

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging ResearchBPPA 通过活性氧介导线粒体损伤促进
头颈癌细胞死亡的作用研究BPPA promotes head and neck cancer cell death *via* mitochondrial damage induced
by reactive oxygen species曾叶茜¹, 周莘卓¹, 冯宇菲¹,
唐 艳¹, 王勇德², 胡春生^{1,2}(1. 重庆文理学院 药学院/创新靶向药物国际研
究院 创新靶向药物国家地方联合工程中心, 重
庆 402160; 2. 重庆市中药研究院 大健康创新中
心, 重庆 400065)ZENG Ye-qian¹, ZHOU Xin-zhuo¹,
FENG Yu-fei¹, TANG Yan¹,
WANG Yong-de², HU Chun-sheng^{1,2}(1. College of Pharmacy, International
Academy of Targeted Therapeutics and
Innovation, National & Local Joint
Engineering Research Center of Targeted
and Innovative Therapeutics, Chongqing
University of Arts and Sciences,
Chongqing 402160, China;
2. Chongqing Key Laboratory of Chinese
Medicine & Health Science, Chongqing
Academy of Chinese Materia Medica,
Chongqing 400065, China)基金项目: 国家自然科学基金资助项目
(81902357); 中国博士后科学基金
资助项目(2022M710550)作者简介: 曾叶茜(2005-), 女, 本科生, 主要从
事抗肿瘤药物方面的研究通信作者: 胡春生, 副教授, 硕士生导师
MP: 18810950551
E-mail: hucs@cqwu.edu.cn

摘要:目的 探讨新型吡唑[1,5-a]嘧啶衍生物(BPPA)对人舌鳞状癌细胞 Cal33 的抗肿瘤活性及作用机制。**方法** 将 Cal33 细胞分为空白组(正常培养)、低、中、高剂量实验组($1, 2.5, 5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ BPPA)及联合组[$2.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ BPPA 和 $5 \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ *N*-乙酰-L-半胱氨酸(NAC)]。用噻唑蓝法检测 BPPA 对肿瘤细胞的存活率;用流式细胞术检测细胞的凋亡情况;用蛋白质印迹法检测凋亡相关蛋白相对表达水平;用免疫荧光分析活性氧及线粒体膜电位的变化情况。**结果**

空白组、低、中、高剂量实验组及联合组的 Cal33 细胞存活率分别为 $(99.56 \pm 0.91)\%$ 、 $(58.31 \pm 2.31)\%$ 、 $(47.93 \pm 1.67)\%$ 、 $(29.35 \pm 4.11)\%$ 和 $(70.27 \pm 1.21)\%$, 凋亡率分别为 $(8.07 \pm 1.01)\%$ 、 $(44.04 \pm 0.94)\%$ 、 $(49.85 \pm 1.75)\%$ 、 $(66.79 \pm 0.83)\%$ 和 $(24.33 \pm 1.04)\%$;活性氧检测的相对荧光强度分别为 1.23 ± 0.21 、 3.37 ± 0.35 、 15.53 ± 1.46 、 20.28 ± 1.24 和 5.59 ± 0.52 , 线粒体膜电位红色荧光/绿色荧光值分别为 4.69 ± 0.11 、 4.24 ± 0.12 、 0.86 ± 0.16 、 0.46 ± 0.05 和 2.99 ± 0.11 。低、中、高剂量实验组上述指标与空白组比较,联合组上述指标与中剂量实验组比较,在统计学上差异均有统计学意义($P < 0.01$, $P < 0.001$)。空白组和低、中、高剂量实验组促凋亡蛋白 B 淋巴细胞瘤-2 基因相关 X 蛋白(Bax)相对表达水平分别为 1.00 ± 0.02 、 1.94 ± 0.03 、 3.73 ± 0.06 和 4.64 ± 0.08 , 同时抑制凋亡蛋白 B 淋巴细胞瘤-2 基因蛋白(Bcl-2)的相对表达水平分别为 1.00 ± 0.02 、 0.75 ± 0.04 、 0.62 ± 0.02 和 0.46 ± 0.03 。低、中、高剂量实验组上述指标与空白组比较,在统计学上差异均有统计学意义($P < 0.01$, $P < 0.001$)。**结论** 化合物 BPPA 具有抗头颈癌活性,其机制是通过促进活性氧生成介导线粒体膜电位降低诱导细胞凋亡导致肿瘤死亡。

关键词: 吡唑类衍生物;头颈癌;细胞凋亡;活性氧;线粒体膜电位

DOI:10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.03.009

中图分类号:R979.1 文献标志码:A

文章编号:1001-6821(2025)03-0340-05

Abstract: Objective To investigate the antitumor activity and mechanism of a pyrazole [1,5-a] pyrimidine derivative (BPPA) on human tongue squamous cell carcinoma Cal33 cells. **Methods** Cal33 cells were divided into blank group (normal culture), experimental - L, - M, - H groups ($1, 2.5$ and $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ BPPA) and combined group [$2.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ BPPA and $5 \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ *N*-acetyl-L-cysteine (NAC)]. Cell viability was determined by thiazole blue assay. Cell apoptosis was measured using flow cytometry, while apoptosis-related protein expression levels were determined by Western blot analysis. Changes in reactive oxygen species and mitochondrial membrane potential were evaluated using immunofluorescence assay. **Results** The survival

rates of Cal33 cells in blank, experimental - L, - M, - H and combined groups were $(99.56 \pm 0.91)\%$, $(58.31 \pm 2.31)\%$, $(47.93 \pm 1.67)\%$, $(29.35 \pm 4.11)\%$ and $(70.27 \pm 1.21)\%$, respectively; cell apoptotic rates were $(8.07 \pm 1.01)\%$, $(44.04 \pm 0.94)\%$, $(49.85 \pm 1.75)\%$, $(66.79 \pm 0.83)\%$ and $(24.33 \pm 1.04)\%$, respectively; the relative fluorescence intensities of reactive oxygen species (ROS) were 1.23 ± 0.21 , 3.37 ± 0.35 , 15.53 ± 1.46 , 20.28 ± 1.24 and 5.59 ± 0.52 , respectively; the mitochondrial membrane potential red fluorescence/green fluorescence values were 4.69 ± 0.11 , 4.24 ± 0.12 , 0.86 ± 0.16 , 0.46 ± 0.05 and 2.99 ± 0.11 , respectively. Compared with blank group, the above indexes in the experimental - L, - M, - H groups were statistically significant ($P < 0.01$, $P < 0.001$). Compared with experimental - M group, the above indexes in combined group were statistically significant ($P < 0.01$, $P < 0.001$). The relative levels of pro-apoptotic B-cell lymphoma - 2 (Bcl - 2) - Associated X protein (Bax) in blank, experimental - L, - M, - H groups were 1.00 ± 0.02 , 1.94 ± 0.03 , 3.73 ± 0.06 and 4.64 ± 0.08 , respectively; the relative levels of anti-apoptotic protein Bcl - 2 were 1.00 ± 0.02 , 0.75 ± 0.04 , 0.62 ± 0.02 and 0.46 ± 0.03 , respectively. Compared with blank group, the above indexes in the experimental - L, - M, - H groups were statistically significant ($P < 0.01$, $P < 0.001$). **Conclusion** BPPA exhibits anti-head and neck cancer activity by ROS mediating the decrease in mitochondrial membrane potential, thereby inducing apoptosis. **Key words:** pyrazole derivative; head and neck cancer; cell apoptosis; reactive oxygen species; mitochondrial membrane potential

活性氧(reactive oxygen species, ROS)在肿瘤的进展、转移和凋亡过程中起着重要作用。ROS的适度增加可以促进肿瘤细胞增殖,而过量的ROS则激活氧化应激,起到抗肿瘤作用^[1-2]。近年来,吡唑类衍生物已被证明具有抗焦虑、抗炎、抗菌及抗肿瘤活性^[3-5]。本课题组合成了新型吡唑[1,5-a]嘧啶衍生物氮-(4-(3-溴吡唑[1,5-a]嘧啶-6-基)苯基)-2-氯乙酰胺[2-(4-(3-bromopyrazolo[1,5-a]pyrimidin-6-yl)phenyl)acetic acid, BPPA]^[6],可显著抑制头颈鳞状细胞癌增殖,但其抗肿瘤机制尚不清楚。本研究通过人舌鳞状癌细胞系 Cal33 和 Scc15,探讨 BPPA 对人舌鳞状癌抗肿瘤活性及通过诱导活性氧介导线粒体损伤导致细胞凋亡的分子机制。

材料与方法

1 材料

细胞 人舌鳞状癌细胞 Cal33 和 Scc15,均购自南京科佰生物科技有限公司。

试剂 BPPA,纯度: >90%,批号:20230709,本实验室合成;N-乙酰-L-半胱氨酸(N-acety-L-cysteine, NAC),批号:N114210,规格:每瓶2g,含量:>98%,购于翌圣生物科技(上海)股份有限公司。杜氏改良培养基(Dulbecco's modified eagle medium, DMEM)、胎牛血清、青链霉素、胰蛋白酶,均购于武汉普诺赛生命科技有限公司;膜外磷脂酰丝氨酸结合蛋

白V-异硫氰酸荧光素(Annexin V-FITC)/碘化丙啶细胞凋亡检测试剂盒、活性氧检测试剂盒、线粒体膜电位检测试剂盒(5,5',6,6'-Tetrachloro-1,1',3,3'-tetraethyl-imidacarbocyanine, JC-1),均购于上海碧云天生物技术有限公司;B淋巴细胞瘤-2基因(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)抗体,购于武汉三鹰生物技术有限公司;Bcl-2相关X蛋白(Bcl-2-associated X, Bax)、 α 微管蛋白(α -Tubulin)、多聚ADP核糖聚合酶(poly ADP-ribose polymerase, PARP)、切割胱天蛋白酶3(Cleaved-Caspase 3)、切割胱天蛋白酶8(Cleaved-Caspase 8)抗体,均购于美国Cell Signaling公司;骨髓细胞白血病序列1(myeloid cell leukemia-1, MCL1)抗体,购于成都正能生物技术有限责任公司。

仪器 Model 3111 CO₂细胞培养箱,美国Thermo公司产品;IX73倒置荧光显微镜,日本OLYMPUS公司产品;Cytation 5多功能酶标仪,美国BioTek公司产品;Odessey双色红外荧光成像系统,美国LI-COR公司产品。

2 实验方法

2.1 细胞培养与实验分组

细胞用DMEM完全培养基,置于37℃、5%CO₂培养箱中培养。

将人舌鳞状癌细胞分为空白组(正常培养)、对照组(5 mmol·L⁻¹ NAC)、低、中、高剂量实验组(1、2.5、5 μ mol·L⁻¹ BPPA)及联合组(2.5 μ mol·L⁻¹ BPPA和5 mmol·L⁻¹ NAC),各组均处理24或48 h。

2.2 噻唑蓝 (methyl thiazolyl tetrazolium, MTT) 法测定细胞的增殖情况^[7]

将 Cal33、Scc15 细胞分别以每孔 5×10^3 个细胞的密度接种于 96 孔细胞培养板中,置于 CO₂ 培养箱中过夜培养;然后加入 BPPA 处理 48 h;每孔中加入 MTT 试剂 10 μ L 后继续培养 4 h;弃掉上清液,加入二甲基亚砷 200 μ L,摇床(以 $80 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 振摇 30 min);通过酶标仪测定 570 nm 处的光密度值。

2.3 流式细胞仪分析细胞的凋亡情况^[7]

将各组细胞重悬,取 1×10^5 个细胞并加入 Annexin V - FITC 结合液 195 μ L 重悬细胞,随后加入 Annexin V - FITC 5 μ L 和碘化丙啶 10 μ L,室温避光孵育 30 min,用流式细胞仪分析细胞凋亡情况。

2.4 ROS 检测试剂盒检测细胞中活性氧的水平^[8]

将各组细胞培养基去除后,加入 2,7 - 二氯荧光素二乙酸酯 (DCFH - DA) 探针和 Hoechst 33342 染色液继续在培养箱中孵育 20 min。用倒置荧光显微镜拍照并分析。

2.5 JC - 1 试剂盒检测线粒体膜电位的变化^[8]

各组细胞培养 24 h 后,更换新鲜培养基,并加入 JC - 1 染色工作液和 Hoechst 33342 染色液,充分混匀。细胞培养箱中 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 20 min 后,用倒置荧光显微镜进行拍照并分析。

2.6 蛋白质印迹法检测蛋白的相对表达水平^[6]

用细胞裂解液含蛋白酶抑制药 200 μ L 从各组细胞中提取总蛋白。蛋白定量后按照总蛋白 20 μ g 进行 10% ~ 15% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳;然后进行转膜上并用 5% 脱脂牛奶室温封闭 2 h;用 PARP、Cleaved - Caspase 3、Cleaved - Caspase 8、MCL1、Bcl - 2、Bax、 α - Tubulin 一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜;对应 IRDye 标记二抗稀释比例为 1: 1×10^4 ,室温孵育 1 h;用 Odyssey 双色红外荧光成像系统检测蛋白条带

并分析检测结果。

3 统计学处理

用 GraphPad Prism 9 软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较行 unpaired - *t* 检验。

结 果

1 BPPA 通过促进 Cal33 和 Scc15 细胞凋亡抑制细胞存活

将 Cal33 和 Scc15 细胞均分别分为空白组(正常培养)、对照组(5 mmol $\cdot$ L⁻¹ NAC)、低、中、高剂量实验组(1、2.5、5 μ mol $\cdot$ L⁻¹ BPPA)及联合组(2.5 μ mol $\cdot$ L⁻¹ BPPA 和 5 mmol $\cdot$ L⁻¹ NAC)。

在 Cal33 细胞中,低、中、高剂量实验组与空白组比较,细胞存活率均显著下降,细胞凋亡率均显著升高(均 $P < 0.001$);联合组与中剂量实验组比较,细胞存活率均显著升高,细胞凋亡率显著降低(均 $P < 0.001$),Scc15 细胞中的实验结果与 Cal33 细胞一致,见表 1。说明 BPPA 可诱导细胞凋亡,NAC 能逆转 BPPA 诱导的细胞凋亡。

2 BPPA 对 Cal33 和 Scc15 细胞凋亡相关蛋白的影响

在 Cal33 细胞中,中、高剂量实验组与空白组比较,促凋亡蛋白 Cleaved - PARP、Cleaved - Caspase 3、Cleaved - Caspase 8、Bax 蛋白的相对表达水平均显著升高,抑凋亡蛋白 MCL1、Bcl2 蛋白的相对表达水平均显著下降,在统计学上差异有统计学意义($P < 0.01$, $P < 0.001$),Scc15 细胞中凋亡相关蛋白表达结果 Cal33 细胞基本一致,见表 2。

3 BPPA 诱导 Cal33 和 Scc15 细胞产生 ROS 和线粒体膜电位下降

在 Cal33 细胞中,空白组、低、中、高剂量实验组

表 1 BPPA 对 Cal33 和 Scc15 细胞存活、凋亡的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effects of BPPA on cell viability and apoptosis of Cal33 and Scc15 cells($\bar{x} \pm s$)

Group	n	Cell survival rate (%)		Apoptosis rate (%)	
		Cal33	Scc15	Cal33	Scc15
Blank	3	99.56 $\pm$ 0.91	99.11 $\pm$ 0.98	8.07 $\pm$ 1.01	5.72 $\pm$ 0.66
Control	3	97.34 $\pm$ 0.82	98.02 $\pm$ 1.06	10.67 $\pm$ 1.08	10.13 $\pm$ 1.26 *
Experimental - L	3	58.31 $\pm$ 2.31 ***	67.54 $\pm$ 2.14 ***	44.04 $\pm$ 0.94 ***	19.42 $\pm$ 1.94 ***
Experimental - M	3	47.93 $\pm$ 1.67 ***	59.24 $\pm$ 3.04 ***	49.85 $\pm$ 1.75 ***	35.23 $\pm$ 1.37 ***
Experimental - H	3	29.35 $\pm$ 4.11 ***	47.05 $\pm$ 5.08 ***	66.79 $\pm$ 0.83 ***	53.11 $\pm$ 1.95 ***
Combined	3	70.27 $\pm$ 1.21 *** ###	81.61 $\pm$ 1.32 *** ###	24.33 $\pm$ 1.04 *** ###	18.46 $\pm$ 2.15 *** ###

Blank group: Normal culture; Control group: Treated with 5 mmol $\cdot$ L⁻¹ N - acetylacarnosine (NAC); Experimental - L, - M, - H groups: Treated with 1, 2.5, 5 μ mol $\cdot$ L⁻¹ BPPA, respectively; Combined group: Treated with 5 μ mol $\cdot$ L⁻¹ NAC and 2.5 μ mol $\cdot$ L⁻¹ BPPA; Compared with blank group,

* $P < 0.05$, ** $P < 0.001$; Compared with experimental - M group, ### $P < 0.001$.

表 2 各组 Cal33 和 Scc15 细胞凋亡相关基因相对表达水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of the expression of related apoptotic genes of Cal33 and Scc15 cells in each groups($\bar{x} \pm s$)

Cell	Group	<i>n</i>	Cleaved - PARP	Cleaved - Caspase 3	Cleaved - Caspase 8	Bax	MCL1	Bcl - 2
Cal33	Blank	3	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.04	1.00 ± 0.02
	Experimental - L	3	1.11 ± 0.03	3.21 ± 0.05 ***	2.08 ± 0.04 ***	1.94 ± 0.03 ***	1.05 ± 0.05	0.75 ± 0.04 **
	Experimental - M	3	1.68 ± 0.02 **	5.68 ± 0.01 ***	4.05 ± 0.07 ***	3.73 ± 0.06 ***	0.54 ± 0.02 ***	0.62 ± 0.02 ***
	Experimental - H	3	3.04 ± 0.05 ***	6.01 ± 0.02 ***	6.21 ± 0.09 ***	4.64 ± 0.08 ***	0.48 ± 0.01 ***	0.46 ± 0.03 ***
Scc15	Blank	3	1.00 ± 0.01	1.00 ± 0.01	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.01	1.00 ± 0.01	1.00 ± 0.01
	Experimental - L	3	2.39 ± 0.02 ***	2.61 ± 0.02 ***	1.68 ± 0.03 ***	3.62 ± 0.04 ***	1.01 ± 0.01	0.75 ± 0.08 **
	Experimental - M	3	2.44 ± 0.03 ***	2.68 ± 0.03 ***	1.99 ± 0.03 ***	5.45 ± 0.05 ***	0.72 ± 0.07 ***	0.69 ± 0.05 **
	Experimental - H	3	2.61 ± 0.03 ***	3.13 ± 0.03 ***	2.91 ± 0.05 ***	6.56 ± 0.07 ***	0.54 ± 0.05 ***	0.50 ± 0.05 ***

Cleaved - PARP: Cleaved poly ADP - ribose polymerase; MCL1: Myeloid cell leukemia - 1; Bcl - 2: B - cell lymphoma - 2; Bax: Bcl - 2 - Associated X; Compared with blank group, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

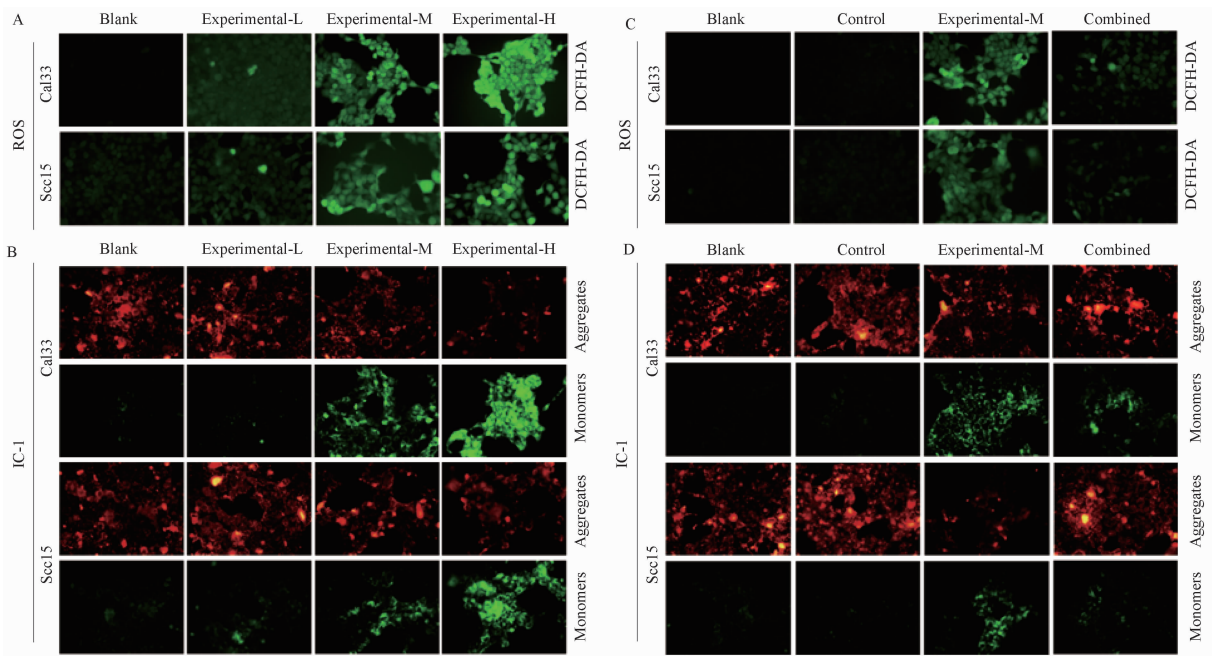


图 1 各组 Cal33 和 Scc15 细胞活性氧(ROS)和线粒体膜电位的变化情况(×200)

Figure 1 The reactive oxygen species (ROS) and mitochondrial membrane potential (MMP) of Cal33 and Scc15 cells in each group(×200)
A: Characteristic ROS fluorescence photographs of Cal33 and Scc15 cells treated with BPPA; B: Fluorescent microscopic JC - 1 images of Cal33 and Scc15 cells treated with BPPA; C: Fluorescence ROS images of Cal33 and Scc15 cells treated with or without NAC in BPPA presence; D: Fluorescent microscopic JC - 1 images of Cal33 and Scc15 cells treated with or without NAC in BPPA presence.

2',7' - 二氯荧光素(2',7' - dichlorofluorescein, DCF)的相对荧光强度值分别为 1.23 ± 0.21 、 3.37 ± 0.35 、 15.53 ± 1.46 和 20.28 ± 1.24 ;JC - 1 红色荧光/绿色荧光比值为 4.69 ± 0.11 、 4.24 ± 0.12 、 0.86 ± 0.16 和 0.46 ± 0.05 。Scc15 细胞各组 DCF 的相对荧光强度值分别为 1.03 ± 0.15 、 3.21 ± 0.29 、 12.58 ± 0.82 和 15.88 ± 0.39 ;JC - 1 红色荧光/绿色荧光比值为 4.12 ± 0.09 、 3.31 ± 0.26 、 1.71 ± 0.11 和 0.90 ± 0.10 。Cal33 细胞和 Scc15 细胞的中、高剂量实验组与空白组比较,DCF 的相对荧光强度值均显著升高,JC - 1 红色荧光/绿色荧光比值均显著降低,在统计学上差异

均有统计学意义($P < 0.01$, $P < 0.001$),见图 1A、B。

4 NAC 通过抑制 ROS 产生及线粒体膜电位下降逆转 BPPA 诱导的细胞凋亡

如图 1C、D 所示,Cal33 细胞空白组、对照组、中剂量实验组和联合组的凋亡率分别为(7.37 ± 1.48)%、(10.67 ± 2.08)%、(49.85 ± 1.75)%和(24.33 ± 1.04)%;DCF 的相对荧光强度值分别为 1.10 ± 0.10 、 1.21 ± 0.12 、 13.11 ± 1.01 和 5.59 ± 0.52 ;JC - 1 红色荧光/绿色荧光比值 7.22 ± 0.22 、 7.13 ± 0.15 、 1.28 ± 0.13 和 2.99 ± 0.11 。Scc15 细胞空白组、对照组、中剂量实验组和联合组的凋亡率分别为

(5.50 ± 1.32)%、(10.13 ± 1.21)%、(35.23 ± 1.04)%和(18.46 ± 2.15)%; DCF 的相对荧光强度值分别为 1.13 ± 0.15 、 1.16 ± 0.19 、 10.15 ± 1.22 和 3.61 ± 0.12 ; JC-1 红色荧光/绿色荧光比值 5.02 ± 0.07 、 5.21 ± 0.22 、 1.11 ± 0.09 和 3.85 ± 0.13 。Cal33 细胞和 Sec15 细胞的联合组与中剂量实验组比较,细胞凋亡率、DCF 的相对荧光强度值均显著下降,而 JC-1 红色荧光/绿色荧光比值均显著升高,在统计学上差异均有统计学意义($P < 0.01$, $P < 0.001$)。

讨 论

ROS 是一类含有氧分子的衍生物,在调控细胞增殖、迁移和血管形成等生命活动中起重要作用^[9]。ROS 是肿瘤发生发展过程中的一把双刃剑。适量的 ROS 促进肿瘤细胞的增殖、迁移、侵袭以及药物耐药;过量的 ROS 会导致肿瘤细胞中蛋白质、DNA、线粒体等氧化损伤,诱导细胞凋亡,起到抗肿瘤作用^[10-11]。因此,研发促进肿瘤细胞 ROS 水平升高的药物,可为头颈癌的治疗提供新策略。基于此,本研究通过药物筛选获得一个具有促进 ROS 合成且具有显著抗头颈癌活性的小分子化合物 BPPA。

吡唑类衍生物具有抗焦虑、抗炎、抗菌及抗肿瘤等生物活性^[12-15]。BPPA 是一种含吡唑基团的小分子化合物,具有显著抗头颈癌的活性。该化合物主要是通过促进细胞凋亡的作用机制发挥抗肿瘤活性。另外,BPPA 促进人舌鳞状癌细胞 ROS 产生,导致线粒体膜电位降低,诱导肿瘤细胞凋亡。研究表明,ROS 引起的氧化损伤将导致线粒体膜电位下降,促进肿瘤细胞发生细胞凋亡。杨乾舸等^[16]研究表明,左布比卡因促进子宫内膜癌细胞 RL-952 线粒体膜电位下降导致线粒体功能障碍,从而诱导 RL-952 细胞凋亡。HUANG 等^[8]研究表明 4-咪唑烷酮衍生物促进结肠癌细胞 ROS 的产生,进而造成线粒体膜电位下降起到抗结肠癌的活性。NAC 是 ROS 生成的抑制剂,其抑制 BPPA 诱导 ROS 的生成,部分恢复线粒体膜电位,降低人舌鳞状癌细胞凋亡。

新型的吡唑类衍生物 BPPA 对人舌鳞状癌 Cal33 和 Sec15 细胞具有显著的抗肿瘤活性。该化合物通过促进肿瘤细胞产生过量的 ROS,导致线粒体膜电位下降,促进肿瘤细胞凋亡。

参考文献:

- [1] SHIN J, NILE A, SAINI R K, et al. Astaxanthin sensitizes low SOD2-expressing GBM cell lines to TRAIL treatment via pathway involving mitochondrial membrane depolarization[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2022, 11(2): 375.
- [2] ZHANG J, ZHAO Y, TIAN Y, et al. Genome-wide screening in the haploid system reveals Slc25a43 as a target gene of oxidative toxicity[J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(3): 284.
- [3] ALAMSHANY Z M, KHATTAB R R, HASSAN N A, et al. Synthesis and molecular docking study of novel pyrimidine derivatives against COVID-19[J]. *Molecules*, 2023, 28(2): 739.
- [4] URBONAVICIUS A, FORTUNATO G, AMBRAZAITYTE E, et al. Synthesis and characterization of novel heterocyclic chalcones from 1-phenyl-1H-pyrazol-3-ol[J]. *Molecules*, 2022, 27(12): 3752.
- [5] HASSAN A S, MOUSTAFA G O, AWAD H M, et al. Design, synthesis, anticancer evaluation, enzymatic assays, and a molecular modeling study of novel pyrazole-indole hybrids[J]. *ACS Omega*, 2021, 6(18): 12361-12374.
- [6] 胡春生, 方波, 胡鑫, 等. 一种具有抗头颈癌作用的化合物及其制备方法和应用: 中国, ZL202210540405.3 [P]. 2023-06-23.
- [7] 唐艳, 谢学琴, 黄玖红, 等. 肌动蛋白 6A 抑制 Hippo/YAP 信号通路促进肺腺癌细胞对顺铂的耐受[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2021, 37(10): 1336-1344.
- [8] HUANG J, WANG J, SONG G, et al. Antiproliferative evaluation of novel 4-imidazolidinone derivatives as anticancer agent which triggers ROS-dependent apoptosis in colorectal cancer cell[J]. *Molecules*, 2022, 27(24): 8844.
- [9] CHEUNG E C, VOUSDEN K H. The role of ROS in tumour development and progression[J]. *Nat Rev Cancer*, 2022, 22(5): 280-297.
- [10] ZHOU X, AN B, LIN Y, et al. Molecular mechanisms of ROS-modulated cancer chemoresistance and therapeutic strategies [J/OL]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 165: 115036. 2023-01-22 [2024-04-01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37354814/>.
- [11] 韦东雪, 江绍锋, 崔珊, 等. 奥沙利铂联合 AG1478 调控活性氧抑制 PI3K/AKT 通路对肺癌的影响[J]. *中国临床药理学杂志*, 2024, 40(12): 1754-1758.
- [12] FANG B, HU C, DING Y, et al. Discovery of 4H-thieno [3,2-b] pyrrole derivatives as potential anticancer agents[J]. *J Heterocyclic Chem*, 2021, 58(8): 1610.
- [13] TURONES L C, MARTINS A N, MOREIRA L K D S, et al. Development of pyrazole derivatives in the management of inflammation [J]. *Fundam Clin Pharmacol*, 2021, 35(2): 217-234.
- [14] TAKATE S J, SHINDE A D, KARALE B K, et al. Thiazolyl-pyrazole derivatives as potential antimycobacterial agents [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2019, 29(10): 1199-1202.
- [15] NANDURKAR Y, SHINDE A, BHOYE M R, et al. Synthesis and biological screening of new 2-(5-aryl-1-phenyl-1H-pyrazol-3-yl)-4-aryl thiazole derivatives as potential antimicrobial agents[J]. *ACS Omega*, 2023, 8(9): 8743-8754.
- [16] 杨乾舸, 覃禹铭, 李武志. 左布比卡因对子宫内膜癌细胞 RL-952 生长和线粒体膜电位的影响[J]. *中国临床药理学杂志*, 2023, 39(12): 1723-1727.

(收稿日期 2024-08-17)