

# 汉防己甲素衍生物 HL-22 对 BLM 解旋酶生物学特性的影响<sup>\*</sup>

张望明<sup>1</sup>, 葛章文<sup>2</sup>, 刘金河<sup>2</sup>, 晏文涛<sup>1</sup>, 潘卫东<sup>3</sup>, 焦彦朝<sup>4</sup>, 刘杰麟<sup>2,5\*</sup>

(1. 贵阳中医学院第一附属医院, 贵州 贵阳 550001; 2. 贵州医科大学 组织工程与干细胞实验中心, 贵州 贵阳 550004; 3. 贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室, 贵州 贵阳 550002; 4. 贵州省进出口检验检疫局, 贵州 贵阳 550004; 5. 贵州医科大学 免疫学教研室, 贵州 贵阳 550004)

**[摘要]** 目的: 探讨汉防己甲素衍生物 HL-22 对 BLM<sup>642-1290</sup> 解旋酶生物学特性的影响。方法: 采用荧光偏振法检测 HL-22 对 BLM<sup>642-1290</sup> 解旋酶 DNA 结合活性和解链活性的影响, 用孔雀绿-磷钼酸铵比色法检测 HL-22 对 BLM<sup>642-1290</sup> 解旋酶 ATPase 活性的影响, 采用紫外吸收光谱法检测 HL-22 对 BLM<sup>642-1290</sup> 解旋酶构象的影响。结果: 33.34  $\mu\text{mol/L}$  的 HL-22 对 BLM 解旋酶复性后双链 DNA (dsDNA) 结合活性的抑制率为 49.07%、单链 (ssDNA) 结合活性的抑制率为 50.00%, 50  $\mu\text{mol/L}$  的 HL-22 对 BLM 解旋酶 DNA 解链活性的抑制率为 93.58%, 100  $\mu\text{mol/L}$  的 HL-22 对 BLM 解旋酶 ATPase 活性的抑制率为 90.3%。结论: HL-22 对 BLM<sup>642-1290</sup> 解旋酶的 DNA 结合活性、解链活性和 ATPase 活性均有抑制作用。

**[关键词]** 汉防己甲素衍生物; BLM 解旋酶; 结合活性; 解链活性; ATPase 活性

**[中图分类号]** Q78; R737.9 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2018)05-0497-06

**DOI:** 10.19367/j.cnki.1000-2707.2018.05.001

## The Effects of Bisbenzylisoquinoline Alkaloid Tetrandrine Derivative HL-22 on the Biological Properties of the BLM Helicase

ZHANG Wangming<sup>1</sup>, GE Zhangwen<sup>2</sup>, LIU Jinhe<sup>2</sup>, YAN Wentao<sup>1</sup>, PAN Weidong<sup>3</sup>, JIAO Yanchao<sup>4</sup>, LIU Jieli<sup>2,5</sup>

(1. The First Affiliated Hospital of Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550001, Guizhou, China; 2. Laboratory of Tissue Engineering and Stem Cell, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China; 3. Key Laboratory of Chemistry for Natural Products of Guizhou Province and Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550002, Guizhou, China; 4. Guizhou Entry-exit Inspection and Quarantine Bureau, Guiyang 550004, Guizhou, China; 5. Department of Immunology, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China)

**[Abstract] Objective:** To research the effects of bisbenzylisoquinoline alkaloid tetrandrine derivative HL-22 on the biological properties of the BLM helicase. **Methods:** Fluorescence polarization techniques was used to study the effects of HL-22 on the DNA binding activity and unwinding activity of the BLM helicase. Malachite green-phosphate ammonium molybdate colorimetry was used to detect the effects of HL-22 on the ATPase activity of the BLM helicase. Ultraviolet spectral scanning method was used to research the effects of HL-22 on the conformation of the BLM helicase. **Results:** When the concentration of HL-22 was 33.34  $\mu\text{mol/L}$ , the inhibition ratio of dsDNA binding activity and ssDNA binding activity of the BLM helicase were 49.07% and 50.00%; When the concentration of HL-22 was 50  $\mu\text{mol/L}$ , the inhibition ratio of DNA unwinding activity of the BLM helicase was 93.58%; When the concentration of HL-22 was 100  $\mu\text{mol/L}$ , the inhibition ratio of ATPase activity of the BLM helicase was 90.3%. **Conclusions:** The DNA binding activity, unwinding activity and ATPase activity

<sup>\*</sup>[基金项目] 国家自然科学基金项目(81360349, 81360479); 贵州省科技合作计划项目[黔科合 LH 字(2015)7282 号]

<sup>\*\*</sup>通信作者 E-mail: liujin63@yahoo.com

网络出版时间: 2018-05-17 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/52.1164.R.20180517.1756.024.html>

of the BLM helicase were inhibited by HL-22.

[**Key words**] tetrandrine derivative; BLM helicase; binding activity; unwinding activity; ATPase activity

解旋酶第 2 大超家族中的 RecQ 解旋酶家族是其中最保守的一个家族,其家族成员参与 DNA 复制、修复、重组及转录,并维持端粒稳定<sup>[1-2]</sup>。在人体中存在着 5 种 RecQ 解旋酶,分别为 RecQ1、BLM、WRN、RecQ4 和 RecQ5;这些解旋酶中 3 种编码基因 *BLM*、*WRN*、*RECQ4* 的缺陷将会分别导致 Bloom 综合征、Werner 综合征和 Rothmund-Thomson 综合征的发生,而这些疾病的患者均有易患癌症的共同特征。研究认为 BLM 在肿瘤的发展中起着非常重要的作用<sup>[3]</sup>,Sassi 等<sup>[4]</sup>认为 *BLM* 解旋酶基因的变异可能在乳腺癌的发生中起着重要作用。人 *BLM* 解旋酶基因在多种上皮细胞和淋巴细胞来源的肿瘤中表达,其表达水平明显高于正常组织,并且在细胞增殖与 BLM 表达活性之间存在着很强的关联<sup>[5-6]</sup>。因此,以 RecQ 家族 BLM 解旋酶为靶标来设计和筛选抗肿瘤药物为癌症的治疗提供了新的思路<sup>[7]</sup>。Brosh 等<sup>[8]</sup>发现远霉素 A、纺锤菌素能抑制 BLM 和 WRN 解旋酶活性,许厚强等<sup>[9-10]</sup>发现苯甲酸雌二醇对大肠杆菌 RecQ 解旋酶活性有抑制作用,洛美沙星对 BLM 解旋酶的解链活性和 ATPase 活性有抑制作用。汉防己甲素是一种双苄基异喹啉类生物碱,是从多年生藤本防己科植物汉防己的块根中提取,研究证明汉防己甲素对肝癌、前列腺癌、乳腺癌等多种肿瘤细胞的增殖具有抑制和促进其凋亡的作用<sup>[11-13]</sup>。本研究采用荧光偏振、自由磷检测、紫外光谱等技术和方法研究了汉防己甲素衍生物 HL-22 对 BLM 解旋酶生物学特性的影响,对阐明其与 BLM 解旋酶作用的分子机制具有一定意义,为进一步应用该小分子物质进行抗癌研究奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器、材料及药品

**1.1.1 主要仪器** VCX-500 超声波破碎仪(美国 SONICS 公司)、AKTA purifier 100 蛋白质分离纯化系统(美国 GE Healthcare 公司)、Beacon 2000 荧光偏振仪(美国 PanVera 公司)、Synergy 4 多功能酶标仪(美国 BIO-TEK 公司)、SHIMADZU UV-3600 紫外可见分光光度计(日本 SHIMADZU 公司)。

**1.1.2 材料及药品** 重组大肠杆菌 pET-15b-BLM<sup>642-1290</sup>-BL21-CodonPlus 由法国巴黎第十一大学居里研究所奚绪光主任研究员馈赠,汉防己甲素衍生物 HL-22 由贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室潘卫东教授提供。荧光素标记的 21 nt 单链 DNA(ssDNA):(3'-FAM-TTAGGCAGCTCGTCTCAATCC-5')、无荧光素标记的 45 nt ssDNA(5'-AATCCGTCGAGCAGAGTTAGGtaggttaggttagtttttttt-3')由北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司合成,在缓冲液(20 mmol/L Tris,100 mmol/L NaCl,pH 7.9)中将 2 条 ssDNA 等量混合后置于 85 ℃ 水浴箱 5 min、缓慢冷却恢复至室温,将复性后的双链 DNA(dsDNA)作为底物研究 BLM 解旋酶 DNA 结合活性和解链活性。

### 1.2 方法

**1.2.1 BLM<sup>642-1290</sup>解旋酶表达及纯化** 将重组菌 pET-15b-BLM<sup>642-1290</sup>-BL21-CodonPlus 接种于 LB 培养基(含 50 mg/L Amp 和 30 mg/L Cam),放置于 37 ℃ 摇床中 190 r/min 振荡培养至 OD<sub>600</sub> 为 0.5~0.6。用 0.4 mmol/L IPTG 在 18 ℃、190 r/min 条件下诱导 BLM 解旋酶表达 20 h,4 ℃、4 000 r/min 低温离心 20 min,收集菌体。超声破碎菌体,4 ℃、3 000 r/min 低温离心 40 min,收集上清,使用镍离子亲和层析柱和凝胶过滤层析柱分离纯化得到重组 BLM<sup>642-1290</sup>解旋酶用于开展生物学特性研究。

**1.2.2 HL-22 对 BLM<sup>642-1290</sup>解旋酶 DNA 结合活性的影响** 采用荧光偏振技术进行检测,每间隔 30 s 重复检测荧光各向异性值 1 次。取终浓度 2 nmol/L 荧光素标记的 DNA[dsDNA 或 ssDNA(21nt)]于反应缓冲液(3 mmol/L MgCl<sub>2</sub>、25 mmol/L NaCl、20 mmol/L Tris、0.1 mmol/L DTT 及 pH 7.9)中,置于荧光偏振仪中检测荧光各向异性值至稳定,加入 HL-22 使其在反应体系中的终浓度分别为 0、1.67、2.50、3.34、5.00、6.67、8.34、10.00、11.67、13.34、16.67、20.00、23.34、26.67、30.00 及 33.34 μmol/L,于荧光偏振仪中检测荧光各向异性值至稳定,再加入 BLM 解旋酶使其在反应体系中的终浓度为 500 nmol/L,DNA 底物达到饱和,于荧光偏振仪中检测荧光各向异性值至稳定;各步均需记录荧光各向异性值。反应体系总体积 150 μL,实验重复 3

次,结果取平均值。计算 DNA 结合活性抑制率, DNA 结合活性抑制率 = (未经处理的 BLM 酶 DNA 结合活性 - 经过处理后的 BLM 酶 DNA 结合活性)/未经处理的 BLM 酶 DNA 结合活性  $\times 100\%$ 。

**1.2.3 HL-22 对 BLM<sup>642-1290</sup>解旋酶解链活性的影响** 采用荧光偏振技术进行检测,每间隔 30 s 重复检测荧光各向异性值 1 次。取终浓度 2 nmol/L 荧光素标记的 dsDNA 于反应缓冲液(3 mmol/L MgCl<sub>2</sub>、25 mmol/L NaCl、20 mmol/L Tris、0.1 mmol/L DTT 及 pH 7.9)中,置于荧光偏振仪中检测荧光各向异性值至稳定,然后将不同终浓度(0、1.67、6.67、13.34、20.00、26.67、33.34、41.67 及 50.00  $\mu\text{mol/L}$ )的 HL-22 与终浓度为 500 nmol/L 的 BLM 解旋酶充分混合,在室温条件下孵育 5 min,将上述混合物加入测定管中,测定荧光各向异性值至稳定;再加入 ATP 使其终浓度为 0.2 mmol/L,测定荧光各向异性值至稳定;各步均需记录荧光各向异性值。本反应体系总体积 150  $\mu\text{L}$ ,实验重复 3 次,结果取平均值。计算 BLM<sup>642-1290</sup>解旋酶解链活性抑制率,解链活性抑制率 = (未经处理的 BLM 酶解链活性 - 经过处理后的 BLM 酶解链活性)/未经处理的 BLM 酶解链活性  $\times 100\%$ 。

**1.2.4 HL-22 对 BLM<sup>642-1290</sup>解旋酶 ATPase 活性的影响** 采用孔雀绿 - 磷钼酸铵比色法进行检测,将不同终浓度(0、10.00、20.00、30.00、40.00、50.00、60.00、80.00 及 100.00  $\mu\text{mol/L}$ )的 HL-22、终浓度 125 nmol/L 的 BLM 解旋酶和终浓度 100 nmol/L 的 ssDNA(45nt)于反应缓冲液(20 mmol/L MgCl<sub>2</sub>、50 mmol/L KCl、50 mmol/L Triethanolamine 及 pH 7.5)中,于室温条件下孵育 10 min,加入 ATP 使其终浓度为 2 mmol/L,于室温条件下孵育 20 min。反应体系总体积 75  $\mu\text{L}$ ,从中取出 50  $\mu\text{L}$ ,迅速移至 850  $\mu\text{L}$  染液中,终止 ATP 水解反应,间隔 1 min 加入 34% 的柠檬酸溶液 100  $\mu\text{L}$ ,终止显色反应;取 100  $\mu\text{L}$  于 96 孔板,在 660 nm 波长处重复 3 次读值。实验重复 3 次。酶量以国际单位定义,即每 1 min 催化 1  $\mu\text{mol}$  底物水解所需的酶量为一个国际单位(unit),酶活力  $A_{\text{activity}}$  (units/mL) =  $3A/10B$ ,式中  $A$  为通过标准曲线得到的磷酸盐浓度( $\mu\text{mol/L}$ )、 $B$  为反应时间(min),相对 ATPase 活力 = BLM 酶经过处理后的 ATPase 活力/未经处理的 ATPase 活力  $\times 100\%$ ,ATPase 活性抑制率 = (未经处理的 BLM 酶 ATPase 活力 - 经过处理后的 BLM 酶 ATPase 活力)/未经处理的 BLM 酶 ATPase 活

性  $\times 100\%$ 。

**1.2.5 HL-22 对 BLM<sup>642-1290</sup>解旋酶紫外光谱的影响** 取不同终浓度(0、0.10、0.20、0.40、0.80、1.20、1.60、2.00、5.00、10.00、15.00、20.00、25.00、30.00、40.00 及 50.00  $\mu\text{mol/L}$ )的 HL-22 与 BLM 解旋酶(终浓度为 500 nmol/L)于 Tris-HCl 缓冲液(pH 7.9)中,使反应体系总体积保持在 3 000  $\mu\text{L}$ 。使用紫外分光光度计进行检测,扫描波长间隔设置为 0.5 nm,扫描波段 220 ~ 380 nm,每间隔 3 min 重复扫描 1 次,直至平衡,通过峰位及峰形的改变判定蛋白质构象的变化<sup>[14]</sup>。采用相同方法对缓冲液中 0 ~ 50  $\mu\text{mol/L}$  的 HL-22 紫外吸收光谱进行扫描检测。

## 2 结果

**2.1 HL-22 对 BLM<sup>642-1290</sup>解旋酶 DNA 结合活性的影响**

由图 1A 和 1B 可知,HL-22 与 dsDNA 或 ssDNA(21nt)发生结合;由图 1C 和 1D 可知,HL-22 与 dsDNA 或 ssDNA(21nt)结合后能抑制其与 BLM 解旋酶发生结合。当 HL-22 的浓度为 33.34  $\mu\text{mol/L}$  时,其对 dsDNA 或 ssDNA(21nt)与 BLM 解旋酶结合活性的抑制率分别为 49.07%、50.00%。

**2.2 HL-22 对 BLM<sup>642-1290</sup>解旋酶解链活性的影响**

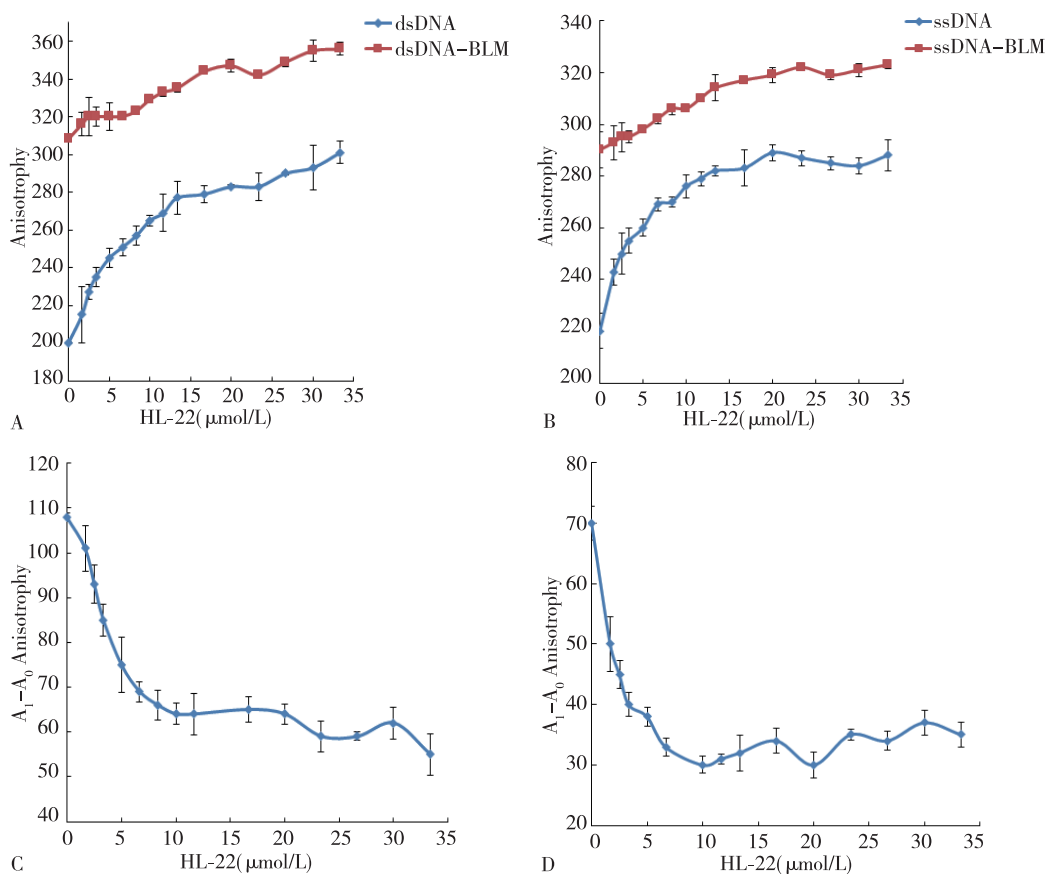
由图 2A 可知,HL-22 对 BLM 解旋酶的解链活性有很强的抑制作用,当 HL-22 浓度为 50  $\mu\text{mol/L}$  时,其对 BLM 解旋酶解链活性的抑制率高达 93.58%。由图 2B 可知,HL-22 能够抑制 BLM 解旋酶的解链速率。

**2.3 HL-22 对 BLM<sup>642-1290</sup>解旋酶 ATPase 活性的影响**

由图 3 可知,HL-22 对 BLM 解旋酶的 ATPase 活性有很强的抑制作用,当 HL-22 的浓度为 100  $\mu\text{mol/L}$  时,其对 BLM 解旋酶 ATPase 活性的抑制率达到 90.3%。

**2.4 HL-22 对 BLM<sup>642-1290</sup>解旋酶紫外光谱的影响**

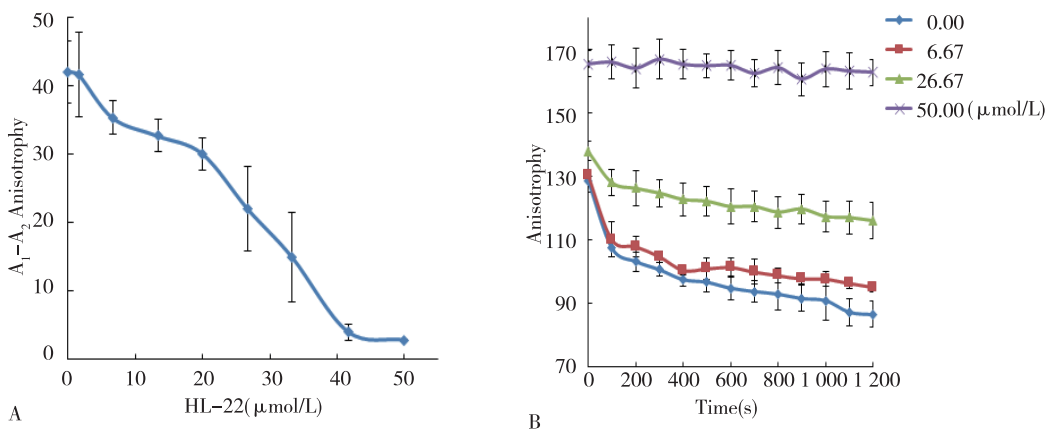
由图 4A ~ C 可知,BLM 解旋酶与 HL-22 作用后在 237 nm 和 277 nm 波长处的紫外光吸收值均大于 BLM 解旋酶、亦大于 HL-22 在这 2 个波长处的紫外光吸收值之和(BLM 的生色基团被翻转到极性较大的区域所引起<sup>[14]</sup>)。由图 4D 可知,BLM 解旋酶与 HL-22 作用后在 237 nm 与 277 nm 波长处的紫外吸收峰值随 HL-22 浓度的增加而不断增大,提示 HL-22 能与 BLM 解旋酶结合并使其构象发生改变。



注:A 为 HL-22 对 dsDNA 的影响及 BLM 解旋酶与 dsDNA 复合物的荧光各向异性值,B 为 HL-22 对 ssDNA(21nt)的影响及 BLM 解旋酶与 ssDNA(21nt)复合物的荧光各向异性值,C 为 HL-22 与 dsDNA 结合后对其与 BLM 结合活性的影响,D 为 HL-22 与 ssDNA(21nt)结合后对其与 BLM 结合活性的影响; $A_0$  为 HL-22-DNA 复合物的荧光各向异性值, $A_1$  为 BLM-HL-22-DNA 复合物的荧光各向异性值

图 1 HL-22 对 BLM 解旋酶 DNA 结合活性的影响

Fig. 1 Effects of HL-22 on the DNA-binding activity of BLM helicase



注:A 为 HL-22 对 BLM 解链活性的影响,B 为终浓度 6.67、26.67 及 50  $\mu\text{mol/L}$  HL-22 对 BLM 解链时间曲线的影响, $A_1$  为 BLM-HL-22-DNA 复合物的荧光各向异性值, $A_2$  为加入终浓度 0.2 mmol/L ATP 后反应体系的荧光各向异性值

图 2 HL-22 对 BLM 解旋酶解链活性的影响

Fig. 2 Effects of HL-22 on the unwinding activity of BLM helicase

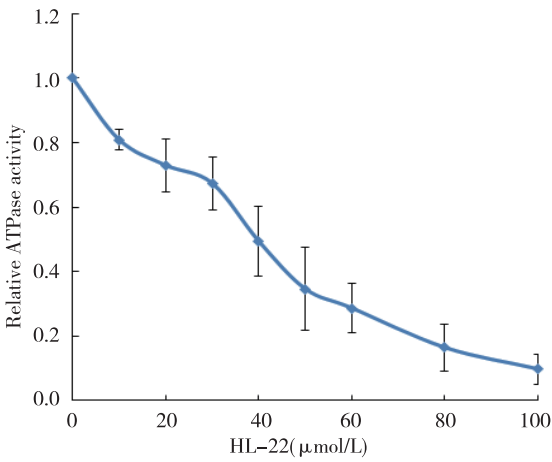
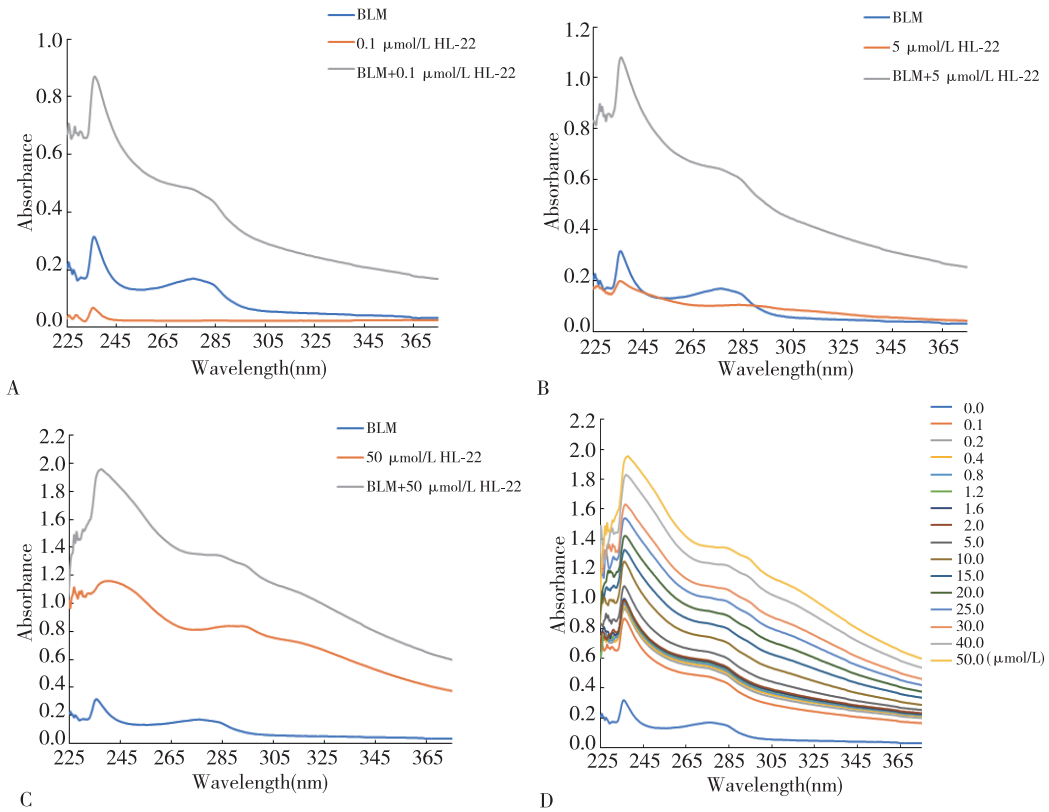


图 3  HL-22 对 BLM 解旋酶 ATPase 活性的影响  
Fig. 3  Effects of HL-22 on the ATPase activity of BLM helicase

3  讨论

BLM<sup>642-1290</sup>解旋酶由解旋区域 (Helicase)、RecQ 保守区域 (RecQ-Ct) 和解旋酶 - 核糖核酸酶 D-C 末端区域 (HRDC) 组成<sup>[15]</sup>。HRDC 区域的功能主要是与 DNA 结合;解旋区域的功能主要是解开 dsDNA,该区域还能与 ATP 结合,具有 ATPase 活性,能水解 ATP 释放能量;RecQ-Ct 区域参与调控 DNA 结合反应和蛋白质 - 蛋白质反应。目前,测定 BLM 解旋酶 DNA 结合功能、解链功能常用的方法包括荧光偏振技术,标记 DNA 解链后电泳及放射自显影技术。本课题研究中所用到的最为关键的技术是荧光偏振技术。荧光偏振技术应用于该



注:A 为 0.1 μmol/L HL-22 对 BLM 解旋酶(500 nmol/L)紫外光谱的影响,B 为 5 μmol/L HL-22 对 BLM 解旋酶(500 nmol/L)紫外光谱的影响,C 为 50 μmol/L HL-22 对 BLM 解旋酶(500 nmol/L)紫外光谱的影响,D 为 HL-22 对 BLM 解旋酶紫外光谱的影响  
图 4  HL-22 对 BLM 解旋酶构象的影响  
Fig. 4  Effects of HL-22 on the conformation of BLM helicase

实验,能够实时跟踪检测 DNA 与药物分子的相互作用、药物分子与 DNA 作用后对 DNA 与 BLM 解旋酶结合活性的影响,以及药物对 BLM 解旋酶解链活性的影响。以解旋酶为靶标治疗癌症的作用机制主要是让药物与 DNA 相互作用,从而修饰 DNA 结构,干预解旋酶的活性功能,进而影响 DNA 的复制、修复和转录等过程。本研究的结果显示,汉防己甲素 HL-22 与荧光素标记的 ssDNA、dsDNA 均能发生结合。HL-22 结合 DNA 后对其结构进行修饰,进而抑制 BLM 解旋酶与其结合,当 HL-22 浓度为 33.34  $\mu\text{mol/L}$  时,其对 BLM 解旋酶结合 dsDNA 和 ssDNA 活性的抑制率分别为 49.07% 和 50.00%。BLM 解旋酶是通过结合双链 DNA 部分解开的单链由 3'-5' 方向解开双链<sup>[16]</sup>,因此,HL-22 强烈抑制 BLM 解旋酶结合 ssDNA 有利于其抑制 BLM 解旋酶的 DNA 解链活性。

本研究还发现 HL-22 对 BLM 解旋酶的解链活性有很强的抑制作用,与上述推论是相符合的。BLM 解旋酶依赖其 ATPase 活性水解 ATP 为其解开 dsDNA 提供能量<sup>[17]</sup>,因此,通过检测 HL-22 对 BLM 解旋酶 ATPase 活性的影响,结果显示 HL-22 对 BLM 解旋酶的 ATPase 活性亦有很强的抑制作用。而 BLM 解旋酶的 ATPase 活性是依赖于其结合 DNA 的能力<sup>[18]</sup>,因此,HL-22 抑制 BLM 解旋酶的 ATPase 活性是与其抑制 BLM 结合 DNA 活性相符的,通过研究 HL-22 影响 BLM 解旋酶的紫外吸收光谱发现,HL-22 能与 BLM 解旋酶结合并使其构象发生改变。理论上推理 HL-22 能通过改变 BLM 解旋酶的构象从而直接抑制其酶活性,然而,HL-22 在浓度为 0.1  $\mu\text{mol/L}$  时对 BLM 解旋酶构象变化的影响就很显著,这与其对 BLM 解旋酶活性的抑制浓度范围具有很大的差异。因此,HL-22 对 BLM 解旋酶活性的抑制是通过其结合 DNA 后对 DNA 结构进行修饰,进而抑制 BLM 解旋酶与其结合来实现的。

综上所述,本文研究了汉防己甲素衍生物 HL-22 对 BLM 解旋酶生物学特性的影响,结果显示,汉防己甲素 HL-22 与荧光素标记的 ssDNA、dsDNA 均能发生结合,HL-22 对 BLM 解旋酶的解链活性有很强的抑制作用、对 BLM 解旋酶的 ATPase 活性亦有很强的抑制作用、HL-22 能与 BLM 解旋酶结合并使其构象发生改变。HL-22 对 BLM 解旋酶活性的抑制可能是通过其结合 DNA 后对 DNA 结构进行修饰,进而抑制 BLM 解旋酶与其结合来实

现的。这对阐明汉防己甲素 HL-22 与 BLM 解旋酶作用的分子机制具有一定意义,为下一步应用该小分子物质进行抗癌研究、并最终用以研发抗癌药物提供了一定的依据。

## 4 参考文献

- [1] HANADA K, HICKSON I D. Molecular genetics of RecQ helicase disorders [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2007, 64 (17): 2306 - 2322.
- [2] CROTEAU D L, POPURI V, OPRESKO P L. Human RecQ helicases in DNA repair, recombination, and replication [J]. *Annu Rev Biochem*, 2014, 83 (1): 519 - 552.
- [3] SWAN M K, LEGRIS V, TANNER A, et al. Structure of human Bloom's syndrome helicase in complex with ADP and duplex DNA [J]. *Acta Crystallogr*, 2014, 70 (5): 1465 - 1475.
- [4] SASSI A, POPIELARSKI M, SYNOWIEC E, et al. BLM and RAD51 genes polymorphism and susceptibility to breast cancer [J]. *Pathol Oncol Res*, 2013, 19 (3): 451 - 459.
- [5] TURLEY H, WU L, CANAMERO M, et al. The distribution and expression of the Bloom's syndrome gene product in normal and neoplastic human cells [J]. *Brit J Cancer*, 2001, 85: 261 - 265.
- [6] WANG X B, HU L H. Protein expression of BLM gene and its apoptosis sensitivity in hematopoietic tumor cell strains [J]. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*, 2008, 28 (1): 46 - 48.
- [7] AGGARWAL M, BROSH R M. Hitting the Bull's Eye: Novel directed cancer therapy through helicase-targeted synthetic lethality [J]. *J Cell Biochem*, 2009, 106 (5): 758 - 763.
- [8] BROSH R M, KAROW J K, WHITE E J, et al. Potent inhibition of Werner and Bloom helicases by DNA minor groove binding drugs [J]. *Nucleic Acids Res*, 2000, 28 (12): 2420 - 2430.
- [9] 段丽霞, 许厚强, 陈祥, 等. 苯甲酸雌二醇对大肠杆菌 RecQ 解旋酶生物学活性的影响 [J]. *中国药学杂志*, 2011, 46 (15): 1146 - 1150.
- [10] 骆衡, 陈祥, 丁玫, 等. 洛美沙星对 Bloom 综合征解旋酶生物学特性影响的机理研究 [J]. *生物化学与生物物理进展*, 2011, 38 (11): 1060 - 1071.
- [11] LAN J, WANG N, LOU H, et al. Design and synthesis of novel tetrandrine derivatives as potential anti-tumor agents against human hepatocellular carcinoma [J]. *Eur J Med Chem*, 2017, 127: 554 - 566.

(下转第 507 页)