

研究论文

新型咪唑-查尔酮衍生物的设计、合成及抗宫颈癌和顺铂耐药活性研究

刘正叶 杨 争 木合布力·阿布力孜* 玉苏普瓦吉木·阿力木江
阿力米拉·阿布都卡地尔 王 宇

(新疆医科大学药学院 乌鲁木齐 830011)

摘 要 在查尔酮骨架的 B 环引入 4 种咪唑环,在 A 环分别引入甲氧基、氨基、羟基等活性基团;采用 Claisen-Schmidt 反应合成系列新型咪唑-查尔酮衍生物,其结构经 ^1H NMR、 ^{13}C NMR 和 HRMS 进行表征。通过 MTT、Transwell、流式细胞仪和分子对接实验方法,初步探索目标化合物的抗宫颈癌活性及作用机制。大部分化合物具有一定的抗宫颈癌活性,其中 **2i** 较为显著,且对正常细胞的毒性较小。此外,化合物 **2i** 能够显著抑制 HeLa 和 HeLa/DDP 细胞的迁移和侵袭能力,能够诱导其凋亡,并阻滞 HeLa 和 HeLa/DDP 细胞于 G_2/M 期;分子对接模拟显示与查尔酮母核和原配体秋水仙碱相比,**2i** 与微管蛋白秋水仙碱结合位点具有较好的结合能力,并能够产生氢键相互作用力。化合物 **2i** 具有较显著的抗宫颈癌和顺铂耐药宫颈癌细胞活性作用,这可能与抑制了微管蛋白靶点有关。

关键词 查尔酮 咪唑 宫颈癌 顺铂耐药

Study on Design, Synthesis and Anti-Cervical Cancer and Cisplatin Resistance Activities of Novel Imidazole-Chalcone Derivatives

Liu Zhengye, Yang Zheng, Mourboul Ablise*, Yusupuwanjimu Alimujiang,
Aalimila Abudoukadier, Wang Yu

(College of Pharmacy, Xinjiang Medical University, Urumqi, 830011)

Abstract Four types of imidazole rings were introduced into the B-ring of chalcone backbone, while methoxy, amino and hydroxyl groups, respectively, were introduced into the A-ring; a series of novel imidazole-chalcone derivatives were synthesized by Claisen-Schmidt reaction, and their structures were characterized by ^1H -NMR, ^{13}C -NMR and HRMS. The mechanism of action of the target compounds and their anti-cervical cancer activity were explored by MTT assays, Transwell assays, flow cytometry and molecular docking techniques. Most of the compounds had anti-cervical cancer activity, among which, **2i** had more significant activity and less toxic to normal cells. In addition, **2i** significantly inhibited the migration and invasion of HeLa and HeLa/DDP cells, induced the apoptosis of these cells, and blocked them in G_2/M phase; molecular docking simulations showed that **2i** had better binding ability to the colchicine binding site on microtubule protein compared with chalcone parent nucleus and protoligand colchicine, and could generate hydrogen bonding interaction. Compound **2i** exhibited more significant anti-cervical cancer activity and anti cisplatin resistant cervical cancer cell activity, which may be related to the inhibition of microtubulin targets.

Keywords Chalcone, Imidazole, Cervical cancer, Resistance to cisplatin

* 联系人,木合布力·阿布力孜 男,博士,教授,主要从事天然药物活性成分的药用研究。E-mail: 1784383217@qq.com

国家自然科学基金项目(82160654,81960625)、新疆天然药物活性组分与释药技术重点实验室资助项目(XJDX1713)和新疆维吾尔自治区研究生科研创新项目(XJ2022G168)资助

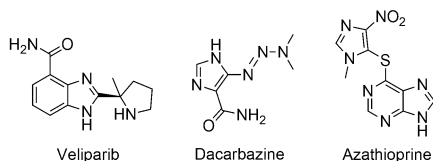
2023-06-12 收稿,2023-06-29 接受

宫颈癌在全球范围内仍然是女性最常见的癌症之一。2020 年全球癌症数据显示,全世界大约有 60.4 万例新的宫颈癌病例,每年有 34.2 万人死亡^[1]。我国宫颈癌发病率较高,新疆作为少数民族高发地区,感染率偏高^[2]。宫颈癌是由人乳头瘤病毒(HPV)引起的,其中 70% 的宫颈癌与 16 型和 18 型相关;宫颈癌的发病机制始于 HPV 感染,缓慢进展为宫颈癌前病变,然后发展为侵袭性疾病^[3]。目前,宫颈癌的治疗方法有手术治疗^[4]、放疗、化疗、靶向免疫治疗^[5,6]。癌症化疗中的一个局限性在于肿瘤细胞产生多药耐药(Multidrug resistance, MDR)问题。MDR 形成机制复杂,主要与细胞膜上的 P-糖蛋白(P-gp, 药泵)有关^[7]。研究表明 P-gp 的表达与 PI3K/Akt、NF- κ B、Wnt/ β -catenin、MAPK 等多种信号通路相关^[8]。顺铂在宫颈癌的化疗方案中常规使用,宫颈癌对顺铂耐药就是因为耐药肿瘤细胞膜上 P-gp 过度表达引起的^[9]。这是目前临床上导致化疗失败的一个主要原因。因此,对多药耐药肿瘤细胞有效的新型抗癌药物的研究在宫颈癌的药物治疗中具有重要意义^[10]。其中,与肿瘤多药耐药机制的深入探索、新靶点的确定、并基于靶点结构设计新型抗癌化合物为关键内容。

微管(Tubulin)主要由 α -和 β -微管蛋白组成,可以影响肿瘤细胞的有丝分裂过程,抑制肿瘤细胞的生长诱导其凋亡。Tubulin 的紫杉醇、长春花碱和秋水仙碱三个结合域,是开发抗癌药物的最佳靶点。目前,已经针对这三个领域开发了用于肿瘤治疗的药物。抗有丝分裂药物如紫杉醇和长春碱已被用于临床,但由于其治疗窗窄、选择性差、易耐药等问题,严重限制了其临床应用^[11,12]。P-gp 介导的多药耐药也是紫杉醇和长春碱治疗失败的一个主要原因^[13]。作用于秋水仙碱位点的药物大都不是 P-gp 底物,可规避 P-gp 调控的抗肿瘤 MDR 机制^[14]。因此,寻求能够克服多药耐药性的新型微管蛋白抑制剂的研究尤为重要。

咪唑环具有特殊的化学结构,其能够容易地与生物体内蛋白受体和酶等形成氢键,也能赋予化合物更好的水溶性、药物代谢动力学性质^[15]。因此,咪唑结构作为一种优良的化学骨架在药学领域得到了广泛的研究^[16]。研究发现,母核引入咪唑环,其生物活性大幅提升,具有广泛的生物活性,如作为质子泵抑制剂、抗菌、抗肿瘤^[17,18]等,在临床应用上具有良好的应用前景。已上市的抗

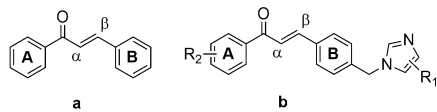
肿瘤药物,如维利帕尼、达卡巴嗪、硫唑嘌呤(图式 1)等均具有咪唑结构单元。许多研究表明,海洋中含有咪唑环的天然产物具有微管蛋白抑制活性,一些咪唑衍生物也被报道为微管蛋白抑制剂^[19,20]。从这些研究中得出的构效关系,最显著的结果是 α 、 β 不饱和杂芳香侧链在抗增殖活性和微管蛋白方面的显著作用。另一方面,一些以咪唑环为骨架的衍生物可以影响 HeLa、HeLa/DDP 细胞 G₂/M 周期停滞,并诱导其凋亡,没有严重的副作用,是治疗宫颈癌的潜在有效化合物^[21,22]。



图式 1 已上市的含咪唑环抗肿瘤药物

Scheme 1 Antitumor drugs containing imidazole rings are already on the market

查尔酮广泛分布于自然界,分子具有较好的柔性和可塑性,并具有一定的抗癌活性。化学结构为 1,3-二苯基丙烯酮(图式 2, a),主要特征是两个苯环之间有三个碳原子相连,其中两个碳原子是由 α 、 β 不饱和碳构成。其广泛存在于天然植物中,具有抗癌^[23]、抗菌^[24]、抗炎^[25]、抗病毒^[26]、抗结核^[27]、抗抑郁^[28]、抗疟疾^[29]等多种药理作用。据报道,查尔酮可作为迈克尔受体,并使微管蛋白-微管系统的许多关键蛋白烷基化,因此查尔酮被认为是设计和开发新型抗癌药物的有利支架^[30]。研究证明查尔酮类化合物作用于微管蛋白上的秋水仙碱位点,能使细胞周期停滞在 G₂/M 期,并诱导细胞凋亡^[31]。查尔酮类化合物还可以抑制 p-gp 的表达,逆转肿瘤 MDR^[32]。



图式 2 查尔酮(a)及本文设计化合物(b)的结构通式

Scheme 2 Chalcone (a) and its present design compound (b) structural general formula

综上所述,本研究主要以甘草查尔酮母核为先导化合物骨架,在课题组前期研究经验基础上,在 A 环上分别引入甲氧基、氨基、羟基等活性基团(R₂);在 B 环上引入各类取代基(R₁)咪唑环,

采用 Claisen-Schmidt 反应合成一系列全新咪唑-查尔酮类衍生物(图式 2,b),测定其对宫颈癌细胞和顺铂耐药宫颈癌细胞的抗癌活性,并进行构效关系分析,筛选出抗癌活性高、毒性低、且具有抗肿瘤多药耐药潜力的新型查尔酮衍生物。为具有微管蛋白抑制作用的抗宫颈癌创新药物研发奠定基础。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂及细胞

WRX-4 型显微熔点仪(宁波科诚仪器有限公司);Victor nivo 多功能酶标仪(珀金埃尔默有限公司);SOPTOP 型倒置显微镜(宁波舜宇仪器公司);BD 流式细胞仪(美国 BD 公司)。

顺铂对照品(美国 AbMole 公司);实验室所用原料药及试剂均为市售分析纯级商品;胎牛血清(美国 Sigma 公司);胰酶、PBS、DMEM 培养基(美国 HyClone 公司);人宫颈癌细胞 SiHa、C-33A、HeLa、人正常宫颈上皮细胞 H8、人宫颈癌顺铂耐药细胞 HeLa/DDP 均由新疆医科大学中心实验室提供。

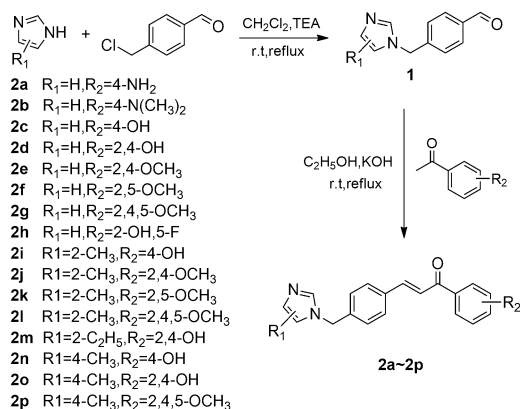
1.2 化学合成

将对氯甲基苯甲醛(5mmol)分别与咪唑类衍生物(15mmol)加入到 100mL 的三颈瓶中,用二氯甲烷(20mL)溶解,加入适量三乙胺,加热搅拌并回流,TLC 全程监测;反应结束后,将三颈瓶中的液体倒入烧杯中,用稀盐酸调 pH 至 1~3,分液漏斗萃取,加入碳酸钾调 pH 至 9~10,并用乙酸乙酯萃取三次,旋蒸即得中间体 1,为黄棕色油状物,产率 62%。将中间体 1(5mmol)与苯乙酮衍生物(5mmol)加入到 100mL 的三颈瓶中,用无水乙醇(20mL)溶解,匀速滴加 20% 氢氧化钾溶液 8mL,加热搅拌并回流,TLC 全程监测;反应结束后,将三颈瓶中的液体倒入 250mL 的圆底烧瓶中旋蒸,并用乙酸乙酯:水=2:1 的比例,萃取三次,旋蒸即得粗产物,经硅胶柱分离纯化(乙酸乙酯:甲醇=10:1~5:1),得最终产物。目标化合物合成技术路线如图式 3 所示。

1.3 体外抗肿瘤活性

1.3.1 抗细胞增值活性实验

采用 MTT 法依次测试目标化合物对人宫颈癌细胞 SiHa、C-33A、HeLa 和人宫颈癌顺铂耐药细胞 HeLa/DDP、人正常宫颈上皮细胞 H8 的增殖



图式 3 查尔酮衍生物 2a~2p 的合成路线

Scheme 3 Synthesis route of chalcone derivative 2a~2p

抑制活性。将对数生长期的细胞按 2×10^4 个/mL ~ 5×10^4 个/mL 的密度接种到 96 孔板中,每孔 200 μ L,摇晃均匀并放到 37℃ 含有 CO₂ 培养箱中 24 h,弃去旧液,依次加入现配的含有化合物浓度梯度(1、6.25、12.5、25、50、100 μ mol/L)的培养基,每孔 200 μ L,6 个复孔,48h 后,加入 5mg/mL 的 MTT 溶液,每孔 20 μ L,继续培养 4h,弃去旧液,加入 DMSO,每孔 150 μ L,放置酶标仪中振荡摇匀,在 490nm 处测定 OD 值,用 SPSS 26.0 软件计算化合物对细胞的 IC₅₀ 值。

1.3.2 细胞迁移实验

用 Transwell 法检测细胞的迁移能力。将目标化合物按浓度梯度配置,与 5×10^5 个/mL 的细胞悬液等比例混合,加入到上室中,每孔 200 μ L,3 个复孔,在下室加入含有 20% 血清的培养基 600 μ L,放置 37℃ 含有 CO₂ 培养箱中 24h,弃旧液,用棉签沾 PBS 轻转上室 2~3 圈,PBS 清洗 4~6 遍,上室、下室分别加入 4% 多聚甲醛,避光固定 20min,弃旧液,PBS 清洗 4~6 遍,上室、下室分别加入结晶紫,避光染色 20min,PBS 清洗 4~6 遍,晾干,在显微镜下拍照即可。

1.3.3 细胞侵袭实验

用 Transwell 法检测细胞的侵袭能力。先用基质胶(基质胶:DMEM=1:8)铺满上室底部,每孔 50 μ L,放置 37℃ 含有 CO₂ 培养箱中烘干,后续操作同 1.3.2 细胞迁移实验。

1.3.4 细胞凋亡实验

将对数生长期的细胞按 1×10^5 个/mL 的密度铺 6 孔板,每孔 2mL,放置 37℃ 含有 CO₂ 培养箱中 24h,弃旧液,依次加入现配的含有化合物浓度梯度的培养基,每孔 2mL,放置 37℃ 含有 CO₂ 培

养箱中 24h, 将 6 孔板的细胞用胰酶消化离心, PBS 清洗两次, 弃旧液, 加入 100 μ L Binding Buffer (Binding Buffer: PBS = 1:9), 空白组不染, 一个 PI 染色, 一个 FITC 染色, 一个双染, 浓度组双染, 15min 后, 加入 400 μ L Binding Buffer, 尼龙布过滤于流式管中, 流式细胞仪测试。

1.3.5 细胞周期阻滞实验

将对数生长期的细胞按 1×10^6 个/mL 的密度铺 6 孔板, 每孔 2mL, 放置 37 $^{\circ}$ C 含有 CO₂ 培养箱中 24h, 弃旧液, 依次加入现配的含有化合物浓度梯度的培养基, 每孔 2mL, 放置 37 $^{\circ}$ C 含有 CO₂ 培养箱中 24h, 将 6 孔板的细胞用胰酶消化离心, PBS 清洗两次, 弃旧液, 加入 75% 酒精 3mL, -20 $^{\circ}$ C 固定 24h, 离心, PBS 清洗两次, 弃旧液, 加入 400 μ L PI/RNase A 染色 15min, 尼龙布过滤于流式管中, 流式细胞仪测试。

1.3.6 分子对接实验

用 Chemdraw 软件画出所需要对接的化合物 **2i**、Chalcone 和 Colchicine 结构, 并转成 3D 模型, 经 MM-2 能量优化找到最低势能结构。从 RCSB Protein Data Bank 数据库中获蛋白晶体结构。用 Pymol 软件去除原文件中蛋白晶体的水分子和配体, 加上极性氢原子和电荷。用 AutoDock 程序对化合物 **2i**、Chalcone、colchicine 与处理好的蛋白进行分子对接。

2 结果与讨论

2.1 目标化合物的合成

该化学合成为两步反应, 共 16 个目标化合物, 理化性质、光谱数据如下。

(*E*)-3-(4-((1*H*-咪唑-1-基)甲基)苯基)-1-(4-氨基苯基)丙-2-烯-1-酮 (**2a**): 黄色块状固体, 产率 6.6%, 熔点 207.5 ~ 207.8 $^{\circ}$ C。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ : 7.95 ~ 7.83 (m, 2H, Ph-H), 7.67 (d, *J* = 8.1Hz, 1H, H _{β}), 7.72 (s, 1H, -CH = N), 7.59 (d, *J* = 8.1Hz, 1H, H _{α}), 7.48 ~ 7.46 (m, 2H, Ph-H), 7.30 ~ 7.16 (d, *J* = 7.8Hz, 2H, Ph-H), 7.14 ~ 7.02 (m, 2H, CH = CH-N), 6.95 ~ 6.81 (m, 2H, Ph-H), 5.03 (s, 2H, -CH₂), 4.12 (s, 2H, -NH₂); ¹³C NMR (101MHz, CDCl₃) δ : 187.83, 151.40, 144.56, 138.02, 137.32, 135.41, 135.36, 130.65, 130.59 (2C), 128.79 (2C), 127.71 (2C), 122.68, 119.41, 113.70 (2C), 50.47; HRMS (ESI) *m/z*: C₁₉H₁₈N₃O⁺ [M + H]⁺, 理论值

304.1458, 实测值 304.1450。

(*E*)-3-(4-((1*H*-咪唑-1-基)甲基)苯基)-1-(4-(二甲氨基)苯基)丙-2-烯-1-酮 (**2b**): 浅黄色粉末, 产率 61.4%, 熔点 182.3 ~ 183.7 $^{\circ}$ C; ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ : 7.84 (m, 2H, Ph-H), 7.63 (d, *J* = 12.6Hz, 1H, H _{β}), 7.58 (m, 1H, -CH = N), 7.51 (d, *J* = 11.1Hz, 1H, H _{α}), 7.30 ~ 7.20 (m, 2H, Ph-H), 7.14 ~ 7.02 (m, 2H, Ph-H), 7.02 ~ 6.90 (m, 2H, CH = CH-N), 6.69 ~ 6.61 (m, 2H, Ph-H), 5.08 (s, 2H, -CH₂), 3.09 ~ 3.01 (m, 6H, -OCH₃); ¹³C NMR (101MHz, CDCl₃) δ : 196.70, 153.42, 144.75, 137.33, 136.52, 135.28, 133.99, 130.42 (2C), 129.40, 128.76 (2C), 127.72 (2C), 121.89, 119.47, 110.65 (2C), 50.54, 40.01 (2C)。HRMS (ESI) *m/z*: C₂₁H₂₂N₃O⁺ [M + H]⁺, 理论值 332.1765, 实测值 332.1763。

(*E*)-3-(4-((1*H*-咪唑-1-基)甲基)苯基)-1-(4-羟基苯基)丙-2-烯-1-酮 (**2c**): 黄色粉末, 产率 14.1%, 熔点 230.9 ~ 231.6 $^{\circ}$ C; ¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ : 10.58 (s, 1H, -OH), 8.08 ~ 8.03 (m, 2H, Ph-H), 7.91 (d, *J* = 15.6Hz, 1H, H _{β}), 7.87 (d, *J* = 15.6Hz, 1H, H _{α}), 7.85 (s, 1H, -CH = N), 7.81 ~ 7.67 (m, 2H, Ph-H), 7.43 ~ 7.37 (m, 2H, Ph-H), 7.32 ~ 7.22 (d, *J* = 7.9Hz, 2H, CH = CH-N), 7.01 ~ 6.85 (m, 2H, Ph-H), 5.25 (s, 2H, -CH₂); ¹³C NMR (101MHz, DMSO-*d*₆) δ : 187.54, 162.85, 142.58, 140.41, 137.98, 134.85 (2C), 131.67, 129.48, 129.24 (2C), 128.39 (2C), 122.78 (2C), 120.10, 115.90 (2C), 49.67; HRMS (ESI) *m/z*: C₁₉H₁₇N₂O₂⁺ [M + H]⁺, 理论值 305.1284, 实测值 305.1286。

(*E*)-3-(4-((1*H*-咪唑-1-基)甲基)苯基)-1-(2,4-二羟基苯基)丙-2-烯-1-酮 (**2d**): 黄色粉末, 产率 20.3%, 熔点 230.1 ~ 232.6 $^{\circ}$ C; ¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ : 13.40 (s, 1H, -OH), 10.87 (s, 1H, -OH), 8.19 (d, *J* = 9.0Hz, 1H, H _{β}), 7.97 (d, *J* = 15.5Hz, 1H, Ph-H), 7.89 (m, 2H, Ph-H), 7.83 (d, *J* = 2.4Hz, 1H, H _{α}), 7.74 (s, 1H, -CH = N), 7.33 (m, 2H, Ph-H), 7.23 (d, *J* = 8.8Hz, 1H, -N-CH =), 6.95 (d, *J* = 8.8Hz, 1H, = N-CH =), 6.44 (d, *J* = 2.4Hz, 1H, Ph-H), 6.32 (s, 1H, Ph-H), 5.26 (s, 2H, -CH₂); ¹³C NMR (101MHz, DMSO-*d*₆) δ : 191.84, 166.34, 165.86, 143.52, 140.78, 137.98, 134.58, 133.61, 129.79, 129.21

(2C), 128.41 (2C), 121.92, 120.11, 113.49, 108.79, 103.10, 49.68; HRMS (ESI) m/z : $C_{19}H_{17}N_2O_3^+ [M+H]^+$, 理论值 321.1241, 实测值 321.1239。

(*E*)-3-(4-((1*H*-咪唑-1-基)甲基)苯基)-1-(2,4-二甲氧基苯基)丙-2-烯-1-酮(**2e**): 粉白色块状固体, 产率 14.5%, 熔点 100℃; 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ : 7.64 (d, J = 8.7Hz, 1H, H_β), 7.50 (d, J = 1.6Hz, 1H, H_β), 7.37~7.21 (m, 2H, Ph-H), 7.06 (d, J = 1.5Hz, 1H, H_α), 7.04 (s, 1H, -CH=N), 7.02~6.97 (m, 2H, Ph-H), 6.87 (d, J = 1.5Hz, 2H, CH=CH-N), 6.46 (d, J = 8.7Hz, 1H, Ph-H), 6.41 (s, 1H, Ph-H), 5.03 (s, 2H, -CH₂), 3.94~3.83 (s, 6H, -OCH₃); ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ : 198.54, 164.34, 160.56, 145.46, 137.40, 133.72, 132.71, 129.61, 128.24 (2C), 127.18 (2C), 121.17 (2C), 119.37, 105.12, 98.27, 55.52, 55.47, 49.87; HRMS (ESI) m/z : $C_{21}H_{21}N_2O_3^+ [M+H]^+$, 理论值 349.1546, 实测值 349.1542。

(*E*)-3-(4-((1*H*-咪唑-1-基)甲基)苯基)-1-(2,5-二甲氧基苯基)丙-2-烯-1-酮(**2f**): 黄色粉末, 产率 5.8%, 熔点 94.6~96.2℃; 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ : 7.51 (d, J = 8.8Hz, 1H, H_β), 7.51 (s, 1H, -CH=N), 7.47 (d, J = 8.8Hz, 1H, H_α), 7.30~7.22 (m, 2H, Ph-H), 7.16 (s, 1H, Ph-H), 7.18~7.09 (d, J = 7.8Hz, 4H, Ph-H, CH=CH-N), 6.92~6.86 (d, J = 8.8Hz, 2H, Ph-H), 5.04 (s, 2H, -CH₂), 3.77~3.44 (s, 6H, -OCH₃); ^{13}C NMR (101MHz, $CDCl_3$) δ : 200.29, 153.41 (2C), 152.90, 144.97, 137.39, 133.94, 129.63, 129.28, 128.47, 128.29 (2C), 127.23 (2C), 119.95, 119.33, 113.96, 113.02, 56.05, 55.79, 49.94; HRMS (ESI) m/z : $C_{21}H_{21}N_2O_3^+ [M+H]^+$, 实测值 349.1559, 实测值 349.1552。

(*E*)-3-(4-((1*H*-咪唑-1-基)甲基)苯基)-1-(2,4,5-三甲氧基苯基)丙-2-烯-1-酮(**2g**): 粉白色块状固体, 产率 79.7%, 熔点 150.8~151.3℃; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.51 (s, 1H, CH=N), 7.28 (d, J = 10.5Hz, 1H, H_β), 7.27 (m, 2H, Ph-H), 7.26 (s, 1H, H_α), 7.16 (s, 1H, Ph-H), 7.08~7.00 (m, 2H, Ph-H), 6.88 (d, J = 1.4Hz, 2H, CH=CH-N), 6.47 (s, 1H, Ph-H), 5.04 (s, 2H, -CH₂), 3.93~3.8 (s, 9H, -OCH₃); ^{13}C NMR (101 MHz,

$CDCl_3$) δ : 197.96, 155.07, 153.77, 145.73, 143.02, 138.02, 137.38, 133.75, 129.60, 128.25 (2C), 127.19 (2C), 123.78, 119.35, 118.99, 112.72, 96.29, 56.23, 56.15, 56.10, 50.10; HRMS (ESI) m/z : $C_{22}H_{23}N_2O_4^+ [M+H]^+$, 理论值 379.1653, 实测值 379.1658。

(*E*)-3-(4-((1*H*-咪唑-1-基)甲基)苯基)-1-(5-氟-2-羟基苯基)丙-2-烯-1-酮(**2h**): 黄色粉末, 产率 17.4%, 熔点 136℃; 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ : 12.48 (s, 1H, -OH), 7.90 (d, J = 15.4Hz, 1H, H_β), 7.65 (m, 2H, Ph-H, H_α), 7.58 (s, 1H, -CH=N), 7.59~7.48 (m, 2H, Ph-H), 7.30~7.22 (m, 2H, Ph-H), 7.20~7.13 (m, 2H, CH=CH-N), 6.99~6.93 (d, J = 9.1Hz, 2H, Ph-H), 5.18 (s, 2H, -CH₂); ^{13}C NMR (101MHz, $CDCl_3$) δ : 192.69, 192.67, 159.75, 156.05, 153.67, 145.21, 139.34, 137.53, 134.36, 130.15, 129.33, 127.83, 124.18, 123.95, 120.20, 119.95, 119.88, 119.47, 119.41, 119.31, 114.66, 114.43, 50.40; HRMS (ESI) m/z : $C_{19}H_{16}FN_2O_2^+ [M+H]^+$, 理论值 323.1190, 实测值 323.1198。

(*E*)-1-(4-羟基苯基)-3-(4-((2-甲基-1*H*-咪唑-1-基)甲基)苯基)丙-2-烯-1-酮(**2i**): 浅黄色粉末, 产率 7.6%, 熔点 152.8~153.2℃; 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ : 10.55 (s, 1H, -OH), 8.10~8.03 (m, 2H, Ph-H), 7.96 (d, J = 15.5Hz, 1H, H_β), 7.94~7.83 (m, 2H, Ph-H), 7.84 (d, J = 2.3Hz, 1H, H_α), 7.66~7.23 (m, 2H, Ph-H), 7.11~6.98 (m, 2H, CH=CH-N), 6.87~6.81 (m, 2H, Ph-H), 5.24 (s, 2H, -CH₂), 2.24 (s, 3H, -CH₃); ^{13}C NMR (101MHz, DMSO- d_6) δ : 187.58, 162.76, 144.48, 142.62, 140.17, 134.66, 131.66, 131.29 (2C), 129.53 (2C), 127.89 (2C), 126.94, 122.72, 120.88, 115.89 (2C), 48.88, 13.15; HRMS (ESI) m/z : $C_{20}H_{19}N_2O_2^+ [M+H]^+$, 理论值 319.1454, 实测值 319.1447。

(*E*)-1-(2,4-二甲氧基苯基)-3-(4-((2-甲基-1*H*-咪唑-1-基)甲基)苯基)丙-2-烯-1-酮(**2j**): 白色粉末, 产率 8.5%, 熔点 106℃; 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ : 7.63 (d, J = 8.7, 1.2Hz, 2H, Ph-H, H_β), 7.19 (m, 2H, Ph-H), 6.95~6.88 (m, 3H, Ph-H, H_α), 6.80 (d, J = 1.4Hz, 2H, CH=CH-N), 6.46~6.43 (d, J = 8.7Hz, 1H, Ph-H), 6.39 (s, 1H, Ph-H), 4.95 (s, 2H, -CH₂), 3.93~3.83 (s,

6H, -OCH₃), 2.30 (s, 3H, -CH₃); ¹³C NMR (101MHz, CDCl₃) δ: 198.62, 164.33, 160.55, 145.08, 144.89, 133.88, 132.70, 128.20 (2C), 127.13 (2C), 126.59, 121.19 (2C), 119.93, 105.11, 98.26, 55.51, 55.47, 49.87, 13.12; HRMS (ESI) *m/z*: C₂₂H₂₃N₂O₃⁺ [M + H]⁺, 理论值 363.1703, 实测值 363.1704。

(*E*)-1-(2,5-二甲氧基苯基)-3-(4-((2-甲基-1*H*-咪唑-1-基)甲基)苯基)丙-2-烯-1-酮(**2k**): 黄色粉末, 产率 5.5%, 熔点 140.1 ~ 141.8 °C; ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ: 7.35 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, H_β), 7.24 ~ 7.20 (m, 2H, Ph-H), 7.06 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, H_α), 6.98 (s, 1H, Ph-H), 6.93 ~ 6.89 (m, 2H, Ph-H), 6.87 ~ 6.86 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, CH = CH-N), 6.81 ~ 6.61 (d, *J* = 1.2 Hz, 2H, Ph-H), 4.96 (s, 2H, -CH₂), 3.88 ~ 3.74 (s, 6H, -OCH₃), 2.31 (s, 3H, -CH₃); ¹³C NMR (101MHz, CDCl₃) δ: 200.36, 153.40, 144.86, 144.62, 136.16, 134.07, 128.48, 128.25 (2C), 127.09 (2C), 126.64, 119.91 (2C), 113.97, 113.69, 111.29, 56.40, 55.78, 49.95, 13.06; HRMS (ESI) *m/z*: C₂₂H₂₃N₂O₃⁺ [M + H]⁺, 理论值 363.1703, 实测值 363.1701。

(*E*)-1-(2,4,5-三甲氧基苯基)-3-(4-((2-甲基-1*H*-咪唑-1-基)甲基)苯基)丙-2-烯-1-酮(**2l**): 粉白色块状固体, 产率 17.6%, 熔点 147.9 ~ 149.8 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.71 (d, *J* = 15.4 Hz, 1H, H_β), 7.50 ~ 7.42 (m, 2H, Ph-H), 7.41 (d, *J* = 15.4 Hz, 1H, H_α), 7.37 (s, 1H, Ph-H), 7.25 (m, 2H, Ph-H), 6.98 ~ 6.89 (d, *J* = 3.8 Hz, 2H, CH = CH-N), 6.47 (s, 1H, Ph-H), 5.01 (s, 2H, -CH₂), 3.93 ~ 3.77 (s, 9H, -OCH₃), 2.32 (s, 3H, -CH₃); ¹³C NMR (101MHz, CDCl₃) δ: 198.02, 155.06, 153.77, 145.36, 144.86, 143.01, 137.47, 133.91, 128.21 (2C), 127.17 (2C), 126.62, 119.90, 119.02, 112.94, 112.72, 96.29, 56.23, 56.15, 56.09, 49.49, 13.12; HRMS (ESI) *m/z*: C₂₃H₂₅N₂O₄⁺ [M + H]⁺, 理论值 393.1813, 实测值 393.1814。

(*E*)-1-(2,4-二羟基苯基)-3-(4-((2-乙基-1*H*-咪唑-1-基)甲基)苯基)丙-2-烯-1-酮(**2m**): 黄色块状固体, 产率 13.2%, 熔点 219.8 ~ 210.4 °C; ¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ: 13.40 (s, 1H, -OH), 11.19 (s, 1H, -OH), 8.18 (d, *J* =

9.0 Hz, 1H, H_β), 7.97 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H, Ph-H), 7.88 (m, 2H, Ph-H), 7.78 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H, H_α), 7.27 ~ 7.08 (m, 2H, Ph-H), 6.90 ~ 6.81 (d, *J* = 2.3 Hz, 2H, CH = CH-N), 6.44 (d, *J* = 8.5, 1H, Ph-H), 6.31 (s, 1H, Ph-H), 5.22 (s, 2H, N-CH₂), 2.58 (q, *J* = 7.5 Hz, 2H, -CH₂), 1.13 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H, -CH₃); ¹³C NMR (101MHz, DMSO-*d*₆) δ: 191.78, 166.36, 166.10, 149.05, 143.47, 140.77, 134.38, 133.59, 129.80, 127.79 (2C), 126.96 (2C), 121.89, 120.83, 113.40, 108.88, 103.10, 48.56, 21.67, 12.53; HRMS (ESI) *m/z*: C₂₁H₂₁N₂O₃⁺ [M + H]⁺, 理论值 349.1546, 实测值 349.1540。

(*E*)-1-(4-羟基苯基)-3-(4-((4-甲基-1*H*-咪唑-1-基)甲基)苯基)丙-2-烯-1-酮(**2n**): 黄色粉末, 产率 6.3%, 熔点 213.6 °C; ¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.55 (s, 1H, -OH), 8.08 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H, H_β), 7.97 ~ 7.82 (m, 2H, Ph-H), 7.93 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H, H_α), 7.68 ~ 7.66 (m, 2H, Ph-H), 7.65 (s, 1H, CH = N), 7.31 ~ 7.29 (m, 2H, Ph-H), 7.16 (s, 1H, N-CH = C), 6.95 ~ 6.87 (m, 2H, Ph-H), 5.16 (s, 2H, -CH₂), 2.06 (s, 3H, -CH₃); ¹³C NMR (101MHz, DMSO-*d*₆) δ: 187.55, 162.76, 142.63, 137.62, 137.16, 134.79, 134.66, 131.66, 129.46 (2C), 128.39 (2C), 127.74 (2C), 122.72, 116.30 (2C), 115.88, 49.63, 14.09; HRMS (ESI) *m/z*: C₂₀H₁₉N₂O₂⁺ [M + H]⁺, 理论值 319.1441, 实测值 319.1440。

(*E*)-1-(2,4-二羟基苯基)-3-(4-((4-甲基-1*H*-咪唑-1-基)甲基)苯基)丙-2-烯-1-酮(**2o**): 黄色块状固体, 产率 6.0%, 熔点 160.8 ~ 162.1 °C; ¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ: 13.40 (s, 1H, -OH), 10.92 (s, 1H, -OH), 8.19 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, H_β), 7.97 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H, Ph-H), 7.91 (s, 1H, CH = N), 7.88 (m, 2H, Ph-H), 7.66 (d, *J* = 1.3 Hz, 1H, H_α), 7.31 ~ 7.23 (m, 2H, Ph-H), 7.19 (s, 1H, N-CH = C), 6.88 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, Ph-H), 6.44 (s, 1H, Ph-H), 5.17 (s, 2H, -CH₂), 2.06 (s, 3H, -CH₃); ¹³C NMR (101MHz, DMSO-*d*₆) δ: 191.84, 166.33, 165.91, 143.55, 138.03, 137.61, 137.17, 134.52, 133.61, 128.42 (2C), 127.77 (2C), 121.89, 116.31, 113.47, 108.82, 103.09, 49.62, 14.07; HRMS (ESI) *m/z*: C₂₀H₁₉N₂O₃⁺ [M + H]⁺, 理论值 335.1390, 实测值 335.1390。

(*E*)-1-(2,4,5-三甲氧基苯基)-3-(4-((4-甲基-1*H*-咪唑-1-基)甲基)苯基)丙-2-烯-1-酮 (**2p**): 白色粉末,产率 5.1%,熔点 136.4~136.8 °C;¹H NMR(400MHz,CDCl₃)δ:7.71(d,*J*=13.9Hz,1H,H_β),7.50~7.42(m,2H,Ph-H),7.43(s,1H,CH=N),7.41(d,*J*=13.9Hz,1H,H_α),7.40(s,1H,Ph-H),7.28~7.24(m,2H,Ph-H),7.03(s,1H,N-CH=C),6.47(s,1H,Ph-H),4.96(s,2H,-CH₂),3.93~3.81(s,9H,-OCH₃),2.20(s,3H,-CH₃);¹³C NMR(101MHz,CDCl₃)δ:198.00,155.07,153.77,145.59,143.02,138.59,137.80,136.48,134.01,128.18(2C),127.15(2C),

126.58,119.01,115.81,112.73,96.30,56.23,56.16,56.10,50.11,13.72;HRMS(ESI) *m/z*: C₂₃H₂₅N₂O₄⁺[M+H]⁺,理论值 393.1815,实测值 393.1814。

2.2 细胞抑制增值活性实验

MTT 结果显示(表 1),化合物 **2i** 对 SiHa、C-33A、HeLa 细胞均表现出较显著的增殖抑制活性,并对 H8 细胞的副作用较小;与阳性药顺铂相比,对 HeLa/DDP 细胞具有明显的逆转作用,这可能是化合物 **2i** 与微管蛋白秋水仙碱位点相结合,影响了 P-gp 调控的抗肿瘤 MDR 机制,还需进一步实验证实。

表 1 化合物 2a~2p 的抗癌活性($\bar{x}\pm s$, *n*=3)
Tab.1 Anticancer activity of compound 2a~2p ($\bar{x}\pm s$, *n*=3)

Compd.	IC ₅₀ /(μmol/L)				
	SiHa	C-33A	HeLa	HeLa/DDP	H8
2a	30.75±0.17	14.93±0.90	25.11±1.38	54.47±0.04	46.65±1.30
2b	>100	>100	99.63±1.42	>100	>100
2c	61.93±3.77	40.22±0.84	64.66±1.32	>100	>100
2d	17.17±0.50	24.94±2.88	33.54±1.06	>100	>100
2e	>100	>100	>100	>100	>100
2f	>100	98.39±3.07	>100	>100	>100
2g	>100	>100	>100	>100	>100
2h	32.63±2.19	35.40±1.58	31.90±0.40	71.62±2.78	56.09±2.05
2i	12.05±0.62	7.96±0.93	8.61±0.11	18.16±0.40	74.38±0.11
2j	18.40±0.27	14.24±0.04	43.71±1.41	83.49±3.39	>100
2k	40.09±0.73	11.77±0.54	27.77±0.48	32.53±0.13	32.14±1.64
2l	>100	>100	>100	>100	>100
2m	54.05±3.53	53.52±0.85	30.59±0.93	>100	>100
2n	29.53±0.35	15.97±1.23	15.46±1.33	52.62±0.10	49.31±0.35
2o	37.85±1.09	25.66±1.26	15.89±1.21	67.75±0.70	>100
2p	>100	>100	>100	>100	>100
Chalcone	65.65±0.31	61.56±0.50	74.66±0.38	93.42±0.15	68.57±3.89
Cisplatin	15.95±2.23	11.69±2.46	15.25±1.23	>100	18.59±0.31

2.3 构效关系分析

目标化合物是通过在查尔酮骨架的 A 环上引入咪唑、2-甲基咪唑、2-乙基咪唑、4-甲基咪唑,与含甲氧基、氨基、羟基等抗肿瘤活性基团的苯乙酮反应得到的,根据 MTT 实验结果进行构效关系分析:(1)当 R₁=H 时,目标化合物对宫颈癌细胞增值抑制活性:4-NH₂>2,4-OH>5-F-2-OH>4-OH>2,5-OCH₃>4-N(CH₃)₂>2,4-OCH₃和2,4,5-OCH₃;当 R₁=2-CH₃时,4-OH>2,5-OCH₃>2,4-OCH₃>2,4,5-OCH₃;当 R₁=4-CH₃时,4-OH>2,4-OH>2,4,5-OCH₃;(2)在 A 环不变的情况下,目标化合物对宫颈癌细胞增值抑制活性:2-甲基咪唑>4-甲基咪唑>咪唑>2-乙基咪唑。

2.4 细胞迁移实验

Transwell 结果显示,与空白组相比,化合物 **2i** 随着浓度的增加,细胞的迁移能力逐渐降低;与同浓度的阳性药顺铂组相比,细胞迁移数量明显减少(图 1),表明化合物 **2i** 对细胞迁移具有显著的抑制作用。

2.5 细胞侵袭实验

采用 Transwell 实验探究化合物 **2i** 对 HeLa 和 HeLa/DDP 细胞的侵袭情况(图 2)。与空白组相比,随着化合物 **2i** 浓度的增加,2 种细胞的侵袭能力逐渐降低;与同浓度的阳性药顺铂组相比,细胞侵袭数量明显减少,表明化合物 **2i** 对细胞侵袭具有显著的抑制作用。

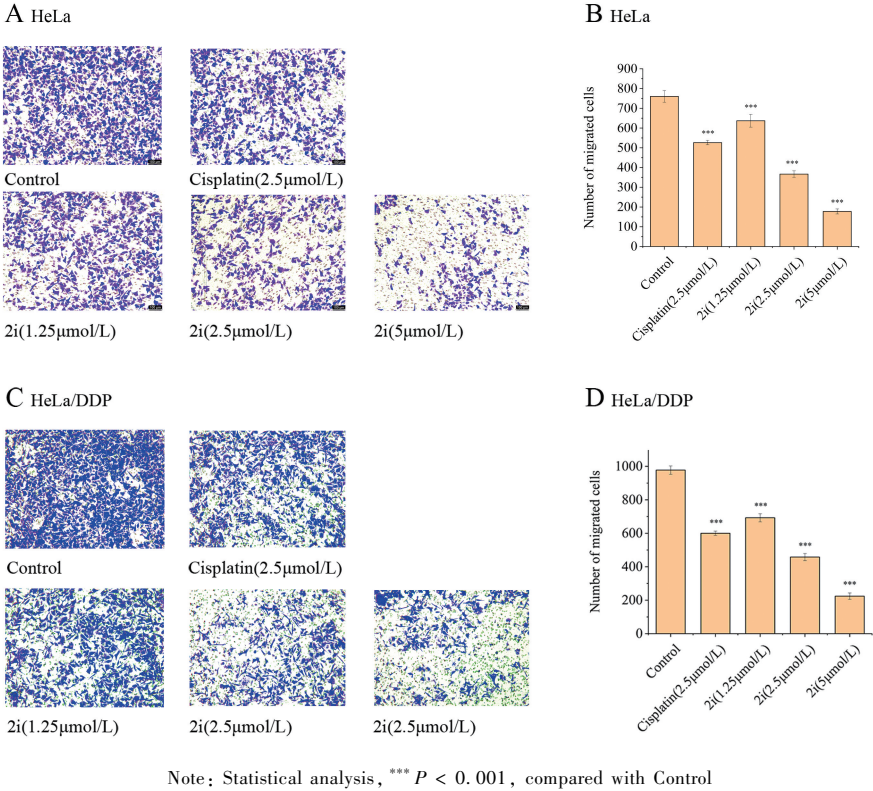


图 1 化合物 2i 对 HeLa (AB)、HeLa/DDP (CD) 细胞迁移 (×100) 能力的影响

Fig. 1 Effect of compound 2i on migration (×100) ability of HeLa (AB) and HeLa/DDP (CD) cells

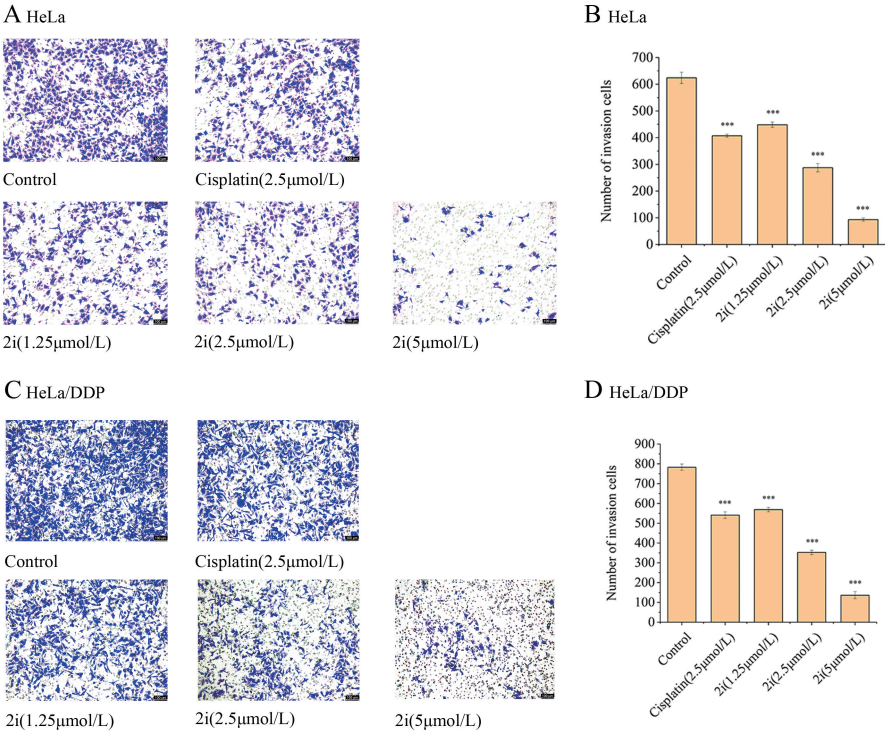


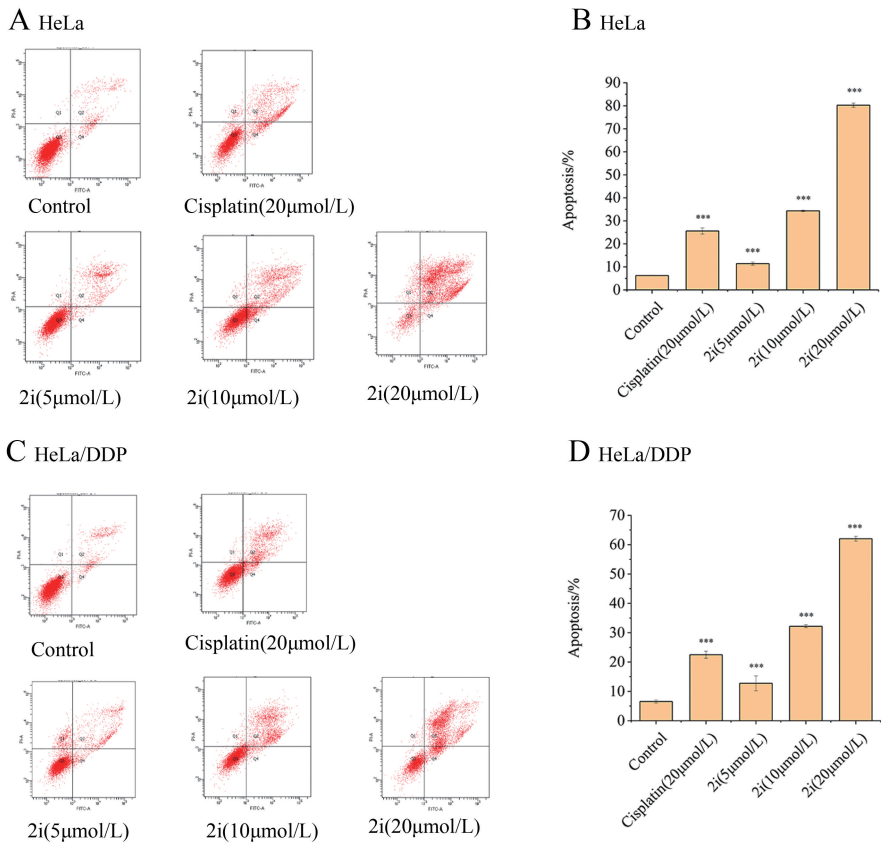
图 2 化合物 2i 对 HeLa (AB)、HeLa/DDP (CD) 细胞侵袭 (×100) 能力的影响

Fig. 2 Effect of compound 2i on invasion (×100) ability of HeLa (AB) and HeLa/DDP (CD) cells

2.6 细胞凋亡实验

采用流式细胞仪测试化合物 **2i** 对 HeLa 和 HeLa/DDP 凋亡的影响(图 3)。与空白组相比,

随着化合物 **2i** 浓度的增加,凋亡作用逐渐增强,呈现出浓度依赖性;与同浓度阳性药顺铂组相比,化合物 **2i** 具有较强的促凋亡作用。



Note: Statistical analysis, *** $P < 0.001$, compared with Control

图 3 化合物 **2i** 对 HeLa (AB)、HeLa/DDP (CD) 细胞凋亡的影响

Fig. 3 Effect of compound **2i** on apoptosis of HeLa (AB) and HeLa/DDP (CD) cells

2.7 细胞周期阻滞实验

采用流式细胞仪测试化合物 **2i** 对 HeLa 和 HeLa/DDP 周期的影响(图 4)。与空白组相比,随着化合物 **2i** 的浓度增加, G_2/M 期细胞逐渐增加,并与浓度显示出正相关性;与同浓度阳性药顺铂组相比,化合物 **2i** 对 G_2/M 期的阻滞作用更明显。

2.8 分子对接研究

分子对接结果显示查尔酮母核、秋水仙碱、化合物 **2i** 与 4O2B 蛋白结合的最低能量分别为 -32.186、-31.35 和 -35.948 kJ/mol(表 2)。化合物 **2i** 与 4O2B 蛋白的相互作用较强,**2i** 结构中的羟基氧、羰基氧和咪唑氮分别与 4O2B 蛋白上的氨基酸残基 ALA-12(C)、GLN-11(C)和 VAL-181(C)形成 3 个氢键相互作用力(咪唑结构>羟基>羰基);此外,还观察到化合物 **2i** 与其他氨基酸残基如 LYS-352(D)、LYS-254(D)和 ASN-101

(C)等形成强烈的疏水性相互作用力。分子对接研究表明(图 5),化合物 **2i** 与 4O2B 蛋白具有较好的结合能力,其中氢键和疏水性相互作用力的形成,可能与其对微管蛋白的抑制和显著的抗宫颈癌活性作用相关。

表 2 分子对接预测的基本蛋白质信息和最小结合能

Tab.2 Basic protein information and minimum binding energy for molecular docking prediction

Ligand	Name of protein	PDB ID	Lowest binding energy/(kJ/mol)	Hydrogen bonds
Chalcone	Tubulin	4O2B	-32.186	1
Colchicine			-31.35	1
2i			-35.948	3

3 结论

本研究以甘草查尔酮为先导化合物骨架,基于肿瘤耐药相关微管蛋白的秋水仙碱结合位点为

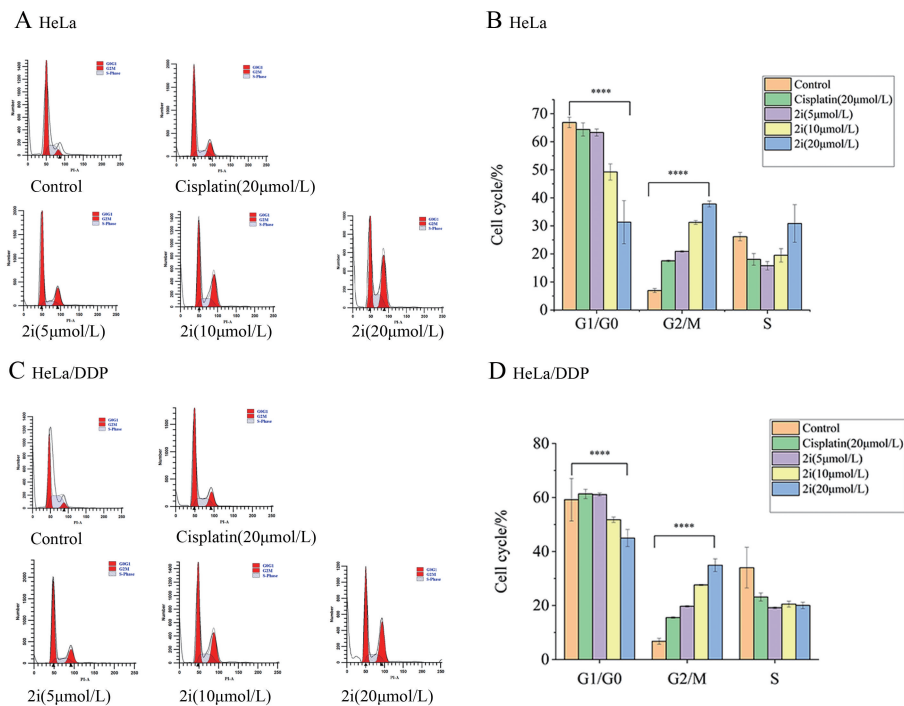


图 4 化合物 2i 对 HeLa (AB)、HeLa/DDP (CD) 细胞周期的影响

Fig. 4 Effect of compound 2i on cell cycle of HeLa (AB) and HeLa/DDP (CD)

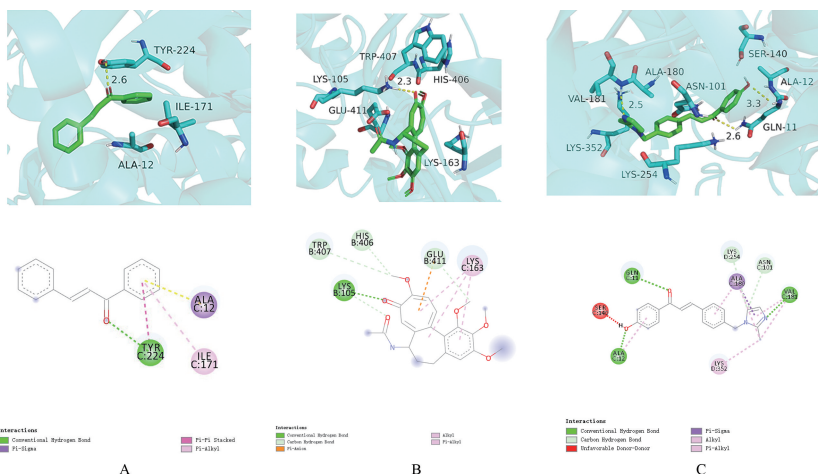


图 5 查尔酮 (A)、秋水仙碱 (B) 和化合物 2i (C) 与微管蛋白对接示意图

Fig. 5 Diagram of docking chalcone (A), colchicine (B) and compound 2i (C) with tubulin

对接部位,结合前期研究基础,设计合成了 16 个新型咪唑-查尔酮衍生物。体外活性实验表明,化合物 **2i** 对 3 种宫颈癌细胞 (SiHa、C-33A、HeLa) 和顺铂耐药宫颈癌细胞 (HeLa/DDP) 具有较强的增殖抑制活性,且对人正常宫颈上皮细胞 (H8) 毒性较低。进一步研究表明,**2i** 可以显著抑制 HeLa 和 HeLa/DDP 细胞的迁移和侵袭能力,能够诱导其凋亡,并阻滞细胞于 G₂/M 期。在分子对接模拟中 **2i** 能够与微管蛋白秋水仙碱结合位点稳定

结合,并产生氢键相互作用力。综上所述,化合物 **2i** 对宫颈癌和顺铂耐药宫颈癌细胞的增殖抑制活性,可能与微管蛋白的抑制作用和规避 P-gp 调控抗肿瘤 MDR 机制有关,还需进一步验证。本研究为基于微管蛋白秋水仙碱结合位点的新型咪唑-查尔酮类抗肿瘤药物设计提供了实验基础。

参考文献

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel R L, et al. CA Cancer J. Clin. , 2021, 71(3) : 209~249.

[2] Li J, Rong X, Liu Y, et al. Int. J. Clin. Exp. Pathol. , 2020, 13(9) : 2326~2332.

[3] Arbyn M, Xu L, Simoens C, et al. Cochrane Database Syst. Rev. , 2018, 5(5) : Cd009069.

[4] Poddar P, Maheshwari A. Ind. J. Med. Res. , 2021, 154(2) : 284~292.

[5] Feng C H, Mell L K, Sharabi A B, et al. Semin. Radiat. Oncol. , 2020, 30(4) : 273~280.

[6] Kumar L, Harish P, Malik P S, et al. Curr. Probl. Cancer, 2018, 42(2) : 120~128.

[7] Chang Y T, Lin Y C, Sun L, et al. Phytomedicine, 2020, 71: 153239.

[8] Ganesan M, Kanimozhi G, Pradhapsingh B, et al. Biomed. Pharmacother. , 2021, 139: 111632.

[9] Bhattacharjee R, Dey T, Kumar L, et al. Biomed. Pharmacother. , 2022, 153: 113345.

[10] He M, Xia L, Li J. Biomolecules, 2021, 11(10):1539.

[11] Podolski-Renić A, Banković J, Dinić J, et al. Eur. J. Pharm. Sci. , 2017, 105: 159~168.

[12] Cheng Z, Lu X, Feng B. Transl. Cancer Res. , 2020, 9(6) : 4020~4027.

[13] Razzaq S, Rauf A, Raza A, et al. Nanomaterials (Basel), 2021, 11(11) : 2858.

[14] Hu T, Li Z, Gao C Y, et al. World J. Gastroenterol. , 2016, 22(30) : 6876~6889.

[15] Suárez-Moreno G V, Hernández-Romero D, García-Barradas Ó, et al. Coord. Chem. Rev. , 2022, 472: 214790.

[16] 宋浩明, 张玲. 山东化工, 2019, 48(06) : 57~58.

[17] Deng B, Sun Z, Wang Y, et al. Bioorg. Med. Chem. , 2022, 76: 117098.

[18] Andrei G, Andrei B F, Roxana P R. I Mini Rev. Med. Chem. , 2021, 21(11) : 1380~1392.

[19] Shaik S P, Vishnuvardhan M, Sultana F, et al. Bioorg. Med. Chem. , 2017, 25(13) : 3285~3297.

[20] Wang Q, Arnst K E, Wang Y, et al. J. Med. Chem. , 2018, 61(17) : 7877~7891.

[21] Aliwaini S, Awadallah A M, Morjan R Y, et al. Oncol. Lett. , 2019, 18(1) : 830~837.

[22] Yao J, Takenaga K, Koshikawa N, et al. Int. J. Cancer, 2023, 152(5) : 962~976.

[23] Ouyang Y, Li J, Chen X, et al. Biomolecules, 2021, 11(6) : 894.

[24] Shakhatreh M A, Al-Smadi M L, Khabour O F, et al. Drug Des. Devel. Ther. , 2016, 10: 3653~3660.

[25] Rehman Z U, Saini P, Kumar S. Curr. Drug Discov. Technol. , 2023, 20(1) : 42~66.

[26] Zhou D, Xie D, He F, et al. Bioorg. Med. Chem. Lett. , 2018, 28(11) : 2091~2097.

[27] Gomes M N, Braga R C, Grzelak E M, et al. Eur. J. Med. Chem. , 2017, 137: 126~138.

[28] Huang Z H, Yin L Q, Guan L P, et al. Bioorg. Med. Chem. Lett. , 2020, 30(11) : 127173.

[29] Qin H L, Zhang Z W, Lekkala R, et al. Eur. J. Med. Chem. , 2020, 193: 112215.

[30] Mirzaei H, Emami S. Eur. J. Med. Chem. , 2016, 121: 610~639.

[31] Rahimzadeh Oskuei S, Mirzaei S, Reza Jafari-Nik M, et al. Bioorg. Chem. , 2021, 112: 104904.

[32] Yin H, Dong J, Cai Y, et al. Eur. J. Med. Chem. , 2019, 180: 350~366.

(上接第 1485 页)

[12] 李佳霖,石坚,余秦伟,等. 工业催化, 2020, 28(09) :73~77.

[13] 李佳霖,石坚,余秦伟,等. 精细化工, 2019, 36(8) :1501~1506.

[14] 叶天,刘运海,信勇,等. CN: 103772223A.

[15] 刘运海,叶天,信勇,等. CN: 103232351A.

[16] 贺满华,韩扶军,孙晟,等. CN: 1911899 A.

[17] 信勇,刘运海,叶天. CN: 103130656 A.

[18] 奚强,马银,冯薇伟,等. CN: 106986779 B.

[19] 吕剑,杨建明,余秦伟,等. 胺的合成与反应原理. 化学工业出版社,2015.

[20] 卢飞,俞迪虎,李勇,等. 化学世界, 2011 (12) :728~730.

[21] 卞林芝,杨康,纵朝阳,等. 广州化工, 2017, 45(6) : 9~11.

[22] Wang W Q, Yu Q W, Zhang Q, et al. ChemistrySelect, 2017, 2: 8818~8823.

[23] Gordon R G, Rodriguez L N J. US: 2011/0151615 A1.

[24] 孙延辉. 单乙醇胺催化分子内脱水合成乙烯亚胺的研究. 大连理工大学博士学位论文, 2008.

[25] 梅苏宁. CN: 201410714828. 2017-02-01.