



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102731380 A

(43) 申请公布日 2012. 10. 17

(21) 申请号 201110093330. 6

A61P 35/00(2006. 01)

(22) 申请日 2011. 04. 14

(71) 申请人 上海美迪西生物医药有限公司

地址 201203 上海市浦东新区张江高科技园
区李冰路 67 弄 5 号楼

申请人 常州方圆制药有限公司

(72) 发明人 薛建 付国良 陈慧平 陈春麟
李伟 蒋维平 谢立成 蔡振一
葛啸虎

(74) 专利代理机构 上海瀚桥专利代理事务所
(普通合伙) 31261

代理人 曹芳玲

(51) Int. Cl.

C07D 213/76(2006. 01)

C07D 213/75(2006. 01)

C07D 213/82(2006. 01)

A61K 31/63(2006. 01)

A61K 31/444(2006. 01)

A61K 31/4402(2006. 01)

权利要求书 3 页 说明书 12 页

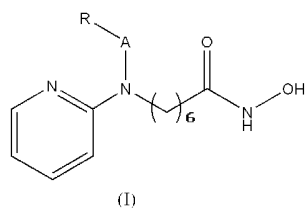
(54) 发明名称

7-(N-(2-吡啶基)磺酰胺基或酰胺基)-N-羟基
基庚酰胺衍生物及其制备方法和应用

(57) 摘要

本发明涉及 7-(N-(2-吡啶基)磺酰胺基或
酰胺基)-N-羟基基庚酰胺衍生物及其制备方法和
应用,提供一种如通式(I)所示结构的化合物,通
式(I)如说明书定义。本发明的化合物具有良好的
抑制 HDAC 的活性,有望开发成为新的抗肿瘤药
物。

1. 式 (I) 化合物, 其特征在于,



其中, A 为羰基或砜基,

R 为烷基、芳基、取代芳基或氮杂芳基。

2. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于, A 为砜基, R 为芳基或取代芳基。

3. 根据权利要求 2 所述的化合物, 其特征在于, R 为氯取代苯基、氟取代苯基、乙酰基取代苯基、乙酰胺基取代苯基、联苯基、烷基取代苯基、甲氧基取代苯基、氟代甲氧基取代苯基、硝基取代苯基或萘基。

4. 根据权利要求 3 所述的化合物, 其特征在于, 所述化合物为:

- 7-(3-氯-N-(2-吡啶基)苯磺酰胺基)-N-羟基庚酰胺;
- 7-(4-氯-N-(2-吡啶基)苯磺酰胺基)-N-羟基庚酰胺;
- 7-(4-乙酰基-N-(2-吡啶基)苯磺酰胺基)-N-羟基庚酰胺;
- 7-(2,4-二氯-N-(2-吡啶基)苯磺酰胺基)-N-羟基庚酰胺;
- 7-(N-(2-吡啶基)-(3-联苯基)磺酰胺基)-N-羟基庚酰胺;
- 7-(4-甲基-N-(2-吡啶基)苯磺酰胺基)-N-羟基庚酰胺;
- 7-(2-甲基-N-(2-吡啶基)苯磺酰胺基)-N-羟基庚酰胺;
- 7-(4-乙酰胺基-N-(2-吡啶基)苯磺酰胺基)-N-羟基庚酰胺;
- 7-(4-三氟代甲氧基-N-(2-吡啶基)苯磺酰胺基)-N-羟基庚酰胺;
- 7-(3-硝基-N-(2-吡啶基)苯磺酰胺基)-N-羟基庚酰胺;
- 7-(N-(2-吡啶基)-(1-萘基)磺酰胺基)-N-羟基庚酰胺;
- 7-(4-丁基-N-(2-吡啶基)苯磺酰胺基)-N-羟基庚酰胺;
- 7-(N-(2-吡啶基)-(2-萘基)磺酰胺基)-N-羟基庚酰胺;
- 7-(3,4-二甲氧基-N-(2-吡啶基)苯磺酰胺基)-N-羟基庚酰胺;
- 7-(4-异丙基-N-(2-吡啶基)苯磺酰胺基)-N-羟基庚酰胺;或
- 7-(3-甲基-N-(2-吡啶基)苯磺酰胺基)-N-羟基庚酰胺。

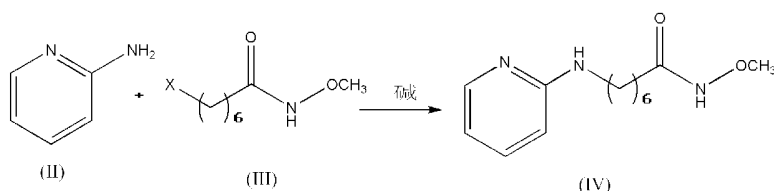
5. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于, A 为羰基, R 为 $C_{1\sim 3}$ 烷基、取代苯基或氮杂芳基。

6. 根据权利要求 5 所述的化合物, 其特征在于, 所述化合物为:

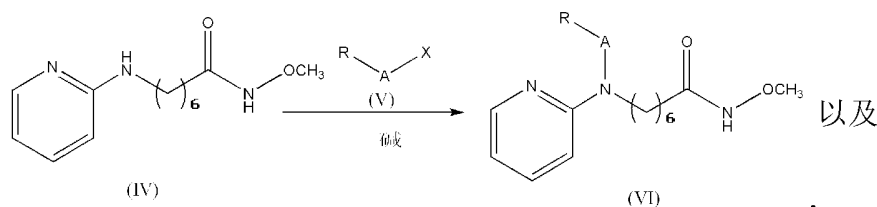
- 7-(4-氟-N-(2-吡啶基)苯甲酰胺基)-N-羟基庚酰胺;
- 7-(N-(2-吡啶基)乙酰胺基)-N-羟基庚酰胺;或
- 7-(N-(2-吡啶基)烟酰胺基)-N-羟基庚酰胺。

7. 一种制备权利要求 1 所述化合物的方法, 其特征在于, 包括:

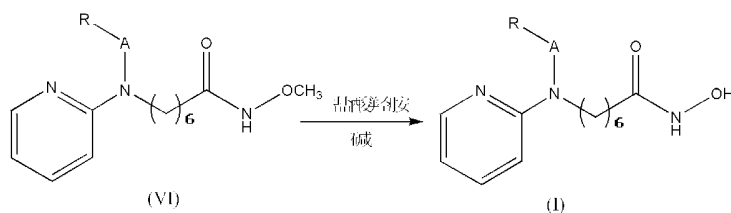
步骤 a: 式 (II) 胺化合物与式 (III) 卤代化合物在碱存在下反应得到式 (IV) 化合物,



步骤 b: 步骤 a 所得的式 (IV) 化合物与式 (V) 化合物在碱存在下反应得到式 (VI) 化合物,



步骤 c: 步骤 b 所得的式 (VI) 化合物在碱存在下与盐酸羟胺反应得到式 (I) 化合物,



其中, X 为氯或溴。

8. 根据权利要求 7 所述的方法, 其特征在于, 在步骤 a 中, 所采用碱为碳酸钠、碳酸钾、碳酸氢钠或碳酸氢钾, 反应温度为 $100 \sim 130^{\circ}\text{C}$, 反应时间为 $4 \sim 6$ 小时。

9. 根据权利要求 7 所述的方法, 其特征在于, 在步骤 b 中, 所采用的碱为三乙胺、吡啶或 N, N-二异丙基乙胺, 反应温度为 $40 \sim 60^{\circ}\text{C}$, 反应时间为 $20 \sim 30$ 小时。

10. 根据权利要求 7 所述的方法, 其特征在于, 在步骤 c 中, 所采用的碱为氢氧化钾或氢氧化钠, 反应温度为 $20 \sim 30^{\circ}\text{C}$, 反应时间为 $20 \sim 30$ 小时。

11. 一种药学上可接受的盐或其水合物, 其特征在于, 所述药学上可接受的盐为根据权利要求 1 ~ 6 中任一项所述的化合物与无机酸和/或有机酸形成的酸加成盐、或与无机碱和/或有机碱性成的碱加成盐、或季铵盐。

12. 根据权利要求 11 所述的药学上可接受的盐或其水合物, 所述无机酸选自盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸和磷酸。

13. 根据权利要求 11 所述的药学上可接受的盐或其水合物, 所述有机酸选自乙酸、草酸、柠檬酸、苯甲酸、水杨酸、马来酸、月桂酸、苹果酸、富马酸、琥珀酸、酒石酸、甲磺酸、樟脑酸、乳酸、烟酸、肉桂酸、对甲苯磺酸、苯磺酸、谷氨酸和扁桃酸。

14. 根据权利要求 11 所述的药学上可接受的盐或其水合物, 所述无机碱包括碱金属、碱金属的氢氧化物、碱土金属的氢氧化物。

15. 根据权利要求 11 所述的药学上可接受的盐或其水合物, 所述有机碱选自三乙胺、N-甲基-D-葡萄糖胺、胆碱三(羟甲基)氨基-甲烷、L-精氨酸、L-赖氨酸、N-乙基哌啶和二苄基胺。

16. 一种药物组合物, 其特征在于, 包括根据权利要求 1 ~ 6 中任一项所述的化合物以及药物稀释剂、药物赋形剂和/或药物载体。

17. 根据权利要求 16 所述的药物组合物,其特征在于,所述药物组合物的剂型为片剂、胶囊、粉剂、颗粒剂、锭剂、凝胶剂或注射剂。

18. 根据权利要求 1 ~ 6 中任一项所述的化合物在制备抗肿瘤的药物中的应用。

7-(N-(2-吡啶基)磺酰胺基或酰胺基)-N-羟基庚酰胺衍生物及其制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明属于生物医药领域,具体涉及一种新的抑制组蛋白脱乙酰酶家族成员的化合物,以及该化合物的制备方法和应用。

背景技术

[0002] 全球范围内因肿瘤疾病死亡的人数仅次于心脑血管疾病死亡人数,目前还没有疗效显著的药物。化疗药物因缺乏作用靶标的选择,很容易导致严重的毒副反应,极大地制约了临床效果的发挥。因此开发广谱低毒和具有靶向性的抗肿瘤药物已成为人们最为关注的热点。上个世纪 90 年代,组蛋白乙酰转移酶(histone acetyltransferase,HAT)和组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase,HDAC)在分子水平上被阐明(Luger 等人,Nature,389,251-260,1997)。现已发现人类有 18 种 HDAC。1997 年 Pennisi 和 Pazin 阐述了组蛋白上赖氨酸 ϵ -氨基乙酰化在转录过程中起着重要作用(Pennisi 等人,Science,275,155-157,1997;Pazin 等人,Cell,89,325-328,1997)。组蛋白乙酰化是一种可逆的蛋白共价修饰形式,组蛋白的乙酰化有利于 DNA 与组蛋白八聚体的解离,核小体结构松弛,从而使各种转录因子和协同转录因子能与 DNA 结合位点特异性结合,激活基因的转录。组蛋白低乙酰化状态时,核小体结构紧密,使各种促进细胞生长,分化和凋亡的基因转录受到抑制,和肿瘤的发生有关。在细胞核内,组蛋白乙酰化与组蛋白去乙酰化过程处于动态平衡,并由 HATs 和 HDACs 共同调控。HATs 将乙酰辅酶 A 的乙酰基转移到组蛋白氨基末端特定的赖氨酸残基上,HDACs 使组蛋白去乙酰化,与带负电荷的 DNA 紧密结合,染色质致密卷曲,基因的转录受到抑制。对 HDAC 的抑制作用被认为是具有发展前景的抗癌药物靶标。组蛋白去乙酰化酶抑制剂(histone deacetylase inhibitors,HDACi)能够促进组蛋白或非组蛋白的乙酰化修饰,从而调控细胞凋亡及分化相关蛋白的表达和稳定性,诱导细胞凋亡及分化,有望成为一类新的抗肿瘤药物。

[0003] HDAC 抑制剂(HDAC inhibitor,HDACi)作为一类具有研发潜力的抗癌新药,近年来研究表明有明显的优势:(1)可引起肿瘤细胞的生长停滞、诱导肿瘤细胞的分化和凋亡(Kouzarides 等人,Genet. Dev.,9,40-48,1999);(2)具有广谱特点,对多种肿瘤细胞都具有明显效果(Kramer 等人,Trends Endocrinol. Metab.,12,294-300,2001);(3)是以抑制肿瘤基因转录为目的的治疗药物,针对肿瘤细胞有特异性,对正常细胞不引起生长停滞或凋亡。这类药物改变了传统化疗药物对所有快速分裂细胞杀伤的作用方式,针对肿瘤细胞的基因突变或基因表达异常进行治疗;(4)毒性较低,对正常细胞的影响较小,体内实验表明甚至不影响胚胎发育(Nervi 等人,Cancer Res.,61,1247-1249,2001);(5)可抑制肿瘤组织的血管形成过程,从而抑制肿瘤细胞转移(Kwon 等人,Int. J. Cancer,97,290-296,2002;Deroanne 等人,Oncogene,21,427-436,2002);(6)通过对组蛋白去乙酰化酶的抑制,可对肿瘤细胞的发生起到预防作用,也为肿瘤高危人群的化学预防提供了可能。另外 HDACi 还对神经系统疾病如进行性智力退化和大肌肉运动能力丧失等疾病有治疗作用;对多种细

胞因子有调节作用;还有对属于增殖性疾病也具有潜在的治疗价值。HDACi 以其独特的抗肿瘤作用机理,在研发肿瘤治疗药物中占有重要地位 (Yoshida 等人, *Current Medicinal Chemistry*, 10, 1241-1253, 2003)。

[0004] 1999 年 Finnin 等研究阐明 HDACi (辛二酰苯胺氧肟酸 (suberoylanilide hydroxamic acid, SAHA) 和曲古菌素 A (trichostatin A, TSA)) 与组蛋白去乙酰化酶类似物 (HDLP) 的相互作用机理 (Finnin 等人, *Nature*, 401, 188-193, 1999)。HDAC 是一类锌离子酰胺酶,在催化组蛋白脱乙酰基时,锌离子跟乙酰基上氧的水合物螯合形成过渡态,抑制剂与底物竞争性地螯合 HDAC 上的锌离子,从而发挥其生物学作用。目前研究的 HDACi 尽管结构特征多种多样,但通过 X 射线晶体衍射结构分析及构效关系表明 HDACi 具有 3 个区域:金属结合区 (metal binding),与酶活性位点的氨基酸残基形成氢键,并与 Zn^{2+} 螯合;连接链区 (linker),占有酶的狭窄通道,其链的长度决定金属结合区与 Zn^{2+} 的结合状况;表面识别区 (surface recognition),与酶活性位点外侧的氨基酸残基结合,决定抑制剂分子对酶的识别及结合程度,辅助金属结合区与 Zn^{2+} 螯合。HDACi 具有调控细胞周期能力,它可以激活周期蛋白依赖性激酶抑制剂 P21 的转录以及减少细胞成熟促进因子 A 和 D。最近的研究结果证实,HDACi 可以通过增加肿瘤细胞中死亡受体 TRAIL 的表达来加速肿瘤细胞的凋亡 (Iacomino 等人, *Anticancer Res.*, 28, 855-864, 2008)。HDACi 还可以激活免疫应答并且通过多因子的作用抑止肿瘤的发生 (Marks 等人, *Curr. Opin. Pharmacol.*, 3, 344-351, 2003)。

[0005] 自第一个 HDAC 抑制剂 TSA 被确定以来,已发现有多种结构可以对 HDAC 产生抑制作用 (W02005/087724A, W02005/092899A, W02006/018657A1, W02007/039403A, W02007/039404)。HDACi 主要包括 6 大类:①脂肪酸类 (Aliphatic Acids),包括丙戊酸 (VA) 和苯基丁酸 (PA);②小分子氧肟酸盐类 (hydroxamic acid),包括 SAHA、TSA、达西司特 (Dacinostat, LAQ824)、N-羟基-3-(3-苯基氨基磺酰基苯基)丙烯酰胺 (Belinostat, PXD101) 及 N-羟基-N'-3-吡啶基辛二酰胺 (pyroxamide) 等;③亲电子甲酮类 (electrophilic ketones),包括 TPX (Trpoxin) 和 AOE 等;④环形肽类 (cyclic peptide inhibitors),包括缩酚酸肽 (FK228) 和 Apicidin。⑤苯酰胺类 (benzamides),包括 MS-275 (Entinostat) 和 CI-1994 等;⑥其他类化合物,包括 PXD101 (Belinostat) 和 CHAPs 等。结构不同的 HDACi 对不同类型 HDACs 活性的抑制效果不同。如 SAHA 和 TSA 能够抑制 I 型和 II 型 HDACs 的活性,促进组蛋白和非组蛋白的乙酰化修饰,而 FK228 主要抑制 I 型 HDACs 的活性,促进组蛋白的乙酰化修饰。

[0006] 目前已有多种 HDACi 进入临床试验阶段,体内体外试验均表明,很多 HDACi 具有低毒强抗癌作用,多种 HDACi 如 FK228、SAHA、TSA、VPA 和 MS-275 等已进入血液系统恶性肿瘤和实体瘤临床 I 和 II 期试验阶段,这些药物不仅单独使用可表现出抗肿瘤作用,有的还联合其他药物 (如维甲酸等) 起到协同作用,而且还能增强肿瘤细胞对放化疗的敏感性,使部分肿瘤耐药现象得到显著改善 (Glaser, *Biochem Pharmacol*, 74, 659-671, 2007)。2006 年美国 FDA 已批准第一个 HDACi 的药物伏立诺他 (vorinostat) 作为抗肿瘤药物,并由美国的 Merck 公司生产上市。目前中国批准的药物主要有 VPA 和 TSA 等。Alma 等 (Alma 等人, *Molecular Cancer*, 4, 22, 2005) 进行丙戊酸钠治疗 12 例宫颈癌患者的 I 期试验,口服 5 天后检测肿瘤去乙酰化酶活力,发现其下降了 80%,H3 和 H4 的乙酰化程度升高,毒副作用小,

不影响患者的日常生活,具有很高的临床意义。Fadi 等 (Fadi 等人, Clin Cancer Res, 14, 6296-6301, 2008) 的 I 期试验中,在对有乳腺癌、肺癌、头颈部肿瘤及宫颈癌等的 55 例患者给予 5- 氮杂胞苷和丙戊酸联合用药,病情稳定平均达 6 个月者占 25%。在给药的第 1 天和第 10 天检测组蛋白甲基化和乙酰化程度,发现第 10 天比第 1 天组蛋白乙酰化水平明显升高。在丙戊酸镁联合甲基化抑制剂胍苯达嗪克服各种化疗药物耐受性的 II 期临床试验中,接受试验的 15 例宫颈癌、卵巢癌、乳腺癌和肺癌等肿瘤患者,分别在化疗前 1 周给予丙戊酸镁 40mg/kg 3 次 / 天及胍苯达嗪缓释片。结果显示其中 12 例 (4 例部分反应和 8 例病情稳定) 有临床意义,达 80%;毒副作用小且主要表现在血液系统,所有患者均能耐受;与 HeLa 细胞对照组比较,所有患者的去乙酰化酶水平均不同程度下降 (Candelaria 等人, Ann Oncol, 18, 1529-1538, 2007)。这些试验着重研究的是药物安全性,临床效果与细胞凋亡,基因表达改变,染色体乙酰化程度之间的联系,以阐明 HDACi 类的各自药物具体作用机制,为临床 III 期试验研究提供帮助。

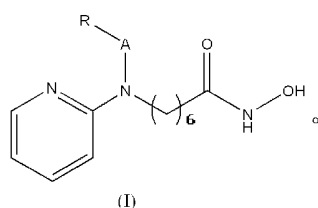
[0007] 从对表观遗传现象的认识到对表观遗传学的深入研究,肿瘤表观遗传治疗的有效性已在体外及动物实验中得到了充分的证实。但由于肿瘤的病因及发病机制复杂,且目前对表观遗传修饰与肿瘤的关系以及表观遗传修饰调控基因的机制了解的不足,而组蛋白乙酰化和去乙酰化修饰是肿瘤表观遗传学中重要的方式,因此加强对各种 HDACi 单独及联合与肿瘤发生,发展相关性的研究将有助于加深了解表观遗传机制,进而指导肿瘤的治疗和新药的研制。毋庸置疑,随着对 HDACi 抗癌机理的深入研究,提供新型 HDACi 将会有广阔的应用前景。

发明内容

[0008] 本发明对小分子氧肟酸盐类 HDACi 的衍生物进行进一步研究,在此提供一种结构新颖的 HDAC 抑制剂。

[0009] 在本发明的一方面,提供一种具有娴熟式 (I) 所示结构的化合物,以下称为式 (I) 化合物:

[0010]



[0011] 其中, A 为羰基或砜基,

[0012] R 为烷基、芳基、取代芳基或氮杂芳基。

[0013] 在一个优选的实施例中, A 为砜基; R 为芳基或取代芳基, 优选氯取代苯基、氟取代苯基、乙酰基取代苯基、乙酰胺基取代苯基、联苯基、烷基取代苯基、甲氧基取代苯基、氟代甲氧基取代苯基、硝基取代苯基或萘基, 特别优选下述化合物:

[0014] 7-(3-氯-N-(2-吡啶基)苯磺酰胺基)-N-羟基庚酰胺;

[0015] 7-(4-氯-N-(2-吡啶基)苯磺酰胺基)-N-羟基庚酰胺;

[0016] 7-(4-乙酰基-N-(2-吡啶基)苯磺酰胺基)-N-羟基庚酰胺;

[0017] 7-(2,4-二氯-N-(2-吡啶基)苯磺酰胺基)-N-羟基庚酰胺;

- [0018] 7-(N-(2-吡啶基)-(3-联苯基)磺酰胺基)-N-羟基庚酰胺；
 [0019] 7-(4-甲基-N-(2-吡啶基)苯磺酰胺基)-N-羟基庚酰胺；
 [0020] 7-(2-甲基-N-(2-吡啶基)苯磺酰胺基)-N-羟基庚酰胺；
 [0021] 7-(4-乙酰氨基-N-(2-吡啶基)苯磺酰胺基)-N-羟基庚酰胺；
 [0022] 7-(4-三氟代甲氧基-N-(2-吡啶基)苯磺酰胺基)-N-羟基庚酰胺；
 [0023] 7-(3-硝基-N-(2-吡啶基)苯磺酰胺基)-N-羟基庚酰胺；
 [0024] 7-(N-(2-吡啶基)-(1-萘基)磺酰胺基)-N-羟基庚酰胺；
 [0025] 7-(4-丁基-N-(2-吡啶基)苯磺酰胺基)-N-羟基庚酰胺；
 [0026] 7-(N-(2-吡啶基)-(2-萘基)磺酰胺基)-N-羟基庚酰胺；
 [0027] 7-(3,4-二甲氧基-N-(2-吡啶基)苯磺酰胺基)-N-羟基庚酰胺；
 [0028] 7-(4-异丙基-N-(2-吡啶基)苯磺酰胺基)-N-羟基庚酰胺；和
 [0029] 7-(3-甲基-N-(2-吡啶基)苯磺酰胺基)-N-羟基庚酰胺。
 [0030] 在另一个优选的实施例中，A 为羰基，R 为烷基、取代苯基或氮杂芳基，特别优选下述化合物：

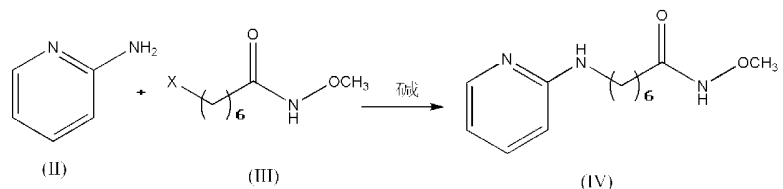
- [0031] 7-(4-氟-N-(2-吡啶基)苯甲酰胺基)-N-羟基庚酰胺；
 [0032] 7-(N-(2-吡啶基)乙酰胺基)-N-羟基庚酰胺；和
 [0033] 7-(N-(2-吡啶基)烟酰胺基)-N-羟基庚酰胺。

[0034] 本发明所述“烷基”优选含有 1～6 个碳原子饱和基团，更优选 1～4 个碳原子饱和基团，包括甲基、乙基、环丙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、仲丁基。“芳基”指单环、二环、或三环的碳环芳香基团，并包括含有两个通过共价键直接连接的单环碳环芳香基团的基团；这种基团的例子有苯基、联苯基和萘基。“取代芳基”是指上述芳基的芳香环有取代基。“杂芳基”指含有一个或多个选自 S、N 或 O 的杂原子的单环、二环或三环芳香基团，并包括含有通过共价键直接相连的两个此类单环或者一个此类单环和一个单环芳基环的基团；这种基团的例子有噻吩基、苯并噻吩基、呋喃基、苯并呋喃基、吡咯基、咪唑基、苯并咪唑基、噻唑基、苯并噻唑基、异噻唑基、苯并异噻唑基、吡唑基、噁唑基、苯并噁唑基、异噁唑基、苯并异噁唑基、异噻唑基、三唑基、苯并三唑基、噻二唑基、噁二唑基、吡啶基、哒嗪基、嘧啶基、吡嗪基、三嗪基、吲哚基或吲唑基。

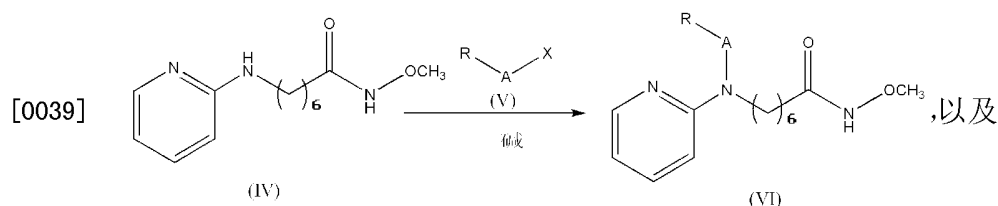
[0035] 在本发明的另一方面，提供一种制备上述化合物的方法，包括：

[0036] 步骤 a：式 (II) 胺化合物与式 (III) 卤代化合物在碱存在下反应得到式 (IV) 化合物，

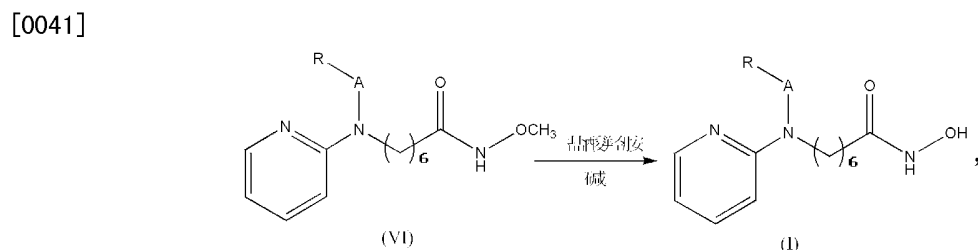
[0037]



[0038] 步骤 b：步骤 a 所得的式 (IV) 化合物与式 (V) 化合物在碱存在下反应得到式 (VI) 化合物，



[0040] 步骤 c: 步骤 b 所得的式 (VI) 化合物在碱存在下与盐酸羟胺反应得到式 (I) 化合物,



[0042] 其中, A、R 如上定义, X 为氯或溴。

[0043] 在步骤 a 中, 所采用碱可为碳酸钠、碳酸钾、碳酸氢钠、碳酸氢钾, 反应温度可为 100 ~ 130℃, 反应时间为 4 ~ 6 小时。

[0044] 在步骤 b 中, 所采用的碱可为三乙胺、吡啶或 N, N- 二异丙基乙胺, 反应温度为 40 ~ 60℃, 反应时间为 20 ~ 30 小时。

[0045] 在步骤 c 中, 所采用的碱为氢氧化钾或氢氧化钠, 反应温度为 20 ~ 30℃, 反应时间为 20 ~ 30 小时。

[0046] 在本发明的又一方面, 提供一种药学上可接受的盐或其水合物, 由本发明化合物与无机酸和或有机酸形成的酸加成盐、或与无机碱和或有机碱性成的碱加成盐、或季铵盐。其中, 所述无机酸选自盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸和磷酸; 所述有机酸选自乙酸、草酸、柠檬酸、苯甲酸、水杨酸、马来酸、月桂酸、苹果酸、富马酸、琥珀酸、酒石酸、甲磺酸、樟脑酸、乳酸、烟酸、肉桂酸、对甲苯磺酸、苯磺酸、谷氨酸和扁桃酸; 所述无机碱包括碱金属、碱金属的氢氧化物、碱土金属的氢氧化物; 所述有机碱选自三乙胺、N- 甲基-D- 葡萄糖胺、胆碱三(羟甲基)氨基-甲烷、L- 精氨酸、L- 赖氨酸、N- 乙基哌啶和二苄基胺。

[0047] 在本发明的再一方面, 提供一种药物组合物, 本发明化合物以及药物稀释剂、药物赋形剂和 / 或药物载体。所述药物组合物的剂型为片剂、胶囊、粉剂、颗粒剂、锭剂、凝胶剂或注射剂。

[0048] 在本发明的还一方面, 提供本发明的化合物在制备抗肿瘤药物中的应用。

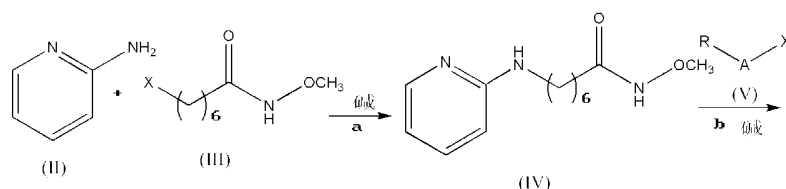
[0049] 本发明的化合物具有良好的抑制 HDAC 活性。因此, 本发明所提供的新型化合物, 有望被开发成为治疗肿瘤的靶向药物。

具体实施方式

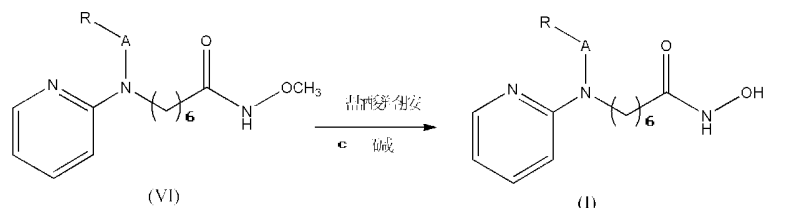
[0050] 以下结合具体的实施例来进一步说明本发明, 注意, 下述实施例仅是示例性而非限制本发明。

[0051] (一) 式 (I) 化合物的制备:

[0052]



[0053]



[0054] 其中, A 为羰基或砜基; R 为烷基、芳基、取代芳基或氮杂芳基; X 为溴或氯。

[0055] 在步骤 a 中, 反应物式 (II) 胺化合物与式 (III) 卤代化合物直接反应而无需溶剂, (III) 卤代化合物可稍微过量, 例如式 (II) 胺化合物与式 (III) 卤代化合物的摩尔比可为 1 : 1 ~ 1 : 1.1, 优选 1 : 1.05。可采用与 (III) 卤代化合物等摩尔量的碱, 所采用碱包括但不限于, 碳酸钠、碳酸钾、碳酸氢钠或碳酸氢钾, 优选碳酸钠或碳酸钾。步骤 a 反应温度可为 100 ~ 130℃, 反应时间可为 4 ~ 6 小时。反应结束后, 分离纯化得到通式 (IV) 化合物。

[0056] 在步骤 b 中, 将步骤 a 所得的式 (IV) 化合物与式 (V) 化合物溶于合适的溶剂, 合适的溶剂包括但不限于二氯甲烷 (DCM)、N, N-二甲基甲酰胺 (DMF) 或四氢呋喃 (THF) 等。式 (IV) 化合物与式 (V) 化合物的摩尔比为 1 : 1.2 ~ 1 : 1.8, 优选 1 : 1.5。加与式 (V) 化合物的碱, 所采用的碱可为三乙胺、吡啶或 N, N-二异丙基乙胺, 加热反应。通常步骤 b 在回流状态下反应, 即反应温度通常为 40 ~ 60℃, 反应时间可为 20 ~ 30 小时。反应结束后, 分离纯化得到通式 (VI) 化合物。

[0057] 在步骤 c 中, 在溶解有盐酸羟胺的溶液加入碱, 搅拌反应 30 分钟左右, 所用溶剂可为甲醇或乙醇等, 所用碱可为氢氧化钾或氢氧化钠, 所用碱可盐酸羟胺为等摩尔。然后加步骤 b 所得的式 (VI) 化合物和额外碱, 室温下反应 20 ~ 30 小时, 此处的室温应理解为 20 ~ 30℃。加的额外的碱也可为氢氧化钾或氢氧化钠, 其相对于式 (VI) 化合物的摩尔量为稍过量, 例如 1.1 ~ 1.5 当量。式 (VI) 化合物与盐酸羟胺的摩尔比可为 1 : 10 ~ 1 : 20, 优选 1 : 14 ~ 1 : 18。反应结束后, 分离纯化得到通式 (I) 化合物。

[0058] 上述反应的反应终点的监控可采用本领域技术人员常用的方法, 例如 TLC。中间产物及终产物的分离纯化的可采用本领域技术人员常用的分离方法, 例如, 萃取、柱层析、重结晶等。式 (I) 化合物的可通过本领域常用的光谱分析手段确定, 例如 ¹HNMR、MS 等。

[0059] 下面以具体化合物的制备进一步说明本发明。在下述实施例或本文其他部分使用缩写如下定义:

[0060]

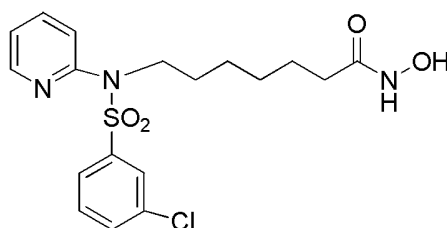
g	克
mg	毫克
mmol	毫摩尔
°C	摄氏度
DMF	N, N-二甲基甲酰胺
Et ₃ N	三乙胺
DIPEA	二异丙基乙基胺
EA	乙酸乙酯
MeOH	甲醇
KOH	氢氧化钾
NaOH	氢氧化钠

[0061] 实施例中,化合物的 ¹H-NMR 由 Bruke AM-400 型核磁共振仪测定,以 TMS 为内标,化学位移以 δ (ppm) 表示;质谱用 Finnign-MAT212 型质谱仪测定。

[0062] 柱层析所用硅胶为青岛海洋化工厂生产(薄层层析 H 型),薄层层析板为烟台芝罘实验化工厂生产的 HSGF 254 型。

[0063] 实施例 1:7-(3-氯-N-(2-吡啶基)苯磺酰胺基)-N-羟基庚酰胺

[0064]



[0065] 步骤 a:在 50ml 烧瓶中,将 2-氨基吡啶 (7.67g,81.6mmol) 溶解于 7-氯-N-甲氧基庚酰胺 (18.192g,81.6mmol) 中,然后加入碳酸钾 (11.26g,81.6mmol)。随后升温至 120°C 反应 4 小时。待反应结束冷却至室温,向反应液中加入甲醇溶解,过滤,旋干滤液,通过硅胶柱层析分离出白色固体中间产物 7-(N-(2-吡啶基)胺基)-N-甲氧基庚酰胺 (3.558g),收率:18.5%。

[0066] 步骤 b:在溶解有 7-(N-(2-吡啶基)胺基)-N-甲氧基庚酰胺 (3.558g,15.08mmol) 和 3-氯苯磺酰氯 (4.8g,22.62mmol) 的 75ml 二氯甲烷溶液中,加入 N,N-二异丙基乙胺 (2.92g,22.62mmol),加热回流 24 小时。反应结束冷却至室温,旋干反应液,通过硅胶柱层析分离出油状中间产物 7-(3-氯-N-(2-吡啶基)苯磺酰胺基)-N-甲氧基庚酰胺 (4.4g)。收率:71%。

[0067] 步骤 c:向溶解有盐酸羟胺 (13.7g,198.54mmol) 的 200ml 甲醇溶液中加入氢氧化钾 (11.71g,198.54mmol),在室温下搅拌 30 分钟,过滤。将 7-(3-氯-N-(2-吡啶基)苯磺酰胺基)-N-甲氧基庚酰胺 (4.4g,10.73mmol) 和另外 1.3 倍当量的氢氧化钾 (823.05mg,13.95mmol) 加入到滤液中。继续在室温下搅拌反应 24 小时。反应结束后,向反应体系中加入

入水,用 2mol/L 的盐酸中和反应溶液至 pH = 7。加入乙酸乙酯萃取,萃取液用饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,旋干。硅胶柱层析分离出 7-(3-氯-N-(2-吡啶基)苯磺酰胺基)-N-羟基庚酰胺 (4.18g), 收率:94.6%。¹H-NMR(400MHz, CDCl₃): δ 8.59(s, 1H), 8.35(d, J = 4.4Hz, 1H), 7.76(t, J = 8.0Hz, 1H), 7.57-7.51(m, 3H), 7.45(d, J = 7.6Hz, 1H), 7.38(t, J = 8.0Hz, 1H), 7.21(t, J = 6.4Hz, 1H), 3.74(t, J = 6.8Hz, 2H), 2.12(t, J = 6.8Hz, 2H), 1.62-1.56(m, 2H), 1.46-1.40(m, 2H), 1.36-1.26(m, 4H)。MS: 理论值: [C₁₈H₂₂ClN₃O₄S]⁺(m/z): 411.90, 测试值: 412.1。

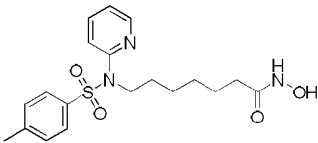
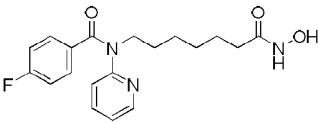
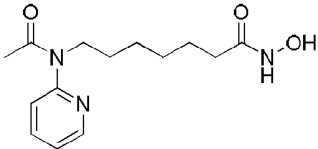
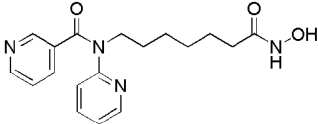
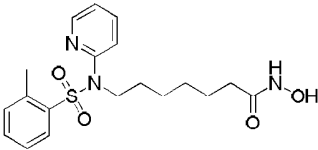
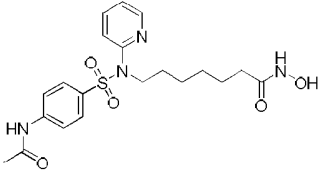
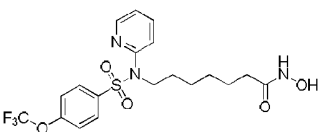
[0068] 采用类似的方法制备下述实施例 2 ~ 20 化合物 (见表 1):

[0069] 表 1:

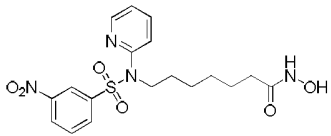
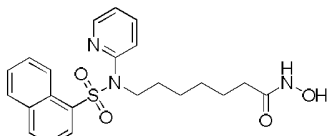
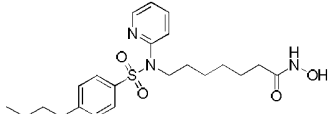
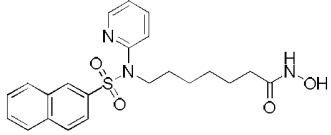
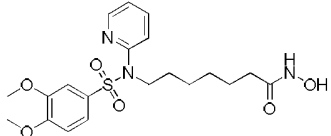
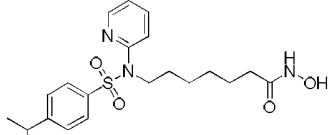
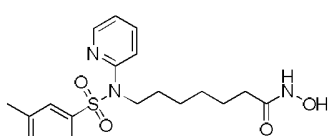
[0070]

实施例编号	化合物结构	Mass (ESI)
1		理论值: [C ₁₈ H ₂₂ ClN ₃ O ₄ S] ⁺ (m/z): 411.90, 测试值: 412.1
2		理论值: [C ₁₈ H ₂₂ ClN ₃ O ₄ S] ⁺ (m/z): 411.90, 测试值: 412.1
3		理论值: [C ₂₀ H ₂₅ N ₃ O ₅ S] ⁺ (m/z): 419.49, 测试值: 420.4.
4		理论值: [C ₁₈ H ₂₁ Cl ₂ N ₃ O ₄ S] ⁺ (m/z): 446.35, 测试值: 446.8.
5		理论值: [C ₂₄ H ₂₇ N ₃ O ₄ S] ⁺

[0071]

		(m/z): 453.55, 测试值: 454.6.
6		理论值: [C ₁₉ H ₂₅ N ₃ O ₄ S] ⁺ (m/z): 391.48, 测试值: 392.2.
7		理论值: [C ₁₉ H ₂₂ FN ₃ O ₃] ⁺ (m/z): 359.39, 测试值: 360.2.
8		理论值: [C ₁₄ H ₂₁ N ₃ O ₃] ⁺ (m/z): 279.33, 测试值: 280.4.
9		理论值: [C ₁₈ H ₂₂ N ₄ O ₃] ⁺ (m/z): 342.39, 测试值: 343.3.
10		理论值: [C ₁₉ H ₂₅ N ₃ O ₄ S] ⁺ (m/z): 391.16, 测试值: 392.2.
11		理论值: [C ₂₀ H ₂₆ N ₄ O ₅ S] ⁺ (m/z): 434.51, 测试值: 435.2.
12		理论值: [C ₁₉ H ₂₂ F ₃ N ₃ O ₅ S] ⁺ (m/z): 461.12, 测试值: 462.3.

[0072]

13		理论值: [C ₁₈ H ₂₂ N ₄ O ₆ S] ⁺ (m/z): 422.13, 测试值: 423.2.
14		理论值: [C ₂₂ H ₂₅ N ₃ O ₄ S] ⁺ (m/z): 427.16, 测试值: 428.3.
15		理论值: [C ₂₂ H ₃₁ N ₃ O ₄ S] ⁺ (m/z): 433.56, 测试值: 434.8.
16		理论值: [C ₂₂ H ₂₅ N ₃ O ₄ S] ⁺ (m/z): 427.16, found: 428.3.
17		理论值: [C ₂₀ H ₂₇ N ₃ O ₆ S] ⁺ (m/z): 437.16, 测试值: 438.3.
18		理论值: [C ₂₁ H ₂₉ N ₃ O ₄ S] ⁺ (m/z): 419.19, 测试值: 420.1.
19		理论值: [C ₁₉ H ₂₅ N ₃ O ₄ S] ⁺ (m/z): 391.16, 测试值: 392.2.

[0073] 采用本领域常用的成盐方法将上述制备的化合物与药学上可的酸、碱形成酸加成盐、碱加成盐、季铵盐。无机酸可以选自盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸和磷酸；有机酸可以选自乙酸、草酸、柠檬酸、苯甲酸、水杨酸、马来酸、月桂酸、苹果酸、富马酸、琥珀酸、酒石酸、甲磺酸、樟脑酸、乳酸、烟酸、肉桂酸、对甲苯磺酸、苯磺酸、谷氨酸和扁桃酸；无机碱可以选自碱

金属、碱金属的氢氧化物、碱土金属的氢氧化物；有机碱可以选自三乙胺、N-甲基-D-葡萄糖胺、胆碱三（羟甲基）氨基-甲烷、L-精氨酸、L-赖氨酸、N-乙基哌啶和二苄基胺。

[0074] （二）本发明的药物组合物的制备：

[0075] 本发明化合物可以添加合适药物稀释剂、药物赋形剂和 / 或药物载体形成药物组合物。本发明涉及的化合物可被制成通过任何与其药代动力学特性一致的任何途径给药的剂型，并制成任何药学上可以接受的给药形式，如血液给药、口服给药、肠内、非肠道和口服给药等等。可选的剂型为片剂、胶囊、粉剂、颗粒剂、锭剂、凝胶剂或注射剂。可口服给药的组合物的形式可以是片剂、胶囊、粉末、颗粒、锭剂、液体或凝胶制品如口服、局部或无菌肠胃外溶液或悬浮液。供口服给药的片剂或胶囊可采用单位剂型，并可含有常规赋形剂，如粘合剂，如糖浆、阿拉伯胶、明胶、山梨糖醇、黄耆胶或聚乙烯吡咯烷酮；填料，如乳糖、蔗糖、玉米淀粉、磷酸钙、山梨糖醇或甘氨酸；润滑剂，如硬脂酸镁、滑石、聚乙二醇或二氧化硅；崩解剂，如马铃薯淀粉；润湿剂如月桂基硫酸钠。可按照常规制药实践中熟知的方法将片剂包衣。口服液体制剂的形式可以是，例如，水性或油性悬浮液、溶液、乳剂、糖浆剂或者可呈现为在使用前用水或其它合适载体重建的干燥产品。这种液体制剂可含有常规的添加剂，如悬浮剂，例如山梨糖醇、糖浆、羧甲基纤维素、葡萄糖浆、明胶、氢化食用脂肪；乳化剂，例如卵磷脂、去水山梨糖醇单油酸酯或阿拉伯胶；非水性载体（可包括食用油），例如杏仁油、分馏椰子油、油性酯如甘油、丙二醇或乙醇；防腐剂，例如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯或山梨酸，需要的话还可含有常规的调味剂或着色剂。以及各种注射剂给药形式，冻干、粉针、针剂、输液、微蕊微针表皮给药等等。

[0076] 对于非肠道给药，特别是注射溶液剂或混悬剂，尤其是活性化合物在聚羟基乙氧基化蓖麻油中的水溶液为适宜的。

[0077] 作为载体系统，也可使用表面活性助剂，比如胆汁酸的盐或动物或植物磷脂，和其混合物，以及脂质体或其成分。

[0078] 用于任何特定患者的具体剂量水平将取决于各种因素，其中包括采用的具体化合物的活性、年龄、体重、健康状态、性别、饮食、给药次数、给药途径、排泄率、药物组合以及接受治疗的特定疾病的严重性。最佳剂量水平和给药频率将由临床试验来确定。

[0079] （三）本发明化合物的生物活性测试：

[0080] 用购自 BPS 的 HDAC 荧光活性分析试剂盒测量化合物抑制组蛋白脱乙酰基酶活性的能力。简言之，在存在或不存在抑制剂时将荧光团标记的底物 (Fluorogenic, acetylated peptide substrate) 与 HDAC 酶一起孵育。底物的脱乙酰化使底物对赖氨酸显影剂敏感从而产生荧光。最终的荧光团可以通过荧光读板仪或荧光计分析。因此，将底物与 HDAC 酶一起孵育导致信号增强，而当存在 HDAC 抑制剂时信号减弱。

[0081] 数据表达为不存在抑制剂时测得的对照的百分比，所有样品要减去背景信号，如下所不：

[0082] $\% \text{活性} = [(S_i - B) / (S_0 - B)] * 100$

[0083] 其中， S_i 是存在底物，酶和抑制剂时的信号， S_0 是存在底物，酶和抑制剂溶解于其中的载体时的信号，而 B 是不存在酶时测得的背景信号。

[0084] 确定 IC_{50} 值时采用 Graphpad Prism 软件，将 10 个数据点的结果拟合到具有可变斜率的 S 形剂量反应曲线方程（%活性与化合物浓度的对数），然后通过非线性回归分析确

定 IC_{50} 值。

[0085] IC_{50} 结果被归入 3 个范围之一,定义如下:

[0086] 范围 A : IC_{50} 小于 100nM

[0087] 范围 B : IC_{50} 从 101nM 到 1000nM

[0088] 范围 C : IC_{50} 大于 1001nM

[0089] 下表 2 列出了本文部分实施例化合物的结果。

[0090] 表 2:

[0091]

实施例	对 HDAC 的抑制活性
1	B
2	B
4	A
5	A
11	C
15	B

[0092] 上表 2 中列出的 6 个实施例化合物对 HDAC 酶活性均具有一定的抑制作用,其中化合物 4 和 5 对 HDAC 酶活性半抑制浓度 IC_{50} 小于 100nM,与阳性化合物 SAHA (对 HDAC 的 IC_{50} 值为 26.44nM) 非常接近,显示出对 HDAC 酶活性的强烈抑制效果。

[0093] 本发明化合物可与许多已知的药学活性物质联合使用。例如,本发明化合物可与转录调节因子(如 5-杂氮-2'-脱氧胞苷、视黄酸、mRNA 转录抑制剂 flavopiridol)、凋亡受体配体(如阿霉素、长春新碱、依托泊苷、多烯紫杉醇)、化疗药物(如抗代谢药吉西他滨、全反式维甲酸)以及激酶抑制剂、放射线等联合用药。