

· 论著 ·

非核苷类 NEDD8 活化酶抑制剂的设计、合成与活性研究

罗川¹, 喻支梁², 张万年², 缪震元² (1. 安徽华润金蟾药业股份有限公司, 安徽 淮北 235000; 2. 海军军医大学药学院药物化学教研室, 上海 200433)

[摘要] 目的 采用骨架跃迁策略设计非核苷类 NEDD8 活化酶(NAE)抑制剂, 并测试其抗肿瘤活性。方法 通过 23 步反应以较高收率合成双磺酰胺类化合物 **14**, 通过¹H NMR 和 MS 确证其化学结构, 采用 MTT 法测试体外抗肿瘤活性。结果 化合物 **14** 对多种肿瘤细胞株显示出较好的活性, 并呈剂量依赖性引起 UBC12 蛋白累积。结论 化合物 **14** 是全新骨架的 NAE 抑制剂, 在前列腺肿瘤细胞 PANC-1 中能显著引起细胞凋亡和细胞周期阻滞, 为后续 NAE 抑制剂研究提供了一个有价值的先导化合物。

[关键词] NEDD8 活化酶; 吡唑; 骨架跃迁; 抗肿瘤活性; 体外

[中图分类号] R914 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2020)01-0035-07

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.201901012

Design, synthesis and biological activity of non-nucleoside NEDD8-activating enzyme inhibitors

LUO Chuan¹, YU Zhiliang², ZHANG Wannian², MIAO Zhenyuan² (1. Anhui Huarun Golden Frog Pharmaceutical Co., Ltd., Huaibei 235000, China; 2. Department of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Naval Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective** To develop novel NAE inhibitors with non-nucleoside scaffold by a scaffold hopping strategy and study the *in vitro* antitumor activities. **Methods** Disulfonamideindazole **14** was synthesized through 23 steps with a good yield. Its chemical structure was confirmed by ¹H NMR and MS. MTT method was used to determine the *in vitro* antitumor activities. **Results** Compound **14** exhibited moderate antitumor activities against various cancer cells and promoted significant UBC12 accumulation in a dose-dependent manner. **Conclusion** Compound **14** is a potent NAE inhibitor with remarkable apoptosis induction and cell cycle arrest in prostate cancer PANC-1 cells. Our work provides a valuable leading compound for the further design and development of NAE inhibitors.

[Key words] NAE; indazole; scaffold hopping; antitumor activity; *in vitro*

神经前体细胞发育性表达下调 8 (neural precursor cell-expressed developmentally downregulated 8, NEDD8) 是细胞中具有重要生物学功能的类泛素蛋白, 能调节 cullin-ring E3 连接酶的活性, 控制多种肿瘤细胞生长相关蛋白 CDT1、cyclin E、p27 和 NRF2 等的转归。NEDD8 活化酶 (NEDD8-activating enzyme, NAE) 是 NEDD8 信号通路的关键酶, 能催化 NEDD8 蛋白与 ATP 的结合。抑制 NAE 的活性, 能够降低泛素-蛋白酶体系统 (UPS) 通路的活性和相关蛋白的降解, 诱导肿瘤细胞凋

亡^[1-3]。MLN4924 是首个报道的选择性小分子 NAE 抑制剂, 目前已进入临床 I 期研究, 用于治疗黑色素瘤、急性髓细胞性白血病和实体瘤。MLN4924 的成功发现使得基于 NEDD8 信号通路进行抗肿瘤药物研究成为研究热点之一, 先后报道多个全新骨架的小分子抑制剂, 其中包括源于天然产物的磺酰胺化合物 **2** 和三环类化合物 **3**^[4-7](图 1)。近年来, NAE 突变 (A171T) 的发现使得有必要研发新型的 NAE 抑制剂^[8]。

骨架跃迁策略是药物设计领域的常见思路之一, 也已获得很多成功的案例。笔者基于 MLN4924 的结构, 采用骨架跃迁策略将药物中的优势骨架吡唑环引入到 MLN4924 的结构中, 设计出一类非核苷类 NAE 抑制剂。

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81673352)

[作者简介] 罗川, 高级工程师, 研究方向: 肿瘤药物研究与开发, Tel: (0561)3152858, Email: luoch51@126.com

[通讯作者] 缪震元, 副教授, 研究方向: 抗肿瘤药物设计, Tel: (021)81871241, Email: miaozhenyuan@hotmail.com

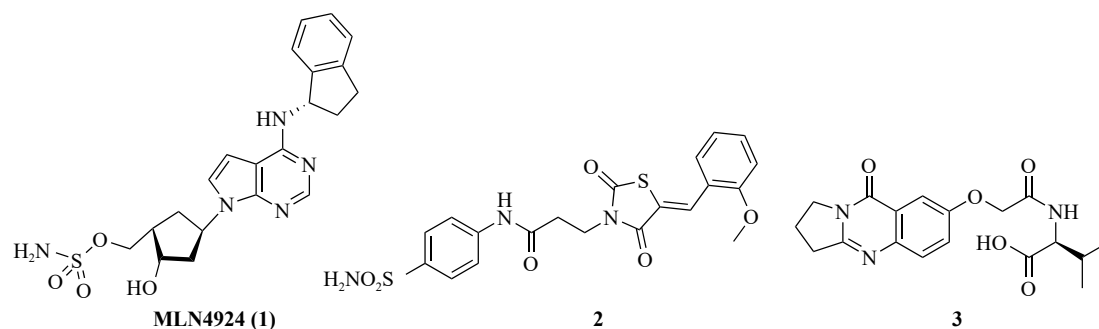


图 1 MLN4924 和小分子 NAE 抑制剂的化学结构

1 仪器与试剂

核磁共振仪为 Bruker 300 或 600 型, TMS 为内标, CD₃OD、DMSO-d₆ 或者 CDCl₃ 为溶剂。化学位移(δ)和偶合常数(J)分别以 ppm 和 Hz 为单位, 在 API-3000LC-MS 型质谱仪上完成 ESI 质谱。TLC 分析所用硅胶板为 GF254(中国青岛海洋化学); 硅胶柱层析采用 60G 硅胶(中国青岛海洋化学)。商品化溶剂皆为市售分析纯或化学纯。

2 实验方法

2.1 4-硝基-1*H*-吡唑(5)的合成

将 1.51 g (9.8 mmol) 2-甲基-3-硝基苯胺溶于 37.5 ml 冰醋酸。然后, 将 0.82 g 亚硝酸钠(12.0 mmol) 溶于 3.5 ml 水, 加入上述反应液中, 室温反应 8 h。将反应液倒入冰水中, 析出固体, 过滤, 干燥后重结晶得 1.07 g 黄色晶体, 收率 66.9%。¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 13.92 (s, 1H), 8.54 (s, 1H), 8.16 (d, J = 7.68 Hz, 1H), 8.10 (d, J = 8.14 Hz, 1H), 7.61 (t, J = 8.02 Hz, 1H); ESI-MS (m/z): 164.2 (M+H⁺)。

2.2 *N*-(4-氟苄基)-1*H*-吡唑-4-胺(7)的合成

将 4.02 g 4-硝基-1*H*-吡唑(5)溶于 60 ml 甲醇, 加入 1.02 g 10% 钯碳, 室温催化氢化反应 2 h, 过滤, 浓缩得 3.20 g 4-氨基吡唑(6)。将 1.6 g (12.0 mmol) 化合物 6 溶于 25 ml 甲醇, 然后滴加 1.93 ml (18.0 mmol) 4-氟苯甲醛, 室温反应 1 h, 然后, 缓慢加入 909.5 mg (24.1 mmol) 硼氢化钠, 室温下反应 30 min, 蒸去溶剂, 二氯甲烷萃取 3 次, 合并有机层, 用饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 蒸去溶剂, 柱层析得 1.2 g 褐色固体, 收率 41.6%。¹H NMR (600 MHz, DMSO-d₆) δ 12.70 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 7.40 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 7.12 (t, J = 15.0 Hz, 2H), 6.91~7.00 (m, 2H), 6.64 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 5.93 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 4.40 (d, J = 6.0 Hz, 2H); ESI-MS (m/z): 242.9 (M+H⁺)。

2.3 (1*R*,3*S*,5*R*)-2-叔丁氧基-3-(((叔丁基二苯基硅

基)氧基)甲基)-5-(4-((4-氟苄基)氨基)-1*H*-吡唑-1-基)环戊-1-醇(9)的合成

将 0.33 g (2 mmol) *N*-(4-氟苄基)-1*H*-吡唑-4-胺 7 和 0.53 g (2 mmol) 18-冠-6 加入到无水 THF (30 ml) 中, 氮气保护下, 缓慢加入 0.08 g (2 mmol) 60% 钠氢, 室温搅拌 5 min, 然后, 升温至 80 °C, 搅拌 20 min 后加入 (3*aS*, 5*S*, 6*aS*)-4-叔丁氧基-5-(((叔丁基二苯基硅基氧基)甲基)四氢-4*H*-环戊-[*d*][1,3,2]-二氧硫杂-2,2-二氧化物 8 (2 mmol), 继续反应 8 h, 冷却至 0 °C, 用 20% 硫酸调 pH 为 3, 在 50 °C 下搅拌 30 min。用 10% 氢氧化钠水溶液调 pH 为中性后, 二氯甲烷萃取 (10 ml×3), 合并有机层, 干燥, 蒸去溶剂后柱色谱纯化得到 534 mg 蓝色油状物 9, 收率 53.3%。¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ : 7.96 (s, 1H), 7.84–7.74 (m, 4H), 7.46–7.41 (m, 9H), 7.37 (q, J = 5.4, 8.8 Hz, 1H), 7.25 (q, J = 7.6, 8.3 Hz, 1H), 6.94 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.25 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 4.93–4.89 (m, 1H), 4.69 (s, 1H), 4.52 (s, 2H), 4.47 (d, J = 5.7, 8.0 Hz, 1H), 4.15 (brs, 1H), 3.82 (ddd, J = 7.0, 10.4, 17.0 Hz, 2H), 3.58 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 2.71–2.64 (m, 1H), 2.58–2.51 (m, 1H), 2.40–2.34 (m, 1H), 1.22 (s, 9H), 1.15 (s, 9H); ESI-MS (m/z): 666.3 (M+H⁺)。

2.4 硫代碳酸苯基(1*R*,3*S*,5*R*)-2-叔丁氧基-3-(((叔丁基二苯基硅基)氧基)甲基)-5-(4-((4-氟苄基)氨基)-1*H*-吡唑-1-基)环戊酯(10)的合成

向 0.8 g (1.2 mmol) 化合物 9 的二氯甲烷 (20 ml) 溶液中加入 *N,N*-二甲氨基吡啶 0.44 g (3.6 mmol) 和硫代氯甲酸苯酯 0.41 g (2.4 mmol), 室温反应 12 h, 用甲醇 (1 ml) 淬灭, 饱和食盐水洗涤, 干燥, 蒸去溶剂, 柱色谱分离得 211 mg 黄色油状物 10, 收率 21.9%。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 8.05 (s, 1H), 7.76–7.72 (m, 4H), 7.51–7.42 (m, 8H), 7.35 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 7.26 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 7.13–7.08 (m, 2H), 6.94–6.89 (m, 3H), 6.26 (d, J =

7.6 Hz, 1 H), 6.09 (q, $J = 3.8$ Hz, 1 H), 5.37 – 5.30 (m, 2 H), 4.61 (t, $J = 4.0$ Hz, 1 H), 4.53 (s, 2 H), 3.82 (dq, $J = 7.0, 10.1, 17.2$ Hz, 2 H), 2.81 – 2.72 (m, 1 H), 2.35 – 2.23 (m, 2 H), 1.26 (s, 9 H), 1.12 (s, 9 H); ESI-MS(m/z): 802.3 (M+H⁺)。

2.5 1-((1*R*,4*S*)-3-叔丁氧基-4-(((叔丁基二苯基硅基)氧基)甲基)环戊基)-*N*-(4-氟苄基)-1*H*-吡啶-4-胺 (**11**) 的合成

向 0.56 g (0.7 mmol) 化合物 **10** 的无水甲苯 (20 ml) 溶液中加入三正丁基氢化锡 1.05 g (3.6 mmol) 和偶氮二异丁腈 0.39 g (2.4 mmol), 110 °C 反应 1.5 h, 蒸去溶剂, 柱色谱分离得 141 mg 黄色油状物 **11**, 收率 31.0%。 ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 7.97 (s, 1 H), 7.78 – 7.68 (m, 4 H), 7.49 – 7.35 (m, 8 H), 7.25 – 7.16 (m, 1 H), 7.06 (t, $J = 8.8$ Hz, 2 H), 6.96 – 6.84 (m, 1 H), 6.80 (d, $J = 8.4$ Hz, 1 H), 6.19 (d, $J = 7.6$ Hz, 1 H), 5.28 – 5.14 (m, 1 H), 4.53 – 4.41 (m, 3 H), 3.83 (dq, $J = 6.0, 10.0, 16.3$ Hz, 2 H), 2.64 – 2.50 (m, 1 H), 2.47 – 2.35 (m, 1 H), 2.35 – 2.18 (m, 3 H), 1.18 (s, 9 H), 1.09 (s, 9 H); ESI-MS (m/z): 650.3 (M+H⁺)。

2.6 ((1*S*,4*R*)-2-叔丁氧基-4-(4-((4-氟苄基)氨基)-1*H*-吡啶-1-基)环戊基)甲醇 (**12**) 的合成

将 0.13 g (0.2 mmol) 化合物 **11** 溶于 THF (3 ml) 和吡啶 (3 ml) 混合溶剂中, 冷却至室温, 滴加 0.21 g (2.1 mmol) 吡啶氢氟酸盐, 滴完后室温反应 1 h。饱和碳酸钠溶液调 pH 为中性, 用乙酸乙酯和水分层, 有机层用饱和食盐水洗涤, 干燥, 蒸去溶剂, 柱色谱分离得 81 mg 黄色油状物 **12**, 收率 97.9%。 ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 7.91 (s, 1 H), 7.38 (dd, $J = 5.4, 8.4$ Hz, 2 H), 7.19 (t, $J = 8.1$ Hz, 1 H), 7.43 – 7.32 (m, 2 H), 6.82 (d, $J = 8.4$ Hz, 1 H), 6.19 (d, $J = 7.5$ Hz, 1 H), 5.22 – 5.10 (m, 1 H), 4.62 (q, $J = 6.4$ Hz, 1 H), 4.47 (s, 2 H), 3.89 (dd, $J = 2.6, 11.4$ Hz, 1 H), 3.72 (dd, $J = 5.6, 11.4$ Hz, 1 H), 3.48 (br s, 1 H), 2.60 – 2.47 (m, 2 H), 2.47 – 2.34 (m, 1 H), 2.30 – 2.08 (m, 2 H), 1.26 (s, 9 H); ESI-MS (m/z): 412.2 (M+H⁺)。

2.7 ((1*S*,4*R*)-2-叔丁氧基-4-(4-((4-氟苄基)氨基磺酰胺)-1*H*-吡啶-1-基)环戊基)甲基磺酰胺 (**13**) 的合成

将 82 mg (0.2 mmol) 化合物 **12** 和 0.14 ml (1.0 mmol) 三乙胺加入到乙腈 (5 ml) 中, 冷却至 0 °C, 加入 2.0 mol/L 氨基磺酰胺乙腈溶液 (0.6 mmol), 室温

反应 70 min。用甲醇 (2 ml) 淬灭, 蒸去溶剂, 柱色谱分离得 45 mg 棕色油状物 **13**, 收率 40.7%。 ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 7.99 (s, 1 H), 7.32 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H), 7.25 – 7.11 (m, 3 H), 7.04 (d, $J = 7.0$ Hz, 1 H), 6.85 (t, $J = 8.8$ Hz, 2 H), 5.24 (s, 2 H), 5.07 (s, 1 H), 4.84 (s, 2 H), 4.43 – 4.30 (m, 2 H), 4.28 – 4.16 (m, 1 H), 2.80 – 2.65 (m, 1 H), 2.43 – 2.30 (m, 1 H), 2.27 – 2.16 (m, 1 H), 2.16 – 2.03 (m, 2 H), 1.86 (s, 2 H), 1.19 (s, 9 H); ESI-MS (m/z): 570.2 (M+H⁺)。

2.8 ((1*S*,4*R*)-4-(4-((4-氟苄基)氨基磺酰胺)-1*H*-吡啶-1-基)-2-羟基环戊基)甲基磺酰胺 (**14**) 的合成

将 57 mg (0.1 mmol) 化合物 **13** 溶于 70% 三氟乙酸溶液, 室温反应 1.5 h, 用甲醇 (5 ml) 淬灭, 蒸去溶剂, 柱色谱分离得 25 mg 深蓝色油状物 **14**, 收率 62.1%。 ¹H NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 8.05 (s, 1 H), 7.51 (d, $J = 8.5$ Hz, 1 H), 7.37 (dd, $J = 7.3, 8.4$ Hz, 1 H), 7.30 – 7.27 (m, 2 H), 7.20 (d, $J = 7.3$ Hz, 1 H), 6.93 – 6.89 (m, 2 H), 5.45 – 5.37 (m, 1 H), 4.54 (t, $J = 4.0$ Hz, 1 H), 4.39 (dd, $J = 7.6, 9.8$ Hz, 1 H), 4.23 (dd, $J = 7.2, 9.8$ Hz, 1 H), 2.86 – 2.76 (m, 1 H), 2.48 – 2.40 (m, 1 H), 2.32 (ddd, $J = 1.6, 7.8, 9.7$ Hz, 1 H), 2.25 – 2.11 (m, 2 H), 2.10 – 2.04 (m, 1 H), 1.68 – 1.59 (m, 1 H); ESI-MS (m/z): 514.1 (M+H⁺)。

2.9 体外抗肿瘤活性测试^[9]

选用人肺腺癌细胞 H1299、人肠癌细胞 HCT116、人乳腺癌细胞 MDA-MB-231、人肝癌细胞 HepG2、人胰腺癌细胞 PANC-1、人骨肉瘤细胞 Saos-2 及 U-2 OS, 均由上海医药工业研究院药理学室冻存和传代。样品用 DMSO (Merck) 溶解后, 加入 PBS 配成 1 000 μ g/ml 的溶液或均匀的混悬液, 然后用含 DMSO 的 PBS 稀释。向 96 孔板每孔加入浓度为 (5~6) $\times 10^4$ 个/ml 的细胞悬液 100 μ l, 置 37 °C, 5% CO₂ 培养箱内。24 h 后, 加入样品液, 每孔 10 μ l, 设双复孔, 37 °C, 5% CO₂ 作用 72 h。每孔加入 5 mg/ml 的 MTT 溶液 20 μ l, 作用 4 h 后加入溶解液, 每孔 100 μ l, 置培养箱内, 溶解后用 MK-2 全自动酶标仪测 570 nm OD 值。

2.10 蛋白质免疫印迹实验^[10]

选用 12 孔 4%~12% Bis/Tris SDS-PAGE 胶, 每孔上样 40 μ g 提取蛋白。第一泳道加 6 μ l marker, 上样蛋白按浓度从高到低或从低到高排列加样。用 MES SDS 电泳液在 80 V 条件下作用 30 min, 调节电压至 150 V 跑胶约 1 h。在 NuPAGE 转膜液

中,在 50 V 电压下转膜 2 h。然后室温封闭 2 h,洗膜 3 次,每次 15 min。在 4℃ 条件下孵育一抗,过夜。洗膜 3 次,避光抚育二抗 50 min,洗膜 3 次,用 LI-COR 扫膜仪扫膜。

2.11 细胞凋亡试验

向 6 孔板中分别加入 HCT116 和 PANC-1 细胞 (5×10^5 个/ml) 和 10 $\mu\text{mol/L}$ 的化合物 **14** 后,分别孵育 12、24 和 48 h,胰蛋白酶消化后用 PBS 冷溶液洗涤 2 次。离心去除上清液后,将细胞悬浮于 400 μl 缓冲液,加入 5 μl 的 annexin V-FITC,室温孵育 15 min。然后加入 10 μl 的碘化丙啶,室温避光继续孵育 15 min,收集细胞,用流式细胞仪 (BD Accuri C6) 检测。

2.12 细胞周期试验

向 HCT116 和 PANC-1 细胞中加入 10 $\mu\text{mol/L}$ 的化合物 **14** 后,分别孵育 12、24 和 48 h。收集细胞, PBS 溶液洗涤 2 次,用 75% 乙醇固定过夜。

PBS 溶液洗涤后,悬浮于 100 μl PBS 溶液,加入 200 mg/ml Rnase,反应 30 min 消除 RNA 干扰。然后,加入 20 $\mu\text{g/ml}$ 的碘化丙啶,孵育 30 min,洗涤,用流式细胞仪检测。

3 结果与讨论

3.1 化学合成

目标化合物的合成经过 23 步反应得到,合成路线见图 2。以 2-甲基-3-硝基苯胺 **4** 为原料,环合生成 4-硝基吡唑 **5**。经 10% Pt/C 催化还原硝基生成 4-氨基吡唑 **6** 后,与 4-氟苯甲醛在甲醇中室温反应,硼氢化钠还原后得到关键中间体 **7**。参考文献以 D-核糖为原料,经 12 步反应,以 16.0% 的总收率获得另一个关键中间体 **8**^[11]。在 18-冠-6 催化下,化合物 **7** 与中间体 **8** 反应后,水解生成化合物 **9**,收率为 53.3%。将化合物 **9** 与硫代氯甲酸苯酯反应后,在 AIBN 催化下用 $n\text{-Bu}_3\text{SnH}$ 还原成胺

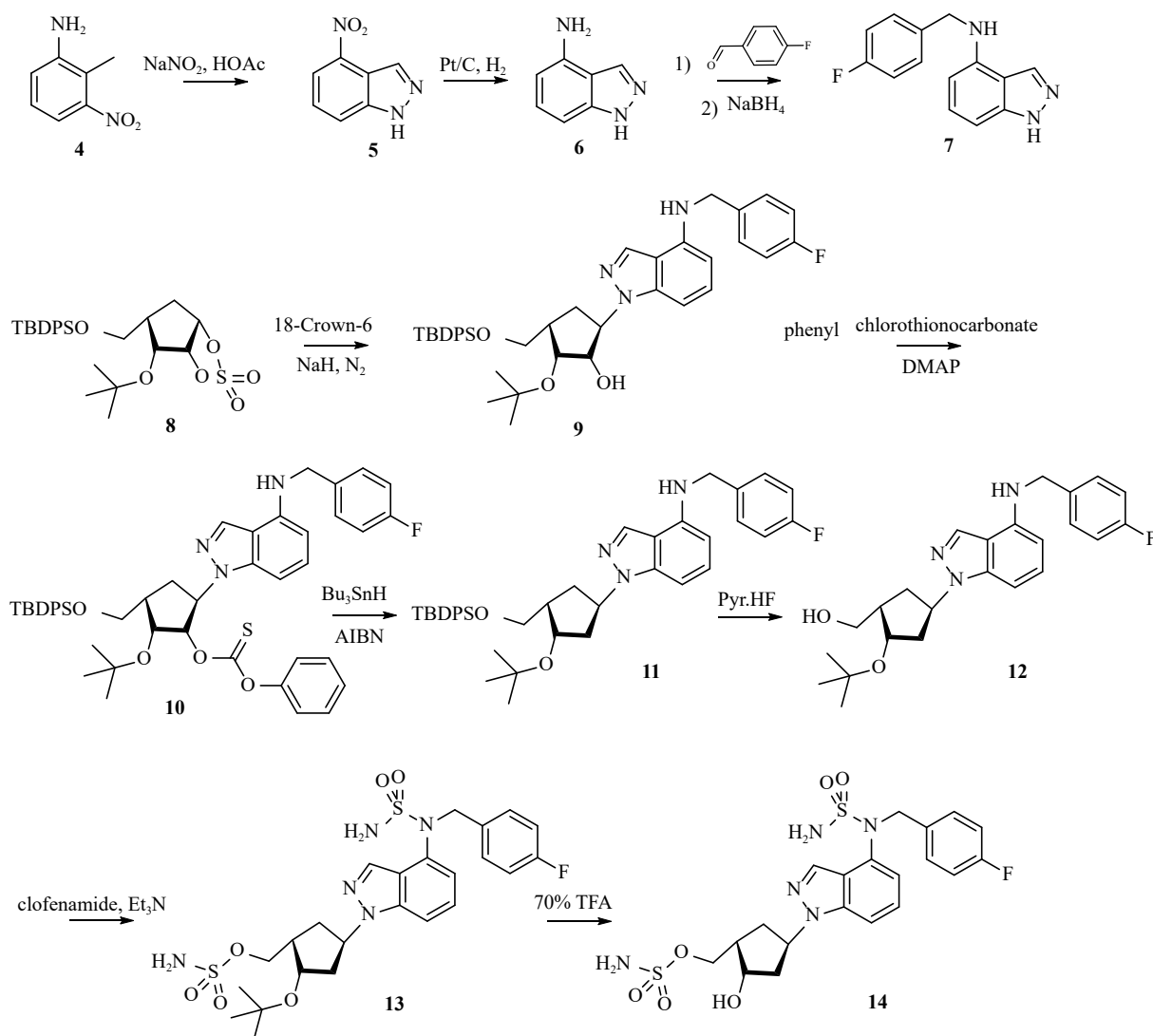


图 2 双磺酰胺吡唑 **14** 的合成路线

表1 双磺酰胺吡唑 **14** 的体外抗增殖活性

化合物	IC ₅₀ (μmol/L)						
	H1299	HCT116	MDA-MB-231	HepG2	PANC-1	Saos-2	U2 OS
14	8.62	11.06	68.03	37.96	18.59	3.45	11.04
多柔比星	0.25	0.31	0.72	0.72	0.65	0.02	0.04

11。然后,用吡啶氟化氢盐脱去 TBDPS 保护,得到 5'-羟基化合物 **12**。最后,与氯磺酰胺反应生成 5'-氯磺酰胺 **13**,脱去叔丁氧基保护得到目标化合物 **14**,反应总收率为 0.1%。

3.2 体外抗肿瘤活性研究

课题组选择 (H1299、HCT116、MDA-MB-231、HepG2、PANC-1、Saos-2 和 U2 OS)7 种肿瘤细胞株,以多柔比星为阳性对照,采用 MTT 法开展了体外抗肿瘤活性研究,结果见表 1。相对阳性对照药多柔比星,化合物 **14** 对所有肿瘤细胞株均表现出中等程度的活性,但也显示出一定的选择性。对 H1299、HCT116、PANC-1、Saos-2 和 U2 OS 活性优于其他 2 种肿瘤细胞株,如对 Saos-2 细胞株的 IC₅₀ 达 3.45 μmol/L,相比 MDA-MA-231 细胞株提高 23 倍,以上结果初步说明化合物 **14** 具有一定的广谱抗肿瘤活性。

3.3 NAE 抑制活性研究

为考察化合物 **14** 对 HCT116 肿瘤细胞的 NAE 抑制活性,课题组进行免疫蛋白印迹实验,结果见图 3A。不同浓度化合物 **14** 作用 24 h 后,

UBC12-NEDD8 水平得到明显抑制,并且呈剂量依赖性导致 UBC12 蛋白的累积,与阳性对照药 MLN4924 的作用一致 (图 3B)。结果表明,化合物 **14** 能有效抑制 NAE 活性。

3.4 细胞凋亡诱导作用和细胞周期阻滞研究

为进一步研究化合物 **14** 的抗肿瘤机制,课题组选择较为敏感的 2 种肿瘤细胞株 PANC-1 和 HCT116 进行了细胞凋亡和细胞周期阻滞研究。10 μmol/L 化合物 **14** 作用 48 h 后,在 PANC-1 细胞株中显示出明显的细胞凋亡作用 (图 4A)。相比空白组的 1.80%,凋亡细胞率上升至 23.83%,并且呈时间依赖性。化合物 **14** 作用 12 h 后,能明显导致 G2 期细胞阻滞 (图 4B)。初步表明化合物 **14** 通过细胞凋亡和细胞周期阻滞作用抑制 PANC-1 细胞增殖作用。但是,对 HCT116 细胞株,化合物 **14** 作用 48 h 后能明显导致细胞凋亡,但对细胞周期影响较小 (图 5A、图 5B)。

4 结论

采用骨架跃迁的药物设计策略,以吡唑骨架代

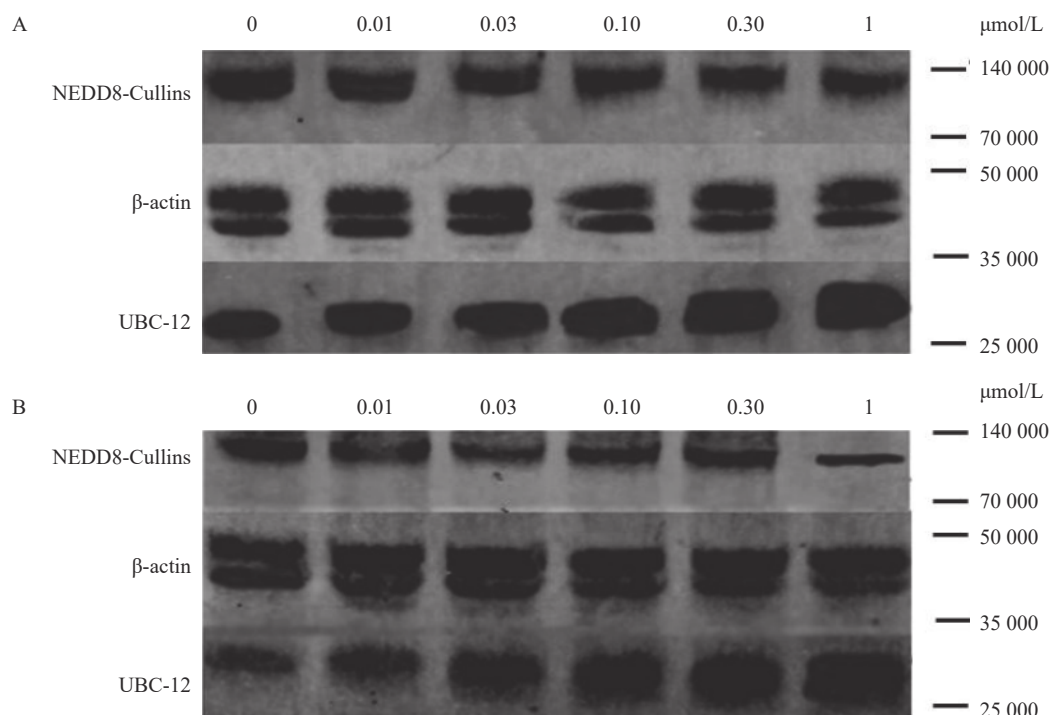


图3 化合物 **14** 对 NAE 信号通路的影响作用

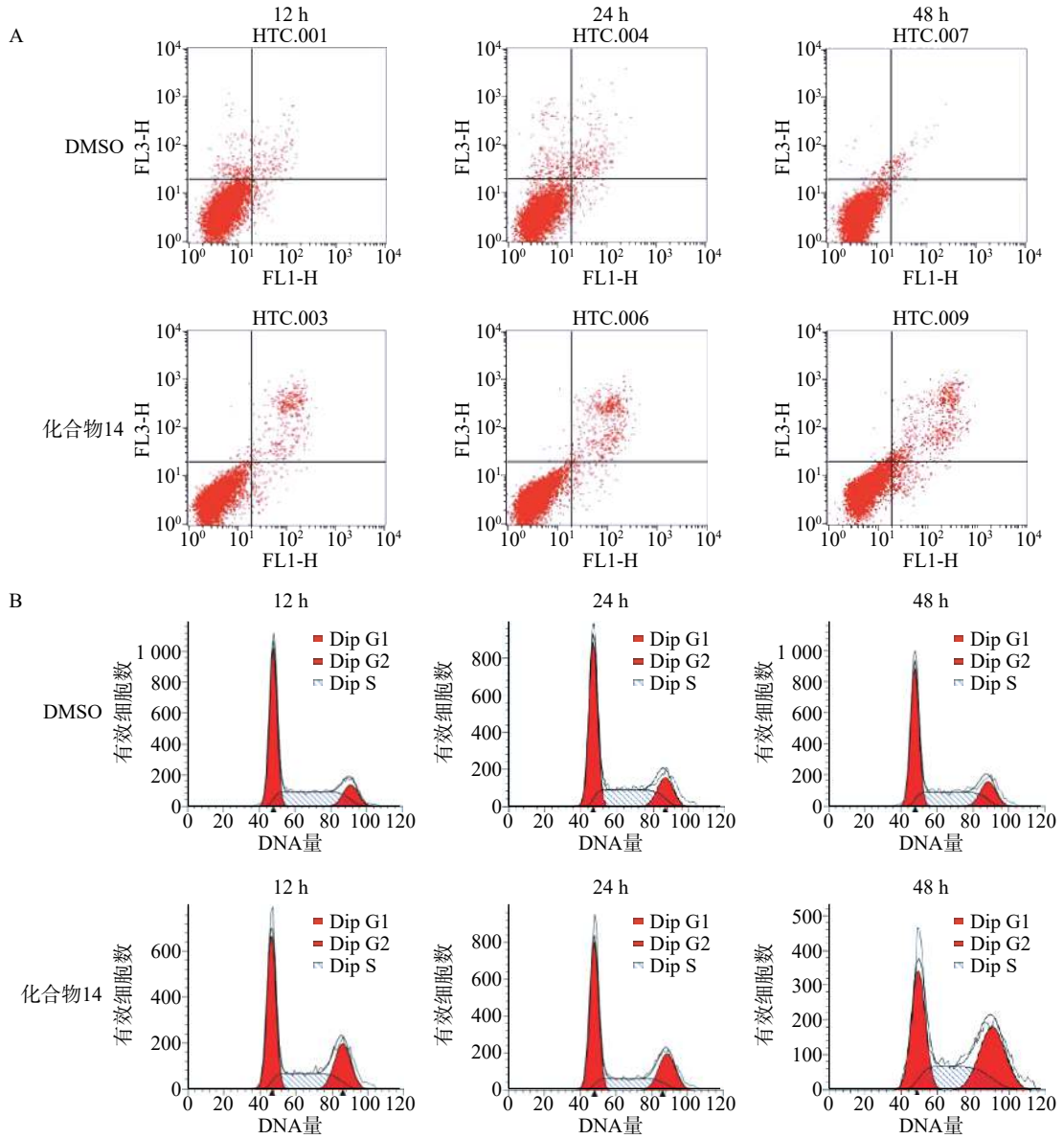
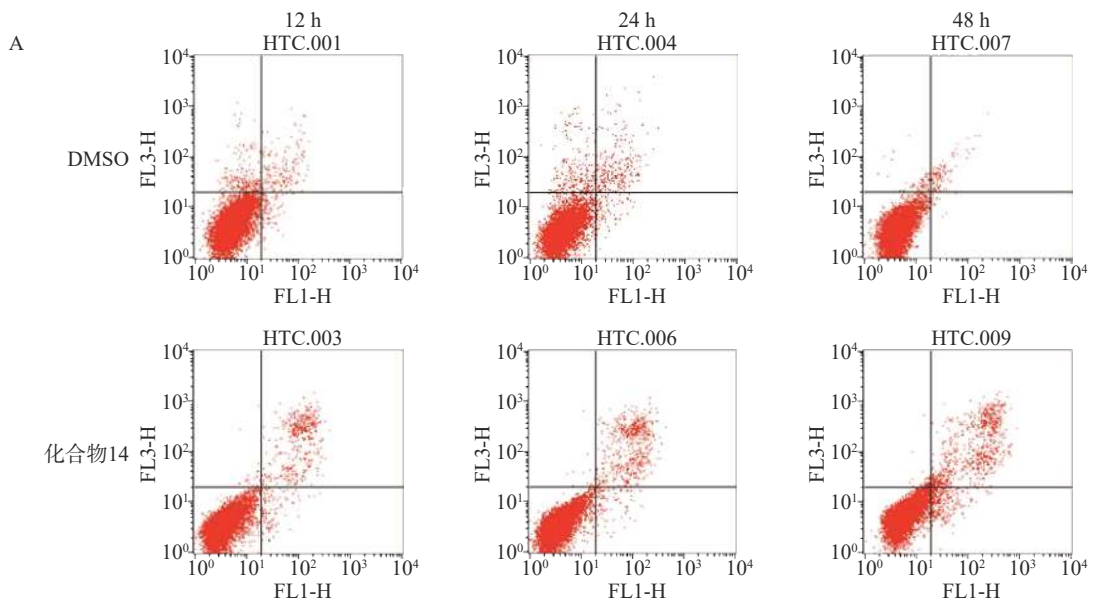


图4 化合物14对PANC-1细胞的诱导凋亡(A)和细胞阻滞作用(B)



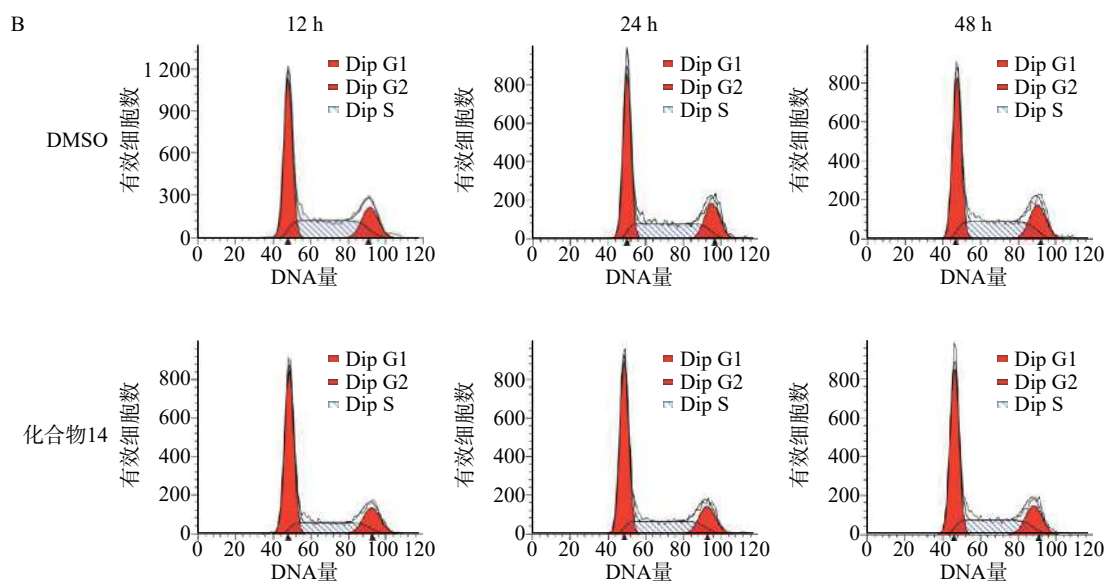


图5 化合物14对HCT116细胞的诱导凋亡(A)和细胞阻滞作用(B)

替 MLN4924 的吡咯并嘧啶骨架, 得到一类非核苷的 NAE 抑制剂, 显示出广谱的抗肿瘤活性。机制研究表明, 双磺酰胺类化合物 14 能显著诱导 PANC-1 细胞的凋亡作用, 导致细胞周期阻滞, 是值得进一步研究的 NAE 抑制剂先导化合物。

【参考文献】

- [1] SOUCY T A, SMITH P G, MILHOLLEN M A, et al. An inhibitor of NEDD8-activating enzyme as a new approach to treat cancer[J]. *Nature*, 2009, 458(7239): 732-736.
- [2] SWORDS R T, KELLY K R, SMITH P G, et al. Inhibition of NEDD8-activating enzyme: A novel approach for the treatment of acute myeloid leukemia[J]. *Blood*, 2010, 115(18): 3796-3800.
- [3] TANAKA T, NAKATANI T, KAMITANI T. Inhibition of NEDD8-conjugation pathway by novel molecules: potential approaches to anticancer therapy[J]. *Mol Oncol*, 2012, 6(3): 267-275.
- [4] XU B, DENG Y Y, BI R, et al. A first-in-class inhibitor, MLN4924 (pevonedistat), induces cell-cycle arrest, senescence, and apoptosis in human renal cell carcinoma by suppressing UBE2M-dependent neddylation modification[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2018, 81(6): 1083-1093.
- [5] LU P, GUO Y H, ZHU L J, et al. A novel NAE/UAE dual inhibitor LP0040 blocks neddylation and ubiquitination leading to

growth inhibition and apoptosis of cancer cells[J]. *Eur J Med Chem*, 2018, 154: 294-304.

- [6] ZHANG S P, TAN J N, LAI Z H, et al. Effective virtual screening strategy toward covalent ligands: identification of novel NEDD8-activating enzyme inhibitors[J]. *J Chem Inf Model*, 2014, 54(6): 1785-1797.
- [7] ZHONG H J, LEUNG K H, LIN S, et al. Discovery of deoxyvasicinone derivatives as inhibitors of NEDD8-activating enzyme[J]. *Methods*, 2015, 71: 71-76.
- [8] VERMA S, SINGH A, MISHRA A. Molecular dynamics investigation on the poor sensitivity of A171T mutant NEDD8-activating enzyme (NAE) for MLN4924[J]. *J Biomol Struct Dyn*, 2014, 32(7): 1064-1073.
- [9] MIAO Z Y, ZHU L J, DONG G Q, et al. A new strategy to improve the metabolic stability of lactone: discovery of (20S, 21S)-21-fluorocamptothecins as novel, hydrolytically stable topoisomerase I inhibitors[J]. *J Med Chem*, 2013, 56(20): 7902-7910.
- [10] WU K J, ZHONG H J, LI G D, et al. Structure-based identification of a NEDD8-activating enzyme inhibitor via drug repurposing[J]. *Eur J Med Chem*, 2018, 143: 1021-1027.
- [11] LEE H W, NAM S K, CHOI W J, et al. Stereoselective synthesis of MLN4924, an inhibitor of NEDD8-activating enzyme[J]. *J Org Chem*, 2011, 76(9): 3557-3561.

[收稿日期] 2019-01-10 [修回日期] 2019-04-17

[本文编辑] 李睿旻

(上接第13页)

- [35] WATANABE A, SOHAIL M A, GOMES D A, et al. Inflammation-mediated regulation of hepatic stellate cells[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2009, 296(6): G1248-G1257.

- [36] WREE A, MCGEOUGH M D, INZAUGARAT M E, et al. NLRP3 inflammasome driven liver injury and fibrosis: Roles of IL-17 and TNF in mice[J]. *Hepatology*, 2018, 67(2): 736-749.

[收稿日期] 2019-02-22 [修回日期] 2019-07-18

[本文编辑] 李睿旻