

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2024 年 12 月 19 日 (19.12.2024)



(10) 国际公布号
WO 2024/255920 A1

(51) 国际专利分类号:

C07D 333/38 (2006.01) A61K 31/381 (2006.01)
C07D 333/40 (2006.01) A61K 31/4436 (2006.01)
C07D 405/12 (2006.01) A61K 31/4439 (2006.01)
C07D 417/12 (2006.01) A61K 31/427 (2006.01)
C07D 409/14 (2006.01) A61P 29/00 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2024/107199

(22) 国际申请日: 2024 年 7 月 24 日 (24.07.2024)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
202310699720.0 2023年6月14日 (14.06.2023) CN

(71) 申请人: 中国药科大学 (CHINA PHARMACEUTICAL UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道639号, Jiangsu 211198 (CN)。

(72) 发明人: 江程 (JIANG, Cheng); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道639号, Jiangsu 211198 (CN)。胡庆华 (HU, Qinghua); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道639号, Jiangsu 211198 (CN)。王雨杭 (WANG, Yuhang); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道639号, Jiangsu 211198 (CN)。周梦泽 (ZHOU, Mengze); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道639号, Jiangsu 211198 (CN)。王平平 (WANG, Pingping); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道639号, Jiangsu 211198 (CN)。高蕊 (GAO, Rui); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道639号, Jiangsu 211198 (CN)。李

(54) Title: THIOPHENE-2-CARBOXYLIC ACID DERIVATIVE, AND PREPARATION METHOD THEREFOR AND MEDICAL USE THEREOF

(54) 发明名称: 噻吩-2-羧酸衍生物、其制备方法及医药用途

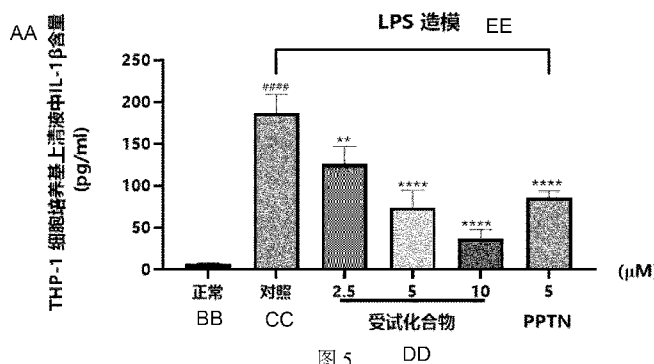
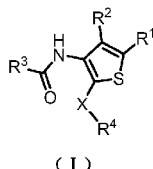


图 5
AA IL-1β content in the supernatant of THP-1 cell culture medium
BB Normal
CC Control
DD Test compound
EE LPS modeling

(57) Abstract: Provided are a thiophene-2-carboxylic acid derivative, and a preparation method therefor and the medical use thereof. Also provided are a thiophene-2-carboxylic acid derivative as represented by general formula (I), and an enantiomer, diastereoisomer, tautomer, N-oxide, solvate, physiologically hydrolysable ester, preparation and pharmaceutically acceptable salt thereof. Further provided are a thiophene-2-carboxylic acid derivative having an inhibitory effect on a P2Y₁₄ receptor and a pharmaceutically acceptable salt thereof. Pharmacological experiments show that the compound has a significant inhibitory effect on the P2Y₁₄ receptor, and can be particularly used as a drug for treating inflammatory diseases.

(57) 摘要: 提供了噻吩-2-羧酸衍生物、其制备方法及医药用途, 如通式(I)所示的噻吩-2-羧酸衍生物及其对映异构体、非对映异构体、互变异构体、N-氧化物、溶剂合物、生理可水解酯、制剂及药学上可接受的盐。提供了一类对P2Y₁₄受体有抑制作用的噻吩-2-羧酸衍生物及其可药用盐, 该类化合物通过药理学实验证实, 其对P2Y₁₄受体具有显著的抑制作用, 尤其可以作为治疗炎症疾病药物。

欣玥 (LI, Xinyue); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道639号, Jiangsu 211198 (CN)。

(74) 代理人: 南京苏高专利商标事务所 (普通合伙) (NANJING SUGAO PATENT AND TRADEMARK FIRM (ORDINARY PARTNERSHIP)); 中国江苏省南京市白下区中山东路 198 号龙台国际大厦1912室, Jiangsu 210005 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。
- 在修改权利要求的期限届满之前进行, 在收到该修改后将重新公布(细则48.2(h))。
- 包括关于请求恢复一项或多项优先权要求的信息(细则26之二.3和48.2(b)(vii))。

噻吩-2-羧酸衍生物、其制备方法及其医药用途

技术领域

本发明涉及化合物及其制法和用途，具体涉及噻吩-2-羧酸衍生物、其制备方法及其医药用途。

背景技术

当身体受到压力或损伤时，各种重要的细胞内分子，如腺苷-5'-三磷酸(ATP)和尿苷-5'-三磷酸(UTP)，会被特定的组织或器官释放到细胞外液中。这些核苷酸具有通过与细胞表面受体结合来调节先天和适应性免疫反应的能力，被结合的受体被鉴定为嘌呤能受体，主要分为腺苷(P1)和核苷酸(P2)受体。P2家族进一步被分为两个亚家族，P2X受体和P2Y受体(P2YRs)。P2YRs属于G蛋白偶联受体(GPCRs)家族，由P2Y1样受体(P2Y_{1,2,4,6,11})和P2Y_{12,13,14}样(P2Y_{12,13,14})组成。已经报道的G蛋白偶联受体的P2Y受体家族包含8种亚型(P2Y_{1,2,4,6,11,12,13,14})，广泛分布于各种细胞和组织中，而且各亚型之间同源性比较低，因此不同的亚型对配体具有很高的选择性。其中P2Y_{1,2,4,6}受体结合G_q并激活PLC途径；P2Y_{12,13,14}受体结合G_i抑制腺苷酸环化酶的活性；P2Y₄受体偶联G_q/G_i两种G蛋白；P2Y₁₁偶联G_q/G_s两种G蛋白。P2Y受体介导免疫调节、血小板聚集、平滑肌细胞增殖等一系列生物学效应。

P2Y₁₄受体被至少四种自然存在的UDP糖，特别是UDP葡萄糖(UDPG)激活。P2Y₁₄受体已被发现在一系列人类组织中广泛表达，包括大脑、心脏、脂肪组织、胎盘、肠道和造血干细胞。P2Y₁₄受体通过激活与其偶联的G_i蛋白，抑制腺苷酸环化酶(AC)，减少细胞内3',5'环磷酸腺苷(cAMP)的产生及相应的生物学效应。

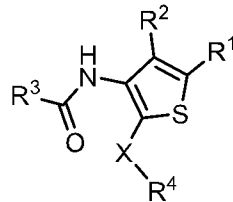
P2Y₁₄受体已被证明是先天免疫炎症性疾病的潜在靶点，如糖尿病、囊性纤维化、肾无菌性炎症、急性痛风性关节炎和过敏性疾病。P2Y₁₄受体可促进中性粒细胞和巨噬细胞的招募和趋化，释放促炎细胞因子、趋化因子和肥大细胞介质。在COVID-19引起的重症病例中，很大一部分严重病程是由系统性炎症引起的，称为“细胞因子风暴”。基于P2Y₁₄受体对中性粒细胞的作用和COVID-19致重症患者中发现的高水平UDPG，一种通过P2Y₁₄受体拮抗剂防止中性粒细胞趋化失控的机制被提出，以避免细胞因子风暴和全身炎症，从而降低患者死亡率。此外，P2Y₁₄受体基因被敲除可抑制巨噬细胞的募集和组织炎症，减轻高脂肪饮食诱导的胰岛素抵抗。另一项研究表明，糖原代谢也会增加巨噬细胞中UDPG的水平和P2Y₁₄受体的数量，阻断这一糖原代谢途径可有效抑制脂多糖(LPS)诱导的急性腹膜炎。综上所述，P2Y₁₄受体可能是先天性免疫系统疾病的潜在治疗靶点。

目前对P2Y₁₄受体拮抗剂的研究仅仅报道了4种结构类型的化合物(嘧啶并哌啶类、2-萘酸类、3-取代苯甲酸类和吡唑-3-羧酸类)，但还都在临床前研究阶段。其中活性和选择性最高的为2-萘酸类，然而目前报道的2-萘酸类结构的拮抗剂存在溶解性差、口服生物利用度低、合成纯化难度大等缺陷，给进一步讨论构效关系及生物学评价带来了较大的困难。因此寻找新结构类型的P2Y₁₄受体拮抗剂，改善2-萘酸类拮抗剂存在的成药性差等问题，成为发现活性强、选择性好的P2Y₁₄受体拮抗剂的新策略。

发明内容

发明目的：本发明的目的在于提供一类结构新颖的且具有P2Y₁₄受体拮抗作用的噻吩-2-羧酸衍生物及其可药用盐。本发明的另一个目的是提供一种上述噻吩-2-羧酸衍生物的制备方法。本发明还有一个目的是提供一种上述噻吩-2-羧酸衍生物在治疗炎症性疾病方面的应用。

技术方案：本发明所述的通式(I)所示的噻吩-2-羧酸衍生物及其对映异构体、非对映异构体、互变异构体、N-氧化物、溶剂合物、生理可水解酯、制剂及药学上可接受的盐：



(I)

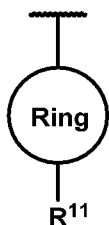
R^1 选自 $C_nH_{2n}-COOR^5$ 、 $C_nH_{2n}-CONHR^5$ 、 $C_nH_{2n}-CN$ 及四氮唑，其中 n 选自 0、1 及 2；

R^2 选自 H 或卤素；

R^3 选自 C_{5-10} 元单环芳基、含有 1~4 个选自 N、O 或 S 杂原子的 C_{5-14} 元单环杂芳基、 C_{3-10} 元环烷基或 C_{3-10} 元杂环烷基；所述 C_{5-10} 元单环芳基、含有 1~4 个选自 N、O 或 S 杂原子的 C_{5-14} 元单环杂芳基、 C_{3-10} 元环烷基或 C_{3-10} 元杂环烷基独立地任选地被 1 至 5 个选自下列的取代基取代： C_{1-6} 烷基、卤素、氰基、卤代 C_{1-4} 烷基、OH、 C_{1-6} 烷氧基、二甲氨基；

X 选自 O、S、NH；

R^4 选自：



其中，Ring 为 C_{5-7} 元单环芳基、含有 1~4 个选自 N、O 或 S 杂原子的 C_{5-7} 元单环杂芳基；

R^5 为 H、 C_{2-6} 烷基、 $C_{0-3}OOCCH_3$ 、 $C_{0-3}OCNMe_2$ 、 $C_{0-3}NMe_2$ ，其中， C_{2-6} 烷基未被取代或被 1 至 6 个选自下列的取代基取代：F、OH、 C_{1-3} 烷氧基、 C_{3-6} 环烷基、芳基；

其中， R^{11} 选自如下取代基：H、 NO_2 、CN、OH、 NH_2 、F、Cl、Br、I、 C_{1-6} 烷基、卤代- C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、卤代- C_{1-6} 烷氧基、 C_{0-6} 杂烷基- NR^7R^8 、 C_{0-6} 杂烷基- COR^8 、 C_{0-6} 杂烷基- CO_2R^8 、 C_{0-6} 杂烷基- $CONR^7R^8$ 、 C_{0-6} 杂烷基- SO_3R^8 、 C_{0-6} 杂烷基- $SO_2NR^7R^8$ ，或 R^{11} 中，两个毗邻的取代基形成含有碳原子及任选地含有 1-3 个选自 N、O 或 S 的杂原子的 3-8 元饱和或不饱和环；

R^7 为 H；

R^8 选自 H、 C_{1-10} 烷基、 C_{3-10} 环烷基、 C_{3-10} 杂环烷基、 C_{1-10} 杂烷基- C_{3-10} 环烷基， C_{1-10} 杂烷基- C_{3-10} 杂环烷基、 C_{1-10} 杂烷基-（5 元杂芳基），其中，所述 C_{1-10} 烷基、 C_{3-10} 环烷基、 C_{3-10} 杂环烷基、 C_{1-10} 杂烷基- C_{3-10} 环烷基， C_{1-10} 杂烷基- C_{3-10} 杂环烷基、 C_{1-10} 杂烷基-（5 元杂芳基）的烷基、亚烷基、环烷基、杂环烷基及杂芳基未被取代或独立地被 1-7 个选自下列的取代基取代： OR^9 、 C_{1-6} 烷基、 CO_2R^9 、 $CONR^9R^{10}$ 、 NR^9COR^9 、 C_{3-10} 杂环烷基； R^9 选自 H、 C_{1-6} 烷基，其中， C_{1-6} 烷基未被取代或被 1-6 个选自下列的取代基取

代：F、O-C₁₋₃ 烷基。

所述的噻吩-2-羧酸衍生物及其对映异构体、非对映异构体、互变异构体、N-氧化物、溶剂合物、生理可水解酯、制剂及药学上可接受的盐，R¹ 选自 CH₂COOR⁵、COOR⁵ 或 CONHR⁵；

R² 选自 H、F、Cl、Br；

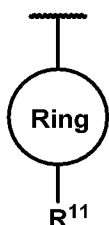
R³ 选自 C₅₋₆ 元单环芳基、含有 1~4 个选自 N、O 或 S 杂原子的 C₅₋₆ 元单环杂芳基、C₅₋₆ 元环烷基或 C₅₋₆ 元杂环烷基；所述 C₅₋₆ 元单环芳基、含有 1~4 个选自 N、O 或 S 杂原子的 C₅₋₆ 元单环杂芳基、C₅₋₆ 元环烷基或 C₅₋₆ 元杂环烷基独立地任选地被 1 至 5 个选自下列的取代基取代：C₁₋₆ 烷基、卤素、氰基、卤代 C₁₋₄ 烷基、OH、C₁₋₆ 烷氧基、二甲氨基。

所述的噻吩-2-羧酸衍生物及其对映异构体、非对映异构体、互变异构体、N-氧化物、溶剂合物、生理可水解酯、制剂及药学上可接受的盐，R¹ 选自 COOR⁵；

R² 选自 H 或 F；

R³ 选自苯基、吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、咪唑基；所述苯基、吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、咪唑基独立地任选地被 1 至 5 个选自下列的取代基取代：C₁₋₆ 烷基、卤素、氰基、卤代 C₁₋₄ 烷基、OH、C₁₋₆ 烷氧基、二甲氨基；X 选自 O、S、NH；

R⁴ 选自：

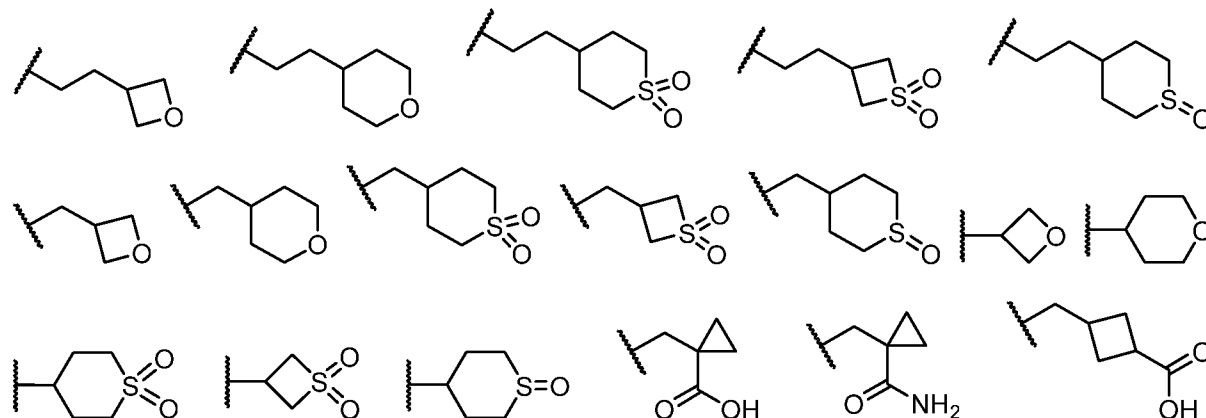


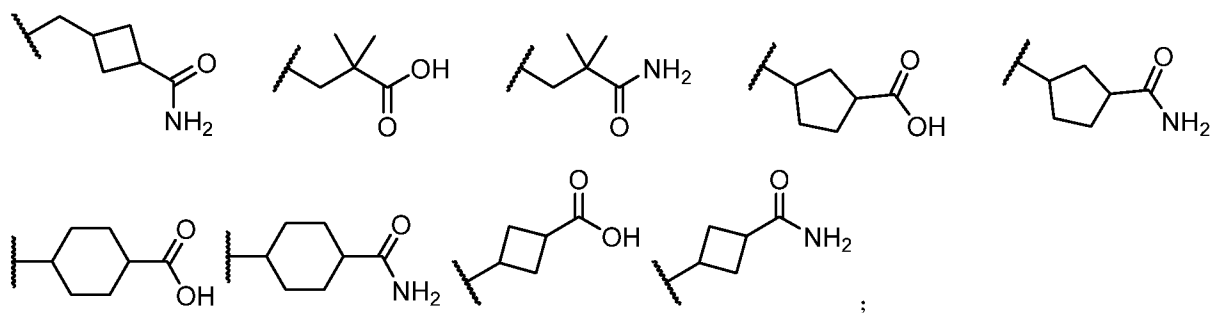
Ring 为苯基、吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、吡嗪基、吡咯基、噻吩基、呋喃基、噻唑基、异噻唑、咪唑基、吡唑基；

R⁵ 为 H、C₂H₅、C₂₋₃ 烷基-C₃₋₆ 环烷基、C₂₋₃ 烷基-芳基、C₂₋₃OOCCH₃、C₂₋₃OCNMe₂、C₂₋₃NMe₂；

R⁷ 为 H；

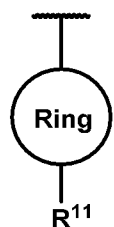
R⁸ 选自 H、C₁₋₆ 烷基、C₃₋₆ 环烷基、CH₂CONH₂、CH₂COMe₂、CH₂CH₂OH、CH₂CH₂Me、(CH₂)₃OH、(CH₃)₃OMe、(CH₂)₄OH、(CH₂)₄OMe、(CH₂)₅OH、(CH₂)₂COOH、(CH₂)₃COOH、(CH₂)₄COOH、(CH₂)₅COOH、(CH₂)₂CH(CH₃)COOH、C(CH₂OH)₃、C(CH₂OH)₂CH₃、CH₂CH(CH₃)OH、(CH₂)₂CF₃、(CH₂)₃CF₃、(CH₂)₄CF₃、





R^{11} 选自 H、 NO_2 、 CN 、 OH 、 NH_2 、 F 、 Cl 、 Br 、 I 、 C_{1-6} 烷基、卤代- C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、卤代- C_{1-6} 烷氧基、 COR^8 、 CONR^7R^8 、 CO_2R^8 、 $\text{SO}_2\text{NR}^7\text{R}^8$ 、 SO_3R^8 。

所述的噻吩-2-羧酸衍生物及其对映异构体、非对映异构体、互变异构体、N-氧化物、溶剂合物、生理可水解酯、制剂及药学上可接受的盐， R^4 选自：

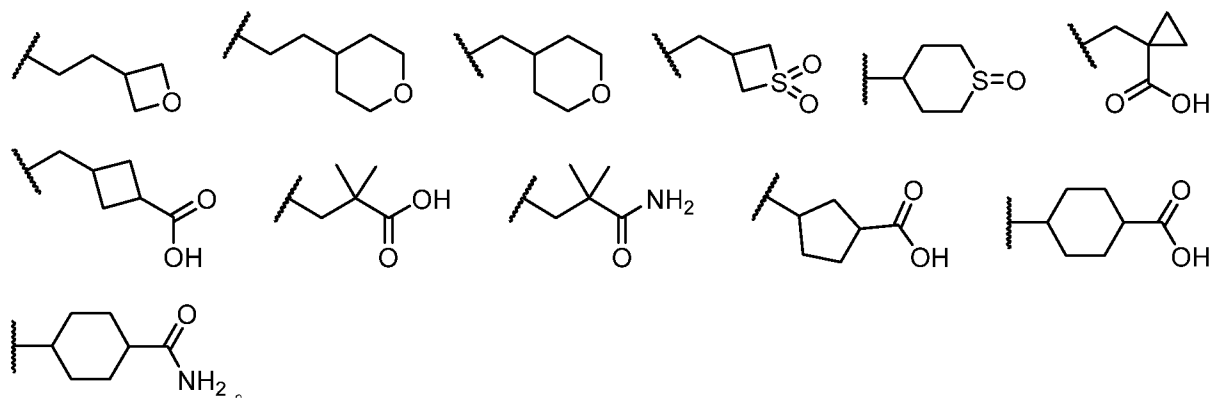


Ring 为苯基、嘧啶基、吡嗪基、异噻唑基；

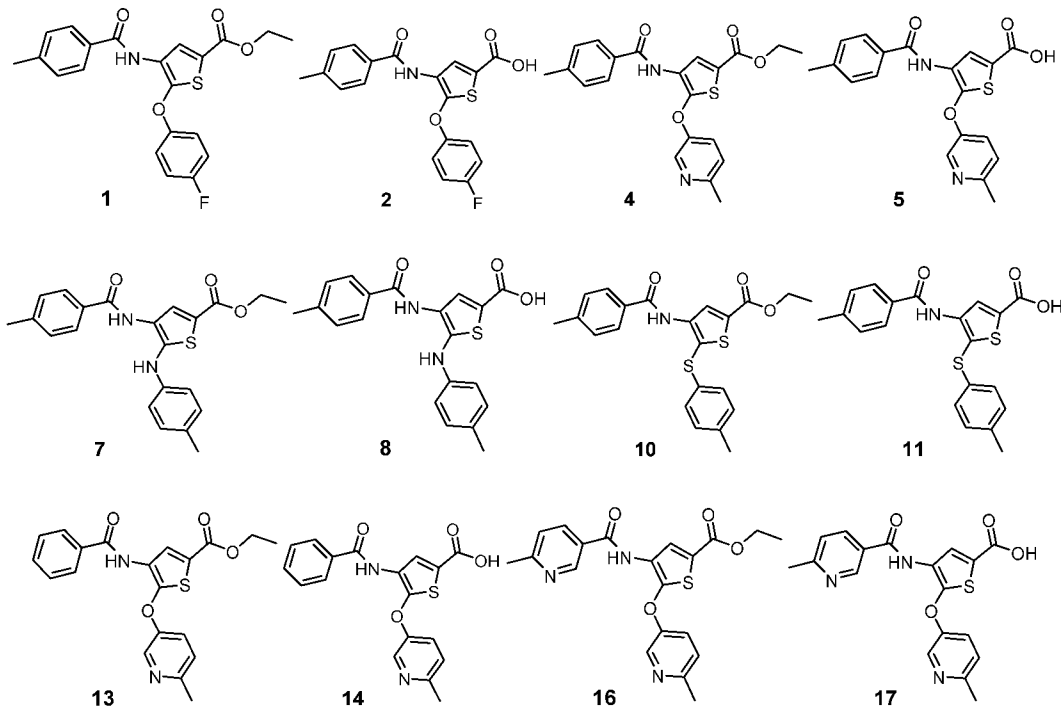
R^{11} 选自 H、 NO_2 、 CN 、 OH 、 NH_2 、 F 、 Cl 、 Br 、 I 、 C_{1-6} 烷基、卤代- C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、卤代- C_{1-6} 烷氧基、 CONR^7R^8 、 CO_2R^8 、 $\text{SO}_2\text{NR}^7\text{R}^8$ 、 SO_3R^8 ；

R^7 为 H；

R^8 选自 H、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、 CH_2CONH_2 、 CH_2COMe_2 、 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Me}$ 、 $(\text{CH}_2)_3\text{OH}$ 、 $(\text{CH}_3)_3\text{OMe}$ 、 $(\text{CH}_2)_4\text{OH}$ 、 $(\text{CH}_2)_4\text{OMe}$ 、 $(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$ 、 $(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$ 、 $(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$ 、 $(\text{CH}_2)_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{COOH}$ 、 $\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3$ 、 $\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_2\text{CH}_3$ 、 $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{OH}$ 、

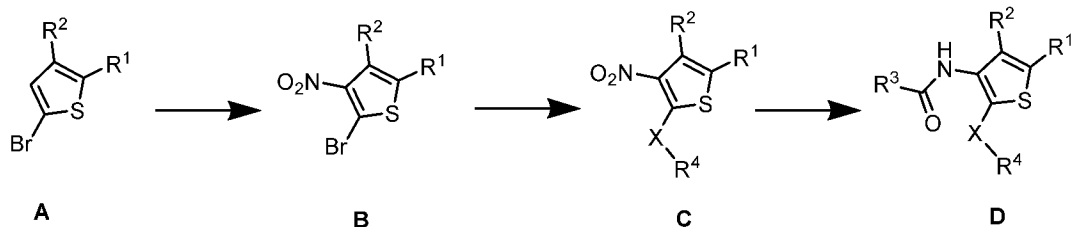


所述的噻吩-2-羧酸衍生物及其对映异构体、非对映异构体、互变异构体、N-氧化物、溶剂合物、生理可水解酯、制剂及药学上可接受的盐，通式 (I) 化合物优选自如下化合物：



所述的噻吩-2-羧酸衍生物及其对映异构体、非对映异构体、互变异构体、N-氧化物、溶剂合物、生理可水解酯、制剂及药学上可接受的盐的制备方法，包括如下步骤：

- (1) 通式化合物 A 进行硝化反应制得通式 B 化合物；
- (2) 通式化合物 B 与不同酚类衍生物进行取代反应制得通式化合物 C；
- (3) 通式化合物 C 先经硝基还原，再与不同羧酸或磺酸衍生物进行缩合反应，或不同的烃基衍生物进行取代反应、最后经脱保护基反应制得通式化合物 D；



化合物 D 即通式 (I) 化合物，R¹、R²、R³、R⁴ 及 X 同上述。

药物组合物，其中含有所述的通式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐及药学上可接受的辅料。

所述的通式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐、或所述的药物组合物在制备 P2Y₁₄ 受体拮抗剂药物中的用途。

所述的通式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐或所述的药物组合物在制备治疗炎症疾病药物中的用途。

所述的用途，所述药物添加药学上可接受的辅料制成不同剂型。

所述药学上可接受的辅料，是指制备不同剂型时加入所需的各种常规辅料，例如稀释剂、黏合剂、崩解剂、助流剂、润滑剂、矫味剂、包合材料、吸附材料等以常规的制剂方法制备成任何一种常用的口服制剂，例如可以是颗粒剂、散剂、片剂、胶囊剂、丸剂、口服液、汤剂、滴丸剂等。

有益效果：本发明与现有技术相比，具有如下优点：本发明公开了一类对 P2Y₁₄ 受

体有抑制作用的噻吩-2-羧酸衍生物及其可药用盐，该类化合物通过药理学实验证实，其对 P2Y₁₄ 受体具有显著的抑制作用，尤其可以作为治疗炎症疾病药物。

附图说明

图 1 是 THP-I 细胞 UDPG/P2Y₁₄ 受体信号通路下游蛋白相对表达，其中，数据是平均值±标准差 (n=4)，用 one-way anova 进行方差分析 (#### 代表与正常组比较 P<0.0001，* 代表与模型对照组比较 P<0.05，# 代表与模型对照组比较 P<0.01，*** 代表与模型对照组比较 P<0.001，**** 代表与模型对照组比较 P<0.0001)；

图 2 是 THP-I 细胞 UDPG/P2Y₁₄ 受体信号通路下游蛋白相对表达，其中，数据是平均值±标准差 (n=4)，用 one-way anova 进行方差分析 (#### 代表与正常组比较 P<0.0001，* 代表与模型对照组比较 P<0.05，# 代表与模型对照组比较 P<0.01，*** 代表与模型对照组比较 P<0.001，**** 代表与模型对照组比较 P<0.0001)；

图 3 是 THP-I 细胞 UDPG/P2Y₁₄ 受体信号通路下游蛋白相对表达，其中，数据是平均值±标准差 (n=4)，用 one-way anova 进行方差分析 (#### 代表与正常组比较 P<0.0001，* 代表与模型对照组比较 P<0.05，# 代表与模型对照组比较 P<0.01，*** 代表与模型对照组比较 P<0.001，**** 代表与模型对照组比较 P<0.0001)；

图 4 是 THP-I 细胞 UDPG/P2Y₁₄ 受体信号通路下游蛋白相对表达，其中，数据是平均值±标准差 (n=4)，用 one-way anova 进行方差分析 (#### 代表与正常组比较 P<0.0001，* 代表与模型对照组比较 P<0.05，# 代表与模型对照组比较 P<0.01，*** 代表与模型对照组比较 P<0.001，**** 代表与模型对照组比较 P<0.0001)；

图 5 是 THP-I 细胞培养基上清液中 IL-1β 水平，其中，数据是平均值±标准差，用 one-way anova 进行方差分析 (#### 代表与正常组比较 P<0.0001，* 代表与模型对照组比较 P<0.05，# 代表与模型对照组比较 P<0.01，*** 代表与模型对照组比较 P<0.001，**** 代表与模型对照组比较 P<0.0001)；

图 6 是小鼠腹腔液中各炎症因子的基因表达水平，其中，数据平均值±标准差，用 one-way anova 进行方差分析 (#### 代表与正常组比较 P<0.0001，* 代表与模型对照组比较 P<0.05，# 代表与模型对照组比较 P<0.01，*** 代表与模型对照组比较 P<0.001，**** 代表与模型对照组比较 P<0.0001)；

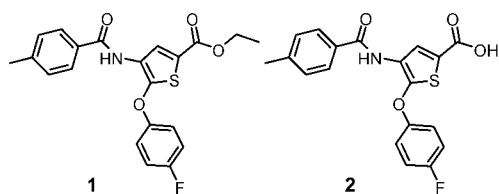
图 7 是小鼠腹腔液中各炎症因子的基因表达水平，其中，数据平均值±标准差，用 one-way anova 进行方差分析 (#### 代表与正常组比较 P<0.0001，* 代表与模型对照组比较 P<0.05，# 代表与模型对照组比较 P<0.01，*** 代表与模型对照组比较 P<0.001，**** 代表与模型对照组比较 P<0.0001)；

图 8 是小鼠腹腔液中各炎症因子的基因表达水平，其中，数据平均值±标准差，用 one-way anova 进行方差分析 (#### 代表与正常组比较 P<0.0001，* 代表与模型对照组比较 P<0.05，# 代表与模型对照组比较 P<0.01，*** 代表与模型对照组比较 P<0.001，**** 代表与模型对照组比较 P<0.0001)。

具体实施方式

下面通过实施例具体说明本发明的内容。在本发明中，以下所述的实施例是为了更好的阐述本发明，并不是用来限制本发明的范围。

实施例 1 和实施例 2



步骤一：5-溴-4-硝基噻吩-2-甲酸乙酯(1a)

将 5-溴噻吩-2-甲酸乙酯(5.00g, 21.27mmol)分批滴加到冷却到-20℃的发烟硝酸，控制温度不高于-20℃。加完在此温度下反应两个小时，TLC 监测反应完全。将反应液加至冰水中，用乙酸乙酯萃取（3 次）。合并有机相，用饱和食盐水洗涤，无水 Na_2SO_4 干燥。硅胶柱层析纯化（石油醚/乙酸乙酯=50:1），得到淡黄色固体 2.15g，产率 36.09%。 ^1H NMR (300 MHz, $\text{Chloroform-}d$) δ 8.15 (s, 1H), 4.38 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 1.39 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H)。

步骤二：5-(4-氟苯氧基)-4-硝基噻吩-2-甲酸乙酯(1b)

将 5-溴-4-硝基噻吩-2-甲酸乙酯(0.20g, 0.71mmol)溶于 N,N-二甲基甲酰胺(4mL)中，加入 K_2CO_3 (0.20g, 1.43mmol)和 4-氟苯酚(0.12g, 1.07mmol)，室温下搅拌混合物 4h。反应完全后，加水，乙酸乙酯萃取（3 次）。合并有机相，用饱和食盐水洗涤，无水 Na_2SO_4 干燥。硅胶柱层析纯化（石油醚/乙酸乙酯=20:1），得到淡黄色固体 0.21g，产率 94.48%。 ^1H NMR (300 MHz, $\text{Chloroform-}d$) δ (ppm) 8.13 (s, 1H), 7.31 (dt, $J = 6.7, 2.1$ Hz, 2H), 7.26 – 7.16 (m, 2H), 4.34 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 1.36 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H)。

步骤三：5-(4-氟苯氧基)-4-(4-甲基苯甲酰氨基)噻吩-2-甲酸乙酯(1)

将 5-(4-氟苯氧基)-4-硝基噻吩-2-甲酸乙酯(0.15g, 0.48mmol)溶于乙醇/水(10/1)(5ml)混合溶剂中，加入 NH_4Cl (0.26g, 4.82mmol)，0℃条件下缓慢加入铁粉(0.27g, 4.82mmol)，加入完毕后，继续搅拌 30min，85℃回流加热 4h。反应完全后，使用硅藻土过滤，减压除去溶剂得黄色油状物。

将上一步得到的产物溶于 4ml 无水四氢呋喃的混合溶剂中，0℃条件下缓慢滴加三乙胺(0.98g, 0.97mmol)和 4-甲基苯甲酰氯(0.97g, 0.63mmol)，加入完毕后，移至室温搅拌 4h。反应完全后，加水，乙酸乙酯萃取（3 次）。合并有机相，用饱和食盐水洗涤，无水 Na_2SO_4 干燥。硅胶柱层析纯化（石油醚/乙酸乙酯=8:1），得到淡黄色固体 0.14g，产率 73.46%。 ^1H NMR (300 MHz, $\text{Chloroform-}d$) δ 8.53 (s, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.75 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.33 (s, 3H), 7.23 – 7.08 (m, 4H), 4.37 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.46 (s, 3H), 1.40 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H)。

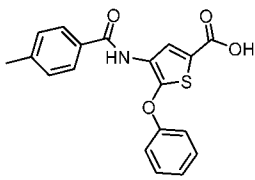
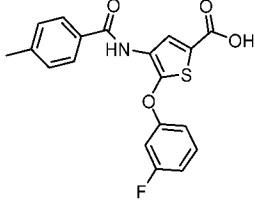
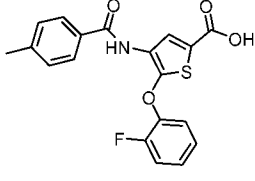
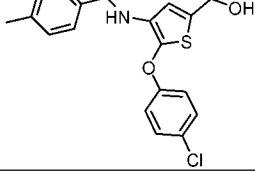
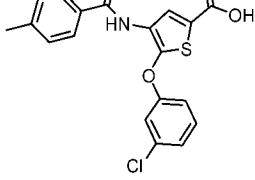
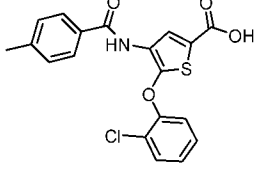
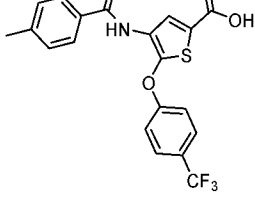
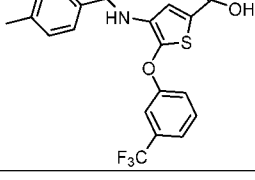
步骤四：5-(4-氟苯氧基)-4-(4-甲基苯甲酰氨基)噻吩-2-甲酸(2)

将 5-(4-氟苯氧基)-4-(4-甲基苯甲酰氨基)噻吩-2-甲酸乙酯(100mg, 0.253mmol)溶于甲醇/四氢呋喃(1/1)(2ml)混合溶剂中，加入 4mol/L 的 LiOH 溶液(1mL)，加毕，室温搅拌反应 5h。反应完全后，加入 1N 的 HCl 调至溶液 pH=2，继续搅拌 30min，过滤，得到白色固体 86mg，产率为 92.57%。 ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 10.10 (s, 1H), 7.81 (s, 1H), 7.77 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.29 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.27 – 7.21 (m, 4H), 2.36 (s, 3H)。

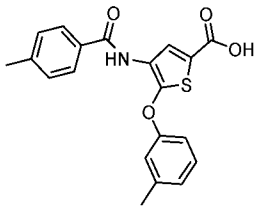
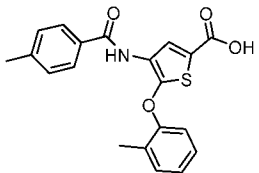
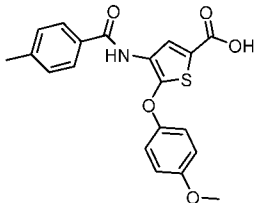
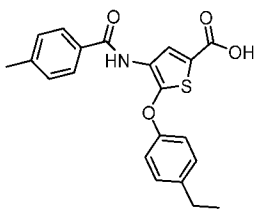
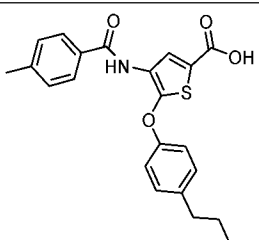
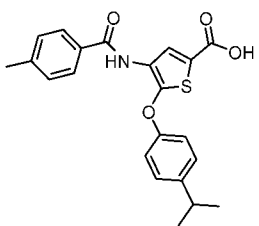
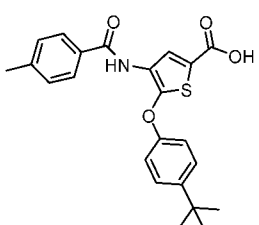
实施例 3

如实施例 1 及实施例 2 方法类似地制备下列化合物：

编号	结构式	核磁数据
----	-----	------

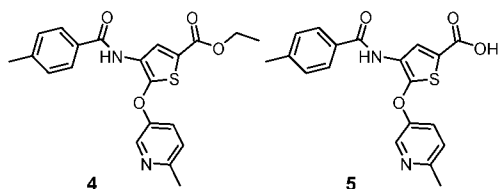
3-1		^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 10.13 (s, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.80 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.44 (dd, J = 8.5, 7.3 Hz, 2H), 7.30 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 7.26 – 7.16 (m, 3H), 2.38 (s, 3H).
3-2		^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 10.18 (s, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.76 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.44 (q, J = 7.6 Hz, 1H), 7.28 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.11 – 6.97 (m, 3H), 2.35 (s, 3H).
3-3		^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 10.26 (s, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.83 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 7.49 – 7.39 (m, 1H), 7.32 (d, J = 8.1 Hz, 3H), 7.29 – 7.21 (m, 2H), 2.39 (s, 3H).
3-4		^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 10.13 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.74 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.51 – 7.40 (m, 2H), 7.28 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 7.24 – 7.14 (m, 2H), 2.36 (s, 3H).
3-5		^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 10.17 (s, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.75 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.44 (t, J = 8.4 Hz, 1H), 7.30 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.28 – 7.23 (m, 2H), 7.20 – 7.10 (m, 1H), 2.37 (s, 3H).
3-6		^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 10.24 (s, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.82 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 7.60 (dd, J = 7.9, 1.6 Hz, 1H), 7.46 – 7.34 (m, 1H), 7.33 – 7.20 (m, 4H), 2.37 (s, 3H).
3-7		^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 10.21 (s, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.78 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.73 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 7.35 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.28 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 2.36 (s, 3H).
3-8		^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13.34 (s, 1H), 10.16 (s, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.70 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.64 (t, J = 8.1 Hz, 1H), 7.54 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.48 (d, J = 1.3 Hz, 2H), 7.27 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 2.35 (s, 3H).

3-9		^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 10.18 (s, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.82 – 7.70 (m, 4H), 7.45 – 7.35 (m, 2H), 7.31 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 2.37 (s, 3H).
3-10		^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 10.16 (s, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.73 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.43 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.32 – 7.25 (m, 4H), 2.37 (s, 3H).
3-11		^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 10.19 (s, 1H), 8.01 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 7.90 (s, 1H), 7.73 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.32 – 7.20 (m, 4H), 2.55 (s, 3H), 2.36 (s, 3H).
3-12		^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13.15 (s, 2H), 10.20 (s, 1H), 7.98 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.92 (s, 1H), 7.73 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 7.27 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 7.24 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 2.35 (s, 3H).
3-13		^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13.33 (s, 1H), 10.17 (s, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.87 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.69 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 7.32 – 7.21 (m, 4H), 2.34 (s, 3H).
3-14		^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 10.22 (s, 1H), 7.96 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.92 (s, 1H), 7.72 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.37 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 7.28 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 3.20 (s, 3H), 2.36 (s, 3H).
3-15		^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 10.11 (s, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.82 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.31 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.24 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.12 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 2.38 (s, 3H), 2.30 (s, 3H).

3-16		^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 10.09 (s, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.76 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.27 (dd, J = 8.0, 3.2 Hz, 3H), 7.05 – 6.92 (m, 3H), 2.35 (s, 3H), 2.29 (s, 3H).
3-17		^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 10.19 (s, 1H), 7.93 – 7.85 (m, 3H), 7.37 (dd, J = 7.8, 5.6 Hz, 3H), 7.34 – 7.27 (m, 1H), 7.27 – 7.15 (m, 2H), 2.43 (s, 3H), 2.35 (s, 3H).
3-18		^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 10.16 (s, 1H), 7.86 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 7.85 (s, 1H), 7.32 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 7.29 – 7.14 (m, 2H), 7.07 – 6.95 (m, 2H), 3.77 (s, 3H), 2.39 (s, 3H).
3-19		^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 10.12 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.79 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.27 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.23 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.11 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 2.57 (q, J = 7.6 Hz, 2H), 2.34 (s, 3H), 1.14 (t, J = 7.6 Hz, 3H).
3-20		^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13.12 (s, 1H), 10.06 (s, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.76 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.32 – 7.16 (m, 4H), 7.15 – 7.04 (m, 2H), 2.58 – 2.51 (m, 2H), 2.35 (s, 3H), 1.55 (h, J = 7.3 Hz, 2H), 0.85 (t, J = 7.3 Hz, 3H).
3-21		^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 10.09 (s, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.78 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.28 (dd, J = 8.4, 1.6 Hz, 4H), 7.12 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 2.89 (h, J = 6.9 Hz, 1H), 2.36 (s, 3H), 1.17 (d, J = 6.9 Hz, 6H).
3-22		^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 10.07 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.76 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.41 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.27 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.11 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 2.34 (s, 3H), 1.25 (s, 9H).

3-23		^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 10.12 (s, 1H), 10.05 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.82 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.63 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 7.31 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 7.18 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 2.38 (s, 3H), 2.05 (s, 3H).
3-24		^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 10.12 (s, 1H), 10.05 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.82 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.63 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 7.31 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 7.18 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 4.01 (dd, J = 13.5, 6.0 Hz, 2H), 3.80 (dd, J = 13.5, 6.1 Hz, 2H), 3.74 - 3.62 (m, 1H), 3.43 (t, J = 5.3 Hz, 2H), 2.39 (s, 3H).
3-25		^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 10.12 (s, 1H), 10.05 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.82 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.63 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 7.31 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 7.18 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 3.82 (ddd, J = 11.9, 7.1, 5.0 Hz, 2H), 3.74 - 3.62 (m, 1H), 3.38 (ddd, J = 11.6, 7.4, 4.9 Hz, 2H), 3.29 (td, J = 5.7, 4.4 Hz, 2H), 2.39 (s, 3H), 1.65 (dddd, J = 13.5, 7.3, 6.3, 5.0 Hz, 2H), 1.53 (q, J = 5.8 Hz, 2H).

实施例 4 和实施例 5



步骤一：5-((6-甲基吡啶-3-基)氧基)-4-硝基噻吩-2-甲酸乙酯(4b)

将 5-溴-4-硝基噻吩-2-甲酸乙酯(0.20g, 0.71mmol)溶于 N,N-二甲基甲酰胺(4mL)中, 加入 K_2CO_3 (0.20g, 1.43mmol)和 3-羟基-6-甲基吡啶(0.12g, 1.07mmol), 室温下搅拌混合物 4h。反应完全后, 加水, 乙酸乙酯萃取 (3 次)。合并有机相, 用饱和食盐水洗涤, 无水 Na_2SO_4 干燥。硅胶柱层析纯化 (石油醚/乙酸乙酯=20:1), 得到淡黄色固体 0.21g, 产率 94.48%。 ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 8.65 (d, J = 2.9 Hz, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.92 (dd, J = 8.6, 3.0 Hz, 1H), 7.47 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 4.27 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 2.55 (s, 3H), 1.25 (t, J = 7.1 Hz, 3H)。

步骤二：5-((6-甲基吡啶-3-基)氧基)-4-(4-甲基苯甲酰氨基)噻吩-2-甲酸乙酯 (4)

将 5-((6-甲基吡啶-3-基)氧基)-4-硝基噻吩-2-甲酸乙酯(0.15g, 0.49mmol)溶于乙醇/水(10/1)(5ml)混合溶剂中, 加入 NH_4Cl (0.26g, 4.87mmol), 0°C 条件下缓慢加入铁粉 (0.27g, 4.87mmol), 加入完毕后, 继续搅拌 30min, 85°C 回流加热 4h。反应完全后, 使用硅藻土过滤, 减压除去溶剂得黄色油状物。

将上一步得到的产物溶于 4ml 无水四氢呋喃的混合溶剂中, 0°C 条件下缓慢滴加三乙胺(0.98g, 0.97mmol)和 4-甲基苯甲酰氯(0.98g, 0.63mmol), 加入完毕后, 移至室温搅拌

4h。反应完全后，加水，乙酸乙酯萃取（3次）。合并有机相，用饱和食盐水洗涤，无水 Na_2SO_4 干燥。硅胶柱层析纯化（石油醚/乙酸乙酯=8:1），得到淡黄色固体 0.13g，产率 67.4%。 ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.16 (s, 1H), 8.38 (d, $J = 3.0$ Hz, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.76 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.53 (dd, $J = 8.6, 3.0$ Hz, 1H), 7.29 (dd, $J = 8.4, 2.3$ Hz, 3H), 4.27 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.45 (s, 3H), 2.36 (s, 3H), 1.28 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H)。

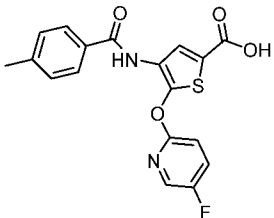
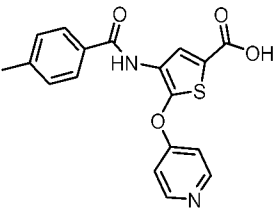
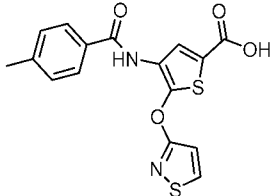
步骤三：5-（（6-甲基吡啶-3-基）氧基）-4-（4-甲基苯甲酰氨基）噻吩-2-甲酸(5)

将 5-（4-氟苯氧基）-4-（4-甲基苯甲酰氨基）噻吩-2-甲酸乙酯 (100.00mg, 0.253mmol) 溶于甲醇/四氢呋喃(1/1)(2ml)混合溶剂中，加入 4mol/L 的 LiOH 溶液 (1mL)，加毕，室温搅拌反应 5h。反应完全后，加入 1N 的 HCl 调至溶液 pH= 5~7，继续搅拌 30min，过滤，得到白色固体 75.5mg，产率为 77.75%。 ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.13 (s, 1H), 8.37 (d, $J = 3.0$ Hz, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.76 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H), 7.51 (dd, $J = 8.6, 3.0$ Hz, 1H), 7.28 (d, $J = 8.1$ Hz, 3H), 2.43 (s, 3H), 2.35 (s, 3H)。

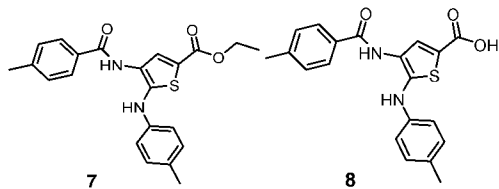
实施例 6

如实施例 4 及实施例 5 方法类似地制备下列化合物：

编号	结构式	核磁数据
6-1		^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 13.32 (s, 1H), 10.18 (s, 1H), 8.51 (d, $J = 2.9$ Hz, 1H), 8.39 (dd, $J = 4.6, 1.3$ Hz, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.73 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.59 (ddd, $J = 8.5, 3.0, 1.3$ Hz, 1H), 7.44 (dd, $J = 8.5, 4.6$ Hz, 1H), 7.28 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 2.35 (s, 3H).
6-2		^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.19 (s, 1H), 8.17 (dd, $J = 3.2, 1.6$ Hz, 1H), 7.91 – 7.80 (m, 2H), 7.76 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.31 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.26 (dd, $J = 8.9, 3.3$ Hz, 1H), 2.38 (s, 3H).
6-3		^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.17 (s, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.74 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H), 7.60 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H), 7.47 (t, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.29 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H), 6.53 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H), 6.31 (t, $J = 6.8$ Hz, 1H), 2.36 (s, 3H).
6-4		^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.13 (s, 1H), 8.37 (d, $J = 3.0$ Hz, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.76 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H), 7.51 (dd, $J = 8.6, 3.0$ Hz, 1H), 7.28 (d, $J = 8.1$ Hz, 3H), 2.43 (s, 3H), 2.35 (s, 3H).

6-5		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.09 (s, 1H), 8.33 (d, $J = 3.1$ Hz, 1H), 7.98 – 7.87 (m, 2H), 7.82 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.30 (td, $J = 6.5, 3.1$ Hz, 3H), 2.37 (s, 3H).
6-6		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.35 (s, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.77 (dd, $J = 8.0, 6.3$ Hz, 4H), 7.32 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 6.18 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H), 2.37 (s, 3H).
6-7		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.09 (s, 1H), 9.03 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.80 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.28 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.05 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 2.34 (s, 3H).

实施例 7 和实施例 8



步骤一：4-硝基-5-（对甲苯氨基）噻吩-2-甲酸乙酯(7b)

将 5-溴-4-硝基噻吩-2-甲酸乙酯(0.15g, 0.53mmol)溶于甲苯(3mL)中，加入醋酸钨(3.61mg, 0.016mmol)、BINAP(13.34mg, 0.021mmol)和碳酸铯(0.244g, 0.750mmol)，氩气保护，加入至 115℃，5min 之后加入 4-甲基苯胺(0.069g, 0.643mmol)，反应 4h。反应完全后，减压除去有机溶剂，硅胶柱层析纯化（石油醚/乙酸乙酯=15:1），得到淡黄色固体 0.92g，产率 56.09%。 $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.76 (s, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.43 – 7.37 (m, 2H), 7.31 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 4.21 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.35 (s, 3H), 1.23 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H)。

步骤二：4-（4-甲基苯甲酰氨基）-5-（对甲苯氨基）噻吩-2-甲酸乙酯(7)

将 4-硝基-5-（对甲苯氨基）噻吩-2-甲酸乙酯(0.15g, 0.49mmol)溶于乙醇/水(10/1)(5ml)混合溶剂中，加入 NH_4Cl (0.26g, 4.90mmol)，0℃条件下缓慢加入铁粉(0.27g, 4.90mmol)，加入完毕后，继续搅拌 30min，85℃回流加热 4h。反应完全后，使用硅藻土过滤，减压除去溶剂得黄色油状物。

将上一步得到的产物溶于 4ml 无水四氢呋喃的混合溶剂中，0℃条件下缓慢滴加三乙胺(0.99g, 0.99mmol)和 4-甲基苯甲酰氯(0.98g, 0.64mmol)，加入完毕后，移至室温搅拌 4h。反应完全后，加水，乙酸乙酯萃取（3 次）。合并有机相，用饱和食盐水洗涤，无水 Na_2SO_4 干燥。硅胶柱层析纯化（石油醚/乙酸乙酯=8:1），得到淡黄色固体 0.12g，产率 62.0%。 $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9.82 (s, 1H), 8.69 (s, 1H), 7.87 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.79 (s, 1H), 7.32 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.13 (s, 4H), 4.23 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.38 (s, 3H), 2.25 (s, 3H), 1.27 (t, $J = 7.1$ Hz, 4H)。

步骤三：4-(4-甲基苯甲酰氨基)-5-(对甲苯氨基)噻吩-2-甲酸(8)

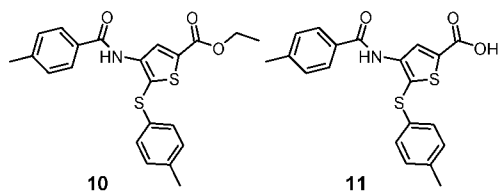
将 4-(4-甲基苯甲酰氨基)-5-(对甲苯氨基)噻吩-2-甲酸乙酯(100.00mg, 0.253mmol)溶于甲醇/四氢呋喃(1/1)(2ml)混合溶剂中, 加入 4mol/L 的 LiOH 溶液(1mL), 加毕, 室温搅拌反应 5h。反应完全后, 加入 1N 的 HCl 调至溶液 pH= 5~7, 继续搅拌 30min, 过滤, 得到白色固体 45.5mg, 产率为 49.0%。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.90 (s, 1H), 10.28 (s, 1H), 7.78 (d, J = 7.4 Hz, 2H), 7.53 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.39 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.11 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 2.40 (s, 3H), 2.25 (s, 3H)。

实施例 9

如实施例 7 及实施例 8 方法类似地制备下列化合物:

编号	结构式	核磁数据
9-1		¹ H NMR (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 11.91 (s, 1H), 10.27 (s, 1H), 7.78 (d, J = 7.4 Hz, 2H), 7.53 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.42 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.29 – 7.19 (m, 3H), 2.40 (s, 3H).
9-2		¹ H NMR (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 11.90 (s, 1H), 10.29 (s, 1H), 7.78 (d, J = 7.4 Hz, 2H), 7.69 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.39 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.28 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 2.42 (s, 3H).
9-3		¹ H NMR (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 11.90 (s, 1H), 10.28 (s, 1H), 7.78 (d, J = 7.4 Hz, 2H), 7.53 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.39 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.11 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 2.57 (q, J = 7.6 Hz, 2H), 2.40 (s, 3H), 1.14 (t, J = 7.6 Hz, 3H).
9-4		¹ H NMR (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 11.90 (s, 1H), 10.28 (s, 1H), 7.78 (d, J = 7.4 Hz, 2H), 7.53 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.39 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.11 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 2.89 (h, J = 6.9 Hz, 6H).

实施例 10 和实施例 11



步骤一：4-硝基-5-(对甲苯硫基)噻吩-2-甲酸乙酯(7b)

将 5-溴-4-硝基噻吩-2-甲酸乙酯(0.20g, 0.71mmol)溶于 N,N-二甲基甲酰胺(4mL)中, 加入 K₂CO₃(0.20g, 1.43mmol)和 4-甲基硫酚(0.13g, 1.07mmol), 室温下搅拌混合物 4h。

反应完全后,加水,乙酸乙酯萃取(3次)。合并有机相,用饱和食盐水洗涤,无水 Na_2SO_4 干燥。硅胶柱层析纯化(石油醚/乙酸乙酯=20:1),得到黄色固体 0.16g,产率 73.2%。 ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.10 (s, 1H), 7.74 – 7.64 (m, 2H), 7.51 – 7.42 (m, 2H), 4.24 (q, $J = 7.2$ Hz, 2H), 2.43 (s, 3H), 1.23 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H)。

步骤二: 4-(4-甲基苯甲酰氨基)-5-(对甲苯硫基)噻吩-2-甲酸乙酯(7)

将 4-硝基-5-(对甲苯硫基)噻吩-2-甲酸乙酯(0.15g, 0.46mmol)溶于乙醇/水(10/1)(5ml)混合溶剂中,加入 NH_4Cl (0.25g, 4.64mmol), 0°C 条件下缓慢加入铁粉(0.26g, 4.64mmol),加入完毕后,继续搅拌 30min, 85°C 回流加热 4h。反应完全后,使用硅藻土过滤,减压除去溶剂得黄色油状物。

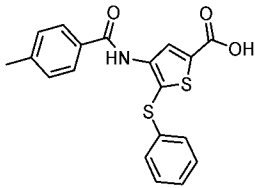
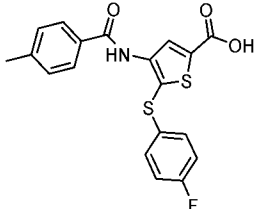
将上一步得到的产物溶于 4ml 无水四氢呋喃的混合溶剂中, 0°C 条件下缓慢滴加三乙胺(0.94g, 0.93mmol)和 4-甲基苯甲酰氯(0.94g, 0.60mmol),加入完毕后,移至室温搅拌 4h。反应完全后,加水,乙酸乙酯萃取(3次)。合并有机相,用饱和食盐水洗涤,无水 Na_2SO_4 干燥。硅胶柱层析纯化(石油醚/乙酸乙酯=8:1),得到淡黄色固体 0.11g,产率 57.6%。 ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.14 (s, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.82 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.33 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H), 7.27 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.19 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 4.27 (q, $J = 7.2$ Hz, 2H), 2.38 (s, 3H), 2.27 (s, 3H), 1.27 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H)。

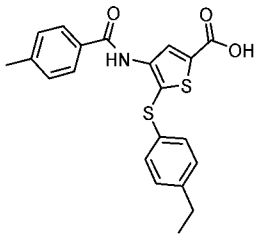
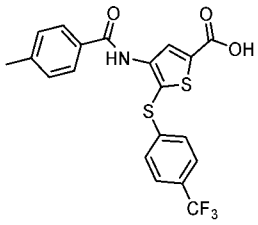
步骤三: 4-(4-甲基苯甲酰氨基)-5-(对甲苯硫基)噻吩-2-甲酸(8)

将 4-(4-甲基苯甲酰氨基)-5-(对甲苯硫基)噻吩-2-甲酸乙酯(100.00mg, 0.253mmol)溶于甲醇/四氢呋喃(1/1)(2ml)混合溶剂中,加入 4mol/L 的 LiOH 溶液(1mL),加毕,室温搅拌反应 5h。反应完全后,加入 1N 的 HCl 调至溶液 $\text{pH} = 4$,继续搅拌 30min,过滤,得到白色固体 88.7mg,产率为 95.0%。 ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.10 (s, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.83 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.31 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.23 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.16 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 2.36 (s, 3H), 2.25 (s, 3H)。

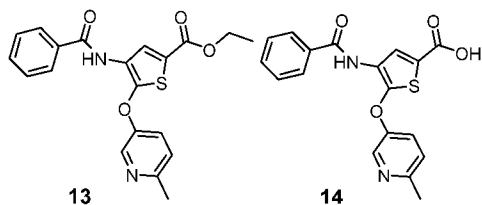
实施例 12

如实施例 10 及实施例 11 方法类似地制备下列化合物:

编号	结构式	核磁数据
12-1		^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.07 (s, 1H), 7.92 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.53 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.42 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.31 – 7.20 (m, 3H), 2.39 (s, 3H).
12-2		^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.08 (s, 1H), 7.92 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.53 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.42 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.28 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 2.39 (s, 3H).

12-3		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.09 (s, 1H), 7.92 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.53 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.42 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.28 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 2.57 (q, $J = 7.6$ Hz, 2H), 2.40 (s, 3H), 1.14 (t, $J = 7.6$ Hz, 3H).
12-4		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.08 (s, 1H), 7.98 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.64 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H), 7.51 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.40 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H), 2.39 (s, 3H).

实施例 13 和实施例 14



步骤一：5-((6-甲基吡啶-3-基)氧基)-4-(苯甲酰氨基)噻吩-2-甲酸乙酯(13)

将 5-((6-甲基吡啶-3-基)氧基)-4-硝基噻吩-2-甲酸乙酯(0.15g, 0.49mmol)溶于乙醇/水(10/1)(5ml)混合溶剂中, 加入 NH_4Cl (0.26g, 4.87mmol), 0°C 条件下缓慢加入铁粉(0.27g, 4.87mmol), 加入完毕后, 继续搅拌 30min, 85°C 回流加热 4h。反应完全后, 使用硅藻土过滤, 减压除去溶剂得黄色油状物。

将上一步得到的产物溶于 4ml 无水四氢呋喃的溶剂中, 0°C 条件下缓慢滴加三乙胺(0.98g, 0.97mmol)和苯甲酰氯(0.85g, 0.63mmol), 加入完毕后, 移至室温搅拌 4h。反应完全后, 加水, 乙酸乙酯萃取(3 次)。合并有机相, 用饱和食盐水洗涤, 无水 Na_2SO_4 干燥。硅胶柱层析纯化(石油醚/乙酸乙酯=8:1), 得到淡黄色固体 0.11g, 产率 57.6%。 $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.36 (s, 1H), 8.55 (d, $J = 2.9$ Hz, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.83 (m, 3H), 7.63 – 7.44 (m, 4H), 4.29 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.53 (s, 3H), 1.28 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H)。

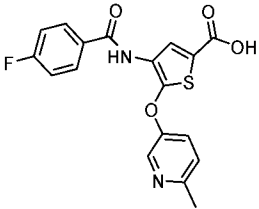
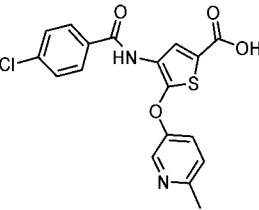
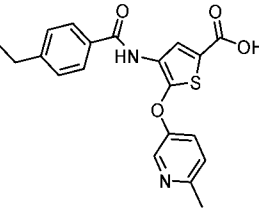
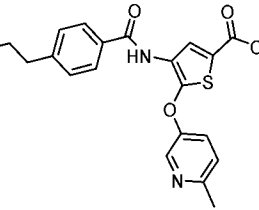
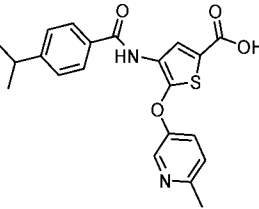
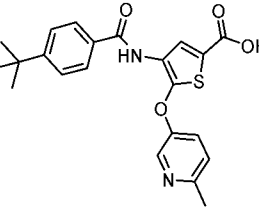
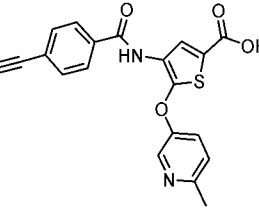
步骤二：5-((6-甲基吡啶-3-基)氧基)-4-(苯甲酰氨基)噻吩-2-甲酸(14)

将 5-((6-甲基吡啶-3-基)氧基)-4-(苯甲酰氨基)噻吩-2-甲酸乙酯(100.00mg, 0.262mmol)溶于甲醇/四氢呋喃(1/1)(2ml)混合溶剂中, 加入 4mol/L 的 LiOH 溶液(1mL), 加毕, 室温搅拌反应 5h。反应完全后, 加入 1N 的 HCl 调至溶液 $\text{pH} = 4$, 继续搅拌 30min, 过滤, 得到白色固体 83.5mg, 产率为 90.1%。 $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.27 (s, 1H), 8.38 (d, $J = 3.1$ Hz, 1H), 7.84 (dd, $J = 9.6, 2.6$ Hz, 3H), 7.62 – 7.50 (m, 2H), 7.50 – 7.41 (m, 2H), 7.28 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 2.43 (s, 3H)。

实施例 15

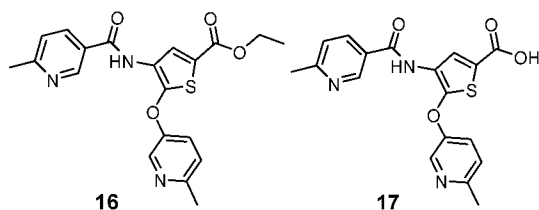
如实施例 13 及实施例 14 方法类似地制备下列化合物:

编号	结构式	核磁数据
----	-----	------

15-1		^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13.27 (s, 1H), 10.27 (s, 1H), 8.38 (d, J = 3.0 Hz, 1H), 7.93 (dd, J = 8.9, 5.4 Hz, 2H), 7.85 (s, 1H), 7.53 (dd, J = 8.5, 3.0 Hz, 1H), 7.33 (m, 3H), 2.45 (s, 3H).
15-2		^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 10.34 (s, 1H), 8.40 (d, J = 3.1 Hz, 1H), 7.85 (d, J = 1.6 Hz, 3H), 7.62 – 7.51 (m, 3H), 7.33 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 2.46 (s, 3H).
15-3		^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 10.15 (s, 1H), 8.39 (d, J = 3.0 Hz, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.77 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.54 (dd, J = 8.5, 2.9 Hz, 1H), 7.31 (d, J = 8.1 Hz, 3H), 2.65 (q, J = 7.5 Hz, 2H), 2.45 (s, 3H), 1.18 (t, J = 7.6 Hz, 3H).
15-4		^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 10.18 (s, 1H), 8.45 (d, J = 3.0 Hz, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.76 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.66 (dd, J = 8.6, 2.9 Hz, 1H), 7.41 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.29 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 2.60 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 2.48 (s, 3H), 1.59 (h, J = 7.3 Hz, 2H), 0.88 (t, J = 7.3 Hz, 3H).
15-5		^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 10.26 (s, 1H), 8.47 (d, J = 3.0 Hz, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.77 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.72 (dd, J = 8.6, 2.9 Hz, 1H), 7.45 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.33 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 2.92 (p, J = 7.0 Hz, 1H), 1.19 (d, J = 6.9 Hz, 6H).
15-6		^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 10.23 (s, 1H), 8.48 (d, J = 3.0 Hz, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.81 – 7.74 (m, 2H), 7.70 (dd, J = 8.6, 3.0 Hz, 1H), 7.50 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.45 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 2.50 (s, 3H), 1.29 (s, 9H).
15-7		^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 10.34 (s, 1H), 8.38 (d, J = 3.1 Hz, 1H), 7.84 (t, J = 4.3 Hz, 3H), 7.63 – 7.49 (m, 3H), 7.31 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 4.42 (s, 1H), 2.45 (s, 3H).

15-8		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 13.32 (s, 1H), 10.55 (s, 1H), 8.39 (d, $J = 3.0$ Hz, 1H), 7.99 (s, 4H), 7.88 (s, 1H), 7.54 (dd, $J = 8.5, 3.0$ Hz, 1H), 7.31 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 2.45 (s, 3H).
15-9		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.49 (s, 1H), 8.38 (d, $J = 3.0$ Hz, 1H), 8.03 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.87 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H), 7.53 (dd, $J = 8.5, 3.0$ Hz, 1H), 7.29 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 2.44 (s, 3H).
15-10		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 13.21 (s, 1H), 10.06 (s, 1H), 8.37 (d, $J = 3.0$ Hz, 1H), 7.84 (d, $J = 8.6$ Hz, 3H), 7.51 (dd, $J = 8.6, 3.0$ Hz, 1H), 7.29 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.01 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 3.81 (s, 3H), 2.44 (s, 3H).
15-11		$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.45 (s, 1H), 8.38 (d, $J = 3.1$ Hz, 1H), 8.02 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.93 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.86 (s, 1H), 7.54 (dd, $J = 8.6, 3.1$ Hz, 1H), 7.30 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 2.44 (s, 3H).

实施例 13 和实施例 14



步骤一：4-（6-甲基烟酰胺基）-5-（（6-甲基吡啶-3-基）氧基）噻吩-2-甲酸乙酯(16)

将 5-（（6-甲基吡啶-3-基）氧基）-4-硝基噻吩-2-甲酸乙酯(0.15g, 0.49mmol)溶于乙醇/水(10/1)(5ml)混合溶剂中，加入 NH_4Cl (0.26g, 4.87mmol)，0℃条件下缓慢加入铁粉(0.27g, 4.87mmol)，加入完毕后，继续搅拌 30min，85℃回流加热 4h。反应完全后，使用硅藻土过滤，减压除去溶剂得黄色油状物。

将上一步得到的产物溶于 4ml 无水二氯甲烷的溶剂中，依次加入 6-甲基烟酰胺(0.10g, 0.73mmol)，三乙胺(0.10g, 0.97mmol)和卡特缩合剂(PyBOP)(0.38mg, 0.73mmol)，加入完毕后，室温搅拌反应 10h。反应完全后，过滤除去不溶物，滤液加入水，乙酸乙酯萃取（3 次），合并有机相，用饱和食盐水洗涤，无水 Na_2SO_4 干燥。硅胶柱层析纯化（石油醚/乙酸乙酯=2:1），得到白色固体 0.09g, 产率 43.6%。 $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.43 (s, 1H), 8.87 (d, $J = 3.0$ Hz, 1H), 8.40 (d, $J = 2.9$ Hz, 1H), 8.09 (dd, $J = 8.1, 2.4$ Hz, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.56 (dd, $J = 8.5, 3.0$ Hz, 1H), 7.39 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.31 (d, $J = 8.5$ Hz,

1H), 4.28 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 2.53 (s, 3H), 2.45 (s, 3H), 1.28 (t, J = 7.1 Hz, 3H)。

步骤二：4-（6-甲基烟酰胺基）-5-（（6-甲基吡啶-3-基）氧基）噻吩-2-甲酸(17)

将 4-（6-甲基烟酰胺基）-5-（（6-甲基吡啶-3-基）氧基）噻吩-2-甲酸乙酯（100.00mg, 0.262mmol）溶于甲醇/四氢呋喃(1/1)(2ml)混合溶剂中，加入 4mol/L 的 LiOH 溶液(1mL)，加毕，室温搅拌反应 5h。反应完全后，加入 1N 的 HCl 调至溶液 pH= 5~6，继续搅拌 30min，过滤，得到白色固体 56.0mg，产率为 60.3%。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.11 (s, 1H), 8.54 (s, 1H), 8.04 (d, J = 3.0 Hz, 1H), 7.76 (d, J = 9.6 Hz, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.19 (dd, J = 8.5, 3.1 Hz, 1H), 7.03 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 6.95 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 2.18 (s, 3H), 2.10 (s, 3H)。

实施例 18

如实施例 16 及实施例 17 方法类似地制备下列化合物：

编号	结构式	核磁数据
18-1		¹ H NMR (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 10.32 (s, 1H), 8.51 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 8.44 (d, J = 3.0 Hz, 1H), 8.01 (d, J = 7.0 Hz, 2H), 7.85 (dd, J = 8.0, 2.5 Hz, 1H), 7.61 (dd, J = 8.5, 3.0 Hz, 1H), 7.31 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 2.46 (s, 3H), 2.39 (s, 3H).
18-2		¹ H NMR (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 10.46 (s, 1H), 9.10 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 8.65 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 8.42 (d, J = 3.0 Hz, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.60 (dd, J = 8.5, 3.0 Hz, 1H), 7.31 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 2.60 (s, 3H), 2.45 (s, 3H).
18-3		¹ H NMR (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 10.61 (s, 1H), 9.04 (s, 2H), 8.41 (d, J = 3.0 Hz, 1H), 7.91 (s, 1H), 7.58 (dd, J = 8.6, 3.0 Hz, 1H), 7.33 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 2.68 (s, 3H), 2.45 (s, 3H).
18-4		¹ H NMR (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 9.82 (s, 1H), 8.36 (d, J = 2.9 Hz, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.74 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 7.49 (dd, J = 8.5, 3.0 Hz, 1H), 7.28 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.70 (d, J = 9.2 Hz, 2H), 2.97 (s, 6H), 2.43 (s, 3H).
18-5		¹ H NMR (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 13.28 (s, 1H), 9.88 (s, 1H), 8.37 (d, J = 3.0 Hz, 1H), 8.26 (s, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.50 (dd, J = 8.5, 3.0 Hz, 1H), 7.29 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 3.85 (s, 3H), 2.44 (s, 3H).

本发明中通式 I 的部分化合物的药理学实验及结果如下：
实验方法：

稳转 P2Y₁₄ 受体的 HEK293 细胞株培养于 DMEM 培养基中（含 10%胎牛血清、100U/ml 青霉素和 100μg/ml 链霉素），实验前接种至培养板，改用无血清培养基，接种密度为 1×10⁵ 个细胞/孔，细胞于 37℃、95%O₂、5%CO₂ 湿度条件下培养。加入 IBMX 抑制 PDEs 活性，以保证 cAMP 在一个较高的水平上。采用 AC 激动剂 Forskolin（30μM）刺激细胞 cAMP 的产生，预先加入不同浓度的受试化合物（0.01、0.1、1、10、100nm），以 PPTN 作为阳性对照。随后加入 1μM 的 P2Y₁₄ 受体激动剂 UDPG，4 h 后 cAMP GloTM Assay 试剂盒（PROMEGA Co. Ltd，美国）检测细胞内 cAMP 的含量。根据 cAMP 含量计算其抑制率值。

表 1 部分化合物在细胞水平对 P2Y₁₄ 受体的抑制率值：

编号	Inhibition @ 100nM	编号	Inhibition @ 100nM	编号	Inhibition @ 100nM
2	70.40%	3-21	54.29%	12-3	67.55%
3-1	44.14%	3-22	34.62%	12-4	82.45%
3-2	69.61%	3-23	81.09%	14	86.87%
3-3	66.04%	3-24	75.64%	15-1	75.65%
3-4	30.93%	3-25	49.53%	15-2	75.44%
3-5	36.21%	5	99.37%	15-3	46.44%
3-6	40.44%	6-1	61.99%	15-4	85.64%
3-7	62.62%	6-2	88.39%	15-5	78.65%
3-8	52.83%	6-3	74.88%	15-6	86.14%
3-9	57.06%	6-4	81.35%	15-7	94.63%
3-10	32.73%	6-5	75.54%	15-8	76.44%
3-11	34.45%	6-6	43.55%	15-9	82.14%
3-12	44.14%	6-7	60.26%	15-10	91.34%
3-13	46.24%	8	75.62%	15-11	79.31%
3-14	62.81%	9-1	82.35%	17	65.11%
3-15	88.39%	9-2	55.67%	18-1	45.11%
3-16	55.84%	9-3	71.45%	18-2	48.19%
3-17	45.83%	9-4	59.76%	18-3	56.17%
3-18	69.80%	11	75.64%	18-4	46.78%
3-19	67.36%	12-1	57.55%	18-5	45.75%
3-20	66.32%	12-2	61.38%		

受试化合物抑制 LPS 诱导的巨噬细胞炎症反应的药理研究实验方法

人 THP-1 细胞培养于 RPMI-1640 培养基中（含 10%胎牛血清，100 U/ml 青霉素和 100 μg/ml 链霉素），实验前接种至培养板，接种密度为 1×10⁵ 个细胞/孔，细胞于 37℃、95% O₂、5% CO₂ 湿度条件下培养。实验前每孔加入 100 ng/ml PMA 孵育 24 h 诱导 THP-1 细胞分化为巨噬细胞。预先向培养基中加入受试化合物 5（2.5、5、10 μM）和 PPTN（5 μM）进行干预，1 h 后向细胞中加入终浓度为 100ng/ml 的 LPS，3h 后再加入终浓度为 5mM 的 ATP，1 h 后测定如下指标：

Western Blot 法检测细胞中 UDPG/P2Y₁₄ 受体信号通路下游蛋白的表达，结果如图

1-4 所示, LPS 造成 THP-1 细胞的 P_2Y_{14} 受体下游相关蛋白表达显著升高, 提示造模成功; 不同剂量受试化合物能够不同程度的下调 P_2Y_{14} 受体下游相关蛋白表达, 与模型对照组比较均体现出显著性差异; PPTN 也体现出了预期的效果, 表明实验结果真实可信;

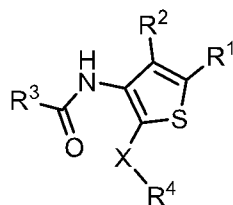
按 ELISA 试剂盒 (深圳欣博盛) 方法检测细胞培养基上清液中 IL-1 β 的水平, 结果如图 5 所示, LPS 造成 THP-1 细胞培养基上清液中 IL-1 β 水平显著升高, 提示造模成功; 不同剂量受试化合物能够不同程度的下调细胞培养基上清液中 IL-1 β 水平, 与模型对照组比较均体现出显著性差异; PPTN 也体现出了预期的效果, 表明实验结果真实可信。

受试化合物在整体动物水平对急性腹膜炎的治疗作用的药理实验研究方法

雄性清洁级 ICR 小鼠, 自由水食, 每天 12 h 照明, 环境温度为 $25\pm 2^\circ\text{C}$ 。动物分为若干组: 正常对照组、模型对照组、给药组 (受试化合物和地塞米松), 采用一次性腹腔注射 LPS 诱导急性腹膜炎模型, 而正常对照组采用等量的生理盐水注射入关节腔。各给药组通过关节腔注射给予受试化合物 5 (5、10、20 mg/kg)、地塞米松 (10 mg/kg)。注射后 6h, 注入 8mLPBS 收集腹膜腔液。检测收集液中各炎性因子的水平, 结果如图 6-8 所示, LPS 造成小鼠腹膜腔液中个炎性因子的基因表达水平显著升高, 提高造模成功; 不同剂量受试化合物能够与不同程度的下调个炎性因子的基因表达水平, 与模型对照组比较均体现出显著性差异; 地塞米松也体现了预期的效果, 表明实验结果真实可信。

权 利 要 求 书

1、通式(I)所示的噻吩-2-羧酸衍生物及其互变异构体及药学上可接受的盐：



(I)

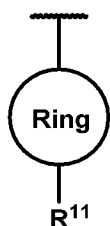
R¹ 选自 COOR⁵；

R² 选自 H 或卤素；

R³ 选自苯基、吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、咪唑基；所述苯基、吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、咪唑基独立地任选地被 1 至 5 个选自下列的取代基取代：C₁₋₆ 烷基、卤素、氰基、羧基、乙酰基、甲磺酰基、卤代 C₁₋₄ 烷基、卤代 C₁₋₄ 烷氧基、OH、C₁₋₆ 烷氧基、二甲氨基；

X 选自 O、S、NH；

R⁴ 选自：

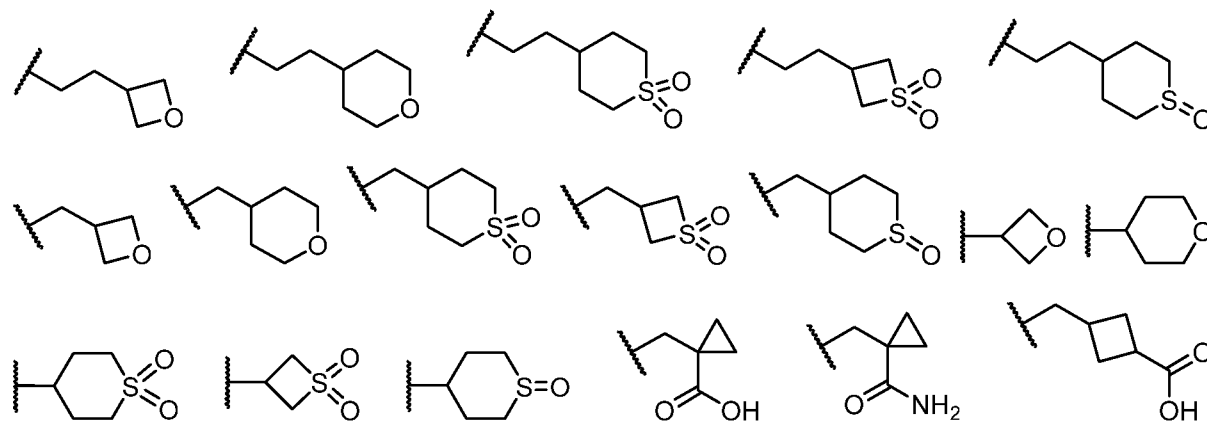


Ring 为苯基、吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、吡咯基、噻吩基、呋喃基、噻唑基、异噻唑、咪唑基、吡唑基；

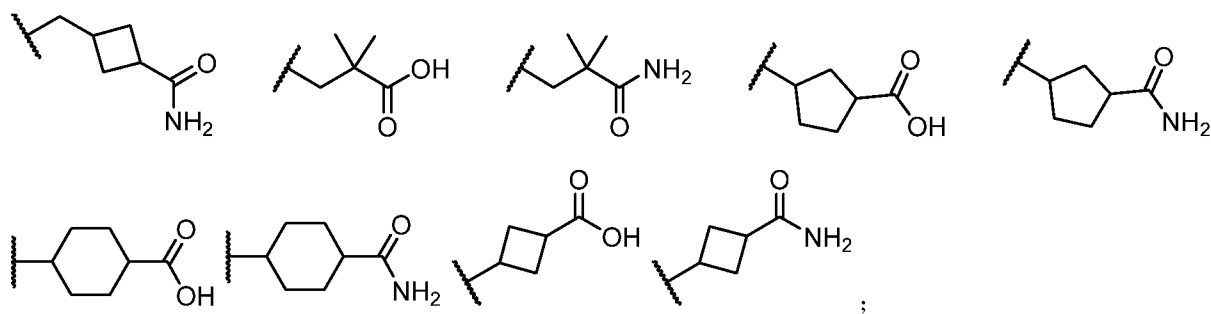
R⁵ 为 H、C₂₋₄ 烷基、C₂₋₃ 烷基-C₃₋₆ 环烷基、C₂₋₃OOCCH₃、C₂₋₃OCNMe₂、C₂₋₃NMe₂；

R⁷ 为 H；

R⁸ 选自 H、C₁₋₆ 烷基、C₃₋₆ 环烷基、CH₂CONH₂、CH₂COMe₂、CH₂CH₂OH、CH₂CH₂Me、(CH₂)₃OH、(CH₃)₃OMe、(CH₂)₄OH、(CH₂)₄OMe、(CH₂)₅OH、(CH₂)₂COOH、(CH₂)₃COOH、(CH₂)₄COOH、(CH₂)₅COOH、(CH₂)₂CH(CH₃)COOH、C(CH₂OH)₃、C(CH₂OH)₂CH₃、CH₂CH(CH₃)OH、(CH₂)₂CF₃、(CH₂)₃CF₃、(CH₂)₄CF₃、



权 利 要 求 书



R^{11} 选自 H、 NO_2 、CN、OH、 NH_2 、F、Cl、Br、I、 C_{1-6} 烷基、卤代- C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、卤代- C_{1-6} 烷氧基、 COR^8 、 $CONR^7R^8$ 、 CO_2R^8 、 $SO_2NR^7R^8$ 、 SO_3R^8 。

2、根据权利要求 1 所述的噻吩-2-羧酸衍生物及其互变异构体及药学上可接受的盐，其特征在于，

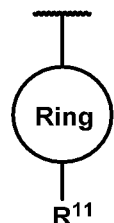
R^2 选自 H 或 F；

R^5 为 H、 C_2H_5 、 C_{2-3} 烷基- C_{3-6} 环烷基、 $C_{2-3}OOCCH_3$ 、 $C_{2-3}OCNMe_2$ 、 $C_{2-3}NMe_2$ 。

3、根据权利要求 1 所述的噻吩-2-羧酸衍生物及其互变异构体及药学上可接受的盐，其特征在于，

R^3 选自苯基、吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、咪唑基；所述苯基、吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、咪唑基独立地任选地被 1 至 2 个选自下列的取代基取代： C_{1-6} 烷基、卤素、氰基、卤代 C_{1-4} 烷基、OH、 C_{1-6} 烷氧基、二甲氨基。

4、根据权利要求 3 所述的噻吩-2-羧酸衍生物及其互变异构体及药学上可接受的盐，其特征在于， R^4 选自：

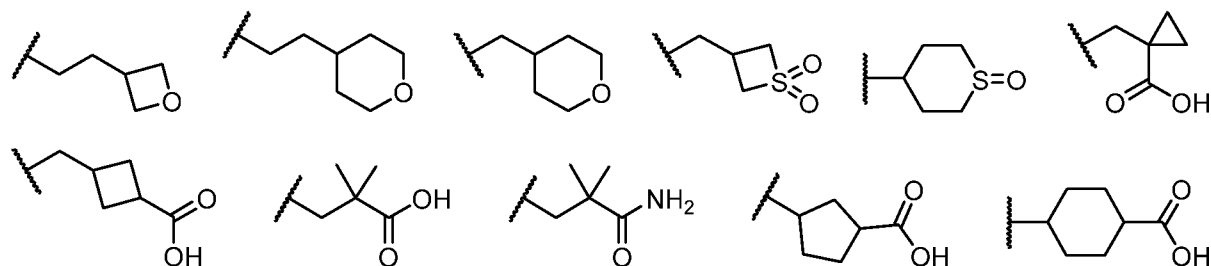


Ring 为苯基、嘧啶基、吡嗪基、异噻唑基；

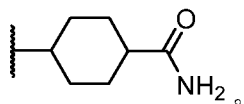
R^{11} 选自 H、 NO_2 、CN、OH、 NH_2 、F、Cl、Br、I、 C_{1-6} 烷基、卤代- C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、卤代- C_{1-6} 烷氧基、 $CONR^7R^8$ 、 CO_2R^8 、 $SO_2NR^7R^8$ 、 SO_3R^8 ；

R^7 为 H；

R^8 选自 H、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、 CH_2CONH_2 、 CH_2COMe_2 、 CH_2CH_2OH 、 CH_2CH_2Me 、 $(CH_2)_3OH$ 、 $(CH_3)_3OMe$ 、 $(CH_2)_4OH$ 、 $(CH_2)_4OMe$ 、 $(CH_2)_2COOH$ 、 $(CH_2)_3COOH$ 、 $(CH_2)_4COOH$ 、 $(CH_2)_2CH(CH_3)COOH$ 、 $C(CH_2OH)_3$ 、 $C(CH_2OH)_2CH_3$ 、 $CH_2CH(CH_3)OH$ 、



权 利 要 求 书



5、根据权利要求 1 所述的噻吩-2-羧酸衍生物及其互变异构体及药学上可接受的盐，其特征在于，通式 (I) 化合物选自如下化合物：

编号	结构式	编号	结构式	编号	结构式
1		2		3-1	
3-2		3-3		3-4	
3-5		3-6		3-7	
3-8		3-9		3-10	
3-11		3-12		3-13	

权 利 要 求 书

3-14		3-15		3-16	
3-17		3-18		3-19	
3-20		3-21		3-22	
3-23		3-24		3-25	
4		5		6-1	
6-2		6-3		6-4	

权 利 要 求 书

6-5		6-6		6-7	
7		8		9-1	
9-2		9-3		9-4	
10		11		12-1	
12-2		12-3		12-4	
13		14		15-1	
15-2		15-3		15-4	

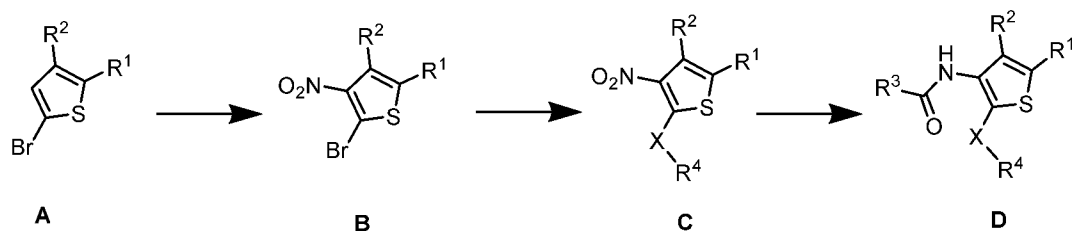
权 利 要 求 书

15-5		15-6		15-7	
15-8		15-9		15-10	
15-11		16		17	
18-1		18-2		18-3	
18-4		18-5			

6、一种权利要求 1 所述的噻吩-2-羧酸衍生物及其互变异构体及药学上可接受的盐的制备方法，其特征在于，包括如下步骤：

- (1) 通式化合物 A 进行硝化反应制得通式 B 化合物；
- (2) 通式化合物 B 与不同酚类衍生物进行取代反应制得通式化合物 C；
- (3) 通式化合物 C 先经硝基还原，再与不同羧酸或磺酸衍生物进行缩合反应，或不同的烃基衍生物进行取代反应、最后经脱保护基反应制得通式化合物 D；

权 利 要 求 书



化合物 D 即通式 (I) 化合物, R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 及 X 同权利要求 1 所述。

7、一种药物组合物, 其特征在于, 其中含有权利要求 1 所述的通式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐及药学上可接受的辅料。

8、权利要求 1 所述的通式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐、或权利要求 7 所述的药物组合物在制备 $P2Y_{14}$ 受体拮抗剂药物中的用途。

9、权利要求 1 所述的通式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐或权利要求 7 所述的药物组合物在制备治疗炎症疾病药物中的用途。

10、权利要求 8 或 9 所述的用途, 其特征在于, 所述药物添加药学上可接受的辅料制成不同剂型。

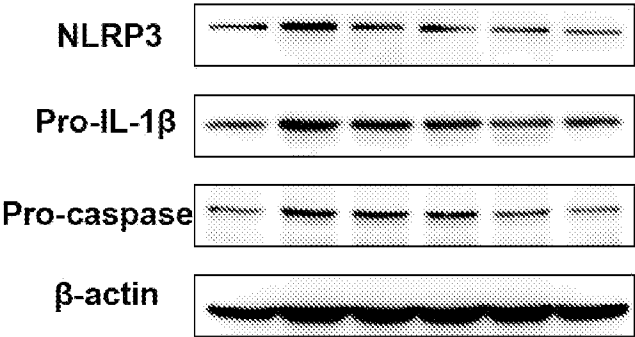


图 1

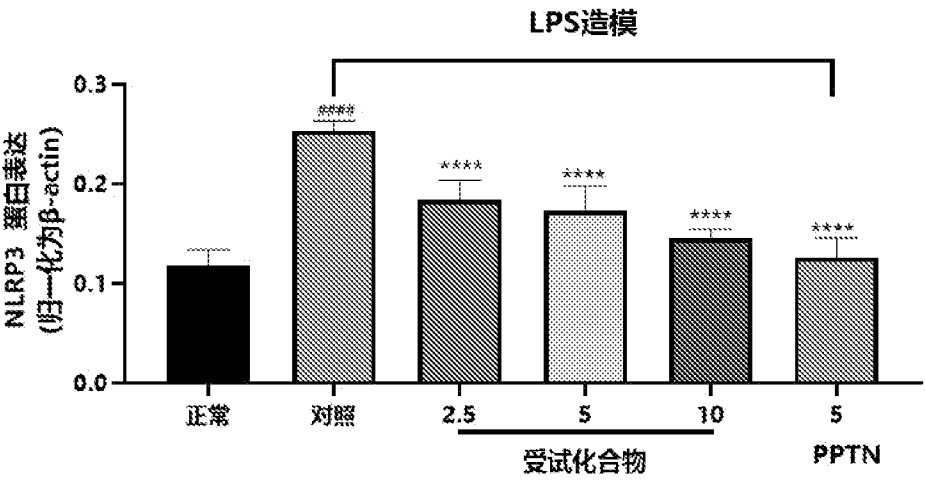


图 2

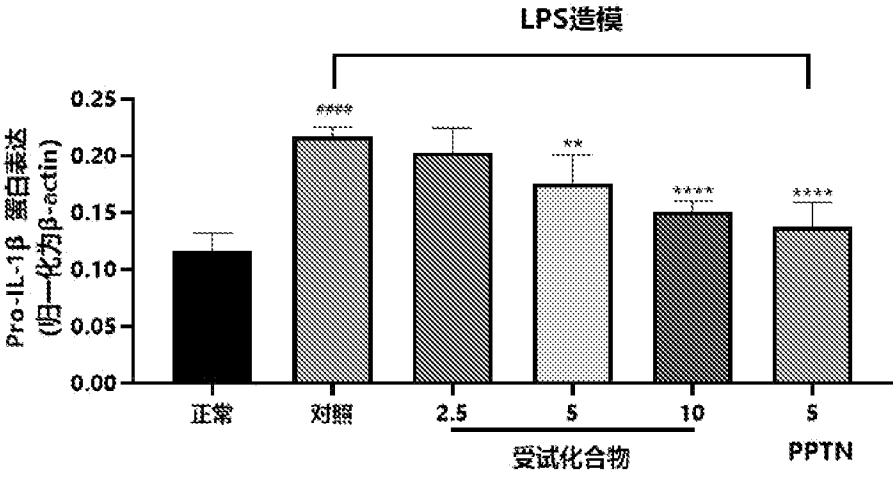


图 3

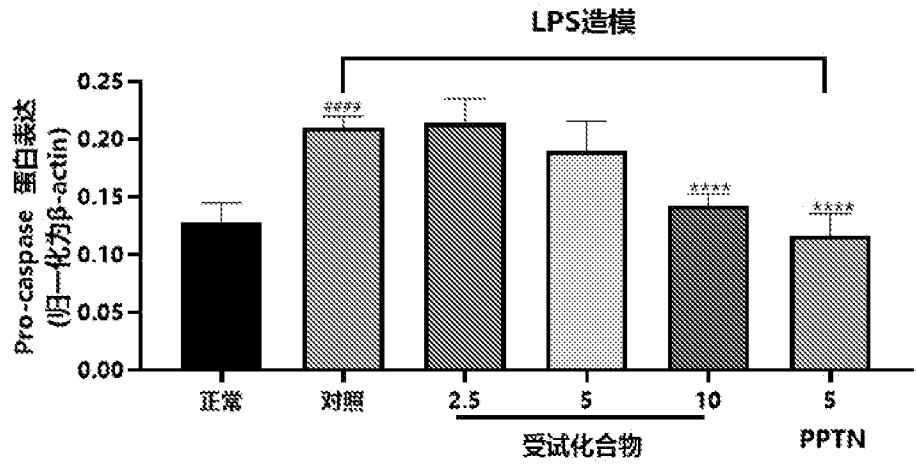


图 4

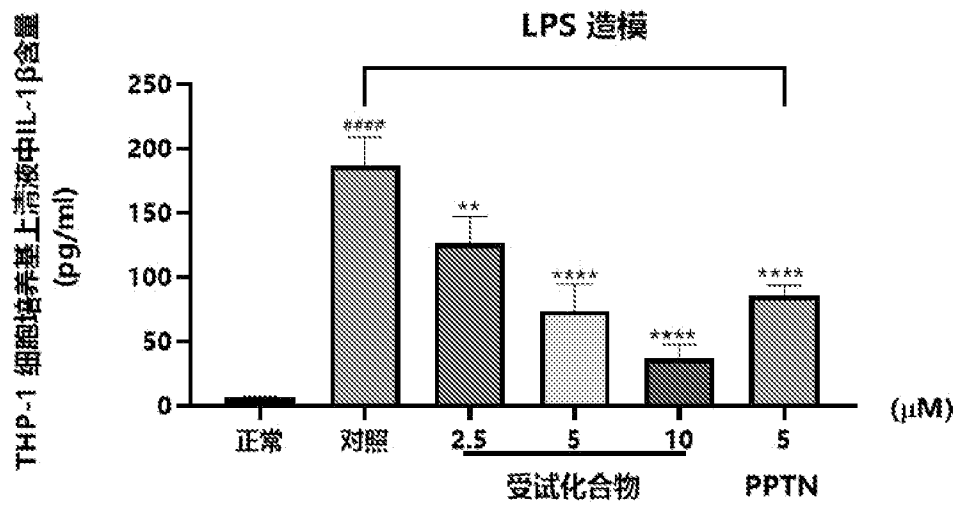


图 5

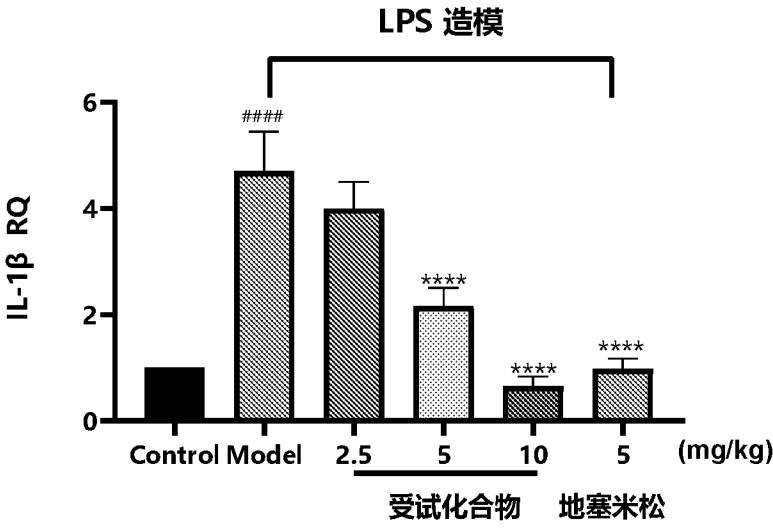


图 6

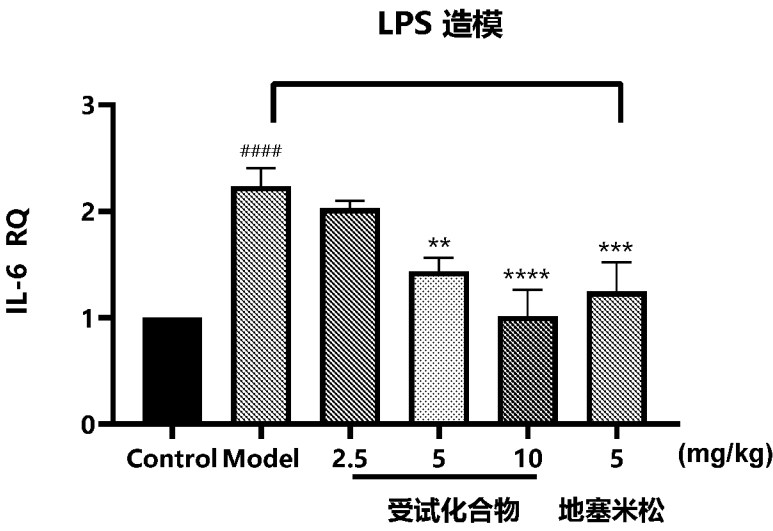


图 7

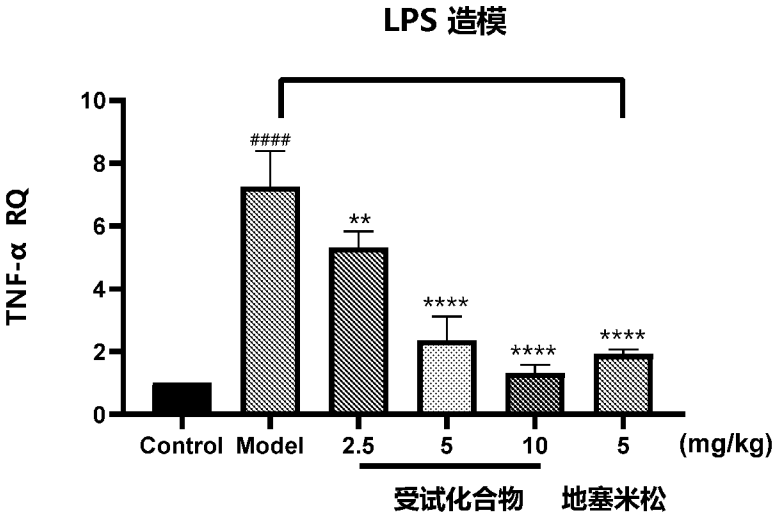


图 8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2024/107199

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D333/38(2006.01)i; C07D333/40(2006.01)i; C07D405/12(2006.01)i; C07D417/12(2006.01)i; C07D409/14(2006.01)i; A61K31/381(2006.01)i; A61K31/4436(2006.01)i; A61K31/4439(2006.01)i; A61K31/427(2006.01)i; A61P29/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC: C07D, A61K, A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNTEXT, WPABS, VEN, STN(CAPLUS, REGISTRY, MARPAT): 中国药科大学, 江程, 胡庆华, 王雨杭, 周梦泽, 王平平, 高蕊, 李欣玥, 噻吩-2-羧酸, 炎, P2Y14, thiophene-2-carboxylic acid, inflam+, purinoceptor 14

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 116444482 A (CHINA PHARMACEUTICAL UNIVERSITY) 18 July 2023 (2023-07-18) claims 1-10	1-10
PX	WANG, Yuhang et al. "Discovery of a Series of 4-Amidothiophene-2-carboxyl Derivatives as Highly Potent P2Y14 Receptor Antagonists for Inflammatory Bowel Disease Treatment" <i>Journal of Medicinal Chemistry</i> , Vol. 67, No. 14, 03 July 2024 (2024-07-03), ISSN: 0022-2623, pages 11989-12011	1-10
A	CN 109096177 A (CHINA PHARMACEUTICAL UNIVERSITY) 28 December 2018 (2018-12-28) abstract, and claims 1-8	1-10
A	CN 111423377 A (CHINA PHARMACEUTICAL UNIVERSITY) 17 July 2020 (2020-07-17) abstract, and claims 1-9	1-10
A	CN 110776486 A (CHINA PHARMACEUTICAL UNIVERSITY) 11 February 2020 (2020-02-11) abstract, and claims 1-8	1-10



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"D" document cited by the applicant in the international application
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

16 October 2024

Date of mailing of the international search report

24 October 2024

Name and mailing address of the ISA/CN

China National Intellectual Property Administration (ISA/
CN)
China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District,
Beijing 100088

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2024/107199

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 109574949 A (SOOCHOW UNIVERSITY) 05 April 2019 (2019-04-05) abstract, and claims 1-10	1-10
A	WO 2017053769 A1 (THE UNITED STATES OF AMERICA, AS REPRESENTED BY THE SECRETARY, DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES) 30 March 2017 (2017-03-30) claims 1-24	1-10
A	CN 111868036 A (THE UNITED STATES OF AMERICA, AS REPRESENTED BY THE SECRETARY) 30 October 2020 (2020-10-30) claims 1-26	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2024/107199

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	116444482	A	18 July 2023	None			
CN	109096177	A	28 December 2018	None			
CN	111423377	A	17 July 2020	None			
CN	110776486	A	11 February 2020	None			
CN	109574949	A	05 April 2019	None			
WO	2017053769	A1	30 March 2017	EP	3353161	A1	01 August 2018
				EP	3353161	B1	21 July 2021
				US	2018297981	A1	18 October 2018
				US	10683277	B2	16 June 2020
CN	111868036	A	30 October 2020	AU	2019218256	A1	20 August 2020
				CA	3090788	A1	15 August 2019
				US	2021047293	A1	18 February 2021
				US	11584736	B2	21 February 2023
				EP	3749651	A1	16 December 2020
				JP	2021512898	A	20 May 2021
				WO	2019157417	A1	15 August 2019

A. 主题的分类		
C07D333/38(2006.01)i; C07D333/40(2006.01)i; C07D405/12(2006.01)i; C07D417/12(2006.01)i; C07D409/14(2006.01)i; A61K31/381(2006.01)i; A61K31/4436(2006.01)i; A61K31/4439(2006.01)i; A61K31/427(2006.01)i; A61P29/00(2006.01)i		
按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类		
B. 检索领域		
检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)		
IPC: C07D, A61K, A61P		
包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献		
在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))		
CNTXT, WPABS, VEN, STN (CAPLUS, REGISTRY, MARPAT): 中国药科大学, 江程, 胡庆华, 王雨杭, 周梦泽, 王平平, 高蕊, 李欣玥, 噻吩-2-羧酸, 炎, P2Y14, thiophene-2-carboxylic acid, inflam+, purinoceptor 14		
C. 相关文件		
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
PX	CN 116444482 A (中国药科大学) 2023年7月18日 (2023 - 07 - 18) 权利要求1-10	1-10
PX	WANG, Yu-hang等. "Discovery of a Series of 4-Amidothiophene-2-carboxyl Derivatives as Highly Potent P2Y14 Receptor Antagonists for Inflammatory Bowel Disease Treatment" Journal of Medicinal Chemistry, 第67卷, 第14期, 2024年7月3日 (2024 - 07 - 03), ISSN: 0022-2623, 第11989-12011页	1-10
A	CN 109096177 A (中国药科大学) 2018年12月28日 (2018 - 12 - 28) 摘要, 权利要求1-8	1-10
A	CN 111423377 A (中国药科大学) 2020年7月17日 (2020 - 07 - 17) 摘要, 权利要求1-9	1-10
A	CN 110776486 A (中国药科大学) 2020年2月11日 (2020 - 02 - 11) 摘要, 权利要求1-8	1-10
☒ 其余文件在C栏的续页中列出。 ☒ 见同族专利附件。		
★ 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “D” 申请人在国际申请中引证的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 “T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件		
国际检索实际完成的日期		国际检索报告邮寄日期
2024年10月16日		2024年10月24日
ISA/CN的名称和邮寄地址		授权官员
中国国家知识产权局 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088		韩卫祥
		电话号码 (+86) 010-53962671

C. 相关文件		
类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
A	CN 109574949 A (苏州大学) 2019年4月5日 (2019 - 04 - 05) 摘要，权利要求1-10	1-10
A	WO 2017053769 A1 (THE UNITED STATES OF AMERICA, AS REPRESENTED BY THE SECRETARY, DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES) 2017年3月30日 (2017 - 03 - 30) 权利要求1-24	1-10
A	CN 111868036 A (美国政府健康与人类服务部) 2020年10月30日 (2020 - 10 - 30) 权利要求1-26	1-10

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2024/107199

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	116444482	A	2023年7月18日	无			
CN	109096177	A	2018年12月28日	无			
CN	111423377	A	2020年7月17日	无			
CN	110776486	A	2020年2月11日	无			
CN	109574949	A	2019年4月5日	无			
WO	2017053769	A1	2017年3月30日	EP	3353161	A1	2018年8月1日
				EP	3353161	B1	2021年7月21日
				US	2018297981	A1	2018年10月18日
				US	10683277	B2	2020年6月16日
CN	111868036	A	2020年10月30日	AU	2019218256	A1	2020年8月20日
				CA	3090788	A1	2019年8月15日
				US	2021047293	A1	2021年2月18日
				US	11584736	B2	2023年2月21日
				EP	3749651	A1	2020年12月16日
				JP	2021512898	A	2021年5月20日
				WO	2019157417	A1	2019年8月15日