

黄豆黄素和黄豆黄苷抗癌作用机制差异分析

施婷婷¹, 贾立维¹, 董辉¹, 田园¹, 孟鑫^{*1,2}

(1.黑龙江中医药大学 药学院, 黑龙江 哈尔滨 150040; 2.浙江大学 药学院, 浙江 杭州 310058)

摘要:近年来,乳腺癌已超过肺癌成为最常见的癌症。此外,宫颈癌也对妇女的生活造成重大负担。细胞色素酶 CYP1B1 在肝外组织中的表达是这些癌症发病的关键因素,因此通过破坏 CYP1B1 酶与底物的结合,或消除其反应产物,是实现保护人类健康的方法。黄豆黄素和黄豆黄苷是从大豆中提取的两种异黄酮类化合物,具有抗癌的潜力,然而它们的作用机制尚不清楚。通过体外实验证明二者的抗癌作用存在差异,并通过结构和量子化学计算等研究辅助分析构效差异,分析了他们在抗癌作用中的作用机制,并发现他们的结构差异可能是作用机制差异的原因,为未来更多抗癌药物的开发提供了理论基础。

关键词:黄豆黄素;黄豆黄苷;CYP1B1;酶;癌症;抑制活性

中图分类号:R979.1+9 **文献标识码:**A **文章编号:**0258-3283(2024)12-0048-06

DOI:10.13822/j.cnki.hxsj.2024.0242

Analysis of the Different Anti-Cancer Mechanisms between Glycitein and Glycitin SHI Ting-ting¹, JIA Li-wei¹, DONG Hui¹, TIAN Yuan¹, MENG Xin^{*1,2} (1.School of Pharmacy, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China; 2.School of Pharmacy, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract: Breast cancer has become the most common cancer in recent years, surpassing lung cancer. Cervical cancer also poses a significant burden on women's lives. The pathogenesis of these cancers is closely related to the expression of the cytochrome enzyme CYP1B1 in extrahepatic tissues. Therefore, protecting human health could be achieved by disrupting the binding of the CYP1B1 enzyme to its substrates or by eliminating its reaction products. Glycitein and glycitin are two isoflavones extracted from soybeans that have potential anti-cancer properties. However, their mechanism of action is still unclear. *In vitro* experiments showed differences in their anticancer effects. Structural and quantum chemical calculations were used to analyze the differences in structure-activity relationship and mechanism of anticancer effects, which may be the mechanism of action. These findings provide a theoretical basis for designing anti-cancer drugs in the future.

Key words: glycitein; glycitin; CYP1B1; enzyme; cancer; inhibitory activity

CYP1 基因家族参与体内多种生物学过程, CYP1B1 在肝外表达的特点可导致多种癌症,这对人类的生命构成威胁^[1-3]。在近些年的研究中发现, CYP1B1 在调节淋巴细胞、免疫调节、趋化因子和大多数癌症的化疗耐药性方面发挥重要作用^[4]。

雌激素的代谢关乎女性子宫内膜癌的发展。CYP1B1 在子宫内膜中高水平表达,将雌二醇转化为 4-羟基雌二醇,4-羟基雌二醇与 CYP1B1 的醌代谢物结合到 DNA 和雌激素受体上,引起氧化损伤。这种 DNA 结合加合物本质上是致癌的^[5,6]。本研究重点关注与 CYP1B1 相关的抗癌机制,几项研究表明,抑制 CYP1B1 酶与其底物雌二醇在体内的结合,或者抑制 CYP1B1 酶与其底物结合的产物的产生,可以防止随后的致癌级联反应和多药耐药性^[7]。

黄豆黄素和黄豆黄苷化学结构与哺乳动物雌激素类似,是植物雌激素中提取的异黄酮类化合

物。许多黄酮类化合物被证明可以通过调节 G1/S 和 G2/M 期的细胞周期进程来抑制癌细胞生长,但这也同时阻碍了细胞的增殖^[8]。黄豆黄素对 NO 的产生、细胞因子的释放和小胶质细胞的活化具有抑制作用,研究人员已经使用异黄酮类化合物,如黄豆黄素,来抵御与神经退行性疾病相关的抑郁症和痴呆症,并展示了这类化合物在治疗帕金森病和其他类似疾病中的潜力,然而,使用

收稿日期:2024-04-12;网络首发日期:2024-09-29

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81703685);中国博士后科学基金项目(2017M621319);黑龙江省中医药管理局科学基金项目(ZHY18-021);2022 年黑龙江中医药大学研究生创新创业大赛项目(CX202206)。

作者简介:施婷婷(1998-),女,江苏宿迁人,硕士生,主要研究方向为中药药效物质与质量标准的研究。

通讯作者:孟鑫, E-mail: mx@hljucm.edu.cn。

引用本文:施婷婷,贾立维,董辉,等.黄豆黄素和黄豆黄苷抗癌作用机制差异分析[J].化学试剂,2024,46(12):48-53。

异黄酮类化合物治疗癌症仍然有研究空间^[9-14]。

有研究发现黄豆黄素上调 p21 水平,抑制 Src 活化介导的增殖同时阻止 G2/M,并通过 MAPK/STAT3/NF- κ B 途径诱导 AGS 细胞凋亡和 G0/G1 细胞周期停滞,表明黄豆黄素是有希望治疗胃癌的药物^[15,16]。尽管先前的研究已经表明黄豆黄素和黄豆黄苷对于癌症治疗的有益特性,但是它们的精确作用机制仍然不够完善。本研究通过定位关键雌激素酶重点阐述黄豆黄素和黄豆黄苷在癌症治疗中的进一步机制。虽然黄豆黄素和黄豆黄苷在结构上只相差了一个糖基部分,但它们的活性相差很多倍。此外,这项研究采用了分子构效分析和量子化学计算的研究方法,以阐述这两种化合物之间抗癌差异的机制之一。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

SpectraMax M2 型多功能酶标仪(上海美谷分子仪器有限公司)。

黄豆黄素、黄豆黄苷(色谱纯,深圳市普斯生物科技有限公司);还原型辅酶 I (NADH)、还原型辅酶 II (NADPH)(分析纯,德国 Roche Diagnostics GmbH 公司);重组人 CYP1B1 蛋白(美国加州 BD Biosciences 公司);L(+)-抗坏血酸、7-乙氧基试卤灵(7-ER)、乙氧基间苯二酚-O-脱乙基酶(EROD)(分析纯,美国 Sigma Chemical 公司);氯化镁(MgCl₂,分析纯,西陇科学股份有限公司);其余试剂和化学品购自国药集团化学试剂有限公司,所用试剂均为分析纯。

在实验之前,用 DMSO 将黄豆黄素稀释至 0.1~1 000 μ mol/L,并将黄豆黄苷稀释至 1~1 000 μ mol/L。

1.2 实验方法

1.2.1 重组人 CYP1B1 蛋白的催化活性

采用荧光光谱法测定 EROD,从而评估重组人 CYP1B1 的酶活性。使用 0~0.80 mmol/L(0、0.02、0.05、0.10、0.20、0.50、0.80 mmol/L)的底物 7-ER 对对照组和实验组进行实验。整个体系为 200 μ L,体系内磷酸钾缓冲液(37 $^{\circ}$ C, pH 7.4)(0.1 mol/L)、CYP1B1 蛋白酶(1 pmol/L)、NADPH(4 mmol/L)、MgCl₂(20 mmol/L)、抗坏血酸溶液(0.5 mmol/L)和 NADH(4 mmol/L)。预孵育后,各组加入相应浓度的 7-ER 溶液(20 μ L),在 37 $^{\circ}$ C 下进行孵育 20 min,使用荧光酶标仪在

530 nm 的激发波长和 590 nm 的发射波长下测量荧光。每个数据集都进行了 3 次平行测量,并通过 Origin2021 的 Michaelis-Menten 方程将结果进行非线性拟合,得到 Michaelis 曲线。

1.2.2 黄豆黄素和黄豆黄苷对 CYP1B1 抑制作用的研究

如 1.2.1 所述系统总体积 200 μ L,不同的是,预孵育后,向 96 孔板中加入不同浓度的黄豆黄素或黄豆黄苷,37 $^{\circ}$ C 下孵育 20 min 后,然后立即加入 20 μ L(0.1 mmol/L) 7-ER 底物。将板轻轻涡旋,然后置于 37 $^{\circ}$ C 中孵育 50 min。使用多功能酶分析仪分别在 530、590 nm 的激发波长和发射波长下测量荧光强度 3 次。使用 Origin 2021 进行数据分析,并生成 IC₅₀ 曲线。

1.2.3 CYP1B1 酶动力学研究

为了研究重组人 CYP1B1 酶的抑制动力学,将黄豆黄素和黄豆黄苷的浓度设定为最大抑制浓度的一半。随后,加入不同梯度浓度(0、0.02、0.05、0.10、0.20、0.50、0.80 mmol/L)的底物 7-ER,同时保持相同的酶促反应活性。使用 Graph-Pad Prism 4 拟合 Michaelis-Menten 方程的非线性回归曲线,从而能够计算 $V_{\max}$ 和 K_m ^[17,18]。

1.2.4 分子结构研究

通过从 PDB 数据库下载 6OYU 的酶结构,并从 PubChem 获得黄豆黄素和黄豆黄苷的结构来进行分子对接^[19,20]。使用 AutoDock Vina 模式进行分子对接、计算结合能。在对接之前,设置蛋白质除去水分子并加氢,选为受体;分别设置两个化合物小分子加氢并选为配体。本实验采用半柔性对接,两个配体可旋转键个数分别是 3 和 10,其余选择默认参数,并导出为.pdbqt 文件。设置盒子包裹住蛋白质,盒子大小为 74.2 $\times$ 64.9 $\times$ 105.8 $\text{\AA}$ ^[21]。为了突出显示.pdbqt 格式的受体的氢键和键长,使用 PyMOL 进行可视化^[22]。

1.2.5 量子化学计算辅助研究

使用 Material Studio 软件通过量子化学计算进行补充分析,以辅助分析黄豆黄素和黄豆黄苷作为 CYP1B1 酶抑制剂的差别^[23]。本文所用量子化学程序为 DFTB+,DFTB+是一种融合了密度泛函理论的紧束缚近似方法的半经验量子力学计算方法,主要用于有机化合物分子、半导体、金属及生物大分子的模拟计算^[24]。研究人员认为,HOMO 值高更容易发生亲电反应,LUMO 值高更易发生亲核反应。HOMO-LUMO 能隙是通过量子

计算得到的分子能隙^[25-27]。分子能隙(Gap)采用以下公式计算:

$$\Delta\varepsilon = \varepsilon_{\text{LUMO}} - \varepsilon_{\text{HOMO}}$$

使用基于 DFTB+ 的半经验计算方法,建立计算初始分子结构模型,通过运行 DFTB+ 模块分别对两个化合物构型进行优化,之后,计算化合物发生相互作用时可能产生的 HOMO、LUMO 值和能隙。

1.2.6 ADMET 分析辅助分析以确定最佳 CYP1B1 抑制剂

使用 ADMETlab 2.0 网站,通过输入来自 PubChem 的 SMILE ID,分别对黄豆黄素和黄豆黄苷在人体内的 ADMET 特性进行预测和评估,来仔细筛查药物的性质,并根据网站给出的各项指标最优范围,对两种药物进行比较^[28]。此外,通过 BioGPS 网站研究了每个目标位点的分布^[29]。

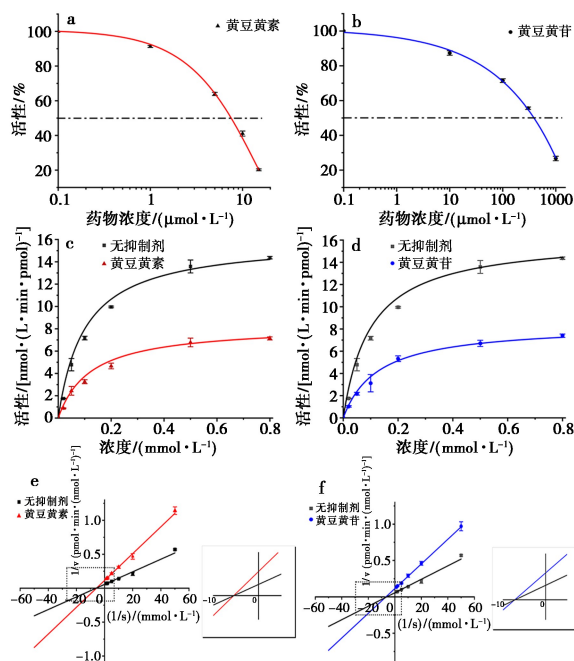
1.3 数据统计分析

每组实验重复进行 3 次,所得 3 组数据均使用平均值和标准偏差计算、作图及比较结果。

2 结果与讨论

2.1 酶动力学研究和抑制潜力研究

以 7-ER 为底物,在无抑制剂的情况下测定



a、b. 黄豆黄素和黄豆黄苷的 IC_{50} 曲线; c、d. 黄豆黄素和

黄豆黄苷在 IC_{50} 浓度下的 Michaelis-Menten 曲线;

e、f. 米氏曲线的双倒数曲线

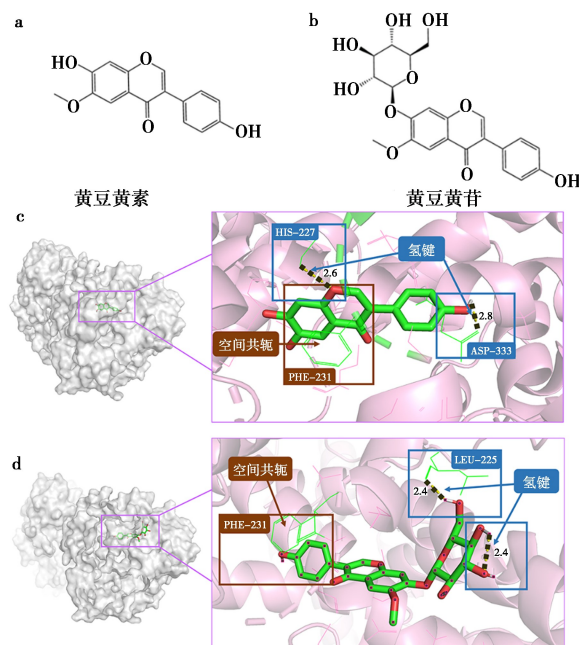
图 1 体外酶抑制活性研究结果 ($n=3$)

Fig.1 Enzyme inhibitory activity study results in vitro ($n=3$)

酶催化反应的动力学参数,使用 Origin 软件,通过 Michaelis-Menten 模型计算出 $V_{\max}$ 和 K_m 分别为 $(17.040 \pm 0.383) \text{ nmol}/(\text{L} \cdot \text{min} \cdot \text{pmol})$ 和 0.138 mmol/L 。本研究比较无抑制的 CYP1B1 酶活性与 CYP1B1 酶被黄豆黄素和黄豆黄苷抑制后的活性。采用 Michaelis-Menten 酶动力学模型分析了在 IC_{50} 浓度下黄豆黄素和黄豆黄苷对 CYP1B1 酶的抑制动力学表现(图 1c、1d),并对结果进行双倒数处理(图 1e、1f),黄豆黄素的 IC_{50} 为 $(7.159 \pm 0.134) \mu\text{mol/L}$, $V_{\max}$ 值为 $(8.610 \pm 0.283) \text{ nmol}/(\text{L} \cdot \text{min} \cdot \text{pmol})$ CYP1B1,而黄豆黄苷的 IC_{50} 为 $(328.000 \pm 4.545) \mu\text{mol/L}$, $V_{\max}$ 值为 $(8.898 \pm 0.349) \text{ nmol}/(\text{L} \cdot \text{min} \cdot \text{pmol})$ 。黄豆黄素和黄豆黄苷均表现出非竞争性抑制作用,且二者抑制活性差异为 46 倍(图 1)。

2.2 构效关系分析

黄豆黄素和黄豆黄苷与 CYP1B1 蛋白分子的连接依赖于它们的氢键与共轭结构。AutoDock 计算显示,黄豆黄素和黄豆黄苷与 CYP1B1 的结合能分别为 -9.4 、 -8.8 kcal/mol 。分子对接结果表明,黄豆黄素与蛋白在氨基酸 HIS-227 和 ASP-333 两处建立了两个氢键,键长分别为 2.6 和 2.8 Å。黄豆黄苷的糖苷与位于 LEU-225 处的氨



a、b. 黄豆黄素和黄豆黄苷平面结构, 下载自 PubChem;

c. 黄豆黄素分子对接详细图; d. 黄豆黄苷分子对接详细图

图 2 分子对接结果揭示构效关系

Fig.2 Molecular docking results reveal the structure-activity relationship

基酸形成氢键,显示键长为 2.4 Å。此外,在位于糖基的 C4 和 C5 的羟基之间存在分子内氢键,键长为 2.4 Å(图 2)。在黄豆黄素和黄豆黄苷中可以找到结构差异,黄豆黄素的第 7 位羟基氢被糖基取代而变成黄豆黄苷,这是引起空间位置变化的原因,同时氢键位置和键长也随之改变,由图 2 可见,黄豆黄素 C 环由于空间位置变化,原来与氨基酸 HIS-227 存在的氢键和与 PHE-231 存在的空间共轭在黄豆黄苷中均观察不到。

由于黄豆黄苷的糖基基团本身存在许多羟基,极易形成分子内氢键,猜测这是黄豆黄苷与蛋白质之间形成分子间氢键少于黄豆黄素的原因。

黄豆黄素 B 环上的 4'-OH 与 ASP-333 形成氢键,而黄豆黄苷 B 环与 PHE-231 在空间上存在 π - π 共轭,猜测在大量芳香环存在的本体系中, π - π 共轭使分子间和电子间相互作用更稳定。同时,黄豆黄素 A 环上的 7-羟基通过增强电子云密度、使苯环活化,而黄豆黄苷的 7 位羟基已被取代。综上,黄豆黄素的 B 环不受空间共轭的约束,更倾向于与外界的氨基酸形成氢键,而黄豆黄苷的 B 环未预测出与氨基酸相连的氢键。

2.3 量子化学计算和药代动力学预测辅助分析结果

基于 DFTB+对化合物结构进行优化,并给出了各化合物的 HOMO 和 LUMO 能量值,黄豆黄素更易发生亲核反应,黄豆黄苷更易发生亲电反应。(图 3)。黄豆黄苷的 HOMO-LUMO 能隙更小,这代表了黄豆黄苷的反应活性更高,但同时这种不稳定性也使黄豆黄苷容易变成其他构型或物质,这也许是黄豆黄苷与 CYP1B1 结合较差的原因。

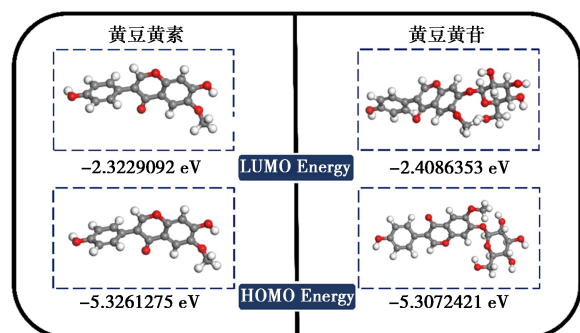


图 3 HOMO-LUMO 能级下的构象

Fig.3 Conformations at HOMO-LUMO energy levels

此外,本研究基于药代动力学研究,评价了化合物作为潜在口服药物的可能性,使用从 ADMETlab 网站获得的标准进行 ADMET 分析^[30-32]。

根据网站提示筛选出含义不同的指标,且标明网站建议的各项指标的最优范围(表 1)。本研究选择了 8 个重要指标进行重点关注,分别是分子量、H 键受体数量、H 键供体数量、油水分配系数、Lipinski 规则、人体肠道吸收(HIA)、药物清除率和人体肝毒性。Lipinski 规则为了增加药物口服使用的潜力,要求药物分子的分子量不超过 500 道尔顿;氢键供体应不超过 5 个;氢键受体不超过 10 个;可旋转键数量不超过 10 个;油水分配系数范围在-2~5 之间以及对可旋转键数量的规定,两种化合物均符合标准^[33,34]。从氢键受体和供体数量分析发现,较少的氢键受体和供体意味着黄豆黄素的脂溶性较好,更容易通过被动扩散的方式被吸收,更易分布在组织间发挥药效。在油水分配系数分析中也得出同样的结论,较低的油水分配系数意味着黄豆黄苷是过于亲水的药物。因此,黄豆黄素和黄豆黄苷的结构决定着它们作为口服药物的差别。由于人体肠道对口服药物的吸收能力是药物成为口服药物的先决条件,人体肠道吸收指数(Human Intestinal Absorption Index)一定程度上可以反应口服利用度,分析结果表明黄豆黄素的该指数在合格范围内;黄豆黄苷的口服利用度稍差^[35]。在药物清除率水平上,黄豆黄素和黄豆黄苷都达到了大于等于 5 mL/(min·kg)的标准。评估了人体肝毒性 H-HT,黄豆黄素和黄豆黄苷均预测得到了符合范围内的指标,预测结果认为黄豆黄素和黄豆黄苷不具备肝毒性或可以忽略肝毒性。

表 1 通过 ADMET 分析筛选最适合口服抑制剂^注

Tab.1 Screening optimal oral inhibitors through ADMET analysis

项目	最优范围	黄豆黄素	黄豆黄苷
分子量	100.000~600.000	284.070	446.120
H 键受体数量	0~12.000	5.000	10.000
H 键供体数量	0~7.000	2.000	5.000
油水分配系数	0~3.000	2.652	0.689
Lipinski 规则	—	符合	符合
人体肠道吸收	0~0.300	符合	基本符合
药物清除率	≥5.000	7.645	5.154
人体肝毒性	0~0.300	符合	符合

注:“最优范围”均取自网站的结果分析页给出的参考范围。

本研究继续通过 BioGPS 网站分析了化合物黄豆黄素在体内富集的位置,筛选了富集排在前几位的组织或器官进行汇总并绘制饼图(图 4)。大约 1/3 的靶点富集在子宫、卵巢、乳腺和部分前

列腺中,这些位置与 CYP1B1 酶和体内底物结合的位置相吻合。

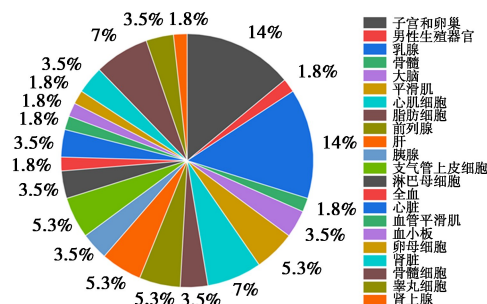


图 4 药物作用位置分布饼图

Fig.4 Pie chart of drug action location

以上研究得出,与黄豆黄苷相比,黄豆黄素在体内更容易与蛋白 CYP1B1 结合,与黄豆黄素在体内的作用分布特点结合分析,相比于黄豆黄苷,黄豆黄素更能够在其富集部位如乳腺、子宫、卵巢中干扰 CYP1B1 与其底物结合后产物的产生,从而阻碍与 CYP1B1 相关的癌症发生。基于非竞争性抑制的特点,黄豆黄素与 CYP1B1 酶的非活性位点结合,虽然不会抑制酶与其天然底物雌二醇在体内结合,但抑制剂-酶配合物影响与原底物的结合的速度, $V_{\max}$ 降低,且原致病的产物产生受到影响。因此,结合形成的抑制剂-酶配合物,可以导致 CYP1B1 酶催化底物的效率降低,减少产生原本会导致癌症发生的产物。

3 结论

本文探讨了黄豆黄素和黄豆黄苷的抗癌作用机制之一,通过体外酶实验发现,黄豆黄素和黄豆黄苷对 CYP1B1 的抑制活性相差 46 倍。本研究同时辅助了分子结构研究、量子化学计算研究、ADMET 分析,探讨了两种异黄酮类化合物与 CYP1B1 酶蛋白结合的差异机制,并预测差异与化合物和蛋白连接的氨基酸、氢键位置、化合物的糖基化、电子云的变化有关。CYP1B1 与乳腺癌、子宫内膜癌等癌症的发生密切相关,是多种癌症治疗期间的心脏应激源,且与炎症和癌基因的代谢激活有关。该研究揭示了异黄酮类化合物黄豆黄素和黄豆黄苷的抗癌作用机制之一,为未来药物的开发提供了理论基础。

参考文献:

[1] YUAN B, LIU G, DAI Z, et al. CYP1B1: A novel molecular biomarker predicts molecular subtype, tumor microen-

vironment, and immune response in 33 cancers [J]. *Cancers*, 2022, **14**(22): 5641.

[2] SASAKI M, KANEUCHI M, FUJIMOTO S, et al. CYP1B1 gene in endometrial cancer [J]. *Mol. Cell Endocrinol.*, 2003, **202**(1/2): 171-176.

[3] 王志刚, 费荣杰. CYP1B1 抑制剂研究进展 [J]. *化学试剂*, 2023, **45**(2): 69-74.

[4] ZHOU L, CHEN W, CAO C, et al. Design and synthesis of α -naphthoflavone chimera derivatives able to eliminate cytochrome P450 (CYP) 1B1-mediated drug resistance via targeted CYP1B1 degradation [J]. *Eur. J. Med. Chem.*, 2020, **189**: 112028.

[5] EMBRECHTS J, LEMIERE F, VAN DONGEN W, et al. Detection of estrogen DNA-adducts in human breast tumor tissue and healthy tissue by combined nano LC-nano ES tandem mass spectrometry [J]. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, 2003, **14**(5): 482-491.

[6] MARKUSHIN Y, ZHONG W, CAVALIERI E, et al. Spectral characterization of catechol estrogen quinone (CEQ)-derived DNA adducts and their identification in human breast tissue extract [J]. *Chem. Res. Toxicol.*, 2003, **16**(9): 1107-1117.

[7] MENG X, AN X, ZHOU L, et al. The isomers, aloe-emodin and emodin, possess differential inhibitory activities against CYP1B1 enzyme [J]. *Steroids*, 2022, **185**: 109055.

[8] CASAGRANDE F, DARBON J M. Effects of structurally related flavonoids on cell cycle progression of human melanoma cells: Regulation of cyclin-dependent kinases CDK2 and CDK1 [J]. *Biochem. Pharmacol.*, 2001, **61**(10): 1205-1215.

[9] YUAN D, XIE Y Y, BAI X, et al. Inhibitory activity of isoflavones of Pueraria flowers on nitric oxide production from lipopolysaccharide-activated primary rat microglia [J]. *J. Asian nat. prod. Res.*, 2009, **11**(6): 471-481.

[10] PARK J S, WOO M S, KIM D H, et al. Anti-inflammatory mechanisms of isoflavone metabolites in lipopolysaccharide-stimulated microglial cells [J]. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2007, **320**(3): 1237-1245.

[11] WANG X, CHEN S, MA G, et al. Genistein protects dopaminergic neurons by inhibiting microglial activation [J]. *Neuroreport*, 2005, **16**(3): 267-270.

[12] PRAJAPATI R, PARK S E, PARK H J, et al. Identification of a potent and selective human monoamine oxidase-A inhibitor, glycitein, an isoflavone isolated from pueraria lobata flowers [J]. *ACS Food Sci. Technol.*, 2021, **1**(4): 538-550.

[13] DONG N, YANG Z. Glycitein exerts neuroprotective

- effects in rotenone-triggered oxidative stress and apoptotic cell death in the cellular model of Parkinson's disease [J]. *Acta Biochim. Pol.*, 2022, **69**(2): 447-452.
- [14] 许颖龄, 王素青. 基于 CiteSpace 的 CYP1B1 研究现状及发展趋势分析[J]. 医学信息, 2022, **35**(3): 21-25.
- [15] LI G, MA K. The luminescence mechanism of glycitein; proceedings of the iop conference series: Earth and environmental science [C]. IOP Publishing, 2020, **546**: 42 068.
- [16] ZANG Y Q, FENG Y Y, LUO Y H, et al. Glycitein induces reactive oxygen species-dependent apoptosis and G0/G1 cell cycle arrest through the MAPK/STAT3/NF- κ B pathway in human gastric cancer cells[J]. *Drug Dev. Res.*, 2019, **80**(5): 573-584.
- [17] 翟渊粉, 罗志丹, 石晓, 等. 不同统计软件在医药生物学教学实验数据处理中的应用比较[J]. 中国医药科学, 2024, **14**(2): 74-77.
- [18] SRINIVASAN B. A guide to the Michaelis-Menten equation: Steady state and beyond [J]. *Febs J.*, 2022, **289**(20): 6 086-6 098.
- [19] BURLEY S K, BERMAN H M, KLEYWEGT G J, et al. Protein Data Bank (PDB): The single global macromolecular structure archive [J]. *Methods Mol. Biol.*, 2017, **11**: 627-641.
- [20] KIM S, CHEN J, CHENG T, et al. PubChem 2019 update: Improved access to chemical data [J]. *Nucleic Acids Res.*, 2019, **47**(D1): 1 102-1 109.
- [21] EBERHARDT J, SANTOS-MARTINS D, TILLACK A F, et al. AutoDock Vina 1.2.0: New docking methods, expanded force field, and python bindings [J]. *J. Chem. Inf. Model.*, 2021, **61**(8): 3 891-3 898.
- [22] MAYA C. Using PyMOL to understand why COVID-19 vaccines save lives [J]. *J. Chem. Educ.*, 2023, **100**(3): 1 351-1 356.
- [23] VERMA V K, GUIN M, SOLANKI B, et al. Molecular structure, HOMO and LUMO studies of Di (Hydroxybenzyl) diselenide by quantum chemical investigations [J]. *Mater. Today Proc.*, 2022, **49**: 3 200-3 204.
- [24] HOURAHINE B, ARADI B, BLUM V, et al. DFTB+, a software package for efficient approximate density functional theory based atomistic simulations [J]. *J. Chem. Phys.*, 2020, **152**(12): 124 101.
- [25] ZHAO X, CHEN C, SUN Q, et al. Molecular structure optimization design of inhibitors based on frontier orbitals theory [J]. *Appl. Surf. Sci.*, 2019, **494**: 895-907.
- [26] WANG Y, HE X, LI C, et al. Carvedilol serves as a novel CYP1B1 inhibitor, a systematic drug repurposing approach through structure-based virtual screening and experimental verification [J]. *Eur. J. Med. Chem.*, 2020, **193**: 112 235.
- [27] 刘靖丽, 权彦, 闫浩, 等. 基于 DFT 方法研究甘草中黄酮类化合物的抗氧化活性 [J]. 当代化工, 2020, **49**(10): 2 163-2 166; 2 170.
- [28] XIONG G, WU Z, YI J, et al. ADMETlab 2.0: An integrated online platform for accurate and comprehensive predictions of ADMET properties [J]. *Nucleic Acids Res.*, 2021, **49**(W1): W5-W14.
- [29] WU C, JIN X, TSUENG G, et al. BioGPS: Building your own mash-up of gene annotations and expression profiles [J]. *Nucleic Acids Res.*, 2016, **44**(D1): D313-D316.
- [30] XIONG G, WU Z, YI J, et al. ADMETlab 2.0: An integrated online platform for accurate and comprehensive predictions of ADMET properties [J]. *Nucleic Acids Res.*, 2021, **49**(W1): 5-14.
- [31] 彭奕萍. 基于机器学习方法的药物化合物 ADMET 性质分类预测 [J]. 山西化工, 2022, **42**(7): 25-27.
- [32] XIONG G, WU Z, YI J, et al. ADMETlab 2.0: An integrated online platform for accurate and comprehensive predictions of ADMET properties [J]. *Nucleic Acids Res.*, 2021, **49**(W1): 5-14.
- [33] 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]. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 1997, **23**(1/3): 3-25.
- [34] YANG E, LI Z. The Lipinski's rules in drug discovery [J]. *Chemistry*, 2006, **69**(1): 16-19.
- [35] WANG Y, ZHENG C, HUANG C, et al. Systems pharmacology dissecting holistic medicine for treatment of complex diseases: An example using cardiocerebrovascular diseases treated by TCM [J]. *Evid. Based Complement Alternat Med.*, 2015, **2 015**: 1-19.