

钌配合物 $[\text{Ru}(\text{MeIm})_4(4\text{mopip})]^{2+}$ 稳定 G-四链体 对抑制肺癌细胞生长机制的研究

孙冬冬, 牟志鹏, 李 暖, 张伟伟, 赵志伟, 黄东辉, 杨小方, 汪维云*

(安徽农业大学生命科学学院, 合肥 230036)

摘 要: 制备一种新型钌配合物 $[\text{Ru}(\text{MeIm})_4(4\text{mopip})]^{2+}$ (RuMeMo), 运用元素分析(C、H、N)、电喷雾电离质谱(ESI-MS)、核磁共振谱(^1H NMR)对 RuMeMo 进行了结构表征。紫外光谱、热变性试验和圆二色光谱研究 RuMeMo 与 F21T 的分子作用机制, 发现其能诱导线性 G-四链体 DNA 形成混合型结构并能有效稳定 G-四链体。MTT 法评估 RuMeMo 对癌细胞的抑制作用及其对正常细胞的毒性, 发现其对肺癌细胞 (A549) 表现出高选择的抑制作用, 而对正常人类肺原胚细胞 (CDDP) 则表现出较低的细胞毒性。本研究结果表明, RuMeMo 因其稳定 G-四链体 DNA 的能力, 从而有被运用于肺癌治疗的潜质。

关键词: 钌配合物; G-四链体; 细胞凋亡; 肺癌; 机制

中图分类号: R979.1

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2016)01-0056-06

Anti-tumor activity and mechanism of apoptosis of tumor cells induced by ruthenium complexes

SUN Dongdong, MOU Zhipeng, LI Nuan, ZHANG Weiwei, ZHAO Zhiwei, HUNAG Donghui, YANG Xiaofang, WANG Weiyun

(School of Life Science, Anhui Agricultural University, Hefei 230036)

Abstract: In this study, a new ruthenium complex, $[\text{Ru}(\text{MeIm})_4(4\text{mopip})]^{2+}$ (RuMeMo), was designed, synthesized, and further characterized by Elemental analyses (C, H and N), ESI-MS and NMR. UV-Visible spectroscopy (UV-Vis), fluorescent resonance energy transfer (FRET), and circular dichroism (CD) were used to research the molecular mechanism of actions between RuMeMo and F21T. RuMeMo showed a high inhibitory activity to A549 and a low cytotoxicity activity to CDDP via MTT analysis. All results indicated that RuMeMo may be used for the treatment of lung cancer due to its ability for stabiling G-complex.

Key words: ruthenium complexes; G-quadruplex; apoptosis; lung cancer; mechanism

端粒酶 (telomerase) 是一种具有逆转录活性的核糖核蛋白酶。端粒酶的异常活化是细胞永生化和肿瘤形成的关键步骤。端粒酶活性与细胞周期及细胞凋亡调控密切相关。研究发现, 正常体细胞中几乎检测不到端粒酶活性, 而多数肿瘤细胞中端粒酶活性异常升高, 可见端粒酶在维持肿瘤增殖中起着

重要作用^[1]。影响端粒酶活性的重要因素是端粒的长度, 端粒的末端是富含鸟嘌呤的突出单链^[2]。端粒 DNA 形成的独特二级结构 G-四链体对端粒酶的活性有明显抑制作用, 能达到促进肿瘤细胞凋亡的作用^[3]。研究表明, 能够诱使端粒 DNA 形成 G-四链体及可以稳定这种结构的药物均可能成为有效的

收稿日期: 2015-10-20

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金(21401002), 安徽省自然科学基金青年项目 (1508085QB37), 安徽农业大学青年科学基金重点项目(2013zr011)和安徽农业大学生物制药新专业建设(SJJD201313)共同资助。

作者简介: 孙冬冬, 博士, 讲师。E-mail: sunddwj@126.com

* 通信作者: 汪维云, 博士, 教授。E-mail: weiyunw@126.com

化疗药物。这种结构的形成能够破坏端粒的稳定性,影响端粒酶的活性使端粒缩短,进而诱导细胞凋亡。此外, G-四链体结构还可以出现在癌症相关基因的启动子区,参与调控基因转录。因此能够诱导并稳定 G-四链体结构的小分子配合物可能抑制端粒酶活性,调节基因表达,进而发挥抗肿瘤效应^[3-4]。

目前,对铂类配合物的研究较多,铂类配合物作为抗癌药物在临床上广泛应用的金属抗肿瘤化疗药物^[5-7],其研究引起广泛的关注,激发了人们对金属配合物的抗肿瘤研究的兴趣。但目前,临床应用铂类抗癌药的最大问题是耐药性,许多患者先天或后天对铂类抗癌药物产生耐药性,严重降低了药物的疗效及其抗癌谱^[8-9]。在非铂类药物中,金属钌配合物是最有前途的抗癌药物之一。作为与铂类配合物的对照物,钌配合物普遍采用六配位八面体的构型,改变配体的类型和结构可以改变其性质^[10-11]。近年来,很多课题组设计合成了新型钌配合物,并评价了其抗肿瘤活性。但到目前为止相关报道以及研究都较少,仍是亟待发展的具有抗肿瘤活性的新型配合物,并需进一步阐释其抗肿瘤作用机制^[12-13]。

为了阐明钌配合物与端粒 DNA 的作用能力对其抗肿瘤活性的影响,及其抗肿瘤作用机制,本试验制备了新型钌配合物[Ru(MeIm)₄(4mopip)]²⁺(RuMeMo),对其与端粒 DNA F21T (5'-FAM-G₃[T₂AG₃]₃-TAMRA-3')的相互作用机制进行了研究,并探索了其抗癌活性。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 药品与试剂 台盼蓝、MTT、DMSO 购自美国 Sigma 公司; DNA 寡聚物 5'-AGGGTTAGGGTTAGGGTTAGGG-3' (F21T) 购买自生工生物工程(上海)股份有限公司,并且未进行任何纯化等处理,通过测量解链后在 260 nm 下的吸光度确定浓度,单链的消光系数根据最邻近域计算法获得; G-四链体的结构和基序通过以下方法获得:寡居核苷酸样本被不同的缓冲溶液溶解,加热到 90℃ 5 min,缓慢的冷却到室温,在 4℃ 下孵育过夜; DCFH-DA (2',7'-二氯荧光黄双乙酸盐)购买自生工生物工程(上海)股份有限公司。

所用到的缓冲溶液的配制均采用超纯水配制,缓冲体系如下:

缓冲溶液 A: 100 mmol L⁻¹ NaCl, 10 mmol L⁻¹ NaH₂PO₄/Na₂HPO₄, 1 mmol L⁻¹ Na₂EDTA, pH 5.5;

缓冲溶液 B: 100 mmol L⁻¹ KCl, 10 mmol L⁻¹

KH₂PO₄/K₂HPO₄, 1 mmol L⁻¹ K₂EDTA, pH 5.5;

缓冲溶液 C: 100 mmol L⁻¹ KCl, 10 mmol L⁻¹

KH₂PO₄/K₂HPO₄, 1 mmol L⁻¹ K₂EDTA, pH 7.0。

所用试剂均为分析纯级。

1.1.2 仪器 元素分析(C、H、N)用 Perkin-Elmer 240C 元素分析仪测定;电喷雾质谱(ESI-MS)用 LCQ 系统(Finnigan MAT, USA)记录,选用甲醇作流动相;核磁共振谱(¹H NMR)采用 Varian Mercury-plus 300 NMR;电子吸收光谱用 Perkin-Elmer Lambda-850 紫外可见光谱仪记录;发射光谱用 Hitachi F-4500 荧光光谱仪测定;圆二色(CD)谱用 JASCO-J810 圆二色谱仪测量;荧光定量 PCR 用 Bio-Rad Chrom 4 PCR 仪测量。

1.2 方 法

1.2.1 钌络合物 RuMeMo 的制备 2-(4-甲氧基苯基)-1*H*-咪唑 [4,5-*f*][1,10]菲罗啉 (4mopip) 的合成见参考文献[8,14]。[Ru(4mopip)Cl₄]的合成见参考文献[15]。

[Ru(MeIm)₄(4mopip)](ClO₄)₂·2H₂O 的合成:在氩气的保护下,将[Ru(4mopip)Cl₄] (0.142 g, 0.25 mmol) 和 1-甲基咪唑 (0.41 g, 5 mmol) 混入到 DMF (*N,N*-dimethylformamide) (15 mL) 中,搅拌回流 8 h,得到深红色溶液。缓慢的冷却至室温,过滤,滤液旋转蒸发至 5 mL,冷却至室温后加入 10 mL 水进行稀释,在缓慢搅拌的条件下向稀释液中逐滴加入饱和的 NaClO₄ 溶液,产生大量的红色沉淀。反应完全后静置 1 h,抽滤,用乙醚对固体进行洗涤后真空干燥得到粗产品。将干燥后的粗产品用少量的乙腈溶解,装入约 15 cm 的中性氧化铝柱中。用乙腈:甲苯 = 3:1 (v/v),淋洗下主要的红色组分,减压旋干,在乙腈-乙醚中重结晶获得精制品。

1.2.2 紫外光谱研究钌配合物 RuMeMo 与 F21T 的相互作用 在样品池与参比池中分别放入 3.0 mL 的缓冲液,进行室温 (25℃) 条件下基线的扫描处理。向样品池中加入 10 mmol L⁻¹ 的 RuMeMo,

扫描记录下钌配合物 RuMeMo 在 200~600 nm 的范围内的紫外吸收光谱^[12],然后分别在样品池和参比池中用微量进样器加入等量的 DNA 样品,使 DNA 与钌配合物浓度比值 (C_{DNA}/C_{Ru}) 按 2.5、5、7.5、10、15 和 20 的比例递增,混匀约 5 min 后,记录 200 ~ 600 nm 的范围内的紫外吸收光谱变化。根据下列公式(1)^[16-17] 计算配合物与 DNA 作用的结合常数。

$(\epsilon_a - \epsilon_f) / (\epsilon_b - \epsilon_f) = (b - (b^2 - 2K^2 C_t [DNA] / s)^{1/2}) / 2KC_t$ (1)
 $b = 1 + KC_t + K [DNA] / 2s$ 公式中, [DNA]是 DNA 的浓度, ϵ_a 是配合物的表观消光系数 $A_{obsd} / [M]$, ϵ_b 是没有与 DNA 分子结合的配合物的消光系数, ϵ_f 是完全结合 DNA 分子以后的配合物的消光系数; C_t 代表配合物总浓度, s 为键合位点的大小。 K 为曲线拟合的结合常数。

1.2.3 热变性实验研究钌配合物 RuMeMo 与 F21T 的相互作用 荧光标记的端粒 DNA F21T (5'-FAM-G₃[T₂AG₃]₃-TAMRA-3')^[18], 在 5' 末端标记荧光探针 FAM (6-羧基荧光素), 3' 末端标记荧光探针 TAMRA (6-羧基-四甲基罗丹明) 溶解在含有 60 mmol L⁻¹ KCl, Tris-HCl (10 mmol L⁻¹, pH 7.4) 缓冲液中, 加热至 92℃ 维持 5 min 后, 自然冷却至室温备用。荧光溶解曲线用 Bio-Rad iQ5 实时 PCR 监测系统记录。反应体系总体积 25 mL, 其中包含 1 mmol L⁻¹ 的 F21T DNA 和不同浓度的 RuMeMo, 缓冲溶液用含 60 mmol L⁻¹ KCl 的 Tris-HCl 缓冲液 (10 mmol L⁻¹, pH 7.4), 平行复孔 3 次。设定激发波长 470 nm, 发射波长 530 nm; 温度范围: 35~95℃, 保持 1℃/1 min, 延迟时间为 30 s, 测定加入配合物前后 F21T 的熔解曲线。结果用 Origin7.5 进行数据分析。

1.2.4 圆二色谱研究钌配合物 RuMeMo 与 F21T 的相互作用 首先, 在 3.0 mL 的样品池中加入缓冲液进行背景扫描。然后样品池中加入 2.0 mmol L⁻¹ 的 DNA, 在扣除背景后进行, 记录 DNA 的 CD 光谱图, 然后向样品中加入 RuMeMo 1 mL (1 mmol L⁻¹), 混匀约 5 min 后, 记录 200~350 nm 范围内的 CD 光谱变化。

1.2.5 MTT 法测定钌配合物 RuMeMo 对肿瘤细胞株的抑制作用 经 0.25% 胰蛋白酶消化 5 min 成单细胞悬液, 台盼蓝染色计数活细胞数^[19]。调整活细胞浓度为 5 × 10³ mL⁻¹ 加于 96 孔培养板, 每孔 100 μL, 培养 24 h 后, 再分别加入浓度为 2.5、5、10 和 20 μmol L⁻¹ 的 RuMeMo, 置 37℃ 下培养, 体积分数为 5% CO₂ 培养 24 h, 于结束前 4 h 加入 MTT 20 μL/孔, 4 h 后弃上清液, 加入 DMSO 100 μL/孔, 振荡 10 min 左右, 酶标仪测定 D_{450nm} 值。按下列公式(2)计算存活率, 同时作图并求得半数杀伤浓度 (IC₅₀), 评价药物的细胞毒性。

存活率/% = 加药孔平均 D_{450nm} 值 / 对照孔平均 D_{450nm} 值 × 100% (2)

2 结果与分析

2.1 RuMeMo 的结构表征

设计制备的含甲基咪唑配体的 RuMeMo 是一种红色微晶状固态化合物, 产率: 67%, 元素分析 C₃₆H₄₂Cl₂N₁₂O₁₁Ru: C, 43.64; H, 4.27; N, 16.96; found: C, 43.56; H, 4.28; N, 16.93。如图 1 和图 2 所示, 经核磁共振和质谱确认其分子结构特征 ¹H NMR (300 MHz, ppm, DMSO-d₆): δ 8.98 (d, 2 H, J = 5.3 Hz); 8.87 (d, 2 H, J = 8.2 Hz); 8.23 (d, 2 H, J = 8.8 Hz); 7.97~7.92 (m, 2 H); 7.89 (s, 2 H); 7.46 (s, 2H); 7.21~7.14 (m, 4H); 6.96 (s, 2H); 6.75 (s, 2H); 6.14 (s, 2H); 3.87 (s, 3H); 3.61 (s, 6H); 3.41 (s, 6H)。UV-Vis (λ/nm, ε/M⁻¹·cm⁻¹)(H₂O): 284 (52297), 452 (6398), 523 (5614)。ESI-MS (MeCN): m/z = 755.2 ([M-2ClO₄-H]⁺), 378.1 ([M-2ClO₄)²⁺。

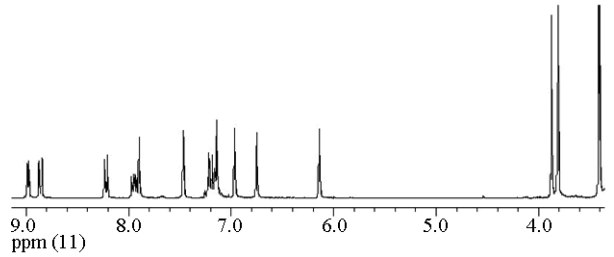


图 1 RuMeMo 的 ¹H 核磁共振
 Figure 1 ¹H NMR of the RuMeMo

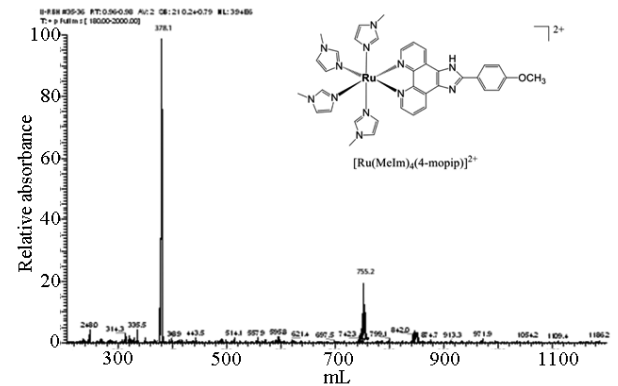
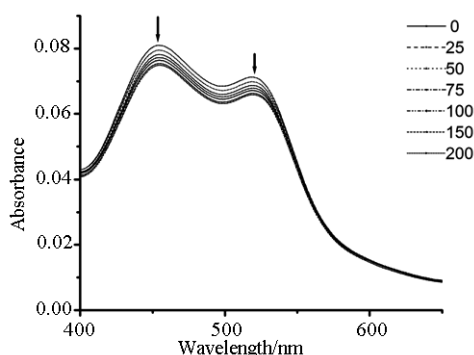


图 2 RuMeMo 的电喷雾电离质谱图和结构原理示意图
 Figure 2 ESI-MS of the RuMeMo and structural schematic diagram



在 25℃ 时, 100 mmol L⁻¹ 的 NaCl 缓冲溶液中, 随着 F21T 量的增加, RuMeMo 的实时紫外吸收光谱。[RuMeMo]=10 M, [DNA]=0~200 M 从上至下。箭头指出的是吸光度变化位置

Under the condition of 100 mmol L⁻¹ NaCl buffer at 25℃ in the presence of increasing amounts of F21T. [RuMeMo]=10 M, [DNA]=0-200 M from the top to the bottom. Arrows indicate the change in absorbance upon increasing the DNA concentration

图 3 RuMeMo 吸收光谱

Figure 3 Absorption spectra of RuMeMo

表 1 化合物 RuMeMo 吸收光谱最大波长 (λ_{\max}) 和减光度
Table 1 Absorption spectra (λ_{\max}/nm) and hypochromism of complexes RuMeMo

化合物 Compound	λ_{\max}	H/%
[Ru(MeIm) ₄ (4mopip)] ²⁺	518	7.6

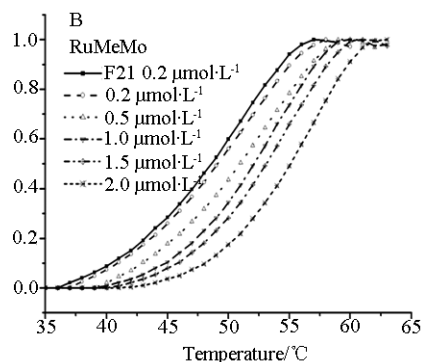
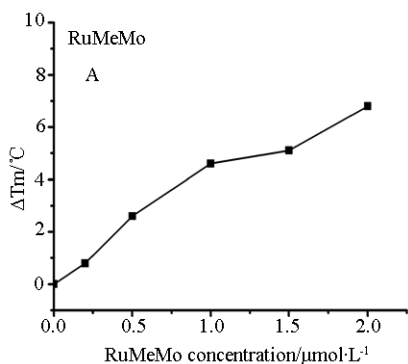


图 4 A: 0.2 μmol L⁻¹ 的 F21T 和分别混入 0.2、0.5、1.0、1.5 和 2.0 μmol L⁻¹ RuMeMo 后的 ΔT_m 值; B: 0.2 μmol L⁻¹ 的 F21T 和加入浓度分别为 0.2、0.5、1.0、1.5 和 2.0 μmol L⁻¹ 下的 RuMeMo 荧光共振解链曲线

Figure 4 A: F21T-melting curves obtained with F21T (0.2 μmol L⁻¹) alone and with RuMeMo (0.2, 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 μmol L⁻¹).
B: ΔT_m values at various concentrations of RuMeMo with F21T (0.2, 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 μmol L⁻¹)

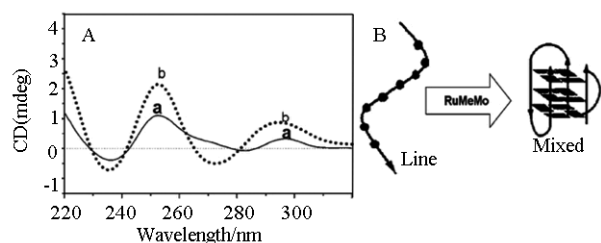


图 5 浓度为 2 μmol L⁻¹ 的 F21T 在 10 mmol L⁻¹ tris-HCl, pH =7.4 条件下的圆二色谱图, 曲线 (a) 空白, 曲线 (b) 1 μmol L⁻¹ 的 RuMeMo

2.2 RuMeMo 与 F21T 相互作用的紫外光谱研究

RuMeMo 与 F21T 相互作用的紫外光谱如图 3 所示, 减色率及红移数据列于表 1 中。通过对图 3 和表 1 的分析可以看出, 随着 F21T 浓度的逐渐增加, RuMeMo 的吸收光谱出现明显减色现象, 说明 RuMeMo 与 F21T 的有较大的作用强度。

2.3 RuMeMo 与 F21T 相互作用的热变性研究

RuMeMo 与 F21T 作用的 FRET 结果如图 4 所示。F21T 在缓冲溶液中的熔点为 55.9℃, 当加入 RuMeMo 使 [RuMeMo] / [F21T] 为 1:1 后, F21T 的解链温度升至 60.8℃, 即使 F21T 的 T_m 升高了 4.9℃。当 [RuMeMo] / [F21T] 达到 10:1 时, F21T 的解链温度升至 62.7℃, F21T 的 ΔT_m 值的改变情况为 $\Delta T_m(\text{RuMeMo})=6.8^\circ\text{C}$ 。显然, 在 10 mmol L⁻¹ Tris-HCl 60 mmol L⁻¹ NaCl 环境中, 随着 RuMeMo 浓度的增加, RuMeMo 能显著地提高 F21T 的解链温度。这说明 RuMeMo 能够稳定了人体端粒序列的 G-四链体 DNA。

Figure 5 CD spectra of F21T (2 μmol L⁻¹) in 10 mmol L⁻¹ tris-HCl, pH=7.4, in the absence (a) and the presence of 1 μmol L⁻¹ RuMeMo

2.4 RuMeMo 与 F21T 相互作用的圆二色谱研究

在 K⁺ 存在的缓冲液中, G-四链体 DNA 是一种平行的构型。如图 5B 所示, 加入 RuMeMo 后, 平行型的 G-四链体 DNA 构型发生了明显的变化, 在 236 nm 处负峰增强, 在 251 nm 处的正峰增强, 在

272 nm 处出现一新的负峰, 在 290 nm 处的正峰增加, 使得平行型的 G-四链体 DNA 结构变成了一种新的混合型构型。说明 RuMeMo 能够诱使线形 F21T 形成混合型 G-四链体 DNA 结构。

2.5 MTT 法测定 RuMeMo 对肿瘤细胞株的抑制作用的分析

以上的研究表明, RuMeMo 能与 F21T 发生相互作用, 并具有与 G-四链体 DNA 形成混合型 G-四链体 DNA 结构, 从而稳定 G-四链体的能力。能够诱导并稳定 G-四链体结构的小分子配合物有

可能抑制端粒酶活性, 调节基因表达, 进而发挥抗肿瘤效应, 因此 RuMeMo 有可能发展成为潜在的抗肿瘤药物。

为了进一步研究其抗肿瘤活性, 我们采用 MTT 法测定 RuMeMo 对肿瘤细胞株的抑制作用, 所选肿瘤细胞株有人肝癌 (HepG2)、人宫颈癌 (HeLa)、人肺腺癌 (A549)、人黑色素瘤细胞 (A375) 以及正常人胚肺成纤维细胞 (MRC-5) 等。不同浓度的配合物作用于各种肿瘤细胞 48 h 后, 根据肿瘤细胞的生存率, 计算出半数致死浓度 IC_{50} 。

表 2 钌配合物 RuMeMo 和顺铂对不同人类癌细胞的 IC_{50}

Table 2 IC_{50} of Ruthenium complexes RuMeMo and CDDP in various human cancer cells

配合物 Complexes	$IC_{50}/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$				
	HeLa	HepG-2	A375	A549	MRC-5
RuMeMo	40.5±3.4	72.7±8.7	22.5±3.2	16.1±1.3	95.1±8.3
CDDP	7.6±1.5	10.4±1.7	18.6±3.1	13.6±2.8	26.8±3.6

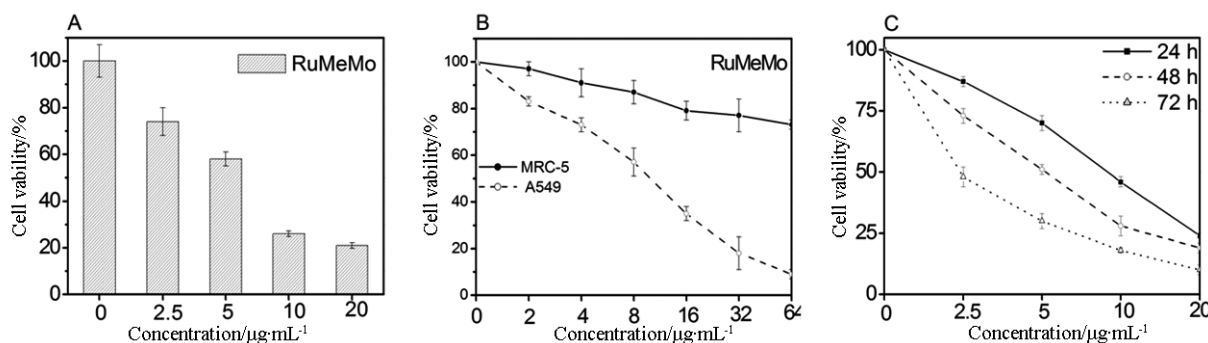


图 6 (A) RuMeMo 对人类肺癌细胞的生长性抑制作用。细胞被不同浓度的 RuMeMo 处理 48 h 后, 用 MTT 法进行分析; (B) RuMeMo 对人类肺癌细胞和正常人胚肺成纤维细胞的生长性抑制作用; (C) RuMeMo 的抗增殖活性。细胞分别被处理 24 h, 48 h 和 72 h

Figure 6 (A) Growth inhibitory effects of aqueous extracts of RuMeMo on A549 cells. Cells were treated with different concentrations of the extract for 48 h and cell viability was determined by MTT assay as described in Materials and Methods. (B) Growth inhibitory effects of RuMeMo on A549 and MRC-5 cells. (C) Antiproliferative activities of RuMeMo, Cells were treated with different concentrations of the extract for 24 h, 48 h and 72 h

表 2 给出了 RuMeMo 以及顺铂对各肿瘤细胞株作用的 IC_{50} 值。从表中可看出 RuMeMo 对 A375、A549 细胞具有很强的抑制作用, 尤其对 A549 细胞的 IC_{50} 为 $16.1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 与顺铂 (IC_{50} 为 $13.6 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 接近。

在评价药物的抗肿瘤活性时, 其对正常细胞的毒性至关重要, 所以我们同时测定了 RuMeMo 对正常人胚肺成纤维细胞 (MRC-5) 的毒性。如图 6 实验结果显示, 即使配合物的浓度达到 $64 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, 对 MRC-5 细胞毒性作用仍然很低。说明 RuMeMo 对 A549 细胞具有选择性抑制作用, 而对正常细胞毒性较低。

3 讨论

制备的新型钌配合物 RuMeMo, 引进了具有生物活性的甲基咪唑基团做为辅助配体。采用紫外光谱、热变性实验进一步验证了配合物与人体端粒序列 F21T 的相互作用及稳定 G-四链体 DNA 的能力。CD 光谱研究表明 RuMeMo 可以诱使线形 F21T 形成混合型 G-四链体 DNA 结构。能与端粒 F21T 相互作用并能稳定 G-四链体结构的配合物一般表现出良好的抗肿瘤活性, 我们通过 MTT 实验发现 RuMeMo 对多种肿瘤细胞株具有抑制作用, 并且具有剂量依赖关系, 尤其是对 A549 肺癌细胞具有较高的选择性抑制作用。综合这些研究结果表明: 钌配合物的抗肿瘤活性与其能够与 G-四链体 DNA 相互作用并稳定 G-四链体结构的能力相关, 钌配合物

RuMeMo 有可能是一种以端粒 DNA 为靶标的潜在抗肿瘤药物。

参考文献:

- [1] 徐爱华, 宋元达, 陈汉春. 端粒酶——干扰素抗肿瘤的新靶点[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2013, 29(6): 529-533.
- [2] 惠峪, 崔景荣. 端粒酶活性调控的研究进展[J]. 国际遗传学杂志, 1999(3): 142-145.
- [3] 孙静, 陈嘉曦, 陈伙炎, 等. 金属配合物与 G-四链体作用的研究进展[J]. 中国药理学通报, 2012, 2(8): 469-472.
- [4] 张虹. 基于人体端粒 DNA G-四链体的新型抗肿瘤候选药物的研究[D]. 北京: 中国科学院研究生院, 2012.
- [5] 王江云, 阎芳, 韦柳娅, 等. 功能性钌配合物的研究进展[J]. 化学世界, 2013(9): 561-564.
- [6] WANG F Y, XU J, HABTEMARIAM A, et al. Competition between glutathione and guanine for a ruthenium(II) arene anticancer complex: detection of a sulfenato intermediate[J]. Journal of the American Chemical Society, 2005, 127(50): 17734-17743.
- [7] SUN D, ZHANG W, YANG E, et al. Investigation of antibacterial activity and related mechanism of a ruthenium(II) polypyridyl complex[J]. Inorganic Chemistry Communications, 2015, 5(6): 17-21.
- [8] 陈禹, 杜可杰, 巢晖, 等. 钌配合物抗肿瘤研究新进展[J]. 化学进展, 2009(5): 836-844.
- [9] SUN D, LIU Y, YU Q, et al. The effects of luminescent ruthenium (II) polypyridyl functionalized selenium nanoparticles on bFGF-induced angiogenesis and AKT/ ERK signaling[J]. Biomaterials, 2013,34(1): 171-180.
- [10] 许娟. 多吡啶钌配合物与 DNA 相互作用的光电化学性能及电化学组装[J]. 广州: 华南师范大学, 2007.
- [11] SUN D, ZHANG W, LV M, et al. Antibacterial activity of ruthenium(II) polypyridyl complex manipulated by membrane permeability and cell morphology [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2015, 25(10): 2068-2073.
- [12] 谢阳银. 钌(II)多吡啶配合物的合成及其抗肿瘤活性研究[J]. 广州: 广东药学院, 2014.
- [13] 陈雪蛟. 钌多吡啶配合物与 DNA/RNA 的键合机理及其抗肿瘤活性研究[J]. 长沙: 湘潭大学, 2010.
- [14] 杨青, 尹文华, 孙云明, 等. 1,10-菲咯啉-5,6-二酮的制备与除草活性研究[J]. 山东农业科学, 2012, 8: 89-91.
- [15] 禹莲玲. 钌多吡啶类配合物的设计合成、表征及诱导细胞凋亡的作用机理研究[D]. 广州: 暨南大学, 2013.
- [16] NAIR R B, TENG E S, KIRKLAND S L, et al. Synthesis and DNA-binding properties of [Ru(NH(3))₄dppz]⁽²⁺⁾[J]. Inorganic Chemistry, 1998, 37(1): 139-141.
- [17] CARTER M T, RODRIGUEZ M, BARD A J. Voltammetric studies of the interaction of metal chelates with DNA. 2. Tris- chelated complexes of cobalt(III) and iron(II) with 1,10- phenanthroline and 2,2'-bipyridine[J]. J. Am. Chem. Soc., 1989, 111(4): 8901-8911.
- [18] 文焯. 金属铂(II)配合物与 G-四链体 DNAs 的相互作用及生物活性研究[D]. 太原: 山西大学, 2012.
- [19] 陈冲, 焦宁, 徐瑞荣, 等. 台盼蓝拒染法、MTT 法、CCK-8 法在研究 As203 细胞毒性作用中的意义[J]. 中国医药导报, 2013, 1(2): 24-26.