

水飞蓟宾噁唑衍生物的合成及体外抗肿瘤活性研究

霍荣迪 赵凤菊 刘家越 李学城 孟艳秋*

(沈阳化工大学制药与生物工程学院 沈阳 110142)

摘要 水飞蓟宾多作为保肝药使用,近年来因其在抗肿瘤方面显示出的良好潜力而备受关注。为提高水飞蓟宾的抗肿瘤活性,以天然产物水飞蓟宾为先导化合物,合成了一系列水飞蓟宾衍生物,其化学结构经¹H NMR、¹³C NMR、MS 确证。采用 MTT 法测试目标化合物对人乳腺癌细胞(MCF-7)和人胃癌细胞(SGC-7901)的体外抗肿瘤活性,并运用分子对接方法分析目标化合物与 HER2 靶点的作用方式。结果表明,合成的衍生物对两种癌细胞的抑制率均优于水飞蓟宾本身,其中衍生物 **II₃** 和 **II₉** 与阳性对照药拉帕替尼和阿法替尼的抑制作用相当,其能与 HER2 靶蛋白周围的氨基酸残基通过氢键紧密结合。本研究可为新型抗肿瘤药物的研发提供参考。

关键词 水飞蓟宾 结构改造 抗肿瘤 HER2

Synthesis and *In Vitro* Antitumor Activity of Silybin Oxazole Derivatives

Huo Rongdi, Zhao Fengju, Liu Jiayue, Li Xuecheng, Meng Yanqiu*

(College of Pharmaceutical and Bioengineering, Shenyang University of Chemical Technology, Shenyang, 110142)

Abstract Silybin is used as a hepatoprotective drug and has attracted much attention in recent years because of its promising antitumor potential. In order to improve the antitumor activity of silybin, a series of silybin derivatives were synthesized with natural silybin as the lead compound, and the structures of synthesized derivatives were determined by NMR and MS. The antitumor activity of the target compounds against human breast cancer cells MCF-7 and human gastric cancer cells SGC-7901 *in vitro* was tested by MTT assay. And the interaction mode between the derivatives with the HER2 target was analyzed by molecular docking method. The results showed that they had better inhibition rate on cancer cells than silybin, and the antitumor activities of derivatives **II₃** and **II₉** were similar to positive control drugs such as lapatinib and afatinib. Derivatives **II₃** and **II₉** could closely bind with amino acid residues of HER2 target protein through hydrogen bonding. This study can provide a reference for the research of new antitumor drugs.

Keywords Silybin, Structural transformation, Anti-tumor, HER2

水飞蓟宾(Silybin)是水飞蓟素的主要活性成分之一,主要从菊科植物水飞蓟的种子中提取得到^[1]。水飞蓟宾包括两种非对映异构体:水飞蓟宾 A 和水飞蓟宾 B(图式 1)。水飞蓟宾具有多种药理活性,包括神经保护、肝保护、心脏保护、抗氧化、抗癌、抗糖尿病、抗病毒、免疫调节剂、抗炎等^[2,3]。其中,水飞蓟宾对多种癌细胞具有抑制作用,如肝癌^[4]、前列腺癌^[5]、肺癌^[6]、胃癌^[7]、乳腺癌^[8]和膀胱癌^[9]等。本课题组长期从事黄酮

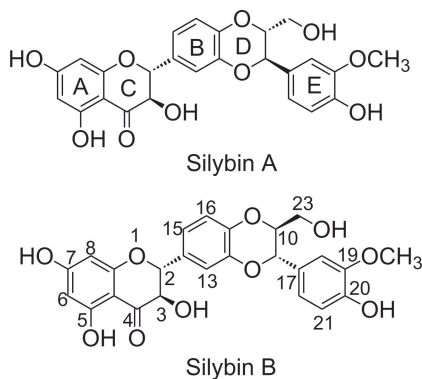
类化合物的研究,在水飞蓟宾的结构改造及其抗肿瘤活性的研究方面取得了一定的进展。

水飞蓟宾的抗肿瘤作用机制主要表现为抑制肿瘤蛋白酪氨酸激酶(Protein tyrosine kinase, PTK)活性及其下游信号分子的活化^[10]。HER2(表皮生长因子受体 2),又名 ERBB2、p185、Neu,是具有受体酪氨酸激酶(RTKs)活性的跨膜糖蛋白,属于表皮生长因子受体(EGFR)家族^[11]。HER2 蛋白激活及其下游通路的信号传导在肿瘤

* 联系人,孟艳秋 女,博士,教授,主要从事抗癌药物研发工作,E-mail: myq6581@163.com.

国家自然科学基金项目(21372156)、辽宁省重点研发计划项目(2019JH2/10300034)、辽宁省教育厅重点项目(LJKZ0427)和沈阳市重大科技成果转化项目(20-203-5-45)资助

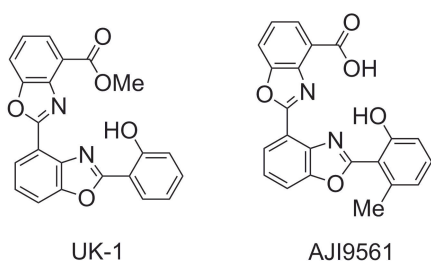
2023-02-13 收稿,2023-04-15 接受



图式 1 水飞蓟宾结构式
Scheme 1 Silybin structural formula

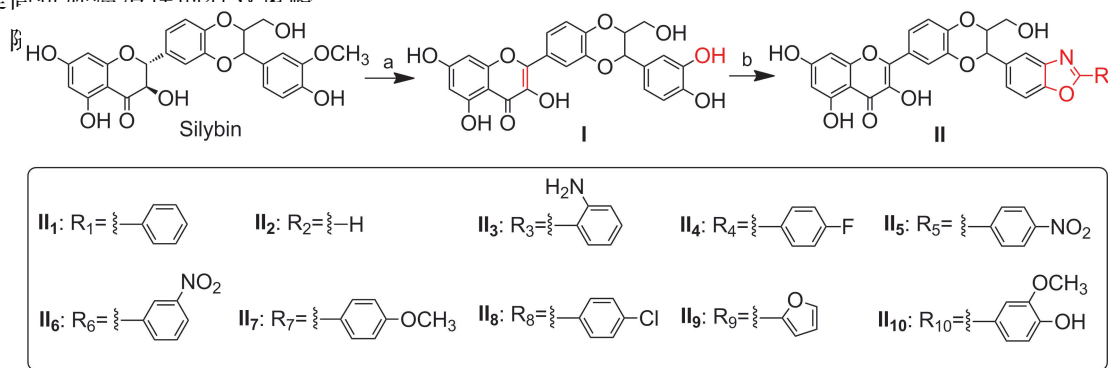
细胞的增殖、分化与迁移过程中起促进作用^[12,13]。由于 HER2 表达于肿瘤细胞的表面,而在成人正常组织中不表达或者仅有极低表达,使之成为一个良好的药物靶点^[14]。

含噁唑杂环化合物在药物化学中发挥着重要作用,是若干生物活性化合物的核心结构,具有广泛的生物活性^[15]。Kumar 等^[16]研究发现 UK-1 和 AJI9561 (图式 2) 对白血病、淋巴瘤和某些实体肿瘤衍生细胞系显示出广泛的抗肿瘤活性。因此,我们推测将噁唑环与水飞蓟宾 E 环骈合可能是提高抗肿瘤活性的有效策略



图式 2 UK-1 和 AJI9561 结构式
Scheme 2 UK-1 and AJI9561 structural formula

衍生物设计与合成已成为研究热点。Trouillas 等^[17]研究发现,19-*O*-去甲基-2,3 脱氢水飞蓟宾 (DHDMS) 在 C-19 处由羟基取代甲氧基表现出比水飞蓟宾或 2,3 脱氢水飞蓟宾更高的抗氧化活性;El-Ghobashy 等^[18]研究发现苯并噁唑基和类似的骨架结构具有广泛的抗癌活性。为提高水飞蓟宾的生物活性,本文对其 C-19、C-20 位进行结构改造,先采用 33% HBr 乙酸溶液将水飞蓟宾 19 位甲氧基去甲基化还原为羟基生成化合物 **I** (DHDMS),随后合成水飞蓟宾 E 环骈合噁唑环形成苯并噁唑。通过 E 环引入噁唑环,形成 11-苯并噁唑基-2,3-脱氢水飞蓟宾类化合物 **II**₁ ~ **II**₁₀ (图式 3)。



Reagents and conditions: (a) DMF, 33% HBr acetic acid solution, TBAI, 110°C, 2h;
(b) DMF, NaIO₄, NH₄OAc, aldehyde, 70°C, 2.5h.

图式 3 水飞蓟宾衍生物合成路线图
Scheme 3 Synthetic route of silybin derivatives

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Büchi B-545 熔点仪、Büchi 有机合成装置 (瑞士 Büchi 有限公司);Bruker ARX-400 型核磁共振谱仪 (瑞士 Bruker 有限公司)。

水飞蓟宾购于辽宁盘锦格林恩生物资源开发有限公司;薄层层析硅胶 GF254 (青岛海洋化工有

限公司);33% HBr 乙酸溶液 (北京百灵威科技有限公司);其他试剂均为市售分析纯或化学纯级。RPMI-1640 培养基 (含体积分数 10% 的胎牛血清 +100μg/mL 青霉素+100μg/mL 链霉素)、四甲基偶氮唑盐 (MTT)、胰蛋白酶、标准胎牛血清 (FBS, 上海图赫实业有限公司)。活性测试用人乳腺癌细胞 MCF-7 和人胃癌细胞 SGC-7901 由沈阳药科大学药理教研室提供。阳性对照药阿法替尼

(Afatinib) 和拉帕替尼 (Lapatinib) 为阿斯利康制药有限公司产品。

1.2 目标化合物的合成

19-*O*-去甲基-2, 3-脱氢水飞蓟宾 (**I**): 将 0.482g (1mmol) 水飞蓟宾溶解在 6mL DMF 中, 室温下缓慢滴入 3mL 33% HBr 乙酸溶液, 再加入 0.032g (0.1mmol) 相转移催化剂四丁基碘化铵 (TBAI), 混合物在 110℃ 下搅拌反应 2h; 反应完全后冷却至室温, 乙酸乙酯稀释, 稀盐酸溶液洗涤, 无水硫酸镁干燥, 减压浓缩后得到橙黄色固体。粗品用薄层色谱纯化, 洗脱剂为氯仿/丙酮/冰醋酸 (体积比 200/100/5), 得 0.350g 黄色粉末状固体 **I**, 产率 58.96%, 熔点 212.7~216.4℃。¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.88 (d, *J* = 5.2Hz, 1H), 10.82 (s, 1H), 9.19 (s, 1H), 7.11 (d, *J* = 2.7Hz, 1H), 7.02 (d, *J* = 5.1Hz, 3H), 6.87 (m, *J* = 3.9Hz, 1H), 6.81 (d, *J* = 4.8Hz, 1H), 5.92 (d, *J* = 1.3Hz, 1H), 5.87 (t, *J* = 1.5Hz, 1H), 5.09 (d, *J* = 6.8Hz, 1H), 4.94 (d, *J* = 4.9Hz, 1H), 4.61 (m, *J* = 11.3/6.6Hz, 1H), 4.51 (m, 1H), 4.08 (d, *J* = 6.5Hz, 1H), 3.93 (dd, *J* = 4.8/3.3/1.5Hz, 2H), 3.80 (d, *J* = 5.4Hz, 1H); ¹³C NMR (101MHz, CDCl₃) δ: 177.04, 167.39, 163.89, 158.73, 150.44, 149.24, 148.03, 147.44, 146.62, 137.92, 131.10, 126.79, 123.63, 121.19, 118.75, 117.33, 116.08, 113.23, 102.71, 100.36, 96.89, 76.52, 76.08, 60.43。

11-(2-苯基)-苯并噁唑基-2, 3-脱氢水飞蓟宾 (**II**₁): 将 0.045g (0.1mmol) 化合物 **I** 溶于 3mL DMF 中, 室温下加入 NaIO₄ (0.2mmol) 和 NH₄OAc (0.2mmol), 充分搅拌溶解后, 滴入 0.2mmol 苯甲醛溶液, 混合液在 70℃ 搅拌反应 2.5h; 反应完全后冷却至室温, 乙酸乙酯稀释, 稀盐酸溶液洗涤, 无水硫酸镁干燥, 减压浓缩得黄色固体。粗产品用薄层色谱分离纯化, 洗脱剂为氯仿/丙酮/冰醋酸 (体积比 = 70/10/1), 得 0.017g 淡黄色固体 **II**₁, 产率 31.95%, 熔点 133.1~136.4℃。¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.04 (s, 1H), 11.16 (s, 1H), 8.95 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 8.15 (dd, *J* = 6.2/1.6Hz, 1H), 7.75 (d, *J* = 1.7Hz, 1H), 7.73 (d, *J* = 1.7Hz, 1H), 7.63 (dd, *J* = 3.0/1.8Hz, 3H), 7.09 (dd, *J* = 4.8/1.2Hz, 2H), 7.04 (dd, *J* = 5.6/4.2Hz, 2H), 6.87 (d, *J* = 6.0Hz, 1H), 6.82 (d, *J* = 6.0Hz, 1H), 5.36 (d, *J* = 4.8Hz, 1H), 4.81

~4.76 (m, 1H), 3.95 (s, 1H), 3.87 (dd, *J* = 11.1/7.8Hz, 2H); ¹³C NMR (101MHz, CDCl₃) δ: 177.67, 167.96, 164.49, 163.55, 158.82, 150.23, 149.09, 148.84, 146.70, 138.06, 138.00, 133.70, 132.21, 130.44, 130.40, 129.83, 129.60, 129.55, 126.10, 125.61, 123.72, 117.41, 114.28, 113.31, 112.48, 102.80, 100.44, 96.98, 76.61, 76.17, 60.61; ESI-MS *m/z*: 467.4362 [M+H]⁺。

按化合物 **II**₁ 的制备方法, 利用化合物 **I** 与甲醛或取代芳香醛反应制备化合物 **II**₂~**II**₁₀。

11-苯并噁唑基-2, 3-脱氢水飞蓟宾 (**II**₂): 淡黄色固体, 产率 27.25%, 熔点 219.7~222.8℃。¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.98 (s, 1H), 11.05 (s, 1H), 8.91 (s, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.68~7.62 (m, 1H), 7.62~7.56 (m, 1H), 7.16 (d, *J* = 1.5Hz, 1H), 7.08 (s, 1H), 7.06~7.01 (m, 2H), 6.87 (d, *J* = 4.7Hz, 1H), 6.82 (d, *J* = 6.1Hz, 1H), 5.54 (d, *J* = 4.6Hz, 1H), 4.42 (dt, *J* = 4.6/2.2Hz, 1H), 3.95 (s, 1H), 3.87 (dd, *J* = 11.1/7.8Hz, 2H); ¹³C NMR (101MHz, CDCl₃) δ: 177.55, 167.90, 164.40, 158.73, 152.38, 150.62, 149.97, 148.76, 146.62, 139.52, 137.92, 133.17, 126.79, 125.52, 123.63, 117.33, 114.20, 113.23, 112.58, 102.71, 100.36, 96.89, 76.52, 76.08, 60.53。

11-(2-(2-氨基苯基)-苯并噁唑基)-2, 3-脱氢水飞蓟宾 (**II**₃): 淡黄色固体, 产率 28.36%, 熔点 191.4~194.4℃。¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.53 (s, 1H), 9.51 (s, 1H), 8.76 (s, 1H), 7.21 (s, 1H), 7.19 (t, *J* = 2.4Hz, 2H), 7.13 (dd, *J* = 5.7/1.2Hz, 1H), 7.11~7.08 (m, 1H), 7.06 (dd, *J* = 3.5/1.2Hz, 1H), 7.03 (dd, *J* = 3.4/1.5Hz, 1H), 7.01 (d, *J* = 1.1Hz, 1H), 6.99 (d, *J* = 1.1Hz, 1H), 6.92 (t, *J* = 5.5Hz, 1H), 6.67 (dd, *J* = 12.7/5.9Hz, 2H), 5.45 (d, *J* = 7.5Hz, 2H), 5.34 (d, *J* = 2.8Hz, 1H), 4.56~4.52 (m, 1H), 3.78 (d, *J* = 3.5Hz, 1H), 3.73 (dd, *J* = 7.5/5.5Hz, 1H); ¹³C NMR (101MHz, CDCl₃) δ: 178.37, 167.93, 164.39, 162.07, 158.72, 153.87, 150.13, 148.99, 148.74, 146.60, 137.96, 137.90, 132.11, 131.85, 131.82, 126.00, 125.51, 124.22, 123.62, 119.69, 119.64, 117.31, 114.18, 113.21, 112.38, 102.70, 100.34, 96.88, 76.51, 76.07, 68.57; ESI-MS *m/z*: 568.4 [M+H]⁺。

11-(2-(4-氟苯基)-苯并噻唑基-2,3-脱氢水飞蓟宾(**II₄**): 淡黄色固体, 产率 36.59%, 熔点 189.6~192.1 °C。¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.29(s, 1H), 11.00(s, 1H), 9.20(s, 1H), 8.28(d, *J* = 4.5 Hz, 2H), 7.91(dd, *J* = 4.4、2.4 Hz, 1H), 7.84(dd, *J* = 4.4、2.5 Hz, 1H), 7.71(d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 7.59(d, *J* = 3.9 Hz, 1H), 7.56(d, *J* = 3.9 Hz, 1H), 7.33(s, 1H), 7.29(dd, *J* = 5.7、4.2 Hz, 1H), 7.12(d, *J* = 4.7 Hz, 2H), 7.07(d, *J* = 6.1 Hz, 1H), 5.57(d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 4.68(dt, *J* = 4.6、2.2 Hz, 1H), 4.20(s, 1H), 4.12(dd, *J* = 11.1、7.8 Hz, 2H); ¹³C NMR (101MHz, CDCl₃) δ: 176.78, 168.16, 165.53, 164.41, 162.10, 158.74, 150.56, 149.01, 148.76, 146.63, 137.98, 137.92, 132.13, 129.55, 129.50, 126.03, 125.53, 124.06, 123.64, 117.46, 117.43, 117.13, 114.21, 113.24, 112.40, 101.40, 99.99, 97.90, 76.53, 76.09, 68.60。

11-(2-(4-硝基苯基)-苯并噻唑基-2,3-脱氢水飞蓟宾(**II₅**): 淡黄色固体, 产率 32.14%, 熔点 181.3~184.3 °C。¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.06(s, 1H), 10.84(s, 1H), 8.91(s, 1H), 8.30(d, *J* = 3.9 Hz, 1H), 8.27(d, *J* = 3.9 Hz, 1H), 8.15(d, *J* = 4.5 Hz, 2H), 7.65(dd, *J* = 4.6、2.4 Hz, 1H), 7.59(dd, *J* = 4.3、2.6 Hz, 1H), 7.45(d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 7.07(s, 1H), 7.05~7.01(m, 2H), 6.87(d, *J* = 4.7 Hz, 1H), 6.81(d, *J* = 6.2 Hz, 1H), 5.32(d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 4.78(dt, *J* = 4.6、2.2 Hz, 1H), 3.95(s, 1H), 3.87(dd, *J* = 12.8、8.5 Hz, 2H); ¹³C NMR (101MHz, CDCl₃) δ: 176.84, 168.27, 164.47, 162.15, 158.80, 150.62, 149.33, 149.07, 148.82, 146.68, 138.04, 137.98, 135.56, 135.54, 132.19, 130.65, 126.08, 125.59, 125.18, 125.15, 123.70, 117.19, 114.26, 113.29, 112.46, 101.99, 99.94, 97.95, 76.59, 76.15, 68.83; ESI-MS *m/z*: 597.5 [M+H]⁺。

11-(2-(3-硝基苯基)-苯并噻唑基-2,3-脱氢水飞蓟宾(**II₆**): 淡黄色固体, 产率 32.58%, 熔点 188.0~191.3 °C。¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.93(s, 1H), 10.84(s, 1H), 9.21(s, 1H), 8.56(s, 1H), 8.49(d, *J* = 3.9 Hz, 1H), 8.46(d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 7.73(dd, *J* = 4.6、2.3 Hz, 1H), 7.67(d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 7.50(dd, *J* = 6.3、1.6 Hz, 1H), 7.45(d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 7.07(s, 1H), 7.03

(d, *J* = 6.4 Hz, 2H), 6.86(d, *J* = 4.7 Hz, 1H), 6.81(d, *J* = 6.2 Hz, 1H), 5.32(d, *J* = 3.6 Hz, 1H), 4.95(dd, *J* = 10.4、5.9 Hz, 1H), 3.95(s, 1H), 3.85(td, *J* = 3.7、0.9 Hz, 2H); ¹³C NMR (101MHz, CDCl₃) δ: 177.05, 167.39, 163.90, 162.18, 158.74, 149.14, 149.08, 148.72, 147.27, 144.71, 137.87, 137.62, 132.88, 132.21, 130.51, 127.12, 126.20, 125.90, 125.63, 125.35, 123.83, 117.32, 114.31, 113.99, 112.59, 100.89, 100.00, 94.36, 76.53, 76.09, 68.29; ESI-MS *m/z*: 597.4 [M+H]⁺。

11-(2-(4-甲氧基苯基)-苯并噻唑基-2,3-脱氢水飞蓟宾(**II₇**): 淡黄色固体, 产率 31.19%, 熔点 159.4~161.6 °C。¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.06(s, 1H), 10.94(s, 1H), 8.95(s, 1H), 8.04(dd, *J* = 13.6、3.7 Hz, 2H), 7.70(d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 7.68(d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 7.22~7.16(m, 2H), 7.00~6.95(m, 2H), 6.86(dd, *J* = 3.0、1.8 Hz, 2H), 5.61(d, *J* = 1.3 Hz, 1H), 5.47(d, *J* = 1.4 Hz, 1H), 4.94(d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 4.39~4.34(m, 1H), 4.08(d, *J* = 9.3 Hz, 1H), 3.93(d, *J* = 12.7 Hz, 2H), 3.77(s, 3H); ¹³C NMR (101MHz, CDCl₃) δ: 177.02, 168.40, 164.47, 162.52, 161.72, 158.80, 150.62, 149.07, 148.82, 146.68, 138.04, 137.98, 132.19, 130.16, 130.14, 126.08, 125.59, 123.70, 123.52, 117.19, 115.25, 115.21, 114.26, 113.29, 112.46, 101.99, 99.94, 97.50, 76.59, 76.15, 68.83, 57.25; ESI-MS *m/z*: 583.4 [M+H]⁺。

11-(2-(4-氯苯基)-苯并噻唑基-2,3-脱氢水飞蓟宾(**II₈**): 淡黄色固体, 产率 29.19%, 熔点 206.3~210.4 °C。¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.74(s, 1H), 10.82(s, 1H), 9.05(s, 1H), 8.05(s, 1H), 8.02(dd, *J* = 6.2、1.6 Hz, 1H), 7.91(d, *J* = 3.9 Hz, 1H), 7.88(d, *J* = 3.9 Hz, 1H), 7.74~7.68(m, 1H), 7.68~7.62(m, 1H), 7.22(d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 7.13(s, 1H), 7.12~7.07(m, 2H), 6.93(d, *J* = 4.7 Hz, 1H), 6.87(d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 5.38(d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 4.68(dt, *J* = 4.6、2.2 Hz, 1H), 4.01(s, 1H), 3.93(dd, *J* = 12.1、6.4 Hz, 2H); ¹³C NMR (101MHz, CDCl₃) δ: 176.83, 168.19, 164.46, 162.25, 158.79, 150.00, 149.06, 148.81, 146.67, 138.93, 138.03, 137.97, 132.18, 131.17, 131.12, 130.58, 130.55, 126.93, 126.07, 125.58, 123.69, 117.18, 114.25, 113.28,

112.45, 101.47, 100.04, 97.97, 76.58, 76.14, 68.47;ESI-MS m/z :587.2 [M+H]⁺。

11-(2-呋喃基-苯并噁唑基-2,3-脱氢水飞蓟宾(**II₉**):淡黄色固体,产率 32.86%,熔点 196.4~199.1℃。¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.16 (s,1H), 9.57 (s, 1H), 8.97 (s, 1H), 7.50 (d, *J* = 3.3Hz, 1H), 7.47~7.39 (m, 1H), 7.27 (dd, *J* = 6.3、1.6Hz, 1H), 7.22 (d, *J* = 1.6Hz, 1H), 6.97 (dd, *J* = 13.8、5.3Hz, 1H), 6.90 (dd, *J* = 12.4、4.3Hz, 1H), 6.83 (d, *J* = 6.3Hz, 1H), 6.80 (d, *J* = 2.0Hz, 2H), 6.64 (d, *J* = 6.1Hz, 1H), 6.58 (d, *J* = 6.0Hz, 1H), 5.12 (d, *J* = 15.7Hz, 1H), 4.72 (dd, *J* = 10.8、5.5Hz, 1H), 4.10 (d, *J* = 1.7Hz, 1H), 4.06~4.01 (m, 2H);¹³C NMR (101MHz, CDCl₃) δ: 177.59, 169.57, 164.41, 162.71, 158.74, 149.28, 149.01, 148.76, 146.63, 144.84, 143.45, 137.98, 137.92, 132.13, 126.03, 125.53, 123.64, 117.33, 116.67, 114.41, 113.51, 113.24, 112.70, 102.72, 100.37, 96.43, 76.53, 76.09, 60.53。

11-(2-(3-甲氧基-4-羟基苯基)-苯并噁唑基-2,3-脱氢水飞蓟宾(**II₁₀**):淡黄色固体,产率 34.55%,熔点 205.7~207.9℃。¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.05 (s, 1H), 10.97 (s, 1H), 9.44 (s, 1H), 9.15 (s, 1H), 7.69 (d, *J* = 1.7Hz, 1H), 7.67 (d, *J* = 1.7Hz, 1H), 7.45 (s, 1H), 7.14 (d, *J* = 1.4Hz, 1H), 7.01 (d, *J* = 8.3Hz, 3H), 6.85 (d, *J* = 6.7Hz, 2H), 5.66~5.41 (m, 1H), 5.40~5.17 (m, 1H), 4.92 (dd, *J* = 14.2、5.7Hz, 1H), 4.49 (d, *J* = 17.7Hz, 1H), 4.07 (d, *J* = 9.2Hz, 1H), 3.94~3.87 (m, 2H), 3.76 (s, 3H);¹³C NMR (101MHz, CDCl₃) δ: 177.11, 167.43, 163.11, 162.22, 158.77, 151.40, 150.35, 149.79, 149.16, 148.76, 147.31, 138.35, 137.91, 132.25, 125.94, 125.38, 125.11, 123.86, 120.03, 117.36, 116.13, 114.34, 114.03, 112.62, 111.06, 101.33, 99.06, 95.50, 76.57, 76.13, 68.37, 60.37;ESI-MS m/z :598.1 [M+H]⁺。

1.3 体外活性实验

本文以 Afatinib 和 Lapatinib 为阳性对照药,选用人乳腺癌细胞 MCF-7 和人胃癌细胞 SGC-7901,采用 MTT 法对目标化合物进行体外抗肿瘤活性测试。将生长至对数生长期的 MCF-7 和 SGC-7901 两种细胞消化、离心,制成细胞悬液,以 100μL 每孔接种到 96 孔板中,置于 37℃、质量分

数 5% CO₂ 恒温箱中培养,培养 24h。将目标化合物的测试药液依次稀释成 5 个浓度梯度的剂量组,药物的质量浓度分别为 10、5、2.5、1、0.5 μmol/L。取各个剂量的药液加入 20μL 96 孔板中,每剂量 3 个复孔,加药完毕放入培养箱中孵育 48h。48h 后弃培养液,每孔加入 20μL (1mg/mL) MTT 溶液,37℃继续培养 4h,离心弃去上清液,每孔加入 60μL DMSO 振荡溶解甲臞颗粒。在酶联免疫检测仪波长为 490nm 下测定各孔光密度值 (OD),计算目标化合物对细胞的抑制率和 IC₅₀ 值。试验重复 3 次,结果取平均值。

抑制率% =
$$\frac{\text{对照组平均 OD 值}-\text{实验组平均 OD 值}}{\text{对照组平均 OD 值}-\text{空白组平均 OD 值}} \times 100\%$$

2 结果与讨论

2.1 生物活性评价

以 Afatinib 和 Lapatinib 作为阳性对照药,采用 MTT 法对合成的目标化合物进行体外抗肿瘤活性测试,试验结果(表 1)显示目标化合物对两种肿瘤细胞的抑制活性均高于水飞蓟宾。

表 1 目标化合物对 MCF-7 和 SGC-7901 细胞增殖的抑制活性
Tab.1 Inhibitory activities of synthesized derivatives on the proliferation of MCF-7 and SGC-7901 cells

Compd	Inhibition rate/%		IC ₅₀ /(μmol·L ⁻¹)	
	MCF-7	SGC-7901	MCF-7	SGC-7901
Silybin	14.3	21.3	>50	>50
II₁	40.1	36.4	24.3	30.5
II₂	41.2	40.5	20.9	22.1
II₃	60.1	47.6	11.7	16.8
II₄	36.7	37.5	30.6	26.0
II₅	31.4	30.6	>50	48.7
II₆	29.6	19.6	>50	>50
II₇	44.6	40.9	20.4	21.6
II₈	37.5	38.9	29.8	25.3
II₉	62.3	51.7	9.8	15.2
II₁₀	48.3	45.8	16.5	19.3
Afatinib	66.3	63.7	6.9	9.2
Lapatinib	65.3	59.6	7.6	13.2

2.2 分子对接

Maestro Schrodinger 软件能够预测和计算蛋白质与配体相互作用和能量,通过函数打分将结果通过数值直观表达,通常配体与受体结合能越低,结合的构象越稳定,结合能<0 表明配体分子能够与受体蛋白自发结合。本文以 HER2 蛋白的三维结构 (PDB: 6OP9) 为靶点,利用 Docking score 功能对所合成的衍生物(即目标化合物)进

行评分,目标化合物与靶蛋白的结合能评分见表 2。

表 2 水飞蓟宾衍生物与 HER2 靶点蛋白的结合能
Tab.2 Binding energy of silybin derivatives to HER2

target proteins			
化合物	Docking score	化合物	Docking score
II ₁	-7.757	II ₆	-7.339
II ₂	-8.611	II ₇	-9.303
II ₃	-10.452	II ₈	-7.569
II ₄	-7.521	II ₉	-11.175
II ₅	-7.523	II ₁₀	-7.699
Silybin	-9.691	Afatinib	-9.432

Discovery Studio4.5 能直观分析化合物与靶点蛋白的结合情况。通过计算机分子对接模拟分析得分较高的目标化合物 II₃、II₉ 与 HER2 靶蛋白(PDB: 6OP9)的结合方式,如图 1、图 2 所示。在水飞蓟宾母核 E 环结构修饰引入药效团后,化合物 II₃ 与 HER2 靶蛋白的关键氨基酸 CYS721、THR768、GLN769 通过氢键结合,与氨基酸残基 LEU755、LEU822、VAL704 等通过疏水键结合;化合物 II₉ 与 HER2 靶蛋白的关键氨基酸 LEU696、THR768、GLN769、LEU771、ASP833 通过氢键结合,与氨基酸残基 ALA832、VAL836、LEU766 等

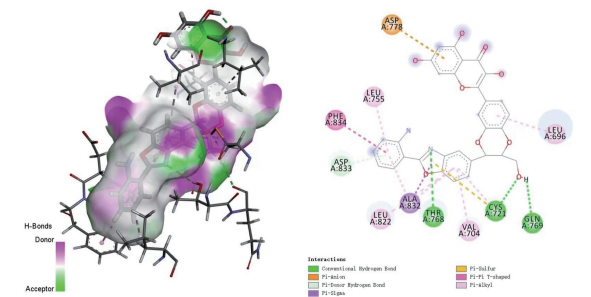


图 1 化合物 II₃ 与 HER2 蛋白相互作用呈现的构象
Fig.1 Conformation of compound II₃ interacting with HER2 protein

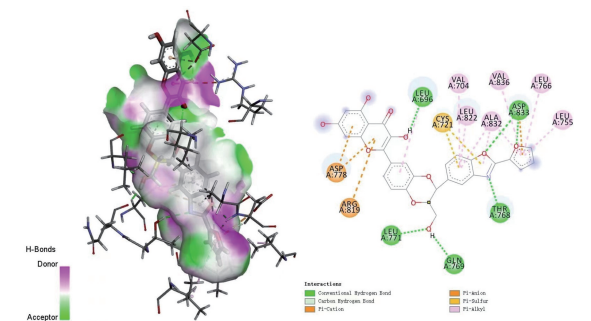


图 2 化合物 II₉ 与 HER2 蛋白相互作用呈现的构象
Fig.2 Conformation of compound II₉ interacting with HER2 protein

通过疏水键结合。化合物 II₃、II₉ 与 GLN769 等氨基酸的氢键相互作用可能增加了它们的结合特异性。分子对接结果验证了化合物与靶蛋白的结合稳定性。

3 结论

以水飞蓟宾为先导化合物,在其 E 环引入噁唑环最终得到 10 个新型水飞蓟宾衍生物。其结构经¹H NMR、¹³C NMR 和 MS 所确证。体外抗肿瘤活性试验显示目标化合物对人乳腺癌细胞 MCF-7 和人胃癌细胞 SGC-7901 均表现出较好的增殖抑制活性,说明水飞蓟宾 E 环引入噁唑环可明显提高抗肿瘤活性。利用计算机辅助药物设计方法分析已知抗肿瘤靶点 HER2 蛋白和目标化合物的相互作用,结果显示目标化合物能够与 HER2 蛋白的一些氨基酸紧密连接,验证了设计的合理性。这对水飞蓟宾衍生物的进一步结构设计、优化和药理活性研究具有一定的指导意义,为今后研究和开发高效、低毒的抗肿瘤药物打下良好的基础。

参 考 文 献

[1] Biedermann D, Vavrikova E, Cvak L, et al. Nat. Prod. Rep. , 2014, 31(9) : 1138~1157.

[2] Zhang Z, Meng Y, Wang Z, et al. ACS Omega, 2022, 7(4) : 3812~3822.

[3] Wadhwa K, Pahwa R, Kumar M, et al. Molecules, 2022, 27(16) : 5327.

[4] Lah J J, Cui W, Hu K Q. World J. Gastroenterol. , 2007, 13(40) : 5299~5305.

[5] Deep G, Gangar S C, Rajamanickam S, et al. PLoS One, 2012, 7(4) : e34630.

[6] Verdura S, Cuyàs E, Ruiz-Torres V, et al. Pharmaceuticals (Basel), 2021, 14(6) : 559.

[7] Lu S, Zhang Z, Chen M, et al. Oncol. Lett. , 2017, 14(6) : 7577~7582.

[8] Binienda A, Ziolkowska S, Pluciennik E. Anticancer Agents Med. Chem. , 2020, 20(15) : 1787~1796.

[9] Zeng J, Sun Y, Wu K, et al. Mol. Cancer Ther. , 2011, 10(1) : 104~116.

[10] 王红军,姜媛媛,路平,等. 药学报, 2010, 45(04) : 413~421.

[11] Natali P G, Nicotra M R, Bigotti A, et al. Int. J. Cancer, 1990, 45(3) : 457~461.

[12] Wang X, Batty K M, Crowe P J, et al. Front. Oncol. , 2015, 5: 00002.

[13] Graus-Porta D, Beerli R R, Daly J M, et al. EMBO J. , 1997, 16(7) : 1647~1655.

参 考 文 献

[1] Lane C A , Hardy J , Schott J M . Eur. J. Neurol. , 2018 , 25 (1) : 59~70.

[2] Bertram L , Tanzi R E . Brain Pathol. , 2020 , 30 (5) : 966~977.

[3] Roberson M R , Harrell L E . Brain Res. Rev. , 1997 , 25 (1) : 50~69.

[4] Bartus R T , Dean L D , Beer B , et al . Science , 1982 , 217 (4558) : 408~414.

[5] Dunnett S B , Fobiger H C . Prog. Brain Res. , 1993 , 98 : 413~420.

[6] Schneider L S . Dialogues Clin. Neurosci. , 2000 , 2 (2) : 111~128.

[7] Aranda-Abreu G E . Clin. Interv. Aging , 2011 , 6 : 53~59.

[8] Barteselli A , Parapini S , Basilico N , et al . Bioorg. Med. Chem. , 2014 , 22 (21) : 5757~5765.

[9] Singh K , Kaur H , Smith P , et al . J. Med. Chem. , 2014 , 57 (2) : 435~448.

[10] Desai N C , Kotadiya G M , Trivedi A R . Bioorg. Med. Chem. Lett. , 2014 , 24 (14) : 3126~3130.

[11] Chen M , Chen H , Ma J W , et al . Bioorg. Med. Chem. Lett. , 2014 , 24 (13) : 2867~2870.

[12] Joshi M C , Wicht K J , Taylor D , et al . Eur. J. Med. Chem. , 2013 , 69 : 338~347.

[13] Zhang Y , Fang Y L , Liang H , et al . Bioorg. Med. Chem. Lett. , 2013 , 23 (1) : 107~111.

[14] Yu X , Yang W D , Huang L , et al . Heterocycles , 2020 , 100 (8) : 1163~1171.

[15] Yu X , Zhao Y F , Huang G J , et al . J. Asian Nat. Prod. Res. , 2021 , 23 (9) : 866~876.

(上接第 1262 页)

[7] Yang Z , Song Y W , Zhang C F , et al . Adv. Energy Mater. , 2021 , 11 (33) : 2101197.

[8] Yang Z , Zhang D , Wang K , et al . Nano Today , 2022 , 46 : 101588.

[9] 何珺 . 化学试剂 , 2022 , 44 (5) : 744~754.

[10] He J , Wang N , Cui Z , et al . Nat. Commun. , 2017 , 8 (1) : 1172.

[11] Yang Z , Zhang C F , Hou Z F , et al . J. Mater. Chem. A , 2019 , 7 (18) : 11186~11194.

[12] Matsuoka R , Sakamoto R , Hoshiko K , et al . J. Am. Chem. Soc. , 2017 , 139 (8) : 3145~3152.

[13] Kan X , Ban Y , Wu C , et al . ACS Appl. Mater. Interf. , 2018 , 10 (1) : 53~58.

[14] Song Y , Li X , Yang Z , et al . Chem. Commun. , 2019 , 55 (46) : 6571~6574.

[15] Yang Z , Ren X , Ma X. D , et al . Mater. Chem. Front. , 2021 , 5 (22) : 7993~8001.

[16] Yang Z , Liu R , Wang N , et al . Carbon , 2018 , 137 : 442~450.

[17] Zhang S Q , Wang J Y , Li Z Z , et al . J. Phys. Chem. C , 2016 , 120 (19) : 10605~10613.

[18] Yang Z , Shen X , Wang N , et al . ACS Appl. Mater. Interf. , 2019 , 11 (3) : 2608~2617.

[19] Zhang S L , He J J , Zheng J , et al . J. Mater. Chem. A , 2017 , 5 (5) : 2045~2051.

(上接第 1268 页)

[14] Dhritlahre R K , Saneja A . Drug Discov. Today , 2021 , 26 (5) : 1319~1329.

[15] Djodari-Irani A , Klein J , Banzhaf J , et al . Behav. Brain Res. , 2011 , 219 (1) : 149~158.

[16] Kumar D , Jacob M R , Reynolds M B , et al . Bioorg. Med. Chem. , 2002 , 10 (12) : 3997~4004.

[17] Trouillas P , Marsal P , Svobodová A , et al . J. Phys. Chem. A , 2008 , 112 (5) : 1054~1063.

[18] El-Ghobashy N M , El-Sayed S M , Shehata I A , et al . Sci. Rep. , 2022 , 12 (1) : 16246.