

吲哚衍生物的结构修饰及其抗乳腺癌作用研究进展

方玉秋, 王薪淇, 齐学洁, 段莉莉, 琚 辉*

天津中医药大学中药学院, 天津市中药功效物质研究重点实验室, 天津 301617

摘要: 吲哚是平面杂环分子, 对乳腺癌、肺癌、结肠癌等具有广泛的抗癌活性, 在药物设计中发挥重要作用。从吲哚-3-甲醇及其代谢产物 3, 3'-二吲哚甲烷的结构修饰、吲哚骨架结构修饰、氧化吲哚衍生物及氮杂吲哚衍生物的结构修饰入手, 并综合吲哚衍生物对 Lumina 型乳腺癌、三阴性乳腺癌、人表皮生长因子受体 2 (HER-2) 过表达型乳腺癌的影响, 从细胞水平、乳腺癌相关蛋白、受体、经典通路、体内外药理模型建立以及相关指标的变化等方面对其抗乳腺癌作用进行系统综述, 以为抗乳腺癌新药研发提供依据。

关键词: 吲哚-3-甲醇; 吲哚; 氧化吲哚; 氮杂吲哚; 乳腺癌; 人表皮生长因子受体 2 (HER-2)

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376 (2024) 02-0419-11

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2024.02.024

Research progress on structural modifications of indole derivatives and anti-breast cancer effects

FANG Yuqiu, WANG Xinqi, QI Xuejie, DUAN Lili, JU Hui

School of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin Key Laboratory of Therapeutic Substance of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

Abstract: Indole, a planar heterocyclic molecule, plays an important role in drug design due to its extensive anti-cancer activity against breast cancer, lung cancer and colon cancer. In this paper, the structure modification of indole-3-methanol (I3C) and its metabolite 3, 3'-diindolemethane (DIM), the structure modification of indole skeleton structure, the structure modification of oxidized indole derivatives and azaindole derivatives were studied. In addition, the effects of indole derivatives on Luminal type breast carcinoma, human epidermal growth factor receptor 2 (HER-2) overexpression type breast carcinoma and triple negative breast cancer (TNBC) were summarized. The anti-breast cancer effects of indole derivatives were systematically reviewed from the aspects of cell level, breast cancer-related proteins, receptors, classical pathways, establishment of pharmacological models *in vivo* and *in vitro*, and changes of related indexes, to provide theoretical basis for the research of indole derivatives in the field of anti-breast cancer drug innovation.

Key words: indole-3-methanol; indole; oxindole; azaindole; breast carcinoma; human epidermal growth factor receptor 2 (HER-2)

2020 年世界卫生组织国际癌症研究机构发布的数据显示, 乳腺癌已成为女性发病率最高的癌症, 严重威胁女性的生命健康^[1]。目前公认的乳腺癌分类体系是根据雌激素受体 (ER)、孕激素受体 (PR) 和人表皮生长因子受体 2 (HER-2) 的表达情况, 将乳腺癌分类为 ER 和 (或) PR 阳性 (简称 ER 阳性)、HER-2 阴性、HER-2 阳性以及三阴性乳腺癌 (TNBC)^[2]。ER、PR 和 HER-2 不仅是乳腺癌常见

的评估指标, 也是激素和抗 HER-2 靶向治疗的预后标志物和重要预测因素^[3]。

目前, 乳腺癌的治疗方法以手术为主, 辅以放疗、化疗、内分泌治疗、中医治疗、靶向治疗等多种治疗手段。ER 阳性肿瘤通常对潜在的受体刺激产生反应, 因此可以辅以内分泌治疗方式, 常用的治疗药物有他莫昔芬、来曲唑和依西美坦等; TNBC 以辅助化疗为主; 而 HER-2 阳性乳腺癌则需要结合使

收稿日期: 2023-07-07

基金项目: 天津市教育委员会重点项目 (2022ZD041)

第一作者: 方玉秋, 女, 在读硕士, 主要从事中药抗肿瘤药物的结构修饰研究。E-mail: fyq199112@163.com

*通信作者: 琚 辉, 男, 实验师, 主要从事有机化学实验研究。E-mail: juhui_1@aliyun.com

用抗HER-2治疗药物(如曲妥珠单抗和帕妥珠单抗)以及化疗来提高疗效^[3-4]。然而,多种芳香化酶抑制剂^[5-6]以及抗HER-2靶向治疗药物^[7]具有毒副作用大、耐药及预后差等缺点,严重影响患者的生活质量和身心健康。因此,国内外学者致力于开发新型高效、低毒的抗乳腺癌药物。

吲哚是由六元苯环和五元含氮吡咯环组成的平面杂环分子,又名苯并吡咯(分子结构见图1),广泛存在于动、植物和微生物界,具有毒性低、生物相容性好的特点,在抗癌药物创新领域发挥重要的作用^[8]。以吲哚为先导化合物,采用分子杂交策略、药物设计中的拼合原理和化学合成等方法对吲哚基的不同位置进行结构修饰得到的吲哚衍生物,可以对不同分子分型乳腺癌有显著的抑制作用^[9]。本文系统地探讨吲哚衍生物的结构修饰及其抗乳腺癌药理活性,为进一步研发具有抗乳腺癌作用的吲哚类先导化合物提供理论依据。

1 吲哚衍生物的结构修饰

含氮杂环的衍生物在新药研究中应用前景广

阔,目前市场上美国食品药品监督管理局(FDA)批准的超过75%的新药含有氮杂环,富电子氮杂环不仅容易接受或给予质子,而且容易建立多种弱相互作用使其能够以高亲和力与多种酶和受体结合^[10]。吲哚环中具有含氮杂环,并且也是多种抗癌药物(褪黑素、奥西替尼、阿美替尼)的重要结构片段^[11-12]。基于吲哚结构在多种抗癌药物中的重要作用,研究者们通过对吲哚进行结构修饰以获得更为高效、低毒的新型吲哚化合物(图1)。进行结构修饰位置多以苯环上的单取代、双取代、多取代和(或)吡咯环中氮原子以及C2、C3位置,下文分为吲哚-3-甲醇(I3C)、吲哚骨架、氧化吲哚衍生物、氮杂吲哚衍生物的结构修饰4个方面进行综述。

1.1 吲哚-3-甲醇及其代谢产物的结构修饰

1.1.1 吲哚-3-甲醇的结构修饰 吲哚-3-甲醇是存在于芸苔类蔬菜(卷心菜、西兰花和抱子甘蓝等)中的天然成分,能诱导人乳腺癌细胞周期阻滞。研究显示,吲哚-3-甲醇氮原子上的氢被烷氧基取代或者增加烷氧基碳链长度可以显著增强对人乳腺癌细

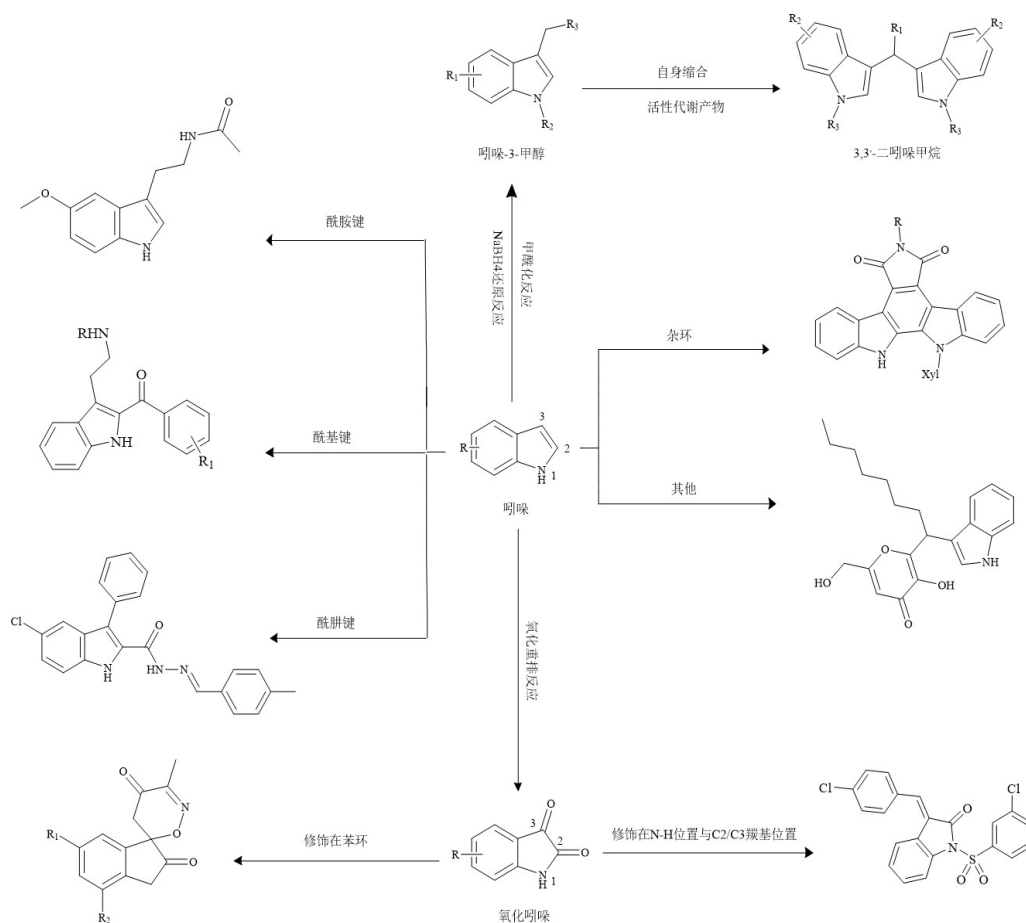


图1 吲哚分子及其结构修饰策略

Fig. 1 Indole molecular and its structural modification strategies

胞抑制作用^[13],而1号位氢被苄基取代的(1-苄基-1*H*-吡啶-3-基)甲醇对人乳腺癌 MCF-7、MDA-MB-231 细胞的抑制作用增强了近1000倍^[14]。

1.1.2 3,3'-二吡啶甲烷的结构修饰 3,3'-二吡啶甲烷是十字花科植物中吡啶-3-甲醇的活性代谢产物,具有很好的抗实体瘤作用^[15-16],其结构修饰主要集中在亚甲基位置或吡啶核的苯环以及吡咯环上。将苄基衍生物引入3,3'-二吡啶甲烷的亚甲基位置得到的双吡啶衍生物可以靶向于核受体^[17-18]和表皮生长因子受体(EGFR)^[19],增强其抗乳腺癌作用。Bhowmik等^[19]在3,3'-二吡啶甲烷吡啶环的2号位引入苄基得到的双吡啶衍生物2,2'-二苄基-3,3'-二吡啶甲烷(**1**)能够靶向EGFR,并通过下调其下游信号转导子和转录激活子3(STAT3)、蛋白激酶B(Akt)和细胞外调节蛋白激酶(ERK)的活性抑制乳腺癌细胞生长。Sunkari等^[20]在3,3'-双吡啶甲烷衍生物的基础上,对咪唑并吡啶环、吡啶环进行修饰得到的衍生物1-(双(5-溴-1*H*-吡啶-3-基)甲基)-3-(3,4-二甲氧基苄基)咪唑并[1,5- α]吡啶(**2**)和1-双(5-甲氧基-1*H*-吡啶-3-基)甲基)-3-(4-氟苄基)咪唑并[1,5- α]吡啶(**3**)对MCF-7细胞系表现出强抗癌活性。Kovvuri等^[21]在3,3'-二吡啶甲烷的亚甲基位置引入 β -咔啉基团,改变苯环和吡啶环上的不同取代基合成的 β -咔啉-双吡啶衍生物对MCF-7细胞系表现出良好的抗增殖活性。Bhale等^[22]以查尔酮结构连接吡啶基团合成的 α -氰基取代双吡啶查尔酮衍生物对MCF-7细胞具有显著的毒性和抗氧化能力。

1.2 吡啶骨架的结构修饰

通过分子杂交策略、药物拼合原理等化学方法以酰胺键、酰基键、酰肼键、杂环等为连接键合成的大量新型吡啶衍生物,能够显著增强抗癌活性。

1.2.1 酰基键 由于酰基键上的羰基可以作为氢键受体,伯/仲酰胺可以作为氢键供体,多种含有酰基键的吡啶衍生物能够通过调控蛋白激酶B/雷帕霉素靶蛋白/核因子- κ B(Akt/mTOR/NF- κ B)、磷脂酰肌醇-3-激酶 α (PI3K α)/EGFR等多种信号通路发挥抗癌作用,因此酰基键是构成许多抗癌药物的重要组成部分结构^[23-24]。

Mohamed等^[25]设计合成的5-氯-3-羟甲基-吡啶-2-甲酰胺衍生物可以作为新型EGFR抑制剂,而且苄乙基尾部的对位取代可能对多种癌症的抗增殖活性有促进意义。吡啶吡嗪衍生物具有广谱抗癌活性,包括对乳腺癌等多种癌细胞系表现出高效的抑制作用而被认为是一类优异的抗肿瘤剂^[26]。Kim

等^[27]合成的1-氧代-1,2,3,4-四氢吡嗪并[1,2- α]吡啶-3-甲酰胺类似物中,(*S*)-2-苄基-*N*-(5-甲基咪唑-2-基)-1-氧代-1,2,3,4-四氢吡嗪并[1,2- α]吡啶-3-甲酰胺(**4**)作为有效的EGFR-酪氨酸激酶(TK)抑制剂,比吉非替尼更有效,而且对MDA-MB-468细胞具有选择性抑制作用。Fantacuzzi等^[28]设计将芳基磺酰胺基团引入吡啶核6号位,并引入芳基环得到的吡啶衍生物中,*N*-(1*H*-吡啶-6-基)-4-甲基苯磺酰胺(**5**)、*N*-(1*H*-吡啶-5-基)-1-苄基甲基磺酰胺(**6**)、*N*-(2-(1*H*-吡啶-5-基)乙基)-1-苄基甲基磺酰胺(**7**)和*N*-(2-(1*H*-吡啶-3-基)乙基)苯磺酰胺(**8**)的半数抑制浓度(IC₅₀)分别为0.49、0.16、0.75、0.20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,能显著影响MCF-7细胞的增殖。由此可见,苯环以及磺酰胺基团能有效抑制芳香化酶的活性。

1.2.2 酰肼键 C2芳酰基吡啶衍生物能显著抑制微管蛋白的聚合,并且芳酰基片段与吡啶的存在对于细胞毒性有重要影响。Chauhan等^[29]分别在吡啶环C2位引入芳酰基得到的*N*-(2-(2-(2-硝基苯甲酰基)-1*H*-吡啶-3-基)乙基)乙酰胺(**9**),引入芳基亚氨基和二酮哌嗪得到的(2-(2-(3,5-双(三氟甲基)苯甲酰基)-1*H*-吡啶-3-基)乙基)氨基甲酸甲酯(**10**),均能有效对抗微管蛋白聚合并抑制多种癌细胞系增殖。Chen等^[30]在吡啶环C2位引入芳酰基、C3位引入3,4,5-三甲氧基苄基得到的3-氨基吡啶衍生物表现出显著的抗癌和抗微管蛋白作用,*N*-(6-氯-2-(4-氯苯甲酰基)-1*H*-吡啶-3-基)-3,4,5-三甲氧基苯甲酰胺(**11**)对T47D和MDA-MB-231细胞株的IC₅₀值分别为0.04、6.43 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

1.2.3 酰肼键与腙键 通过在吡啶基与其他基团间使用酰肼键(-CO-NH-NH₂)与腙键(-CH=N-NH₂)连接得到的吡啶衍生物具有广泛的抗肿瘤作用,多种新型吡啶酰肼衍生物和双吡啶酰肼-腙衍生物表现出强细胞毒性和显著的抗癌活性^[31-34]。

Eldehna等^[35]将吡啶与氧吡啶环(或者碳环四氮杂环)以酰肼线性连接得到的双吡啶衍生物显示较强的抗癌作用,若氧吡啶部分被*N*-烷基(烯丙基、正丙基、异丁基)和*N*-苄基取代,再在C-5上引入氟原子或硝基能显著提高其抗增殖活性,其中2-(1*H*-吡啶-3-基)-*N*-(5-硝基-2-氧吡啶-3-亚基)乙酰胺(**12**)和*N*-(1-烯丙基-2-氧吡啶-3-亚基)-2-(1*H*-吡啶-3-基)乙酰胺(**13**)对MCF-7细胞的IC₅₀值分别为(0.44 $\pm$ 0.01)、(1.28 $\pm$ 0.04) $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,具有极好的抗乳腺癌作用。Kazan等^[36]合成的*N*'-[4-(三氟甲基)苄基]亚甲基]-5-氯-3-苄基1*H*-吡啶-2-碳酰

肼(14)和 N' -(4-氰基苯基)亚甲基]-5-氯-3-苯基-1*H*-吡啶-2-碳酰肼(15)在极低浓度下能有效抑制MCF-7细胞的生长。Ozcan-Sezer等^[37]合成的系列2-甲基吡啶衍生物对芳香化酶表现出强抑制能力。

1.2.4 杂环 吡啶衍生物的杂环连接键是药物化学中的重要修饰手段,为新型抗癌药物的发现和设计提供创新思路。在吡啶环的不同位置与其他基团如噻二唑^[38-39]、噻二唑^[40]、吡嗪^[41]、吡啶^[42]等以五元或六元杂环为连接键合成的吡啶衍生物能强烈抑制多种肿瘤细胞系的增殖。

依据吡啶咪唑类糖苷的抗肿瘤作用,Kalitin等^[43]合成的吡啶[2,3- α]吡咯[3,4- c]咪唑衍生物能抑制不同转移性肿瘤生长,促使多种癌症导致的细胞周期停滞,从而诱导癌细胞凋亡。O'Dea等^[44]设计将吡啶与噻唑以酰胺键连接合成吡啶噻唑衍生物,然后在噻唑环上进行苄基取代得到3-氯- N -(5-(2,4-二氟苯基)噻唑-2-基)-1*H*-吡啶-甲酰胺(16)的化合物对G蛋白偶联雌激素受体(GPER)具有高选择性(超过雌激素受体 α 和 β),其机制是通过激活G蛋白偶联雌激素受体抑制乳腺癌细胞生长,并且吡啶取代和有苄基取代均影响化合物的GPER活性。Yu等^[45]设计在吡啶C3位引入[1,2,4]三唑并[1,5- α]嘧啶结构,而此结构是一类重要的双环*N*-杂芳烃,具有很好抗癌活性^[46],利用分子杂交方法合成的[1,2,4]三唑并[1,5- α]嘧啶吡啶衍生物对多种癌细胞表现出较强的抗肿瘤活性。

1.2.5 其他 其他连接键如形成糖苷类化合物、噻烷酮衍生物等也能增强吡啶衍生物的抗癌作用。Kumari等^[47]合成的吡啶啉和异噻啉桥联吡啶-*C*-糖苷分子杂化物,其中(2*S*,3*R*,4*R*,5*R*,6*R*)-2-((5-(1*H*-吡啶-3-基)-4,5-二氢-1*H*-吡啶-3-基)甲基)-6-(羟基-甲基)四氢-2*H*-吡喃-3,4,5-三醇(17)、(2*R*,3*S*,4*R*,5*R*,6*S*)-2-(羟基-甲基)-6-((5-(5-硝基-1*H*-吡啶-3-基)异恶唑-3-基)甲基)四氢-2*H*-吡喃-3,4,5-三醇(18)、(2*S*,3*R*,4*R*,5*R*,6*R*)-2-((5-(1*H*-吡啶-3-基)异恶唑-3-基)甲基)-6-(羟基-甲基)四氢-2*H*-吡喃-3,4,5-三醇(19)对乳腺癌细胞系(MCF-7)显示出低浓度($IC_{50}=4.67\sim 0.67\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)和选择毒性,而且这些化合物对正常细胞系(MCF-10A)无毒性。Kryshchysyn-Dylevych等^[48]合成的吡啶-噻烷酮衍生物,对多种癌细胞系均有较好的细胞毒性作用。Hu等^[49]通过在吡啶环C3位引入具有哌嗪环的氨基嘧啶得到的衍生物对A549、MDA-MB231和MCF-7癌细胞系具有广谱的抗癌作用,而且吡啶C2位上有

芳杂环取代、C6位上的氯原子均可以增强其抗癌活性。

1.3 氧化吡啶衍生物的结构修饰

氧化吡啶衍生物是具有特殊结构和生物活性的化合物,在癌症治疗药物设计合成中具有广泛的应用,对其不同位置进行功能化或衍生化得到的氧化吡啶衍生物因为具有多靶点的抗肿瘤作用而备受瞩目^[50-52]。大量研究表明,氧化吡啶衍生物的结构修饰主要是在苯环的单取代、双取代和多取代,和(或)氮原子以及C2/C3羰基位置。Wang等^[53]研究发现,在氧化吡啶氮原子上引入苯磺酰氯基团比苯甲酰氯基团具有更好的抗癌作用,并且苯磺酰基的苯环3号位具有吸电子基团如-Cl、-F、-Br、-CF₃、-NO₂等可以增加其对酶的亲和力,其中(*E*)-3-(3-氯亚苄基)-1-((3-氯苯基)磺酰基)二氢吡啶-2-酮(20)对MCF-7细胞的抗肿瘤作用最为显著。Maadwar等^[54]在C3羰基引入多取代苯酚,并且含卤素(4位氯代和5位溴代)和烷基(5位甲基和1位烯丙基)的氧化吡啶衍生物对MCF-7细胞系具有相对较高的细胞毒性。Singh等^[55]设计合成的吗啉化靛红-喹啉杂合物对激素阳性MCF-7细胞有强抑制作用,其中吗啉和靛红之间的两个碳链长度以及5号位的氟取代衍生物(*Z*)-3-[2-(7-氯喹啉-4-基)胺基]-5-氟-1-(2-吗啉乙基)二氢吡啶-2-酮(21)能完全阻断雌激素受体 α ,对雌激素受体阳性乳腺癌具有更高的选择性。代表性吡啶衍生物的结构见图2。

1.4 氮杂吡啶衍生物的结构修饰

近年来,以氮杂吡啶衍生物作为抗癌核心的结构设计受到国内外学者的广泛关注。氮杂吡啶骨架是由吡啶环并吡咯环组成的稠杂环体系,也是吡啶环、嘌呤的生物电子等排体,氮杂吡啶有4-、5-、6-、7-这4种位置异构,可以开发为抗癌药物的前体^[56]。Yang等^[57]设计改变7-氮杂吡啶3-位上的基团合成一系列磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)抑制剂,发现在C3位修饰亲水基团能极大地增强PI3K结合亲和力,从而具有良好抗乳腺癌细胞增殖活性。Sagam等^[58]通过药效团杂交方法将4-氮杂吡啶与1,2,4-噻二唑结合形成4-氮杂吡啶衍生物,其中苯环上带有给电子基团的化合物5-(3,5-二甲氧基苯基)-3-(1*H*-吡咯[3,2-*b*]吡啶-3-基)-1,2,4-噻二唑(24)和5-(3,5-硝基苯基)-3-(1*H*-吡咯[3,2-*b*]吡啶-3-基)-1,2,4-噻二唑(25)对MCF-7细胞系表现出明显的抗癌活性。Zhan等^[59]以7-氮杂吡啶为母核,通过电子效应原理,选择电子云密度较强的吡啶、噻啶

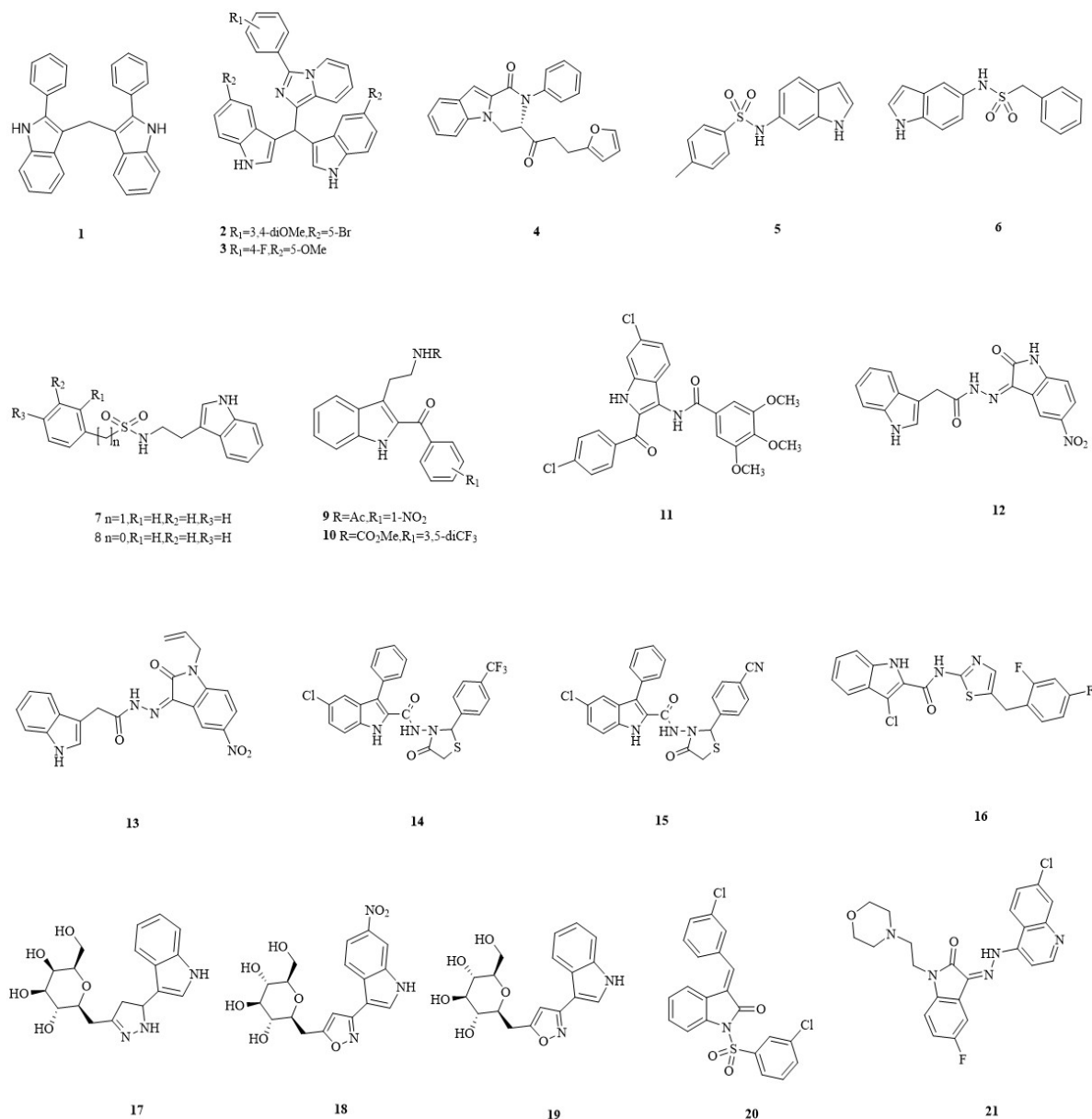


图2 代表性吲哚衍生物的结构

Fig. 2 Representative compounds of indole derivatives with different functional modifications

和吡嗪作为修饰基团设计的7-氮杂吲哚结构类似物中,嘧啶环修饰7-氮杂吲哚化合物对多种癌症表现出潜在的细胞毒性。氮杂吲哚衍生物代表结构见图3。

2 吲哚衍生物的抗乳腺癌药理作用

吲哚衍生物对Lumina型乳腺癌、三阴性乳腺癌、人表皮生长因子受体2 (HER-2) 过表达型乳腺癌细胞均有抗癌活性。

2.1 Lumina型乳腺癌细胞

Lumina型乳腺癌表现为ER阳性和HER-2阴性,临床上针对患者表现为激素受体阳性特点,主要采取内分泌治疗,药效学研究常使用MCF-7细胞

系进行评价^[60-61]。

有研究通过模拟技术设计和预测一系列新的2-苯基吲哚衍生物,对MCF-7细胞是否具有良好细胞毒性($IC_{50} < 55 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$),结果表明2-苯基吲哚衍生物可以靶向雌激素敏感性乳腺癌^[62-63]。Prior等^[64]设计合成的一系列2-芳基吲哚衍生物可以通过抑制芳香化酶活性表现出显著的抗乳腺癌作用。Singh等^[55]以他莫昔芬和白花丹素为对照药,以浓度为 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的系列异黄酮-喹啉化合物处理MCF-7细胞,结果发现化合物Z-3-[2-(7-氯喹啉-4-基)胺基]-5-氟-1-(2-吗啉代乙基)二氢吲哚-2-酮的体外抑制肿瘤细胞生长的半数有效浓度(GI_{50})值为

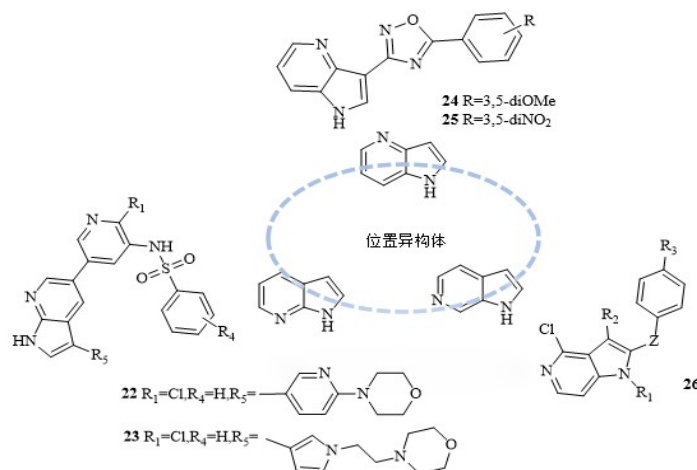


图3 氮杂吲哚的位置异构体衍生物
Fig. 3 Position isomer derivatives of azaindole

$4.36 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 细胞在 G_2/M 期累积 50.1%, 在 G_0/G_1 期和 S 期累积与对照相比有所减少, 表明该化合物能诱导 G_2/M 期有丝分裂停滞, 并将细胞阻滞在 G_2/M 期, 最终导致细胞死亡。

Pingaew 等^[65]设计 34 种含吲哚的磺胺类化合物, 以酮康唑和来曲唑作为阳性对照药, 发现所有化合物的 IC_{50} 值在 $0.7\sim 15.3 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 且 N,N' -((2, 2'-((4-羟基苯基(亚甲基)双(1*H*-吲哚-3, 2-二基))双(乙烷-2, 1-二基))双(4-甲氧基苯磺酰胺))的 IC_{50} 为 $0.7 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 对芳香化酶的抑制活性优于酮康唑($IC_{50}=2.6 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 而不影响正常细胞。

Bębenek 等^[66]设计合成一系列新的 3-吲哚基梓木醇衍生物, 以顺铂为对照药, 以 $0, 1, 5, 10, 25, 50, 100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度梯度评价 MCF-7 细胞的生存活力, 其中 28-羟基-羽扇豆烷型-20(29)-烯-3-基-2-(1*H*-吲哚-3-基)醋酸酯对细胞生存活力的抑制最好($IC_{50}=35 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$); 以 $25, 50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 化合物处理细胞 72 h, 荧光细胞计数器以及共聚焦显微镜分析乳腺癌细胞的增殖率和存活率, 与对照组相比, 该化合物在 $25 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时的细胞增殖率为 55%~57%, 表明该化合物对 MCF-7 细胞具有高选择性, 能够有效抑制癌细胞增殖。

2.2 HER-2 过表达型乳腺癌细胞

HER-2 基因是位于人体 17 号染色体长臂上的原癌基因, 属于具有酪氨酸蛋白激酶活性的 *HER* 家族, 可激活多种途径使细胞出现增殖和凋亡, 以及肿瘤细胞的转移, *HER-2* 的过表达使乳腺癌细胞易复发和转移, 从而导致患者死亡^[67]。*HER-2* 过表达型乳腺癌的治疗方式常使用靶向治疗, 曲妥珠单抗

是普遍的靶向治疗药物^[68]。人乳腺癌 SK-BR-3 细胞系是 *HER-2* 过表达型乳腺癌研究中常用的细胞系。

Nguyen 等^[69]合成吲哚基苯磺酰胺衍生物在有 CoCl_2 的情况下, 以 $10, 100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的浓度处理 SK-BR-3 与 MCF-7 细胞 48 h, 其中 *N*-(4-磺胺酰基苯基)-1*H*-吲哚-5-氨基甲酰胺和 *N*-(1*H*-吲哚-5-酰基)-4-磺胺酰基苯酰胺对细胞的敏感性更高, 能够抑制超过 50% 乳腺癌细胞活力; 在 CoCl_2 条件下, 用 $1, 3, 10, 30, 100, 300 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 化合物处理 SK-BR-3 与 MCF-7 细胞 48 h 评价细胞活力, 与对照组 (SLC-0111, 靶向碳酸酐酶的抑制剂) 相比, 2 种化合物对 SK-BR-3 与 MCF-7 细胞的细胞毒作用呈浓度相关, 并表现出更好的选择性抑制作用。将 MCF-7 和 SK-BR-3 细胞暴露于溶剂或 CoCl_2 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 中, 检测细胞中碳酸酐酶 I、II、IX 和 XII (CA I、II、IX 和 XII) 亚型的蛋白表达, 结果显示与常氧条件对比, CoCl_2 诱导的低氧条件下, 化合物能上调两种细胞内 CA IX 亚型表达, CA I、II 和 XII 的蛋白水平没有显著改变氯化钴治疗。存在或不存在 CoCl_2 的情况下, 用 $50, 100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 化合物处理细胞 48 h 评价对 MCF-7 和 SK-BR-3 细胞中 CA IX 表达的影响; 用 CA IX 的小干扰 RNA (siRNA) 转染细胞, 均使用 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的化合物处理 MCF-7 和 SK-BR-3 细胞 48 h, 结果显示此类化合物能明显抑制 CoCl_2 诱导的 2 种细胞内 CA IX 亚型的表达; 敲低 CA IX、CA II、CA XII 同种型后, CA IX 敲低后, MCF-7 和 SK-BR-3 细胞的活力显著降低 30%~40%, 且发现 CA II、CA XII 同种型的敲除不影响这 2 类化合物诱导的细胞毒性, 表明

CA IX在肿瘤细胞存活中有重要作用。

Kim等^[70]研究4-[4-[1-[S(R)]-S-甲基亚胺磺酰基]环丙基]-6-[(3R)-3-甲基-4-吗啉基]-2-嘧啶基]-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶(AZD6738)作为共济失调毛细血管扩张突变基因Rad3相关激酶(ATR)抑制剂对HER-2阳性乳腺癌细胞系SK-BR-3的抗肿瘤作用,0.125、0.25、0.5、1.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的AZD6738、或联合顺铂0、0.1、1.0、10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 或紫杉醇0、0.1、0.5、1.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理肿瘤细胞5 d评价细胞活力。结果发现AZD6738的 IC_{50} 值为 $(0.59\pm0.08)\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,S期细胞周期阻滞水平以浓度相关方式增加,而且多聚腺苷二磷酸核糖聚合酶(PARP)裂解,导致细胞周期蛋白E(Cyclin E)水平下调,膜联蛋白V阳性细胞细胞凋亡的百分率显著增加,细胞增殖信号p-AKT和p-ERK表达下降,DNA损伤的指标 $\gamma\text{-H2AX}$ 呈浓度相关性增加,DDR(DNA损伤修复)分子表达下降,S345处的细胞周期检查点激酶1(CHK1)磷酸化降低,诱导激素受体(HR)失活。表明AZD6738的作用机制可能是诱导S期阻滞水平增加和凋亡,降低CHK1磷酸化和其他修复标志物的表达水平,从而诱导HR失活导致DNA损伤累积发挥积极的抗乳腺癌作用。

2.3 TNBC

TNBC是指激素受体与HER-2受体均为阴性,主要通过手术辅以化疗和靶向治疗,具有侵袭性强、复发率高、预后差,靶点不明确等缺点,限制了TNBC的治疗^[71]。人乳腺癌MDA-MB-231细胞系是TNBC研究中常用的细胞系。

Chakraborty等^[72]合成了[3,3'-(4-羟基苯基亚甲基)双-(7-甲基-1*H*-吡啶)],体外实验中以0~100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 化合物与对照物初筛,使用最佳浓度10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理MDA-MB-231乳腺癌细胞24 h,与3,3'-二吡啶甲烷(20%)相比诱导细胞死亡近50%。深入研究此化合物对TNBC细胞凋亡、细胞周期和抗有丝分裂及细胞迁移的分子机制,发现线粒体膜电位升高,细胞色素C(Cyt C)表达增加,半胱天冬酶(Caspase)-8、Caspase-9、Caspase-3裂解,导致PARP裂解,当用1、5、10、15 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 化合物处理MDA-MB-231细胞,发现浓度为5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 能诱导细胞产生高水平的活性氧(ROS),表明化合物通过线粒体途径兼并ROS产生途径诱导细胞凋亡;而且化合物以浓度相关方式将MDA-MB-231细胞累积在G₂/M期,约50%的细胞阻滞累积率,Cyclin A1、周期蛋白依赖性激酶(CDK)蛋白表达水平降低、

P53基因下游的细胞周期依赖性激酶抑制因子p21表达水平增加,化合物在TNBC中具有良好的抗有丝分裂作用;用1、2.5、5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 化合物处理MDA-MB-231细胞,随着浓度增高癌细胞迁移数量减少,粘着斑激酶(pFAK)表达显著降低,表现出很好的抗迁移特性;I型内质网膜蛋白(STIM 1)表达下降,抑制钙池操纵性钙内流(SOCE)激活,促凋亡蛋白(Bax)/抗凋亡蛋白(Bcl)比值增加。因此,化合物可能是以浓度相关方式将MDA-MB-231细胞累积在G₂/M期,诱导ROS产生并激活线粒体,同时靶向STIM 1介导的SOCE抑制,激活ER应激以诱导细胞凋亡,并在控制细胞周期进程和抑制细胞迁移中起重要作用。在体内药效学实验中,将4T1乳腺癌细胞注射到雌性BALB/c小鼠乳房脂肪垫形成实体瘤,然后每隔1 d(共14 d)ip 10、15 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的化合物,体外实验中的抑制活性均得到证实。

Xu等^[73]研究5-(呋喃-2-甲酰胺基)-*N*-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)苄基)-1-(4-(三氟甲基)苄基)-1*H*-吡啶-2-甲酰胺对TNBC细胞生长、集落形成和迁移的影响,体外实验以5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 紫杉醇为阳性对照药,以0.5、0.75、1.0、1.25、2.5、5、10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度的化合物处理MDA-MB-231细胞,溶剂对照(DMSO,1 μL)处理24 h检测细胞生存活力;使用1.25、2.5、5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 化合物处理MDA-MB-231细胞24 h评价细胞凋亡,16 h时评价细胞周期;使用0.63、1.25、2.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 化合物处理细胞24 h评价细胞迁移活性。结果表明该化合物以浓度相关方式降低TNBC细胞的活力, $\text{IC}_{50}=(1.22\pm0.10)\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,引起细胞在G₂/M期的积累,并且与对照组相比,浓度为2.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时抑制MDA-MB-231细胞迁移率为 $26.62\%\pm6.41\%$,细胞周期相关蛋白双微体同源基因2(MDM-2)、细胞周期蛋白依赖性激酶1/细胞分裂周期蛋白2(CDC 2)、Cyclin B1均下降;细胞凋亡相关蛋白Akt、mTOR、S6核糖体蛋白(S6 RP)的磷酸化水平下降、NF- κB 水平下降,Bax/Bcl-2值增加。因此,该化合物可使MDA-MB-231细胞周期阻滞于G₂/M期,并诱导细胞凋亡,可能是通过抑制Akt/mTOR/NF- κB 信号通路诱导细胞周期阻滞和凋亡。体内实验以 5×10^6 个MDA-MB-231细胞在0.1 mL基质胶/PBS(1:1)中sc到小鼠右侧腹造模,肿瘤体积长至140~160 mm^3 时用5、10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的化合物给药12 d,每天1次,这些抑制活性在体内实验中均得到证实。

颜亮等^[74]合成的1-甲基-4-硝基-4'-二螺苯基-[二氢吡啶-3,2'-四氢吡咯-3',3"-二氢吡啶]-2,2"-二

酮(DIPRD),以质量浓度为0.001、0.01、0.1、1、10、100、1 000 mg·mL⁻¹化合物处理MDA-MB231细胞24 h,发现以浓度相关方式抑制细胞活力,IC₅₀值为16.12 mg·mL⁻¹;以12.5、25、50 mg·mL⁻¹化合物及10 μmol·L⁻¹ Akt激酶特异性抑制剂LY294002处理MDA-MB-231细胞16 h,结果显示与对照药物一致,G₁期细胞数量增加,G₂/S期细胞数量减少,均将细胞周期抑制在G₁期,并且随着化合物浓度升高癌细胞的凋亡率也随之增加;以12.5、25、50 mg·mL⁻¹化合物处理MDA-MB-231细胞2 h评价Akt/mTOR信号及泛素连接酶拮抗剂(MDM2)/p53活性,发现随着化合物浓度增加mTOR和Akt(S473)的磷酸化水平降低,MDM2磷酸化升高,MDM2依赖性的抑癌基因p53磷酸化水平降低,PARP表达增多,Cyclin D1和CDK4表达水平下降,表明化合物呈浓度相关方式抑制MDA-MB231细胞活力,并通过抑制AKT-mTOR阻滞细胞周期以达到抗乳腺癌作用。

Guerra等^[75]发现新型2-氨基-2-甲基-1-(甲基-5'-脱氧-2',3'-O-异丙基-β-D-甲基呋喃糖苷-5'-基)-4,9-二氧代-4,9-二氢-1H-苯并[f]吡啶-3-羧酸乙酯,与未经处理组对比,以10、30 μmol·L⁻¹化合物处理MDA-MB-231细胞评价细胞凋亡情况,结果表明在10 μmol·L⁻¹时细胞早期凋亡35.4%、晚期凋亡21%,Bax/Bcl-2值、ROS水平、Caspase-9和Caspase-3裂解水平均增加,说明该化合物可以通过增加ROS水平激活Caspase途径诱导细胞凋亡,引起DNA损伤并诱导G₂/M细胞周期阻滞从而诱导TNBC细胞凋亡。

3 结语

近些年,已经报道了大量含有吡啶核的药物分子,既有从天然产物中获得的,也有通过化学合成的,可用于治疗各种癌症。本文从乳腺癌的角度总结了吡啶衍生物的化学结构修饰方法、结合位点及其抗癌作用。大量研究表明,研究者主要通过分子杂交策略、药物拼合原理等化学方法,在吡啶骨架上以酰胺键、酰基键、酰肼键和杂环连接键等形式引入多种药效基团,构建各种类型的吡啶衍生物。而且吡啶衍生物结构修饰的结合位点主要集中在苯环的单取代、双取代、多取代和(或)氮原子以及C2、C3位置。除此以外,3,3'-二吡啶甲烷在亚甲基位置或吡啶核上进行功能化修饰、氧化吡啶衍生物在N-H和C2/C3羰基位置的衍生化兼芳环取代、与其他具有生物活性的药效片段结合等也能获得具有多靶点抗乳腺癌作用的新型吡啶衍生物。氮杂吡啶不仅保留了吡啶的基本结构,并且其4-、5-、

6-、7-位置异构也表现出良好的抗肿瘤作用,因此可作為抗癌药物的前体化合物。

随着研究的不断深入,计算机辅助药物设计为抗肿瘤药物的设计和合成提供新的思路和方法,对于加快药物研发进程,提高药物研发效率具有重要的指导意义。关于吡啶衍生物的进一步研究可以从乳腺癌结合位点、靶向作用机制和化学合成等方面入手,进一步提高吡啶衍生物的抗癌有效性和靶向性,为新型抗乳腺癌药物的研发提供新的思路和方法。

针对芳香化酶、雌激素受体、微管蛋白、Akt/mTOR/NF-κB、细胞周期相关蛋白、细胞增殖与凋亡相关蛋白以及DNA损伤等靶点,研究者们设计合成含有吡啶结构的先导化合物和前体药物,在体外药效研究表现出靶向性、选择性、强生物学活性和高安全性等优点,对Lumina型、HER-2过表达型以及TNBC表现出良好的作用效果。然而,这些先导化合物和前体药物的活性测试仅停留在体外细胞水平,作用机制大多停留在分子对接水平,活性化合物与受体之间的具体结合位点尚不明确,缺乏动物在体研究、化合物的毒性和不良反应研究数据。希望在不久的将来,能够进一步加强和完善体内药效学评价体系,建立抗肿瘤药物体内、外实验研究评价平台,为抗肿瘤药物的新药研发提供基础研究支撑。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] Prat A, Pineda E, Adamo B, et al. Clinical implications of the intrinsic molecular subtypes of breast cancer [J]. Breast, 2015, 24: S26-S35.
- [3] Tsang J Y S, Tse G M. Molecular classification of breast cancer [J]. Adv Anat Pathol, 2020, 27(1): 27-35.
- [4] Wynn C S, Tang S C. Anti-HER2 therapy in metastatic breast cancer: Many choices and future directions [J]. Cancer Metastasis Rev, 2022, 41(1): 193-209.
- [5] Hyder T, Marino C C, Ahmad S, et al. Aromatase inhibitor-associated musculoskeletal syndrome: Understanding mechanisms and management [J]. Front Endocrinol, 2021, 12: 713700.
- [6] Yang G, Newshean S, Aziz K, et al. Toxicity and adverse effects of Tamoxifen and other anti-estrogen drugs [J]. Pharmacol Ther, 2013, 139(3): 392-404.

- [7] Kunte S, Abraham J, Montero A J. Novel HER2-targeted therapies for HER2-positive metastatic breast cancer [J]. *Cancer*, 2020, 126(19): 4278-4288.
- [8] Dadashpour S, Emami S. Indole in the target-based design of anticancer agents: A versatile scaffold with diverse mechanisms [J]. *Eur J Med Chem*, 2018, 150: 9-29.
- [9] Karadayi F Z, Yaman M, Kisla M M, et al. Design, synthesis and anticancer/antiestrogenic activities of novel indole-benzimidazoles [J]. *Bioorg Chem*, 2020, 100: 103929.
- [10] Kerru N, Gummidi L, Maddila S, et al. A review on recent advances in nitrogen-containing molecules and their biological applications [J]. *Molecules*, 2020, 25(8): 1909.
- [11] Knowler K C, To S Q, Takagi K, et al. Melatonin suppresses aromatase expression and activity in breast cancer associated fibroblasts [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2012, 132(2): 765-771.
- [12] 侯举, 孙吉, 邓轩宇, 等. 阿美替尼在表皮生长因子受体突变阳性非小细胞肺癌中的应用 [J]. *中南药学*, 2022, 20(8): 1856-1860.
Hou J, Sun J, Deng X Y, et al. Application of aumolertinib for epidermal growth factor receptor mutation positive non-small cell lung cancer [J]. *Central South Pharm*, 2022, 20(8): 1856-1860.
- [13] Caruso J A, Campana R, Wei C, et al. Indole-3-carbinol and its *N*-alkoxy derivatives preferentially target ER α -positive breast cancer cells [J]. *Cell Cycle*, 2014, 13(16): 2587-2599.
- [14] Nguyen H H, Lavrenov S N, Sundar S N, et al. 1-Benzyl-indole-3-carbinol is a novel indole-3-carbinol derivative with significantly enhanced potency of anti-proliferative and anti-estrogenic properties in human breast cancer cells [J]. *Chemico-Biol Interact*, 2010, 186: 255-266.
- [15] Thomson C A, Ho E, Strom M B. Chemopreventive properties of 3, 3'-diindolylmethane in breast cancer: evidence from experimental and human studies [J]. *Nutr Rev*, 2016, 74: 432-443.
- [16] Hong C, Firestone G L, Bjeldanes L F. Bcl-2 family-mediated apoptotic effects of 3, 3'-diindolylmethane (DIM) in human breast cancer cells [J]. *Biochem Pharmacol*, 2002, 63(6): 1085-1097.
- [17] Hedrick E, Lee S O, Doddapaneni R, et al. Nuclear receptor 4A1 as a drug target for breast cancer chemotherapy [J]. *Endocr Relat Cancer*, 2015, 22(5): 831-840.
- [18] Hedrick E, Li X, Cheng Y T, et al. Potent inhibition of breast cancer by bis-indole-derived nuclear receptor 4A1 (NR4A1) antagonists [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2019, 177(1): 9-40.
- [19] Bhowmik A, Das N, Pal U, et al. 2, 2'-diphenyl-3, 3'-diindolylmethane: A potent compound induces apoptosis in breast cancer cells by inhibiting EGFR pathway [J]. *PLoS One*, 2013, 8(3): e59798.
- [20] Sunkari S, Bonam S R, Rao A V S, et al. Synthesis and biological evaluation of new bisindole-imidazopyridine hybrids as apoptosis inducers [J]. *Bioorg Chem*, 2019, 87: 484-494.
- [21] Kovvuri J, Nagaraju B, Nayak V L, et al. Design, synthesis and biological evaluation of new β -carboline-bisindole compounds as DNA binding, photocleavage agents and topoisomerase I inhibitors [J]. *Eur J Med Chem*, 2018, 143: 1563-1577.
- [22] Bhale P S, Chavan H V, Endait R S, et al. Synthesis and biological evaluation of indolyl bis-chalcones as anti-breast cancer and antioxidant agents [J]. *Croatica Chem Acta*, 2021, 94(1): 35-41.
- [23] 梅以成, 杨宝卫. 酰胺电子等排体在先导化合物优化中的应用 [J]. *化学进展*, 2016, 28(9): 1406-1416.
Mei Y C, Yang B W. Application of amide bioisosteres in the optimization of lead compound [J]. *Progr Chem*, 2016, 28(9): 1406-1416.
- [24] Sweidan K, Sabbah D A, Bardaweel S, et al. Computer-aided design, synthesis, and biological evaluation of new indole-2-carboxamide derivatives as PI3K α /EGFR inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2016, 26(11): 2685-2690.
- [25] Mohamed F A M, Gomaa H A M, Hendawy O M, et al. Design, synthesis, and biological evaluation of novel EGFR inhibitors containing 5-chloro-3-hydroxymethyl-indole-2-carboxamide scaffold with apoptotic antiproliferative activity [J]. *Bioorg Chem*, 2021, 112: 104960.
- [26] Yabuki M, Yoshimatsu M, Kosugi Y, et al. Design, synthesis, and biological activities of novel hexahydropyrazino [1, 2-a] indole derivatives as potent inhibitors of apoptosis (IAP) proteins antagonists with improved membrane permeability across MDR1 expressing cells [J]. *Bioorg Med Chem*, 2013, 21(24): 7938-7954.
- [27] Kim Y J, Pyo J S, Jung Y S, et al. Design, synthesis, and biological evaluation of novel 1-oxo-1, 2, 3, 4-tetrahydropyrazino [1, 2-a] indole-3-carboxamide analogs in MCF-7 and MDA-MB-468 breast cancer cell lines [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2017, 27(3): 607-611.
- [28] Fantacuzzi M, De Filippis B, Gallorini M, et al. Synthesis, biological evaluation, and docking study of indole aryl sulfonamides as aromatase inhibitors [J]. *Eur J Med Chem*, 2020, 185: 111815.
- [29] Chauhan J, Dasgupta M, Luthra T, et al. Design, synthesis and biological evaluation of a novel library of antimitotic C₂-aryl/arylimino tryptamine derivatives that are also potent inhibitors of indoleamine-2, 3-dioxygenase (IDO) [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2018, 124: 249-265.
- [30] Chen P, Zhuang Y X, Diao P C, et al. Synthesis, biological evaluation, and molecular docking investigation of 3-amidoindoles as potent tubulin

- polymerization inhibitors [J]. Eur J Med Chem, 2019, 162: 525-533.
- [31] Iraj A, Sheikhi N, Attaroshan M, et al. Design, synthesis, spectroscopic characterization, *in vitro* tyrosinase inhibition, antioxidant evaluation, in silico and kinetic studies of substituted indole-carbohydrazides [J]. Bioorg Chem, 2022, 129: 106140.
- [32] Chen X, Guo L, Ma Q, et al. Design, synthesis, and biological evaluation of novel *N*-acylhydrazone bond linked heterobivalent β -carboline as potential anticancer agents [J]. Molecules, 2019, 24(16): 2950.
- [33] Sreenivasulu R, Reddy K T, Sujitha P, et al. Synthesis, antiproliferative and apoptosis induction potential activities of novel bis(indolyl)hydrazide-hydrazone derivatives [J]. Bioorg Med Chem, 2019, 27(6): 1043-1055.
- [34] Tantak M P, Klingler L, Arun V, et al. Design and synthesis of bis(indolyl)ketohydrazide-hydrazones: Identification of potent and selective novel tubulin inhibitors [J]. Eur J Med Chem, 2017, 136: 184-194.
- [35] Eldehna W M, Hassan G S, Al-Rashood S T, et al. Marine-Inspired bis-indoles possessing antiproliferative activity against breast cancer; design, synthesis, and biological evaluation [J]. Mar Drugs, 2020, 18(4): 190.
- [36] Kazan F, Yagci Z B, Bai R, et al. Synthesis and biological evaluation of indole-2-carbohydrazides and thiazolidinyl-indole-2-carboxamides as potent tubulin polymerization inhibitors [J]. Comput Biol Chem, 2019, 80: 512-523.
- [37] Ozcan-Sezer S, Ince E, Akdemir A, et al. Aromatase inhibition by 2-methyl indole hydrazone derivatives evaluated via molecular docking and *in vitro* activity studies [J]. Xenobiotica, 2019, 49(5): 549-556.
- [38] Sreenivasulu R, Tej M B, Jadav S S, et al. Synthesis, anticancer evaluation and molecular docking studies of 2, 5-bis (indolyl)-1,3,4-oxadiazoles, nortopsentin analogues [J]. J Mol Struc, 2020, doi: 10.1016/j.molstruc.2020.127875.
- [39] Retracted: Bisindole-oxadiazole hybrids, T3P mediated[®]-synthesis and appraisal of their apoptotic, antimetastatic and computational Bcl-2 binding potential [J]. J Biochem Mol Toxicol, 2018, 32(11): e22212.
- [40] Kamath P R, Sunil D, Joseph M M, et al. Indole-coumarin-thiadiazole hybrids: An appraisal of their MCF-7 cell growth inhibition, apoptotic, antimetastatic and computational Bcl-2 binding potential [J]. Eur J Med Chem, 2017, 136: 442-451.
- [41] Al-Wahaibi L H, Gouda A M, Abou-Ghadir O F, et al. Design and synthesis of novel 2,3-dihydropyrazino [1,2-*a*] indole-1, 4-dione derivatives as antiproliferative EGFR and BRAF^{V600E} dual inhibitors [J]. Bioorg Chem, 2020, 104: 104260.
- [42] Wu C J, Wu J Q, Hu Y, et al. Design, synthesis and biological evaluation of indole-based [1,2,4] triazolo [4,3-*a*] pyridine derivatives as novel microtubule polymerization inhibitors [J]. Eur J Med Chem, 2021, 223: 113629.
- [43] Kalitin N N, Ektova L V, Kostitsa N S, et al. A novel glycosylated indolocarbazole derivative LCS1269 effectively inhibits growth of human cancer cells *in vitro* and *in vivo* through driving of both apoptosis and senescence by inducing of DNA damage and modulating of AKT/mTOR/S6K and ERK pathways [J]. Chem Biol Interact, 2022, 364: 110056.
- [44] O'Dea A, Sondergard C, Sweeney P, et al. A series of indole-thiazole derivatives act as GPER agonists and inhibit breast cancer cell growth [J]. ACS Med Chem Lett, 2018, 9(9): 901-906.
- [45] Yu G X, Hu Y, Zhang W X, et al. Design, synthesis and biological evaluation of [1, 2, 4] triazolo [1, 5-*a*] pyrimidine indole derivatives against gastric cancer cells MGC-803 via the suppression of ERK signaling pathway [J]. Molecules, 2022, 27(15): 4996.
- [46] Gilandoust M, Harsha K B, Mohan C D, et al. Synthesis, characterization and cytotoxicity studies of 1,2,3-triazoles and 1,2,4-triazolo[1,5-*a*] pyrimidines in human breast cancer cells [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2018, 28(13): 2314-2319.
- [47] Kumari P, Mishra V S, Narayana C, et al. Design and efficient synthesis of pyrazoline and isoxazole bridged indole C-glycoside hybrids as potential anticancer agents [J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 6660.
- [48] Kryshchshyn-Dylevych A, Radko L, Finiuk N, et al. Synthesis of novel indole-thiazolidinone hybrid structures as promising scaffold with anticancer potential [J]. Bioorg Med Chem, 2021, 50: 116453.
- [49] Hu M J, Zhang B, Yang H K, et al. Design, synthesis and molecular docking studies of novel indole-pyrimidine hybrids as tubulin polymerization inhibitors [J]. Chem Biol Drug Des, 2015, 86(6): 1491-500.
- [50] Khetmalis Y M, Shivani M, Murugesan S, et al. Oxindole and its derivatives: A review on recent progress in biological activities [J]. Biomed Pharmacother, 2021, 141: 111842.
- [51] Chauhan G, Pathak D P, Ali F, et al. Advances in synthesis, derivatization and bioactivity of isatin: A review [J]. Curr Org Synth, 2021, 18(1): 37-74.
- [52] Rajesh Kumar M, Alagumuthu M, Violet Dhayabaran V. N-substituted hydroxynaphthalene imino-oxindole derivatives as new class of PI3-kinase inhibitor and breast cancer drug: Molecular validation and structure-activity relationship studies [J]. Chem Biol Drug Des, 2018, 91(1): 277-284.
- [53] Wang Y, Ji B, Cheng Z, et al. Synthesis and biological evaluation of novel synthetic indolone derivatives as anti-tumor agents targeting p53-MDM2 and p53-MDMX [J].

- Molecules, 2022, 27(12): 3721.
- [54] Maadwar S, Galla R. Cytotoxic oxindole derivatives: *In vitro* EGFR inhibition, pharmacophore modeling, 3D-QSAR and molecular dynamics studies [J]. J Recept Signal Transduct Res, 2019, 39(5/6): 460-469.
- [55] Singh A, Kaur H, Arora S, et al. Design, synthesis, and biological evaluation of novel morpholinated isatin-quinoline hybrids as potent anti-breast cancer agents [J]. Arch Pharm, 2022, 355(2): e2100368.
- [56] Han Y, Dong W, Guo Q Q, et al. The importance of indole and azaindole scaffold in the development of antitumor agents [J]. Eur J Med Chem, 2020, 203: 112506.
- [57] Yang C B, Lu M Z, Chen Y, et al. Development of anti-breast cancer PI3K inhibitors based on 7-azaindole derivatives through scaffold hopping: Design, synthesis and *in vitro* biological evaluation [J]. Bioorg Chem, 2021, 117: 105405.
- [58] Sagam R R, Nukala S K, Nagavath R, et al. *In-vitro* anticancer and molecular docking studies of 4-azaindole-1, 2, 4-oxadiazole hybrids [J]. Chemistryselect, 2021, 6: 7670-7673.
- [59] Zhan Y F, Tong H, He S B, et al. A new 7-azaindole structure analog: Molecular docking, synthesis and preliminary biological activity *in vitro* for anticancer [J]. Chem Biodiv, 2022, 19(10): e202200692.
- [60] Maisonneuve P, Disalvatore D, Rotmensz N, et al. Proposed new clinicopathological surrogate definitions of luminal A and luminal B (HER2-negative) intrinsic breast cancer subtypes [J]. Breast Cancer Res, 2014, 16(3): R65.
- [61] Zhou S, Yu L, Zhou R, et al. Invasive breast carcinomas of no special type with osteoclast-like giant cells frequently have a luminal phenotype [J]. Virchows Arch, 2014, 464(6): 681-688.
- [62] Toropov A A, Toropova A P. Predicting cytotoxicity of 2-phenylindole derivatives against breast cancer cells using index of ideality of correlation [J]. Anticancer Res, 2018, 38(11): 6189-6194.
- [63] Gaikwad R, Ghorai S, Amin S A, et al. Monte carlo based modelling approach for designing and predicting cytotoxicity of 2-phenylindole derivatives against breast cancer cell line MCF7 [J]. Toxicol In Vitro, 2018, 52: 23-32.
- [64] Prior A M, Yu X F, Park E J, et al. Structure-activity relationships and docking studies of synthetic 2-arylindole derivatives determined with aromatase and quinone reductase 1 [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2017, 27(24): 5393-5399.
- [65] Pingaew R, Mandi P, Prachayasittikul V, et al. Synthesis, molecular docking, and QSAR study of sulfonamide-based indoles as aromatase inhibitors [J]. Eur J Med Chem, 2018, 143: 1604-1615.
- [66] Bębenek E, Chrobak E, Rzepka Z, et al. New betulin derivatives with nitrogen heterocyclic moiety-synthesis and anticancer activity *in vitro* [J]. Biomolecules, 2022, 12(10): 1540.
- [67] Sakunrangsit N, Ketchart W. Plumbagin inhibited AKT signaling pathway in HER-2 overexpressed-endocrine resistant breast cancer cells [J]. Eur J Pharmacol, 2020, 868: 172878.
- [68] 吕英淑, 董睿, 石双颖, 等. 基于抑癌基因和免疫功能探讨注射用紫杉醇(白蛋白结合型)联合卡铂与曲妥珠单抗治疗HER-2阳性乳腺癌患者的临床效果 [J]. 药物评价研究, 2023, 46(2): 408-413.
- Lu Y S, Dong R, Shi S Y, et al. Effect of Paclitaxel for Injection (albumin binding type) combined with carboplatin and trastuzumab on HER-2 positive breast cancer patients based on tumor suppressor gene and immune function [J]. Drug Eval Res, 2023, 46(2): 408-413.
- [69] Nguyen P L, Elkamhawy A, Choi Y H, et al. Suppression of tumor growth and cell migration by indole-based benzenesulfonamides and their synergistic effects in combination with doxorubicin [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(17): 9903.
- [70] Kim H J, Min A, Im S A, et al. Anti-tumor activity of the ATR inhibitor AZD6738 in HER2 positive breast cancer cells [J]. Int J Cancer, 2017, 140(1): 109-119.
- [71] 史超, 张香梅, 刘运江. 三阴性乳腺癌免疫及靶向治疗研究进展 [J]. 肿瘤防治研究, 2023, 50(7): 710-716.
- Shi C, Zhang X M, Liu Y J. Research progress on immunization and targeted therapy for triple-negative breast cancer [J]. Cancer Res Prev Treat, 2023, 50(7): 710-716.
- [72] Chakraborty S, Ghosh S, Banerjee B, et al. Phemindole, a synthetic di-indole derivative maneuvers the store operated calcium entry (SOCE) to induce potent anti-carcinogenic activity in human triple negative breast cancer cells [J]. Front Pharmacol, 2016, 7: 114.
- [73] Xu X, Rajamanickam V, Shu S, et al. Indole-2-carboxamide derivative LG25 inhibits triple-negative breast cancer growth by suppressing Akt/mTOR/NF- κ B signalling pathway [J]. Drug Des Devel Ther, 2019, 13: 3539-3550.
- [74] 颜亮, 咎嘉伟, 冯遵永, 等. 二吡啶吡啶基吡咯烷通过抑制AKT-mTOR阻滞MDA-MB231乳腺癌细胞周期 [J]. 中国药科大学学报, 2018, 49(6): 718-724.
- Yan L, Zan J W, Feng Z Y, et al. Dipyrindyl pyrrolidine inhibits MDA-MB231 breast cancer cell cycle by inhibiting AKT-mTOR [J]. J China Pharm Univ, 2018, 49(6): 718-724.
- [75] Guerra F S, Dias F R F, Cunha A C, et al. Benzo[f]indole-4, 9-dione derivatives effectively inhibit the growth of triple-negative breast cancer [J]. Molecules, 2021, 26(15): 4414.