

文章编号: 1004-4353(2018)03-0229-10

# 桦木酮衍生物缩氨基硫脲金属配合物的 合成与表征

刘颖, 王葛阳, 朴凤玉, 韩荣弼\*

(长白山生物资源与功能分子教育部重点实验室(延边大学), 吉林 延吉 133002)

**摘要:** 以桦木醇为起始物, 通过对其 3 号位与 28 号位进行修饰, 合成了两种配体(桦木酮酸缩氨基硫脲和 28-O-丁二酸酯桦木酮缩氨基硫脲)及其金属配合物. 利用红外、氢谱、质谱、元素分析及热重分析等测试手段对金属配合物进行了表征, 并对所合成配体及金属配合物进行了抗菌活性测试与 Hela 癌细胞毒性测试. 通过抑菌活性试验发现: 桦木酮酸缩氨基硫脲金属铜、银络合物对 *S. aureus* 4220 型和 *E. coli* 1924 型细菌有抑制作用, 28-O-丁二酸酯桦木酮缩氨基硫脲对大多数细菌都有一定的抑制作用, 28-O-丁二酸酯桦木酮对 *Streptococcus mutans* 3289 型细菌的抗菌活性与氯霉素相当. 通过细胞毒性试验发现: 桦木酮酸缩氨基硫脲铜配合物、28-O-丁二酸酯桦木酮缩氨基硫脲及其金属络合物具有良好的抑制 Hela 细胞的能力, 且其抑制率随着化合物浓度的增加而增加; 本文所合成的金属络合物抑制 Hela 细胞的能力优于其配体; 在癌细胞毒性测试中的化合物  $IC_{50}$  值为 10~25  $\mu\text{M}$ .

**关键词:** 桦木醇; 金属配合物; 抑菌活性; 细胞毒性

**中图分类号:** O629.6<sup>+</sup>1

**文献标识码:** A

## Synthesis and characterization of betulone derivatives of thiosemicarbazones and their metal complexes

LIU Ying, WANG Geyang, PIAO Fengyu, HAN Rongbi\*

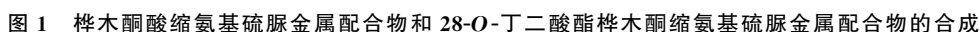
(Key Laboratory of Natural Resources of Changbai Mountain & Functional Molecules  
(Yanbian University), Ministry of Education, Yanji 133002, China)

**Abstract:** Two ligands (betulonic acid thiosemicarbazone and 28-O-succinylbetulone thiosemicarbazone) and their metal complexes have been synthesized using betulin as a starting material via modification of 3- and 28-position of betulin. The complexes were characterized by infrared spectra analysis and proton nuclear magnetic resonance, elemental analysis, matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry and thermogravimetric analysis. Finally, antibacterial activity test and Hela cancer cell toxicity of the synthesized ligand and metal complexes were performed. The inhibition of *S. aureus* 4220 and *E. coli* 1924 was found by antibacterial activity test. 28-O-succinylbetulone thiosemicarbazone has a certain inhibitory effect on most bacteria, and 28-O-succinylbetulone has antibacterial activity comparable to chloramphenicol in *Streptococcus mutans* 3289. The cytotoxicity test showed that betulonic acid thiosemicarbazone copper complex, 28-O-succinylbetulone thiosemicarbazone and its metal complex had the ability to inhibit Hela cells, and their inhibition rates increase with the increase of compounds concentration. Metal complexes synthesized and tested in this paper have better ability to inhibit Hela cells than their ligands.  $IC_{50}$  values of compounds in cytotoxicity tests are 10-25  $\mu\text{M}$ .

**Keywords:** betulin; metal complexes; antibacterial effects; cytotoxicity

自 1967 年 B. Rosenberg 等<sup>[16]</sup>发现顺铂的抗癌活性以来,基于金属配合物的药物研究得到了迅速发展<sup>[17-20]</sup>. 研究发现,一些金属离子与天然产物形成配合物后往往能够改变天然产物的活性,例如增加抗肿瘤和抗氧化的性能等<sup>[21]</sup>. 本文运用拼合原理,合成了 28-O-丁二酸酯桦木酮缩氨基硫脲金属配合物及桦木酮酸缩氨基硫脲金属配合物,并对其抑菌活性和细胞毒性进行了实验,以期筛选出具有高选择性及低毒性的化合物,为开发新型药物提供参考.

合成路线如图 1 所示.



桦木酮酸缩氨基硫脲(3): Yield 1.01 g (85%), IR(KBr,  $\nu/\text{cm}^{-1}$ ): 3367, 3289, 3165, 1597, 1505, 1075, 802;  $^1\text{H}$  NMR(300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 8.61(1H, s, NH), 7.20, 6.21(1H, s, NH), 4.67, 4.58

(each 1H, s, H-29), 1.12, 1.09, 0.88, 0.84, 0.77 (each s, 3H,  $5 \times \text{CH}_3$ ); MS (MALDI-TOF, DITH as matrix),  $m/z$  (100%): 513.97  $[\text{M} + \text{H}]^+$ .

**1.2.2 配体 7 (28-O-丁二酸酯桦木酮缩氨基硫脲  $\text{HL}_2$ ) 的合成** 取 28-O-丁二酸酯桦木酮 2 mmol, 加入至 2 mL  $\text{CHCl}_3$  溶液和 2 mL 甲醇溶液中, 搅拌升温至 60 °C. 加入缩氨基硫脲固体 2 mmol, TLC 观察反应, 10 h 后反应结束, 有少量白色固体析出. 将反应降至室温后, 加入少量甲醇, 析出大量白色固体. 抽滤, 用甲醇洗涤杂质, 得白色固体产物.

28-O-丁二酸酯桦木酮缩氨基硫脲(7): Yield 1.04 g (85%), white solid, IR (KBr,  $\nu/\text{cm}^{-1}$ ): 3 445, 3 285 ( $\text{NH}_2$ ), 3 067 ( $=\text{CH}$ ), 2 943 ( $\text{C}-\text{H}$ ), 2 868 ( $\text{C}-\text{H}$ ), 1 720 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 1 639 ( $\text{C}=\text{C}$ ), 1 591 ( $\text{C}=\text{N}$ ), 1 518 ( $\text{NH}+\text{C}-\text{N}$ ), 1 483 ( $\text{NH}+\text{C}-\text{N}$ ), 1 462 ( $\text{CH}_2$ ), 1 385 ( $\text{CH}_3$ ), 1 273 ( $\text{C}-\text{N}$ ), 1 163 ( $\text{C}-\text{O}$ ), 1 086 ( $\text{C}-\text{N}$ ), 1 018 ( $\text{C}=\text{S}$ ), 881 ( $\text{C}=\text{CH}_2$ ), 822 ( $\text{C}=\text{S}$ );  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO)  $\delta$ : 12.21 (s, 1H, COOH), 10.06 (s, 1H, NH), 8.06, 7.32 (each s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 4.71, 4.57 (each s, 1H, H-29), 4.29~4.25 (d, 1H,  $J=10.5$  Hz, H-28), 3.80~3.76 (d, 1H,  $J=10.5$  Hz, H-28), 2.40~2.20 (m, 1H, H-19), 1.10, 1.00, 0.94, 0.82 (s, 3H,  $5 \times \text{CH}_3$ ); MS (MALDI-TOF),  $m/z$ : 613.80  $[\text{M}]^+$ . Anal. Calc. for  $\text{C}_{35}\text{H}_{55}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$  (%): C, 68.48; H, 9.06; N, 6.84; S, 5.22; Found (%): C, 68.18; H, 8.87; N, 7.02; S, 4.88.

**1.2.3  $\text{HL}_1$  金属配合物的合成** 氮气保护下, 将配体 3 溶于混合溶剂中, 搅拌 25 min 后, 加入金属盐, 继续在室温或 60 °C 温度下进行反应.

铜络合物(4a)的合成: 取 158 mg (0.3 mmol) 配体 3, 溶于 4 mL 混合溶剂(体积比例为  $V_{\text{CHCl}_3} : V_{\text{MeOH}} = 1 : 1$ )中, 再加入 33.50 mg (0.15 mmol)  $\text{CuBr}_2$ , 室温下反应. 随着反应的进行, 溶液从乳白色悬浊液变为浅褐色的澄清液, TLC 跟踪, 31 h 后反应结束. 旋干反应溶剂, 加入  $\text{CHCl}_3$  溶液, 超声波溶解, 析出大量固体, 抽滤, 得浅褐色粉末状产物.

桦木酮酸缩氨基硫脲溴化铜配合物(4a): Yield 170 mg (89%); IR (KBr,  $\nu/\text{cm}^{-1}$ ): 3 427, 3 250 ( $\text{NH}_2$ ), 3 162 ( $\text{N}-\text{H}$ ), 2 946, 2 868 ( $\text{C}-\text{H}$ ), 1 698 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 1 593 ( $\text{C}=\text{N}$ ), 1 518 ( $\text{S}=\text{C}-\text{NH}$ ), 1 457, 1 286, 1 120 ( $\text{C}-\text{N}$ ), 810 ( $\text{C}=\text{S}$ );  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO,  $\delta$ , ppm): 10.50 (s, 1H, NH), 8.66, 7.85 (s, 1H,  $\text{NH}_2$ ), 4.73, 4.58 (s, 1H, H-29), 2.98~2.75 (m, 1H, H-19), 1.13, 1.02, 0.94, 0.90, 0.83 (s, 3H,  $5 \times \text{CH}_3$ ); MS (MALDI-TOF, DITH as matrix),  $m/z$  (100%): 1 117.9  $[\text{M}-2\text{Br}^-]^+$ . Anal. Calc. for  $\text{C}_{62}\text{H}_{98}\text{Br}_2\text{CuN}_6\text{O}_4\text{S}_2$  (%): C, 58.22; H, 7.72; N, 6.57; S, 5.01; Found (%): C, 58.49; H, 7.859; N, 6.29; S, 5.320.

银络合物(4b)的合成: 取 158 mg (0.3 mmol) 配体 3, 溶于 4 mL 混合溶剂(体积比例为  $V_{\text{CHCl}_3} : V_{\text{MeOH}} = 1 : 1$ )中, 加入 21.04 mg (0.15 mmol)  $\text{AgCl}$ , 一滴冰醋酸作为催化剂, 室温下反应. 随着反应的进行, 溶液从乳白色悬浊液变为浅黄色的澄清液, TLC 跟踪, 47 h 后反应结束. 旋干反应溶剂, 加入  $\text{CHCl}_3$  溶液, 超声波溶解, 析出大量固体, 抽滤, 得浅黄色粉末状产物.

桦木酮酸缩氨基硫脲氯化银配合物(4b): Yield 169 mg (94%); IR (KBr,  $\nu/\text{cm}^{-1}$ ): 3 417, 3 240 ( $\text{NH}_2$ ), 3 151 ( $\text{N}-\text{H}$ ), 2 945, 2 868 ( $\text{C}-\text{H}$ ), 1 699 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 1 596 ( $\text{C}=\text{N}$ ), 1 515 ( $\text{S}=\text{C}-\text{NH}$ ), 1 456, 1 288, 1 120 ( $\text{C}-\text{N}$ ), 815 ( $\text{C}=\text{S}$ );  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO,  $\delta$ , ppm): 12.02 (s, 1H, COOH), 10.48 (s, 1H, NH), 8.67, 7.79 (s, 1H,  $\text{NH}_2$ ), 4.70, 4.57 (s, 1H, H-29), 3.32~2.96 (s, 1H, H-19), 1.12, 1.02, 0.93, 0.90, 0.82 (s, 3H,  $5 \times \text{CH}_3$ ); MS (MALDI-TOF, DITH as matrix),  $m/z$  (100%): 1 163.37  $[\text{M}-\text{Cl}^- - \text{H}_2\text{O}]^+$ . Anal. Calc. for  $\text{C}_{62}\text{H}_{100}\text{AgClN}_6\text{O}_5\text{S}_2$  (%): C, 61.19; H, 8.28; N, 6.91; S, 5.27; Found (%): C, 60.08; H, 8.273; N, 7.25; S, 5.26.

镉络合物(4c)的合成: 取 158 mg (0.3 mmol) 配体 3, 溶于 4 mL 混合溶剂(体积比例为  $V_{\text{CHCl}_3} : V_{\text{MeOH}} = 1 : 1$ )中, 加入 27.5 mg (0.3 mmol)  $\text{CdCl}_2$ , 在 60 °C 下反应. 随着反应的进行, 溶液从乳白色悬浊液变为淡黄色的澄清液, TLC 跟踪, 50 h 后反应结束. 冷却后, 旋干反应溶剂, 加入  $\text{CHCl}_3$  溶液, 超声波溶解, 析出大量固体, 抽滤, 得黄色粉末状产物.

桦木酮酸缩氨基硫脲氯化铬配合物(4c): Yield 168 mg (90%); IR(KBr,  $\nu/\text{cm}^{-1}$ ): 3 424, 3 252 ( $\text{NH}_2$ ), 3 185(N—H), 2 941, 2 868(C—H), 1 694(C=O), 1 596(C=N), 1 524(S=C—NH), 1 455 (C—N), 1 295, 814(C=S);  $^1\text{H}$  NMR(300 MHz, DMSO,  $\delta$ , ppm): 12.06(s, 1H, COOH), 10.12(s, 1H, NH), 8.14, 7.40(s, 1H,  $\text{NH}_2$ ), 4.70, 4.57(s, 1H, H-29), 2.96~2.73(m, 1H, H-19), 1.10, 1.08, 1.00, 0.95, 0.85(s, 3H,  $5 \times \text{CH}_3$ ); MS(MALDI-TOF, DITH as matrix),  $m/z$  (100%): 1 167.1 [ $\text{M}-2\text{Cl}^- - \text{MeOH}-\text{H}$ ] $^+$ . Anal. Calc. for  $\text{C}_{63}\text{H}_{102}\text{CdCl}_2\text{N}_6\text{O}_5\text{S}_2$  (%): C, 59.54; H, 8.09; N, 6.61; S, 5.04; Found (%): C, 59.88; H, 7.465; N, 6.32; S, 4.928.

钡络合物(4d)的合成: 取 154 mg (0.3 mmol) 配体 3, 溶于 4 mL 混合溶剂(体积比例为  $V_{\text{CHCl}_3} : V_{\text{MeOH}} = 1 : 1$ )中, 加入 25.84 mg (0.15 mmol)  $\text{PdCl}_2$ , 室温下反应. 随着反应的进行, 溶液从乳白色悬浊液变为橘黄色澄清液, TLC 跟踪, 8 h 后反应结束. 旋干反应溶剂, 加入  $\text{CHCl}_3$  溶液, 超声波溶解, 析出大量固体, 抽滤, 得橘黄色粉末状产物.

桦木酮酸缩氨基硫脲氯化钡配合物(4d): Yield 155 mg (86%); IR(KBr,  $\nu/\text{cm}^{-1}$ ): 3 414, 3 300 ( $\text{NH}_2$ ), 3 154(N—H), 2 947, 2 868(C—H), 1 697(C=O), 1 597(C=N), 1 533(S=C—NH), 1 456 (C—N), 1 285, 812(C=S);  $^1\text{H}$  NMR(300 MHz, DMSO,  $\delta$ , ppm): 11.00(s, 1H, NH), 9.03, 8.03(s, 1H,  $\text{NH}_2$ ), 4.69, 4.56(s, 1H, H-29), 2.96(m, 1H, H-19), 1.03, 0.89, 0.86, 0.83, 0.81(s, 3H,  $5 \times \text{CH}_3$ ); MS(MALDI-TOF, DITH as matrix),  $m/z$  (100%): 1 162.71 [ $\text{M}-2\text{Cl}^- - 2\text{H}_2\text{O}$ ] $^+$ . Anal. Calc. for  $\text{C}_{62}\text{H}_{102}\text{Cl}_2\text{N}_6\text{O}_6\text{PdS}_2$  (%): C, 58.68; H, 8.10; N, 6.62; S, 5.05; Found (%): C, 58.47; H, 8.103; N, 6.25; S, 5.340.

#### 1.2.4 $\text{HL}_2$ 金属配合物的合成

Cu 络合物的合成: 取 28-O-丁二酸酯桦木酮缩氨基硫脲固体(0.3 mmol)和  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  固体(0.15 mmol), 加入至  $\text{CHCl}_3$  与乙醇的混合溶液(4 mL)中. 室温下, 充入氮气. 溶液由无色迅速变为黄色, 后又转变为绿色, 最后慢慢变回黄色. TLC 跟踪, 24 h 后反应结束. 加入少量甲醇有固体析出, 抽滤, 得到黄色固体产物.

28-O-丁二酸酯桦木酮缩氨基硫脲氯化铜配合物(8a): Yield 139 mg (68%); IR(KBr,  $\nu/\text{cm}^{-1}$ ): 3 424, 3 240( $\text{NH}_2$ ), 3 156(NH), 2 945(C—H), 2 868(C—H), 1 734(C=O), 1 595(C=N), 1 522(NH+C—N), 1 458( $\text{CH}_2$ ), 1 387( $\text{CH}_3$ ), 1 285(C—N), 1 157(C—O), 1 086(C—N), 1 016(C=S), 881 (C= $\text{CH}_2$ ), 814(C=S);  $^1\text{H}$  NMR(500 MHz, DMSO,  $\delta$ , ppm): 12.18(s, 1H, COOH), 10.28(s, 1H, NH), 8.57, 7.83(s, 1H,  $\text{NH}_2$ ), 4.71(s, 1H, H-29), 4.57(s, 1H, H-29), 4.29~4.24(d, 1H,  $J=11.0$  Hz, H-28), 3.80~3.75(d, 1H,  $J=11$  Hz, H-28), 2.75~2.60(m, 1H, H-19), 1.13, 1.03, 1.01, 0.94, 0.82(s, 3H,  $5 \times \text{CH}_3$ ); MS(MALDI-TOF, DITH as matrix),  $m/z$  (100%): 614.30 [ $\text{M}-\text{L}-\text{Cu}-2\text{Cl}-\text{H}$ ] $^+$ , 676.09 [ $\text{M}-\text{L}-2\text{Cl}-\text{H}$ ] $^+$ , 1 290.80 [ $\text{M}-2\text{Cl}+\text{H}$ ] $^+$ . Anal. Calc. for  $\text{C}_{70}\text{H}_{110}\text{Cl}_2\text{CuN}_6\text{O}_8\text{S}_2$  (%): C, 61.72; H, 8.14; N, 6.17; S, 4.71; Found (%): C, 61.31; H, 8.139; N, 6.48; S, 4.94.

Ag 络合物的合成: 取 28-O-丁二酸酯桦木酮缩氨基硫脲固体 0.3 mmol, 加入 0.15 mmol  $\text{AgNO}_3$  固体, 至氯仿和乙醇的混合溶液(体积比例为 1 : 1, 共 4 mL)中, 室温下充入氮气. 随着反应的进行, 溶液中逐渐有少量银白色固体析出. TLC 跟踪, 48 h 后反应结束. 溶液中加入少量甲醇析出固体, 抽滤, 得白色固体产物.

28-O-丁二酸酯桦木酮缩氨基硫脲硝酸银配合物(8b): Yield 119 mg (57%); IR(KBr,  $\nu/\text{cm}^{-1}$ ): 3 420, 3 275( $\text{NH}_2$ ), 3 175(NH), 2 947(C—H), 2 870(C—H), 1 734(C=O), 1 599(C=N), 1 514(NH+C—N), 1 458( $\text{CH}_2$ ), 1 385( $\text{CH}_3$ ), 1 287(C—N), 1 159(C—O), 1 084(C—N), 1 016(C=S), 881 (C= $\text{CH}_2$ ), 814(C=S);  $^1\text{H}$  NMR(300 MHz, DMSO,  $\delta$ , ppm): 12.00(s, 1H, COOH), 10.50(s, 1H, NH), 8.82, 7.94(s, 1H,  $\text{NH}_2$ ), 4.71, 4.57(s, 1H, H-29), 4.30~4.26(d, 1H,  $J=10.5$  Hz, H-28), 3.80~3.76(d, 1H,  $J=10.5$  Hz, H-28), 1.14, 1.05, 1.02, 0.95, 0.82(s, 3H,  $5 \times \text{CH}_3$ ); MS(MALDI-TOF),

$m/z$ : 1333.23 $[M-NO_3]^+$ . Anal. Calc. for  $C_{70}H_{110}AgN_7O_{11}S_2$  (%): C, 60.15; H, 7.93; N, 7.02; S, 4.59; Found(%): C, 59.90; H, 8.094; N, 6.97; S, 4.21.

取 28-O-丁二酸酯桦木酮缩氨基硫脲固体 0.3 mmol, 加入 0.15 mmol AgCl, 至氯仿和甲醇的混合溶液中, 室温下充入氮气. 随着反应的进行, 溶液中逐渐有少量银白色固体析出. TLC 跟踪, 72 h 后反应结束. 溶液中加入少量甲醇析出固体, 抽滤, 得白色固体产物.

28-O-丁二酸酯桦木酮缩氨基硫脲氯化银配合物(8c): Yield 125 mg (60%); IR(KBr,  $\nu/cm^{-1}$ ): 3417, 3246(NH<sub>2</sub>), 3153(NH), 2949(C—H), 2868(C—H), 1736(C=O), 1597(C=N), 1514(NH+C—N), 1460(CH<sub>2</sub>), 1387(CH<sub>3</sub>), 1284(C—N), 1159(C—O), 1086(C—N), 1014(C=S), 881(C=CH<sub>2</sub>), 818(C=S); <sup>1</sup>H NMR(500 MHz, DMSO,  $\delta$ , ppm): 12.15(s, 1H, COOH), 10.46(s, 1H, NH), 8.66, 7.78(s, 1H, NH<sub>2</sub>), 4.71, 4.57(s, 1H, H-29), 4.28~4.26(d, 1H,  $J=11.0$  Hz, H-28), 3.80~3.77(d, 1H,  $J=11.0$  Hz, H-28), 2.75~2.60(m, 1H, H-19), 1.13, 1.09, 0.99, 0.94, 0.85(s, 3H, 5×CH<sub>3</sub>); MS(MALDI-TOF),  $m/z$ : 1333.92 $[M-Cl-H_2O+H]^+$ . Anal. Calc. for  $C_{70}H_{112}AgClN_6O_9S_2$  (%): C, 60.52; H, 8.13; N, 6.05; S, 4.62; Found(%): C, 60.71; H, 8.35; N, 5.55; S, 4.35.

Cd 络合物的合成: 取 28-O-丁二酸酯桦木酮缩氨基硫脲固体 0.3 mmol, 加入 0.15 mmol CdCl<sub>2</sub> 固体, 至氯仿和甲醇的混合溶液中, 并充入氮气, 在 60 °C 下反应. 随着反应的进行, 溶液逐渐变为白色. TLC 跟踪, 24 h 反应结束. 冷却至室温后, 加入少许甲醇析出固体, 抽滤, 得白色固体产物.

28-O-丁二酸酯桦木酮缩氨基硫脲氯化铬配合物(8d): Yield 136 mg (62%); IR(KBr,  $\nu/cm^{-1}$ ): 3418, 3262(NH<sub>2</sub>), 3181(NH), 2945(C—H), 2868(C—H), 1732(easter C=O), 1715(acid C=O), 1601(C=N), 1530(NH+C—N), 1454(CH<sub>2</sub>), 1389(CH<sub>3</sub>), 1288(C—N), 1157(C—O), 1086(C—N), 1013(C=S), 881(C=CH<sub>2</sub>), 814(C=S); <sup>1</sup>H NMR(500 MHz, DMSO,  $\delta$ , ppm): 12.16(s, 1H, COOH), 10.06(s, 1H, NH), 8.06, 7.35(s, 1H, NH<sub>2</sub>), 4.71, 4.57(s, 1H, H-29), 4.29~4.25(d, 1H,  $J=11$  Hz, H-28), 3.90~3.75(d, 1H,  $J=11$  Hz, H-28), 1.11, 1.06, 0.99, 0.94, 0.83(s, 3H, 5×CH<sub>3</sub>); MS(MALDI-TOF),  $m/z$ : 1338.15 $[M-2Cl-H]^+$ , 1376.18 $[M-2Cl-H+K]^+$ . Anal. Calc. for  $C_{70}H_{110}CdCl_2N_6O_8S_2$  (%): C, 59.58; H, 7.86; N, 5.96; S, 4.54; Found(%): C, 59.36; H, 8.20; N, 6.28; S, 4.40.

Pd 络合物的合成: 取 28-O-丁二酸酯桦木酮缩氨基硫脲固体 0.3 mmol, 加入 0.15 mmol PdCl<sub>2</sub> 固体, 至氯仿和甲醇的混合溶液中, 室温下充入氮气. 随着反应的进行, 溶液逐渐变为棕红色. TLC 跟踪, 4 h 后反应结束. 加入少许甲醇析出固体, 抽滤, 得棕红色固体产物.

28-O-丁二酸酯桦木酮缩氨基硫脲氯化钯配合物(8e): Yield 112 mg (53%); IR(KBr,  $\nu/cm^{-1}$ ): 3420(NH<sub>2</sub>), 2947(C—H), 2868(C—H), 1732(easter C=O), 1599(C=N), 1454(CH<sub>2</sub>), 1284(C—N), 1013(C=S), 881(C=C), 814(C=S); <sup>1</sup>H NMR(500 MHz, DMSO,  $\delta$ , ppm): 10.13(s, 1H, NH), 8.08, 7.34(s, 1H, NH<sub>2</sub>), 4.70, 4.56(s, 1H, H-29), 4.30~4.20(d, 1H,  $J=10.5$  Hz, H-28), 3.80~3.70(d, 1H,  $J=10.5$  Hz, H-28), 1.11, 1.01, 1.00, 0.94, 0.84(s, 3H, 5×CH<sub>3</sub>); MS(MALDI-TOF),  $m/z$ : 1331.21 $[M-2Cl-H_2O+H]^+$ . Anal. Calc. for  $C_{70}H_{112}Cl_2N_6O_9PdS_2$  (%): C, 59.08; H, 7.93; N, 5.91; S, 4.51; Found(%): C, 59.45; H, 7.54; N, 6.37; S, 4.20.

Pt 络合物的合成: 取 28-O-丁二酸酯桦木酮缩氨基硫脲固体 0.3 mmol, 加入 0.15 mmol K<sub>2</sub>PtCl<sub>4</sub> 固体, 至氯仿和甲醇的混合溶液中, 室温下充入氮气. 随着反应的进行, 溶液逐渐转变为淡黄色. TLC 跟踪, 3 h 反应结束. 加入少许甲醇析出固体, 抽滤, 得淡黄色固体产物.

28-O-丁二酸酯桦木酮缩氨基硫脲氯化铂配合物(8f): Yield 157 mg (70%); IR(KBr,  $\nu/cm^{-1}$ ): 3412, 3248(NH<sub>2</sub>), 3146(NH), 2947(C—H), 2868(C—H), 1736(C=O), 1599(C=N), 1530(NH+C—N), 1458(CH<sub>2</sub>), 1387(CH<sub>3</sub>), 1267(C—N), 1157(C—O), 1086(C—N), 1016(C=S), 881(C=CH<sub>2</sub>), 812(C=S); <sup>1</sup>H NMR(500 MHz, DMSO,  $\delta$ , ppm): 10.05(s, 1H, NH), 7.99, 7.27(s, 1H,



NH<sub>2</sub>), 4.70, 4.57(s, 1H, H-29), 4.35~4.20(d, 1H,  $J=11$  Hz, H-28), 3.80~3.70(d, 1H,  $J=11$  Hz, H-28), 1.11, 1.00, 0.97, 0.94, 0.82(s, 3H, 5×CH<sub>3</sub>); MS(MALDI-TOF),  $m/z$ : 1466.87[M-2Cl+2Na]<sup>+</sup>. Anal. Calc. for C<sub>70</sub>H<sub>110</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>6</sub>O<sub>8</sub>PtS<sub>2</sub>(%): C, 56.28; H, 7.42; N, 5.63; S, 4.29; Found(%): C, 56.67; H, 7.39; N, 5.61; S, 3.81.

Co 络合物的合成:取 28-O-丁二酸酯桦木酮缩氨基硫脲固体 0.3 mmol, 加入 CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O (0.15 mmol) 固体, 至氯仿和甲醇的混合溶液中, 在室温下充入氮气. 随着反应的进行, 溶液逐渐变为蓝色. TLC 跟踪, 24 h 后反应结束. 加入少许甲醇析出固体, 抽滤, 得蓝色固体产物.

28-O-丁二酸酯桦木酮缩氨基硫脲氯化钴配合物(8 g): Yield 134 mg (68%); IR(KBr,  $\nu$ /cm<sup>-1</sup>): 3420, 3281(NH<sub>2</sub>), 3181(NH), 2949(C—H), 2870(C—H), 1736(ester C=O), 1711(acid C=O), 1599(C=N), 1526(NH+C—N), 1458(CH<sub>2</sub>), 1387(CH<sub>3</sub>), 1261(C—N), 1159(C—O), 1007(C=S), 881(C=CH<sub>2</sub>), 818(C=S); <sup>1</sup>H NMR(300 MHz, DMSO,  $\delta$ , ppm): 12.10(s, 1H, COOH), 9.97(s, 1H, NH), 7.96, 7.48(s, 1H, NH<sub>2</sub>), 4.70, 4.55(s, 1H, H-29), 4.30~4.20(d, 1H,  $J=11.1$  Hz, H-28), 3.80~3.70(d, 1H,  $J=11.1$  Hz, H-28), 1.24, 1.09, 0.98, 0.94, 0.93(s, 3H, 5×CH<sub>3</sub>); MS(MALDI-TOF),  $m/z$ : 1284.63[M-Cl-H]<sup>+</sup>. Anal. Calc. for C<sub>70</sub>H<sub>110</sub>Cl<sub>2</sub>CoN<sub>6</sub>O<sub>8</sub>S<sub>2</sub>(%): C, 61.93; H, 8.17; N, 6.19; S, 4.72; Found(%): C, 61.61; H, 8.45; N, 6.58; S, 4.36.

### 1.3 抑菌试验

对文中合成的配体 3、配体 7、金属络合物 4a-4d、8a-8e 和化合物 6 共计 12 种化合物采用连续稀释法进行外细胞抑菌测试. 测试样品所配溶液的质量浓度均为 25 600  $\mu$ g/mL, 测试菌种分别为:革兰氏阳性菌——Staphylococcus aureus 209 型、503 型、4220 型, Streptococcus mutans 3289 型、3065 型, MR-SA CCARM 3506 型、3167 型, Bacillus subtilis 1021 型, Bacillus cereus 1661 型, Enterococcus faecium 3122 型;革兰氏阴性菌——Escherichia coli 1924 型、1682 型, Enterobacter cloacae 1685 型, E. coli CCARM 1356 型, Acinetobacter calcoaceticus 2357 型. 测试菌种的阳性参照物为氯霉素. 首先将菌株在含有 MHB(Mueller-Hinton broth)蛋白胨的培养基中, 按标准培养至该菌株的对数生长期<sup>[22]</sup>, 然后将培养好的菌株依次接种到具有 96 孔的菌株培养板里(浓度均为  $1\times 10^5$  cfu/mL). 将样品溶液用 DMSO 稀释, 加入至准备好的测试菌株中, 浓度分别为 256  $\mu$ g/mL 和 128  $\mu$ g/mL. 使用酶标仪对初始时刻的细胞培养板和在培养箱中(37℃)培养 24 h 的细胞培养板进行测定, 并记录它们在 650 nm 处的吸光度. 通过所测定的吸光度计算它们的比值, 由此得到它们最小抑菌浓度的数值(MIC).

### 1.4 抗癌试验

**1.4.1 人源宫颈癌 Hela 细胞增殖实验** 采用 MTT 测试法对配体及其相应金属配合物进行实验, 具体实验过程如下: ①在实验用 96 孔板中配置 100  $\mu$ L(约  $1\times 10^4$ /孔)的细胞悬液, 培养在 5% CO<sub>2</sub>、37℃ 恒温条件下, 待细胞密度增殖至 80% 后, 用药物处理(1、3、10  $\mu$ M); ②在细胞培养箱中将 96 孔培养板继续培育 24 h; ③每个孔中加入 10  $\mu$ L MTT 试剂, 培养 3 h; ④用酶标仪测定其在 540 nm 处的吸光度, 并计算细胞存活率. 细胞存活率的计算公式为: 细胞存活率/%=(实验组细胞 OD/对照组细胞 OD)×100<sup>[23]</sup>.

**1.4.2 Hela 细胞蛋白质印迹实验** 采用 Western Blot 方法对配体及其金属配合物进行人源宫颈癌 Hela 细胞的蛋白质印迹实验<sup>[24-25]</sup>, 具体实验过程如下: ①将 Hela 细胞接种到培养皿中, 待细胞密度达到 80% 以后, 用不同化合物(10  $\mu$ M)处理 24 h. ②胰蛋白酶消化, 收集细胞, 加入裂解液, 冰上裂解 30 min, 4℃、10 000 r/min 离心 20 min, 收集上清液. ③BCA 法进行蛋白质定量. 取一定量蛋白质(30  $\mu$ g)进行 SDS-PAGE 凝胶电泳分离, 利用 PVDF 膜进行转膜, 一抗(Caspase-3 和 FLIP)4℃ 孵育过夜. ④利用辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗(Anti-rabbit IgG, HRP-linked Antibody)室温孵育 1 h. ⑤ECL 发光, 显影与定影. ⑥用图象处理系统分析目标条带的灰度值.

2 结果与讨论

2.1 元素分析与一般性质

本文所合成的配合物在空气中稳定,易溶于二甲基亚砷、N,N-二甲基甲酰胺、二氯甲烷、氯仿等溶剂,微溶于甲醇和乙醇.金属配合物均易溶于二氯甲烷、氯仿.利用 Vario EL cube 型元素分析仪测定所有配合物的碳、氢、氮、硫元素,结果如表 1 所示.从表 1 可知,各个金属配合物的测定值与理论值基本相符.

表 1 金属配合物的实测值和理论值

化合物	颜色	实测值(理论值)/%			
		C	H	N	S
配体 3(HL <sub>1</sub> )	白色	—	—	—	—
铜络合物	浅褐色	58.49 (58.22)	7.86 (7.72)	6.29 (6.25)	5.32 (5.01)
银络合物	淡黄色	60.80 (61.19)	8.27 (8.28)	7.25 (6.91)	5.26 (5.27)
镉络合物	黄色	59.88 (59.54)	7.47 (8.09)	6.32 (6.61)	4.93 (5.04)
钯络合物	橙色	58.68 (58.47)	8.10 (8.10)	6.62 (6.25)	5.05 (5.34)
配体 7(HL <sub>2</sub> )	白色	68.18 (68.48)	8.87 (9.06)	7.02 (6.84)	4.88 (5.22)
铜络合物	黄色	61.31 (61.72)	8.14 (8.14)	6.48 (6.17)	4.94 (4.71)
银络合物	白色	59.90 (60.15)	8.90 (7.93)	6.97 (7.02)	4.21 (4.59)
镉络合物	白色	59.36 (59.58)	8.20 (7.86)	6.28 (5.96)	4.40 (4.54)
钯络合物	红棕色	59.45 (59.08)	7.54 (7.93)	6.37 (5.91)	4.20 (4.51)
铂络合物	亮黄色	56.67 (56.28)	7.39 (7.42)	5.61 (5.63)	3.81 (4.29)
钴络合物	蓝色	61.61 (61.93)	8.45 (8.17)	6.58 (6.19)	4.36 (4.72)

2.2 红外光谱

研究表明,缩氨基硫脲配体中硫原子有两种可能的存在形式,硫醇形式和硫酮形式<sup>[26]</sup>.由表 2 可知,HL<sub>1</sub>和 HL<sub>2</sub>两种配体在 2 650~2 450 cm<sup>-1</sup>范围内没有吸收峰,说明 HL<sub>1</sub>和 HL<sub>2</sub>中不存在 S—H 键,在固态时 HL<sub>1</sub>和 HL<sub>2</sub>是以硫酮形式存在的.对比配体和其相应的配合物的红外吸收峰可知,配合物中的 C=N 伸缩振动峰均向高波数发生了位移(1~9 cm<sup>-1</sup>),这说明配体中的亚胺基氮原子与金属发生了配位;配合物中的 C=S 伸缩振动峰也均发生了位移(2~11 cm<sup>-1</sup>),这说明配体的硫原子也参加了配位.由此可知,配合物中的二配体均是以亚胺基 N 原子和 S 原子配位的双齿配体.

表 2 配体及其金属配合物的主要红外吸收峰及其归属

化合物	$\nu/\text{cm}^{-1}$		
	NH <sub>2</sub> +NH	C=N	C=S
HL <sub>1</sub>	3 367~3 165	1 597	1 009, 802
Cu(L <sub>1</sub> ) <sub>2</sub> Br <sub>2</sub>	3 427~3 162	1 593	1 017, 810
Ag(L <sub>1</sub> ) <sub>2</sub> Cl·H <sub>2</sub> O	3 417~3 154	1 596	1 019, 815
Cd(L <sub>1</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ·MeOH	3 424~3 185	1 596	1 011, 814
Pd(L <sub>1</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	3 414~3 154	1 597	1 014, 812
HL <sub>2</sub>	3 445	1 592	1 018, 822
Cu(L <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	3 424~3 156	1 595	1 016, 814
Ag(L <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> Cl·H <sub>2</sub> O	3 418~3 152	1 597	1 015, 818
Cd(L <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	3 418~3 181	1 601	1 013, 814
Ag(L <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> NO <sub>3</sub>	3 420~3 175	1 599	1 016, 814
Pd(L <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ·H <sub>2</sub> O	3 420	1 599	1 013, 814
Pt(L <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	3 412~3 146	1 599	1 016, 812
Co(L <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	3 420~3 181	1 599	1 007, 818

2.3 核磁共振氢谱

表 3 为配体 HL<sub>1</sub> 和 HL<sub>2</sub> 及其金属配合物的核磁共振氢谱数据. 配体和配合物所使用的溶剂是氘代 DMSO, TMS 作内标. 由表 3 可知, 配体 HL<sub>1</sub> 在化学位移值为 10.06 处的单峰为缩氨基硫脲上的 NH 的氢, 化学位移为 8.06 和 7.32 的两个单峰为 NH<sub>2</sub> 的氢; 配体 HL<sub>2</sub> 在化学位移值为 10.06 处的单峰为 NH 的氢, 化学位移值为 8.06 和 7.32 的两个单峰为 NH<sub>2</sub> 的氢.

2.4 热重谱分析

金属配合物的热重谱用 DTG-60AH 型差热-热重分析仪测定, 参比物为 Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 气氛为 N<sub>2</sub>, 升温速率为 20 °C/min. 由表 4 可知, 配合物在 180~332 °C 开始失重, 至 206~336 °C 失重完毕. 计算所得的各配合物失重率与理论上各配合物失去 H<sub>2</sub>O 或 MeOH 分子后的失重率基本吻合, 因此推断与元素分析结果相一致.

表 3 配体及其配合物的核磁共振氢谱数据

化合物	δ/ppm	
	NH	NH <sub>2</sub>
HL <sub>1</sub>	10.06	8.06, 7.32
Cu(L <sub>1</sub> ) <sub>2</sub> Br <sub>2</sub>	10.50	8.66, 7.85
Ag(L <sub>1</sub> ) <sub>2</sub> Cl · H <sub>2</sub> O	10.48	8.67, 7.79
Cd(L <sub>1</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> · MeOH	10.09	8.09, 7.35
Pd(L <sub>1</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	11.00	9.03, 8.03
HL <sub>2</sub>	10.06	8.06, 7.32
Cu(L <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	10.28	8.57, 7.83
Ag(L <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> NO <sub>3</sub>	10.50	8.82, 7.94
Cd(L <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	10.06	8.06, 7.35
Ag(L <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> Cl · H <sub>2</sub> O	10.46	8.66, 7.78
Pd(L <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> · H <sub>2</sub> O	10.13	8.08, 7.34
Pt(L <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	10.05	7.99, 7.27
Co(L <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	9.97	7.96, 7.48

表 4 配合物的热重数据

化合物	温度/°C		失水率/% 实际值(理论值)
	开始失水	失水完成	
Ag(L <sub>1</sub> ) <sub>2</sub> Cl · H <sub>2</sub> O	219	250	1.48 (1.50)
Cd(L <sub>1</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> · MeOH	203	206	2.51 (2.52)
Pd(L <sub>1</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	332	336	2.84 (2.84)
Ag(L <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> Cl · H <sub>2</sub> O	190	235	1.30 (1.30)
Pd(L <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> · H <sub>2</sub> O	180	210	1.27 (1.26)

2.5 抑菌活性

表 5 和表 6 为配体及其配合物的 MIC 值. 由表 5 可知, 配体 3 及其铜、钯金属络合物(4a, 4d)对 S. aureus 4220 型, S. mutans 3289 型, E. coli 1924 型细菌几乎没有抑制作用, 银、镉络合物(4b, 4c)对 S. aureus 4220 型和 E. coli 1924 型细菌有抑制作用. 由表 6 可知, 配体 7 对大多数细菌都有一定的抑制作用, 化合物 6 对 Streptococcus mutans 3289 型细菌能达到与氯霉素(参照物)相当的抗菌活性, 而配合物 8a-8e 对所试验的细菌均无抑制作用.

表 5 配体 3 及其配合物 4a-4d 的抑菌测试数据

化合物	MIC/(μg/mL)		
	S. aureus 4220	S. mutans 3289	E. coli 1924
3	>256	>256	>256
4a	256	>256	256
4b	128	>256	128
4c	128	>256	128
4d	>256	256	>256
诺氟沙星	2	8	16
苯唑西林	1	0.12	64

2.6 癌细胞毒性测试

表 7 为用 CCK-8 法测定配体 3 及其配合物对人源宫颈癌 Hela 细胞生存力的影响, 表 8 为用 MTT 法测定配体 7 及其配合物对人源宫颈癌 Hela 细胞生存力的影响. 由表 7 可知, 配体 3 及其络合物 4c 和 4b 没有抑制 Hela 细胞增长的能力, 而络合物 4a 对 Hela 细胞具有一定的抑制能力. 由表 8 可知, 配体 7 及其金属络合物均具有抑制 Hela 细胞的能力, 且随着浓度的升高其抑制率也相应地增加; 金属配合物抑制 Hela 细胞增殖的能力优于其配体, 它们的 IC<sub>50</sub> 值在 10~25 μM 之间.



表 6 化合物 6、7、8a-8f 的抑菌测试数据

细菌名称	MIC/( $\mu\text{g/mL}$ )								氯霉素
	6	7	8a	8b	8c	8d	8e	8f	
<i>S. aureus</i> 209	256	256	256	256	256	256	256	256	8
<i>S. aureus</i> 503	256	32	256	256	256	256	256	256	8
<i>S. aureus</i> 4220	256	256	256	256	256	256	256	256	4
MRSA CCARM 3506	32	256	256	256	256	256	256	256	4
MRSA CCARM 3167	32	64	256	256	256	256	256	256	8
<i>S. mutans</i> 3289	4	32	256	256	256	256	256	256	4
<i>S. mutans</i> 3065	8	32	256	256	256	256	256	256	4
<i>Bacillus subtilis</i> 1021	64	256	256	256	256	256	256	256	4
<i>Bacillus cereus</i> 1661	32	32	256	256	256	256	256	256	8
<i>Enterococcus faecium</i> 3122	8	256	256	256	256	256	256	256	4
<i>Enterobacter cloacae</i> 1685	256	256	256	256	256	256	256	256	—
<i>E. coli</i> 1924	32	32	256	256	256	256	256	256	8
<i>E. coli</i> 1682	256	256	256	256	256	256	256	256	8
<i>E. coli</i> CCARM 1356	256	256	256	256	256	256	256	256	8
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> 2357	32	32	256	256	256	256	256	256	8

表 7 配体 3 及其络合物 4a-4d 对 *Hela* 细胞的抑制率及 IC<sub>50</sub> 值

化合物	存活率/%				IC <sub>50</sub> / $\mu\text{M}$
	1 $\mu\text{M}$	3 $\mu\text{M}$	10 $\mu\text{M}$	30 $\mu\text{M}$	
3	75.33	91.19	95.39	115.3	—
4a	106.8	94.78	62.35	19.35	17.46
4b	81.56	80.01	79.30	74.93	60.48
4c	75.67	133.5	138.2	148.4	—
4d	75.10	90.92	97.22	134.6	—

表 8 配体 7 及其络合物 8a,8c,8d 对 *Hela* 细胞的抑制率及 IC<sub>50</sub> 值

化合物	存活率/%			IC <sub>50</sub> / $\mu\text{M}$
	1 $\mu\text{M}$	3 $\mu\text{M}$	10 $\mu\text{M}$	
7	102.11	92.56	78.49	24.2
8a	86.40	59.22	55.05	10.3
8c	92.04	66.09	55.59	10.8
8d	90.19	67.26	65.35	21.9

3 结论

本文合成了 2 种新型的缩氨基硫脲配体及其 11 种金属配合物,并利用红外光谱、核磁共振氢谱、飞行质谱、元素分析、热重分析对配合物的结构进行了初步的表征. 通过抑菌活性试验发现,银、镉络合物(4b,4c)对 *S. aureus* 4220 型和 *E. coli* 1924 型细菌有抑制作用,28-O-丁二酸酯桦木酮对 *Streptococcus mutans* 3289 型细菌能达到与氯霉素相当的抗菌活性,28-O-丁二酸酯桦木酮缩氨基硫脲对大多数细菌都有一定的抑制作用. 通过细胞毒性试验发现,桦木酮酸缩氨基硫脲铜络合物(4a)与 28-O-丁二酸酯桦木酮缩氨基硫脲铜、银、铬络合物(8a,8c-d)具有抑制 *Hela* 细胞的能力. 本文实验结果可为新药物的研究开发提供参考,今后将对其进行进一步的研究.

参考文献:

[1] Recio M C, Giner R M, Máñez S, et al. Investigations on the steroidal anti-inflammatory activity of triterpenoids from *diospyros leucomelas*[J]. *Planta Med*, 1995,61(1):9-12.

[2] Honda T, Liby K T, Su X, et al. Design, synthesis, and anti-inflammatory activity both in vitro and in vivo of new betulinic acid analogues having an enone functionality in ring A[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2006,16(24):6306-6309.

[3] Saxena B B, Zhu L, Hao M, et al. Boc-lysinated-betulononic acid: a potent, anti-prostate cancer agent [J]. *Bioorg Med Chem*, 2006,14(18):6349-6358.

[4] Chintharlapalli S, Papineni S, Ramaiah S K, et al. Betulinic acid inhibits prostate cancer growth through inhibition

- of specificity protein transcription factors [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(6):2816-2823.
- [5] Sun I-C, Shen J-K, Wang H-K, et al. Anti-AIDS agents. Part 32: Synthesis and anti-HIV activity of betulin derivatives [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 1998, 8(10):1267-1272.
- [6] Shah M, Patel P, Parekh H Orient. Synthesis and biological evaluation of thienopyrimidine derivatives[J]. *Chem*, 2002, 18(1):159-161.
- [7] Xiong J, Kashiwada Y, Chen C-H, et al. Conjugates of betulin derivatives with AZT as potent anti-HIV agents [J]. *Bioorg Med Chem*, 2010, 18(17):6451-6469.
- [8] Qian K, Yu D, Chen C-H, et al. Anti-AIDS agents. Part 78: Design, synthesis, metabolic stability assessment, and antiviral evaluation of novel betulinic acid derivatives as potent anti-human immunodeficiency virus (HIV) agents [J]. *Med Chem*, 2009, 52(10):3248-3258.
- [9] Rajasekaran A, Murugesan S. Synthesis and antimicrobial evaluation of thiosemicarbazones[J]. *Indian Chem Soc*, 2002, 79(6):544-545.
- [10] El-Hawash Soad A M, Abdel Wahab Abeer E, El-Demellawy Maha A. Cyanoacetic acid hydrazones of 3-(and 4-) acetylpyridine and some derived ring systems as potential antitumor and anti-HCV agents [J]. *Arch Pharm*, 2006, 339(1):14-23.
- [11] Fujii N, Mallari J P, Hansell E J, et al. Discovery of potent thiosemicarbazone inhibitors of rhodesain and cruzain [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2005, 15(1):121-123.
- [12] Lebrecht D, Geist A, Ketelsen U-P, et al. The 6-maleimidocaproyl hydrazone derivative of doxorubicin (DOXO-EMCH) is superior to free doxorubicin with respect to cardiotoxicity and mitochondrial damage[J]. *Int J Cancer*, 2007, 120(4):927-934.
- [13] Beraldo H, Gambino D. The wide pharmacological versatility of semicarbazones, thiosemicarbazones and their metal complexes [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2004, 4(1):31-39.
- [14] Khan S A, Yusuf M. Synthesis, spectral studies and in vitro antibacterial activity of steroidal thiosemicarbazone and their palladium (Pd (II)) complexes[J]. *Eur J Med Chem*, 2009, 44(5):2270-2274.
- [15] Mazoir N, Benharref A, Bailén M, et al. Bioactive triterpene derivatives from latex of two Euphorbia species [J]. *Phytochemistry*, 2008, 69(6):1328-1338.
- [16] Rosenberg B, Vancamp L, Trosko J E, et al. Plati-num compounds: a new class of potent antitumor agents [J]. *Nature*, 1969, 222(5191):385-386.
- [17] Orvig C, Abrams M J. Medicinal inorganic chemistry: introduction[J]. *Chem Rev*, 1999, 99(9):2201-2203.
- [18] Clarke M J, Zhu F C, Frasca D R. Non-Platinum Chemotherapeutic Metallopharmaceuticals[J]. *Chem Rev*, 1999, 99(9):2511-2533.
- [19] Wong E, Giandomenico C M. Current status of platinum-based antitumor drug [J]. *Chem Rev*, 1999, 99(9):2451-2466.
- [20] Jamieson E, Lippard S J. Stopped-flow kinetic studies of the binding of HMG-domain proteins to cisplatin-modified DNA[J]. *Chem Rev*, 1999, 99(9):2467-2498.
- [21] 陈振锋, 彭艳, 谭明雄, 等. 基于中药活性成分的金属基抗肿瘤药物前期研究[J]. *化学进展*, 2009, 21(5):929-933.
- [22] Haran K P, Godden S M, Boxrud D, et al. Prevalence and characterization of staphylococcus aureus, including methicillin-resistant staphylococcus aureus, isolated from bulk tank milk from minnesota dairy farms[J]. *J Clin Microbiol*, 2012, 50(3):688-695.
- [23] Zhan H Y, Qi W, Ye L, et al. A novel method for banking stem cells from human exfoliated deciduous teeth: lentiviral TERT immortalization and phenotypical analysis[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2016, 7(1):50-61.
- [24] Gwozdz T, Dorey K. Chapter 6-Western Blot. *Basic Science Methods for Clinical Researchers*[M]. Jalali, Mehdi: Academic Press, 2017:99-117.
- [25] Gallo-Ollera G, Ordoñez R, Dotorc J. A new background subtraction method for Western blot densitometry band quantification through image analysis software[J]. *J Immunol Methods*, 2018, 3(4):1-5.
- [26] 邓汉芹, 王明雄. 胡椒醛缩氨基硫脲与钴(II)、镍(II)、铜(II)和镉(II)配合物的合成与性质研究[J]. *湖北大学学报(自然科学版)*, 1992, 14(2):155-160.