



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 112142742 B

(45) 授权公告日 2022. 01. 07

(21) 申请号 201910562893.1

(22) 申请日 2019.06.26

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 112142742 A

(43) 申请公布日 2020.12.29

(73) 专利权人 香港理工大学深圳研究院
地址 518057 广东省深圳市南山区高新园
南区粤兴一道18号香港理工大学产学研
研大楼205室

(72) 发明人 柯子斌 马聪 张雅晶 陈颖祥
张玉琴

(74) 专利代理机构 深圳中一专利商标事务所
44237

代理人 曹小翠

(51) Int.Cl.
C07D 487/04 (2006.01)
C07D 261/14 (2006.01)
C07D 513/04 (2006.01)
C07D 417/12 (2006.01)
C07D 277/46 (2006.01)
C07D 333/38 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 35/04 (2006.01)

审查员 孙静

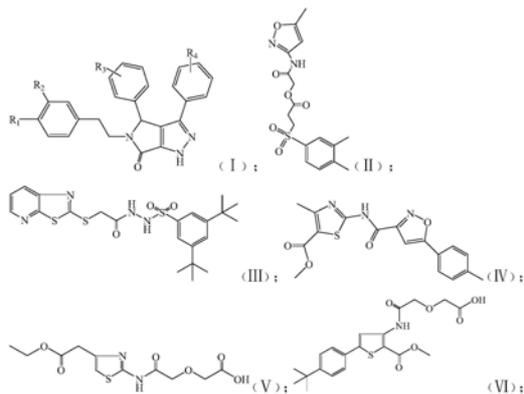
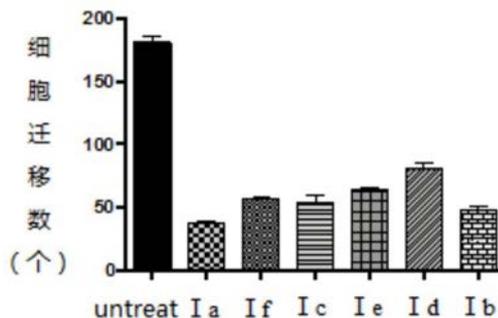
权利要求书2页 说明书11页 附图6页

(54) 发明名称

CTCF转录因子抑制剂及其应用

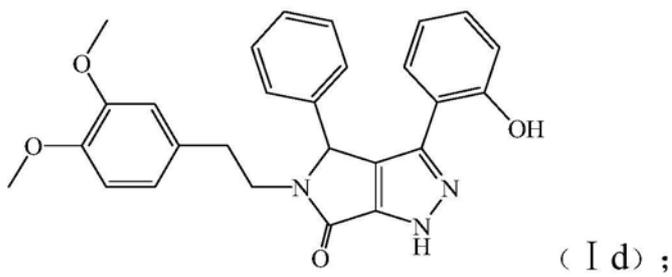
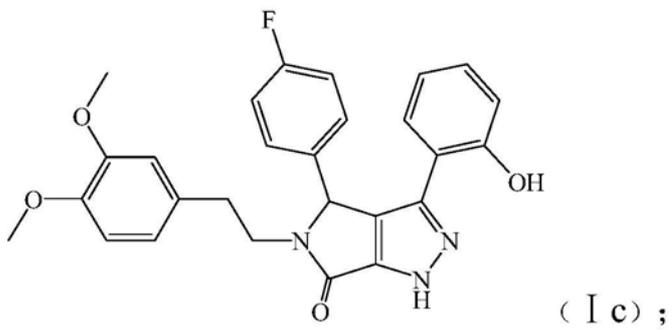
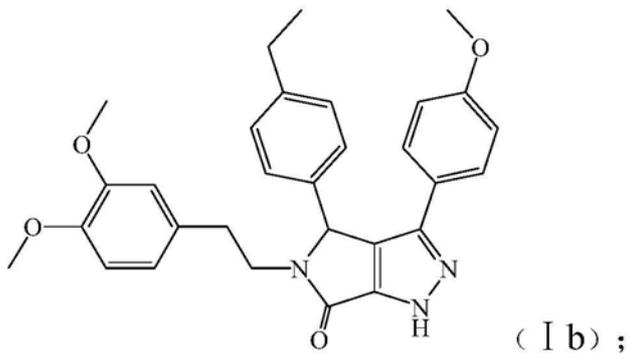
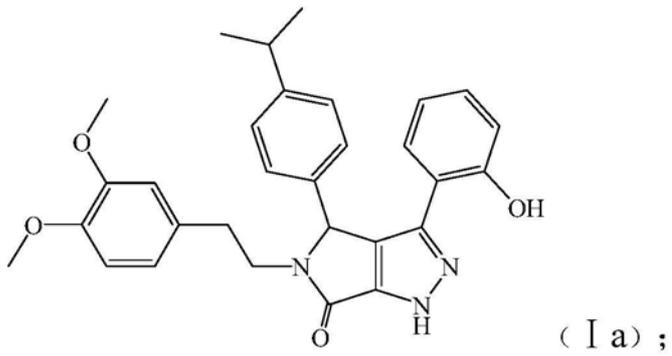
(57) 摘要

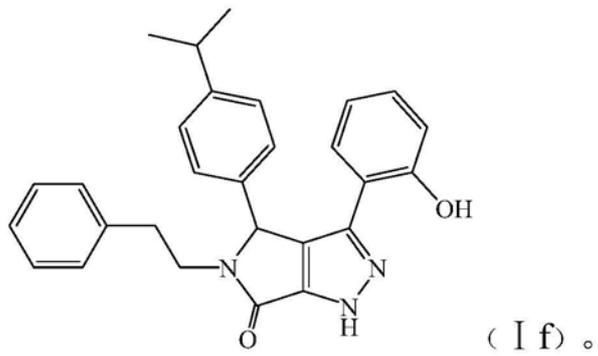
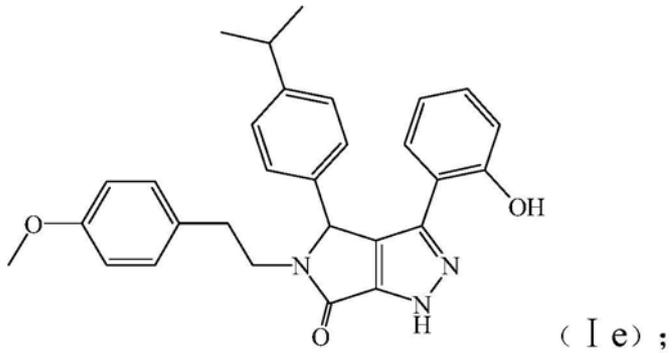
本发明属于生物医药技术领域,具体涉及一种CTCF转录因子抑制剂及其应用。本发明所提供的一种CTCF转录因子抑制剂,其活性成分包括化合物I、化合物II、化合物III、化合物IV、化合物V和化合物VI中的至少一种;其中,R₁和R₂各自独立地选自H、烷基或烷氧基;R₃选自H、卤素或烷基;R₄选自H、羟基或烷氧基。该CTCF转录因子抑制剂通过抑制CTCF转录因子与DNA结合以调节控制CTCF转录因子的转录表达,具有良好的癌细胞毒活性,并能有效抑制癌细胞转移,具有应用于制备抗癌药物的潜力。



CN 112142742 B

1. 一种CTCF转录因子抑制剂,其特征在于,所述CTCF转录因子抑制剂的活性成分为化合物I,所述化合物I为以下任一种化合物:





2. 根据权利要求1所述的CTCF转录因子抑制剂,其特征在于,所述CTCF转录因子抑制剂还包括药学上可接受的辅料、佐剂中的至少一种。

3. 权利要求1至2任一项所述的CTCF转录因子抑制剂在制备抗癌药物中的应用。

CTCF转录因子抑制剂及其应用

技术领域

[0001] 本发明属于生物医药技术领域,具体涉及一种CTCF转录因子抑制剂及其应用。

背景技术

[0002] 肝癌,全称为肝细胞性肝癌 (hepatocellular carcinoma, HCC), 位于全球癌症死亡率的第五位, 在中国HCC是继胃癌和食管癌后第三位高死亡率的癌症。由于HCC起病隐匿、转移率高且缺乏特异性的早期肿瘤标志物, 很多患者在就诊时已处于癌症的中晚期, 死亡率高达50%。

[0003] 传统的抗肝癌性药物缺乏靶向性, 在杀伤癌细胞的同时, 对正常的组织细胞也产生不同程度的损伤作用。而随着肿瘤分子生物学和转化医学的发展, 抗肿瘤药已从传统的细胞毒性药物向非细胞毒性药物发展, 非细胞毒性药物主要以肿瘤分子病理过程的关键调控分子等为靶点, 具有高选择性和高治疗指数的特点, 临床优势明显。其中, 索拉非尼 (Sorafenib) 是针对肝癌等多靶点激酶抑制剂药物, 通过阻断Ras/Raf/MEK/ERK信号传导通路, 同时抑制VEGFR (血管内皮生长因子受体) 和PDGFR (血小板衍生生长因子受体) 等受体酪氨酸激酶活性, 选择性高, 但仍存在疲乏、胃肠道反应、皮疹、脱发等副作用。其他肝癌治疗药物如噻替哌 (Thiotepa)、喜树碱 (Camptothecin)、乐伐替尼 (Lenvatinib)、去甲斑螋素 (Norcantharidin) 和葫芦素B (Cucurbitacin B) 等, 均通过多靶点作用于肝癌细胞, 具有不同程度的毒性副作用, 例如高血压和高血糖。因而, 提供一种疗效确切且毒副作用小的非细胞毒性药物以治疗肝癌, 具有重要的现实价值。

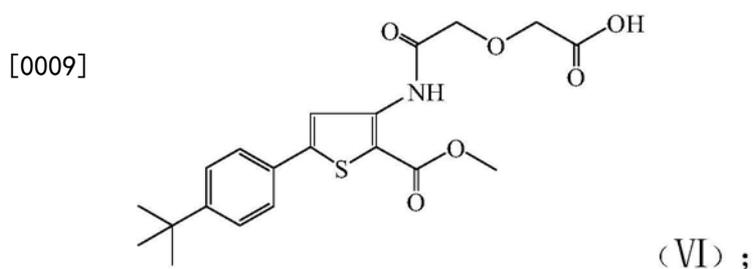
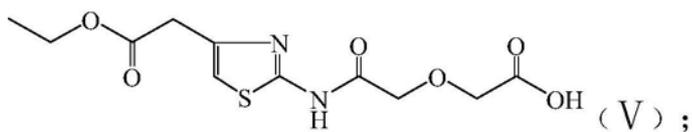
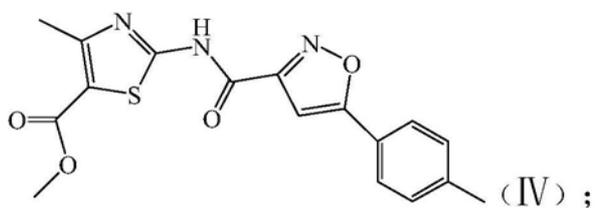
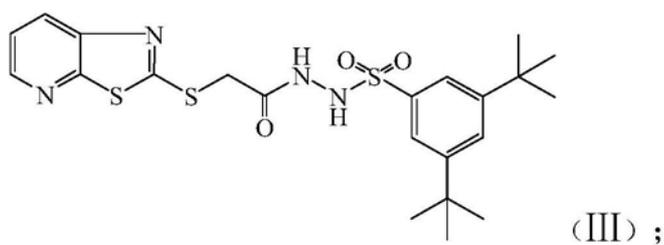
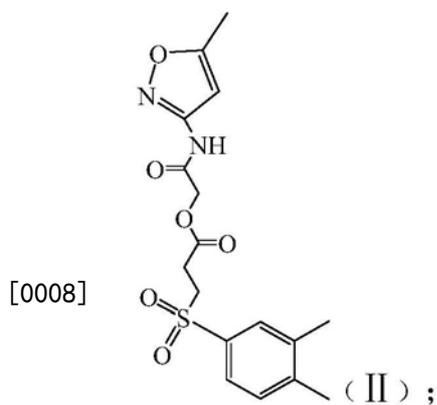
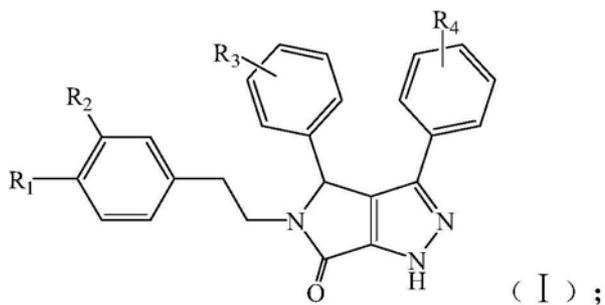
发明内容

[0004] 本发明的主要目的在于提供一种CTCF转录因子抑制剂, 旨在提供一种疗效确切且毒副作用小的非细胞毒性药物以应用于治疗癌症。

[0005] 本发明的另一目的在于提供上述CTCF转录因子抑制剂的应用。

[0006] 为了实现上述发明目的, 本发明提供了下述具体技术方案:

[0007] 一种CTCF转录因子抑制剂, 其活性成分至少包括化合物I、化合物II、化合物III、化合物IV、化合物V和化合物VI中的至少一种;



[0010] 其中, R_1 和 R_2 各自独立地选自H、烷基或烷氧基;

[0011] R_3 选自H、卤素或烷基;

[0012] R_4 选自H、羟基或烷氧基。

[0013] 本发明提供的CTCF转录因子抑制剂,其活性成分包括上述列举的几类化合物,靶

向作用于CTCF转录因子,通过抑制CTCF转录因子与DNA结合以调节控制CTCF转录因子的转录表达,具有良好的癌细胞毒活性,并能有效抑制癌细胞转移,具有应用于制备抗癌药物的潜力。

[0014] 相应的,本发明提供了上述CTCF转录因子抑制剂在制备抗癌药物中的应用。

[0015] 本发明提供的上述CTCF转录因子抑制剂具有良好的癌细胞毒活性,并能有效抑制癌细胞转移,可应用于制备抗癌药物。

附图说明

[0016] 图1为测试例1中各CTCF转录因子抑制剂的半抑制浓度(IC50)曲线;

[0017] 图2为测试例2中实施例1-6的CTCF转录因子抑制剂在实验结束后的细胞迁移数统计结果;

[0018] 图3为测试例2中实施例1和实施例8的CTCF转录因子抑制剂在实验结束后的细胞迁移数统计结果;

[0019] 图4为测试例2中空白组发生迁移的细胞染色结果;

[0020] 图5为测试例2中实施例1的活性成分作用下发生迁移的细胞染色结果;

[0021] 图6为测试例2中实施例6的活性成分作用下发生迁移的细胞染色结果;

[0022] 图7为测试例2中实施例3的活性成分作用下发生迁移的细胞染色结果;

[0023] 图8为测试例2中实施例5的活性成分作用下发生迁移的细胞染色结果;

[0024] 图9为测试例2中实施例4的活性成分作用下发生迁移的细胞染色结果;

[0025] 图10为测试例2中实施例2的活性成分作用下发生迁移的细胞染色结果;

[0026] 图11为测试例2中实施例8的活性成分作用下发生迁移的细胞染色结果;

[0027] 图12为测试例3中实施例1-实施例6的CTCF转录因子抑制剂的蛋白免疫印迹实验的检测结果;

[0028] 图13为测试例3中实施例7、1和9的CTCF转录因子抑制剂的蛋白免疫印迹实验的检测结果;

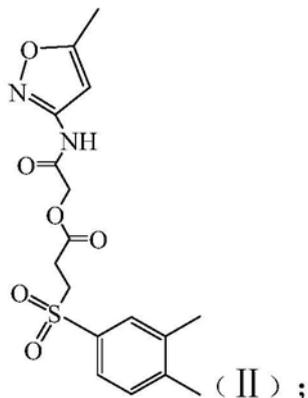
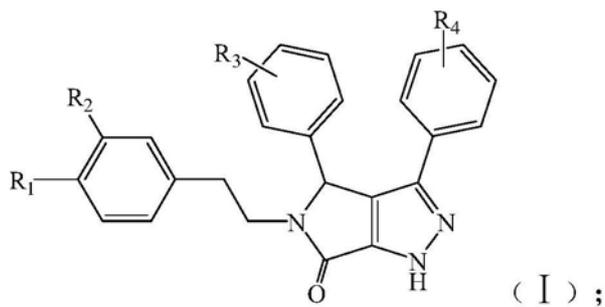
[0029] 图14为测试例3中实施例8、10和7的CTCF转录因子抑制剂的蛋白免疫印迹实验的检测结果。

具体实施方式

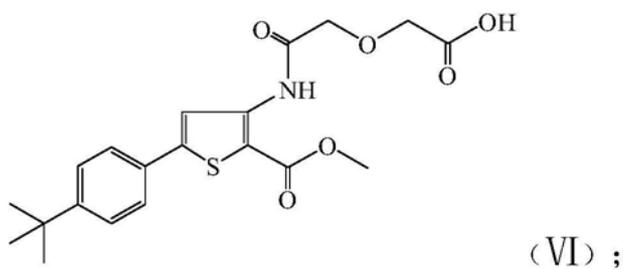
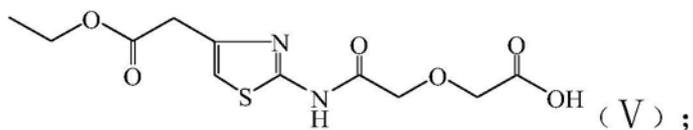
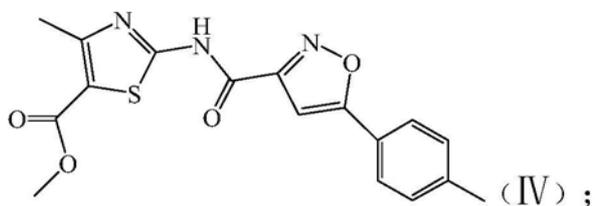
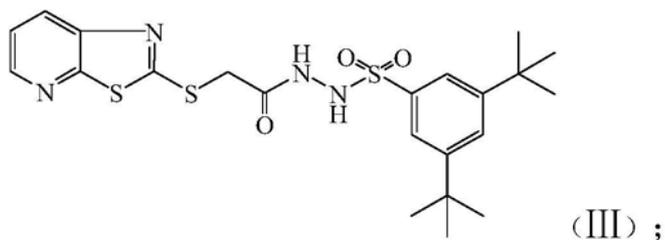
[0030] 为了使本发明的目的、技术方案及优点更加清楚明白,以下结合实施例,对本发明进行进一步详细说明。应当理解,此处所描述的具体实施例仅仅用以解释本发明,并不用于限定本发明。

[0031] 一种CTCF转录因子抑制剂,其活性成分包括化合物I、化合物II、化合物III、化合物IV、化合物V和化合物VI中的至少一种;

[0032]



[0033]

[0034] 其中, R_1 和 R_2 各自独立地选自H、烷基或烷氧基;[0035] R_3 选自H、卤素或烷基;[0036] R_4 选自H、羟基或烷氧基。

[0037] 本发明实施例提供的CTCF转录因子抑制剂,其活性成分包括上述6类化合物,靶向

作用于CTCF转录因子,通过抑制CTCF转录因子与DNA结合以调节控制CTCF转录因子的转录表达,具有良好的癌细胞毒活性,并能有效抑制癌细胞转移,具有应用于制备抗癌药物的潜力。

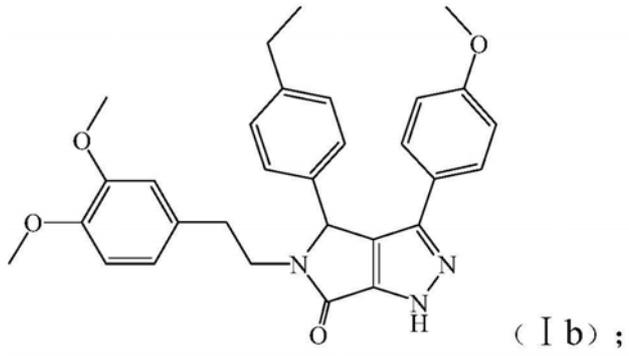
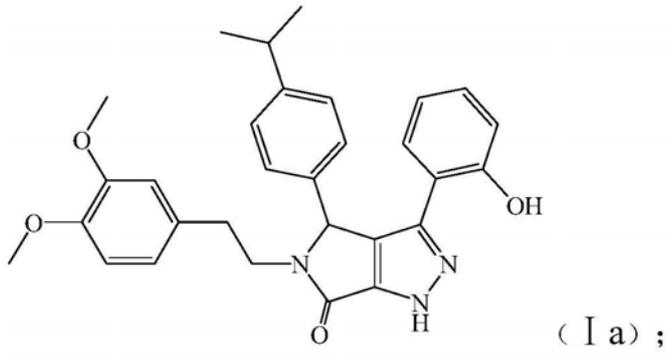
[0038] CTCF,又称为CCCTC结合因子(CCCTC-binding factor),其结合位点具有3个CCCTC重复序列,是一种广泛存在于真核生物中的多功能转录因子,通过其11锌指结构可与多种基因和蛋白质结合而广泛参与基因的表达调控,表现出各种生物学性能。近日本申请人研究发现^[1],CTCF的减少会降低癌细胞例如肝癌细胞的迁移性和侵袭性,FOXM1是HCC中CTCF的重要下游效应子之一,FOXM1的异位表达会逆转癌细胞的迁移和侵袭,故通过降低癌细胞CTCF蛋白表达或抑制CTCF蛋白与DNA结合,可有效抑制癌细胞的增殖和转移。经实验检测,采用上述列举的几种化合物作为活性成分,可有效抑制癌细胞例如肝癌细胞PLC5细胞的FOXM1蛋白的表达,显示了本发明实施例提供的CTCF转录因子抑制剂可有效抑制CTCF转录因子的转录表达,而且,近年来的研究表明FOXM1对于癌症的发生、侵袭转移等生物学行为密切相关,反映了本发明实施例提供的CTCF转录因子抑制剂具有应用于预防或治疗癌症的潜在价值。

[0039] [1]Zhang,B.,Zhang,Y.,Zou,X.,Chan,A.W.,Zhang,R.,Lee,T.K.W.,...&Cheung,Y.S.(2017).The CCCTC-binding factor(CTCF)-forkhead box protein M1axis regulates tumour growth and metastasis in hepatocellular carcinoma.The Journal of pathology,243(4),418-430.

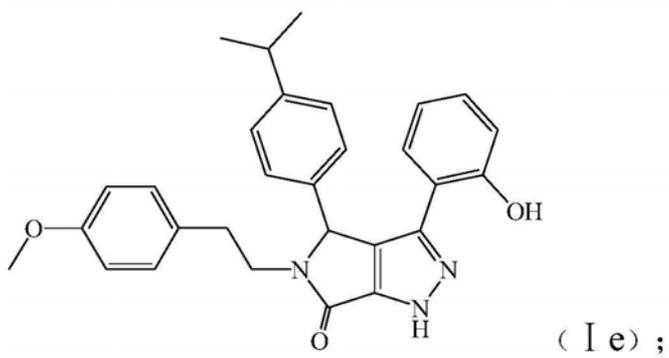
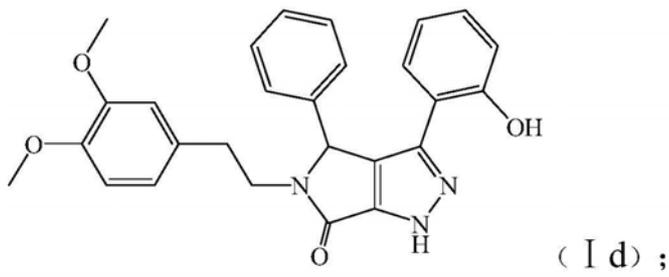
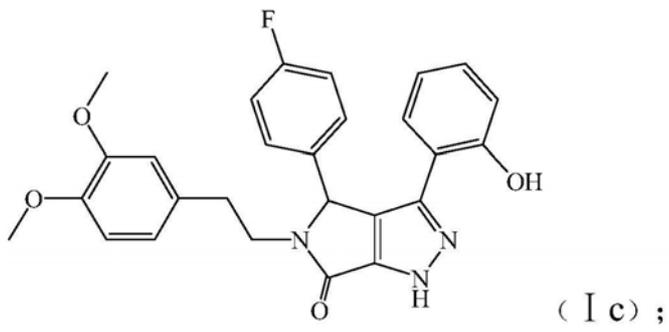
[0040] 在本发明实施例中,所述烷基指的是一类仅含有碳、氢两种原子的链状或环状有机基团,通式表示为-R,优选为碳原子个数为1-20且不饱和度在4以下的烷基或环烷基,包括但不限于甲基、乙基、异丙基、叔丁基、环戊基和环己基等。所述烷氧基指的是一类含有氧且通过氧取代化合物母核的氢原子的一类有机基团,通式为-OR,优选为碳原子个数为1-20且不饱和度在4以下的烷氧基,包括但不限于甲氧基、乙氧基等。所述卤素指的是ⅧA族元素,包括氟(F)、氯(Cl)、溴(Br)、碘(I)等元素,优选为F、Cl和Br。

[0041] 作为优选,所述R₁和所述R₂各自独立地选自H或碳原子个数为6以下的烷氧基,所述R₃选自H、F或碳原子个数为6以下的烷基,所述R₄选自H、羟基或碳原子个数为6以下的烷氧基。

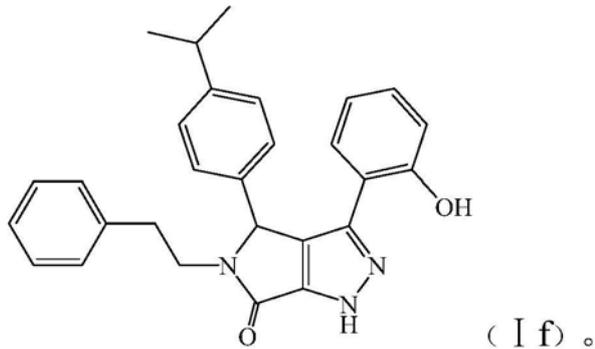
[0042] 作为优选,所述化合物I包括以下任一种化合物:



[0043]



[0044]



[0045] 在一些测试例中,上述化合物Ia-I f显示对PLC5细胞的CTCF下游蛋白FOX M1的表达的有效抑制浓度低至10 μ M,具有良好的肝癌细胞毒活性,并能有效抑制肝癌细胞转移,可有效应用于制备用于预防或治疗肝癌药物。

[0046] 作为一种优选的实施方式,所述CTCF转录因子抑制剂的活性成分包括:化合物I。

[0047] 作为另一种优选的实施方式,所述CTCF转录因子抑制剂的活性成分包括:化合物I,以及化合物II、化合物III、化合物IV、化合物V和化合物VI中的至少一种。将具有肝癌细胞毒活性的不同类型的化合物联用,可减少用药的剂量,提高药效,避免单一用药的大剂量对正常细胞带来的毒副作用。在一些实施例,所述CTCF转录因子抑制剂的活性成分包括:化合物Ia至化合物I f中的至少一种,以及化合物II、化合物III、化合物IV、化合物V和化合物VI中的至少一种。

[0048] 作为又一种优选的实施方式,所述CTCF转录因子抑制剂的活性成分包括:化合物I和化合物VI,以及化合物II、化合物III、化合物IV和化合物V中的至少一种。在一些实施例中,所述CTCF转录因子抑制剂的活性成分包括:化合物Ia至化合物I f中的至少一种,化合物VI,以及化合物II、化合物III、化合物IV和化合物V中的至少一种。

[0049] 作为再一种优选的实施方式,所述CTCF转录因子抑制剂的活性成分包括:化合物VI。在一些测试例中,该化合物显示对PLC5细胞的CTCF下游蛋白FOX M1的表达的有效抑制浓度低至22.5 μ M,具有一定的肝癌细胞毒活性。

[0050] 作为其他的实施方式,所述CTCF转录因子抑制剂的活性成分包括:化合物VI,以及化合物II、化合物III、化合物IV和化合物V中的至少一种。这几种化合物均具有一定的肝癌细胞毒活性,将多种活性化合物组合或可有效降低单独用药的剂量,提高药效。

[0051] 在本发明实施例中,所述CTCF转录因子抑制剂还包括药学上可接受的辅料、佐剂和前药中的至少一种,活性成分以有效剂量与所述药学上可接受的辅料、佐剂和前药中的至少一种进行均匀混合。有效剂量是指治疗有效量,是指足以对个体显示益处或临床意义的本发明实施例的活性成分的使用剂量。本领域技术人员将会理解,给药的量或剂量以及给药时程将取决于被治疗的疾病的性质和严重性、被治疗的受试者的年龄和一般状况以及给药方式等。所述CTCF转录因子抑制剂经由口服给药、静脉内注射、静脉内输注、腹膜内注射、肝动脉栓塞化学疗法、肌内注射和/或皮下注射施用至受试者。

[0052] 所述药学上可接受的辅料是指本领域技术人员已知的适合于特定的给药模式的任何辅料,例如在具体实施例中,该药学上可接受的辅料可以包括与本发明实施例活性成分配伍的一种或多种药学上可接受的载体、溶剂、赋形剂、缓冲剂、润滑剂。其中,辅料应当是无毒的、不干扰或不损害本发明实施例活性成分的效力,且该辅料所选用可以根据上述

实施例所述CTCF转录因子抑制剂的具体剂型而灵活选用。所述载体包括但不限于糖类诸如乳糖、葡萄糖和蔗糖,淀粉诸如玉米淀粉和马铃薯淀粉,纤维素及其衍生物诸如梭甲基纤维素钠、乙基纤维素和醋酸纤维素等。所述赋形剂包括但不限于可可脂,栓剂蜡,油类诸如花生油、棉籽油、红花油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油,二醇类如丙二醇,酯类如油酸乙酯和十二酸乙酯,以及琼脂等。所述缓冲剂包括但不限于氢氧化镁、氢氧化铝、海藻酸、无致热原水、等渗盐水、林格氏溶液、乙醇和磷酸盐缓冲溶液等中的至少一种。所述润滑剂包括但不限于十二烷基硫酸钠和硬脂酸镁等。进一步的,根据本领域技术人员的判断,着色剂、释放剂、包衣剂、增甜剂、调味剂、芳香剂、防腐剂 and 抗氧化剂也可以作为所述辅料。

[0053] 作为优选,所述CTCF转录因子抑制剂的剂型包括溶液剂、丸剂、片剂、胶囊剂、散剂、糊剂、气溶胶和贴剂中的至少一种。

[0054] 相应的,本发明提供了上述CTCF转录因子抑制剂在制备抗癌药物中的应用。

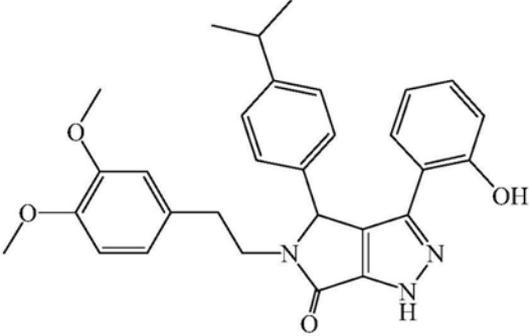
[0055] 本发明实施例提供的上述CTCF转录因子抑制剂具有良好的癌细胞毒活性,并能有效抑制癌细胞转移,可应用于制备用于预防或治疗癌症药物。

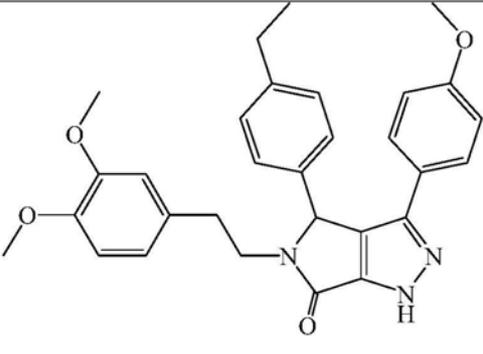
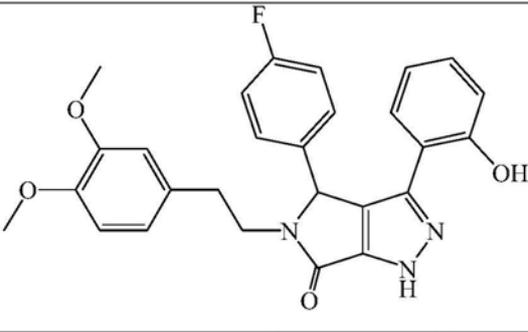
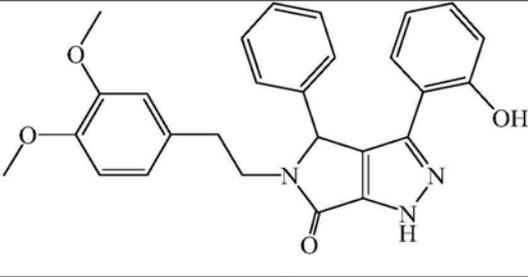
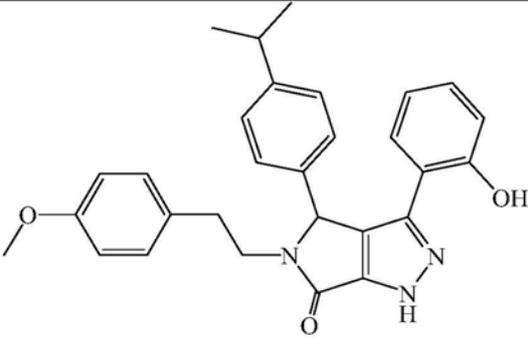
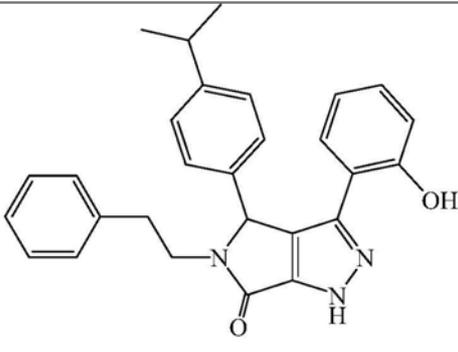
[0056] 在本发明实施例中,所述抗癌药物指的是用于预防或治疗癌症的药物,所述癌症包括但不限于肝癌、肺癌、乳腺癌、肠癌、胃癌、前列腺癌、胰脏癌、卵巢癌、子宫颈癌等。作为优选,所述抗癌药物为用于预防或治疗肝癌的药物。在一些测试例中,上述CTCF转录因子抑制剂显示对PLC5细胞的CTCF下游蛋白FOXM1的表达的有效抑制浓度低至10 μ M,具有良好的肝癌细胞毒活性,并能有效抑制肝癌细胞转移,可有效应用于制备用于预防或治疗肝癌药物。

[0057] 为使本发明上述实施细节和操作能清楚地被本领域技术人员理解,以及本发明实施例一种CTCF转录因子抑制剂及其应用的进步性能显著地体现,以下通过实施例对本发明的实施进行举例说明。

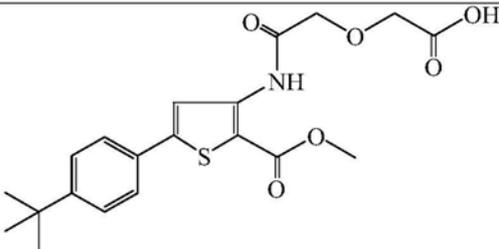
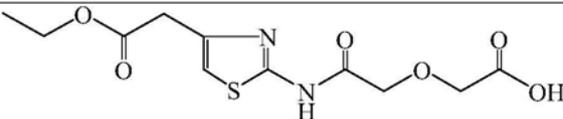
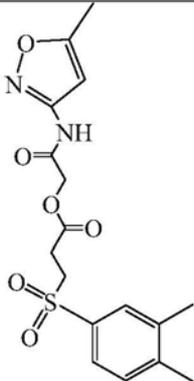
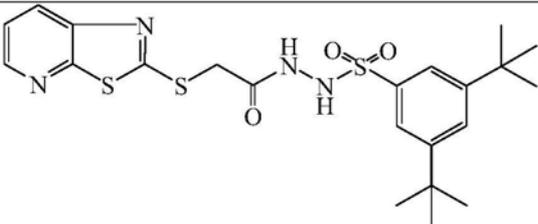
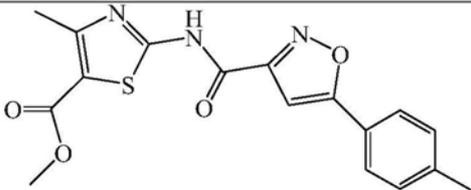
[0058] 实施例1-11提供了CTCF转录因子抑制剂,包括有效剂量的活性成分,以及辅料;其中,活性成分如表1所示:

[0059] 表1

	化学结构	化合物编号
[0060] 实施例 1		I a

实施例 2		I b
实施例 3		I c
实施例 4		I d
实施例 5		I e
实施例 6		I f

[0061]

实施例 7		VI
实施例 8		V
[0062] 实施例 9		II
实施例 10		III
实施例 11		IV

[0063] 测试例1

[0064] 本测试例选择肝癌细胞PLC5细胞,测试了实施例1-11提供的CTCF转录因子抑制剂对PLC5细胞的半抑制浓度(IC₅₀,%),检测结果如图1所示,显示实施例1-实施例7提供的CTCF转录因子抑制剂对PLC5细胞的生长具有较高的抑制作用。

[0065] 测试例2

[0066] 本测试例选择肝癌细胞PLC5细胞,对实施例1-6和实施例8提供的CTCF转录因子抑制剂进行了细胞迁移实验,采用具有8μm孔径聚碳酸酯膜的Transwell小室进行实验。

[0067] 将Transwell小室放入培养板中,小室内称上室,培养板内称下室,上、下室的培养液以聚碳酸酯膜相隔,由于聚碳酸酯膜有通透性,下层培养液中的成分可以影响到上室内的细胞,从而研究下层培养液中的成分对细胞生长、运动等的影响,例如进行细胞迁移、细胞侵袭等多种方面的研究。

[0068] 将实施例1-6和实施例8提供的CTCF转录因子抑制剂分别与PLC5细胞混合孵育24小时,然后消化细胞,用PBS洗涤1次,用无血清培养基悬浮细胞,计数,调整浓度为 4×10^5 /mL。在Transwell下室(即24孔板底部)加入500 μ L含10%血清的培养基,上室加入100 μ L细胞悬液,然后,继续在孵箱培养16h;接着,将下室的培养液浸泡在70%甲醇溶液中,固定20min,用0.5%结晶紫染色细胞,结晶紫是一种碱性染料,可以和细胞核中的DNA结合,从而细胞染色为蓝紫色;之后,镜检,镜下对染色后的细胞进行计数,计数值高,则该组细胞迁移能力强。

[0069] 图2为实施例1-6的CTCF转录因子抑制剂在实验结束后的细胞迁移数统计结果,测试浓度为10 μ M,图2显示,实施例1-6的CTCF转录因子抑制剂相对于空白组均能明显抑制肝癌细胞迁移。

[0070] 图3为实施例1和实施例8的CTCF转录因子抑制剂在实验结束后的细胞迁移数统计结果,实施例1的化合物Ia的测试浓度为10 μ M,实施例8的化合物V的测试浓度为1600 μ M,图3显示,在抑制肝癌细胞迁移作用上,实施例1的化合物Ia优于实施例8的化合物V。

[0071] 图4为空白组发生迁移的细胞染色结果,图5为实施例1的活性成分作用下发生迁移的细胞染色结果,图6为实施例6的活性成分作用下发生迁移的细胞染色结果,图7为实施例3的活性成分作用下发生迁移的细胞染色结果,图8为实施例5的活性成分作用下发生迁移的细胞染色结果,图9为实施例4的活性成分作用下发生迁移的细胞染色结果,图10为实施例2的活性成分作用下发生迁移的细胞染色结果,图11为实施例8的活性成分作用下发生迁移的细胞染色结果。如图4-图11所示,相对于空白组,本发明实施例提供的CTCF转录因子抑制剂具有能够有效抑制细胞迁移的能力。

[0072] 测试例3

[0073] 本测试例进行了Western Blotting(蛋白免疫印迹)实验,选择肝癌细胞PLC5细胞,测试分析了实施例1-11提供的CTCF转录因子抑制剂在不同浓度下对PLC5细胞的蛋白表达的影响,空白组加入DMSO替代其余各测试组加入的样品,Actin是内参蛋白。如图12-图14的检测结果显示,加入本实施例的各CTCF转录因子抑制剂的测试组中,作为CTCF下游表达蛋白FOXM1受到不同程度的抑制。

[0074] 以上所述仅为本发明的较佳实施例而已,并不用以限制本发明,凡在本发明的精神和原则之内所作的任何修改、等同替换和改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。

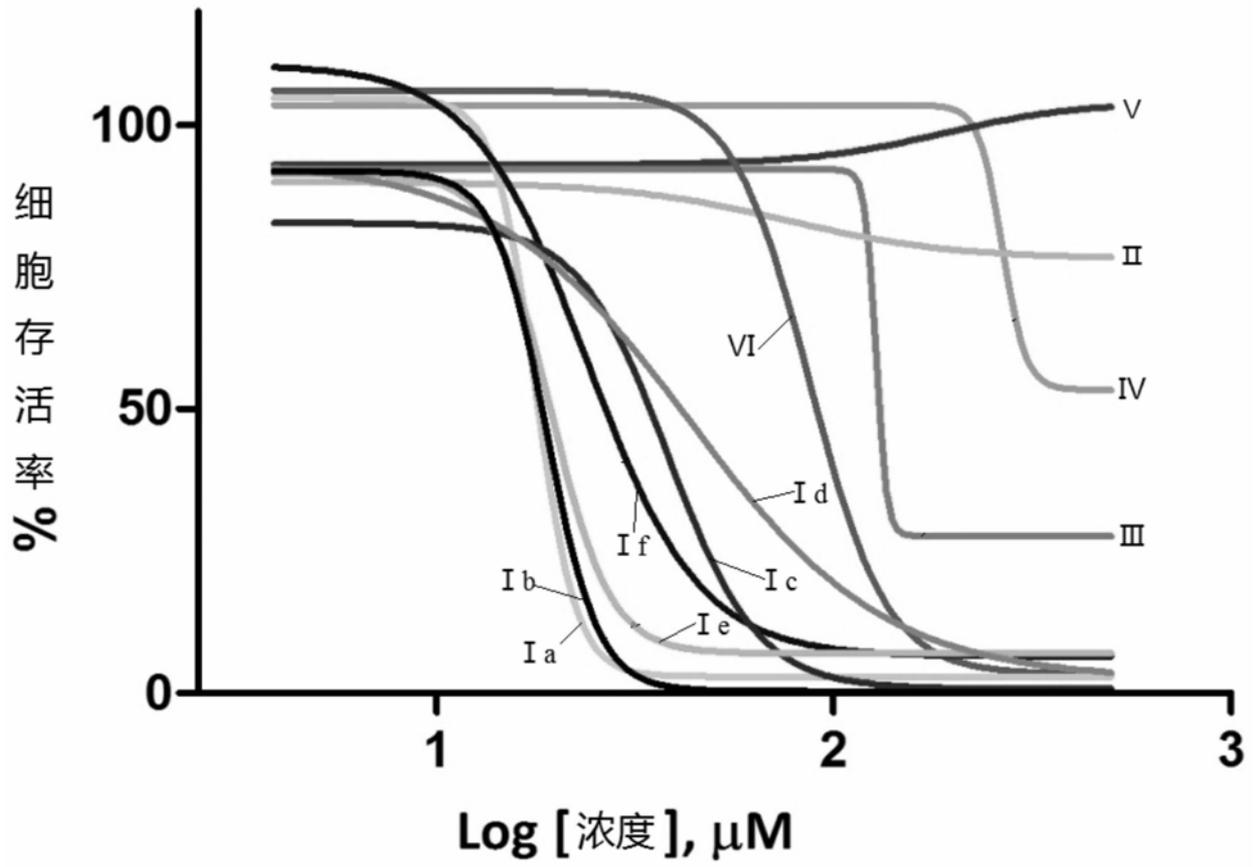


图1

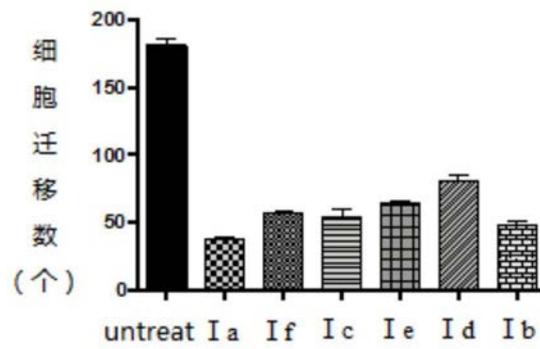


图2

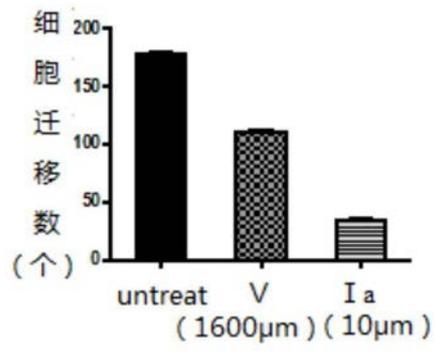


图3

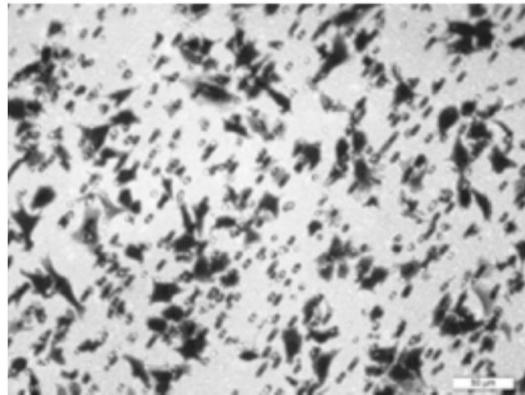


图4

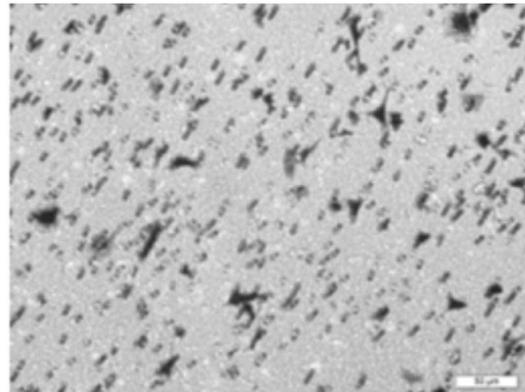


图5

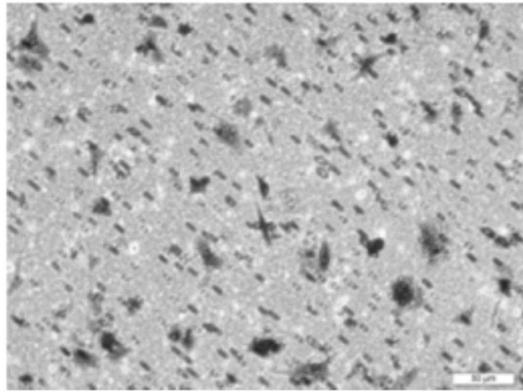


图6

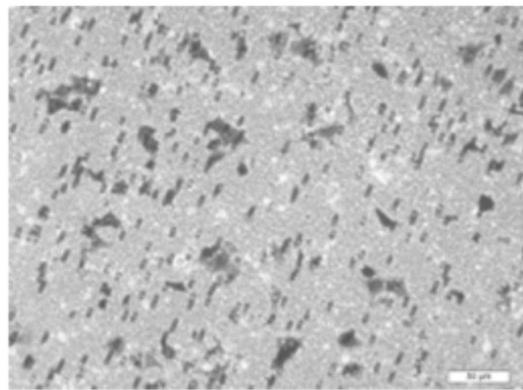


图7

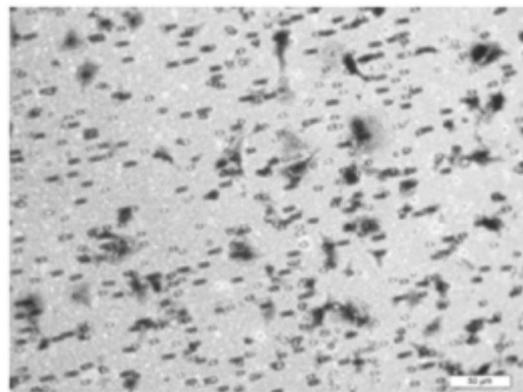


图8

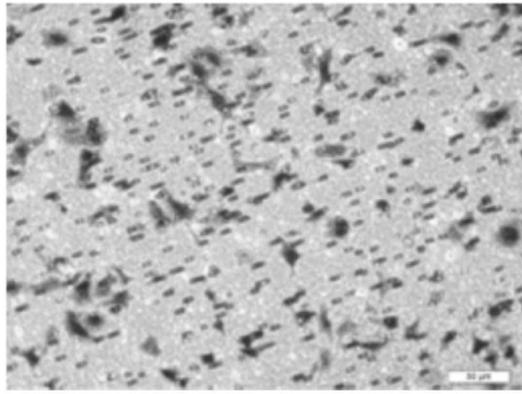


图9

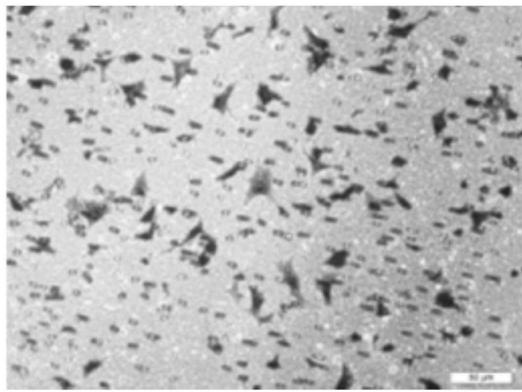


图10

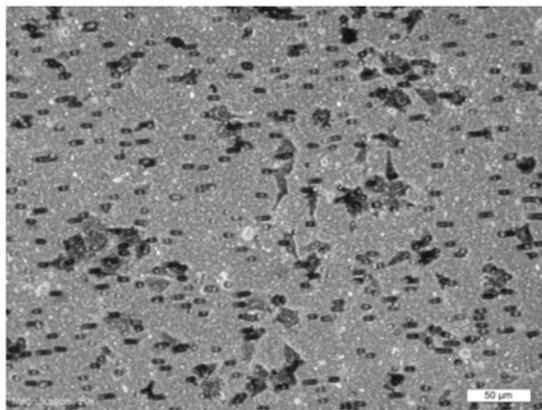


图11

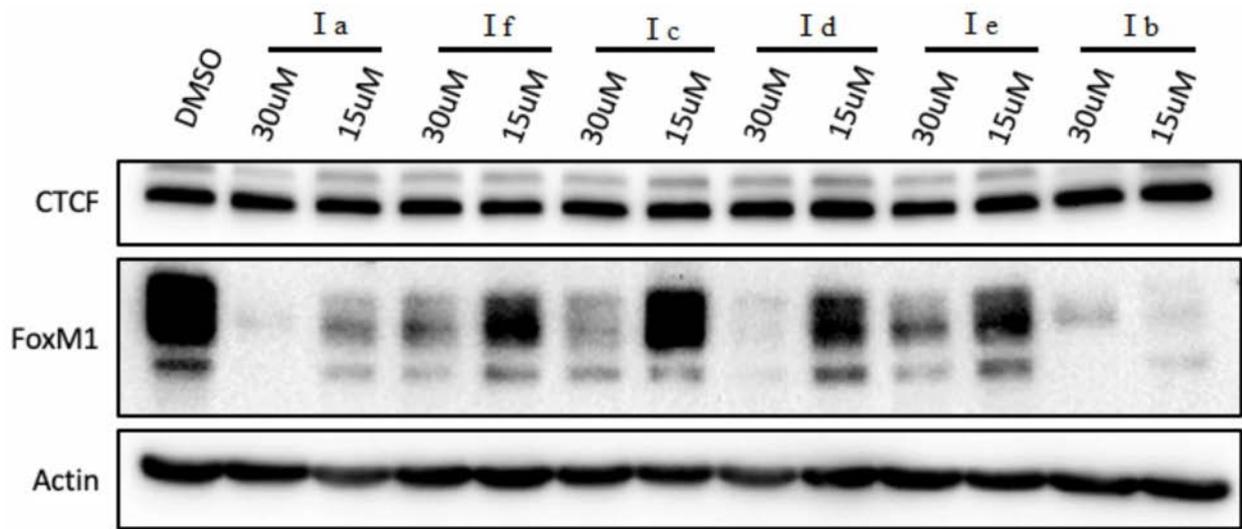


图12

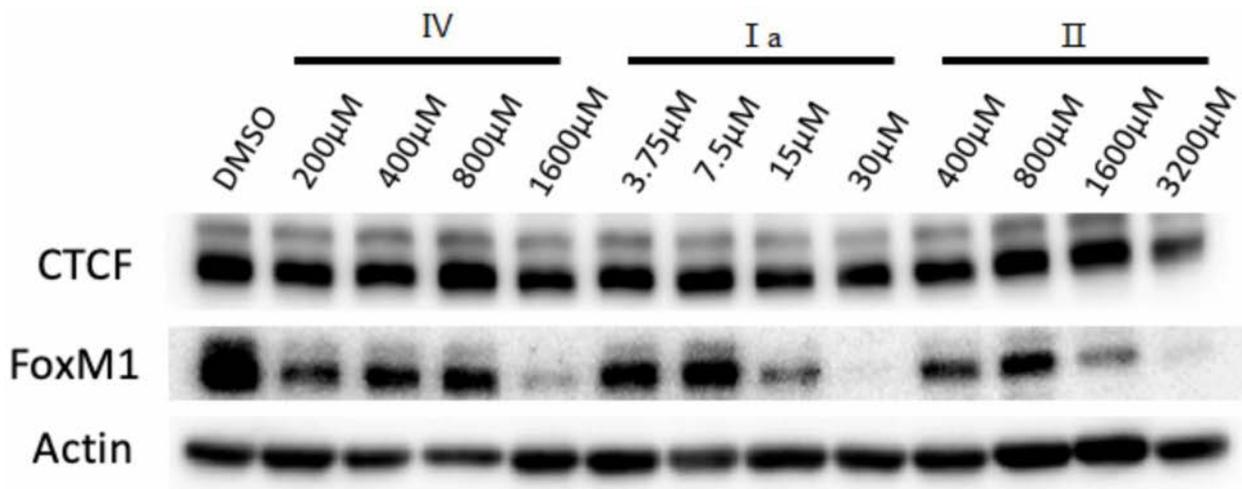


图13

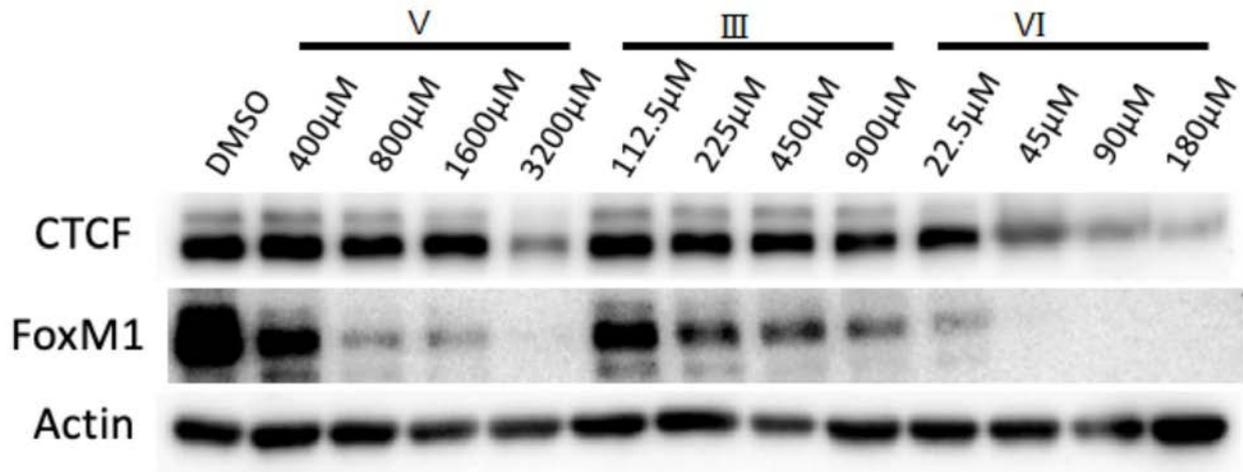


图14