



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109336869 A

(43)申请公布日 2019.02.15

(21)申请号 201811283109.5

(22)申请日 2018.10.31

(71)申请人 南京先进生物材料与过程装备研究院有限公司

地址 210000 江苏省南京市溧水经济开发区溧水产业新城科创中心

(72)发明人 郭程杰

(74)专利代理机构 南京中律知识产权代理事务所(普通合伙) 32341

代理人 沈振涛

(51)Int.Cl.

C07D 405/14(2006.01)

A61K 31/53(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

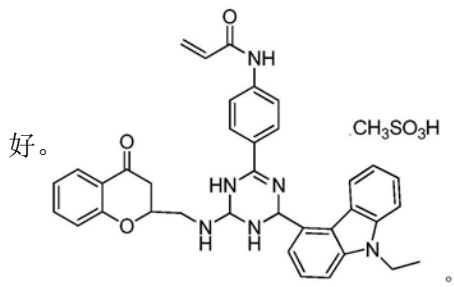
权利要求书2页 说明书9页

(54)发明名称

一种STAT3抑制剂的甲磺酸盐及其制备方法与用途

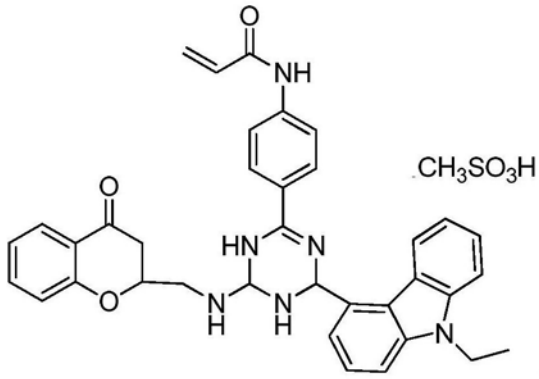
(57)摘要

本发明属于药物化学领域,涉及一种STAT3抑制剂的甲磺酸盐及其制备方法与用途,具体地,本发明涉及4-(9-乙基-9H-咪唑-4-基)-6-(4-烯丙酰氨基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺的甲磺酸盐及其制备方法与用途,所述4-(9-乙基-9H-咪唑-4-基)-6-(4-烯丙酰氨基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺甲磺酸盐的结构如下所示,其甲磺酸盐水溶性好、生物利用度高、稳定性好。



CN 109336869 A

1.4-(9-乙基-9H-吡啶-4-基)-6-(4-烯丙酰氨基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺的甲磺酸盐,结构式如下所示:



2. 权利要求1所述的甲磺酸盐的的制备方法,包括以下步骤:

步骤a:2-羟基苯乙酮乙酰化制得式(1)的化合物;

步骤b:式(1)的化合物环合制得式(2)的化合物;

步骤c:式(2)的化合物溴代制得式(3)的化合物;

步骤d:式(3)的化合物氨基取代制得式(4)的化合物;

步骤e:4-硝基苯甲酸甲酯与缩二脲环合制得式(5)的化合物;

步骤f:式(5)的化合物氯代制得式(6)的化合物;

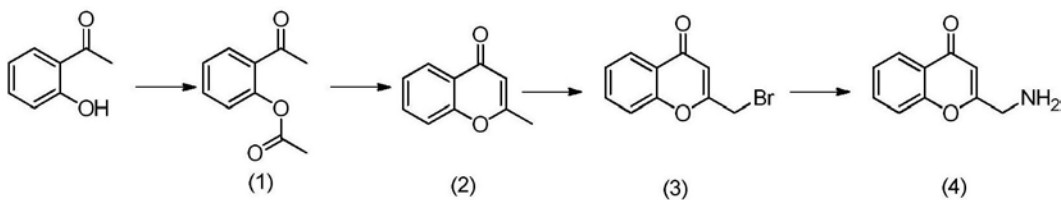
步骤g:式(6)的化合物与式(4)的化合物反应制得式(7)的化合物;

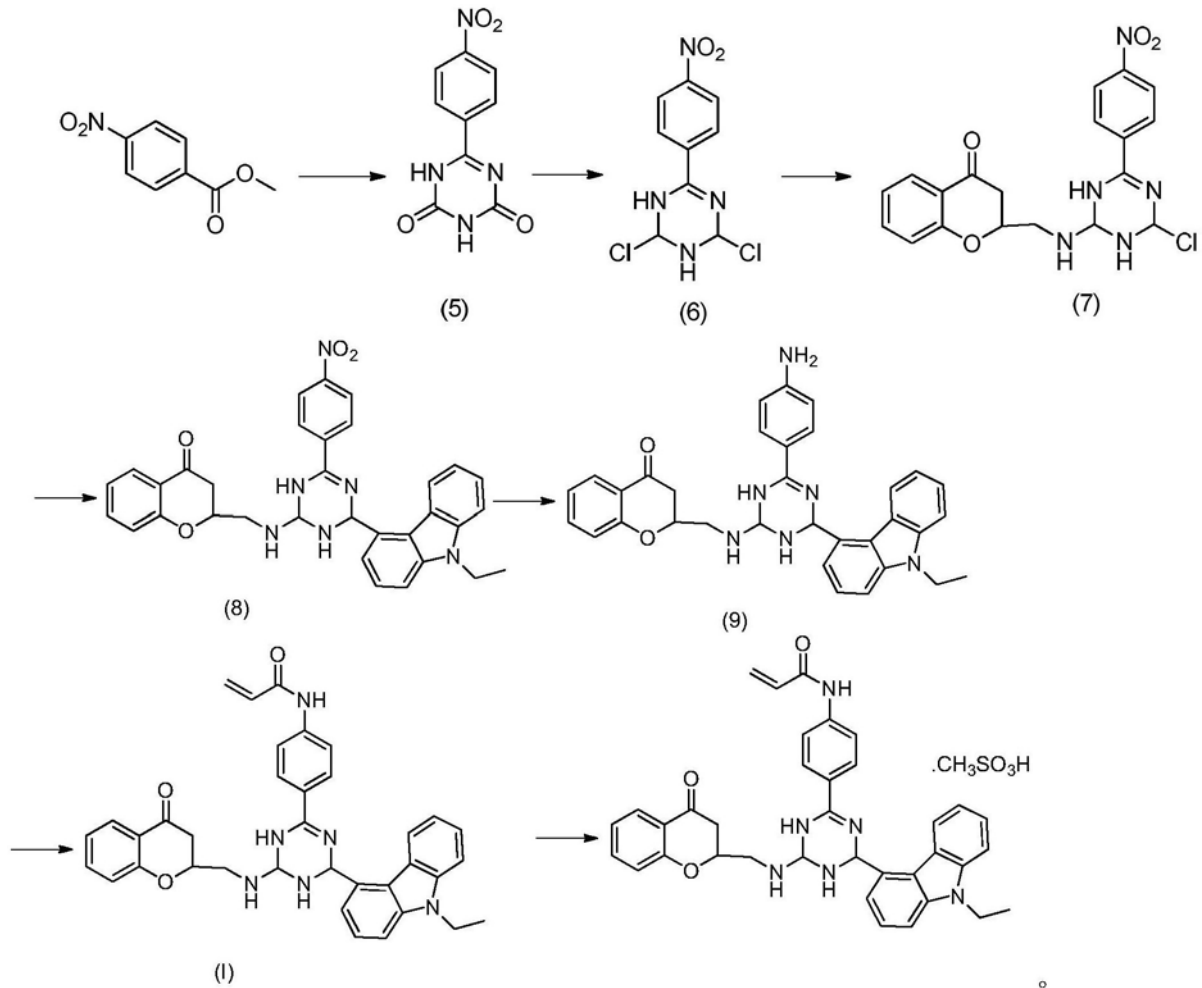
步骤h:式(7)的化合物与4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂戊环硼烷)-9-乙基-9H-吡啶反应制得式(8)的化合物;

步骤i:式(8)的化合物还原氢化制得式(9)的化合物;

步骤j:式(9)的化合物与烯丙酰氯反应制得式(I)的化合物;

步骤k:式(I)的化合物与甲磺酸反应制得式(I)化合物甲磺酸盐,反应路线如下:





3. 如权利要求2所述的制备方法,其特征在于:式(I)化合物与甲磺酸反应的溶剂选自醇、酮、乙酸乙酯或它们的混合物;优选地,式(I)化合物与甲磺酸反应的溶剂选自甲醇、乙醇、丙酮、乙酸乙酯或它们的混合物。

4. 如权利要求2所述的制备方法,其特征在于:式(I)化合物与甲磺酸反应的摩尔比为约1:1-1.1;优选地,式(I)化合物与甲磺酸反应的摩尔比为约1:1。

5. 包含权利要求1所述甲磺酸盐及药学上可接受的载体的药物组合物。

6. 权利要求1所述的甲磺酸盐及权利要求5所述的药物组合物在制备用于治疗 and/或预防癌症的药物中的应用。

7. 如权利要求6所述的应用,所述的癌症是前列腺癌。

一种STAT3抑制剂的甲磺酸盐及其制备方法与用途

技术领域

[0001] 本发明属于药物化学领域,涉及一种STAT3抑制剂的甲磺酸盐及其制备方法与用途,具体地,本发明涉及4-(9-乙基-9H-咪唑-4-基)-6-(4-烯丙酰氨基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺的甲磺酸盐及其制备方法与用途。

背景技术

[0002] 癌症是一大类恶性肿瘤的统称,其特点是无限制、无止境地增生。癌细胞使患者体内的营养物质被大量消耗,同时释放出多种毒素,使人体产生一系列症状,导致人体消瘦、无力、贫血、食欲不振、发热以及严重的脏器功能受损,引起坏死出血合并感染,患者最终由于器官功能衰竭而死亡。

[0003] 信号传导与转录激活因子-3(Signal Transducer and Activator of Transcription-3, STAT3)是一种可以被不同的细胞因子受体激活的相关蛋白,在细胞因子-受体相互作用的过程中充当载体,保持信号在细胞内传递的内在特异性,并通过诱导靶基因转录来表达生物刺激的效应作用,除了参与血管生成和免疫应答之外,还与细胞的增殖、生存、分化、抗凋亡等密切相关。STAT3在多种肿瘤细胞(包括白血病、多发性骨髓瘤等血液肿瘤以及肺癌、乳腺癌、前列腺癌等多种实体肿瘤)中表达异常升高,与恶性肿瘤的发生、发展密切相关。

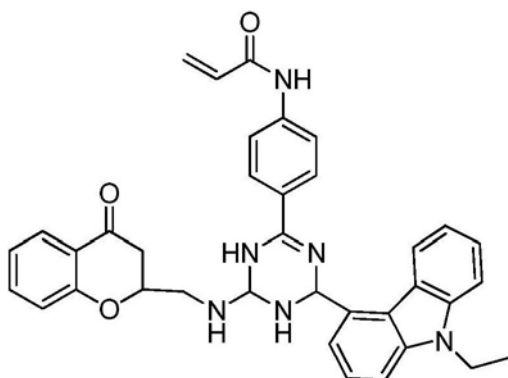
[0004] 通过抑制STAT3活性有望使癌细胞出现凋亡从而达到治疗癌症的目的,最近研究发现,抑制STAT3信号可以克服包括视网膜母细胞瘤、肺癌、白血病等多种肿瘤的化学耐药性,STAT3已经成功研发为一个新的抗肿瘤靶标。因此,积极寻找新的STAT3抑制剂对于癌症的治疗有着极为重要的意义。

[0005] 化合物(I)的化学名称为4-(9-乙基-9H-咪唑-4-基)-6-(4-烯丙酰氨基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺,体外细胞活性检测发现其对前列腺癌细胞DU-145具有良好的抑制活性,IC₅₀值为8.6nM,具有良好的应用前景。但在化合物(I)的成药性研究过程中,本发明的发明人发现不同化合物(I)药用盐在水溶性、生物利用度等方面有较大的差异。因此,深入研究找到适合药用的4-(9-乙基-9H-咪唑-4-基)-6-(4-烯丙酰氨基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺盐型,十分必要。

发明内容

[0006] 一方面,本发明提供4-(9-乙基-9H-咪唑-4-基)-6-(4-烯丙酰氨基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺的甲磺酸盐,4-(9-乙基-9H-咪唑-4-基)-6-(4-烯丙酰氨基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺的结构式如式(I)所示,其甲磺酸盐水溶性好、生物利用度高、稳定性好,

[0007]



式 (I)。

[0008] 另一方面,本发明提供4-(9-乙基-9H-吡啶-4-基)-6-(4-烯丙酰氨基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺甲磺酸盐的制备方法,包括以下步骤:

[0009] 步骤a:2-羟基苯乙酮乙酰化制得式(1)的化合物;

[0010] 步骤b:式(1)的化合物环合制得式(2)的化合物;

[0011] 步骤c:式(2)的化合物溴代制得式(3)的化合物;

[0012] 步骤d:式(3)的化合物氨基取代制得式(4)的化合物;

[0013] 步骤e:4-硝基苯甲酸甲酯与缩二脲环合制得式(5)的化合物;

[0014] 步骤f:式(5)的化合物氯代制得式(6)的化合物;

[0015] 步骤g:式(6)的化合物与式(4)的化合物反应制得式(7)的化合物;

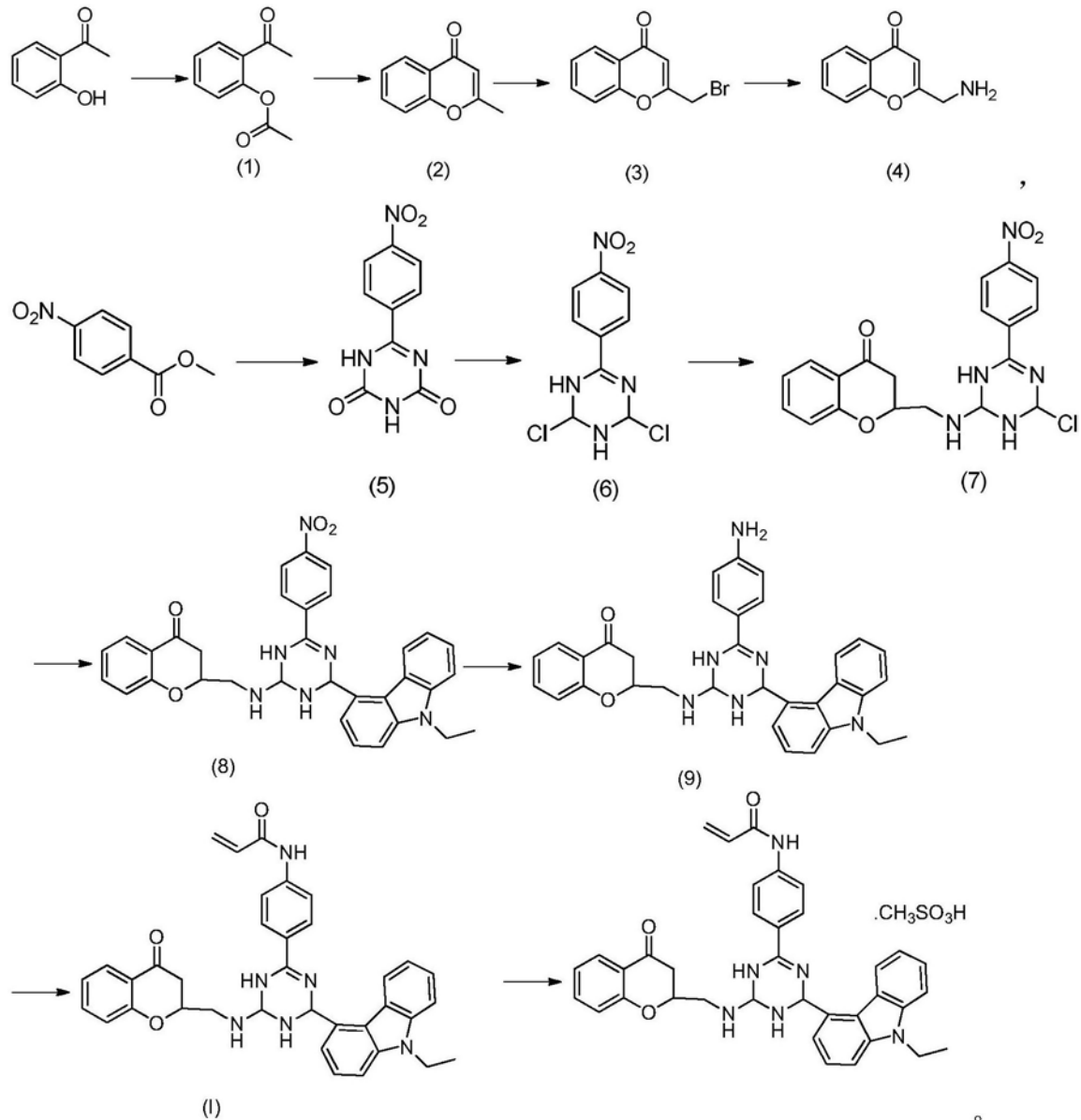
[0016] 步骤h:式(7)的化合物与4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂戊环硼烷)-9-乙基-9H-吡啶反应制得式(8)的化合物;

[0017] 步骤i:式(8)的化合物还原氢化制得式(9)的化合物;

[0018] 步骤j:式(9)的化合物与烯丙酰氯反应制得式(I)的化合物;

[0019] 步骤k:式(I)的化合物与甲磺酸反应制得式(I)化合物甲磺酸盐,反应路线如下:

[0020]



[0021] 在一些优选的实施方案中,式(I)化合物与甲磺酸反应的溶剂选自醇、酮、乙酸乙酯或它们的混合物;在进一步优选的实施方案中,式(I)化合物与甲磺酸反应的溶剂选自甲醇、乙醇、正丙醇、异丙醇、丙酮、甲基乙基酮、甲基异丁基酮、乙酸乙酯或它们的混合物;在更进一步优选的实施方案中,式(I)化合物与甲磺酸反应的溶剂选自甲醇、乙醇、丙酮、乙酸乙酯或它们的混合物。

[0022] 在一些优选的实施方案中,式(I)化合物与甲磺酸反应的摩尔比为约1:1-1.1;在进一步优选的实施方案中,式(I)化合物与甲磺酸反应的摩尔比为约1:1。

[0023] 在一些具体的实施方案中,式(I)化合物与甲磺酸在溶剂乙醇中,按照式(I)化合物与甲磺酸的摩尔比为1:1,室温下反应0.5-1h即得。

[0024] 第三方面,本发明提供了一种药物组合物,其含有4-(9-乙基-9H-吡唑-4-基)-6-(4-烯丙酰氨基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺甲磺酸盐及药学上可接受的载体。

[0025] 第四方面,本发明提供了4-(9-乙基-9H-吡唑-4-基)-6-(4-烯丙酰氨基苯基)-N-

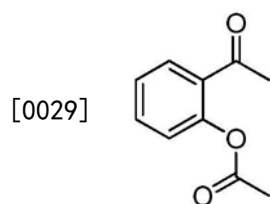
(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺甲磺酸盐或包含所述4-(9-乙基-9H-咪唑-4-基)-6-(4-烯丙酰氨基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺甲磺酸盐的药物组合物在制备用于治疗 and/或预防癌症的药物中的应用,所述癌症包括但不限于前列腺癌。

具体实施方式

[0026] 以下结合实施例更详细的解释本发明,本发明的实施例仅用于说明本发明的技术方案,并非限定本发明的范围。

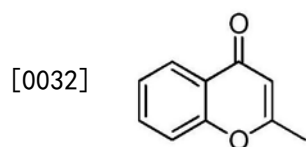
[0027] 实施例1 2-氨基-4H-色烯-4-酮盐酸盐的制备

[0028] 步骤1 2-乙酰氧基苯乙酮的制备



[0030] 将2-羟基苯乙酮(100mmol)、乙酰氯(250mmol)和碳酸钾(500mmol)加入反应瓶中,加入300ml丙酮,回流反应12h,反应结束后,减压蒸除溶剂,加入水,乙酸乙酯萃取,无水硫酸钠干燥,浓缩得油状物,直接投下一步。

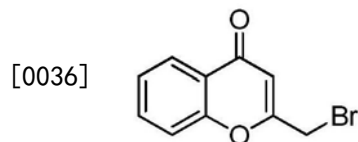
[0031] 步骤2 2-甲基-4H-色烯-4-酮的制备



[0033] 称取2-乙酰氧基苯乙酮(50mmol)于反应瓶中,加入100ml DMSO溶解,0-5℃下分批加入钠氢(150mmol),加毕,升至室温搅拌3h,反应结束后,向反应液中加入水,稀盐酸调pH值到弱酸性,乙酸乙酯萃取,无水硫酸钠干燥,浓缩得油状物,向所得油状物中加入100ml乙酸和5滴浓盐酸,回流反应约3h,反应结束,将反应液旋干,加入水,乙酸乙酯萃取,无水硫酸钠干燥,柱层析纯化得标题化合物。

[0034] ES:M/Z 161[M+H]⁺。

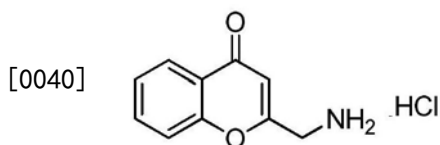
[0035] 步骤3 2-溴甲基-4H-色烯-4-酮的制备



[0037] 将步骤2所得2-甲基-4H-色烯-4-酮(10mmol)、N-溴代琥珀酰亚胺(NBS,10mmol)和过氧化苯甲酰(BPO,0.95mmol)加入反应瓶中,加20ml四氯化碳溶解,回流反应12h,反应结束后,反应液加水,乙酸乙酯萃取,无水硫酸钠干燥,柱层析纯化,得标题化合物。

[0038] ES:M/Z 239[M+H]⁺。

[0039] 步骤4 2-氨基-4H-色烯-4-酮盐酸盐的制备

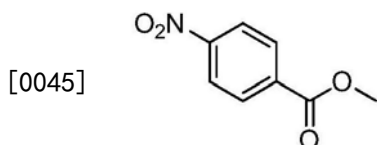


[0041] 将步骤3所得2-溴甲基-4H-色烯-4-酮(0.5mmol)加入反应瓶中,加入5ml DMF溶解,加入2ml氨水,室温搅拌12h,反应结束后,反应液加入水,乙酸乙酯萃取,无水硫酸钠干燥,过滤,旋干,加入乙酸乙酯5ml,搅拌溶解后加入饱和的乙酸乙酯氯化氢溶液至上清层无沉淀生成,过滤,干燥,得标题化合物。

[0042] ES:M/Z 239[M+H]⁺。

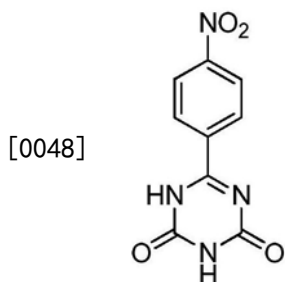
[0043] 实施例2 2,4-二氯-6-(4-硝基苯基)-1,3,5-三嗪的制备

[0044] 步骤1 4-硝基苯甲酸甲酯的制备



[0046] 称取4-硝基苯甲酸(250mmol)于反应瓶中,加入300mL甲醇溶解,滴加氯化亚砷(375mmol),滴毕回流反应12h,反应结束后,减压旋干,加入饱和碳酸氢钠溶液调节pH至7-8,乙酸乙酯萃取,无水硫酸钠干燥,浓缩得标题化合物,直接投下一步。

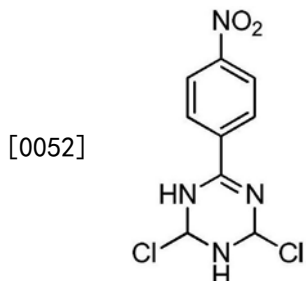
[0047] 步骤2 6-(4-硝基苯基)-1,3,5-三嗪-2,4-(1H,3H)-二酮的制备



[0049] 称取缩二脲(100mmol)于反应瓶中,加入150mL乙二醇二甲醚溶解,0-5℃下分批加入氢氧化钠(83.4mmol),加毕,50℃下搅拌反应1h,再加入4-硝基苯甲酸甲酯(83.4mmol),加毕,升温至85℃反应20h,反应结束后,将反应液倒入水中,用浓盐酸调节pH至酸性,过滤,滤饼烘干,得标题化合物。

[0050] ES:M/Z 235[M+H]⁺。

[0051] 步骤3 2,4-二氯-6-(4-硝基苯基)-1,3,5-三嗪的制备

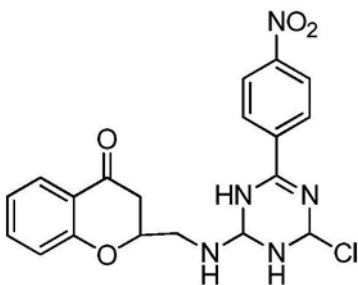


[0053] 将6-(4-硝基苯基)-1,3,5-三嗪-2,4-(1H,3H)-二酮(200mmol)加入反应瓶中,加入200mL三氯氧磷,五氯化磷(800mmol),105℃反应12h,反应结束后,将反应液倒入水中,二氯甲烷萃取,无水硫酸钠干燥,浓缩得标题化合物。

[0054] ES:M/Z 275[M+H]⁺。

[0055] 实施例3 4-氯-6-(4-硝基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺的制备

[0056]



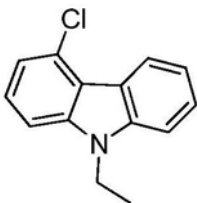
[0057] 称取实施例2所得物2,4-二氯-6-(4-硝基苯基)-1,3,5-三嗪(50mmol)于反应瓶中,加入100mL四氢呋喃溶解,加入实施例1所得物2-氨基-4H-色烯-4-酮三氟甲磺酸盐2-(三氟甲基)-吡啶-4-胺(55mmol),碳酸钠(100mmol),回流反应72h,过滤,柱层析纯化得标题化合物。

[0058] ES:M/Z 416[M+H]⁺。

[0059] 实施例4 4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂戊环硼烷)-9-乙基-9H-咪唑的制备

[0060] 步骤1 4-氯-9-乙基-9H-咪唑的制备

[0061]

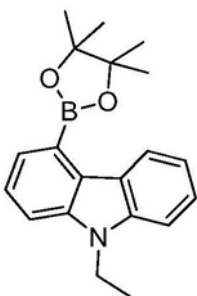


[0062] 称取4-氯咪唑(5.46mmol)于反应瓶中,加入20mL THF溶解,冷却至-10℃,加入NaH(14mmol),加毕,搅拌30分钟后,加溴乙烷(6mmol),加毕,室温反应3h,反应结束,加水淬灭,乙酸乙酯萃取,干燥,浓缩,经制备色谱纯化得4-氯-9-乙基-9H-咪唑。

[0063] ES:M/Z 230[M+H]⁺。

[0064] 步骤2 4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂戊环硼烷)-9-乙基-9H-咪唑的制备

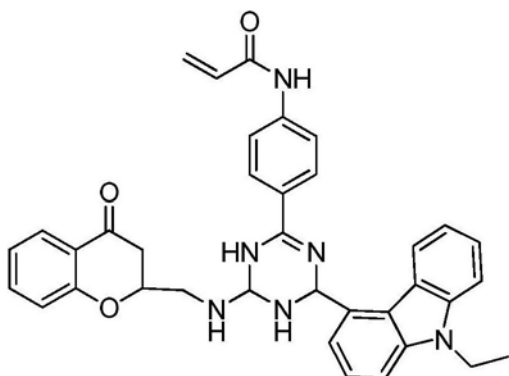
[0065]



[0066] 称取步骤1所得物4-氯-9-乙基-9H-咪唑(1mmol)、联硼酸频哪醇酯(1.1mmol)、醋酸钾(2mmol)和1,1'-二(二苯膦基)二茂铁二氯化钯(Pd(dppf)Cl₂,2mmol)于反应瓶中,加入5mL1,4-二氧六环,氮气保护条件下100℃反应24h,反应结束后,加入水,乙酸乙酯萃取,合并有机相,饱和食盐水洗涤,合并有机相,干燥,过滤,浓缩,柱层析纯化得到标题化合物。

[0067] 实施例5 4-(9-乙基-9H-咪唑-4-基)-6-(4-烯丙酰氨基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺的制备

[0068]



[0069] 步骤1 4-(9-乙基-9H-吡唑-4-基)-6-(4-硝基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺的制备

[0070] 在30ml微波反应瓶中,依次加入实施例3所得混合物4-氯-6-(4-硝基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺(10mmol)、实施例4所得物4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂戊环硼烷)-9-乙基-9H-吡唑(10mmol)、[1,1'-双(二苯基膦)二茂铁]氯化铯二氯甲烷络合物(0.1mmol)、x-phos(0.4mmol)、碳酸铯(100mmol)和1,4-二氧六环/H₂O(60ml/10ml),溶解,氩气置换,105℃微波反应90min,浓缩,柱层析纯化得标题化合物。

[0071] ES:M/Z 575[M+H]⁺。

[0072] 步骤2 4-(9-乙基-9H-吡唑-4-基)-6-(4-氨基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺的制备

[0073] 称取步骤1所得物4-(9-乙基-9H-吡唑-4-基)-6-(4-硝基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺(1mmol)、10%Pd-C(10mg)于反应瓶中,加入15ml甲醇,在1个标准大气压下,H₂还原1h,停止反应,过滤,浓缩标题化合物,直接用于下一步。

[0074] ES:M/Z 545[M+H]⁺。

[0075] 步骤3 4-(9-乙基-9H-吡唑-4-基)-6-(4-烯丙酰氨基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺的制备

[0076] 称取步骤2所得物4-(9-乙基-9H-吡唑-4-基)-6-(4-氨基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺(0.1mmol)、二异丙基乙胺(0.3mmol)于反应瓶中,加入15ml无水二氯甲烷溶解,缓慢滴入溶解有烯丙基酰氯(0.12mmol)的二氯甲烷(1ml)溶液,10min反应完全,浓缩,柱层析纯化得标题化合物。

[0077] ¹H NMR(600MHz,CDCl₃)(δ,ppm):10.12(s,1H),8.12(m,1H),7.80~7.82(m,2H),7.78~7.79(m,1H),7.67~7.69(m,2H),7.50~7.52(m,2H),7.43~7.45(m,2H),7.31~7.32(m,2H),7.07~7.09(m,2H),6.97~6.99(m,1H),6.68~6.70(m,1H),6.02~6.04(m,1H),5.56(s,1H),5.50~5.52(m,1H),4.88(s,1H),4.46~4.51(m,3H),3.06~3.08(m,2H),2.81~2.84(m,2H),2.01~2.03(brs,2H),1.91~1.93(brs,1H),1.30~1.31(t,3H)。

[0078] ES:M/Z 599[M+H]⁺。

[0079] 实施例6:4-(9-乙基-9H-吡唑-4-基)-6-(4-烯丙酰氨基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺甲磺酸盐的制备

[0080] 称取实施例5化合物(0.5mmol)于反应瓶中,加乙醇10mL,室温下搅拌溶解后,滴加甲磺酸丙酮溶液(含甲磺酸0.5mmol)1mL,滴毕,室温下继续搅拌0.5h,减压蒸除溶剂,室温下真空干燥获得标题化合物。

[0081] 实施例7:4-(9-乙基-9H-吡啶-4-基)-6-(4-烯丙酰氨基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺甲磺酸盐的制备

[0082] 称取实施例5化合物(0.5mmol)于反应瓶中,加乙酸乙酯10mL,室温下搅拌溶解后,滴加甲磺酸丙酮溶液(含甲磺酸0.55mmol)1mL,滴毕,室温下继续搅拌0.5h,减压蒸除溶剂,室温下真空干燥获得标题化合物。

[0083] 实验例1:生物活性测定

[0084] 化合物准备:将POD810全自动微孔板预处理系统将本发明实施例5和实施例6制备的化合物加入孔板中,化合物起始浓度为100uM,每个化合物做双复孔,2倍稀释10个点。

[0085] 细胞的培养:分别将前列腺癌细胞DU-145、人乳腺癌细胞MDA-MB-468用含15%胎牛血清(FBS)的RPMI-1640培养基,在37度培养箱内培养,取对数生长期细胞用于实验。

[0086] MTT细胞存活性实验:分别将前列腺癌细胞DU-145、人乳腺癌细胞MDA-MB-468接种于96孔板中($5-10 \times 10^4$ cells/well),分别用实施例5和6的化合物处理48h,每孔中加入20 μ l 3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐(MTT)孵化4h,然后加入每孔中100 μ l DMSO,置摇床上低速振荡10min,使结晶物充分溶解。在酶联免疫检测仪OD 490nm处测量各孔的吸光值,使用GraphPad Prism处理得到对应曲线和IC₅₀值,结果见表1。

[0087] 表1

[0088]

化合物	DU-145 IC ₅₀ 值 (nM)	化合物	MDA-MB-468 IC ₅₀ 值 (nM)
实施例 5	8.6	实施例 5	19.0
实施例 6	8.4	实施例 6	19.5

[0089] 实验结果表明,本发明对具有持续激活的STAT3活性的MDA-MB-468细胞、DU-145细胞具有良好的抑制作用。

[0090] 实验例2水溶性评价

[0091] 按2015年药典四部水溶性实验,实验结果见表2。

[0092] 表2

[0093]

化合物	水溶性
实施例6化合物	50.48mg/ml

[0094] 实验例3稳定性研究

[0095] 称取3份4-(9-乙基-9H-吡啶-4-基)-6-(4-烯丙酰氨基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺甲磺酸盐1.0g,分别平铺于培养皿中,1份开口置于光照照度为4500Lx \pm 500Lx条件下放置10天,1份开口置于室温85%相对湿度(RH)条件下放置10天,1份开口置于室温95%相对湿度(RH)条件下放置10天,于第0、5、10天取样,考查最大单杂、总杂质的变化,实验结果见表3。

[0096] 表3

[0097]

条件	时间	最大单杂含量	总杂含量
4500Lx±500Lx 光照	0 天	0.09%	0.22%
	5 天	0.10%	0.24%
	10 天	0.10%	0.22%
85%RH	0 天	0.08%	0.20%
	5 天	0.08%	0.21%
	10 天	0.07%	0.19%
95%RH	0 天	0.09%	0.19%
	5 天	0.08%	0.18%
	10 天	0.09%	0.19%

[0098] 上述实验结果均表明,本发明的4-(9-乙基-9H-咪唑-4-基)-6-(4-烯丙酰氨基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺甲磺酸盐具有良好的化学稳定性。