

许地元,叶 萍,李海丽,等. 苞叶雪莲总黄酮提取工艺优化及其粗提物抗肿瘤活性[J]. 江苏农业科学,2021,49(4):130-134.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2021.04.025

# 苞叶雪莲总黄酮提取工艺优化 及其粗提物抗肿瘤活性

许地元<sup>1,2</sup>, 叶 萍<sup>1,3</sup>, 李海丽<sup>1,2,3</sup>, 林鹏程<sup>1,2,3</sup>

(1. 青海民族大学药学院, 青海西宁 810007; 2. 青藏高原植物化学重点实验室, 青海西宁 810007;

3. 青海省药物分析重点实验室, 青海西宁 810007)

**摘要:**为了明确苞叶雪莲总黄酮提取工艺及其粗提物各段位抗肿瘤活性,采用正交试验优化苞叶雪莲总黄酮提取工艺,再通过组蛋白去乙酰化酶抑制试验初步评价苞叶雪莲粗提物各段位抗肿瘤活性。结果确认提取苞叶雪莲总黄酮的最佳料液比为 1 g : 25 mL,乙醇体积分数为 60%,提取温度为 60 ℃。苞叶雪莲粗提物的正丁醇相对组蛋白去乙酰化酶具有较好的抑制作用,抑制率高达 91.34%,说明苞叶雪莲粗提物的正丁醇相可作为抗肿瘤药物的筛选。

**关键词:**苞叶雪莲;总黄酮;正交试验;组蛋白去乙酰化酶

**中图分类号:**R284      **文献标志码:**A      **文章编号:**1002-1302(2021)04-0130-05

苞叶雪莲[*Saussurea obvallata* (DC.) Edgew.] 为风毛菊属雪莲亚属植物,别称苞叶风毛菊,多年生草本植物,高 16~60 cm。其花为蓝紫色,瘦果矩圆形,长 5 mm,花果期 7—9 月,生于高山草地、流石滩、溪边石隙处、山坡多石处,生境海拔 3 200~4 700 m,是高原地区特有的一种植物,其性温、微苦,清热解毒、祛风除湿、通经活血<sup>[1]</sup>。藏医将苞叶雪莲用于风湿性关节炎、高山不适症、月经不调、胎衣不下等症<sup>[2]</sup>。在前期的预试验中发现苞叶雪莲中含有较多黄酮类化合物。黄酮类物质作为植物中广泛存在的一类化合物,在医药领域应用广泛。相关研究已经证明许多黄酮类成分对癌症、肿瘤、抗衰老、心脑血管保护、抑菌等方面有明显疗效<sup>[3-5]</sup>。关于总黄酮的提取工艺已有多篇文献报道<sup>[6-7]</sup>,但目前还没有关于苞叶雪莲总黄酮提取工艺优化及抗肿瘤方面的深入研究。本试验采用正交试验优化法探讨各因素对苞叶雪莲总黄酮提取率的影响,优化苞叶雪莲总黄酮的提取工艺,同时

对苞叶雪莲粗提物的石油醚相、乙酸乙酯相、正丁醇相及水相进行了组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylases, HDACs)活性筛选,初步研究苞叶雪莲的抗肿瘤活性。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器及试剂、材料

AL204 电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司);HH-6 数显恒温水浴锅(国华电器有限公司);T6 新世纪紫外-可见分光光度计(北京谱析通用仪器有限责任公司);XK96-3 型微量振荡器(泰州市姜堰区新康医疗器械有限公司);酶标仪 POLARstar Omega(德国 BMG LABTECH 公司);384 孔白色微孔板(Greiner # 784075);恒温培育箱(上海跃进医疗器械厂)。

乙醇(分析纯,天津市富宇精细化工有限公司);硝酸铝(分析纯,天津市大茂化学试剂厂);亚硝酸钠(分析纯,天津市大茂化学试剂厂);氢氧化钠(分析纯,天津市大茂化学试剂厂);DMSO(细胞培养级,索莱宝生物科技有限公司);H3K9me0-Eu(K)抗体(Cisbio Bioassays);链霉亲和素 XL-665(Cisbio Bioassays);检测缓冲液(Cisbio Bioassays);HDAC1(Signal Chem);组蛋白 H3(1-21)赖氨酸 9 乙酰化生物素化肽(AnaSpec)。

藏药苞叶雪莲于 2019 年 8 月采自青海省拉脊

收稿日期:2020-09-14

基金项目:国家自然科学基金(编号:81760783);青海省青藏高原植物化学重点实验室创新平台建设专项(编号:2017-ZJ-Y19)。

作者简介:许地元(1996—),男,湖北黄冈人,硕士研究生,主要从事藏药功效及成分的研究。E-mail: xudyuan.com@qq.com。

通信作者:李海丽,教授,主要研究方向为药理学。E-mail: 1164948799@qq.com。

山,由青海民族大学药学院林鹏程教授鉴别确定为藏药材苞叶雪莲[ *Saussurea obvallata* ( DC. ) Edgew. ]。试验时间为 2019 年 10 月至 2020 年 6 月,试验地点为青海民族大学药学院。

1.2 试验方法

1.2.1 苞叶雪莲的总黄酮提取方法 称取苞叶雪莲药材粉末 1.00 g 于锥形瓶中,在一定的料液比、乙醇体积分数、提取温度条件下,固定 50 Hz,60 ℃,超声 5 min,回流提取时间 70 min,进行总黄酮的回流提取,抽滤,取出滤液,共提取 2 次,合并滤液并浓缩。

1.2.2 总黄酮提取率的测定

1.2.2.1 绘制芸香苷标准曲线 用 30% 乙醇(体积分数,下同)将 8.75 mg 芸香苷对照品定容于 25 mL 容量瓶中,摇匀,得质量浓度为 0.35 mg/mL 的对照品溶液。用移液管吸取 0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL 对照品溶液,分别置于规格为 25 mL 的 6 个容量瓶中。加入 30% 乙醇 10.0、9.5、9.0、8.5、8.0、7.5 mL,摇匀。然后将 1.0 mL 5% NaNO<sub>2</sub> 加入其中,摇匀。4 min 后,将 1.0 mL 10% Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 加入其中,摇匀。10 min 后,将 5 mL 1 mol/L NaOH 加入其中,摇匀。最后用 30% 乙醇定容,充分振摇。15 min 后,供测定使用。于 500 nm 波长处测定吸光度,横坐标为芸香苷浓度 *C* (mg/mL),纵坐标为相应的吸光度 *D*,得标准曲线方程为: $y = 18.614x + 0.0001$ , $r^2 = 0.9993$ 。

1.2.2.2 苞叶雪莲总黄酮提取率的测定 用 10 mL 50% 乙醇将浓缩提取液溶解,用移液管准确吸取 1 mL 溶液,置于 50 mL 容量瓶中,按上述方法操作,测量吸光度。

$$n = \frac{C \times D}{1\,000\,m} \times 100\%。$$

式中,*n* 表示总黄酮的提取率,*C* 表示根据吸光度值计算出的溶液浓度 (mg/mL);*D* 表示溶液稀释倍数;*m* 表示药材取样量 (g)。

1.2.3 单因素试验设计

1.2.3.1 料液比对提取率的影响 准确称取药材粉末 1.00 g,置于 50 mL 圆底烧瓶中,乙醇体积分数 60%,料液比分别为 1 : 10、1 : 15、1 : 20、1 : 25、1 : 30 (g : mL),50 Hz,60 ℃,超声 5 min,然后在提取温度 60 ℃ 条件下,水浴回流提取 70 min,考察,计算提取率,每组试验平行操作 3 次,取平均值。

1.2.3.2 乙醇体积分数对提取率的影响 准确称

取药材粉末 1.00 g,置于 50 mL 圆底烧瓶中,分别加入料液比 1 g : 25 mL,乙醇体积分数为 40%、50%、60%、70%、80% 的提取溶剂,50 Hz,60 ℃,超声 5 min,然后在提取温度 60 ℃ 条件下,水浴回流提取 70 min,计算提取率,每组试验平行操作 3 次,取平均值。

1.2.3.3 提取温度对提取率的影响 准确称取药材粉末 1.00 g,置于 50 mL 圆底烧瓶中,料液比 1 g : 25 mL,乙醇体积分数 60%,50 Hz,60 ℃,超声 5 min,分别于 40、50、60、70、80 ℃ 的提取温度下水浴回流 70 min,计算提取率,每组试验平行操作 3 次,取平均值。

1.2.4 正交试验设计 本试验将影响苞叶雪莲总黄酮提取率的料液比 (A)、乙醇体积分数 (B)、提取温度 (D) 作为试验因素,用正交试验软件设计试验,选取 L<sub>9</sub> (3<sup>4</sup>),空出第 3 列为 C 因素作空白误差分析,以提取率作为参考指标。具体因素及水平见表 1。

表 1 苞叶雪莲总黄酮提取正交试验设计

水平	试验因素		
	A:料液比 (g : mL)	B:乙醇提积分数 (%)	D:提取温度 (min)
1	1 : 15	40	50
2	1 : 20	50	60
3	1 : 25	60	70

1.2.5 组蛋白去乙酰化酶抑制试验的样品及溶液配制 组蛋白去乙酰化酶 (histone deacetylases, HDACs) 是一种依赖锌离子的金属蛋白酶,它与多种原癌基因和肿瘤抑制基因密切相关。HDACs 过度表达并被转录因子募集,会导致特定基因被不正常抑制,从而导致肿瘤或其他疾病的发生<sup>[8-9]</sup>。HDACs 抑制剂通过与锌离子螯合竞争性地抑制 HDACs 的催化活性,诱导肿瘤细胞分化和凋亡,从而抑制肿瘤细胞的生长<sup>[10]</sup>。HDAC1 是 HDACs 的一种,位于细胞核内,调控组蛋白乙酰化修饰<sup>[11-12]</sup>。

1.2.5.1 苞叶雪莲提取物的萃取 将苞叶雪莲药材粉碎 (3.5 kg),浸泡在一定体积的 95% 乙醇中 24 h,用纱布过滤,取上清液旋蒸成浸膏后;按照上述步骤重复 3 次,将 3 次所得的浸膏合并,得到浸膏①。继续将 95% 乙醇浸泡过的滤渣放入 65% 乙醇浸泡 24 h,用纱布过滤,取上清液旋蒸成浸膏后;按照上述步骤重复 3 次,将 3 次所得的浸膏合并,得到浸膏②。继续将 65% 乙醇浸泡过的滤渣放入去离

子水中浸泡 24 h,用纱布过滤,取上清液旋蒸成浸膏后;按照上述步骤重复 3 次,将 3 次所得的浸膏合并,得到浸膏③。将所得浸膏①②③合并得到苞叶雪莲粗提物,用适量的水溶解。置于 2 000 mL 的分液漏斗中,依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取,浓缩,分别得到石油醚相 A、乙酸乙酯相 B、正丁醇相 C、水相 D。

1.2.5.2 酶反应体系缓冲液的配制 缓冲液的配方为 50 mmol/L Tris - HCl, pH 值为 8.4, 0.137 mmol/L NaCl, 2.7 mmol/L KCl, 1 mmol/L  $MgCl_2$ , 0.01% 吐温 20。

1.2.5.3 化合物溶液的配制 分别取石油醚相 A、乙酸乙酯相 B、正丁醇相 C、水相 D 的干浸膏各 0.4 mg,分别溶解于 100  $\mu$ L 的 DMSO 中,超声 5 min。再分别取 1  $\mu$ L 溶解样品的 DMSO,分别加入上述配制的缓冲溶液 99  $\mu$ L,得到用于检测苞叶雪莲抗 HDAC1 酶有效提取物 A、B、C、D 浓度为 40  $\mu$ g/mL 的溶液。

1.2.5.4 酶溶液的配制 将 50  $\mu$ g HDAC1 加入上述配制好的缓冲液稀释为浓度为 10 ng/ $\mu$ L 的酶溶液,备用。

1.2.5.5 底物溶液的配制 组蛋白 H3(1-21)赖氨酸 9 乙酰化生物素化肽[H3(1-21)K9]的初始浓度为 5 mmol/L,加入上述配制好的缓冲液稀释至浓度为 0.5  $\mu$ mol/L,备用。

1.2.5.6 抗体储备液的配制 取 H3K9me0 - Eu(K)抗体 40  $\mu$ L 用检测缓冲液稀释 50 倍,备用。

1.2.5.7 链霉素和素 XL-665(SA-XL665)储备液的配制 取浓度为 16.67  $\mu$ mol/L 的链霉素和素 XL-665 12  $\mu$ L,用检测缓冲液稀释 166.7 倍,备用。

1.2.6 HDAC1 酶存活率的测定方法 取“1.2.3.3”节制备的溶液 A、B、C、D 各 4  $\mu$ L 置于 396 孔板中,每组设 3 个复孔,再分别加入 2  $\mu$ L HDAC1 酶,室温条件下反应 5 min,加入 4  $\mu$ L H3(1-21)K9 底物溶液,37  $^{\circ}$ C,培养箱中培养 60 min。加入 5  $\mu$ L SA-XL665 储备液和 5  $\mu$ L H3K9me0 - Eu(K)抗体储备液,665 nm 测值,得试验组吸光度。

将 4  $\mu$ L 的缓冲溶液置于 396 孔板中,再分别加入 2  $\mu$ L HDAC 酶,室温条件下反应 5 min,加入 4  $\mu$ L H3(1-21)K9 底物溶液,37  $^{\circ}$ C,培养箱中培养 60 min。加入 5  $\mu$ L SA-XL665 储备液和 5  $\mu$ L H3K9me0 - Eu(K)抗体储备液,665 nm 测值,得对照组吸光度。计算 HDAC1 酶存活率:

$$\text{存活率} = \text{试验组吸光度} / \text{对照组吸光度} \times 100\%。$$

1.2.7 数据统计分析 采用 Microsoft Excel 2010、Origin 2018、SPSS 20.0、GraphPad 6.0 进行试验数据处理、分析及绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验结果

2.1.1 不同料液比对苞叶雪莲中总黄酮提取率的影响 由图 1 可以看出,料液比在 1 g : 20 mL 之后,提取率变化不明显。其主要原因可能是当料液比大于 1 g : 20 mL 之后,总黄酮大部分已经溶出,增大溶剂对体系作用不明显,为节约提取成本,正交试验中料液比因素水平为 1 g : 15 mL、1 g : 20 mL、1 g : 25 mL。

2.1.2 不同乙醇体积分数对苞叶雪莲中总黄酮提取率的影响 由图 2 看出,提取剂浓度低于 60% 时,总黄酮的含量随着乙醇体积分数的升高而增大,之后,提取率下降,这可能是因为苞叶雪莲总黄酮的极性与 60% 乙醇最为相似,故浓度过低或过高都会降低总黄酮的溶出,与此同时增加了叶绿素等其他色素物质的溶出,干扰试验。因此正交试验中选择乙醇体积分数因素水平为 40%、50%、60%。

2.1.3 不同提取温度对苞叶雪莲中总黄酮提取率的影响 由图 3 看出,提取温度超过 60  $^{\circ}$ C,提取率随着温度的提升反而降低,可能是因为苞叶雪莲中的黄酮类物质遇热不稳定,结构分解,导致测量的总黄酮含量降低。而在 40~50  $^{\circ}$ C 时,总黄酮提取率有明显的提升,可能是温度升高后,增加了物质的溶出速度。因此正交试验选择提取温度因素的水平为 50、60、70  $^{\circ}$ C。

### 2.2 正交试验结果与分析

由上述单因素试验结果可知 3 个因素对苞叶雪莲总黄酮提取率的影响,每个因素选取 3 个水平,其中温度为 50、60、70  $^{\circ}$ C,料液比为 1 : 15、1 : 20、1 : 25(g : mL),乙醇体积分数为 40%、50%、60%。按照  $L_9(3^4)$  进行正交试验,空出第 3 列为 C 因素作空白误差分析,因素水平见表 1,正交试验安排及结果见表 2,方差分析结果见表 3。

由表 2、表 3 可知  $R_B > R_A > R_D$ ,乙醇体积分数间存在明显差异,最佳提取工艺为  $A_3B_3D_2$ ,即最佳提取工艺为料液比 1 g : 25 mL,乙醇体积分数为 60%,提取温度为 60  $^{\circ}$ C。同时方差分析可以得出乙

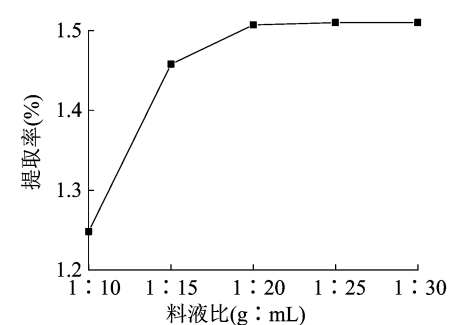


图1 不同料液比对苞叶雪莲中总黄酮的提取率

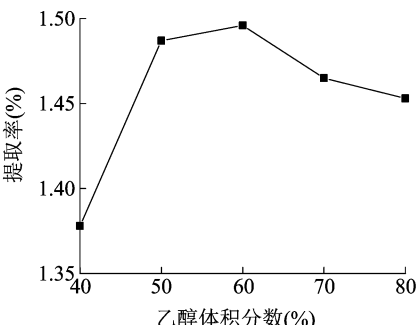


图2 不同乙醇浓度对苞叶雪莲中总黄酮的提取率

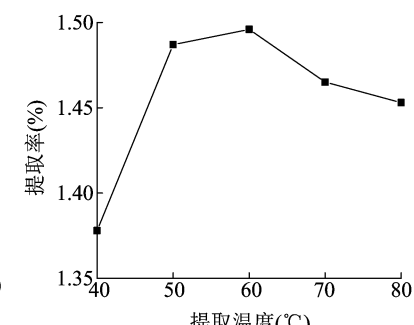


图3 不同温度对苞叶雪莲中总黄酮的提取率

表 2 苞叶雪莲总黄酮提取工艺 L<sub>9</sub> (3<sup>4</sup>) 正交试验结果

试验号	A:料液比 (g : mL)	B:乙醇 体积分数( % )	D:提取温度 ( °C )	提取率 ( % )
1	1 : 15	40	50	0.85
2	1 : 15	50	60	1.407
3	1 : 15	60	70	1.457
4	1 : 20	40	70	0.887
5	1 : 20	50	50	1.452
6	1 : 20	60	60	1.512
7	1 : 25	40	60	1.014
8	1 : 25	50	70	1.363
9	1 : 25	60	50	1.576
K <sub>1</sub>	1.238	0.917	1.293	
K <sub>2</sub>	1.284	1.407	1.311	
K <sub>3</sub>	1.318	1.515	1.236	
R	0.080	0.598	0.075	

表 3 苞叶雪莲总黄酮提取工艺方差分析

来源	离差平方和	自由度	F 值	P 值
A	0.01	2	1.37	P < 0.05
B	0.61	2	87.04	
D	0.01	2	1.32	
C(误差)	0.01	2		

醇体积分数对提取结果具有显著性影响,与极差分析结果一致。取 A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>D<sub>2</sub> 条件试验 3 次,结果取平均值,得到总黄酮的提取率为 1.589%,说明该工艺所选的参数可行。

2.3 苞叶雪莲提取物抗 HDAC1 酶活性

由图 4 可以看出,与对照组相比,石油醚相、乙酸乙酯相、正丁醇相、水相均具有显著性差异(其中石油醚相  $P < 0.05$ ,乙酸乙酯相、正丁醇相、水相  $P < 0.001$ )。以抑制 HDAC1 酶的能力为活性评价指标苞叶雪莲的抗肿瘤活性,一般认为当 HDAC1 酶存活率低于 50% 时,具有明显的抗肿瘤活性。由图 4 结果可知,乙酸乙酯相、正丁醇相及水相均具有

较好的抗肿瘤作用,其中正丁醇相抗肿瘤作用最佳,抑制率高达 91.34%。

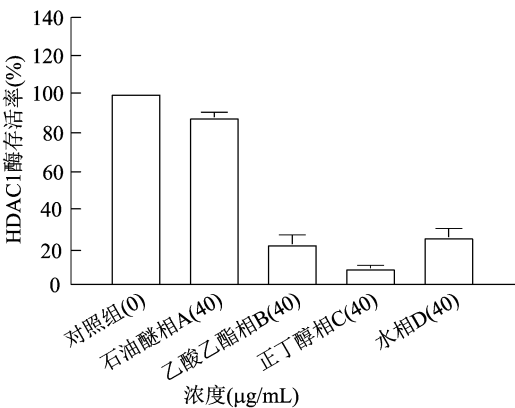


图4 苞叶雪莲提取物抗 HDAC1 酶活性试验

3 讨论与结论

3.1 正交试验设计的苞叶雪莲总黄酮最佳提取工艺

在提取时间为 70 min 的情况下,料液比 1 g : 25 mL、乙醇体积分数 60%、提取温度 60 °C 为苞叶雪莲总黄酮的最佳提取工艺,得到总黄酮的提取率为 1.589%。同时,各因素对总黄酮提取率的影响顺序为乙醇体积分数 > 料液比 > 提取温度。

3.2 研究意义

癌症是世界上最致命的疾病之一<sup>[13]</sup>。除了遗传因素,癌症的发生还涉及表观遗传修饰,包括 DNA(甲基化和去甲基化)和组蛋白的共价修饰<sup>[14-15]</sup>。表观遗传调控通过相应的酶实现可逆的修饰过程。组蛋白赖氨酸乙酰化水平受组蛋白去乙酰化酶(HDACs)和组蛋白乙酰转移酶(HATS)的调控,在表观遗传修饰中起着关键作用<sup>[16-19]</sup>。HDACs 在不同的肿瘤中都有过表达<sup>[20]</sup>,组蛋白去乙酰化酶抑制剂(HDACis)已被证明通过多种机制显著抑制细胞增殖、血管生成和转移<sup>[21]</sup>。到目前为

止,在人类中已经发现了 18 种 HDAC 亚型,它们可以分为 4 类。Ⅰ类(1、2、3、8)、Ⅱ类(4、5、6、7、9、10)和Ⅳ(11) HDAC 是依赖于  $\text{Zn}^{2+}$  的酶,而Ⅲ类 HDAC(SIRT1-7)的活性需要  $\text{NAD}^+$  [22-24]。市场上已经批准了 5 种 HDACis,即伏立宁(SAHA)、贝力宁(PXD101)、潘诺比妥(LBH589)、罗米地平(FK228)和氯氮酰胺(CS055)。然而,大多数 HDACis 对实体瘤的抗肿瘤效果并不理想,因此开发新型 HDACis 对实体肿瘤的高效抗肿瘤具有重要意义。

本试验优化了苞叶雪莲总黄酮提取工艺,确定了其最佳提取工艺,且利用组蛋白去乙酰化酶抑制试验明确了苞叶雪莲粗提物中萃取的乙酸乙酯相、正丁醇相、水相均具有良好的抑制 HDAC1 酶的活性,其中正丁醇相抑制效果最好。后续可通过研究苞叶雪莲的正丁醇相提取部位,开发出一种 HDACs 抑制剂,为抗肿瘤药物的开发提供思路。

#### 参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京:科学出版社,1999:27-28.
- [2] 吴征镒,李秉滔. 西藏植物志:第四卷[M]. 北京:科学出版社,1985:868-869.
- [3] 冯靖,彭效明,李翠清,等. 天然产物中黄酮类化合物的开发研究进展[J]. 中医药导报,2018,24(4):71-74.
- [4] Khater M, Ravishankar D, Greco F, et al. Metal complexes of flavonoids: their synthesis, characterization and enhanced antioxidant and anticancer activities[J]. Future Medicinal Chemistry, 2019, 11(21):2845-2867.
- [5] Jucá M M, Cysne F F, de Almeida J C, et al. Flavonoids: biological activities and therapeutic potential[J]. Natural Product Research, 2020, 34(5):692-705.
- [6] 田欢,张雨鑫,成超超,等. 正交试验优化葡萄籽总黄酮提取工艺[J]. 山东化工,2020,49(3):25-26+32.
- [7] 孙艳,崔旭盛,刘静,等. 酸枣叶黄酮的提取工艺优化及其抗秀丽隐杆线虫氧化损伤活性[J]. 食品工业科技,2020,41(8):143-150.
- [8] Witt O, Deubzer H E, Milde T, et al. HDAC family: What are the cancer relevant targets? [J]. Cancer Letters, 2009, 277(1):8-21.
- [9] Seira O, Wang W, Lee S, et al. HDAC inhibition leads to age-dependent opposite regenerative effect upon PTEN deletion in rubrospinal axons after SCI[J]. Neurobiology of Aging, 2020, 90:99-109.
- [10] Glaser K B. HDAC inhibitors: clinical update and mechanism-based potential[J]. Biochemical Pharmacology, 2007, 74(5):659-671.
- [11] Algate K, Haynes D, Fitzsimmons T, et al. Histone deacetylases 1 and 2 inhibition suppresses cytokine production and osteoclast bone resorption *in vitro* [J]. Journal of Cellular Biochemistry, 2020, 121(1):244-258.
- [12] Fan C, Huang Y X. Identification of novel potential scaffold for class I HDACs inhibition: An *in-silico* protocol based on virtual screening, molecular dynamics, mathematical analysis and machine learning [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2017, 491(3):800-806.
- [13] Nepali K, Sharma S, Sharma M, et al. Rational approaches, design strategies, structure activity relationship and mechanistic insights for anticancer hybrids[J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2014, 77:422-487.
- [14] Zhang H, Shang Y P, Chen H Y, et al. Histone deacetylases function as novel potential therapeutic targets for cancer [J]. Hepatology Research: the Official Journal of the Japan Society of Hepatology, 2017, 47(2):149-159.
- [15] Sangwan R, Rajan R, Mandal P K. HDAC as onco target: Reviewing the synthetic approaches with SAR study of their inhibitors[J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2018, 158:620-706.
- [16] Lee H Y, Tsai A C, Chen M C, et al. Azaindoly sulfonamides, with a more selective inhibitory effect on histone deacetylase 6 activity, exhibit antitumor activity in colorectal cancer HCT116 cells[J]. Journal of Medicinal Chemistry, 2014, 57(10):4009-4022.
- [17] de Vreese R, Depetter Y, Verhaeghe T, et al. Synthesis and SAR assessment of novel Tubathian analogs in the pursuit of potent and selective HDAC6 inhibitors [J]. Organic & Biomolecular Chemistry, 2016, 14(8):2537-2549.
- [18] Ojha R, Huang H L, Huangfu W C, et al. 1-Aroylindoline-hydroxamic acids as anticancer agents, inhibitors of HSP90 and HDAC[J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2018, 150:667-677.
- [19] Abdizadeh T, Kalani M R, Abnous K, et al. Design, synthesis and biological evaluation of novel coumarin-based benzamides as potent histone deacetylase inhibitors and anticancer agents[J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2017, 132:42-62.
- [20] Chen X, Zhao S, Li H, et al. Design, synthesis and biological evaluation of novel isoidindolinone derivatives as potent histone deacetylase inhibitors [J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2019, 168:110-122.
- [21] Cheng C, Yun F, He J, et al. Design, synthesis and biological evaluation of novel thioquinazolinone-based 2-aminobenzamide derivatives as potent histone deacetylase (HDAC) inhibitors[J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2019, 173:185-202.
- [22] Bottomley M J, Lo S P, di Giovine P, et al. Structural and functional analysis of the human HDAC4 catalytic domain reveals a regulatory structural zinc-binding domain[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2008, 283(39):26694-26704.
- [23] Haigis M C, Guarente L P. Mammalian sirtuins—emerging roles in physiology, aging, and calorie restriction [J]. Genes & Development, 2006, 20(21):2913-2921.
- [24] Liu T, Liu P Y, Marshall G M. The critical role of the class III histone deacetylase SIRT1 in cancer[J]. Cancer Research, 2009, 69(5):1702-1705.