

文章编号 1006-8147(2016)03-0191-04

论著

紫罗兰酮酰胺衍生物的合成与抗肿瘤转移活性研究

陈家浩¹, 方海军¹, 秦楠^{1,2}, 段宏泉^{1,2}

(1.天津医科大学药学院,天津市临床药物关键技术重点实验室,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:研究紫罗兰酮酰胺衍生物的合成与抗肿瘤转移活性。方法:以 α -紫罗兰酮为原料,经卤仿反应、烯丙位氧化反应和酰胺化反应得到目标化合物2a-f和4a-f,所有衍生物均评价其抗肿瘤转移活性。结果:合成得到两个系列共12个紫罗兰酮酰胺衍生物,所有化合物都经过¹H NMR、¹³C NMR和ESI-MS表征了化学结构。与阳性对照化合物LY204002相比,化合物4f具有较强的抗肿瘤转移的活性。结论:紫罗兰酮酰胺衍生物中叔胺基团和3位羰基很可能是发挥抗肿瘤转移作用的必需基团。

关键词 紫罗兰酮;酰胺衍生物;抗肿瘤转移

中图分类号 R9

文献标志码 A

Study on the ionone amide derivatives synthesis and anti-tumor metastatic effect

CHEN Jia-hao¹, FANG Hai-jun¹, QIN Nan^{1,2}, DUAN Hong-quan^{1,2}

(1.School of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin Key Laboratory on Technologies Enabling Development of Clinical Therapeutics and Diagnostics (Theranostics), Tianjin 300070, China; 2.Research Center of Basic Medical Sciences, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

Abstract Objective: To study the ionone amide derivatives synthesis and anti-metastatic activities. **Methods:** Target compounds 2a-f and 4a-f were prepared by haloform reaction, allylic oxidation, amidation reaction from α -ionone as starting material. **Results:** Twelve ionone amide derivatives were synthesized by organic chemistry reactions. All of the compounds were identified by ¹H-NMR, ¹³C-NMR and ESI-MS. Compared to the positive control compound LY294002, these results showed that compound 4f had significant anti-metastasis effect. **Conclusion:** The tertiary amine group and carbonyl group at C-3 position of ionone amide derivatives may be the essential in the anti-tumor metastasis.

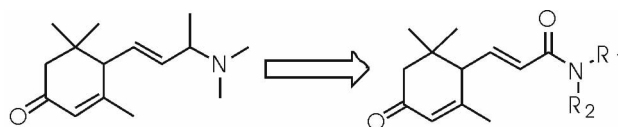
Key words ionone; amide derivative; anti-metastasis

乳腺癌是在女性患者中最常见的恶性肿瘤,是全世界癌症相关死亡率的第二大疾病^[1-2]。肿瘤转移是乳腺癌死亡的主要诱因^[3-4]。转移是一个多步骤的过程,其包括癌细胞从原发肿瘤脱离、迁移、粘附,进入血液或淋巴循环系统,外渗出循环系统,进入组织并形成转移灶^[5-6]。因此,深入了解肿瘤转移的基本机制,寻求抑制肿瘤转移的新策略,发现抗肿瘤转移药物是有效预防和治疗恶性肿瘤转移的关键。近年来,随着研究人员对天然产物成分研究的不断深入,许多天然产物及其衍生物显示了确切的抗肿瘤转移活性^[7]。其中生物碱类化合物活性较强,为抗肿瘤转移药物的发现提供了苗头化合物^[8]。土家族传统药物转筋草中含有大量的生物碱成分。课题组前期活性筛选发现转筋草的乙醇提取物在浓度为1 μ g/mL和5 μ g/mL时,对人乳腺癌细胞MDA-MB-231趋化迁移作用的抑制率分别达到了

66%和95%。为此进一步开展了抗肿瘤转移化学成分研究,并分离得到活性化合物紫罗兰酮生物碱,该结构骨架为首次发现的新天然生物碱结构骨架。该化合物具有较强的抑制MDA-MB-231细胞转移活性。其半数抑制浓度IC₅₀为1.6 μ mol/L^[9]。本文以 α -紫罗兰酮为原料,在前期研究的基础上,设计并合成了一系列紫罗兰酮酰胺衍生物,并结合体外活性筛选,期望得到抗肿瘤转移活性更强的衍生物,为抗肿瘤转移创新药物的发现提供工具化合物。

1 材料与方法

1.1 化合物设计思路



1.2 仪器和试剂 Bruker Advance III 400MHz 核磁共振仪(TMS内标);循环水式多用真空泵 SHB-III A; Bruker Esquire 3000 离子阱质谱仪;IKA® R ETS-D5

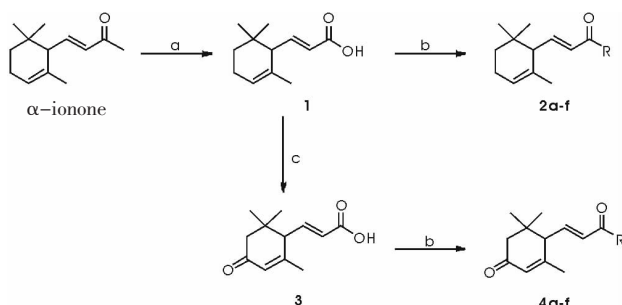
基金项目 国家自然科学基金面上项目基金资助(81373297)

作者简介 陈家浩(1989-),男,硕士在读,研究方向:天然产物结构改造;通信作者:段宏泉,E-mail:duanhq@tjmu.edu.cn。

加热磁力搅拌器; α -紫罗兰酮纯度为 99%, 购买于希尔贝思(天津)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, 所用试剂均为分析纯; 氘代试剂系 ALDRICH 公司生产; 人乳腺癌细胞系 MDA-MB-231, 购自中国科学院上海细胞库。

1.3 合成方法

1.3.1 合成路线 目标化合物的合成路线如图 1 所示。



反应条件: (a) EtOH, NaClO, 0 °C to rt.; (b) CDI, THF, rt.; (c) *t*-BuOOH, CaCl₂, CH₂CN, reflux

图 1 目标化合物的合成路线

Fig 1 Synthetic route of target compounds

1.3.2 目标化合物的结构 本文合成的目标化合物结构如表 1 所示。

表 1 目标化合物结构

Tab 1 The structure of the title compounds

No.	结构	No.	结构
2a		4a	
2b		4b	
2c		4c	
2d		4d	
2e		4e	
2f		4f	

1.3.3 目标产物 2a-f 的合成通法 称取 1 当量化合物 1 和 1.2 当量 N,N-羰基二咪唑于反应瓶中, 加入适量四氢呋喃使其溶解, 室温下搅拌 1 h 后加入 1.1 当量原料胺, 室温搅拌过夜。TLC 监测反应完全。向反应液中加入 1 N 稀盐酸调节 pH 值为中性,

二氯甲烷萃取反应液。再依次用饱和碳酸氢钠溶液、饱和食盐水溶液洗涤后, 收集有机相, 有机相用无水硫酸镁干燥, 过滤, 浓缩后得粗品。粗品经硅胶柱层析得到目标化合物。

1.3.4 目标产物 4a-f 的合成通法

1.3.4.1 目标产物 4a-c 的合成通法: 称取 1 当量原料和 0.2 当量无水氯化钙于反应瓶中, 加入适量乙腈和 5 当量过氧叔丁醇, 于 60 °C 反应数小时。TLC 监测反应完全后, 向反应液中加入 10% 硫代硫酸钠水溶液, 以二氯甲烷萃取, 再用饱和食盐水洗涤有机相, 收集有机相, 有机相用无水硫酸镁干燥, 过滤, 浓缩后得粗品。粗品经硅胶柱层析得到目标化合物 4a-c。

1.3.4.2 目标产物 4d-f 的合成通法: 称取 1 当量化合物 3 和 1.2 当量 N,N-羰基二咪唑于反应瓶中, 加入适量四氢呋喃使其溶解, 室温下搅拌 1 h 后加入 1.1 当量原料, 室温搅拌数小时。TLC 监测反应完全后向反应液中加入 1 N 稀盐酸调节 pH 值为中性, 二氯甲烷萃取反应液。再依次用饱和碳酸氢钠溶液、饱和食盐水溶液洗涤后, 收集有机相, 有机相用无水硫酸镁干燥, 过滤, 浓缩后得粗品。粗品经硅胶柱层析得到目标化合物 4d-f。

1.4 抗乳腺癌转移活性筛选实验

1.4.1 MTT 法筛选衍生物对人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的非细胞毒浓度 首先测定各化合物对人乳腺癌细胞的毒性, 选择非细胞毒性的浓度进行抗肿瘤转移活性筛选(细胞毒性测定结果省略)^[10]。

1.4.2 Transwell Chemotaxis 方法筛选衍生物的抗肿瘤转移活性

1.4.2.1 趋化小室滤膜包被: 置于 10 μ g/mL 浓度的 Fibronectin 中(溶于无血清 RPMI1640 培养液)4 °C 包被过夜, 室温晾干, 光面朝下, 左上剪角后, 备用。

1.4.2.2 化合物样品与细胞共培养: 将 MD-MBA-231 细胞铺于 6 孔板, 在 37 °C、5% CO₂ 孵箱内培养 24 h 使其贴壁, 24 h 后 6 孔板内加入化合物样品, 并在 37 °C、5% CO₂ 孵箱内共孵育 24 h。

1.4.2.3 趋化实验: 将用化合物样品处理过的细胞分别用 0.25% 的胰蛋白酶消化液消化后, 用含 10% FBS 培养液停止消化, 该细胞悬液 1 000 r/min 离心 5 min。弃去上清, 加入 0.1% 的 BM 液将细胞混匀后, 再次 1 000 r/min 离心 5 min 后, 计数, 将细胞密度调成 5 $\times 10^5$ 个/mL, 置于孵箱内备用。配制趋化因子(EGF)溶液, 加于趋化小室的下室, 每孔 30 μ L。盖上包被好的膜, 左上剪角光面向下, 铺于下室。放置胶垫, 固定上室。在上室加入之前准备好的细胞

悬液,每孔 50 μL 。每个化合物样品浓度 3 个复孔,加好后置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 孵箱内培养 3.5 h。3.5 h 后取出下室,刮去没有穿过的细胞。把膜置于培养皿中干燥,然后用三步染色试剂盒进行固定与染色。之后将膜用石蜡油固定,显微镜下计数,每孔 3~5 个视野,各视野细胞数求平均值,3 个孔求平均值。计算公式为:抑制率=(1-化合物样品处理的细胞的趋化细胞数/正常细胞的趋化细胞数) $\times 100\%$

2 结果

2.1 目标化合物的结构表征 化合物 2a 为无色油状物,产率为 45.0%。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 6.66 (dd, $J=15.2$ Hz, 9.6 Hz, 1H), 5.87 (br s, 1H), 5.76 (d, $J=15.2$ Hz, 1H), 5.46 (br s, 1H), 2.88 (d, $J=4.8$ Hz, 3H), 2.94 (d, $J=9.6$ Hz, 1H), 2.01 (m, 2H), 1.56 (d, $J=1.2$ Hz, 3H), 1.47 (m, 1H), 1.18 (m, 1H), 0.90 (s, 3H), 0.85 (s, 3H)。 ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 166.6, 145.0, 132.3, 124.7, 122.2, 53.8, 32.4, 31.1, 27.7, 26.8, 26.3, 23.0, 22.8。ESI-MS m/z : 207.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

化合物 2b 为无色油状物,产率为 40.4%。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 6.72 (dd, $J=15.0$ Hz, 9.7 Hz, 1H), 6.21 (d, $J=15.0$ Hz, 1H), 5.47 (br s, 1H), 3.05 (s, 6H), 2.29 (d, $J=9.7$ Hz, 1H), 2.03 (m, 2H), 1.58 (d, $J=1.6$ Hz, 3H), 1.50 (m, 1H), 1.19 (m, 1H), 0.92 (s, 3H), 0.87 (s, 3H)。 ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 166.8, 146.8, 132.3, 122.2, 121.3, 54.3, 32.4, 31.2, 27.7, 26.9, 23.0, 22.9。ESI-MS m/z : 222.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

化合物 2c 为无色油状物,产率为 41.6%。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 6.65 (dd, $J=14.8$ Hz, 9.6 Hz, 1H), 5.71 (d, $J=14.8$ Hz, 1H), 5.62 (d, $J=6.8$ Hz, 1H), 5.44 (br s, 1H), 4.14 (m, 1H), 2.22 (d, $J=9.6$ Hz, 1H), 2.00 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 1.55 (d, $J=1.6$ Hz, 3H), 1.47 (m, 1H), 1.17 (d, $J=6.4$ Hz, 6H), 1.12 (m, 1H), 0.90 (s, 3H), 0.84 (s, 3H)。 ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 164.9, 144.8, 132.4, 125.1, 122.1, 53.8, 44.3, 32.4, 31.1, 27.8, 26.8, 23.0, 22.9, 22.8。ESI-MS m/z : 236.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

化合物 2d 为无色油状物,产率为 26.2%。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 6.67 (dd, $J=15.0$ Hz, 9.6 Hz, 1H), 6.20 (d, $J=15.0$ Hz, 1H), 5.47 (br s, 1H), 3.56 (m, 4H), 2.28 (d, $J=9.6$ Hz, 1H), 2.03 (br s, 1H), 1.66 (m, 2H), 1.59 (br s, 6H), 1.49 (m, 1H), 1.19 (m, 1H), 0.92 (s, 3H), 0.87 (s, 3H)。 ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 165.5, 146.2, 132.5, 122.1, 121.7, 54.3, 32.4, 31.3, 27.7, 26.9, 24.7, 23.0, 22.9。ESI-MS m/z : 262.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

化合物 2e 为无色油状物,产率为 19.8%。 ^1H

NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 6.75 (dd, $J=15.0$ Hz, 9.7 Hz, 1H), 6.15 (d, $J=15.0$ Hz, 1H), 5.48 (br s, 1H), 3.59 (m, 8H), 2.28 (d, $J=9.7$ Hz, 1H), 2.03 (br s, 2H), 1.57 (d, $J=1.4$ Hz, 3H), 1.47 (m, 1H), 1.22 (m, 1H), 0.92 (s, 3H), 0.86 (s, 3H)。 ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 165.6, 147.7, 132.1, 122.4, 120.5, 66.8, 54.3, 32.5, 31.2, 27.7, 26.9, 23.0, 22.9。ESI-MS m/z : 264.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

化合物 2f 为黄色油状物,产率为 18.6%。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 6.70 (dd, $J=15.1$ Hz, 9.6 Hz, 1H), 6.04 (br s, 1H), 5.75 (d, $J=15.1$ Hz, 1H), 5.46 (br s, 1H), 3.40 (q, $J=5.7$ Hz, 2H), 2.45 (t, $J=5.9$ Hz, 2H), 2.25 (s, 7H), 2.02 (br s, 2H), 1.56 (d, $J=0.92$ Hz, 3H), 1.46 (m, 1H), 1.17 (m, 1H), 0.91 (s, 3H), 0.85 (s, 3H)。 ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 165.7, 145.2, 132.4, 124.7, 122.2, 57.8, 53.8, 45.2, 36.7, 32.5, 31.1, 27.7, 26.9, 23.0, 22.9。ESI-MS m/z : 265.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

化合物 4a 为黄色油状物,产率为 23.2%。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 6.79 (dd, $J=15.2$ Hz, 9.4 Hz, 1H), 5.96 (br s, 1H), 5.91 (br s, 1H), 5.87 (d, $J=15.2$ Hz, 1H), 2.89 (d, $J=4.9$ Hz, 3H), 2.70 (d, $J=9.4$ Hz, 1H), 2.37 (d, $J=16.8$ Hz, 1H), 2.10 (d, $J=16.8$ Hz, 1H), 1.89 (s, 3H), 1.06 (s, 3H), 1.01 (s, 3H)。 ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 198.8, 165.5, 160.0, 140.4, 126.7, 126.6, 54.9, 47.3, 36.7, 28.0, 27.2, 26.4, 23.6。ESI-MS m/z : 222.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

化合物 4b 黄色油状物,产率为 22.4%。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 6.82 (dd, $J=14.8$ Hz, 9.6 Hz, 1H), 6.36 (d, $J=14.8$ Hz, 1H), 5.98 (s, 1H), 3.10 (s, 3H), 3.05 (s, 3H), 2.74 (d, $J=9.6$ Hz, 1H), 2.40 (d, $J=16.8$ Hz, 1H), 2.12 (d, $J=16.8$ Hz, 1H), 1.92 (d, $J=1.2$ Hz, 3H), 1.08 (s, 3H), 1.02 (s, 3H)。 ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 169.8, 165.7, 159.8, 142.0, 126.7, 123.5, 55.4, 47.4, 36.7, 28.0, 27.2, 23.6。ESI-MS m/z : 236.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

化合物 4c 为无色油状物,产率为 21.7%。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 6.80 (dd, $J=15.2$ Hz, 9.2 Hz, 1H), 5.97 (s, 1H), 5.81 (d, $J=15.2$ Hz, 1H), 5.46 (d, $J=6.4$ Hz, 1H), 4.15 (m, 1H), 2.70 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 2.38 (d, $J=16.8$ Hz, 1H), 2.10 (d, $J=16.8$ Hz, 1H), 1.91 (d, $J=0.8$ Hz, 3H), 1.21 (d, $J=5.6$ Hz, 6H), 1.08 (s, 3H), 1.03 (s, 3H)。 ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 198.8, 163.8, 160.0, 140.4, 127.0, 126.7, 54.9, 47.3, 41.6, 36.8, 28.0, 27.2, 23.7, 22.8。ESI-MS m/z : 250.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

化合物 4d 为无色油状物,产率为 37.9%。 ^1H

NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 6.74 (dd, $J = 14.9$ Hz, 9.5 Hz, 1H), 6.34 (d, $J = 15.0$ Hz, 1H), 5.93 (br s, 1H), 3.58 (br s, 2H), 3.45 (br s, 2H), 2.70 (d, $J = 9.5$ Hz, 1H), 2.35 (d, $J = 16.8$ Hz, 1H), 2.08 (d, $J = 16.7$ Hz, 1H), 1.88 (s, 3H), 1.57 (br s, 6H), 1.04 (s, 3H), 0.98 (s, 3H)。 ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 198.7, 164.4, 159.9, 141.5, 126.6, 123.9, 55.4, 47.4, 36.6, 27.9, 27.1, 25.5, 24.5, 23.6。 ESI-MS m/z : 276.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

化合物 4e 为无色油状物, 产率为 37.9%。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 6.86 (dd, $J = 15.0$ Hz, 9.4 Hz, 1H), 6.31 (d, $J = 15.0$ Hz, 1H), 5.98 (br s, 1H), 3.71 (br s, 6H), 3.55 (br s, 2H), 2.74 (d, $J = 9.4$ Hz, 1H), 2.38 (d, $J = 16.8$ Hz, 1H), 2.12 (d, $J = 16.7$ Hz, 1H), 1.91 (s, 3H), 1.08 (s, 3H), 1.02 (s, 3H)。 ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 198.6, 164.5, 159.5, 143.1, 126.8, 122.6, 55.4, 47.4, 36.7, 28.0, 27.2, 23.6, 19.2。 ESI-MS m/z : 278.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

化合物 4f 为无色油状物, 产率为 52.4%。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 6.81 (dd, $J = 15.1$ Hz, 9.3 Hz, 1H), 6.19 (br s, 1H), 5.97 (s, 1H), 5.88 (d, $J = 15.1$ Hz, 1H), 3.42 (q, $J = 5.6$ Hz, 1H), 2.70 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H), 2.47 (t, $J = 5.8$ Hz, 1H), 2.38 (d, $J = 16.7$ Hz, 1H), 2.26 (s, 6H), 2.10 (d, $J = 16.7$ Hz, 1H), 1.90 (s, 3H), 1.07 (s, 3H), 1.02 (s, 3H)。 ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 189.7, 164.7, 159.8, 140.5, 126.8, 126.7, 57.6, 54.9, 47.3, 45.1, 36.8, 36.7, 28.0, 27.2, 23.6。 ESI-MS m/z : 279.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

2.2 目标化合物的抗肿瘤转移活性评价 各衍生物对 EGF 诱导的 MD-MBA-231 乳腺癌细胞趋化转移运动的抑制作用如表 2 所示。

表 2 衍生物对 EGF 诱导的 MDA-MB-231 乳腺癌细胞趋化运动抑制作用

Tab 2 Inhibiting effects of derivatives on the EGF-induced migration of MDA-MB-231 cells

No.	$\text{IC}_{50}/(\text{mol/L})$	No.	$\text{IC}_{50}/(\text{mol/L})$
2a	23.6	4a	48.43
2b	>50	4b	>50
2c	4.5	4c	32.45
2d	5.1	4d	>50
2e	15.36	4e	>50
2f	>50	4f	0.83
LY294002	1.18		

3 讨论

在抗肿瘤转移活性筛选中, 笔者选择了文献和

本课题组研究报告^[9,11-12]所用的阳性对照化合物 LY294002 为 PI3K 抑制剂^[13], 对本文合成的紫罗兰酮酰胺衍生物筛选结果表明, 相比于阳性对照 LY294002, 化合物 4f 的抗乳腺癌转移活性较强, 这可能和化合物 4f 含有碱性叔胺基团有关, 叔胺基团的碱性强于酰胺基团, 能与含有酸性氨基酸残基的蛋白结构域相互作用。同时, 化合物 4f 与 2f 相比在紫罗兰酮母核 3 位多了羰基, 羰基可以作为氢键受体与蛋白质中的氢键供体基团, 如羟基、氨基等基团发生氢键作用。综上所述, 先导化合物中叔胺基团和 3 位羰基很可能是发挥抗肿瘤转移作用的必需基团。这为该活性天然产物的深入研究提供了重要实验依据。

参考文献:

- [1] AL-Hajj M, Wicha M S, Benito-Hernandez A, et al. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2003, 100(7): 3983
- [2] Davis N M, Sokolosky M, Stadelman K, et al. Deregulation of the EGFR/PI3 K/PTEN/Akt/mTORC1 pathway in breast cancer: possibilities for therapeutic intervention [J]. *Oncotarget*, 2014, 5(13): 4603
- [3] Lu J, Steeg P S, Price J E, et al. Breast cancer metastasis: challenges and opportunities [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(12): 4951
- [4] Chiang A C, Massagu J. Molecular basis of metastasis [J]. *N Engl J Med*, 2008, 359(26): 2814
- [5] Culhane A C, Quackenbush J. Confounding effects in "A six-gene signature predicting breast cancer lung metastasis" [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(18): 7480
- [6] Ming A J, Kang Y, Serganova I, et al. Distinct organ-specific metastatic potential of individual breast cancer cells and primary tumors [J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(1): 44
- [7] 姜永莉, 刘兆鹏. 天然多酚衍生物抗肿瘤侵袭与转移研究进展 [J]. *中国药物化学杂志*, 2011, 21(1): 60
- [8] 严淑, 刘宝瑞. 七种天然生物碱抗肿瘤作用研究进展 [J]. *现代肿瘤医学*, 2010, 18(6): 1227
- [9] 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
- [10] Wu J, Zhang B, Wu M, et al. Screening of a PKC zeta-specific kinase inhibitor PKCzI257.3 which inhibits EGF-induced breast cancer cell chemotaxis [J]. *Invest New Drugs*, 2010, 28(3): 268
- [11] 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
- [12] Wang H L, Qin N, Liu J, et al. Synthesis and antimetastatic effects of E-salignone amide derivatives [J]. *Drug Dev Res*, 2014, 75(2): 76
- [13] Yanamandra M, Mitra S, Giri A. Development and application of PI3K assays for novel drug discovery [J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2015, 10(2): 171

(2015-11-05 收稿)