟基发生配位反应,配位前后其红外光谱图会发生一定的变化。染料木素与铜离子、锌离子配位前后的红外光谱检测结果如图 3 所示,其主要峰位数据对比分析结果见表 1。由染料木素的红外谱图可以看出其具有两个羟基峰,分别在 3 412 和 3 104 cm<sup>-1</sup>,推测这是由于羰基出现了游离态和缔合态两种不同状态引起的;染料木素 - 铜的羟基吸收峰在 3 448 和 3 338 cm<sup>-1</sup> 左右,均往大波数方向发生了移动,尤其是缔合态的羟基峰发生了较大的移动,导致两个峰几乎重合,这说明在结构中羟基基本只以一种状态存在,这很

可能是由于 5 位羟基与金属发生络合后导致该位置的氧氢键伸缩运动消失;染料木素 - 锌配合物的羟基仅在 3 384 cm<sup>-1</sup> 处出峰,推测是由于 5 位羟基参与配位,导致该位置的氧氢键伸缩运动消失。染料木素配位前后 4 位羰基的位置也发生了变化,配位前羰基在 1 665 cm<sup>-1</sup> 出峰,配位后两配合物的 4 位羰基峰均向低波数方向移动,染料木素 - 铜在 1 625 cm<sup>-1</sup> 出峰,染料木素 - 锌在 1 641 cm<sup>-1</sup> 出峰,推测是由于 4 位羰基参与了配位引起的。另外染料木素配位后在 450 cm<sup>-1</sup> 左右增加了 1 个新的峰,染料木素 - 铜和染料木素 - 锌分别为 457 和 456 cm<sup>-1</sup> 处,推测是由金属配合物中新形成的金属 - O 键( - M - O)伸缩振动引起。



注:A. 染料木素;B. 染料木素-铜配合物;C. 染料木素-锌配合物。

Note: A. Genistein; B. Genistein-copper complex; C. Genistein-zinc complex.

图 3 染料木素金属配位前后的红外光谱对比图

Fig. 3 The infrared spectra of genistein and its metal complexes

表 1 染料木素及其金属配合物的红外光谱出峰位置

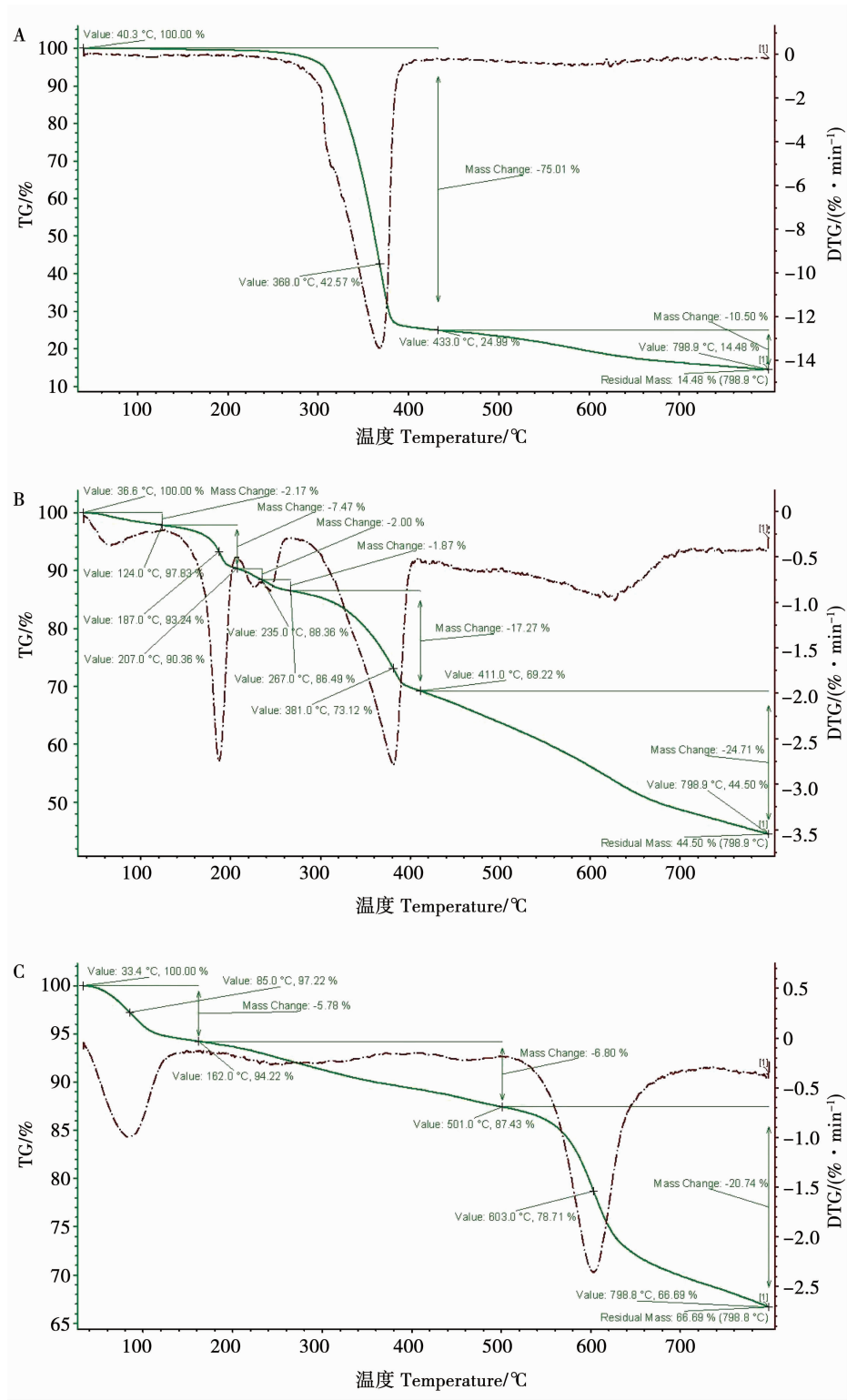
Table 1 The infrared spectral peak position of genistein and its metal complexes

化合物 Compound	$\nu_{-OH}/(cm^{-1})$	$\nu_{-C=O}/(cm^{-1})$	$\nu_{-M-O}/(cm^{-1})$
染料木素 Genistein	3412,3104	1665	—
染料木素-铜配合物 Genistein-copper complex	3448,3338	1625	457
染料木素-锌配合物 Genistein-zinc complex	3384	1641	456

2.1.1.3 配位前后热重曲线图对比分析 染料木素与金属离子配位前后的热稳定性和抗氧化能力也会发生一定的变化,染料木素及其铜、锌配合物的热重分析结果如图 4 所示,配体染料木素在 100 ℃处没有峰,说明染料木素分子中不含结晶水,而其

铜、锌配合物在 100 ℃处有峰,说明两个配合物均含有结晶水。染料木素在 440 ℃后基本稳定,总失重为 75.01%,其铜、锌配合物在 200 ~ 600 ℃以较快的速度失重,600 ℃后失重速度减缓,到达 800 ℃时,铜、锌配合物总失重分别为 55.50% 和 33.31%。





注:A. 染料木素;B. 染料木素-铜配合物;C. 染料木素-锌配合物。  
Note: A. Genistein; B. Genistein-copper complex; C. Genistein-zinc complex.

图4 染料木素金属配位前后的热重曲线图对比  
Fig.4 Thermogravimetric analysis of genistein and its metal complexes

根据以上紫外光谱图、红外光谱图及热重分析曲线图分析结果综合染料木素的结构特征可以推断出染料木素铜、锌配合物的分子结构(图5),说明成功制备出染料木素-铜配合物和染料木素-锌配合物。

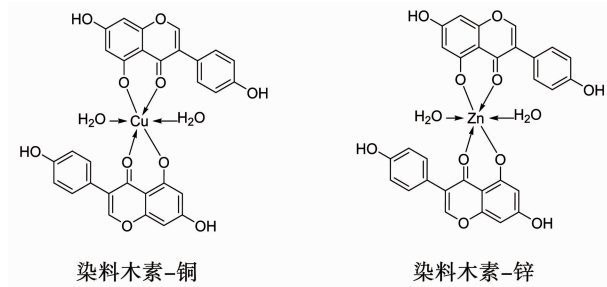


图 5 染料木素金属配合物结构图

Fig.5 The chemical structure of genistein-copper complexes

2.2 染料木素金属配合物的抗癌活性分析

2.2.1 对 A549 细胞增殖的影响 采用不同浓度的

染料木素和染料木素金属配合物处理 A549 细胞后,该细胞的增殖被不同程度地抑制,且抑制作用表现出浓度依赖性,染料木素 - 锌配合物对 A549 细胞生长抑制的 IC<sub>50</sub> 为 43.75 μmol·L<sup>-1</sup>,染料木素 - 铜配合物的 IC<sub>50</sub> 为 37.82 μmol·L<sup>-1</sup>,染料木素的 IC<sub>50</sub> 为 64.11 μmol·L<sup>-1</sup>,此结果显示染料木素与金属配合前后,对 A549 细胞的增殖抑制作用有所差异,配合物的增殖抑制作用优于配体染料木素且优于阳性对照药 5 - 氟尿嘧啶 (IC<sub>50</sub> 为 65.71 μmol·L<sup>-1</sup>),且染料木素 - 铜配合物的抑制作用优于染料木素 - 锌配合物(表 2)。

表 2 染料木素和染料木素金属配合物对 A549 细胞增殖的抑制作用

Table 2 The inhibition impact on A549 cells growth of genistein and its metal complexes

组别 Group	细胞增殖率 Cell proliferation rate/%				IC <sub>50</sub>
	16 μmol·L <sup>-1</sup>	32 μmol·L <sup>-1</sup>	64 μmol·L <sup>-1</sup>	128 μmol·L <sup>-1</sup>	
染料木素 - 锌配合物 Genistein-zinc complex	78.29 ± 0.075	66.20 ± 0.048	39.92 ± 0.119	3.43 ± 0.004	43.75
染料木素 - 铜配合物 Genistein-copper complex	60.65 ± 0.055	52.73 ± 0.016	44.57 ± 0.005	32.49 ± 0.015	37.82
5 - 氟尿嘧啶 5-fluorouracil	99.82 ± 0.015	95.97 ± 0.031	42.10 ± 0.013	24.72 ± 0.017	65.71
染料木素 Genistein	100.39 ± 0.013	98.18 ± 0.004	44.31 ± 0.013	18.17 ± 0.008	64.11

2.2.2 对 MCF-7 细胞增殖的影响 染料木素及其金属配合物处理 MCF-7 细胞后,MCF-7 细胞的增殖均被不同程度地抑制,且呈现出一定浓度依赖性,染料木素 - 锌配合物对 MCF - 7 细胞增殖抑制的 IC<sub>50</sub> 为 69.82 μmol·L<sup>-1</sup>,染料木素 - 铜配合物的 IC<sub>50</sub> 为

29.06 μmol·L<sup>-1</sup>,染料木素的 IC<sub>50</sub> 为 54.40 μmol·L<sup>-1</sup>,染料木素与金属配合后对 MCF-7 细胞的增殖抑制作用优于配体染料木素,染料木素 - 铜配合物的抑制作用优于染料木素 - 锌配合物(表 3)。说明不同的金属离子络合后产生的抗癌活性是有差异的。

表 3 染料木素和染料木素金属配合物对 MCF-7 细胞增殖的抑制作用

Table 3 The inhibition impact on MCF-7 cells growth of genistein and its metal complexes

组别 Group	细胞增殖率 Cell proliferation rate/%				IC <sub>50</sub>
	16 μmol·L <sup>-1</sup>	32 μmol·L <sup>-1</sup>	64 μmol·L <sup>-1</sup>	128 μmol·L <sup>-1</sup>	
染料木素 - 锌配合物 Genistein-zinc complex	84.24 ± 0.007	67.69 ± 0.013	53.85 ± 0.008	33.80 ± 0.027	69.82
染料木素 - 铜配合物 Genistein-copper complex	66.64 ± 0.023	44.22 ± 0.009	31.87 ± 0.016	20.32 ± 0.011	29.06
5 - 氟尿嘧啶 5-fluorouracil	66.34 ± 0.011	68.45 ± 0.011	43.37 ± 0.018	25.07 ± 0.009	41.91
染料木素 Genistein	91.04 ± 0.002	79.76 ± 0.014	32.96 ± 0.007	24.21 ± 0.021	54.40

2.2.3 对 HUVEC 细胞增殖的影响 染料木素与金属离子配位处理 HUVEC 细胞后,染料木素金属配合物对 HUVEC 细胞的 IC<sub>50</sub> 均大于 100,其中染料木素 - 铜配合物对 HUVEC 的增殖抑制作用较染料木素 - 锌配合物小,与阳性药 5-氟尿嘧啶的抑制作

用相当,试验浓度内染料木素配体对 HUVEC 的增殖无抑制作用(表 4)。结果说明,相对于人正常脐静脉内皮细胞 HUVEC,染料木素及其金属配合物对 A549 和 MCF-7 细胞存在选择性抑制作用,亦提示其具有较高的安全性。

表 4 染料木素和染料木素金属配合物对 HUVEC 细胞增殖的抑制作用  
Table 4 The inhibition impact on HUVEC cells growth of genistein and its metal complexes

组别 Group	细胞增殖率 Cell proliferation rate/%				IC <sub>50</sub>
	16 μmol·L <sup>-1</sup>	32 μmol·L <sup>-1</sup>	64 μmol·L <sup>-1</sup>	128 μmol·L <sup>-1</sup>	
染料木素 - 锌配合物 Genistein-zinc complex	126.52 ± 0.027	104.68 ± 0.009	71.53 ± 0.010	41.30 ± 0.010	106.5
染料木素 - 铜配合物 Genistein-copper complex	108.48 ± 0.013	100.17 ± 0.017	92.62 ± 0.068	79.57 ± 0.005	234.3
5 - 氟尿嘧啶 5-fluorouracil	113.64 ± 0.003	100.77 ± 0.023	87.73 ± 0.005	81.82 ± 0.019	281.5
染料木素 Genistein	130.07 ± 0.086	125.08 ± 0.096	97.92 ± 0.123	122.12 ± 0.037	—

3 讨论

3.1 金属配合物的合成分析

染料木素属于异黄酮类型,结构中具有 5-酚羟基和 4-酮羰基,这两个位点具有极强的配位能力,能与金属离子络合形成配合物。这类反应一般采用无水乙醇作为溶剂,需要在碱性环境下低温进行反应,推测主要有以下几个方面的原因:一是加热后染料木素在无水乙醇中溶解性较好;二是在碱性环境下能促使 5-酚羟基形成氧负离子,一方面破坏了羟基和羰基之间的分子内氢键,另一方面氧负离子作为电子给体能更好地与金属离子络合。

在后续处理过程中,粗产物中含有未反应完全的染料木素及相应的无机盐,经多次试验确定最佳后处理方法为粗产物依次经 50% 乙醇、水、乙醇各清洗 3 次,这样可以得到纯度较高的配合物,这与文献报道的黄酮类金属配合物的纯化方法不同<sup>[18]</sup>。

3.2 金属配合物的结构分析

染料木素铜、锌配合物经纯化和冷冻干燥后,利用紫外光谱、红外光谱、热重分析等多种手段对结构进行表征,通过分析配位前后谱图的变化来推测络合反应发生的位点。染料木素结构中具有两个羟基,分别是 5-羟基和 4'-羟基,紫外光谱和红外光谱都可以证实络合反应发生在 5-酚羟基和 4-酮羰基上。

染料木素属于异黄酮,在紫外光谱中,由于 B 环与 4-酮羰基之间的共轭体系被破坏,导致带 I 比较弱,而 A 环与 4-羰基共轭形成的带 II 相对较强。当染料木素与铜、锌离子通过 5-酚羟基和 4-酮羰基形成配合物后,谱图产生了两个较大变化:一是整个分子的平面型更好,共轭程度增加,带 I 和带 II 的位置均发生红移,弱吸收峰带 I 变化更为明显;二是吸收强度也较之前增加。由此可以推测染料木素通过 5-酚羟基和 4-酮羰基与金属离子形成了配合物。

在红外光谱中也可以观察到配位前后谱图 3 个较大的变化:一是,羰基峰峰位的变化,这主要是由于羰基参与了配位引起的;二是,羟基峰峰位的变化,配位前羟基以游离态和与羰基缔合两种状态存在,与铜、锌离子配位后,羟基与羰基的缔合态减少甚至消失,羟基峰变为 1 个峰;三是,染料木素配位后形成的金属 - O 键,它的伸缩振动在 450 cm<sup>-1</sup>左右产生了一个新的峰。由此可以推测染料木素通过 4-羟基和 5-羰基与金属离子形成了配合物。

染料木素铜、锌离子配合物的准确三维结构还需要进一步采用 X-单晶衍射仪检测证实。

3.3 金属配合物的抗癌活性分析

许多研究证明,黄酮形成金属配合物后药理活性明显增强<sup>[19-20]</sup>。本研究通过 MTT 方法研究染料木素与锌离子、铜离子配位前后对 MCF-7 细胞、A549 细胞这两类癌细胞增殖的抑制活性,染料木素锌、铜配合物对上述两种癌细胞生长增殖抑制活性明显高于其配体染料木素,推测主要存在以下因素:一是,铜、锌离子与染料木素配合后形成了一个更大的超离域结构,具有更多活性部位,能更好地与靶点结合;二是,抗癌药物进入体内的主要目标是 DNA,而染料木素金属配合物与 DNA 作用较配体强;三是,染料木素形成配合物后脂溶性增加,药物易于透过细胞膜与 DNA 作用而发挥药效;四是,铜、锌都是人体必需的微量金属元素。

结果还显示染料木素铜配合物对 MCF-7 细胞、A549 细胞这两类癌细胞的增殖抑制作用均高于阳性对照 5-氟尿嘧啶,而染料木素锌配合物对 A549 细胞的增殖抑制活性优于阳性对照,但对 MCF-7 细胞的增殖抑制活性不及阳性对照。综合而言,无论是对于 MCF-7 细胞还是 A549 细胞,染料木素铜配合物的抑制活性都优于锌配合物。该结果可能与以下原因有关:铜是许多蛋白质和酶的辅因子,动物的正常生理功能都需要铜的参与,目前癌症的治疗热点之一是利用减少细胞内铜的含量,使蛋白酶

体失活,但具体原因还有待进一步研究。

本研究目前仅在体外细胞水平上对染料木素锌、铜配合物的抗癌活性进行研究,后期还需要进行体内动物试验,确切的抗癌作用机制也有赖于进一步研究证明。

### 4 结论

红外光谱、紫外光谱和热重分析表征结果证明,本研究以大豆中的异黄酮类成分染料木素为配体,成功合成了染料木素-锌、染料木素-铜配合物,合成方法及后处理方法均简便可行。两种金属配合物对 MCF-7 和 A549 两种癌细胞的增殖抑制活性均高于其配体染料木素,其中染料木素-铜配合物对上述两种癌细胞增殖抑制活性均高于阳性对照 5-氟尿嘧啶,但对于正常细胞 HUVEC 细胞均未表现出明显的增殖抑制作用。研究结果可为大豆中的抗癌活性成分研究提供参考,同时可为充分开发利用大豆产品、发展大豆产业提供理论依据。

### 参考文献

[1] 孙明明,王萍,李智媛,等.大豆活性成分研究进展[J].大豆科学,2018,37(6):975-983. (SUN M M, WANG P, LI Z Y, et al. Research progress on active components of soybean[J]. Soybean Science, 2018, 37(6): 975-983. )

[2] 陈书清.大豆抗癌活性成分研究进展[J].江苏调味副食品,2019(3):5-9. (CHEN S Q. Research progress on active components of soybean[J]. Jiangsu Condiment and Subsidiary Food, 2019(3): 5-9. )

[3] 李硕,王建.大豆异黄酮临床应用的研究进展[J].大豆科学,2020,39(4):633-640. (LI S, WANG J. Research progress of clinical application of soybean isoflavones[J]. Soybean Science, 2020, 39(4): 633-640. )

[4] 田笑,金梅花,刘莉园,等.大豆异黄酮诱导小鼠肝癌移植瘤细胞凋亡的机制[J].食品科学,2018,39(17):122-126. (TIAN X, JIN M H, LIU L Y, et al. Pro-apoptotic mechanism of soy isoflavones on transplanted hepatoma cells in mice[J]. Food Science, 2018, 39(17): 122-126. )

[5] GHOLAMPOUR F, MOHAMMADI Z, KARIMI Z, et al. Protective effect of genistein in a rat model of ischemic acute kidney injury[J]. Gene, 2020, 753: 144789.

[6] 金峰,祁昊.染料木素对野百合碱诱导的大鼠肺动脉高血压的保护作用[J].药物评价研究,2020,43(4):695-699. (JIN F, QI H. Protective effect of genistein on pulmonary arterial hypertension induced by melastine in rats[J]. Drug Evaluation Research, 2020, 43(4): 695-699. )

[7] 王有娣,唐旗玲,徐娟娟,等.染料木素-锌配合物的合成及抗癌活性研究[J].现代中药研究与实践,2018,32(5):30-33. (WANG Y D, TANG Q L, XU J J, et al. Synthesis and anticancer activity of genistein-Zinc complexes[J]. Research and Practice on Chinese Medicines, 2018, 32(5): 30-33. )

[8] 李亚玲,叶云,李俊.天然植物雌激素-染料木黄酮延缓女性更年期的临床疗效观察及其作用机制的研究[J].中国妇幼保健,2013,28(4):645-649. (LI Y L, YE Y, LI J. Clinical

observation and mechanism of natural phytoestrogen-genistein delaying menopause in women[J]. Maternal and Child Health Care of China, 2013, 28(4): 645-649. )

[9] FERENC P, SOLÁR P, KLEBAN J, et al. Down-regulation of Bcl-2 and Akt induced by combination of photoactivated hypericin and genistein in human breast cancer cells[J]. Journal of Photochemistry and Photobiology Biology B: Biology, 2010, 98(1): 25-34.

[10] CHANG K L, KUNG M L, CHOW N H, et al. Genistein arrests hepatoma cells at G<sub>2</sub>/M phase: Involvement of ATM activation and upregulation of p21<sup>waf1/cip1</sup> and Wee1 [J]. Biochemical Pharmacology, 2004, 67(4): 717-726.

[11] 王林,李树伟,宋仲容.微量金属元素含量与高胆固醇致病关系的研究[J].化学研究与应用,2000(5):531-534. (WANG L, LI S W, SONG Z R. The study on cause of disease by trace elements content and high cholesterol [J]. Chemical Research and Application, 2000(5): 531-534. )

[12] 李小丽.基于细胞凋亡相关蛋白的黄芩苷铜抗 HepG-2 增殖的免疫印迹分析[D].重庆:西南大学,2015. (LI X L. Effect of baicalin-copper on the induction of apoptosis in human hepatoblastoma cancer HepG-2 cell based on western blotting analysis[D]. Chongqing: Southwest University, 2015. )

[13] TEMERK Y M, IBRAHIM M S, KOTB M. Voltammetric and spectroscopic studies on binding of antitumor Morin, Morin-Cu complex and Morin-β-cyclodextrin with DNA[J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2009, 71(5): 1830-1836.

[14] 焦小利,刘凤芝,刘海涛.二氢杨梅素-锌配合物的合成及其体外抗肿瘤作用[J].亚太传统医药,2009,5(11):27-29. (JIAO X L, LIU F Z, LIU H T. The synthesis of the complex of dihydromyricetin with zinc and rearch on the effect of antitumor in vitro[J]. Asia-Pacific Traditional Medicine, 2009, 5(11): 27-29. )

[15] TAN J, WANG B, ZHU L. DNA binding, cytotoxicity, apoptotic inducing activity, and molecular modeling study of quercetin zinc(II) complex[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2009, 17(2): 614.

[16] 刘娜.小白菊内酯衍生物体外抗肿瘤活性研究[J].中国中医药现代远程教育,2021,19(15):142-144. (LIU N. Study on in vitro antitumor activity of parthenolide derivatives [J]. Chinese Medicine Modern Distance Education of China, 2021, 19(15): 142-144. )

[17] 毕康平.中药草薢化学成分抗癌活性研究[D].青岛:青岛科技大学,2020. (BI K P. Study on the anticancer activity of the chemical constituents of alpinia katsumadai hayata[D]. Qingdao: Qingdao University of Science and Technology, 2020.

[18] 蔡胜.木犀草素和金属配合物的制备及其生物活性研究[D].广州:华南理工大学,2016. (CAI S. Research on synthesis and biological activity of luteolin and its metal complexes [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2016. )

[19] 王晓英,刘衍季,王晓华,等.橙皮素过渡金属配合物的合成及其生物活性研究[J].时珍国医国药,2021,32(4):836-839. (WANG X Y, LIU Y J, WANG X H, et al. Synthesis and bioactivity of hesperidin transition metal complexes[J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2021, 32(4): 836-839. )

[20] 熊运浩.基于中药配位化学学说的四种木犀草素金属配合物的合成、结构表征及活性研究[D].南昌:江西科技师范大学,2018. (XIONG Y H. Synthesis, characterization and bioactivity of four luteol in metal complexes based on the theory of coordination chemistry of traditional Chinese medicine[D]. Nanchang: Jiangxi Science and Technology Normal University, 2018. )