

DOI:10.3969/j.issn.2096-8248.2024.04.007

补骨脂酚衍生物的合成、表征及其抗肿瘤活性研究*

李瑞¹, 丁亚敏¹, 侯啸¹, 薛轩熠¹, 丁刚², 史大华¹

(1. 江苏海洋大学药学院, 江苏连云港 222005; 2. 中国医学科学院北京协和医学院药用植物开发研究所, 北京 100193)

摘要: 补骨脂酚是一种具抗肿瘤活性的天然产物。以补骨脂酚为先导化合物, 设计合成了 4 个补骨脂酚-1,3,5-三嗪衍生物, 并用¹H-NMR, ¹³C-NMR, IR, HRMS 对其结构进行了表征。采用 MTT 法测定了这些化合物对 Panc-1(胰腺癌细胞)的抗增殖活性, 数据显示, 在 100 μmol/L 的浓度下 4 个化合物对胰腺癌细胞增殖均具有一定的抑制活性。其中, 4,6-双(4-((E)-3,7-二甲基-3-乙烯基辛-1,6-二烯-1-基)苯氧基)-N,N-二丙基-1,3,5-三嗪-2-胺(**4a**)的活性最好, 其抑制 Panc-1 增殖的 IC₅₀ 为 95.59 μmol/L。分子对接显示, **4a** 能与血管内皮生长因子受体(VEGFR)的活性中心结合, 该化合物补骨脂酚基团的酚羟基上的氧原子可以与 VEGFR 活性中心的 ASN923 残基通过氢键相互作用。ADMET 预测显示 **4a** 的脂溶性优于补骨脂酚。因此, 化合物 **4a** 为后续研究提供了坚实的实验基础。展望未来, 可以深入探索该系列化合物的抗菌、抗炎、抗氧化等多重生物活性, 以期在药物研发领域注入更多创新理念, 为人类的健康事业贡献力量。

关键词: 补骨脂酚衍生物; 抗肿瘤活性; 合成; 表征

中图分类号: R914

文献标志码: A

文章编号: 2096-8248(2024)04-0051-08

引用格式: 李瑞, 丁亚敏, 侯啸, 等. 补骨脂酚衍生物的合成、表征及其抗肿瘤活性研究[J]. 江苏海洋大学学报(自然科学版), 2024, 33(4): 51-58.

Synthesis, Characterization and Anti-tumor Activity of Bakuchiol Derivatives

LI Rui¹, DING Yamin¹, HOU Xiao¹, XUE Xuanyi¹, DING Gang², SHI Dahua¹

(1. School of Pharmacy, Jiangsu Ocean University, Lianyungang 222005, China; 2. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China)

Abstract: Bakuchiol was a natural product which possess the anti-tumor activity. In order to discover new anti-cancer agents, four bakuchiol-1,3,5-triazine derivatives were designed and synthesized. The structures of the four bakuchiol-1,3,5-triazine derivatives were characterized by ¹H-NMR, ¹³C-NMR, IR and HRMS. The anti-proliferation activities of these compounds on Panc-1 (pancreatic cancer cell) were determined by MTT assay. The data showed that all compounds had certain inhibitory activities on the proliferation of Panc-1 cells at the concentration of 100 μmol/L. Among them, 4,6-bis(4-((E)-3,7-dimethyl-3-vinylocta-1,6-dien-1-yl)phenoxy)-N,N-dipropyl-1,3,5-triazin-2-amine (**4a**) had the best anti-tumor activity, with an IC₅₀ of 95.59 μmol/L. Molecular docking showed that **4a** could bind to the active center of vascular endothelial growth factor receptor (VEGFR), and the oxygen atom on the phenolic hydroxyl group of the compound bakuchiol could interact with the ASN923 residue of the active center of VEGFR

* 收稿日期: 2024-01-14; 修订日期: 2024-05-06

作者简介: 李瑞(1996—), 女, 江苏连云港人, 硕士研究生, 研究方向为药物化学, (E-mail)1061887539@qq.com。

通信作者: 史大华(1977—), 男, 山东鱼台人, 教授, 博士, 研究方向为药物化学, (E-mail)shidahua@jou.edu.cn。

through hydrogen bonding. ADMET prediction showed that the fat solubility of **4a** was better than that of bakuchiol. Therefore, compound **4a** provided a solid experimental basis for subsequent studies. Looking forward to the future, people can further explore the antibacterial, anti-inflammatory, antioxidant and other multiple biological activities of this series of compounds, in order to inject more innovative ideas into the drug research and development field and contribute to human health.

Key words: bakuchiol derivatives; anti-tumor activity; synthesis; characterization

血管内皮生长因子(VEGF)作为众多人类癌症中的关键治疗靶点,对肿瘤血管生成具有显著的调控作用。VEGFR-2,即血管内皮细胞生长因子受体-2,是与血管生成紧密关联的受体,它主要介导了VEGF依赖性血管生成的整体过程,是抗癌治疗中的重要环节^[1]。VEGF配体与VEGFR-2的互作激活了系列生物学级联反应,有力促进新血管生成,成为肿瘤血管化过程中不可或缺的一环。通过抑制VEGFR-2的活性,能够有效破坏其介导的信号转导网络,进而遏制肿瘤新生血管的发育,这些血管是肿瘤获取营养与氧气的关键通道。此干预策略有望显著抑制肿瘤生长与转移,为肿瘤治疗开辟新途径^[2]。耐药性的涌现与现有抗癌药物副作用的加剧,推动了医药界对快速、精准研发更高效药物的迫切需求,以期在抗癌治疗领域取得突破性进展^[3]。化疗虽是治疗癌症的常规手段之一,但受限于药物种类,多数化疗药物均存在高毒性、高成本等弊端。因此,研发更高效、低毒的新型抗肿瘤药物成为迫切需求,以改善患者预后并降低治疗负担^[4-5]。天然产物因其独特的生物活性与安全性特点,已成为抗肿瘤药物研究的热点。其潜在的抗肿瘤作用,以及在正常细胞与癌细胞间展现的差异性效应,吸引了科研与临床界的广泛关注^[6]。尽管许多天然产物显示出一定的抗癌活性,但在临床应用中的疗效仍有所欠缺。然而,通过结构优化的策略,部分天然产物的衍生物已成功转化为疗效显著的抗肿瘤药物,为癌症治疗领域注入了新的活力与希望^[7]。

补骨脂酚是一种从补骨脂(豆科)种子中获得的酚类单萜化合物^[8]。它具有抗肿瘤、抗菌、抗炎等多种药理活性^[9-10]。这种天然产物能有效抑制多种人类癌细胞的增殖^[11-13]。但是药代动力学研究报告表明,补骨脂酚吸收差,生物利用度低^[14]。因此,进行深入的结构修饰和优化,改善其药代动力学性质,得到高效低毒的衍生物具有重要的研究意义。为了获

得更好的抗肿瘤药物,一些补骨脂酚衍生物被设计合成出来并进行活性评价^[5,11,15]。

1,3,5-三嗪(s-三嗪)是一种杂环结构,由于其低成本、高利用性和有效的生物活性(包括抗癌、抗病毒、杀真菌、杀虫、杀菌、除草、抗疟疾等作用)而引起了研究者的关注^[16]。据报道,一些1,3,5-三嗪衍生物具有抗肿瘤活性^[17-20]。课题组前期设计并合成了一系列具有抗肿瘤活性的1,3,5-三嗪和染料木黄酮杂化物。相对于核母体染料木黄酮,大多数染料木黄酮-1,3,5-三嗪衍生物表现出优越的抗肿瘤特性^[21]。在具有抗癌活性的1,3,5-三嗪衍生物研究的基础上,本文设计开发了一系列1,3,5-三嗪-补骨脂酚衍生物,介绍了1,3,5-三嗪-补骨脂酚衍生物的设计、合成、体外抗增殖活性,旨在探索其潜在抗肿瘤活性。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

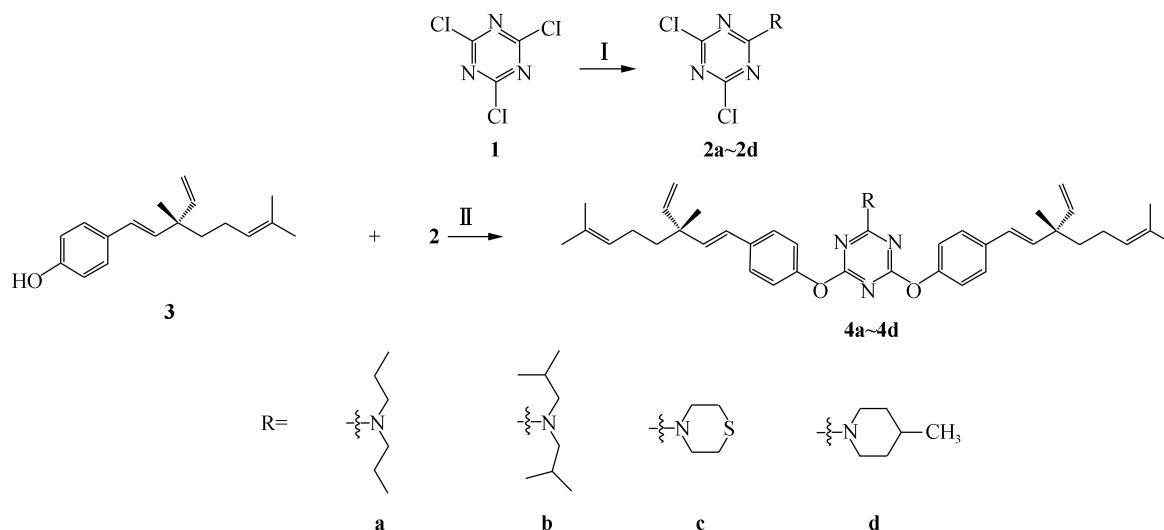
使用WRS-1B数字熔点仪器(未校正)测量熔点;使用AVANCE III 500 MHz液体核磁共振光谱仪(TMS为内标,德国Bruker)测量核磁共振谱;使用青岛海洋化学公司的硅胶(300~400目)薄层色谱硅胶板GF254纯化和检测化合物。

补骨脂酚(纯度95%,天然产物提纯),三聚氯氰(纯度99%,阿拉丁试剂),二丙胺(纯度99%,麦克林试剂),二异丁胺(纯度99%,麦克林试剂),硫代吗啉(纯度98%,毕得医药),4-甲基哌啶(纯度98%,麦克林试剂),DMEM细胞培养液(Gibco公司),胎牛血清(维百奥(北京)生物科技有限公司),胰蛋白酶(维百奥(北京)生物科技有限公司),MTT试剂(碧云天生物技术有限公司)。实验中其余试剂均为分析纯,购买自江苏安淮化工科技有限公司。癌细胞株:Panc-1胰腺癌细胞(实验室保存)。

1.2 试验方法

1.2.1 目标化合物的合成路线 目标化合物的合成路线如图1所示。三聚氯氰先与各种胺发生亲核

取代反应生成中间体 **2a~2d**, 中间体 **2a~2d** 与补骨脂酚在碳酸钾催化下 35 °C 反应 6 h 得到目标产物 **4a~4d**。



试剂与条件: (I) 丙酮, K_2CO_3 , $-10\text{ }^\circ\text{C}$, 1 h; (II) 丙酮, K_2CO_3 , KI, $35\text{ }^\circ\text{C}$, 6 h。

图1 化合物 **4a~4d** 的合成路线

Fig.1 Synthesis route of compound **4a—4d**

1.2.2 目标化合物的合成方法 (1) 2,4-二氯-6-(4-甲基哌啶-1-基)-1,3,5-三嗪 (**2a**) 的合成。三聚氯氰 1 g (5.4 mmol) 溶解在 10 mL 丙酮中, 加入 824 mg 碳酸钾。然后将二丙胺 820 μL 溶于 10 mL 丙酮中, 用恒压滴液漏斗缓慢滴加, 在 $-10\text{ }^\circ\text{C}$ 下反应 1 h。反应结束后将丙酮旋干, 并用乙酸乙酯和水萃取 3 次。取有机相旋干, 得到 1.15 g 白色固体 2,4-二氯-6-(4-甲基哌啶-1-基)-1,3,5-三嗪, 产率约为 85%。

(2) 4,6-二氯-*N,N*-二异丁基-1,3,5-三嗪-2-胺 (**2b**) 的合成。三聚氯氰 1 g (5.4 mmol) 溶解在 10 mL 丙酮中, 加入 824 mg 碳酸钾。然后将二异丁胺 1 030 μL 溶于 10 mL 丙酮中, 用恒压滴液漏斗缓慢滴加, 在 $-10\text{ }^\circ\text{C}$ 下反应 1 h。反应结束后将丙酮旋干, 并用乙酸乙酯和水萃取 3 次, 取有机相旋干, 得到 1.19 g 白色固体 4,6-二氯-*N,N*-二异丁基-1,3,5-三嗪-2-胺, 产率约为 79%。

(3) 4-(4,6-二氯-1,3,5-三嗪-2-基) 硫代吗啉 (**2c**) 的合成。三聚氯氰 1 g (5.4 mmol) 溶解在 10 mL 丙酮中, 加入 824 mg 碳酸钾, 然后将硫代吗啉 615 μL 溶于 10 mL 丙酮中, 用恒压滴液漏斗缓慢滴加, 在 $-10\text{ }^\circ\text{C}$ 下反应 1 h。反应结束后将丙酮旋干, 并用乙酸乙酯和水萃取 3 次, 取有机相旋干,

得到 1.13 g 淡黄色固体 4-(4,6-二氯-1,3,5-三嗪-2-基) 硫代吗啉, 产率约为 83%。

(4) 4,6-二氯-*N,N*-二丙基-1,3,5-三嗪-2-胺 (**2d**) 的合成。三聚氯氰 1 g (5.4 mmol) 溶解在 10 mL 丙酮中, 加入 824 mg 碳酸钾, 然后将 4-甲基哌啶 705 μL 溶于 10 mL 丙酮中, 用恒压滴液漏斗缓慢滴加, 在 $-10\text{ }^\circ\text{C}$ 下反应 1 h。反应结束后将丙酮旋干, 并用乙酸乙酯和水萃取 3 次, 取有机相旋干, 得到 1.17 g 白色固体 4,6-二氯-*N,N*-二丙基-1,3,5-三嗪-2-胺, 产率约为 87%。

(5) 4,6-双(4-((*E*)-3,7-二甲基-3-乙炔基辛-1,6-二烯-1-基) 苯氧基)-*N,N*-二丙基-1,3,5-三嗪-2-胺 (**4a**) 的合成。将上述得到的 **2a** 取 0.2 g 溶于 4 mL 丙酮溶液中, 再使用移液枪吸取补骨脂酚 (235 μL , 1.1 mmol) 加入烧瓶内, 再加入碳酸钾 (122 mg, 1.1 mmol) 和碘化钾 (146 mg, 1.1 mmol) 室温搅拌。反应结束后将丙酮旋干, 并用乙酸乙酯和水萃取 3 次, 取有机相旋干, 反应完成后, 将反应体系旋干, 柱层析后得到无色油状物 0.508 8 g, 产率为 92%。IR (KBr, cm^{-1}): 3 427, 2 966, 2 926, 1 576, 1 496, 1 385, 1 202, 1 077, 804; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3), δ : 7.37 (dd, $J = 14.1, 8.5$ Hz, 4H), 7.09 (dd, $J = 8.6, 3.9$ Hz, 4H), 6.32 (d, $J =$

16.2 Hz, 2H), 6.20(d, $J = 10.6$ Hz, 2H), 5.94~5.84(m, 2H), 5.11(t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 5.08~4.99(m, 4H), 3.48(d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 3.26(dd, $J = 8.6, 6.7$ Hz, 2H), 2.00~1.92(m, 4H), 1.68(s, 6H), 1.65~1.44(m, 14H), 1.21(s, 6H), 0.91(d, $J = 7.5$ Hz, 3H), 0.74(t, $J = 7.4$ Hz, 3H)。 ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3), δ : 172.5, 171.0, 170.5, 165.7, 151.0, 150.2, 145.7, 145.6, 138.8, 138.1, 136.4, 135.5, 131.4, 131.3, 127.2, 126.7, 126.4, 126.1, 124.7, 124.7, 121.7, 121.2, 112.2, 112.1, 49.5, 49.4, 42.7, 42.7, 41.3, 41.2, 29.7, 25.7, 23.4, 23.2, 20.8, 20.5, 17.6, 17.6, 11.2, 11.0。HRMS (ESI) m/z : 计算值 $\text{C}_{45}\text{H}_{60}\text{N}_4\text{O}_2$ ($[\text{M} + \text{H}]^+$) 为 689.478 9, 实测值为 689.478 7, 纯度为 96%。

(6) 4,6-双(4-((*E*)-3,7-二甲基-3-乙炔基辛-1,6-二烯-1-基)苯氧基)-*N,N*-二异丁基-1,3,5-三嗪-2-胺(**4b**)的合成。将上述得到的 **2b** 取 0.2 g 溶于 4 mL 丙酮溶液中,再使用移液枪吸取补骨脂酚(212 μL , 1.1 mmol)加入烧瓶内,再加入碳酸钾(109 mg, 1.1 mmol)和碘化钾(132 mg, 1.1 mmol)室温搅拌。反应结束后将丙酮旋干,并用乙酸乙酯和水萃取 3 次,取有机相旋干,柱层析后得到淡黄色油状物 0.450 5 g,产率为 89%。IR (KBr, cm^{-1}): 3 419, 2 964, 2 924, 1 590, 1 498, 1 374, 1 216, 1 065, 810; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3), δ : 7.38~7.33(m, 4H), 7.13~7.08(m, 4H), 6.32(d, $J = 16.2$ Hz, 2H), 6.15(d, $J = 16.2$ Hz, 2H), 5.89(dd, $J = 17.5, 10.7$ Hz, 2H), 5.12(m, $J = 7.2, 1.5$ Hz, 2H), 5.08~4.99(m, 4H), 3.16(d, $J = 7.4$ Hz, 4H), 2.00~1.93(m, 4H), 1.68(d, $J = 1.5$ Hz, 6H), 1.65(s, 2H), 1.59(d, $J = 1.3$ Hz, 6H), 1.54~1.49(m, 4H), 1.21(s, 6H), 0.75(s, 6H), 0.73(s, 6H)。 ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3), δ : 172.1, 167.2, 151.3, 145.8, 137.8, 135.2, 131.4, 126.7, 126.5, 125.8, 124.8, 122.0, 120.3, 119.4, 112.1, 110.6, 55.7, 42.7, 41.3, 26.9, 25.7, 23.4, 23.3, 20.1, 17.7。HRMS (ESI) m/z : 计算值 $\text{C}_{47}\text{H}_{64}\text{N}_4\text{O}_2$ ($[\text{M} + \text{H}]^+$) 为 717.510 2, 实测值为 717.511 2, 纯度为 98%。

(7) 4-(4,6-双(4-((*E*)-3,7-二甲基-3-乙炔基辛-1,6-二烯-1-基)苯氧基)-1,3,5-三嗪-2-基)硫代吗啉(**4c**)的合成。将上述得到的 **2c** 取 0.2 g 溶于 4 mL 丙酮溶液中,再使用移液枪吸取补骨脂酚

(233 μL , 1.1 mmol)加入烧瓶内,再加入碳酸钾(121 mg, 1.1 mmol)和碘化钾(145 mg, 1.1 mmol)室温搅拌。反应结束后将丙酮旋干,并用乙酸乙酯和水萃取 3 次,取有机相旋干,反应完成后,将反应体系旋干柱层析后得到无色油状物 0.511 8 g,产率为 93%。IR (KBr, cm^{-1}): 3 429, 2 966, 2 922, 1 588, 1 501, 1 376, 1 211, 1 068, 809; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3), δ : 7.37~7.31(m, 4H), 7.11~7.06(m, 4H), 6.31(d, $J = 16.3$ Hz, 2H), 6.17(d, $J = 16.2$ Hz, 2H), 5.91~5.84(m, 2H), 5.14~5.08(m, 2H), 5.08~4.99(m, 4H), 3.99~3.93(m, 4H), 2.61~2.52(m, 4H), 1.96(d, $J = 9.2$ Hz, 4H), 1.67(d, $J = 1.5$ Hz, 6H), 1.59(d, $J = 1.4$ Hz, 6H), 1.54~1.48(m, 4H), 1.21(s, 6H)。 ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3), δ : 172.4, 166.6, 151.0, 145.7, 138.0, 135.3, 131.4, 126.8, 126.4, 124.7, 121.7, 112.2, 46.4, 42.7, 41.2, 27.2, 25.7, 23.3, 23.2, 17.7。HRMS (ESI) m/z : 计算值 $\text{C}_{43}\text{H}_{54}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$ ($[\text{M} + \text{H}]^+$) 为 691.404 0, 实测值为 691.405 0, 纯度为 99%。

(8) 2,4-双(4-((*E*)-3,7-二甲基-3-乙炔基辛-1,6-二烯-1-基)苯氧基)-6-(4-甲基哌啶-1-基)-1,3,5-三嗪(**4d**)的合成。将上述得到的 **2d** 取 0.2 g 溶于 4 mL 丙酮溶液中,再使用移液枪吸取补骨脂酚(237 μL , 1.1 mmol)加入烧瓶内,再加入碳酸钾(123 mg, 1.1 mmol)和碘化钾(148 mg, 1.1 mmol)室温搅拌。反应结束后将丙酮旋干,并用乙酸乙酯和水萃取 3 次,取有机相旋干,反应完成后,将反应体系旋干柱层析后得到无色油状物 0.489 3 g,产率为 88%。IR (KBr, cm^{-1}): 3 425, 2 973, 2 922, 1 592, 1 501, 1 374, 1 214, 1 068, 809; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3), δ : 7.34(d, $J = 8.4$ Hz, 4H), 7.10(d, $J = 8.5$ Hz, 4H), 6.31(d, $J = 16.2$ Hz, 2H), 6.17(d, $J = 16.2$ Hz, 2H), 5.89(dd, $J = 17.5, 10.7$ Hz, 2H), 5.11(td, $J = 6.3, 3.5$ Hz, 2H), 5.08~5.00(m, 4H), 4.56~4.46(m, 2H), 2.77(td, $J = 12.9, 2.6$ Hz, 2H), 1.96(d, $J = 9.4$ Hz, 4H), 1.68(s, 6H), 1.65(s, 1H), 1.63(s, 1H), 1.59(s, 6H), 1.54~1.49(m, 4H), 1.28(d, $J = 14.3$ Hz, 1H), 1.21(s, 6H), 1.13~1.03(m, 2H), 0.93(d, $J = 6.2$ Hz, 3H)。 ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3), δ : 172.2, 166.2, 151.1, 145.7, 137.9, 135.1, 131.4, 126.8, 126.4, 124.7, 121.8, 112.1, 44.1, 42.7, 41.3, 33.9, 31.1, 25.7, 23.3, 23.3, 21.7, 17.7。

HRMS(ESI) m/z :计算值 $C_{45}H_{58}N_4O_2$ ($[M+H]^+$) 为 687.463 3,实测值为 687.463 4,纯度为 98%。

1.3 抗肿瘤活性

将 Panc-1 胰腺癌细胞用含有 10% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养基在含 5% CO_2 培养箱中 37 °C 培养。取对数生长期的 Panc-1 细胞,经胰酶消化后,用 10% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养基配成细胞悬液,以 1×10^4 个/孔的细胞密度接种于 96 孔板中,细胞培养箱中 37 °C 恒温培养 24 h。将原培养基更换为含有特定浓度化合物的培养基(化合物终浓度梯度为 400,200,100,50,25,12.5 $\mu\text{mol/L}$),空白对照孔加入含等体积溶酶的培养基,放入 37 °C 恒温培养箱中培养 24 h(每个药物浓度设置 3 个复孔)。培养结束后用移液器吸去培养基,每孔加入 10 μL MTT 溶液,继续培养 4 h,吸去 MTT 溶液后,每孔加入 100 μL DMSO 溶液。将 96 孔板放在摇床上低速振荡 10 min,使用酶标仪器在 490 nm 波长下检测每个孔的 OD 值,记录数据并计算化合物半数抑制浓度(IC_{50})。所有数据均进行 3 次独立重复实验。

1.4 数据统计分析

化合物抗肿瘤活性以及对胰腺癌细胞的 IC_{50} 值设置 3 个平行实验,数据值为 3 个平行样品的平均值 \pm 标准偏差。

1.5 分子对接研究

VEGFR 蛋白质序列来自蛋白质数据库(PDB ID:4AG8)。分子对接采用 Autodock Tool 软件^[22]。参照文献[1]报道的方法进行分子对接。

1.6 ADME 预测

通过 pk-CSM 在线服务器评估目标化合物的 ADME 性质^[23]。

2 结果与讨论

2.1 抗肿瘤活性

化合物抑制 Panc-1 胰腺癌细胞的效果如图 2 所示。合成的 4 个化合物在 100 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下对 Panc-1 胰腺癌细胞增殖均具有抑制作用。其中化合物 4a 和 4c 的抑制活性较好。这两个化合物对 Panc-1 胰腺癌细胞增殖的抑制率分别是 55% 和 57%。这两个化合物对 Panc-1 胰腺癌细胞增殖具有剂量依赖关系,随着化合物浓度的增加,两个化合物对 Panc-1 胰腺癌细胞增殖的抑制作用增加(见图 3)。化合物 4a 和 4c 抑制 Panc-1 胰腺癌细胞增殖

的 IC_{50} 分别为 $(95.59 \pm 1.14) \mu\text{mol/L}$ 和 $(98.67 \pm 0.09) \mu\text{mol/L}$ 。

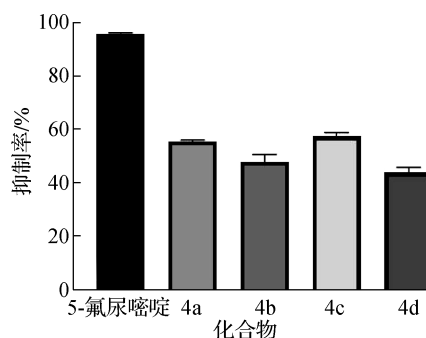
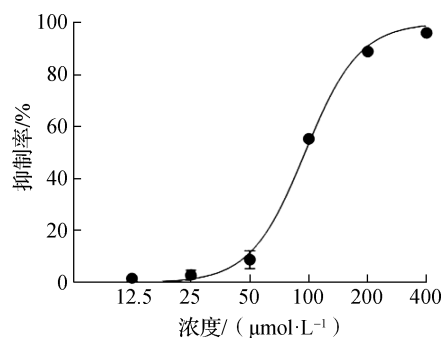
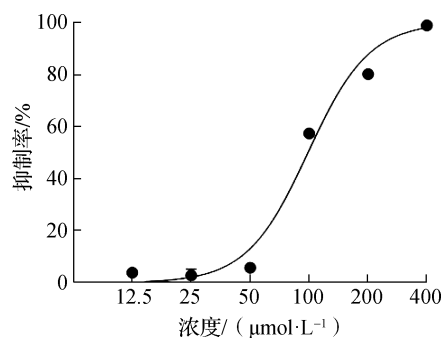


图 2 化合物在 100 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下的抗癌活性初筛结果
Fig. 2 Preliminary screening results of anti-tumor activity of compounds at a concentration of 100 $\mu\text{mol/L}$



a 化合物 4a



b 化合物 4c

图 3 化合物 4a 和 4c 对 Panc-1 胰腺癌细胞增殖抑制曲线

Fig. 3 Inhibitory curves of compounds 4a and 4c on the proliferation of Panc-1 pancreatic cancer cells

2.2 分子对接结果

VEGFR 在超过 90% 的胰腺癌中高表达,参与多种血管生成过程,包括血管渗透、内皮细胞增殖、迁移和生存。为了探究化合物 4a 与 VEGFR 可能

的结合模式,使用 AutoDockTools-1.5.6 对 **4a** 与 VEGFR(PDB ID:4AG8)进行了分子对接研究。首先使用 pymol 软件对蛋白进行除水和去离子操作;接着,使用 AutoDock 的 Edit 模块对蛋白进行加氢和加电荷操作;然后在 gridbox 中框选疏水结合口袋;最后选择 Genetic Algorithm 算法,确定对接次

数为 50 次并进行对接。对接结果表明,化合物 **4a** 的—O—与 VEGFR 上的氨基酸残基 ASN-923 之间产生了氢键作用。化合物 **4a** 与 VEGFR 的疏水口袋紧密结合,结合能为 -38.6023 kJ/mol。说明化合物 **4a** 与 VEGFR 具有较强的相互作用,VEGFR 可能是化合物 **4a** 的作用靶点(见图 4)。

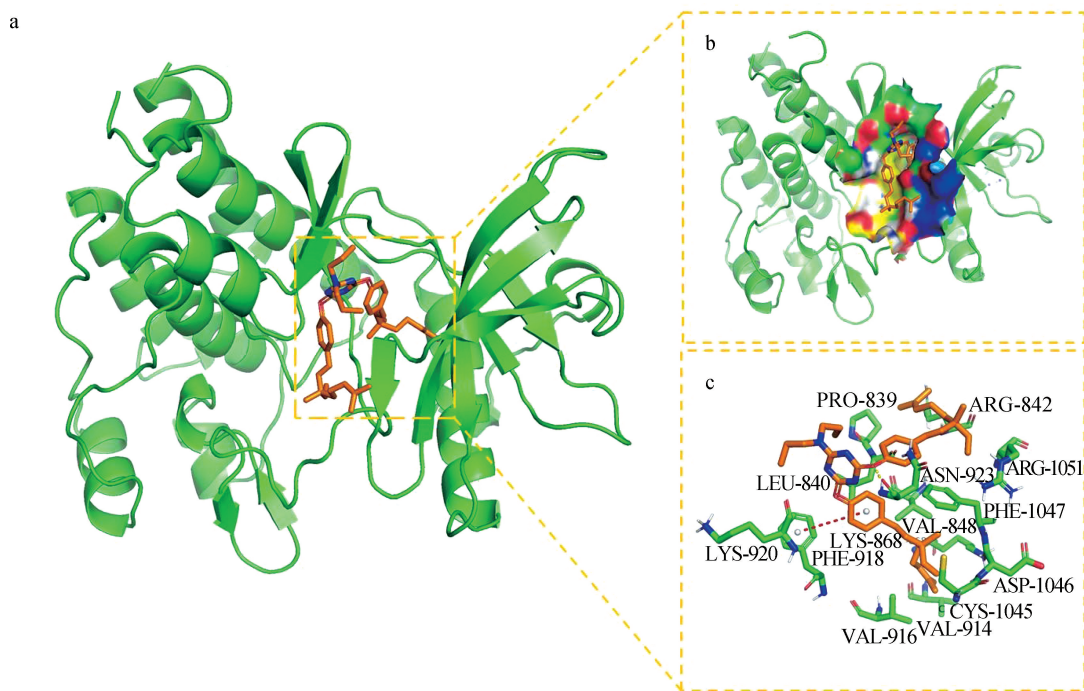


图 4 化合物 **4a** 与 VEGFR 的分子对接

Fig. 4 Molecular docking of compound **4a** with VEGFR

2.3 ADMET 预测结果

通过 pk-CSM 在线服务器预测了补骨脂酚衍生物和母体化合物的 ADMET 性质。预测结果如表 1 所示,补骨脂酚-1,3,5-三嗪衍生物的 $\log P$ 值的范围为 11.913 2~13.478 4。很明显,与补骨脂酚相比,这些衍生物表现出显著提高的脂溶性($\log P = 5.344 1$)^[24]。

在化合物的设计流程中,毒性预测扮演着重要的角色^[25]。评估新化合物时,理想的生物活性与低毒性是其关键的质量指标。根据表 2 中目标化合物的毒性预测结果可知,所有目标化合物均不显示 ADMET 毒性,且与母核补骨脂酚相比,无皮肤致敏效应,该结果为目标化合物进一步的临床应用提供了安全保障。

表 1 目标化合物的类药性分析

Table 1 Drug-likeness analysis of target compounds

化合物	分子量	$\log P$	氢键供体数	氢键受体数	可旋转键数
4a	689.001	12.986 4	0	6	21
4b	717.055	13.478 4	0	6	21
4c	690.998	11.913 2	0	7	17
4d	686.985	12.596 3	0	6	17
补骨脂酚	256.389	5.344 1	1	1	6
1,3,5-三嗪	184.413	1.831 8	0	3	0

表 2 目标化合物的毒性预测

Table 2 Toxicity prediction of target compounds

化合物	AMES 毒性	hERG I 抑制剂	hERG II 抑制剂	LD ₅₀	皮肤致敏
4a	No	No	Yes	1.932	No
4b	No	No	Yes	1.977	No
4c	No	No	No	2.293	No
4d	No	No	Yes	2.111	No
补骨脂酚	No	No	Yes	2.228	Yes
1,3,5-三嗪	No	No	No	2.895	No

3 结论

以三聚氯氰和补骨脂酚为原料,通过亲核取代反应合成了4个新的补骨脂酚-1,3,5-三嗪衍生物,用 ^1H NMR, ^{13}C NMR, IR, HRMS对其结构进行了表征。MTT法检测结果表明,4个补骨脂酚衍生物对胰腺癌Panc-1细胞有抗增殖活性。其中,化合物**4a**的活性最好,在 $100\ \mu\text{mol/L}$ 浓度下,其抑制Panc-1增殖的 IC_{50} 为 $95.59\ \mu\text{mol/L}$ 。该化合物能通过氢键与血管内皮生长因子受体(VEGFR)的活性中心ASN923相互作用。合成的补骨脂酚衍生物具有比补骨脂酚更好的脂溶性。在今后的研究中将以化合物**4a**为先导化合物,进一步优化其结构,提高其抗肿瘤活性。

参考文献:

- [1] ABDULLAHI S H, MOIN A T, UZAIRU A, et al. Molecular docking studies of some benzoxazole and benzothiazole derivatives as VEGFR-2 target inhibitors: in silico design, MD simulation, pharmacokinetics and DFT studies[J]. *Intelligent Pharmacy*, 2024, 2(2): 232-250.
- [2] NIU Gang, CHEN Xiaoyuan. Vascular endothelial growth factor as an anti-angiogenic target for cancer therapy[J]. *Current Drug Targets*, 2010, 11(8): 1000-1017.
- [3] ABDULLAHI S H, UZAIRU A, DANAZUMI A U, et al. Computational design of quinoxaline molecules as VEGFR-2 inhibitors: QSAR modelling, pharmacokinetics, molecular docking, and dynamics simulation studies[J]. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2023, 51: 102787.
- [4] TOMOROWICZ Ł, SŁAWIŃSKI J, ŻOŁNOWSKA B, et al. Synthesis, antitumor evaluation, molecular modeling and quantitative structure-activity relationship (QSAR) of novel 2-[(4-Amino-6-N-substituted-1,3,5-triazin-2-yl) methylthio]-4-chloro-5-methyl-N-(1 H-benzo [d] imidazol-2 (3 H)-ylidene) benzene-sulfonamides[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(8): 2924.
- [5] GUPTA N, SHARMA S, RAINA A, et al. Synthesis of novel mannich derivatives of bakuchiol as apoptotic inducer through caspase activation and PARP-1 cleavage in A549 cells[J]. *ChemistrySelect*, 2017, 2(18): 5196-5201.
- [6] GARG M, SHANMUGAM M K, BHARDWAJ V, et al. The pleiotropic role of transcription factor STAT3 in oncogenesis and its targeting through natural products for cancer prevention and therapy[J]. *Medicinal Research Reviews*, 2021, 41(3): 1291-1336.
- [7] GUO Meng, JIN Jie, ZHAO Dong, et al. Research advances on anti-cancer natural products[J]. *Frontiers in Oncology*, 2022, 12: 866154.
- [8] ZOU Deng. Bakuchiol reduces the severity of Mycoplasma pneumoniae-induced pneumonia in mice by attenuating inflammatory responses[J]. *Arabian Journal of Chemistry*, 2023, 16(10): 105172.
- [9] MAJEED R, REDDY M V, CHINTHAKINDI P K, et al. Bakuchiol derivatives as novel and potent cytotoxic agents: a report[J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2012, 49(3): 55-67.
- [10] LI Hongxia, LIU Jiayong, LIU Chuanfa, et al. Design, synthesis, and biological evaluation of membrane-active bakuchiol derivatives as effective broad-spectrum antibacterial agents[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2021, 64(9): 5603-5619.
- [11] GUPTA N, SHARMA S, RAINA A, et al. Synthesis and anti-proliferative evaluation of novel 3,4-dihydro-2 H-1, 3-oxazine derivatives of bakuchiol[J]. *RSC Advances*, 2016, 6(108): 106150-106159.
- [12] GUPTA N, SANGWAN P L, SHANKAR R, et al. Recent advances in the chemistry and biology of bakuchiol and its derivatives: an updated review[J]. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)*, 2023, 23(7): 747-764.
- [13] CHOPRA B, DHINGRA A K, GREWAL A S, et al. Bakuchiol: a potential anticancer compound from psoralea corylifolia linn [J]. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)*, 2023, 23(9): 989-998.
- [14] WANG Peile, ZHANG Fengxia, QIU Zuo Cheng, et al. Isolation and identification of metabolites of bakuchiol in rats[J]. *Fitoterapia*, 2016, 109: 31-38.
- [15] KRISHNA T A, EDACHERY B, ATHALATHIL S. Bakuchiol-a natural meroterpenoid: structure, isolation, synthesis and functionalization approaches [J]. *RSC Advances*, 2022, 12(14): 8815-8832.
- [16] MALISZEWSKI D, DROZDOWSKA D. Recent advances in the biological activity of s-triazine core compounds[J]. *Pharmaceuticals*, 2022, 15(2): 221.
- [17] VELIHINA E S, OBERNIKHINA N V, PILYO S G, et al. Synthesis, electronic structure and anti-cancer activity of the phenyl substituted pyrazolo [1,

- 5-a][1,3,5] triazines[J]. *Current Organic Chemistry*, 2021, 25(12): 1441-1454.
- [18] SUN Xin, ZHANG Binliang, LUO Leixuan, et al. Design, synthesis and pharmacological evaluation of 2-ary-lurea-1, 3, 5-triazine derivative (XIN-9): a novel potent dual PI3K/mTOR inhibitor for cancer therapy [J]. *Bioorganic Chemistry*, 2022, 129: 106157.
- [19] RAGHU M, KUMAR C P, PRASHANTH M, et al. Novel 1, 3, 5-triazine-based pyrazole derivatives as potential antitumor agents and EGFR kinase inhibitors: synthesis, cytotoxicity, DNA binding, molecular docking and DFT studies [J]. *New Journal of Chemistry*, 2021, 45(31): 13909-13924.
- [20] PARK S, AHN Y, KIM Y, et al. Design, synthesis and biological evaluation of 1,3,5-triazine derivatives targeting hA1 and hA3 adenosine receptor[J]. *Molecules*, 2022, 27(13): 4016.
- [21] ZOU Jingpei, ZHANG Zhen, LV Jinyu, et al. Design, synthesis and anti-cancer evaluation of genistein-1,3,5-triazine derivatives [J]. *Tetrahedron*, 2023, 134: 133293.
- [22] SANNER M F. Python: a programming language for software integration and development[J]. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 1999, 17(1): 57-61.
- [23] PIRES D E, BLUNDELL T L, ASCHER D B. pkC-SM: predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2015, 58(9): 4066-4072.
- [24] LIPINSKI C A, LOMBARDO F, DOMINY B W, et al. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2012, 64: 4-17.
- [25] GEWIRTZ D A, BRISTOL M L, YALOWICH J C. Toxicity issues in cancer drug development[J]. *Current Opinion in Investigational Drugs*, 2010, 11(6): 612-614.
- [26] 钱晶晶, 武文龙, 吉敬, 等. 2-苯基噻唑衍生物的合成、表征及其抗肿瘤活性[J]. *江苏海洋大学学报(自然科学版)*, 2022, 31(4): 68-73.
- [27] 孙洋, 马晓冬, 邹靖培, 等. 海洋天然产物 Anithiactins C类似物的合成及胆碱酯酶抑制活性研究[J]. *江苏海洋大学学报(自然科学版)*, 2024, 33(2): 46-52.

(责任编辑:李琴 实习编辑:易圣杰)

著作权使用声明

为适应我国信息化建设发展的需要,有力地促进科研学术信息的交流和信息资源的开发利用,扩展广大作者的学术交流渠道和促使科研成果的迅速转化,本刊已先后加入了《中国学术期刊(光盘版)》《中国期刊网》、由国家科技部组织实施的原中国科技信息研究所万方数据网络中心具体负责运作的“万方数据网”、由科学技术部西南信息中心所创办的大型综合性《中文科技期刊数据库》,并成为上述《中国学术期刊(光盘版)》《中国期刊网》《中国学术期刊综合评价数据库》《中国核心期刊(遴选)数据库》以及“万方数据——数字化期刊群”《中文科技期刊数据库》全文收录期刊,它们将以网络和光盘等不同的方式向社会提供文献信息服务。凡向本刊所投稿件,稿件发表后,所有署名作者自愿将稿件的出版权(包括但不限于纸版、复制、汇编、发行、信息网络传播等)转让给本刊,同意稿件进入本刊所加入的文献数据库,各数据库的著作权使用费与文章评审费相抵,不再另行支付。如有不同意者,请另投他刊或特别声明需另作处理。

《江苏海洋大学学报(自然科学版)》编辑部