

TỔNG HỢP, THĂM DÒ KHẢ NĂNG GÂY ĐỘC ĐỐI VỚI TẾ BÀO UNG THƯ CỦA MỘT SỐ PHỨC CHẤT PLATIN(II) CHỨA PHỐI TỬ AMIN

DƯƠNG BÁ VŨ*, TRẦN BỬU ĐĂNG**

TÓM TẮT

Ba phức chất của platin (II) chứa các phối tử amin khác nhau là *p*-phenetidin, 4-methylpiperidin, *o*-phenetylendiamin đã được tổng hợp. Thành phần và cấu trúc của chúng được xác định bởi phương pháp phân tích nguyên tố, phổ khối lượng MS, phổ UV, phổ IR và $^1\text{H-NMR}$. Kết quả thăm dò khả năng gây độc tế bào ung thư cho thấy có một phức đã thể hiện hoạt tính tốt đối với dòng tế bào ung thư vú MCF-7.

Từ khóa: phức chất platin (II), phức *cis*-diamin của platin (II).

ABSTRACT

The synthesis and assay of the cytotoxicity of some Platinum (II) complexes containing amine ligands to cancer cell line

Three complexes of platinum (II) contain different amines as ligands: *p*-phenetidine, 4-methylpiperidine, *o*-phenetylendiamine which were synthesized. Their structures and components have been identified by elemental analysis techniques: MS, UV-Vis, IR and $^1\text{H NMR}$ spectra. Results from the assay of the cytotoxicity of these complexes to cancer cell line shows that there is a complex that conducts fairly good activity against MCF-7 (human breast cancer cell line).

Keywords: complex of Platinum (II), complex *cis*-diamine of Platinum (II).

1. Mở đầu

Phức chất của platin, đặc biệt là *cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂] đã được điều chế từ K₂[PtCl₄] hoặc K₂[PtI₄] đã được biết đến như một dược phẩm có tính kháng u cao với tên dược phẩm là Cisplatin, [1]. Tuy nhiên, do *cis*platin có độc tính cao nên các nhà nghiên cứu đã tìm cách thay thế các nguyên tử clo trong K₂[PtCl₄] bằng các amin có cấu tạo khác nhau để có phức chất dạng *cis*-[Pt(Am)₂Cl₂] (dạng amin không hỗn tạp) hoặc *cis*-[PtAm¹Am²Cl₂] (dạng amin hỗn tạp) với hi vọng tìm ra phức chất platin mới có khả năng kháng u cao mà có ít độc tính hơn. Trong phạm vi bài báo này, chúng tôi trình bày kết quả tổng hợp và thăm dò khả năng gây độc tế bào ung thư vú của ba phức chất thu được khi cho tương tác giữa K₂[PtCl₄] với *p*-phenetidin, 4-methylpiperidin, *o*-phenetylendiamin. Đó là các hai phức chất chứa amin không hỗn tạp gồm P1: [Pt(*p*-phenetidin)₂Cl₂], P2: [Pt(4-methylpiperidin)₂Cl₂] và phức chất P3 chứa amin có dung lượng phối trí 2 là [Pt(*o*-phenetylendiamin)Cl₂].

* TS, Trường Đại học Sư phạm TPHCM

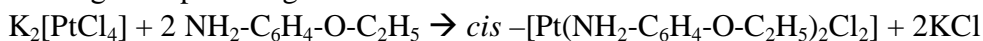
** Sinh viên, Trường Đại học Sư phạm TPHCM

2. Thực nghiệm

2.1. Tổng hợp các phức chất

Tổng hợp *cis*-diclorodi(*p*-phenetidín) platin (II): [Pt(Phe)₂Cl₂], kí hiệu P1

Phương trình phản ứng:



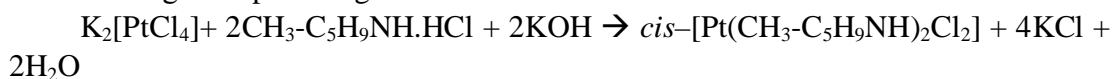
Cách tiến hành: Hòa tan bão hòa 830 mg K₂[PtCl₄] (2 mmol) trong 10 ml H₂O.

Lọc nhanh lấy dung dịch sạch màu đỏ da cam cho vào cốc. Hòa tan 610 mg (4,4 mmol) *o*-phenetidín trong 15 ml hỗn hợp nước và etanol (tỉ lệ thể tích 1:1) thu được dung dịch phối tử. Dung dịch phối tử được chứa trong becher có thể tích 50 ml, được bọc ngoài bởi nilon màu đen.

Becher chứa dung dịch phối tử được đun cách thủy trên bếp khuấy từ. Cho từ từ từng giọt K₂[PtCl₄] vào dung dịch phối tử, khuấy đều. Nhiệt độ được tăng chậm cho đến 40⁰C- 42⁰C. Sau khoảng 45 phút dung dịch phản ứng đục dần thì cho hết lượng K₂[PtCl₄] còn lại vào. Đậy kín dung dịch phản ứng, khuấy ở nhiệt độ cố định là 40⁰C. Tiếp tục khuấy hỗn hợp phản ứng trong không quá 90 phút nữa. Làm lạnh becher phản ứng, lọc thu kết tủa màu vàng nhạt. Rửa kết tủa bằng hỗn hợp etanol- nước (tỉ lệ thể tích 1:1) rồi rửa bằng nước cất. Sấy khô sản phẩm màu vàng nhạt ở 50⁰C. Hiệu suất 35%. Sản phẩm được kết tinh lại trong dung môi etanol – nước (tỉ lệ thể tích 3:1).

Tổng hợp *cis*-diclorodi(4-metyl piperidin) platin (II): [Pt(Metpip)₂Cl₂], (P2)

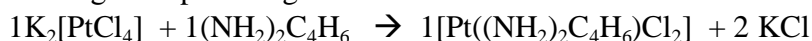
Phương trình phản ứng:



Cách tiến hành: Hòa tan bão hòa 830 mg K₂[PtCl₄] (2 mmol) trong 10 ml H₂O. Lọc nhanh, thu lấy dung dịch sạch màu đỏ da cam cho vào cốc. 4,4 mmol 4-metyl piperidine (436 mg) được axit hóa bởi khoảng 10 ml dung dịch HCl loãng thu được dung dịch phối tử có pH khoảng 8,5- 9,0. Cho một nửa dung dịch K₂[PtCl₄] ở trên vào dung dịch phối tử và khuấy đều trên máy khuấy từ ở nhiệt độ phòng. Khi pH dung dịch phản ứng khoảng 7,0- 7,5 thì điều chỉnh pH dung dịch lên 8,5- 9,0 bằng dung dịch KOH. Lặp lại vài lần quá trình điều chỉnh pH trên. Sau khoảng 40 phút dung dịch chuyển sang đục thì cho hết phần dung dịch K₂[PtCl₄] còn lại vào. Tiếp tục điều chỉnh pH bằng dung dịch KOH. Sau không quá 2,5 giờ, làm lạnh dung dịch phản ứng, lọc thu kết tủa. Rửa kết tủa bằng nước cất, etanol. Sấy khô kết tủa ở 50⁰C. Hiệu suất 55%. Sản phẩm màu vàng nhạt được kết tinh lại trong dung môi etanol – nước (tỉ lệ thể tích 4:1)

Tổng hợp *cis*-dicloro(*o*-phenetylendiamin) platin (II): [Pt(Phent)Cl₂], (P3)

Phương trình phản ứng:



Tiến hành: Hòa tan bão hòa 830 mg K₂[PtCl₄] (2 mmol) trong 10 ml H₂O. Lọc nhanh, thu lấy dung dịch sạch màu đỏ da cam cho vào cốc. Cốc được bọc ngoài bởi nilon màu đen. Hòa tan 118 mg *o*-phenetylendiamine trong lượng nước bão hòa thu

khoảng 3 ml dung dịch phối tử. Cho hết dung dịch phối tử vào cốc chứa dung dịch $K_2[PtCl_4]$ khuấy từ ở nhiệt độ 10- 15⁰C. Thu kết tủa màu vàng khi quá trình khuấy diễn ra không quá 70 phút. Sấy khô kết tủa ở 50⁰C. Hiệu suất 32%. Sản phẩm màu vàng sậm được kết tinh lại trong dung môi etanol – nước (tỉ lệ thể tích 3:1).

2.2. Xác định thành phần và cấu trúc

Việc xác định hàm lượng platin được tiến hành bằng phương pháp trọng lượng tại Phòng Thí nghiệm Hóa Đại cương, Khoa Hóa học, Trường Đại học Sư phạm TP Hồ Chí Minh. Phổ khối lượng các phức được đo tại Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học Việt Nam và tại Phòng Phân tích Trung tâm, Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc Gia TPHCM. Phổ IR được ghi trên máy FTIR – 8400S – SHIMADZU tại Trường Đại học Sư phạm TPHCM. Phổ hấp thụ electron của các phức được đo trong dung môi và nồng độ thích hợp trên máy PERKIN–ELMER LAMBDA 25 UV – Vis SPECTRUM tại Trường Đại học Sư phạm TPHCM. Phổ ¹H-NMR được đo trên máy Bruker ADVANCE (500MHz), trong dung môi DMSO, tại Viện Hóa học thuộc Viện Hàn lâm Khoa học Việt Nam. Các thực nghiệm thăm dò khả năng gây độc tế bào ung thư được tiến hành tại Phòng Thí nghiệm Hoạt tính Sinh học, Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc Gia TPHCM.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Phân tích thành phần và cấu tạo phức chất

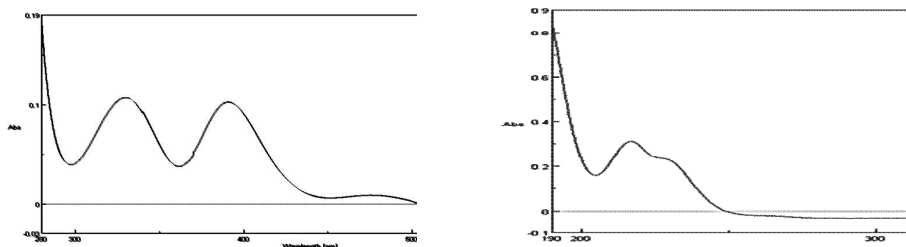
- Kết quả phân tích hàm lượng nguyên tố platin trong phức và kết quả ghi phổ khối lượng của phức được liệt kê ở bảng 1.

Bảng 1. Hàm lượng nguyên tố platin và khối lượng phân tử của các phức chất

Phức chất dự kiến	Kí hiệu	Khối lượng phân tử M trên phổ MS và cường độ	Pt (%) theo khối lượng	
			Lí thuyết	Thực nghiệm
[Pt(Phe) ₂ Cl ₂] hay [Pt(NH ₂ -C ₆ H ₄ -O-C ₂ H ₅) ₂ Cl ₂]: PtC ₁₆ H ₂₂ N ₂ O ₂ Cl ₂	P1	540- 100%	36,11	37,15
[Pt(Metpip) ₂ Cl ₂] hay [Pt(CH ₃ -C ₅ H ₉ NH) ₂ Cl ₂]: PtC ₁₂ H ₂₆ N ₂ Cl ₂	P2	464- 58%	42,03	44,11
[Pt(Phent)Cl ₂] hay <i>cis</i> -[Pt((NH ₂) ₂ C ₆ H ₄)Cl ₂]: PtC ₆ H ₈ N ₂ Cl ₂	P3	374- 58%	52,13	53,65

Bảng 1 cho thấy các số liệu khá phù hợp với công thức dự kiến của các phức chất.

- Kết quả phân tích phổ electron của các phức được thể hiện ở bảng 2. Hai đoạn phổ electron của P3: *cis*-[Pt((NH₂)₂C₆H₄)Cl₂] ở hai vùng bước sóng được trình bày ở hình 1.



Hình 1. Phổ electron của $cis-[Pt((NH_2)_2C_6H_4)Cl_2]$

Bảng 2 dưới đây đã liệt kê các cực đại hấp thụ của ba phức chất P1, P2, P3 và chất đầu $K_2[PtCl_4]$ kèm theo sự quy kết cho các chuyển mức tương ứng.

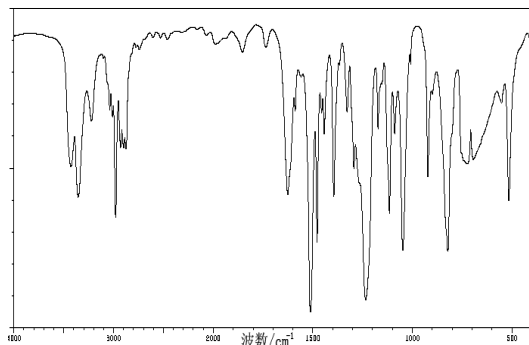
Để có thể hiểu hơn về phổ electron của các phức P1, P2, P3 chúng tôi khảo sát thêm các vân phổ của $K_2[PtCl_4]$, là chất đầu được sử dụng trong quá trình tổng hợp phức, đã được nghiên cứu nhiều. Theo [1,3] phổ electron của $K_2[PtCl_4]$ gồm: một vân hấp thụ $\lambda_{max} = 216$ nm, $lg\epsilon = 3,99$ được quy kết cho vân ứng với chuyển mức kèm chuyển điện tích từ Cl^- đến Pt(II). Còn ba vân phổ với $\lambda_{max}/lg\epsilon$: 331/1,8; 391/1,78; 477/1,2 đã được quy kết là các vân do chuyển mức d-d của Pt(II) và phù hợp với cấu hình d^8 của Pt^{2+} và màu đỏ thẫm của $K_2[PtCl_4]$.

Bảng 2. Hấp thụ cực đại của các phức chất nghiên cứu

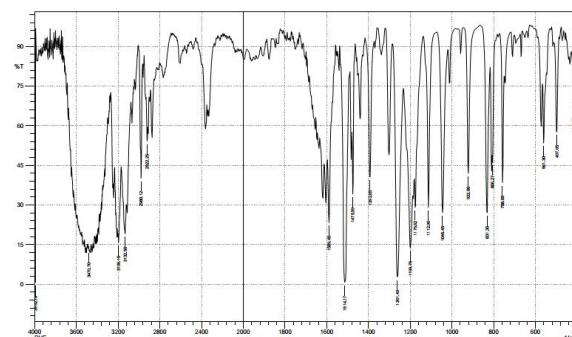
Phức chất	Màu	$\lambda_{max}(nm)/lg\epsilon$ và quy kết chuyển mức		
		$Pt^{2+} \leftarrow Cl^-$	$\pi \rightarrow \pi^*$	d-d
$K_2[PtCl_4]$	Đỏ tía	216/3,9	–	330/1,8; 391/1,7; 477/1,2
P1: $cis-[Pt(NH_2-C_6H_4-O-C_2H_5)_2Cl_2]$	Vàng nhạt	202/3,7	228 (vai phổ), 290 (vai phổ)	–
P2: $cis-[Pt(CH_3-C_5H_9NH)_2Cl_2]$	Vàng nhạt	212/3,6	–	330/1,40; 385/1,35
P3: $cis-[Pt((NH_2)_2C_6H_4)Cl_2]$	Vàng sậm	Hướng tới cực đại	222/1,5	365/1,7; 385/1,6; 470/1,1

Các dữ kiện này là một trong các cơ sở quan trọng để quy kết các vân phổ của các phức P1, P2, P3. Cùng với sự khác nhau về: số lượng vân phổ, vân phổ đặc trưng của phối tử thơm hoặc không thơm trong cầu nội, bước sóng hấp thụ cực đại giữa chất đầu $K_2[PtCl_4]$ với các sản phẩm thu được cho thấy các phối tử amin đã tham gia tạo phức chất P1, P2, P3 như dự kiến ban đầu.

Kết quả phân tích phổ hồng ngoại: Phổ IR của p-phenetidin tự do và của phức chứa phối tử đó là phức P1: $cis-[Pt(p-NH_2-C_6H_4-O-C_2H_5)_2Cl_2]$ được thể hiện ở hình 2a, 2b.



Hình 2a. Phổ IR của p-NH₂-C₆H₄-O-C₂H₅



Hình 2b. Phổ IR của P1: [Pt(p-NH₂-C₆H₄-O-C₂H₅)₂Cl₂]

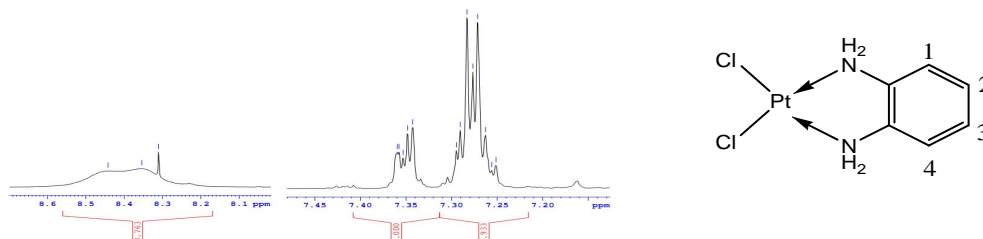
Kết quả phân tích phổ IR của các phức và phối tử tự do được liệt kê ở bảng 3.

Bảng 3. Các vân hấp thụ chính trên phổ IR, ν (cm⁻¹) hoặc δ (cm⁻¹)

Kí hiệu	Amin tự do/ Phức chất	ν_{NH}	ν_{CH} thơm	ν_{CH} no	δ_{NH} , $\nu_{C=C}$ thơm	δ_{C-H} no	ν_{Pt-N}
P1	p-NH ₂ -C ₆ H ₄ -O-C ₂ H ₅ , kí hiệu Phe	3427, 3354	3039	2979 2930	1628, 1511	1479	-
	[Pt(Phe) ₂ Cl ₂]	3199, 3132	3055	2980 2922	1630, 1514	1475	418
P2	4-CH ₃ -C ₅ H ₉ NH, kí hiệu Met	3275	-	2949	1630	1466	-
	[Pt(Met) ₂ Cl ₂]	3174	-	2955	1633	1450	433
P3	o-(NH ₂) ₂ C ₆ H ₄ , kí hiệu Phent	3386 3190	3039	-	1626+ 1602, 1505+ 1460	-	-
	[PtPhentCl ₂]	3179, 3134	3072	-	1635+1645, 1545+ 1500	-	432

Trên các phổ IR của P1, P3 xuất hiện 2 vân phổ (vân đôi) trong vùng 3199- 3132 cm⁻¹, phù hợp với phối tử amin bậc hai p-phenetidín và o- phenylendiamin. Còn đối với phức P2 thì chỉ có một vân đơn cường độ lớn tại 3179 cm⁻¹, phù hợp với phối tử vốn là một amin bậc hai. Các vân phổ này đều nằm ở vùng có số sóng ngắn hơn nhiều so với số sóng đặc trưng của dao động hóa trị NH ở các amin tự do. Mặt khác, trong vùng tần số từ 500 – 400 cm⁻¹ ở các phối tử tự do không có vân hấp thụ. Nhưng ở tất cả các phức P1, P2, P3 thì phổ IR của chúng trong vùng này đều có vân hấp thụ cường độ trung bình ở khoảng 432- 418 cm⁻¹ đặc trưng cho dao động hóa trị của liên kết kim loại- phi kim [2,4]. Với phức chúng tôi tổng hợp được, đó chính là các vân hấp thụ đặc trưng cho dao động hóa trị của liên kết Pt-N. Những dữ liệu phổ cơ bản nhưng quan trọng trên phổ IR chứng tỏ rằng đã có sự phối trí giữa phối tử với ion trung tâm Pt²⁺ qua nguyên tử nitơ.

Kết quả phân tích phổ H^1 NMR của các phức chất có so sánh với tín hiệu proton của phối tử được liệt kê ở bảng 4. Phổ H^1 NMR của phức P3 được trình bày ở hình 3. Kết quả phân tích phổ H^1 NMR cho thấy sự có mặt của các phối tử amin chứa proton trong cầu nội của phức. Chính sự phối trí đã làm chuyển dịch tín hiệu proton.



Hình 3. Tín hiệu proton trên phổ H^1 NMR của phức chất P3

Bảng 4. Kết quả phân tích độ chuyển dịch hóa học (ppm) trên phổ H^1 NMR của các phức chất và phối tử tự do

Kí hiệu	Tín hiệu		H1	H2	H3	H4	H5	NH, NH2
	Phối trí							
P3			7,354 hoặc 7,295 (chưa phân biệt được)	7,295	7,295	7,354 hoặc 7,295 (chưa phân biệt được)		8,354
Phối tử tự do			6,382	6,504	6,504	6,382		4,360
P1			6,62	6,52	3,84	1,23		
Phối tử tự do			6,63	6,69	3,93	1,35		3,33
P2			H1a	H1e	H2a	H2e	H3	H4
			2,57	3,026	1,08	1,61	1,45	0,99
Phối tử tự do			2,427	2,986	0,998	1,374	1,417	0,866

3. Thăm dò khả năng gây độc tế bào ung thư vú MCF-7 của 3 phức chất

Kết quả sử dụng phương pháp Sulforhodamine B (SRB) thăm dò khả năng gây độc tế bào ung thư vú MCF-7 của 3 phức chất được liệt kê trong bảng 5. Dựa vào bảng số liệu thì phức chất P2 có khả năng gây độc tế bào cao đối với dòng tế bào ung thư vú MCF-7 với tỉ lệ phần trăm gây độc tế bào 87,13% so với mức trung bình của camptothecin chỉ là 46,83%. Phức chất P2 có khả năng gây độc tế bào cao nên đã được tiến hành xác định giá trị IC_{50} của phức là $14,41 \pm 2,472$.

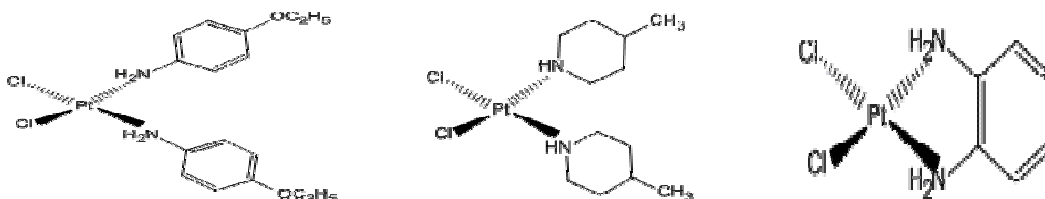
Bảng 5. Kết quả thăm dò khả năng gây độc tế bào ung thư vú MCF-7

STT	Mẫu	Tỉ lệ phần trăm gây độc tế bào (%)			
		Lần 1	Lần 2	Lần 3	TB \pm DLC
1	P1	Không xác định được	Không xác định được	Không xác định được	Không xác định được
2	P2	96,02	86,07	79,31	$87,13 \pm 8,406$
3	P3	32,90	37,70	40,54	$37,05 \pm 3,863$
Camptothecin Chất chứng +		$46,83 \pm 1,537$			

TB: Trung bình; DLC: độ lệch chuẩn

4. Kết luận

- Đã tổng hợp 3 phức chất của Pt(II) chứa p-phenetidine, 4-methylpiperidine, o-phenetylendiamine bằng sự tương tác giữa $K_2[PtCl_4]$ với các amin theo quy luật ảnh hưởng của hiệu ứng *trans* để tạo ra các sản phẩm cầu hình *cis*, gồm: *cis*-diclorodi(p-phenetidine) platin (II), *cis*-diclorodi(4-metyl piperidine) platin (II), *cis*-dicloro(o-phenetylendiamine) platin (II).



- Kết quả thăm dò khả năng gây độc tế bào cho thấy phức *cis*-dicloro(o-phenetylendiamine) platin (II) thể hiện hoạt tính tốt đối với tế bào ung thư vú MCF-7 ($87,13 \pm 8,406$ %). Giá trị IC_{50} của phức chất này là $14,41 \pm 2,472$.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trần Thị Đà, Nguyễn Thị Thanh Chi, Trương Thị Cẩm Mai và Phạm Thu Hương, *Tổng hợp và nghiên cứu cấu trúc một vài phức chất cis - điclo(ănetol)(ămin) platin(II)*, Tạp chí Hóa học, 46 (5) (2008), 560 - 565.
2. Lê Chí Kiên (2007), *Hóa học phức chất*, Nxb Đại học Quốc gia Hà Nội.
3. Nguyễn Hữu Đĩnh, Trần Thị Đà (2007), *Phức chất: Phương pháp tổng hợp và nghiên cứu cấu trúc*, Nxb Khoa học và Kỹ thuật.
4. Solomon E.I., Lever A.B.P (1999), *Inorganic electronic structure and spectroscopy*, Vol II, John Wiley & Son
5. Zheligovskaya N.N. (1991), *Preparation and physicochemical study of cis-ăminedichloro Pt (II) complexes with several amines*, Chem.Abstr, Vol 115, N^o 24, 269248 j.

(Ngày Tòa soạn nhận đưđc bài: 04-12-2013; ngày phản biện đănh giá: 05-5-2014;
ngày chấp nhận đăng: 16-5-2014)