



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104016944 A

(43) 申请公布日 2014. 09. 03

(21) 申请号 201410267280. 2

(22) 申请日 2014. 06. 16

(71) 申请人 山东大学

地址 250012 山东省济南市历下区文化西路
44 号

(72) 发明人 刘新泳 陈洪飞

(74) 专利代理机构 济南金迪知识产权代理有限
公司 37219

代理人 王绪银

(51) Int. Cl.

C07D 277/56(2006. 01)

A61K 31/426(2006. 01)

A61P 7/02(2006. 01)

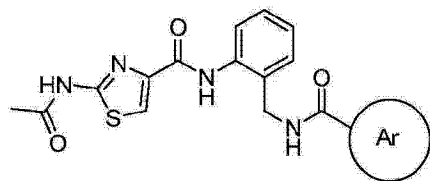
权利要求书2页 说明书13页

(54) 发明名称

N-(2-(胺甲基)苯基)噻唑-4-甲酰胺衍生物及其制备方法与应用

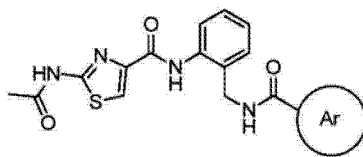
(57) 摘要

本发明涉及一种N-(2-(胺甲基)苯基)噻唑-4-甲酰胺衍生物及其制备方法与应用。所述的N-(2-(胺甲基)苯基)噻唑-4-甲酰胺衍生物是具有通式 I 所示结构的化合物。本发明还提供所述化合物的制备方法,以及含有一个或多个此类化合物的组合物作为 FXa 抑制剂在制备抗凝血药物中的应用。



I

1. 一种 N-(2-(胺甲基)苯基)噻唑-4-甲酰胺衍生物,其特征在于,结构通式 I 如下:



I

其中 Ar 为:2-甲基苯基,2-氯苯基,2-氯-4-硝基苯基,2-呋喃环,2-硝基苯基,2-甲氧基苯基,3-溴苯基,3-甲基苯基,3-氯苯基,3-氟苯基,4-溴苯基,4-氯苯基,4-氟苯基,4-碘苯基,4-硝基苯基,4-甲氧基苯基,5-氯噻吩环,2-萘环,对甲基苯磺酰基。

2. 权利要求 1 所述的 N-(2-(胺甲基)苯基)噻唑-4-甲酰胺衍生物的制备方法,包括如下步骤:

(1) 2-氨基噻唑-4-甲酸乙酯(中间体 1)的合成步骤

取 5.0g 3-溴丙酮酸乙酯,加 1.56g 硫脲,于 120℃回流反应 0.5h,薄层色谱监测至反应完全;将反应液溶于乙酸乙酯,依次以蒸馏水、饱和食盐水洗有机层;有机层以无水硫酸钠干燥,抽滤,减压蒸除溶剂,得到 2-氨基噻唑-4-甲酸乙酯;

(2) 2-乙酰氨基噻唑-4-甲酸乙酯(中间体 2)的合成步骤

在圆底烧瓶中,将 4.39g 上步所得 2-氨基噻唑-4-甲酸乙酯溶于无水四氢呋喃,加 5.2g 三乙胺,搅拌 5min 后,滴加 2.0g 乙酰氯,室温下反应 20min,反应结束后,加入乙酸乙酯,依次以蒸馏水、饱和食盐水洗有机层,干燥,抽滤,滤液减压蒸除溶剂,粗品以石油醚重结晶,得到中间体 2;

(3) 2-乙酰氨基噻唑-4-甲酰氯(中间体 4)的合成步骤

将 1.9g 中间体 2 溶于 10mL 四氢呋喃:H₂O = 1:1 的混合溶剂,加 0.4g 一水合氢氧化锂的水溶液 20mL,室温反应过夜;薄层色谱监测至反应结束后,以 1mol/L 稀盐酸调反应液 pH 值为 3-4,乙酸乙酯萃取;有机层干燥,过滤,蒸除溶剂,得中间体 3;取 1.0g 中间体 3 加过量氯化亚砷,回流反应 3h,蒸除过量的氯化亚砷,得到中间体 4;

(4) 单 Boc 选择性保护的氨基苄胺(中间体 5)的合成步骤

取 6.0g 2-氨基苄胺溶于二氯甲烷,氮气保护、冰浴下搅拌,并逐滴滴加 10.7g 二碳酸二叔丁酯的二氯甲烷溶液,滴毕升至室温,搅拌反应过夜,薄层色谱检测至反应完全,反应结束后,依次以蒸馏水、饱和食盐水洗反应液,无水硫酸钠干燥,抽滤,减压蒸除溶剂,得中间体 5;

(5) 中间体 7 的合成步骤

取 1.3g 中间体 5;于圆底烧瓶中,溶于 30mL 二氯甲烷,加入 2.2g 碳酸钾,搅拌 20min,将 1.1g 中间体 4 的二氯甲烷溶液逐滴加入圆底烧瓶中,滴毕,于室温下反应 20min,薄层色谱检测至反应完全后,依次以蒸馏水、饱和食盐水洗反应液;干燥,抽滤,减压蒸除溶剂,得中间体 6;将 1.2g 中间体 6 溶于 15mL 二氯甲烷,加入 7.5mL 三氟乙酸,室温搅拌反应 5h,薄层色谱检测至反应完全后,蒸除溶剂和过量三氟乙酸,得中间体 7 粗品,石油醚重结晶得中间体 7;

(6) 终产物 I 的合成

取 1.0eq 中间体 7,溶于无水 THF,滴加 3.0eq 三乙胺,搅拌 5min 后,加入 1.0eq 各种

芳香酰氯, 室温反应 20min; 反应结束后, 加入乙酸乙酯, 依次以蒸馏水、饱和食盐水洗有机层; 干燥, 抽滤, 滤液减压蒸除溶剂, 以石油醚重结晶得终产物 I。

3. 权利要求 1 所述的 N-(2-(胺甲基)苯基)噻唑-4-甲酰胺衍生物作为 FXa 抑制剂在制备抗凝血药物中的应用。

4. 一种抗凝血药物组合物, 包含权利要求 1 所述的 N-(2-(胺甲基)苯基)噻唑-4-甲酰胺衍生物或其药学上可接受的盐以及一种或多种药学上可接受的载体或赋形剂。

N-(2-(胺甲基)苯基)噻唑-4-甲酰胺衍生物及其制备方法与应用

技术领域

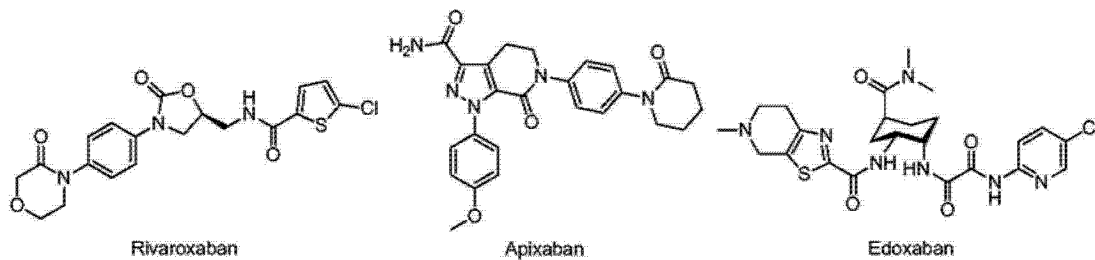
[0001] 本发明涉及一种衍生物及其制备方法和应用,具体涉及N-(2-(胺甲基)苯基)噻唑-4-甲酰胺衍生物及其制备方法和应用,属于有机化合物合成和医药应用技术领域。

背景技术

[0002] 心脑血管疾病是一类由于心脏或血管病变导致的循环系统功能紊乱的疾病的统称,是世界范围内尤其是亚洲地区的首要死亡原因,对人类的生命健康构成了严重威胁。根据世界卫生组织公布的报告,2011年全球约有730万人死于缺血性心脏病,620万人死于脑中风,在所有死亡因素中居于前两位,两者合并构成了大约21.8%的死亡人口(参见<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/>)。在中国,每年死于心脑血管疾病约有300万人,为死亡人口总数的41%左右(参见Ohira T, Iso H. Cardiovascular disease epidemiology in Asia:an overview. *Circ J.* 2013 ;77(7):1646-52. Epub 2013 Jun 21.)。因此对心脑血管疾病的预防和治疗是药物研发领域的迫切任务。

[0003] 由于心脑血管系统的复杂性,其致病因素颇为繁杂,其中血栓形成在心脑血管疾病的发病机制中起到关键作用。血栓形成是凝血过程和血小板聚集等复杂相互作用的结果。人体的凝血途径有内源性凝血途径和外源性凝血途径两种,其中凝血因子Xa(FXa, factor Xa)位于人体内、外两条凝血途径的交汇点,两条凝血途径均通过将无活性的X因子(Xa因子的前体)转化为激活态的Xa因子来实现凝血过程。对FXa的抑制能够同时切断两条凝血途径,因此FXa已经成为抗凝血药物研发的一个很有吸引力抗凝血药物靶点(参见Borensztajn K1, Spek CA. Blood coagulation factor Xa as an emerging drug target. *Expert Opin Ther Targets.* 2011 Mar ;15(3):341-9)。FXa中存在S1、S4两个结合口袋,S1口袋为较小的特异性疏水口袋,S4口袋为大的疏水口袋,两口袋之间存在一定的夹角。FXa抑制剂的分子结构也可分为三部分:P1区、P4区和两者之间的linker。P1区与FXa的S1口袋结合,P4区与FXa的S4口袋结合,linker则呈一定的角度,使得FXa抑制剂适合结合入FXa的结合口袋中(参见de Candia M, Lopopolo G, Altomare C. Novel factor Xa inhibitors:a patent review. *Expert Opin Ther Pat.* 2009 Nov ;19(11):1535-80)。目前已经有三种FXa抑制剂:利伐沙班(Rivaroxaban)、阿哌沙班(Apixaban)、依度沙班(Edoxaban)分别在美国、欧洲、日本上市,用于静脉血栓栓塞的预防。这些药物在血栓的预防上取得了巨大成功,然而也出现了一些副作用,如导致:血尿、血便、眼球出血等。

[0004]



[0005] 通过对已上市药物的 FXa 抑制剂的结构进行分析,并利用先导化合物构效关系的有效信息,对 FXa 抑制剂的 P1 区、P4 区和两者之间的 linker 部分进行广泛的结构变换,对发现高效、低副作用且具有自主知识产权的新型 FXa 抑制剂类药物具有重要意义。

发明内容

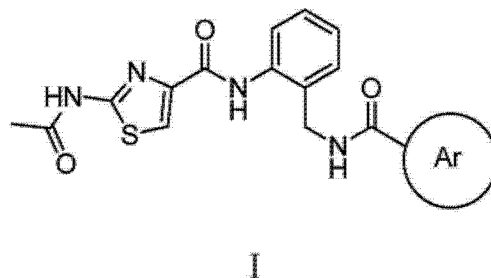
[0006] 本发明针对现有技术的不足,提供了一种 N-(2-(胺甲基)苯基)噻唑-4-甲酰胺衍生物,该衍生物具有良好的抗凝血活性和 FXa 抑制活性。本发明还提供该衍生物的制备方法和应用。

[0007] 本发明的技术方案如下:

[0008] 一、N-(2-(胺甲基)苯基)噻唑-4-甲酰胺衍生物

[0009] 一种 N-(2-(胺甲基)苯基)噻唑-4-甲酰胺衍生物,结构通式 I 如下:

[0010]



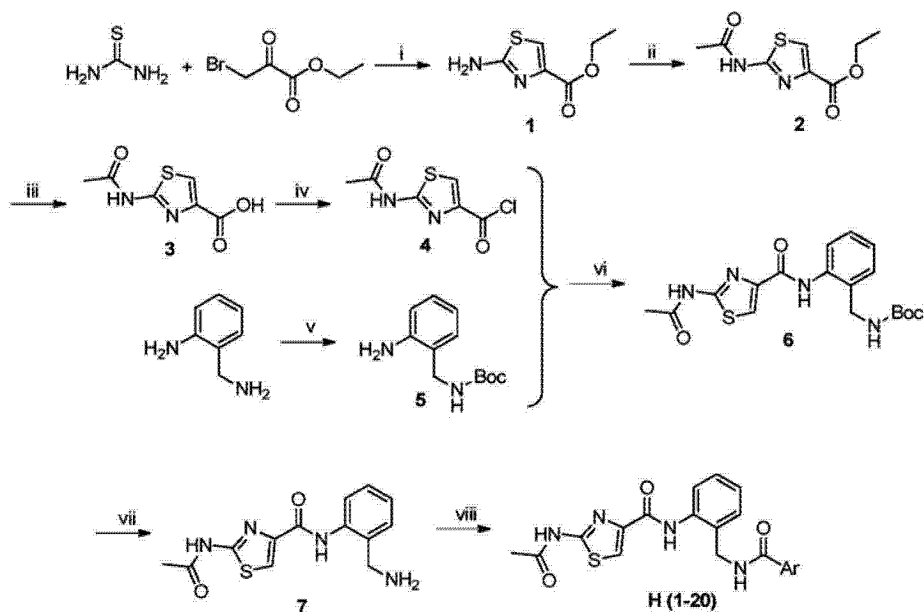
[0011] 其中 Ar 为:2-甲基苯基,2-氯苯基,2-氯-4-硝基苯基,2-呋喃环,2-硝基苯基,2-甲氧基苯基,3-溴苯基,3-甲基苯基,3-氯苯基,3-氟苯基,4-溴苯基,4-氯苯基,4-氟苯基,4-碘苯基,4-硝基苯基,4-甲氧基苯基,5-氯噻吩环,2-萘基,对甲基苯磺酰基。

[0012] 二、N-(2-(胺甲基)苯基)噻唑-4-甲酰胺衍生物的制备方法

[0013] 一种 N-(2-(胺甲基)苯基)噻唑-4-甲酰胺衍生物的制备方法,以硫脲和 3-溴丙酮酸乙酯为原料,经过环合、乙酰化、水解、成酰氯等数步反应,得到 2-乙酰氨基噻唑-4-甲酰氯(中间体 4),中间体 4 与单 Boc 保护胺甲基的氨基苄胺(中间体 5)进行酰化反应,再经脱 Boc,然后与各种芳香酰氯反应,得到目标化合物。

[0014] 合成路线如下:

[0015]



[0016] 试剂：(i) 氮气保护，(ii) 乙酰氯，三乙胺，四氢呋喃，(iii) 一水合氢氧化锂，四氢呋喃-水混合溶液，(iv) 氯化亚砷，(v) 二碳酸二叔丁酯，氮气保护，二氯甲烷，(vi) 碳酸钾，二氯甲烷，(vii) 三氟乙酸，二氯甲烷，(viii) 芳香酰氯，三乙胺，四氢呋喃。

[0017] 其中 Ar 同上述结构通式 I 所述。

[0018] 本发明更为详细的，上述 N-(2-(胺甲基)苯基)噻唑-4-甲酰胺衍生物的制备方法的制备方法，包括如下步骤：

[0019] (1) 2-氨基噻唑-4-甲酸乙酯（中间体 1）的合成步骤

[0020] 取 5.0g 3-溴丙酮酸乙酯，加 1.56g 硫脲，于 120℃ 回流反应 0.5h，薄层色谱监测至反应完全；将反应液溶于乙酸乙酯，依次以蒸馏水、饱和食盐水洗有机层；有机层以无水硫酸钠干燥，抽滤，减压蒸除溶剂，得到 2-氨基噻唑-4-甲酸乙酯；

[0021] (2) 2-乙酰氨基噻唑-4-甲酸乙酯（中间体 2）的合成步骤

[0022] 在圆底烧瓶中，将 4.39g 上步所得 2-氨基噻唑-4-甲酸乙酯溶于无水四氢呋喃，加 5.2g 三乙胺，搅拌 5min 后，滴加 2.0g 乙酰氯，室温下反应 20min，反应结束后，加入乙酸乙酯，依次以蒸馏水、饱和食盐水洗有机层，干燥，抽滤，滤液减压蒸除溶剂，粗品以石油醚重结晶，得到中间体 2；

[0023] (3) 2-乙酰氨基噻唑-4-甲酰氯（中间体 4）的合成步骤

[0024] 将 1.9g 中间体 2 溶于 10mL 四氢呋喃： $H_2O = 1:1$ 的混合溶剂，加 0.4g 一水合氢氧化锂的水溶液 20mL，室温反应过夜；薄层色谱监测至反应结束后，以 1mol/L 稀盐酸调反应液 pH 值为 3-4，乙酸乙酯萃取；有机层干燥，过滤，蒸除溶剂，得中间体 3；取 1.0g 中间体 3 加过量氯化亚砷，回流反应 3h，蒸除过量的氯化亚砷，得到中间体 4；

[0025] (4) 单 Boc 选择性保护的氨基苯胺（中间体 5）的合成步骤

[0026] 取 6.0g 2-氨基苯胺溶于二氯甲烷，氮气保护、冰浴下搅拌，并逐滴滴加 10.7g 二碳酸二叔丁酯的二氯甲烷溶液，滴毕升至室温，搅拌反应过夜，薄层色谱检测至反应完全，反应结束后，依次以蒸馏水、饱和食盐水洗反应液，无水硫酸钠干燥，抽滤，减压蒸除溶剂，得中间体 5；

[0027] (5) 中间体 7 的合成步骤

[0028] 取 1.3g 中间体 5 ;于圆底烧瓶中,溶于 30mL 二氯甲烷,加入 2.2g 碳酸钾,搅拌 20min,将 1.1g 中间体 4 的二氯甲烷溶液逐滴加入圆底烧瓶中,滴毕,于室温下反应 20min,薄层色谱检测至反应完全后,依次以蒸馏水、饱和食盐水洗反应液 ;干燥,抽滤,减压蒸除溶剂,得中间体 6 ;将 1.2g 中间体 6 溶于 15mL 二氯甲烷,加入 7.5mL 三氟乙酸,室温搅拌反应 5h,薄层色谱检测至反应完全后,蒸除溶剂和过量三氟乙酸,得中间体 7 粗品,石油醚重结晶得中间体 7 ;

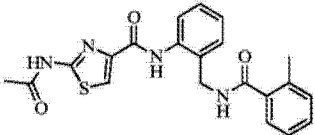
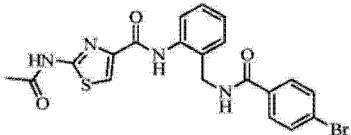
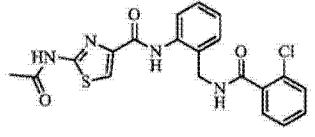
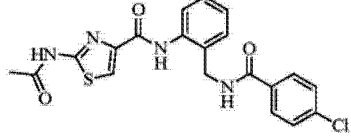
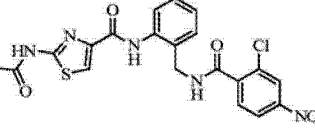
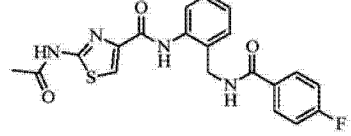
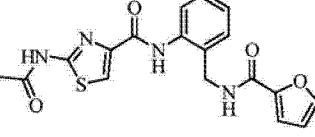
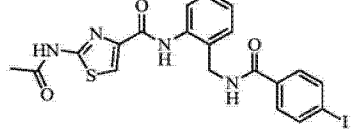
[0029] (6) 终产物 I 的合成

[0030] 取 1.0eq 中间体 7,溶于无水 THF,滴加 3.0eq 三乙胺,搅拌 5min 后,加入 1.0eq 各种芳香酰氯,室温反应 20min ;反应结束后,加入乙酸乙酯,依次以蒸馏水、饱和食盐水洗有机层 ;干燥,抽滤,滤液减压蒸除溶剂,以石油醚重结晶得终产物 I 。

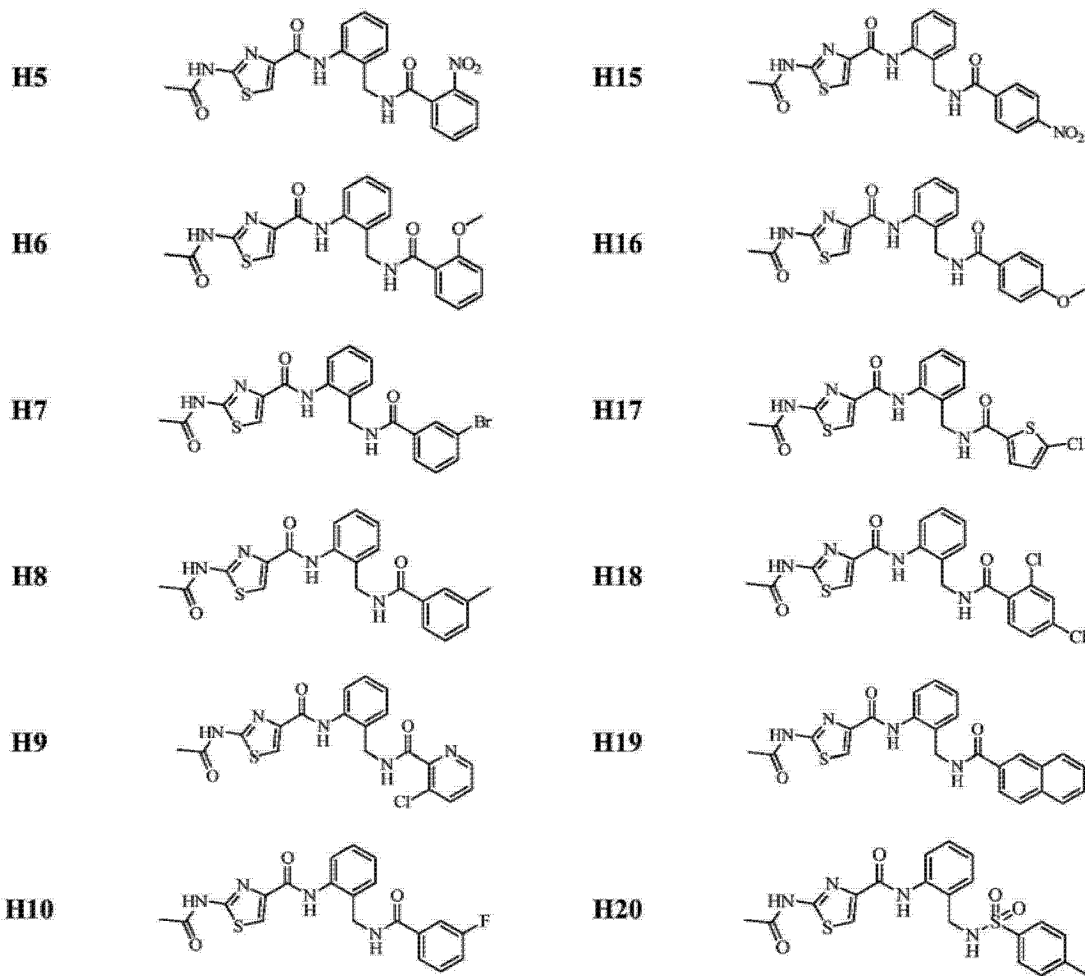
[0031] 本发明所制得的目标化合物结构式如下 :

[0032] 表 1. 目标化合物的结构式

[0033]

编号	结构	编号	结构
H1		H11	
H2		H12	
H3		H13	
H4		H14	

[0034]



[0035] 三、N-(2-(胺甲基)苯基)噻唑-4-甲酰胺衍生物的药物组合物

[0036] 一种抗凝血药物组合物,包含本发明所述的N-(2-(胺甲基)苯基)噻唑-4-甲酰胺衍生物或其药学上可接受的盐以及一种或多种药学上可接受的载体或赋形剂。

[0037] 四、N-(2-(胺甲基)苯基)噻唑-4-甲酰胺衍生物的应用

[0038] 本发明的N-(2-(胺甲基)苯基)噻唑-4-甲酰胺衍生物可作为FXa抑制剂。具体地说,作为FXa抑制剂用于制备抗凝血药物。

具体实施方式

[0039] 下面结合实施例对本发明做进一步说明,所有化合物编号与表1相同。

[0040] 实施例1. 2-氨基噻唑-4-甲酸乙酯(中间体1)的制备

[0041] 取3-溴丙酮酸乙酯(5.0g, 25.6mmol),加硫脲(1.56g, 20.5mmol, 0.8eq)于120℃回流反应0.5h,薄层色谱监测至反应完全。将反应液溶于乙酸乙酯,依次以蒸馏水、饱和食盐水洗有机层;有机层以无水硫酸钠干燥,抽滤,减压蒸除溶剂,得到黄色的2-氨基噻唑-4-甲酸乙酯(4.39g, 99.5%)。

[0042] 实施例2. 2-乙酰氨基噻唑-4-甲酸乙酯(中间体2)的制备

[0043] 在圆底烧瓶中,将上步所得2-氨基噻唑-4-甲酸乙酯(4.39g, 25.5mmol)溶于无水四氢呋喃,加三乙胺(5.2g, 51.0mmol),搅拌5min后,以恒压滴液漏斗滴加乙酰氯(2.0g, 25.5mmol),室温下反应20min。反应结束后,加入乙酸乙酯,依次以蒸馏水、饱和食盐

水洗有机层。干燥,抽滤,滤液减压蒸除溶剂。粗品以石油醚重结晶,得到中间体 2, 1.9g, 收率 34.9%。

[0044] 实施例 3. 2-乙酰氨基噻唑-4-甲酰氯(中间体 4)的制备

[0045] 将中间体 2(1.9g, 8.9mmol), 溶于 10mL 四氢呋喃:H₂O = 1:1 的混合溶液, 加一水合氢氧化锂(0.4g, 8.9mmol)的水溶液 20mL, 室温反应过夜。薄层色谱监测至反应结束后, 以稀盐酸调反应液 pH 值为 3-4, 乙酸乙酯萃取。有机层干燥, 过滤, 蒸除溶剂, 得中间体 3, 1.0g, 收率 60.8%。取中间体 3(1.0g, 5.4mmol), 加过量氯化亚砷, 回流反应 3h, 蒸除过量的氯化亚砷, 得到中间体 4。

[0046] 实施例 4. 单 Boc 选择性保护的氨基苄胺(中间体 5)的制备

[0047] 取 2-氨基苄胺(6.0g, 49.2mmol)溶于二氯甲烷, N₂保护, 冰浴下搅拌, 并逐滴滴加(Boc)₂O(10.7g, 49.2mmol)的二氯甲烷溶液。滴毕升至室温, 搅拌反应过夜。薄层色谱检测至反应完全。反应结束后, 依次以蒸馏水、饱和食盐水洗反应液。无水硫酸钠干燥, 抽滤, 减压蒸除溶剂。得中间体 5, 10.5g, 收率 96.2%。

[0048] 实施例 5. 中间体 7 的制备

[0049] 取中间体 5(1.3g, 5.9mmol)于圆底烧瓶中, 溶于 30mL 二氯甲烷, 加入 K₂CO₃(2.2g, 16.0mmol), 搅拌 20min。将中间体 4(1.1g, 5.4mmol)的二氯甲烷逐滴加入圆底烧瓶中, 滴毕, 于室温下反应 20min。薄层色谱检测至反应完全后, 依次以蒸馏水、饱和食盐水洗反应液。干燥, 抽滤, 减压蒸除溶剂, 得中间体 6, 1.2g, 收率 54.6%。将中间体 6(1.2g, 3.0mmol)溶于 15mL 二氯甲烷, 加入 7.5mL 三氟乙酸。室温搅拌反应 5h。薄层色谱检测至反应完全后, 蒸除溶剂和过量三氟乙酸, 得中间体 7 粗品, 石油醚重结晶得 0.8g, 收率 93.6%。

[0050] 实施例 6. 2-乙酰氨基-N-(2-((2-甲基苯甲酰胺)甲基)苯基)噻唑-4-甲酰胺(H1)的制备

[0051] 取中间体 7(1.0eq), 溶于无水四氢呋喃, 滴加三乙胺(3.0eq), 搅拌 5min 后, 加入 2-甲基苯甲酰氯(1.0eq), 室温反应 20min。反应结束后, 加入乙酸乙酯, 依次以蒸馏水、饱和食盐水洗有机层。干燥, 抽滤, 滤液减压蒸除溶剂得终产物。终产物以石油醚重结晶得纯品, 白色针状结晶, 产率: 91%, mp: 187-192°C. ¹H-NMR(400MHz, CDCl₃, δ ppm): 12.35(s, 1H, CONH), 10.10(s, 1H, CONH), 9.28(t, 1H, CONH, J = 5.7Hz), 8.00(s, 1H, thiazole-H), 7.74-7.70(m, 3H, Ph-H), 7.39-7.19(m, 5H, Ph-H), 4.46(d, 2H, PhCH₂, J = 5.8Hz), 2.34(s, 3H, PhCH₃), 2.20(s, 3H, COCH₃). ESI-MS: 409.5(M+H)⁺, 431.4(M+Na)⁺, C₂₁H₂₀N₄O₃S 408.13

[0052] 实施例 7. 2-乙酰氨基-N-(2-((2-氯苯甲酰胺)甲基)苯基)噻唑-4-甲酰胺(H2)的制备

[0053] 如实施例 6, 不同的是所用的芳香酰氯为 2-氯苯甲酰氯。黄色油状物, 产率: 89%. ¹H-NMR(400MHz, CDCl₃, δ ppm): 12.35(s, 1H, CONH), 9.78(s, 1H, CONH), 9.06(t, 1H, CONH, J = 5.9Hz), 7.97(s, 1H, thiazole-H), 7.69(d, 1H, Ph-H, J = 7.4Hz), 7.51-7.23(m, 7H, Ph-H), 4.47(d, 2H, PhCH₂, J = 5.9Hz), 2.19(s, 3H, COCH₃). ESI-MS: 429.4(M+H)⁺, 451.3(M+Na)⁺, C₂₀H₁₇ClN₄O₃S 428.07

[0054] 实施例 8. 2-乙酰氨基-N-(2-((2-氯-4-硝基苯甲酰胺)甲基)苯基)噻唑-4-甲酰胺(H3)的制备

[0055] 如实施例 6, 不同的是所用的芳香酰氯为 2-氯-4-硝基苯甲酰氯。白色针状结晶,

产率:88%, mp:156-162°C. ¹H-NMR(400MHz, CDCl₃, δ ppm):12.23(s, 1H, CONH), 9.67(s, 1H, CONH), 9.21(t, 1H, CONH, J = 5.7Hz), 8.28(d, 1H, Ph-H, J = 2.2Hz), 8.23(dd, 1H, Ph-H, J₁ = 2.2Hz, J₂ = 8.4Hz), 7.89(s, 1H, thiazole-H), 7.74(t, 2H, Ph-H, J = 8.4Hz), 7.47-7.21(m, 3H, Ph-H), 4.54(d, 2H, PhCH₂, J = 5.8Hz), 2.20(s, 3H, COCH₃). ESI-MS:474.2(M+H)⁺, 496.3(M+Na)⁺, C₂₀H₁₆ClN₅O₅S 473.06

[0056] 实施例 9. 2-乙酰氨基-N-(2-((呋喃-2-甲酰胺)甲基)苯基)噻唑-4-甲酰胺(H4)的制备

[0057] 如实施例 6, 不同的是所用的芳香酰氯为 2-呋喃甲酰氯。白色针状结晶, 产率:92%, mp:157-165°C. ¹H-NMR(400MHz, CDCl₃, δ ppm):12.26(s, 1H, CONH), 9.97(s, 1H, CONH), 9.24(t, 1H, CONH, J = 5.8Hz), 7.97-7.14(m, 8H, Ph-H, furan-H, thiazole-H), 4.47(d, 2H, PhCH₂, J = 5.8Hz), 2.19(s, 3H, COCH₃). ESI-MS:385.4(M+H)⁺, 407.5(M+Na)⁺, C₁₈H₁₆N₄O₄S 384.09

[0058] 实施例 10. 2-乙酰氨基-N-(2-((2-硝基苯甲酰胺)甲基)苯基)噻唑-4-甲酰胺(H5)的制备

[0059] 如实施例 6, 不同的是所用的芳香酰氯为 2-硝基苯甲酰胺。黄色油状物, 产率:91%. ¹H-NMR(400MHz, CDCl₃, δ ppm):12.28(s, 1H, CONH), 9.99(s, 1H, CONH), 9.26(t, 1H, CONH, J = 5.7Hz), 7.97-7.90(m, 3H, Ph-H, thiazole-H), 7.71(d, 1H, Ph-H, J = 7.8Hz), 7.56(dd, 2H, Ph-H, J₁ = 2.2Hz, J₂ = 8.8Hz), 7.37-7.19(m, 3H, Ph-H), 4.48(d, 2H, PhCH₂, J = 5.7Hz), 2.50(s, 3H, COCH₃). ESI-MS:440.5(M+H)⁺, 462.3(M+Na)⁺, C₂₀H₁₇N₅O₅S 439.10

[0060] 实施例 11. 2-乙酰氨基-N-(2-((2-甲氧基苯甲酰胺)甲基)苯基)噻唑-4-甲酰胺(H6)的制备

[0061] 如实施例 6, 不同的是所用的芳香酰氯为 2-甲氧基苯甲酰胺。黄色油状物, 产率:86%. ¹H-NMR(400MHz, CDCl₃, δ ppm):12.27(s, 1H, CONH), 10.08(s, 1H, CONH), 9.28(t, 1H, CONH, J = 5.7Hz), 7.98(s, 1H, thiazole-H), 7.88(d, 2H, Ph-H, J = 8.8Hz), 7.74(d, 1H, Ph-H, J = 7.8Hz), 7.36-7.18(m, 3H, Ph-H), 7.01(d, 2H, Ph-H, J = 8.8Hz), 4.45(d, 2H, PhCH₂, J = 5.8Hz), 3.81(s, 3H, PhOCH₃), 2.19(s, 3H, COCH₃). ESI-MS:425.4(M+H)⁺, C₂₁H₂₀N₄O₄S 424.12

[0062] 实施例 12. 2-乙酰氨基-N-(2-((3-溴苯甲酰胺)甲基)苯基)噻唑-4-甲酰胺(H7)的制备

[0063] 如实施例 6, 不同的是所用的芳香酰氯为 3-溴苯甲酰氯。白色针状结晶, 产率:90%, mp:171-184°C. ¹H-NMR(400MHz, CDCl₃, δ ppm):12.27(s, 1H, CONH), 9.98(s, 1H, CONH), 9.24(t, 1H, CONH, J = 5.5Hz), 7.97(s, 1H, thiazole-H), 7.84-7.68(m, 5H, Ph-H), 7.36-7.21(m, 3H, Ph-H), 4.48(d, 2H, PhCH₂, J = 5.6Hz), 2.19(s, 3H, COCH₃). ESI-MS:473.2(M+H)⁺, 495.2(M+Na)⁺, C₂₀H₁₇BrN₄O₃S 472.02

[0064] 实施例 13. 2-乙酰氨基-N-(2-((3-甲基苯甲酰胺)甲基)苯基)噻唑-4-甲酰胺(H8)的制备

[0065] 如实施例 6, 不同的是所用的芳香酰氯为 3-甲基苯甲酰氯。白色粉末状固体, 产率:87%, mp:185-189°C. ¹H-NMR(400MHz, CDCl₃, δ ppm):12.34(s, 1H, CONH), 10.09(s, 1H, CONH), 9.27(t, 1H, CONH, J = 5.7Hz), 8.00(s, 1H, thiazole-H), 7.73-7.69(m, 3H, Ph-H), 7.39-7.17(m, 5H, Ph-H), 4.46(d, 2H, PhCH₂, J = 5.7Hz), 2.34(s, 3H, PhCH₃), 2.19(s, 3H, COCH₃). ESI-MS:409.5(M+H)⁺, 431.4(M+Na)⁺, C₂₁H₂₀N₄O₃S 408.13

[0066] 实施例 14. 2-乙酰氨基-N-(2-((3-氯吡啶酰胺)甲基)苯基)噻唑-4-甲酰胺(H9)的制备

[0067] 如实施例 6, 不同的是所用的芳香酰氯为 3-氯吡啶-2-甲酰氯。白色针状结晶, 产率: 91%, mp: 166-170 °C. ¹H-NMR(400MHz, CDCl₃, δ ppm): 12.28(s, 1H, CONH), 9.71(s, 1H, CONH), 9.26(t, 1H, CONH, J = 5.8Hz), 8.34(d, 1H, pyridine-H, J = 2.2Hz), 8.25(dd, 1H, pyridine-H, J₁ = 2.2Hz, J₂ = 8.4Hz), 7.96(s, 1H, thiazole-H), 7.76(d, 1H, pyridine-H, J = 8.4Hz), 7.65(d, 1H, Ph-H, J = 7.4Hz), 7.46-7.26(m, 3H, Ph-H), 4.51(d, 2H, PhCH₂, J = 5.9Hz), 2.19(s, 3H, COCH₃). ESI-MS: 430.4(M+H)⁺, 443.5(M+Na)⁺, C₁₉H₁₆ClN₅O₃S 429.07

[0068] 实施例 15. 2-乙酰氨基-N-(2-((3-氟苯甲酰胺)甲基)苯基)噻唑-4-甲酰胺(H10)的制备

[0069] 如实施例 6, 不同的是所用的芳香酰氯为 3-氟苯甲酰氯。白色针状结晶, 产率: 89%, mp: 205-210 °C. ¹H-NMR(400MHz, CDCl₃, δ ppm): 12.27(s, 1H, CONH), 9.98(s, 1H, CONH), 9.25(t, 1H, CONH, J = 5.7Hz), 7.97(s, 1H, thiazole-H), 7.92(d, 2H, Ph-H, J = 8.6Hz), 7.71(d, 1H, Ph-H, J = 7.8Hz), 7.56(d, 2H, Ph-H, J = 8.5Hz), 7.37-7.19(m, 3H, Ph-H), 4.48(d, 2H, PhCH₂, J = 5.8Hz), 2.19(s, 3H, COCH₃). ESI-MS: 413.5(M+H)⁺, 435.4(M+Na)⁺, C₂₀H₁₇FN₄O₃S 412.10

[0070] 实施例 16. 2-乙酰氨基-N-(2-((3-溴苯甲酰胺)甲基)苯基)噻唑-4-甲酰胺(H11)的制备

[0071] 如实施例 6, 不同的是所用的芳香酰氯为 3-溴苯甲酰氯。白色粉末状固体, 产率: 91%, mp: 234-237 °C. ¹H-NMR(400MHz, CDCl₃, δ ppm): 12.27(s, 1H, CONH), 9.97(s, 1H, CONH), 9.24(t, 1H, CONH, J = 5.3Hz), 7.97(s, 1H, thiazole-H), 7.89-7.82(m, 2H, Ph-H), 7.71-7.68(m, 3H, Ph-H), 7.36-7.19(m, 3H, Ph-H), 4.47(d, 2H, PhCH₂, J = 5.8Hz), 2.19(s, 3H, COCH₃). ESI-MS: 473.2(M+H)⁺, 496.2(M+Na)⁺, C₂₀H₁₇BrN₄O₃S 472.02

[0072] 实施例 17. 2-乙酰氨基-N-(2-((4-氯苯甲酰胺)甲基)苯基)噻唑-4-甲酰胺(H12)的制备

[0073] 如实施例 6, 不同的是所用的芳香酰氯为 4-氯苯甲酰氯。白色粉末状固体, 产率: 92%, mp: 179-182 °C. ¹H-NMR(400MHz, CDCl₃, δ ppm): 12.28(s, 1H, CONH), 10.00(s, 1H, CONH), 9.27(t, 1H, CONH, J = 5.7Hz), 7.97(s, 1H, thiazole-H), 7.95-7.90(m, 2H, Ph-H), 7.72(d, 1H, Ph-H, J = 7.8Hz), 7.56(d, 2H, Ph-H, J = 8.5Hz), 7.37-7.19(m, 3H, Ph-H), 4.48(d, 2H, PhCH₂, J = 5.8Hz), 2.20(s, 3H, COCH₃). ESI-MS: 429.4(M+H)⁺, 451.4(M+Na)⁺, C₂₀H₁₇ClN₄O₃S 428.07

[0074] 实施例 18. 2-乙酰氨基-N-(2-((4-氟苯甲酰胺)甲基)苯基)噻唑-4-甲酰胺(H13)的制备

[0075] 如实施例 6, 不同的是所用的芳香酰氯为 4-氟苯甲酰氯。白色针状结晶, 产率: 92%, mp: 186-188 °C. ¹H-NMR(400MHz, CDCl₃, δ ppm): 12.28(s, 1H, CONH), 9.99(s, 1H, CONH), 9.26(t, 1H, CONH, J = 5.6Hz), 7.97(s, 1H, thiazole-H), 7.92(d, 2H, Ph-H, J = 8.6Hz), 7.72(d, 1H, Ph-H, J = 7.8Hz), 7.56(d, 2H, Ph-H, J = 8.5Hz), 7.37-7.19(m, 3H, Ph-H), 4.48(d, 2H, PhCH₂, J = 5.8Hz), 2.20(s, 3H, COCH₃). ESI-MS: 413.5(M+H)⁺, 435.4(M+Na)⁺, C

${}_{20}\text{H}_{17}\text{FN}_4\text{O}_3\text{S}$ 412.10

[0076] 实施例 19. 2-乙酰氨基-N-(2-((4-碘苯甲酰胺)甲基)苯基)噻唑-4-甲酰胺 (H14) 的制备

[0077] 如实施例 6, 不同的是所用的芳香酰氯为 4-碘苯甲酰氯。白色粉末状固体, 产率: 87%, mp: 241-244 °C. ${}^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3 , δ ppm): 12.27 (s, 1H, CONH), 9.98 (s, 1H, CONH), 9.22 (t, 1H, CONH, $J = 5.7\text{Hz}$), 7.97 (s, 1H, thiazole-H), 7.87 (d, 2H, Ph-H, $J = 8.3\text{Hz}$), 7.71-7.65 (m, 3H, Ph-H), 7.35-7.18 (m, 3H, Ph-H), 4.46 (d, 2H, PhCH_2 , $J = 5.7\text{Hz}$), 2.19 (s, 3H, COCH_3). ESI-MS: 521.3 (M+H)⁺, 543.2 (M+Na)⁺, $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{ClN}_4\text{O}_3\text{S}$ 520.01

[0078] 实施例 20. 2-乙酰氨基-N-(2-((4-硝基苯甲酰胺)甲基)苯基)噻唑-4-甲酰胺 (H15) 的制备

[0079] 如实施例 6, 不同的是所用的芳香酰氯为 4-硝基苯甲酰氯。白色针状结晶, 产率: 94%, mp: 146-150 °C. ${}^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3 , δ ppm): 12.27 (s, 1H, CONH), 9.99 (s, 1H, CONH), 9.26 (t, 1H, CONH, $J = 5.4\text{Hz}$), 7.97 (s, 1H, thiazole-H), 7.93-7.90 (m, 2H, Ph-H), 7.71 (d, 1H, Ph-H, $J = 7.8\text{Hz}$), 7.56 (d, 2H, Ph-H, $J = 8.4\text{Hz}$), 7.37-7.19 (m, 3H, Ph-H), 4.48 (d, 2H, PhCH_2 , $J = 5.6\text{Hz}$), 2.19 (s, 3H, COCH_3). ESI-MS: 440.5 (M+H)⁺, 462.3 (M+Na)⁺, $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{ClN}_4\text{O}_3\text{S}$ 439.10

[0080] 实施例 21. 2-乙酰氨基-N-(2-((4-甲氧基苯甲酰胺)甲基)苯基)噻唑-4-甲酰胺 (H16) 的制备

[0081] 如实施例 6, 不同的是所用的芳香酰氯为 4-甲氧基苯甲酰氯。白色针状结晶, 产率: 90%, mp: 193.2-199 °C. ${}^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3 , δ ppm): 12.27 (s, 1H, CONH), 10.08 (s, 1H, CONH), 9.03 (t, 1H, CONH, $J = 5.8\text{Hz}$), 7.98 (s, 1H, thiazole-H), 7.88 (d, 2H, Ph-H, $J = 8.8\text{Hz}$), 7.74 (d, 1H, Ph-H, $J = 7.5\text{Hz}$), 7.36-7.17 (m, 3H, Ph-H), 7.01 (d, 2H, Ph-H, $J = 8.8\text{Hz}$), 4.45 (d, 2H, PhCH_2 , $J = 5.8\text{Hz}$), 3.81 (s, 3H, PhOCH_3), 2.19 (s, 3H, COCH_3). ESI-MS: 425.4 (M+H)⁺, 447.4 (M+Na)⁺, $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}$ 424.12

[0082] 实施例 22. 2-乙酰氨基-N-(2-((5-氯噻吩-2-甲酰胺)甲基)苯基)噻唑-4-甲酰胺 (H17) 的制备

[0083] 如实施例 6, 不同的是所用的芳香酰氯为 5-氯噻吩-2-甲酰氯。黄色油状物, 产率: Yellow oil, yield: 88%. ${}^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3 , δ ppm): 12.32 (s, 1H, CONH), 9.85 (s, 1H, CONH), 9.43 (t, 1H, CONH, $J = 5.8\text{Hz}$), 7.97 (s, 1H, thiazole-H), 7.80 (d, 1H, thiophene-H, $J = 4.1\text{Hz}$), 7.69 (d, 1H, Ph-H, $J = 7.3\text{Hz}$), 7.36-7.19 (m, 4H, Ph-H, thiophene-H), 4.47 (d, 2H, PhCH_2 , $J = 5.8\text{Hz}$), 2.19 (s, 3H, COCH_3). ESI-MS: 435.3 (M+H)⁺, 457.3 (M+Na)⁺, $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{ClN}_4\text{O}_3\text{S}_2$ 434.03

[0084] 实施例 23. 2-乙酰氨基-N-(2-((2,4-二氯苯甲酰胺)甲基)苯基)噻唑-4-甲酰胺 (H18) 的制备

[0085] 如实施例 6, 不同的是所用的芳香酰氯为 2,4-二氯苯甲酰氯。白色针状结晶, 产率: 93%, mp: 188-192 °C. ${}^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3 , δ ppm): 12.28 (s, 1H, CONH), 9.74 (s, 1H, CONH), 9.08 (t, 1H, CONH, $J = 5.8\text{Hz}$), 7.96 (s, 1H, thiazole-H), 7.69-7.65 (m, 2H, Ph-H), 7.50-7.23 (m, 5H, Ph-H), 4.47 (d, 2H, PhCH_2 , $J = 5.9\text{Hz}$), 2.19 (s, 3H, COCH_3). ESI-MS: 463.3 (M+H)⁺, 485.3 (M+Na)⁺, $\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$ 462.03

[0086] 实施例 24. 2-乙酰氨基-N-(2-((2-萘甲酰胺)甲基)苯基)噻唑-4-甲酰胺

(H19) 的制备

[0087] 如实施例 6, 不同的是所用的芳香酰氯为 2- 萘甲酰氯。白色粉末状固体, 产率: 94%, mp: 233-235 °C. ¹H-NMR(400MHz, CDCl₃, δ ppm): 12.28 (s, 1H, CONH), 9.95 (s, 1H, CONH), 9.17 (t, 1H, CONH, J = 5.7Hz), 8.16-7.34 (m, 12H, Ph-H, Naphthalene-H), 4.57 (d, 2H, PhCH₂, J = 5.8Hz), 2.18 (s, 3H, COCH₃). ESI-MS: 445.5 (M+H)⁺, 467.4 (M+Na)⁺, C₂₄H₂₀N₄O₃S 444.13

[0088] 实施例 25. 2- 乙酰氨基 -N-(2-((4- 甲基苯磺酰胺) 甲基) 苯基) 噻唑 -4- 甲酰胺 (H20) 的制备

[0089] 如实施例 6, 不同的是所用的芳香酰氯为 4- 甲基苯磺酰氯。白色针状结晶, 产率: 88%, mp: 168-172 °C. ¹H-NMR(400MHz, CDCl₃, δ ppm): 12.21 (s, 1H, CONH), 9.48 (s, 1H, CONH), 7.94 (s, 1H, CONH), 7.88 (s, 1H, thiazole-H), 7.65 (d, 2H, Ph-H, J = 8.2Hz), 7.45-7.18 (m, 5H, Ph-H), 3.94 (d, 2H, PhCH₂, J = 4.5Hz), 2.32 (s, 3H, PhCH₃), 2.20 (s, 3H, COCH₃). ESI-MS: 445.5 (M+H)⁺, 467.4 (M+Na)⁺, C₂₄H₂₀N₄O₃S 444.09

[0090] 实施例 26. 2- 乙酰氨基 -N-(2-((芳香酰胺) 甲基) 苯基) 噻唑 -4- 甲酰胺衍生物的活性筛选试验:

[0091] 2- 乙酰氨基 -N-(2-((芳香酰胺) 甲基) 苯基) 噻唑 -4- 甲酰胺衍生物的抗凝血活性试验, 实验步骤如下:

[0092] (1) 贫血小板血浆 (platelet-poor-plasma, PPP) 的制备

[0093] 家兔心脏取血, 将配制好的枸橼酸钠抗凝剂以 V_血/V_{枸橼酸钠} = 9:1 加入全血中, 充分混匀后自然沉降 30min。之后将血液在离心机中以 3000r/min 的转速离心 10min, 得到 PPP。

[0094] (2) 药品溶液的配制

[0095] 称取 10 μmol 化合物, 加入 1mL 二甲基亚砷使其溶解并混匀, 得到 10⁴ μmol/L 的母液。

[0096] 加药组: 取 400 μL 贫血小板血浆 (PPP), 加入 100 μL 不同浓度的化合物溶液 (以 PPP 稀释化合物母液得到), 使得到的血浆中化合物的终浓度为 50 μM, 25 μM, 12.5 μM, 6.25 μM, 3.125 μM 五个梯度。

[0097] 空白对照组: 取 500 μL 贫血小板血浆 (PPP), 不加化合物溶液。

[0098] (3) 凝血酶原时间的测定

[0099] 加药组和空白对照组于 37 °C 下温育 1min, 之后于凝血酶原时间测定仪中测定化合物对凝血酶原时间的影响。

[0100] (4) 统计学处理

[0101] 通过测定凝血酶原时间, 对浓度 - 响应曲线的回归分析可以估算出能使凝血时间延长一倍 (CT2) 的化合物的浓度 (PTCT2)。由此指标衡量化合物的抗凝血活性。

[0102] 以利伐沙班为对照药, 化合物的活性列于表 2 中。由表 2 可以看出, 化合物 H10, H13, H14, H17 显示出了较显著的抗凝血活性, PTCT2 分别达到了 1.3, 3.1, 2.7, 1.0 μM, 可以作为 FXa 抑制剂的先导化合物加以利用。

[0103] 表 2. 化合物 H(1-20) 的抗凝血活性

[0104]

编号	Ar	PTCT2(μM)
H1	2-甲基苯基	73.4
H2	2-氯苯基	18.5
H3	2-氯-4-硝基苯基	35.2
H4	2-呋喃	33.9
H5	2-硝基苯基	212.0
H6	2-甲氧基苯基	2510.4
H7	3-溴苯基	13.2
H8	3-甲基苯基	139.7
H9	3-氯-2-吡啶	1625.7
H10	3-氟苯基	1.3
H11	4-溴苯基	18.7
H12	4-氯苯基	13.0
H13	4-氟苯基	3.1
H14	4-碘苯基	2.7
[0105] H15	4-硝基苯基	558.6
H16	4-甲氧基苯基	923.9
H17	5-氯-2-噻吩	1.0
H18	2,4-二氯苯基	33.4
H19	2-萘基	511.0
H20	对甲苯磺酰基	665.2
	利伐沙班	1.3

[0106] 2-乙酰氨基-N-(2-((芳香酰胺)甲基)苯基)噻唑-4-甲酰胺衍生物的 FXa 抑制活性试验,实验步骤如下:

[0107] (1) 配制 BSA buffer(牛血清白蛋白缓冲液)

[0108] 取 0.01mol (1.21g) 三(羟甲基)氨基甲烷盐酸盐,0.02mol (1.16g) 氯化钠,0.20g 牛血清白蛋白,加 100mL 三蒸水,摇匀,得到 0.1M 三(羟甲基)氨基甲烷盐酸盐-0.2M 氯化钠-0.2%牛血清白蛋白缓冲液 (pH = 7.4),待用。

[0109] (2) 药品溶液的配制

[0110] 取 10 μmol 化合物,加入 100 μL 二甲基亚砜,震荡,使溶解并混匀,得到 105 $\mu\text{mol/L}$ 的化合物母液。按递倍稀释法定量稀释至规定浓度,最终浓度分别为 1000 μM , 200 μM , 40 μM , 8 μM , 1.6 μM , 待用。

[0111] (3)FXa 抑制活性的测定

[0112] 于 96 孔板中,每孔加入 10 μ L 上述已配好的不同浓度的药液(空白组中加 5%二甲基亚砷 10 μ L),和 10 μ L 的 0.0625U/mL 的 human FXa,以 40 μ L 的 BSA 缓冲液 (pH7.4) 混合均匀。37 $^{\circ}$ C 下孵育 15min。之后加入 0.75M 发色底物 S-2222(40 μ L),震荡 10s 后,于室温下孵育 3h。酶标仪下测定各孔在 405nm 的吸光度。

[0113] (4) 统计学处理

[0114] FXa 抑制活性 = $1 - [(OD/min)_{sample} / (OD/min)_{control}]$ 。IC₅₀ 值由 FXa 抑制活性和化合物的浓度曲线得出。

[0115] 以利伐沙班为阳性对照药,其活性列于表 3 中。由表 3 可以看出,化合物 H10, H17 显示出了较显著的 FXa 抑制活性,IC₅₀ 分别达到了 9.4, 1.9 μ M, 接近对照药物利伐沙班。

[0116] 表 3. 化合物 H(1-20) 的 FXa 抑制活性数据

[0117]

编号	Ar	IC ₅₀ (μ M)
H1	2-甲基苯基	183.9
H2	2-氯苯基	34.4
H3	2-氯-4-硝基苯基	170.9
H4	2-呋喃	173.0
H5	2-硝基苯基	184.0
H6	2-甲氧基苯基	-
H7	3-溴苯基	37.5
H8	3-甲基苯基	182.7
H9	3-氯-2-吡啶	-
H10	3-氟苯基	9.4
H11	4-溴苯基	43.7
H12	4-氯苯基	46.3
H13	4-氟苯基	15.5
H14	4-碘苯基	26.6
H15	4-硝基苯基	197.8
H16	4-甲氧基苯基	511.9
H17	5-氯-2-噻吩	1.9
H18	2,4-二氯苯基	145.2
H19	2-萘基	214.7
H20	对甲苯磺酰基	221.9
	利伐沙班	3.3

[0119] $^{a}IC_{50}$: 半数 FXa 被抑制所需的化合物浓度。