



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101273045 B

(45) 授权公告日 2012. 02. 01

(21) 申请号 200680035200. 4

A61P 25/14 (2006. 01)

(22) 申请日 2006. 09. 21

A61K 31/519 (2006. 01)

A61P 25/16 (2006. 01)

(30) 优先权数据

60/720, 027 2005. 09. 23 US

(56) 对比文件

US 6897217 B2, 2005. 05. 24, 说明书第 3 栏  
第 25-28、63-67 行, 第 119 栏化合物 5-130。 .

(85) PCT 申请进入国家阶段日

2008. 03. 24

(86) PCT 申请的申请数据

PCT/US2006/037003 2006. 09. 21

(87) PCT 申请的公布数据

W02007/038284 EN 2007. 04. 05

(73) 专利权人 先灵公司

地址 美国新泽西州

(72) 发明人 C·D·柏尔 S·查克拉曼尼尔

U·G·夏 J·E·拉可威兹

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

代理人 王颖煜 付磊

(51) Int. Cl.

C07D 487/14 (2006. 01)

权利要求书 1 页 说明书 11 页

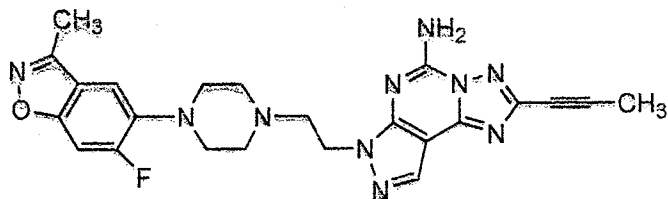
(54) 发明名称

7-[2-[4-(6-氟-3-甲基-1,2-苯并异  
噻唑-5-基)-1-哌嗪基]乙基]-2-(1-丙炔  
基)-7H-吡唑-[4,3-e]-[1,2,4]-三唑-[1,5-c]  
嘧啶-5-胺

(57) 摘要

本发明公开了具有结构式 I 的化合物或其药  
学可接受的盐, 以及其用于治疗中枢神经系统疾病,  
特别是帕金森氏症、锥体外系综合征、不宁腿综合  
征和注意力缺陷多动障碍中的用途; 包含其的药  
物组合物, 以及与其它药物的组合。

1. 具有如下结构式的化合物



或其药学可接受的盐。

2. 包含处于药学可接受载体中的治疗有效量的权利要求 1 的化合物的药物组合物。
3. 有效量的权利要求 1 的化合物在制备用于治疗哺乳动物中枢神经系统疾病的药物中的用途。
4. 权利要求 3 的用途,其中所述疾病是帕金森氏症、锥体外系综合征、不宁腿综合征、特发性震颤、亨廷顿病、注意力缺陷多动障碍、认知缺损、精神分裂症的阴性症状、抑郁、中风或精神病。
5. 权利要求 4 的用途,其中所述疾病是帕金森氏症、锥体外系综合征、不宁腿综合征或注意力缺陷多动障碍。

7-[2-[4-(6-氟-3-甲基-1,2-苯并异噁  
唑-5-基)-1-哌嗪基]乙基]-2-(1-丙炔基)-7H-吡  
啶-[4,3-e]-[1,2,4]-三唑-[1,5-c]-嘧啶-5-胺

### 发明领域

[0001] 本申请涉及一种腺苷 A<sub>2a</sub> 受体拮抗剂 7-[2-[4-(6-氟-3-甲基-1,2-苯并异噁唑-5-基)-1-哌嗪基]乙基]-2-(1-丙炔基)-7H-吡啶-[4,3-e]-[1,2,4]-三唑-[1,5-c]-嘧啶-5-胺,所述化合物在治疗中枢神经系统病症中的用途,所述病症包括:运动失调,例如帕金森氏症、锥体外系综合征、不宁腿综合征、特发性震颤和亨廷顿病;注意力障碍,例如注意力缺陷多动障碍、认知缺损和精神分裂症的阴性症状;以及其它中枢神经系统疾病,例如抑郁、中风和精神病。本发明还涉及包含所述化合物的药物组合物。

### [0002] 背景

[0003] 已知腺苷是许多生理功能的内源性调节剂。在心血管系统水平,腺苷是强血管舒张剂和心脏抑制剂。在中枢神经系统中,腺苷诱导镇静、抗焦虑和抗癫痫作用。在呼吸系统中,腺苷诱导支气管收缩。在肾脏系统中,腺苷发挥双相作用,在低浓度诱导血管收缩,而在高浓度诱导血管舒张。腺苷对脂肪细胞起脂解抑制剂作用,对血小板起抗凝集剂作用。

[0004] 腺苷作用由与不同的膜特异性受体的相互作用介导,所述受体属于与 G 蛋白偶联的受体家族。生物化学和药理学研究以及分子生物学进展,已鉴定了腺苷受体的至少四种亚型:A<sub>1</sub>、A<sub>2a</sub>、A<sub>2b</sub> 和 A<sub>3</sub>。A<sub>1</sub> 和 A<sub>3</sub> 受体抑制腺苷酸环化酶活性,而 A<sub>2a</sub> 和 A<sub>2b</sub> 受体刺激腺苷酸环化酶活性。还鉴定了能够作为拮抗剂与 A<sub>1</sub>、A<sub>2a</sub>、A<sub>2b</sub> 和 A<sub>3</sub> 受体相互作用的腺苷类似物。

[0005] A<sub>2a</sub> 受体的选择性拮抗剂因其降低的潜在副作用概率而在药理学上引人注目。在中枢神经系统中,A<sub>2a</sub> 拮抗剂可以具有抗抑郁剂性质并刺激认知功能。而且,数据表明,A<sub>2a</sub> 受体以高密度存在于基底神经节中,其已知在运动控制中是重要的。因此,A<sub>2a</sub> 拮抗剂可以改善由于神经变性疾病的运动损伤,所述神经变性疾病例如帕金森氏症、如阿尔茨海默氏病的老年痴呆症以及精神病。

[0006] 腺苷 A<sub>2a</sub> 受体拮抗剂已经在 WO 05/044245 公开为用于治疗或预防锥体外系综合征(EPS)、肌张力障碍、不宁腿综合征(RLS)或睡眠中周期性肢体运动(PLMS),并且已经在 WO 02/055083 中公开为用于治疗注意力缺陷多动障碍(ADHD)。

[0007] EPS 是与使用抗神经病药物相关的一系列不良神经反应的总称。有六类不同的 EPS 相关神经综合征,其中四类-肌张力障碍、静坐不能、假性帕金森氏症(帕金森综合征)和迟发性运动障碍-在接受抗精神病药物治疗的患者中特别普遍。肌张力障碍是肌肉群的痛性痉挛,所述肌肉群尤其是颈、颞、背、咽和喉的肌肉群。这在接受抗精神病药物治疗的青年男性中是最普遍的,但也可能与可卡因、三环类抗抑郁药、锂和抗惊厥剂(例如苯妥英和卡马西平)的使用有关。

[0008] 假性帕金森氏症的征候为运动不能(僵硬、强直和缓慢随意运动、佝偻、慢慢移动)和震颤,并且这些症状在治疗开始后数周或数月内发展。静坐不能征候为痛苦或不舒适的强主观性内在感觉,特征为坐立不安。经常被误认为是激动或焦虑,这种普通综合征通常不能被诊断,并且对治疗的响应最小。迟发性运动障碍是与精神抑制药物的慢性使用有关

的迟发性综合征。它更经常发生在老年患者中,并且特征为脸、眼睑、口、舌、四肢和躯干的常规、重复、非自愿的、快速的舞蹈病样运动。

[0009] EPS 更普遍与典型抗精神病药物的使用有关,但也报道了与非典型药物的使用有关。典型的抗精神病药包括洛沙平、氟哌啶醇、氯丙嗪、丙氯拉嗪和替沃噻吨。非典型抗精神病药包括氯氮平、奥氮平、洛沙平、喹硫平、齐拉西酮、利培酮和阿立哌唑。

[0010] 静坐不能也是 RLS 和 PLMS 以及 PLMD(周期性腿(或肢体)运动障碍)的特征。RLS 是导致患者具有移动他们的腿的不可抗拒和不愉快的欲望的普遍疾病;它经常在不活动期间和/或晚上发生,并可以妨碍睡眠。不具有典型 RLS 症状但确实表现出负面影响睡眠的周期性腿运动的患者被诊断为 PLMS。RLS 和 PLMS 的治疗包括左旋多巴/卡比多巴、左旋多巴/苄丝肼、多巴胺激动剂(例如普拉克索和罗匹尼罗(ropinerole))、苯并二氮杂草类、阿片类、抗惊厥剂和铁(硫酸亚铁)。RLS 和 PLMS 在文献中广泛描述,所述文献例如 Saletu 等, *Neuropsychobiology*, 41, 4(2000), 第 190-9 页。

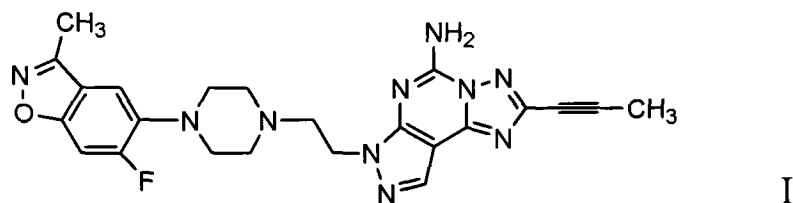
[0011] 已经发现,一些黄嘌呤相关化合物是  $A_1$  受体选择性拮抗剂,黄嘌呤和非黄嘌呤化合物已被发现具有高度  $A_{2a}$  亲和力以及不同程度的  $A_{2a}$  对  $A_1$  的选择性。之前已经公开了三唑-嘧啶腺苷  $A_{2a}$  受体拮抗剂,例如在 WO 95/01356;US 5,565,460;WO 97/05138;WO 98/52568,US6,630,475,US 6,653,315,US 6,897,217 和提交于 2005 年 4 月 19 日的 PCT/US05/013454 中。

[0012] 本发明是针对 US 6,897,217 的选择性发明。

[0013] 发明概述

[0014] 本发明涉及具有结构式 I 的化合物

[0015]



[0016] 或其药学可接受的盐。

[0017] 本发明另一方面是包含处于药学可接受载体中的治疗有效量的式 I 化合物的药物组合物。

[0018] 本发明另一方面是治疗中枢神经系统病症的方法,所述方法包括为需要这种治疗的哺乳动物施用式 I 化合物,所述病症包括:运动障碍,例如帕金森氏症、锥体外系综合征、不宁腿综合征、特发性震颤、亨廷顿病、肌张力障碍、睡眠中周期性肢体运动;注意障碍,例如注意力缺陷多动障碍、认知缺损和精神分裂症的阴性症状;以及其它中枢神经系统疾病,例如抑郁、中风和精神病。

[0019] 本发明尤其涉及治疗运动障碍(例如帕金森氏症、特发性震颤和亨廷顿病)的方法,包括为需要这种治疗的哺乳动物施用式 I 化合物。

[0020] 本发明另一方面是使用式 I 化合物和一种或多种用于治疗帕金森氏症的药物联合治疗帕金森氏症的方法,所述药物例如多巴胺;L-DOPA;多巴胺能激动剂;单胺氧化酶抑制剂, B 型(MAO-B);DOPA 脱羧酶抑制剂(DCI);或者儿茶酚-O-甲基转移酶(COMT)抑制剂。还要求保护包含处于药学可接受载体中的式 I 化合物和一种或多种已知用于治疗帕金

森氏症的药物的药物组合物。

[0021] 本发明还涉及 EPS (例如,肌张力障碍、静坐不能、假性帕金森氏症和迟发性运动障碍) 的治疗或预防,包括为需要这种治疗的哺乳动物施用式 I 化合物。该方法特别用于治疗或预防使用抗精神病药物治疗的患者的 EPS,所述抗精神病药物具有诱导 EPS 的副作用。式 I 化合物可以在 EPS 症状显现后施用,或者式 I 化合物可以在开始施用抗精神病药物时施用以预防 EPS 发生。因此,本发明还包括治疗或预防抗精神病药物诱导的 EPS 的方法,该方法包括为有相应需要的患者施用抗精神病药物和式 I 化合物的组合。

[0022] 本发明还涉及原发性(自发性)肌张力障碍的治疗,以及由于使用三环类抗抑郁剂、锂或抗惊厥剂治疗而表现出肌张力障碍的患者或使用了可卡因的患者的肌张力障碍的治疗或预防,包括为有相应需要的患者施用治疗有效量的式 I 化合物。如果肌张力障碍是由使用三环类抗抑郁剂、锂或抗惊厥剂治疗所引发的,则式 I 化合物可以在肌张力障碍症状显现之后施用,或者式 I 化合物可以在开始施用三环类抗抑郁剂、锂或抗惊厥剂时施用以预防肌张力障碍发生。因此,本发明还包括治疗或预防由三环类抗抑郁剂、锂或抗惊厥剂诱导的肌张力障碍的方法,该方法包括为有相应需要的患者施用式 I 化合物和三环类抗抑郁剂、锂或抗惊厥剂的组合。

[0023] 本发明还涉及异常运动障碍(例如 RLS 或 PLMS) 的治疗,包括为有相应需要的患者施用治疗有效量的式 I 化合物。本发明还包括治疗 RLS 或 PLMS 的方法,该方法包括为有需要的患者施用式 I 化合物和用于治疗 RLS 或 PLMS 的其它药物的组合,例如左旋多巴/卡比多巴、左旋多巴/苄丝肼、多巴胺激动剂、苯并二氮杂卓类、阿片类、抗惊厥剂或铁。

[0024] 本发明还涉及注意力相关障碍(例如注意力缺陷障碍(ADD) 和 ADHD,以及认知缺损和精神分裂症的阴性症状) 的治疗,包括施用治疗有效量的式 I 化合物。

[0025] 另一方面,本发明涉及以在一个包装中的分开的容器中包含联合用以治疗帕金森氏症的药物组合物的试剂盒,其中一个容器包括包含处于药学可接受载体中的有效量式 I 化合物的药物组合物,而其中另一容器包括包含有效量的用于治疗帕金森氏症的药物的药物组合物。

[0026] 另一方面,本发明涉及以在一个包装中的分开的容器中包含联合用以治疗或预防 EPS 的药物组合物的试剂盒,所述 EPS 由使用抗精神病药物治疗而引发,其中一个容器包括包含处于药学可接受载体中的有效量式 I 化合物的药物组合物,而其中另一容器包括包含有效量抗精神病药物的药物组合物。

[0027] 另一方面,本发明还涉及以在一个包装中的分开的容器中包含联合用以治疗或预防肌张力障碍的药物组合物的试剂盒,所述肌张力障碍由使用三环类抗抑郁剂、锂或抗惊厥剂的治疗所引发,其中一个容器包括包含处于药学可接受载体中的有效量式 I 化合物的药物组合物,而其中另一容器包括包含有效量三环类抗抑郁剂、锂或抗惊厥剂的药物组合物。

[0028] 另一方面,本发明涉及以在一个包装中的分开的容器中包含联合用以治疗 RLS 或 PLMS 的药物组合物的试剂盒,其中一个容器包括包含处于药学可接受载体中的有效量式 I 化合物的药物组合物,而其中另一容器包括包含有效量左旋多巴/卡比多巴、左旋多巴/苄丝肼、多巴胺激动剂、苯并二氮杂卓类、阿片类、抗惊厥剂或铁的药物组合物。

[0029] 本发明还涉及式 I 化合物在制备用于单独或与上述其它药物联合治疗或预防帕

金森氏症、EPS、肌张力障碍、RLS、PLMS、特发性震颤、亨廷顿病、认知缺损或精神分裂症的阴性症状的药物中的用途。

[0030] 详细描述

[0031] 本文使用的术语“组合物”预期包括包含指定量的指定成分的产品，以及直接或间接由指定量的指定成分组合得到任何产品。

[0032] 这里还包括本发明化合物的前药和溶剂合物。本文使用的术语“前药”表示为药物前体的化合物，其在施用至患者后经历代谢或化学过程的化学转化，生成式 I 化合物或其盐和 / 或溶剂合物。前药的讨论提供于 T. Higuchi 和 V. Stella, Pro-drugs as Novel Delivery Systems (作为新型给药系统的前药) A. C. S. Symposium Series (1987) 第 14 卷，以及 Bioreversible Carriers in Drug Design (药物设计中的生物可逆性载体)，(1987) Edward B. Roche 编辑, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 两者都通过引用结合入本文。

[0033] “溶剂合物”表示本发明化合物与一个或多个溶剂分子的物理结合。这种物理结合涉及不同程度的离子和共价结合，包括氢键合。在某些情况下，溶剂合物能够分离，例如当一个或多个溶剂分子掺入结晶固体的晶格中时。“溶剂合物”包括溶液相和可分离的溶剂合物。适当的溶剂合物的非限制性实例包括乙醇合物、甲醇合物等。“水合物”是其中溶剂分子为 H<sub>2</sub>O 的溶剂合物。

[0034] 本发明预期包括式 I 化合物的多晶型物，以及式 I 化合物的盐、溶剂合物和前药的多晶型物。

[0035] “有效量”或“治疗有效量”是要描述本发明化合物或组合物有效作为腺苷 A<sub>2a</sub> 受体拮抗剂并从而在适合患者中产生期望治疗作用的量。

[0036] “患者”包括人和动物。

[0037] “哺乳动物”表示人和其它哺乳动物。

[0038] 式 I 化合物形成的盐也包括在本发明范围内。除非另有说明，本文对式 I 化合物的提及应理解为包括对其盐的提及。本文使用的术语“盐”指使用无机酸和 / 或有机酸生成的酸性盐以及使用无机碱和 / 或有机碱生成的碱性盐。另外，当式 I 化合物既含有碱性部分（例如但不限于吡啶或咪唑）又含有酸性部分（例如但不限于羧酸）时，可以生成两性离子（“内盐”）并包括在本文使用的术语“盐”内。药学可接受的（即，非毒性的、生理学上可接受的）盐是优选的，尽管其它盐也是有效的。式 I 化合物的盐可以例如通过将式 I 化合物与一定量的酸或碱（例如等量的）在例如盐在其中沉淀的介质中或者在水介质中反应并随后冷冻干燥而生成。

[0039] 示例性酸加成盐包括乙酸盐、己二酸盐、藻酸盐、抗坏血酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、硫酸氢盐、硼酸盐、丁酸盐、柠檬酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、环戊烷丙酸盐、二葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、乙磺酸盐、富马酸盐、葡萄糖庚酸盐、甘油磷酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、2- 羟基乙磺酸盐、乳酸盐、马来酸盐、甲磺酸盐、2- 萘磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、草酸盐、果胶酸盐、过硫酸盐、3- 苯基丙酸盐、磷酸盐、苦味酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、水杨酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、磺酸盐（例如本文提到的那些）、酒石酸盐、硫氰酸盐、甲苯磺酸盐 (toluenesulfonates)（还称为甲苯磺酸盐 (tosylates)）、十一酸盐等。另外，普遍认为适合从碱性药物化合物生成药学有用盐的酸是

已知的。

[0040] 示例性的碱性盐包括：铵盐；碱金属盐，例如钠盐、锂盐和钾盐；碱土金属盐，例如钙盐和镁盐；与有机碱（例如，有机胺）成的盐，所述有机碱如苺星、二环己基胺、哈胺 (hydrabamines)（用 N,N- 双（脱氢 - 松香基）乙二胺生成）、N- 甲基 -D- 葡萄糖胺、N- 甲基 -D- 葡萄糖胺、叔丁基胺；以及与氨基酸成的盐，所述氨基酸如精氨酸、赖氨酸等。碱性含氮基团可以用如下物质季碱化：低级烷基卤化物（例如，甲基、乙基、丙基和丁基氯化物、溴化物和碘化物）、二烷基硫酸盐（例如，二甲基、二乙基、二丁基和二戊基硫酸盐）、长链卤化物（例如，癸基、月桂基、肉豆蔻基和硬脂酰基氯化物、溴化物和碘化物）、芳烷基卤化物（例如，苺基和苺乙基溴化物）以及其它药物。

[0041] 所有这样的酸盐和碱盐都预期为本发明范围内的药学可接受的盐，并且认为所有酸盐和碱盐等同于为本发明目的相应化合物的游离形式。

[0042] 式 I 化合物及其盐、溶剂合物和前药可以以其互变异构形式（例如，如酰胺或亚氨醚）存在。所有这样的互变异构形式预期作为本发明的部分包括在本文内。

[0043] 本发明范围涵盖本发明化合物（包括所述化合物的盐、溶剂合物和前药以及所述前药的盐和溶剂合物）的所有立体异构体（例如，几何异构体、光学异构体等），例如那些可能由于各种取代基上不对称碳原子而存在的异构体，包括对映异构形式（其可以甚至在缺乏不对称碳原子的情况下存在）、旋转异构形式、阻转异构体和非对映异构形式。本发明的单个立体异构体可以例如大体上不含其它异构体，或者可以例如作为外消旋化合物与所有其它或者其它选择的立体异构体混合。本发明的手性中心可以具有由 IUPAC 1974 Recommendations 定义的 S 或 R 构型。术语“盐”、“溶剂合物”、“前药”等的预期等同应用于本发明化合物的对映异构体、立体异构体、旋转异构体、互变异构体、外消旋化合物或前药的盐、溶剂合物和前药。

[0044] 可与式 I 化合物联合给药的已知用于治疗帕金森氏症的其它药物包括：L-DOPA；多巴胺能激动剂，例如喹吡罗、罗匹尼罗、普拉克索、培高利特和溴隐亭；MAO-B 抑制剂，例如丙炔苯丙胺 (deprenyl) 和司来吉兰；DOPA 脱羧酶抑制剂，例如卡比多巴和苺丝肼；以及 COMT 抑制剂，例如托卡朋和恩他卡朋。

[0045] 导致由腺苷  $A_{2a}$  受体拮抗剂治疗的 EPS 并与腺苷  $A_{2a}$  受体拮抗剂联合使用的抗精神病药物包括典型和非典型的抗精神病剂。典型的抗精神病剂包括洛沙平、氟哌啶醇、氯丙嗪、丙氯拉嗪和替沃噻吨。非典型的抗精神病剂包括氯氮平、奥氮平、洛沙平、喹硫平、齐拉西酮、利培酮 和阿立哌唑。

[0046] 导致由腺苷  $A_{2a}$  受体拮抗剂治疗的肌张力障碍的三环类抗抑郁药包括奋乃静、阿米替林、地昔帕明、多塞平、曲米帕明和普罗替林。可以导致肌张力障碍但也可用于治疗 ERLS 或 PLMS 的抗惊厥剂包括苯妥英、卡马西平和加巴喷丁。

[0047] 用于治疗 RLS 和 PLMS 的多巴胺受体激动药包括培高利特、普拉克索、罗匹尼罗、非诺多巴和卡麦角林。

[0048] 用于治疗 PRLS 和 PLMS 的阿片类包括可待因、氢可酮、羟考酮、丙氧氨芬和曲马多。

[0049] 用于治疗 PRLS 和 PLMS 的苯并二氮杂 䆳 类包括氯硝西洋、三唑仑和替马西洋。

[0050] 抗精神病药、三环类抗抑郁药、抗惊厥剂、多巴胺受体激动药、阿片类和苯并二氮杂 䆳 类是可商业途径获得的，并且描述于文献中，例如 The Physicians' Desk

Reference(Montvale ;Medical Economics Co., Inc., 2001)。

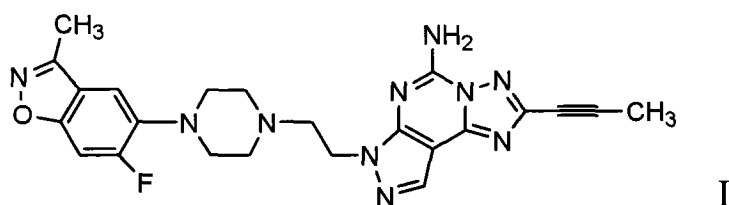
[0051] 虽然对于每种适应症而言,式 I 化合物与一种其它药物联合给药是优选的,但认为式 I 化合物能够与一种或多种其它药物联合给药(例如,抗精神病药、三环类抗抑郁药、抗惊厥剂、多巴胺受体激动药、阿片类或苯并二氮杂卓类)。虽然式 I 化合物与其它药物分开剂型的给药是优选的,但认为其它药物也能与式 I 化合物结合在单个剂型中,用于治疗或预防帕金森氏症、EPS、肌张力障碍、RLS 或 PLMS。认为式 I 化合物还能与另一腺苷 A<sub>2a</sub> 拮抗剂联合给药。

[0052] 式 I 化合物可以通过已知方法从起始原料制备,所述起始原料是现有技术已知的或者通过本领域已知的方法制备;参见,例如 US6, 897, 217。

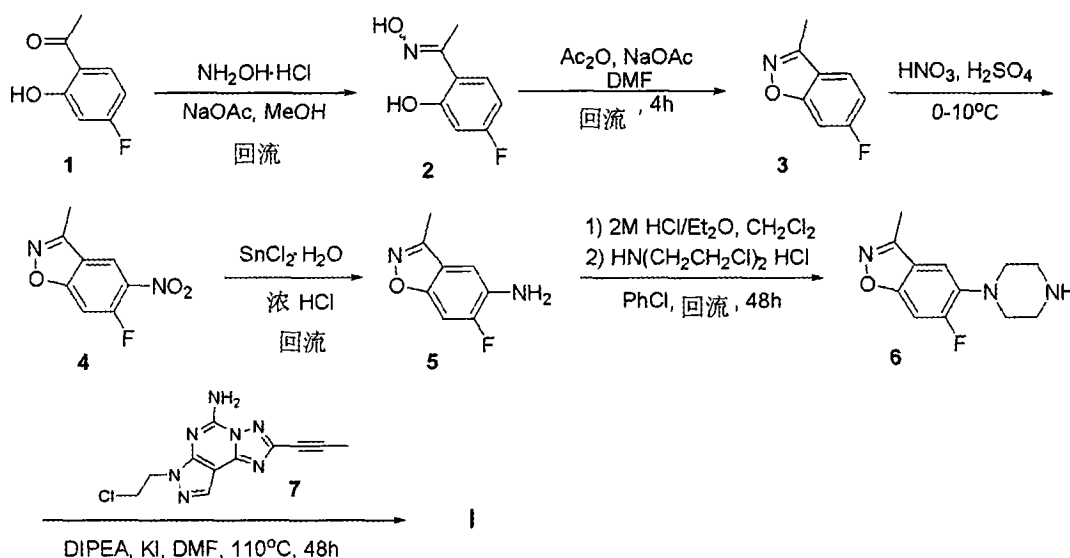
[0053] 本说明书使用的缩写如下:Ac(乙酰基);Me(甲基);Et(乙基);Ph(苯基);DMF(二甲基甲酰胺);DIPEA(二异丙基乙胺);RT(室温)。

[0054] 实施例 1

[0055]



[0056]



[0057] 步骤 1: 4-氟-2-羟苯乙酮 1 (50g, 324mmol)、盐酸羟胺 (45g, 648mmol) 和乙酸钠 (40g, 488mmol) 在无水 MeOH(1L) 中的混合物回流 2h。冷却至 RT 后,反应混合物缓慢倾泻在冰上并搅拌 30 分钟。由此获得的白色沉淀经抽吸过滤,然后溶解于 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>,干燥 (MgSO<sub>4</sub>)、过滤并浓缩,生成为白色固体的 2 (50g, 91% 收率),其无需进一步纯化而用于下一步骤。

[0058] 步骤 2: 向 2 (50g, 296mmol) 的 DMF (800ml) 溶液添加乙酸钠 (55g, 670mmol), 随后添加乙酸酐 (65ml, 689mmol)。反应混合物回流 3-4h, TLC (10% EtOAc, 于己烷中) 指示所有起始原料在该阶段耗尽。冷却至 RT 后,反应混合物倾倒入水中,并用醚萃取几次。合并的有机部分用盐水洗涤,干燥 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、过滤并浓缩,生成为褐色固体的 3 (42g, 94% 收率)。

[0059] 步骤 3: 通过加料漏斗向 3 (42g, 278mmol) 的浓 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (300ml) 冰冷溶液滴加浓



HNO<sub>3</sub> (70ml)。添加完毕后,反应混合物加热至 RT 并搅拌 2-3h。当 TLC(10% EtOAc, 于己烷中)指示起始原料耗尽后,反应混合物缓慢倾倒至冰上,伴随不断摇动。生成的固体经过滤,溶解于 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>,用饱和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液和盐水洗涤。合并的有机部分经 MgSO<sub>4</sub> 干燥、过滤并浓缩,生成 47g (86% 收率) 为黄色固体的 4。

[0060] **步骤 4**: 将 4 (47g, 240mmol) 的 AcOH (800ml) 溶液加热至 40°C, 并向该加热的溶液添加 SnCl<sub>2</sub> · H<sub>2</sub>O (150g, 665mmol) 的浓 HCl (400ml) 溶液。反应混合物回流 2h, 然后冷却至 RT。使用 NaOH 水溶液小心调节 pH 至 5-6 以沉淀大部分锡盐, 然后在恒定搅拌下向该混合物添加醚。倾析液体后, 有机层被分离, 水层用醚反萃取几次。合并的有机部分用盐水洗涤, 干燥 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、过滤并浓缩, 生成褐色油。柱色谱 (10-20% EtOAc, 于己烷中) 纯化生成 22g (55% 收率) 为黄色固体的 5。

[0061] **步骤 5**: 5 (3.2g, 19mmol) 的 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100ml) 溶液用 2M HCl/ 醚 (9.6ml, 19mmol) 处理, 减压除去溶剂。白色固体放入氯苯 (80ml) 中, 用双 (氯乙基) 胺 (3.8g, 21mmol) 处理。反应混合物回流 48h, 在该阶段消耗大部分起始原料。减压除去大部分溶剂, 残留物吸收入热 MeOH (200ml)。过滤掉黑色不溶残留物, 滤液通过柱色谱 (2-5% 7N NH<sub>3</sub>-MeOH, 于 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 中) 纯化, 生成 2.6g (57% 收率) 的 6。

[0062] **步骤 6**: 在 DMF (30ml) 中的 6 (2.6g, 11mmol)、7 (3.2g, 12mmol)、KI (2.0g, 12mmol) 和 DIPEA (2.3ml, 13.3mmol) 的混合物在 110°C 加热 48h。冷却至 RT 后, 添加水, 生成的固体经过滤。固体残留物溶解于 10% MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 干法上样至硅胶柱, 纯化 (2% MeOH, 于 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 中), 生成 2.7g (52% 收率) 的题述化合物。LCMS : 475 (M+H), 纯度 = 100%。

[0063] 因为自身的腺苷 A<sub>2a</sub> 受体拮抗剂活性, 本发明化合物用于治疗中枢神经系统疾病, 例如帕金森氏症、锥体外系综合征、不宁腿综合征、特发性震颤、亨廷顿病、注意力缺陷多动障碍、认知缺损、精神分裂症的阴性症状、抑郁、中风或精神病。尤其是, 本发明化合物可以改善由于神经变性疾病 (例如帕金森氏症) 引起的运动损伤。

[0064] 本发明化合物的药理学活性通过下述检测 A<sub>2a</sub> 受体活性的体外和体内测定法来确定。

[0065] 人类腺苷 A<sub>2a</sub> 和 A<sub>1</sub> 受体竞争结合测定实验

[0066] 膜来源:

[0067] A<sub>2a</sub>: 人类 A<sub>2a</sub> 腺苷受体膜, 产品目录 #RBHA2AM, Perkin Elmer Life Sciences, Shelton CT。在膜稀释缓冲液 (见下文) 中稀释至 17 μg/100 μl。

[0068] 测定缓冲液:

[0069] 膜稀释缓冲液: Dulbecco' s 磷酸盐缓冲盐水 (Gibco/BRL)+10mM MgCl<sub>2</sub>。

[0070] 化合物稀释缓冲液: Dulbecco' s 磷酸盐缓冲盐水 (Gibco/BRL)+10mM MgCl<sub>2</sub>, 添加 1.6mg/ml 甲基纤维素和 16% DMSO。

[0071] 每天新鲜配制。

[0072] 配体:

[0073] A<sub>2a</sub>: [3H]-SCH 58261, 委托合成, AmershamPharmacia Biotech, Piscataway, NJ。母液以 1nM 在膜稀释缓冲液中制备。最终测定浓度为 0.5nM。

[0074] A<sub>1</sub>: [3H]-DPCPX, AmershamPharmacia Biotech, Piscataway, NJ。母液以 2nM 在膜稀释缓冲液中制备。最终测定浓度为 1nM。

[0075] 非特异性结合：

[0076]  $A_{2a}$ ：为测定非特异性结合，添加 100nM CGS 15923 (RBI, Natick, MA)。工作溶液以 400nM 在化合物稀释缓冲液中制备。

[0077]  $A_1$ ：为测定非特异性结合，添加 100  $\mu$  M NECA (RBI, Natick, MA)。工作溶液以 400nM 在化合物稀释缓冲液中制备。

[0078] 化合物稀释：

[0079] 制备化合物在 100% DMSO 中的 1mM 母液。在化合物稀释缓冲液中稀释。在范围从 3  $\mu$  M 至 30pM 的 10 个浓度测试。制备在化合物稀释缓冲液中 4X 终浓度的工作溶液。

[0080] 测定方法：

[0081] 在深孔 96 孔板中进行测定。总测定体积为 200  $\mu$  l。添加 50  $\mu$  l 化合物稀释缓冲液（总配体结合）或 50  $\mu$  l CGS 15923 工作溶液 ( $A_{2a}$  非特异性结合) 或 50  $\mu$  l NECA 工作溶液 ( $A_1$  非特异性结合) 或 50  $\mu$  l 药物工作溶液。添加 50  $\mu$  l 配体母液 ([<sup>3</sup>H]-SCH 58261 对  $A_{2a}$ , [<sup>3</sup>H]-DPCPX 对  $A_1$ )。添加 100  $\mu$  l 稀释的含有适当受体的膜。混合。室温温育 90 分钟。使用 Brandel 细胞收集器收集至 Packard GF/B 过滤板。添加 45  $\mu$  l Microscint 20 (Packard)，使用 Packard TopCount Microscintillation Counter 计数。通过使用反复曲线拟合程序 (Excel) 拟合置换曲线来确定  $IC_{50}$  值。使用 Cheng-Prusoff 方程确定  $K_i$  值。

[0082] 氟哌啶醇 - 诱导的大鼠僵直

[0083] 使用重量为 175-200g 雄性 Sprague-Dawley 大鼠 (Charles River, Calco, Italy)。垂直网格测试 (vertical grid test) 测试动物之前 90 分钟，皮下注射多巴胺受体拮抗剂氟哌啶醇 (1mg/kg, sc) 引起僵直状态。为了该测试，将大鼠放在与工作台成约 70 度角放置的 25×43 有机玻璃笼子的金属网盖上。将大鼠放在网格上，使所有四条腿外展并延伸（“蛙姿势”）。这种反常姿势的使用对于该僵直测试的特异性而言是必要的。测量从爪放置到第一次完全移走一只爪的时间跨度（下降潜伏期）最大为 120 秒。

[0084] 在为动物评分前 1 小时和 4 小时，被评价的选择性  $A_{2A}$  腺苷拮抗剂以范围为 0.03mg/kg 至 3mg/kg 的剂量口服给药。

[0085] 在分开的实验中，测定了参考化合物 L-DOPA (25, 50mg/kg 和 100mg/kg, ip) 的抗僵硬作用。

[0086] 大鼠中部前脑束的 6-OHDA 损伤

[0087] 所有实验中使用重量为 275-300g 的成年雄性 Sprague-Dawley 大鼠 (Charles River, Calco, Como, Italy)。大鼠在控制的温度和 12 小时明 / 暗循环下以每笼 4 只分组圈养，自由使用食物和水。手术前一天，大鼠禁食过夜，不限制水。

[0088] 中部前脑束的单侧 6-羟基多巴胺 (6-OHDA) 损伤根据 Ungerstedt 等 (Brain Research, 1971, 6-OHDA and Catecholamine Neurons, NorthHolland, Amsterdam, 101-127) 描述的方法进行，所述方法有较小改动。简单说，动物用水合氯醛 (400mg/kg, ip) 麻醉并在 6-OHDA 注射前 30 分钟用地昔帕明 (10mpk, ip) 处理，以阻断去甲肾上腺素能终端的毒素摄取。然后，将动物放入立体定位架。除去颅骨上的皮肤，大脑立体定位（根据 Pellegrino 等的图谱 (Pellegrino L. J., Pellegrino A. S. and Cushman A. J., A Stereotaxic Atlas of the Rat Brain (大鼠大脑立体定位图谱), 1979, New York: Plenum Press)，采用 -2.2 前卤后 (AP), +1.5 前卤侧 (ML), 7.8 硬脑膜腹侧 (DV))。然后，在损伤部位的颅骨上设置钻

孔,与 Hamilton 注射器连接的针头向下进入左 MFB。然后,将  $8\mu\text{g}$  6-OHDA-HCl 溶解于具有 0.05% 抗坏血酸作为抗氧化剂的  $4\mu\text{l}$  盐水中,并使用输注泵以  $1\mu\text{l}/1\text{min}$  的恒定流速输注。额外 5 分钟后拔出针头,封闭手术伤口,使动物恢复 2 周。

[0089] 损伤两周后,为大鼠施用 L-DOPA (50mg/kg, ip) + 苄丝肼 (25mg/kg, ip),并根据 2h 测试期内由自动旋转计量器定量的全对侧旋转次数选择(最初测试)。任何未显示至少 200 次完全旋转 /2h 的大鼠不包括在本研究中。

[0090] 选定的大鼠在最初测试之后 3 天接受测试药物(最大的多巴胺受体超敏反应)。新的  $A_{2A}$  受体拮抗剂在不同时间点(即,1、6、12h)以范围为 0.1mg/kg 至 3mg/kg 的剂量水平口服给药,之后注射阈下剂量的 L-DOPA (4mpk, ip) + 苄丝肼 (4mpk, ip) 并评价旋转行为。

#### [0091] EPS 测定

[0092] 下述方法描述了使用腺苷  $A_{2a}$  拮抗剂来缓解对多巴胺  $D_2$  受体拮抗剂氟哌啶醇敏感的 cebus apella 猴中显现的锥体外系综合征 (EPS)。

[0093] 之前对氟哌啶醇长期作用敏感的一群 cebus apella 猴在快速施用氟哌啶醇 (0.3mg/kg, p. o.) 后表现出 EPS。测试化合物以 0.3-30mg/kg 范围的剂量与氟哌啶醇联合口服 (p. o.) 给药。使用受试者内设计进行该研究,以使每只猴接受交叉、平衡设计 (crossover, balanced design) 中的全部治疗(载体和测试化合物剂量)。测定到最大 EPS 分数的降低以及 EPS 发生的剂量依赖性延迟。

[0094] 已经制定了治疗 RLS 和 PLMS 的临床指南:参见 A. L. Chesson 等, Sleep, 22, 7(1999), 第 961-8 页。腺苷  $A_{2a}$  拮抗剂在治疗 RLS 和 PLMS 中的效力可以通过类似于文献 (Weimerskirch 等, Annals of Pharmacotherapy, 35, 5(2001), p. 627-30) 中针对普拉克索和罗匹尼罗描述的临床方法来确定。

[0095] 使用上述测试方法,得到本发明化合物的下述结果。

[0096] 本发明化合物的结合测定结果显示  $A_{2a}$   $K_i$  值为 0.43nM。

[0097] 通过  $A_{2a}$  受体的  $K_i$  除以  $A_1$  受体的  $K_i$  来确定选择性。本发明化合物具有大于 2500 倍的选择性。

[0098] 在 6-OHDA 损伤测试中,被施用式 I 化合物和阈下量 L-DOPA 的组合物的测试动物表现出显著更高的对侧旋转:

[0099] L-DOPA :  $171 \pm 47$  旋转

[0100] 0.1mpk :  $218 \pm 142$  旋转

[0101] 0.3mpk :  $406 \pm 167$  旋转

[0102] 1mpk :  $360 \pm 178$  旋转

[0103] 3mpk :  $403 \pm 125$  旋转

[0104] 在大鼠 @4h 的氟哌啶醇诱导的僵硬测定中,抑制%如下:

[0105] 0.3mpk : 28% 僵硬抑制

[0106] 1mpk : 47% 僵硬抑制

[0107] 3mpk : 53% 僵硬抑制

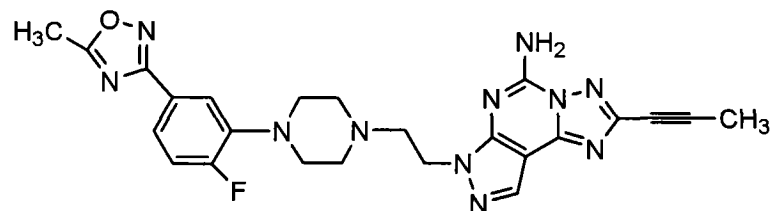
[0108] 在 EPS 测定中,四只氟哌啶醇致敏的猴被共施用于香蕉中的式 I 化合物 (30mg/kg) 和氟哌啶醇 (0.3mg/kg)。采用为 6 小时的观察期中每种症状的严重度分级的评分系统。与在单独使用氟哌啶醇给药的猴中所观察的相比,式 I 化合物在 3 只受试猴中完全阻断了 6

小时观察期间氟哌定醇诱导的EPS,在4只受试猴中延迟了EPS的发生并降低了EPS的严重程度。

[0109] 显示受体占据持续时间的体外 (Ex vivo) 结合研究

[0110] 大鼠在处死和移出大脑之前 4、8、12 和 16 小时被给药 1mg/kg 的式 I 化合物和式 II 化合物 (类属公开于 US 6,897,217)

[0111]



[0112]  $A_{2a}$  受体富集的纹状体核被切开并在缓冲溶液中匀化处理。纹状体匀浆用  $A_{2a}$  拮抗剂放射性配体  $^3\text{H-SCH 58261}$  (见 W0 96/38728) 培养,之后过滤分离结合的放射性和游离的放射性。过滤物上结合的放射性配体经干燥、闪烁液浸泡并计数。载体处理的大鼠的纹状体匀浆经相同的实验条件处理,确定了不含测试化合物时的结合放射性配体量。

[0113] 对于两种化合物, $^3\text{H-SCH 58261}$  结合的降低 (42%和 47%) 表明受体在 4 小时被测试化合物占据。然而,在用式 II 给药的大鼠的纹状体匀浆中,放射性配体结合在 8 小时恢复至接近载体处理的水平,表明测试化合物在此时不再竞争  $A_{2a}$  受体。式 I 化合物表现出持续 12 小时对放射性配体的替代 (40%放射标记替代)。

[0114] 为从本发明化合物制备药物组合物,惰性的药学可接受载体可以是固体也可以是液体。固体形式的制剂包括粉剂、片剂、可分散颗粒剂、胶囊、扁囊剂和栓剂。粉剂和片剂可以包含约 5%至约 70%的活性成分。适当的固体载体是本领域已知的,例如碳酸镁、硬脂酸镁、滑石、糖、乳糖。片剂、粉剂、扁囊剂和胶囊可用作适合口服给药的固体剂型。

[0115] 为制备栓剂,首先熔化低熔点蜡,例如脂肪酸甘油酯或可可脂的混合物,然后通过搅拌将活性成分均匀分散其中。然后将熔化的匀质混合物倒入常规尺寸的模具,冷却,从而固化。

[0116] 液体形式的制剂包括溶液剂、混悬剂和乳剂。作为例子,可以提及用于肠胃外注射的水或水-丙二醇溶液。

[0117] 液体形式的制剂还可以包括用于鼻内给药的溶液剂。

[0118] 适合吸入的气溶胶制剂包括溶液或粉末形式的固体,其可以与药学可接受的载体结合,所述载体例如惰性压缩气体。

[0119] 还包括如下的固体形式制剂:其将在临使用前被转化为用于口服或肠胃外给药的液体形式的制剂。这种液体形式包括溶液、混悬液和乳液。

[0120] 本发明化合物还可以经皮给药。经皮组合物可以采用霜剂、洗剂、气溶胶和/或乳剂的形式,并可以包括在本领域常规用于此目的的基质型或药包型透皮贴片中。

[0121] 优选地,所述化合物口服给药。

[0122] 优选地,所述药物制剂为单位剂量形式。以这种形式,制剂被分成含有适当量活性组分的单位剂量,所述适当量例如达到期望目的的有效量。

[0123] 单位剂量制剂中活性式 I 化合物的量可以根据具体应用而改变或调整,从约 0.1mg 至 1000mg,更优选约 1mg 至 300mg。

[0124] 采用的实际剂量可以根据患者需要和待治病状的严重度而改变。具体情况的适当剂量的确定在本领域技术范围内。通常,使用比化合物最佳剂量小的较小剂量开始治疗。此后,小幅增加剂量,直至达到特定情况下的最佳效果。为了方便,如果需要,总日剂量可以被分开并在一天中分部分给药。

[0125] 本发明化合物及其药学可接受盐的给药量和频率将根据主治临床医生的判断来调节,考虑例如患者年龄、状况和体重以及待治症状的严重度等因素。对式 I 化合物的通常推荐剂量方案是以 2 至 4 次分开剂量口服给药 10mg/ 天至 2000mg/ 天,优选 10mg/ 天至 1000mg/ 天,以缓解中枢神经系统疾病例如帕金森氏症或者上述其它疾病或病状。

[0126] 与式 I 化合物联合使用的其它药物的剂量和剂量方案将由临床医生视包装说明书中允许的剂量和剂量方案并考虑患者的年龄、性别和状况以及疾病的严重度而定,所述其它药物即帕金森氏症药物、抗精神病药、三环类抗抑郁药、抗惊厥剂、多巴胺激动药、苯并二氮杂草类、阿片类、锂或铁。当联合给药时,式 I 化合物和其它药物可以同时或顺序给药。特别有效的是:组合的组分优选以不同的给药方案给药,例如,一个组分每日给药,而另一组分每 6 小时给药;或者优选的药物组合物不同,例如,一个优选是片剂,一个是胶囊。因此,有利的是以试剂盒提供式 I 化合物和其它药物,所述试剂盒包括在一个包装内的分开容器中的联合使用以治疗或预防帕金森氏症、EPS、肌张力障碍、RLS 或 PLMS 的药物组合物,其中一个容器包括包含处于药学可接受的载体中的有效量式 I 化合物的药物组合物,而另一容器包括包含有效量的适合治疗指定病状的另一药物的药物组合物。

[0127] 本领域技术人员会理解,对于组合的一个组分的剂型可以调整为同时含有式 I 化合物和另一药物,例如式 I 化合物和抗精神病药,或者式 I 化合物和多巴胺激动剂。

[0128] 虽然结合上述具体实施方案描述了本发明,但其许多替代、调整 and 变化对于本领域普通技术人员而言是显而易见的。所有这样的替代、调整 and 变化将落入本发明的精神和范围内。