

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200810200408.8

[51] Int. Cl.

C07D 239/50 (2006.01)

A61K 31/5377 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

[43] 公开日 2010 年 3 月 31 日

[11] 公开号 CN 101684098A

[22] 申请日 2008.9.24

[21] 申请号 200810200408.8

[71] 申请人 中国科学院上海药物研究所

地址 200031 上海市太原路 294 号

[72] 发明人 柳 红 蒋华良 周 宇 郑明月
叶德举 罗小民 朱维良 陈凯先

[74] 专利代理机构 北京金信立方知识产权代理有限公司

代理人 朱 梅 黄丽娟

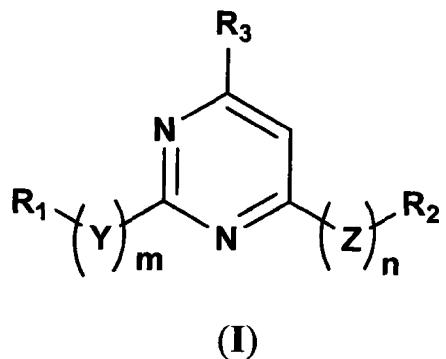
权利要求书 6 页 说明书 26 页

[54] 发明名称

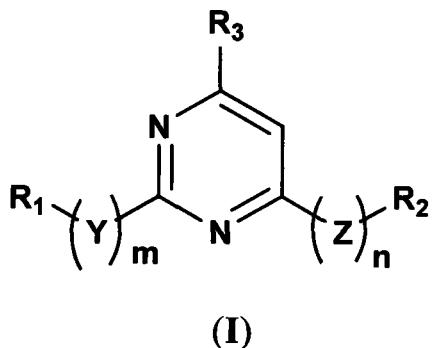
一类 5 - 脂氧酶抑制剂及其制备方法、药物组合物和应用

[57] 摘要

本发明提供一类 5 - 脂氧酶抑制剂及其制备方法、药物组合物和应用。更具体地，本发明提供通式(I)所示的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物或水合物。本发明还涉及该类化合物的制备方法、药物组合物和用途。生物学实验活性表明，本发明化合物是一类结构新颖的、有效的 5 - LOX 小分子抑制剂。因此，该类化合物有望开发成为一类治疗白三烯相关的疾病的强效的新化学实体。



1、一种具有如下通式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物或水合物：



其中：

Y 和 Z 各自独立地为 NH、CH₂、O、S、-(CH₂)_aNH-或者-(CH₂)_bO-，
a 和 b 分别为 1~5 的整数；

m 和 n 分别为 0 或 1；

R₁ 和 R₂ 分别为氢、C1-C6 直链或支链的饱和或不饱和烃基、饱和或不饱和 C3-C7 环烷烃基、芳香基或 5-7 元杂环基；

R₃ 为氢、卤素、C1-C6 直链或支链的饱和或不饱和烃基、氟基、硝基、肼基、氨基、羟基、羟甲基、三氟甲基、三氟甲氧基、羧基、C1-C4 烷氧基、巯基、C1-C4 酰基、C3-C7 环烃基、苄基、芳香基或 5-7 元杂环基；

所述的卤素为氟、氯、溴或碘；

所述的芳香基是苯基、取代苯基、萘基、联苯基或含有 1-3 个选自氧、硫和氮的杂原子的 5-7 元芳杂环基；其中所述的取代苯基包括 1~4 个取代基，该取代基选自卤素、C1-C6 直链或支链烃基、氟基、硝基、氨基、羟基、羟甲基、三氟甲基、三氟甲氧基、羧基、C1-C4 烷氧基、巯基、甲磺酰基、胺磺酰基和 C1-C4 酰基之中；

所述的 5-7 元杂环基含有 1-3 个选自氧、硫和氮的杂原子，并含有

一个或多个选自卤素、C1-C6 直链或支链烃基、氰基、硝基、氨基、羟基、羟甲基、三氟甲基、三氟甲氧基、羧基、C1-C4 烷氧基、巯基、C1-C4 酰基和芳香基的取代基。

2、根据权利要求 1 所述的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物或水合物，其特征在于，

R₁ 和 R₂ 分别为 C1-C6 直链或支链的饱和或不饱和烃基、饱和或不饱和 C3-C7 环烷烃基、芳香基或 5-7 元杂环基；

R₃ 为氢、卤素、肼基、C3-C7 环烃基、芳香基或 5-7 元杂环基；

所述的芳香基是苯基、取代苯基、萘基、联苯基或含有 1-3 个选自氧、硫和氮的杂原子的 5-7 元芳杂环基；其中所述的取代苯基包括 1~4 个取代基，该取代基选自卤素、C1-C6 直链或支链烃基、氰基、硝基、氨基、羟基、羟甲基、三氟甲基、三氟甲氧基、羧基、C1-C4 烷氧基、巯基、甲磺酰基、胺磺酰基和 C1-C4 酰基之中；

所述的 5-7 元杂环基含有 1-3 个选自氧、硫和氮的杂原子，并含有一个或多个选自卤素、C1-C6 直链或支链烃基、氰基、硝基、氨基、羟基、羟甲基、三氟甲基、三氟甲氧基、羧基、C1-C4 烷氧基、巯基、C1-C4 酰基和芳香基的取代基。

3、根据权利要求 2 所述的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物或水合物，其特征在于，

Y 和 Z 均为 NH；

m 和 n 分别为 1；

R₃ 为吗啉基、哌嗪基或 N-甲基哌嗪基。

4、根据权利要求 2 所述的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物或水合物，其特征在于，

m 和 n 分别为 0；

R₃为吗啉基、哌嗪基或者N-甲基哌嗪基。

5、根据权利要求2所述的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物或水合物，其特征在于，

Y和Z分别为-(CH₂)_aNH-，其中a为1；

m和n分别为1；

R₃为吗啉基、哌嗪基或者N-甲基哌嗪基。

6、根据权利要求2所述的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物或水合物，其特征在于，

Y和Z分别为-(CH₂)_bO-，其中b为1；

m和n分别为1；

R₃为吗啉基、哌嗪基或者N-甲基哌嗪基。

7、根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物或水合物，其特征在于，所述化合物为：

N²,N⁴-二(4-甲氧基苯基)-6-(4-甲基哌嗪-1-基)嘧啶-2,4-二胺，

N²,N⁴-二(4-甲氧基苯基)-6-(哌嗪-1-基)嘧啶-2,4-二胺，

N²,N⁴-二(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基嘧啶-2,4-二胺，

N⁴-(4-甲氧基苯基)-6-(4-甲基哌嗪-1-基)-N²-苯基嘧啶-2,4-二胺，

N⁴-(4-甲氧基苯基)-6-(哌嗪-1-基)-N²-苯基嘧啶-2,4-二胺，

N⁴-(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基-N²-苯基嘧啶-2,4-二胺，

N⁴-(4-甲氧基苯基)-6-(4-甲基哌嗪-1-基)-N²-对甲基苯基嘧啶-2,4-二

胺，

N⁴-(4-甲氧基苯基)-6-(哌嗪-1-基)-N²-对甲基苯基嘧啶-2,4-二胺，

N⁴-(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基-N²-对甲基苯基嘧啶-2,4-二胺，

N-(4-甲氧基苯基)-2,6-二吗啉基嘧啶-4-胺，

6-((E)-2-(3,5-二叔丁基-4-羟基苄烯基)肼基)-N-(4-甲氧基苯基)-2-吗

啉基嘧啶-4-胺，

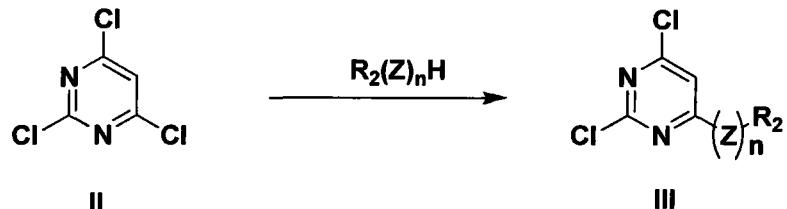
N^4 -(4-甲氧基)-6-吗啉基- N^2 -对甲基苄基嘧啶-2,4-二胺，
 2-甲氧基-N-(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基嘧啶-4-胺，
 N^2 -(4-氯苯基)- N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基嘧啶-2,4-二胺，
 N^2 -(4-硝基苯基)- N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基嘧啶-2,4-二胺，
 N^2 -(4-氟苯基)- N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基嘧啶-2,4-二胺，
 N^2 -(4-氯基苯基)- N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基嘧啶-2,4-二胺，
 N^2 -(4-氟基苯基)- N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-哌嗪基嘧啶-2,4-二胺，
 N^2 -(4-胺磺酰基苯基)- N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基嘧啶-2,4-二胺，
 N^2 -(4-甲磺酰基苯基)- N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基嘧啶-2,4-二胺，
 2-(4-甲氧基苯氧基)-N-(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基嘧啶-4-胺，
 N -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基-2-苯氧基嘧啶-4-胺，
 N -(4-甲氧基苯基)-2-(4-甲氧基苯基疏基)-6-吗啉基-嘧啶-4-胺，
 N -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基-2-苯基嘧啶-4-胺，
 N^2 -(4-甲氧基苯基)- N^4 -(4-甲磺酰基苯基)-6-吗啉基嘧啶-2,4-二胺，
 N^2 -(4-甲氧基苯基)- N^4 -(4-甲磺酰基苯基)-6-哌嗪基嘧啶-2,4-二胺，
 N^2 -(4-甲氧基苯基)- N^4 -(4-甲磺酰基苯基)-6-(4-甲基哌嗪-1-基)嘧啶
 -2,4-二胺，
 N^2 -(4-甲氧基苯基)- N^4 -(4-胺磺酰基苯基)-6-吗啉基嘧啶-2,4-二胺，
 N^2 -(4-甲氧基苯基)- N^4 -(4-胺磺酰基苯基)-6-哌嗪基嘧啶-2,4-二胺，
 或
 N^2 -(4-甲氧基苯基)- N^4 -(4-胺磺酰基苯基)-6-(4-甲基哌嗪-1-基)嘧啶
 -2,4-二胺。

8、根据权利要求1~7任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物或水合物，其特征是，所述药学上可接受的盐是所述通式(I)

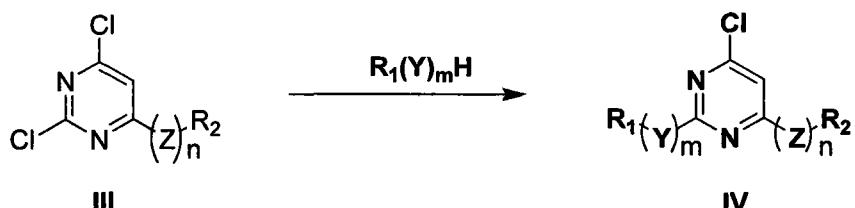
的化合物与丙酸、草酸、丙二酸、琥珀酸、富马酸、马来酸、乳酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、天冬氨酸、谷氨酸形成酯后再与无机碱形成的钠盐、钾盐、钙盐、铝盐和铵盐；或与有机碱形成甲胺盐、乙胺盐、乙醇胺盐；或与赖氨酸、精氨酸、鸟氨酸形成酯后再与盐酸、氢溴酸、氢氟酸、硫酸、硝酸、磷酸形成对应的无机酸盐，与甲酸、乙酸、苦味酸、甲磺酸、乙磺酸形成对应的有机酸盐。

9、权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物或水合物的制备方法，其特征在于，其步骤包括：

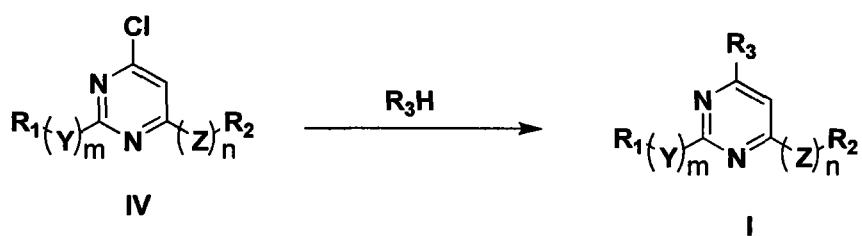
(1) 化合物(II)和 $R_2(Z)_nH$ 在碱的有机溶剂中反应，得化合物(III)；



(2)化合物(III)和 $R_1(Y)_mH$ 在碱的有机溶剂溶液中回流，得化合物(IV)；



(3) 化合物(IV)和化合物 R_3H 在有机溶剂中反应, 得目标化合物(I);



其中， R_1 、 R_2 、 R_3 、Y、Z、m和n的定义同权利要求1；

其中，所述的有机溶剂为四氢呋喃、乙醚、二甲基甲酰胺、乙二醇二甲醚、乙二醇二乙醚、二氧六环、乙醇、甲醇或乙酸乙酯；所述

的碱为有机碱或无机碱，其中有机碱为吡啶、三乙胺、4-二甲胺基吡啶或二异丙基乙胺，无机碱为碳酸钠、碳酸钾、氢氧化钠、甲醇钠或氢氧化钾。

10、一种用于治疗和预防白三烯相关疾病的药物组合物，其特征在于，该药物组合物包含治疗有效量的通式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物或水合物以及药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

11、根据权利要求 10 所述的药物组合物，其特征在于，其中通式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物或水合物作为活性成分占该组合物总重量比 1-99%。

12、根据权利要求 11 所述的药物组合物，其特征在于，所述药物组合物制备成的制剂的单位剂量中包含 0.05mg-200mg 通式(I)化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物或水合物。

13、根据权利要求 12 所述的药物组合物，其特征在于，所述药物组合物制备成的制剂的单位剂量中包含 0.1mg-100mg 通式(I)化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物或水合物。

14、权利要求 1 所述的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物或水合物在制备作为 5-LOX 抑制剂的药物中的用途。

15、权利要求 1 所述的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物或水合物在制备作为 5-LOX 抑制剂的实验模型工具药中的用途。

16、权利要求 1 所述的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物或水合物在制备用于治疗和预防白三烯相关疾病的药物中的应用。

一类 5-脂氧酶抑制剂及其制备方法、药物组合物和应用

技术领域

本发明涉及药物化学领域，尤其涉及与用于治疗白三烯类物质相关的疾病的 5-脂氧酶抑制剂。更具体而言，本发明涉及一类新型的可抑制 5-脂氧酶的具有嘧啶结构的通式(I)的化合物及其制备方法；本发明还涉及包含此类化合物的药物组合物，以及该化合物及其药物组合物在制备预防和治疗 5-脂氧酶代谢通路相关的疾病的药物中的应用。

背景技术

5-脂氧酶(5-LOX)是花生四烯酸(AA)代谢产生生物活性的白三烯类物质(LTs)过程中的一个关键的酶。白三烯类物质能引起肺收缩、肺黏液分泌，增加血管渗透性，不仅是一个冠状动脉的强效收缩剂，而且也具有前炎症介质的功能，它主要是作为粒性白细胞的化学趋化剂和化学激动剂。基于这些特性，白三烯类物质通常当作是强效的介质，在哮喘、炎症反应，在血管疾病方面，包括：动脉粥样硬化、心肌梗塞、中风以及细胞增殖特别是前列腺癌和胰腺癌细胞存活方面起着关键的作用。近年来也有研究表明，5-LOX 在促进动脉粥样硬化过程中也起着非常重要的作用。因此，开发 5-LOX 抑制剂可以用于治疗哮喘、动脉粥样硬化、癌症、中风、骨质疏松症、各种变态反应，以及其他炎症疾病等等。

在过去的 20 年里，人们开发了大量的不同类型的、强效抑制白三烯类物质生成的 5-脂氧酶抑制剂，如：(1)能够干扰 5-LOX 代谢通路的氧化还原循环通路的氧化还原抑制剂或者抗氧化剂；(2)铁离子螯合剂；(3)能够与 AA 竞争性的与酶活性位点结合的非氧化还原的竞争性抑制

剂。到目前为止，齐留通(Zileuton)是第一个上市的 5-LOX 抑制剂，它是通过铁离子螯合机制用于慢性哮喘的治疗。

尽管目前已报道了的很多关于抑制 5-LOX 的抑制剂，包括具有羟基脲结构片断的化合物、氧肟酸盐类化合物，以及具有芳基醇和芳基羧酸片断的化合物等，但是这些化合物，包括齐留通在内，通常都具有严重的副作用，如具有肝毒性、易形成高铁血红蛋白，以及生物利用度低等缺点。近年来人们对有效、安全的 5-LOX 抑制剂有着强烈的需求，并且在开发 5-LOX 抑制剂方面也付出了很多的努力，但是至今仍然没有其他安全可靠的 5-LOX 抑制剂上市。

发明内容

本发明者通过同源模建的 5-LOX 的三维结构，综合运用计算机辅助药物分子设计、组合化学、分子生物学和结构生物学方法，寻找具有 5-LOX 抑制剂作用的先导化合物，并针对其药理作用进行结构优化，得到了一类结构新颖的、有效的嘧啶类 5-LOX 小分子抑制剂。鉴于此，

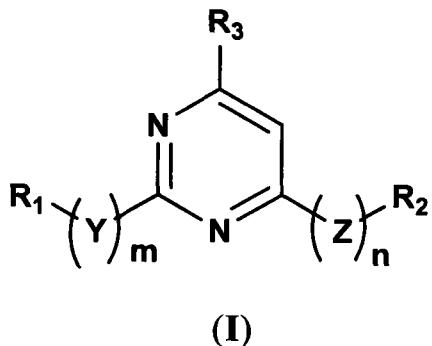
本发明的一个目的是提供结构式如通式(I)的一类化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物或水合物。

本发明的另一个目的是提供上述通式(I)化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物或水合物的制备方法。

本发明再一个目的是提供包含上述通式(I)化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物或水合物的药物组合物。

本发明再一个目的是提供上述通式(I)化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物或水合物作为 5-酯氧酶抑制剂的用途以及在制备预防和治疗 5-酯氧酶代谢通路相关的疾病的药物中的应用。

基于以上目的，本发明涉及如下一类具有通式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物或水合物：



其中：

Y 和 Z 各自独立地为 NH、CH₂、O、S、-(CH₂)_aNH- 或者 -(CH₂)_bO-，
a 和 b 分别为 1~5 的整数；

m 和 n 分别为 0 或 1；

R₁ 和 R₂ 分别为氢、C1-C6 直链或支链的饱和或不饱和烃基、饱和或不饱和 C3-C7 环烷烃基、芳香基或 5-7 元杂环基；

R₃ 为氢、卤素、C1-C6 直链或支链的饱和或不饱和烃基、氰基、硝基、肼基、氨基、羟基、羟甲基、三氟甲基、三氟甲氧基、羧基、C1-C4 烷氧基、巯基、C1-C4 酰基、C3-C7 环烃基、苄基、芳香基或 5-7 元杂环基；

所述的卤素为氟、氯、溴或碘；

所述的芳香基是苯基、取代苯基、萘基、联苯基或含有 1-3 个选自氧、硫和氮的杂原子的 5-7 元芳杂环基；其中所述的取代苯基包括 1~4 个取代基，该取代基选自卤素、C1-C6 直链或支链烃基、氰基、硝基、氨基、羟基、羟甲基、三氟甲基、三氟甲氧基、羧基、C1-C4 烷氧基、巯基、甲磺酰基、胺磺酰基和 C1-C4 酰基之中；

所述的 5-7 元杂环基含有 1-3 个选自氧、硫和氮的杂原子，并可含有一个或多个选自卤素、C1-C6 直链或支链烃基、氰基、硝基、氨基、羟基、羟甲基、三氟甲基、三氟甲氧基、羧基、C1-C4 烷氧基、巯基、C1-C4 酰基和芳香基的取代基。

优选地，通式(I)中：上述的 R₁ 和 R₂ 分别为 C1-C6 直链或支链的饱和或不饱和烃基、饱和或不饱和 C3-C7 环烷烃基、芳香基或 5-7 元杂环基；R₃ 为氢、卤素、肼基、C3-C7 环烃基、芳香基或 5-7 元杂环基；所述的芳香基是苯基、取代苯基、萘基、联苯基或含有 1-3 个选自氧、硫和氮的杂原子的 5-7 元芳杂环；其中所述的取代苯基包括 1~4 个取代基基，该取代基选自卤素、C1-C6 直链或支链烃基、氟基、硝基、氨基、羟基、羟甲基、三氟甲基、三氟甲氧基、羧基、C1-C4 烷氧基、巯基、甲磺酰基、胺磺酰基和 C1-C4 酰基之中；所述的 5-7 元杂环基含有 1-3 个选自氧、硫和氮的杂原子，并可含有一个或多个选自卤素、C1-C6 直链或支链烃基、氟基、硝基、氨基、羟基、羟甲基、三氟甲基、三氟甲氧基、羧基、C1-C4 烷氧基、巯基、C1-C4 酰基和芳香基的取代基。

本发明提供的通式(I)化合物的药学上可接受的盐，具体地可列举与丙酸、草酸、丙二酸、琥珀酸、富马酸、马来酸、乳酸、苹果酸、酒石酸或柠檬酸等有机酸或天冬氨酸、谷氨酸等酸性氨基酸形成酯后再与无机碱形成的盐，如钠、钾、钙、铝盐和铵盐；或与有机碱形成的盐，如甲胺盐、乙胺盐、乙醇胺盐等；或与赖氨酸、精氨酸、鸟氨酸等碱性氨基酸形成酯后的盐酸、氢溴酸、氢氟酸、硫酸、硝酸、磷酸等无机酸的盐，或与甲酸、乙酸、苦味酸、甲磺酸、乙磺酸等有机酸的盐。

本发明提供的通式(I)化合物的溶剂合物或水合物，具体地可列举与水、甲醇、乙醇、丙醇等成水合物或溶剂合物。

本发明结构通式(I)所示化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物或水合物的一个优选实施方案是：通式(I)中，

Y 和 Z 均为 NH；

m 和 n 分别为 1;

R₃ 为吗啉基、哌嗪基或 N-甲基哌嗪基;

R₁ 和 R₂ 分别为 C1-C6 直链或支链的饱和或不饱和烃基、饱和或不饱和 C3-C7 环烷烃基、芳香基或 5-7 元杂环基，所述芳香基和 5-7 元杂环基的定义同上。

本发明结构通式(I)所示化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物或水合物的又一个优选实施方案是：通式(I)中，

m 和 n 分别为 0;

R₃ 为吗啉基、哌嗪基或者 N-甲基哌嗪基;

R₁ 和 R₂ 分别为 C1-C6 直链或支链的饱和或不饱和烃基、饱和或不饱和 C3-C7 环烷烃基、芳香基或 5-7 元杂环基，所述芳香基和 5-7 元杂环基的定义同上。

本发明结构通式(I)所示化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物或水合物的另一个优选实施方案是：通式(I)中，

Y 和 Z 分别为 -(CH₂)_aNH-, 其中 a 为 1;

m 和 n 分别为 1;

R₃ 为吗啉基、哌嗪基或者 N-甲基哌嗪基;

R₁ 和 R₂ 分别为 C1-C6 直链或支链的饱和或不饱和烃基、饱和或不饱和 C3-C7 环烷烃基、芳香基或 5-7 元杂环基，所述芳香基和 5-7 元杂环基的定义同上。

本发明结构通式(I)所示化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物或水合物的再一个优选实施方案是：通式(I)中，

Y 和 Z 分别为 -(CH₂)_bO-, 其中 b 为 1;

m 和 n 分别为 1;

R₃ 为吗啉基、哌嗪基或者 N-甲基哌嗪基;

R_1 和 R_2 分别为 C1-C6 直链或支链的饱和或不饱和烃基、饱和或不饱和 C3-C7 环烷烃基、芳香基或 5-7 元杂环基，所述芳香基和 5-7 元杂环基的定义同上。

本发明的具体优选实施方案选自下列化合物：

N^2,N^4 -二(4-甲氧基苯基)-6-(4-甲基哌嗪-1-基)嘧啶-2,4-二胺，
 N^2,N^4 -二(4-甲氧基苯基)-6-(哌嗪-1-基)嘧啶-2,4-二胺，
 N^2,N^4 -二(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基嘧啶-2,4-二胺，
 N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-(4-甲基哌嗪-1-基)- N^2 -苯基嘧啶-2,4-二胺，
 N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-(哌嗪-1-基)- N^2 -苯基嘧啶-2,4-二胺，
 N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基- N^2 -苯基嘧啶-2,4-二胺，
 N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-(4-甲基哌嗪-1-基)- N^2 -对甲基苯基嘧啶-2,4-二胺，
 N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-(哌嗪-1-基)- N^2 -对甲基苯基嘧啶-2,4-二胺，
 N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基- N^2 -对甲基苯基嘧啶-2,4-二胺，
 N -(4-甲氧基苯基)-2,6-二吗啉基嘧啶-4-胺，
6-((E)-2-(3,5-二叔丁基-4-羟基苄烯基)肼基)- N -(4-甲氧基苯基)-2-吗啉基嘧啶-4-胺，
 N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基- N^2 -对甲基苄基嘧啶-2,4-二胺，
2-甲氧基- N -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基嘧啶-4-胺，
 N^2 -(4-氯苯基)- N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基嘧啶-2,4-二胺，
 N^2 -(4-硝基苯基)- N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基嘧啶-2,4-二胺
 N^2 -(4-氟苯基)- N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基嘧啶-2,4-二胺
 N^2 -(4-氰基苯基)- N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基嘧啶-2,4-二胺
 N^2 -(4-氟基苯基)- N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-哌嗪基嘧啶-2,4-二胺，
 N^2 -(4-胺磺酰基苯基)- N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基嘧啶-2,4-二胺，

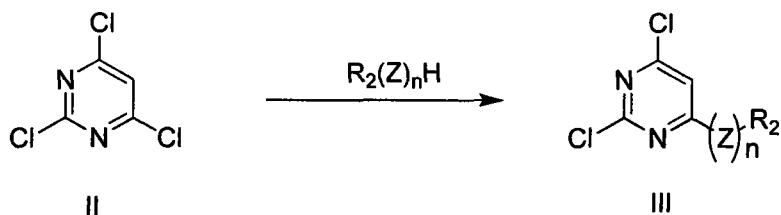
N^2 -(4-甲磺酰基苯基)- N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基嘧啶-2,4-二胺，
 2-(4-甲氧基苯氧基)-N-(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基嘧啶-4-胺，
 N-(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基-2-苯氧基嘧啶-4-胺，
 N-(4-甲氧基苯基)-2-(4-甲氧基苯基疏基)-6-吗啉基-嘧啶-4-胺，
 N-(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基-2-苯基嘧啶-4-胺，
 N^2 -(4-甲氧基苯基)- N^4 -(4-甲磺酰基苯基)-6-吗啉基嘧啶-2,4-二胺，
 N^2 -(4-甲氧基苯基)- N^4 -(4-甲磺酰基苯基)-6-哌嗪基嘧啶-2,4-二胺，
 N^2 -(4-甲氧基苯基)- N^4 -(4-甲磺酰基苯基)-6-(4-甲基哌嗪-1-基)嘧啶
 -2,4-二胺，
 N^2 -(4-甲氧基苯基)- N^4 -(4-胺磺酰基苯基)-6-吗啉基嘧啶-2,4-二胺，
 N^2 -(4-甲氧基苯基)- N^4 -(4-胺磺酰基苯基)-6-哌嗪基嘧啶-2,4-二胺，
 或
 N^2 -(4-甲氧基苯基)- N^4 -(4-胺磺酰基苯基)-6-(4-甲基哌嗪-1-基)嘧啶
 -2,4-二胺。

本发明提供结构通式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物或水合物的制备方法；其中，Y和Z各自独立地为NH、CH₂、O、S、-(CH₂)_aNH-或者-(CH₂)_bO-，a和b分别为1~5的整数；m和n分别为0或1；R₁和R₂分别为氢、C1-C6直链或支链的饱和或不饱和烃基、饱和或不饱和C3-C7环烷烃基、芳香基或5-7元杂环基；R₃为氢、卤素、C1-C6直链或支链的饱和或不饱和烃基、氰基、硝基、肼基、氨基、羟基、羟甲基、三氟甲基、三氟甲氧基、羧基、C1-C4烷氧基、巯基、C1-C4酰基、C3-C7环烃基、苄基、芳香基或5-7元杂环基；所述的卤素为氟、氯、溴或碘；所述的芳香基是苯基、取代苯基、萘基、联苯基或含有1-3个选自氧、硫和氮的杂原子的5-7元芳杂环基；其中所述的取代苯基包括1~4个取代基，该取代基选自卤素、C1-C6直链或支

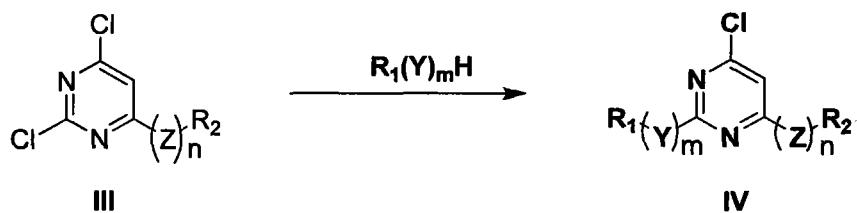
链烃基、氰基、硝基、氨基、羟基、羟甲基、三氟甲基、三氟甲氧基、羧基、C1-C4 烷氧基、巯基、甲磺酰基、胺磺酰基和 C1-C4 酰基之中；所述的 5-7 元杂环基含有 1-3 个选自氧、硫和氮的杂原子，并含有一个或多个选自卤素、C1-C6 直链或支链烃基、氰基、硝基、氨基、羟基、羟甲基、三氟甲基、三氟甲氧基、羧基、C1-C4 烷氧基、巯基、C1-C4 酰基和芳香基的取代基。

制备方法:

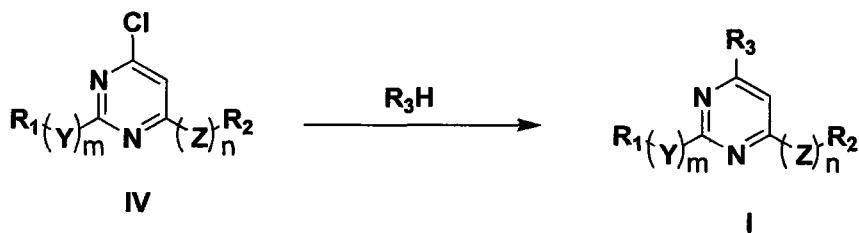
(1) 化合物(II)和 $R_2(Z)_nH$ 在碱的有机溶剂中反应，得化合物(III)；



(2)化合物(III)和 $R_1(Y)_mH$ 在碱的有机溶剂溶液中回流12~20小时,得化合物(IV);



(3) 化合物(IV)和化合物 R_3H 在有机溶剂中反应，得目标化合物(I)；



其中，如上所述的有机溶剂为四氢呋喃、乙醚、二甲基甲酰胺、乙二醇二甲醚、乙二醇二乙醚、二氧六环、乙醇、甲醇或乙酸乙酯；所述的碱为有机碱或无机碱，其中有机碱为吡啶、三乙胺、4-二甲胺基吡啶(DMAP)或二异丙基乙胺，无机碱为碳酸钠、碳酸钾、氢氧化钠、

甲醇钠或氢氧化钾；

另外，本发明人通过实验发现通式(I)化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物或水合物具有优越的 5-LOX 抑制活性，本发明提供的化合物将成为治疗与 5-LOX 和白三烯相关的疾病的强效的新化学实体，可用于制备 5-酯氧酶抑制剂、5-酯氧酶抑制剂的实验模型工具药或制备用于治疗和预防白三烯相关疾病的药物。

本发明的药物组合物含有治疗有效量的上述通式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物或水合物以及含有一种或多种药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。该药用组合物还可以进一步包含气味剂、香味剂等。

本发明所提供的药物组合物优选含有重量比为 1-99% 的活性成份，其理想的比例是，通式(I)化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物或水合物作为活性成分占总重量比 65% ~ 99%，其余部分为药学可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

本发明所提供的化合物和药物组合物可以是多种形式，如片剂、胶囊、粉剂、糖浆、溶液状、悬浮液和气雾剂等，并可以存在于适宜的固体或液体的载体或稀释液中和适宜的用于注射或滴注的消毒器皿中。

本发明的药物组合物的各种剂型可按照药学领域的常规制备方法制备。其制剂配方的单位计量中包含 0.05-200mg 通式(I)化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物或水合物，优选地，制剂配方的单位计量中包含 0.1mg-100mg 通式(I)化合物或其药学上可接受的盐、溶剂合物或水合物。

本发明的化合物和药物组合物可对哺乳动物临床使用，包括人和动物，可以通过口、鼻、皮肤、肺、或者胃肠道等的给药途径。最优

选为口服。最佳优选日剂量为 0.01-200 mg/kg 体重，一次性服用，或 0.01-100 mg/kg 体重分次服用。不管用何种服用方法，个人的最佳剂量应依据具体的治疗而定。通常情况下是从小剂量开始，逐渐增加剂量一直到找到最适合的剂量。

具体实施方式

在以下的实施例中将进一步举例说明本发明。这些实施例仅用于说明本发明，但不以任何方式限制本发明。实施例中的所有参数以及其余的说明，除另有说明外，都是以质量为说明依据的。

实施例 1 2,6-二氯-N-(4-甲氧基苯基) 嘧啶-4-胺的制备

将 1g(5.5mmol)2,4,6-三氯嘧啶溶入 25 mL 无水乙醇中，加入 0.64 g(6.0 mmol)无水碳酸钠和 0.62 g(6.6 mmol)对甲氧基苯胺，搅拌并加热回流 1.5 小时。冷却至室温，加入 25 mL 水，析出沉淀，并用大量的水洗，真空干燥过夜，得灰色粉末产物。用无水乙醇重结晶得纯品。收率 90%。Mp 160-161°C; ^1H NMR (CDCl_3): δ 3.84 (s, 3H), 6.36 (s, 1H), 6.96 (d, 2H), 7.2 (d, 2H), 7.37 (br, 1H); LRMS (EI) m/z 269 (M^+)。

实施例 2 6-氯- N^2,N^4 -二(4-甲氧基苯基) 嘧啶-2,4-二胺的制备

将 0.27 g (1 mmol) 2,6-二氯-N-(4-甲氧基苯基) 嘧啶-4-胺溶入 25 mL 二氯六环溶液中，加入 0.22 g (2 mmol) 无水碳酸钠和 3.3 mmol 的对甲氧基苯胺，加热回流 48 小时，TLC 检测反应。冷却至室温，加水，用乙酸乙酯萃取($20 \text{ mL} \times 3$)，合并有机层， MgSO_4 干燥，过滤，蒸干，得残余物，硅胶柱分离得产物。

实施例 3 N^2,N^4 -二(4-甲氧基苯基)-6-(4-甲基哌嗪-1-基)嘧啶-2,4-二胺 (1a) 的制备

在 50 mL 茄形瓶中加入 0.2 g 6-氯- N^2,N^4 -二(4-甲氧基苯基) 嘧啶

-2,4-二胺和10 mL *N*-甲基哌嗪，加热回流过夜。冷却至室温，加水，用乙酸乙酯萃取(20 mL × 3)，合并有机层，并分别用水(20 mL×1)、饱和NaCl水溶液洗涤(20 mL×1)，MgSO₄干燥，过滤，蒸干，得残余物。Esco快速制备分离色谱(PE/EA = 4/1)纯化，得终产物 *N²,N⁴-二(4-甲氧基苯基)-6-(4-甲基哌嗪-1-基)嘧啶-2,4-二胺。收率：83%。Mp 156-157°C；¹H NMR (300 Hz, DMSO-*d*₆)：δ 2.20 (s, 3H), 3.36 (m, 4H), 3.44 (m, 4H), 3.71 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 5.39 (s, 1H), 6.82 (d, 2H), 6.85 (d, 2H), 7.48 (d, 2H), 7.58 (d, 2H)；LRMS (EI) *m/z* 420 (M⁺)；HRMS (EI) *m/z* 计算值 C₂₃H₂₈N₆O₂ (M⁺) 420.2274，实测值 420.2265。*

实施例 4 *N²,N⁴-二(4-甲氧基苯基)-6-(哌嗪-1-基)嘧啶-2,4-二胺 (1b) 的制备*

将 *N*-甲基哌嗪替换成哌嗪，其余所需原料、试剂及制备方法同实施例 3，得产物 *N²,N⁴-二(4-甲氧基苯基)-6-(哌嗪-1-基)嘧啶-2,4-二胺。收率：26%。Mp 189-190°C；¹H NMR (300 Hz, DMSO-*d*₆)：δ 2.73 (m, 4H), 3.39 (m, 4H), 3.71 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 5.37 (s, 1H), 6.82 (d, 2H), 6.85 (d, 2H), 7.49 (d, 2H), 7.59 (d, 2H)；LRMS (EI) *m/z* 406 (M⁺)；HRMS (EI) *m/z* 计算值 C₂₂H₂₆N₆O₂ (M⁺) 406.2117，实测值 406.2120。*

实施例 5 *N²,N⁴-二(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基嘧啶-2,4-二胺 (1c) 的制备*

将 *N*-甲基哌嗪替换成吗啡啉，其余所需原料、试剂及制备方法同实施例 3，得产物 *N²,N⁴-二(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基嘧啶-2,4-二胺。收率：25%。Mp 168-169°C；¹H NMR (300 Hz, DMSO-*d*₆)：δ 3.41 (m, 4H), 3.68 (m, 4H), 3.71 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 5.39 (s, 1H), 6.81 (d, 2H), 6.85 (d, 2H), 7.49 (d, 2H), 7.59 (d, 2H)；LRMS (EI) *m/z* 407 (M⁺)；HRMS (EI) *m/z* 计算值 C₂₂H₂₅N₅O₃ (M⁺) 407.1957，实测值 407.1957。*

实施例 6 N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-(4-甲基哌嗪-1-基)- N^2 -苯基嘧啶-2,4-二胺的制备(2a)

将对甲氧基苯胺替换成苯胺，其余所需原料、试剂及制备方法同实施例2和实施例3，得产物 N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-(4-甲基哌嗪-1-基)- N^2 -苯基嘧啶-2,4-二胺。收率：30%。Mp 191-192°C; 1 H NMR (300 Hz, CDCl₃): δ 2.32 (s, 3H), 2.44 (m, 4H), 3.53 (m, 4H), 3.82 (s, 3H), 5.30 (s, 1H), 6.34 (br, 1H), 6.77 (br, 1H), 6.90 (d, 2H), 6.96 (m, 1H); 7.23 (d, 2H), 7.27 (m, 1H), 7.56 (d, 2H); LRMS (EI) *m/z* 390 (M⁺); HRMS (EI) *m/z* 计算值 C₂₂H₂₆N₆O (M⁺) 390.2168, 实测值 390.2170。

实施例 7 N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-(哌嗪-1-基)- N^2 -苯基嘧啶-2,4-二胺的制备(2b)

将 *N*-甲基哌嗪替换成哌嗪，其余所需原料、试剂及制备方法同实施例6，得产物 N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-(哌嗪-1-基)- N^2 -苯基嘧啶-2,4-二胺。收率：25%。Mp 208-209°C; 1 H NMR (300 Hz, DMSO-d₆): δ 2.73 (m, 4H), 3.37 (m, 4H), 3.72 (s, 3H), 5.40 (s, 1H), 6.86 (m, 3H), 7.20 (m, 2H), 7.48 (d, 2H), 7.71 (d, 2H); LRMS (EI) *m/z* 376 (M⁺); HRMS (EI) *m/z* 计算值 C₂₁H₂₄N₆O (M⁺) 376.2012, 实测值 376.2010。

实施例 8 N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基- N^2 -苯基嘧啶-2,4-二胺的制备(2c)

将 *N*-甲基哌嗪替换成吗啡啉，其余所需原料、试剂及制备方法同实施例6，得产物 N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基- N^2 -苯基嘧啶-2,4-二胺。收率：28%。Mp 196-197°C; 1 H NMR (300 Hz, CDCl₃): δ 3.47 (m, 4H), 3.73 (m, 4H), 3.82 (s, 3H), 5.26 (s, 1H), 6.40 (br, 1H), 6.85 (m, 1H), 6.89 (d, 2H), 6.97 (m, 1H), 7.21 (m, 2H), 7.29 (d, 1H), 7.55 (d, 2H); LRMS (EI) *m/z* 377 (M⁺); HRMS (EI) *m/z* 计算值 C₂₁H₂₃N₅O₂ (M⁺) 377.1852, 实测

值 377.1859。

**实施例 9 N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-(4-甲基哌嗪-1-基)- N^2 -对甲基苯基
嘧啶-2,4-二胺的制备(3a)**

将对甲氧基苯胺替换成对甲基苯胺，其余所需原料、试剂及制备方法同实施例 2 和实施例 3，得产物 N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-(4-甲基哌嗪-1-基)- N^2 -对甲基苯基嘧啶-2,4-二胺。收率：26%。Mp 183-184°C；¹H NMR (300 Hz, DMSO-*d*₆)：δ 2.21 (s, 3H), 2.23 (s, 3H), 2.37 (m, 4H), 3.45 (m, 4H), 3.73 (s, 3H), 5.41 (s, 1H), 6.85 (d, 2H), 7.02 (d, 2H), 7.49 (d, 2H), 7.58 (d, 2H)；LRMS (EI) *m/z* 404 (M⁺)；HRMS (EI) *m/z* 计算值 C₂₃H₂₈N₆O (M⁺) 404.2325，实测值 404.2328。

实施例 10 N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-(哌嗪-1-基)- N^2 -对甲基苯基嘧啶-2,4-二胺的制备(3b)

将 *N*-甲基哌嗪替换成哌嗪，其余所需原料、试剂及制备方法同实施例 9，得产物 N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-(哌嗪-1-基)- N^2 -对甲基苯基嘧啶-2,4-二胺。收率：24%。Mp 176-177°C；¹H NMR (300 Hz, DMSO-*d*₆)：δ 2.23 (s, 3H), 2.73 (m, 4H), 3.39 (m, 4H), 3.73 (s, 3H), 5.39 (s, 1H), 6.86 (d, 2H), 7.02 (d, 2H), 7.50 (d, 2H), 7.58 (d, 2H)；LRMS (EI) *m/z* 390 (M⁺)；HRMS (EI) *m/z* 计算值 C₂₂H₂₆N₆O (M⁺) 390.2168，实测值 390.2165。

实施例 11 N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基- N^2 -对甲基苯基嘧啶-2,4-二胺的制备(3c)

将 *N*-甲基哌嗪替换成吗啡啉，其余所需原料、试剂及制备方法同实施例 9，得产物 N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基- N^2 -对甲基苯基嘧啶-2,4-二胺。收率：28%。Mp 220-221°C；¹H NMR (300 Hz, DMSO-*d*₆)：δ 2.23 (s, 3H), 3.42 (m, 4H), 3.66 (m, 4H), 3.73 (s, 3H), 5.41 (s, 1H), 6.85 (d, 2H), 7.02 (d, 2H), 7.50 (d, 2H), 7.57 (d, 2H)；LRMS (EI) *m/z* 391 (M⁺)；HRMS

(EI) m/z 计算值 $C_{22}H_{25}N_5O_2 (M^+)$ 391.2008, 实测值 391.2016。

实施例 12 N -(4-甲氧基苯基)-2,6-二吗啉基嘧啶-4-胺的制备 (4a)

将 0.27 g (1 mmol) 2,6-二氯- N -(4-甲氧基苯基) 嘧啶-4-胺溶入 10 mL 吗啡啉溶液中, 加热回流 4 小时, 停止反应, 冷却至室温。加水, 用乙酸乙酯萃取(20 mL × 3), 合并有机层, 并分别用水(20 mL×1)、饱和 NaCl 水溶液洗涤(20 mL×1), $MgSO_4$ 干燥, 过滤, 蒸干, 得残余物。Esco 快速制备分离色谱(PE/EA = 1/1)纯化, 得终产物 N -(4-甲氧基苯基)-2,6-二吗啉基嘧啶-4-胺。收率: 73%。Mp 198-199°C; 1H NMR (300 Hz, DMSO- d_6): δ 3.43 (m, 4H), 3.71 (m, 12H), 3.81 (s, 3H), 5.16 (s, 1H), 6.88 (d, 2H), 7.19 (d, 2H); LRMS (EI) m/z 371 (M^+); HRMS (EI) m/z 计算值 $C_{19}H_{25}N_5O_3 (M^+)$ 371.1957, 实测值 371.1962

实施例 13 6-((E)-2-(3,5-二叔丁基-4-羟基苄烯基)肼基)- N -(4-甲氧基苯基)-2-吗啉基嘧啶-4-胺的制备(4b)

将 0.27 g (1 mmol) 2,6-二氯- N -(4-甲氧基苯基) 嘧啶-4-胺溶入 10 mL 二氯六环溶液中, 加入 0.22 g (2 mmol) 无水碳酸钠和 0.087 mL(1 mmol) 吗啡啉, 加热回流过夜, 停止反应, 冷却至室温。加水, 用乙酸乙酯萃取(20 mL × 3), 合并有机层, 并分别用水(20 mL×1)、饱和 NaCl 水溶液洗涤(20 mL×1), $MgSO_4$ 干燥, 过滤, 蒸干, 得残余物。Esco 快速制备分离色谱(PE/EA = 4/1)纯化, 得中间体 6-氯- N -(4-甲氧基)-2-吗啉基嘧啶-4-胺。

将上述反应得到的 6-氯- N -(4-甲氧基)-2-吗啉基嘧啶-4-胺溶入 5 mL 水合肼中, 然后加热回流 6 小时。蒸除溶剂, 得残余物。不经进一步纯化, 直接溶入 20 mL 无水乙醇中, 加入 3,5-二-叔丁基-4-羟基苯甲醛(2 mmol), 回流过夜, 蒸除溶剂, 用 Esco 快速制备分离色谱(PE/EA = 4/1)纯化, 得终产物 6-((E)-2-(3,5-二叔丁基-4-羟基苄烯基)肼基)- N -(4-

甲氧基苯基)-2-吗啉基嘧啶-4-胺。Mp 230-232°C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 1.44 (s, 18H), 3.74 (s, 8H), 3.82 (s, 3H), 5.99 (s, 1H), 6.89 (d, 2H), 7.26 (d, 2H), 7.40 (s, 2H), 7.60 (s, 1H); LRMS (EI) m/z 532 (M^+); HRMS (EI) m/z 计算值 $\text{C}_{30}\text{H}_{40}\text{N}_6\text{O}_3$ (M^+) 532.3162, 实测值 532.3161。

实施例 14 N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基- N^2 -对甲基苄基嘧啶-2,4-二胺的制备(5)

将对甲氧基苯胺替换成对甲基苄胺，其余所需原料、试剂及制备方法同实施例 2 和实施例 5，得产物 N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基- N^2 -对甲基苄基嘧啶-2,4-二胺。收率：48%。Mp 135-137°C; ^1H NMR (300 Hz, $\text{DMSO}-d_6$): 3.34 (m, 4H), 3.60 (m, 4H), 3.69 (s, 3H), 4.40 (m, 2H), 5.24 (s, 1H), 6.78 (d, 2H), 7.30 (m, 7H), 8.50 (s, 1H); LRMS (EI) m/z 391 (M^+); HRMS (EI) m/z 计算值 $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{O}_2$ (M^+) 391.2008, 实测值 391.2000。

实施例 15 2-甲氧基- N -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基嘧啶-4-胺的制备(6)

将对甲氧基苯胺替换成对甲醇钠，其余所需原料、试剂及制备方法同实施例 2 和实施例 5，得产物 2-甲氧基- N -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基嘧啶-4-胺。收率：45%。Mp 157-159°C; ^1H NMR (300 Hz, $\text{DMSO}-d_6$): 3.39 (m, 4H), 3.64 (m, 4H), 3.71 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 5.52 (s, 1H), 6.86 (d, 2H), 7.43 (d, 2H), 8.90 (s, 1H); LRMS (EI) m/z 316 (M^+); HRMS (EI) m/z 计算值 $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_3$ (M^+) 316.1535, 实测值 316.1534。

实施例 16 2,4,6-三吗啉基嘧啶的制备(7)

将对甲氧基苯胺替换成吗啉，其余所需原料、试剂及制备方法同实施例 1，得产物 2, 4, 6-三吗啉基嘧啶。

实施例 17 N^2 -(4-氯苯基)- N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基嘧啶-2,4-二胺的制备

将对甲氧基苯胺替换成对 4-氯苯胺，其余所需原料、试剂及制备方法同实施例 2 和实施例 3，得产物 N^2 -(4-氯苯基)- N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基嘧啶-2,4-二胺。

实施例 18 N^2 -(4-硝基苯基)- N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基嘧啶-2,4-二胺的制备

将对甲氧基苯胺替换成对 4-硝基苯胺，其余所需原料、试剂及制备方法同实施例 2 和实施例 5，得产物 N^2 -(4-硝基苯基)- N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基嘧啶-2,4-二胺。

实施例 19 N^2 -(4-氟苯基)- N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基嘧啶-2,4-二胺的制备

将对甲氧基苯胺替换成对 4-氟苯胺，其余所需原料、试剂及制备方法同实施例 2 和实施例 5，得产物 N^2 -(4-氟苯基)- N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基嘧啶-2,4-二胺。

实施例 20 N^2 -(4-氰基苯基)- N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基嘧啶-2,4-二胺的制备

将对甲氧基苯胺替换成对 4-氰基苯胺，其余所需原料、试剂及制备方法同实施例 2 和实施例 5，得产物 N^2 -(4-氰基苯基)- N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基嘧啶-2,4-二胺。

实施例 21 N^2 -(4-氟基苯基)- N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-哌嗪基嘧啶-2,4-二胺的制备

将对甲氧基苯胺替换成对 4-氟基苯胺，其余所需原料、试剂及制备方法同实施例 2 和实施例 4，得产物 N^2 -(4-氟基苯基)- N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-哌嗪基嘧啶-2,4-二胺。

实施例 22 N^2 -(4-胺磺酰基苯基)- N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基嘧啶-2,4-二胺的制备

将对甲氧基苯胺替换成对 4-胺磺酰基苯胺，其余所需原料、试剂及制备方法同实施例 2 和实施例 5，得产物 N^2 -(4-胺磺酰基苯基)- N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基嘧啶-2,4-二胺。

实施例 23 N^2 -(4-甲磺酰基苯基)- N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基嘧啶-2,4-二胺的制备

将对甲氧基苯胺替换成对 4-甲磺酰基苯胺，其余所需原料、试剂及制备方法同实施例 2 和实施例 5，得产物 N^2 -(4-甲磺酰基苯基)- N^4 -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基嘧啶-2,4-二胺。

实施例 24 N^2 -(4-甲氧基苯基)- N^4 -(4-甲磺酰基苯基)-6-吗啉基嘧啶-2,4-二胺的制备

将实施例 1 中的对甲氧基苯胺替换成对 4-甲磺酰基苯胺，其余所需原料、试剂及制备方法同实施例 2 和实施例 5，得产物 N^2 -(4-甲氧基苯基)- N^4 -(4-甲磺酰基苯基)-6-吗啉基嘧啶-2,4-二胺。

实施例 25 N^2 -(4-甲氧基苯基)- N^4 -(4-甲磺酰基苯基)-6-哌嗪基嘧啶-2,4-二胺的制备

将实施例 1 中的对甲氧基苯胺替换成对 4-甲磺酰基苯胺，其余所需原料、试剂及制备方法同实施例 2 和实施例 4，得产物 N^2 -(4-甲氧基苯基)- N^4 -(4-甲磺酰基苯基)-6-哌嗪基嘧啶-2,4-二胺。

实施例 26 N^2 -(4-甲氧基苯基)- N^4 -(4-甲磺酰基苯基)-6-(4-甲基哌嗪-1-基)嘧啶-2,4-二胺的制备

将实施例 1 中的对甲氧基苯胺替换成对 4-甲磺酰基苯胺，其余所需原料、试剂及制备方法同实施例 2 和实施例 3，得产物 N^2 -(4-甲氧基苯基)- N^4 -(4-甲磺酰基苯基)-6-哌嗪基嘧啶-2,4-二胺。

实施例 27 N^2 -(4-甲氧基苯基)- N^4 -(4-胺磺酰基苯基)-6-吗啉基嘧啶-2,4-二胺的制备

将实施例 1 中的对甲氧基苯胺替换成对 4-胺磺酰基苯胺，其余所需原料、试剂及制备方法同实施例 2 和实施例 5，得产物 N^2 -(4-甲氧基苯基)- N^4 -(4-胺磺酰基苯基)-6-吗啉基嘧啶-2,4-二胺。

实施例 28 N^2 -(4-甲氧基苯基)- N^4 -(4-胺磺酰基苯基)-6-哌嗪基嘧啶-2,4-二胺的制备

将实施例 1 中的对甲氧基苯胺替换成对 4-胺磺酰基苯胺，其余所需原料、试剂及制备方法同实施例 2 和实施例 4，得产物 N^2 -(4-甲氧基苯基)- N^4 -(4-胺磺酰基苯基)-6-哌嗪基嘧啶-2,4-二胺。

实施例 29 N^2 -(4-甲氧基苯基)- N^4 -(4-胺磺酰基苯基)-6-(4-甲基哌嗪-1-基)嘧啶-2,4-二胺的制备

将实施例 1 中的对甲氧基苯胺替换成对 4-胺磺酰基苯胺，其余所需原料、试剂及制备方法同实施例 2 和实施例 3，得产物 N^2 -(4-甲氧基苯基)- N^4 -(4-胺磺酰基苯基)-6-哌嗪基嘧啶-2,4-二胺。

实施例 30 2-(4-甲氧基苯氧基)- N -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基嘧啶-4-胺的制备

将对甲氧基苯胺替换成对甲氧基苯酚，其余所需原料、试剂及制备方法同实施例 2 和实施例 5，得产物 2-(4-甲氧基苯氧基)- N -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基嘧啶-4-胺。

实施例 31 N -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基-2-苯氧基嘧啶-4-胺的制备

将对甲氧基苯胺替换成苯酚，其余所需原料、试剂及制备方法同实施例 2 和实施例 5，得产物 N -(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基-2-苯氧基嘧啶-4-胺。

实施例 32 N -(4-甲氧基苯基)-2-(4-甲氧基苯基疏基)-6-吗啉基-嘧啶-4-胺的制备

将对甲氧基苯胺替换成对甲氧基苯硫酚，其余所需原料、试剂及

制备方法同实施例2和实施例5，得产物 *N*-(4-甲氧基苯基)-2-(4-甲氧基苯基疏基)-6-吗啉基-嘧啶-4-胺。

实施例33 *N*-(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基-2-苯基嘧啶-4-胺的制备

将对甲氧基苯胺替换成对苯硼酸，其余所需原料、试剂及制备方法同实施例2和实施例5，得产物 *N*-(4-甲氧基苯基)-6-吗啉基-2-苯基嘧啶-4-胺。

试验实施例

试验实施例1

具有通式(I)结构的化合物对离体大鼠中性粒细胞释放白三烯B4的抑制作用的测试：

白三烯B₄(Leukotriene B₄, LTB₄)是花生四烯酸5-脂氧酶(5-lipoxygenase, 5-LOX)代谢途径的产物之一，参与机体的许多生理病理过程，包括炎症性疾病下的细胞趋化等作用，中性粒细胞是LTB₄的主要合成和释放源。

1、实验材料

1.1 受试药物：本专利申请所述部分化合物。所有化合物均溶于二甲基亚砜(DMSO)。用DMSO溶解后储备浓度均为0.025-0.05M，临用前用Hanks平衡盐缓冲液稀释成相应受试浓度。

1.2 实验试剂：II型糖原(Sigma-Aldrich Co, 10K154)，吲哚美辛(Sigma-Aldrich Co, 061K1368)，钙离子载体A23187(Sigma-Aldrich Co), L-半胱氨酸(上海康达氨基酸厂, 批号: 20030601)。DMSO(Sigma-Aldrich Co), LTB₄ EIA测定试剂盒(Cayman Chemical Company)。

1.3 试验动物：SD大鼠，清洁级，雌雄不拘，体重200±20 g。由浙江大学医学院实验动物中心提供。

1.4 实验仪器：酶标仪(Thermo, Multiskan spectrum), 低温高速离心机(Eppendorf,Germany), 恒温水浴箱, 显微镜等。

2、实验方法

2.1 大鼠白细胞悬液的制备

取正常大鼠，0.2%糖原20 mL/kg进行腹腔注射(ip)，16h后股动脉放血处死大鼠，每只大鼠用Hanks平衡盐缓冲液10 mL进行腹腔灌洗，收集腹腔灌洗液，2000 r/min离心10 min，沉淀细胞加入冷冻蒸馏水5 mL溶解破坏红细胞，1 min后立即加入等体积的1.8%氯化钠溶液，2000r/min离心5 min，沉淀细胞用Hanks平衡盐缓冲液悬浮洗涤2次。台盼蓝排除染色，细胞活性>95%，Wright-Giemsa染色，形态学观察中性粒细胞比例>80%，其余为单核细胞。

2.2 白三烯B₄的生成

用Hanks平衡盐缓冲液将上述收集的细胞调整到 $5 \times 10^6/\text{mL}$ ，按1.0mL分装，37°C孵育10min，依次加入L-半胱氨酸(10mM)，吲哚美辛(1mg/L)以及各受试化合物，37°C孵育30min后，加入钙离子载体A23187(5μM)，37°C继续孵育30min后，立即于4°C、14000 r/min离心5min，上清保存于-70°C备用，保存期不超过7天。反应体系内溶媒(DMSO)终浓度≤0.21%。

2.3 白三烯B₄的测定

根据试剂盒说明，将细胞提取液用商业EIA试剂盒的缓冲液稀释后，加入96孔酶标板，每个化合物设两个浓度(0.5μM, 5μM)，每个浓度两个复孔，每次实验独立重复1次，4°C孵育过夜，次日洗板后加入显色剂，避光反应90min后于412nm处检测吸光度，并根据用标准品建立的标准曲线换算检测样品中LTB₄的含量。

3、统计学分析

应用 Excell 统计软件处理数据，各化合物对中性粒细胞产生 LTB₄ 的抑制率的计算公式为：

$$\text{抑制率} = \frac{(\text{溶媒管浓度} - \text{样品管浓度})}{\text{溶媒管浓度}} \times 100\%$$

根据该公式，得出不同浓度化合物对中性粒细胞产生 LTB₄ 的抑制率。

4、结果

4.1 标准曲线的建立

根据标准品的浓度梯度建立的对数回归方程分别为：

$$Y=-0.1652\ln(X)+1.2031, R^2=0.9808; Y=-0.146\ln(x)+1.0676, R^2=0.9759.$$

4.2 受试化合物对中性粒细胞产生释放 LTB₄ 的抑制率

在中性粒细胞孵育液中加入不同浓度的受试化合物后，对钙离子载体 A23187 刺激下的 LTB₄ 生成产生不同程度的抑制作用。

表1 系列化合物在浓度为 5μM 时对钙离子载体 A23187 刺激下离体大鼠中性粒细胞(PMNL)的 LTB₄ 释放量的抑制作用

编号	抑制率(%)
1a	32.4
1b	29.4
1c	33.2
2a	39.4
2b	30.5
2c	42.2
3a	72.0

3b		94.1
3c		44.7
4a		43.0
4b		39.2
5		58.9
6		44.9
齐留通		45.3

表2 系列化合物对钙离子载体 A23187 刺激下离体大鼠中性粒细胞(PMNL)的 LTB₄释放量的抑制作用的 IC₅₀值

编号	浓度	抑制率(%)	IC ₅₀ (μM)
3b	0.25μM	0.48	0.32
	0.5μM	0.53	
	1.0μM	0.66	
	2.0μM	0.89	
	4.0μM	0.91	
	8.0μM	0.99	
3a	0.25μM	0.13	0.97
	0.5μM	0.40	
	1.0μM	0.56	
	2.0μM	0.73	
	4.0μM	0.79	
	8.0μM	0.98	
5	0.25μM	13.6	0.61

	0.5μM	26.8
	1.0μM	52.7
	2.0μM	54.5
	4.0μM	66.8
	8.0μM	87.9
齐留通	0.25μM	4.62
	0.5μM	15.8
	1.0μM	55.6
	2.0μM	67.7
	4.0μM	77.5
	8.0μM	89.2
		1.48

试验实施例 2

具有通式(I)结构的系列化合物对人全血释放白三烯 $B_4(LTB_4)$ 的抑制作用的测试

1、实验材料

1.1 受试药物：本专利申请所述部分化合物。将所有化合物分别溶于相应体积的 DMSO。得储备浓度 0.05M，临用前用 Hanks 平衡盐缓冲液稀释成相应受试浓度。

1.2 实验试剂：钙离子载体 A23187(Sigma-Aldrich Co)。DMSO(上海凌峰化学试剂有限公司)，齐留通原料药(常州华人化工有限公司)。LTB4 EIA 测定试剂盒(Cayman Chemical Company, Lot No. 143772)。

1.3 实验仪器：酶标仪(TECAN Safire2)，低温高速离心机(Sigma laborzentrifugen)，恒温水浴箱等。

2、实验方法

收集人的新鲜静脉全血于装有肝素的试管中。全血按 0.5 mL 分装，加入各浓度受试化合物，37°C 孵育 15 min；加入钙离子载体 A23187(终浓度为 50 μM)，37°C 继续孵育 15 min 后，立即于 4°C、12000 g 离心 15 分钟，取上清 100 μL，然后加入 400μL 甲醇沉淀蛋白。涡旋、离心；取上清(可保存于-70°C 备用不超过 7 天)。采用 LTB4 EIA 测定试剂盒 (Cayman Chemical Company, 批号为：Lot No. 143772)检测 LTB4。取上清 50μL 加入 96 孔酶标板中，根据试剂盒说明，每个样本设两个复孔，并重复检测两次，4°C 孵育过夜，次日加入显色剂，避光反应 90min 后于 412nm 处检测吸光度。应用 Excell 统计软件处理数据，计算化合物对全血产生 LTB4 的抑制率。应用 Prism4 软件计算各化合物的 IC₅₀。

3、结果

3.1 标准曲线的建立

根据标准品的浓度梯度建立的对数回归方程分别为为： $y = -15.522\ln(x)$
+ 102.14 R² = 0.9623

3.2 受试化合物对人全血产生释放 LTB4 的 IC₅₀

在人全血孵育液中加入不同浓度的受试化合物后，对钙离子载体 A23187 刺激下的 LTB4 生成产生不同程度的抑制作用，其 IC₅₀ 见表。

表 3 化合物对钙离子载体 A23187 刺激下人全血(HWB)释放 LTB4 的 IC₅₀。

化合物编号	抑制率(%)	IC ₅₀ (μM)
3b	0.25μM	0.02
	0.5μM	6.01
	1.0μM	8.23

	2.0μM	13.6	
	4.0μM	17.9	
	8.0μM	20.33	
	80.0μM	56.9	
	0.25μM	0.74	
	0.5μM	2.41	
3a	1.0μM	8.45	
	2.0μM	15.3	6.67
	4.0μM	22.1	
	8.0μM	57.8	
	0.25μM	1.12	
	0.5μM	1.66	
5	1.0μM	2.26	
	2.0μM	12.2	30.89
	4.0μM	18.5	
	8.0μM	29.3	
	50μM	57.6	
	0.25μM	0.75	
	0.5μM	2.56	
齐留通	1.0uM	10.5	4.83
	2.0μM	24.8	
	4.0μM	45.3	
	8.0μM	60.7	

由表 1-3 中可以看出，本发明的部分化合物在 PMNL 和 HWB 体外测试模型的活性测试中表现出很好的抑制活性。

工业实用性

本发明的化合物的制备方法具有反应条件温和、原料丰富易得、操作及后处理简单等优点。

本发明所提供的化合物对离体大鼠中性粒细胞释放白三烯 B4 有很强的抑制作用

本发明提供的化合物对人全血释放白三烯 B4(LTB4)也有很强的抑制作用

本发明的化合物毒性较低。

因此，本发明的化合物可用于制备治疗白三烯相关疾病的药物。