苯并呋喃类聚腺苷二磷酸核糖聚合酶(PARP)抑制剂的设计、合成及活性研究

金秋^{a,b} 辛敏行^b 丛欣^b 尤启冬^{*,a}

(^a 江苏省药物分子设计与成药性优化重点实验室 中国药科大学 南京 210009)

(^b 江苏省抗肿瘤分子靶向药物重点实验室 江苏先声药业有限公司 南京 210042)

摘要 苯并呋喃类聚腺苷二磷酸核糖聚合酶(PARP)是抗肿瘤治疗的一个有效靶点. 本研究根据现有 PARP 抑制剂的结构特征, 设计并合成了未见文献报道的 12 个苯并呋喃类化合物, 并进行了初步体外活性筛选. 实验结果表明所合成的化合物均显示出一定的 PARP 抑制活性, 其中化合物 **7c** 的活性与阳性对照药 Veliparib 活性相当, IC₅₀ 为 20.5 nmol·L⁻¹.

关键词 抗肿瘤; PARP; 苯并呋喃; 合成

Design, Synthesis and Activity of Benzofuran-7-carboxamide Poly(ADP-ribose)-polymerase Inhibitors

Jin, Qiu^{a,b} Xin, Minhang^b Cong, Xin^b You, Qidong^{*,a}

(^a Jiangsu Key Laboratory of Drug Design & Optimization, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009)

(^b Jiangsu Key Laboratory of Molecular Targeted Antitumor Drug Research, Jiangsu Simcere Pharmaceutical Co., Ltd., Nanjing 210042)

Abstract Poly-(ADP-ribose)-polymerase (PARP) is a promising anti-cancer target as it plays a crucial role in the cellular repair and survival mechanisms. A series of benzofuran-7-carboxamides was designed to maintain the required pharmacophore conformation through an intramolecular hydrogen bond. Twelve compounds were synthesized and the inhibitory effect on PARP activity of these compounds were tested and evaluated. The results showed that all the target compounds displayed potency against the PARP enzyme, and compound **7c** was the most potent one with an IC₅₀ value of 20.5 nmol·L⁻¹.

Keywords PARP inhibitor; Benzofuran-7-carboxamide; anti-tumor; synthesis

聚(腺苷酸二磷酸核糖)聚合酶[poly(ADP-ribose)-polymerase, PARP]存在于哺乳动物细胞和大多数真核细胞中, 是一类蛋白质翻译后的修饰酶^[1]. 它可被断裂的 DNA 链激活, 利用烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD⁺)将 ADP 核糖单元加成到 DNA 或各种受体蛋白上, 参与聚 ADP 核糖基化过程^[2]. 它与许多生理过程密切相关^[3,4], 包括染色体的稳定、DNA 损伤的识别和修复、基因的转录、细胞的凋亡和坏死. 研究表明, 抑制 PARP 活性不仅可以降低肿瘤细胞自我修复能力, 从而增强放疗和化疗的敏感性^[5], 还可以选择性的杀死 BRCA1 和 BRCA2 基因缺失或突变的癌细胞^[6-9]. 近年来, PARP 已成为开发新型抗肿瘤药物的一个重要靶点^[10,11].

目前, 已有多个 PARP 抑制剂处于临床实验阶段^[2], 其中雅培的 Veliparib, 阿斯利康的 Olaparib 和辉瑞的 PF-1367338 进展最快, 均处于临床二期. 但部分在研品种存在理化性质较差、PK 性质不理想等缺点, 继续开发全新结构的 PARP 抑制剂具有重要的意义. 分析 PARP 抑制剂的结构特征及 Veliparib 与 PARP 蛋白复合物的单晶结构(2RD6), 可以得出如下构效关系: (1)苯并咪唑上酰胺键的氨基与咪唑的氮原子通过分子内氢键形成类双环结构, 限制酰胺键的构象^[12]; (2)苯并咪唑上酰胺键的 C=O, NH₂ 分别作为氢键受体和氢键供体与残基 Ser243, Gly202 形成氢键相互作用(图 1); (3)苯并咪唑环与 Tyr246 形成 π - π 相互作用. Canan 等考察了 PF-

* E-mail: youqidong@gmail.com

Received November 9, 2012; revised December 3, 2012; published online December 6, 2012.

Project supported by the National Science Foundation of Jiangsu Province (No. BK2011086).

江苏省自然科学基金(No. BK2011086)资助项目.

1367338 及其类似物与 PARP 的相互作用,发现 PF-1367338 及其类似物不仅具有酰胺键与残基 Gly863 (对应 2RD6 中 Gly202), Ser904(对应 2RD6 中 Ser243)的相互作用、吲哚环与 Tyr907(对应 2RD6 中 Tyr246)的相互作用(图 2), 还存在吲哚酮 2 位的苯环与 Tyr896 的 π - π 相互作用^[13], 从而提高了 PF-1367338 及其类似物对 PARP 的抑制活性. 本研究基于 Veliparib 类抑制剂的构效关系, 采取生物等排和分子融合策略(图 3), 设计、合成了 12 个苯并咪唑类 PARP 抑制剂(Scheme 1), 并进行了初步的体外活性筛选.

图 1 Veliparib 与受体结合模式
Figure 1 Binding modes of veliparib

图 2 PF-1367338 类似物与受体结合模式
Figure 2 Binding modes of PF-1367338 derivative

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

BRUKER AV-400 型核磁共振仪(CDCl₃ 或 DMSO-*d*₆ 为溶剂, TMS 为内标); Q-ToF micro 四极杆飞行时间串联质谱仪(HRMS); Agilent G1956B 单四极杆质谱仪; SP Explorer-48-72-96 全自动微波合成仪; 柱色谱及薄层色谱硅胶均为青岛海洋化工产品. 其他试剂均为市售化学纯或分析纯.

图 3 目标化合物的设计思路
Figure 3 Design of target compounds

1.2 2-溴-2-(2,2-二乙氧乙氧基)苯(2)的合成

将 2-溴苯酚(1) (5.14 g, 30 mmol)、DMF (45 mL)置于 100 mL 三颈瓶中, 加入溴代乙醛缩二乙醇(11.82 g, 60 mmol)和 K₂CO₃ (12.42 g, 90 mmol)于三颈瓶中, 加毕, 升温至回流, 反应 4 h. 冷却至室温, 将反应液浓缩, 碱化, 萃取, 柱层析[V(石油醚): V(乙酸乙酯)=100:1]分离得棕色油状物 8.30 g, 产率 95.7%.

1.3 7-溴苯并咪唑(3)的合成

将 2-溴-2-(2,2-二乙氧乙氧基)苯(2) (8.20 g, 28 mmol)和多聚磷酸(10 mL)置于 100 mL 三颈瓶中, 加入氯苯(60 mL), 升温至回流, 反应 4 h, 冷却至室温, 倾出上层, 残渣用二氯甲烷(20 mL×3)洗涤, 有机层合并, 经碱化、浓缩, 柱层析[V(石油醚): V(乙酸乙酯)=50:1]得棕色油状物 3.50 g, 产率 62.6%.

1.4 7-氟基苯并咪唑(4)的合成

将 7-溴苯并咪唑(3) (3.50 g, 17.7 mmol)和 CuCN (2.30 g, 25.7 mmol)置于 35 mL 微波管中, 加入 *N*-甲基吡咯烷酮(15 mL), 将微波管放入微波辐射腔内, 设定反应温度(180 °C)、反应时间(2 h)后启动微波炉, 加热至预设温度后开始自动计时. 反应结束后, 抽滤, 将滤液浓缩, 经柱层析[V(石油醚): V(乙酸乙酯)=40:1]分离, 得淡黄色固体 1.64 g, 产率 47%. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.89 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, ArH), 7.79 (d, *J*=2.4 Hz, 1H, ArH), 7.64 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, ArH), 7.35 (t, *J*=8.0 Hz, 1H, ArH), 6.90 (d, *J*=2.4 Hz, 1H, ArH); MS (ESI) *m/z*: 144.1 [M+H]⁺.

1.5 7-氟基苯并咪唑-2-硼酸(5)的合成

将 7-氟基苯并咪唑(4) (3.80 g, 26.5 mmol)和 THF (55 mL)置于 100 mL 三颈瓶中, 降温至 -78 °C, 滴加

Scheme 1

1.6 mol/L *n*-BuLi/THF 溶液(25 mL, 39.8 mmol), 并保持在 -78°C 反应 2 h, 加入 $\text{B}(\text{OMe})_3$ (6.50 mL, 53 mmol), 反应 2 h, 加入饱和 NH_4Cl (15 mL), 盐酸酸化至 $\text{pH}=2\sim3$, 乙酸乙酯萃取, 有机相经无水硫酸镁干燥后, 浓缩, 加石油醚得到固体 2.50 g, 产率: 50.36%. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 8.79 (brs, 2H, OH), 8.10 (dd, $J=8.0, 0.8$ Hz, 1H, ArH), 7.87 (dd, $J=8.0, 0.8$ Hz, 1H, ArH), 7.62 (s, 1H, ArH), 7.42 (t, $J=8.0$ Hz, 1H, ArH); MS (ESI) m/z : 188.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

1.6 2-[4-(甲氨基甲基)苯基]苯并呋喃-7-甲腈(**6a**)的合成

将 7-氰基苯并呋喃-2-硼酸(**5**) (100 mg, 0.53 mmol) 和 *N*-甲基-4-溴苄胺(106 mg, 0.64 mmol)置于 25 mL 三颈瓶中, 随后加入 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ (19 mg, 0.03 mmol)、 Na_2CO_3 (112 mg, 1.06 mmol)、甲苯(10 mL)、乙醇(2 mL)和水(0.50 mL), 加热至 82°C , 反应 4 h, 用饱和 NH_4Cl 调节 pH 值至中性, 分液, 水层用乙酸乙酯萃取, 有机相合并浓缩后, 柱层析[V (石油醚): V (乙酸乙酯)=20:1]分离, 得到固体 82 mg, 产率 59%. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 8.05 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, ArH), 8.03 (d, $J=8.0$ Hz, 2H, ArH), 7.86 (dd, $J=7.6, 1.2$ Hz, 1H, ArH), 7.69 (s, 1H, ArH), 7.63 (d, $J=7.6$ Hz, 2H, ArH), 7.47 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, ArH); MS (ESI) m/z : 263.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

1.7 2-[4-(甲氨基甲基)苯基]苯并呋喃-7-甲酰胺(**7a**)的合成

将 2-[4-(甲氨基甲基)苯基]苯并呋喃-7-甲腈(**6a**) (92

mg, 0.35 mmol)和甲醇/水(16 mL/4 mL)置于 100 mL 三颈瓶中, 随后依次加入 K_2CO_3 (266 mg, 1.93 mmol)和 30% H_2O_2 (0.67 mL), 室温反应 5 min 后, 反应液用饱和 NH_4Cl 调节 pH 值至中性, 分层, 水层用乙酸乙酯萃取, 柱层析[V (石油醚): V (乙酸乙酯)=2:1], 得到白色固体 47 mg, 产率 48%, HPLC: 95.59%. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 8.07 (d, $J=8.0$ Hz, 2H, ArH), 7.84 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, ArH), 7.81~7.82 (m, 2H, CONH_2), 7.75 (dd, $J=7.6, 1.2$ Hz, 1H, ArH), 7.64 (d, $J=8.0$ Hz, 2H, ArH), 7.59 (s, 1H, ArH), 7.36 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, ArH), 4.10 (s, 2H, NCH_2Ph), 2.53 (s, 3H, NCH_3); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 165.1, 155.2, 151.2, 133.3, 130.5, 129.7, 129.6, 125.3, 125.2, 124.3, 123.3, 119.0, 102.6, 50.9, 32.1. HRMS calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 281.1285, found 281.1286.

1.8 5-氟-2-[4-(甲氨基甲基)苯基]苯并呋喃-7-甲酰胺(**7b**)的合成

7b 的合成方法同 **7a**, 白色固体, 收率 24%, HPLC: 98.42%. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 8.05 (d, $J=8.0$ Hz, 2H, ArH), 7.97 (d, $J=17.2$ Hz, 2H, CONH_2), 7.71 (dd, $J=8.4, 2.8$ Hz, 1H, ArH), 7.65 (d, $J=8.0$ Hz, 2H, ArH), 7.59 (s, 1H, ArH), 7.50 (dd, $J=10, 2.8$ Hz, 1H, ArH), 4.04 (s, 2H, NCH_2Ph), 2.48 (s, 3H, NCH_3); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 164.5, 157.7, 157.5, 148.1, 136.0, 131.6, 130.6, 129.3, 125.8, 120.5, 112.3, 110.1, 103.6, 51.7, 33.3. HRMS calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{FN}_2\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 299.1190, found 299.1194.

1.9 2-[3-氟-4-(甲氨基甲基)苯基]苯并呋喃-7-甲酰胺(7c)的合成

7c 的合成方法同 **7a**, 淡黄色固体, 产率 86%, HPLC: 98.90%. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 8.00 (dd, $J=7.6, 0.8$ Hz, 1H, ArH), 7.90 (dd, $J=7.6, 0.8$ Hz, 1H, ArH), 7.80~7.86 (m, 2H, ArH), 7.66~7.70 (m, 2H, ArH), 7.47 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, ArH), 3.81 (s, 2H, NCH_2Ph), 2.34 (s, 3H, NCH_3); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 162.6, 160.1, 154.8, 152.7, 132.6, 131.5, 130.8, 127.0, 125.8, 124.0, 122.3, 121.3, 112.1, 110.2, 103.8, 46.6, 34.5; MS (ESI) m/z : 299.0 $[\text{M} + \text{H}]^+$. HRMS calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{FN}_2\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 299.1190, found 299.1189.

1.10 2-[4-(二甲氨基甲基)苯基]苯并呋喃-7-甲酰胺(7d)的合成

7d 的合成方法同 **7a**, 白色固体, 产率 45%, HPLC: 97.42%. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 7.96 (d, $J=7.2$ Hz, 2H, ArH), 7.78~7.80 (m, 3H, $\text{CONH}_2 + \text{ArH}$), 7.74 (d, $J=7.2$ Hz, 1H, ArH), 7.50 (s, 1H, ArH), 7.44 (d, $J=7.2$ Hz, 2H, ArH), 7.35 (t, $J=7.2$ Hz, 1H, ArH), 3.46 (s, 2H, NCH_2Ph), 2.18 [s, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$]; ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 165.7, 156.3, 151.6, 140.5, 130.3, 129.7, 129.8, 128.5, 125.5, 124.6, 123.7, 119.4, 102.1, 63.5, 45.4. HRMS calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 295.1441, found 295.1439.

1.11 2-[4-(二甲氨基酰基)苯基]苯并呋喃-7-甲酰胺(7e)的合成

7e 的合成方法同 **7a**, 类白色固体, 产率 52%, HPLC: 97.09%. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 8.12 (d, $J=8.0$ Hz, 2H, ArH), 7.89~7.92 (m, 3H, $\text{CONH}_2 + \text{ArH}$), 7.83 (dd, $J=7.6, 1.2$ Hz, 1H, ArH), 7.69 (s, 1H, ArH), 7.63 (d, $J=8.0$ Hz, 2H, ArH), 7.43 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, ArH), 3.07 (s, 3H, NCH_3), 3.02 (s, 3H, NCH_3); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 169.5, 165.1, 155.1, 151.3, 136.8, 130.1, 129.7, 127.7, 125.4, 124.9, 124.4, 123.3, 119.1, 102.9, 38.9. HRMS calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 309.1234, found 309.1235.

1.12 2-[4-(吡咯烷-1-基甲酰基)苯基]苯并呋喃-7-甲酰胺(7f)的合成

7f 的合成方法同 **7a**, 白色固体, 产率 66%, HPLC: 98.00%. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 8.13 (d, $J=8.4$ Hz, 2H, ArH), 7.89~7.92 (m, 3H, $\text{CONH}_2 + \text{ArH}$), 7.83 (dd, $J=7.6, 1.2$ Hz, 1H, ArH), 7.74 (d, $J=8.4$ Hz, 2H, ArH), 7.69 (s, 1H, ArH), 7.44 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, ArH), 3.55 (t, $J=6.4$ Hz, 2H, NCH_2), 3.51 (t, $J=6.4$ Hz, 2H,

NCH_2), 1.93 (m, 4H, CH_2CH_2); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 167.6, 165.1, 155.0, 151.3, 137.4, 131.5, 130.3, 129.7, 128.9, 127.8, 125.4, 124.8, 124.4, 123.3, 119.1, 103.0, 48.8, 45.9, 25.9, 23.9. HRMS calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 335.1390, found 335.1391.

1.13 2-[(4-咪唑-1-基)苯基]苯并呋喃-7-甲酰胺(7g)的合成

7g 的合成方法同 **7a**, 白色固体, 产率 61%, HPLC: 96.41%. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 8.39 (s, 1H, ArH), 8.16 (d, $J=8.4$ Hz, 2H, ArH), 7.83~7.87 (m, 6H, $\text{CONH}_2 + \text{ArH}$), 7.76 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, ArH), 7.62 (s, 1H, ArH), 7.36 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, ArH), 7.15 (s, 1H, ArH); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 165.6, 155.4, 151.7, 137.6, 136.0, 130.6, 130.3, 128.2, 127.1, 125.7, 124.7, 124.4, 123.8, 121.0, 119.5, 118.3, 102.9. HRMS calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 304.1081, found 304.1084.

1.14 2-(4-(四氢吡咯-1-基)苯基)苯并呋喃-7-甲酰胺(7h)的合成

7h 的合成方法同 **7a**, 白色固体, 产率 74%, HPLC: 96.50%. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 7.78~7.80 (m, 3H, $\text{CONH}_2 + \text{ArH}$), 7.70 (d, $J=7.6$ Hz, 2H, ArH), 7.63 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, ArH), 7.28 (t, $J=8.0$ Hz, 1H, ArH), 7.15 (s, 1H, ArH), 6.64 (d, $J=8.0$ Hz, 2H, ArH), 3.30~3.33 (m, 4H, NCH_2), 1.98 (t, $J=6.0$ Hz, 4H, CH_2); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 165.3, 157.3, 150.7, 148.1, 130.5, 126.4, 123.6, 123.1, 122.9, 118.4, 115.9, 111.7, 97.6, 47.2, 28.9. HRMS calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 307.1441, found 307.1441.

1.15 2-[4-(乙基氨基)苯基]苯并呋喃-7-甲酰胺(7i)的合成

7i 的合成方法同 **7a**, 白色固体, 产率 83%, HPLC: 99.50%. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 7.76 (s, 1H, CONH_2), 7.70~7.72 (m, 4H, $\text{CONH}_2 + \text{ArH}$), 7.63 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, ArH), 7.29 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, ArH), 7.11 (s, 1H, ArH), 6.67 (d, $J=8.4$ Hz, 2H, ArH), 6.08 (t, $J=5.2$ Hz, 1H), 3.10 (m, 2H, CH_2), 1.19 (t, $J=7.2$ Hz, 3H, CH_3); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 165.8, 157.9, 151.2, 150.4, 131.0, 126.9, 124.1, 123.7, 123.3, 118.8, 116.8, 112.3, 97.9, 37.6, 14.7. HRMS calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 281.1285, found 281.1283.

1.16 2-(4-羟基苯基)苯并呋喃-7-甲酰胺(7j)的合成

7j 的合成方法同 **7a**, 白色固体, 产率 54%. HPLC: 96.94%. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 9.92 (s, 1H, OH), 7.84 (d, $J=8.0$ Hz, 2H, ArH), 7.74~7.80 (m, 3H,

CONH₂+ArH), 7.67 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, ArH), 7.31 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, ArH), 7.26 (s, 1H, ArH), 6.90 (d, $J=8.0$ Hz, 2H, ArH); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 165.2, 158.5, 156.5, 150.9, 130.2, 126.8, 124.3, 123.6, 122.9, 120.4, 118.6, 115.8, 99.3. HRMS calcd for C₁₅H₁₂NO₃ [M+H]⁺ 254.0812, found 254.0809.

1.17 2-(4-甲氧基苯基)苯并呋喃-7-甲酰胺(7k)的合成

7k 的合成方法同 **7a**, 白色固体, 产率 78%, HPLC: 97.93%. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.96 (d, $J=8.4$ Hz, 2H, ArH), 7.76~7.78 (m, 3H, CONH₂+ArH), 7.69 (d, 1H, $J=7.6$ Hz, ArH), 7.37 (s, 1H, ArH), 7.33 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, ArH), 7.10 (d, $J=8.0$ Hz, 2H, ArH), 3.83 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 165.2, 160.0, 155.9, 150.9, 130.1, 126.7, 124.5, 123.8, 123.1, 121.9, 118.7, 114.5, 100.1, 55.3. HRMS calcd for C₁₆H₁₄NO₃ [M+H]⁺ 268.0968, found 268.0969.

1.18 2-[4-(吡啶-4-基)苯基]苯并呋喃-7-甲酰胺(7l)的合成

7l 的合成方法同 **7a**, 白色固体, 产率 79%, HPLC: 97.87%. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 8.69 (d, $J=4.8$ Hz, 2H, ArH), 8.17 (d, $J=8.4$ Hz, 2H, ArH), 8.01 (d, $J=8.4$ Hz, 2H, ArH), 7.86 (m, 5H, ArH+CONH₂), 7.75 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, ArH), 7.68 (s, 1H, ArH), 7.38 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, ArH); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 165.1, 155.1, 151.3, 150.3, 146.1, 137.4, 129.9, 129.7, 125.8, 125.4, 124.3, 123.3, 121.0, 119.1, 102.9. HRMS calcd for C₂₀H₁₅N₂O₂ [M+H]⁺ 315.1128, found 315.1128.

1.23 化合物的生物活性测试

PARP 是一种转录后修饰酶, 能够依赖 NAD 催化自身及其他包括 histone 在内核蛋白 poly(ADP-ribose), 本方法通过测定 PARP 对底物 histone 的催化程度, 测定化合物的 PARP 抑制作用。

实验方法: 水化(buffer) 50 μ L/well, 30 min; 加入待测化合物, 10 μ L/well; positive 与 negative 孔加入 10 μ L/well buffer; 加入 PARP (0.5 unit/15 μ L), 室温 10 min; 加入 cocktail 和 DNA (25 μ L/well), 室温 60 min; 加入 strep-HRP 50 μ L/well, 室温 60 min; PPST 洗涤 3 次, PBS 洗涤 3 次; 于 450 nmol·L⁻¹ 处测定 OD 值。

药物抑制率的计算: 抑制率=(对照组 OD-给药组 OD)/(对照组 OD-空白组 OD)×100%

化合物的浓度和抑制剂通过 Prism 5.0 (GraphPad 的软件)统计分析, 基于此计算化合物的 IC₅₀ 值(达到抑制率最大值的 50%所需的化合物的浓度)。

2 结果与讨论

对所合成的苯并呋喃类化合物开展了体外 PARP 抑制活性的筛选, 结果显示 12 个化合物对 PARP 均表现出一定的抑制活性, 但不同类型的取代基对活性影响较大。其中化合物 **7a** 和 **7c** 对 PARP 抑制的 IC₅₀ 分别为 37.4 和 20.5 nmol·L⁻¹, 与阳性药 Veliparib 相当(IC₅₀ 为 20.3 nmol·L⁻¹)。初步的构效关系分析表明: (1)取代基 R¹: 氟取代氢(**7a** vs. **7b**)时, 抑制活性明显下降, 可能是由于氟原子具有较强的电性效应, 降低了苯并呋喃环的电性; (2)取代基 R²: 氟取代氢(**7a** vs. **7c**)时, 抑制活性略有提高; (3)取代基 R³: 甲氨基甲基类化合物(**7a**)活性最优, 但当仲氨基上的氮氢被甲基取代时(**7a** vs. **7d**), 活性明显下降, 可能是由于氢键供体的缺失(图 4, 图 5); 以羰基替代亚甲基的酰胺取代类化合物(**7e**, **7f**)活性基本保持; 杂原子连接(O/N)类化合物(**7g**~**7k**)活性明显减弱, 但化合物 **7g** (R³ 为 1-咪唑基)表现出较强的抑制活性(IC₅₀ 为 194.8 nmol·L⁻¹); 吡啶取代类化合物(**7l**)仅表现出较弱的抑制活性(IC₅₀ 为 10000 nmol·L⁻¹)。

表 1 不同化合物对 PARP 酶的半数抑制浓度[IC₅₀/(μ mol·L⁻¹)]

Table 1 Half-inhibitory concentration of different compounds[IC₅₀/(μ mol·L⁻¹)]

Compd.	R ¹	R ²	R ³	IC ₅₀
Veliparib	—	—	—	20.3
7a	H	H		37.4
7b	F	H		718.3
7c	H	F		20.5
7d	H	H		301.8
7e	H	H		379.2
7f	H	H		360.3

续表

Compd.	R ¹	R ²	R ³	IC ₅₀
7g	H	H		194.8
7h	H	H		2000
7i	H	H		2000
7j	H	H		700
7k	H	H		8196
7l	H	H		10000

图4 7a与受体结合模式图5
Figure 4 Binding modes of 7a

本研究设计并合成了 12 个具有苯并咪唑骨架特征的 PARP 抑制剂, 并进行了体外 PARP 酶活性测试筛选. 初步确立了此类化合物的 PARP 酶活性构效关系, 获得

了两个与阳性药(Veliparib)活性相当的化合物(7a 和 7c), 进一步的优化正在进行中.

图5 7d与受体结合模式
Figure 5 Binding modes of 7d

References

- [1] Yap, T. A.; Sandhu, K.; Carden, C. P. *Ca-Cancer J. Clin.* **2011**, *61*, 31.
- [2] Ferraris, D. V. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 4561.
- [3] Jagtap, P.; Szabo, C. *Nat. Rev. Drug Discovery* **2005**, *4*, 421.
- [4] Schreiber, V.; Dantzer, F.; Ame, C. *J. Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2006**, *7*, 517.
- [5] Opar, A. *Nat. Rev. Drug Discovery* **2009**, *8*, 437.
- [6] Hutchinson, L. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* **2010**, *7*, 549.
- [7] Tutt, A.; Robson, M.; Garber, J. *Lancet* **2010**, *376*, 235.
- [8] Timothy, A. Y.; Craig, P. C.; Stan, B. K. *Nat. Rev. Cancer* **2009**, *9*, 167.
- [9] Audeh, M. W.; Carmichael, J.; Penson, R. *Lancet* **2010**, *376*, 245.
- [10] Gien, L. T.; Mackay, H. J. *Drugs Future* **2010**, *35*, 481.
- [11] Ellisen, L. W. *Cancer Cell* **2011**, *19*, 165.
- [12] Zhang, K.-H.; Zhang, L.-R.; Zhang, L.-H. *Chin. Pharm. J.* **2010**, *45*, 1689 (in Chinese).
(张可辉, 张亮仁, 张礼和, 中国药学杂志, **2010**, *45*, 1689.)
- [13] Canan, K. S.; Thoresen, L. H.; Tikhe, J. G. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 4961.

(Li, L.; Fan, Y.)