

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200480034277.0

[51] Int. Cl.

C07D 473/06 (2006.01)

C07D 403/12 (2006.01)

C07D 239/54 (2006.01)

C07D 239/00 (2006.01)

C07D 233/00 (2006.01)

[43] 公开日 2006年12月20日

[11] 公开号 CN 1882588A

[22] 申请日 2004.11.15

[21] 申请号 200480034277.0

[30] 优先权

[32] 2003.11.21 [33] US [31] 10/719,102

[86] 国际申请 PCT/US2004/038136 2004.11.15

[87] 国际公布 WO2005/051951 英 2005.6.9

[85] 进入国家阶段日期 2006.5.19

[71] 申请人 CV 医药有限公司

地址 美国加利福尼亚州

[72] 发明人 埃尔法蒂赫·埃尔扎因 拉奥·卡拉
蒂姆·马夸特 杰夫·扎布沃茨基
李晓芬

[74] 专利代理机构 北京康信知识产权代理有限责任
公司

代理人 章社杲 张 英

权利要求书 14 页 说明书 79 页

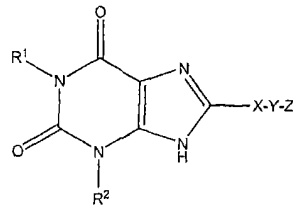
[54] 发明名称

A_{2B}腺苷受体拮抗剂

[57] 摘要

本发明披露了用于合成新颖化合物的方法，这些化合物是 A_{2B}腺苷受体拮抗剂，可用于治疗各种病症状态，包括哮喘和腹泻。

1. 一种用于制备化学式 I 的化合物的方法:



化学式 I

其中:

R^1 和 R^2 独立地是可取代的烷基;

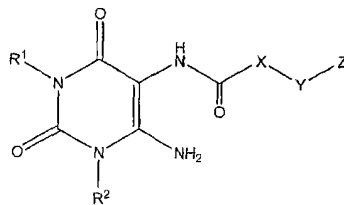
X 是可取代的亚芳基或可取代的杂亚芳基;

Y 是共价键或低级亚烷基; 以及

Z 是可取代的单环芳基或可取代的单环杂芳基;

该方法包括:

环化化学式 (3) 的化合物:

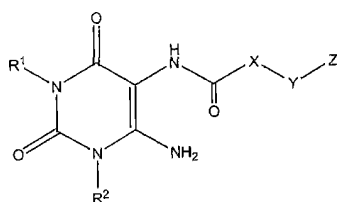


(3)

其中 R^1 、 R^2 、X、Y、以及 Z 如上定义。

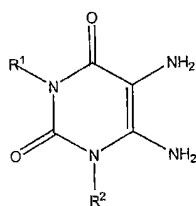
2. 根据权利要求 1 所述的方法, 其中, 在惰性溶剂中并在碱存在的情况下, 环化所述化学式 (3) 的化合物。

3. 根据权利要求2所述的方法，其中，所述惰性溶剂是甲醇，而所述碱是氢氧化钠水溶液。
4. 根据权利要求3所述的方法，其中， R^1 和 R^2 独立地是低级烷基，X是吡唑-4-基，Y是亚甲基，以及Z是可取代的苯基。
5. 根据权利要求4所述的方法，其中， R^1 是正丙基， R^2 是乙基，以及Z是3-三氟甲基苯基。
6. 根据权利要求1所述的方法，其中，所述化学式(3)的化合物：



(3)

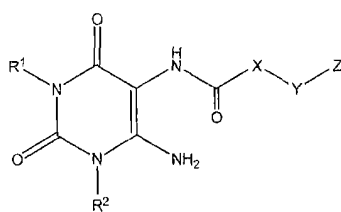
通过以下方法制备，包括用化学式 $Z-Y-X-CO_2H$ 或 $Z-Y-X-C(O)Hal$ 的化合物，其中 Hal 是氯基或溴基，接触化学式(2)的化合物：



(2)

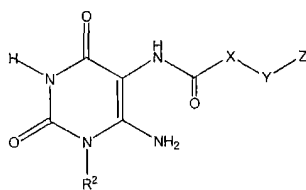
7. 根据权利要求6所述的方法，其中，所述化学式(3)的化合物在甲醇中并在用于形成酰胺键的偶联剂存在的情况下与 $Z-Y-X-CO_2H$ 反应。

8. 根据权利要求7所述的方法,其中,所述用于形成酰胺键的偶联剂是1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳化二亚胺。
9. 根据权利要求6所述的方法,其中,所述化学式(3)的化合物与Z-Y-X-C(O)Cl反应。
10. 根据权利要求9所述的方法,其中,所述反应是在惰性溶剂中并在叔碱存在的情况下进行的。
11. 根据权利要求10所述的方法,其中,所述惰性溶剂是乙腈,而所述叔碱是三乙胺。
12. 根据权利要求6所述的方法,其中,R¹和R²独立地是低级烷基,X是吡唑-4-基,Y是亚甲基,以及Z是可取代的苯基。
13. 根据权利要求12所述的方法,其中,R¹是正丙基,R²是乙基,以及Z是3-三氟甲基苯基,即3-乙基-1-丙基-8-{1-[(3-三氟甲基苯基)甲基]吡唑-4-基}-1,3,7-三氢嘌呤-2,6-二酮。
14. 根据权利要求1所述的方法,其中,以下化学式的化合物:



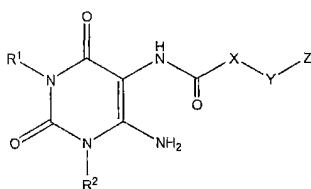
(3)

通过以下方法制备,所述方法包括用化学式R¹L的化合物,其中L是离去基团,接触以下化学式的化合物:



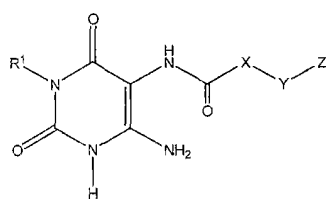
(16)

15. 根据权利要求 14 所述的方法，其中， R^1 是由环烷基可取代的低级烷基，以及 L 是碘基。
16. 根据权利要求 15 所述的方法，其中，所述反应是在惰性溶剂中并在碱存在的情况下进行的。
17. 根据权利要求 16 所述的方法，其中，所述碱是碳酸钾，而所述惰性溶剂是 N,N-二甲基甲酰胺。
18. 根据权利要求 17 所述的方法，其中， R^1 和 R^2 独立地是低级烷基，X 是吡啶-4-基，Y 是亚甲基，以及 Z 是可取代的苯基。
19. 根据权利要求 18 所述的方法，其中， R^1 是正丙基， R^2 是乙基，以及 Z 是 3-三氟甲基苯基。
20. 根据权利要求 1 所述的方法，其中，以下化学式的化合物：



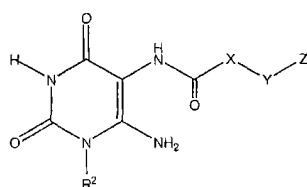
(3)

通过以下方法制备，包括用化学式 R^2L 的化合物，其中 L 是离去基团，接触以下化学式的化合物：



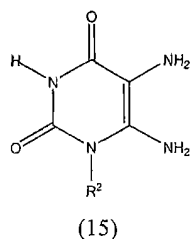
(13)

21. 根据权利要求 20 所述的方法，其中， R^2 是由环烷基可取代的低级烷基，以及 L 是碘基。
22. 根据权利要求 21 所述的方法，其中，所述反应是在惰性溶剂中并在碱存在的情况下进行的。
23. 根据权利要求 22 所述的方法，其中，所述碱是碳酸钾，而所述惰性溶剂是 N,N-二甲基甲酰胺。
24. 根据权利要求 23 所述的方法，其中， R^1 和 R^2 独立地是低级烷基，X 是吡唑-4-基，Y 是亚甲基，以及 Z 是可取代的苯基。
25. 根据权利要求 24 所述的方法，其中， R^1 是正丙基， R^2 是乙基，以及 Z 是 3-三氟甲基苯基。
26. 根据权利要求 14 所述的方法，其中以下化学式的化合物：

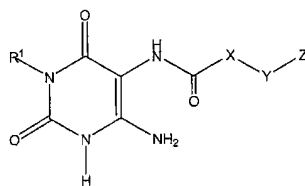


(16)

通过以下方法制备，包括用化学式 $Z-Y-X-CO_2H$ 或 $Z-Y-X-C(O)Hal$ 的化合物，其中 Hal 是氯基或溴基，接触以下化学式的化合物：

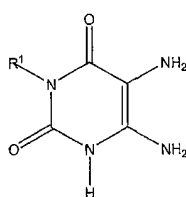


27. 根据权利要求 26 所述的方法，其中，所述化学式 (15) 的化合物在甲醇中并在用于形成酰胺键的偶联剂存在的情况下与 Z-Y-X-CO₂H 反应。
28. 根据权利要求 27 所述的方法，其中，所述用于形成酰胺键的偶联剂是 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳化二亚胺。
29. 根据权利要求 26 所述的方法，其中，所述化学式 (15) 的化合物与 Z-Y-X-C(O)Cl 反应。
30. 根据权利要求 29 所述的方法，其中，所述反应是在惰性溶剂中并在叔碱存在的情况下进行的。
31. 根据权利要求 30 所述的方法，其中，所述惰性溶剂是乙腈，而所述叔碱是三乙胺。
32. 根据权利要求 31 所述的方法，其中，R¹ 和 R² 独立地是低级烷基，X 是吡啶-4-基，Y 是亚甲基，以及 Z 是可选取代的苯基。
33. 根据权利要求 32 所述的方法，其中，R¹ 是正丙基，R² 是乙基，以及 Z 是 3-三氟甲基苯基。
34. 根据权利要求 19 所述的方法，其中，以下化学式的化合物：



(13)

通过以下方法制备，包括用化学式 $Z-Y-X-CO_2H$ 或 $Z-Y-X-C(O)Hal$ 的化合物，其中 Hal 是氯基或溴基，接触以下化学式的化合物：



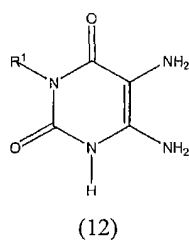
(12)

35. 根据权利要求 34 所述的方法，其中，所述化学式 (12) 的化合物在甲醇中并在用于形成酰胺键的偶联剂存在的条件下与 $Z-Y-X-CO_2H$ 反应。
36. 根据权利要求 35 所述的方法，其中，所述用于形成酰胺键的偶联剂是 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳化二亚胺。
37. 根据权利要求 34 所述的方法，其中，所述化学式 (12) 的化合物与 $Z-Y-X-C(O)Cl$ 反应。
38. 根据权利要求 37 所述的方法，其中，所述反应是在惰性溶剂中并在叔碱存在的情况下进行的。
39. 根据权利要求 38 所述的方法，其中，所述惰性溶剂是乙腈，而所述叔碱是三乙胺。

40. 根据权利要求 39 所述的方法，其中， R^1 和 R^2 独立地是低级烷基，X 是吡唑-4-基，Y 是亚甲基，以及 Z 是可选取代的苯基。

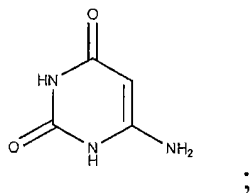
41. 根据权利要求 40 所述的方法，其中， R^1 是正丙基， R^2 是乙基，以及 Z 是 3-三氟甲基苯基。

42. 根据权利要求 34 所述的方法，其中，以下化学式的化合物：



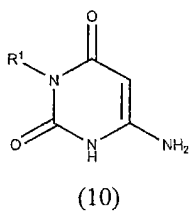
通过包括以下步骤的方法制备：

a) 在酸催化剂存在的情况下，用六甲基二硅氮烷接触以下化学式的化合物：



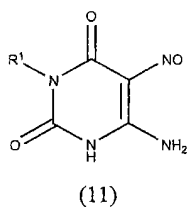
b) 用 R^1L ，其中 L 是离去基团，接触如此形成的产物，接着；

c) 用亚硝酸钠在乙酸 / 水中的混合物接触如此形成的产物：



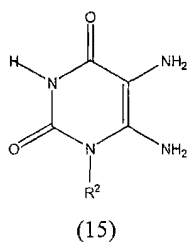
； 以及

d) 用氨水和连二亚硫酸钠的混合物接触如此形成的产物:



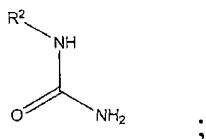
43. 根据权利要求 42 所述的方法, 其中, 在步骤 a) 中 R¹ 是低级烷基, L 是碘基, 以及所述酸催化剂是硫酸铵。

44. 根据权利要求 26 所述的方法, 其中, 以下化学式的化合物:

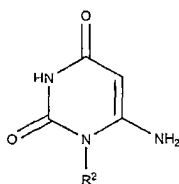


通过包括以下步骤的方法制备:

a) 在质子溶剂中并在碱存在的情况下, 用氰基乙酸乙酯接触以下化学式的化合物:

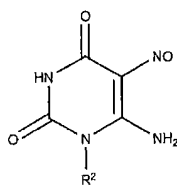


b) 用亚硝酸钠在乙酸 / 水中的混合物接触如此形成的产物:



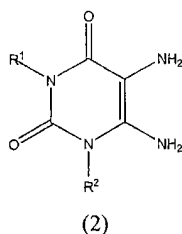
; 以及

c) 用氨水和连二亚硫酸钠的混合物接触如此形成的产物:



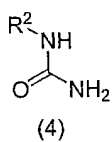
45. 根据权利要求 44 所述的方法，其中，所述碱是乙醇钠，而所述质子溶剂是乙醇。

46. 根据权利要求 6 所述的方法，其中，以下化学式的化合物：

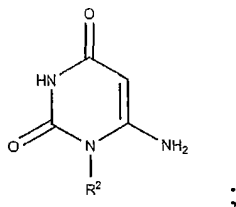


通过包括以下步骤的方法制备：

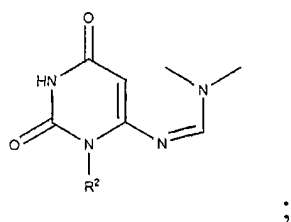
a) 在质子溶剂中并在碱存在的情况下，用氰基乙酸乙酯接触以下化学式的化合物：



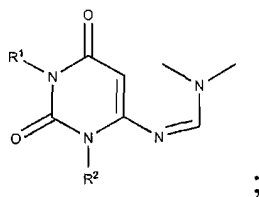
b) 用 N,N-二甲基甲酰胺的二甲基乙缩醛接触如此形成的产物：



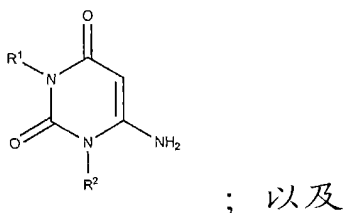
c) 用化学式 R^1L 的化合物，其中 L 是离去基团，接触如此形成的产物：



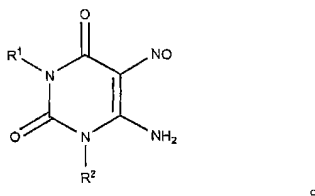
d) 用氨水接触如此形成的产物:



e) 用亚硝酸钠在乙酸 / 水中的混合物接触如此形成的产物:

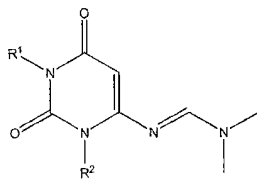


f) 用氨水和连二亚硫酸钠的混合物接触如此形成的产物:



47. 根据权利要求 46 所述的方法, 其中, 所述碱是乙醇钠, 而所述质子溶剂是乙醇。

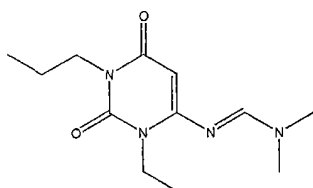
48. 一种以下化学式的中间体:



其中:

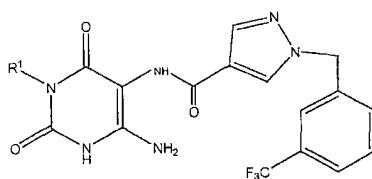
R^1 和 R^2 独立地选自甲基、乙基、正丙基、2-甲基丙基、以及环丙基甲基。

49. 根据权利要求 48 所述的中间体, 其中, R^1 是正丙基、以及 R^2 是乙基:



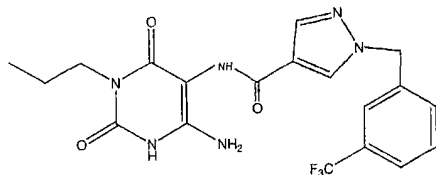
即 6-[2-(二甲氨基)-1-氮杂乙烯基]-1-乙基-3-丙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮。

50. 一种以下化学式的中间体:



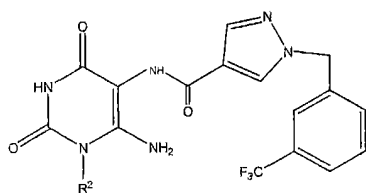
其中, R^1 是正丙基或环丙基甲基。

51. 根据权利要求 50 所述的中间体, 其中, R^1 是正丙基:



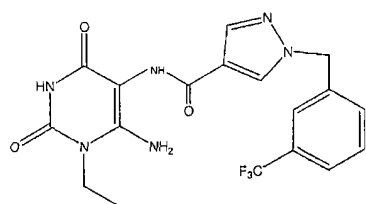
即 N-(6-氨基-2,4-二氧代-3-丙基(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[3-(三氟甲基)-苯基]甲基}吡唑-4-基)甲酰胺。

52. 一种以下化学式的中间体:



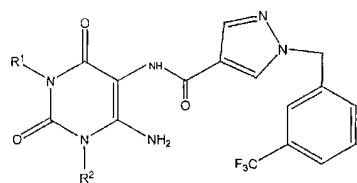
其中， R^2 是甲基或乙基。

53. 根据权利要求 52 所述的中间体，其中， R^2 是乙基：



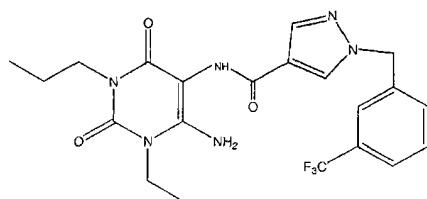
N-(6-氨基-1-乙基-2,4-二氧代(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[3-(三氟甲基)苯基]甲基}吡唑-4-基)甲酰胺。

54. 一种以下化学式的中间体：



其中， R^1 和 R^2 独立地选自甲基、乙基、正丙基、2-甲基丙基、以及环丙基甲基。

55. 根据权利要求 54 所述的中间体，其中， R^1 是正丙基、以及 R^2 是乙基：



即 N-(6-氨基-1-乙基-2,4-二氧代-3-丙基(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[3-(三氟甲基)苯基]甲基}吡唑-4-基)甲酰胺。

A_{2B} 腺苷受体拮抗剂

技术领域

本发明涉及 A_{2B} 腺苷受体拮抗剂，并且涉及它们在治疗哺乳动物的各种疾病状态中的应用，如胃肠病症、免疫病症、神经性病症、以及起因于细胞高增生及凋亡的心血管疾病等等。本发明还涉及用于制备这样的化合物的方法，以及涉及含有它们的药物组合物。

背景技术

腺苷是一种天然存在的核苷，其通过与称作 A₁、A_{2A}、A_{2B}、以及 A₃ 的腺苷受体家族的相互作用来施加其生物效应，所有这些腺苷受体调节重要的生理过程。例如，A_{2A} 腺苷受体调节冠状血管舒张，A_{2B} 受体与肥大细胞活化（激活）、哮喘、血管舒张、细胞生长的调节、肠功能、以及神经分泌的调节有关（参见 Adenosine A_{2B} Receptors as Therapeutic Targets, Drug Dev Res 45: 198; Feoktistov et al., Trends Pharmacol Sci 19: 148-153），而 A₃ 腺苷受体调节细胞增生过程。

腺苷 A_{2B} 受体是普遍存在的，并调节多种生物活性。例如，腺苷结合于在内皮细胞上的 A_{2B} 受体，从而刺激血管生成（血管发生）。腺苷还调节血管中平滑肌细胞种群的生长。腺苷刺激在肥大细胞上的 A_{2B} 受体，因而调节 I 型超敏反应。通过在肠中与 A_{2B} 的连接作用，腺苷还刺激胃分泌活性。

虽然腺苷的这些生物效应中的很多种对于维持正常组织稳态是必要的，但在某些生理变化条件下，则希望调节其效应。例如， A_{2B} 受体的结合通过促进内皮细胞的生长而刺激血管生成。在伤口愈合时，这样的活性是必要的，但内皮细胞的高增生会促进糖尿病性视网膜病。此外，在瘤形成中会血管中发生不希望的增加。因此，在内皮中抑制腺苷与 A_{2B} 受体结合会缓和或预防血管过多，因而预防视网膜病并抑制肿瘤形成。

在结肠中在肠上皮细胞的基底外侧区域发现有 A_{2B} 受体，并且当受到适宜配体作用时会起作用以增加氯化物分泌，因此引起腹泻，其是传染病如霍乱和斑疹伤寒的常见和潜在的致死性并发症。因此， A_{2B} 拮抗剂可以用来阻滞肠氯化物分泌，因而可用于治疗炎性胃肠道病症，包括腹泻。

对胰岛素不敏感会加剧糖尿病和肥胖症。通过腺苷与 A_{2B} 受体的相互作用可降低胰岛素敏感性。因而，对患有糖尿病或肥胖症的个体的腺苷 A_{2B} 受体进行阻滞将使患有这些病症的患者受益。而且已经证实， A_{2B} 拮抗剂会引起血糖水平的降低，因而可特别用于治疗 II 型糖尿病。

作用于 A_{2B} 受体的腺苷的另一种有害生物效应是过度刺激大脑 IL-6，其是一种与痴呆和阿尔茨海默病有关的细胞因子(细胞活素)。因此，抑制腺苷与 A_{2B} 受体结合会减轻那些由 IL-6 产生的神经性病症。

通过与肥大细胞的 A_{2B} 受体结合可刺激 I 型超敏反应病症，如哮喘、枯草热、以及特应性湿疹。因此，阻滞这些腺苷受体会对这样的病症提供治疗益处。

目前有数种化合物用于治疗哮喘。例如，茶碱是一种有效的平喘药，即使它是较差的腺苷受体拮抗剂。然而，为了使其有效则需

要相当高的血浆浓度。另外，茶碱具有显著的副作用，其大多数是起因于它对哮喘并不提供有益效应的 CNS 作用，以及起因于它非特异性地阻滞所有的腺苷受体亚型的事实。

另外，腺苷治疗，如吸入腺苷（或腺苷一磷酸），会在哮喘病患者中诱发支气管收缩，但在正常种群中则不会诱发支气管收缩。已知此过程涉及肥大细胞活化（激活），因为它释放肥大细胞介体，包括组胺、PGD₂-β-己糖胺酶以及类胰蛋白酶，而且因为它可以被特异性组胺 H₁ 阻滞剂和 chromolyn 钠阻滞。因此，在腺苷与来自哮喘病患者的肥大细胞相互作用的方式中存在内在差异，因而 A_{2B} 拮抗剂可特别用于调节肥大细胞功能或用于激活人肺细胞。

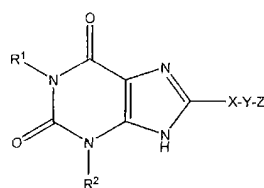
因此，希望提供一些化合物，这些化合物是有效的 A_{2B} 拮抗剂（即，抑制 A_{2B} 腺苷受体的化合物），对于 A_{2B} 受体是完全或部分选择性的，可用于治疗涉及调节 A_{2B} 受体的各种疾病状态，例如癌症、哮喘以及腹泻。

发明内容

美国非临时专利申请第 10/431,167 号披露了新颖的 A_{2B} 腺苷受体拮抗剂。

已经确定了一类落入本发明范围内的优选化合物。化学式 I 的优选化合物包括那些化合物，其中 R¹ 和 R² 独立地是可取代的低级烷基，尤其是那些化合物，其中 R¹ 和 R² 是不同的，并且是由环烷基可取代的低级烷基。更优选的是那些化合物，其中 X 是吡啶-4-基，Y 是亚甲基，以及 Z 是可取代的苯基，尤其是用三氟甲基取代的苯基。甚至更优选的是那些化合物，其中 R¹ 和 R² 选自乙基、正丙基、环丙基甲基、或异丁基，尤其是那些化合物，其中 R¹ 是正丁基而 R² 是乙基。优选的 Z 是 3-三氟甲基苯基。因此，已经开发了用于制备这样的化合物的新颖方法。

因此，在第一个方面，本发明涉及用于制备以下化学式的化合物的方法：



化学式 I

其中：

R^1 和 R^2 独立地是可取代的烷基；

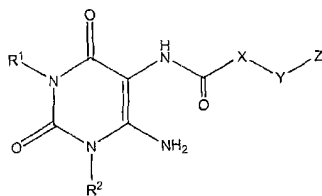
X 是可取代的亚芳基或可取代的杂亚芳基；

Y 是共价键或低级亚烷基；以及

Z 是可取代的单环芳基或可取代的单环杂芳基；

该方法包括：

用碱接触以下化学式的化合物：

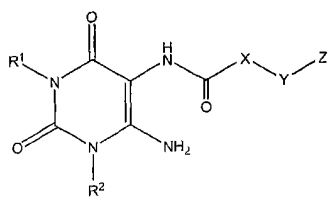


(3)

其中， R^1 、 R^2 、X、Y、以及 Z 如上定义。

在一优选具体实施例中，化学式 (3) 的化合物优选在质子溶剂中与碱接触。该碱优选选自氢氧化钠、氢氧化钾、甲醇钠、乙醇钠、以及叔丁醇钾，优选为氢氧化钠水溶液，而质子溶剂优选是甲醇。

在第二个方面，本发明涉及用于制备化学式 (3) 的化合物的方法：



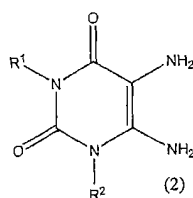
(3)

其中， R^1 、 R^2 、 X 、 Y 、以及 Z 如上定义；

该方法包括：

用化学式 $Z-Y-X-CO_2H$ 的羧酸，其中 X 、 Y 以及 Z 如上定义；

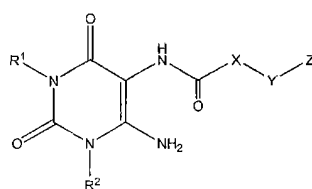
接触化学式 (2) 的化合物：



(2)

在一优选具体实施例中，在用于形成酰胺键的偶联剂（优选为碳化二亚胺衍生物）存在的情况下，在极性溶剂（优选为甲醇）中，使化学式 (2) 的化合物与化学式 $Z-Y-X-CO_2H$ 的化合物接触。在一更优选的具体实施例中，碳化二亚胺衍生物是 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳化二亚胺。可选替换地，使化学式 (2) 的化合物与化学式 $Z-Y-X-C(O)L$ 的酰基卤接触，其中 L 是氯基或溴基。

在第三个方面，本发明涉及用于制备化学式 (3) 的化合物的方法：

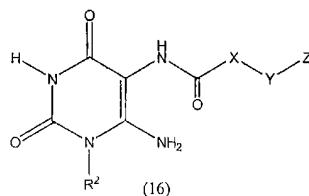


(3)

其中 R^1 、 R^2 、 X 、 Y 、以及 Z 如上定义；

该方法包括：

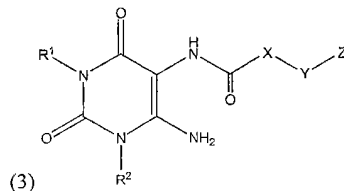
用化学式 R^1L 的化合物，其中 L 是离去基团，
接触化学式 (16) 的化合物；



其中， R^2 、 X 、 Y 以及 Z 如上定义。

在一优选具体实施例中，在有碱（优选为碳酸钾）存在的情况下，在极性溶剂（优选为 N,N -二甲基甲酰胺）中，使化学式 (16) 的化合物与烷基卤（优选为烷基碘）接触。

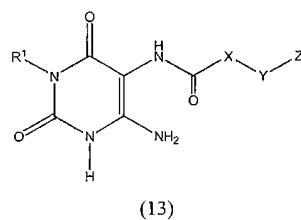
在第四个方面，本发明涉及用于制备化学式 (3) 的化合物的方法：



其中， R^1 、 R^2 、 X 、 Y 以及 Z 如上定义；

该方法包括：

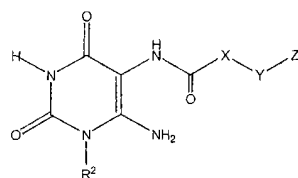
用化学式 R^2L 的化合物，其中 L 是离去基团，
接触化学式 (13) 的化合物



其中， R^1 、 X 、 Y 以及 Z 如上定义。

在一优选具体实施例中，在有碱（优选为碳酸钾）存在的情况下，在极性溶剂（优选为 N,N-二甲基甲酰胺）中，使化学式（13）的化合物与烷基卤（优选为烷基碘）接触。

在第五个方面，本发明涉及用于制备化学式（16）的化合物的方法：



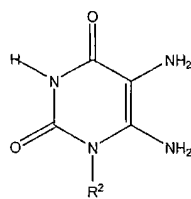
(16)

其中， R^2 、X、Y 以及 Z 如上定义；

该方法包括：

用化学式 Z-Y-X-CO₂H 的羧酸，其中 X、Y 以及 Z 如上定义；

接触化学式（15）的化合物：

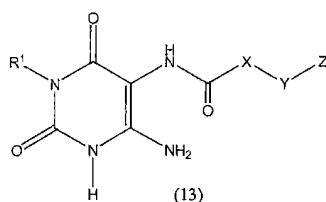


(15)

其中， R^2 如上定义。

在一优选具体实施例中，在有用形成酰胺键的偶联剂（优选为碳化二亚胺衍生物）存在的情况下，在极性溶剂（优选为甲醇）中，使化学式（15）的化合物与化学式 Z-Y-X-CO₂H 的化合物接触。在一更优选的具体实施例中，碳化二亚胺衍生物是 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳化二亚胺。可选替换地，化学式（15）的化合物与化学式 Z-Y-X-C(O)L 的酰基卤接触，其中 L 是氯基或溴基。

在第六个方面，本发明涉及用于制备化学式(13)的化合物的方法：

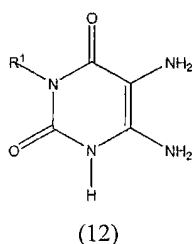


其中，R¹、X、Y以及Z如上定义；

该方法包括：

用化学式 Z-Y-X-CO₂H 的羧酸，其中 X、Y 以及 Z 如上定义；

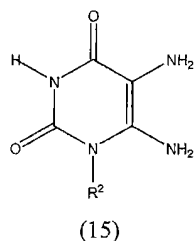
接触化学式(12)的化合物



其中，R¹如上定义。

在一优选具体实施例中，在有用于形成酰胺键的偶联剂（优选为碳化二亚胺衍生物）存在的情况下，在极性溶剂（优选为甲醇）中，使化学式(12)的化合物与化学式 Z-Y-X-CO₂H 的化合物接触。在一更优选的具体实施例中，碳化二亚胺衍生物是 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳化二亚胺。可选替换地，化学式(12)的化合物与化学式 Z-Y-X-C(O)L 的酰基卤接触，其中 L 是氯基或溴基。

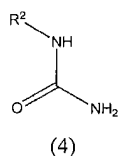
在第七个方面，本发明涉及用于制备化学式(15)的化合物的方法：



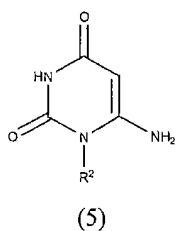
其中， R^2 如上定义；

该方法包括以下步骤：

1) 在碱存在的情况下，在质子溶剂（优选为乙醇 / 乙醇钠）中，用氰基乙酸乙酯接触化学式（4）的化合物：

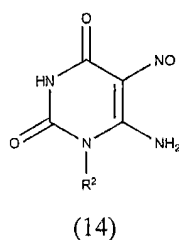


2) 用亚硝酸钠在乙酸 / 水中的混合物接触如此形成的产物：

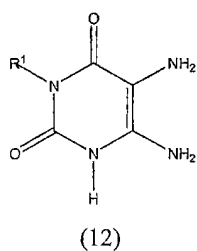


； 以及

3) 用氨水和连二亚硫酸钠的混合物接触如此形成的产物：



在第八个方面，本发明涉及用于制备化学式（12）的化合物的方法：

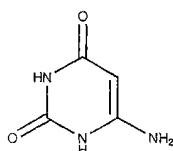


其中， R^1 如上定义；

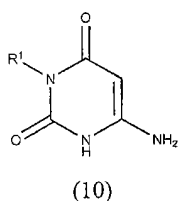
该方法包括以下步骤：

1) 用 a) 六甲基二硅氮烷，接着用 b) R^1L ，其中 R^1 如上定义而 L 是离去基团；

接触以下化学式的化合物：

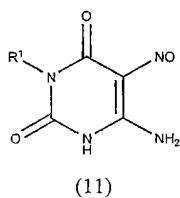


2) 用亚硝酸钠在乙酸 / 水中的混合物接触如此形成的化合物：

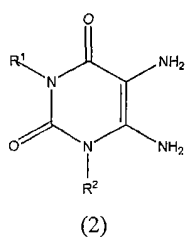


； 以及

3) 用氨水和连二亚硫酸钠的混合物接触如此形成的产物：



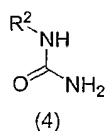
在第九个方面，本发明涉及用于制备化学式 (2) 的化合物的方法：



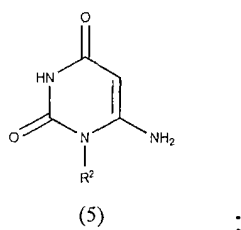
其中， R^1 和 R^2 如上定义；

该方法包括以下步骤：

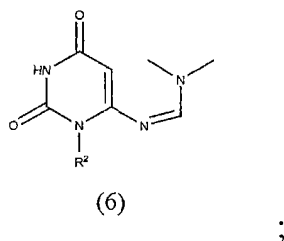
1) 在碱存在的情况下，在质子溶剂（优选为乙醇 / 乙醇钠）中，用氰基乙酸乙酯接触以下化学式的化合物：



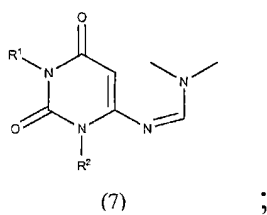
2) 用 N,N-二甲基甲酰胺的二甲基乙缩醛接触如此形成的产物：



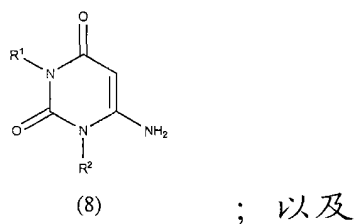
3) 在碱（优选为碳酸钾）存在的情况下，在极性溶剂（优选为 N,N-二甲基甲酰胺）中，用化学式 R^1L 的化合物，其中 L 是离去基团，优选为碘化物，接触如此形成的产物：



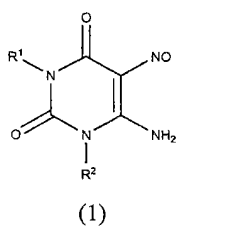
4) 用氨水接触如此形成的产物：



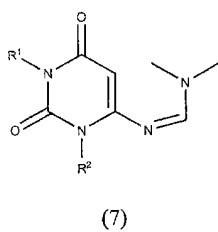
5) 用亚硝酸钠在乙酸 / 水中的混合物接触如此形成的产物:



6) 用氨水和连二亚硫酸钠的混合物接触如此形成的产物:

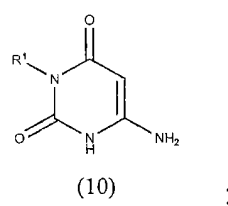


在第十个方面, 本发明涉及用于制备化学式 (7) 的化合物的方法:

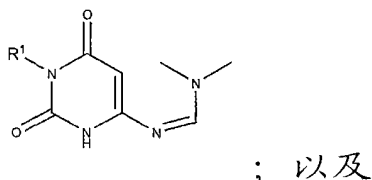


该方法包括以下步骤:

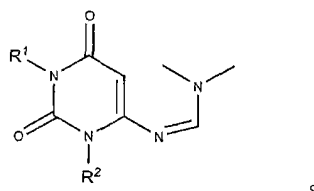
1) 用 N,N-二甲基甲酰胺的二甲基乙缩醛接触以下化学式的化合物:



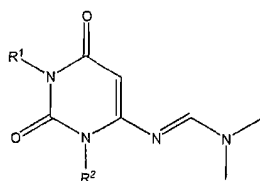
2) 在碱(优选为碳酸钾)存在的情况下,在极性溶剂(优选为N,N-二甲基甲酰胺)中,用化学式 R^2L 的化合物,其中L是离去基团,优选为碘化物,接触如此形成的产物:



3) 用氨水接触如此形成的产物:

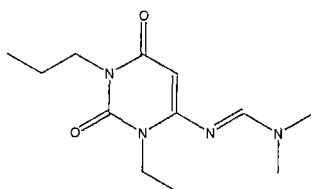


在第十一个方面,本发明涉及以下化学式的新颖中间体:



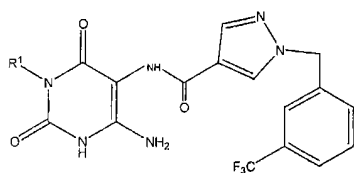
其中, R^1 是正丙基、2-甲基丙基、或环丙基甲基,而 R^2 是甲基或乙基。

特别优选的是这样的化合物,其中, R^1 是正丙基,而 R^2 是乙基:

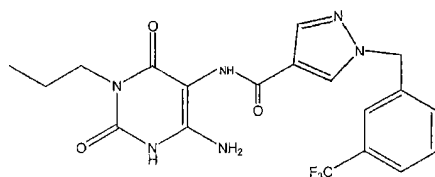


即,(该中间体为)6-[2-(二甲氨基)-1-氮杂乙烯基]-1-乙基-3-丙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮。

在第十二个方面，本发明涉及以下化学式的新颖中间体：

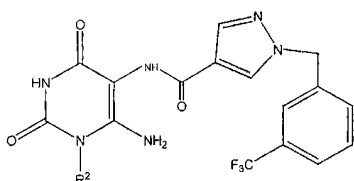


其中，R¹ 是正丙基或环丙基甲基，优选为正丙基；

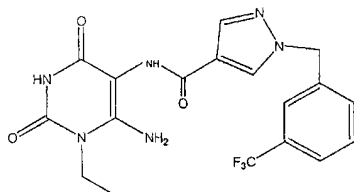


即，（该中间体为）N-(6-氨基-2,4-二氧代-3-丙基(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[3-(三氟甲基)-苯基]甲基}吡唑-4-基)甲酰胺。

在第十三个方面，本发明涉及以下化学式的新颖中间体：

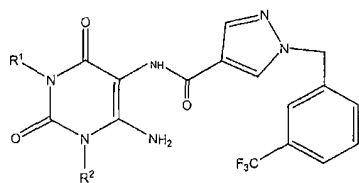


其中，R² 是甲基或乙基，优选为乙基；



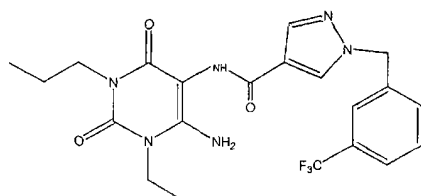
即，（该中间体为）N-(6-氨基-1-乙基-2,4-二氧代(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[3-(三氟甲基)苯基]甲基}吡唑-4-基)甲酰胺。

在第十四个方面，本发明涉及以下化学式的新颖中间体：



其中， R^1 是正丙基、2-甲基丙基、或环丙基甲基，而 R^2 是甲基或乙基。

特别优选的这样的中间体，其中， R^1 是正丙基，而 R^2 乙基；



即，（该中间体为）N-(6-氨基-1-乙基-2,4-二氧代-3-丙基(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[3-(三氟甲基)苯基]甲基}吡唑-4-基)甲酰胺。

本发明的其它方面涉及药物制剂（剂型），这些药物制剂包括有效治疗量的化学式 I 的化合物以及至少一种药学可接受的赋形剂。

本发明的又一方面涉及利用化学式 I 的化合物治疗哺乳动物的疾病或病症的方法，其中哺乳动物可通过抑制称为 A_{2B} 的腺苷受体来治疗，该方法包括对其有需要的哺乳动物给予有效治疗量的化学式 I 的化合物。这样的疾病包括但不限于至少下述之一：哮喘，炎性胃肠道病症（包括腹泻），心血管疾病（如动脉粥样硬化），神经性病症（如老年痴呆、阿尔茨海默病、以及帕金森病），以及与血管生成（血管发生）有关的疾病（例如糖尿病性视网膜病和癌症）。

一组优选的化学式 I 的化合物是那些化合物，其中 R^1 和 R^2 是不同的，并且独立地是由环烷基可取代的低级烷基。在本组内，

第一类优选的化合物包括那些化合物,其中 R^1 是由环烷基可取代的 2-4 个碳原子的低级烷基,而 R^2 是 2-4 个碳原子的低级烷基,尤其是其中 R^1 和 R^2 选自乙基和正丙基,以及 X 是可取代的亚吡唑-1,4-基。在本类中,优选的亚类化合物是那些化合物,其中 Y 是低级亚烷基,优选为亚甲基,以及 Z 是可取代的苯基,优选为 3-三氟甲基苯基。最优选的是那些化学式 I 的化合物,其中 R^1 是正丙基,而 R^2 是乙基。

目前,优选的化合物是:

3-乙基-1-丙基-8-(1-{[3-(三氟甲基)苯基]甲基}吡唑-4-基)-1,3,7-三氢嘌呤-2,6-二酮;

1-环丙基甲基-3-甲基-8-[1-(苯基甲基)吡唑-4-基]-1,3,7-三氢嘌呤-2,6-二酮;

1-环丙基甲基-3-甲基-8-{1-[(3-三氟甲基苯基)甲基]吡唑-4-基}-1,3,7-三氢嘌呤-2,6-二酮;

1-环丙基甲基-3-乙基-8-{1-[(3-三氟甲基苯基)甲基]吡唑-4-基}-1,3,7-三氢嘌呤-2,6-二酮;

1-环丙基甲基-3-甲基-8-{1-[(3-三氟苯基)甲基]吡唑-4-基}-1,3,7-三氢嘌呤-2,6-二酮;

1-环丙基甲基-3-乙基-8-{1-[(3-三氟苯基)甲基]吡唑-4-基}-1,3,7-三氢嘌呤-2,6-二酮;

1-环丙基甲基-3-乙基-8-(1-{[6-(三氟甲基)(3-吡啶基)]甲基}吡唑-4-基)-1,3,7-三氢嘌呤-2,6-二酮;

3-({4-[1-(环丙基甲基)-3-甲基-2,6-二氧代-1,3,7-三氢嘌呤-8-基]吡唑基}甲基)苯甲腈;

8-[1-(2-(1H-1,2,3,4-四唑-5-基)乙基)吡唑-4-基]-3-甲基-1-环丙基甲基-1,3,7-三氢嘌呤-2,6-二酮;

1-(2-甲基丙基)-3-甲基-8-[1-苄基吡唑-4-基]-1,3,7-三氢嘌呤-2,6-二酮;

1-(2-甲基丙基)-3-乙基-8-{1-[(3-氟苯基)甲基]吡唑-4-基}-1,3,7-三氢嘌呤-2,6-二酮;

1-(2-甲基丙基)-3-甲基-8-{1-[(3-三氟甲基苯基)甲基]吡唑-4-基}-1,3,7-三氢嘌呤-2,6-二酮;

1-(2-甲基丙基)-3-甲基-8-{1-[(3-氟苯基)甲基]吡唑-4-基}-1,3,7-三氢嘌呤-2,6-二酮;

3-乙基-1-(2-甲基丙基)-8-(1-{[6-(三氟甲基)(3-吡啶基)]甲基}吡唑-4-基)-1,3,7-三氢嘌呤-2,6-二酮;

1-乙基-3-甲基-8-{1-[(3-氟苯基)甲基]吡唑-4-基}-1,3,7-三氢嘌呤-2,6-二酮; 以及

3-乙基-1-丙基-8-[1-(2-吡啶基甲基)吡唑-4-基]-1,3,7-三氢嘌呤-2,6-二酮。

特别优选的是 3-乙基-1-丙基-8-(1-{[3-(三氟甲基)苯基]甲基}吡唑-4-基)-1,3,7-三氢嘌呤-2,6-二酮。

定义和一般参数

如在本说明书中所使用的,除非它们在其中所使用的上下文中另有说明,以下单词和词组一般具有如下所述的含义。

术语“烷基”是指单价的支链或无支链饱和烃链,其具有 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 或 20 个碳原子。本术语通过基团如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、正己基、正癸基、十四烷基等加以说明。

术语“取代的烷基”是指：

1) 如上所定义的烷基基团，其具有 1、2、3、4 或 5 个取代基，优选为 1 至 3 个取代基，这些取代基选自由链烯基、炔基、烷氧基、环烷基、环烯基、酰基、酰氨基、酰氧基、氨基、氨基羰基、烷氧基羰基氨基、叠氮基、氰基、卤素、羟基、酮基、硫代羰基、羧基、羧基烷基、芳硫基、杂芳硫基、杂环硫基、硫羟基、烷硫基、芳基、芳氧基、杂芳基、氨基磺酰基、氨基羰基氨基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟氨基、烷氧基氨基、硝基、-SO-烷基、-SO-芳基、-SO-杂芳基、-SO₂-烷基、-SO₂-芳基以及-SO₂-杂芳基组成的组。除非通过定义而另有限定，所有取代基可以可选地进一步被 1、2、或 3 个取代基取代，这些取代基选自烷基、羧基、羧基烷基、氨基羰基、羟基、烷氧基、卤素、CF₃、氨基、取代的氨基、氰基、以及-S(O)_nR，其中 R 是烷基、芳基、或杂芳基而 n 是 0、1 或 2；或

2) 如上所定义的烷基基团，其被独立选自氧、硫以及 NR_a-的 1 至 10 个原子所中断，其中 R_a 选自氢、烷基、环烷基、链烯基、环烯基、炔基、芳基、杂芳基以及杂环基。所有取代基可以可选地进一步被下述基团取代：烷基、烷氧基、卤素、CF₃、氨基、取代的氨基、氰基、或-S(O)_nR，其中 R 是烷基、芳基、或杂芳基而 n 是 0、1 或 2；或

3) 如上所定义的烷基基团，其具有如上所定义的 1、2、3、4 或 5 个取代基并且被如上所定义的 1 至 10 个原子所中断。

术语“低级烷基”是指单价的支链或无支链饱和烃链，其具有 1、2、3、4、5、或 6 个碳原子。本术语通过基团如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、正己基等加以说明。

术语“取代的低级烷基”是指：如上所定义的低级烷基，其具有如针对取代的烷基所定义的 1 至 5 取代基，优选为 1、2、或 3 个

取代基；或如上所定义的低级烷基基团，其被如针对取代的烷基所定义的1、2、3、4、或5个原子所中断；或如上所定义的低级烷基基团，其具有如上所定义的1、2、3、4或5个取代基并且被如上所定义的1、2、3、4、或5个原子所中断。

术语“亚烷基”是指支链或无支链的饱和烃链的双基，其具有1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个碳原子，优选为1至10个碳原子，更优选为1、2、3、4、5或6个碳原子。本术语通过基团如亚甲基(-CH₂-)、亚乙基(-CH₂CH₂-)、亚丙基异构体（例如，-CH₂CH₂CH₂-和-CH(CH₃)CH₂-）等加以说明。

术语“低级亚烷基”是指支链或无支链的饱和烃链的双基，优选具有1、2、3、4、5、或6个碳原子。

术语“低级亚烷基”是指支链或无支链的饱和烃链的双基，优选具有1、2、3、4、5、或6个碳原子。

术语“取代的亚烷基”是指：

(1) 如上所定义的亚烷基基团，其具有1、2、3、4、或5个取代基，这些取代基选自由烷基、链烯基、炔基、烷氧基、环烷基、环烯基、酰基、酰氨基、酰氧基、氨基、氨基羰基、烷氧基羰基氨基、叠氮基、氰基、卤素、羟基、酮基、硫代羰基、羧基、羧基烷基、芳硫基、杂芳硫基、杂环硫基、硫羟基、烷硫基、芳基、芳氧基、杂芳基、氨基磺酰基、氨基羰基氨基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟氨基、烷氧基氨基、硝基、-SO-烷基、-SO-芳基、-SO-杂芳基、-SO₂-烷基、-SO₂-芳基以及-SO₂-杂芳基组成的组。除非通过定义而另有限定，所有取代基可以可选地进一步被1、2、或3个取代基取代，这些取代基选自烷基、羧基、羧基烷基、氨基羰基、

羟基、烷氧基、卤素、 CF_3 、氨基、取代的氨基、氰基、以及 $-\text{S}(\text{O})_n\text{R}$ ，其中 R 是烷基、芳基、或杂芳基而 n 是 0、1 或 2；或

(2) 如上所定义的亚烷基基团，其被独立选自氧、硫以及 NR_a - 的 1 至 20 个原子所中断，其中 R_a 选自氢、可取代的烷基、环烷基、环烯基、芳基、杂芳基以及杂环基，或选自羰基、羧基酯、羧基酰胺以及磺酰基的基团；或

(3) 如上所定义的亚烷基基团，其具有如上所定义的 1、2、3、4 或 5 个取代基，并且被如上所定义的 1 至 20 个原子所中断。取代的亚烷基的实例有氯亚甲基 ($-\text{CH}(\text{Cl})-$)、氨基亚乙基 ($-\text{CH}(\text{NH}_2)\text{CH}_2-$)、甲氨基亚乙基 ($-\text{CH}(\text{NHMe})\text{CH}_2-$)、2-羧基亚丙基异构体 ($-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CO}_2\text{H})\text{CH}_2-$)、乙氧基乙基 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2-$)、乙基甲基氨基乙基 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2-$)、1-乙氧基-2-(2-乙氧基-乙氧基)乙烷 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{OCH}_2\text{CH}_2-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$) 等等。

术语“芳烷基”是指共价连接于亚烷基基团的芳基基团，其中芳基和亚芳基在本文中加以定义。“可取代的芳烷基”是指共价连接于可取代的亚烷基基团的可取代的芳基基团。这样的芳烷基基团通过苄基、苯乙基、3-(4-甲氧基苯基)丙基等加以说明。

术语“烷氧基”是指基团 $\text{R}-\text{O}-$ ，其中 R 是可取代的烷基或可取代的环烷基，或 R 是基团 $-\text{Y}-\text{Z}$ ，其中 Y 是可取代的亚烷基而 Z 是可取代的链烯基、可取代的炔基；或可取代的环烯基，其中烷基、链烯基、炔基、环烷基以及环烯基如在本文中所定义。优选的烷氧基基团是可取代的烷基- $\text{O}-$ ，并且包括，例如，甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、叔丁氧基、仲丁氧基（或异丁氧基）、正戊氧基、正己氧基、1,2-二甲基丁氧基、三氟甲氧基等等。

术语“烷硫基”是指基团 R-S-, 其中 R 如针对烷氧基所定义。

术语“链烯基”是指支链或无支链的不饱和烃基团的单价基团, 优选具有 2 至 20 个碳原子, 更优选为 2 至 10 个碳原子, 甚至更优选为 2 至 6 个碳原子, 并且具有 1 至 6 个, 优选为 1 个双键(乙烯基)。优选的链烯基基团包括乙烯基(-CH=CH₂)、1-丙烯基或烯丙基(-CH₂CH=CH₂)、异丙烯基(-C(CH₃)=CH₂)、双环[2.2.1]庚烯等等。在链烯基与氮相连的情况下, 双键不能在氮的 α 位。

术语“低级链烯基”是指如上所定义的链烯基, 其具有 2 至 6 个碳原子。

术语“取代的链烯基”是指如上所定义的链烯基基团, 其具有 1、2、3、4 或 5 个取代基, 优选为 1、2、或 3 个取代基, 这些取代基选自由烷基、链烯基、炔基、烷氧基、环烷基、环烯基、酰基、酰氨基、酰氧基、氨基、氨基羰基、烷氧基羰基氨基、叠氮基、氰基、卤素、羟基、酮基、硫代羰基、羧基、羧基烷基、芳硫基、杂芳硫基、杂环硫基、硫羟基、烷硫基、芳基、芳氧基、杂芳基、氨基磺酰基、氨基羰基氨基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟氨基、烷氧基氨基、硝基、-SO-烷基、-SO-芳基、-SO-杂芳基、-SO₂-烷基、-SO₂-芳基以及-SO₂-杂芳基组成的组。除非通过定义而另有限定, 所有取代基可以可选地进一步被 1、2、或 3 个取代基取代, 这些取代基选自烷基、羧基、羧基烷基、氨基羰基、羟基、烷氧基、卤素、CF₃、氨基、取代的氨基、氰基、以及-S(O)_nR, 其中 R 是烷基、芳基、或杂芳基而 n 是 0、1 或 2。

术语“炔基”是指不饱和烃的单价基团, 优选具有 2 至 20 个碳原子, 更优选为 2 至 10 个碳原子, 甚至更优选为 2 至 6 个碳原子, 并且具有至少 1 个并优选为 1 至 6 位的乙炔(三键)不饱和部分。优选的炔基基团包括乙炔基(-C \equiv CH)、炔丙基(或丙-1-炔-3-

基, $-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$) 等等。在炔基与氮相连的情况下, 三键不能在氮的 α 位。

术语“取代的炔基”是指如上所定义的炔基基团, 其具有 1、2、3、4 或 5 个取代基, 并且优选为 1、2、或 3 个取代基, 这些取代基选自烷基、链烯基、炔基、烷氧基、环烷基、环烯基、酰基、酰氨基、酰氧基、氨基、氨基羰基、烷氧基羰基氨基、叠氮基、氰基、卤素、羟基、酮基、硫代羰基、羧基、羧基烷基、芳硫基、杂芳硫基、杂环硫基、硫羟基、烷硫基、芳基、芳氧基、杂芳基、氨基磺酰基、氨基羰基氨基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟氨基、烷氧基氨基、硝基、 $-\text{SO}$ -烷基、 $-\text{SO}$ -芳基、 $-\text{SO}$ -杂芳基、 $-\text{SO}_2$ -烷基、 $-\text{SO}_2$ -芳基以及 $-\text{SO}_2$ -杂芳基组成的组。除非通过定义而另有限定, 所有取代基可以可选地进一步被 1、2、或 3 个取代基取代, 这些取代基选自烷基、羧基、羧基烷基、氨基羰基、羟基、烷氧基、卤素、 CF_3 、氨基、取代的氨基、氰基、以及 $-\text{S}(\text{O})_n\text{R}$, 其中 R 是烷基、芳基、或杂芳基而 n 是 0、1 或 2。

术语“氨基羰基”是指基团 $-\text{C}(\text{O})\text{NRR}$, 其中每个 R 独立地是氢、烷基、芳基、杂芳基、杂环基, 或其中两个 R 基团相连以形成杂环基团(例如, 吗啉基)。除非通过定义而另有限定, 所有取代基可以可选地进一步被 1 至 3 个取代基取代, 这些取代基选自烷基、羧基、羧基烷基、氨基羰基、羟基、烷氧基、卤素、 CF_3 、氨基、取代的氨基、氰基、以及 $-\text{S}(\text{O})_n\text{R}$, 其中 R 是烷基、芳基、或杂芳基而 n 是 0、1 或 2。

术语“酰氨基”是指基团 $-\text{NRC}(\text{O})\text{R}$, 其中每个 R 独立地是氢、烷基、芳基、杂芳基、或杂环基。除非通过定义而另有限定, 所有取代基可以可选地进一步被 1 至 3 个取代基取代, 这些取代基选自烷基、羧基、羧基烷基、氨基羰基、羟基、烷氧基、卤素、 CF_3 、

氨基、取代的氨基、氰基、以及-S(O)_nR，其中 R 是烷基、芳基、或杂芳基而 n 是 0、1 或 2。

术语“酰氧基”是指基团-O(O)C-烷基、-O(O)C-环烷基、-O(O)C-芳基、-O(O)C-杂芳基、以及-O(O)C-杂环基。除非通过定义而另有限定，所有取代基可以可选地进一步被下述基团取代：烷基、羧基、羧基烷基、氨基羰基、羟基、烷氧基、卤素、CF₃、氨基、取代的氨基、氰基、或-S(O)_nR，其中 R 是烷基、芳基、或杂芳基而 n 是 0、1 或 2。

术语“芳基”是指 6 至 20 个碳原子的芳香碳环基团，其具有单环（例如，苯基）或多环（例如，联苯基），或多个稠环（例如，萘基或蒽基）。优选的芳基包括苯基、萘基等等。

术语“亚芳基”是指如上所定义的芳基基团的双基。本术语通过基团如 1,4-亚苯基、1,3-亚苯基、1,2-亚苯基、1,4'-亚联苯基等加以说明。

除非通过对于芳基或亚芳基取代基定义而另有限定，这样的芳基或亚芳基基团可以可选地被 1 至 5 个取代基、优选被 1 至 3 个取代基所取代，这些取代基选自由烷基、链烯基、炔基、烷氧基、环烷基、环烯基、酰基、酰氨基、酰氧基、氨基、氨基羰基、烷氧基羰基氨基、叠氮基、氰基、卤素、羟基、酮基、硫代羰基、羧基、羧基烷基、芳硫基、杂芳硫基、杂环硫基、硫羟基、烷硫基、芳基、芳氧基、杂芳基、氨基磺酰基、氨基羰基氨基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟氨基、烷氧基氨基、硝基、-SO-烷基、-SO-芳基、-SO-杂芳基、-SO₂-烷基、-SO₂-芳基以及-SO₂-杂芳基组成的组。除非通过定义而另有限定，所有取代基可以可选地进一步被 1 至 3 个取代基取代，这些取代基选自烷基、羧基、羧基烷基、氨基羰基、羟基、烷氧基、卤素、CF₃、氨基、取代的氨基、氰基、以及-S(O)_nR，其中 R 是烷基、芳基、或杂芳基而 n 是 0、1 或 2。

术语“芳氧基”是指基团芳基-O-，其中芳基基团如上所定义，并且包括同样如上所定义的可选取代的芳基基团。术语“芳硫基”是指基团 R-S-，其中 R 如针对芳基所定义。

术语“氨基”是指基团-NH₂。

术语“取代的氨基”是指基团-NRR，其中每个 R 独立地选自由氢、烷基、环烷基、羧基烷基（例如，苄氧基羰基）、芳基、杂芳基以及杂环基组成的组，条件是两个 R 基团不都是氢，或基团-Y-Z，其中 Y 是可取代的亚烷基而 Z 是链烯基、环烯基、或炔基。除非通过定义而另有限定，所有取代基可以可选地进一步被 1 至 3 个取代基取代，这些取代基选自烷基、羧基、羧基烷基、氨基羰基、羟基、烷氧基、卤素、CF₃、氨基、取代的氨基、氰基、以及-S(O)_nR，其中 R 是烷基、芳基、或杂芳基而 n 是 0、1 或 2。

术语“羧基烷基”是指基团-C(O)O-烷基或-C(O)O-环烷基，其中烷基和环烷基如在本文中所定义，并且可以可选地进一步被下述基团取代：烷基、链烯基、炔基、烷氧基、卤素、CF₃、氨基、取代的氨基、氰基、或-S(O)_nR，其中 R 是烷基、芳基、或杂芳基而 n 是 0、1 或 2。

术语“环烷基”是指 3 至 20 个碳原子的碳环基团，其具有单环或多个稠环。这样的环烷基基团包括，例如，单环结构如环丙基、环丁基、环戊基、环辛基等，或多环结构如金刚烷基、双环[2.2.1]庚烷、1,3,3-三甲基双环[2.2.1]庚-2-基、(2,3,3-三甲基双环[2.2.1]庚-2-基)，或稠合有芳基基团的碳环基团，例如 1,2-二氢化茚，以及类似基团。

术语“取代的环烷基”是指环烷基基团，其具有 1、2、3、4 或 5 个取代基，优选 1、2、或 3 个取代基，这些取代基选自烷基、链烯基、炔基、烷氧基、环烷基、环烯基、酰基、酰氨基、酰氧基、

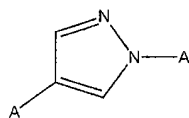
氨基、氨基羰基、烷氧基羰基氨基、叠氮基、氰基、卤素、羟基、酮基、硫代羰基、羧基、羧基烷基、芳硫基、杂芳硫基、杂环硫基、硫羟基、烷硫基、芳基、芳氧基、杂芳基、氨基磺酰基、氨基羰基氨基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟氨基、烷氧基氨基、硝基、-SO-烷基、-SO-芳基、-SO-杂芳基、-SO₂-烷基、-SO₂-芳基以及-SO₂-杂芳基组成的组。除非通过定义而另有限定，所有取代基可以可选地进一步被 1、2、或 3 个取代基取代，这些取代基选自烷基、羧基、羧基烷基、氨基羰基、羟基、烷氧基、卤素、CF₃、氨基、取代的氨基、氰基、以及-S(O)_nR，其中 R 是烷基、芳基、或杂芳基而 n 是 0、1 或 2。

术语“卤素”或“卤基”是指氟基、溴基、氯基、以及碘基。

术语“酰基”表示基团-C(O)R，其中 R 是氢、可取代的烷基、可取代的环烷基、可取代的杂环基、可取代的芳基、以及可取代的杂芳基。

术语“杂芳基”是指衍生自芳环基团（即，完全不饱和）的基团，其具有 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、或 15 个碳原子以及在至少一个环内的 1、2、3 或 4 个选自氧、氮以及硫的杂原子。这样的杂芳基基团可以具有单环（例如，吡啶基或呋喃基）或多个稠环（例如，吲哚基（中氮茛基）、苯并噻唑基、或苯并噻吩基）。杂芳基的实例包括但不限于：[1,2,4]噁二唑、[1,3,4]噁二唑、[1,2,4]噻二唑、[1,3,4]噻二唑、吡咯、咪唑、吡唑、吡啶、吡嗪、嘧啶、哒嗪、吲哚（中氮茛）、异吲哚、吲哚、吲唑、嘌呤、喹啉、异喹啉、喹啉、酞嗪（2,3-二氮杂萘）、萘基吡啶、喹喔啉、喹唑啉、肉啉、蝶啶、咔唑、咔啉、菲啶、吡啶、菲咯啉、异噻唑、吩嗪、异噻唑、吩噻嗪、吩噻嗪、咪唑烷（四氢咪唑）、咪唑啉、类似基团以及含氮杂芳基化合物的 N-氧化物和 N-烷氧基衍生物，例如吡啶-N-氧化物衍生物。

术语“杂亚芳基”是指如上所定义的杂芳基基团的双基。本术语通过基团如 2,5-亚咪唑基、3,5-[1,2,4]亚噁二唑基、2,4-亚噁唑基、1,4-亚吡唑基、以及类似基团加以说明。例如，1,4-亚吡唑基是：



其中 A 表示连接点。

除非通过对于杂芳基或杂亚芳基取代基定义而另有限定，这样的杂芳基或杂亚芳基基团可以可选地被 1 至 5 个取代基、优选被 1 至 3 个取代基所取代，这些取代基选自由烷基、链烯基、炔基、烷氧基、环烷基、环烯基、酰基、酰氨基、酰氧基、氨基、氨基羰基、烷氧基羰基氨基、叠氮基、氰基、卤素、羟基、酮基、硫代羰基、羧基、羧基烷基、芳硫基、杂芳硫基、杂环硫基、硫羟基、烷硫基、芳基、芳氧基、杂芳基、氨基磺酰基、氨基羰基氨基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟氨基、烷氧基氨基、硝基、-SO-烷基、-SO-芳基、-SO-杂芳基、-SO₂-烷基、-SO₂-芳基以及-SO₂-杂芳基组成的组。除非通过定义而另有限定，所有取代基可以可选地进一步被 1 至 3 个取代基取代，这些取代基选自烷基、羧基、羧基烷基、氨基羰基、羟基、烷氧基、卤素、CF₃、氨基、取代的氨基、氰基、以及-S(O)_nR，其中 R 是烷基、芳基、或杂芳基而 n 是 0、1 或 2。

术语“杂芳烷基”是指共价连接于亚烷基基团的杂芳基基团，其中杂芳基和亚烷基在本文中加以定义。“可取代的杂芳烷基”是指共价连接于可取代的亚烷基基团的可选取代的杂芳基基团。这样的杂芳烷基基团通过 3-吡啶基甲基、喹啉-8-基乙基、4-甲氧基噻唑-2-基丙基、以及类似基团加以说明。

术语“杂芳氧基”是指基团杂芳基-O-。

术语“杂环基”是指单价的饱和或部分不饱和基团，其具有单环或多稠环，具有1至40个碳原子并在环内具有1至10个杂原子，优选为1、2、3或4个杂原子，这些杂原子选自氮、硫、磷、和/或氧。杂环基团可以具有单环或多稠环，包括四氢呋喃基、吗啉基、哌啶基、哌嗪并、二氢吡啶并、以及类似基团。

除非对于杂环取代基定义而另有限定，这样的杂环基团可以可选地被1、2、3、4或5个取代基、优选被1、2或3个取代基所取代，这些取代基选自由烷基、链烯基、炔基、烷氧基、环烷基、环烯基、酰基、酰氨基、酰氧基、氨基、氨基羰基、烷氧基羰基氨基、叠氮基、氰基、卤素、羟基、酮基、硫代羰基、羧基、羧基烷基、芳硫基、杂芳硫基、杂环硫基、硫羟基、烷硫基、芳基、芳氧基、杂芳基、氨基磺酰基、氨基羰基氨基、杂芳氧基、杂环基、杂环氧基、羟氨基、烷氧基氨基、硝基、-SO-烷基、-SO-芳基、-SO-杂芳基、-SO₂-烷基、-SO₂-芳基以及-SO₂-杂芳基组成的组。除非通过定义而另有限定，所有取代基可以可选地进一步被1至3个取代基取代，这些取代基选自烷基、羧基、羧基烷基、氨基羰基、羟基、烷氧基、卤素、CF₃、氨基、取代的氨基、氰基、以及-S(O)_nR，其中R是烷基、芳基、或杂芳基而n是0、1或2。

术语“硫羟基”是指基团-SH。

术语“取代的烷硫基”是指基团-S-取代的烷基。

术语“杂芳硫羟基”是指基团-S-杂芳基，其中杂芳基基团如上所定义，其包括同样如上所定义的可选取代的杂芳基基团。

术语“亚砷”是指基团-S(O)R，其中R是烷基、芳基、或杂芳基。“取代的亚砷”是指基团-S(O)R，其中R是如在本文中所定义的取代的烷基、取代的芳基、或取代的杂芳基。

术语“砜”是指基团 $-S(O)_2R$ ，其中 R 是烷基、芳基、或杂芳基。“取代的砜”是指基团 $-S(O)_2R$ ，其中 R 是如在本文中所定义的取代的烷基、取代的芳基、或取代的杂芳基。

术语“酮基”是指基团 $-C(O)-$ 。术语“硫代羰基”是指基团 $-C(S)-$ 。术语“羧基”是指基团 $-C(O)-OH$ 。

术语“用于形成酰胺键的偶联剂”是指那些化合物，通过羧酸与胺的反应这些化合物常规用于促进酰胺键的形成。这样的偶联剂的实例是 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳化二亚胺、1,3-二叔丁基碳化二亚胺、1,3-二环己基碳化二亚胺等等。

术语“离去基团”是以常规方式加以使用，并且指在置换或取代反应中能够被亲核试剂取代的部分。离去基团的实例是氯基、溴基、碘基、甲磺酸盐、甲苯磺酸盐等等。

“可选的”或“可选地”是指其后描述的事件或情况可以发生或者可以不发生，以及该描述包括所述事件或情况发生的事例以及所述事件或情况不发生的事例。

术语“化学式 I 的化合物”包括如所披露的本发明的化合物，以及这类化合物的药学可接受的盐、药学可接受的酯、前药（药物前体）、水合物以及多晶型物。另外，本发明的化合物可以具有一个或多个不对称中心，并且可以制备成外消旋混合物或制备成单独的对映体或非对映异构体。在任何给定化学式 I 的化合物中存在的立体异构体的数目取决于存在的不对称中心的数目（存在 2^n 个可能的立体异构体，其中 n 是不对称中心的数目）。各种立体异构体可以通过在合成的某个适当阶段解析中间体的外消旋或非外消旋混合物、或通过常规手段解析化学式 I 的化合物而获得。各种单独立体异构体（包括各种单独的对映体和非对映异构体）以及立体异构

体的外消旋和非外消旋混合物都包括在本发明的范围内，所有这些都通过本说明书的结构而加以描述，除非另有明确说明。

“异构体”是具有相同分子式的不同的化合物。

“立体异构体”是这样的异构体，其差别仅在于原子在空间的排列方式不同。

“对映体”是一对立体异构体，其彼此是不能重叠的镜像。一对对映体的 1:1 混合物是“外消旋”混合物。在适宜的情况下，用术语“(±)”来表示外消旋混合物。

“非对映异构体”是这样的立体异构体，其具有至少两个不对称原子，但其彼此不是镜像。

绝对立体化学性能是按照 Cahn-Ingold-Prelog R-S 系统来表示的。当化合物是绝对对映体时，在每个手性碳原子处的立体化学特性可以通过 R 或 S 来表示。绝对构型未知的解析化合物可以表示为(+)或(-)，其取决于它们在钠 D 线的波长下的旋转偏振光平面内的方向(右旋或左旋)。

术语“有效治疗量”是指当给予需要这样的治疗的哺乳动物时，化学式 I 的化合物的量足以实现如下文所定义的治疗。有效治疗量将随以下因素而变化：要治疗的受治疗者和病情、受治疗者的体重和年龄、病情的严重程度、给药方式等，这些可以由本领域技术人员容易地确定。

术语“治疗”是指对哺乳动物疾病的任何治疗，包括：

- (i) 预防疾病，即，使疾病的临床症状不发展；
- (ii) 抑制疾病，即，阻止临床症状的发展；和 / 或
- (iii) 缓解疾病，即，使临床症状消退。

在很多情况下，本发明的化合物借助氨基和/或羧基基团或与其类似基团的存在能够形成酸式盐和/或碱式盐。术语“药学可接受的盐”是指这样的盐，其保留化学式I的化合物的生物有效性和性能，并且在生物学上或在其它方面不是不理想的。药学可接受的碱加成盐可以制备自无机碱和有机碱。仅以举例的方式，衍生自无机碱的盐包括钠盐、钾盐、锂盐、铵盐、钙盐以及镁盐。衍生自有机碱的盐包括但不限于：伯胺、仲胺以及叔胺的盐，如烷基胺、二烷基胺、三烷基胺、取代的烷基胺、二（取代的烷基）胺、三（取代的烷基）胺、链烯基胺、二链烯基胺、三链烯基胺、取代的链烯基胺、二（取代的链烯基）胺、三（取代的链烯基）胺、环烷基胺、二（环烷基）胺、三（环烷基）胺、取代的环烷基胺、二取代的环烷基胺、三取代的环烷基胺、环烯基胺、二（环烯基）胺、三（环烯基）胺、取代的环烯基胺、二取代的环烯基胺、三取代的环烯基胺、芳基胺、二芳基胺、三芳基胺、杂芳基胺、二杂芳基胺、三杂芳基胺、杂环胺、二杂环胺、三杂环胺、混合的二胺和三胺，其中在胺上的至少两个取代基是不同的并且选自由烷基、取代的烷基、链烯基、取代的链烯基、环烷基、取代的环烷基、环烯基、取代的环烯基、芳基、杂芳基、杂环、以及类似基团组成的组。还包括这样的胺，其中两个或三个取代基与氨基氮一起形成杂环或杂芳基基团。

仅以举例的方式，适宜的胺的特定实例包括：异丙胺、三甲胺、二乙胺、三异丙胺、三正丙胺、乙醇胺、2-二甲基氨基乙醇、氨丁三醇、赖氨酸、精氨酸、组氨酸、咖啡因、普鲁卡因、海巴明、胆碱、甜菜碱、乙二胺、葡糖胺、N-烷基葡糖胺、可可碱、嘌呤、腺嘌呤、腺嘌呤、吗啉、N-乙基腺嘌呤、以及类似的胺。

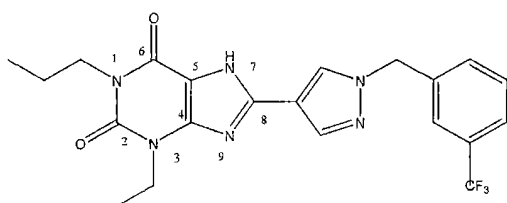
药学可接受的酸加成盐可以制备自无机酸和有机酸。由其可以衍生盐的无机酸包括盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等等。由其可以衍生盐的有机酸包括乙酸、丙酸、乙醇酸、丙酮酸、草酸、苹

果酸、丙二酸、丁二酸、马来酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、苯甲酸、肉桂酸、扁桃酸、甲磺酸、乙磺酸、对甲苯磺酸、水杨酸等等。

如在本文中所使用的，“药学可接受的载体”包括任何和所有溶剂、分散介质、涂层、抗菌药以及抗真菌药、等渗剂以及吸收延迟剂等。这样的介质和药剂用于药物活性物质在本技术领域是众所周知的。除非任何常规的介质或药剂与活性组分不相容，则可以设想将其用于治疗组合物。辅助的活性组分也可以加入到组合物中。

命名

本发明的化合物的命名和编号是用化学式 I 的典型化合物图示说明的，其中 R¹ 是正丙基，R² 是乙基，X 是 1,4-亚吡唑基，Y 是 -CH₂-，以及 Z 是 3-三氟甲基苯基；



其被命名为：

3-乙基-1-丙基-8-(1-{[3-(三氟甲基)苯基]甲基}吡唑-4-基)-1,3,7-三氢嘌呤-2,6-二酮。

合成反应参数

术语“溶剂”、“惰性有机溶剂”或“惰性溶剂”是指在与其一起描述的反应条件下为惰性的溶剂，包括，例如，苯、甲苯、乙腈、四氢呋喃（“THF”）、二甲基甲酰胺（“DMF”）、氯仿、二氯甲烷、乙醚、甲醇、吡啶以及类似溶剂。除非有相反的说明，在本发明的

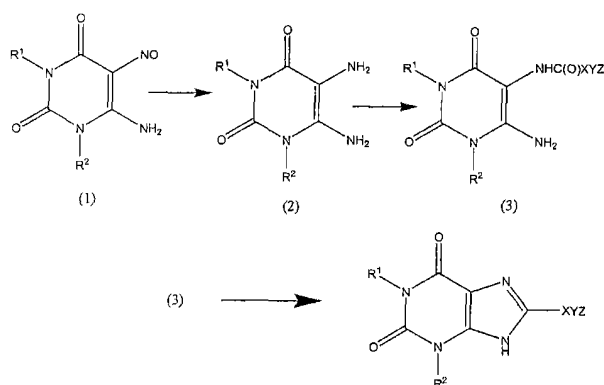
反应中使用的溶剂是惰性有机溶剂，并且反应是在惰性气体、优选氮气下进行的。

术语“足量”表示加入足以达到所述功能的量，例如，使溶液达到所希望的体积（即，100%）。

化学式 I 的化合物的制备

将一种制备化学式 I 的化合物的优选方法示于反应图解 I 中。

反应图解 I



步骤 1 - 化学式 (2) (化合物) 的制备

化学式 (2) 的化合物是通过还原步骤由化学式 (1) 的化合物制备的。可以采用常规的还原技术，例如使用在氨水溶液中的连二亚硫酸钠；优选借助氢和金属催化剂进行还原。该反应在惰性溶剂、例如甲醇中，在催化剂，例如 10% 钨碳催化剂存在的情况下，在氢气气氛下，并优选在压力例如约 30 磅/厘米² (psi) 下进行，持续约 2 小时。当反应基本完成时，通过常规手段分离化学式 (2) 的产物，用以提供化学式 (2) 的化合物。

步骤 2 - 化学式 (3) (化合物) 的制备

然后，在有碳化二亚胺，例如 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳化二亚胺盐酸盐存在的情况下，使化学式 (2) 的化合物与化学式 Z-Y-X-CO₂H 的羧酸反应。该反应是在质子溶剂，例如甲醇、乙醇、丙醇等中进行的，优选在甲醇中进行，反应温度为约 20-30°C，优选为约室温，反应时间为约 12-48 小时，优选为约 16 小时。当反应基本完成时，用常规方法，例如通过在减压下除去溶剂来分离化学式 (3) 的产物，然后洗涤产物。可替换地，可以进行下一步骤而不需要任何进一步的纯化。

化学式 (3) 的化合物的可替换的制备

可替换地，通过与卤化剂，例如亚硫酸氯或亚硫酸溴，优选亚硫酸氯，反应，首先将化学式 Z-Y-X-CO₂H 的羧酸转化成化学式 Z-Y-X-C(O)L 的酰基卤，其中 L 是氯基或溴基。可替换地，可以使用草酰氯、五氯化磷或磷酰氯。反应优选在没有溶剂的情况下，并使用过量的卤化剂，例如在反应温度约 60 - 80°C，优选约 70°C，反应时间约 1 - 8 小时，优选约 4 小时下进行。当反应基本完成时，用常规方法，例如通过在减压下除去过量的卤化剂来分离化学式 Z-Y-X-C(O)L 的产物。

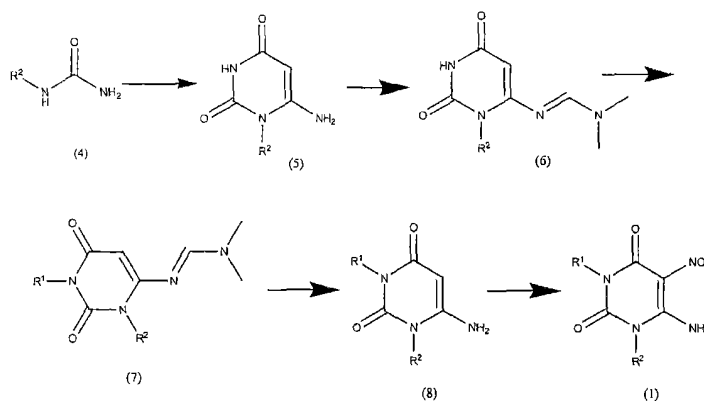
然后，在惰性溶剂，例如乙腈中，并在叔碱，例如三乙胺存在的情况下，使该产物与化学式 (2) 的化合物反应。在约 0°C 的最初温度下进行反应，然后使其升温至 20 - 30°C，优选为约室温，约 12 - 48 小时，优选约 16 小时。当反应基本完成时用常规方法分离化学式 (3) 的产物，例如通过用水稀释反应混合物，滤出产物，然后用水接着用乙醚洗涤产物。

步骤 3 - 化学式 I (化合物) 的制备

然后通过环化反应将化学式 (3) 的化合物转化成化学式 I 的化合物。在质子溶剂中, 例如甲醇、乙醇、丙醇等, 优选甲醇, 并在碱, 例如氢氧化钾、氢氧化钠、甲醇钠、乙醇钠、叔丁醇钾, 优选在氢氧化钠水溶液存在的情况下, 进行反应, 反应温度为约 50 - 80 °C, 优选为约 80 °C, 反应时间约 1 - 8 小时, 优选约 3 小时。当反应基本完成时, 用常规方法, 例如通过在减压下除去溶剂来分离化学式 I 的产物, 用含水酸酸化残余物, 滤出产物, 然后洗涤并干燥产物。

可以通过各种方法来制备化学式 (1) 的化合物。一种优选的方法被示于反应图解 II 中。

反应图解 II



步骤 1 - 化学式 (5) (化合物) 的制备

化学式 (4) 的化合物可商业上获得或通过本技术领域熟知的方式来制备。在质子溶剂, 例如乙醇中, 并在强碱, 例如乙醇钠存在的情况下, 它与氰基乙酸乙酯进行反应。在约回流温度下进行反应约 4 至约 24 小时。当反应基本完成时, 用常规方法分离如此产生的化学式 (5) 的化合物。

步骤 2 和 3 - 化学式 (7) (化合物) 的制备

在极性溶剂，例如 N,N-二甲基甲酰胺中，使化学式 (5) 的化合物与 N,N-二甲基甲酰胺中的二甲基乙缩醛反应。在约 40°C 下反应约 1 小时。当反应基本完成时，如此产生的化学式 (6) 的化合物与化学式 $R^1\text{Hal}$ 的化合物在碱，例如碳酸钾存在的情况下反应，其中 Hal 是氯基、溴基、或碘基。在约 80°C 下反应约 4 - 24 小时。当反应基本完成时，用常规方法，例如通过在减压下蒸发溶剂来分离化学式 (7) 的产物，然后将残余物用于下一步骤而无需进一步的纯化。

步骤 4 - 化学式 (8) (化合物) 的制备

在极性溶剂中，例如悬浮在甲醇中，使化学式 (7) 的化合物与氨水反应。在约室温下反应约 1 - 3 天。当反应基本完成时，用常规方法分离化学式 (8) 的产物，例如通过经过硅胶柱的层析法，例如，用二氯甲烷 / 甲醇的混合物进行洗脱。

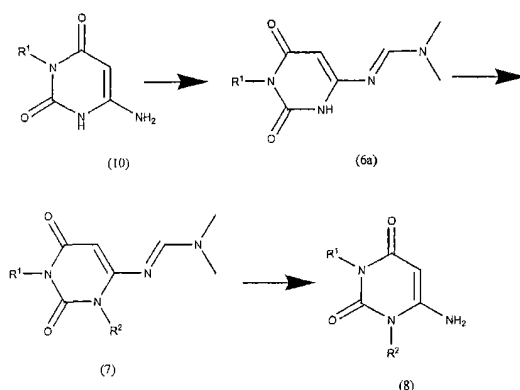
步骤 5 - 化学式 (1) (化合物) 的制备

然后在含水酸性溶剂，优选乙酸和水，例如 50% 乙酸 / 水中，使化学式 (8) 的化合物与亚硝酸钠混合。在约 50 - 90°C，优选约 70°C 的温度下反应约 1 小时。当反应基本完成时，用常规方法分离化学式 (1) 的产物。

可替换地，可以在含水溶剂，例如在二甲基甲酰胺与水中反应，并与强酸，例如盐酸反应。

如反应图解 IIA 所示，利用类似的方法，化学式 (8) 的化合物可以由化学式 (10) 的化合物制备。

反应图解 IIA



步骤 2 和 3 - 化学式 (7) (化合物) 的制备

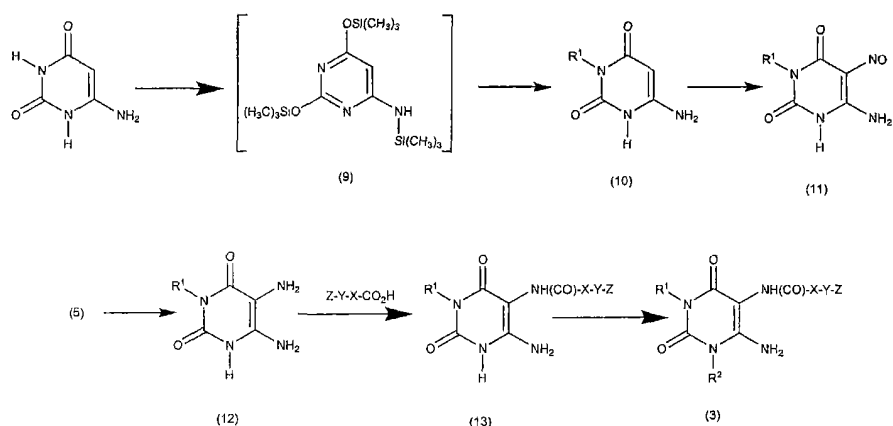
在极性溶剂，例如 N,N-二甲基甲酰胺中，使化学式 (10) 的化合物与 N,N-二甲基甲酰胺中的二甲基乙缩醛反应。在约 40°C 下反应约 1 小时。当反应基本完成时，使如此产生的化学式 (6a) 的化合物与化学式 R¹Hal 的化合物在碱，例如碳酸钾存在的情况下反应，其中 Hal 是氯基、溴基、或碘基。在约 80°C 下反应约 4 - 24 小时。当反应基本完成时，用常规方法，例如通过在减压下蒸发溶剂来分离化学式 (7) 的产物，然后将残余物用于下一步骤而无需进一步的纯化。

步骤 4 - 化学式 (化合物) (8) 的制备

在极性溶剂中，例如悬浮在甲醇中，使化学式 (7) 的化合物与氨水反应。在约室温下反应约 1 - 3 天。当反应基本完成时，用常规方法分离化学式 (8) 的产物，例如通过经过硅胶柱的层析法，例如，用二氯甲烷 / 甲醇的混合物进行洗脱。

同样可以通过各种方法来制备化学式 (3) 的化合物。一种优选的方法示于反应图解 III 中。

反应图解 III



步骤 1 - 化学式 (10) (化合物) 的制备

首先，将商业上可获得的化合物 6-氨基尿嘧啶甲硅烷基化，例如在催化剂，例如硫酸铵存在的情况下，通过与作为溶剂的过量六甲基二硅氮烷反应。在约回流温度下反应约 1-10 小时。当反应基本完成时，用常规方法分离如此产生的甲硅烷基化化合物，然后优选在没有溶剂存在的情况下，与化学式 $R^1\text{Hal}$ 的化合物反应，其中 Hal 是氯基、溴基、或碘基。在约回流温度下反应约 4-48 小时，优选约 12-16 小时。当反应基本完成时，用常规方法分离化学式 (10) 的产物。

步骤 2 - 化学式 (11) (化合物) 的制备

然后将化学式 (10) 的化合物溶解于含水酸，例如乙酸水溶液中，并与亚硝酸钠反应。在约 20-50°C 的温度，优选约 35°C 下，反应约 30 分钟。当反应基本完成时，用常规方法，例如通过过滤分离化学式 (11) 的产物。

步骤 3 - 化学式 (12) (化合物) 的制备

然后将化学式 (11) 的化合物还原成二氨基衍生物。一般而言, 将化学式 (11) 的化合物溶解于氨水中, 然后加入还原剂, 例如硫代硫酸钠。在约 70°C 下反应。当反应基本完成时, 用常规方法, 例如通过过滤冷却的反应混合物来分离化学式 (12) 的产物。

步骤 4 - 化学式 (13) (化合物) 的制备

然后, 在碳化二亚胺, 例如 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳化二亚胺盐酸盐存在的情况下, 使化学式 (12) 的化合物与化学式 Z-Y-X-CO₂H 的羧酸反应。在约 20 - 30°C 的温度下反应约 12 - 48 小时。当反应基本完成时, 用常规方法, 例如通过过滤冷却的反应混合物来分离化学式 (13) 的产物。

可替换地, 通过与卤化剂, 例如亚硫酸氯或亚硫酸溴, 反应, 将化学式 Z-Y-X-CO₂H 的羧酸转化成化学式 Z-Y-X-C(O)L 的酰基卤, 其中 L 是氯基或溴基。可替换地, 可以使用五氯化磷或磷酸氯。优选在没有溶剂的情况下, 并使用过量的卤化剂反应, 例如反应温度为约 60 - 80°C, 优选为约 70°C, 反应时间为约 1 - 8 小时, 优选为约 4 小时。当反应基本完成时, 用常规方法, 例如通过在减压下除去过量卤化剂来分离化学式 Z-Y-X-C(O)L 的产物。

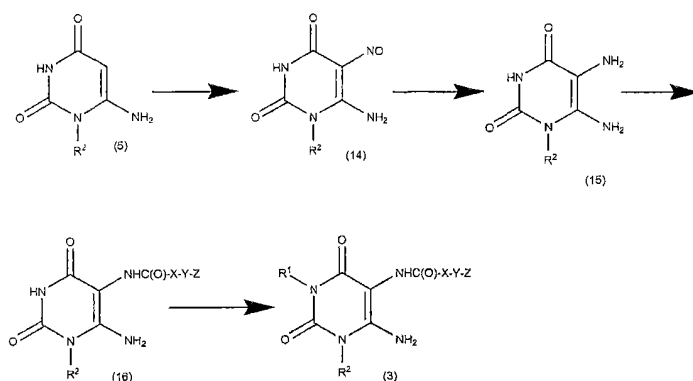
然后, 在惰性溶剂, 例如乙腈中, 并在叔碱, 例如三乙胺存在的情况下, 使化学式 Z-Y-X-C(O)L 的产物与化学式 (12) 的化合物反应。在约 0°C 的最初温度下进行反应, 然后使其升温至 20 - 30°C, 优选至约室温, 持续约 12 - 48 小时, 优选约 16 小时。当反应基本完成时, 用常规方法分离化学式 (13) 的产物, 例如通过用水稀释反应混合物, 滤出产物, 然后用水接着用乙醚洗涤产物。

步骤 5 - 化学式 (3) (化合物) 的制备

在碱, 例如碳酸钾存在的情况下, 使化学式 (13) 的化合物与化学式 R^2Hal 的化合物反应, 其中 Hal 是氯基、溴基、或碘基。在约室温下反应约 4 - 24 小时, 优选约 16 小时。当反应基本完成时, 用常规方法分离化学式 (3) 的产物, 例如通过在减压下蒸发溶剂, 然后可以用常规方法将残余物纯化, 或可以用于接着的反应而无需进一步的纯化。

制备化学式 (3) 的化合物的另一种方法被示于反应图解 IV 中。

反应图解 IV



步骤 1 - 化学式 (14) (化合物) 的制备

在含水酸性溶剂, 优选乙酸和水, 例如 50% 乙酸 / 水中, 使化学式 (5) 的化合物与亚硝酸钠进行混合。在约 50 - 90°C, 优选约 70°C 的温度下反应约 1 小时。当反应基本完成时, 用常规方式分离化学式 (14) 的产物。

可替换地, 可以在含水溶剂, 例如二甲基甲酰胺和水中进行反应, 并与强酸, 例如盐酸进行反应。

步骤 3 - 化学式 (15) (化合物) 的制备

然后将化学式 (14) 的化合物还原到二氨基衍生物。一般说来, 将化学式 (14) 的化合物溶解于氨水中, 然后加入还原剂, 例如硫代硫酸钠。在约 70°C 进行反应。当反应基本完成时, 用常规方法分离化学式 (15) 的产物, 例如通过过滤冷却的反应混合物。

步骤 4 - 化学式 (16) (化合物) 的制备

然后, 在碳化二亚胺, 例如 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳化二亚胺盐酸盐存在的情况下, 在惰性溶剂, 例如甲醇中, 使化学式 (15) 的化合物与化学式 $Z-Y-X-CO_2H$ 的羧酸反应。在约 20 - 30°C 的温度下反应约 12 - 48 小时。当反应基本完成时, 用常规方法, 例如通过过滤冷却的反应混合物来分离化学式 (16) 的产物。

可替换地, 通过与卤化剂, 例如亚硫酸氯或亚硫酸溴, 反应, 将化学式 $Z-Y-X-CO_2H$ 的羧酸转化成化学式 $Z-Y-X-C(O)L$ 的酰基卤, 其中 L 是氯基或溴基; 可替换地, 可以使用五氯化磷或磷酰氯。优选在没有溶剂的情况下, 并使用过量的卤化剂进行反应, 例如反应温度为约 60 - 80°C, 优选约 70°C, 反应时间为约 1 - 8 小时, 优选约 4 小时。当反应基本完成时, 用常规方法, 例如通过在减压下除去过量卤化剂来分离化学式 $Z-Y-X-C(O)L$ 的产物。

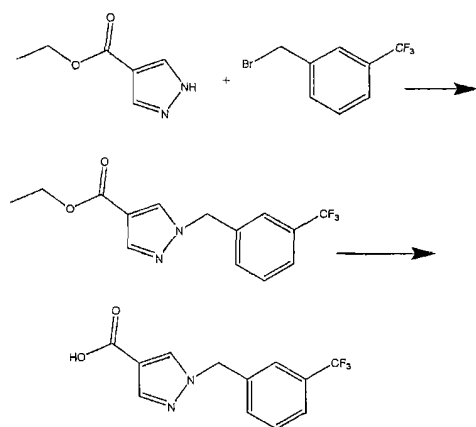
然后, 在惰性溶剂, 例如乙腈中, 并在叔碱, 例如三乙胺存在的情况下, 使化学式 $Z-Y-X-C(O)L$ 的产物与化学式 (15) 的化合物反应。在约 0°C 的最初温度下进行反应, 然后使其升温至 20 - 30°C, 优选至约室温, 持续约 12 - 48 小时, 优选约 16 小时。当反应基本完成时, 用常规方法分离化学式 (16) 的产物, 例如通过用水稀释反应混合物, 滤出产物, 然后用水接着用乙醚洗涤产物。

步骤 5 - 化学式 (3) (化合物) 的制备

在碱，例如碳酸钾存在的情况下，使化学式 (16) 的化合物与化学式 $R^1\text{Hal}$ 的化合物反应，其中 Hal 是氯基、溴基、或碘基。在约 80°C 下反应约 4 - 24 小时，优选约 16 小时。当反应基本完成时，用常规方法分离化学式 (3) 的产物，例如通过在减压下蒸发溶剂，然后将残余物用常规方法纯化，或可以用于接着的反应而无需进一步的纯化。

在反应图解 V 中示出了合成 $Z\text{-Y-X-CO}_2\text{H}$ 的化合物的一个实例，其中 X 是吡唑-1,4-基，Y 是亚甲基，以及 Z 是 3-三氟甲基苯基。

反应图解 V



在丙酮中并在碳酸钾存在的情况下，使吡唑-4-羧酸乙酯与 1-(溴甲基)-3-(三氟甲基)苯反应。然后在甲醇中用氢氧化钾水解产物 1-{[3-(三氟甲基)苯基]甲基}吡唑-4-羧酸乙酯，以便提供 1-{[3-(三氟甲基)苯基]甲基}吡唑-4-羧酸。

应用、试验以及给药

一般应用

化学式 I 的化合物可有效治疗对给予 A_{2B} 腺苷受体拮抗剂有响应的病症。这样的病症包括但不限于下述的至少之一：腹泻，动脉粥样硬化，再狭窄，类风湿性关节炎，糖尿病，尤其是 II 型糖尿病，黄斑变性，糖尿病性视网膜病，癌症，老年性痴呆，阿尔茨海默病，帕金森病，创伤性脑损伤，以及 I 型超敏反应，包括哮喘、特应性湿疹、以及枯草热。

试验

如在上文所提到的那些专利和专利申请中、以及在下述实施例中所描述的，并通过对本领域技术人员显而易见的方法，进行活性试验。

药物组合物

通常以药物组合物的形式给予化学式 I 的化合物。因此，本发明提供药物组合物，这些组合物含有作为活性组分的一种或多种化学式 I 的化合物、或其药学可接受的盐或酯，以及一种或多种药学可接受的赋形剂、载体（包括惰性固体稀释剂和填充剂）、稀释剂（包括无菌水溶液和各种有机溶剂）、渗透促进剂、增溶剂以及佐剂。化学式 I 的化合物可以单独或与其它治疗剂联合给药。这样的组合物是用在制药领域熟知的方式制备的（参见，例如，Remington's Pharmaceutical Science, Mace Publishing Co., Philadelphia, PA 17th Ed. (1985)和“Modern Pharmaceutics”, Marcel Dekker, Inc. 3rd ED. (G.S. Banker & C.T. Rhodes, Eds.)）。

给药

化学式 I 的化合物可以以单剂量或多剂量给药，并通过任何可接受的具有类似应用的给药方式，如在通过引用合并入本文中的那些专利或专利申请中所描述的，这些给药方式包括直肠途径，颊途径，鼻内和经皮途径，动脉内注射，静脉内给药，腹膜内给药，肠外给药，肌肉给药，皮下给药，口服，局部给药，作为吸入剂，或经过浸渍或包衣装置如支架，或插入动脉的圆柱形聚合物。

一种给药方式是肠外给药，尤其是通过注射。本发明的新颖化合物可以加入其中用于注射给药的形式包括：水性或油性悬浮液、或乳液，包括麻油、玉米油、棉子油、或花生油、以及酞剂、甘露醇、右旋糖、或无菌水溶液、以及类似的药物载体。盐水溶液也常用于注射，但在本发明的范围内是较少优选的。也可以使用乙醇、丙二醇、液体聚乙二醇、以及类似物（及其适宜的混合物）、环糊精衍生物、以及植物油。例如，通过使用涂层，如卵磷脂，在分散体系的情况下通过保持所需的颗粒大小以及通过使用表面活性剂，可以保持适当的流动性。通过各种抗菌药和抗真菌药，例如，对羟基苯甲酸酯类、三氯叔丁醇、苯酚、山梨酸、硫柳汞等，可以防止微生物的作用。

需要时将需要量的化学式 I 的化合物加入到具有如上所列举的各种其它组分的适宜溶剂中，接着过滤除菌，就可以制得无菌注射溶液。一般来说，分散体系是通过将各种经灭菌的活性组分加入无菌载体而制成的，其中无菌载体含有基本的分散介质以及所需要的来自上述所列举的其它组分。在无菌粉末用于制备无菌注射溶液的情况下，优选的制备方法是真空干燥和冰冻干燥技术，其产生活性组分加上任何另外的所希望的来自其先前无菌过滤的溶液中的组分的粉末。

给予化学式 I 的化合物的另一种途径是口服给药。给药可以借助胶囊剂或肠溶衣片剂、或类似制剂。在制备包括至少一种化学式 I 的化合物的药物组合物时，活性组分通常用赋形剂稀释和 / 或包封在这样的载体内，该载体可以具有以下形式：胶囊剂、小药囊、纸、或其它容器。当赋形剂用作稀释剂时，它可以是固体、半固体、或液体材料（如上述），其用作活性组分的赋形剂、载体、或介质。因此，这些组合物可以具有以下剂型：片剂、丸剂、散剂、锭剂、小药囊、扁囊剂、酏剂、混悬剂、乳剂、溶液、糖浆剂、气雾剂（作为固体或在液体介质中）、包含例如重量高达 10% 的活性化合物的软膏剂、软胶囊剂和硬胶囊剂、无菌注射溶液、以及无菌包装散剂。

适宜的赋形剂的某些实例包括：乳糖、右旋糖、蔗糖、山梨醇、甘露醇、淀粉、阿拉伯树胶、磷酸钙、藻酸盐、黄芪胶、明胶、硅酸钙、微晶纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、纤维素、无菌水、糖浆、以及甲基纤维素。这些剂型（制剂）可以另外包括：润滑剂如滑石粉、硬脂酸镁、以及矿物油；润湿剂；乳化剂和悬浮剂；防腐剂如羟苯甲酯和羟苯丙酯；甜味剂；以及增香剂。

可以配制本发明的组合物，以便在通过采用本领域已知的程序给予患者以后，提供活性组分的快速的、持续的或延迟的释放。用于口服给药的控释递药系统包括渗透泵系统以及含有经聚合物涂布的容器或药物-聚合物基质剂型（制剂）的溶解系统。控释系统的实例在美国专利第 3,845,770 号、第 4,326,525 号、第 4,902,514 号、以及第 5,616,345 号中给出。用于在本发明的方法中使用的另一种剂型采用透皮递药装置（“贴剂”）。这样的透皮贴剂可以用来提供以受控量连续或不连续输注本发明的化合物。透皮贴剂的构造和用于递送药剂的应用在本领域是众所周知的。参见，例如，美国专利第 5,023,252 号、第 4,992,445 号以及第 5,001,139 号。可以构造这样的贴剂，以便连续、脉冲、或根据需要递送药剂。

这些组合物优选配制成单位剂型。术语“单位剂型”是指物理上分散的单位，其适合作为用于人类受治疗者和其它哺乳动物的单位剂量，每个单位含有预定量的适合于产生所希望的治疗效应的活性材料，以及适宜的赋形剂（例如，片剂、胶囊剂、针剂）。化学式 I 的化合物在广泛的剂量范围内是有效的，并且通常被以有效药物量给药。优选地，对于口服给药，每个剂量单位含有 10 mg 至 2 g 的化学式 I 的化合物，更优选为 10 至 700 mg，而对于肠外给药，优选为 10 至 700 mg 的化学式 I 的化合物，更优选为约 50 至 200 mg。然而，应当明了，实际给予的化学式 I 的化合物的量将由医师根据有关的情况来确定，包括要治疗的病症，选择的给药途径，给予的实际化合物及其相对活性，个别患者的年龄、体重、以及反应，患者症状的严重性等等。

为了制备固体组合物如片剂，将主要的活性组分和药物赋形剂进行混合以形成固体预配制组合物，该组合物包含本发明的化合物的均匀混合物。当这些预配制组合物被称作均匀的时候，它是指活性组分均匀地分散在整个组合物中，以致可以容易地将该组合物再分成相同有效的单位剂型如片剂、丸剂、以及胶囊剂。

可以涂布或用其它方式复合本发明的片剂或丸剂以提供这样的制剂，该制剂提供延长作用的优点，或免受胃的酸性条件的作用。例如，片剂或丸剂可以包括内剂量和外剂量成分，后者具有在前者上的被膜形式。两种成分可以用肠溶层分开，其中肠溶层用来阻止在胃中的崩解以及允许内成分完整通过十二指肠或被延迟释放。各种材料可以用于这样的肠溶层或包衣，这样的材料包括多种高分子酸以及高分子酸与这样的材料（如虫胶、十六醇、以及醋酸纤维素）的混合物。

用于吸入法或吹入法的组合物包括在药学可接受的水性溶剂或有机溶剂、或其混合物中的溶液及悬浮液，以及粉末。液体或固

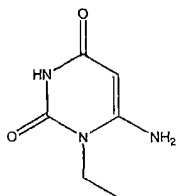
体组合物可以含有如上文所述的适宜的药学可接受的赋形剂。优选地，这些组合物通过口服或鼻呼吸途径给予，以获得局部或全身效应。在优选的药学可接受的溶剂中的组合物可以通过使用惰性气体加以雾化。雾化的溶液可以直接从雾化装置吸入或雾化装置可以连接于面罩孔 (facemask tent)，或间歇正压呼吸机。可以以适当方式由递送制剂的装置，优选以口服或鼻途径，给予溶液、悬浮液、或粉末组合物。

下述实施例是用来说明本发明的优选具体实施例的。本领域技术人员应当明了，在随后的实施例中所披露的技术表示由本发明人发现的并在实施本发明中很好起作用的技术，因而可以认为构成了其实施的优选方式。然而，根据本文所披露的内容，本领域技术人员应当明了，在所披露的特定具体实施例中可以进行多种变化并且仍然获得同样的或类似的结果而不偏离本发明的精神和范围。

实施例 1

化学式 (5) 的化合物的制备

A. 化学式 (5) 的化合物的制备，其中 R² 是乙基



乙醇钠的溶液制备自钠 (4.8 g, 226 mmol) 与干燥的乙醇 (150 ml)。在该溶液中加入氨基-N-乙基酰胺 (10 g, 113 mmol) 和氰基乙酸乙酯 (12.8 g, 113 mmol)。在回流下搅拌反应混合物 6 小时，冷却，然后在减压下从反应混合物中除去溶剂。将残余物溶解于水 (50 ml) 中，并用盐酸将 pH 调节到 7。使混合物在 0°C 静置过夜，

然后滤出沉淀物，用水洗涤并空气干燥，以提供 6-氨基-1-乙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮，一种化学式 (5) 的化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 10.29 (s, 1H), 6.79 (s, 2H), 4.51 (s, 1H), 3.74-3.79 (m, 2H), 1.07 (t, 3H, $J=7.03$ Hz); MS m/z 155.98 (M^+), 177.99 ($M^+ + \text{Na}$).

B. 化学式 (5) 的化合物的制备，其中 R^2 是甲基

类似地，按照实施例 1A 的步骤，但用氨基-N-甲基酰胺代替氨基-N-乙基酰胺，则制得 6-氨基-1-甲基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮。

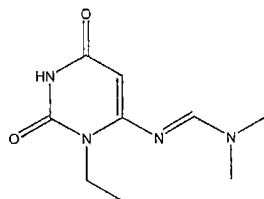
C. 化学式 (5) 的化合物的制备，其中改变 R^2

类似地，按照实施例 1A 的步骤，但用化学式 (4) 的其它化合物代替氨基-N-乙基酰胺，则可制备化学式 (5) 的其它化合物。

实施例 2

化学式 (6) 的化合物的制备

A. 化学式 (6) 的化合物的制备，其中 R^2 是乙基



在 40°C 下加热 6-氨基-1-乙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮 (0.77 g, 5 mmol) 在无水的 N,N-二甲基乙酰胺 (25 ml) 和 N,N-二甲基甲酰胺二甲基乙缩醛 (2.7 ml, 20 mmol) 的悬浮液 90 分钟。然后在减压下除去溶剂，用乙醇研磨残余物，过滤，并用乙醇洗涤，以提供 6-[2-(二甲氨基)-1-氮杂乙烯基]-1-乙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮，一种化学式 (6) 的化合物。 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 10.62 (s, 1H), 8.08 (s, 1H),

4.99 (s, 1H), 3.88-3.95 (m, 2H), 3.13 (s, 3H), 2.99 (s, 3H), 1.07 (t, 3H, J=7.03 Hz); MS m/z 210.86 (M^+), 232.87 ($M^+ + Na$)

B. 化学式(6)的化合物的制备, 其中 R^2 是甲基

类似地, 按照实施例 2A 的步骤, 但用 6-氨基-1-甲基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮代替 6-氨基-1-乙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮, 则制得 6-[2-(二甲氨基)-1-氮杂乙烯基]-1-甲基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮。

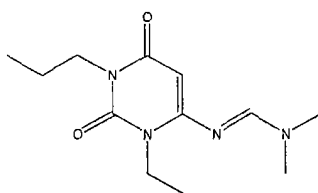
C. 化学式(6)的化合物的制备, 其中改变 R^2

类似地, 按照实施例 2A 的步骤, 但用化学式(5)的其它化合物代替 6-氨基-1-乙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮, 则可制备化学式(6)的其它化合物。

实施例 3

化学式(7)的化合物的制备

A. 化学式(7)的化合物的制备, 其中 R^1 是正丙基而 R^2 是乙基



在 80°C 下搅拌 6-[2-(二甲氨基)-1-氮杂乙烯基]-1-乙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮 (1.5 g, 7.1 mmol) 的二甲基甲酰胺溶液 (25 ml)、碳酸钾 (1.5 g, 11 mmol) 以及正丙基碘 (1.54 g, 11 mmol) 的混合物 5 小时。将反应混合物冷却至室温, 过滤, 蒸发溶剂, 然后将化学式(7)的产物 6-[2-(二甲氨基)-1-氮杂乙烯基]-1-乙基-3-丙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮本身用于下一反应。

B. 化学式(7)的化合物的制备, 其中改变 R¹和 R²

类似地, 按照实施例 3A 的步骤, 但用化学式(6)的其它化合物代替 6-[2-(二甲氨基)-1-氮杂乙烯基]-1-乙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮, 则制得化学式(7)的以下化合物:

6-[2-(二甲氨基)-1-氮杂乙烯基]-1-甲基-3-丙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮;

6-[2-(二甲氨基)-1-氮杂乙烯基]-1-甲基-3-环丙基甲基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮;

6-[2-(二甲氨基)-1-氮杂乙烯基]-1-乙基-3-环丙基甲基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮;

6-[2-(二甲氨基)-1-氮杂乙烯基]-1-甲基-3-(2-甲基丙基)-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮; 以及

6-[2-(二甲氨基)-1-氮杂乙烯基]-1-乙基-3-(2-甲基丙基)-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮。

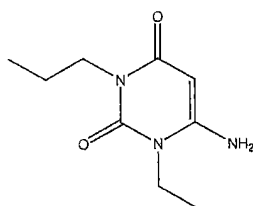
C. 化学式(7)的化合物的制备, 其中改变 R¹和 R²

类似地, 按照实施例 3A 的步骤, 但用化学式(6)的其它化合物代替 6-[2-(二甲氨基)-1-氮杂乙烯基]-1-乙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮, 则可制备化学式(7)的其它化合物。

实施例 4

化学式(8)的化合物的制备

A. 化学式(8)的化合物的制备, 其中 R¹是正丙基而 R²是乙基



将 6-[2-(二甲氨基)-1-氮杂乙烯基]-1-乙基-3-丙基-1,3-二氢咪啉-2,4-二酮 (2.1 g) 的溶液溶解于甲醇 (10 ml) 和 28% 氨水溶液 (20 ml) 的混合物中, 然后在室温下搅拌 72 小时。然后在减压下除去溶剂, 并通过在硅胶柱上的层析法纯化残余物, 用二氯甲烷/甲醇 (15/1) 的混合物洗脱, 以提供 6-氨基-1-乙基-3-丙基-1,3-二氢咪啉-2,4-二酮, 一种化学式 (8) 的化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 6.80 (s, 2H), 4.64 (s, 1H), 3.79-3.84 (m, 2H), 3.63-3.67 (m, 2H), 1.41-1.51 (m, 2H), 1.09 (t, 3H, $J=7.03$ Hz), 0.80 (t, 3H, $J=7.42$ Hz); MS m/z 197.82 (M^+)

B. 化学式 (8) 的化合物的制备, 其中变化 R^1 和 R^2

类似地, 按照实施例 4A 的步骤, 但用化学式 (7) 的其它化合物代替 6-[2-(二甲氨基)-1-氮杂乙烯基]-1-乙基-3-丙基-1,3-二氢咪啉-2,4-二酮, 则制得化学式 (8) 的以下化合物:

6-氨基-1-甲基-3-丙基-1,3-二氢咪啉-2,4-二酮;

6-氨基-1-甲基-3-环丙基甲基-1,3-二氢咪啉-2,4-二酮;

6-氨基-1-乙基-3-环丙基甲基-1,3-二氢咪啉-2,4-二酮;

6-氨基-1-甲基-3-(2-甲基丙基)-1,3-二氢咪啉-2,4-二酮; 以及

6-氨基-1-乙基-3-(2-甲基丙基)-1,3-二氢咪啉-2,4-二酮。

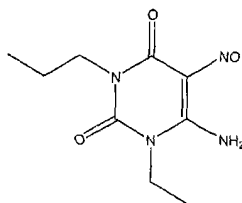
C. 化学式 (7) 的化合物的制备, 其中改变 R¹ 和 R²

类似地, 按照实施例 4A 的步骤, 但用化学式 (7) 的其它化合物代替 6-[2-(二甲氨基)-1-氮杂乙烯基]-1-乙基-3-丙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮, 则可制备化学式 (8) 的其它化合物。

实施例 5

化学式 (1) 的化合物的制备

A. 化学式 (1) 的化合物的制备, 其中 R¹ 是正丙基而 R² 是乙基



在 10 分钟内将亚硝酸钠 (2 g, 28.4 mmol) 分成若干份加入到在 50% 乙酸 / 水 (35 ml) 的混合物中的 6-氨基-1-乙基-3-丙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮 (1.4 g, 7.1 mmol) 溶液中。在 70°C 下搅拌混合物 1 小时, 然后在减压下使反应混合物浓缩至很少的体积。滤出固体, 然后用水洗涤, 以提供 6-氨基-1-乙基-5-亚硝基-3-丙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮, 一种化学式 (1) 的化合物。

MS *m/z* 227.05 (M⁺), 249.08 (M⁺ + Na)

B. 化学式 (1) 的化合物的制备, 其中改变 R¹ 和 R²

类似地, 按照实施例 5A 的步骤, 但用化学式 (8) 的其它化合物代替 6-氨基-1-乙基-3-丙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮, 则制得化学式 (1) 的以下化合物:

6-氨基-1-甲基-5-亚硝基-3-丙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮;

6-氨基-1-甲基-3-环丙基甲基-5-亚硝基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮;

6-氨基-1-乙基-3-环丙基甲基-5-亚硝基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮;

6-氨基-1-甲基-3-(2-甲基丙基)-5-亚硝基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮; 以及

6-氨基-1-乙基-3-(2-甲基丙基)-5-亚硝基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮。

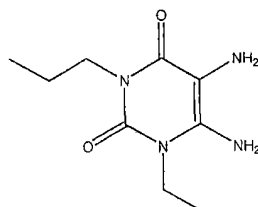
C. 化学式 (1) 的化合物的制备, 其中改变 R^1 和 R^2

类似地, 按照实施例 5A 的步骤, 但用化学式 (8) 的其它化合物代替 6-氨基-1-乙基-3-丙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮, 则可制备化学式 (1) 的其它化合物。

实施例 6

化学式 (2) 的化合物的制备

A. 化学式 (2) 的化合物的制备, 其中 R^1 是正丙基而 R^2 是乙基



在 6-氨基-1-乙基-5-亚硝基-3-丙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮 (300 mg) 的甲醇 (10 ml) 溶液中加入 10% 钨碳催化剂 (50 mg), 然后在 30 psi 的氢气下氢化混合物 2 小时。通过硅藻土过滤混合物, 然后在减压下从滤液中除去溶剂, 以提供 5,6-二氨基-1-乙基-3-丙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮, 一种化学式 (2) 的化合物。

MS m/z 213.03 (M^+), 235.06 ($M^+ + Na$)

B. 化学式(2)的化合物的制备, 其中改变 R¹ 和 R²

类似地, 按照实施例 6A 的步骤, 但用化学式(1)的其它化合物代替 6-氨基-1-乙基-5-亚硝基-3-丙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮, 则制得化学式(2)的以下化合物:

- 5,6-二氨基-1-甲基-3-丙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮;
- 5,6-二氨基-1-甲基-3-环丙基甲基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮;
- 5,6-二氨基-1-乙基-3-环丙基甲基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮;
- 5,6-二氨基-1-甲基-3-(2-甲基丙基)-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮; 以及
- 5,6-二氨基-1-乙基-3-(2-甲基丙基)-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮。

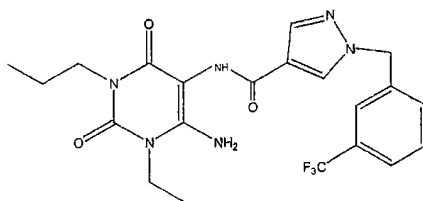
C. 化学式(2)的化合物的制备, 其中改变 R¹ 和 R²

类似地, 按照实施例 6A 的步骤, 但用化学式(1)的其它化合物代替 6-氨基-1-乙基-5-亚硝基-3-丙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮, 则可制备化学式(2)的其它化合物。

实施例 7

化学式(3)的化合物的制备

A. 化学式(3)的化合物的制备, 其中 R¹ 是正丙基, R² 是乙基, X 是 1,4-吡唑基, Y 是亚甲基, 以及 Z 是 3-三氟甲基苯基



在 5,6-二氨基-1-乙基-3-丙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮 (100 mg, 0.47 mmol) 和 1-{{[3-(三氟甲基)苯基]甲基}吡唑-4-羧酸 (0.151 g,

0.56 mmol) 在甲醇 (10 ml) 的混合物中加入 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳化二亚胺盐酸盐 (0.135 g, 0.7 mmol), 然后在室温下搅拌反应混合物过夜。在减压下除去溶剂, 利用 Bistag 对残余物进行纯化, 用 10% 甲醇 / 二氯甲烷进行洗脱, 以提供 N-(6-氨基-1-乙基-2,4-二氧代-3-丙基(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[3-(三氟甲基)苯基]甲基}-吡唑-4-基)甲酰胺。

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 8.59 (s, 1H), 8.02 (s, 1H), 7.59-7.71 (m, 4H), 6.71 (s, 2H), 5.51 (s, 2H), 3.91-3.96 (m, 2H), 3.70-3.75 (m, 2H), 1.47-1.55 (m, 2H), 1.14 (t, 3H, J=7.03 Hz), 0.85 (t, 3H, J=7.42 Hz)。

B. 化学式 (3) 的化合物的制备, 其中改变 R¹、R²、X、Y 以及 Z

类似地, 按照实施例 7A 或 7B 的步骤, 但用化学式 (2) 的其它化合物可选地代替 5,6-二氨基-1-乙基-3-丙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮, 并用化学式 Z-Y-X-CO₂H 的其它化合物可选地代替 1-{[3-(三氟甲基)苯基]甲基}吡唑-4-羧酸, 则制得化学式 (3) 的以下化合物:

N-(6-氨基-1-甲基-2,4-二氧代-3-丙基(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[3-(三氟甲基)苯基]甲基}-吡唑-4-基)甲酰胺;

N-(6-氨基-1-甲基-2,4-二氧代-3-环丙基甲基(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[3-(三氟甲基)苯基]甲基}-吡唑-4-基)甲酰胺;

N-(6-氨基-1-乙基-2,4-二氧代-3-环丙基甲基(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[3-(三氟甲基)苯基]甲基}-吡唑-4-基)甲酰胺;

N-(6-氨基-1-甲基-2,4-二氧代-3-乙基(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[3-氟苯基]甲基}-吡唑-4-基)甲酰胺;

N-(6-氨基-1-甲基-2,4-二氧代-3-环丙基甲基(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[3-氟苯基]甲基}-吡唑-4-基)甲酰胺;

N-(6-氨基-1-乙基-2,4-二氧代-3-环丙基甲基(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[3-氟苯基]甲基}-吡唑-4-基)甲酰胺;

N-[6-氨基-3-(环丙基甲基)-1-甲基-2,4-二氧代(1,3-二氢嘧啶-5-基)][1-苄基吡唑-4-基]甲酰胺;

N-(6-氨基-1-甲基-2,4-二氧代-3-环丙基甲基(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{{[3-氟苯基]甲基}-吡唑-4-基})甲酰胺;

[1-(2-(1H-1,2,3,4-四唑-5-基)乙基)吡唑-4-基]-N-[6-氨基-3-(环丙基甲基)-1-甲基-2,4-二氧代(1,3-二氢嘧啶-5-基)]甲酰胺;

N-[6-氨基-3-(环丙基甲基)-1-乙基-2,4-二氧代(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{{[6-(三氟甲基)(3-吡啶基)]甲基}吡唑-4-基})甲酰胺;

N-[6-氨基-3-丙基-1-乙基-2,4-二氧代(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{{(2-吡啶基)甲基}吡唑-4-基})甲酰胺;

N-[6-氨基-3-(2-甲基丙基)-1-甲基-2,4-二氧代(1,3-二氢嘧啶-5-基)][1-苄基吡唑-4-基]甲酰胺;

N-[6-氨基-3-(2-甲基丙基)-1-甲基-2,4-二氧代(1,3-二氢嘧啶-5-基)][1-{{[3-氟苯基]甲基}吡唑-4-基}]甲酰胺;

N-[6-氨基-3-(2-甲基丙基)-1-乙基-2,4-二氧代(1,3-二氢嘧啶-5-基)][1-{{[3-氟苯基]甲基}吡唑-4-基}]甲酰胺;

N-[6-氨基-3-(2-甲基丙基)-1-甲基-2,4-二氧代(1,3-二氢嘧啶-5-基)][1-{{[3-(三氟甲基)苯基]甲基}吡唑-4-基}]甲酰胺; 以及

N-[6-氨基-3-(2-甲基丙基)-1-乙基-2,4-二氧代(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{{[6-(三氟甲基)(3-吡啶基)]甲基}吡唑-4-基})甲酰胺。

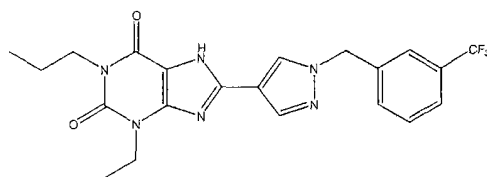
C. 化学式(2)的化合物的制备, 其中改变 R¹ 和 R²

类似地, 按照实施例 7A 的步骤, 但用化学式(2)的其它化合物可选地代替 5,6-二氨基-1-乙基-3-丙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮, 并用化学式 Z-Y-X-CO₂H 的其它化合物可选地代替 1-{{[3-(三氟甲基)苯基]甲基}吡唑-4-羧酸, 则可制备化学式(3)的其它化合物。

实施例 8

化学式 I 的化合物的制备

A. 化学式 I 的化合物的制备, 其中 R¹ 是正丙基, R² 是乙基, X 是 1,4-吡唑基, Y 是亚甲基, 以及 Z 是 3-三氟甲基苯基



在 100°C 下搅拌 N-(6-氨基-1-乙基-2,4-二氧代-3-丙基(1,3-二氢咪啶-5-基))(1-{[3-(三氟甲基)苯基]甲基}吡唑-3-基)甲酰胺 (80 mg, 0.17 mmol)、10% 氢氧化钠水溶液 (5 ml)、以及甲醇 (5 ml) 的混合物 2 小时。冷却混合物, 在减压下除去甲醇, 然后用水稀释残余物并用盐酸酸化。滤出沉淀物, 用水、然后用甲醇洗涤, 以提供 3-乙基-1-丙基-8-(1-{[3-(三氟甲基)苯基]甲基}吡唑-4-基)-1,3,7-三氢嘌呤-2,6-二酮, 一种化学式 I 的化合物。

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 8.57 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.60-7.75 (m, 4H), 5.54 (s, 2H), 4.05-4.50 (m, 2H), 3.87-3.91 (m, 2H), 1.55-1.64 (m, 2H), 1.25 (t, 3H, J=7.03 Hz), 0.90 (t, 3H, J=7.42 Hz); MS *m/z* 447.2 (M⁺).

B. 化学式 I 的化合物的制备, 其中改变 R¹、R²、X、Y、以及 Z

类似地, 按照实施例 8A 的步骤, 但用化学式 (3) 的其它化合物代替 N-(6-氨基-1-乙基-2,4-二氧代-3-丙基(1,3-二氢咪啶-5-基))(1-{[3-(三氟甲基)苯基]-甲基}吡唑-3-基)甲酰胺, 则制得化学式 I 的以下化合物:

1-环丙基甲基-3-甲基-8-[1-(苯基甲基)吡唑-4-基]-1,3,7-三氢嘌呤-2,6-二酮;

1-环丙基甲基-3-甲基-8-{1-[(3-三氟甲基苯基)甲基]吡唑-4-基}-1,3,7-三氢嘌呤-2,6-二酮;

1-环丙基甲基-3-乙基-8-{1-[(3-三氟甲基苯基)甲基]吡唑-4-基}-1,3,7-三氢嘌呤-2,6-二酮;

1-环丙基甲基-3-甲基-8-{1-[(3-氟苯基)甲基]吡唑-4-基}-1,3,7-三氢嘌呤-2,6-二酮;

1-环丙基甲基-3-乙基-8-{1-[(3-氟苯基)甲基]吡唑-4-基}-1,3,7-三氢嘌呤-2,6-二酮;

1-环丙基甲基-3-乙基-8-(1-{[6-(三氟甲基)(3-吡啶基)]甲基}吡唑-4-基)-1,3,7-三氢嘌呤-2,6-二酮;

3-({4-[1-(环丙基甲基)-3-甲基-2,6-二氧代-1,3,7-三氢嘌呤-8-基]吡唑基}甲基)苯甲腈;

8-[1-(2-(1H-1,2,3,4-四唑-5-基)乙基)吡唑-4-基]-3-甲基-1-环丙基甲基-1,3,7-三氢嘌呤-2,6-二酮;

1-(2-甲基丙基)-3-甲基-8-[1-苄基吡唑-4-基]-1,3,7-三氢嘌呤-2,6-二酮;

1-(2-甲基丙基)-3-乙基-8-{1-[(3-氟苯基)甲基]吡唑-4-基}-1,3,7-三氢嘌呤-2,6-二酮;

1-(2-甲基丙基)-3-甲基-8-{1-[(3-三氟甲基苯基)甲基]吡唑-4-基}-1,3,7-三氢嘌呤-2,6-二酮;

1-(2-甲基丙基)-3-甲基-8-{1-[(3-氟苯基)甲基]吡唑-4-基}-1,3,7-三氢嘌呤-2,6-二酮;

3-乙基-1-(2-甲基丙基)-8-(1-{[6-(三氟甲基)(3-吡啶基)]甲基}吡唑-4-基)-1,3,7-三氢嘌呤-2,6-二酮;

1-乙基-3-甲基-8-{1-[(3-氟苯基)甲基]吡唑-4-基}-1,3,7-三氢嘌呤-2,6-二酮; 以及

3-乙基-1-丙基-8-[1-(2-吡啶基甲基)吡唑-4-基]-1,3,7-三氢嘌呤-2,6-二酮。

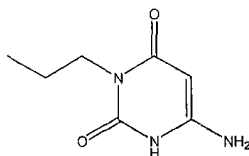
C. 化学式 I 的化合物的制备，其中改变 R¹、R²、X、Y、以及 Z

类似地，按照实施例 8A 的步骤，但用化学式 (3) 的其它化合物代替 N-(6-氨基-1-乙基-2,4-二氧代-3-丙基(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[3-(三氟甲基)苯基]-甲基}吡唑-3-基)甲酰胺，则可制备化学式 I 的其它化合物。

实施例 9

化学式 (10) 的化合物的制备

A. 化学式 (10) 的化合物的制备，其中 R¹ 是正丙基



将 6-氨基尿嘧啶 (5.08 g, 40 mmol)、六甲基二硅氮烷 (50 ml)、以及硫酸铵 (260 mg, 1.96 mmol) 的混合物回流 12 小时。冷却后，滤出固体，在减压下从滤液中除去溶剂，以提供 6-氨基尿嘧啶的三甲硅烷基化衍生物。

将产物溶解于甲苯 (1.5 ml)、以及碘丙烷 (7.8 ml, 80 mmol) 中，然后在 120°C 的油浴中加热 2 小时。然后将反应混合物冷却至 0°C，并缓慢加入饱和的碳酸氢钠水溶液。滤出得到的沉淀物，顺序地用水、甲苯、以及乙醚进行洗涤，以提供 6-氨基-3-丙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮，一种化学式 (10) 的化合物，将该化合物用于下一反应而无需进一步的纯化。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 10.34 (s, 1H), 6.16 (s, 2H), 4.54 (s, 1H), 3.57-3.62 (m, 2H), 1.41-1.51 (m, 2H), 0.80 (t, 3H, $J=7.43$ Hz).

B. 化学式 (10) 的化合物的制备, 其中改变 R^1

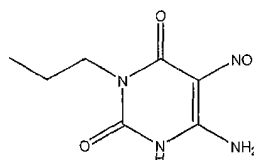
类似地, 按照实施例 9A 的步骤, 但用化学式 $R^1\text{Hal}$ 的其它烷基卤代替碘丙烷, 则可以制备化学式 (10) 的其它化合物, 这些化合物包括:

- 6-氨基-3-环丙基甲基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮; 以及
- 6-氨基-3-(2-甲基丙基)-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮。

实施例 10

化学式 (11) 的化合物的制备

A. 化学式 (11) 的化合物的制备, 其中 R^1 是正丙基



在 70°C 下在 15 分钟内将亚硝酸钠 (4.5 g) 分成若干份加入到在 50% 乙酸 / 水 (160 ml) 的混合物中的 6-氨基-3-丙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮 (5.6 g) 溶液中。在 70°C 下搅拌混合物 45 分钟, 然后在减压下将反应混合物浓缩至很少的体积。滤出固体, 然后用水洗涤, 以提供 6-氨基-5-亚硝基-3-丙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮, 一种化学式 (11) 的化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 11.42 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 3.77-3.81 (m, 2H), 3.33 (s, 1H), 1.55-1.64 (m, 2H), 0.89 (t, 3H, $J=7.43$ Hz); MS m/z 198.78 (M^+), 220.78 ($M^+ + \text{Na}$)

B. 化学式 (11) 的化合物的制备, 其中改变 R¹

类似地, 按照实施例 10A 的步骤, 但用化学式 (10) 的其它化合物代替 6-氨基-3-丙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮, 则可以制备化学式 (11) 的其它化合物, 这些化合物包括:

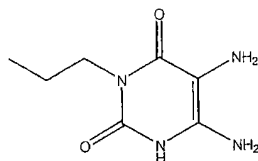
6-氨基-5-亚硝基-3-环丙基甲基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮; 以及

6-氨基-5-亚硝基-3-(2-甲基丙基)-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮。

实施例 11

化学式 (12) 的化合物的制备

A. 化学式 (12) 的化合物的制备, 其中 R¹ 是正丙基



在 70°C 下在 15 分钟内将连二亚硫酸钠 (Na₂S₂O₄, 9.45 g, 54 mmol) 分成若干份加入到 6-氨基-5-亚硝基-3-丙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮 (5.4 g, 27 mmol) 在 12.5% 氨水 (135 ml) 中的溶液中, 然后搅拌混合物 20 分钟。在减压下浓缩溶液, 冷却至 5°C, 滤出沉淀物, 然后用冷水洗涤, 以提供 5,6-二氨基-3-丙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮, 一种化学式 (12) 的化合物。

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 0.81 (t, 3H, J=7.43 Hz), 1.43-1.52 (m, 2H), 3.63-3.67 (m, 2H), 5.56 (s, 2H); MS *m/z* 184.95 (M⁺), 206.96 (M⁺+Na)

B. 化学式 (12) 的化合物的制备, 其中改变 R¹

类似地, 按照实施例 11A 的步骤, 但用化学式 (11) 的其它化合物代替 6-氨基-3-丙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮, 则可以制备化学式 (12) 的其它化合物, 这些化合物包括:

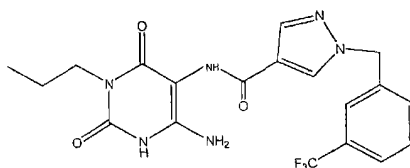
5,6-二氨基-3-环丙基甲基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮; 以及

5,6-二氨基-3-(2-甲基丙基)-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮。

实施例 12

化学式 (13) 的化合物的制备

A. 化学式 (13) 的化合物的制备, 其中 R¹ 是正丙基, X 是 1,4-吡唑基, Y 是亚甲基, 以及 Z 是 3-三氟甲基苯基



在 5,6-二氨基-3-丙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮 (2.3 g, 126 mmol) 和 1-{[3-(三氟甲基)苯基]甲基}吡唑-4-羧酸 (3.79 g, 14 mmol) 的甲醇 (50 ml) 混合物中加入 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳化二亚胺盐酸盐 (2.67 g, 14 mmol), 然后在室温下搅拌反应混合物 3 天 (虽然较短的时间也是可接受的)。滤出沉淀物, 然后顺序地用水、以及甲醇进行洗涤。在真空下干燥产物以提供 N-(6-氨基-2,4-二氧代-3-丙基(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[3-(三氟甲基)苯基]甲基}吡唑-4-基)甲酰胺, 一种化学式 (13) 的化合物。

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 10.44 (s, 1H), 8.56 (s, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.00 (s, 1H), 7.56-7.71 (m, 3H), 6.02 (s, 1H), 5.49 (s, 2H), 3.62-3.66 (m, 2H), 1.44-1.53 (m, 2H), 0.82 (t, 3H, J=7.43 Hz); MS *m/z* 458.92 (M⁺ +Na).

B. 化学式 (3) 的化合物的可替换制备, 其中 R¹ 是正丙基, X 是 1,4-吡唑基, Y 是亚甲基, 以及 Z 是 3-三氟甲基苯基

在 70°C 下加热 1-{{3-(三氟甲基)苯基}甲基}吡唑-4-羧酸 (1 g, 3.7 mmol) 的亚硫酸氯 (1 ml) 溶液 4 小时。蒸出过量的亚硫酸氯, 用二氯甲烷/己烷处理残余物。在减压下除去溶剂, 然后将残余物溶解于乙腈中。在 0°C 下将此溶液加入到 5,6-二氨基-3-丙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮 (2.3 g, 126 mmol) 和三乙胺 (1 ml) 在乙腈 (20 ml) 中的悬浮液中, 然后搅拌 16 小时。用水 (5 ml) 骤冷反应混合物, 用盐酸酸化, 搅拌 30 分钟, 然后滤出沉淀物。用乙醚洗涤产物, 以提供 N-(6-氨基-2,4-二氧代-3-丙基(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{{3-(三氟甲基)苯基}甲基}吡唑-4-基)甲酰胺, 一种化学式 (13) 的化合物。

C. 化学式 (13) 的化合物的制备, 其中改变 R¹、X、Y、以及 Z

类似地, 按照实施例 12A 或 12B 的步骤, 但用化学式 (12) 的其它化合物可选地代替 6-氨基-3-丙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮, 并用化学式 Z-Y-X-CO₂H 的其它化合物可选地代替 1-{{3-(三氟甲基)苯基}甲基}吡唑-4-羧酸, 则可以制备化学式 (13) 的其它化合物, 这些化合物包括:

N-(6-氨基-2,4-二氧代-3-环丙基甲基(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{{3-(三氟甲基)苯基}甲基}吡唑-4-基)甲酰胺;

N-(6-氨基-2,4-二氧代-3-(2-甲基丙基)(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{{3-(三氟甲基)苯基}甲基}吡唑-4-基)甲酰胺;

N-(6-氨基-2,4-二氧代-3-丙基(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{{3-氟苯基}甲基}吡唑-4-基)甲酰胺;

N-(6-氨基-2,4-二氧代-3-环丙基甲基(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{{3-氟苯基}甲基}吡唑-4-基)甲酰胺;

N-(6-氨基-2,4-二氧代-3-(2-甲基丙基)(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[3-氟苯基]甲基}吡唑-4-基)甲酰胺;

N-(6-氨基-2,4-二氧代-3-丙基(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-[1-苄基]吡唑-4-基)甲酰胺;

N-(6-氨基-2,4-二氧代-3-环丙基甲基(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-[1-苄基]吡唑-4-基)甲酰胺;

N-(6-氨基-2,4-二氧代-3-(2-甲基丙基)(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-[1-苄基]吡唑-4-基)甲酰胺;

N-(6-氨基-2,4-二氧代-3-丙基(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[3-氰基苯基]甲基}吡唑-4-基)甲酰胺;

N-(6-氨基-2,4-二氧代-3-环丙基甲基(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[3-氰基苯基]甲基}吡唑-4-基)甲酰胺;

N-(6-氨基-2,4-二氧代-3-(2-甲基丙基)(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[3-氰基苯基]甲基}吡唑-4-基)甲酰胺;

N-(6-氨基-2,4-二氧代-3-丙基(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[1-(2-(1H-1,2,3,4-四唑-5-基)乙基)吡唑-4-基]}甲酰胺;

N-(6-氨基-2,4-二氧代-3-环丙基甲基(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[1-(2-(1H-1,2,3,4-四唑-5-基)乙基)吡唑-4-基]}甲酰胺;

N-(6-氨基-2,4-二氧代-3-(2-甲基丙基)(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[1-(2-(1H-1,2,3,4-四唑-5-基)乙基)吡唑-4-基]}甲酰胺;

N-(6-氨基-2,4-二氧代-3-丙基(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[6-(三氟甲基)(3-吡啶基)]甲基}吡唑-4-基)甲酰胺;

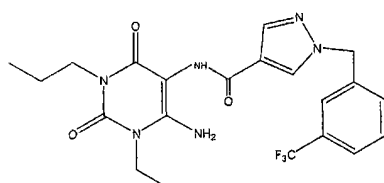
N-(6-氨基-2,4-二氧代-3-环丙基甲基(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[6-(三氟甲基)(3-吡啶基)]甲基}吡唑-4-基)甲酰胺; 以及

N-(6-氨基-2,4-二氧代-3-(2-甲基丙基)(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[6-(三氟甲基)(3-吡啶基)]甲基}吡唑-4-基)甲酰胺。

实施例 13

化学式 (3) 的化合物的制备

A. 化学式 (3) 的化合物的制备, 其中 R¹ 是正丙基, R² 是乙基, X 是 1,4-吡唑基, Y 是亚甲基, 以及 Z 是 3-三氟甲基苯基



在室温下搅拌 N-(6-氨基-2,4-二氧代-3-丙基(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[3-(三氟甲基)苯基]甲基}吡唑-3-基)甲酰胺 (872 mg, 2 mmol) 的二甲基甲酰胺 (10 ml) 溶液、碳酸钾 (552 mg, 4 mmol) 以及乙基碘 (0.24 ml, 3 mmol) 的混合物过夜。过滤反应混合物, 并在减压下从滤液中蒸发溶剂。在室温下用水搅拌残余物两小时, 滤出沉淀物, 用水洗涤, 并将其溶解于甲醇中。然后在减压下除去溶剂, 以提供 N-(6-氨基-1-乙基-2,4-二氧代-3-丙基(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[3-(三氟甲基)苯基]甲基}吡唑-4-基)甲酰胺, 一种化学式 (3) 的化合物。

¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 8.58 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.72-7.50 (m, 4H), 6.71 (s, 2H), 5.51 (s, 2H), 4.0-3.82 (m, 2H), 3.77-3.65 (m, 2H), 1.60-1.50 (m, 2H), 1.13 (t, 3H, J=6.8 Hz), 0.84 (t, 3H, J=7.2 Hz); MS *m/z* 462.9 (M⁺)

B. 化学式 (13) 的化合物的制备, 其中改变 R¹、X、Y、以及 Z

类似地, 按照实施例 13A 的步骤, 但用化学式 (13) 的其它化合物代替 N-(6-氨基-2,4-二氧代-3-丙基(1,3-二氢嘧啶-5-

基))(1-{[3-(三氟甲基)苯基]甲基}吡唑-3-基)甲酰胺, 则可以制备化学式(3)的其它化合物, 这些化合物包括:

N-(6-氨基-1-甲基-2,4-二氧代-3-丙基(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[3-(三氟甲基)苯基]甲基}-吡唑-4-基)甲酰胺;

N-(6-氨基-1-甲基-2,4-二氧代-3-环丙基甲基(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[3-(三氟甲基)苯基]甲基}-吡唑-4-基)甲酰胺;

N-(6-氨基-1-乙基-2,4-二氧代-3-环丙基甲基(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[3-(三氟甲基)苯基]甲基}-吡唑-4-基)甲酰胺;

N-(6-氨基-1-甲基-2,4-二氧代-3-乙基(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[3-氟苯基]甲基}-吡唑-4-基)甲酰胺;

N-(6-氨基-1-甲基-2,4-二氧代-3-环丙基甲基(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[3-氟苯基]甲基}-吡唑-4-基)甲酰胺;

N-(6-氨基-1-乙基-2,4-二氧代-3-环丙基甲基(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[3-氟苯基]甲基}-吡唑-4-基)甲酰胺;

N-[6-氨基-3-(环丙基甲基)-1-甲基-2,4-二氧代(1,3-二氢嘧啶-5-基)][1-苄基吡唑-4-基]甲酰胺;

N-(6-氨基-1-甲基-2,4-二氧代-3-环丙基甲基(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[3-氟基苯基]甲基}-吡唑-4-基)甲酰胺;

[1-(2-(1H-1,2,3,4-四唑-5-基)乙基)吡唑-4-基]-N-[6-氨基-3-(环丙基甲基)-1-甲基-2,4-二氧代(1,3-二氢嘧啶-5-基)]甲酰胺;

N-[6-氨基-3-(环丙基甲基)-1-乙基-2,4-二氧代(1,3-二氢嘧啶-5-基)](1-{[6-(三氟甲基)(3-吡啶基)]甲基}吡唑-4-基)甲酰胺;

N-[6-氨基-3-丙基)-1-乙基-2,4-二氧代(1,3-二氢嘧啶-5-基)](1-{[(2-吡啶基)]甲基}吡唑-4-基)甲酰胺;

N-[6-氨基-3-(2-甲基丙基)-1-甲基-2,4-二氧代(1,3-二氢嘧啶-5-基)][1-苄基吡唑-4-基]甲酰胺;

N-[6-氨基-3-(2-甲基丙基)-1-甲基-2,4-二氧代(1,3-二氢嘧啶-5-基)][1-{[3-氟苯基]甲基}吡唑-4-基]甲酰胺;

N-[6-氨基-3-(2-甲基丙基)-1-乙基-2,4-二氧代(1,3-二氢嘧啶-5-基)][1-{[3-氟苯基]甲基}吡唑-4-基]甲酰胺;

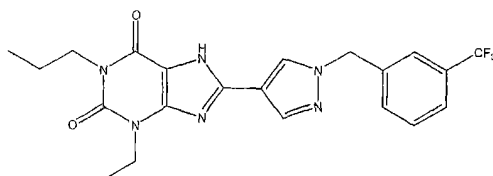
N-[6-氨基-3-(2-甲基丙基)-1-甲基-2,4-二氧代(1,3-二氢嘧啶-5-基)][1-{[3-(三氟甲基)苯基]甲基}吡唑-4-基]甲酰胺; 以及

N-[6-氨基-3-(2-甲基丙基)-1-乙基-2,4-二氧代(1,3-二氢嘧啶-5-基)](1-{[6-(三氟甲基)(3-吡啶基)]甲基}吡唑-4-基)甲酰胺。

实施例 14

化学式 I 的化合物的制备

A. 化学式 I 的化合物的制备, 其中 R¹ 是正丙基, R² 是乙基, X 是 1,4-吡唑基, Y 是亚甲基, 以及 Z 是 3-三氟甲基苯基



在 100°C 下搅拌 N-(6-氨基-1-乙基-2,4-二氧代-3-丙基(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[3-(三氟甲基)苯基]甲基}吡唑-3-基)甲酰胺 (850 mg, 2.34 mmol)、10% 氢氧化钠 (10 ml) 水溶液、以及甲醇 (10 ml) 的混合物 18 小时。冷却混合物, 在减压下除去甲醇, 然后用盐酸酸化剩余的混合物至 pH 2。滤出沉淀物, 用水 / 甲醇混合物进行洗涤, 以提供 3-乙基-1-丙基-8-(1-{[3-(三氟甲基)苯基]甲基}吡唑-4-基)-1,3,7-三氢嘌呤-2,6-二酮, 一种化学式 I 的化合物。

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 8.57 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.60-7.75 (m, 4H), 5.54 (s, 2H), 4.05-4.50 (m, 2H), 3.87-3.91 (m, 2H), 1.55-1.64 (m, 2H), 1.25 (t, 3H, J=7.03 Hz), 0.90 (t, 3H, J=7.42 Hz); MS *m/z* 447.2 (M⁺)

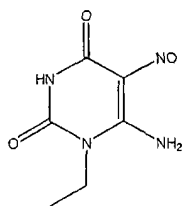
B. 化学式 I 的化合物的制备, 其中改变 R¹、R²、X、Y、以及 Z

类似地, 按照实施例 14A 的步骤, 但用化学式 (13) 的其它化合物代替 N-(6-氨基-1-乙基-2,4-二氧代-3-丙基(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[3-(三氟甲基)苯基]甲基}吡唑-3-基)甲酰胺, 则可以制备化学式 I 的其它化合物, 包括那些列在实施例 8 中的化合物。

实施例 15

化学式 (14) 的化合物的制备

A. 化学式 (14) 的化合物的制备, 其中 R² 是乙基



在 70°C 下在 30 分钟内将亚硝酸钠 (4.45 g, 64.5 mmol) 分成若干份加入到在 50% 乙酸 / 水 (50 ml) 的混合物中的 6-氨基-1-乙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮 (5.0 g, 32.3 mmol) 溶液中。在 70°C 下搅拌混合物 30 分钟。冷却反应混合物, 滤出沉淀物, 用水、然后用甲醇进行洗涤, 以提供 6-氨基-1-乙基-5-亚硝基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮, 一种化学式 (14) 的化合物。

¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 11.52 (s, 1H), 9.16 (s, 1H), 3.83 (q, 2H, J=7.0 Hz), 1.11 (t, 3H, J=7.0 Hz)。MS *m/z* 184.8 (M⁺), 206.80 (M⁺+Na)

B. 化学式 (14) 的化合物的制备, 其中改变 R²

类似地, 按照实施例 15A 的步骤, 但用 6-氨基-1-甲基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮代替 6-氨基-1-乙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮, 则制得 6-氨基-1-甲基-5-亚硝基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮。

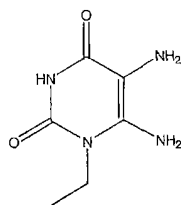
C. 化学式 (14) 的化合物的制备, 其中改变 R^2

类似地, 按照实施例 15A 的步骤, 但用化学式 (5) 的其它化合物代替 6-氨基-1-乙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮, 则可以制备化学式 (14) 的其它化合物。

实施例 16

化学式 (15) 的化合物的制备

A. 化学式 (15) 的化合物的制备, 其中 R^2 是乙基



在 50°C 下在 15 分钟内将连二亚硫酸钠 ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$, 7.37 g, 42.4 mmol) 分成若干份加入到 6-氨基-1-乙基-5-亚硝基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮 (3.9 g, 21.2 mmol) 在 14.5% 氨水 (50 ml) 中的溶液中, 然后搅拌混合物 20 分钟。在减压下浓缩溶液至体积为 30 ml, 冷却至 5°C, 滤出沉淀物, 然后用冷水洗涤, 以提供 5,6-二氨基-1-乙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮, 一种化学式 (15) 的化合物。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): δ 10.58 (s, 1H), 6.18 (s, 2H), 3.83 (q, 2H, $J=7.2$ Hz), 2.82 (s, 2H), 1.10 (t, 3H, $J=7.2$ Hz)。

B. 化学式 (15) 的化合物的制备, 其中改变 R^2

类似地, 按照实施例 16A 的步骤, 但用 6-氨基-1-甲基-5-亚硝基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮代替 6-氨基-1-乙基-5-亚硝基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮, 则制得 5,6-二氨基-1-甲基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮。

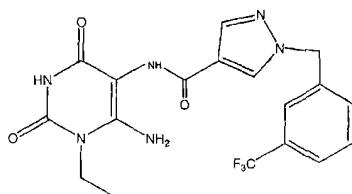
C. 化学式 (15) 的化合物的制备, 其中改变 R²

类似地, 按照实施例 16A 的步骤, 但用化学式 (14) 的其它化合物代替 6-氨基-1-乙基-5-亚硝基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮, 则可以制备化学式 (15) 的其它化合物。

实施例 17

化学式 (16) 的化合物的制备

A. 化学式 (16) 的化合物的制备, 其中 R² 是乙基, X 是 1,4-吡唑基, Y 是亚甲基, 以及 Z 是 3-三氟甲基苯基



将 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳化二亚胺盐酸盐 (2.47 g, 12.94 mmol) 加入到 5,6-二氨基-1-乙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮 (2 g, 11.76 mmol) 以及 1-{{3-(三氟甲基)苯基}甲基}吡唑-4-羧酸 (3.5 g, 12.94 mmol) 在甲醇 (50 ml) 中的混合物中, 然后在室温下搅拌反应混合物 16 小时。在减压下除去溶剂, 然后用水和甲醇洗涤残余物。在真空下干燥产物, 以提供 N-(6-氨基-1-乙基-2,4-二氧代(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{{3-(三氟甲基)苯基}甲基}吡唑-4-基)甲酰胺, 一种化学式 (16) 的化合物。

¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 10.60 (s, 1H), 8.50 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.72-7.50 (m, 4H), 6.69 (s, 2H), 5.50 (s, 2H), 3.87 (q, 2H, J=7.2 Hz), 1.11 (t, 3H, J=7.2 Hz); MS *m/z* 421 (M⁺)

B. 化学式 (16) 的化合物的制备, 其中改变 R²、X、Y、以及 Z

类似地, 按照实施例 17A 的步骤, 但用 5,6-二氨基-1-甲基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮代替 5,6-二氨基-1-乙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮, 则制得 N-(6-氨基-1-甲基-2,4-二氧代(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[3-(三氟甲基)苯基]甲基}吡唑-4-基)甲酰胺。

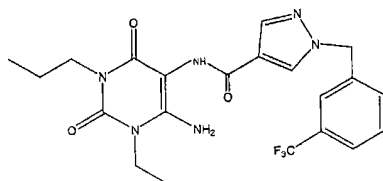
C. 化学式 (16) 的化合物的制备, 其中改变 R²、X、Y、以及 Z

类似地, 按照实施例 16A 的步骤, 但用化学式 (14) 的其它化合物代替 5,6-二氨基-1-乙基-1,3-二氢嘧啶-2,4-二酮, 则可以制备化学式 (15) 的其它化合物。

实施例 18

化学式 (3) 的化合物的制备

A. 化学式 (3) 的化合物的制备, 其中 R¹ 是正丙基, R² 是乙基, X 是 1,4-吡唑基, Y 是亚甲基, 以及 Z 是 3-三氟甲基苯基



在室温下搅拌 N-(6-氨基-1-乙基-2,4-二氧代(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[3-(三氟甲基)苯基]甲基}吡唑-3-基)甲酰胺 (1.5 g, 3.55 mmol) 的二甲基甲酰胺 (30 ml) 溶液、碳酸钾 (980 mg, 7.1 mmol) 以及丙基碘 (724 mg, 4.26 mmol) 的混合物过夜。加入水, 然后滤出沉淀物, 以提供 N-(6-氨基-1-乙基-2,4-二氧代-3-丙基(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[3-(三氟甲基)苯基]甲基}吡唑-4-基)甲酰胺, 一种化学式 (3) 的化合物, 将其用于下一反应而无需进一步纯化。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): δ 8.58 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.72-7.50 (m, 4H), 6.71 (s, 2H), 5.51 (s, 2H), 4.0-3.82 (m, 2H), 3.77-3.65 (m, 2H), 1.60-1.50 (m, 2H), 1.13 (t, 3H, $J=6.8$ Hz), 0.84 (t, 3H, $J=7.2$ Hz); MS m/z 462.9 (M^+)

B. 化学式 (3) 的化合物的制备, 其中改变 R^1 、 R^2 、X、Y 以及 Z

类似地, 按照实施例 18A 的步骤, 但用 N-(6-氨基-1-甲基-2,4-二氧代(1,3-二氢嘧啶-5-基))代替 N-(6-氨基-1-乙基-2,4-二氧代(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[3-(三氟甲基)苯基]甲基}吡唑-3-基)甲酰胺, 则制得 N-(6-氨基-1-甲基-2,4-二氧代-3-丙基(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[3-(三氟甲基)苯基]甲基}吡唑-4-基)甲酰胺。

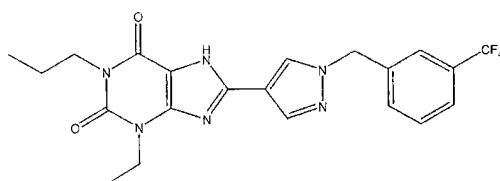
C. 化学式 (3) 的化合物的制备, 其中改变 R^1 、 R^2 、X、Y、以及 Z

类似地, 按照实施例 18A 的步骤, 但用化学式 (15) 的其它化合物可选地代替 N-(6-氨基-1-乙基-2,4-二氧代(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[3-(三氟甲基)苯基]甲基}吡唑-3-基)甲酰胺, 并用化学式 $R^1\text{Hal}$ 的其它化合物可选地代替丙基碘, 则可以制备化学式 (3) 的其它化合物。

实施例 19

化学式 I 的化合物的制备

A. 化学式 I 的化合物的制备, 其中 R^1 是正丙基, R^2 是乙基, X 是 1,4-吡唑基, Y 是亚甲基, 以及 Z 是 3-三氟甲基苯基



在 80°C 下搅拌 N-(6-氨基-1-乙基-2,4-二氧代-3-丙基(1,3-二氢嘧啶-5-基))(1-{[3-(三氟甲基)苯基]甲基}吡唑-3-基)甲酰胺 (300 mg, 464 mmol)、20% 氢氧化钠 (5 ml) 水溶液、以及甲醇 (10 ml) 的混合物 3 小时。冷却混合物，在减压下除去甲醇，然后用盐酸酸化剩余的混合物至 pH 2。滤出沉淀物，用水和甲醇进行洗涤，以提供 3-乙基-1-丙基-8-(1-{[3-(三氟甲基)苯基]甲基}吡唑-4-基)-1,3,7-三氢嘌呤-2,6-二酮，一种化学式 I 的化合物。

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 8.57 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.60-7.75 (m, 4H), 5.54 (s, 2H), 4.05-4.50 (m, 2H), 3.87-3.91 (m, 2H), 1.55-1.64 (m, 2H), 1.25 (t, 3H, J=7.03 Hz), 0.90 (t, 3H, J=7.42 Hz); MS *m/z* 447.2 (M⁺)

实施例 20

制备了含有以下组分的硬胶囊：

<u>组分</u>	<u>量 (mg / 胶囊剂)</u>
活性组分	30.0
淀粉	305.0
硬脂酸镁	5.0

混合上述组分，并装入硬胶囊内。

实施例 21

利用以下组分制备了片剂配方：

<u>组分</u>	<u>量 (mg / 片剂)</u>
活性组分	25.0
微晶纤维素	200.0
胶态二氧化硅	10.0
硬脂酸	5.0

对各成分进行混合，并压制以形成片剂。

实施例 22

制备了干粉吸入剂剂型，该剂型包含以下成分：

<u>组分</u>	<u>重量 %</u>
活性组分	5
乳糖	95

将活性组分与乳糖进行混合，然后将混合物加入到干粉吸入装置中。

实施例 23

每个片剂包含 30 mg 活性组分，其制备如下：

<u>组分</u>	<u>量 (mg / 片剂)</u>
活性组分	30.0 mg
淀粉	45.0 mg
微晶纤维素	35.0 mg
聚乙烯吡咯烷酮 (作为在无菌水中的 10% 溶液)	4.0 mg
羧甲基淀粉钠	4.5 mg
硬脂酸镁	0.5 mg
滑石粉	<u>1.0 mg</u>
总计	120 mg

使活性组分、淀粉以及纤维素通过美国第 20 号标准筛，并充分混合。将聚乙烯吡咯烷酮的溶液与产生的粉末进行混合，然后使其通过美国第 16 号标准筛。在 50℃ 至 60℃ 下干燥如此制得的颗粒，然后通过美国第 16 号标准筛。然后将先前通过美国第 30 号标准筛的羧甲基淀粉钠、硬脂酸镁、以及滑石粉加入到颗粒中，混合以后将其在在压片机上压制，以产生每个重量为 120 mg 的片剂。

实施例 24

每个栓剂含有 25 mg 的活性组分，其制备如下：

<u>组分</u>	<u>量</u>
活性组分	25 mg
加饱和脂肪酸甘油酯至	2,000 mg

使活性组分通过美国第 60 号标准筛，并悬浮在先前利用最小所需热量熔化的饱和脂肪酸甘油酯中。然后将混合物注入到公称 2.0 g 容量的栓剂模具中，并使其冷却。

实施例 25

每 5.0 mL 剂量的混悬剂包含 50 mg 活性组分，其制备如下：

<u>组分</u>	<u>量</u>
活性组分	50.0 mg
黄原胶	4.0 mg
羧甲基纤维素钠 (11%)	
微晶纤维素 (89%)	50.0 mg
蔗糖	1.75 g
苯甲酸钠	10.0 mg
增香剂和着色剂	适量
加净化水至	5.0 mL

混合活性组分、蔗糖以及黄原胶，使其通过美国第 10 号标准筛，然后与先前制得的微晶纤维素和羧甲基纤维素钠的水溶液进行混合。用一些水稀释苯甲酸钠、增香剂、以及着色剂，并在搅拌下加入。然后加入足够的水以产生所需要的体积。

实施例 26

皮下剂型可以制备如下:

<u>组分</u>	<u>量</u>
活性组分	5.0 mg
玉米油	1.0 mL

实施例 27

制备了具有以下组成的注射制剂:

<u>组分</u>	<u>量</u>
活性组分	2.0 mg/ml
甘露醇, USP	50 mg/ml
葡萄糖酸, USP	足量 (pH 5-6)
水 (蒸馏, 无菌)	足量至 1.0 ml
氮气, NF	足量

实施例 28

制备了具有以下组成的局部用制剂:

<u>组分</u>	<u>克</u>
活性组分	0.2-10
司盘 60	2.0
吐温 60	2.0
矿物油	5.0
凡士林	0.10
羟苯甲酯	0.15
羟苯丙酯	0.05
BHA (丁羟茴醚)	0.01
水	足量至 100

除水之外, 将所有上述组分合并, 并加热至 60°C, 同时搅拌。然后在 60°C 下加入足量的水, 同时剧烈搅拌, 以对组分进行乳化, 然后加入足量的水至 100 g。

实施例 29

缓释组合物

组分	重量范围 (%)	优选的重量 范围 (%)	最优选的 重量 (%)
活性组分	50-95	70-90	75
微晶纤维素 (填充剂)	1-35	5-15	10.6
甲基丙烯酸共聚物	1-35	5-12.5	10.0
氢氧化钠	0.1-1.0	0.2-0.6	0.4
羟丙基甲基纤维素	0.5-5.0	1-3	2.0
硬脂酸镁	0.5-5.0	1-3	2.0

本发明的缓释剂型的制备如下：将化合物与 pH 依赖性粘合剂以及任何可选的赋形剂完全混合（干混合）。然后在有碱水溶液存在的情况下将经干混合的混合物颗粒化，其中强碱水溶液喷在混合的粉末中。对颗粒进行干燥，筛分，并与可选的润滑剂（如滑石粉或硬脂酸镁）进行混合，然后压制成片剂。优选的强碱水溶液是碱金属氢氧化物，如氢氧化钠或氢氧化钾，优选为氢氧化钠的水溶液（可选地含有高达 25% 的与水混溶的溶剂，如低级醇）。

得到的片剂可以涂布以可选的成膜剂，用于识别、遮味以及便于吞咽。成膜剂的量通常为片剂重量的 2% 至 4% 之间。适宜的成膜剂在本技术领域是众所周知的，包括羟丙基甲基纤维素、阳离子甲基丙烯酸酯共聚物（甲基丙烯酸二甲氨乙基酯 / 甲基丙烯酸甲酯-甲基丙烯酸丁酯共聚物 - Eudragit® E-Röhm. Pharma）等等。这些成膜剂可以可选地含有着色剂、增塑剂、以及其它辅助成分。

压制片剂优选具有足以承受 8 Kp 压力的硬度。片剂大小将主要取决于片剂中化合物的量。这些片剂将包括 300 至 1100 mg 的化合物游离碱。优选地，这些片剂将包括 400-600 mg、650-850 mg、以及 900-1100 mg 的化合物游离碱。

为了影响解离速率，对含粉末的化合物的湿法混合时间进行控制。优选地，总粉末混合时间，即，粉末暴露于氢氧化钠溶液的时间，为 1 至 10 分钟，优选为 2 至 5 分钟。在造粒以后，从造粒机中移出颗粒，并置于流化床干燥器中，以便在约 60℃ 下进行干燥。

实施例 30

A_{2B} 腺苷受体测定

方法

对于 A_{2B} 腺苷受体的放射性配体结合。将人类 A_{2B} 腺苷受体 cDNA 稳定转染到 HEK-293 细胞内（称作 HEK-A2B 细胞）。用 PBS 洗涤单层的 HEK-A2B 细胞一次，然后将其收集在含有 10 mM HEPES (pH 7.4)、10 mM EDTA 及蛋白酶抑制剂的缓冲液中。在 4℃ 下在 polytron 中并在设置 4 下对这些细胞均匀化 1 分钟，并在 29000 g 下离心 15 分钟。用含有 10 mM HEPES (pH 7.4)、1 mM EDTA 及蛋白酶抑制剂的缓冲液洗涤细胞沉淀物一次，然后再悬浮于补充有 10% 蔗糖的相同缓冲液中。将冰冻后的等分试样保持在 -80℃。通过在补充有 1 单位 / mL 腺苷脱氨酶的 TE 缓冲液 (50 mM Tris 和 1 mM EDTA) 中混合 10 nM ³H-ZM241385 (Tocris Cookson) 和各种浓度的试验化合物以及 50 μg 膜蛋白，从而开始竞争性测定。对这些测定温育 90 分钟，利用 Packard 采集器并通过过滤来中止测定，然后用冰冷的 TM 缓冲液 (10 mM Tris, 1 mM MgCl₂, pH 7.4) 洗涤四次。在 10 μM ZM241385 存在的情况下确定非特异性结合。利用 GraphPad 软件计算化合物的亲和力 (即, K_i 值)。

对于其它腺苷受体的放射性配体结合。将人类 A₁、A_{2A}、A₃ 腺苷受体各 cDNA 稳定转染到 CHO 或 HEK-293 细胞内（称作 CHO-A1、HEK-A2A、CHO-A3）。利用与上述相同的程序由这些细胞制备膜。通过在补充有 1 单位 / mL 腺苷脱氨酶的 TE 缓冲液 (50

mM Tris 和 1 mM EDTA, 用于 CHO-A1 和 HEK-A2A) 或 TEM 缓冲液 (50 mM Tris, 1 mM EDTA 以及 10 mM MgCl₂, 用于 CHO-A3) 中混合 0.5 nM ³H-CPX (用于 CHO-A1)、2 nM ³H-ZM241385 (HEK-A2A) 或 0.1 nM ¹²⁵I-AB-MECA (CHO-A3) 和各种浓度的试验化合物及透视膜, 从而开始竞争性测定。对这些测定温育 90 分钟, 利用 Packard 采集器并通过过滤来中止测定, 然后用冰冷的 TM 缓冲液 (10 mM Tris, 1mM MgCl₂, pH 7.4) 洗涤四次。在 1 μM CPX (CHO-A1)、1 μM ZM241385 (HEK-A2A) 及 1 μM IB-MECA (CHO-A3) 存在的情况下确定非特异性结合。利用 GraphPad 软件计算化合物的亲和力 (即, K_i 值)。

cAMP 测量。将单层转染的细胞收集在含有 5 mM EDTA 的 PBS 中。用 DMEM 洗涤细胞一次, 并再悬浮于含有 1 单位 / mL 腺苷脱氨酶的 DMEM 中, 密度为 100,000-500,000 细胞 / ml。将 100 μl 的细胞悬浮液与 25 μl 含有各种激动剂和 / 或拮抗剂的溶液进行混合, 并将反应保持在 37°C 持续 15 分钟。在 15 分钟结束时, 加入 125 μl 的 0.2N HCl 以中止反应。在 1000 rpm 下离心细胞 10 分钟。移出 100 μl 的上清液, 并乙酰化。利用直接 cAMP 测定 (来自 Assay Design) 测量上清液中 cAMP 的浓度。

将 A_{2A} 和 A_{2B} 腺苷受体偶联于 G_s 蛋白, 因而对于 A_{2A} 腺苷受体 (如 CGS21680) 或对于 A_{2B} 腺苷受体 (如 NECA) 的激动剂会增加 cAMP 积累, 而对于这些受体的拮抗剂可防止由激动剂诱导的 cAMP 积累的增加。将 A₁ 和 A₃ 腺苷受体偶联于 G_i 蛋白, 因而对于 A₁ 腺苷受体 (如 CPA) 或对于 A₃ 腺苷受体 (如 IB-MECA) 的激动剂会抑制由毛喉素诱导的 cAMP 积累的增加。对于 A₁ 和 A₃ 受体的拮抗剂可防止抑制 cAMP 积累。

上述试验表明本发明的化合物是 A_{2B} 拮抗剂。

此外，利用在美国专利 6,387,913 中披露的程序，在用于哮喘的小鼠模型中试验了本发明的化合物，将其相关部分以引用方式合并入本文中，并表明本发明的化合物是有效的。