

# 1,8-二甲基-3,5,7-三硝基-2-喹诺酮诱导人肺癌 A549 细胞凋亡

陈春雪, 尤朋涛, 马元春, 刘焱文, 陈新\*

(湖北中医药大学, 中药资源与中药化学省级重点实验室, 武汉 430065)

**[摘要]** 目的:研究1,8-二甲基-3,5,7-三硝基-2-喹诺酮对人肺癌 A549 细胞的促凋亡作用及其可能的分子机制。方法:四甲基偶氮唑蓝(MTT)比色法测定1,8-二甲基-3,5,7-三硝基-2-喹诺酮对 A549 细胞增殖的影响;流式细胞术检测细胞凋亡率;蛋白免疫印迹法(Western blot)检测1,8-二甲基-3,5,7-三硝基-2-喹诺酮对 A549 细胞中活化型半胱天冬酶-3(cleaved-Caspase-3),B 细胞淋巴瘤-2(Bcl-2),Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax),总蛋白激酶 B(Akt),磷酸化蛋白激酶 B(p-Akt),叉头框蛋白 O1(FOXO1),磷酸化叉头框蛋白 O1(p-FOXO1),Bcl-2 促细胞凋亡蛋白(Bim)表达的干预作用。结果:1,8-二甲基-3,5,7-三硝基-2-喹诺酮(1.25,2.5,5,10,20 mg·L<sup>-1</sup>)能质量浓度和时间依赖性地抑制 A549 细胞增殖。作用 12,24 h 的半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)分别为 2.80,2.05 μmol·L<sup>-1</sup>。流式细胞术结果显示 1,8-二甲基-3,5,7-三硝基-2-喹诺酮能显著诱导细胞凋亡,随着药物质量浓度的提高,细胞凋亡率逐渐上升。Western blot 检测显示,1,8-二甲基-3,5,7-三硝基-2-喹诺酮上调 cleaved-Caspase-3 和 Bax 蛋白的表达,下调 Bcl-2 蛋白的表达。同时会下调 p-Akt 和 p-FOXO1 的表达,上调 Bim 的表达。结论:1,8-二甲基-3,5,7-三硝基-2-喹诺酮能够诱导 A549 细胞凋亡,该药理作用可能与 1,8-二甲基-3,5,7-三硝基-2-喹诺酮抑制磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)/Akt/FOXO1 信号通路有关。

**[关键词]** 1,8-二甲基-3,5,7-三硝基-2-喹诺酮;人肺癌 A549 细胞;细胞凋亡;PI3K/Akt/FOXO1 信号通路

**[中图分类号]** R284.1;R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)18-0130-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2017180130

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170626.1620.004.html>

**[网络出版时间]** 2017-06-26 16:20

## 1,8-Dimethyl-3,5,7-trinitro-2-quinolone-induced Apoptosis of Lung Adenocarcinoma A549 Cells

CHEN Chun-xue, YOU Peng-tao, MA Yuan-chun, LIU Yan-wen, CHEN Xin\*

(Hubei Provincial Key Laboratory for Resource and Chemistry of Traditional Chinese Medicine, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of 1,8-dimethyl-3,5,7-trinitro-2-quinolone in promoting the apoptosis of lung adenocarcinoma A549 cells, and explore its underlying mechanism. **Method:** The effect of 1,8-dimethyl-3,5,7-trinitro-2-quinolone on A549 cell line proliferation was detected by methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide (MTT) assay, and flow cytometry was used to determine the apoptosis rate. Protein expressions of cleaved-cysteine aspartate protease-3 (Caspase-3), B-cell lymphoma-2 (Bcl-2), Bcl-2 associated X protein (Bax), Akt, p-Akt, forkhead bax protein O1 (FOXO1), p-FOXO1 and Bim in A549 cells were detected by Western blot. **Result:** The 1,8-dimethyl-3,5,7-trinitro-2-quinolone (1.25, 2.5, 5, 10,

**[收稿日期]** 20170405(010)

**[基金项目]** 湖北省自然科学基金项目(2016CFB359);湖北中医药大学科研启动基金项目(000913)

**[第一作者]** 陈春雪,在读硕士,从事天然活性产物的化学合成与结构修饰研究,Tel:15527804618,E-mail:1575964321@qq.com

**[通讯作者]** \*陈新,博士,助理研究员,从事天然活性产物的化学合成与结构修饰研究,Tel:18602744533,E-mail:chenxin30172@hotmail.com

20 mg·L<sup>-1</sup>) inhibited A549 cell proliferation in time and dose-dependent manners. The half-maximal inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) was 2.80, 2.05 μmol·L<sup>-1</sup>, respectively at 12, 24 h. Flow cytometry showed that 1, 8-dimethyl-3, 5, 7-trinitro-2-quinolone could significantly induce apoptosis of A549. The apoptosis rate was gradually increased with the rise of drug concentration. The expressions of cleaved-caspase-3 and Bax protein were increased, while the expression of Bcl-2 were decreased. At the same time, the expressions of p-Akt and p-FOXO1 protein were increased, while the expression of Bim was decreased. **Conclusion:** The 1, 8-dimethyl-3, 5, 7-trinitro-2-quinolone could induce apoptosis in A549 cells, which may be related to the phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) /Akt/FOXO1 signaling pathway.

**[Key words]** 1, 8-dimethyl-3, 5, 7-trinitro-2-quinolone; lung denocarcinoma A549 cells; apoptosis; phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) /Akt/FOXO1 signaling pathway

天然的 2-喹诺酮类化合物主要存在于芸香科 Rutaceae 吴茱萸属、花椒属、臭常山属和黄皮属等植物中<sup>[1]</sup>。现代药理学研究发现 2-喹诺酮具有广泛的药理作用,如抗肿瘤、抗炎、镇痛、抗病毒、抗血小板凝结、抗菌和抗氧化等活性<sup>[2-4]</sup>。研究还发现 2-喹诺酮衍生物对人肺癌、结肠癌、胃癌、人宫颈癌、人乳腺癌和卵巢癌等多种肿瘤细胞具有好的抑制作用,具有显著的抗肿瘤活性<sup>[5-8]</sup>。肺癌是当今世界上严重威胁人类健康与生命的恶性肿瘤,发病率在多数国家呈明显上升趋势,全球每年有超过 100 万人死于肺癌,约 85% 死于非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)。世界卫生组织报告肺癌和艾滋病将是 21 世纪危害人类健康最严重的疾病。目前针对 NSCLC 的治疗方法主要包括手术、放疗和化疗等<sup>[9]</sup>。前期研究发现 2-喹诺酮类的硝基衍生物对多种肿瘤细胞具有很好的增殖抑制作用。近年有关磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B(PI3K/Akt) 信号通路在控制基因表达、细胞增殖和凋亡等生理功能方面的研究引起了人们的重视,大量研究表明 Akt 的过度激活与肿瘤的发生、发展及侵袭、转移等有关,并且大多数 NSCLC 患者的 Akt 表达明显升高,说明 PI3K/Akt 信号通路对于 NSCLC 的发生、发展有重要的影响<sup>[10]</sup>。目前关于 2-喹诺酮类的硝基衍生物对多种肿瘤细胞的增殖抑制作用机制尚不明确<sup>[11]</sup>。本实验以 A549 为受试对象研究,研究 1,8-二甲基-3,5,7-三硝基-2-喹诺酮抗肺癌可能的抗肺癌作用机制,为其开发成抗肿瘤药物提供实验基础。

## 1 材料

**1.1 细胞** 人肺癌 A549 细胞株购自于美国 ATCC 公司,保存于湖北中医药大学科技中心药理实验室。

**1.2 试剂** 1,8-二甲基-3,5,7-三硝基-2-喹诺酮(实验室自提,纯度 > 98%); 噻唑蓝(MTT, 武汉飞羿科技有限公司,批号 20160304); RPMI-1640 培养

基(美国 Gibco 公司,批号 AB212917); 磷酸盐缓冲液(PBS, 美国 HyClone 公司,批号 NAF1413); 0.25% EDTA 胰酶(上海源培生物科技有限公司,批号 G40308); DMSO(美国 Sigma 公司,批号 RNBC9664); Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒(江苏凯基生物技术股份有限公司,批号 20160418); 抗体活化型半胱天冬酶-3(cleaved-Caspase-3), B 细胞淋巴瘤-2(Bcl-2), Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax), 总蛋白激酶 B(Akt), 磷酸化蛋白激酶 B(p-Akt), 叉头框蛋白 O1(FOXO1), 磷酸化叉头框蛋白 O1(p-FOXO1), Bcl-2 促细胞凋亡蛋白(Bim), β-肌动蛋白(β-actin), 二抗兔抗及鼠抗(美国 Cell Signaling Technology 公司,批号分别为 9661L, 2870P, 2772S, 5373S, 4068S, 2880P, 9461S, 2933S, 4970S, 4782S); 其他试剂为分析纯。

**1.3 仪器** XDS-1B 倒置显微镜(重庆光电仪器公司); SW-CJ-2F 型双人双面净化工作台(苏州净化设备有限公司); HH-CP-01 型 CO<sub>2</sub> 培养箱(上海福玛实验设备有限公司); BP-211D 型 1/10 万分析天平, Sigma 3-18 型超速离心机(德国赛多利斯集团); LDZX-40 型高压蒸气灭菌锅(上海申安医疗器械厂); 308-1K 型流式细胞仪(美国 Beeton Dickinson 公司); Model 型全自动酶标仪, Mini-Protean 型电泳系统(美国 Bio-Rad 公司)。

## 2 方法

**2.1 细胞培养** 人肺癌 A549 细胞以适量的密度接种于培养瓶中,加入含 10% 胎牛血清, 100 U·mL<sup>-1</sup>青霉素, 100 U·mL<sup>-1</sup>链霉素的 RPMI 1640 完全培养液,置于 37 °C 5% CO<sub>2</sub> 及饱和湿度的培养箱中培养,细胞呈贴壁生长。取处于对数期生长状态良好的细胞进行实验。

**2.2 MTT 法检测对 A549 细胞增殖的影响** 取对数生长期的 A549 细胞加入胰酶消化后,用 RPMI

1640 完全培养基配制为单个细胞悬液( $5 \times 10^4$  个/mL)并接种于 96 孔培养板(每孔 100  $\mu$ L),置于 37  $^{\circ}$ C 5%  $CO_2$  培养箱中培养,使细胞贴壁。实验组分别加入用 DMSO 溶解并用培养液稀释的不同质量浓度(1.25, 2.5, 5, 10, 20  $mg \cdot L^{-1}$ )的 1,8-二甲基-3,5,7-三硝基-2-喹诺酮溶液。每组都各设 3 个平行孔,同时设 1,8-二甲基-3,5,7-三硝基-2-喹诺酮不同质量浓度组和空白组。相同条件下培养 12, 24 h。采用 MTT 法评价其不同作用时间对细胞增殖的影响。实验重复 3 次。

**2.3 AnnexinV-FITC/PI 法检测对 A549 细胞凋亡的影响** 取处于生长状况良好的对数期 A549 细胞,经过处理后以  $1 \times 10^6$  个/mL 细胞接种到 6 孔板,每孔 2 mL,置于 37  $^{\circ}$ C 5%  $CO_2$  恒温培养箱中培养,单层细胞贴壁良好长至约 90% 时,弃去培养基,每孔加入新鲜配制的药液 2 mL(质量浓度分别为 0, 1.25, 2.5, 5  $mg \cdot L^{-1}$ ),作用 12 h 后,收集细胞。按照凋亡试剂盒说明书上面的步骤进行操作:将细胞重悬于 Binding Buffer 500  $\mu$ L 中加入 AnnexinV-FITC 5  $\mu$ L 和 PI 10  $\mu$ L,轻轻混匀,避光室温反应 5 ~ 15 min。在 1 h 内采用 FCM 流式细胞仪进行检测。

**2.4 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测对 A549 细胞相关蛋白表达的影响** 将 A549 细胞以  $1 \times 10^6$  个/mL 接种于 6 孔板,每孔接种细胞悬液 2 mL,孵育 12 h 后,将实验分为空白组和不同浓度给药组,加入终质量浓度为 0, 1.25, 2.5, 5  $mg \cdot L^{-1}$  的 1,8-二甲基-3,5,7-三硝基-2-喹诺酮作用细胞 12 h 后,收集蛋白,BCA 法测定蛋白浓度。分别加入 cleaved-Caspase-3, Bcl-2, Bax, Akt, p-Akt, FOXO1, p-FOXO1, Bim,  $\beta$ -actin 一抗溶液(1:1 000)4  $^{\circ}$ C 下摇床孵育过夜, TBST 漂洗,再加入辣根过氧化物酶标记的二抗

溶液(1:10 000)孵育 2 h 后, ECL 试剂盒显影检测。以  $\beta$ -actin 为内参。

**2.5 统计学方法** 用 SPSS 19.0 统计软件进行分析。Craphpad prism 5 软件进行作图。数据用表示  $\bar{x} \pm s$ , 两两比较采用单因素方差分析,两组间比较采用 *t* 检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。扫描胶片,并用 Image J 软件分析对蛋白条带相对于内参  $\beta$ -actin 的灰度值进行分析(所有蛋白条带均扣除背景)。

### 3 结果

**3.1 对细胞增殖情况的影响** 与空白组比较,随着 1,8-二甲基-3,5,7-三硝基-2-喹诺酮质量浓度的升高和作用时间的延长,对 A549 细胞的抑制率也明显增高。作用 12, 24 h 的半数抑制浓度( $IC_{50}$ )分别为 2.80, 2.05  $\mu mol \cdot L^{-1}$  细胞存活率呈现明显的量效和时效关系。见表 1。

表 1 1,8-二甲基-3,5,7-三硝基-2-喹诺酮对 A549 抑制率影响( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	质量浓度/ $mg \cdot L^{-1}$	12 h	24 h
空白	-	0	0
1,8-二甲基-	1.25	50.11 $\pm$ 4.01	76.12 $\pm$ 5.24 <sup>1)</sup>
3,5,7-三硝基-	2.5	88.23 $\pm$ 3.08 <sup>1)</sup>	92.03 $\pm$ 3.12 <sup>1)</sup>
2-喹诺酮	5	92.44 $\pm$ 4.07 <sup>2)</sup>	96.31 $\pm$ 5.31 <sup>2)</sup>
	10	96.51 $\pm$ 3.09 <sup>2)</sup>	98.05 $\pm$ 4.08 <sup>2)</sup>
	20	97.42 $\pm$ 2.52 <sup>2)</sup>	99.34 $\pm$ 3.05 <sup>2)</sup>

注:与空白组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ (表 2, 图 2 同)。

**3.2 对细胞凋亡的影响** 与空白比较,随着化合物质量浓度的升高, A549 细胞经处理后细胞总凋亡率增加,细胞早期凋亡和晚期凋亡率逐渐增加( $P < 0.05, P < 0.01$ ),呈现一定的浓度依赖性。表 2。

表 2 1,8-二甲基-3,5,7-三硝基-2-喹诺酮对 A549 细胞凋亡率的影响( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	质量浓度/ $mg \cdot L^{-1}$	早期凋亡率	晚期凋亡率	总凋亡率
空白	-	1.86 $\pm$ 0.23	2.20 $\pm$ 0.12	4.06 $\pm$ 0.35
1,8-二甲基-3,5,7-三	1.25	1.82 $\pm$ 0.91	3.43 $\pm$ 1.30	5.25 $\pm$ 2.21
硝基-2-喹诺酮	2.5	3.42 $\pm$ 1.30	10.87 $\pm$ 2.11	14.29 $\pm$ 2.41 <sup>1)</sup>
	5	4.11 $\pm$ 1.76	18.92 $\pm$ 2.56	23.03 $\pm$ 3.32 <sup>2)</sup>

**3.3 对相关蛋白表达的影响** 在不同质量浓度(0, 1.25, 2.5, 5  $mg \cdot L^{-1}$ )的 1,8-二甲基-3,5,7-三硝基-2-喹诺酮作用 A549 细胞 12 h 后, cleaved-Caspase-3 及 Bax 的表达随药物浓度的增大而上调, Bcl-2 的表达随药物浓度的增大而下调( $P < 0.05$ ,

$P < 0.01$ )。同时检测了 PI3K/Akt/FOXO1 通路相关蛋白,结果发现其可下调 p-Akt 和 p-FOXO1 的表达,上调 Bim 的表达( $P < 0.05, P < 0.01$ )。故推测 1,8-二甲基-3,5,7-三硝基-2-喹诺酮可能通过抑制 PI3K/Akt/FOXO1 信号通路诱导 A549 肺癌细胞

发生凋亡。见图 1。

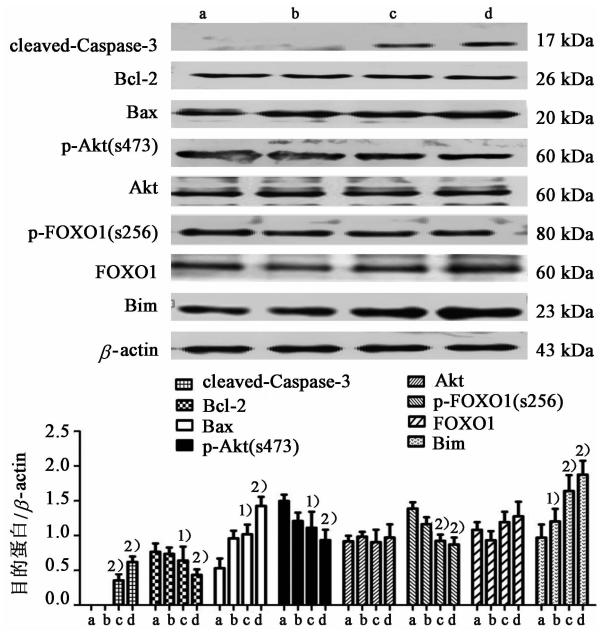


图 1 1,8-二甲基-3,5,7-三硝基-2-喹诺酮对 A549 细胞 cleaved-Caspase-3, Bcl-2, Bax, Akt, p-Akt, FOXO1, p-FOXO1, Bim 蛋白水平表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Fig.1 Effect of 1,8-dimethyl-3,5,7-trinitro-2-quinolone on A549 cell cleaved-Caspase-3, Bcl-2, Bax, Akt, p-Akt, FOXO1, p-FOXO1, Bim protein expression levels ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

#### 4 讨论

已报道的天然活性 2-喹诺酮类化合物主要存在于芸香科药材中,如从吴茱萸中分离得到的 4 种 2-喹诺酮类生物碱对人结肠癌细胞 HT-29,人乳腺癌细胞 MCF-7,人肝癌细胞 HepG2 均具有细胞毒活性,但其抗肿瘤作用机制尚未见报道<sup>[12]</sup>。

另一方面,通过化学合成方法获得具有 1-甲基-2-喹诺酮骨架(简称为 MeQone)衍生物的报道也屡见不鲜。如喹啉的直接 1 位甲基化和 2 位氧化<sup>[13]</sup>,在苯环骨架上进行吡啶酮环的构建<sup>[14]</sup>,环转换<sup>[15]</sup>等合成方法。MeQone 类衍生物具有较强的化学活性,如 MeQone-OH 可以通过 Michael addition<sup>[16]</sup>,多组分缩合反应<sup>[17]</sup>,C-H/O-H 键的官能化<sup>[18]</sup>等进行环合反应;也可以进行取代反应<sup>[19]</sup>。

近年有 PI3K/Akt 信号通路在控制基因表达、细胞增殖和凋亡等生理功能方面的研究引起了人们的重视,大量研究表明 Akt 的过度激活与肿瘤的发生、发展及侵袭、转移等有关,并且大多数 NSCLC 患者的 Akt 表达明显升高,说明 PI3K/Akt 信号通路对于 NSCLC 的发生、发展有重要的影响<sup>[10]</sup>。PI3K/Akt 通路的失调对肺癌的形成和发展具有重要的作用,活化的 PI3K/Akt 通路可以激活下游多条信号的转

导,促进 NSCLC 的发展。PI3K/Akt 信号通路靶点多并且分布于 NSCLC 发生、发展的各个阶段,研究基于此条信号通路的新型靶向制剂比较有意义<sup>[20]</sup>。PI3K/Akt 信号通路在肿瘤细胞中的异常激活,促进肿瘤细胞恶性增殖、侵袭转移能力,并且在肿瘤的化疗耐药和放射治疗抗拒中起着非常重要的作用。因此通过深入揭示和了解该通路作用的分子机制,进一步认识肿瘤的发生、发展,为肿瘤的治疗提供新策略和新靶点,为寻求抗肿瘤新药物提供新的方向,其将可能成为恶性肿瘤患者新的希望。

细胞凋亡具有主要的 3 条途径:细胞外通路死亡受体凋亡途径与线粒体凋亡途径以及细胞内通路内质网通路。细胞凋亡是多基因(如 Caspase 家族, Bcl-2 家族,癌基因等)严格控制,涉及到一系列基因的激活、表达以及调控等过程。本实验中虽未设置阳性对照,但采用活性化合物组与空白组,或者高浓度组与低浓度组形成对照,也能较充分的说明该活性化合物抗肿瘤作用的强弱。笔者发现 2-喹诺酮类衍生物 1,8-二甲基-3,5,7-三硝基-2-喹诺酮作用于人肺腺癌 A549 细胞 12 h 后,随着其作用的浓度增加时,cleaved-Caspase-3 和 Bcl-2 的表达下调,Bax 的表达上调。

当 Akt 激酶被激活时,磷酸化的 p-Akt 可以磷酸化 FOXO1 蛋白,磷酸化的 p-FOXO1 通过和 14-3-3 蛋白作用从细胞核转移到细胞质中,其转录活性受到抑制。但当 Akt 激酶的活性受到抑制时,对 FOXO1 的磷酸化作用就会减弱,进而使 FOXO1 转录活性增强,通过影响其下游众多靶基因的表达,引起细胞周期的阻滞或细胞凋亡等。笔者发现 2-喹诺酮类衍生物 1,8-二甲基-3,5,7-三硝基-2-喹诺酮作用于人肺腺癌 A549 细胞 12 h 后,随着其作用的浓度增加时,Akt 的磷酸化会受到抑制,FOXO1 的磷酸化也会受到抑制。这说明 1,8-二甲基-3,5,7-三硝基-2-喹诺酮诱导细胞凋亡可能是通过作用于 PI3K/Akt/FOXO1 信号通路来实现的。作为抑癌基因的 FOXO1 其蛋白分子在细胞生长增殖的调节中发挥重要作用。PI3K/Akt 信号通路可以通过磷酸化修饰方式调节 FOXO1 因子的转录活性,本研究的实验结果提示,PI3K/Akt 信号通路在肿瘤发生发展中的作用部分是通过 FOXO1 因子的转录活性的调节而实现的。因此,抗肿瘤药物的研发可以基于 FOXO1 转录因子在肿瘤发生、发展中的作用拓展出一条新的途径。

[参考文献]

- [1] Groppo M, Pirani J R, Salatino M L F, et al. Phylogeny of *Rutaceae* based on twononcoding regions from cp DNA[J]. *Am J Bot*, 2008, 95(8):985-1005.
- [2] Byler K G, WANG C, Setzer W N. Quinoline alkaloids as intercalative topoisomerase inhibitors [J]. *J Mol Model*, 2009, 15(12):1417-1426.
- [3] Kamikawa T, Hanaoka Y, Fujie S, et al. SRS-A antagonist pyranoquinolone alkaloids from East African Fagara, plants and their synthesis [J]. *Bioorg Med Chem*, 1996, 4(8):1317-1320.
- [4] Seya K, Miki I, Murata K, et al. Pharmacological properties of pteleprenine, a quinoline alkaloid extracted from *Orixa japonica*, on guinea-pig ileum and canine left atrium [J]. *J Pharm Pharmacol*, 1998, 50(7):803-807.
- [5] CHEN Y F, LIN Y C, Morris-Natschke S L, et al. Synthesis and SAR studies of novel 6,7,8-substituted 4-substituted benzyloxyquinolin-2(<sup>1</sup>H)-one derivatives for anticancer activity [J]. *Br J Pharmacol*, 2014, 172(5):1195-1221.
- [6] Kumar N, Raj V P, Jayshree B S, et al. Elucidation of structure-activity relationship of 2-quinolone derivatives and exploration of their antitumor potential through bax-induced apoptotic pathway[J]. *Chem Biol Drug Des*, 2012, 80(2):291-299.
- [7] Dima A S, Neka A S, WANG W, et al. N-Phenyl-4-hydroxy-2-quinolone-3-carboxamides as selective inhibitors of mutant H1047R phosphoinositide-3-kinase (PI3K $\alpha$ ) [J]. *Bioorg Med Chem*, 2012, 20(24):7175-7183.
- [8] Tashima T. The structural use of carbostyryl in physiologically active substances [J]. *Chem Inform*, 2015, 46(40):3415-3419.
- [9] 周宇辉,詹臻,唐于平,等. 丝裂原活化蛋白激酶信号通路在非小细胞肺癌中作用的研究进展[J]. *中国肺癌杂志*, 2009, 12(9):1036-1040.
- [10] CHEN C H, LAI J M, CHOU T Y. VEGFAU preulates FLJ10540 and modulates migration and invasion of lung cancer *via* PI3K/AKT pathway [J]. *PLoS One*, 2009, 4(4):50-52.
- [11] 陈春雪,尤朋涛,刘焱文,等. 1-甲基-2-噻诺酮类衍生物的合成及其抗肿瘤活性[J]. *合成化学*, 2016, 24(7):604-608.
- [12] XU M L, LI G, Moon D C, et al. Cytotoxicity and DNA topoisomerase inhibitory activity of constituents isolated from the fruits of *Evodia officinalis*[J]. *Arch Pharm Res*, 2006, 29(7):541-547.
- [13] Venkov A P, Statkova-Abeghe S M. Synthesis of 3,4-dihydroisoquinolines, 2-alkyl (acyl)-1(2H)-3,4-dihydroisoquinolinones, 2-alkyl-1(2H)-isoquinolinones and 1-alkyl-2(2H)-quinolinones by oxidation with potassium permanganate [J]. *Tetrahedron*, 1996, 52(4):1451-1460.
- [14] WU Y L, CHUANG C P, LIN P Y. Free radical cyclization reactions of alkylsulfonyl and alkylthio substituted aromatic amide derivatives[J]. *Tetrahedron*, 2000, 56(34):6209-6217.
- [15] Beutner G L, Kuethe J T, Yasuda N. A practical method for preparation of 4-hydroxyquinolinone esters [J]. *J Org Chem*, 2007, 72(18):7058-7061.
- [16] Ray S K, Singh P K, Molleti N, et al. Enantioselective synthesis of coumarin derivatives by PYBOX-DIPH-Zn (II) complex catalyzed Michael reaction [J]. *J Org Chem*, 2012, 77(19):8802-8808.
- [17] Lee C J, JIANG Y J, WU Z Z, et al. Preparation of functional phosphorus zwitterions from activated alkanes, aldehydes, and tributylphosphine; synthesis of polysubstituted furo[3,2-c]coumarins [J]. *Org Lett*, 2012, 43(14):1906-1909.
- [18] Thirunavukkarasu V S, Donati M, Ackermann L. Hydroxyl-directed ruthenium-catalyzed C-H bond functionalization; versatile access to fluorescent pyrans [J]. *Org Lett*, 2012, 14(13):3416-3419.
- [19] Blackburn C, La Marche M J, Brown J, et al. Identification and characterization of amino-piperidinequinolones and quinazolinones as MCHR1 antagonists [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2006, 16(10):2621-2627.
- [20] 熊飞,詹臻,唐于平,等. PI3K/Akt 信号转导通路在非小细胞肺癌中的作用[J]. *中国药理学通报*, 2010, 26(10):1264-1267.

[责任编辑 邹晓翠]