

N'-取代-4-{3-(喹啉-6-基)脲基}苯甲酰肼衍生物的合成及活性研究

谢育乐¹, 杨伊静², 赵胜贤³, 胡鸿雨^{1*} (1. 浙江师范大学行知学院, 浙江 兰溪 321100; 2. 厦门大学药学院, 福建 厦门 361102; 3. 宁波大学科学技术学院, 浙江 慈溪 315302)

摘要:目的 设计合成 *N'*-取代-4-{3-(喹啉-6-基)脲基}苯甲酰肼衍生物, 并对其抗乳腺癌活性进行研究。方法 6-氨基喹啉为起始原料, 通过3步反应合成了一系列目标化合物 **4a~4p**, 并通过¹H NMR、¹³C NMR 和 HRMS 对所有目标化合物进行了结构确证。采用 MTT 法检测了合成化合物对于乳腺癌细胞的抑制作用。结果 表明目标化合物对于乳腺癌细胞的生长具有一定的抑制活性, 其中化合物 **4e** 活性最优, 表现出明显的抑制作用, 抑制乳腺癌细胞系 MCF-7 的 IC₅₀ 为 (2.30 ± 0.34) μmol · L⁻¹, 且 **4e** 对正常乳腺上皮细胞的毒性较小 (IC₅₀ > 100 μmol · L⁻¹), 优于阳性药 Cisplatin。此外 **4e** 能够明显上调孤儿核受体 Nur77 的蛋白表达水平, 并且能够使 MCF-7 出现 S 期阻滞。结论 该系列化合物具有较好的抗乳腺癌的活性, 有进一步研究的价值。

关键词: 苯甲酰肼衍生物; 细胞增殖; 乳腺癌细胞; 孤儿核受体 Nur77; S 期阻滞

doi:10.11669/cpj.2024.03.005 中图分类号:R914 文献标志码:A 文章编号:1001-2494(2024)03-0227-08

Synthesis and Activity of *N'*-Substitute-4-{3-(Quinoline-6-yl) Urea} Benzoyl Hydrazone Derivatives

XIE Yule¹, YANG Yijing², ZHAO Shengxian³, HU Hongyu^{1*} (1. Xingzhi College, Zhejiang Normal University, Lanxi 321100, China; 2. School of Pharmaceutical Sciences, Xiamen University, Xiamen 361102, China; 3. College of Science and Technology, Ningbo University, Cixi 315302, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To design and synthesize *N*-substituted methylene-3-(4-(pyridin-3-yl)pyrimidin-2-yl)amino)benzoylhydrazone derivatives, and evaluate their anticancer activities. **METHODS** Using 3-aminobenzoic acid ethyl ester as the starting reagent, a series of target compounds **4a-4p** were synthesized in a 4-step reaction, and all of the target compounds were structurally characterized by ¹H-NMR, ¹³C-NMR and HRMS. MTT assay was used to detect the inhibitory effect of synthetic compounds on breast cancer cells. **RESULTS** It's showed that the target compounds had certain inhibitory activity on the growth of breast cancer cells, among which compound **4e** was the best one, showing obvious inhibitory effect on breast cancer cells. The IC₅₀ value of breast cancer cell line MCF-7 was (2.30 ± 0.34) μmol · L⁻¹, and the toxicity of **4e** to normal mammary epithelial cells was low (IC₅₀ > 100 μmol · L⁻¹). Thus, **4e** is better than the positive drug cisplatin. In addition, **4e** could significantly up-regulate the protein expression level of Nur77 and induce the S-phase arrest of MCF-7. **CONCLUSION** This series of compounds have good anti-cancer activity and are of interest for further study.

KEY WORDS: benzoylhydrazone derivatives; cell proliferation; breast cancer; Nur77; S-phase arrest

乳腺癌是世界上最常见的恶性肿瘤之一。尽管近几年在诊断和治疗方面取得了进展, 它仍然是第二大常见的癌症死亡原因, 在我国其发病率位居女性恶性肿瘤的首位, 且逐年上升^[1]。化疗是完善的乳腺癌治疗策略之一, 然而, 耐药性是其治疗失败和相关死亡的主要原因。因此, 开发新型的乳腺癌治疗策略及靶向性药物具有重要的临床意义。孤儿核受体 Nur77 属于类固醇/甲状腺激素受体超家族的成员, 其内源性配体至今尚未

被发现, 因此被称为孤儿核受体^[2]。作为立早基因的产物, Nur77 能够以细胞特异的方式被各种刺激如血清、生长因子、放疗、化疗或促凋亡药物等诱导, 从而调控细胞生存、自噬和死亡^[3,4]。许多研究表明, Nur77 与许多肿瘤的发生和发展密切相关。相较于正常乳腺上皮细胞, Nur77 在乳腺癌细胞中表达量更低, 并且随着乳腺癌病程的恶化, 其表达量会进一步降低。有研究表明, 在细胞内过表达 Nur77 可抑制乳腺癌细胞的增殖^[5]。因此,

基金项目: 国家级大学生创新创业训练计划项目资助(202113276001); 金华市公益性技术应用研究项目资助(2022-4-031); 宁波市重点公益性科技计划项目资助(2023S015)

作者简介: 谢育乐, 女, 学士 研究方向: 新药研发 * **通讯作者:** 胡鸿雨, 男, 博士, 副教授 研究方向: 肿瘤药物设计合成及活性筛选
Tel: (0579)82291190

将 Nur77 作为药物靶点进行深入研究,可以为临床上治疗乳腺癌提供新的视角。

本研究采用分子杂合技术,将不同生物活性分子中的药效基团拼接,产生具有潜在的高活性、低毒性和多重作用机理的杂合分子。喹啉类化合物是一类具有广泛生理活性的含氮杂环化合物,广泛应用于医药领域,具有包括杀菌、抗肿瘤、抗病毒、消炎及增强机体免疫等多种作用^[6-8]。酰肼类化合物具有如抗病毒^[9]、抗肿瘤^[10]、抗炎^[11]等广泛的生物活性。实验室前期设计的靶标化合物 4-PQBH 能够与 Nur77 的 LBD 结构域结合,诱导 HCC 细胞发生内质

网应激与空泡化,进而引起细胞凋亡发挥抗癌作用^[12];另一个靶标化合物 7s 能够与 Nur77-LBD 区域的 LEU175 形成氢键,上调 Nur77 的蛋白水平,诱导 H460 细胞凋亡^[13]。本研究在前期的工作基础上,利用分子杂合方法和生物电子等排体设计思路,保留了先导化合物 4-PQBH 抗癌活性必须的喹啉、苯甲酰肼和 7s 的脲药效基团,然后对保留的这两个药效片段进行分子杂合,设计合成了一系列新型的靶标化合物(图 1)。以期获得具有更强抗乳腺癌活性的新型喹啉脲基苯甲酰肼衍生物小分子。目标化合物 4a~4p 的合成路线见图 2。

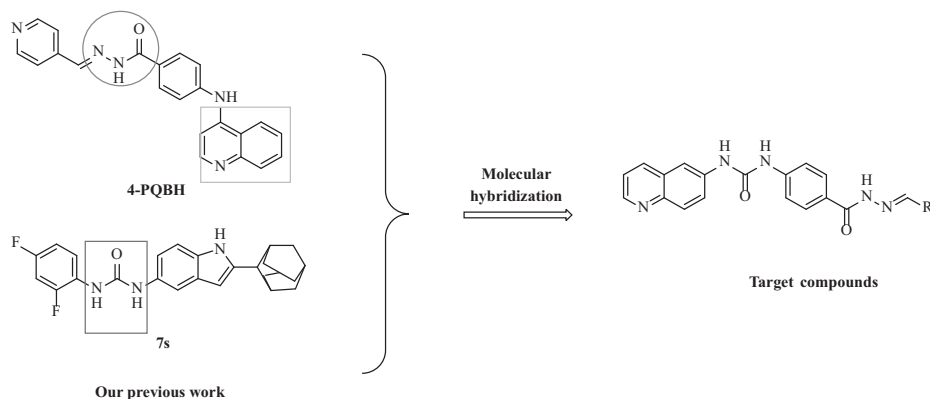


图 1 N' -取代-4-{3-(喹啉-6-基)脲基}苯甲酰肼衍生物的设计

Fig. 1 Design of N' -substitute-4-{3-(quinoline-6-yl) urea} benzoyl hydrazide derivatives

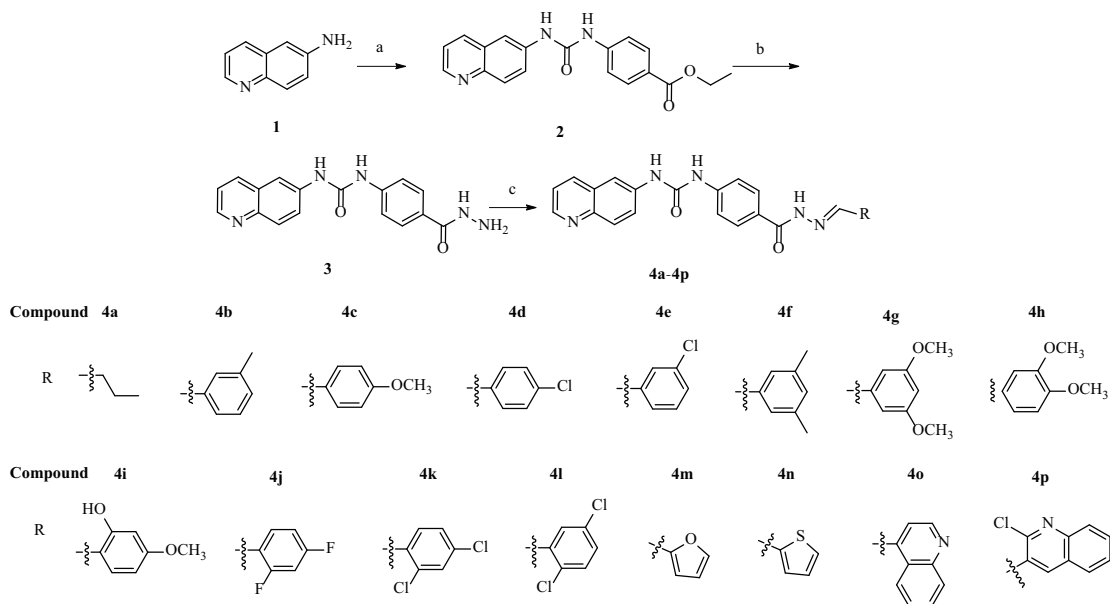


图 2 N' -取代-4-{3-(喹啉-6-基)脲基}苯甲酰肼衍生物 4a~4p 的合成路线

Fig. 2 Synthetic route of N' -substitute-4-{3-(quinoline-6-yl) urea} benzoyl hydrazide derivatives 4a-4p

1 材料与方法

1.1 主要药品与试剂

原料购自上海泰坦科技股份有限公司,所用试

剂均为分析纯,溶剂未经处理直接使用。薄层层析硅胶(青岛海洋化工厂);MTT 粉末(ST1537),细胞周期检测试剂盒(C1052)(碧云天);Nur77 抗体

(12235-1-AP, proteintech)、GAPDH 抗体(60004-1-Ig, proteintech)。

1.2 仪器

WRS-1B 数字熔点仪, Bruker Avance 600 型核磁共振波谱仪(DMSO- d_6 或 $CDCl_3$ 为溶剂, TMS 为内标), Agilent 6230 质谱仪, Attune NxT 超高速流式细胞仪, Thermo Scientific® Multiskan® FC 酶标仪化学发光成像仪(美国 Biorad 公司)。

2 实验方法与结果

2.1 中间体 4-[3-(喹啉-6-基)脲基]苯甲酸乙酯合成(2)

参考文献[14]方法, 在 25 mL 干燥单口瓶中加入 6-氨基喹啉(1.44 g, 0.01 mol), 15 mL 乙醇, 4-异氰酸苯甲酸乙酯(1.91 g, 0.01 mol), 在搅拌状态下升温至 70~80 °C, 反应 2 h, TLC 检测反应已结束, 停止反应。反应液冷却至室温, 抽滤, 乙醇洗涤滤饼, 烘干得白色固体产物 4-[3-(喹啉-6-基)脲基]苯甲酸乙酯 3.0 g, 收率 89.5%。m. p. 180.1~180.4 °C; 1H -NMR(400 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.25(s, 1H), 9.18(s, 1H), 8.76(d, J = 4.0 Hz, 1H), 8.28(d, J = 8.1 Hz, 1H), 8.21(d, J = 1.6 Hz, 1H), 7.97(d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.92(d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.72(dd, J = 1.8, 9.0 Hz, 1H), 7.64(d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.48(dd, J = 4.1, 8.2 Hz, 1H), 4.29(q, J = 6.9 Hz, 2H), 1.32(t, J = 7.0 Hz, 3H)。 ^{13}C -NMR(150 MHz, DMSO- d_6) δ : 168.7, 152.7, 144.6, 137.8, 135.7, 130.9, 130.1, 129.0, 123.5, 123.4, 122.8, 122.3, 118.9, 117.9, 113.9, 60.8, 14.7; HRMS(ESI) m/z : 336.1338[M + H] $^+$, 理论值: 336.1343[M + H] $^+$ 。

2.2 中间体 4-[3-(喹啉-6-基)脲基]苯甲酰胺的合成(3)

参考文献[15]方法, 在 50 mL 干燥单口瓶中加入 4-[3-(喹啉-6-基)脲基]苯甲酸乙酯(3.35 g, 0.01 mol), 30 mL 乙醇, 水合肼 85% (10 g, 0.20 mol), 在搅拌状态下升温至 70~80 °C, 反应 12 h, TLC 检测反应已结束, 停止反应。反应液冷却至室温, 抽滤, 乙醇洗涤滤饼, 烘干得白色固体产物 4-[3-(喹啉-6-基)脲基]苯甲酰胺 2.60 g, 收率 80.7%。m. p. 201.1~202.4 °C; 1H -NMR(400 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.65(bris, 1H), 9.15(s, 1H), 9.07(s, 1H), 8.76(d, J = 2.8 Hz, 1H), 8.27(d, J = 8.1 Hz, 1H), 8.20(d, J = 2.00 Hz, 1H), 7.96(d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.80(d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.71(dd, J = 2.0, 9.07

Hz, 1H), 7.56(d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.48(dd, J = 4.1, 8.2 Hz, 1H), 4.44(bris, 2H)。 ^{13}C -NMR(150 MHz, DMSO- d_6) δ : 166.1, 152.8, 149.0, 144.7, 142.6, 137.9, 135.6, 130.0, 129.0, 128.4, 127.0, 123.5, 122.2, 117.8, 113.7; HRMS(ESI) m/z : 322.1289[M + H] $^+$, 理论值: 322.1299[M + H] $^+$ 。

2.3 N-取代-4-[3-(喹啉-6-基)脲基]苯甲酰胺衍生物的制备

参考文献[16-17]方法, 在干燥的反应瓶中, 先依次加入不同的醛(0.001 mol)、4-[3-(喹啉-6-基)脲基]苯甲酰胺(0.322 g, 0.001 mol)、乙醇(10 mL), 再在搅拌状态升温至回流反应。TLC 检测反应已完全, 停止反应。过滤, 乙醇洗涤滤饼, 烘干得 N-取代-4-[3-(喹啉-6-基)脲基]苯甲酰胺衍生物, 收率 75%~85%。

N'-亚丁基 4-[3-(喹啉-6-基)脲基]苯甲酰胺 **4a**: 白色固体, 收率 75.1%, m. p. 198~200 °C, 1H -NMR(600 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.39(s, 1H), 9.76(s, 1H), 9.74(s, 1H), 8.75(dd, J = 1.3, 3.8 Hz, 1H), 8.27(d, J = 8.0 Hz, 1H), 8.25(d, J = 1.8 Hz, 1H), 7.97(d, J = 9.1 Hz, 1H), 7.85(d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.76(d, J = 2.2 Hz, 1H), 7.75(d, J = 1.8 Hz, 1H), 7.65(d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.47(dd, J = 4.2, 8.2 Hz, 1H), 2.29~2.18(m, 2H), 1.57~1.45(m, 2H), 0.93(t, J = 7.3 Hz, 3H)。 ^{13}C -NMR(150 MHz, DMSO- d_6) δ : 162.9, 153.0, 152.1, 148.8, 144.6, 143.4, 138.2, 135.7, 129.9, 129.1, 129.0, 126.8, 123.5, 122.2, 117.7, 113.6, 34.4, 20.0, 14.1; HRMS(ESI) m/z : 376.1770[M + H] $^+$, 理论值: 376.1768[M + H] $^+$ 。

N'-3-甲基亚苄基-4-[3-(喹啉-6-基)脲基]苯甲酰胺 **4b**: 白色固体, 收率 80.0%, m. p. 233~234 °C, 1H -NMR(600 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.78(bris, 1H), 9.99(s, 1H), 9.78(bris, 1H), 9.04~8.98(m, 1H), 8.85(d, J = 8.0 Hz, 1H), 8.52(d, J = 1.8 Hz, 1H), 8.43(s, 1H), 8.15(d, J = 9.1 Hz, 1H), 7.99(dd, J = 2.2, 9.1 Hz, 1H), 7.93(d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.85(dd, J = 4.7, 8.4 Hz, 1H), 7.69(d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.55(bris, 1H), 7.50(d, J = 7.3 Hz, 1H), 7.34(t, J = 7.5 Hz, 1H), 7.24(d, J = 7.3 Hz, 1H), 2.35(s, 3H)。 ^{13}C -NMR(150 MHz, DMSO- d_6) δ : 163.1, 159.8, 159.6, 152.8, 147.7, 145.0, 143.3, 142.2, 140.0, 138.5, 134.9, 131.1, 129.9, 129.2, 129.2, 127.7, 127.0, 126.6, 124.9, 122.5, 117.9, 113.6, 21.4; HRMS(ESI) m/z : 424.1759[M + H] $^+$, 理论

值:424.1768 [M+H]⁺。

N'-4-甲氧基苄基-4-[(3-喹啉-6-基)脲基]苯甲酰胺 **4c**: 白色固体, 收率 78.3%, m. p. 225 ~ 226 °C, ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.66 (s, 1H), 9.60 (d, *J* = 11.0 Hz, 2H), 8.76 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H), 8.41 (s, 1H), 8.30 (d, *J* = 8.07 Hz, 1H), 8.26 (d, *J* = 1.83 Hz, 1H), 7.98 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.91 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.76 (dd, *J* = 2.0, 9.0 Hz, 1H), 7.70 ~ 7.65 (m, 4H), 7.49 (dd, *J* = 4.0, 8.0 Hz, 1H), 7.03 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 3.81 (s, 3H)。¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 162.9, 161.2, 152.9, 148.8, 147.6, 144.4, 143.5, 138.2, 135.9, 129.8, 129.1, 129.1, 127.5, 126.9, 123.6, 122.2, 118.5, 117.8, 114.8, 113.7, 55.8; HRMS (ESI) *m/z*: 440.1700 [M+H]⁺, 理论值: 440.1717 [M+H]⁺。

N'-4-氯苄基-4-[(3-喹啉-6-基)脲基]苯甲酰胺 **4d**: 白色固体, 收率 80.9%, m. p. 260 ~ 261 °C, ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.86 (brs, 1H), 9.53 (s, 1H), 9.52 (brs, 1H), 8.78 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H), 8.46 (brs, 1H), 8.32 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.27 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.99 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.92 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.79 ~ 7.73 (m, 3H), 7.68 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.57 ~ 7.44 (m, 3H)。¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 163.1, 152.9, 149.3, 148.6, 146.3, 144.1, 143.6, 142.6, 141.1, 138.2, 136.2, 134.8, 133.9, 129.6, 129.4, 129.2, 129.1, 126.7, 123.8, 122.2, 117.8, 113.7; HRMS (ESI) *m/z*: 444.1161 [M+H]⁺, 理论值: 444.1170 [M+H]⁺。

N'-3-氯苄基-4-[(3-喹啉-6-基)脲基]苯甲酰胺 **4e**: 白色固体, 收率 83.5%, m. p. 255 ~ 257 °C, ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.92 (brs, 1H), 9.29 (brs, 2H), 8.81 ~ 8.72 (m, 1H), 8.45 (brs, 1H), 8.28 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.23 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 7.97 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.93 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.79 (brs, 1H), 7.74 (dd, *J* = 1.8, 9.1 Hz, 1H), 7.71 ~ 7.64 (m, 3H), 7.53 ~ 7.44 (m, 3H)。¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 163.2, 152.8, 149.0, 145.9, 144.7, 143.5, 137.9, 137.2, 135.6, 134.1, 132.1, 131.2, 130.0, 129.3, 129.0, 127.4, 126.6, 126.2, 123.5, 122.2, 117.8, 113.8; HRMS (ESI) *m/z*: 444.1161 [M+H]⁺, 理论值: 444.1222 [M+H]⁺。

N'-3,5-甲基苄基-4-[(3-喹啉-6-基)脲基]苯甲酰胺 **4f**: 白色固体, 收率 78.1%, m. p. 225 ~ 227 °C, ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.82 (brs,

1H), 9.75 (brs, 1H), 9.60 (brs, 1H), 8.95 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H), 8.70 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.43 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 8.39 (brs, 1H), 8.10 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.92 (d, *J* = 8.8 Hz, 3H), 7.75 (dd, *J* = 4.5, 8.2 Hz, 1H), 7.68 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 6.88 (brs, 2H), 6.57 (brs, 1H), 3.79 (s, 6H); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 163.2, 161.1, 152.8, 147.7, 146.0, 143.4, 140.5, 139.5, 136.9, 129.6, 129.2, 126.9, 126.1, 125.9, 122.4, 117.9, 113.7, 105.2, 102.6, 55.8; HRMS (ESI) *m/z*: 438.1925 [M+H]⁺, 理论值: 438.1925 [M+H]⁺。

N'-3,5-甲氧基苄基-4-[(3-喹啉-6-基)脲基]苯甲酰胺 **4g**: 白色固体, 收率 85.0%, m. p. 223 ~ 225 °C, ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.75 (s, 1H), 9.07 (s, 1H), 8.54 (s, 1H), 7.72 ~ 7.69 (m, 2H), 7.64 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.56 (s, 1H), 7.22 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.02 (dd, *J* = 1.8, 8.6 Hz, 1H), 6.03 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 11.82 (brs, 1H), 9.75 (brs, 1H), 9.60 (brs, 1H), 8.95 (d, *J* = 3.67 Hz, 1H), 8.70 (d, *J* = 8.07 Hz, 1H), 8.43 (d, *J* = 1.83 Hz, 1H), 8.39 (brs, 1H), 8.10 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.92 (d, *J* = 8.8 Hz, 3H), 7.75 (dd, *J* = 4.6, 8.2 Hz, 1H), 7.68 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 6.88 (brs, 2H), 6.57 (brs, 1H), 3.79 (s, 6H)。¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 163.2, 161.1, 152.8, 147.7, 146.0, 143.4, 140.5, 139.5, 136.9, 129.6, 129.2, 126.9, 126.1, 125.9, 122.4, 117.9, 113.7, 105.2, 102.6, 55.8; HRMS (ESI) *m/z*: 470.1806 [M+H]⁺, 理论值: 470.1823 [M+H]⁺。

N'-3,4-甲氧基苄基-4-[(3-喹啉-6-基)脲基]苯甲酰胺 **4h**: 白色固体, 收率 75.0%, m. p. 221 ~ 222 °C, ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.68 (brs, 1H), 9.92 (brs, 1H), 9.72 (brs, 1H), 9.01 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H), 8.83 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.50 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 8.40 (s, 1H), 8.14 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.98 (dd, *J* = 2.2, 9.1 Hz, 1H), 7.92 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.83 (dd, *J* = 4.9, 8.2 Hz, 1H), 7.68 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.35 (s, 1H), 7.20 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.03 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.81 (s, 3H)。¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 162.9, 159.5, 152.8, 151.1, 149.5, 148.0, 145.3, 143.2, 141.9, 139.9, 129.8, 129.1, 127.6, 127.2, 126.5, 125.2, 122.5, 122.3, 117.9, 113.6, 111.9, 108.6, 56.0, 55.9; HRMS (ESI) *m/z*: 470.1823 [M+H]⁺, 理论

值:470.1806[M+H]⁺。

N'-2-羟基-4-甲氧基亚苄基-4-[(3-喹啉-6-基)脲基]苯甲酰肼 **4i**: 白色固体, 收率 76.6%, m. p. 204 ~ 206 °C, ¹H-NMR(600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.95 (brs, 1H), 11.75 (s, 1H), 9.48 (brs, 2H), 8.76 (brs, 1H), 8.56 (brs, 1H), 8.29 (d, *J* = 6.4 Hz, 1H), 8.24 (brs, 1H), 7.97 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.93 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.75 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.68 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.48 (brs, 1H), 7.42 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 6.57 ~ 6.46 (m, 2H), 3.79 (brs, 3H)。¹³C-NMR(150 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 162.6, 162.4, 159.9, 152.9, 148.9, 148.8, 144.6, 143.6, 138.0, 135.7, 131.7, 130.0, 129.2, 129.1, 126.2, 123.5, 122.2, 117.8, 113.7, 112.3, 106.9, 101.7, 55.8; HRMS(ESI) *m/z*: 456.1620 [M+H]⁺, 理论值: 456.1666 [M+H]⁺。

N'-2,4-二氟亚苄基-4-[(3-喹啉-6-基)脲基]苯甲酰肼 **4j**: 白色固体, 收率 78.2%, m. p. 270 ~ 271 °C, ¹H-NMR(600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.91 (brs, 1H), 9.23 (brs, 2H), 8.76 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H), 8.65 (brs, 1H), 8.27 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.22 (d, *J* = 1.1 Hz, 1H), 8.00 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.97 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.93 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.73 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.66 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.47 (dd, *J* = 4.0, 8.0 Hz, 1H), 7.36 (t, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.21 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H)。¹³C-NMR(150 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 163.0, 160.5, 152.8, 149.0, 144.7, 143.5, 139.5, 137.9, 135.6, 130.0, 129.3, 129.0, 128.3 (dd, *J* = 3.0, 9.0 Hz), 126.5, 123.5, 122.2, 119.3 (dd, *J* = 3.0, 9.0 Hz), 117.8, 113.8 (dd, *J* = 4.5, 22.5 Hz), 113.1, 104.9 (t, *J* = 27.0 Hz); HRMS(ESI) *m/z*: 446.1385 [M+H]⁺, 理论值: 446.1423 [M+H]⁺。

N'-2,4-二氯亚苄基-4-[(3-喹啉-6-基)脲基]苯甲酰肼 **4k**: 白色固体, 收率 80.5%, m. p. 281 ~ 283 °C, ¹H-NMR(600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.06 (brs, 1H), 9.68 (s, 1H), 9.52 (s, 1H), 8.97 (dd, *J* = 1.5, 4.7 Hz, 1H), 8.82 (brs, 1H), 8.75 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.45 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 8.12 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 8.04 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.94 (dd, *J* = 2.0, 9.0 Hz, 3H), 7.79 (dd, *J* = 4.7, 8.4 Hz, 1H), 7.73 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.68 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.56 ~ 7.50 (m, 1H)。¹³C-NMR(150 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 163.1, 159.7, 159.5, 152.8, 145.3, 143.6, 142.4, 141.9, 139.9, 135.4, 134.2, 131.3, 129.8, 129.3,

128.5, 126.6, 126.5, 125.2, 122.5, 117.9, 117.7, 113.6; HRMS(ESI) *m/z*: 478.0818 [M+H]⁺, 理论值: 478.0832 [M+H]⁺。

N'-2,5-二氯亚苄基-4-[(3-喹啉-6-基)脲基]苯甲酰肼 **4l**: 白色固体, 收率 85.0%, m. p. 289 ~ 291 °C, ¹H-NMR(600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.13 (brs, 1H), 9.88 (s, 1H), 9.70 (brs, 1H), 8.99 (dd, *J* = 1.2, 4.7 Hz, 1H), 8.86 ~ 8.74 (m, 2H), 8.48 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 8.13 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.99 ~ 7.90 (m, 4H), 7.83 (dd, *J* = 4.8, 8.3 Hz, 1H), 7.68 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.56 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.49 (dd, *J* = 2.5, 8.6 Hz, 1H)。¹³C-NMR(150 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 163.2, 159.9, 152.8, 145.0, 143.6, 142.0, 142.0, 140.0, 133.9, 132.7, 132.1, 132.0, 131.2, 129.8, 129.3, 126.6, 126.2, 124.8, 122.5, 117.9, 115.8, 113.6; HRMS(ESI) *m/z*: 478.0818 [M+H]⁺, 理论值: 478.0832 [M+H]⁺。

N'-呋喃-2-亚甲基-4-[(3-喹啉-6-基)脲基]苯甲酰肼 **4m**: 白色固体, 收率 80.3%, m. p. 243 ~ 244 °C, ¹H-NMR(600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.77 (brs, 1H), 9.56 (brs, 2H), 8.75 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 8.37 (brs, 1H), 8.27 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.23 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.97 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.91 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.85 (s, 1H), 7.75 (dd, *J* = 2.0, 8.9 Hz, 1H), 7.66 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.47 (dd, *J* = 4.2, 8.2 Hz, 1H), 6.93 (brs, 1H), 6.64 (brs, 1H)。¹³C-NMR(150 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 163.0, 152.9, 150.0, 148.9, 145.5, 144.7, 143.5, 138.0, 137.5, 135.6, 130.0, 129.2, 129.1, 126.6, 123.4, 122.2, 117.7, 113.7, 113.6, 112.7; HRMS(ESI) *m/z*: 400.1374 [M+H]⁺, 理论值 400.1404 [M+H]⁺。

N'-噻吩-2-亚甲基-4-[(3-喹啉-6-基)脲基]苯甲酰肼 **4n**: 白色固体, 收率 80.3%, m. p. 259 ~ 260 °C, ¹H-NMR(600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.75 (s, 1H), 9.19 (s, 2H), 8.76 (dd, *J* = 1.1, 4.0 Hz, 1H), 8.69 (s, 1H), 8.28 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 8.23 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 7.98 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.91 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.73 (dd, *J* = 2.3, 8.9 Hz, 1H), 7.66 (d, *J* = 8.8 Hz, 3H), 7.50 ~ 7.44 (m, 2H), 7.20 ~ 7.09 (m, 1H)。¹³C-NMR(150 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 162.9, 152.8, 149.0, 146.5, 144.7, 143.4, 142.8, 139.8, 137.9, 135.6, 131.2, 130.0, 129.2, 129.0, 128.3, 126.8, 123.5, 122.2, 117.9, 113.8; HRMS(ESI) *m/z*: 416.1168 [M+H]⁺, 理论值 416.1176 [M+H]⁺。

喹啉-4-基亚甲基-4-[(3-喹啉-6-基)脲基]苯甲酰肼 **4o**: 白色固体, 收率 83.4%, *m. p.* 265 ~ 267 °C, ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12.17 (brs, 1H), 9.40 (brs, 1H), 9.39 (s, 1H), 9.12 (brs, 1H), 9.00 (d, *J* = 4.2 Hz, 1H), 8.78 (d, *J* = 2.3 Hz, 2H), 8.32 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 8.25 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 8.12 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.99 (d, *J* = 8.8 Hz, 3H), 7.88 ~ 7.82 (m, 2H), 7.77 (dd, *J* = 2.3, 9.1 Hz, 2H), 7.71 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.50 (dd, *J* = 4.1, 8.1 Hz, 1H)。¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1163.2, 152.9, 150.8, 148.7, 148.7, 144.7, 144.1, 143.8, 138.1, 136.2, 135.7, 130.2, 130.1, 129.6, 129.4, 129.1, 128.1, 126.3, 125.2, 124.8, 123.8, 122.3, 120.3, 117.9, 113.8; HRMS (ESI) *m/z*: 461.174 9 [M + H]⁺, 理论值 461.172 1 [M + H]⁺。

N'-(2-氯喹啉-3-基亚甲基)-4-[(3-喹啉-6-基)脲基]苯甲酰肼 **4p**: 白色固体, 收率 78.9%, *m. p.* 248 ~ 250 °C, ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12.20 (brs, 1H), 9.46 (d, *J* = 12.1 Hz, 2H), 8.95 (d, *J* = 13.9 Hz, 2H), 8.76 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 8.28 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.25 ~ 8.18 (m, 2H), 7.98 (t, *J* = 8.0 Hz, 4H), 7.85 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.75 (dd, *J* = 2.0, 8.9 Hz, 1H), 7.72 ~ 7.66 (m, 3H), 7.47 (dd, *J* = 4.0, 8.0 Hz, 1H)。¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆): δ 152.9, 149.0, 148.9, 147.5, 144.7, 142.6, 138.0, 136.0, 135.6, 132.2, 130.0, 129.4, 129.4, 129.0, 128.3, 128.1, 127.4, 126.8, 126.3, 123.5, 122.2, 117.8, 113.8; HRMS (ESI) *m/z*: 495.127 9 [M + H]⁺, 理论值 495.133 1 [M + H]⁺。

2.4 体外抗肿瘤活性测试

采用溴化噻唑蓝四氮唑 (MTT) 法测定了 **4a** ~ **4p** 对 MCF-7 肿瘤细胞的体外抗肿瘤活性。取处于对数生长期的状态良好的细胞一瓶, 加入质量分数为 0.25% 的胰蛋白酶消化液消化, 使贴壁细胞脱落, 计数, 制成每毫升 2 ~ 4 × 10⁴ 个细胞的悬液。接种于 96 孔板上, 180 μL 每孔, 置恒温 CO₂ 培养箱中培养 24 h。换液, 加入受试化合物的 DMSO 溶液, 每孔 20 μL, 再加入含体积分数为 10% 的血清培养液 80 μL, 培养 48 h。将 MTT 加入 96 孔板中, 每孔 20 μL, 培养箱中反应 4 h。吸去上清液, 加入 DMSO, 每孔 150 μL, 平板摇床上振荡 5 min。用酶联免疫检测仪在波长为 570 nm 处测定每孔的光密度值 (OD 值), 并计算对细胞增殖的抑制率 (见公式 1)。

抑制率% = [(阴性对照组 OD 值 - 受试物组 OD 值) / 阴性对照组 OD 值] × 100% 公式(1)

计算不同浓度下的抑制率, 再以此求出各样品的 IC₅₀ 值。

2.5 免疫印迹法检测化合物对细胞蛋白表达水平的影响

吸去待检测细胞培养基, 用 PBS 润洗后即可裂解收样。取预冷的 RIPA 裂解液加入 100 × Cocktail 蛋白酶抑制剂、100 × 磷酸酶抑制剂, 将裂解液覆盖细胞, 冰上裂解 20 min 后刮取细胞收集裂解液于标记好的 1.5 mL EP 管中, 4 °C, 12 000 r · min⁻¹, 离心 15 min。收集离心后的上清到新的 1.5 mL EP 管中, 加入 5 × Loading buffer 后以金属浴加热 10 min 将样品变性, 冷却后可直接 SDS-PAGE 电泳。电泳结束后取出蛋白胶, 按照滤纸、凝胶、PVDF 膜的顺序放置, 排出气泡, 固定三明治夹, 加入冰盒并补足电转液进行转膜。电转结束后, 用镊子小心从三明治夹中取出 PVDF 膜, 放入 5% 脱脂牛奶中室温封闭 2 h。封闭结束后用 TBST 室温洗膜 3 次, 按照实验需要切下条带放入对应的一抗中 4 °C 过夜孵育或者室孵育温 1.5 h。回收一抗, 将条带用 TBST 室温洗涤 3 次, 加入相应二抗, 室温孵育 1 ~ 2 h。倒去二抗, 将孵育完毕的条带室温 TBST 洗涤 3 次, 于化学发光成像仪上显影。

2.6 细胞周期检测试剂盒检测化合物对细胞周期的影响

收集细胞培养液备用。用胰酶消化细胞, 之后加入前面收集的细胞培养液, 吹打下所有的贴壁细胞, 再次收集到离心管内。1 000 g 左右离心 3 ~ 5 min, 小心吸除上清, 加入约 1 mL 冰浴预冷的 PBS 以重悬细胞, 再次离心沉淀细胞, 小心吸除上清。加入 1 mL 冰浴预冷 70% 乙醇, 轻轻吹打混匀, 4 °C 固定过夜。1 000 g 左右离心 3 ~ 5 min 沉淀细胞, 小心吸除上清, 加入约 1 mL 冰浴预冷的 PBS, 重悬细胞。再次离心沉淀细胞, 小心吸除上清, 后每管细胞样品中加入 0.5 mL 碘化丙啶染色液 (每 0.5 mL 加入 25 μL 碘化丙啶染色液 (20 ×) 和 10 μL RNase A (50 ×)), 缓慢并充分重悬细胞沉淀, 37 °C 避光温浴 30 min。随后可以 4 °C 或冰浴避光存放。染色完成后宜在 24 h 内完成流式检测, 最好能在当日完成流式检测。流式检测和分析: 用流式细胞仪在激发波长 488 nm 波长处检测红色荧光, 同时检测光散射情况。采用适当分析软件进行细胞 DNA 含量分析和光散射分析。

3 结果与讨论

目标化合物的合成以 6-氨基喹啉为起始原料, 通过 3 步反应合成了一系列化合物 **4a** ~ **4p**, 并通过 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 和 HRMS 对所有目标化合物进行了结构确证。采用溴化噻唑蓝四氮唑 (MTT) 比色法, 以 MCF-7 肿瘤细胞模型, 对合成的 16 个目标化合物 **4a** ~ **4p** 进行体外抗肿瘤活性评价, 活性测试结果列于表 1。结果表明, 取代基为烷基的抑制活性明显低于芳香基。芳香基不同取代对 MCF-7 抑制活性有较大影响。在苯环的一取代中 (**4b** ~ **4e**), 3-氯取代 (**4e**) > 4-氯取代 (**4d**) > 4-甲氧基取代 (**4c**) > 3-甲基取代; 在苯环的二取代中 (**4f** ~ **4l**), 3, 6-二氯取代 (**4l**) > 4, 6-二氯取代 (**4k**) > 4, 6-二氟取代 (**4j**) > 3, 5-二甲基取代 (**4f**) > 3, 4-二甲氧基取代 (**4h**) > 2-羟基-4-甲氧基取代 (**4i**) > 3, 5-二甲氧基取代 (**4g**); 在其他杂环代中 (**4m** ~ **4p**), 2-氯-3-取代喹啉 (**4p**) > 噻吩取代 (**4n**) > 呋喃取代 (**4m**) > 4-喹啉取代 (**4o**)。其中 **4e** 和 **4l** 效果最好, 尤其化合物 **4e** 其 IC_{50} 值为 $(2.30 \pm 0.34) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。此外, **4e** 对正常乳腺上皮细胞的毒性均较小 ($\text{IC}_{50} > 100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)。

Western blot 实验结果表明, 用 **4e**、**4l** 处理 MCF-7 细胞 4 h 后, 随着时间推移, 与对照组相比, 它们可以逐步上调细胞内 Nur77 蛋白表达水平 (图 3), 并且可以看出 **4e** 对于细胞内 Nur77 蛋白表达的上调作用更为明显。表明 **4e** 能显著上调细胞内 Nur77 水平, 而其生物学功能与之相关。周期检测试剂盒检测的实验结果表明, 用 **4e** ($3 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 处理 MCF-7 细胞 24 h 后, 与对照组相比, 处于 S 期的细胞有着明显增加 (图 4)。显示细胞发生 S 期阻滞, 则有可能是 DNA 复制过程中出现了损伤, 或者是相关细胞周期蛋白的合成或降解出现问题, 从而使得肿瘤细胞无法顺利从 S 期过渡到 G2 期。具体的机制则需要进一步研究。

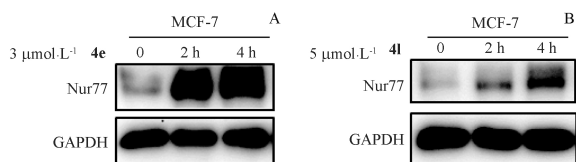
4 结论

通过分子杂合和片段替换策略, 合成了 16 个新的 N' -取代-4-{3-(喹啉-6-基) 脲基} 苯甲酰肼衍生物 **4a** ~ **4p**, 其结构经 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 和 HR-MS 表征。进一步评估了化合物对乳腺癌细胞的生长抑制作用, 其中化合物 **4e** 活性最优, 且优于阳性药 Cisplatin。**4e** 能显著抑制乳腺癌细胞的增殖, 并引起乳腺癌细胞出现 S 期阻滞, 其机制可能是通过上调细胞内 Nur77 蛋白的表达水平。在未来的工作中将会对 **4e** 进行进一步研究。

表 1 目标化合物 **4a** ~ **4p** 体外抗肿瘤活性. $n=3, \bar{x} \pm s$

Tab. 1 Antitumor activities of compounds **4a** - **4p** *in vitro*. $n = 3, \bar{x} \pm s$

Compound	Substituent R	$\text{IC}_{50}/\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$
		MCF-7
4a		> 50
4b		21.27 ± 0.87
4c		13.68 ± 0.35
4d		9.41 ± 0.27
4e		2.30 ± 0.34
4f		18.03 ± 0.56
4g		20.62 ± 1.56
4h		19.06 ± 1.23
4i		20.18 ± 0.33
4j		10.29 ± 0.36
4k		7.76 ± 0.44
4l		4.14 ± 0.23
4m		23.93 ± 0.34
4n		19.30 ± 1.34
4o		25.50 ± 0.76
4p		12.62 ± 0.78
Cisplatin		9.62 ± 0.28

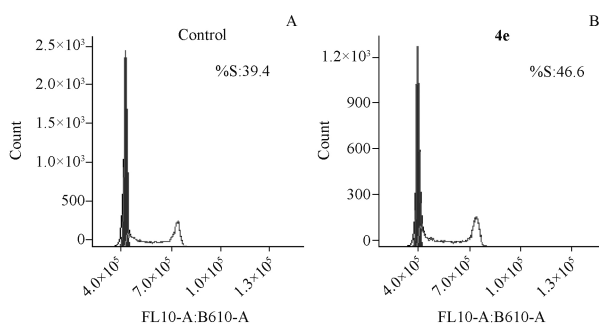


A, B-MCF-7 细胞铺板 24 h 后分别加入 **41**($5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、**4e**($3 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 处理, 于 2, 4 h 后分别收样, 通过免疫印迹法检测得到图中结果。

A, B - MCF-7 cell were plated for 24 h and then treated with **41**($5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) and **4e**($3 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$). Samples were collected 2 and 4 h later, and the results in the figure were obtained by western blot assay.

图 3 化合物 **4e** 上调 Nur77 蛋白表达水平

Fig 3 Compound **4e** up-regulated Nur77 protein expression



A, B - 用溶剂 DMSO 或 **4e** 处理 MCF-7 细胞 24 h 后, 收集细胞并用周期检测试剂盒进行检测。

A, B - treated MCF-7 cells with DMSO or **4e** for 24 h, cells were collected and tested with a cycle detection kit.

图 4 化合物 **4e** 诱导 MCF-7 出现 S 期阻滞

Fig 4 Compound **4e** induced S-phase retardation of MCF-7

REFERENCES

- [1] AVIS N E, LEVINE B J, CASE L D, *et al.* Trajectories of depressive symptoms following breast cancer diagnosis[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2015, 24(11):1789-1795.
- [2] SAFE S, KARKI K. The Paradoxical Roles of Orphan Nuclear Receptor 4A(NR4A) in Cancer[J]. *Mol Cancer Res*, 2021, 19(2):180-191.
- [3] PALUMBO Z K, ZERR P, DISTLER A, *et al.* Orphan nuclear receptor NR4A1 regulates transforming growth factor- β signaling and fibrosis[J]. *Nat Med*, 2015, 21(2):150-158.
- [4] GAO H, CHEN Z, FU Y, *et al.* Nur77 exacerbates PC12 cellular injury *in vitro* by aggravating mitochondrial impairment and endoplasmic reticulum stress[J]. *Sci Rep*, 2016, 6(1):34403.
- [5] ALEXOPOULOU A N, LEO M, CABALLER O L, *et al.* Dissecting the transcriptional networks underlying breast cancer;

NR4A1 reduces the migration of normal and breast cancer cell lines[J]. *Breast Cancer Res*, 2010, 12(4):R51.

- [6] GOUDA A M, MOHASSAB A M, DALIA A H, *et al.* Design and synthesis of novel quinoline/chalcone/1,2,4-triazole hybrids as potent antiproliferative agent targeting EGFR and BRAFV600E kinases[J]. *Bioorg Chem*, 2020, 106:104510.
- [7] KARDIL R A, SARKATEA P, BORUDE A S, *et al.* Design and synthesis of novel conformationally constrained 7, 12-dihydro-ibenzo[b, h][1, 6] naphthyridine and 7H-Chromeno[3, 2-c] quinoline derivatives as topoisomerase I inhibitors; *in vitro* screening, molecular docking and ADME predictions[J]. *Bioorg Chem*, 2021, 115:105174.
- [8] WALLE T, COOLS L, MANGELINCKX S, *et al.* Recent contributions of quinolines to antimalarial and anticancer drug discovery research[J]. *Eur J Med Chem*, 2021, 226:113865.
- [9] WANG Z W, JIANG Y, LIU F, *et al.* Microwave-induced rapid preparation of *N, N'*-disalicylhydrazine and its anti-HIV activity [J]. *Fine Chem Intermed* (精细化工中间体), 2014, 44(3):33-36.
- [10] EL-SADEK M E, ABOUKULL M E, EL-SABBAGH O I, *et al.* Design, synthesis and cytotoxic activity of novel 1-aryl-4-(2-chloroethyl) semicarbazides [J]. *Pharm Chem J*, 2007, 41(4):188-192.
- [11] YU Y Y, LV Y F, YANG M, *et al.* The synthesis and anti-inflammatory activity of *N*-bromoacetyl salicylhydrazide [J]. *Fine Spec Chem* (精细与专用化学品), 2016, 24(10):38-40.
- [12] LI B C, HUANG J G, LIU J, *et al.* Discovery of a Nur77-mediated cytoplasmic vacuolation and paraptosis inducer(4-PQBH) for the treatment of hepatocellular carcinoma [J]. *Bioorg Chem*, 2022, 121:105651.
- [13] HU H Y, LIN C R, AO M T, *et al.* Synthesis and biological evaluation of 1-(2-(adamantane-1-yl)-1H-indol-5-yl)-3-substituted urea/thiourea derivatives as anticancer agents[J]. *RSC Adv*, 2017, 7(81):51640-51651.
- [14] HU H Y, JIA R, ZHAO S X, *et al.* Synthesis and anti-tumor activity of pyridylpyrimidinyl semicarbazide derivatives [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2021, 56(24):1974-1980.
- [15] ZHU K Y, ZHAO S X, HE F M, *et al.* Design, synthesis and anti-HIV-1 activity of 4-(4-phenylpyrimidin-2-ylamino) benzohydrazide derivatives as CDK9 inhibitors [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2022, 57(19):1596-1600.
- [16] FENG M H, WAN C, CAO Y, *et al.* Design, synthesis, and biological evaluation of (E)-*N'*-substitute-4-((4-pyridylpyrimidin-2-yl)amino) benzohydrazide derivatives as novel potential CDK9 inhibitors [J]. *Arabian J Chem*, 2022, 15, 104039.
- [17] WU J, HU H Y, AO M T, *et al.* Design, synthesis, and biological evaluation of 5-(4-(pyridin-3-yl)pyrimidin-2-yl) amino)-1H-Indole-2-Carbohydrazide derivatives: the methuosis inducer 12A as a Novel and selective anticancer agent[J]. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2021, 36(1):1436-1453.

(收稿日期:2023-05-17)