



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 111848629 B

(45) 授权公告日 2021.06.11

(21) 申请号 202010682309.9 *A61P 35/00* (2006.01)
(22) 申请日 2020.07.15 *A61P 35/02* (2006.01)
(65) 同一申请的已公布的文献号 *A61P 11/00* (2006.01)
申请公布号 CN 111848629 A *A61K 31/519* (2006.01)
(43) 申请公布日 2020.10.30 审查员 黄清昌
(73) 专利权人 安徽中医药大学
地址 230012 安徽省合肥市新站区前江路1号
(72) 发明人 马晓东 彭成军 张明明 李传润
陶强强 王虎传 胡孟奇 董宁
(74) 专利代理机构 合肥天明专利事务所(普通合伙) 34115
代理人 张梦媚
(51) Int. Cl.
C07D 487/04 (2006.01)

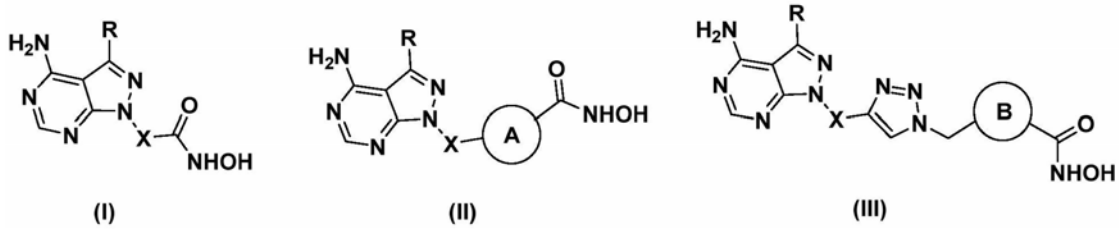
权利要求书3页 说明书17页

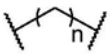
(54) 发明名称
一类mTOR/HDAC双重抑制剂及其应用

(57) 摘要

本发明公开了一类mTOR/HDAC双重抑制剂及其应用,该双重抑制剂具有mTOR和HDAC的双重抑制作用,具有比mTOR抑制剂更优的疗效,可用于制备抗肿瘤、抗特发性肺纤维化药物。

1. 一类mTOR/HDAC双重抑制剂,其特征在于:所述mTOR/HDAC双重抑制剂为如下列通式(I) - (III)所示的化合物及其药学上可接受的盐或氘代物:



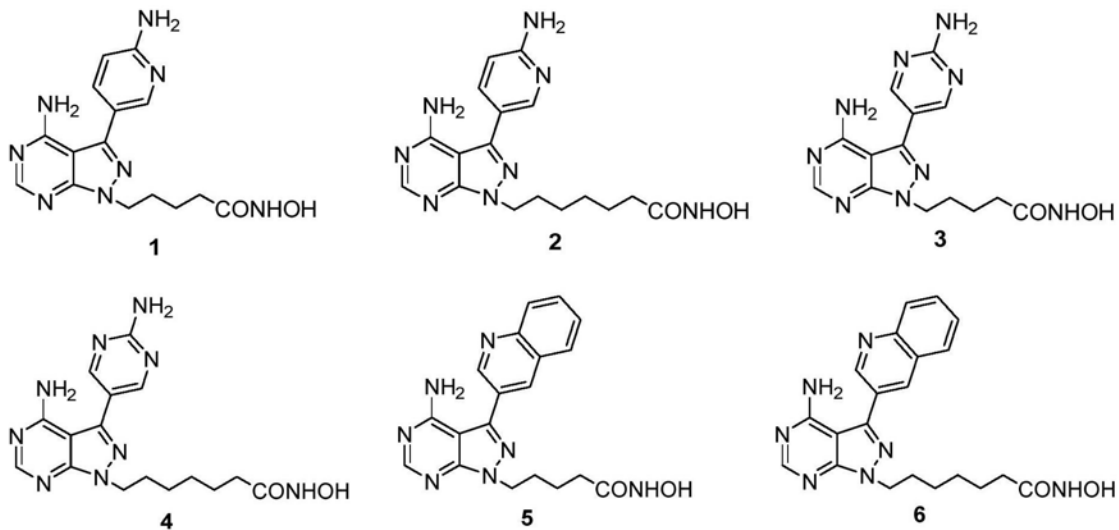
上式中,R是至少被1个 R_1 取代的C6-14芳基、C5-14杂芳基,X为,其中, $n=1\sim 10$;

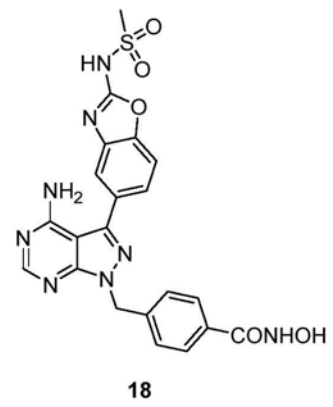
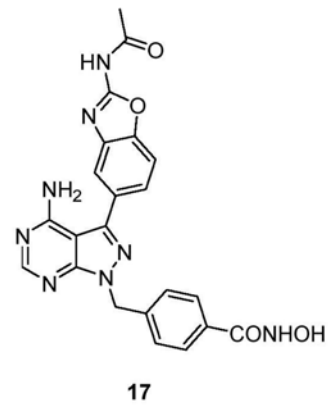
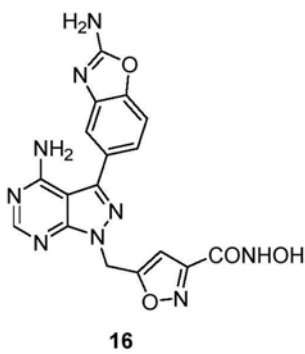
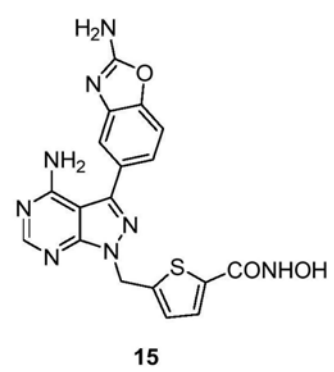
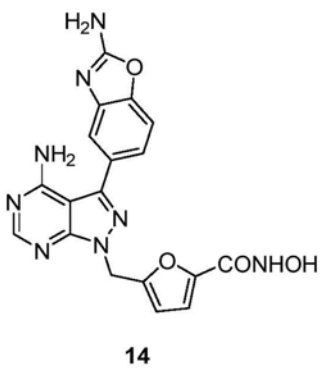
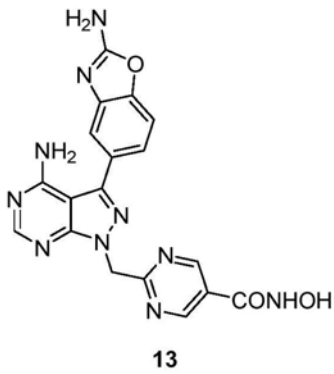
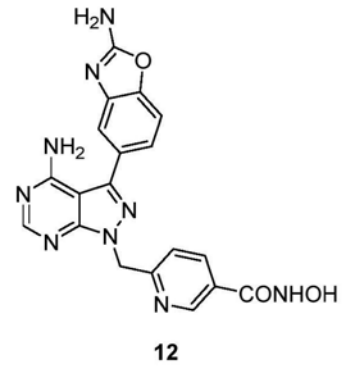
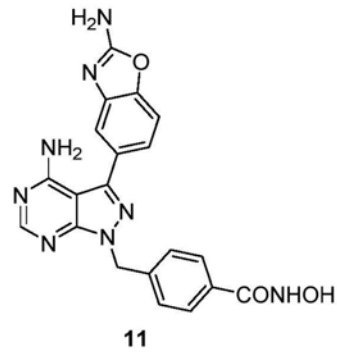
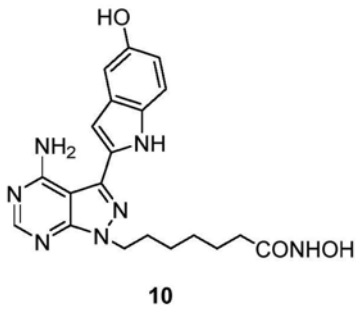
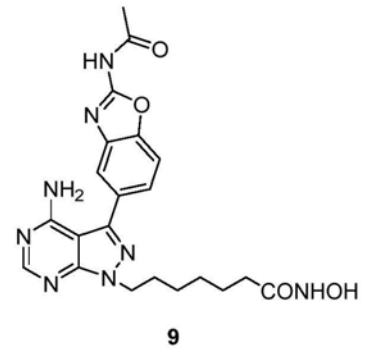
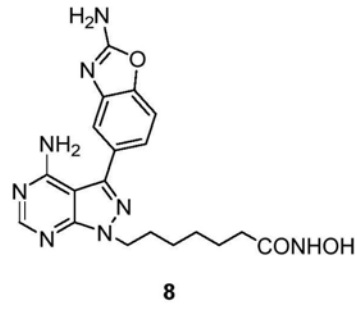
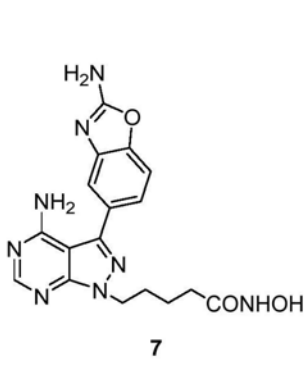
所述通式(II)中,环A为至少被1个 R_2 取代的C6-14芳基、C5-14杂芳基;

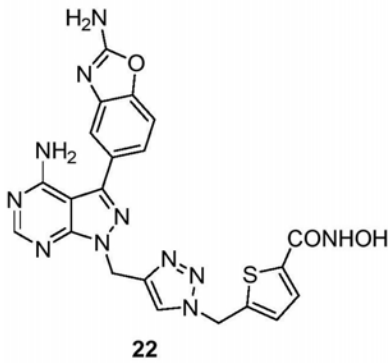
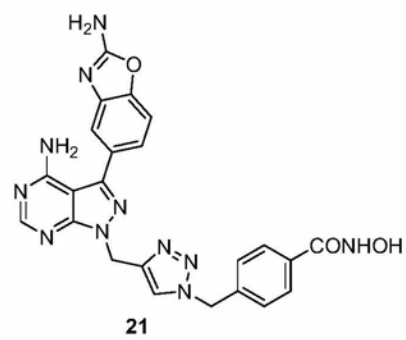
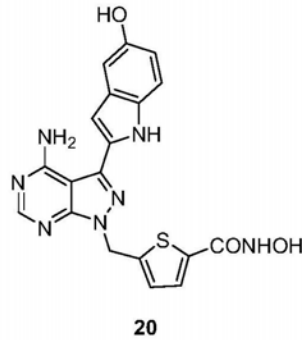
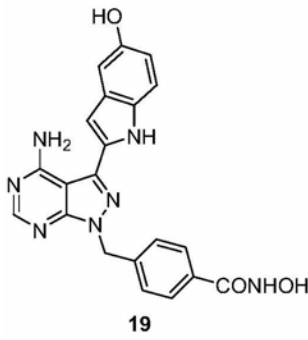
所述通式(III)中,环B为至少被1个 R_3 取代的C6-14芳基、C5-14杂芳基;

R_1 、 R_2 、 R_3 分别独立地选自氢、卤素、羟基、氰基、氨甲酰基、三氟甲基、三氟甲氧基、C1-6烷基、C1-6烷氧基、C2-6不饱和脂链烃基、 $N(R_4)_2$ 、 NR_4OR_4 、 $NR_4N(R_4)_2$ 、 $SO_2N(R_4)_2$ 、 $NR_4SO_2R_4$ 、 $NR_4CON(R_4)_2$ 、 NR_4COOR_4 、 NR_4COR_4 、 $CON(R_4)_2$,其中, R_4 独立地选自氢、C1-6烷基或C2-6不饱和脂链烃基。


2. 如权利要求1所述的一类mTOR/HDAC双重抑制剂,其特征在于:所述mTOR/HDAC双重抑制剂选自以下化合物及其药学上可接受的盐或氘代物:







3. 根据权利要求1所述的一类mTOR/HDAC双重抑制剂,其特征在于:所述mTOR/HDAC双重抑制剂为如通式(II)、(III)所示的化合物及其药学上可接受的盐或氘代物,其中,R如权利要求1所定义;

通式(II)中X为 , 其中, $n_1=1\sim 6$, 环A如权利要求1所定义;

通式(III)中X和环B如权利要求1所定义。

4. 如权利要求1-3任一项所述的一类mTOR/HDAC双重抑制剂在用于制备抗肿瘤药物或抗特发性肺纤维化药物中的应用,其中,所述肿瘤包括实体瘤、血液瘤。

5. 一种mTOR/HDAC双重抑制剂组合物,其特征在于:包括如权利要求1-3任一项所述的mTOR/HDAC双重抑制剂,还包括至少一种药用载体或赋形剂。

6. 如权利要求5所述的mTOR/HDAC双重抑制剂组合物在用于制备抗肿瘤药物或抗特发性肺纤维化药物中的应用。

7. 如权利要求5所述的mTOR/HDAC双重抑制剂组合物,其特征在于,还包括至少一种其他治疗剂,所述mTOR/HDAC双重抑制剂组合物的剂型为临床上或药学上可接受的任一剂型。

8. 如权利要求7所述的mTOR/HDAC双重抑制剂组合物在用于制备抗肿瘤药物或抗特发性肺纤维化药物中的应用。

一类mTOR/HDAC双重抑制剂及其应用

技术领域

[0001] 本发明属于药物化学领域,具体涉及一类mTOR/HDAC双重抑制剂及其应用,还涉及mTOR/HDAC双重抑制剂组合物及其应用。

背景技术

[0002] 由PIK3CA突变以及抑癌基因PTEN异常所致的PI3K/Akt/mTOR (PAM) 信号通路过度活化是最为常见的致癌因素之一。mTOR是该通路的关键信号分子,存在于蛋白复合物mTORC1和mTORC2中,许多恶性肿瘤中可见mTOR的异常活化。第一代mTOR抑制剂Temozolomide、Everolimus的上市充分证实了mTOR作为恶性肿瘤治疗靶点的应用价值。然而,上述两种药物仅能抑制mTORC1,故其抗癌谱较窄;此外,可激活S6K/IRS1/PI3K负反馈通路,从而导致自身抗肿瘤效果的削弱。第二代mTOR抑制剂为ATP竞争性抑制剂,可规避第一代药物的不足,现已有多个化合物进入临床研究。研究发现,肿瘤细胞可通过mTOR蛋白FRB区域及ATP结合口袋的突变,分别介导其对第一代、第二代药物的耐药性。与此同时,包括mTOR抑制剂在内的PAM通路抑制剂可激活相关信号旁路,继而导致耐药性的发生。因此,现获批上市或临床在研的mTOR抑制剂均存在疗效方面的不足。

[0003] HDAC可通过表观遗传或催化非组蛋白底物的去乙酰化,诱导肿瘤的发生与发展,亦是恶性肿瘤的有效治疗靶点。大量研究证实,HDAC抑制剂、mTOR抑制剂联用可获得协同效应,并削弱后者所致的交叉激活耐药,这为mTOR/HDAC双重抑制剂的研发提供了理论依据。鉴于药物联用疗法的药物间存在相互作用、毒副作用累加、药代动力学复杂、患者依从性差等问题,mTOR/HDAC双重抑制剂不仅有望获得比mTOR抑制剂更优的疗效、削弱其耐药性,亦能规避mTOR抑制剂、HDAC抑制剂联用疗法的药物间相互作用、毒副作用累加、药代动力学复杂、患者依从性差等问题,故研发价值显著。然而,迄今尚无mTOR/HDAC双重抑制剂上市或处于临床研究状态。

[0004] HDAC具有多种亚型,其中,HDAC6亚型具有特殊的结构和功能,其过表达可导致Ras、EGFR等信号通路异常,促进致癌性转化以及肿瘤细胞的生长、增殖、血管生成,并增强肿瘤细胞的侵袭性与转移性。新近研究表明,选择性抑制HDAC6可下调程序性死亡配体(Programmed death-ligand 1,PD-L1)的表达,从而发挥免疫治疗作用。当前,未见化合物在具有mTOR/HDAC双重抑制作用的同时,亦呈现抑制HDAC6亚型的选择性:此类化合物不仅可获得抑制mTOR、HDAC6的协同效应,而且能降低抑制所有或多种HDAC亚型抑制所致的毒副作用,故有望为恶性肿瘤治疗提供新疗法。

[0005] 除用于抗肿瘤外,抑制mTOR或HDAC亦可发挥抗特发性肺纤维化(Idiopathic pulmonary fibrosis,IPF)作用。IPF是一种慢性、进行性的肺间质疾病,好发于中老年人群,诊断后的平均生存期仅2-3年,死亡率高于大多数肿瘤。伴随着我国人口的老龄化,IPF患者数量逐年增加。现有的抗IPF药物仅能延缓疾病进程,但无法终止或逆转纤维化进程,故亟需发展具有新作用机制的抗IPF药物。由于IPF的发病进程较复杂,且涉及多通路,mTOR/HDAC双重抑制剂有望产生更优的治疗效果,且具有全新的抗IPF作用机制,可对IPF进

展过程中的上皮细胞损伤、成纤维细胞增殖、促纤维化基质蛋白表达、上皮间质转化实施“多靶点、多进程”的干预。

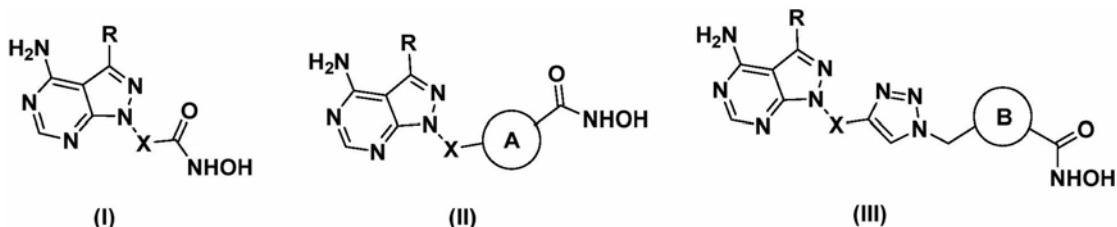
发明内容

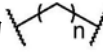
[0006] 针对现有mTOR抑制剂在抗肿瘤疗效方面的不足,以及联合用药所存在的问题,本发明提供了一类mTOR/HDAC双重抑制剂,其分子结构中兼具抑制mTOR和HDAC所需的结构单元,且多次活性测试证实,本发明中的化合物具有mTOR、HDAC双重抑制活性,以及显著的抗肿瘤活性。由于具有单分子多靶点效应,本发明中的化合物可规避mTOR抑制剂、HDAC抑制剂联用疗法的药物间相互作用、毒副作用累加、药代动力学复杂、患者依从性差等问题。

[0007] 同时,针对目前尚无采用mTOR/HDAC双重抑制剂进行IPF治疗的技术不足,本发明提供了所涉及mTOR/HDAC双重抑制剂在治疗IPF方面的用途,且多次活性测试证实,本发明中的化合物具有显著的抗IPF活性。

[0008] 为了实现上述目的,本发明采用以下技术方案:

[0009] 一类mTOR/HDAC双重抑制剂,所述mTOR/HDAC双重抑制剂为如下列通式(I) - (III)所示的化合物及其药学上可接受的盐或氘代物:



[0010] 上式中,R是至少被1个 R_1 取代的C6-14芳基、C5-14芳杂基,X为,其中, $n=1\sim 10$;

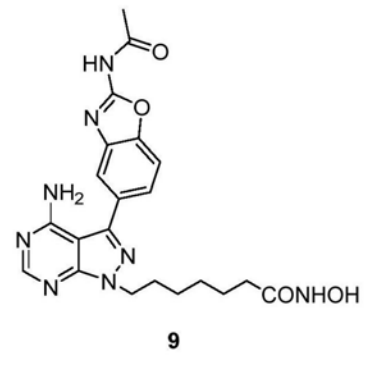
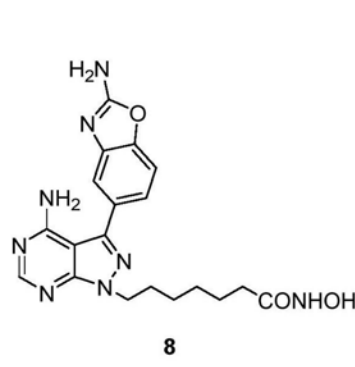
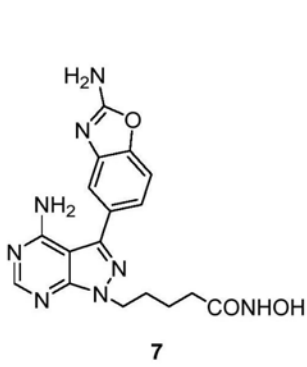
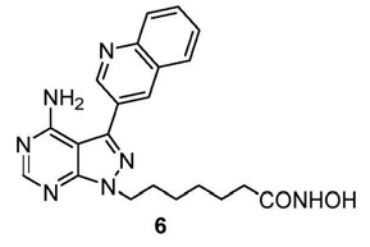
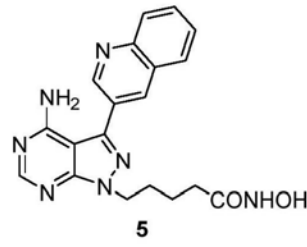
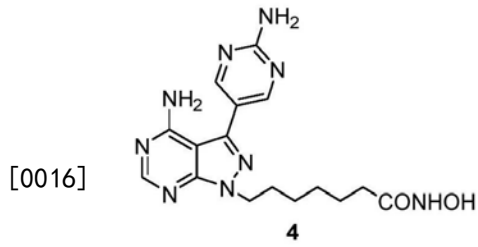
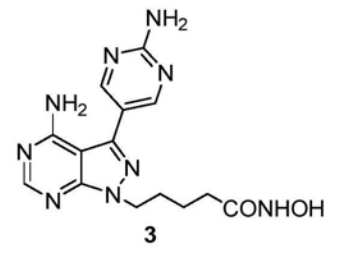
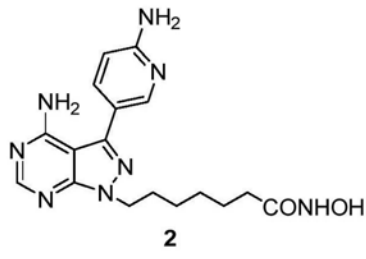
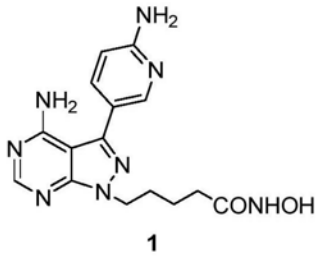
[0011] 所述通式(II)中,环A为至少被1个 R_2 取代的C6-14芳基、C5-14芳杂基;

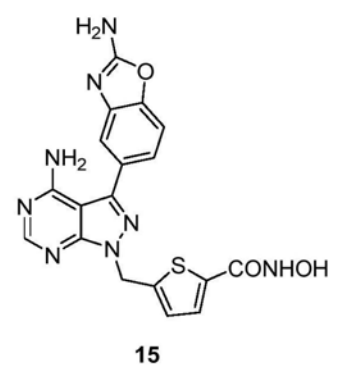
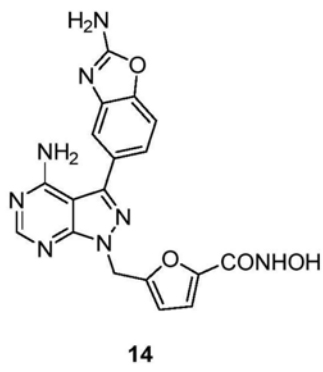
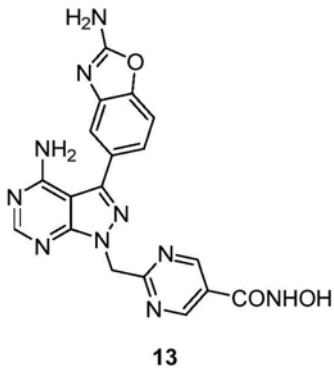
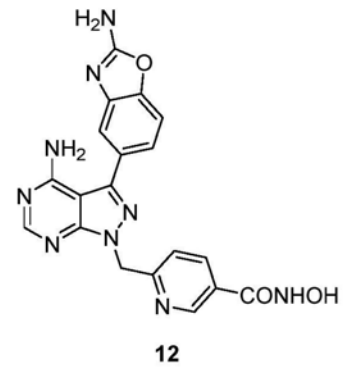
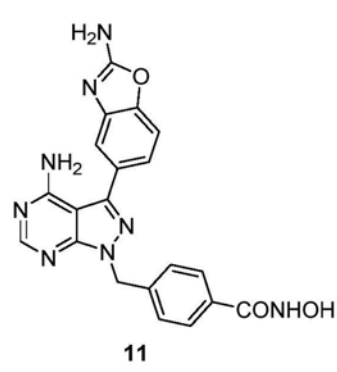
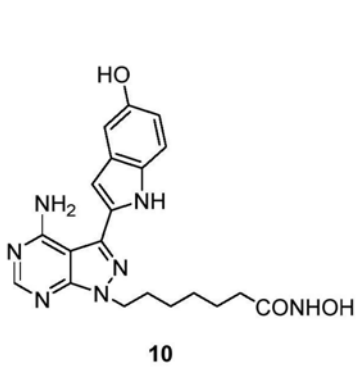
[0012] 所述通式(III)中,环B为至少被1个 R_3 取代的C6-14芳基、C5-14芳杂基;

[0013] 需要特别说明的是,上述取代中,当相应位置被2个以上 R_1 、 R_2 或 R_3 取代时,取代的 R_1 、 R_2 或 R_3 可相同,亦可不相同。

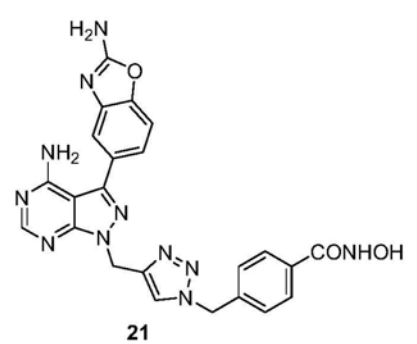
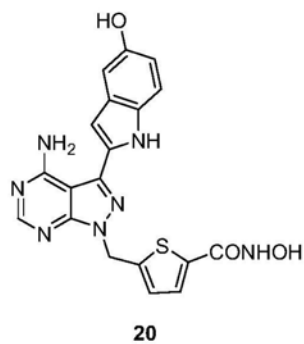
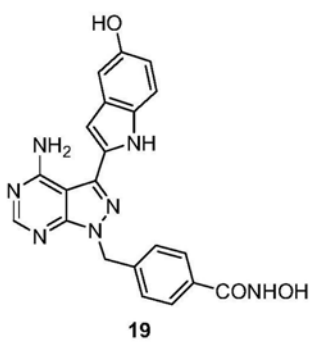
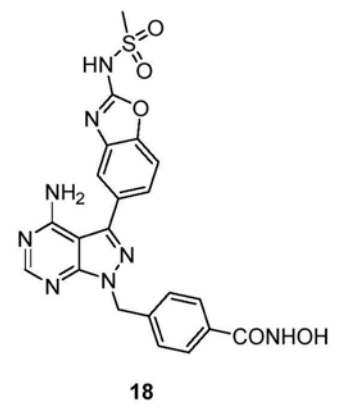
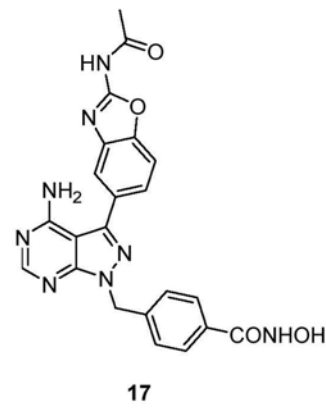
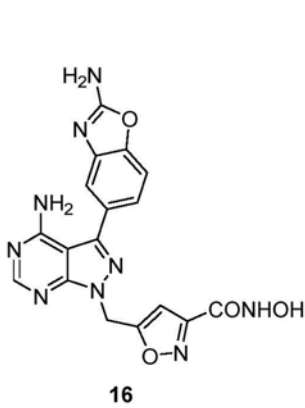
[0014] R_1 、 R_2 、 R_3 分别独立地选自氢、卤素、羟基、氰基、氨基、甲酰基、三氟甲基、三氟甲氧基、C1-6烷基、C1-6烷氧基、C2-6不饱和脂链烃基、 $N(R_4)_2$ 、 NR_4OR_4 、 $NR_4N(R_4)_2$ 、 $SO_2N(R_4)_2$ 、 $NR_4SO_2R_4$ 、 $NR_4CON(R_4)_2$ 、 NR_4COOR_4 、 NR_4COR_4 、 $CON(R_4)_2$,其中, R_4 独立地选自氢、C1-6烷基或C2-6不饱和脂链烃基,需要特别说明的是,当2个 R_4 取代同一原子上时,其可相同,亦可不相同。

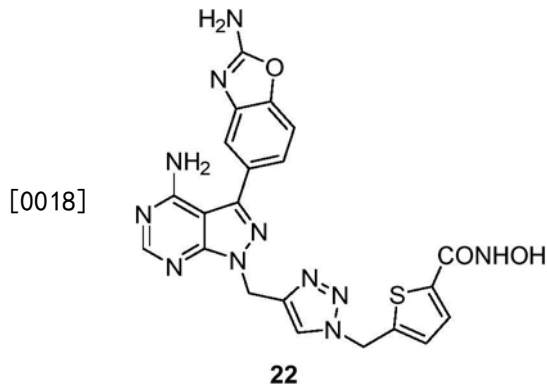
[0015] 进一步的,所述mTOR/HDAC双重抑制剂选自以下化合物及其药学上可接受的盐或氘代物,需要特别说明的是,下列化合物仅用于举例,使得本发明的技术方案更加清楚,本发明中的mTOR/HDAC双重抑制剂不仅仅包括以下几种:



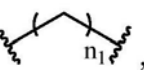


[0017]





[0019] 进一步的,本发明中的部分化合物在具有mTOR/HDAC双重抑制作用的同时,亦呈现HDAC6抑制的选择性,这类化合物为如通式(II)、(III)所示的化合物及其药学上可接受的盐或氘代物,其中,R如权利要求1所定义;

[0020] 通式(II)中X为,其中, $n_1=1\sim 6$,环A如权利要求1所定义;

[0021] 通式(III)中X和环B如权利要求1所定义。这是由于其具有芳环或芳杂环异羟肟酸结构,该结构能与HDAC6的催化通道及锌离子辅基发生更优的相互作用,且多次活性测试显示,此类化合物在具有mTOR/HDAC双重抑制作用的同时,亦能够呈现抑制HDAC6的选择性。

[0022] 进一步的,本发明公开了前述的一类mTOR/HDAC双重抑制剂在用于制备抗肿瘤药物或抗特发性肺纤维化药物的应用,其中,所述肿瘤包括实体瘤、血液瘤。

[0023] 进一步的,本发明公开了一种mTOR/HDAC双重抑制剂组合物,包括前述的mTOR/HDAC双重抑制剂,还包括至少一种药用载体或赋形剂。

[0024] 进一步的,本发明公开了如前所述的mTOR/HDAC双重抑制剂组合物在用于制备抗肿瘤药物或抗特发性肺纤维化药物中的应用。

[0025] 进一步的,所述的mTOR/HDAC双重抑制剂组合物,还包括至少一种其他治疗剂,所述mTOR/HDAC双重抑制剂组合物的剂型为临床上或药学上可接受的任一剂型。

[0026] 进一步的,本发明公开了如前所述的mTOR/HDAC双重抑制剂组合物在用于制备抗肿瘤药物或抗特发性肺纤维化药物中的应用。

[0027] 本发明化合物的用药剂量为1mg-1000mg/天,也可根据病情的轻重或剂型的不同偏离此范围。

[0028] 除非另外定义,所有本文使用的科技术语都具有与要求保护的主体所属领域的技术人员一般理解相同的含义。

[0029] 其中,“卤素”指氟、氯、溴、碘;

[0030] “C6-14芳基”是指6-14个碳原子的全碳单环或稠合多环基团,具有完全共轭的 π 电子系统,具体实例包括但不限于苯环、萘环、蒽环;

[0031] “C5-14芳杂基”是指5-14个环原子的非全碳单环或稠合多环基团,具有完全共轭的 π 电子系统,具体实例包括但不限于吡啶、咪唑、噻吩、呋喃、噻唑、嘌呤、吡咯、氮杂吡咯;

[0032] “C1-6烷基”指1到6个碳原子的烷基;

[0033] “C1-6烷氧基”指含1到6个碳原子的O-烷基基团,具体实例包括但不限于甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、叔丁氧基、正戊氧基、新戊氧基和正己氧基等;

[0034] “C2-6不饱和脂链烃基”指含有双键或者三键的碳原子数为2-6个的直链或者支链的烯基、炔基或烯炔基。不饱和脂链烃基的具体实例包括但不限于乙烯基、1-丙烯基、2-丙烯基、乙炔基等。

[0035] 本发明的化合物或其药学上可接受的盐或氘代物具有同样的功效，其中药学上可接受的盐指的是通式(I)、(II)或(III)的盐，包括碱金属盐、碱土金属盐、其他金属盐、无机碱盐、有机碱盐、无机酸盐、有机酸盐、低级烷磺酸盐、芳基磺酸盐、氨基酸盐。

[0036] 所述“药用载体”是指药学领域常规的药物载体，包括药学领域的常规稀释剂、赋形剂(如水等)、填充剂(如淀粉等)、粘合剂(如纤维素衍生物、明胶等)、湿润剂(如甘油等)、崩解剂(如琼脂、碳酸钙等)、吸收促进剂(如季铵化合物等)、表面活性剂(如十六烷醇等)、吸附载体(如高龄土和皂黏土等)、润滑剂(如滑石粉等)，必要时还可以加入香味剂、甜味剂等。

[0037] 所述的“其他治疗剂”指的是能与所述mTOR/HDAC双重抑制剂配伍的治疗剂，包括但不限于有丝分裂抑制剂(如长春碱、长春地辛)、微管蛋白分解抑制剂(如泰素)、生物烷化剂(如环磷酰胺)、抗代谢物(如5-氟尿嘧啶、替加氟、甲氨蝶呤)、抗肿瘤抗生素(如阿霉素、丝裂霉素)、酶(如天门冬氨酶)、拓扑异构酶抑制剂(如依托泊苷和喜树碱)、生物反应调节剂(如干扰素)、蛋白酶体抑制剂(如硼替佐米)。

[0038] 所述的“药学上可接受的任一剂型”适用于通过任何适当途径给药，如口服(包括含服或舌下给药)、直肠给药、经鼻给药、局部给药(包括含服、舌下给药、经皮给药或吸入给药)、阴道给药或胃肠外给药(包括皮下注射、肌肉注射、静脉注射或皮内注射)途径。这些制剂可由药剂学领域中已知的任何方法制备。例如，通过将活性成分与载体或赋形剂混在一起的方法。

[0039] 所述“实体瘤或血液瘤”包括但不限于乳腺癌、肉瘤、肺癌、前列腺癌、结肠癌、直肠癌、肾癌、胰腺癌、成神经细胞瘤、神经胶质瘤、头癌、颈癌、甲状腺癌、肝癌、卵巢癌、子宫癌、子宫内膜癌、胃癌、膀胱癌、胃肠道间质瘤、鼻咽癌、白血病、淋巴瘤、多发性骨髓瘤。

[0040] 针对目前尚无mTOR/HDAC双重抑制剂上市或处于临床研究状态，本发明所涉及的mTOR/HDAC双重抑制剂可为抗肿瘤或抗特发性肺纤维化疾病提供新疗法。通过多次实验证实，本发明中的化合物均具有mTOR、HDAC双重抑制活性，其中大部分化合物可高强度地抑制mTOR、HDAC1或/和HDAC6。部分化合物在高强度抑制mTOR、HDAC1或/和HDAC6的同时，呈现出显著的抗肿瘤细胞增殖活性以及显著的抗肺成纤维细胞增殖活性(成纤维细胞为IPF的效应细胞)。另有部分化合物在高强度抑制mTOR、HDAC6的同时，呈现出优良的HDAC6亚型选择性。药效学实验表明，本发明所涉及的化合物有被开发为抗肿瘤药物或抗特发性肺纤维化药物的前景。

具体实施方式

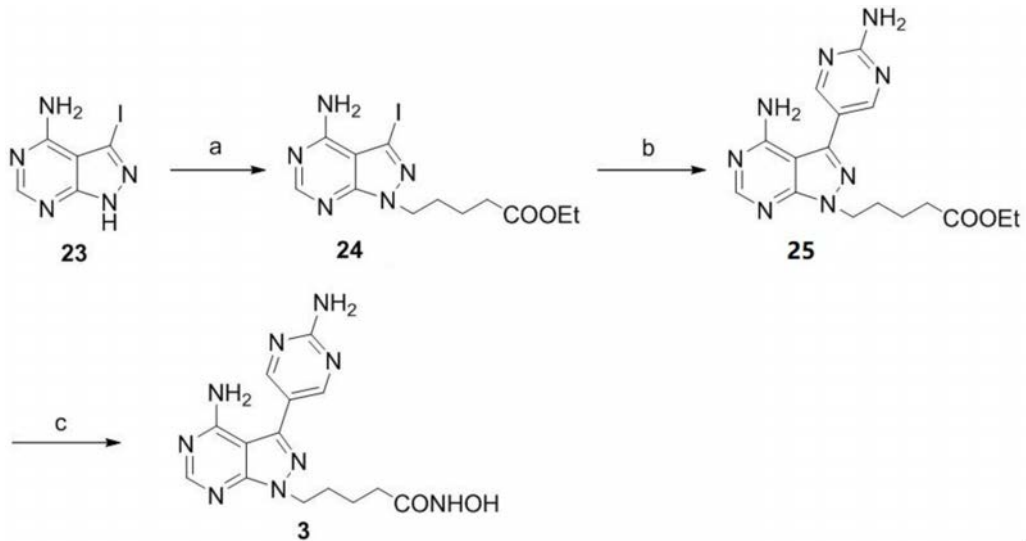
[0041] 为了便于理解本发明，下面将结合具体的实施方式对本发明进行更全面的描述。但是，本发明可以以许多不同的形式来实现，并不限于本文所描述的实施方式。相反地，提供这些实施方式的目的是使对本发明的公开内容理解的更加透彻全面。

[0042] 除非另有定义，本文所使用的所有的技术和科学术语与属于本发明的技术领域的技术人员通常理解的含义相同。本文中在本发明的说明书中所使用的术语只是为了描述具

体的实施方式的目的,不是旨在于限制本发明。

[0043] 本发明中的mTOR/HDAC双重抑制剂化合物的制备有两种路线,其中以化合物3(路线一、化合物21(路线二)为例:

[0044] 路线一:



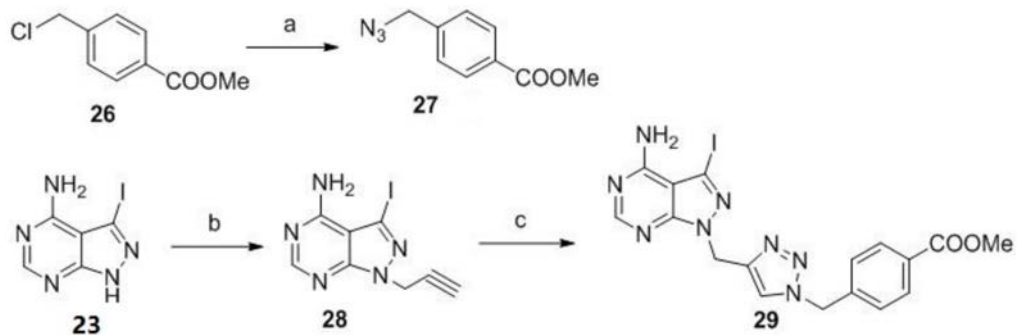
[0045]

[0046] 路线一中,涉及到的反应物和反应条件:a为5-溴戊酸乙酯, K_2CO_3 ,N,N-二甲基甲酰胺(DMF), $60^\circ C$;

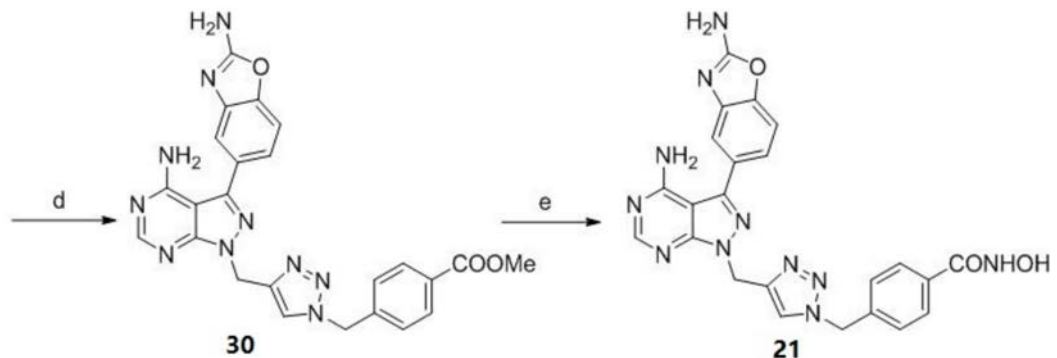
[0047] b为2-氨基嘧啶-5-硼酸频哪醇酯, $Pd(PPh_3)_4$,饱和 $NaHCO_3$ 溶液,乙二醇二甲醚(DME), H_2O ,氮气保护, $110^\circ C$;

[0048] c为50%羟胺水溶液, $NaOH$,四氢呋喃(THF), $MeOH$, $0^\circ C$ -rt。

[0049] 路线二:



[0050]



[0051] 路线二中,涉及到的反应物和反应条件:a为 NaN_3 ,DMF, $50^\circ C$;

[0052] b为炔丙基溴, K_2CO_3 , N,N-二甲基甲酰胺 (DMF), $60^\circ C$;

[0053] c为2-胺基苯并恶唑-5-硼酸频哪醇酯, $Pd(PPh_3)_4$, 饱和 $NaHCO_3$ 溶液, 乙二醇二甲醚 (DME), H_2O , 氮气保护, $110^\circ C$;

[0054] d为中间体27, $CuSO_4$ 溶液 (1M), 抗坏血酸钠溶液 (1M), 二氯甲烷 (DCM), MeOH, rt;

[0055] e为羟胺水溶液 (50%), NaOH, 四氢呋喃 (THF), MeOH, $0^\circ C$ -rt.

[0056] 其他化合物的制备路线与上述类似, 其中, 化合物1、2、4-20参考路线一制备; 化合物22参考路线二制备。

[0057] 实施例1

[0058] 5-(4-氨基-3-(2-氨基嘧啶-5-)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1)-N-羟基戊酰胺(化合物3)的合成。

[0059] (1) 5-(4-氨基-3-碘-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1)-戊酸乙酯(中间体24)的合成:

[0060] 在反应瓶中依次加入3-碘-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4-胺 (1.5g)、5-溴戊酸乙酯 (1.3g)、无水碳酸钾 (1.1g) 和无水DMF (20mL), $60^\circ C$ 搅拌反应12小时。向体系中加入适量水, 静置, 抽滤得粗品, 经硅胶柱层析得类白色固体1.7g。

[0061] (2) 5-(4-氨基-3-(2-氨基嘧啶-5-)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1)-戊酸乙酯(化合物25)的合成:

[0062] 在反应瓶中依次加入中间体24 (400mg)、2-氨基嘧啶-5-硼酸频哪醇酯 (250mg)、 $Pd(PPh_3)_4$ (119mg)、饱和 $NaHCO_3$ 溶液 (2mL)、DME (8mL)、 H_2O (2mL), 体系以氮气充分置换, 在氮气氛围中 $110^\circ C$ 搅拌反应6小时。旋去有机溶剂, 加入适量水, 以DCM萃取产物, 有机相依次采用饱和食盐水洗涤、无水 Na_2SO_4 干燥、浓缩, 粗品经硅胶柱层析得类白色固体174mg。

[0063] (3) 5-(4-氨基-3-(2-氨基嘧啶-5-)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1)-N-羟基戊酰胺(化合物3)的合成:

[0064] 将中间体25 (60mg) 溶于THF/ CH_3OH 混合液 (2mL, V/V=1:1), 冰浴搅拌下滴加该溶液至50%羟胺水溶液 (1mL)、NaOH (54mg) 的混合体系中, 室温搅拌反应1h。反应完毕后, 以醋酸调节体系PH至中性, 旋去THF、 CH_3OH , 加入适量水, 抽滤, 以少量水洗涤滤饼, 干燥得类白色固体46mg; 核磁共振结果为: 1H NMR (400MHz, $DMSO-d_6$): δ 10.34 (s, 1H), 8.66 (s, 1H), 8.46 (s, 2H), 8.23 (s, 1H), 7.05 (brs, 2H), 6.92 (s, 2H), 4.32 (t, $J=6.8Hz$, 2H), 1.99 (t, $J=7.2Hz$, 2H), 1.89-1.75 (m, 2H), 1.57-1.40 (m, 2H); ESI-MS: 344.15 $[M+H]^+$ 。

[0065] 实施例2

[0066] 5-(4-氨基-3-(6-氨基吡啶-3-)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1)-N-羟基戊酰胺(化合物1)的合成。

[0067] 化合物1参考实施例1制备, 仅在步骤(2)中将2-氨基嘧啶-5-硼酸频哪醇酯替换为2-氨基吡啶-5-硼酸频哪醇酯, 后采用相同方法经羟胺解制得类白色固体。

[0068] 高分辨质谱结果为: ESI-HRMS: 343.1639 $[M+H]^+$ 。

[0069] 实施例3

[0070] 7-(4-氨基-3-(6-氨基吡啶-3-)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1)-N-羟基庚酰胺(化合物2)的合成。

[0071] 化合物2参考实施例1制备, 仅在步骤(1)中将5-溴戊酸乙酯替换为7-溴庚酸乙酯, 在步骤(2)中将2-氨基嘧啶-5-硼酸频哪醇酯替换为2-氨基吡啶-5-硼酸频哪醇酯, 后采用

相同方法经羟胺解制得类白色固体。

[0072] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 8.22 (s, 1H), 8.18 (d, 2.0Hz, 1H), 7.64 (dd, 2.0Hz, 8.8Hz, 1H), 6.80 (brs, 2H), 6.58 (d, 8.8Hz, 1H), 6.24 (s, 2H), 4.29 (t, 6.8Hz, 2H), 1.92 (t, 7.6Hz, 2H), 1.84-1.75 (m, 2H), 1.51-1.40 (m, 2H), 1.26-1.24 (m, 4H); ESI-HRMS: 371.1949 [M+H] $^+$ 。

[0073] 实施例4

[0074] 7-(4-氨基-3-(2-氨基嘧啶-5-)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-)-N-羟基庚酰胺(4)的合成

[0075] 化合物4参考实施例1制备, 仅在步骤(1)中将5-溴戊酸乙酯替换为7-溴庚酸乙酯, 后采用相同方法经羟胺解制得。

[0076] 类白色固体; ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 10.33 (s, 1H), 8.65 (s, 1H), 8.45 (s, 2H), 8.23 (s, 1H), 7.04 (brs, 2H), 6.92 (s, 2H), 4.30 (t, 6.8Hz, 2H), 1.92 (t, 7.2Hz, 2H), 1.87-1.77 (m, 2H), 1.52-1.40 (m, 2H), 1.26-1.24 (m, 4H); ESI-HRMS: 372.1890 [M+H] $^+$ 。

[0077] 实施例5

[0078] 5-(4-氨基-3-(喹啉-3-)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-)-N-羟基戊酰胺(化合物5)的合成。

[0079] 化合物5参考实施例1制备, 仅在步骤(2)中将2-氨基嘧啶-5-硼酸频哪醇酯替换为喹啉-3-硼酸频哪醇酯, 后采用相同方法经羟胺解制得类白色固体。

[0080] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 10.36 (brs, 1H), 9.18 (d, 2.0Hz, 1H), 8.60 (d, 1.6Hz, 1H), 8.30 (s, 1H), 8.11 (dd, 2.8Hz, 8.0Hz, 1H), 7.89-7.79 (m, 1H), 7.74-7.66 (m, 1H), 7.14 (brs, 2H), 4.41 (t, 6.8Hz, 2H), 2.02 (t, 7.2Hz, 2H), 1.89-1.82 (m, 2H), 1.58-1.49 (m, 2H); ESI-HRMS: 378.1671 [M+H] $^+$ 。

[0081] 实施例6

[0082] 7-(4-氨基-3-(喹啉-3-)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-)-N-羟基庚酰胺(化合物6)的合成。

[0083] 化合物6参考实施例1制备, 仅在步骤(1)中将5-溴戊酸乙酯替换为7-溴庚酸乙酯, 在步骤(2)中将2-氨基嘧啶-5-硼酸频哪醇酯替换为喹啉-3-硼酸频哪醇酯, 后采用相同方法经羟胺解制得类白色固体。

[0084] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 10.33 (s, 1H), 9.17 (d, 2.0Hz, 1H), 8.65 (s, 1H), 8.60 (d, 1.6Hz, 1H), 8.31 (s, 1H), 8.16-8.08 (m, 2H), 7.89-7.79 (m, 1H), 7.73-7.64 (m, 1H), 7.14 (brs, 2H), 4.40 (t, 6.8Hz, 2H), 1.98-1.82 (m, 4H), 1.54-1.41 (m, 2H), 1.37-1.24 (m, 4H); ESI-HRMS: 406.2000 [M+H] $^+$ 。

[0085] 实施例7

[0086] 5-(4-氨基-3-(2-氨基苯并[d]噁唑-5-)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-)-N-羟基戊酰胺(化合物7)的合成。

[0087] 化合物7参考实施例1制备, 仅在步骤(2)中将2-氨基嘧啶-5-硼酸频哪醇酯替换为2-氨基苯并噁唑-5-硼酸频哪醇酯, 后采用相同方法经羟胺解制得类白色固体。

[0088] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 10.34 (s, 1H), 8.67 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 7.99-7.39 (m, 6H), 7.25 (d, 8.4Hz, 1H), 4.34 (t, 6.8Hz, 2H), 2.00 (t, 6.8Hz, 2H), 1.91-1.76 (m, 2H), 1.58-

1.44 (m, 2H); ESI-HRMS: 383.1575 [M+H]⁺。

[0089] 实施例8

[0090] 7-(4-氨基-3-(2-氨基苯并[d]噁唑-5-)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-)-N-羟基庚酰胺(化合物8)的合成。

[0091] 化合物8参考实施例1制备, 仅在步骤(1)中将5-溴戊酸乙酯替换为7-溴庚酸乙酯, 在步骤(2)中将2-氨基嘧啶-5-硼酸频哪醇酯替换为2-氨基苯并噁唑-5-硼酸频哪醇酯, 后采用相同方法经羟胺解制得类白色固体。

[0092] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 10.33 (s, 1H), 8.66 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 8.00-7.37 (m, 4H), 7.25 (d, 7.6Hz, 1H), 4.49-4.23 (m, 2H), 2.05-1.75 (m, 4H), 1.57-1.39 (m, 2H), 1.37-1.21 (m, 4H); ESI-HRMS: 411.1885 [M+H]⁺。

[0093] 实施例9

[0094] 7-(3-(2-乙酰胺基苯并[d]噁唑-5-)-4-氨基-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-)-N-羟基庚酰胺(化合物9)的合成。

[0095] 化合物9参考实施例1制备, 仅在步骤(1)中将5-溴戊酸乙酯替换为7-溴庚酸乙酯, 在步骤(2)中将2-氨基嘧啶-5-硼酸频哪醇酯替换为2-乙酰胺基苯并噁唑-5-硼酸频哪醇酯, 后采用相同方法经羟胺解制得类白色固体。

[0096] ESI-MS: 453.23 [M+H]⁺。

[0097] 实施例10

[0098] 7-(4-氨基-3-(5-羟基-1H-吡啶-2-)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-)-N-羟基庚酰胺(化合物10)的合成。

[0099] 化合物10参考实施例1制备, 仅在步骤(1)中将5-溴戊酸乙酯替换为7-溴庚酸乙酯, 在步骤(2)中将2-氨基嘧啶-5-硼酸频哪醇酯替换为5-羟基吡啶-2-硼酸频哪醇酯, 后采用相同方法经羟胺解制得类白色固体。

[0100] ESI-MS: 410.17 [M+H]⁺。

[0101] 实施例11

[0102] 4-((4-氨基-3-(2-氨基苯并[d]噁唑-5-)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-)-甲基)-N-羟基苯甲酰胺(化合物11)的合成。

[0103] 化合物11参考实施例1制备, 仅在步骤(1)中将5-溴戊酸乙酯替换为4-氯甲基苯甲酸甲酯, 在步骤(2)中将2-氨基嘧啶-5-硼酸频哪醇酯替换为2-氨基苯并噁唑-5-硼酸频哪醇酯, 后采用相同方法经羟胺解制得类白色固体。

[0104] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 11.16 (s, 1H), 9.03 (s, 1H), 8.29 (s, 1H), 7.70 (d, 8.0Hz, 2H), 7.67-7.51 (m, 4H), 7.47 (d, 8.4Hz, 1H), 7.42 (s, 1H), 7.35 (d, 7.6Hz, 2H), 7.24 (d, 8.0Hz, 1H), 5.61 (s, 2H); ESI-HRMS: 417.1413 [M+H]⁺。

[0105] 实施例12

[0106] 6-((4-氨基-3-(2-氨基苯并[d]噁唑-5-)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-)-甲基)-N-羟基烟酰胺(化合物12)的合成。

[0107] 化合物12参考实施例1制备, 仅在步骤(1)中将5-溴戊酸乙酯替换为6-溴甲基烟酸甲酯, 在步骤(2)中将2-氨基嘧啶-5-硼酸频哪醇酯替换为2-氨基苯并噁唑-5-硼酸频哪醇酯, 后采用相同方法经羟胺解制得类白色固体。

[0108] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.25 (brs, 1H), 9.24 (brs, 1H), 8.83 (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 8.05 (d, 7.2Hz, 1H), 7.54 (s, 2H), 7.47 (d, 8.4Hz, 1H), 7.43 (s, 1H), 7.26 (d, 7.6Hz, 2H), 7.19 (d, 8.0Hz, 1H), 5.71 (s, 2H); ESI-HRMS: 418.1375 [M+H] $^+$ 。

[0109] 实施例13

[0110] 2-((4-氨基-3-(2-氨基苯并[d]噁唑-5-)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-)甲基)-N-羟基嘧啶-5-甲酰胺(化合物13)的合成

[0111] 化合物13参考实施例1制备, 仅在步骤(1)中将5-溴戊酸乙酯替换为2-(溴甲基)嘧啶-5-甲酸甲酯, 在步骤(2)中将2-氨基嘧啶-5-硼酸频哪醇酯替换为2-胺基苯并噁唑-5-硼酸频哪醇酯, 后采用相同方法经羟胺解制得类白色固体。

[0112] ESI-HRMS: 419.1334 [M+H] $^+$ 。

[0113] 实施例14

[0114] 5-((4-氨基-3-(2-氨基苯并[d]噁唑-5-)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-)甲基)-N-羟基咪喃-2-甲酰胺(化合物14)的合成。

[0115] 化合物14参考实施例1制备, 仅在步骤(1)中将5-溴戊酸乙酯替换为5-(氯甲基)咪喃-2-甲酸甲酯, 在步骤(2)中将2-氨基嘧啶-5-硼酸频哪醇酯替换为2-胺基苯并噁唑-5-硼酸频哪醇酯, 后采用相同方法经羟胺解制得类白色固体。

[0116] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 10.91 (brs, 1H), 9.16 (brs, 1H), 8.30 (s, 1H), 7.75-7.51 (m, 4H), 7.47 (d, 8.0Hz, 1H), 7.41 (s, 1H), 7.24 (d, 8.0Hz, 2H), 7.04-6.95 (m, 1H), 6.51 (d, 2.8Hz, 1H), 5.59 (s, 2H); ESI-HRMS: 407.1310 [M+H] $^+$ 。

[0117] 实施例15

[0118] 5-((4-氨基-3-(2-氨基苯并[d]噁唑-5-)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-)甲基)-N-羟基噻吩-2-甲酰胺(化合物15)的合成。

[0119] 化合物15参考实施例1制备, 仅在步骤(1)中将5-溴戊酸乙酯替换为5-(溴甲基)噻吩-2-甲酸甲酯, 在步骤(2)中将2-氨基嘧啶-5-硼酸频哪醇酯替换为2-胺基苯并噁唑-5-硼酸频哪醇酯, 后采用相同方法经羟胺解制得类白色固体。

[0120] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 11.16 (brs, 1H), 9.13 (brs, 1H), 8.31 (s, 1H), 7.75-7.35 (m, 7H), 7.30-7.20 (m, 1H), 7.14 (d, 3.2Hz, 1H), 5.74 (s, 2H); ESI-HRMS: 423.0970 [M+H] $^+$ 。

[0121] 实施例16

[0122] 5-((4-氨基-3-(2-氨基苯并[d]噁唑-5-)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-)甲基)-N-羟基异噁唑-3-甲酰胺(化合物16)的合成。

[0123] 化合物16参考实施例1制备, 仅在步骤(1)中将5-溴戊酸乙酯替换为5-(溴甲基)异噁唑-3-甲酸甲酯, 在步骤(2)中将2-氨基嘧啶-5-硼酸频哪醇酯替换为2-胺基苯并噁唑-5-硼酸频哪醇酯, 后采用相同方法经羟胺解制得类白色固体。

[0124] ESI-HRMS: 408.1181 [M+H] $^+$ 。

[0125] 实施例17

[0126] 4-((3-(2-乙酰胺基苯并[d]噁唑-5-)-4-氨基-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-)甲基)-N-羟基苯甲酰胺(化合物17)的合成。

[0127] 化合物17参考实施例1制备, 仅在步骤(1)中将5-溴戊酸乙酯替换为4-氯甲基苯甲

酸甲酯,在步骤(2)中将2-氨基嘧啶-5-硼酸频哪醇酯替换为2-乙酰胺基苯并噁唑-5-硼酸频哪醇酯,后采用相同方法经羟胺解制得类白色固体。

[0128] ESI-HRMS:459.1531 [M+H]⁺。

[0129] 实施例18

[0130] 4-((4-氨基-3-(2-(甲磺酰胺基)苯并[d]噁唑-5-)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-)-甲基)-N-羟基苯甲酰胺(化合物18)的合成。

[0131] 化合物18参考实施例1制备,仅在步骤(1)中将5-溴戊酸乙酯替换为4-氯甲基苯甲酸甲酯,在步骤(2)中将2-氨基嘧啶-5-硼酸频哪醇酯替换为2-(甲磺酰胺基)苯并噁唑-5-硼酸频哪醇酯,后采用相同方法经羟胺解制得。

[0132] 类白色固体;ESI-HRMS:495.1211 [M+H]⁺。

[0133] 实施例19

[0134] 4-((4-氨基-3-(5-羟基-1H-吡唑-2-)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-)-甲基)-N-羟基苯甲酰胺(化合物19)的合成。

[0135] 化合物19参考实施例1制备,仅在步骤(1)中将5-溴戊酸乙酯替换为4-氯甲基苯甲酸甲酯,在步骤(2)中将2-氨基嘧啶-5-硼酸频哪醇酯替换为5-羟基吡唑-2-硼酸频哪醇酯,后采用相同方法经羟胺解制得类白色固体。

[0136] ESI-HRMS:416.1475 [M+H]⁺。

[0137] 实施例20

[0138] 5-((4-氨基-3-(5-羟基-1H-吡唑-2-)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-)-甲基)-N-羟基噁吩-2-甲酰胺(化合物20)的合成。

[0139] 化合物20参考实施例1制备,仅在步骤(1)中将5-溴戊酸乙酯替换为5-(溴甲基)噁吩-2-甲酸甲酯,在步骤(2)中将2-氨基嘧啶-5-硼酸频哪醇酯替换为5-羟基吡唑-2-硼酸频哪醇酯,后采用相同方法经羟胺解制得类白色固体。

[0140] ESI-HRMS:422.1047 [M+H]⁺。

[0141] 实施例21

[0142] 4-((4-((4-氨基-3-(2-氨基苯并[d]噁唑-5-)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-)-甲基)-1H-1,2,3-三氮唑-1-)-甲基)-N-羟基苯甲酰胺(化合物21)的合成。

[0143] (1) 4-(叠氮甲基)苯甲酸甲酯(中间体27)的合成:

[0144] 在反应瓶中依次加入4-氯甲基苯甲酸甲酯(1.84g)、叠氮化钠(0.85g)和无水DMF(20mL),50℃搅拌反应。反应完毕后,体系采用乙酸乙酯(EA)提取,并依次以水、饱和食盐水洗涤。有机层经无水Na₂SO₄干燥、减压浓缩得粗品,后者经硅胶柱层析得无色油状物1.65g。

[0145] (2) 3-碘-1-炔丙基-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4-胺(中间体28)的合成:

[0146] 中间体28的合成参考实施例1步骤(1),仅将5-溴戊酸乙酯替换为炔丙基溴。

[0147] (3) 4-((4-((4-氨基-3-碘-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-)-甲基)-1H-1,2,3-三氮唑-1-)-甲基)苯甲酸甲酯(中间体29)的合成:

[0148] 在反应瓶中依次加入中间体27(0.40g)、中间体28(0.48g)、DCM(6mL)和MeOH(12mL)。搅拌均匀后,向所得体系中依次加入1M CuSO₄溶液(5mL)、1M抗坏血酸钠溶液(5mL),室温搅拌反应5h,减压浓缩,水洗、THF-EA混合溶剂(V/V=1:4)萃取,有机层采用饱和食盐水洗涤、无水Na₂SO₄干燥、减压浓缩,经硅胶柱层析得类白色固体0.38g。

[0149] (4) 4-((4-((4-氨基-3-(2-氨基苯并[d]噁唑-5-)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-)-甲基)-1H-1,2,3-三氮唑-1-)-甲基)苯甲酸甲酯(中间体30)的合成:

[0150] 中间体30的合成参考实施例1步骤(2),仅将中间体24替换为中间体29、2-氨基嘧啶-5-硼酸频哪醇酯替换为2-氨基苯并噁唑-5-硼酸频哪醇酯。

[0151] (5) 化合物21的合成

[0152] 化合物21的合成参考实施例1步骤(3)将中间体30进行羟胺解得类白色固体。

[0153] ESI-HRMS:498.1759[M+H]⁺。

[0154] 实施例22

[0155] 5-((4-((4-氨基-3-(2-氨基苯并[d]噁唑-5-)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-)-甲基)-1H-1,2,3-三氮唑-1-)-甲基)-N-羟基噁吩-2-甲酰胺(化合物22)的合成。

[0156] 化合物22参考实施例21制备,仅在步骤(1)中将4-氯甲基苯甲酸甲酯替换为5-(溴甲基)噁吩-2-甲酸甲酯,在步骤(3)中以得到的相应中间体替换中间体27与中间体28反应,后经Suzuki偶联和羟胺解制得类白色固体。

[0157] ESI-HRMS:504.1326[M+H]⁺。

[0158] 测试例1:mTOR、HDAC抑制活性

[0159] 本测试例以mTOR/PI3K双重抑制剂PI103及临床在研ATP-竞争性mTOR抑制剂BEZ235为阳性对照,采用Lanth Ultra Assay评价本发明化合物的mTOR抑制活性。此外,以上市广谱HDAC抑制剂SAHA为阳性对照,采用Fluorescent-based HDAC Activity Assay评价本发明化合物的HDAC1和HDAC6酶抑制活性。本发明的其他化合物与以下所列举的化合物有类似的有益效果,但不应将此理解为本发明化合物仅具有以下有益效果。

[0160] mTOR酶抑制活性的测试步骤为:配制待测化合物的DMSO溶液,并按试剂盒说明配置激酶缓冲液;分别以激酶缓冲液配制激酶溶液和底物溶液(含ULight-4E-BP1和ATP);将梯度浓度的化合物溶液、激酶溶液和底物溶液分别加入到384孔板中以配制激酶反应体系;室温反应一定时间后,采用Detection Solution Buffer(含EDTA和Eu-anti-phospho-4E-BP1)终止反应,平衡,读取Lance信号值,计算各浓度下的抑制率,IC₅₀由GraphPad Prism 5拟合得到。

[0161] HDAC1酶抑制活性的测试步骤为:配制待测化合物的DMSO溶液,并按试剂盒说明依次配制缓冲液、酶溶液以及相应的Substrate/Trypsin混合溶液;将梯度浓度的化合物溶液、酶溶液、Substrate/Trypsin混合溶液分别加入到384孔板中以配制催化反应体系(设无化合物对照、无酶对照孔);室温孵育一定时间后,采用Synergy酶标仪连续读取荧光信号值,并选取线性反应段得到斜率(slope),进而计算各浓度下的抑制率,IC₅₀由GraphPad Prism 5软件拟合得到。

[0162] 化合物对HDAC6抑制活性的测试方法参考HDAC1抑制活性的测试方法,仅需更换相应的催化反应体系底物。

[0163] 表1化合物对mTOR、HDAC1、HDAC6酶的抑制活性

	Cpd.	mTOR (IC ₅₀)	HDAC1 (IC ₅₀)	HDAC6 (IC ₅₀)
[0164]	1	+	+	+
	2	++	++++	++++

	3	+	++	++
	4	+	++++	++++
	5	++	+++	+++
	6	++	++++	++++
	7	++++	+++	+++
	8	++++	++++	++++
	9	++++	++++	++++
	10	++++	++++	++++
	11	++++	+++	++++
	12	++++	+++	++++
	13	++++	+++	++++
[0165]	14	++++	+	+++
	15	++++	+++	++++
	16	++++	++	++++
	17	++++	+++	++++
	18	+++	+++	++++
	19	++++	+++	++++
	20	++++	+++	++++
	21	++++	++	+++
	22	++++	++	+++
	PI103	+++	-	-
	BEZ235	+++	-	-
	SAHA	-	+++	+++

[0166] 表1中：“++++”代表0-10nM；“+++”代表10-100nM；“++”代表100-1000nM；“+”代表1000-10000nM；“-”代表未测定。

[0167] 由表1中抑酶活性数据可知，本发明中的大部分化合物具有显著的mTOR/HDAC双重抑酶活性。在这些具有显著mTOR/HDAC双重抑制活性的化合物中，部分化合物对mTOR的抑制活性与PI103、BEZ-235相当或优于两者，同时对HDAC1、HDAC6的抑制活性均与SAHA相当或优于SAHA；其余具有显著mTOR/HDAC双重抑制活性的化合物，对mTOR的抑制活性与PI103、BEZ-235相当或优于两者，同时对HDAC6的抑制活性与SAHA相当或优于SAHA。

[0168] 测试例2：抗肿瘤细胞增殖活性

[0169] 本测试例以BEZ235和SAHA为阳性对照，采用CCK-8法评价了本发明具有显著mTOR/HDAC双重抑酶活性的化合物对肺癌细胞株A549及结肠癌细胞株HCT116的抗增殖活性。本发明的其他化合物与以下所列举的化合物有类似的有益效果，但不应将此理解为本发明化合物仅具有以下有益效果。

[0170] 抗肿瘤细胞增殖活性的测试步骤为：消化收集肿瘤细胞，以一定密度接种于96孔培养板，置于培养箱(37℃, 5%CO₂)中过夜。分别用不同浓度的化合物溶液处理细胞，化合物作用72h后，弃培养基，再用PBS轻轻洗涤细胞3次。随后，向培养板各孔中分别加入一定体积的培养基和CCK-8，继续培养一定时间。最后采用多功能酶标仪于570nm波长下测定吸光度OD值，计算抑制率，GI₅₀值由GraphPad Prism 5软件拟合得到。

[0171] 表2具有显著mTOR/HDAC双重抑酶活性的化合物的抗肿瘤细胞增殖活性

Cpd.	A549 (GI ₅₀)	HCT116 (GI ₅₀)
7	++++	++++
8	++++	++++
9	++++	++++
10	++++	++++
11	+++	+++
12	+++	+++
13	+++	+++
14	+++	++
15	+++	+++
16	+++	+++
17	+++	+++
18	++	++
19	+++	+++
20	+++	+++
21	+++	+++
22	+++	+++
BEZ235	++	++
SAHA	++	++

[0172] [0173] 表2中：“++++”代表<0.1μM；“+++”代表0.1-1.0μM；“++”代表1.0-10μM。

[0174] 由表2中抗增殖活性数据可知，本发明中有显著mTOR/HDAC双重抑酶活性的化合物亦对A549、HCT116呈现出显著的抗增殖活性，且抗肿瘤细胞增殖活性优于BEZ235和SAHA，或与两者相当，具有良好的应用前景。其中，大部分化合物对A549、HCT116的抗增殖活性均优于BEZ235和SAHA。

[0175] 测试例3:HDAC6选择性

[0176] HDAC1、HDAC2、HDAC3、HDAC6、HDAC8、HDAC10、HDAC11酶抑制活性的测试可反映化合

物对HDAC6亚型抑制的选择性。以下通过本发明部分具有显著mTOR抑酶活性、HDAC6抑酶活性及抗增殖活性的化合物对HDAC1、2、3、6、8、10、11的抑制活性数据,进一步阐述其对HDAC6的选择性。不应理解为本发明仅以下化合物具有HDAC6选择性。

[0178] 化合物对其他HDAC亚型抑制活性的测试方法参考HDAC1抑制活性的测试方法,仅在测试相应酶抑制活性时更换催化反应体系底物。

[0179] 表3化合物的HDAC6选择性

	选择性(各项下比值越大,代表选择性越优)	Cpd.11	Cpd.16	Cpd.21	SAHA
	化合物对 HDAC1、HDAC6 的 IC ₅₀ 比值	++	++	+	0.86
	化合物对 HDAC2、HDAC6 的 IC ₅₀ 比值	++	+++	+	5.8
[0180]	化合物对 HDAC3、HDAC6 的 IC ₅₀ 比值	++	+++	+	2.8
	化合物对 HDAC8、HDAC6 的 IC ₅₀ 比值	+++	+++	+++	8.1
	化合物对 HDAC10、HDAC6 的 IC ₅₀ 比值	+++	+++	++	2.3
	化合物对 HDAC11、HDAC6 的 IC ₅₀ 比值	+++	+++	+++	2.1

[0181] 表3中:“+++”代表100-300;“++”代表30-100;“+”代表10-30。

[0182] 由表1、表3知,符合通式(II)的化合物11、16以及符合通式(III)的化合物21在显著抑制HDAC6的同时,具有优良的HDAC6选择性;广谱HDACs抑制剂SAHA抑制各HDAC亚型的活性相对接近,缺乏对HDAC6亚型的选择性。说明本发明化合物11、16、21在显著抑制剂HDAC6亚型的同时,有利于降低对所有或多种HDAC亚型抑制所产生的毒性。

[0183] 测试例4:抗肺成纤维细胞增殖活性

[0184] 成纤维细胞增殖可促进纤维化,故化合物的成纤维细胞增殖抑制活性可反映其抗IPF作用。本测试例以BEZ235和SAHA为阳性对照,采用MTT法评价了本发明具有显著mTOR/HDAC双重抑酶活性的化合物对肺成纤维细胞MLg2908的抗增殖活性。本发明的其他化合物与以下所列举的化合物有类似的有益效果,但不应将此理解为本发明化合物仅具有以下有益效果。

[0185] 抗肿瘤细胞增殖活性的测试步骤为:以一定密度将MLg2908细胞接种于96孔培养板,置于培养箱(37℃,5%CO₂)中过夜。分别用不同浓度的化合物溶液处理细胞,化合物作用72h后,于各孔中加入MTT溶液,继续培养一定时间,弃去各孔上清液,每孔加入一定量DMSO,振荡一定时间,待结晶物充分溶解后,以酶标仪测定OD₅₇₀,计算抑制率,GI₅₀值由GraphPad Prism 5软件拟合得到。

[0186] 表4具有显著mTOR/HDAC双重抑酶活性的化合物的抗肺成纤维细胞增殖活性

Cpd.	MLg2908 (GI ₅₀)
7	++++
8	++++
9	++++
10	++++
11	++++
12	++++
13	+++
14	++
[0187] 15	++++
16	++++
17	+++
18	+++
19	+++
20	+++
21	+++
22	+++
BEZ235	+++
SAHA	++

[0188] 表4中：“++++”代表<0.01 μ M；“+++”代表0.01-0.1 μ M；“++”代表0.1-1 μ M。

[0189] 由表4中数据可知，本发明中具有显著mTOR/HDAC双重抑酶活性的化合物亦对MLg2908呈现出显著的抗增殖活性，且活性优于BEZ235和SAHA，或与两者相当，具有良好的应用前景。

[0190] 以上结果表明，本发明中的化合物在抗肿瘤和抗IPF方面均具有良好的应用前景。

[0191] 以上所述实施例的各技术特征可以进行任意的组合，为使描述简洁，未对上述实施例中的各个技术特征所有可能的组合都进行描述，然而，只要这些技术特征的组合不存在矛盾，都应当认为是本说明书记载的范围。

[0192] 以上所述实施例仅表达了本发明的几种实施方式，其描述较为具体和详细，但并不能因此而理解为对发明专利范围的限制。应当指出的是，对于本领域的普通技术人员来说，在不脱离本发明构思的前提下，还可以做出若干变形和改进，这些都属于本发明的保护范围。因此，发明专利的保护范围应以所附权利要求为准。