

## • 实验研究 •

## 紫罗兰酮生物碱异噁唑类衍生物的合成及其抗肿瘤转移活性研究

贾美琪<sup>1</sup>, 刘菁菁<sup>1</sup>, 聂江平<sup>1</sup>, 段宏泉<sup>1,2\*</sup>, 秦楠<sup>1</sup>

1. 天津医科大学 药学院, 天津 300070

2. 天津医科大学 基础医学研究中心, 天津 300070

**摘要:** 目的 设计并合成紫罗兰酮生物碱异噁唑类衍生物, 结合活性筛选, 发现具有活性的新型紫罗兰酮生物碱衍生物。方法 制备(R)-紫罗兰酮, 在此基础上经过 11 步有机合成反应制备紫罗兰酮生物碱异噁唑衍生物。目标衍生物经核磁共振波谱和高分辨质谱表征其化学结构。通过乳腺癌细胞趋化迁移实验筛选衍生物的抗肿瘤转移活性。结果 共制备 8 个目标衍生物, 经抗肿瘤转移活性筛选发现, 化合物 12c 活性同 Ion-31a 相当, 强于阳性对照化合物 PI3K 抑制剂 LY294002。结论 所有目标衍生物均为新化合物, 其中苯甲腈取代异噁唑化合物 12c 具有显著抗肿瘤转移活性。

**关键词:** 手性紫罗兰酮生物碱; 异噁唑; 乳腺癌; 抗肿瘤转移

中图分类号: R979.1

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2020)11-2109-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2020.11.001

## Synthesis of isooxazole derivatives of ionone alkaloid and their antitumor metastasis activities

JIA Mei-qi<sup>1</sup>, LIU Jing-jing<sup>1</sup>, NIE Jing-ping<sup>1</sup>, DUAN Hong-quan<sup>1,2</sup>, QIN Nan<sup>1</sup>

1. School of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

2. Basic Medical Research Center, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

**Abstract: Objective** To design and synthesize the ionone alkaloid isoxazole derivative, and combine with activity screening, to find new bioactive derivatives of ionone alkaloid. **Methods** (R)-ionone was prepared, and the isooxazole derivative of ionone alkaloid were prepared after 11 steps of organic synthesis. The chemical structure of the target derivatives were characterized by nuclear magnetic resonance spectroscopy and high resolution mass spectrometry. The antitumor metastatic activities of the derivatives were screened by chemotactic migration of breast cancer cells. **Results** A total of 8 target derivatives were prepared. After screening for anti-tumor metastasis activities, compound 12c was found had the same activity as Ion-31a, and was stronger than the positive control compound PI3K inhibitor LY294002. **Conclusion** All the target derivatives are new compounds, and the benzonitrile substituted isoxazole compound 12c has significant anti-tumor metastasis activity.

**Key words:** chiral ionone alkaloids; isoxazole; breast cancer; antitumor metastasis

恶性肿瘤是当前危害人类生命与健康的重大疾病之一。2015 年我国新发恶性肿瘤病例数约 392.9 万例, 死亡约 233.8 万例。其中肺癌在我国恶性肿瘤发病中居首位<sup>[1-3]</sup>, 乳腺癌、胃癌和结直肠癌也是主要恶性肿瘤类型, 具有较高的发病率<sup>[4-6]</sup>。研究数据显示, 大约 90% 的恶性肿瘤患者死亡是因为

肿瘤转移造成<sup>[7-9]</sup>。肿瘤转移的过程是复杂和难以控制的, 更由于癌细胞分散于不同组织器官而难以通过常规手术切除和易产生耐药性<sup>[10-11]</sup>。近年来, 国内外研究者对中药、天然药物中化学成分的抗肿瘤转移作用开展了大量的研究, 发现了一些活性天然化合物。天然产物中包含了多种抗肿瘤转移活性成

收稿日期: 2020-08-03

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81673310); 天津市自然科学基金资助项目 (17JCZDJC32900)

作者简介: 贾美琪 (1994—), 女, 河北唐山人, 硕士, 从事天然产物结构改造及肿瘤活性研究。E-mail: jiameiqi1994@163.com

\*通信作者 段宏泉, 男, 教授, 研究方向为活性天然产物衍生合成和作用机制。E-mail: duanhq@tjmu.edu.cn

分,为抗肿瘤转移药物的研究提供了先导化合物,拥有巨大的研究价值<sup>[12]</sup>。本课题组前期从土家族民间药物转筋草碱中发现了抗乳腺癌转移活性成分转筋草碱 A。化学成分研究表明,转筋草生物碱包含孕甾烷生物碱类<sup>[13-14]</sup>、紫罗兰酮生物碱类<sup>[15]</sup>,其中紫罗兰酮生物碱为首次发现的天然结构骨架。课题组前期以转筋草碱 A 为先导化合物,展开了衍生物合成、构效关系的研究,结果显示手性紫罗兰酮型生物碱 31a (Ion-31a) 具有很强的抗乳腺癌转移活性<sup>[16]</sup>,本研究以 Ion-31a 为先导化合物进行衍生物合成设计,合成一类紫罗兰酮生物碱异噁唑衍生物。异噁唑环是一种药物化学结构修饰的常见杂环结构片段,被报道具有抗肿瘤等多种生物活性<sup>[17]</sup>。文献报道发现,通过研究一系列新的姜黄素衍生物,发现异噁唑类似物在亲本和多药耐药肿瘤细胞中显示出更强的抗肿瘤活性<sup>[18]</sup>。本研究结合分子活性筛选,发现结构新颖的活性衍生物,为抗肿瘤转移药物的应用开发提供实验依据。

## 1 仪器和试剂

### 1.1 实验仪器

SHB-III A 循环水式多用真空泵;W201 恒温浴锅;低温冷却液循环泵(上海豫康科仪器设备有限公司);DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器;DZX-3 型真空干燥箱;EYELA PSL-1810 型低温反应器(安耐吉科技有限公司);柱色谱和薄层色谱用硅胶均系青岛海洋化工厂生产;全自动酶标板分析仪(美国 Bio-Rad 生物有限公司);冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司);5% CO<sub>2</sub> 细胞培养,美国 Thermometer Scientific 公司;MTT, Sigma 公司;Transwell 趋化小室, Pierce Biochemicals 公司。

### 1.2 试剂与细胞

市售磷脂酰肌醇-3 激酶 (PI3K) 抑制剂 LY294002, 消旋  $\alpha$ -紫罗兰酮质量分数为 99%, 人乳腺癌细胞系 (MDA-MB-231) 购自中国科学院上海细胞库, 使用 RPMI 1640 培养基。本实验所使用的溶剂均为生物级溶剂。纯水若无特殊说明均为 Milli-Q 处理所得的超纯水。

## 2 方法与结果

### 2.1 合成路线

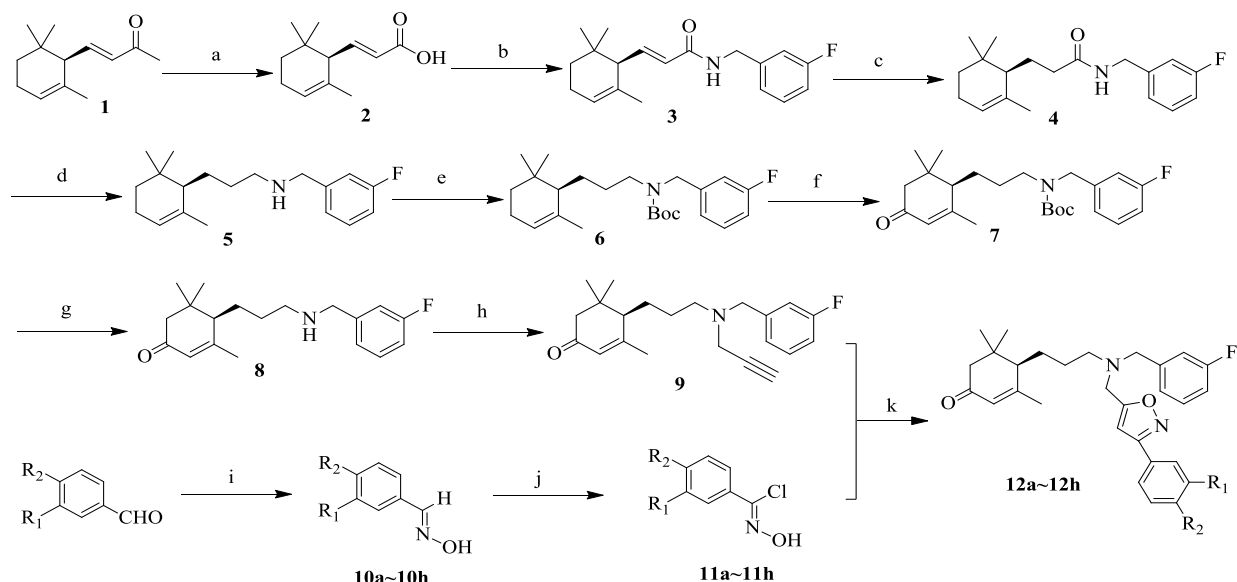
手性原料  $\alpha$ -(R)-紫罗兰酮 1 和化合物 2 的制备方法参考本课题组前期报道的基于酶催化反应的 Ion-31a 合成工艺优化<sup>[16]</sup>。化合物 2 经酰胺缩合反

应引入氟苯片段得到化合物 3, 该化合物在雷尼镍催化氢化条件下生成化合物 4。化合物 4 经氢化铝锂还原得到仲胺化合物 5, 仲胺 5 经 Boc 保护、双键烯丙位氧化反应并脱保护制得仲胺化合物 8。化合物 8 与溴丙炔反应得到炔基化合物 9。另一方面, 以取代苯甲醛为原料, 经两步反应制得中间体 11。化合物 9 与中间体 11 经 1,3-偶极环合反应制备目标产物 12。合成路线见图 1。

### 2.2 重要中间产物的合成

化合物 3 的合成: 称取化合物 2 (4.1 g, 21.1 mmol, 1 eq.), 加入适量二氯甲烷溶解, 然后依次加入 3-氟苄胺 (2.65 mL, 23.2 mmol, 1.1 eq.)、HOBt (3.14 g, 23.2 mmol, 1.1 eq.)、EDCI (4.45 g, 23.2 mmol, 1.1 eq.) 和三乙胺 (7.3 mL, 52.8 mmol, 2.5 eq.), 室温下搅拌 12 h, TLC 色谱监测反应完成。依次加入 5% 稀盐酸、饱和 NaHCO<sub>3</sub> 溶液和饱和食盐水萃取, 合并有机相并干燥, 滤过浓缩得粗品, 经硅胶柱色谱石油醚 (PE) - 醋酸乙酯 (EA) (25 : 1~10 : 1) 洗脱纯化得无色油状物, 产率 73.5%。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7.21 (m, 1H, Ar-H), 7.00 (m, 1H, Ar-H), 6.90 (m, 2H, Ar-H), 6.68 (dd,  $J$ =15.2 Hz, 9.6 Hz, 1H, 7-H), 5.86 (d,  $J$ =15.2 Hz, 1H, 8-H), 5.43 (s, 1H, 4-H), 4.38 (d,  $J$ =5.6 Hz, 2H, Ar-CH<sub>2</sub>), 2.20 (d,  $J$ =9.6 Hz, 1H, 6-H), 1.99 (br s, 2H, 3-H), 1.54 (s, 3H, 13-H), 1.43 (m, 1H, 2-H), 1.16 (m, 1H, 2-H), 0.89 (s, 3H, 12-H), 0.82 (s, 3H, 11-H)。<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  166.2 (9-C), 162.9 (d,  $J$ =244.7 Hz, Ar-C), 145.7 (7-C), 141.2 (d,  $J$ =6.9 Hz, Ar-C), 132.2 (5-C), 130.0 (d,  $J$ =8.2 Hz, Ar-C), 124.5 (8-C), 123.1 (d,  $J$ =2.8 Hz, Ar-C), 122.3 (4-C), 114.4 (d,  $J$ =21.6 Hz, Ar-C), 114.1 (d,  $J$ =20.9 Hz, Ar-C), 53.8 (6-C), 42.9 (Ar-CH<sub>2</sub>), 32.4 (2-C), 31.2 (1-C), 27.7 (12-C), 26.8 (11-C), 23.0 (3-C), 22.9 (13-C)。

粗品 4 的合成: 称取 3 g 化合物 3, 用 40 mL THF 溶解, 加入 15 mL 雷尼镍混合液, 装上氢气球, 置换气体 3 次使体系充满氢气, 室温下搅拌 8 h, TLC 色谱监测反应完成。布氏漏斗垫上硅藻土并抽滤 (抽滤时不能完全抽干, 否则会自燃; 滤饼倒入水相废液桶中), 收集滤液, 浓缩得粗品 4, 无需纯化可投下一步反应。



a-NaOCl, EtOH, 0 °C to rt   b-3-fluorobenzylamine, triethylamine, HOBt, EDCl, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, rt   c-raney-Ni, H<sub>2</sub>, THF, rt   d-LiAlH<sub>4</sub>, THF, 0 °C to rt  
 e-(Boc)<sub>2</sub>O, KHCO<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, rt   f-CrO<sub>3</sub>, 3,5-dimethylpyrazole, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, -20 °C   g-TFA, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 0 °C to rt   h-brominated alkanes, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, acetone, reflux  
 i- hydroxylamine hydrochloride, acetonitrile, rt   j-N-chlorosuccinimide, DMF, rt   k-triethylamine, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, rt

| 化合物    | R <sub>1</sub> | R <sub>2</sub>  | 化合物    | R <sub>1</sub> | R <sub>2</sub>                    |
|--------|----------------|-----------------|--------|----------------|-----------------------------------|
| 10-12a | H              | F               | 10-12e | H              | OCH <sub>3</sub>                  |
| 10-12b | H              | Cl              | 10-12f | H              | NO <sub>2</sub>                   |
| 10-12c | H              | CN              | 10-12g | F              | H                                 |
| 10-12d | H              | CH <sub>3</sub> | 10-12h | H              | CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> |

图1 目标化合物的合成路线

Fig. 1 Synthetic route of target compounds

粗品 5 的合成: 称取化合物 4 粗品 3.16 g, 用 40 mL 无水 THF 溶解, 在 0 °C 下缓慢加入 LiAlH<sub>4</sub> (593 mg, 15.62 mmol), 接上氮气球并置换气体 3 次, 室温搅拌 24 h, TLC 色谱监测反应完成。在 0 °C 下缓慢滴加 4 mol/L NaOH 水溶液淬灭剩余的 LiAlH<sub>4</sub>, 加入饱和酒石酸钾钠溶液搅拌 30 min, 加入 EA 萃取, 合并有机层并干燥, 滤过浓缩得粗品 5, 无需纯化可投下一步反应。

粗品 6 的合成: 称取化合物 5 粗品 5.6 g, 加入 100 mL 二氯甲烷溶解, 加入 KHCO<sub>3</sub> (4.84 g, 29.03 mmol), 在 0 °C 下缓慢加入溶于二氯甲烷中的二碳酸二叔丁酯 (10.5 g, 21.29 mmol), 室温搅拌 12 h, TLC 色谱监测反应完成。加入水萃取, 合并有机层并干燥, 滤过浓缩得粗品 6, 无需纯化可投下一步反应。

化合物 7 的合成: 称取三氧化铬 (11.7 g, 115.5 mmol, 10.0 eq.), 加入 120 mL DCM 溶解, 在 -20 °C 下搅拌 10 min 后, 加入 3,5-二甲基吡唑 (11.25 g,

115.5 mmol, 10.0 eq.), 继续搅拌 10 min, 缓慢加溶解于 DCM 中的化合物 6 粗品 4.5 g, 继续搅拌 5 h, TLC 色谱监测反应完成。反应液经硅胶柱色谱 PE - EA (10:1~5:1) 洗脱纯化得黄色油状物, 产率 57.3%。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.28 (m, 1H, Ar-H), 7.07 (m, 2H, Ar-H), 6.94 (m, 1H, Ar-H), 5.80 (s, 1H, 4-H), 3.79 (s, 2H, Ar-CH<sub>2</sub>), 2.63 (t, J=6.8 Hz, 2H, 9-H), 2.36 (d, J=17.2 Hz, 1H, 2-H), 2.01 (d, J=17.2 Hz, 1H, 2-H), 1.97 (s, 3H, 13-H), 1.86 (t, J=5.2 Hz, 1H, 6-H), 1.74 (m, 1H, 7-H), 1.60 (m, 2H, 8-H), 1.47 (s, 9H, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.43 (m, 1H, 7-H), 1.05 (s, 3H, 11-H), 1.02 (s, 3H, 12-H)。<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 199.2 (3-C), 165.5 (5-C), 163.0 (d, J=244.4 Hz, Ar-C), 156.5 (CO), 138.5 (d, J=6.9 Hz, Ar-C), 129.9 (d, J=8.1 Hz, Ar-C), 125.2 (4-C), 123.7 (d, J=2.2 Hz, Ar-C), 114.9 (d, J=21.1 Hz, Ar-C), 113.9 (d, J=21.0 Hz,

Ar-C), 79.8 (C), 65.3 (Ar-CH<sub>2</sub>), 51.0 (6-C), 47.2 (2-C), 47.1 (9-C), 36.3 (1-C), 30.6 (12-C), 28.7 (7-C), 28.4 ((CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 27.4 (8-C), 27.1 (11-C), 24.6 (13-C)。

化合物 **8** 的合成: 称取化合物 **7** (2.3 g, 5.7 mmol, 1.0 eq.), 加入适量二氯甲烷溶解, 置于 0 °C 下搅拌, 滴加 TFA (1.27 mL, 17.1 mmol, 3.0 eq.), 室温搅拌 5 h, TLC 色谱监测反应完成。向反应中加入 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 溶液, 使 pH 值呈碱性, 二氯甲烷萃取 3 次, 合并有机层并干燥, 滤过浓缩得黄色油状物, 产率 92.3%。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.27 (m, 1H, Ar-H), 7.07 (m, 2H, Ar-H), 6.94 (m, 1H, Ar-H), 5.80 (s, 1H, 4-H), 3.79 (s, 2H, Ar-CH<sub>2</sub>), 2.63 (t, *J*=7.2 Hz, 2H, 9-H), 2.36 (d, *J*=17.2 Hz, 1H, 2-H), 2.01 (d, *J*=17.2 Hz, 1H, 2-H), 1.97 (s, 3H, 13-H), 1.86 (t, *J*=5.2 Hz, 2H, 9-H), 1.74 (m, 2H, 7-H), 1.60 (m, 2H, 8-H), 1.44 (m, 2H, 7-H), 1.05 (s, 3H, 12-H), 1.01 (s, 3H, 11-H)。<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 199.3 (3-C), 165.6 (5-C), 163.0 (d, *J*=244.4 Hz, Ar-C), 142.5 (d, *J*=6.9 Hz, Ar-C), 129.9 (d, *J*=8.2 Hz, Ar-C), 125.1 (4-C), 123.7 (d, *J*=2.2 Hz, Ar-C), 114.9 (d, *J*=21.1 Hz, Ar-C), 113.9 (d, *J*=21.2 Hz, Ar-C), 53.3 (d, *J*=1.4 Hz, Ar-CH<sub>2</sub>), 51.1 (6-C), 49.5 (9-C), 47.1 (2-C), 36.3 (1-C), 29.7 (12-C), 28.7 (7-C), 27.8 (8-C), 27.1 (11-C), 24.7 (13-C)。

化合物 **9** 的合成: 称取化合物 **8** (1.0 eq.) 于反应瓶中, 用适量丙酮使其溶解, 加入无水 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (3.0 eq.)、溴丙炔 (3.0 eq.), 50 °C 搅拌, TLC 色谱监测反应完成。向反应中加入 1 mol/L NaOH 水溶液搅拌 1 h, 用 EA 萃取, 合并有机相并干燥, 滤过浓缩得粗品。PE - EA (10 : 1~8 : 1) 得黄色油状物, 产率为 84.3%。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.27 (m, <sup>1</sup>H, Ar-H), 7.09 (m, 2H, Ar-H), 6.93 (m, 1H, Ar-H), 5.80 (s, 1H, 4-H), 4.16 (q, *J*=7.0 Hz, 2H, OCH<sub>2</sub>), 3.77 (s, 2H, Ar-CH<sub>2</sub>), 3.31 (s, 2H, Ar-CH<sub>2</sub>), 2.63 (t, *J*=6.8 Hz, 2H, 9-H), 2.35 (d, *J*=17.4 Hz, 1H, 2-H), 2.01 (d, *J*=17.4 Hz, 1H, 2-H), 1.95 (d, *J*=1.0 Hz, 3H, 13-H), 1.84 (t, *J*=5.2 Hz, 1H, 6-H), 1.72 (m, 1H, 7-H), 1.55 (m, 2H, 8-H), 1.43 (m, 1H, 7-H), 1.27 (t, *J*=7.0 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.04 (s,

3H, 11-H), 1.00 (s, 3H, 12-H)。<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 199.1 (3-C), 177.1 (CO), 165.4 (5-C), 163.0 (d, *J*=244.2 Hz, Ar-C), 142.0 (d, *J*=6.8 Hz, Ar-C), 129.8 (d, *J*=8.1 Hz, Ar-C), 125.1 (4-C), 124.3 (d, *J*=2.6 Hz, Ar-C), 115.5 (d, *J*=21.2 Hz, Ar-C), 114.0 (d, *J*=21.1 Hz, Ar-C), 60.3 (OCH<sub>2</sub>), 58.0 (Ar-CH<sub>2</sub>), 54.5 (N-CH<sub>2</sub>), 54.2 (9-C), 51.1 (6-C), 47.2 (2-C), 36.3 (1-C), 28.8 (12-C), 27.7 (7-C), 27.5 (8-C), 27.1 (11-C), 24.7 (13-C), 14.3 (CH<sub>3</sub>)。HR-ESI MS *m/z* 390.242 8 [M+H]<sup>+</sup>, calcd for C<sub>23</sub>H<sub>33</sub>FNO<sub>3</sub>, 390.244 4。

化合物 **11a**~**11h** 根据文献报道<sup>[19-23]</sup>合成: 分别称取化合物 **10a**~**10h** (1.0 eq.), 取适量 DMF 溶解, 分 3 次加入 *N*-氯代琥珀酰亚胺固体 (1.0 eq.), 间隔 3 min, 室温搅拌 12 h, 加入醋酸乙酯稀释反应液, 饱和食盐水萃取, 无水硫酸镁干燥滤过浓缩得固体<sup>[19-23]</sup>, 产物波谱表征结构与文献报道相符。

### 2.3 目标产物的合成

称取化合物 **9** (1.0 eq.) 和相应的中间体 **11a**~**11h** (3.0 eq.) 于反应瓶中, 加入二氯甲烷溶解, 滴加三乙胺 (5.0 eq.), 室温下搅拌, TLC 色谱监测反应完成, 浓缩得目标产物 **12a**~**12h** 粗品。

化合物 **12a**: 黄色油状物, 产率为 74.3%。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.80 (m, 2H, Ar-H), 7.30 (m, 1H, Ar-H), 7.14 (m, 4H, Ar-H), 6.97 (m, 1H, Ar-H), 6.40 (s, 1H, CH), 5.82 (s, 1H, 4-H), 3.81 (s, 2H, Ar-CH<sub>2</sub>), 3.66 (s, 2H, Ar-CH<sub>2</sub>), 2.54 (t, *J*=6.8 Hz, 2H, 9-H), 2.36 (d, *J*=17.2 Hz, 1H, 2-H), 2.03 (d, *J*=17.2 Hz, 1H, 2-H), 1.96 (d, *J*=0.6 Hz, 3H, 13-H), 1.84 (t, *J*=5.2 Hz, 1H, 6-H), 1.72 (m, 1H, 7-H), 1.61 (m, 2H, 8-H), 1.42 (m, 1H, 7-H), 1.04 (s, 3H, 11-H), 1.00 (s, 3H, 12-H)。<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 199.4 (3-C), 170.6 (Ar-C), 165.5 (5-C), 163.8 (d, *J*=248.5 Hz, Ar-C), 163.0 (d, *J*=244.4 Hz, Ar-C), 161.4 (C), 141.5 (d, *J*=7.0 Hz, Ar-C), 130.0 (d, *J*=8.1 Hz, Ar-C), 128.7 (d, *J*=8.3 Hz, Ar-C), 125.2 (d, *J*=3.7 Hz, Ar-C), 125.1 (4-C), 124.2 (d, *J*=2.6 Hz, Ar-C), 116.1 (d, *J*=21.8 Hz, Ar-C), 115.4 (d, *J*=21.2 Hz, Ar-C), 114.3 (d, *J*=21.1 Hz, Ar-C), 101.2 (CH), 58.0 (Ar-CH<sub>2</sub>), 54.1 (9-C), 51.0 (6-C), 48.4 (Ar-CH<sub>2</sub>), 47.1 (2-C), 36.3 (1-C), 28.8 (12-C),

27.8 (7-C), 27.2 (8-C), 27.1 (11-C), 24.8 (13-C)。HR-ESI MS  $m/z$  479.248 9  $[M+H]^+$ , calcd for  $C_{29}H_{33}F_2N_2O_2$ , 479.251 0。

化合物 **12b**: 黄色油状物, 产率为 75.2%。 $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  7.80 (m, 2H, Ar-H), 7.30 (m, 1H, Ar-H), 7.14 (m, 4H, Ar-H), 6.97 (m, 1H, Ar-H), 6.40 (s, 1H, CH), 5.82 (s, 1H, 4-H), 3.81 (s, 2H, Ar-CH<sub>2</sub>), 3.66 (s, 2H, Ar-CH<sub>2</sub>), 2.54 (t,  $J=6.8$  Hz, 2H, 9-H), 2.36 (d,  $J=17.2$  Hz, 1H, 2-H), 2.03 (d,  $J=17.2$  Hz, 1H, 2-H), 1.96 (d,  $J=0.6$  Hz, 3H, 13-H), 1.84 (t,  $J=5.2$  Hz, 1H, 6-H), 1.72 (m, 1H, 7-H), 1.61 (m, 2H, 8-H), 1.42 (m, 1H, 7-H), 1.04 (s, 3H, 11-H), 1.01 (s, 3H, 12-H)。 $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  199.4 (3-C), 170.6 (Ar-C), 165.5 (5-C), 163.8 (d,  $J=248.5$  Hz, Ar-C), 163.0 (d,  $J=244.4$  Hz, Ar-C), 161.4 (C), 141.5 (d,  $J=7.0$  Hz, Ar-C), 130.0 (d,  $J=8.1$  Hz, Ar-C), 128.7 (d,  $J=8.3$  Hz, Ar-C), 125.2 (d,  $J=3.7$  Hz, Ar-C), 125.1 (4-C), 124.2 (d,  $J=2.6$  Hz, Ar-C), 116.1 (d,  $J=21.8$  Hz, Ar-C), 115.4 (d,  $J=21.2$  Hz, Ar-C), 114.3 (d,  $J=21.1$  Hz, Ar-C), 101.2 (CH), 58.0 (Ar-CH<sub>2</sub>), 54.1 (9-C), 51.0 (6-C), 48.4 (Ar-CH<sub>2</sub>), 47.1 (2-C), 36.3 (1-C), 34.1 (CH), 28.8 (12-C), 27.8 (7-C), 27.2 (8-C), 27.1 (11-C), 24.8 (13-C)。HR-ESI MS  $m/z$  495.219 8  $[M+H]^+$ , calcd for  $C_{29}H_{33}ClFN_2O_2$ , 495.221 5。

化合物 **12c**: 黄色油状物, 产率为 75.6%。 $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  7.96 (d,  $J=8.4$  Hz, 2H, Ar-H), 7.77 (d,  $J=8.4$  Hz, 2H, Ar-H), 7.30 (m, 1H, Ar-H), 7.12 (m, 2H, Ar-H), 6.98 (m, 1H, Ar-H), 6.47 (s, 1H, CH), 5.82 (s, 1H, 4-H), 3.83 (s, 2H, Ar-CH<sub>2</sub>), 3.66 (s, 2H, Ar-CH<sub>2</sub>), 2.54 (t,  $J=6.8$  Hz, 2H, 9-H), 2.36 (d,  $J=17.2$  Hz, 1H, 2-H), 2.03 (d,  $J=17.2$  Hz, 1H, 2-H), 1.96 (d,  $J=1.0$  Hz, 3H, 13-H), 1.85 (t,  $J=5.2$  Hz, 1H, 6-H), 1.72 (m, 1H, 7-H), 1.61 (m, 2H, 8-H), 1.42 (m, 1H, 7-H), 1.05 (s, 3H, 11-H), 1.01 (s, 3H, 12-H)。 $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  199.3 (3-C), 171.6 (C), 165.4 (5-C), 163.0 (d,  $J=244.4$  Hz, Ar-C), 160.8 (Ar-C), 141.4 (d,  $J=6.9$  Hz, Ar-C), 132.8 (Ar-C), 130.0 (d,  $J=8.3$  Hz, Ar-C), 127.4 (Ar-C), 125.2 (4-C), 124.1 (d,  $J=$

2.0 Hz, Ar-C), 118.3 (CN), 115.4 (d,  $J=21.5$  Hz, Ar-C), 114.3 (d,  $J=20.7$  Hz, Ar-C), 113.6 (Ar-C), 101.2 (CH), 58.0 (Ar-CH<sub>2</sub>), 54.2 (9-C), 51.0 (6-C), 48.5 (Ar-CH<sub>2</sub>), 47.1 (2-C), 36.3 (1-C), 34.1 (CH), 28.8 (12-C), 27.9 (7-C), 27.3 (8-C), 27.1 (11-C), 24.8 (13-C)。HR-ESI MS  $m/z$  486.252 3  $[M+H]^+$ , calcd for  $C_{30}H_{33}FN_3O_2$ , 486.255 7。

化合物 **12d**: 黄色油状物, 产率为 76.3%。 $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  7.00 (d,  $J=8.0$  Hz, 2H, Ar-H), 7.29 (m, 3H, Ar-H), 7.12 (m, 2H, Ar-H), 6.96 (m, 1H, Ar-H), 6.41 (s, 1H, CH), 5.81 (s, 1H, 4-H), 3.79 (s, 2H, Ar-CH<sub>2</sub>), 3.65 (s, 2H, Ar-CH<sub>2</sub>), 2.53 (t,  $J=7.0$  Hz, 2H, 9-H), 2.40 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.36 (d,  $J=17.6$  Hz, 1H, 2-H), 2.02 (d,  $J=17.6$  Hz, 1H, 2-H), 1.95 (s, 3H, 13-H), 1.84 (t,  $J=5.2$  Hz, 1H, 6-H), 1.72 (m, 1H, 7-H), 1.61 (m, 2H, 8-H), 1.42 (m, 1H, 7-H), 1.04 (s, 3H, 11-H), 1.00 (s, 3H, 12-H)。 $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  199.4 (3-C), 170.2 (Ar-C), 165.5 (5-C), 163.0 (d,  $J=244.3$  Hz, Ar-C), 162.2 (C), 141.6 (d,  $J=7.0$  Hz, Ar-C), 140.2 (Ar-C), 129.9 (d,  $J=8.1$  Hz, Ar-C), 129.6 (Ar-C), 126.6 (Ar-C), 126.1 (Ar-C), 125.1 (4-C), 124.2 (d,  $J=2.5$  Hz, Ar-C), 115.4 (d,  $J=21.3$  Hz, Ar-C), 114.2 (d,  $J=21.1$  Hz, Ar-C), 101.2 (CH), 58.0 (Ar-CH<sub>2</sub>), 54.0 (9-C), 51.0 (6-C), 48.4 (Ar-CH<sub>2</sub>), 47.1 (2-C), 36.3 (1-C), 28.7 (12-C), 27.7 (7-C), 27.2 (8-C), 27.1 (11-C), 24.7 (13-C), 21.4 (CH<sub>3</sub>)。HR-ESI MS  $m/z$  475.274 5  $[M+H]^+$ , calcd for  $C_{30}H_{36}FN_2O_2$ , 475.276 1。

化合物 **12e**: 黄色油状物, 产率为 75.8%。 $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  7.74 (d,  $J=8.0$  Hz, 2H, Ar-H), 7.29 (m, 1H, Ar-H), 7.13 (d,  $J=8.0$  Hz, 2H, Ar-H), 6.96 (m, 3H, Ar-H), 6.38 (s, 1H, CH), 5.81 (s, 1H, 4-H), 3.85 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.79 (s, 2H, Ar-CH<sub>2</sub>), 3.65 (s, 2H, Ar-CH<sub>2</sub>), 2.53 (t,  $J=6.8$  Hz, 2H, 9-H), 2.36 (d,  $J=17.2$  Hz, 1H, 2-H), 2.02 (d,  $J=17.2$  Hz, 1H, 2-H), 1.95 (s, 3H, 13-H), 1.84 (t,  $J=5.4$  Hz, 1H, 6-H), 1.72 (m, 1H, 7-H), 1.61 (m, 2H, 8-H), 1.42 (m, 1H, 7-H), 1.04 (s, 3H, 11-H), 1.00 (s, 3H, 12-H)。 $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  199.4 (3-C), 170.2 (Ar-C), 165.6 (5-C), 163.0

(d,  $J=244.3$  Hz, Ar-C), 161.9 (C), 161.0 (Ar-C), 141.6 (d,  $J=6.9$  Hz, Ar-C), 140.2 (Ar-C), 129.9 (d,  $J=8.3$  Hz, Ar-C), 128.2 (Ar-C), 125.1 (4-C), 124.2 (d,  $J=2.4$  Hz, Ar-C), 121.5 (Ar-C), 115.4 (d,  $J=21.3$  Hz, Ar-C), 114.3 (Ar-C), 114.2 (d,  $J=21.1$  Hz, Ar-C), 101.1 (CH), 58.0 (Ar-CH<sub>2</sub>), 55.4 (OCH<sub>3</sub>), 54.1 (9-C), 51.0 (6-C), 48.4 (Ar-CH<sub>2</sub>), 47.1 (2-C), 36.3 (1-C), 28.8 (12-C), 27.8 (7-C), 27.2 (8-C), 27.1 (11-C), 24.8 (13-C)。HR-ESI MS  $m/z$  491.267 9 [M+H]<sup>+</sup>, calcd for C<sub>30</sub>H<sub>36</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 491.271 0。

化合物 **12f**: 黄色油状物, 产率为 71.4%。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  8.34 (d,  $J=8.8$  Hz, 2H, Ar-H), 7.99 (d,  $J=8.8$  Hz, 2H, Ar-H), 7.31 (m, 1H, Ar-H), 7.12 (m, 2H, Ar-H), 6.96 (m, 1H, Ar-H), 6.51 (s, 1H, CH), 5.83 (s, 1H, 4-H), 3.84 (s, 2H, Ar-CH<sub>2</sub>), 3.67 (s, 2H, Ar-CH<sub>2</sub>), 2.56 (t,  $J=6.8$  Hz, 2H, 9-H), 2.36 (d,  $J=17.2$  Hz, 1H, 2-H), 2.03 (d,  $J=17.2$  Hz, 1H, 2-H), 1.96 (s, 3H, 13-H), 1.86 (t,  $J=5.2$  Hz, 1H, 6-H), 1.72 (m, 1H, 7-H), 1.62 (m, 2H, 8-H), 1.43 (m, 1H, 7-H), 1.05 (s, 3H, 11-H), 1.01 (s, 3H, 12-H)。<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  199.3 (3-C), 171.8 (Ar-C), 165.4 (5-C), 163.1 (d,  $J=244.4$  Hz, Ar-C), 160.5 (Ar-C), 148.7 (Ar-C), 141.3 (d,  $J=6.9$  Hz, Ar-C), 135.1 (Ar-C), 130.0 (d,  $J=8.1$  Hz, Ar-C), 127.7 (Ar-C), 125.2 (4-C), 124.3 (Ar-C), 124.1 (d,  $J=2.4$  Hz, Ar-C), 115.4 (d,  $J=21.2$  Hz, Ar-C), 114.4 (d,  $J=21.1$  Hz, Ar-C), 101.4 (CH), 58.0 (Ar-CH<sub>2</sub>), 54.3 (9-C), 51.0 (6-C), 48.5 (Ar-CH<sub>2</sub>), 47.1 (2-C), 36.3 (1-C), 28.8 (12-C), 27.8 (7-C), 27.2 (8-C), 27.1 (11-C), 24.8 (13-C)。HR-ESI MS  $m/z$  506.243 3 [M+H]<sup>+</sup>, calcd for C<sub>29</sub>H<sub>33</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, 506.245 5。

化合物 **12g**: 黄色油状物, 产率为 75.7%。产率为 71.6%。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7.57 (m, 2H, Ar-H), 7.46 (m, 1H, Ar-H), 7.32 (m, 1H, Ar-H), 7.15 (m, 3H, Ar-H), 6.99 (m, 1H, Ar-H), 6.44 (s, 1H, CH), 5.84 (s, 1H, 4-H), 3.83 (s, 2H, Ar-CH<sub>2</sub>), 3.68 (s, 2H, Ar-CH<sub>2</sub>), 2.56 (t,  $J=6.8$  Hz, 2H, 9-H), 2.38 (d,  $J=17.2$  Hz, 1H, 2-H), 2.05 (d,  $J=17.2$  Hz, 1H, 2-H), 1.98 (d,  $J=0.6$  Hz, 3H, 13-H), 1.87 (t,  $J=5.2$  Hz,

1H, 6-H), 1.74 (m, 1H, 7-H), 1.63 (m, 2H, 8-H), 1.44 (m, 1H, 7-H), 1.07 (s, 3H, 11-H), 1.03 (s, 3H, 12-H)。<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  199.4 (3-C), 170.9 (Ar-C), 165.4 (5-C), 163.1 (d,  $J=244.5$  Hz, Ar-C), 163.0 (d,  $J=245.3$  Hz, Ar-C), 161.4 (C), 141.5 (d,  $J=7.0$  Hz, Ar-C), 131.1 (d,  $J=8.6$  Hz, Ar-C), 130.6 (d,  $J=8.2$  Hz, Ar-C), 129.9 (d,  $J=7.9$  Hz, Ar-C), 125.2 (4-C), 124.2 (d,  $J=2.6$  Hz, Ar-C), 122.5 (d,  $J=2.5$  Hz, Ar-C), 117.0 (d,  $J=21.4$  Hz, Ar-C), 115.4 (d,  $J=21.2$  Hz, Ar-C), 114.3 (d,  $J=21.0$  Hz, Ar-C), 113.8 (d,  $J=23.0$  Hz, Ar-C), 101.3 (CH), 58.0 (Ar-CH<sub>2</sub>), 54.1 (9-C), 51.0 (6-C), 48.4 (Ar-CH<sub>2</sub>), 47.1 (2-C), 36.3 (1-C), 29.7 (12-C), 28.8 (7-C), 27.8 (8-C), 27.2 (11-C), 24.8 (13-C)。HR-ESI MS  $m/z$  479.247 4 [M+H]<sup>+</sup>, calcd for C<sub>29</sub>H<sub>33</sub>F<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 479.251 0。

化合物 **12h**: 黄色油状物, 产率为 73.6%。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7.73 (d,  $J=8.0$  Hz, 2H, Ar-H), 7.32 (d,  $J=8.0$  Hz, 2H, Ar-H), 7.28 (m, 1H, Ar-H), 7.12 (m, 2H, Ar-H), 6.96 (m, 1H, Ar-H), 6.41 (s, 1H, CH), 5.83 (s, 1H, 4-H), 3.80 (s, 2H, Ar-CH<sub>2</sub>), 3.65 (s, 2H, Ar-CH<sub>2</sub>), 2.95 (m, 1H, CH), 2.53 (t,  $J=6.8$  Hz, 2H, 9-H), 2.36 (d,  $J=17.2$  Hz, 1H, 2-H), 2.02 (d,  $J=17.2$  Hz, 1H, 2-H), 1.95 (s, 3H, 13-H), 1.84 (t,  $J=5.2$  Hz, 1H, 6-H), 1.72 (m, 1H, 7-H), 1.61 (m, 2H, 8-H), 1.43 (m, 1H, 7-H), 1.28 (d,  $J=6.8$  Hz, 6H, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.04 (s, 3H, 11-H), 1.00 (s, 3H, 12-H)。<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  199.4 (3-C), 170.2 (Ar-C), 165.6 (5-C), 163.0 (d,  $J=244.3$  Hz, Ar-C), 162.2 (C), 151.1 (Ar-C), 141.6 (d,  $J=6.8$  Hz, Ar-C), 129.9 (d,  $J=8.1$  Hz, Ar-C), 127.1 (Ar-C), 126.8 (Ar-C), 126.5 (Ar-C), 125.1 (4-C), 124.2 (d,  $J=2.5$  Hz, Ar-C), 115.4 (d,  $J=21.4$  Hz, Ar-C), 114.2 (d,  $J=21.0$  Hz, Ar-C), 101.3 (CH), 58.0 (Ar-CH<sub>2</sub>), 54.0 (9-C), 51.0 (6-C), 48.4 (Ar-CH<sub>2</sub>), 47.2 (2-C), 36.3 (1-C), 34.1 (CH), 28.8 (12-C), 27.7 (7-C), 27.2 (8-C), 27.1 (11-C), 24.8 (13-C), 23.9 ((CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)。HR-ESI MS  $m/z$  503.304 4 [M+H]<sup>+</sup>, calcd for C<sub>27</sub>H<sub>35</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 503.307 4。

## 2.4 体外抗乳腺癌肿瘤转移活性

### 2.4.1 MTT 法测定化合物毒性 用 0.25%的胰蛋

白酶消化液消化 MDA-MB-231 细胞, 弃去胰蛋白酶消化液后, 用含 10% FBS 的 RPMI 1640 培养液终止消化, 将消化下的细胞轻轻吹打混匀, 计数调节细胞密度为  $1 \times 10^4/\text{mL}$ , 然后用多道移液枪将混匀的细胞悬液接种于 96 孔细胞培养板中, 每孔中加入 180  $\mu\text{L}$  悬液。于 96 孔板接种的细胞放置在  $37^\circ\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  的孵箱内培养 24 h 后加药。每个浓度设置 5 个复孔, 利用酶标仪在 550 nm 波长下测得各组的吸光度 (A) 值后, 计算每组的平均值, SPSS 11.5 处理数据, 计算各组的生长抑制率, 见表 1, 各化合物在 50  $\mu\text{mol/L}$  以下未显示细胞毒性。

生长抑制率 =  $1 - \text{加药组 A 值} / \text{空白组 A 值}$

表 1 各化合物对人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞生长的抑制作用

Table 1 Inhibitory effects of the compounds on growth of human breast cancer MDA-MB-231 cells

| 化合物     | 生长抑制率/%                                |                                        |                                         |
|---------|----------------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------------|
|         | 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ | 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ | 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ |
| Ion-31a | -4.19                                  | 21.92                                  | 27.83                                   |
| 12a     | 2.78                                   | 16.23                                  | 53.77                                   |
| 12b     | 7.59                                   | 19.77                                  | 35.11                                   |
| 12c     | 4.17                                   | 12.44                                  | 34.60                                   |
| 12d     | -0.67                                  | 11.05                                  | 37.15                                   |
| 12e     | 8.11                                   | 17.42                                  | 46.37                                   |
| 12f     | -3.92                                  | 14.39                                  | 39.21                                   |
| 12g     | 1.99                                   | 15.08                                  | 47.31                                   |
| 12h     | 9.85                                   | 20.78                                  | 56.77                                   |

**2.4.2 Transwell 趋化迁移实验** 以无血清 RPMI 1640 培养基和 48 h 培养细胞的旧培养基按 450  $\mu\text{L}$ : 450  $\mu\text{L}$  吸取, 再加 10% FBS (100  $\mu\text{L}$ ) 混匀作为下室液, 分别 Transwell 下室加入不同处理组的药物, 每个化合物浓度设置两个复孔。分别用 0.25 % 的胰酶消化后, 用 RPMI 1640 培养液 (含 10% FBS) 终止消化并将液体收集于离心管中, 将膜铺于下室, 上室每孔加入 100  $\mu\text{L}$  上室液。置于  $37^\circ\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  的孵箱内培养。待培养 6 h 后用干棉签将上室中未穿过膜的细胞擦去, 4% 多聚甲醛固定 15 min。结晶紫染色置于显微镜下拍照计数。在非细胞毒浓度下, 进行了抗肿瘤转移活性筛选, LY294002 作为阳性对照化合物<sup>[13-14]</sup>。计数时, 每个孔选取 3 个视野分别计数, 取平均值, 2 个复孔再取平均值即为该样品浓度下的趋化细胞数。SPSS 11.5 处理数据, 计算

半数抑制浓度 ( $\text{IC}_{50}$ ), 见表 2, 12b~12f 均显示出不同程度的抗乳腺癌细胞趋化迁移作用, 其中化合物 12c 的活性同先导化合物 Ion-31a 相当, 均优于 LY294002。

迁移抑制率 =  $1 - \text{化合物样品处理的细胞在旧培养基作用下的趋化细胞数} / \text{正常细胞在趋化因子作用下的趋化细胞数}$

表 2 各化合物对 MDA-MB-231 细胞趋化运动  $\text{IC}_{50}$

Table 2  $\text{IC}_{50}$  value of each compound on chemotaxis of MDA-MB-231 cell

| 化合物 | $\text{IC}_{50}/(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$ | 化合物      | $\text{IC}_{50}/(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$ |
|-----|------------------------------------------------------|----------|------------------------------------------------------|
| 12a | > 20                                                 | 12f      | 10.250                                               |
| 12b | 10.960                                               | 12g      | > 20                                                 |
| 12c | 0.201                                                | 12h      | > 20                                                 |
| 12d | 6.959                                                | Ion-31a  | 0.175                                                |
| 12e | 3.118                                                | LY294002 | 1.180                                                |

### 3 讨论

异噁唑环是一种结构修饰的常见杂环结构片段, 含异噁唑化合物被报道具有抗菌、抗炎、抗病毒、抗糖尿病、抗血小板、抗肿瘤等多种活性<sup>[17]</sup>。如 Poma 等<sup>[18]</sup>报道的姜黄素异噁唑衍生物在乳腺癌细胞 MCF-7 中不会被 P-gp 蛋白外排而显现出良好的抗多药耐药作用。Bargiotti 等<sup>[24]</sup>报道的异噁唑并萘酮类化合物具有 HSP90 抑制活性, 对非小细胞肺癌细胞 NCI-H460 的  $\text{IC}_{50}$  达到 18 nmol/L, 对鳞状细胞癌细胞 A431 的  $\text{IC}_{50}$  达到 1.6 nmol/L, 对腹膜间皮瘤细胞 STO 的  $\text{IC}_{50}$  达到 2.2 nmol/L。Kaffy 等<sup>[25]</sup>对具有抗肿瘤活性天然产物 comberastatin A-4 进行结构优化时发现, comberastatin A-4 的异噁唑类衍生物活性显著提高。

本实验合成的 8 个手性紫罗兰酮生物碱异噁唑衍生物中 5 个具有抑制肿瘤细胞趋化作用 (化合物 12b~12f), 具有苯甲腈取代异噁唑化合物 12c 显示出较强的活性, 优于 PI3K 抑制剂 LY294002。提示在紫罗兰酮生物碱异噁唑类衍生物中苯甲腈可能是 1 个关键活性基团。构效关系分析表明, 异噁唑芳基取代基 R2 会对活性产生一定影响。相比取代基电负性而言, 取代基 R2 体积对活性影响更明显。当取代基 R2 较小 (如氟原子取代的化合物 12a) 或无取代基时 (化合物 12g), 化合物不具有活性; 当取代基 R2 较大时 (如异丙基取代的化合物 12h), 化合物亦不具有活性。只有当取代基 R2 体积适中时, 化合物才能体现出不同程度的抗肿瘤转移活

性,且以取代基为氰基时最优。这很可能与化合物和靶点结合方式有关,芳基取代异噁唑片段很可能是深入靶点结合口袋的片段,体积过小则缺少必要的相互作用,体积过大改变了化合物与靶点的结合方式。该类化合物的发现为手性紫罗兰酮生物碱类化合物抗肿瘤转移作用的深入开发提供了新的思路。具有苯甲腈取代异噁唑化合物 **12c** 显示出较强的活性,优于 PI3K 抑制剂 LY294002,为手性紫罗兰酮生物碱类化合物抗肿瘤转移作用的深入开发提供了新的思路。

#### 参考文献

- [1] Chen W Q, Zheng R S, Baade P D, *et al.* Cancer Statistics in China, 2015 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-132.
- [2] 陈万青. 肺癌居恶性肿瘤发病第 1 位 [J]. 人人健康, 2018(9): 62.
- [3] 郑荣寿, 孙可欣, 张思维, 等. 2015 年中国恶性肿瘤流行情况分析 [J]. 中华肿瘤杂志, 2019, 41(1): 19-28.
- [4] 兰 蓝, 赵 飞, 蔡 玥, 等. 中国居民 2015 年恶性肿瘤死亡率流行病学特征分析 [J]. 中华流行病学杂志, 2018, 39(1): 32-34.
- [5] 王维琼. 2016 年中国恶性肿瘤发病和死亡分析 [J]. 临床医药文献杂志: 电子版, 2017, 4(19): 3604.
- [6] Friedl P, Wolf K. Tumour-cell invasion and migration: diversity and escape mechanisms [J]. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3(5): 362-374.
- [7] Steeg P S, Theodorescu D. Metastasis: a therapeutic target for cancer [J]. *Nat Clin Pract Oncol*, 2008, 5(4): 206-219.
- [8] Cavallaro U, Christofori G. Multitasking in tumor progression; signaling function of cell adhesion molecules [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2004, 10(14): 58-66.
- [9] Steeg P S. Targeting metastasis [J]. *Nat Rev Cancer*, 2016, 16(4): 201-218.
- [10] Qian C N, Mei Y, Zhang J. Cancer metastasis: issues and challenges [J]. *Chin J Cancer*, 2017, 36(1): 38.
- [11] Liang Y, McDonnell S, Clynes M. Examining the relationship between cancer invasion/metastasis and drug resistance [J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2002, 2(3): 257-277.
- [12] Kittakoop P. Chapter 5. Anticancer drugs and potential anticancer leads inspired by natural products [J]. *Stud Nat Prod Chem*, 2015, 44, 251-307.
- [13] Zhai H Y, Zhao C, Zhang N, *et al.* Alkaloids from *Pachysandra terminalis* inhibit breast cancer invasion and have potential for development as antimetastasis therapeutic agents [J]. *J Nat Prod*, 2012, 75(7): 1305-1311.
- [14] Zhao C, Gan C C, Jin M N, *et al.* Antitumor metastasis pregnane alkaloids from *Pachysandra terminalis* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2014, 16(5): 440-446.
- [15] Jin M N, Ma S N, Zhai H Y, *et al.* A new megastigmane alkaloid from *Pachysandra terminalis*, with antitumor metastasis effect [J]. *Chem Nat Compd*, 2015, 51(2): 311-315.
- [16] 樊 晔, 吴潇然, 聂江平, 等. 手性紫罗兰酮生物碱衍生物 Ion-31a 的制备方法优化 [J]. 天津医科大学学报, 2019, 25(4): 313-315, 319.
- [17] Sysak A, Obmińska-Mrukowicz B. Isoxazole ring as a useful scaffold in a search for new therapeutic agents [J]. *Eur J Med Chem*, 2017, 137: 292-309.
- [18] Poma P, Notarbartolo M, Labbozzetta M, *et al.* The antitumor activities of curcumin and of its isoxazole analogue are not affected by multiple gene expression changes in an MDR model of the MCF-7 breast cancer cell line: analysis of the possible molecular basis [J]. *Int J Mol Med*, 2007, 20(3): 329-335.
- [19] Xu J, Gao Y, Li Z, *et al.* Chlorotropylium promoted conversions of oximes to amides and nitriles [J]. *Eur J Org Chem*, 2020, 2020(3): 311-315.
- [20] Ma J, Bao G, Wang L, *et al.* Design, synthesis, biological evaluation and preliminary mechanism study of novel benzothiazole derivatives bearing indole-based moiety as potent antitumor agents [J]. *Eur J Med Chem*, 2015, 96: 173-186.
- [21] de Candia M, Zaetta G, Denora N, *et al.* New azepino [4,3-b] indole derivatives as nanomolar selective inhibitors of human butyrylcholinesterase showing protective effects against NMDA-induced neurotoxicity [J]. *Eur J Med Chem*, 2017, 125: 288-298.
- [22] Dadashpour S, Emami S. Indole in the target-based design of anticancer agents: A versatile scaffold with diverse mechanisms [J]. *Eur J Med Chem*, 2018, 150: 9-29.
- [23] Mokenapelli S, Yerrabelli J R, Das N, *et al.* Synthesis and cytotoxicity of novel 14 $\alpha$ -O-(andrographolide-3-substitutedisoxazole-5-carboxylate) derivatives [J]. *Nat Prod Res*, 2020, 9(3): 1-7.
- [24] Bargiotti A, Musso L, Dallavalle S, *et al.* Isoxazolo (aza) naphthoquinones: a new class of cytotoxic Hsp90 inhibitors [J]. *Eur J Med Chem*, 2012, 53: 64-75.
- [25] Kaffy J, Pontikis R, Carrez D, *et al.* Isoxazole-type derivatives related to combretastatin A-4, synthesis and biological evaluation [J]. *Bioorg Med Chem*, 2006, 14(12): 4067-4077.