

苯并咪唑和苯并噻唑类衍生物的合成及其 sirtuins 抑制活性评价

周玉美^{1,2,3}, 崔华清³, 俞晓明³, 张首国², 彭涛², 王刚², 温晓雪²,
孙云波², 刘曙晨², 王林^{1,2*}

(1. 北京工业大学生命科学与生物工程学院, 北京 100124; 2. 军事医学科学院放射与辐射医学研究所, 北京 100850; 3. 中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 北京 100050)

摘要: 设计合成新型结构 sirtuins 抑制剂并评价其对 SIRT1~SIRT3 的抑制活性。基于已报道的 sirtuins 抑制剂结构和药效团特征, 设计了一系列苯并咪唑和苯并噻唑类化合物。以乙基黄原酸钾为起始原料, 经 3 步反应合成了 16 个未见文献报道的目标化合物, 目标化合物的结构经 ¹H NMR、HR-MS 确证。对目标化合物进行 SIRT1~SIRT3 的抑制活性评价, 其中苯并咪唑类化合物对 SIRT2 具有选择性的抑制活性。

关键词: 设计合成; 苯并咪唑; 苯并噻唑; sirtuins 抑制剂

中图分类号: R916

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2017) 05-0773-06

Synthesis of benzimidazole and benzothiazole derivatives as a sirtuins 2 inhibitor

ZHOU Yu-mei^{1,2,3}, CUI Hua-qing³, YU Xiao-ming³, ZHANG Shou-guo², PENG Tao²,
WANG Gang², WEN Xiao-xue², SUN Yun-bo², LIU Shu-chen², WANG Lin^{1,2*}

(1. College of Life Science and Bioengineering, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China; 2. Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China; 3. Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

Abstract: A series of novel benzimidazole and benzothiazole derivatives were designed and synthesized as inhibitors of SIRT1-SIRT3. The target compounds were synthesized from potassium *O*-ethylthiocarbonate through a three-step route. The structures of the obtained compounds were elucidated by ¹H NMR and HR-MS. Of all compounds, six showed potent SIRT2-inhibitory activities with IC₅₀ values ranging from 2.8 to 21.2 μmol·L⁻¹. Among them, compound **10c** displayed the most potent SIRT2-inhibitory activities (IC₅₀ = 2.8 μmol·L⁻¹), with more than 35-fold selectivity over SIRT1 and SIRT3 (IC₅₀ > 100 μmol·L⁻¹).

Key words: design and synthesis; benzimidazole; benzothiazole; sirtuins inhibitor

Sirtuins 家族是一类依赖 NAD⁺的组蛋白去乙酰化酶, 属于组蛋白去乙酰化酶的 III 亚族^[1]。人类 sirtuins 家族有 7 个成员: SIRT1~SIRT7, 其中: SIRT1 和 SIRT2 的去乙酰化酶活性最强, 生理功能最为重

要。已有研究表明, SIRT1 和 SIRT2 在多种生理和病理过程中发挥重要作用^[2]。

在过去的几年中, sirtuins 已成为热门治疗靶点, 大量文献报道, 通过抑制 sirtuins 可以治疗包括 2 型糖尿病、心血管疾病、神经退行性疾病、炎症和肿瘤等多种疾病。但到目前为止, 高活性小分子抑制剂仍较少, 部分结构见图 1^[3,4]。其中, 化合物 **1**、cambinol、和 tenovin-6 是非选择性 sirtuins 抑制剂, EX-527 和

收稿日期: 2017-02-28; 修回日期: 2017-03-17.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81273431).

*通讯作者 Tel: 86-10-66932239, E-mail: wanglin07@sina.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2017-0180

AGK2、AK-1 是已报道的活性较好的小分子选择性抑制剂,然而在动物实验中, Tenovin-6 是抗肿瘤活性最显著的化合物^[5,6]。

本文设计了一系列新结构类型的苯并咪唑和苯并噻唑衍生物,期望能够获得高活性的 sirtuins 抑制剂。目标化合物的合成见合成路线¹[7,8]: 分别以 2-氨基-5-氯苯硫酚或 *N*-甲基-4-氯-2-氨基苯胺与乙基黄原酸钾为起始原料,在微波条件下反应生成中间体 **3**、**4**,再经取代反应得到 **5a~5e** 和 **6a~6c**,然后经间氯过氧苯甲酸 (*m*-CPBA) 在适宜条件下氧化得到 16 个目标化合物 **7a~7e**、**8a~8e** 与 **9a~9c**、**10a~10c**。

结果与讨论

1 目标化合物的结构确证

合成了 16 个目标化合物,结构均经 ¹H NMR 和

HR-MS 确证且未见文献报道,其理化性质和谱学数据见表 1。

2 目标化合物的 SIRT1~SIRT3 抑制活性及初步结果讨论

以 Tenovin-6 和 AGK2 为阳性对照,测定了 16 个目标化合物对 SIRT1~SIRT3 的抑制活性,结果显示,目标化合物对 SIRT1~SIRT3 均有一定抑制作用(表 2)。

对于苯并噻唑类衍生物 (**7a~7e**、**8a~8e**): 当 R 为氟和甲氧羰基时,化合物 **7b**、**7c** 和 **8b**、**8c** 对 SIRT1 抑制活性高于 SIRT2 和 SIRT3,其 IC₅₀ 值分别为 76.8、85.1 和 80.7、82.3 μmol·L⁻¹; 当 R 相同时,苯并噻唑的 2-位为砷和亚砷的化合物对 SIRT1~SIRT3 的抑制活性没有明显区别。

对于苯并咪唑类衍生物 (**9a~9c**、**10a~10c**): 所

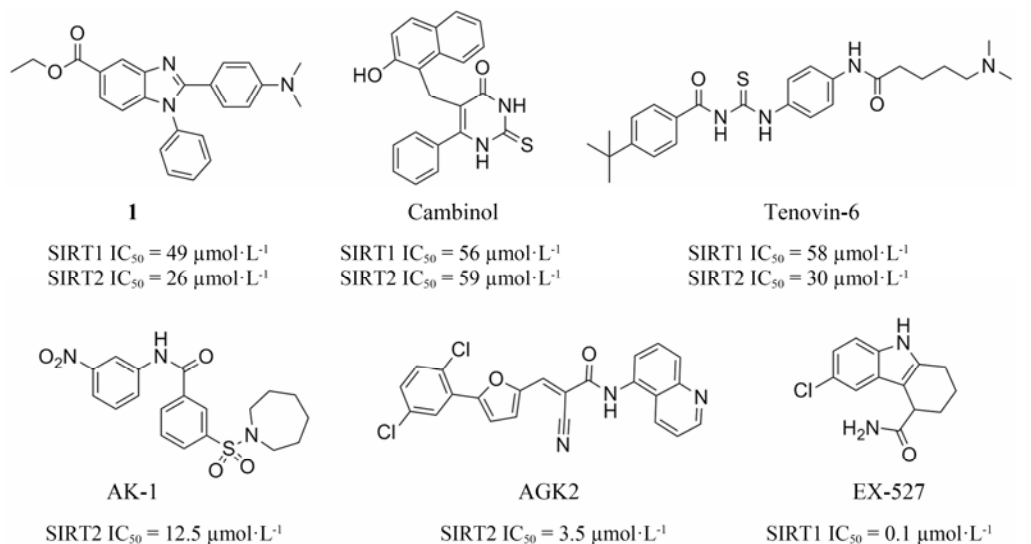
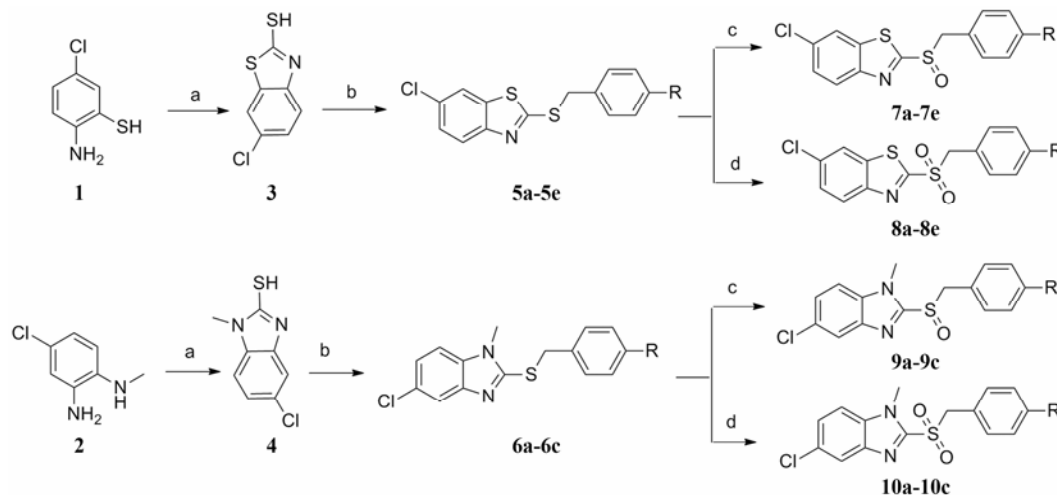


Figure 1 The structures of some known sirtuins inhibitors



Scheme 1 Synthetic route of the target compounds. Reagents and conditions: (a) Potassium *O*-ethylthiocarbonate, microwave: 150 Psi, 45 W, 155 °C, DMF; (b) 4-Substitute benzyl chloride, Et₃N, CH₂Cl₂, r.t.; (c) *m*-CPBA, CH₂Cl₂, 0 °C; (d) *m*-CPBA, CH₂Cl₂, r.t.

Table 1 Physical and spectral data of target compounds

Compd.	Yield/%	mp/°C	HR-MS m/z		$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ
			$[\text{M}+\text{H}]^+$ or $[\text{M}+\text{Na}]^+$	Calcd. (Found)	
7a	89.5	140–141	$\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{ClNO}_2\text{S}_2$	338.007 6 (338.007 7)	8.00 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.93 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.54 (dd, $J = 8.8, 2.0$ Hz, 1H), 7.08–7.03 (m, 2H), 6.81–6.77 (m, 2H), 4.46 (d, $J = 13.2$ Hz, 1H), 4.29 (d, $J = 13.3$ Hz, 1H), 3.77 (s, 3H)
7b	90.8	148–149	$\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{ClFNOS}_2$	325.987 6 (325.986 9)	8.00 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.93 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.54 (dd, $J = 8.8, 2.0$ Hz, 1H), 7.13–7.07 (m, 2H), 6.98–6.91 (m, 2H), 4.48 (d, $J = 13.3$ Hz, 1H), 4.30 (d, $J = 13.3$ Hz, 1H)
7c	93.5	176–177	$\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{ClNO}_3\text{S}_2$	366.002 5 (366.002 0)	8.01 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.95–7.89 (m, 3H), 7.55 (dd, $J = 8.8, 2.0$ Hz, 1H), 7.22–7.17 (m, 2H), 4.56 (d, $J = 13.1$ Hz, 1H), 4.37 (d, $J = 13.1$ Hz, 1H), 3.90 (s, 3H)
7d	92.5	186.5–188.0	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{ClN}_2\text{OS}_2$	332.992 3 (332.991 5)	8.01 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.93 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.58–7.51 (m, 3H), 7.24–7.19 (m, 2H), 4.55 (d, $J = 13.2$ Hz, 1H), 4.37 (d, $J = 13.2$ Hz, 1H)
7e	90.9	171–172	$\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{BrClNOS}_2$	385.907 5 (385.907 4)	8.00 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.94 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.55 (dd, $J = 8.8, 2.0$ Hz, 1H), 7.42–7.36 (m, 2H), 7.02–6.97 (m, 2H), 4.46 (d, $J = 13.3$ Hz, 1H), 4.29 (d, $J = 13.3$ Hz, 1H)
8a	90.6	187.5–189.0	$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{ClNNaO}_3\text{S}_2$	375.983 4 (375.983 0)	8.16 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.93 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.61 (dd, $J = 8.8, 2.0$ Hz, 1H), 7.18–7.14 (m, 2H), 6.82–6.77 (m, 2H), 4.69 (s, 2H), 3.77 (s, 3H)
8b	89.7	154–155	$\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{ClFN}_2\text{OS}_2$	341.982 5 (341.981 6)	8.16 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.94 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.62 (dd, $J = 8.8, 2.0$ Hz, 1H), 7.28–7.21 (m, 2H), 7.01–6.95 (m, 2H), 4.72 (s, 2H)
8c	91.4	200–201	$\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{ClNO}_4\text{S}_2$	381.996 9 (381.996 7)	8.17 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.97–7.92 (m, 3H), 7.62 (dd, $J = 8.8, 2.0$ Hz, 1H), 7.36–7.32 (m, 2H), 4.80 (s, 2H), 3.90 (s, 3H)
8d	83.3	201–202	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{ClN}_2\text{O}_2\text{S}_2$	348.987 2 (348.986 5)	8.16 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.97 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.66–7.58 (m, 3H), 7.44–7.40 (m, 2H), 4.80 (s, 2H)
8e	94.0	190–191	$\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{BrClNO}_2\text{S}_2$	401.902 4 (401.902 0)	8.16 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.95 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 7.62 (dd, $J = 8.9, 2.0$ Hz, 1H), 7.46–7.40 (m, 2H), 7.16–7.11 (m, 2H), 4.70 (s, 2H)
9a	93.3	160.5–162.0	$\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{ClN}_2\text{O}_2\text{S}$	335.062 1 (335.061 6)	7.82 (s, 1H), 7.35 (dd, $J = 8.7, 1.8$ Hz, 1H), 7.22 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 6.97–6.90 (m, 2H), 6.79–6.73 (m, 2H), 4.59 (d, $J = 13.1$ Hz, 1H), 4.43 (d, $J = 13.1$ Hz, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.48 (s, 3H)
9b	82.7	168–169	$\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{ClFN}_2\text{OS}$	323.042 1 (323.042 1)	7.86 (s, 1H), 7.39 (dd, $J = 8.7, 1.3$ Hz, 1H), 7.29–7.24 (m, 1H), 7.09–7.02 (m, 2H), 6.98–6.91 (m, 2H), 4.66 (d, $J = 13.2$ Hz, 1H), 4.58 (d, $J = 13.0$ Hz, 1H), 3.56 (s, 3H)
9c	80.0	176.5–177.5	$\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{ClN}_2\text{O}_3\text{S}$	363.057 0 (363.056 1)	7.95–7.89 (m, 2H), 7.82 (s, 1H), 7.36 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.22 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.16–7.12 (m, 2H), 4.71 (d, $J = 12.9$ Hz, 1H), 4.55 (d, $J = 13.0$ Hz, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.50 (s, 3H)
10a	93.1	156.5–158.0	$\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{ClN}_2\text{O}_3\text{S}$	351.056 0 (351.055 7)	7.91 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H), 7.43 (dd, $J = 8.8, 1.5$ Hz, 1H), 7.31–7.23 (m, 1H), 7.12–7.07 (m, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.81–6.76 (m, $J = 8.6$ Hz, 2H), 4.73 (s, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.61 (s, 3H)
10b	90.7	150–151	$\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{ClFN}_2\text{O}_2\text{S}$	339.037 0 (339.036 3)	7.89 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 7.44 (dd, $J = 8.8, 1.6$ Hz, 1H), 7.29 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.25–7.20 (m, 2H), 7.01–6.94 (m, 2H), 4.80 (s, 2H), 3.71 (s, 3H)
10c	91.4	176.5–178.0	$\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{ClN}_2\text{O}_4\text{S}$	379.051 9 (379.051 3)	7.98–7.93 (m, 2H), 7.89 (s, 1H), 7.44 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.35–7.28 (m, 3H), 4.88 (s, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.68 (s, 3H)

Table 2 The inhibitory activities against SIRT1–SIRT3 of target compounds

Compd.	R	% inhibition at $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$			$\text{IC}_{50}/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$		
		SIRT1	SIRT2	SIRT3	SIRT1	SIRT2	SIRT3
7a	CH_3O	33	28	43	>100	>100	>100
7b	F	57	45	39	76.8	>100	>100
7c	CH_3OCO	51	39	34	85.1	>100	>100
7d	CN	45	38	41	>100	>100	>100
7e	Br	43	33	26	>100	>100	>100
8a	CH_3O	36	31	35	>100	>100	>100
8b	F	56	45	36	80.7	>100	>100
8c	CH_3OCO	53	26	33	82.3	>100	>100
8d	CN	43	33	36	>100	>100	>100
8e	Br	44	34	33	>100	>100	>100
9a	CH_3O	33	71	38	>100	21.2	>100
9b	F	20	84	27	>100	10.6	>100
9c	CH_3OCO	30	87	39	>100	5.2	>100
10a	CH_3O	20	90	31	>100	7.7	>100
10b	F	68	87	72	31.9	3.9	21.2
10c	CH_3OCO	20	96	35	>100	2.8	>100
Tenovin-6	–	66	84	38	37.5	15.3	>100
AGK2	–	35	100	58	>100	1.56	52.8

有化合物对 SIRT2 抑制活性高于 SIRT1 和 SIRT3, 有一定选择性。其中化合物 **10c** 对 SIRT2 的抑制活性最为显著, IC_{50} 值为 $2.8 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 活性高于阳性对照 Tenovin-6; 化合物 **9a~9c** 的活性结果表明, 苯环上取代基 R 对活性的影响如下: $\text{CH}_3\text{OCO} > \text{F} > \text{CH}_3\text{O}$, 提示取代基 R 的电性效应及体积大小可能影响抑酶活性, 化合物 **10a~10c** 呈现相似的构效关系; 当 R 相同时, 苯并咪唑环的 2-位为砷的化合物比对应的亚砷化合物活性略高。

为预测苯并咪唑类新化合物的结合模式, 将活性最好的化合物 **10c** 对接到 SIRT2 的晶体结构中 (PDB code: 3ZGV, X-ray resolution = 2.30 \AA)^[9], 采用文献报道的方法进行计算。依据计算得到的结合能和结合方式的合理性, 选择最优结合模式。化合物 **10c** 与 SIRT2 的结合方式见图 2。化合物 **10c** 苯并咪唑环上的氮与 Arg97 形成氢键, 同时苯并咪唑环与 Tyr104 形成 π - π 相互作用; 砷基的两个氧原子均与 Ser263、Thr262 和 Ala85 形成氢键; 亚砷因为少一个氧原子, 减少了氢键的形成, 导致抑制活性没有对应的含砷化合物活性高; 其他的氢键 (3.5 \AA 内) 包括与 His187、Asn286 和 Thr262 相互作用。上述氢键, 与 SIRT2 和底物 ADPr 复合物对接形成的氢键的结合模式是一致的^[9], 与其他的 SIRT2 抑制剂如化合物 **1**、salermide 和 NF-675 报道的结合模式亦相似^[6,10]。

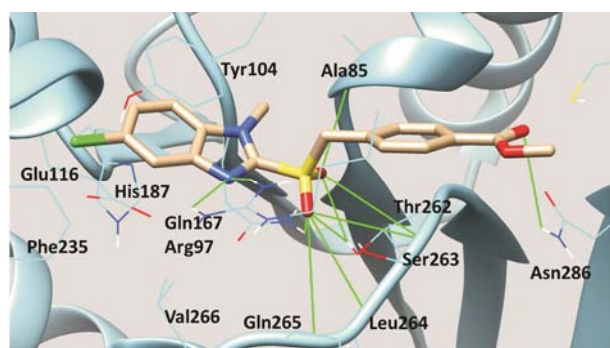


Figure 2 Molecular interactions between **10c** and SIRT2

3 小结

基于已报道的 sirtuins 抑制剂结构和药效团特征, 设计了一系列结构新颖的苯并咪唑和苯并噻唑类化合物, 评价了它们对 SIRT1~SIRT3 的抑制活性, 获得了 6 个有显著 SIRT2 选择性抑制活性的新化合物。初步探讨了目标化合物抑制 SIRT1~SIRT3 活性的构效关系, 并通过分子对接研究了苯并咪唑类化合物 **10c** 与 SIRT2 可能的结合模式, 为此类化合物的进一步结构优化提供了参考。

实验部分

熔点采用 MP-J3 熔点测定仪测定, 温度未校正; $^1\text{H NMR}$ 谱采用 Varian 400 MHz Plus 核磁共振仪测定 (TMS 为内标); HR-MS 采用 ThermoExactivePlus 质谱仪测定。所用试剂均为市售化学纯或分析纯。

1 化学合成

1.1 中间体 **3** 和 **4** 的合成通法 (以化合物 **3** 为例)

2-巯基-6-氯苯并咪唑 (3) 的合成 将 310 mg (1.94 mmol) 2-氨基-5-氯苯硫酚和 790 mg (4.93 mmol) 乙基黄原酸钾置于 10 mL 微波管中, 加入 3 mL DMF, 搅拌至全溶, 放入微波中, 在 150 psi 压力、45 W、155 $^{\circ}\text{C}$ 反应 5 min。停止反应, 用 30 mL 水稀释, 用醋酸调 pH 至 3~4, 析出灰色固体, 抽滤, 得到灰色固体 (**3**) 350 mg。用乙醇重结晶, 得到白色絮状固体 (**3**) 290 mg, 收率 74%; mp 231~232 $^{\circ}\text{C}$; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 13.86 (s, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.44 (d, $J = 8.6 \text{ Hz}$, 1H), 7.28 (d, $J = 8.5 \text{ Hz}$, 1H)。通法合成 **4**。

5-氯-2-巯基-N-甲基苯并咪唑 (4) 白色絮状固体; 收率 66.4%; mp 239.5~241 $^{\circ}\text{C}$; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 12.87 (s, 1H), 7.39 (d, $J = 8.5 \text{ Hz}$, 1H), 7.25 (d, $J = 8.6 \text{ Hz}$, 1H), 7.19 (s, 1H), 3.64 (s, 3H)。

1.2 中间体 **5a~5e** 和 **6a~6c** 的合成通法 (以化合物 **5a** 为例)

6-氯-2-[(4-甲氧基苄基)巯基]苯并[d]咪唑 (5a) 的合成 将 400 mg (2.0 mmol) 化合物 **3** 置于反应瓶中, 加入 15 mL CH_2Cl_2 , 1 mL DMF, 加入 0.3 mL (2.1 mmol) 4-甲氧基氯苄, 缓慢滴加 0.39 mL (2.8 mmol) Et_3N , 室温反应 3 h。停止反应, 蒸出 CH_2Cl_2 , 加 10 mL 水, 析出固体, 抽滤, 得到浅褐色固体 581 mg, 乙醇重结晶, 得到白色晶体 (**5a**) 430 mg, 收率 67%; mp 103~104 $^{\circ}\text{C}$; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 8.17 (d, $J = 1.8 \text{ Hz}$, 1H), 7.87 (d, $J = 8.7 \text{ Hz}$, 1H), 7.50 (dd, $J = 8.7, 2.0 \text{ Hz}$, 1H), 7.45~7.39 (m, 2H), 6.93~6.87 (m, 2H), 4.60 (s, 2H), 3.73 (s, 3H)。通法合成 **5b~5e**, 以 **4** 代替 **3** 通法合成 **6a~6c**。

6-氯-2-[(4-氟基苄基)巯基]苯并[d]咪唑 (5b) 白色晶体; 收率 54.8%; mp 84~85 $^{\circ}\text{C}$; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.79 (d, $J = 8.6 \text{ Hz}$, 1H), 7.73 (d, $J = 1.4 \text{ Hz}$, 1H), 7.45~7.36 (m, 3H), 7.05~6.97 (m, 2H), 4.57 (s, 2H)。

6-氯-2-[(4-甲氧基苄基)巯基]苯并[d]咪唑 (5c) 白色晶体; 收率 80%; mp 121~122 $^{\circ}\text{C}$; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.03~7.97 (m, 2H), 7.79 (d, $J = 8.7 \text{ Hz}$, 1H), 7.72 (d, $J = 1.9 \text{ Hz}$, 1H), 7.54~7.50 (m, 2H), 7.39

(dd, $J = 8.7, 2.0$ Hz, 1H), 4.63 (s, 1H), 3.90 (s, 3H)。

6-氯-2-[(4-氟基苄基)硫基]苯并[d]咪唑 (5d) 白色絮状固体; 收率 84%; mp 125~126 °C; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.79 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.73 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.64~7.55 (m, 4H), 7.40 (dd, $J = 8.7, 2.0$ Hz, 1H), 4.63 (s, 2H)。

6-氯-2-[(4-溴基苄基)硫基]苯并[d]咪唑 (5e) 白色晶体; 收率 77%; mp 95~96 °C; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.79 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.72 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.47~7.43 (m, 2H), 7.39 (dd, $J = 8.7, 2.0$ Hz, 1H), 7.35~7.31 (m, 2H), 4.54 (s, 2H)。

5-氯-2-[(4-甲氧基苄基)硫基]-1-甲基-1H-苯并[d]咪唑 (6a) 白色晶体; 收率 89%; mp 117~118 °C; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.75 (s, 1H), 7.37~7.32 (m, 2H), 7.22 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.15 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 6.86~6.81 (m, 2H), 4.63 (s, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.61 (s, 3H)。

5-氯-2-[(4-氟基苄基)硫基]-1-甲基-1H-苯并[d]咪唑 (6b) 白色晶体; 收率 79%; mp 85~86 °C; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.81 (s, 1H), 7.47~7.39 (m, 2H), 7.30~7.24 (m, 1H), 7.20 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.03~6.95 (m, 2H), 4.74 (s, 2H), 3.66 (s, 3H)。

5-氯-2-[(4-甲氧基苄基)硫基]-1-甲基-1H-苯并[d]咪唑 (6c) 白色絮状固体; 收率 82%; mp 122~123 °C; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.00~7.94 (m, 2H), 7.79 (s, 1H), 7.55~7.50 (m, 2H), 7.27~7.25 (m, 1H), 7.18 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 4.77 (s, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.64 (s, 3H)。

1.3 目标化合物 7a~7e 和 9a~9c 的合成通法 (以化合物 7a 为例)

6-氯-2-[(4-甲氧基苄基)亚磺酰基]苯并[d]咪唑 (7a) 的合成 冰浴条件下, 将 200 mg (0.62 mmol) **5a** 置于氩气保护的单口瓶中, 加入 10 mL CH_2Cl_2 , 搅拌 10 min 后, 加 85% 的 *m*-CPBA 126 mg (0.62 mmol)。冰浴条件下反应 30 min, 反应完全 (TLC 跟踪)。用饱和碳酸氢钠溶液 (8 mL)、饱和氯化钠溶液 (8 mL) 洗涤, 无水硫酸镁干燥, 过滤, 浓缩, 柱色谱 (石油醚-乙酸乙酯, 体积比 5:1) 纯化, 得白色晶体 (**7a**) 188 mg, 收率 90%。通法合成目标物 **7b~7e** 和 **9a~9c**。

1.4 目标化合物 8a~8e 和 10a~10c 的合成通法 (以化合物 8a 为例)

6-氯-2-[(4-甲氧基苄基)磺酰基]苯并[d]咪唑 (8a) 的合成 将 310 mg (0.963 mmol) **5a** 置于氩气保护的单口瓶中, 加入 20 mL 二氯甲烷, 加 85% 的 *m*-CPBA

782 mg (3.853 mmol)。室温搅拌反应 1 h, 反应完全。用饱和碳酸氢钠溶液 (12 mL×3)、饱和氯化钠溶液 (12 mL) 洗涤, 无水硫酸镁干燥, 过滤, 浓缩, 柱色谱 (石油醚-乙酸乙酯, 体积比 20:1) 纯化, 得白色晶体 (**8a**) 309 mg, 收率 90.6%。通法合成目标物 **8b~8e** 和 **10a~10c**。

2 SIRT1~SIRT3 体外抑制活性实验

参照文献^[1]方法, 采用大肠杆菌表达纯化的 SIRT1、SIRT2 和 SIRT3 重组蛋白用于活性检测。底物肽段为: Ac-Arg-His-Lys-[Lys-(Ac)]-AMC。催化反应在 60 μL 的反应液中进行 ($75 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NAD^+ 、 $25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 底物肽段、SIRT 蛋白和不同浓度的待测化合物), 37 °C 放置 1 h 后向反应溶液中加入 60 μL 的样品处理液 ($50 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris-HCl, pH 8.0、 $100 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl、60 000 unit Trypsin 和 $4 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ nicotinamide), 37 °C 放置 20 min。将酶标仪设置为激发光 355 nm, 吸收光为 460 nm, 测定吸收强度。通过计算获得小分子化合物对于各个酶的抑制活性。

References

- [1] Andrews KT, Tran TN, Wheatley NC, et al. Targeting histone deacetylase inhibitors for anti-malarial therapy [J]. *Curr Top Med Chem*, 2009, 9: 292-308.
- [2] Villalba JM, Alcaín FJ. Sirtuin activators and inhibitors [J]. *Biofactors*, 2012, 38: 349-359.
- [3] Qin HT, Li HQ, Liu F. Selective histone deacetylase small molecule inhibitors: recent progress and perspectives [J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2016, 29: 1-15.
- [4] Yoon YK, Oon CE. Sirtuin inhibitors: an overview from medicinal chemistry perspective [J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2016, 16: 1-14.
- [5] Sumit SM, Michele S, Smitha S, et al. Development of pyrazolone and isoxazol-5-one cambinol analogues as sirtuin inhibitors [J]. *J Med Chem*, 2014, 57, 3283-3294.
- [6] Yeong KY, Mohamed AA, Ang CW, et al. Benzimidazoles as new scaffold of sirtuin inhibitors: green synthesis, *in vitro* studies, molecular docking analysis and evaluation of their anti-cancer properties [J]. *Eur J Med Chem*, 2014, 83: 448-454.
- [7] Todor G, Deligeorgiev SS, Kaloyanova NY, et al. An environmentally benign procedure for the synthesis of substituted 2-thiobenzothiazoles, 2-thiobenzoxazoles, 2-thiobenzimidazoles, and 1,3-oxazolopyridine-2-thiols [J]. *Monatsh Chem*, 2011, 142: 895-899.
- [8] Aviv G, Nir O, Israel P, et al. Tyrphostins. 3. Structure-activity relationship studies of α -substituted benzylidene-

- malononitrile 5-*S*-aryltyrphostins [J]. *Med Chem*, 1993, 36: 3556–3564.
- [9] Moniot S, Schutkowski M, Steegborn C. Crystal structure analysis of human Sirt2 and its ADP-ribose complex [J]. *Struct Biol*, 2013, 182: 136–143.
- [10] Sakkiah S, Arooj M, Kumar MR, et al. Identification of inhibitor binding site in human Sirtuin 2 using molecular docking and dynamics simulations [J]. *PLoS One*, 2013, 8: e51429.
- [11] Cui HQ, Zeeshan K, Teng A, et al. Discovery of potent and selective Sirtuin 2 (SIRT2) inhibitors using a fragment-based approach [J]. *J Med Chem*, 2014, 57: 8340–8357.

扬子江药业集团创新发展纪实

创建于 1971 年的扬子江药业集团，秉承“求索进取，护佑众生”的理念，历经 40 多年艰苦奋斗，逐步发展成为一家跨地区、产学研相结合、科工贸一体化的大型医药企业集团。

“要把研发搞上去，走出自己的路子来！”这是 2008 年“两会”期间胡锦涛总书记对扬子江药业集团的殷殷嘱托，它激励着扬子江人时刻以科技创新为动力，以产业报国为己任，为振兴民族医药勇于担当争作贡献。多年来，公司一直遵循“高质、创新、惠民、奋进”的企业核心价值观，致力于开发有效性好、安全性高、质量稳定的新药、好药。

为加快集聚创新资源、面向全球引进高层次人才，扬子江药业在美国设立了子公司，专门负责国外生物医药研发信息以及人才信息的收集。2011 年，公司从美国成功引进具有 30 年工作经验的某跨国公司全球研发副总裁担任研究院院长，领衔创新药物研发。随着 30 多名高层次科研人才的相继加盟，15 名国内外专家学者应邀担任研究院高级顾问，为企业在短时间突破创新瓶颈、提升自主创新能力创造了有利条件。

目前公司研发人员总数近 500 人，其中博士以上学历 60 余人，硕士 200 余人。2001 年公司药物研究院被原国家经贸委等部门认定为国家级企业技术中心，2006 年被科技部认定为国家级企业创新研发中心。近年来公司在北京、上海、南京、广州、四川等地设立研发基地，并先后组建了博士后科研工作站、中药制药工艺技术国家工程研究中心、药物制剂新技术国家重点实验室、中药质量控制重点研究室等多个国家和省级研发平台，拥有了一支以海归高层次人才领衔的专业化创新团队，自主创新体系日益完善。

优秀的产品是企业长足发展的关键。经过 30 余年的技术积累和产品创新，通过产学研合作与自主研发相结合，公司逐渐建立了大而优的“产品群”，并成为“扬子江”抢占市场制高点的制胜法宝。

自主创新是企业提升国际竞争力的唯一出路。为此，公司确立了由“扬子江制造”向“扬子江创造”转变的目标，调整研发创新战略，加快推进由过去“仿制为主”逐步向“仿创结合、创新为主”过渡。“十一五”以来，累计获取新产品生产批件 40 多项，累计申请发明专利约 100 件（含 PCT 国际专利 4 件）。公司目前在研一类新药超过 10 个，这些专利药将在未来 5~10 年成为企业发展的“助推器”。

作为药品生产企业，公司为提升质量管理水平，不断学习应用国际先进的质量管理理念和经验，完善质量管理体系，加快与 FDA、欧盟国际标准对接，并引入卓越绩效管理模式，推行全过程质量控制。在国际认证实施过程中，公司还引入先进质量管理工具，如质量风险管理（QRM）、6 西格玛管理、纠正与预防措施（CAPA）等，为质量管理的提升奠定了坚实的基础。

九万里风鹏正举。在我国加快经济发展方式转变的背景下，扬子江药业集团正高举“高质 创新 惠民 奋进”的旗帜，以跻身国际一流制药企业为目标，阔步迈向“扬子江创造”新时代。