

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

A61K 31/415

C07D235/06 A61P 35/00



[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 96196881.8

[45] 授权公告日 2004 年 7 月 28 日

[11] 授权公告号 CN 1159007C

[22] 申请日 1996.7.30 [21] 申请号 96196881.8

[30] 优先权

[32] 1995. 8. 2 [33] GB [31] 9515843.2

[32] 1996. 5.30 [33] GB [31] 9611245.3

[86] 国际申请 PCT/GB1996/001832 1996.7.31

[87] 国际公布 WO1997/004771 英 1997.2.13

[85] 进入国家阶段日期 1998.3.11

[71] 专利权人 纽卡斯尔大学风险投资有限公司

地址 英国纽卡斯尔

[72] 发明人 R·J·格里菲 A·H·卡弗特

N·J·库廷 D·R·纽威尔

B·T·古勒丁

审查员 沈丽鸽

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利

商标事务所

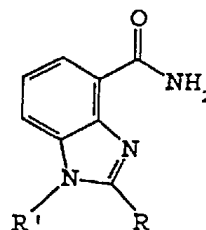
代理人 唐伟杰

权利要求书 8 页 说明书 41 页 附图 1 页

[54] 发明名称 苯并咪唑化合物

[57] 摘要

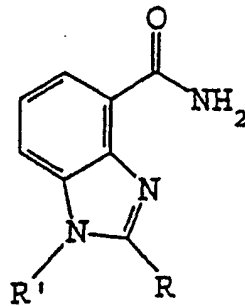
本文公开了一系列苯并咪唑-4-羧酰胺化合物 (I)，其可用作 DNA 修复酶多聚(ADP-核糖)多聚酶或 PARP 酶 (EC 2.4.2.30) 的强抑制剂，因此其可以提供有用的、可与 DNA-损伤细胞毒药物或放疗协同作用的治疗化合物，以加强后者的作用。在式(I)中，R 和 R' 各自独立为氢，烷基，羟基烷基(例如 CH₂CH₂OH)，酰基(例如乙酰基或苯甲酰基)或任意取代的芳基(例如苯基)或芳烷基(例如苄基或羧苄基)基团。在大多数可取的化合物中，R 通常为取代的苯基。化合物也可以其药学上可接受的盐的形式或前药形式使用。



(I)

ISSN 1008-4274

1. 通式I苯并咪唑化合物或其药学上可接受的盐和/或前药形式用于制备用于抑制多聚(ADP-核糖)多聚酶或多聚(ADP-核糖)多聚酶活性的人用或兽用药物的用途,



I

其中,

R是选自氢, 烷基, 羟基烷基, 酰基或任意取代的芳基或芳烷基基团, 并且,

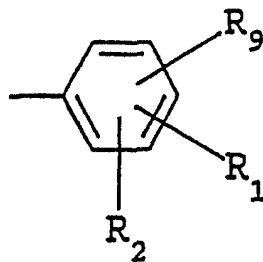
R' 是选自氢, 烷基, 羟基烷基, 酰基或任意取代的芳基或芳烷基基团。

2. 权利要求1中所述的用途, 其中的羟基烷基为 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, 酰基为乙酰基或苯甲酰基, 芳基为苯基, 芳烷基为苄基或羧基苄基。

3. 权利要求1中所述的用途, 其中每一个存在的烷基或以在作为烷氧基或其它基团中的一部分而存在的烷基含有1-6个碳原子。

4. 权利要求1-3任一项所述的用途, 其中

R 表示具有式II的任意取代的苯基



II

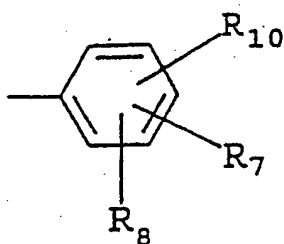
其中R₁, R₂和R₉可独立地选自: 氢, 羟基, 烷氧基, 硝基, N₃, NR₅R₆, 其中R₅和R₆各自独立地表示氢、烷基或烷氧基, NHCOR₃, 其中R₃是烷基或芳基, CO₂R₄, 其中R₄是氢或烷基, 酰胺基, 四唑基, 烷基, 羟基烷基, CW₃或W, 其中W是卤素, 和氰基。

5. 权利要求4所述的用途, 其中的酰胺基为CONH₂。

6. 权利要求4所述的用途, 其中R₁为一个不是氢的基团且在4' 位, 并且R₂和R₉分别为氢。

7. 权利要求1-3任一项所述的用途, 其中

R' 表示具有式III的任意取代的苯基



III

其中R₇, R₈和R₁₀可独立地选自: 氢, 羟基, 烷氧基, 硝基, N₃, NR₅R₆, 其中R₅和R₆各自独立地表示氢、烷基或烷氧基, NHCOR₃, 其中R₃是烷基或芳基, CO₂R₄, 其中R₄是氢或烷基, 酰胺基, 四唑基, 烷基, 羟基烷基, CW₃或W, 其中W是卤素, 和氰基。

8. 权利要求7所述的用途, 其中的酰胺基为CONH₂。

9. 权利要求7所述的用途, 其中R₇为一个不是氢的基团且在4' 位, 并且R₈和R₁₀分别为氢。

10. 权利要求1所述的用途, 其中的R选自甲基, 乙基, 正丙基, 异丙基, 正丁基, 叔丁基或环己基。

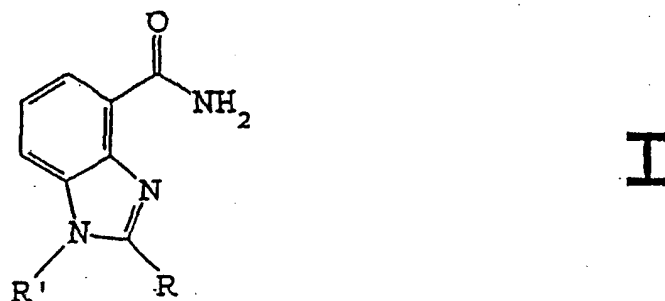
11. 权利要求1所述的用途, 其中R'为氢或烷基, 且R为苯基或在苯环上至少带有一个取代基的苄基, 该取代基选自羟基, 烷氧基, 硝基, N_3 , NR_5R_6 , 其中 R_5 和 R_6 各自独立地表示氢、烷基或烷氧基, $NHCOR_3$, 其中 R_3 是烷基或芳基, CO_2R_4 , 其中 R_4 是氢或烷基, 酰胺基, 四唑基, 烷基, 羟基烷基, CW_3 或W, 其中W是卤素, 和氰基。

12. 权利要求11所述的用途, 其中的酰胺基为 $CONH_2$ 。

13. 权利要求1所述的用途, 其中的化合物为下列之一:

- (a) 2-甲基苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (b) 苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (c) 2-苯基苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (d) 2-(4'-甲氧基苯基)苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (e) 2-(4'-三氟甲基苯基)苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (f) 2-(4'-羟基苯基)苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (g) 2-三氟甲基苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (h) 2-(4'-甲氧基苯基)-N-甲基苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (i) 2-(4'-硝基苯基)苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (j) 2-(4'-氟基苯基)苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (k) 2-(3'-三氟甲基苯基)苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (l) 2-(3'-甲氧基苯基)苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (m) 2-(4'-甲氧基苯基)-1-N-苯甲酰基苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (n) 2-(4'-氨基苯基)苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (o) 2-(2'-三氟甲基苯基)苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (p) N-羧苄基-2-(4'-甲氧基苯基)苯并咪唑-4-羧酰胺。

14. 权利要求1-3任一项所述的用途, 其中, 其中的化合物以带有选自磷酸盐、氨基酸盐及氨基酸取代基团的前药形式存在。
15. 权利要求1所述的用途, 其中苯并咪唑化合物为具有通式 I 的磷酸盐衍生物并为权利要求1-13任一定义的苯并咪唑化合物的前药形式。
16. 权利要求1所述的用途, 所述的以磷酸盐前药形式存在的苯并咪唑化合物是由至少带有一个羟基取代基的权利要求1-13任一定义的苯并咪唑化合物衍生的水溶性铵或碱金属磷酸盐提供。
17. 权利要求16的用途, 其中苯并咪唑化合物具有可与磷酸二苄酯反应的羟基基团。
18. 用作活性药物物质的具有通式I的苯并咪唑化合物或其药学上可接受的盐和/或前药形式,



式 I 化合物的结构特征如下:

R是选自氢, 烷基, 羟基烷基, 乙酰基或苯甲酰基, 任意取代的芳基或芳烷基基团, 条件是R不是4'-甲磺酰氧基-2'-甲氧基-苯基或4'-甲磺酰氨基-2'-甲氧基苯基并且不为带下面取代基的苯基, 取代基为: 烷基亚磺酰基, 烷基亚磺酰基, 烷磺酰基, 烷砒亚氨基或在氮原子上被烷酰基, 烷磺酰基或羟基羰基亚烷基羰基取代的烷砒亚氨基, 在末端被烷亚磺酰基, 烷基亚磺酰基, 烷磺酰基或烷砒亚氨基取代的乙氧基或正-丙氧基, 烷氧-羰基氨基或N-烷基氨基羰基;

且

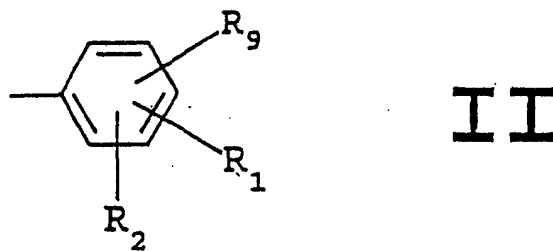
R' 是选自氢, 烷基, 羟基烷基, 酰基或任意取代的芳基基团, 条件是R'不包括联苯基或取代的联苯基。

19. 权利要求18所述的化合物, 其中的羟基烷基为 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, 芳基为苯基, 芳烷基为苄基或羧基苄基。

20. 权利要求18所述的化合物, 其中每一个存在的烷基或以作为烷氧基或其它基团中的一部分而存在的烷基含有1-6个碳原子。

21. 权利要求18所述的化合物, 其中

R 表示具有式II的任意取代的苯基



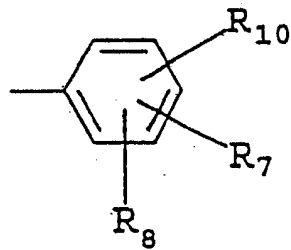
其中 R_1 , R_2 和 R_9 可独立地选自: 氢, 羟基, 烷氧基, 硝基, N_3 , NR_5R_6 , 其中 R_5 和 R_6 各自独立地表示氢、烷基或烷氧基, NHCOR_3 , 其中 R_3 是烷基或芳基, CO_2R_4 , 其中 R_4 是氢或烷基, 酰胺基, 四唑基, 烷基, 羟基烷基, CW_3 或 W , 其中 W 是卤素, 和氰基。

22. 权利要求21的化合物, 其中的酰胺基为 CONH_2 。

23. 权利要求21中所述的化合物, 其中 R_1 为一个不是氢的基团且在4'位, 并且 R_2 和 R_9 分别为氢。

24. 权利要求18所述的化合物,
其中

R' 表示具有式III任意取代的苯基



III

其中R₇, R₈和R₁₀可独立地选自: 氢, 羟基, 烷氧基, 硝基, N₃, NR₅R₆, 其中R₅和R₆各自独立地表示氢、烷基或烷氧基, NHCOR₃, 其中R₃是烷基或芳基, CO₂R₄, 其中R₄是氢或烷基, 酰胺基, 四唑基, 烷基, 羟基烷基, CW₃或W, 其中W是卤素, 和氟基。

25. 权利要求24的化合物, 其中的酰胺基为CONH₂。

26. 权利要求24中所述的化合物, 其中R₇为一个不是氢的基团且在4'位, 并且R₈和R₁₀分别为氢。

27. 权利要求18所述的化合物, 其中的R选自甲基, 乙基, 正丙基, 异丙基, 正丁基, 叔丁基或环己基。

28. 权利要求18所述的化合物, 其中R'为氢, 且R为苯基或在苯环上至少带有一个取代基的苄基, 该取代基选自羟基, 烷氧基, 硝基, N₃, NR₅R₆, 其中R₅和R₆各自独立地表示氢、烷基或烷氧基, NHCOR₃, 其中R₃是烷基或芳基, CO₂R₄, 其中R₄是氢或烷基, 酰胺基, 四唑基, 烷基, 羟基烷基, CW₃或W, 其中W是卤素, 和氟基。

29. 权利要求28的化合物, 其中的酰胺基为CONH₂。

30. 权利要求18所述的下列化合物之一:

(a) 2-甲基苯并咪唑-4-羧酰胺;

- (b) 苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (c) 2-(4'-甲氧基苯基)苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (d) 2-(4'-三氟甲基苯基)苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (e) 2-(4'-羟基苯基)苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (f) 2-三氟甲基苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (g) 2-(4'-甲氧基苯基)-N-甲基苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (h) 2-(4'-硝基苯基)苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (i) 2-(4'-氟基苯基)苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (j) 2-(3'-三氟甲基苯基)苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (k) 2-(3'-甲氧基苯基)苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (l) 2-(4'-甲氧基苯基)-1-N-苯甲酰基苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (m) 2-(4'-氨基苯基)苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (n) 2-(2'-三氟甲基苯基)苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (o) N-羧苄基-2-(4'-甲氧基苯基)苯并咪唑-4-羧酰胺。

31. 权利要求18所述的化合物, 其中化合物以带有选自磷酸盐、氨甲酸盐及氨基酸取代基团的前药形式存在。

32. 权利要求31中的化合物, 其中的前药形式为具有通式 I 的磷酸盐衍生物。

33. 权利要求32中所述的化合物, 所述的以磷酸盐前药形式存在的化合物由带有一个至少羟基取代基的式 I 化合物衍生的水溶性铵或碱金属磷酸盐提供。

34. 权利要求33中所述的化合物, 其中的通式 I 化合物具有可与磷酸二苄酯反应的羟基取代基团。

35. 权利要求18或19所述化合物用于制备用于抑制多聚(ADP-核糖)多聚酶或多聚(ADP-核糖)多聚酶活性的人用或兽用药物。

36. 药物组合物，其包含权利要求18或19所述化合物及药学上可接受的载体。

37. 药物组合物，其含有权利要求18或19所述化合物及用于抗肿瘤治疗的细胞毒药物。

苯并咪唑化合物

本发明涉及些苯并咪唑化合物，由于其具备抑制多聚ADP-核糖转移酶（EC 2.4.2.30）的作用，该酶已知可被称为多聚（ADP-核糖）多聚酶，通常称为ADPRT或PARP，因而它们至少是潜在的化疗药物。通常，后一个缩写PARP将在本专利说明书中通篇使用。

至少在高等有机物中，已知多聚ADP-核糖转移酶是用来催化ADP-核糖基团从烟酰胺腺嘌呤二核苷酸的氧化形式 NAD^+ 向核受体蛋白转化，以形成同(homo)ADP-核糖多聚体。这一过程涉及一系列细胞过程，如DNA损伤修复，细胞分化进展，由致癌基因引起的细胞转型及基因表达。这些过程中的一个共同特征是DNA链断裂的形成和修复，涉及PARP酶的步骤似乎是DNA连接酶II-介导的链再接合。在大多数情况下，多聚ADP-核糖化作用已被PARP酶抑制剂的使用所包含，其引发了这样一种联想，由于这类抑制剂干扰细胞内DNA修复机理，在它们应该能够改善治疗阻力特性并加强或提高化疗中细胞毒药物作用或放疗中照射作用的范围内，可以用作化疗药物，正如在许多抗肿瘤治疗中，化疗和放疗的初级治疗作用是引起靶细胞的DNA损伤。

在这方面，有几类PARP抑制剂是已知的，包括苯甲酰胺和各种烟酰胺及苯甲酰胺同类物，特别是带有小取代基（如3-氨基，3-羟基和3-甲氧基）的3-取代苯甲酰胺。一些N-取代的苯甲酰胺的PARP抑制活性在EP-A-0305008中已有报道，其中还建议在药物中使用这些化合物，以提高放射或化疗药物的细胞毒作用。

关于苯甲酰胺化合物作为化疗剂的这种用途，许多对这类已知显示PARP抑制活性化合物的研究结果已证实它们可以在体外加强许多抗肿瘤剂（例如博来霉素和甲基化药物）的细胞毒性。更多有限的的数据进一步表明

尽管所需的剂量很高(例如对于3-氨基苯甲酰胺,每剂量为0.5g/kg左右),这类苯甲酰胺化合物也可以在体内加强细胞毒药物的活性,因此产生了制备满意的药物配方并避免毒性限制的问题。进一步而言,许多已知的苯甲酰胺化合物已清楚地显示出具有放射敏感剂的潜力,例如其可以在体外体内增强电离放射诱导的肿瘤细胞死亡,人们已相信在许多情况下,这些化合物的这种作用与其作为PARP抑制剂发挥作用及干扰DNA修复有关。

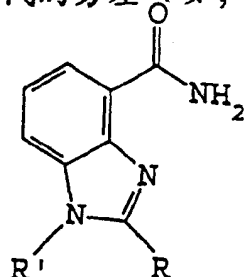
然而,尽管现存的来自体外和体内研究的数据支持PARP抑制剂具有相当强的活性,可用作值得进行进一步临床评价(例如在肿瘤治疗的协同作用中)的化疗剂,但现有已知的PARP抑制剂并不完全适合作为药物的候选者,因此仍有需要寻找和发展更多的具有潜PARP抑制活性的化合物。

本发明涉及新的一组或多组化合物,该类化合物为PARP抑制剂,并因此可作为药物使用,特别是在与一些细胞毒药物或放疗合用时,能增强后者的细胞毒作用。通常,本发明涉及的化合物包括一些苯并咪唑衍生物,特别是下面定义的苯并咪唑-4-羧酰胺化合物。由于其结构特性,可以明显地看出,许多此类化合物很适于与PARP酶的天然底物NAD⁺进行竞争。

更具体地,本发明一方面涉及使用本文中定义的化合物来制备人用或兽用药物,所述药物用于抑制多聚(ADP-核糖)多聚酶或PARP(也叫ADP-核糖转移酶或ADPRT)的活性,此类酶的抑制作用构成了治疗的一个方面,其中所述的组合物提供活性PARP酶抑制剂,并包含具有通式I苯并咪唑-4-羧酰胺或其药学上可接受的盐和/或前药形式。

式I化合物的结构特征如下:

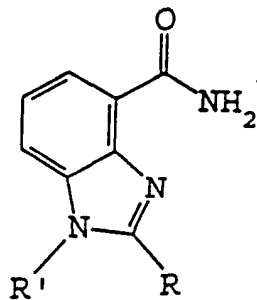
R为选自氢,烷基,羟基烷基(如,CH₂CH₂OH),酰基(如,乙酰基或苯甲酰基)以及任意取代的芳基(如,苯基)或芳烷基(如,苄基或羧基苄基)基团,并且,



I

R' 为选自氢, 烷基, 羟基烷基 (如, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 酰基 (如, 乙酰基或苯甲酰基) 以及任意取代的芳基 (如, 苯基) 或芳烷基 (如, 苄基或羧基苄基) 基团。

本发明还提供了作为活性药用物质的具有通式 I 的苯并咪唑化合物 (或其药学上可接受的盐和/或前药形式) 在治疗方面的应用、尤其但不唯一作为PARP抑制剂,



I

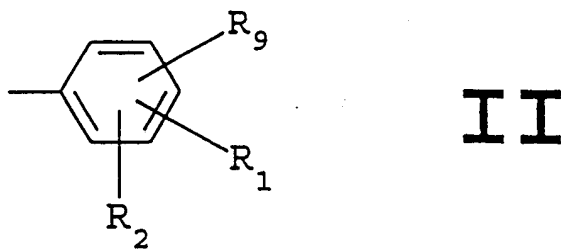
其中, 取代基定义同上, 例外的是R' 不是任意取代的芳烷基, 且R不是代表4'-甲磺酰氧基-2'-甲氧基-苯基。

本发明进一步提供了新的具有通式 I 的苯并咪唑化合物 (或其药学上可接受的盐和/或前药形式), 其中, 取代基定义同上, 例外的是R' 不是任意取代的芳烷基, 且R不代表4'-甲磺酰氧基-2'-甲氧基-苯基或一个未取代的芳基如苯基。

烷基在以其本身或在其它基团中存在时, 通常具有1-8个碳原子, 优选1-6个碳原子, 更优选1-4个碳原子。特别是当R和/或R' 是烷基时, 它们通常是 C_{1-6} 烷基, 例如, 甲基, 乙基, 正丙基, 异丙基, 正丁基, 叔丁基或环己基。当R和/或R' 是或是包括苯基时, 它可以是被取代的, 特别是在4 (对) 位上取代, 但是也可换在或另外在2-位或3-位上, 例如, 被各种取代基所取代, 取代基包括羟基, 烷氧基 (例如甲氧基或乙氧基), 氟基, 羧基, 酰胺基, 四唑基, 氨基或取代的氨基, CW_3 (例如 CF_3) 或W, 其中W是卤素。

当R' 是氢或烷基时, 优选通式I化合物包括这样的化合物, 其中R是苯基或苄基, 且在苯环上具有至少一个选自下列基团的取代基: 羟基, 烷氧基, 硝基, N_3 , NR_5R_6 (R_5 和 R_6 各自独立地表示氢, 烷基或烷氧基), $NHCOR_3$ (R_3 是烷基或芳基), CO_2R_4 (R_4 是氢或烷基), 酰胺基 (如; $CONH_2$), 四唑基, 烷基, 羟基烷基, CW_3 或 W (W 是卤素), 和 CN .

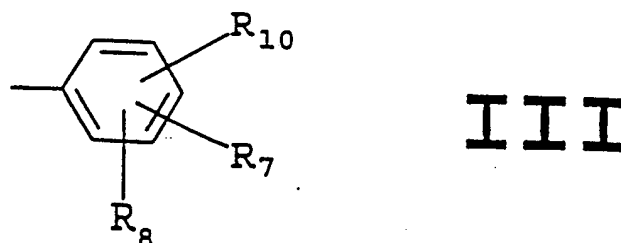
更优选, R表示具有式II的取代的苯基



R_1 , R_2 和 R_9 可独立地选自: 氢, 羟基, 烷氧基, 硝基, N_3 , NR_5R_6 (R_5 和 R_6 各自独立地表示氢, 烷基或烷氧基), $NHCOR_3$ (R_3 是烷基或芳基), CO_2R_4 (R_4 是氢或烷基), 酰胺基 (如, $CONH_2$), 四唑基, 烷基, 羟基烷基, CW_3 或 W (W 是卤素), 和 CN .

本发明还提供了一种制备上述定义的式I化合物的方法, 其中R表示任意取代的具有式II的基团, 所述的方法包括将2, 3-二氨基苯甲酸烷基酯与芳酰氯反应, 用乙酸在升高温度下处理产物, 生成苯并咪唑环, 然后与液氨反应生成酰胺衍生物。

其中, R' 表示具有式III取代的苯基



R₇, R₈和R₁₀可独立地选自: 氢, 羟基, 烷氧基, 硝基, N₃, NR₅R₆ (R₅和R₆各自独立地表示氢, 烷基或烷氧基), NHCOR₃ (R₃是烷基或芳基), CO₂R₄ (R₄是氢或烷基), 酰胺基 (如, CONH₂), 四唑基, 烷基, 羟基烷基, CW₃ 或W (W是卤素), 和CN。

上述定义的具有氰基取代的芳香环的式I化合物可以是用于制备本发明中的其他化合物的特别有用的中间体, 因为一般来讲, 可以用标准的方法将氰基转化为各种其他的功能基团, 包括氨基, 羧基, 酰胺基和四咪基。

在本发明中公开的苯并咪唑化合物的范围内, 特别感兴趣的和可取的成员包括:

- (a) 2-甲基苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (b) 苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (c) 2-苯基苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (d) 2-(4'-甲氧基苯基)苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (e) 2-(4'-三氟甲基苯基)苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (f) 2-(4'-羟基苯基)苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (g) 2-三氟甲基苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (h) 2-(4'-甲氧基苯基)-N-甲基苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (i) 2-(4'-硝基苯基)苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (j) 2-(4'-氟基苯基)苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (k) 2-(3'-三氟甲基苯基)苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (l) 2-(3'-甲氧基苯基)苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (m) 2-(4'-甲氧基苯基)-1-N-苯甲酰基苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (n) 2-(4'-氨基苯基)苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (o) 2-(2'-三氟甲基苯基)苯并咪唑-4-羧酰胺;
- (p) N-羧苄基-2-(4'-甲氧基苯基)苯并咪唑-4-羧酰胺;

在本发明上述定义的化合物中，其中有一个电子-富有芳环，可以确信至少在一些情况下，羧酰胺基可以被定为一个固定的构象，通过咪唑环上氮原子与羧酰胺基团上氢原子之间的分子间氢键，使该化合物特别适合作为与PARP酶结合的NAD⁺的抑制剂。

正如已经指出的那样，本发明还包括或扩展了上述定义化合物的制备方法（在一些情况下还包括中间体），以及该类化合物在治疗哺乳动物疾病方面的用途。它包括其用于制备人用或兽用制品或药物制剂的用途，在上述制品或药物制剂中含有有效的PARP抑制量的活性化合物，将其与细胞毒药物结合或与放疗结合用于患者可增加后者的细胞毒效应。可以采用任何药学上已知的方法来制备适合任何给药方式的制品或药物制剂，例如，口服，非肠道途径（包括皮下，肌肉和静脉给药），或局部给药。所用的给药方式、制品或药物制剂的剂型以及剂量通常是由合并使用的细胞毒药物化学的细节或放疗的情况来决定。

例如，在制备这种用于非肠道给药的无菌液体剂型的药物制剂时，可将预定的有治疗效应且无毒性的一定量的特定化合物溶解于磷酸盐缓冲液的盐水中，可将该制剂配成单位剂型，并灌封在安瓿中备用。通常，至少在水溶液中，优选的浓度不大于200mg/ml，当然为获得最适宜的疗效所需要的剂量和给药途径是可变化的，并且最终是由医生或兽医根据每一特定的病例来决定。当该化合物是与细胞毒药物合并使用时，在一些情况下可同时服用后者，并且也可方便地将后者制备于同一药物制剂或组合物中。

如上所述，本发明化合物至少是潜在的PARP抑制剂，并且在后面所述的体外实验中表现出阳性的药理活性，从而可以相信它反映了在临床体内治疗应用时所发现的活性。

应当理解，在本发明说明书中对式I化合物作说明时，也应包括它们药学上可接受的盐以及其它药学上可接受的生物前体（前药形式）。术语“前药”在本发明中是用来指药理活性化合物的修饰形式或衍生物。在哺乳动

物的治疗中，服用该前药后，特别是经口服或非肠道给药后，它们在体内生物降解，并转化为所述的活性化合物。由于此类前药可以增加在水性溶媒中的溶解度，克服了制剂上的难题，故常被选用，此外，在一些情况下，其还可以减缓或控制活性药物的释放。

通常，满意的前药必须是水溶性的衍生物，它必须是无毒的且在生理pH值的溶液中是相对稳定的，但在治疗过程中给药后，其可在所需的部位被生物降解成为或转化成为活性化合物，例如通过酶降解或环境pH值的变化。对本发明的苯并咪唑化合物而言，其前药形式可以是常规的氨基甲酸盐（酯）或氨基酸衍生物，例如甘氨酸或其他氨基酸氨基甲酸盐（酯）衍生物，或为磷酸盐衍生物。磷酸盐衍生物对在体内由酶的去磷酸化反应是敏感的，且在此是优选，尤其优选水溶性的铵或碱金属磷酸盐。这些盐类一般可方便地由带有至少一个羟基取代基的式I化合物（例如在R的芳香环部分），与磷酸二苄酯反应来制备，优选在叔碱存在下反应，例如N，N'-二异丙基乙基胺。

在R为苯基（苄基）及必要时带有一个不是羟基的取代基，例如4'位上的硝基，羧基，氰基等，以获得满意的PARP抑制活性的情况下，可在芳香环的另一个位置上，例如3'位上，进行羟基取代基的磷酸化或进行其他方式的前药修饰。

在所有目前所遇到的水溶性前药形式中，磷酸盐（酯）、氨基甲酸盐（酯）或其他水溶性前药片段将是结构式I中R或R'的组成部分。

应该明白的是，这里所指的任何化合物均可以以一种以上对映体的形式存在，所有这些形式和它们的混合物以及其制备和用途均在本发明的范围内。

下列制备各种优选化合物所采用的合成路线步骤的实例和描述将进一步说明本发明，但无论如何不应限制本发明。

在第一个实例中(实例1),描述了各种中间体化合物的制备方法,它们是制备本发明实例2-6中所述的苯并化合咪唑物时所需的中间体。

实例1

中间体化合物制备

(a) 3-硝基邻氨基甲酰苯甲酸

在20分钟内,将3-硝基邻苯二甲酸(10.0g, 50mmol)分批加到浓氨水中(15ml),混合物于30℃下继续搅拌30分钟。冷却此灰黄色溶液,得到邻氨基甲酰苯甲酸铵的结晶物质,收集并重新溶解于最少量的温水中。搅拌下滴加浓盐酸(4.5ml),生成的膏状物用水洗涤,真空干燥,得3-硝基邻氨基甲酰苯甲酸,其为细白色粉末(9.01g, 83%), m. p. 217℃。实测值

: C, 45.76; H, 2.79; N, 13.21

理论值(C₈H₆N₂O₅): C, 45.71; H, 2.86; N, 13.33% $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ 3466.52, 3321.84, 1668.64, 1604.98, and 1525.89; δ_{H} (d₆-DMSO, 200 MHz) 7.75 (1H, br s, CONH), 7.8 (1H, t, Ar-5H), 8.16 (1H, brs, CONH), 8.2 (1H, d, Ar-6H), 8.3 (1H, d, Ar-4H); δ_{C} (d₆-DMSO) 127.32, 130.06, 132.28, 133.49, 134.78, 147.71, 166.25, and 166.60; m/z (EI) 192 (M⁺-1), 177, 149, 103, 75.

(b) 2-氨基-3-硝基苯甲酸(3-硝基邻氨基苯甲酸)

0℃下,向搅拌着的氢氧化钾(24.1g)的水溶液(110ml)中加入溴(2.46ml),再加入3-硝基邻氨基甲酰苯甲酸(10g, 47.62mmol)。混合物于60℃下搅拌3小时,冷却至室温,再搅拌12小时。滤集橙色沉淀,并重新溶解于最少量的水中,滴加浓盐酸酸化。用热水对生成的黄色固体重结晶,得3-硝基邻氨基苯甲酸,其为黄色(6.42g, 74%), m. p. 208-209℃。

实测值 : C, 45.83; H, 3.07; N, 15.21

理论值 ($C_7H_6N_2O_4$): C, 46.15; H, 3.29; N, 15.38% $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ 3476.17, 3344.99, 3094.21 and 1687.93; δ_{H} (d_6 -DMSO, 200MHz) 6.76-6.84 (1H, t, Ar-5H), 8.29-8.41 (2H, dd, Ar-4/6H), 8.60 (2H, s, Ar-NH₂), 13.4-14.0 (1H, br s, Ar-CO₂H); δ_{C} (d_6 -DMSO) 113.19, 131.97, 140.02 (Ar-4/5/6CH), 115.02 (Ar-C-NH₂), 132.77 (Ar-C-CO₂H), 147.09 (Ar-C-NO₂), 168.95 (Ar-CO₂H); m/z (EI) 182 (M^+), 164.

(c) 2-氨基-3-硝基苯甲酸甲酯

0℃下, 将氯化氢气体导入2-氨基-3-硝基苯甲酸 (0.5g, 2.75mmol) 的甲醇溶液 (40ml) 中15分钟。混合物加热回流5小时, 在12小时内冷却至室温, 得到2-氨基-3-硝基苯甲酸甲酯沉淀, 其为黄色固体 (417mg, 77%), m. p. 95-96.

实测值 : C, 49.09; H, 3.78; N, 14.03

理论值 ($C_8H_8N_2O_4$): C, 48.98; H, 4.08; N, 14.29%; $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ 3452.5, 3316.9, 1702, and 1253.7; δ_{H} (d_6 -DMSO, 200 MHz) 3.95 (3H, s, OCHH₃), 6.79-6.87 (1H, t, Ar-5H), 8.28-8.33 (1H, dd, Ar-4H), 8.41-8.46 (1H, dd, Ar-6H), 8.45-8.46 (2H, br s, Ar-NH₂); m/z (EI) 196 (M^+), 164, 118, 90, 63.

(d) 2, 3-二氨基苯甲酸

将浆状的Pd/C (10%Pd, 约200mg) 催化剂的甲醇溶液 (10ml) 小心地加到3-硝基邻氨基苯甲酸 (2.44g, 13mmol) 的甲醇 (120ml) 溶液中, 混合物在氢气下搅拌2小时, 直至气体吸收停止。经硅藻土滤除催化剂, 滤液在减压下蒸发至干, 得到粗产品。硅胶柱层析纯化, 以二氯甲烷: 甲醇 (4: 1) 洗脱, 得到2, 3-二氨基苯甲酸, 其为红色固体 (1.34g, 66%) .

$\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ 3433.73, 2882.02, 2602.30 and 1658.99; δ_{H} (d_6 -DMSO, 200 MHz) 5.8-7.4 (4H, br s, 2 x NH₂), 6.45 (1H, t, Ar-5H), 6.75 (1H, d, Ar-4H), 7.20 (1H, d, Ar-6H); δ_{C} (d_6 -DMSO) 110.31, 115.45, 118.33, 120.55, 135.03, 140.36,

170.68; m/z (EI) 152 (M^+), 134, 106, 79.

(e) 2, 3-二氨基苯甲酸甲酯

按上说述, 用氯化氢饱和2, 3-二氨基苯甲酸 (0.2g, 1.32mmol) 的甲醇 (40ml) 溶液, 随后将混合物加热回流2小时。将蒸除溶剂后得到的固体残留物溶解于水中, 用碳酸氢钠将溶液的pH值调至7.0。用乙酸乙酯 (2X30ml) 提取后, 合并有机相, 并用 $MgSO_4$ 干燥, 除去溶剂得到棕色油状的2, 3-二氨基苯甲酸甲酯, 用石油醚(40/60)研制固化(121.6mg, 56%), m. p. 62-63°C

实测值 : C, 58.35; H, 5.80; N, 16.69

理论值 ($C_8H_{10}N_2O_2$): C, 57.83; H, 6.02; N, 16.87%;

δ_H (d_6 -DMSO), 200MHz) 3.87 (3H, s, OCH_3), 4.90 (2H, br s, Ar-2- NH_2), 6.32 (2H, br s, Ar-3- NH_2), 6.46-6.54 (1H, t, Ar-5H), 6.80-6.84 (1H, dd, Ar-4H), 7.18-7.23 (1H, dd, Ar-6H); m/z (EI) 166 (M^+), 134, 106, 79.

2, 3-二氨基苯甲酸甲酯也可以从2-氨基-3-硝基苯甲酸按下列步骤还原制备: 将含有钯碳催化剂 (10% Pd, ~50mg) 的2-氨基-3-硝基苯甲酸甲酯 (284mg, 1.45mmol) 的甲醇 (40ml) 溶液在氢气下搅拌24小时, 溶液经硅藻土过滤, 除去催化剂, 蒸除溶剂得到棕色固体 (180mg, 75%), 经鉴定同上述制备的2, 3-二氨基苯甲酸甲酯。

(f) 2-氨基-3-N-苯甲酰胺基苯甲酸甲酯

将苯甲酰氯 (38.4 μ l, 0.331mmol) 的四氢呋喃 (5ml) 溶液滴加至含有三乙胺 (46 μ l) 和4-二甲基氨基吡啶 (1.8mg, 5mol %) 的2, 3-二氨基苯甲酸甲酯 (50mg, 0.301mmol) 的干燥的四氢呋喃 (5ml) 溶液中。在45°C 搅拌24小时后, 蒸除溶剂, 粗品用硅胶柱层析纯化, 石油醚(40/60): 乙酸乙酯 (3: 2) 为洗脱剂, 用乙酸乙酯-石油醚 (40/60) 重结晶, 得到白色结晶状标题化合物。 (60mg, 74%);

δ_{H} (d_6 -DMSO, 200MHz) 3.95

(3H, s, OCH₃), 6.64 (2H, br s, Ar-NH₂), 6.69-6.77 (1H, t, Ar-5H); 7.46-7.50 (1H, d, Ar-4H), 7.59-7.70 (3H, m, Ph-3 and Ph-3' 4H), 7.81-7.85 (1H, d, Ar-6H), 8.11-8.14 (2H, d, Ph-2H and Ph-2'H), 9.8-9.9 (1H, br, s, Ar-NHCO); m/z (EI) 270 (M⁺), 253, 105.

(g) 2-氨基-3-N-(4'-甲氧基苯甲酰基)氨基苯甲酸甲酯

向2, 3-二氨基苯甲酸甲酯 (460mg, 2.77mmol) 的干燥的四氢呋喃 (20ml) 溶液中加入4-甲氧基苯甲酰氯 (378 μ l, 2.77mmol), 三乙胺 (385.5 μ l, 2.77mmol) 和4-二甲基氨基吡啶 (17mg, 5mol %)。反应溶液在室温下搅拌过夜, 用过滤收集所得的不溶解性沉淀。滤液经减压蒸馏, 所得残留物再溶解于沸腾的甲醇中, 热过滤除去不溶物。减压蒸除溶剂, 将固体残留物与前面收集的沉淀合并, 用无水甲醇重结晶, 得到白色结晶状标题化合物。 (513.2mg, 62%)。 mp 179-180°C;

实测值 : C, 64.26; H, 5.31; N, 9.17

理论值 (C₁₆H₁₆N₂O₄) : C, 64.0; H, 5.33; N, 9.33%;

$\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ 3425.54, 3341.54, 3277.84, 1699.24, 1632.12, 1251.11; δ_{H} (d_6 DMSO, 200MHz) 3.92 (3H, s, OMe), 3.94 (3H, s, OMe), 6.59 (2H, s, Ar-NH₂), 6.68-6.75 (1H, t, Ar-5H), 7.13-7.17 (2H, d, J=8.8, Ph-3/3'H), 7.43-7.46 (1H, d, Ar-4H), 7.79-7.83 (1H, d, Ar-6H), 8.07-8.12 (2H, d, J=8.8, Ph-3.3'H), 9.7 (1H, br s, -NHCO-); δ_{C} (d_6 DMSO) 51.98, 55.76, 110.62, 113.79, 114.67, 125.0, 126.84, 129.12, 130.14, 133.20, 147.36, 162.21, 165.74, 168.33; m/z (EI) 300 (M⁺), 135, 107, 77.

(h) 2-苯基苯并咪唑-4-羧酸甲酯

将2-氨基-3-N-苯甲酰基氨基苯甲酸甲酯 (6.3mg, 0.023mmol) 冰醋酸 (0.5ml) 溶液在回流温度下搅拌15分钟。冷却后, 减压蒸除溶剂, 得到标题化合物; δ_{H} (d_6 -

DMSO, 200 MHz) 4.09 (3H, s, OCH_3), 7.40-7.48 (1H, t, Ar-5H), 7.64-7.70 (3H, m, 2-Ph-3H and 3'-Ph-4H), 7.93-7.97 (1H, d, Ar-4H), 8.06-8.10 (1H, d, Ar-6H), 8.39-8.41 (2H, d, 2-Ph-2/2'H), 12.4-12.5 (1H, br, s, Ar-NHCO).

实例2

苯并咪唑-4-羧酰胺 (化合物NU1066)

(a) 第一步—制备苯并咪唑-4-羧酸 (化合物NU1067)

将溶于盐酸 (4M, 10ml) 的2, 3-二氨基苯甲酸 (0.5g, 3.29mmol) 和甲酸 (405 μ l, 9.87mmol) 混合物加热回流1小时, 收集冷却时产生的沉淀, 将其溶于沸腾的甲醇中, 用活性炭脱色, 蒸除溶剂, 得到白色结晶状的苯并咪唑-4-羧酸 (407.9mg, 77%);

实测值 : C, 46.11; H, 3.63; N, 13.27

理论值 ($\text{C}_8\text{H}_6\text{N}_2\text{O}_2 \cdot \text{HCL} \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$) : C, 46.28; H, 3.88; N, 13.49%

δ_{H} (d_6 -DMSO, 200 MHz) 7.7-7.8 (1H, t, Ar-5H), 8.2-8.3 (2H, dd, Ar-4/6H), 9.65 (1H, s, imidazole-2H).

(b) 第二步—制备苯并咪唑-4-羧酰胺 (化合物NU1066)

将苯并咪唑-4-羧酸(397.4mg, 2.45mmol)的亚硫酸氯(10ml)混悬液加热回流3.5小时, 减压蒸除亚硫酸氯。将残留固体悬浮于干燥的四氢呋喃(10ml)中, 在搅拌下, 30分钟内, 向其中滴加浓氨水(50ml), 减压除去多余的溶剂, 将残留物溶于最小量的水中, 用乙酸乙酯提取(2X20ml)。蒸馏合并的有机相, 将所得的固体溶于盐酸(0.1M, 10ml)中。过滤除去不溶解的沉淀, 小心地调节(1pH单位地增加)pH至9, 在每一步中都用乙酸乙酯提取(10ml)。干燥合并的提取液(MgSO₄), 蒸除溶剂。用乙酸乙酯重结晶, 得到苯并咪唑-4-羧酰胺(50mg, 13%);

实测值 : C, 59.95; H, 3.90; N, 24.59

理论值(C₉H₇N₃O) : C, 59.63; H, 4.35; N, 26.09%

uv/nm 210, 270, 291; $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ 3321.84, 3150.16, 1747.73, 1680.21; δ_{H} (d₆-DMSO, 200 MHz) 7.4 (1H, t, Ar-5H), 7.8-8.0 (3H, dd, Ar-4/6H), 8.5 (1H, br s, imidazole-2H), 9.4 (1H, br s, CONH), 13.1 (1H, br s, CONH); m/z (EI) 161 (M⁺), 141, 116, 99.

实例3

2-甲基苯并咪唑-4-羧酰胺(化合物NU1064)

(a) 第一步—制备2-甲基苯并咪唑-4-羧酸

将乙酸(0.23ml)加入至溶于盐酸(4M, 3.2ml)的2, 3-二氨基苯甲酸(200mg, 1.32mmol)中, 该混合物加热回流1小时, 蒸除溶剂, 将残留固体溶于沸腾的甲醇(5ml)中, 用活性炭脱色, 蒸除溶剂, 得到无定形白色固体状的2-甲基苯并咪唑-4-羧酸(167.5mg, 72%);

δ_{H} (d_6 -DMSO) 2.9 (3H, s, imidazole-2- CH_3), 7.6-7.8 (1H, t, Ar-5H) 8.1 (2H, d, Ar-4/6H); m/z (EI) 176 (M^+), 158, 130.

(b) 第二步—制备2-甲基苯并咪唑-4-羧酰胺 (化合物NU1064)

将2-甲基苯并咪唑-4-羧酸(500mg, 2.84mmol)的亚硫酸氯(10ml)混悬液加热回流2小时, 减压蒸除亚硫酸氯。将残留固体悬浮于干燥的四氢呋喃中, 在搅拌下, 30分钟内, 向其中滴加浓氨水(50ml), 减压除去溶剂, 将残留固体溶于最小量的水中, 过滤, 用乙酸乙酯提取(2X30ml)。蒸除溶剂, 得到一个棕色固体, 用乙酸乙酯重结晶, 得到白色的标题化合物(70.1mg, 14%)。

实测值 : C, 61.47; H, 4.96; N, 23.39

理论值 ($\text{C}_9\text{H}_9\text{N}_3\text{O}$) : C, 61.71; H, 5.14; N, 24.0%

uv/nm 209, 270; $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ 3296.77, 3071.07, 1913.63, 1859.62, 1805.60; δ_{H} (d_6 -DMSO, 200 MHz) 2.68 (3H, s, imidazole-2- CH_3), 7.30-7.38 (1H, t, Ar-5H), 7.72--7.46 (1H, d, Ar-4H), 7.86-7.90 (1H, d, Ar-6H), 7.72-7.90 (1H, br s, imidazole-NH), 9.4 (1H, br s, CONH), 12.8 (1H, brs, CONH); m/z (EI) 175 (M^+), 158, 130.

实例4

2-苯基苯并咪唑-4-羧酰胺 (化合物NU1070)

(a) 第一步—制备2-苯基苯并咪唑-4-羧酸

将2, 3-二氨基苯甲酸(0.1g, 0.66mmol), 苯甲酸(80.2mg, 0.66mmol)和多聚磷酸(~5ml)的混合物于150-160°C加热30分钟, 冷却后, 加入冰(~

10g)。将不溶物从该黑色溶液中滤除，用乙酸乙酯提取滤液(2X20ml)，以除去未反应的苯甲酸。水溶液用氢氧化钠(10M)小心中和，过滤，用乙酸乙酯提取滤液(2X30ml)，干燥合并的提取液(MgSO₄)，蒸除溶剂。用硅胶层析，二氯甲烷: 甲醇(85: 15)洗脱，得到标题化合物(31.2mg, 20%);

δ_{H} (d₆-DMSO, 200 MHz) 7.4

(1H, t, Ar-5H), 7.62 (3H, br s, 3-Ph-4H and 3'-Ph-4H),
7.91 (1H, d, Ar-6H), 7.97 (1H, d, Ar-4H), 8.39 (2H, d,
Ph-2H and Ph2'-H); m/z (EI) 238 (M⁺), 220, 192, 77.

(b) 第二步—制备2-苯基苯并咪唑-4-羧酰胺(化合物NU1070)

将2-苯基苯并咪唑-4-羧酸(50mg, 0.21mmol)溶于干燥的四氢呋喃(10ml)中，加入亚硫酸氯(16.8 μ l, 0.231mmol)和DMF(0.05ML)，混合物在室温下搅拌12小时，当产生白色沉淀时，将该悬浮液在搅拌下，10分钟内滴加至氨水中，继续搅拌30分钟，用水稀释(20ml)，用盐酸(4M)中和，冷却后析出白色固体，过滤收集，得到2-苯基苯并咪唑-4-羧酰胺

(31mg, 62%); $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ 3320, 3180, 1660 and 1600; δ_{H} (d₆-

DMSO, 200 MHz) 7.45 (1H, t, Ar-5H), 7.72 (3H, d, 3-Ph-4H), 7.87 (1H, d, Ar-4H), 7.97 (1H, br s, CONH), 7.99 (2H, d, Ar-6H), 8.38 (2H, d, Ph-2-H and Ph-2'-H), 9.5 (1H, br s, CONH); m/z (EI) 237 (M⁺), 220, 192, 165, 77.

实例5

2-(4'-甲氧苯基)苯并咪唑-4-羧酰胺(NU1076)

(a) 第一步- 2-(4'-甲氧苯基)苯并咪唑-4-羧酸甲酯乙酸盐的制备

将2-氨基-3-N-(4'-甲氧苯甲酰基)苯甲酸甲酯(480mg, 1.6mmol)溶于冰乙酸(15ml)中, 在120-130℃下加热30分钟。除去溶剂, 固体残渣用乙酸乙酯-石油醚(40/60)重结晶, 得到白色固体状产品(409mg, 75%)。mp 141-142℃;

实测值 : C, 63.68; H, 4.79; N, 7.88

理论值(C₁₆H₁₄N₂O₃·CH₃CO₂H) : C, 63.16; H, 5.26; N, 8.19%

$\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ 3375.33, 1718.46, 1696.80, 1282.81, 1257.81, 1257.34; δ_{H} (d₆DMSO, 200MHz) 2.02 (3H, s, CH₃CO₂H), 3.97 (3H, s, OMe), 4.09 (3H, s, OMe), 7.21-7.25 (2H, d, J=8.6, Ph-3/3'H), 7.39-7.46 (1H, t, Ar-5H), 7.90-7.93 (1H, d, Ar-4H), 8.00-8.04 (1H, d, Ar-6H), 8.36-8.40 (2H, d, J=8.6, Ph-2/2'H), 12.1 (1H, s, Imz-H), 12.3-12.4 (1H, br, s, CH₃CO₂H); δ_{C} (d₆DMSO) 21.35, 52.37, 55.64, 114.41, 121.68, 122.35, 124.34, 129.56, 153.63, 161.27, 166.13, 172.37; m/z (EI) 282 (M⁺-CH₃CO₂H), 250, 222, 77, 60, 43, 32.

(b) 第二步-2-(4'-甲氧苯基)苯并咪唑-4-羧酰胺的制备 (NU1076)

将2-(4'-甲氧苯基)苯并咪唑-4-羧酸甲酯乙酸盐溶于过量的液氨中, 在100℃下, 于一个40大气压的密封加压容器中加热过夜。蒸除氨, 收集固体残渣并用冰水洗涤(3×5ml)。用水合甲醇重结晶, 得到标题化合物(226.4mg, 80%)。mp 261-263℃;

实测值 : C, 66.07; H, 4.23; N, 15.29

理论值(C₁₅H₁₃N₃O₂·0.2CH₃OH) : C, 66.70; H, 5.08; N, 15.35%

$\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ 3321.47, 3140.72, 1656.23, 1608.25, 1421.43, 1242.55; δ_{H} (d₆DMSO, 200MHz) 3.96 (3H, s, OMe), 7.23-7.27 (2H, d, J=8.6, Ph-3/3'H), 7.37-7.45 (1H, t, Ar-5H), 7.78-7.82 (1H, d, Ar-4H), 7.87 (1H, br s, Imz-H), 7.93-7.96 (1H, d, Ar-6H), 8.27-8.31 (2H, d, J=8.6, Ph-2/2'H), 9.4-9.5 (1H, br s, -CONH), 13.3-13.4 (1H, br s, -CONH); m/z (EI) 267 (M⁺), 249, 222, 206, 77, 32.

实例6

2-(4'-三氟甲基)苯并咪唑-4-羧酰胺 (NU1077)

(a) 第一步- 2-氨基-3-N-(4'-三氟甲基苯甲酰基)氨基苯甲酸甲酯的制备

向 2, 3-二氨基苯甲酸甲酯 (300mg, 1.807mmol) 溶液中加入 4-三氟甲基苯甲酰氯 (268.4ul, 1.807mmol), 三乙胺 (251.4ul, 1.807mmol) 及 4-二甲基氨基吡啶 (11mg, 5mol%), 混合物于室温下搅拌过夜。减压蒸除反应溶剂, 生成的固体用乙酸乙酯洗涤, 用甲醇-水重结晶两次, 得到白色固体状标题化合物 (83.6mg, 14%)。mp 180-181°C;

实测值 : C, 56.75; H, 3.50; N, 8.28

理论值 (C₁₆H₁₃F₃N₂O₃) : C, 56.80; H, 3.85; N, 8.28%

uv/nm 222; δ_{H} (d₆DMSO, 200MHz) 3.93 (3H, s, OMe), 6.70-6.76 (3H, m, Ar-5H, Ar-NH₂), 7.46-7.49 (1H, d, Ar-4H), 7.81-7.85 (1H, d, Ar-6H), 7.99-8.03 (2H, d), 8.29-8.33 (2H, d), 10.05 (1H, s, -NHCO-); m/z (EI) 338 (M⁺), 321, 289, 145, 32.

(b) 第二步- 2-(4'-三氟甲基苯基)苯并咪唑-4-羧酸甲酯乙酸盐的制备

将 2-氨基-3-N-(4'-三氟甲基苯甲酰基)氨基苯甲酸甲酯 (75.7mg, 0.224mmol) 溶于冰乙酸 (5ml) 中, 于 125°C 下搅拌 0.5 小时。蒸除反应溶剂, 残余的白色固体用石油醚洗涤, 得到标题化合物 (59.6mg, 70%)。mp 138-140°C;

实测值 : C, 56.78; H, 3.98; N, 7.36

理论值 (C₁₆H₁₁F₃N₂O₂·CH₃CO₂H) : C, 56.84; H, 3.94; N, 7.37%

uv/nm 206, 319; δ_{H} (d₆-DMSO, 200MHz) 2.01 (3H, s, CH₃CO₂H), 7.44-7.52 (1H, t, Ar-5H), 7.97-8.14 (4H, m), 8.65-8.66 (2H, d), 12.1 (br s, Imidazole-NH), 12.7-12.8 (1H, br s, CH₃CO₂H); m/z (EI) 320 (M⁺-CH₃CO₂H), 301, 288, 260, 145, 60, 43.

(c) 第三步- 2-(4'-三氟甲基)苯并咪唑-4-羧酰胺的制备 (NU1077)

将2-(4'-三氟甲基苯基)苯并咪唑-4-羧酸甲酯乙酸盐溶于过量的液氨中, 在100℃下, 于一个40大气压的密封加压容器中加热12小时。蒸除氨, 固体残渣用冰水洗涤(3×5ml)。用甲醇-水重结晶, 得到细的白色针状产品(19.1mg, 48%)。mp 301-305℃;

实测值 : C, 56.45; H, 3.50; N, 12.41.

理论值 (C₁₅H₁₀F₃N₂O. CH₃OH) : C, 56.97; H, 4.18; N, 12.46%

δ_{H} (d₆-DMSO, 200MHz) 7.45 (1H, t, Ar-5H), 7.88-7.92 (1H, d, Ar-4H), 7.99 (1H, br s imidazole-NH), 8.03 (1H, d, Ar-6H); 8.06-8.10 (2H, d, J=8.1), 8.55-8.59 (2H, d, J=8.1), 9.3-9.4 (1H, br s, -CONH), 13.7-13.8 (1H, br s, -CONH);
m/z (EI) 288 (M⁺-NH₃), 260, 69.

实例72-(4'-羟基苯基)-1-H-苯并咪唑-4-羧酰胺 (化合物NU1085)

氩气下, 将1M 三溴化硼的二氯甲烷(3.8ml)溶液转移至含有2-(4'-甲氧苯基)苯并咪唑-4-羧酰胺(实例5中 NU1076)(202.4mg, 0.758mmol)的烧瓶中。生成的溶液用空气冷凝器回流24小时。蒸除溶剂至干, 固体残渣用10% NaOH(10ml)处理, 再向其中滴加浓盐酸至中性(pH=7)。滤集白色沉淀, 溶于乙酸乙酯(10ml)中。此有机溶剂用水(2×3ml)洗涤, MgSO₄干燥, 减压除去溶剂得到产品(109.5mg, 57%)。mp 266-267℃;

实测值 : C, 63.27; H, 4.37; N, 15.67.

理论值 (C₁₄H₁₁N₃O₂. 0.75 MeOH) : C, 63.04; H, 4.69; N, 15.76%

ν_{max} (cm⁻¹) 3424.01,

3384.16, 3309.20, 3249.55, 3155.62, 1642.35, 1618.02,

1594.50, 1577.74; δ_{H} 7.03-7.07 (2H, d, J=8.5), 7.34-7.42

(1H, t), 7.75-7.79 (1H, d), 7.85 (1H, br s), 7.90-7.94

(1H, d), 8.15-8.19 (2H, d, J=8.5), 9.4-9.6 (1H, br s),

10.0-10.4 (1H, br s), 13.0-13.4 (1H, br s); m/z (EI) 253

(M⁺), 236, 208, 93.

实例8

2-(4'-甲氧基苯基)-1-甲基苯并咪唑-4-羧酰胺 (化合物NU1090)

将2-(4'-甲氧基苯基)苯并咪唑-4-羧酰胺(实例5中 NU1076) (105.3mg, 0.394mmol) 及氢氧化钾粉末(22mg, 0.394mmol) 悬浮于丙酮(4ml) 中, 搅拌至所有固体溶解。加入碘化钾(24.6ul, 0.394mmol), 反应物在室温下搅拌过夜。减压蒸除溶剂, 柱层析纯化白色固体残渣, 用二氯甲烷/甲醇 95: 5洗脱, 得到标题化合物, 其为细的白色结晶。(33.2mg, 30%)

mp 289-292°C;

实测值 : C, 68.62; H, 5.36; N, 14.67.

理论值 (C₁₆H₁₅N₃O₂) : C, 68.33; H, 5.34; N, 14.95

ν_{\max} (cm⁻¹) 3309.23,

3141.44, 1671.29, 1605.30, 1255.08, δ_{H} 3.95 (3H, s), 4.02 (3H, s), 7.22-7.27 (2H, d), 7.44-7.52 (1H, t), 7.86-8.00 (5H, m), 9.4 (1H, br s, NH); m/z (EI) 281 (M⁺), 264, 250.

实例9

2-(4'-甲氧基苯基)-1-苯甲酰基苯并咪唑-4-羧酰胺 (化合物NU1101)

将2-(4'-甲氧基苯基)苯并咪唑-4-羧酰胺(实例5中化合物NU1076) (75.1mg, 0.281mmol) 和氢氧化钾粉末(15.80mg, 0.281mmol) 溶解于丙酮(3ml) 中, 并搅拌至固体全部溶解。加入苯甲酰氯(32.6ul, 0.281mmol), 并使该溶液在室温下搅拌过夜, 产生白色沉淀。减压下除去溶剂, 白色残留物经柱层析(二氯甲烷/甲醇95: 5洗脱) 纯化。所得固体用石油醚(40/60)/乙酸乙酯重结晶, 得到纯净的产物(15.6mg, 15%), 呈明亮的白色斜方晶型。

mp 207-210°C;

实测值 : C, 70.45; H, 4.60; N, 10.99.

理论值 ($C_{22}H_{17}N_3O_3 \cdot 0.25CH_3OH$) : C, 70.45; H, 4.47; N, 11.08

ν_{max} (cm^{-1}) 3445.99, 3318.55, 2922.99, 1689.79, 1666.36;
 δ_H 3.86 (3H, s, OCH_3), 7.02-7.06 (2H, d), 7.50-7.65 (4H, m), 7.72-7.82 (3H, m), 7.88-7.92 (2H, d), 8.08 (1H, s, CONH), 8.10-8.14 (1H, d), 9.1-9.2 (1H, br s, CONH); m/z (EI) 371 (M^+), 105.

进一步的实例

下列进一步的实例, 并包括一些已经描述过的实例, 采用了一些标准的方法。它们包括:

- (1) 2, 3-二氨基苯甲酸甲酯与芳基酰氯反应 (标准方法A)
- (2) 用酸催化的环合反应形成苯并咪唑环 (标准方法B)
- (3) 用液氨反应形成酰胺 (标准方法C)

这些标准方法的实验细节见下所述:

标准方法A

制备2, 3-二氨基苯甲酸甲酯 (1当量), 干燥的三乙胺 (1-1.5当量) 和二甲基氨基吡啶 (DMAP- 5mol%) 于一半所需量的干燥的四氢呋喃 (THF) 中的冰/盐浴冷却溶液。将所需的酰氯 (1当量) 溶解于剩余的干燥的四氢呋喃 (THF) 中, 并将其在搅拌下, 30分钟内, 加至冷却的溶液中。将反应缓慢升至室温下进行, 并且搅拌过夜。、过滤溶液除去悬浮于乙酸乙酯中的沉淀, 滤液用水洗涤两遍, 后用饱和盐水洗, $MgSO_4$ 干燥。将有机相加至反应滤液中, 减压蒸除溶剂。将所得的固体残留物溶于乙酸乙酯中, 用水

洗涤两遍，后用饱和盐水洗，MgSO₄干燥。减压蒸除溶剂。将所得的固体残留物用柱层析和/或重结晶（用合适的溶剂）纯化。

标准方法B

将起始物溶解于冰醋酸中，并置于预热至120℃的油浴中。溶液在加热下持续合适的时间，然后，将其冷却至室温。减压蒸除冰醋酸，所得的固体残留物用柱层析和/或重结晶（用合适的溶剂）纯化。

标准方法C

将起始物溶解于新鲜浓缩的过量液氨中，将该混合物在封闭的容器中加热至80℃，产生40个大气压，反应24小时。蒸除氨，所得的固体残留物用柱层析和/或重结晶（用合适的溶剂）纯化。

实例10

2-(4'-氟苯基)-1-H-苯并咪唑-4-羧酰胺（化合物NU1092）

(a) 第一步- 2-氨基-3-N-(4'-氟苯甲酰基)氨基苯甲酸甲酯的制备

按标准方法A，将2, 3-二氨基苯甲酸甲酯（300mg, 1.81mmol），三乙胺（251ul, 1.81mmol）及DMAP（11mg）溶于THF（7.5ml）中并冷却。向其中加入4-氟苯甲酰氯（299mg, 1.81mmol）的THF溶液（7.5ml）。所得产品用柱层析（二氯甲烷/甲醇 99: 1）纯化，随后用沸甲醇重结晶。

（196mg, 37%） mp198-202℃；

ν_{\max} (cm⁻¹) 3486.40, 3374.02, 3245.61,

2231.25, 1688.04, 1646.65; δ_{H} 3.93 (3H, s, CO₂CH₃), 6.68-6.76 (1H, t), 6.72 (2H, br s, NH₂), 7.45-7.49 (1H, d), 7.81-7.86 (1H, d), 8.11-8.15 (2H, d, J=8.4), 8.25-8.29 (2H, d, J=8.4), 10.01 (1H, br s, NH); m/z (EI) 295 (M⁺), 278, 263, 246, 130, 102.

(b) 第二步- 2-(4'-氟苯基)-1-H-苯并咪唑-4-羧酸甲酯的制备

按标准方法B, 将得自第一步的2-氨基-3-N-(4'-氟苯甲酰基)氨基苯甲酸甲酯 (301mg, 1.02mmol) 于冰乙酸 (10ml) 中加热。所得产品用石油醚40/60/乙酸乙酯重结晶两次。(203mg, 72%) mp 195-198°C

$\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$ 3447.66, 2228.84, 1691.90,
1288.11 δ_{H} 4.09 (3H, s, CO_2CH_3), 7.44-7.53 (1H, t), 7.97-8.01 (1H, d), 8.10-8.13 (2H, d, $J=8.4$), 8.58-8.62 (2H, d, $J=8.4$), 12.8 (1H, br s); m/z (EI) 277 (M^+), 245, 217

(c) 第三步-2-(4'-氟苯基)-1-H-苯并咪唑-4-羧酰胺(化合物NU1092)的制备

按标准方法C, 在压力下, 将2-(4'-氟苯基)-1-H-苯并咪唑-4-羧酸甲酯 (169.5mg, 0.612mmol) 用氨处理。粗产品用沸甲醇重结晶, 得到标题化合物, 其为白色结晶。(116.5mg, 73%)

mp >310°C;

实测值 : C, 67.81; H, 3.89; N, 20.87.

理论值 ($\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}$ 0.2 MeOH) : C, 67.95; H, 4.05; N, 20.85%

$\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$ 3332.27,
3274.86, 3177.98, 2230.85, 1658.54, 1608.10; δ_{H} 7.45-7.49 (1H, t); 7.87-7.91 (1H, d), 7.91 (1H, br s), 7.98-8.02 (1H, d); 8.13-8.17 (2H, d, $J=8.3$), 8.50-8.54 (2H, d, $J=8.3$), 9.2-9.4 (1H, br s), 13.6-13.8 (1H, br s); m/z (EI) 262 (M^+), 245, 217, 102.

实例112-(4'-硝基苯基)-1-H-苯并咪唑-4-羧酰胺(化合物NU1091)

(a) 第一步- 2-氨基-3-N-(4'-硝基苯甲酰基)氨基苯甲酸甲酯的制备

按标准方法A, 将2, 3-二氨基苯甲酸甲酯 (300mg, 1.807mmol), 干燥三乙胺 (276.6 μ l, 1.988mmol) 及DMAP (11mg) 溶于THF (12ml) 中。向其中加入4-硝基苯甲酰氯 (335.2mg, 1.807mmol) 的干燥THF溶液 (12ml)。所得产品用柱层析 (二氯甲烷/甲醇 99: 1) 随后用甲醇重结晶纯化得到纯产物。

mp 196-197°C;

实测值 : C, 57.08; H, 3.78; N, 13.25.

理论值 (C₁₅H₁₃N₃O₅) : C, 57.14; H, 4.12; N, 13.33%

ν_{\max} (cm⁻¹) 3382.31,

3293.01, 3256.56, 1702.05, 1657.83, 1525.37; δ_{H} 3.94 (3H, s, CO₂CH₃), 6.70-6.78 (1H, t), 6.66 (2H, br s, NH₂), 7.48-7.51 (1H, d), 7.83-7.87 (1H, d), 8.33-8.38 (2H, d, J=8.8), 8.46-8.51 (2H, d, J=8.8), 10.15 (1H, br s, NH); m/z (EI) 315 (M⁺), 297, 265, 165.

(b) 第二步- 2-(4'-硝基苯基)-1-H-苯并咪唑-4-羧酸甲酯的制备

按标准方法B, 将2-氨基-3-N-(4'-硝基苯甲酰基)氨基苯甲酸甲酯 (340.2mg, 1.08mmol) 于冰乙酸 (10ml) 中加热15分钟。所得产品用甲醇重结晶纯化。 (208mg, 65%)。

mp 208-210°C;

实测值 : C, 60.69; H, 3.57; N, 13.96

理论值 (C₁₅H₁₁N₃O₄) : C, 60.61; H, 3.70; N, 14.14%

ν_{\max} (cm⁻¹) 3433.70,

1720.14, 1601.84, 1513.07; δ_{H} 4.21 (3H, s, CO₂CH₃), 7.57-7.65 (1H, t), 8.10-8.12 (1H, d), 8.23-8.27 (1H, d), 8.60-8.64 (2H, d, J=8.8), 8.78-8.82 (2H, d, J=8.8), 13.04 (1H, br s, NH); m/z (EI) 297 (M⁺), 265.

(c) 第三步-2-(4'-硝基苯基)-1-H-苯并咪唑-4-羧酰胺(化合物NU1091)

的制备

按标准方法C, 将2-(4'-硝基苯基)-1-H-苯并咪唑-4-羧酸甲酯溶于液氮中, 并于压力下于一定体积的容器中加热。所得产品用柱层析(二氯甲烷/甲醇 99: 1)及甲醇重结晶纯化。

mp >310°C; δ_{H} 7.48-7.56 (1H, t), 7.90-7.94 (1H, d), 8.00 (1H, s, NH), 8.00-8.04 (1H, d), 8.52-8.56 (2H, d, J=8.8), 8.60-8.64 (2H, d, J=8.8), 9.3-9.4 (1H, br s, NH), 13.8-14.0 (1H, br s, NH)

实例12

2-(3'-三氟甲基苯基)-1-H-苯并咪唑-4-羧酰胺 (化合物NU1093)

(a) 第一步-2-氨基-3-N-(3'-三氟甲基苯甲酰基)氨基苯甲酸甲酯的制备

按标准方法A, 将2, 3-二氨基苯甲酸甲酯(200mg, 1.205mmol), 干燥三乙胺(704 μ l, 5.06mmol)及二甲基氨基吡啶(DMAP, 7.3mg)溶于THF(7.5ml)中。向其中加入3-三氟甲基苯甲酰氯(183 μ l, 1.205mmol)的干燥THF溶液(7.5ml)。柱层析(二氯甲烷/甲醇 99: 1)除去杂质, 极性更大的组分用二氯甲烷/甲醇 97: 3洗脱。甲醇重结晶后得到白色固体产品。

(160.4mg, 26%)

mp157-159°C;

实测值 : C, 57.14; H, 3.57; N, 8.10

理论值 (C₁₆H₁₃F₃N₂O₃) : C, 56.80; H, 3.85; N, 8.28%

ν_{max} (cm⁻¹) 3368.48,

3283.82, 2953.87, 1705.98, 1650.77, 1250.02; δ_{H} 3.93 (3H, s, CO₂CH₃), 6.69-6.77 (1H, t), 6.73 (2H, s, NH₂), 7.45-7.49 (1H, d), 7.82-7.92 (2H, m), 8.06-8.10 (1H, d), 8.40-8.44 (1H, d), 8.48 (1H, s, 2'-H), 10.1 (1H, s, NH); m/z (EI) 338 (M⁺), 320, 288, 260, 173, 145.

(b) 第二步- 2-(3'-三氟甲基苯基)-1-H-苯并咪唑-4-羧酸甲酯乙酸盐的制备

按标准方法B, 将2-氨基-3-N-(4'-三氟甲基苯甲酰基)氨基苯甲酸甲酯的冰乙酸(6ml)溶液加热15分钟。减压除去溶剂, 高真空下干燥, 得到白色固体纯品。(154.2mg, 96%)。

mp 105-107°C;

实测值 : C, 56.93; H, 3.78; N, 7.32

理论值 (C₁₆H₁₁F₃N₂O₂·CH₃CO₂H) : C, 56.84; H, 3.95; N, 7.37%

ν_{\max} (cm⁻¹) 3438.30, 3339.14, 2959.13, 1707.99, 1328.24, 1313.53; δ_{H} 2.01 (3H, s, CH₃CO₂H), 4.09 (3H, s, CO₂CH₃), 7.44-7.51 (1H, t), 7.79-8.13 (4H, m), 8.71-8.75 (1H, d), 8.82 (1H, s), 11.8-12.2 (1H, br s), 12.8-13.0 (1H, br s); m/z (EI) 320 (M⁺-CH₃CO₂H), 288, 260.

(c) 第三步-2-(3'-三氟甲基苯基)-1-H-苯并咪唑-4-羧酰胺(化合物 NU1093)

的制备

按标准方法C, 在一个密闭的容器中, 将2-(3'-三氟甲基苯基)-1-H-苯并咪唑-4-羧酸甲酯乙酸盐(134.8mg, 0.358mmol)溶于过量的液氨中, 所得产品用甲醇重结晶纯化, 得到一米色针状物。(78mg, 72%)

mp 268-270°C;

实测值 : C, 57.68; H, 3.82; N, 12.96

理论值 (C₁₅H₁₀F₃N₃O·0.6CH₃OH) : C, 57.74; H, 3.82; N, 12.95%

ν_{\max} (cm⁻¹) 3488.83, 3348.86, 3176.45, 1667.66, 1600.93, 1329.63; δ_{H} 7.44-7.52 (1H, t), 7.88-8.04 (5H, m), 8.66-8.70 (1H, d), 8.70 (1H, s, 2' H), 9.3 (1H, br s, NH), 13.6 (1H, br s, NH); m/z (EI) 305 (M⁺), 288, 260, 145.

实例132-(3'-甲氧基苯基)-1-H-苯并咪唑-4-羧酰胺(化合物NU1092)(a) 第一步- 2-氨基-3-N-(3'-甲氧基苯甲酰基)氨基苯甲酸甲酯的制备

按标准方法A, 制2, 3-二氨基苯甲酸甲酯(670.3mg, 4.038mmol), 干燥三乙胺(2842.6ul, 6.057mmol)及DMAP(25mg)于无水THF(20ml)中的溶液。向其中加入3-甲氧基苯甲酰氯(567ul, 6.038mmol)的干燥THF溶液(20ml)。生成的固体残渣用柱层析(二氯甲烷/甲醇 99:1)纯化, 产物用石油醚40/60乙酸乙酯重结晶两次后得到纯品。(282.6mg, 23%)

mp 124-125°C;

实测值 : C, 63.90; H, 5.11; N, 9.24

理论值(C₁₆H₁₆N₂O₄) : C, 64.0; H, 5.33; N, 9.33%

$\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$ 3386.19,

3292.38, 1697.97, 1586.87, 1520.79, 1250.27; δ_{H} 3.92 (3H, s), 3.93 (3H, s), 6.61 (2H, s, NH₂), 6.68-6.76 (1H, t), 7.22-7.27 (1H, d), 7.44-7.47 (1H, d), 7.49-7.57 (1H, t), 7.66 (1H, s, 2'-H), 7.367-7.71 (1H, d), 7.79-7.84 (1H, d), 9.8 (1H, s, NH); m/z (EI) 300 (M⁺), 283, 135, 107.

(b) 第二步- 2-(3'-甲氧基苯基)-1-H-苯并咪唑-4-羧酸甲酯乙酸盐的制备

按标准方法B, 将2-氨基-3-N-(3'-甲氧基苯甲酰基)氨基苯甲酸甲酯(356.9mg, 1.19mmol)在冰乙酸(12ml)溶液加热。减压除去溶剂, 石油醚 40/60/乙酸乙酯重结晶, 得到标题化合物纯品。(235.6mg, 58%)。

mp 93-94°C;

实测值 : C, 62.66; H, 5.13; N, 8.06

理论值(C₁₆H₁₄N₂O₃ · CH₃CO₂H) : C, 63.16; H, 5.26; N, 8.18%

$\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$ 3453.23, 3375.10, 1706.75, 1257.40; δ_{H} 1.99

(3H, s, CH₃CO₂H), 3.96 (3H, s), 4.06 (3H, s), 7.15-7.21 (1H, d), 7.38-7.46 (1H, t), 7.51-7.59 (1H, t), 7.91-8.00 (3H, m), 8.04-8.08 (1H, d), 12.0 (1H, s), 12.5 (1H, s); m/z (EI) 282 (M⁺-CH₃CO₂H), 250.

(c) 第三步-2-(3'-甲氧基苯基)-1-H-苯并咪唑-4-羧酰胺 (化合物 NU1093)

的制备

按标准方法C, 将2-(3'-甲氧基苯基)-1-H-苯并咪唑-4-羧酸甲酯的液氨溶液 (203mg, 0.596mmol) 在一个固定体积的容器中加热。固体残渣用甲醇重结晶纯化, 得到纯品。 (73.5mg, 46%)

mp 223-225°C;

实测值 : C, 67.52; H, 4.91; N, 15.62

理论值 (C₁₅H₁₃N₃O₂) : C, 67.42; H, 4.87; N, 15.73%

ν_{\max} (cm⁻¹) 3408.59,

3388.94, 3168.65, 1662.05, 1625.86, 1603.39; δ_{H} 3.99 (3H, s, OCH₃), 7.22-7.27 (1H, d), 7.43-7.51 (1H, t), 7.58-7.66 (1H, t), 7.85-8.01 (5H, m), 9.4-9.5 (1H, br s), 13.5 (1H, br s); m/z (EI) 267 (M⁺), 250.

实例14

2-(2'-三氟甲基苯基)-1-H-苯并咪唑-4-羧酰胺 (NU1104)

(a) 第一步-2-氨基-3-N-(2'-三氟甲基苯甲酰基)氨基苯甲酸甲酯的制备

按标准方法A, 将2, 3-二氨基苯甲酸甲酯 (564mg, 3.4mmol) 的THF溶液 (20ml) 与三乙胺 (709 μ l, 5.1mmol) 及二甲基氨基吡啶 (21mg) 一起搅拌。向其中加入2-三氟甲基苯甲酰氯的THF溶液 (20ml)。将生成的油性残渣吸附于硅胶上, 柱层析 (二氯甲烷/甲醇 99: 1) 纯化。石油醚40/60/乙酸乙酯重结晶后得到纯产品。 (303mg, 26%)

mp 163-166°C;

实测值 : C, 56.91; H, 3.75; N, 8.29

理论值 ($C_{16}H_{13}F_3N_2O_3$) : C, 56.80; H, 3.85; N, 8.28%

$\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$ 3329.85,

3243.90, 2955.52, 1696.66, 1663.58, 1312.69; δ_{H} 3.94 (3H, s, CO_2CH_3), 6.58 (2H, s, NH_2), 6.74-6.82 (1H, t), 7.57-7.62 (1H, d), 7.79-8.03 (5H, m), 10.0 (1H, s, NH); m/z (EI) 338 (M^+), 321, 289, 173, 145.

(b) 第二步和第三步- 2-(2'-三氟甲基)-1-H-苯并咪唑-4-羧酰胺 (NU1104) 的制备

按标准方法B和C, 从第一步的产物按顺序可得到标题化合物。

实例15

2-(4'-氨基苯基)-1-H-苯并咪唑-4-甲酰胺 (化合物NU1103)

(a) 第一步- 2-氨基-3-N-(4'-氨基苯甲酰基)氨基苯甲酸甲酯的制备

将 2-氨基-3-N-(4'-硝基苯甲酰基)氨基苯甲酸甲酯 (来自实例11第一步) 悬浮于甲醇 (40ml) 中, 在氩气中, 搅拌下, 将溶于甲醇 (10ml) 的10%的钨碳 (~50mg) 催化剂加入至该溶液中, 将该溶液于大气压下氢化2小时。用硅藻土 (商品名“CELITE”) 过滤, 除去催化剂。减压除去溶剂, 所得的产物为白色固体, 在高度真空下干燥。 (204.1mg, 92%)

mp 197-200°C;

实测值 : C, 62.95; H, 5.30; N, 14.39.

理论值 ($C_{15}H_{15}N_3O_3$) : C, 63.16; H, 5.26; N, 14.73;

$\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$ 3472.55,

3374.96, 3348.97, 3283.31, 1694.80, 1613.91; δ_{H} 3.94 (3H, s, CO_2CH_3), 5.87 (2H, s, NH_2), 6.54 (2H, s, NH_2), 6.68-3.73 (2H, d), 6.73-6.76 (1H, t), 7.42-7.47 (1H, d), 7.78-7.82 (2H, d), 9.4 (1H, s, NH); m/z (EI) 285 (M^+), 267, 235, 207, 120, 92.

(b) 第二步- 2-(4'-氨基苯基)-1-H-苯并咪唑-4-甲酸甲酯乙酸盐的制备

按标准方法B, 用热的冰乙酸(8ml)对2-氨基-3-N-(4'-氨基苯甲酰基)氨基苯甲酸甲酯(186.5mg 0.654mmol)进行处理30分钟, 石油醚40/60/乙酸乙酯 重结晶得标题化合物。(113.4mg 91%)

mp 162-164°C;

实测值 : C, 62.60; H, 5.04; N, 12.73

理论值 ($C_{15}H_{13}N_3O_2 \cdot CH_3CO_2H$) : C, 62.39; H, 5.20; N, 12.84

$\nu_{max}(cm^{-1})$ 3450.66, 3369.25, 3254.20, 1692.41, 1607.56, 1253.80; δ_H 2.02 (3H, s, CH_3CO_2H), 4.08 (3H, s, CO_2CH_3), 5.81 (2H, s, NH_2), 6.75-6.80 (2H, d, $J=8.6$), 7.32-7.40 (1H, t), 7.83-7.86 (1H, d), 7.93-7.97 (1H, d), 8.08-8.13 (2H, d, $J=8.6$), 11.9 (1H, s), 12.1 (1H, br s); m/z (EI) 267

($M^+ - CH_3CO_2H$), 235, 207, 92, 60.

(c) 第三步-2-(4'-氨基苯基)-1-H-苯并咪唑-4-甲酰胺 (NU1103) 的制备

按标准方法C, 在压力下, 用液氨对2-(4'-氨基苯基)-1-H-苯并咪唑-4-甲酸甲酯乙酸盐(113mg, 0.346mmol)处理24小时, 所得粗产品用柱层析(二氯甲烷/甲醇 90:10)分离得到纯标题化合物(21.4mg, 25%)。

mp : 237-240°C;

δ_H 5.90 (2H, s, NH_2), 6.79-6.83 (2H, d,

$J=8.3$), 7.31-7.39 (1H, t), 7.71-7.75 (1H, d), 7.84 (1H, s, NH), 7.88-7.92 (1H, d), 8.00-8.04 (2H, d, $J=8.3$), 9.5-9.6 (1H, br s, NH), 13.0 (1H, br s, NH).

PARP抑制活性测定法

用下列方法和材料作为PARP抑制剂的对本发明化合物,尤其是那些在前述实例中详细描述化合物进行了体外活性测定。

原则上,所用的PARP测定法基于活化含有外源性 $[^{32}\text{P}]-\text{NAD}^+$ 细胞内的外源性PARP(如下文所描述的),其是通过将细胞悬浮于 $[^{32}\text{P}]-\text{NAD}^+$ 的溶液中,这些细胞在最初的预处理步骤中已经渗透到 $[^{32}\text{P}]-\text{NAD}^+$ 溶液中。通过酶合成的多聚(ADP-核糖)可以用三氯乙酸(TCA)来沉淀,在特定的实验条件下,例如,采用闪烁计数器,对引入其中的放射性标记 ^{32}P 的量进行测定,得到PARP活性测定的结果。按照相同的步骤,在同一条件下,且在每个受试化合物(观察其使酶活性的降低)存在下做重复实验,受试化合物抑制作用的典型结果可以从TCA沉淀的聚(ADP-核糖)中 $[^{32}\text{P}]$ 量的降低来确定。

此测定结果可用一或多个不同浓度的受试化合物的抑制百分比或活性降低来表示,或者也可用使酶活性降低50%时所需受试化合物的浓度(即 IC_{50} 值)来表示。因此从一定范围内不同化合物可以得到一组抑制活性的比较数值。

实际上,将L1210鼠性白血病细胞暴露于低渗缓冲液下并经冷振荡,使其中渗入外源性 $[^{32}\text{P}]\text{NDA}$,将其作为PARP酶的来源。在已发现能给出准确性和复演性较好结果的实验技术中,将一定量的小分子合成低聚核苷酸,特别是具有回文顺序CGGAATTCCG的单链低聚核苷酸引入细胞悬浮液中用于激活PARP酶。此低聚核苷酸序列自身很快恢复过来,形成一个带有单一钝端的双链分子,并提供了激活PARP的有效底物。作为酶的强催化剂,其性能在所进行的实验中可以得到证实。

所采用的实验方案如下:将上面提及的合成低聚核苷酸作为PARP的特异活化剂引入,其可以辨别PARP和细胞内其它单ADP-核糖基转移酶。因此,这类合成低聚核苷酸的引入,将使所引入的放射标记物的活性提高5-6倍,且唯一地归因于PARP的活性。

进一步详细的测定方法,如下所述。

材料

所用材料概括如下:

DTT (二硫苏糖醇)

制备100mM (15.4mg/ml) 溶液(用作抗氧化剂), 分成等分试样, 每份500 μ l, 储存于-20 $^{\circ}$ C.

低渗缓冲液:

9mM 羟乙基哌嗪乙磺酸 (Hepes)	(214mg/100ml)
4.5% 葡聚糖	(4.5g/100ml)
4.5% MgCl ₂	(92mg/100ml)

将上述成分溶解于约80ml蒸馏水中, 调pH值至7.8 (NaOH/NaCl), 用蒸馏水稀释至100ml储存于冰箱中, 使用前, 加入DTT至5mM (50 μ l/ml)。

等渗缓冲液

40mM 羟乙基哌嗪乙磺酸 (Hepes)	(1.9g/200ml)
130mM KCl	(1.9g/200ml)
4% 葡聚糖	(8g/200ml)
2mM 乙二醇双(2-氨基乙醚)四乙酸 (EGTA)	(152mg/200ml)
2.3mM MgCl ₂	(94mg/200ml)
225mM 蔗糖	(15.39g/200ml)

将上述成分溶于约150ml蒸馏水中, 调pH=7.8 (NaOH/NaCl)。用蒸馏水稀释至200ml, 储存于冰箱中。使用前, 加入DTT至2.5mM (25 μ l/ml)。

NAD

固体NAD以预先称重的等分试样于-20 $^{\circ}$ C下储存。在实施测定前, 制备新鲜的浓度约为6mM (4-4.5mg/ml) 的溶液。在260nm处测定光密度(OD)来测定摩尔浓度。用水稀释此储备溶液, 至浓度为600 μ M, 加入少量³²P标记的NAD (例如, 2-5 μ l/ml)。

低聚核苷酸

对用常规方法合成的具有回文序列CGGAATTCCG的低聚核苷酸进行真空干燥，并以小丸形式储存于冰箱中。使用前将每个小丸完全溶解于50ml缓冲液中，制成200 μ g/ml的10mM Tris/HCl溶液，pH为7.8。溶液在60 $^{\circ}$ C的水浴上加热15分钟，然后使之缓慢冷却，以保证恰当的终止反应。加入9.5ml缓冲液后，在260nm处通过测定稀释样品的光密度来检查其浓度。将主溶液稀释至浓度为200 μ l/ml，并以500 μ l为等分样品，贮存于冰箱内备用。

TCA

制备两种浓度的TCA(三氯乙酸)溶液。10%TCA+10%焦磷酸钠及1%TCA+1%焦磷酸钠。

细胞

将用作PARP酶来源的L1210细胞以悬浮培养物的形式保存于RPMI介质+10%胎儿牛血清+谷氨酰胺及抗菌素(青霉素和链霉素)中。加入HEPES和碳酸氢钠，将细胞接种于100ml-200ml的培养基介质上。使细胞浓度能够在进行测定时达到大约 8×10^5 /ml。

方法

受试化合物通常做成DMSO(二甲亚砜)的浓溶液形式。化合物的溶解度可以通过以下方法测定，将一定量的DMSO溶液，按实验进行时所需的最终比例加到一定量的等渗缓冲液中，间隔一会后，在显微镜下检查有无任结晶形成的任何迹象。

通过血清细胞计计算细胞的需要量，然后离心(1500rpm用“Europa”型24M离心机离心5分钟)，除去上清液，在4 $^{\circ}$ C，1500rpm再次离心前，于4 $^{\circ}$ C下，将形成的小丸再悬浮于20ml不含Ca $^{++}$ 、Mg $^{++}$ 的磷酸盐缓冲液中(Dulbeco改良法A，简称为Dul A)。再次除去上清液后，将细胞再悬浮

于冷的低渗缓冲液中，浓度为 3×10^7 细胞/ml，使其置于冰上30分钟。然后向其中加入9倍体积的冰冷等渗缓冲液。受到外源性 NAD^+ 渗透的细胞在未来1小时内可用于进行测定。细胞的可渗透性可以在这一阶段进行检查。向相同体积的锥虫蓝中加入复份的细胞等分试样，5分钟后，用血细胞计计数。受到渗透的细胞将吸收锥虫蓝，并出现颜色。

为了方便起见，此测定法采用15ml塑料锥底测试管，被置于振荡的 26°C 水浴上，该温度对此酶最适宜。在典型的测定中，采用浓度为 $5 \mu\text{g/ml}$ 的低聚核苷酸溶液及浓度为2%的受试化合物的DMSO溶液，并一式四份进行测定。在每个测定管中加入 $5 \mu\text{l}$ 低聚核苷酸溶液， $50 \mu\text{l}$ $600 \mu\text{M}$ $\text{NAD}^+ [^{32}\text{P}]$ - NAD 溶液， $8 \mu\text{l}$ 受试化合物/DMSO溶液及 $37 \mu\text{l}$ 水。在开始实验前，此“鸡尾酒”在 26°C 下预热7分钟，细胞悬浮液也需经同样的处理。加入 $300 \mu\text{l}$ 细胞悬浮液开始反应。然后加入2ml冰冷10%TCA+10%焦磷酸钠溶液终止反应。

除了以上所述外，建立6个空白测试管，它们含有上述相同的成分，但是在加入细胞悬浮液之前，要加入TCA溶液，防止发生任何反应。其可用于修正标记物质与所用滤器（见下）发生任何非特异性的结合。

在一定的间隔下，向每个测试管中加入细胞悬浮液，准确计时，5分钟后，于 4°C 下，向该管中加入10%TCA+10%焦磷酸钠溶液。然后将测试管从冰上移开，最短时间为1小时后，采用GF/C滤芯（粗面向上，用10%TCA润湿），经抽滤过滤装置的单独过滤漏斗对每个测试管中的内容物进行过滤。每个管内容物过滤后，漏斗用1%TCA+1%焦磷酸钠溶液淋洗几次，小心移去漏斗，干燥，然后置于单独的闪烁小瓶中。另外准备4个闪烁小瓶作为含有 $10 \mu\text{l}$ $600 \mu\text{M}$ $\text{NAD}^+ [^{32}\text{P}]$ - NAD 溶液的参比标准物，向每个小瓶中加入10ml闪烁体。用 β 计数器计数2分钟，得到所存在的 ^{32}P 的测定结果，因此也就得到了多聚（ADP-核糖）的量及PARP酶的活性。

体外PARP抑制研究结果

除了将PARP酶测定用于上述根据本发明标准步骤制备的一定范围化合物之外，为了达到比较的目的，也可将其应用于某些苯甲酰胺类化合物，特别是苯甲酰胺，3-羟基苯甲酰胺及3-甲氧基苯甲酰胺。已知这些化合物具有某些PARP抑制活性。在本发明描述的结尾处，以表格形式给出了下文中已被制备和/或研究的某些典型化合物，以及用一或多种不同实验获得的PARP抑制测定结果。当用上文所述方法对这些化合物进行测定时，其可用浓度10 μ M时的百分抑制数表示，或更通常地是用IC₅₀值表示。

综合评论这张表格可以看到，已知的PARP抑制剂苯甲酰胺，3-氨基苯甲酰胺以及3-甲氧基苯甲酰胺可用作参比物。尽管结果或多或少有一些变化，但总的来说，受试的本发明化合物显示出相当高程度的抑制活性。具有参考号码NU1064，NU1066，NU1086，特别是NU1070，NU1076，NU1077，NU1085，NU1090，NU1091，NU1092，NU1093和NU1098的苯并咪唑羧酰胺类化合物引人注目，其中，NU1091和NU1092显示出异常高的抑制活性。

进一步的生物学活性研究

再次使用鼠性白血病L1210细胞系培养基进行生长抑制实验，来评价化合物抑制细胞生长的作用，另外进行克隆产生存活测定来评价细胞毒性，尤其是有关化合物用作DNA损伤细胞毒剂（如细胞毒抗肿瘤药物或 γ 照射）协同剂时的细胞毒性。在DNA链断裂形成和修复过程中，DNA损伤及PARP抑制剂的作用也已用DNA链断裂形成测定法进行了评价，并按照已公开的技术，通过碱性洗脱监控进行了分析。

在生长抑制测定中，在24孔多碟中植入典型的L1210细胞，浓度为1x10⁴/ml，一式三份。24小时后，以选择的组合和浓度加入受试的化合物或药物。此时用Coulter记数计对一组平行的样品进行记数（N₀），48小时后，对其余的样品进行记数（N₁）。由此可以评价药物处理过样品的百分生长抑制（%）。在探索细胞生长或克隆产生协同作用的药物组合实验中，可将细胞毒药物样品（例如替莫唑胺（TM））单一的，固定的浓度作为对照值。

体外细胞毒性测定的实例

在采用化合物NU1064 (2-甲基苯并咪唑-4-羧酰胺) 体外细胞毒性测定的特殊实例中, 在100 μ M甲基化剂替莫唑胺的存在或缺乏下, L1210鼠白血病细胞采用递增浓度的NU1064, 在最终浓度为1%的DMSO中, 于36 $^{\circ}$ C下孵育24小时。将细胞制成小丸, 再悬浮于新鲜的介质中, 记数, 接种以使在0.15%琼脂糖的无药物介质中有细胞群体形成。1周后, 能存活的细胞用MTT (1ml, 0.5mg/ml) 进行染色并记数, 将对照物 (89%) 和单独的替莫唑胺 (32%) 的平皿接种效率规定为100%相对存活率, NU1064处理过细胞的平皿接种效率用这些值的百分数来表示。

单独的NU1064可引起适度的细胞存活下降, 100 μ M和200 μ M浓度的NU1064所对应的平皿接种效率分别为72%和54%。但当NU1064浓度升高时, 替莫唑胺细胞毒性有显著升高 (100 μ M和200 μ M浓度的NU1064所对应的平皿接种效率分别为28%和2%), 表明了替莫唑胺细胞毒性增强与NU1064浓度有关。这些结果的说明见附图1中。

在其他的克隆产生存活测定法中, 典型的做法是在记数和在无药物介质的0.12-0.15%琼脂糖中进行克隆形成而接种之前, 将L1210细胞暴露于各种浓度的TM \pm 固定浓度的PARP抑制剂中, 固定时间为16小时。7-10天后, 用0.5mg/ml的MTT对克隆进行染色, 在格栅光盒中用肉眼记数。由此能够绘制存活曲线, 并得到DEF₁₀值。DEF₁₀的定义是降低存活至10%时的TM浓度, 除以有固定浓度PARP抑制剂存在下, 使存活降低至10%时的TM浓度。

在进一步的克隆产生存活测定法中, 利用 γ -射线照射来损伤细胞。典型的做法是, 于4 $^{\circ}$ C下, 采用不同剂量的 γ -射线, 在终浓度为2%受试化合物的DMSO溶液存在或缺乏下, 对L1210细胞 (3ml, 4×10^3 /ml, 于小巧的塑料瓶中) 进行照射。在进行克隆形成而接种之前, 于37 $^{\circ}$ C下, 继续在PARP抑制剂存在或缺乏下, 对细胞进行孵育2小时。

在允许细胞分裂发生之前，当细胞保持固定相及随后的致死性损伤（PLD）开始之时，便发生了PLD的修复。在进一步的测试潜在的PARP抑制剂典型实验中，在有或无受试化合物存在下，允许L1210细胞对由 γ -射线造成的潜在性致死损伤（PLD）进行修复，方法如下：将L1210细胞保存于培养基中，直到它们达到固定相（ $> 10^6$ 细胞/ml）。在有条件限制的介质中，将它们从固定相培养基稀释至 1.5×10^5 /ml，以防止进一步的细胞分裂。将复份2ml样品置于小巧塑料瓶中，事先保留于冰上，然后立即进行8戈瑞 γ -射线照射。在来自固定相培养基的、有条件限制的介质中制备1ml $3 \times$ 最终浓度受试化合物，随后被加入，得到合适的最终浓度（例如， 10^6 细胞/ml的1%DMSO溶液 \pm 受试化合物）。在再次悬浮于无药物介质之前，将细胞在37℃下孵育0、2或4小时，然后接种，以利于克隆形成。未照射的固定相培养物在1%DMSO \pm 同样量受试化合物的条件下，在37℃下培养0、2或4小时，上述受试化合物提供了测定相关细胞存活的合适的对照物。在缺乏PARP抑制剂的情况下，细胞存活随时间增加，允许发生PLD修复。例如，在一组实验中，当照射后立即接种（无修复）时，仅有约0.2%的细胞存活，但经4小时修复期后，细胞存活升至0.7%。一种有效的PARP抑制剂可以阻断这种修复，因而，可以降低存活率。

关于在前述的DNA链断裂测定法中，将L1210细胞的典型样品用固定浓度（例如150 μ M）的替莫唑胺（除无对照物外），且在浓度不断增加的受试PARP抑制剂存在下，孵育一定时间，例如1小时。与单用替莫唑胺时相比较，抑制剂越有效，碱性洗脱率越大（一种股断裂程度的衡量指标）。

通常，所进行的研究全部支持下列观点，即受试化合物的PARP抑制剂特性反映了这些化合物加强DNA损伤剂的细胞毒性的能力（例如，某些细胞毒性的抗肿瘤药物和放疗时用的照射）。因而，考虑到本发明化合物具有强烈的PARP抑制剂特性，可寄以希望，与这些细胞毒性药物或放疗合并使用时会特别有用，其用途是在先前指出的医学治疗中，用来增强后者的细胞毒性效应。

尽管本发明应被认为是全面地包括每一个在此处所公开的新的特性或这些特性的组合，但是，本发明的主要部分，原则上不是唯一的，其广泛地包括下列方面：

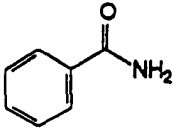
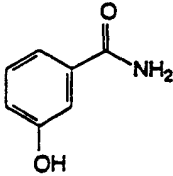
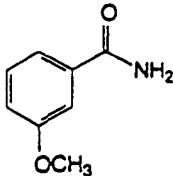
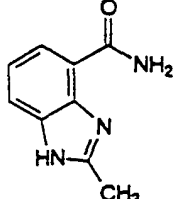

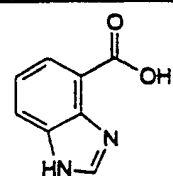
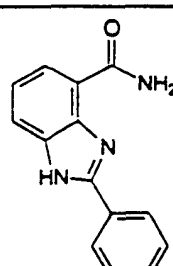
(i) 本文中所定义的、新的式(I)化合物；

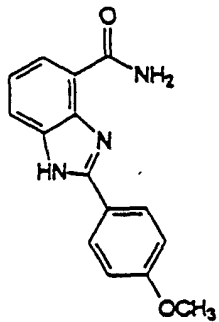
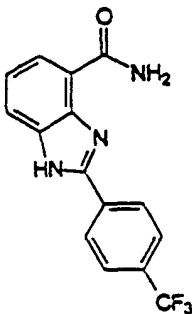
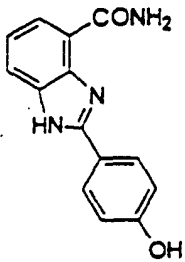
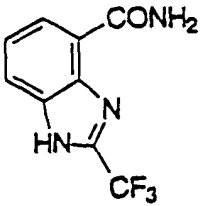
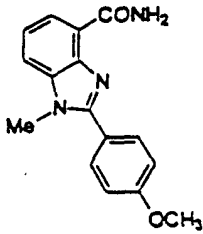
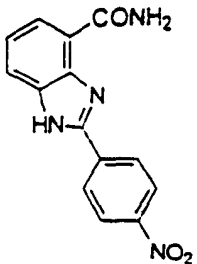
(ii) 带有前文所定义的取代基的式(I)化合物(包括其前药和盐的形式)，该化合物可用于治疗或在医学上使用，以及用于药品生产。例如，该类化合物可用作PARP抑制剂，与细胞毒性药物合并服用或与放疗合用，在肿瘤的治疗中增强后者的疗效；

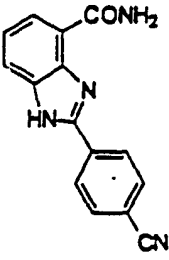
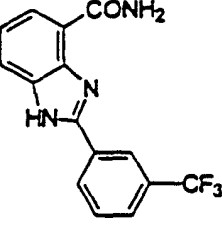
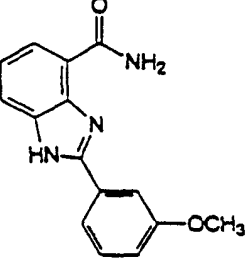
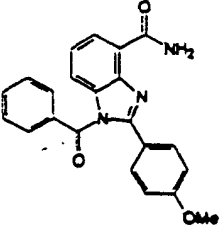
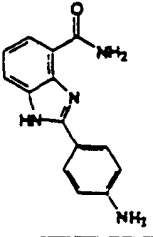
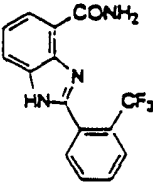
(iii) 制备本文中所定义的新的式(I)化合物的方法，包括实施该方法时所生成的任何新的中间体化合物。

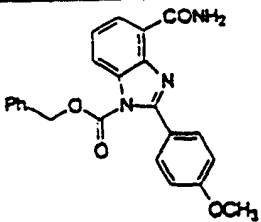
(iv) 药物制剂，其包括本文中所定义的新的式(I)化合物与药学上可接受的载体；以及

(v) 制备上述(iv)中所定义的药物制剂的方法，例如，用本文中所及的方法。

编号	名称	结构	10 μ M 时的 % 抑制或 IC ₅₀ 值
Ref	苯甲酰胺 C ₇ H ₇ O MW = 121.1		IC ₅₀ = 12.4 \pm 3.1 μ M
Ref	3-羟基苯甲酰胺 C ₇ H ₇ NO ₂ MW = 137		IC ₅₀ = 8.0 \pm 3.5 μ M (7)
Ref	3-甲氧基苯甲酰胺 C ₈ H ₉ NO ₂ MW = 151		55
NU1064	2-甲基苯并咪唑 -4-羧酰胺 C ₉ H ₉ N ₃ O MW = 175.38		IC ₅₀ = 1.09 \pm 0.23 μ M (3)
NU1066	苯并咪唑-4-羧酰胺 C ₈ H ₇ N ₃ O MW = 161.16		IC ₅₀ = 1.26 μ M IC ₅₀ = 1.02 μ M
NU1067	苯并咪唑-4-羧酸 C ₈ H ₆ N ₂ O ₂ 162.14		无活性
NU1070	2-苯基苯并咪唑 -4-羧酰胺 C ₁₄ H ₁₁ N ₃ O 237.26		IC ₅₀ = 92 nM IC ₅₀ = 103 nM

NU1076 2-(4-甲氧(苯基) 苯并咪唑-4-羧酰胺 $C_{15}H_{13}N_3O_2$ 267.28		$IC_{50} = 59 \text{ nM}$
NU1077 2-(4-三氟甲基苯基) 苯并咪唑-4-羧酰胺 $C_{15}H_{10}N_3OF_3$ 305.25		$IC_{50} = 75 \text{ nM}$
NU1085 2-(4-羧苯基) 苯并咪唑-4-羧酰胺 $C_{14}H_{11}N_3O_2$ 253.26		$IC_{50} = 77 \text{ nM}$
NU1086 2-三氟甲基- 苯并咪唑-4-羧酰胺 $C_{16}H_{13}N_3O_2$ 281.31		$IC_{50} = 1.6 \text{ }\mu\text{M}$
NU1090 2-(4-甲氧苯基)-N- 甲基苯并咪唑-4- 羧酰胺 $C_{16}H_{15}N_3O_2$ 281.31		$IC_{50} = \sim 100 \text{ nM}$
NU1091 2-(4-硝基苯基)- 苯并咪唑-4-羧酰胺 $C_{14}H_{10}N_4O_3$ 282.25		$IC_{50} = 22 \text{ nM}$

NU1092	2-(4-氰基苯基)- 苯并咪唑-4-羧酰胺 C ₁₄ H ₁₀ N ₄ O 262.27		IC ₅₀ = 33 nM
NU1093	2-(3-三氟甲基苯基)- 苯并咪唑-4-羧酰胺 C ₁₅ H ₁₀ N ₃ OF ₃ 305.25		IC ₅₀ = 76 nM
NU1098	2-(3-甲氧基苯基)- 苯并咪唑-4-羧酰胺 C ₁₅ H ₁₃ N ₃ O ₂ 267.28		IC ₅₀ = 130 nM
NU1101	N-苄基-2-(4-甲氧基苯基)- 苯并咪唑-4-羧酰胺 C ₂₂ H ₁₇ N ₃ O ₃ 371.39		IC ₅₀ = 0.27 μM
NU1103	2-(4-氨基苯基)- 苯并咪唑-4-羧酰胺 C ₁₄ H ₁₂ N ₄ O 252.27		IC ₅₀ = 91 nM
NU1104	2-(2-三氟甲基苯基)- 苯并咪唑-4-羧酰胺 C ₁₅ H ₁₀ N ₃ OF ₃ 305.25		未检测

NU1105	N-羧苄基-2-(4-甲氧苄基)- 苯并咪唑-4-羧酰胺 $C_{23}H_{19}N_3O_4$ 401.42	 <chem>COc1ccc(cc1)N2C(=O)N(C2C(=O)OCC3=CC=CC=C3)C4=CC=CC=C4C(=O)N</chem>	1.9 μ M
--------	---	--	-------------

L1210 细胞克隆生成测定
NU1064 +/- 100 μ M 替莫唑胺
(1% DMSO)

图 1

