

S-3-(三氟甲基)-6,7-双[4-(三氟甲基)苯基]-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮下调STAT3信号通路抑制人结直肠癌细胞生长的作用研究

张金华^{1, 2#}, 赵 祺^{1#}, 薛 畅^{1, 2}, 郭月琴², 赵承光¹, 姜程曦^{1*}

1. 温州医科大学中医药研究院, 浙江 温州 325035

2. 大理药业股份有限公司, 云南 大理 671000

摘 要: 目的 基于信号转导和转录活化因子3 (STAT3) 信号通路探讨三氟甲基化二氢喹啉酮类化合物S-3-(三氟甲基)-6,7-双[4-(三氟甲基)苯基]-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮(2o)对人结直肠癌细胞生长的抑制作用。方法 采用MTT法检测三氟甲基化二氢喹啉酮类化合物2b、2e、2f、2g、2k、2l、2m、2o、2q (20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)作用48 h对人结直肠癌细胞DLD-1存活率的影响,检测化合物2o (0.5、1.0、2.0、5.0、7.5、10.0、12.5、15.0、17.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)作用48 h对人结直肠癌细胞HCT116、RKO和DLD-1存活率的影响;克隆形成实验检测化合物2o (2.5、5.0、10.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)对RKO、DLD-1、HCT116细胞增殖的影响;流式细胞术和Hoechst染色检测化合物2o对细胞凋亡的影响;细胞划痕实验检测化合物2o对DLD-1和RKO细胞迁移率的影响;Western blotting法检测化合物2o对RKO细胞p-STAT3、STAT3、骨髓白血病细胞分化蛋白(MCL)-1、生存素(Survivin)、B淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白(Bax)蛋白表达水平的影响,检测化合物2o对白细胞介素-6(IL-6)刺激下p-STAT3、STAT3蛋白表达水平的影响。结果 化合物2o对DLD-1细胞的杀伤能力较其他化合物强;化合物2o对HCT116、RKO和DLD-1细胞的半数抑制浓度(IC₅₀)分别为(3.573±0.172)、(8.056±0.458)、(6.226±0.458) $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。与对照组比较,化合物2o明显降低了HCT116、RKO和DLD-1细胞的集落形成能力;显著降低DLD-1和RKO细胞迁移率($P<0.01, 0.001$);明显增加RKO、DLD-1细胞凋亡率;明显增加HCT116和RKO细胞核亮染比例;明显降低p-STAT3、MCL-1、Survivin、Bcl-2蛋白表达,明显升高Bax蛋白表达,对STAT3蛋白表达无明显影响。与对照组比较,IL-6刺激的模型组p-STAT3蛋白表达明显升高,STAT3蛋白表达无明显变化;与模型组比较,随着化合物2o浓度的升高,p-STAT3蛋白表达明显降低,STAT3蛋白表达无明显变化。结论 化合物2o可能通过下调STAT3信号通路发挥抗人结直肠癌作用。

关键词: 三氟甲基化二氢喹啉酮类化合物; S-3-(三氟甲基)-6,7-双[4-(三氟甲基)苯基]-3,4-二氢喹啉-2(1H)-酮; 结直肠癌; 信号转导和转录活化因子3 (STAT3); 增殖; 凋亡; 迁移

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2023)04-0788-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.04.012

S-3-(trifluoromethyl)-6,7-bis(4-(trifluoromethyl)phenyl)-3,4-dihydroquinolin-2(1H)-one suppresses colon cancer growth via STAT3 signaling pathway

ZHANG Jinhua^{1,2}, ZHAO Qi¹, XUE Chang^{1,2}, GUO Yueqin², ZHAO Chengguang¹, JIANG Chengxi¹

1. Institute of Chinese Medicine Research, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, China

2. Dali Pharmaceutical Co., Ltd., Dali, 671000, China

Abstract: Objective To investigate the inhibitory effect of S-3-(trifluoromethyl)-6,7-bis(4-(trifluoromethyl)phenyl)-3,4-dihydroquinolin-2(1H)-one on the occurrence and development of human colorectal cancer cells based on signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) signaling pathway. **Methods** MTT methods was used to detected the effects of trifluoromethylated dihydroquinoxalinones 2b, 2e, 2f, 2g, 2k, 2l, 2m, 2o, 2q (20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) treatment for 48 hours on the survival rate of human colorectal cancer cell line DLD-1, and the effects of compound 2o (0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 7.5, 10.0, 12.5, 15.0, 17.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) treatment for 48 h on the survival rates of human colorectal cancer cells HCT116, RKO, and DLD-1. Clonogenesis assay detected effect of compound 2o (2.5, 5.0, 10.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) on the proliferation of RKO, DLD-1, and HCT116 cells. Flow cytometry and

收稿日期: 2022-11-04

基金项目: 大理药业股份有限公司横向课题(KJHX1603)

#共同第一作者: 张金华(1984—),男,云南永胜人,本科,工程师,研究方向为药物工程。E-mail:276657178@qq.com

赵 祺(1994—),女,湖北枣阳人,博士研究生,研究方向为药理学。E-mail:1297909219@qq.com

*通信作者: 姜程曦(1971—),男,安徽青阳人,博士,研究员,研究方向为中药药理及药物开发。E-mail:jiangchengxi@126.com

Hoechst staining were used to detect the effect of compound **2o** on apoptosis. The effect of compound **2o** on the migration rate of DLD-1 and RKO cells was detected by cell scratch test. Western blotting was used to detect the effects of compound **2o** on the expression of p-STAT3, STAT3, myeloid leukemia cell differentiation protein (MCL)-1, Survivin, B-lymphomatoma-2 (Bcl-2), and Bcl-2 related X protein (Bax) proteins in RKO cells, and to detect the effects of compound **2o** on the expression of p-STAT3, STAT3 proteins stimulated by interleukin-6 (IL-6). **Results** Compound **2o** had stronger killing ability on DLD-1 cells than other compounds. The semi maximum inhibitory concentrations (IC_{50}) of compound **2o** on HCT116, RKO, and DLD-1 cells were (3.573 ± 0.172) , (8.056 ± 0.458) , and $(6.226 \pm 0.458) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ respectively. Compared with the control group, compound **2o** apparently decreased the colony forming ability of HCT116, RKO, and DLD-1 cells, significantly decreased the migration rates of DLD-1 and RKO cells ($P < 0.01, 0.001$), apparently increased the apoptosis rate of RKO and DLD-1 cells, apparently increased the ratio of HCT116 and RKO nuclei to bright staining, apparently decreased the expression of p-STAT3, MCL-1, Survivin, and Bcl-2 proteins, apparently increased the expression of Bax protein, and had no significant impact on STAT3 protein expression. Compared with the control group, the expression of p-STAT3 protein in the model group stimulated by IL-6 was significantly increased, while the expression of STAT3 protein had no significant change. Compared with the model group, with the increase of compound **2o** concentration, the expression of p-STAT3 protein significantly decreased, while the expression of STAT3 protein did not significantly change. **Conclusion** Our data suggested that compound **2o** may play an anti human colorectal cancer role by downregulating STAT3 signaling pathway.

Key words: trifluoromethylated dihydroquinoxalinones; *S*-3-(trifluoromethyl)-6,7-bis(4-(trifluoromethyl)phenyl)-3,4-dihydroquinoxalin-2(1*H*)-one; signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3); colorectal cancer; proliferation; apoptosis; transfer

结直肠癌是世界上最常见的恶性肿瘤之一,早期缺乏特异的临床表现^[1-3],主要治疗方法为手术,同时可辅以多种放疗、化疗方法,早期患者5年内生存率高达90%,晚期患者的生存率不容乐观^[4]。在最近10年里,随着对结直肠癌的认知不断深入,出现了新的治疗方案,例如奥沙利铂作为结直肠癌的一线治疗药物,可以显著提高患者的总生存期,但晚期结直肠癌患者的5年生存率仍然难以预测^[5-6]。导致结直肠癌治疗失败的主要原因为恶性肿瘤患者预后差、疼痛、治疗费用高、超过30%的死亡率^[7]。

信号转导和转录活化因子3(STAT3)在正常组织中广泛表达,通过调节细胞因子调控细胞内的生物学行为,通过 Janus 激酶(JAK)/信号转导与转录激活子(STAT)信号通路调控生长因子^[8]。STAT3 可以被致癌信号持续激活,在肿瘤发生和发展中起到重要作用^[9],STAT3在多种人类癌症中活化,能够调控细胞周期、细胞存活以及与癌症进展和恶性肿瘤相关的免疫应答相关基因,可抑制癌细胞的凋亡和有丝分裂^[10]。STAT3的异常激活可增强肿瘤的侵袭和抗肿瘤耐药性,进而促进肿瘤的发展和转移^[11]。目前临床上尚无针对 STAT3 的特异性药物治疗癌症^[12-13],因此,寻找可以单独或联合抑制 STAT3 的新药已成为当务之急^[14]。

二氢喹啉酮又称喹诺沙林-2-酮^[15],以二氢喹啉酮为结构母核合成的衍生物可作为酶抑制剂、苯二氮草类受体拮抗剂等,具有重要的应用价值^[16]。早在1989年,美国国家癌症研究所就发现喹啉酮具有一定的体外抗肿瘤活性^[17]。在药物化

学领域,三氟甲基是一类重要的含氟化学基团,因其脂溶性高、代谢稳定性好、电负性和生物利用度高而被广泛应用于生物活性分子中^[18-19]。将三氟甲基作为官能团引入药物分子中,往往会显著改变母体化合物的脂溶性,增强分子的代谢稳定性,影响其药物吸收、分布和供受体相互作用等生物活性^[20-22]。基于这些特殊性质,王晨木等^[23]通过不对称钯催化加氢合成一系列不同基团的手性三氟甲基二氢喹啉酮**2a~2q**。本研究筛选了化合物**2b**、**2e**、**2f**、**2g**、**2k**、**2l**、**2m**、**2o**和**2q**的抗肿瘤活性,发现化合物**2o**即*S*-3-(三氟甲基)-6,7-双[4-(三氟甲基)苯基]-3,4-二氢喹啉-2(1*H*)-酮(结构式见图1)具有显著的抗肿瘤活性,随后对其进行了增殖、迁移、凋亡作用和相关作用机制的探索。

1 材料

1.1 细胞种类和蛋白抗体

人结直肠癌细胞株RKO、DLD-1、HCT116来自中国科学院上海生物科学与细胞资源中心。HCT116细胞在添加10%胎牛血清的McCoy's 5A培养基中培养,DLD-1和RKO细胞在添加10%胎牛

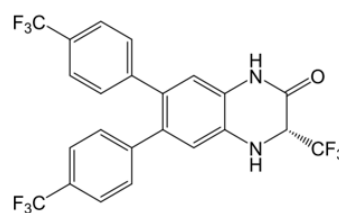


图1 化合物**2o**结构式

Fig. 1 Structural formula of compound **2o**

血清的RPMI 1640培养基中培养。所有细胞在温度为37℃、5%CO₂的培养箱中生长。

1.2 药物及主要试剂

三氟甲基化二氢喹啉酮化合物(质量分数大于98%),由王晨木合成(功能有机小分子教育部重点实验室,江西师范大学)^[23]。将化合物溶解在无菌二甲亚砜(DMSO)中,终浓度为20 mmol·L⁻¹,在-20℃下储存。

STAT3(批号9139T)、p-STAT3(批号9145T)、GAPDH(批号5174S)、B淋巴细胞瘤-2(Bcl-2,批号15071T)、Bcl-2相关X蛋白(Bax,批号14796S)、生存素(Survivin,批号2808T)、骨髓白血病细胞分化蛋白(MCL)-1(批号94296S)抗体购自美国Cell Signal Technology公司;辣根过氧化物酶(HRP)标记的驴抗兔IgG(批号sc-2030)和HRP标记的山羊抗鼠IgG(批号sc-2357)购自美国Santa Cruz Biotechnology Inc.;胎牛血清(Gibco公司);McCoy's 5A培养基(Gibco公司);RPMI-1640培养基(美国Thermo Fisher Scientific公司);四甲基偶氮唑蓝(美国Sigma公司);Apoptosis Detection Kit I凋亡检测试剂盒(上海泽叶生物公司);白细胞介素-6(IL-6,美国proteintech公司)。

1.3 主要仪器

荧光显微镜(Nikon, Tokyo, Japan);流式细胞仪(BD, Biosciences)。

2 方法

2.1 化合物体外抗结直肠癌活性初筛

取对数生长期人结直肠癌细胞DLD-1接种于96孔板,每孔4×10³个。细胞贴壁后,加入化合物2b、2e、2f、2g、2k、2l、2m、2o、2q(20 μmol·L⁻¹),对照组加入等浓度的DMSO,与细胞共培养。48 h后,每个孔加入10 μL MTT,在37℃条件下,与细胞孵育4~6 h,晶体溶解在150 μL二甲亚砜(DMSO)中,用紫外分光光度计在490 nm下检测吸光度(A)值,计算细胞相对存活率。

$$\text{相对存活率} = A_{\text{给药}} / A_{\text{对照}}$$

2.2 化合物2o对结直肠癌细胞增殖的抑制作用

取对数生长期人结直肠癌细胞DLD-1、RKO和HCT116接种于96孔板,每孔4×10³个。细胞贴壁后,加入化合物2o(0.5、1.0、2.0、5.0、7.5、10.0、12.5、15.0、17.5 μmol·L⁻¹),对照组加入与最高给药浓度组同浓度的DMSO,与细胞共培养48 h。MTT法检测细胞相对存活率,采用Graphpad prism 7软件计算半数抑制浓度(IC₅₀)值。

2.3 克隆形成实验

将人类结直肠癌细胞RKO、DLD-1、HCT116接种于6孔板中,每孔1 000个。细胞贴壁后,用2.5、5.0、10.0 μmol·L⁻¹化合物2o处理24 h,对照组加入与10.0 μmol·L⁻¹组同浓度的DMSO。7 d后,用含有4%多聚甲醛的磷酸盐缓冲溶液(PBS)室温下固定细胞30 min,然后在室温下用0.1%结晶紫染色20 min,显微镜下观察并拍照。

2.4 细胞划痕实验

将人结直肠癌细胞DLD-1和RKO(每孔5×10⁵个)植入6孔板中。次日,用10 μL无菌吸头刮板底部形成线性间隙,用PBS冲洗贴壁细胞3次,加入含化合物2o浓度为2.5、5.0、10.0 μmol·L⁻¹的培养基处理细胞,对照组加入与10.0 μmol·L⁻¹组同浓度的DMSO。分别于0、24、48 h观察划痕愈合情况并拍照。通过Image J测定各细胞划痕间距,各组细胞分别计算迁移率。

$$\text{细胞迁移率} = (\text{0 h划痕宽度} - \text{48 h划痕宽度}) / \text{0 h划痕宽度}$$

2.5 Hoechst 33342染色实验

将HCT116和RKO细胞接种于6孔板,贴壁后用化合物2o(2.5、5.0、10.0 μmol·L⁻¹)处理24 h,对照组加入与10.0 μmol·L⁻¹组同浓度的DMSO。用含有4%多聚甲醛的PBS室温下固定细胞30 min, PBS洗1次, Hoechst 33342染色20 min。最后用荧光显微镜观察细胞并拍照。

2.6 流式细胞凋亡实验

将DLD-1和RKO细胞接种于6孔板中,贴壁后用化合物2o(2.5、5.0、10.0 μmol·L⁻¹)诱导约48 h,对照组加入与10.0 μmol·L⁻¹组同浓度的DMSO。收集细胞,按照Apoptosis Detection Kit I凋亡检测试剂盒说明书,用流式细胞仪检测细胞凋亡率,数据使用FlowJo软件分析。

2.7 Western blotting实验

将RKO细胞接种于6孔板中,用化合物2o(2.5、5.0、10.0 μmol·L⁻¹)处理24 h,对照组加入与10.0 μmol·L⁻¹组同浓度的DMSO, Western blotting法检测p-STAT3、STAT3、MCL-1、Survivin、Bcl-2、Bax蛋白表达水平。

将RKO细胞接种于6孔板中,用化合物2o(2.5、5.0、10.0 μmol·L⁻¹)预处理24 h,然后用IL-6(25 ng·mL⁻¹)刺激30 min,设置不加药不加IL-6刺激的对照组,设置不加药仅加IL-6刺激的模型组, Western blotting法检测p-STAT3、STAT3蛋白表达。

用PBS洗去培养基,加入含有10 μL、100 mol·L⁻¹

PMSF的RIPA裂解液在冰上溶解30 min后刮下细胞,在4 °C、12 000 rmin⁻¹条件下离心10 min,用BCA蛋白定量法确定蛋白浓度。用10%或12%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)电泳分离蛋白,电转移到PVDF膜上,用特异性一抗4 °C孵育膜过夜,次日用二抗室温孵育60 min。ECL显影后拍照。

2.8 统计分析方式

定量数据以 $\bar{x} \pm s$,采用 GraphPad Prism 8.0 进行数据分析。采用 unpaired Student's-*t* 检验分析两组间差异的显著性,采用单因素方差分析(ANOVA)计算3组以上数据组间差异显著性。

3 结果

3.1 化合物2o体外抗结直肠癌活性

如图2所示,将化合物2b、2e、2f、2g、2k、2l、2m、2o和2q作用于结直肠癌细胞DLD-1后,化合物2o

的细胞杀伤能力较其他化合物强。

用不同浓度的化合物2o处理结直肠癌细胞DLD-1、RKO和HCT116,结果表明化合物2o的细胞杀伤能力具有剂量相关性,其在48 h时对结直肠癌细胞HCT116、RKO和DLD-1的IC₅₀分别为(3.573±0.172)、(8.056±0.458)、(6.226±0.458) μmo·L⁻¹。

通过克隆形成实验检测化合物2o对结直肠癌细胞增殖的影响,与对照组比较,化合物2o明显降低了HCT116、RKO和DLD-1细胞的集落形成能力。结果表明,化合物2o对人结直肠癌细胞的生长具有剂量相关性的抑制作用。

3.2 化合物2o对结直肠癌细胞的迁移抑制作用

如图3所示,与对照组比较,化合物2o处理后细胞迁移率显著降低($P<0.01$ 、 0.001)。

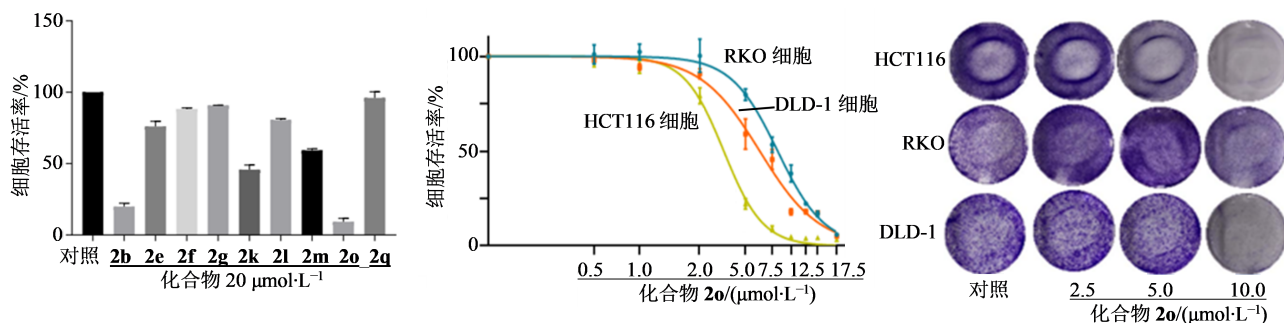
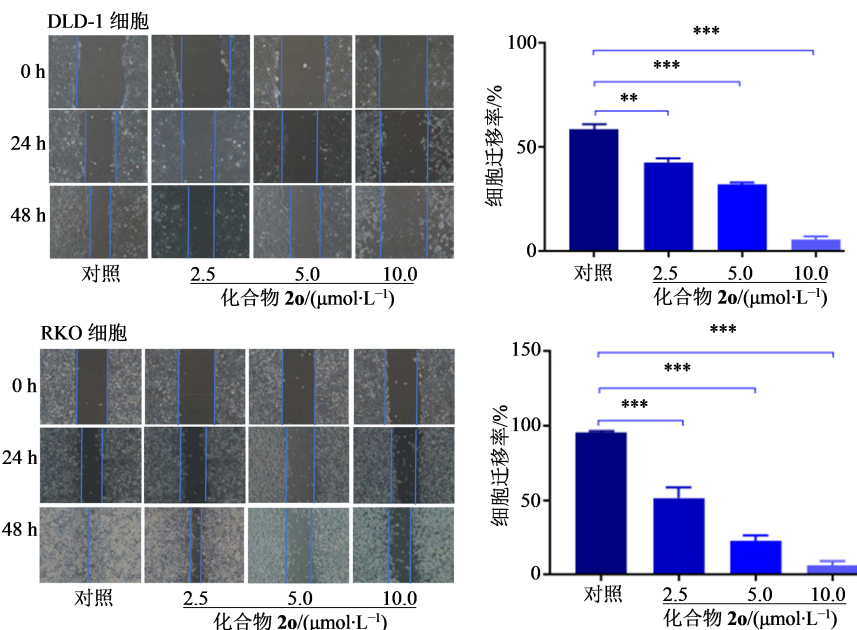


图2 化合物2o对结直肠癌细胞增殖的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 2 Effect of compound 2o on proliferation of colorectal cancer cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)



** $P<0.01$ *** $P<0.001$

图3 化合物2o对结直肠癌细胞迁移的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 3 Effect of compound 2o on colorectal cancer cell migration ($\bar{x} \pm s, n=3$)

3.3 化合物2o对结直肠癌细胞的诱导凋亡作用

经流式细胞术检测,与对照组比较,化合物2o组细胞凋亡率呈剂量相关性明显增加;Hoechst染色显示,与对照组比较,化合物2o组细胞核亮染比例明显增加。结果(图4)表明,化合物2o能有效诱导结直肠癌细胞凋亡。

3.4 化合物2o对STAT3磷酸化的影响

如图5所示,与对照组比较,随着化合物2o浓度的升高,p-STAT3、MCL-1、Survivin、Bcl-2蛋白表达明显降低,Bax蛋白表达明显升高,STAT3蛋白表达无明显变化。

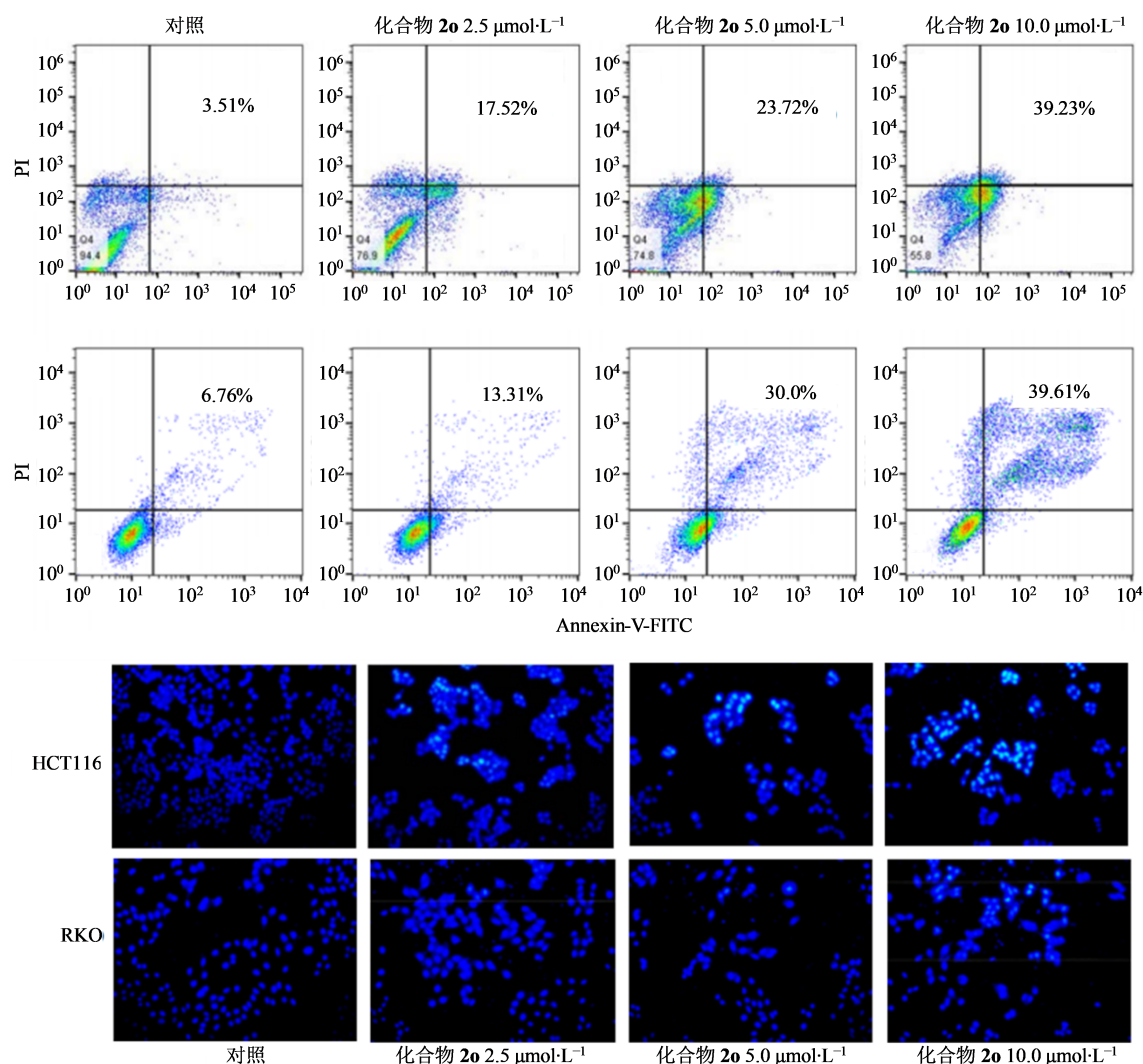


图4 化合物2o对结直肠癌细胞凋亡的影响 (Hoechst染色, ×10)

Fig. 4 Effect of compound 2o on apoptosis of colorectal cancer cells (Hoechst stain, ×10)

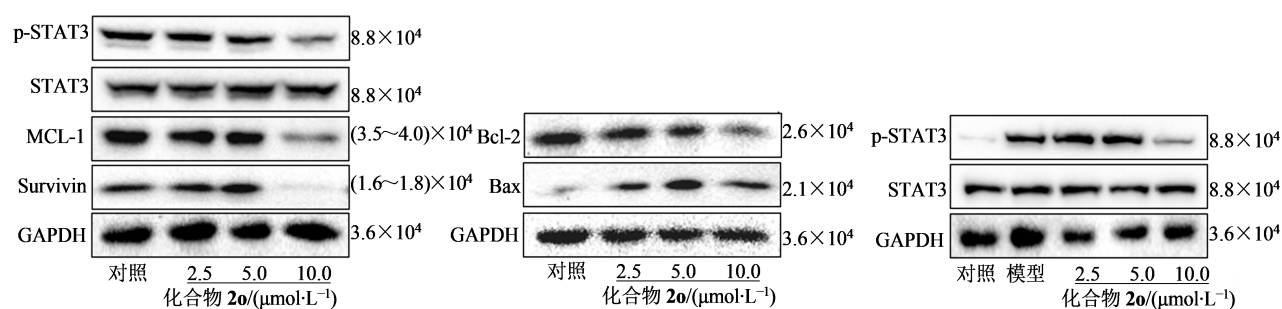


图5 化合物2o对RKO细胞中p-STAT3、MCL-1、Survivin、Bcl-2和Bax蛋白表达的影响

Fig. 5 Effect of compound 2o on protein expression of p-STAT3, MCL-1, Survivin, Bcl-2, and Bax in RKO cells

与对照组比较,IL-6刺激的模型组 p-STAT3 蛋白表达明显升高,STAT3 蛋白表达无明显变化;与模型组比较,随着化合物 **2o** 浓度的升高, p-STAT3 蛋白表达明显降低,STAT3 蛋白表达无明显变化。

4 讨论

结肠癌现在是最常见的癌症类型,是世界上发病率和死亡率最高的癌症之一^[1]。到目前为止,虽然有很多化疗或辅助抗癌药物,但可用于临床治疗的大多数药物只能缓解疾病而不能治愈^[5,7]。考虑到安全性和创新性,开发新的抗肿瘤药物已成为临床前研究的重要方向^[24]。喹喔啉酮类抗菌药的作用靶点之一是拓扑异构酶II,这也是多种抗肿瘤药物如依托泊苷的靶点,因此本课题组希望通过对母核的合理结构修饰,使其在人体内具有抗肿瘤活性。本研究发现修饰的喹喔啉酮类化合物三氟甲基化的二氢喹喔啉酮(**2o**)具有显著抗肿瘤活性。

STAT3 是 STAT 家族中公认的癌基因之一,可调控相关基因的转录,导致细胞异常增殖和恶性转化,与肿瘤的发生密切相关^[8]。在 IL-6 等细胞因子的刺激下,STAT3 的酪氨酸基团被磷酸化形成同源或异源二聚体,转位到细胞核中诱导和调节下游靶基因的转录,促进细胞增殖、分化和凋亡^[9]。这为 STAT3 抑制剂的临床前研究提供了一个创新的重点^[25-27]。本实验结果表明,化合物 **2o** 可显著抑制结肠癌细胞增殖,诱导细胞凋亡。并且化合物 **2o** 可以通过抑制 STAT3 磷酸化,下调关键靶基因 Bcl-2、MCL-1 和 Survivin 的表达,从而发挥抗肿瘤作用。此外,化合物 **2o** 能够抑制 IL-6 介导的 STAT3 通路的激活,这是否意味着化合物 **2o** 能与 IL-6 竞争性结合还有待后续深入的研究。

本研究结果表明,合成的三氟甲基化二氢喹喔啉酮类化合物 **2o** 是一种具有潜力的 STAT3 小分子抑制剂,其通过下调 STAT3 信号通路抑制人结肠癌细胞的增殖和转移,从而可能发挥抗结肠癌的作用,值得深入研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Siegel R L, Miller K D, Goding Sauer A, et al. Colorectal cancer statistics, 2020 [J]. CA Cancer J Clin, 2020, 70(3): 145-164.
- [2] Siegel R L, Miller K D, Fuchs H E, et al. Cancer statistics, 2021 [J]. CA A Cancer J Clin, 2021, 71(1): 7-33.
- [3] 刘宏, 李佳, 林俊芝, 等. 植物精油及其活性成分防治结肠癌作用机制的研究进展 [J]. 中草药, 2023, 54(3): 956-965.
- [4] Liu H, Li J, Lin J Z, et al. Research progress on mechanism of plant essential oils and their active components against colorectal cancer [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2023, 54(3): 956-965.
- [4] Wolf A M D, Fontham E T H, Church T R, et al. Colorectal cancer screening for average-risk adults: 2018 guideline update from the American Cancer Society [J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(4): 250-281.
- [5] Miller K D, Nogueira L, Devasia T, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2022 [J]. CA A Cancer J Clin, 2022, 72(5): 409-436.
- [6] Mauri G, Bencardino K, Sartore-Bianchi A, et al. Toxicity of oxaliplatin rechallenge in metastatic colorectal cancer [J]. Ann Oncol, 2018, 29(10): 2143-2144.
- [7] Lichtenstern C R, Ngu R K, Shalpour S, et al. Immunotherapy, inflammation and colorectal cancer [J]. Cells, 2020, 9(3): 618.
- [8] Johnson D E, O'Keefe R A, Grandis J R. Targeting the IL-6/JAK/STAT3 signalling axis in cancer [J]. Nat Rev Clin Oncol, 2018, 15(4): 234-248.
- [9] Yang L H, Lin S C, Xu L Y, et al. Novel activators and small-molecule inhibitors of STAT3 in cancer [J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2019, 49: 10-22.
- [10] Johnson D E, O'Keefe R A, Grandis J R. Targeting the IL-6/JAK/STAT3 signalling axis in cancer [J]. Nat Rev Clin Oncol, 2018, 15(4): 234-248.
- [11] Zhao C G, Li H M, Lin H J, et al. Feedback activation of STAT3 as a cancer drug-resistance mechanism [J]. Trends Pharmacol Sci, 2016, 37(1): 47-61.
- [12] Lin S C, Yang L H, Yao Y L, et al. Flubendazole demonstrates valid antitumor effects by inhibiting STAT3 and activating autophagy [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2019, 38(1): 293.
- [13] Xu L Y, Qiu S S, Yang L H, et al. Aminocyanopyridines as anti-lung cancer agents by inhibiting the STAT3 pathway [J]. Mol Carcinog, 2019, 58(8): 1512-1525.
- [14] Shi L Y, Zheng H L, Hu W L, et al. Niclosamide inhibition of STAT3 synergizes with erlotinib in human colon cancer [J]. Onco Targets Ther, 2017, 10: 1767-1776.
- [15] Shi L L, Hu W, Wu J F, et al. Quinoxalinone as a privileged platform in drug development [J]. Mini Rev Med Chem, 2018, 18(5): 392-413.
- [16] Yang Y C, Zhang S Z, Wu B B, et al. An efficient synthesis of quinoxalinone derivatives as potent

- inhibitors of aldose reductase [J]. *Chem Med Chem*, 2012, 7(5): 823-835.
- [17] Sparatore A, Boido Canu C, Boido V, et al. Quinolizidine derivatives as potential antitumoral agents [J]. *Farmaco*, 1989, 44(10): 945-950.
- [18] Zhang X H, Smith R T, Le C, et al. Copper-mediated synthesis of drug-like bicyclopentanes [J]. *Nature*, 2020, 580(7802): 220-226.
- [19] Romero A H. Fused heteroaromatic rings via metal-mediated/catalyzed intramolecular C-H activation: A comprehensive review [J]. *Top Curr Chem (Z)*, 2019, 377(4): 21.
- [20] Olszewska P, Cal D, Zagórski P, et al. A novel trifluoromethyl 2-phosphonopyrrole analogue inhibits human cancer cell migration and growth by cell cycle arrest at G1 phase and apoptosis [J]. *Eur J Pharmacol*, 2020, 871: 172943.
- [21] Karabanovich G, Dušek J, Savková K, et al. Development of 3, 5-dinitrophenyl-containing 1, 2, 4-triazoles and their trifluoromethyl analogues as highly efficient antitubercular agents inhibiting decaprenylphosphoryl- β -D-ribofuranose 2'-oxidase [J]. *J Med Chem*, 2019, 62(17): 8115-8139.
- [22] Tseng C C, Baillie G, Donvito G, et al. The trifluoromethyl group as a bioisosteric replacement of the aliphatic nitro group in CB1 receptor positive allosteric modulators [J]. *J Med Chem*, 2019, 62(10): 5049-5062.
- [23] Chen M W, Deng Z H, Yang Q, et al. Enantioselective synthesis of trifluoromethylated dihydroquinoxalinones via palladium-catalyzed hydrogenation [J]. *Org Chem Front*, 2019, 6(6): 746-750.
- [24] Xu L Y, Shi L X, Qiu S S, et al. Design, synthesis, and evaluation of cyanopyridines as anti-colorectal cancer agents via inhibiting STAT3 pathway [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2019, 13: 3369-3381.
- [25] Zhuang Y, Bai Y, Hu Y, et al. Rhein sensitizes human colorectal cancer cells to EGFR inhibitors by inhibiting STAT3 pathway [J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 5281-5291.
- [26] Yang L H, Li J F, Xu L Y, et al. Rhein shows potent efficacy against non-small-cell lung cancer through inhibiting the STAT3 pathway [J]. *Cancer Manag Res*, 2019, 11: 1167-1176.
- [27] Yang L H, Yao Y L, Bai Y, et al. Effect of the isoflavone corylin from cullen corylifolium on colorectal cancer growth, by targeting the STAT3 signaling pathway [J]. *Phytomedicine*, 2021, 80: 153366.

【责任编辑 兰新新】