



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115381827 A

(43) 申请公布日 2022. 11. 25

(21) 申请号 202211135537.X

C07D 413/12 (2006.01)

(22) 申请日 2022.09.19

C07D 417/12 (2006.01)

C07D 417/14 (2006.01)

(71) 申请人 皮摩尔新药(辽宁)有限公司

地址 110168 辽宁省沈阳市浑南区文溯街
6-4号2-22-2

(72) 发明人 王朋 徐静

(74) 专利代理机构 沈阳东大知识产权代理有限公司 21109

专利代理师 李珉

(51) Int. Cl.

A61K 31/496 (2006.01)

A61K 31/454 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

A61P 7/02 (2006.01)

权利要求书1页 说明书10页 附图7页

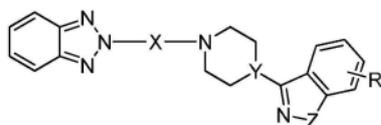
(54) 发明名称

苯骈三氮唑烷基衍生物在制备治疗或预防
心血管疾病的药物中的应用

(57) 摘要

苯骈三氮唑烷基衍生物在制备治疗或预防
心血管疾病的药物中的应用,属于医药技术领域,具体涉及如式(I)所示的2H-苯骈三氮唑烷基
衍生物及其药学上可接受的盐在制备治疗或预
防心血管疾病的药物中的应用。经体内外试验研
究,该类化合物及其药学上可接受的盐具有非常
有用的药学性质及良好的耐受性,以盐酸沙格雷
酯和替卡格雷为对照药物,采用微量板比浊法对
7个化合物进行体外ADP诱导和胶原诱导的抗血
小板聚集活性,结果显示在多个剂量下,本发明
化合物抑制血小板聚集活性均优于盐酸沙格雷
酯和替卡格雷,显示强效活性,可用于制备血小
板激活异常相关性疾病的治疗药物。

CN 115381827 A



(I)

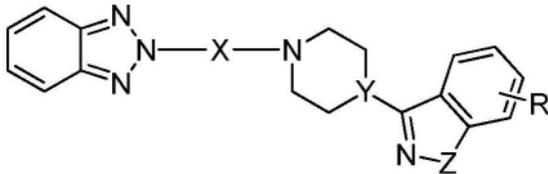
1. 一种苯骈三氮唑烷基衍生物作为活性成分在制备治疗或预防心血管疾病药物中的应用。

2. 一种苯骈三氮唑烷基衍生物作为活性成分在制备治疗或预防血小板聚集疾病药物中的应用。

3. 根据权利要求1所述的应用,其特征在于,所述心血管疾病为心肌梗死、血栓形成中风、暂时性局部缺血发作和/或外周血管疾病。

4. 根据权利要求1所述的应用,其特征在于,所述心血管疾病为不稳定或稳定心绞痛。

5. 根据权利要求1或2所述的应用,其特征在于,所述苯骈三氮唑烷基衍生物结构式为:



(I)

其中:

X代表: C_3 - C_4 的烷基或 C_3 - C_4 的烷氧基;

Y代表:CH或N;

Z代表:O或S;

R代表:氢原子可以任选被1-3个卤原子取代,所述卤族元素选自氟、氯、溴。

6. 根据权利要求5所述的应用,其特征在于,所述苯骈三氮唑烷基衍生物为如下所示化合物种任一种:

- (1) 1-(4-(4-苯并异噁唑基)哌嗪-1-基)丁基-2H-苯骈三氮唑、
- (2) 1-(4-(4-苯并异噻唑基)哌嗪-1-基)丁基-2H-苯骈三氮唑、
- (3) 1-(3-(4-苯并异噻唑基)哌嗪-1-基)丙基-2H-苯骈三氮唑、
- (4) 1-(4-(4-(3-(6-氟苯并异噁唑基))哌啶-1-基)丁基-2H-苯骈三氮唑、
- (5) 1-(3-(4-(3-(6-氟苯并异噁唑基))哌啶-1-基)丙基-2H-苯骈三氮唑、
- (6) 1-(3-(4-(3-(6-氟苯并异噁唑基))哌嗪-1-基)丙基-2H-苯骈三氮唑、
- (7) 1-(4-(4-(3-(6-氟苯并异噁唑基))哌嗪-1-基)丁基-2H-苯骈三氮唑。

7. 一种药物组合物,其特征在于,包含权利要求5所述苯骈三氮唑烷基衍生物,应用于制备治疗或预防心血管疾病的药物中。

8. 一种药物组合物,其特征在于,包含权利要求5所述苯骈三氮唑烷基衍生物,应用于制备治疗或预防血小板聚集疾病的药物中。

9. 根据权利要求7所述的药物组合物,其特征在于,所述心血管疾病为心肌梗死、血栓形成中风、暂时性局部缺血发作和/或外周血管疾病。

10. 根据权利要求7所述的药物组合物,其特征在于,所述心血管疾病为不稳定或稳定心绞痛。

苯并三氮唑烷基衍生物在制备治疗或预防心血管疾病的药物中的应用

技术领域

[0001] 本发明属于医药技术领域,具体涉及一种苯并三氮唑烷基衍生物在制备治疗或预防心血管疾病的药物中的应用。

背景技术

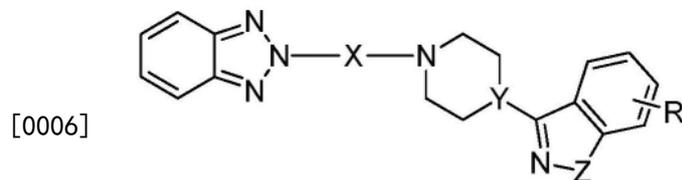
[0002] 心血管疾病是危害人类健康的第一杀手。心血管疾病中,仅仅是缺血性心脏病的死亡人数就超过全部肿瘤的死亡人数。急性冠脉综合征、缺血性脑卒中的共同病理学基础是血小板异常激活引起的动脉血栓形成,抗血小板治疗效果肯定。动脉粥样斑块破裂是血小板异常激活的常见诱因,发病3-6小时支架置入具有立竿见影的效果。支架作为血管内异物,本身有激活血小板、诱发血栓形成的风险。置入支架后,为防止支架内血栓形成,需长期甚至终身服用抗血小板药,抗血小板药临床需求巨大。

[0003] 临床上现有抗血小板药物主要有环加氧酶抑制剂(如阿司匹林)、P2Y₁₂受体拮抗剂(如氯吡格雷、普拉格雷)、磷酸二酯酶抑制剂(如西洛他唑)、纤维蛋白原受体拮抗剂、凝血酶受体PAR1拮抗剂等五大类。但上述五类抗血小板药临床也存在不足:口服抗血小板药物阿司匹林、氯吡格雷起效缓慢;多数口服抗血小板药物如阿司匹林、氯吡格雷抗血小板作用温和、抗血小板治疗不能完全防止临床血栓事件的发生。此外,患者存在“阿司匹林抵抗”、“氯吡格雷抵抗”,反应明显者容易出现出血副作用,因此研究新的抗血小板药具有临床意义。

发明内容

[0004] 本发明的目的是公开一种2H-苯并三氮唑烷基衍生物在制备治疗心血管药物中的用途。

[0005] 本发明公开的2H-苯并三氮唑烷基衍生物为式(I)所示的化合物及其药学上可接受的盐,所述的盐包括盐酸盐、溴氢酸盐、硫酸盐、三氟醋酸盐、甲磺酸盐、酒石酸盐、苹果酸盐、枸橼酸盐、琥珀酸盐,其盐可含有0.5-3分子的结晶水:



(I)

[0007] 其中:

[0008] X代表:C₃-C₄的烷基或C₃-C₄的烷氧基;

[0009] Y代表:CH或N;

[0010] Z代表:O或S;

[0011] R代表:氢原子可以任选被1-3个卤原子取代,所述卤族元素选自氟、氯、溴。

[0012] 进一步地,所述的2H-苯并三氮唑烷基衍生物为如下所示化合物中任一种:

[0013] (1) 1-(4-(4-苯并异噁唑基)哌嗪-1-基)丁基-2H-苯并三氮唑、

[0014] (2) 1-(4-(4-苯并异噻唑基)哌嗪-1-基)丁基-2H-苯并三氮唑、

[0015] (3) 1-(3-(4-苯并异噻唑基)哌嗪-1-基)丙基-2H-苯并三氮唑、

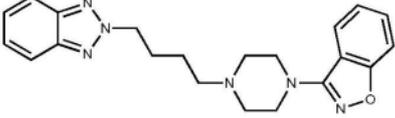
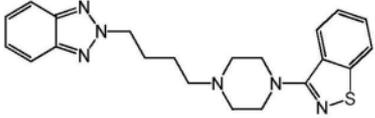
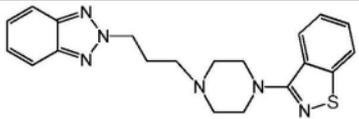
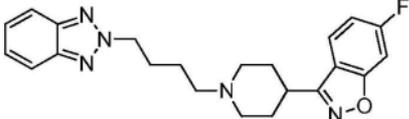
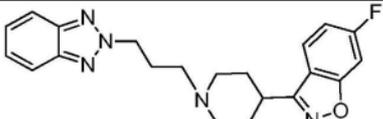
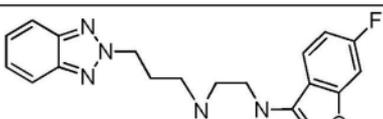
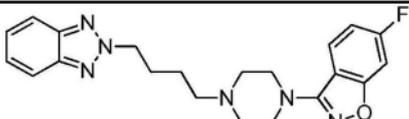
[0016] (4) 1-(4-(4-(3-(6-氟苯并异噁唑基))哌啶-1-基)丁基-2H-苯并三氮唑、

[0017] (5) 1-(3-(4-(3-(6-氟苯并异噁唑基))哌啶-1-基)丙基-2H-苯并三氮唑、

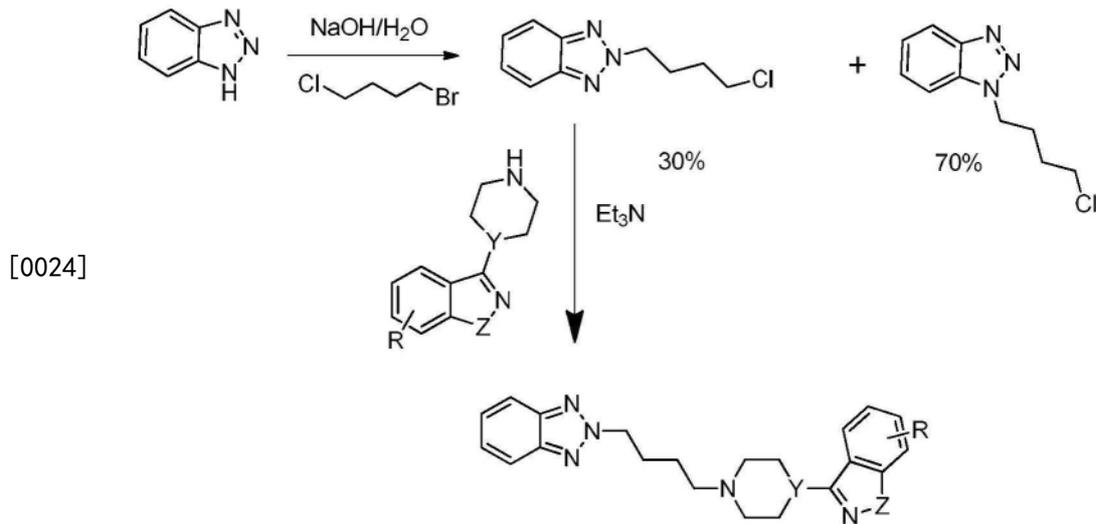
[0018] (6) 1-(3-(4-(3-(6-氟苯并异噁唑基))哌嗪-1-基)丙基-2H-苯并三氮唑、

[0019] (7) 1-(4-(4-(3-(6-氟苯并异噁唑基))哌嗪-1-基)丁基-2H-苯并三氮唑

[0020] 具体化学结构式如下表所示:

编号	化学结构
(1)	
(2)	
(3)	
[0021] (4)	
(5)	
(6)	
[0022] (7)	

[0023] 合成路线通式:



[0025] 其中,X、Y、Z和R如上所述定义。

[0026] 以化合物(1)为例,以取代1H-苯并三氮唑为原料,在氢氧化钠水溶液中,与1-溴-4-氯丁烷进行缩合反应,制备1-(4-氯丁基)-1H-苯并三氮唑(收率约70%)和1-(4-氯丁基)-2H-苯并三氮唑(收率约30%),经硅胶柱层析纯化得到1-(4-氯丁基)-2H-苯并三氮唑(纯度>95%);再与苯并异噁唑啉嗪进行取代反应,制备式(I)所示化合物,最后经酸化成盐制备相应的盐。采用上述方法可制备化合物(2)~(7)及其盐。

[0027] 本发明的式(I)所示化合物及其药学上可接受的盐,可以组合物的形式通过口服、注射等方式施用于需要这种治疗的患者,具体剂量要可根据临床实验结果及患者的病情、年龄等由医师决定。

[0028] 一种药物组合物包含所述的2H-苯并三氮唑烷基衍生物中任一种或多种,或所述衍生物在药学上可接受的盐及药学上可接受的载体;所述及的载体是指药学领域常规的载体,例如:稀释剂、赋形剂如水;粘合剂如纤维素衍生物、明胶、聚乙烯吡咯烷酮;填充剂如淀粉;崩裂剂如碳酸钙、碳酸氢钠;润滑剂如硬脂酸钙或硬脂酸镁。另外,还可以在所述药物组合物中加入其他辅助剂如香味剂和甜味剂。所述药物组合物在用于口服时,可将其制备成常规的固体制剂如片剂、粉剂或胶囊;用于注射时,可将其制备成注射液。

[0029] 本发明的所述药物组合物的各种剂型依据本领域常规的方法进行制备,其中活性成分的含量为0.1%~99.5%(重量比)。

[0030] 本发明所述的2H-苯并三氮唑烷基衍生物或包含所述衍生物的药物组合物在制备治疗或预防心血管疾病的药物中的应用。

[0031] 本发明所述的2H-苯并三氮唑烷基衍生物或包含所述衍生物的药物组合物在制备治疗或预防血小板聚集疾病药物中的应用。

[0032] 本发明所述的2H-苯并三氮唑烷基衍生物或包含所述衍生物的药物组合物在制备治疗或预防心肌梗死、血栓形成中风、暂时性局部缺血发作和/或外周血管疾病药物中的应用。

[0033] 本发明所述的2H-苯并三氮唑烷基衍生物或包含所述衍生物的药物组合物在制备治疗或预防不稳定或稳定心绞痛药物中的应用。

[0034] 本发明的有益效果:

[0035] 本发明的式(I)所示2H-苯并三氮唑烷基衍生物及其药学上可接受的盐具有非常

有用的药理学性质及良好的耐受性,以盐酸沙格雷酯和替卡格雷为对照药物,采用微量板比浊法对7个化合物进行体外ADP诱导和胶原诱导的抗血小板聚集活性,结果显示在多个剂量下,本发明化合物抑制血小板聚集活性均优于盐酸沙格雷酯和替卡格雷,显示强效活性,可用于制备血小板激活异常相关性疾病的治疗药物。

[0036] 本发明涉及的式(I)所示2H-苯并三氮唑烷基衍生物和其药学上可接受的盐,为一类全新结构的2H-苯并三氮唑烷基化合物。经体内外试验研究,该类化合物的抗血小板聚集活性测试活性明显强于在售药物盐酸沙格雷酯。

附图说明

- [0037] 图1化合物1的核磁共振谱图 ($^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$) ;
 [0038] 图2化合物2的核磁共振谱图 ($^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$) ;
 [0039] 图3化合物3的核磁共振谱图 ($^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$) ;
 [0040] 图4化合物4的核磁共振谱图 ($^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$) ;
 [0041] 图5化合物5的核磁共振谱图 ($^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$) ;
 [0042] 图6化合物6的核磁共振谱图 ($^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$) ;
 [0043] 图7化合物7的核磁共振谱图 ($^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$) 。

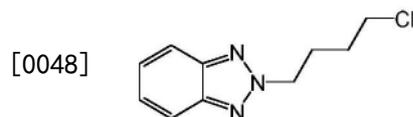
具体实施方式

[0044] 试剂和溶剂购自Sigma-Aldrich或Fisher Scientific,无需进一步纯化即可使用。所有反应进行薄层色谱分析(硅胶GF-254薄层板)和LC-MS监测。柱层析纯化使用300-400目硅胶(青岛海洋化工有限公司)。 ^1H 和 ^{13}C NMR光谱记录在Bruker AV-400核磁共振仪测定,以TMS作为内标。通过LC-MS分析确定的化合物纯度大于95%,并同时用于记录化合物的MS光谱。LC-MS分析使用Shimadzu LCMS-2020。

[0045] 实施例1-7制备的2H-苯并三氮唑烷基衍生物或其盐的核磁共振谱图如图1-7所示。

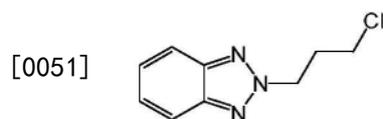
[0046] 合成通法:

[0047] (1) 关键中间体:1-(4-氯丁基)-2H-苯并三氮唑(A1)的制备



[0049] 苯并三氮唑30.0g (251mmol)、1-溴-4-氯丁烷39.3g (229mmol)、四丁基溴化铵1.85g (6mmol)、氢氧化钠水溶液240g (20%)置于500mL单口瓶中,充分搅拌至物料完全溶解。升温至60℃,搅拌反应2h,TLC监控反应进程。反应完毕后,二氯甲烷240mL×3萃取,无水硫酸钠干燥后减压蒸馏除去溶剂,经硅胶层析柱分离纯化得淡黄色油状液体10.23g(产率19.44%)。

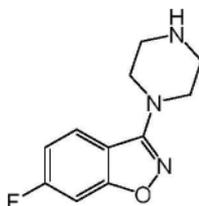
[0050] (2) 关键中间体:1-(3-氯丙基)-2H-苯并三氮唑(A2)的制备



[0052] 苯骈三氮唑36.0g (302mmol)、1-溴-3-氯丁烷47.5g (302mmol)、四丁基溴化铵2.22g (6.8mmol)、氢氧化钠水溶液240g (20%)置于500mL单口瓶中,充分搅拌至物料完全溶解。升温至60℃,搅拌反应2h,TLC监控反应进程。反应完毕后,二氯甲烷240mL×3萃取,无水硫酸钠干燥后减压蒸馏除去溶剂,经硅胶层析柱分离纯化得淡黄色油状液体11.71g (产率19.82%)。

[0053] (3) 6-氟-3-(哌嗪-1-基)苯并异噁唑(A3)的制备

[0054]



[0055] 将2-氯-4-氟苯甲醛1.58g (10mmol)、盐酸羟胺0.84g (10mmol),乙酸钠1.64g (20mmol)、30mL乙醇和10mL水置于100mL单口瓶中反应2h,TLC监测反应进程。反应完毕后,减压蒸馏除去乙醇,抽滤,滤饼经纯化水洗涤后得到(E)-2-氯-4-氟-苯甲醛肟1.65g (产率95%)。将(E)-2-氯-4-氟-苯甲醛肟1.73g (10mmol)、N,N-二甲基甲酰胺15mL置于50mL单口瓶中,加入N-氯代丁二酰亚胺1.47g (11mmol),常温反应1h,TLC监测反应进程。反应完毕后,将反应液滴入300mL纯化水中,搅拌,抽滤后得到(Z)-2-氯-4-氟-氯代羟亚胺苄1.85g (产率89%)。将(Z)-2-氯-4-氟-氯代羟亚胺苄1.04g (5mmol)、无水哌嗪3.44g (40mmol)、三乙胺1.01g (10mmol)溶于30mL二氯甲烷于100mL单口瓶中,反应2h,TLC检测反应进程。反应完毕后,搅拌下向反应液加入硫酸铜饱和溶液至不再产生蓝色絮状沉淀,抽滤,饱和食盐水洗涤,二氯甲烷萃取,蒸除溶剂得到(Z)-(2-氯代-4-氟苯基)-1-哌嗪基甲酮肟0.79g (产率61%)。将(Z)-(2-氯代-4-氟苯基)-1-哌嗪基甲酮肟0.65g (5mmol)、叔丁醇钾0.56g (5mmol)、1,4-二氧六环10mL置于50mL单口瓶中100℃反应12h,TLC监测反应进程。反应完毕后,减压蒸馏除去溶剂,得到黄色油状物。经硅胶层析柱分离纯化得到6-氟-3-(哌嗪-1-基)苯并异噁唑白色粉末状固体0.282mg (产率51%)。

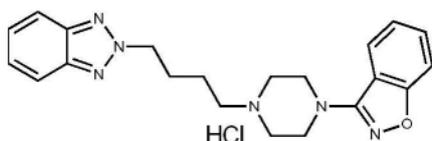
[0056] (4) 目标化合物的制备通法(以化合物(3)为例)

[0057] 将3-(1-哌嗪基)-1,2-苯并异噁唑1.88g,三乙胺(3.3g)、碘化钾(1.4g)、乙腈15mL加入到50mL单口瓶中,充分搅拌至原料完全溶解。加入中间体A2(1.8g)并升温至81℃回流反应18h。经TLC检测反应结束后,将反应液冷却至室温,抽滤,滤液经减压蒸馏除去溶剂得到黄色油状物。饱和食盐水洗涤,二氯甲烷萃取,减压蒸馏除去溶剂得到油状物,油状物用无水乙醇溶解,加盐酸乙醇溶液调节pH=1,滴毕,室温搅拌1小时,析出固体,过滤。滤饼经无水乙醇重结晶得到终产物。

[0058] 实施例1

[0059] 1-(4-(4-苯并异噁唑基)哌嗪-1-基)丁基-2H-苯骈三氮唑盐酸盐的制备

[0060]

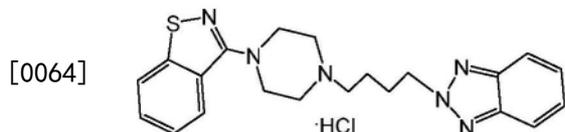


[0061] 合成遵循制备通法。经无水乙醇重结晶,得到1.12g白色粉末状固体(产率42%)。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ8.04-7.85 (m, 3H), 7.58 (d, J=3.9Hz, 2H), 7.51-7.40 (m, 2H),

7.29 (dt, $J=8.0, 4.0\text{Hz}$, 1H), 4.80 (t, $J=6.9\text{Hz}$, 2H), 3.46 (t, $J=4.9\text{Hz}$, 4H), 2.51 (dq, $J=5.6, 3.5, 2.6\text{Hz}$, 4H), 2.37 (t, $J=7.1\text{Hz}$, 2H), 2.17-1.98 (m, 2H), 1.47 (p, $J=7.3\text{Hz}$, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 163.64, 161.29, 144.10, 130.39, 126.68, 123.42, 123.10, 118.24, 116.04, 110.53, 57.44, 56.32, 52.48, 48.15, 27.84, 23.57; HR-MS (ESI) m/z : calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{N}_6\text{O}[\text{M}+\text{H}]^+$ 377.2084 found 377.2089.

[0062] 实施例2

[0063] 1-(4-(4-苯并异噻唑基)哌嗪-1-基)丁基-2H-苯并三氮唑盐酸盐的制备



[0065] 合成遵循制备通法。经无水乙醇重结晶,得到1.64g白色粉末状固体(产率49%)。 ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.62 (s, 1H), 8.12 (dd, $J=11.4, 8.2\text{Hz}$, 2H), 7.94 (dd, $J=6.6, 3.1\text{Hz}$, 2H), 7.63-7.54 (m, 1H), 7.50-7.37 (m, 3H), 4.84 (t, $J=6.8\text{Hz}$, 2H), 4.06 (d, $J=13.6\text{Hz}$, 2H), 3.57 (d, $J=12.0\text{Hz}$, 2H), 3.50-3.39 (m, 2H), 3.32-3.19 (m, 4H), 2.19-2.06 (m, 2H), 1.77 (tt, $J=6.6, 2.5\text{Hz}$, 2H). ^{13}C NMR (100MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 162.11, 152.06, 143.63, 128.09, 126.89, 126.31, 124.58, 123.96, 121.14, 117.75, 55.27, 54.86, 50.57, 46.36, 26.50, 20.43. LC-MS (ESI) m/z : 393.15 $[\text{M}+1]^+$.

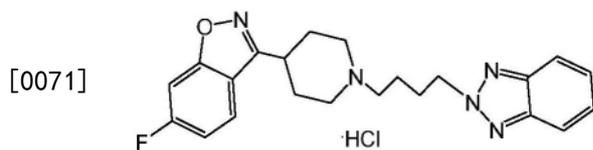
[0066] 实施例3

[0067] 1-(3-(4-苯并异噻唑基)哌嗪-1-基)丙基-2H-苯并三氮唑盐酸盐的制备

[0068] 合成遵循制备通法。经无水乙醇重结晶,得到1.21g白色粉末状固体(产率44%)。 ^1H NMR (300MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 11.66 (s, 1H), 8.17-8.05 (m, 3H), 8.01 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 7.67-7.55 (m, 2H), 7.45 (q, $J=7.7\text{Hz}$, 2H), 4.91 (t, $J=6.9\text{Hz}$, 2H), 4.05 (d, $J=13.6\text{Hz}$, 2H), 3.58 (q, $J=12.9, 11.8\text{Hz}$, 4H), 3.29 (d, $J=10.3\text{Hz}$, 4H), 2.67-2.33 (m, 2H); ^{13}C NMR (100MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 162.65, 152.58, 145.66, 133.28, 128.58, 127.80, 127.43, 125.08, 124.53, 124.47, 121.66, 119.64, 111.14, 53.59, 51.09, 46.80, 45.50, 24.17; HR-MS (ESI) m/z : calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{N}_6\text{S}[\text{M}+\text{H}]^+$ 379.1699 found 379.1701.

[0069] 实施例4

[0070] 1-(4-(4-(3-(6-氟苯并异噻唑基))哌啶-1-基)丁基-2H-苯并三氮唑盐酸盐的制备



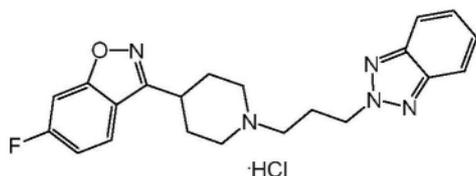
[0072] 合成遵循制备通法。经无水乙醇重结晶,得到1.72g白色粉末状固体(产率51%)。 ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 11.01 (s, 1H), 8.24 (dd, $J=8.8, 5.3\text{Hz}$, 1H), 7.99-7.87 (m, 2H), 7.71 (dd, $J=9.1, 2.2\text{Hz}$, 1H), 7.44 (dp, $J=5.9, 2.9\text{Hz}$, 2H), 7.33 (td, $J=9.1, 2.2\text{Hz}$, 1H), 4.83 (t, $J=6.8\text{Hz}$, 2H), 3.57 (d, $J=12.0\text{Hz}$, 2H), 3.52-3.42 (m, 1H), 3.23-3.02 (m, 4H), 2.40 (qd, $J=13.2, 3.8\text{Hz}$, 2H), 2.29-2.03 (m, 4H), 1.90-1.69 (m, 2H). ^{13}C NMR (100MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 165.44, 163.78, 163.64, 162.97, 160.58, 144.17, 126.82, 124.38 (d, $J=$

11.2Hz), 118.27 (d, J=3.2Hz), 117.14, 113.33, 113.08, 98.12, 97.85, 55.76 (d, J=13.5Hz), 51.70, 48.98, 31.65, 27.19 (d, J=7.3Hz), 24.54, 20.93. LC-MS (ESI) m/z: 394.21 [M+1]⁺.

[0073] 实施例5

[0074] 1-(3-(4-(3-(6-氟苯并异噁唑基))哌啶-1-基)丙基-2H-苯并三氮唑盐酸盐的制备

[0075]

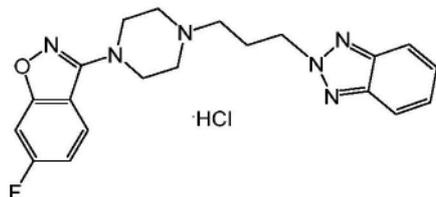


[0076] 合成遵循制备通法,经乙酸乙酯重结晶,得到1.36g白色粉末状固体(收率42%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 11.16 (s, 1H), 8.22 (dd, J=8.8, 5.2Hz, 1H), 7.94 (dd, J=6.5, 3.1Hz, 2H), 7.71 (dd, J=9.1, 2.2Hz, 1H), 7.46 (dd, J=6.5, 3.1Hz, 2H), 7.32 (td, J=9.1, 2.2Hz, 1H), 4.93 (t, J=6.8Hz, 2H), 3.55-3.43 (m, 1H), 3.30-2.95 (m, 5H), 2.74-2.58 (m, 2H), 2.40 (dd, J=13.3, 3.5Hz, 1H), 2.29-2.11 (m, 2H). ¹³C NMR (100MHz, DMSO-d₆) δ 165.43, 163.78, 163.64, 162.97, 160.54, 144.23, 126.97, 124.39, 124.28, 118.32, 117.13, 113.34, 113.09, 98.12, 97.85, 53.92, 53.87, 51.84, 31.60, 27.31, 24.31. LC-MS (ESI) m/z: 380.17 [M+1]⁺.

[0077] 实施例6

[0078] 1-(3-(4-(3-(6-氟苯并异噁唑基))哌啶-1-基)丙基-2H-苯并三氮唑盐酸盐的制备

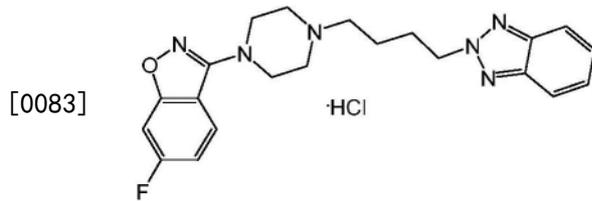
[0079]



[0080] 合成遵循制备通法,经无水乙醇重结晶,得到165mg白色粉末状固体(收率51%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 11.67 (s, 1H), 8.09 (dd, J=8.9, 5.2Hz, 1H), 7.94 (dd, J=6.6, 3.1Hz, 2H), 7.59 (dd, J=9.1, 2.3Hz, 1H), 7.46 (dd, J=6.6, 3.1Hz, 2H), 7.24 (td, J=9.1, 2.3Hz, 1H), 4.92 (t, J=6.8Hz, 2H), 4.09 (d, J=13.5Hz, 2H), 3.61 (d, J=12.2Hz, 4H), 3.26 (t, J=8.2Hz, 4H), 2.66 -2.54 (m, 2H). ¹³C NMR (100MHz, DMSO-d₆) δ 165.22, 164.69, 164.55, 162.75, 160.25, 144.23, 126.95, 124.85, 124.74, 118.33, 112.49, 112.40, 112.16, 98.26, 97.99, 53.89, 53.51, 50.47, 45.11, 24.14. LC-MS (ESI) m/z: 381.15 [M+1]⁺.

[0081] 实施例7

[0082] 1-(4-(4-(3-(6-氟苯并异噁唑基))哌啶-1-基)丁基-2H-苯并三氮唑盐酸盐的制备



[0084] 合成遵循制备通法,经无水乙醇重结晶,得到182mg白色粉末状固体(收率54%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ11.29 (s, 1H), 8.09 (dd, *J*=8.9, 5.2Hz, 1H), 7.93 (dd, *J*=6.5, 3.1Hz, 2H), 7.60 (dd, *J*=9.1, 2.3Hz, 1H), 7.51-7.40 (m, 2H), 7.24 (td, *J*=9.1, 2.3Hz, 1H), 4.82 (t, *J*=6.8Hz, 2H), 4.08 (d, *J*=13.2Hz, 2H), 3.54 (d, *J*=12.5Hz, 4H), 3.21 (t, *J*=8.2Hz, 4H), 2.12 (t, *J*=7.5Hz, 2H), 1.79 (dd, *J*=8.0, 3.6Hz, 2H)。¹³C NMR (100MHz, DMSO-*d*₆) δ166.82-162.55 (m), 160.28, 144.16, 126.84, 124.85, 124.74, 118.29, 112.49, 112.18, 98.29, 98.02, 55.80, 55.35, 50.46, 45.10, 27.06, 20.87。LC-MS (ESI) *m/z*: 395.18 [M+1]⁺。

[0085] 实施例8

[0086] 化合物(1)~(7)对血小板聚集的抑制活性研究

[0087] (1) 主要实验仪器与试剂

[0088] 酶联免疫分析仪 (SYNERGY H1, BioTek Instruments, Inc.); 孵育箱 (VORTEMP56, 美国莱伯特公司); 酶标板振荡器 (benchmate S4P-D, Oxford Lab); 十万分之一天平 (M205DU, 梅特勒托利多); 超纯水机 (Medium-S800GUVF, HITECH); 高速离心机 (5430R, Centrifuge)。

[0089] 化合物1~7; 盐酸沙格雷酯 (>98%, 上海源叶生物科技有限公司); ADP (AR, hyphen biomed); 二甲基亚砜 (AR, 国药集团化学试剂有限公司)。

[0090] (2) 实验方法

[0091] 2.1 富血小板血浆 (PPP) 和贫血小板血浆 (PRP) 的制备

[0092] 家兔心脏采血, 置于含标记的EDTA-K2抗凝管中, 上下轻柔颠倒使抗凝剂于血液充分混合后, 于采血后0.5h之内离心分离血浆。将其离心 (4℃, 200g, 10min) 后取上清液, 即得富血小板血浆 (PPP); 将剩余部分继续离心 (4℃, 1500g, 15min) 后取上清液, 即得贫血小板血浆 (PRP)。

[0093] 2.2 血小板聚集率的测定

[0094] 在孔板中加入90μL PRP, 以及5μL目标化合物/阳性对照品 (终浓度为10μmol/L、1μmol/L、0.1μmol/L), 振摇15min, 于37℃孵育箱中温育5min。加入5μL诱导剂ADP, 振摇5min, 测得OD值 (Asp1)。

[0095] 2.3 数据处理

[0096] PRP由于血小板处于均匀分散状态而具有一定的浊度, 其浊度的高低与血小板数成正相关。浊度在酶标仪上则表现为吸光度。当PRP加入诱导剂后, 部分血小板聚集, 使得PRP的浊度下降, 表现为吸光度值下降。PRP中血小板聚集程度越高, 吸光度下降越大。因此, 通过测定一段时间后吸光度的变化可在一定程度反应血小板的聚集性能。

[0097] 结果A_{650nm}以 \bar{X} 表示, 按一下公式计算各组血小板聚集率 (AR) 和血小板聚集抑制率 (AIR):

[0098] 血小板聚集率: $AR = \frac{A_{ppp} - A_{spl}}{A_{prp} - A_{ppp}}$

[0099] 血小板聚集抑制率: $AIR = \frac{AR_{ctrl} - AR_{exp}}{AR_{ctrl}}$

[0100] 式中Aspl为加入ADP或胶原振荡5min后吸光度;Aprp、Appp为PRP与PPP组吸光度;ARctrl为空白对照组血小板聚集率;ARexp为给药组血小板聚集率。

[0101] (3) 结果

[0102] 3.1血小板抑制率比较(ADP诱导)

[0103] 以盐酸沙格雷酯和替卡格雷为对照药物,采用微量板比浊法对7个化合物进行了体外ADP诱导的抗血小板聚集活性进行测定,目标化合物(终浓度分别为0.1 μ mol/L,1 μ mol/L,10 μ mol/L)测定结果如下(表1)。

[0104] 表1目标化合物对血小板聚集的影响

[0105]

终浓度	0.1 μ mol/L	1 μ mol/L	10 μ mol/L
受试化合物	AIR	AIR	AIR
(1)	16.19%*	49.10%**	78.64%***
(2)	13.15%	46.62%**	74.65%***
(3)	12.61%	47.83%**	76.58%***
(4)	12.71%	47.13%**	76.31%***
(5)	15.62%*	49.54%**	79.64%***
(6)	14.41%	49.14%**	78.79%***
(7)	13.51%	46.94%**	77.96%***
替卡格雷	11.41%	45.14%**	66.86%***
盐酸沙格雷酯	8.41%	38.77%**	58.55%***

[0106] *p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001 (VS空白)

[0107] 3.2血小板抑制率比较(胶原诱导)

[0108] 以盐酸沙格雷酯和替卡格雷为对照药物,采用微量板比浊法对7个化合物进行体外胶原诱导的抗血小板聚集活性进行测定,目标化合物(终浓度分别为0.1 μ mol/L,1 μ mol/L,10 μ mol/L)测定结果如下(表2)。

[0109] 表2目标化合物对血小板聚集的影响

[0110]

终浓度	0.1 μ mol/L	1 μ mol/L	10 μ mol/L
受试化合物	AIR	AIR	AIR
(1)	17.95%	41.02%**	74.10%***
(2)	11.41%	37.29%**	70.62%***
(3)	12.06%	39.56%**	71.83%***
(4)	12.95%	32.21%**	73.13%***
(5)	16.30%	41.02%**	67.14%***
(6)	10.75%	40.69%**	63.14%***
(7)	10.76%	37.29%**	66.94%***
替卡格雷	8.87%	31.10%**	59.01%***

盐酸沙格雷酯	6.45%	35.13%**	53.49%***
--------	-------	----------	-----------

[0111] * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ (VS空白)

[0112] 体外活性试验证明:本发明所公开的化合物均能显著抑制血小板聚集活性,可用于血小板激活异常相关性疾病,如伯格氏病,雷诺氏病,冠状动脉疾病,心绞痛和动脉粥样硬化等。

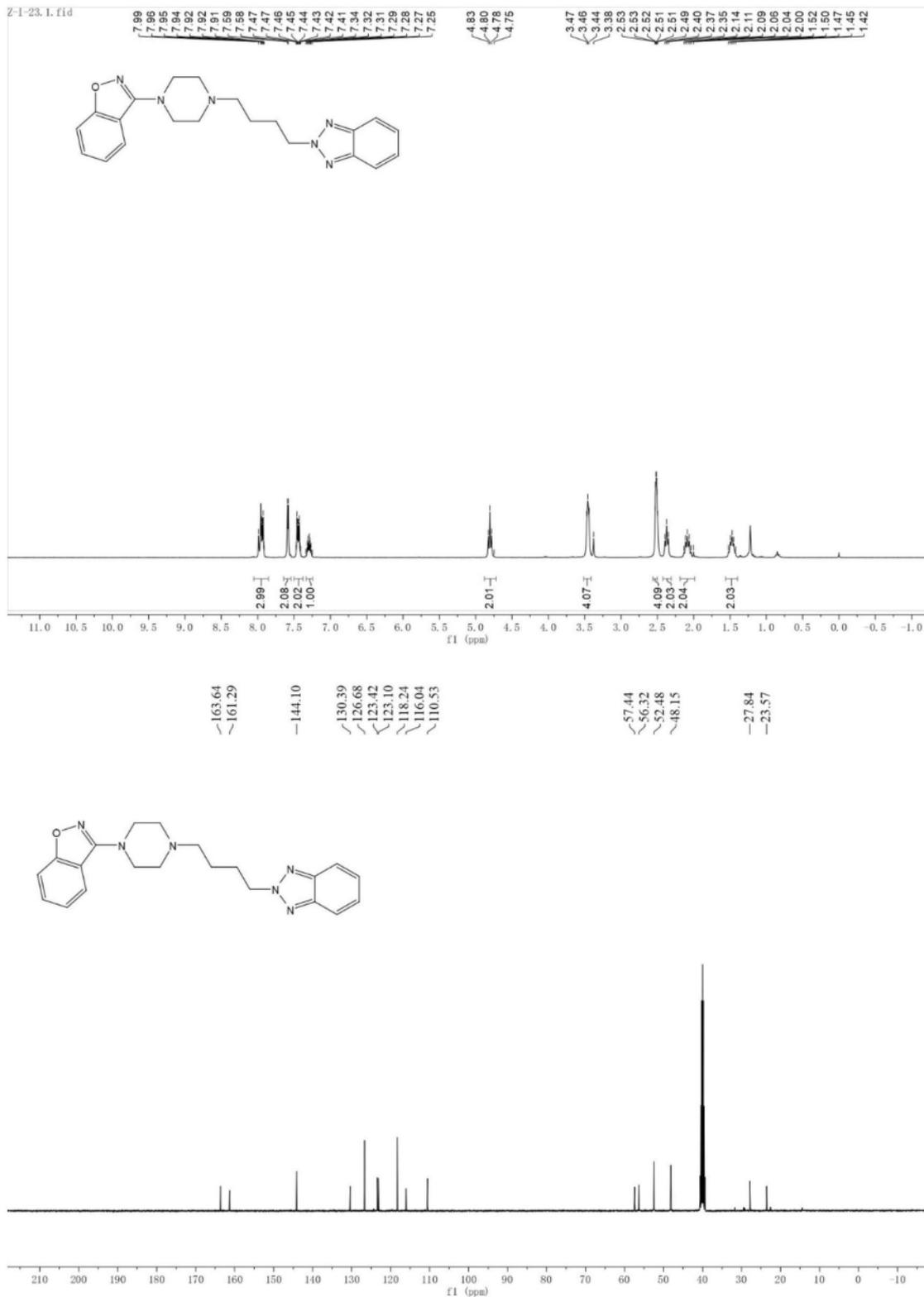


图1

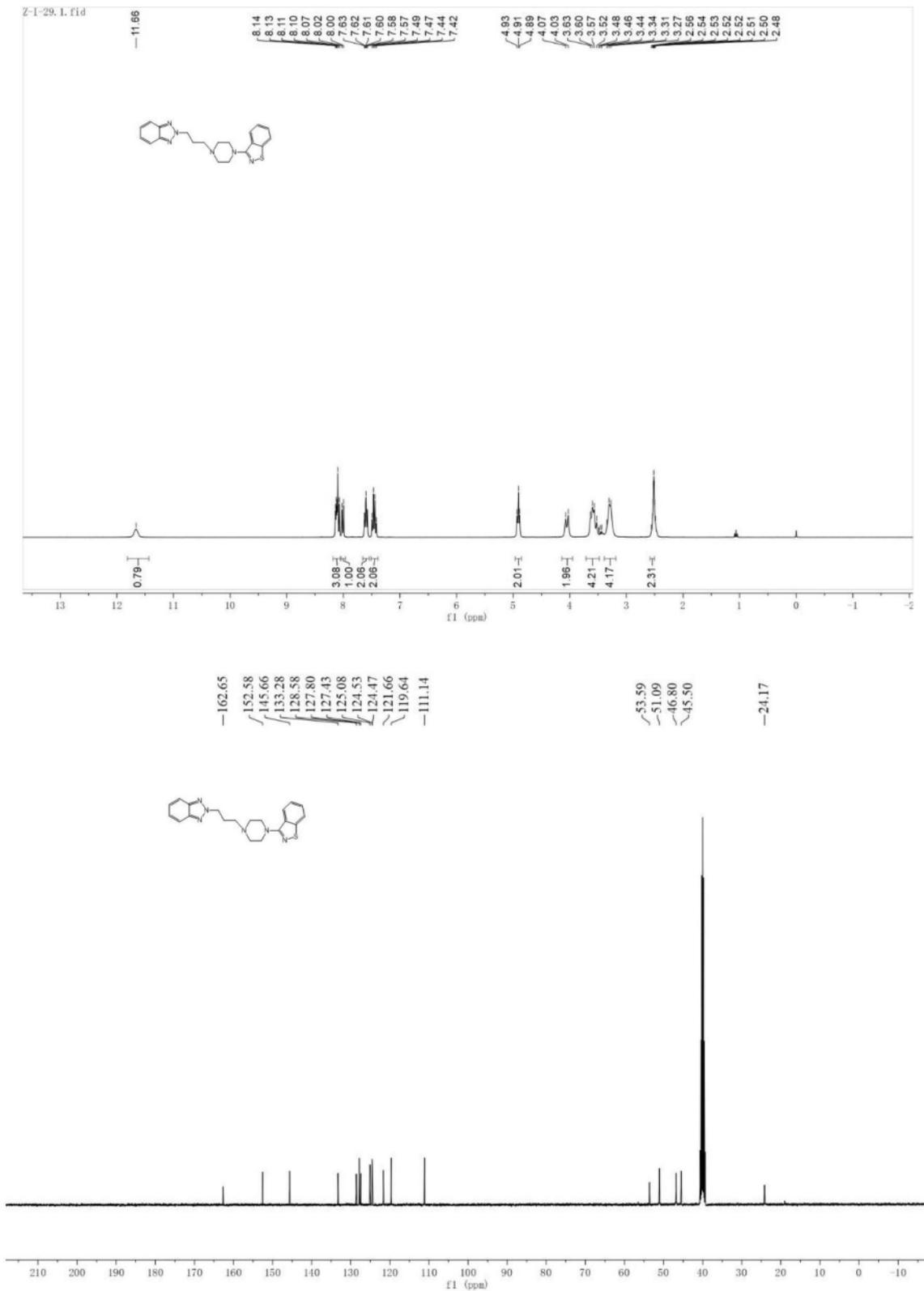


图3

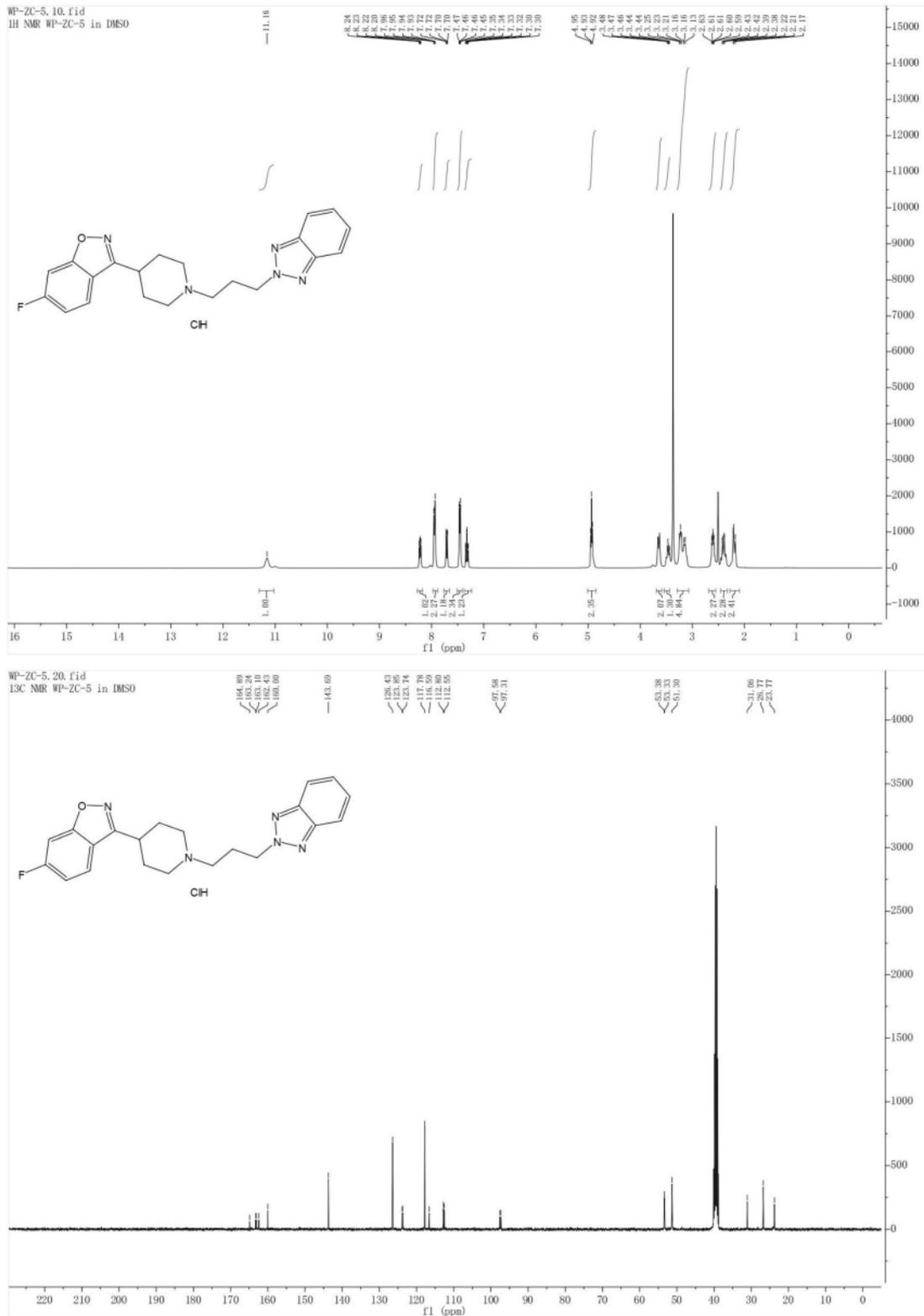


图5

