[19]中华人民共和国专利局

[51]Int.Cl[6]
C07D471／04
A61K 31／505
／／(C07D471／04
,221：00,239：00)

[12]发明专利说明书

[21] ZL 专利号 93103352.7

[45]授权公告日 1998 年 10 月 21 日

[11] 授权公告号 CN 1040327C

[22]申请日 93.3.18 [24]颁证日 98.8.29
[21]申请号 93103352.7
[30]优先权
[32]92.3.20 [33]US[31]855,179
[73]专利权人 森德克斯(美国)股份有限公司
地址 美国加利福尼亚州
[72]发明人 R·S·威廉 R·L·钦
B·H·德文斯 R·阿尔瓦雷斯
[74]专利代理机构 上海专利商标事务所
代理人 林蕴和
[56]参考文献
US40009166 1977. 2.22 C07D471／04

J.MED.CHEM.V01.34 1991. 1. 1 John.A.Lo we et al
审查员 E4 11

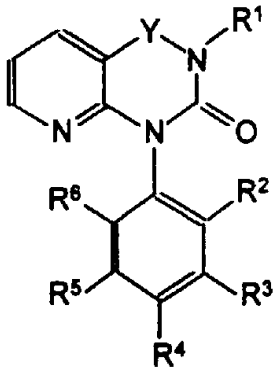
权利要求书 6 页 说明书 72 页 附图页数 0 页

[54]发明名称 吡啶并[2,3-d]嘧啶-2,4-(1H,3H)-二酮类及-2(1H,3H)-酮、其制法和用途

[57]摘要

本发明涉及任意取代的吡啶并[2，3-d]嘧啶-2，4（1H，3H）-二酮类或任意取代的吡啶并[2，3-d]嘧啶-2（1H，3H）-酮类，即式（I）化合物或其药学上可接受的酯、醚、N-氧化物或盐：

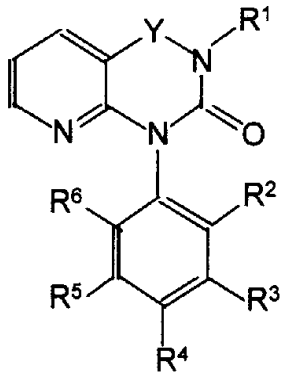
其中：Y、R^1-R^6定义如说明中所述。



式 I

权 利 要 求 书

1. 具有下式的化合物或其药学上可接受的酯、醚、N-氧化物或盐:



其中:

Y 是$-CH_2-$或-C(O)-;

R^1是$-(CH_2)_n-R^7$，其中:

R^7是选自吡啶基、喹啉基的杂芳基,

n 是 1 或 2，

R^2、R^3、R^4、R^5和R^6是氢，或其中之一选自低级烷基、卤素、甲氧羰基、氨基甲酰基、甲基氨基甲酰基、二甲基氨基甲酰基、甲基羰基、甲硫基、甲亚磺酰基、甲磺酰基、羟甲基、氨基、氰基或硝基。

2. 如权利要求 1 所述的化合物，其中 n 是 1。

3. 如权利要求 2 所述的化合物，其中 Y 是-C(O)-。

4. 如权利要求 3 所述的化合物，其中R^3是氯原子、氰基、氟原子、氢、甲氧羰基、甲硫基或硝基。

5. 如权利要求 4 所述的化合物，其中R^7是吡啶基或喹啉基。

6. 如权利要求 5 所述的化合物，它们是:

1-(3-硝基苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4(1H, 3H)-二酮;

1-(3-硝基苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4(1H, 3H)-二酮盐酸盐;

1-(3-硝基苯基)-3-(3-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4(1H, 3H)-二酮;

1-(3-硝基苯基)-3-(2-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4(1H, 3H)-二酮;

1-(3-氯苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4(1H, 3H)-二酮;

1-(3-氯苯基)-3-(3-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4(1H, 3H)-二酮;

1-(3-甲氧羰基苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4(1H, 3H)-二酮;

1-(3-甲氧羰基苯基)-3-(3-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4(1H, 3H)-二酮;

1-(3-氟苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4(1H, 3H)-二酮;

1-(3-氰基苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4(1H, 3H)-二酮;

1-(3-甲硫基苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4(1H, 3H)-二酮; 以及

1-苯基-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4(1H, 3H)-二酮。

7. 如权利要求 2 所述的化合物，其中 Y 是$-CH_2-$。

8. 如权利要求 7 所述的化合物，其中 R^3 是氯原子或硝基、或甲氧羰基。

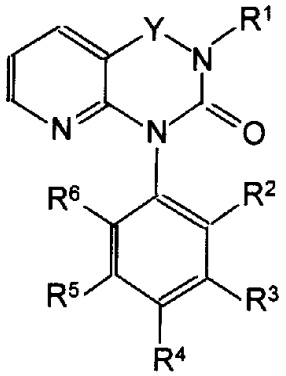
9. 如权利要求 8 所述的化合物，R^7 是吡啶基。

10. 如权利要求 9 所述的化合物，它们是:

1-(3-氯苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮; 以及

1-(3-氯苯基)-3-(3-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮。

11. 药物组合物，包括药学上可接受的赋形剂和治疗有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的酯、醚、N-氧化物或盐:



其中:

Y 是$-CH_2-$或-C(O)-;

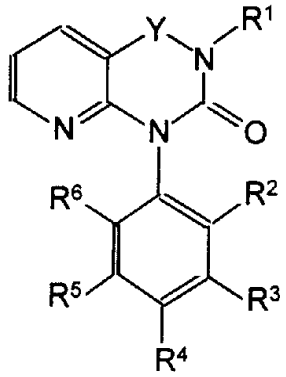
R^1是$-(CH_2)_n-R^7$，其中:

R^7是杂环芳基，选自吡啶基、喹啉基、呋喃基和吡啶酮基，

n 是 1 或 2，

R^2、R^3、R^4、R^5和R^6是氢，或其中之一选自低级烷基、卤素、羧基、甲氧羰基、氨基甲酰基、甲基氨基甲酰基、二甲基氨基甲酰基、甲基羰基、甲硫基、甲亚磺酰基、甲磺酰基、羟甲基、氨基、三氟甲基、氰基或硝基。

12. 式(I)化合物或其药学上可接受的酯、醚、N-氧化物或盐在制备用于治疗哺乳动物的哮喘、疼痛、炎性疾病、同种移植排斥、移植物抗宿主排斥以及自身免疫疾病的药物中的应用，



其中:

Y 是-CH_2-或-C(O)-;

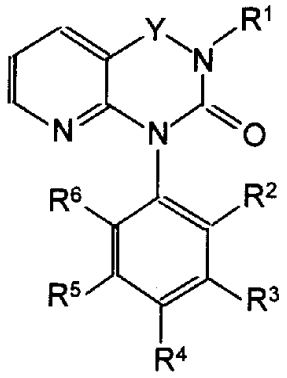
R^1 是-$(CH_2)_n$-R^7，其中:

R^7 是杂环芳基，选自吡啶基、喹啉基、呋喃基和吡啶酮基，

n 是 1 或 2，

R^2、R^3、R^4、R^5 和 R^6 是氢，或其中之一选自低级烷基、卤素、羧基、甲氧羰基、氨基甲酰基、甲基氨基甲酰基、二甲基氨基甲酰基、甲基羰基、甲硫基、甲亚磺酰基、甲磺酰基、羟甲基、氨基、三氟甲基、氰基或硝基。

13. 制备式(I)化合物的方法



其中:

Y 是-CH_2-或-C(O)-;

R^1 是-$(CH_2)_n$-R^7，其中:

R^7 是杂环芳基，选自吡啶基、喹啉基、呋喃基和吡啶酮基，

n是1或2，

R^2、R^3、R^4、R^5和R^6是氢，或其中之一选自低级烷基、卤素、羧基、甲氧羰基、氨基甲酰基、甲基氨基甲酰基、二甲基氨基甲酰基、甲基羰基、甲硫基、甲亚磺酰基、甲磺酰基、羟甲基、氨基、三氟甲基、氰基或硝基；

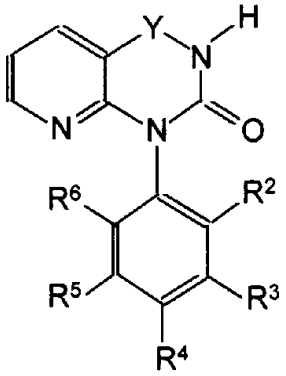
所述方法包括：

a)将下式的化合物

$$X\text{-}(CH_2)_n\text{-}R^7$$

其中X是卤素；

与下式的化合物反应



其中Y、R^2、R^3、R^4、R^5和R^6的定义同上；

b)将式(I)化合物转换成式(I)的药学上可接受的盐；或

c)将式(I)化合物的盐转换成相应的游离碱或式(I)的另一种药学上可接受的盐。

14. 如权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的酯、醚、N-氧化物或盐，

其中

Y是$-CH_2-$或-C(O)-；

R^1是$-(CH_2)_n-R^7$,其中：

R^7是可被低级烷基、低级烷氧基、羟基或卤素任意取代的吡啶基、喹啉基；

n是1或2；

R^2、R^3、R^4和R^5独立地选自氢、低级烷基、硝基、氯、氟、甲氧羰基或甲基羰基，条件是至少其中之一是氢；

R^6是氢。

说　明　书

吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮
及-2(1H, 3H)-酮、其制法和用途

本发明涉及任意取代的吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮类及吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮类，特别是1-(任意取代的)苯基-3-(任意取代的杂环芳基或芳烷基)-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮类及吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮类，它们可有效地用作抗炎剂、免疫抑制剂、抗同种移植排斥剂、抗移植物抗宿主疾病剂、抗敏剂(例如，哮喘、鼻炎及特异反应性皮炎)、抗自身免疫剂或止痛剂，本发明还涉及它们的前体、它们的制法和使用本 发明化合物的药物组合物.

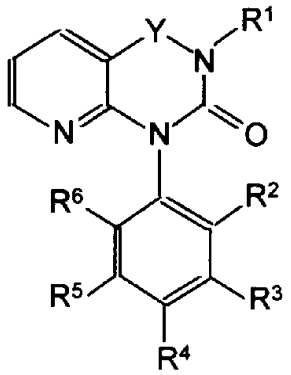
环 3′, 5′-单磷酸腺苷(cAMP)在哺乳动物体内调节多种细胞和生理机能，例如细胞分裂、内分泌机能及免疫应答. cAMP 的水平由一类被称作磷酸二酯酶的酶控制，磷酸二酯酶能使 cAMP 酶失活. 根据酶的功能和分离得到它们的细胞的类型，磷酸二酯酶有五大类. 例如，高亲合性磷酸二酯酶(PDE Ⅲ)是从人血小板细胞中得到，并调节血小板的凝聚. 另一类磷酸二酯酶(PDE Ⅳ)系在多种组织中发现，但它是人白细胞的主要形式；这类酶调节与免疫应答和炎症相关的白细胞的活性与功能. 这二种磷酸二酯酶通过调节它们各自所在细胞内的 cAMP 细胞水平补充它们的控制作用. 这样，对磷酸二酯酶的抑制提供了一种调节任何由cAMP控制的细胞和身体机能的方法。

为非特异性磷酸二酯酶抑制剂的化合物是已知的，即，这些化合物抑制所有或多数类型的磷酸二酯酶。[参见 Beavo， J.A.和 D.H.Reifsyder， Trends in Pharm， Science， 11:150-155(1990);

和 Nicholson， C.D.， R.A.J Challiss 和 M. Shahid， Trends in Pharm， Seience， 12:19-27(1991).]由于 cAMP 参与了全身如此之多的机能，非特异性磷酸二酯酶可改变由 cAMP 调节的所有功能，而由于大量的副作用使非特异性磷酸二酯酶抑制剂的价值受到限制。

业已惊奇地发现，某些任意取代的吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮类和吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮类是磷酸二酯酶Ⅳ型(PDE Ⅳ)有效的选择性抑制剂。这些化合物很适于治疗任何 PDE Ⅳ起作用的紊乱，例如那些与白细胞激活作用或白细胞功能有关的紊乱。具体地，这些化合物尤其适于用作抗炎剂、免疫抑制剂、抗同种移植排斥剂、抗敏剂(例如，哮喘、鼻炎及特异反应性皮炎)、抗自身免疫疾病剂或止痛剂。

本发明的一个方面涉及任意取代的吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮类以及任意取代的吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮类和它们的前体，即，式(I)的化合物及其药学上可接受的酯、醚、盐和 N-氧化物(其中 R^7 为含氮杂环芳基)及其前体:



式 I

式中:

Y 是$-CH_2-$或-C(O)-;

R^1 是氢或$-(CH_2)_n-R^7$，其中:

R^7是芳基或杂环芳基，且n是1或2，

条件是当Y是-C(O)-时，R^7是杂环芳基；且

R^2、R^3、R^4、R^5和R^6是氢，或其中之一选自低级烷基、卤素、羧基、甲氧羰基、氨基甲酰基、甲基氨基甲酰基、二甲基氨基甲酰基、甲基羰基、甲硫基、甲亚磺酰基、甲磺酰基、羟甲基、氨基、三氟甲基、氰基或硝基；或

R^2、R^3、R^4和R^5独立地选自氢、低级烷基、硝基、氯原子、氟原子、甲氧羰基或甲基羰基，条件是至少其中之一是氢，且R^6是氢。

另一方面，本发明涉及一种药剂组合物，它含有治疗有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的酯、醚、盐或N-氧化物，并混合有至少一种药学上可接受的赋形剂。

又一方面，本发明涉及通过对需治疗的哺乳动物施用治疗有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的酯、醚、盐或N-氧化物来将它们用作抗炎剂、免疫抑制剂、抗同种移植排斥剂、抗移植物抗宿主疾病剂、抗敏剂(例如，哮喘、鼻炎及特异反应性皮炎)、抗自身免疫疾病剂或止痛剂的方法。

又一方面，本发明涉及通过对PDE Ⅳ的选择性抑制来治疗上述症状或疾病。

又一方面，本发明涉及符合式(I)的、其中Y是$-CH_2-$、R^1由氢替代的前体化合物。

本发明的另一方面涉及制备式Ⅰ化合物及其药学上可接受的盐、酯和醚的方法。例如，式Ⅰ化合物是通过将前体化合物与下式的相应化合物相互作用而制备的，

$$X-(CH_2)_n-R^7$$

其中：X是卤素或-OH。

另一方面，本发明提供可用于治疗哺乳动物的炎症、同种移植排斥、移植物抗宿主疾病、过敏、自身免疫或需止痛的症状或疾病

的组合物，该组合物包括治疗有效量的式I化合物或上述药学上可接受的酯、醚、盐或N-氧化物及药学上可接受的赋形剂。

下列定义的给出是用来说明和限定描述本发明的术语的含义和范围。

术语“烷基”指含一至二十个碳原子的环状的、支链的或直链的单价饱和脂肪烃基。

术语“低级烷基”指含一至四个碳原子的环状的、取代的环状的、支链的或直链的单价烷基。此术语更具体地说，可以是例如甲基、乙基、正丙基、异丙基、异丁基、正丁基或叔丁基。

术语“低级烷氧基”指-O-R′基团，其中R′是低级烷基。

术语“羰基”指基团-C(O)-。

术语“亚甲基”指基团-CH_2-。

术语“羧基”指基团-CO(OH)。

术语“低级烷氧羰基”指基团-C(O)OR′，其中R′是低级烷基。

术语“酰基”指基团-C(O)-R，其中R是低级烷基，例如，甲基羰基和乙基羰基。

术语“氨基甲酰基”指基团-C(O)NR^8R^9，其中R^8和R^9独立地为氢和甲基。

术语“卤素”指氟原子、溴原子、氯原子和碘原子。

术语“甲硫基”指基团CH_3-S-。

术语“甲亚磺酰基”指基团CH_3-S(O)-。

术语“甲磺酰基”指基团CH_3-S(O_2)-。

术语“芳基”指芳香族单价单或多碳环基团，这些基团可独立地任意用一个、二个、三个或四个下列基团所取代：低级烷基、卤素、羧基、低级烷氧羰基、氨基甲酰基、单或二甲基氨基甲酰基、酰基(例如，甲基羰基及乙基羰基)、甲硫基、甲亚磺酰基、甲磺酰基、羟甲基、氨基、三氟甲基、氰基或硝基。

术语“杂环芳基”指芳香族单价单或多碳环基团，它具有至少

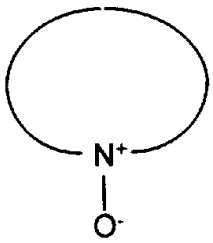
一个杂原子，即，氮、氧或硫，可在杂原子的邻位独立地任意被低级烷基、卤素、氰基、氨基或三氟甲基单或双取代。例如，具有一或更多氮原子的典型杂环芳基是四唑基、吡啶基(例如 4-吡啶基、3-吡啶基、 2-吡啶基)、哒嗪基、喹啉基、 2-喹啉基、 3-喹啉基、咪唑基、异喹啉基、吡唑基、吡嗪基、嘧啶基、吡啶酮基或哒嗪酮基；典型的含氧原子的氧杂环芳基是呋喃基或苯并呋喃基；典型的含硫杂环芳基是噻吩基和苯并噻吩基。

术语“杂环芳基烷基”指基团-(低级烷基)-(杂环芳基)。例如，典型的杂环芳基烷基是如，吡啶基-低级烷基，例如，吡啶甲基(如，4-吡啶甲基、 3-吡啶甲基和 2-吡啶甲基)、吡啶乙基、吡啶丙基、吡啶丁基、喹啉基-低级烷基、呋喃基-低级烷基和吡啶酮基-低级烷基。

术语“吸电子基团”指这样一种基团，它如果在分子中处于相同位置，其将电子吸向自己的能力大于氢原子。例如，典型的吸电子基团是卤素(例如，氯原子、溴原子、碘原子及氟原子)、硝基、三氟甲基、氰基、羧基、甲氧羰基和甲基羰基。

术语“药学上可接受的酯”指在适宜条件下由含羟基的式 I 化合物与醇如甲醇、乙醇或丙醇作用而生成的那些化合物。

术语“药学上可接受的醚”指在适宜条件下由含羟基的式 I 化合物与适宜试剂(如烷基卤)作用而生成的那些化合物。



术语“ N-氧化物”是指在环中氮原子已被氧化的含氮杂环芳基，例如， 3-吡啶基-N-氧化物或 4-吡啶基-N-氧化物。

术语“酯化剂”是指这样一种试剂(例如，重氮甲烷、甲醇、碘甲烷、碘乙烷或乙醇)，在适宜环境下它与羧基作用，生成相应的烷氧羰基。

在涉及式 I 化合物的说明书详细描述部分及权利要求书(尤其是从属权利要求)中所使用的术语“化合物”，是指该化合物药学上可接受的盐、酯或N-氧化物，除非有明确的表述，如“式I的化合物为-游离碱”。

术语“药学上可接受的盐”指从无机或有机酸或碱衍生而来的任何盐。

术语“药学上可接受的阴离子”指这些酸加成盐的阴离子。术语“药学上可接受的阳离子”指这些碱加成盐的阳离子。该盐、阴离子和/或阳离子应选择是生物学上无害的。

阴离子得自无机酸，例如盐酸、氢溴酸、硫酸(提供硫酸盐或硫酸氢盐)、硝酸、磷酸及类似物，以及有机酸，例如乙酸、丙酸、乙醇酸、丙酮酸、草酸、苹果酸、丙二酸、琥珀酸、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、水杨酸、对-甲苯磺酸及其类似物。

阳离子得自碱，如碱土金属氢氧化物，包括氢氧化钙、氢氧化钾、氢氧化钠、氢氧化锂及其类似物。

术语“惰性有机溶剂”或“惰性溶剂”指在所述反应条件下所用的溶剂是惰性的[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、吡啶及其类似物]。除非有具体的相反的说明，本发明的反应中所用的溶剂是惰性有机溶剂。

在此所用的术语“同种移植排斥”指在哺乳动物接受了另一同类哺乳动物的与其不相容的组织移植物后其免疫系统产生体液或细胞免疫应答，从而对该接受者中的移植物造成组织伤害。

在此所用的术语“移植物抗宿主疾病”指源于植入的移植组织

特别是移植的骨髓组织的免疫应答。这直接指向宿主组织，从而造成宿主组织伤害。

在此所用的术语“自体免疫疾病”指紊乱失调，其时，哺乳动物的免疫系统对哺乳动物自身组织或对其本身并不固有地伤害哺乳动物的抗原药物产生体液或细胞免疫应答，从而造成该哺乳动物组织伤害的病症。这种病症的例子包括全身性红斑狼疮、类 风湿性关节炎和I 型糖尿病，但并不限于此。

在此所用的术语对哺乳动物的病症和/或疾病的“治疗”或“进行治疗”，是指:

(i)预防病症或疾病，即，避免疾病的任何临床症状;

(ii)抑制病症或疾病，即，阻止临床症状的发展和进行；和/或

(iii)缓解病症或疾病，即，使临床症状消退。

本发明中治疗的病症和疾病包括炎症、疼痛、发热、自身免疫疾病、同种移植排斥、移植物抗宿主疾病、过敏和眼色素层炎。

在此所用的术语“治疗有效量”指式I化合物作为--种消炎剂、免疫抑制剂、抗同种移植排斥剂、抗移植物抗宿主疾病剂、抗敏剂、抗自体免疫疾病剂或止痛剂，当对需要的哺乳动物给药时，足以进行治疗(如上定义)的量。构成“治疗有效量”的量依化合物、病况及其严重程度、和所要治疗的哺乳动物而不同，但是这对该领域内的普通技术人员结合当时的知识与本发明所揭示的内容，是可以按常规方法决定的。

在此所用的术语“足量”指添加足以达到所述值的量，例如，使溶液达到所需的体积(如 100 ml).

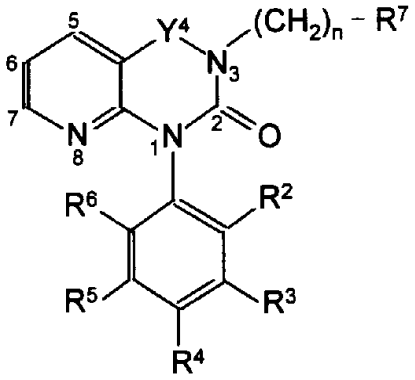
在此所用的术语“ mp ”指熔点。给出的所有温度为摄氏温度(即℃)。

除非特别注明例外的情况，在此所述的反应是在大气压力下在约-20 ℃到 150 ℃温度范围内，更好是约 10 ℃到 50 ℃，最好是在约室温(或称“环境温度”)，如约 20 ℃下进行。除非特别注明例外

的情况，在此所述的时间和温度范围是近似的，例如，“在温度10-100 ℃ 8-24 小时”意味着在温度约 10-100 ℃约 8-24 小时。

在此所述的化合物或中间体的分离和纯化，如果需要的话，可通过任何合适的分离或纯化步骤，例如，过滤、萃取、结晶、柱色谱层析、制备性高压液相色谱(制备性 HPLC)、薄层层析色谱或厚层层析色谱、或者这些方法的结合来实现。合适的分离方法的具体说明可参考后文的实施例。但是，当然也能采用其它等效的分离方法。

下列编号和命名系统将被用于命名本发明化合物。



在下述实施例中命名具代表性的化合物。

Y 为-C(O)-，n 为 1，R^7为 4-吡啶基，R^3为硝基且R^2、R^4、R^5和 R^6为氢的式 I 化合物可命名为 1-(3-硝基苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]-嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮。

Y 为-CH_2-，n 为 1，R^7为 2-喹啉酰基，R^3为硝基且R^2、R^4、R^5和 R^6为氢的式 I 化合物可命名为 1-(3-硝基苯基)-3-(2-喹啉酰基甲基)吡啶并[2, 3-d]-嘧啶-2(1H, 3H)-酮。

式 I 化合物的合成

在反应流程图中所用的 Y、n、R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6和 R^7与本发明概要中所述的相同。

反应流程 A 说明了新颖的任意取代的吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮类即 Y 为-C(O)-的式 I 化合物的制备方法。

反应流程 B 说明了新颖的任意取代的吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮类即 Y 为$-CH_2-$的式 I 化合物的制备方法。

反应流程 C 说明了新颖的任意取代的 3-[3-(6-甲基)吡啶基-(低级烷基)]-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮类和 3-[3-(6-甲基)吡啶基-(低级烷基)]-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮类，即 R^1 为 3-(6-低级烷基)吡啶基-(低级烷基)的式 I 化合物的制备方法。

反应流程 D 说明了新颖的任意取代的吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮类和吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮类，即 R^2、R^3、R^4、R^5 和 R^6 为氨基甲酰基的式 I 化合物的制备方法。

反应流程 E 说明了新颖的任意取代的吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮类和吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮类，即 R^2、R^3、R^4、R^5 或 R^6 为$-C(O)NR^8R^9$，其中 R^8 及 R^9 独立地选自氢和甲基的式 I 化合物的制备方法。

反应流程 F 说明了新颖的任意取代的吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮类和吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮类，即式 I 中 R^2、R^3、R^4、R^5 和 R^6 为$-S(O)-CH_3$ 的式 I 化合物的制备方法。

反应流程 G 说明了新颖的任意取代的吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮类和吡啶并[2, 3-d]-嘧啶-2(1H, 3H)-酮类，即 R^2、R^3、R^4、R^5 或 R^6 是$-S(O_2)-CH_3$ 的式 I 化合物的制备方法。

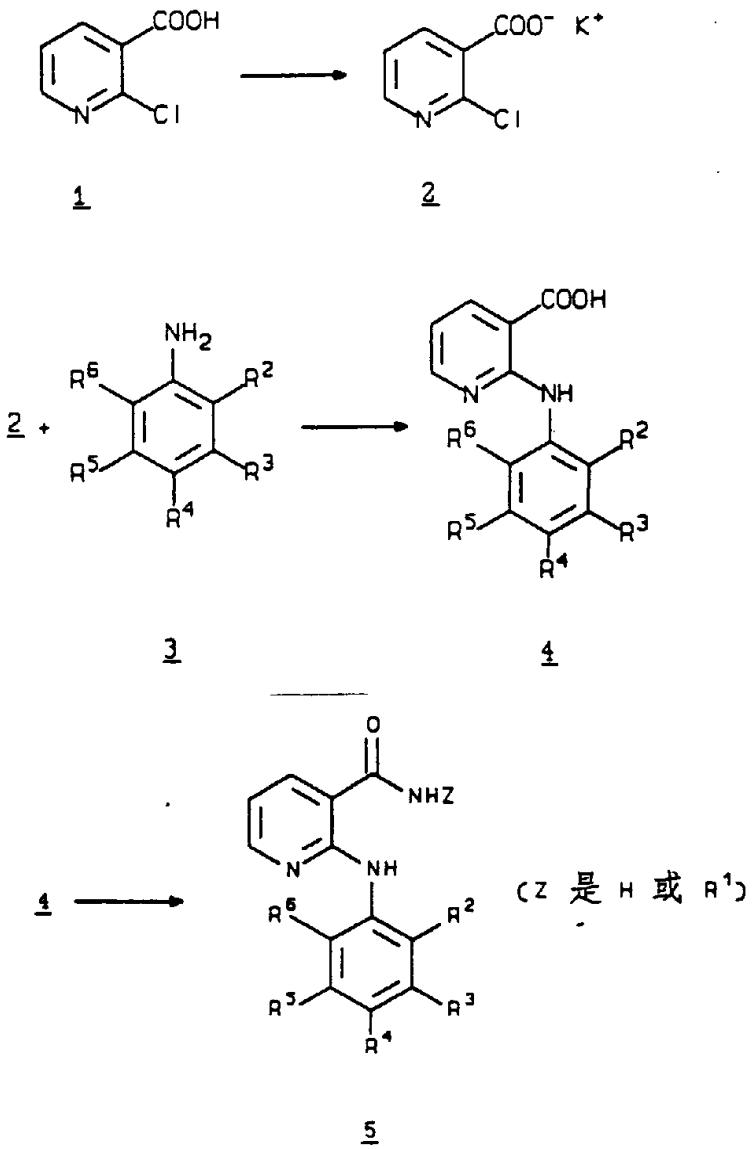
反应流程 H 说明了新颖的任意取代的吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮类和吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮类，即 R^2、R^3、R^4、R^5 或 R^6 为$-CH_2-OH$ 的式 I 化合物的制备。

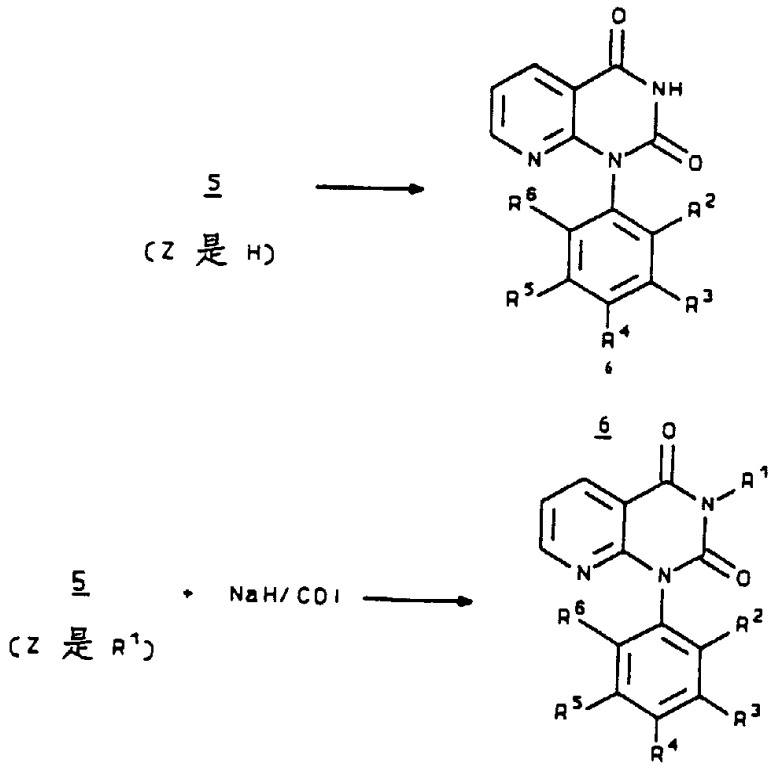
反应流程 I 说明了新颖的任意取代的吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮类和吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮类，即 R^2、R^3、R^4、R^5 或 R^6 为$-NH_2$ 的式 I 化合物的制备。

反应流程 J 说明了新颖的任意取代的吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H,

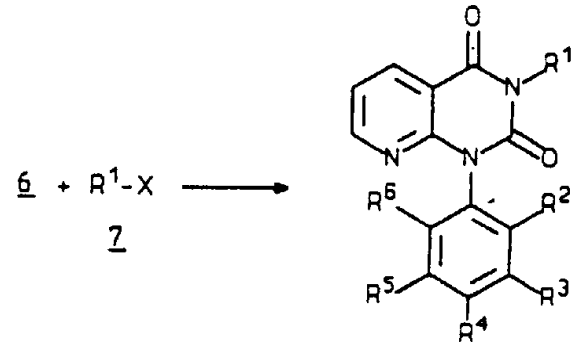
3H)-酮类的 N-氧化物衍生物的制备方法。

反应流程 A





式 I，其中 Y 是—C(O)-



式 I，其中 Y 是—C(O)—

起始原料

关于反应流程 A，式 1(2-氯烟酸)、式 3 的大部分化合物〔被低级烷基(如，甲基、乙基、丙基或丁基)、卤素(如，氯原子、溴原子、碘原子或氟原子)、羧基、低级烷氧羰基(如，甲氧羰基、乙氧羰基或丙氧羰基)、低级烷基羰基(如，甲基羰基、乙基羰基或丙基羰基)、羟甲基、氰基、硝基、甲硫基和/或三氟甲基任意取代的苯胺〕和式 7(被任意取代的杂环芳烷基卤化物和芳烷基卤化物)都是可从 Aldrich Chemicals Co.， Inc.、 Fluka Chemical Corporation、 Lancaster Synthesis Ltd.、 Maybridge Chemical Co. Ltd.或 Tokyo Kasai International 购得的。那些不是市场有售的化合物，普通技术人员可按照参考文献，例如“ Fieser and Fieser 的 Reagents for Organic Synthesis ”，卷 1-15， John Wiley & Sons， 1991; “ Rodd 的 Chemistry of Carbon Compounds ”，卷 1-5 及增补， Elservier Science Publishers， 1989，和“ Organic Reactions ”，卷 1- 40， John Wiley & Sons， 1991 中列出的方法进行制备。R^2-R^6被氨基甲酰基、甲基和二甲基氨基甲酰基、甲亚磺酰基、甲磺酰基、羟甲基和氨基任意取代的化合物，如反应流程 A 和 B 所述，从式 I 的其它化合物制得。

式 2 的制备

将 2-氯烟酸(式 1)悬浮于溶剂(如甲醇或乙醇，优选乙醇)中，并在室温(即约 20-30 ℃)搅拌，同时逐渐加入 1 摩尔当量的强碱(如，氢氧化钾(固体)、氢氧化钠或类似物)。将此悬浮液搅拌约 4 小时，其间形成溶液，随后形成沉淀。大约除去四分之三溶剂后，将沉淀从残余溶剂中滤出。该沉淀用溶剂(如，乙醚)洗涤并干燥，得到 2-氯烟酸钾，即式 2。

式 4 的制备

将 2-氯烟酸钾(式 2)悬浮于非质子传递溶剂(如二甲基甲酰胺或二甲亚砜，优选二甲基甲酰胺)中。向此悬浮液中加入约 1.0 摩尔当量的任意取代的苯胺(式 3)，接着加入约 0.06 摩尔当量的铜(Ⅱ)盐(如乙酸铜)和约 1 摩尔当量的 N-乙基吗啉。在惰性气氛下边搅拌边回流所得混悬液约 10 － 26 小时，最好约 18 小时。将反应混合物冷却至约室温，并滴加 6M HCl 直至 pH 在 4 － 5 间。所需的产物可能形成沉淀，此情况下将其滤出并用水洗，然后空气干燥。若无沉淀生成，则真空除去大部分溶剂，将产生的残余物倒入水中并用乙酸乙酯萃取。合并有机层，用 $MgSO_4$ 干燥，并浓缩。所需的产物可能会从残余物中沉淀出来，此情况下将产物与 Et_2O 共研，然后过滤并空气干燥。将剩余的残留物在硅胶柱上进行色谱层析〔使用适当的溶剂洗脱(如， 9 ： 1CH_2Cl_2 ： MeOH)〕，然后将所得到的产物与前述收集的沉淀合并，得到任意取代的 2-苯胺基-3-羧基吡啶(式 4)。

式 5 的制备

将任意取代的 2-苯胺基-3-羧基吡啶(式 4)悬浮于惰性溶剂(如甲苯或苯，优选苯)中。向此悬浮液逐步加入约 2 摩尔当量的亚硫酰氯。将产生的混合物回流 4 小时，生成溶液。真空除去溶剂，得到酰基氯，它可用于下一步而无需进一步纯化。将该酰基氯溶于溶剂(如四氢呋喃、乙醚或乙酸乙酯，优选四氢呋喃)，边搅拌边逐步加入约 2.5 摩尔当量的浓 NH_4OH 。有沉淀物形成，室温搅拌反应混合物约 3 小时。真空除去溶剂。向产生的残余物中加入水，接着用乙酸乙酯提取。合并产生的有机层，并用干燥剂(如 $MgSO_4$)干燥。过滤该溶液，并除去溶剂将其浓缩，接着与 Et_2O 共研，过滤分离并干燥，得到所需的任意取代 2-苯胺基-3-氨基甲酰吡啶(式 5)。

式 6 的制备

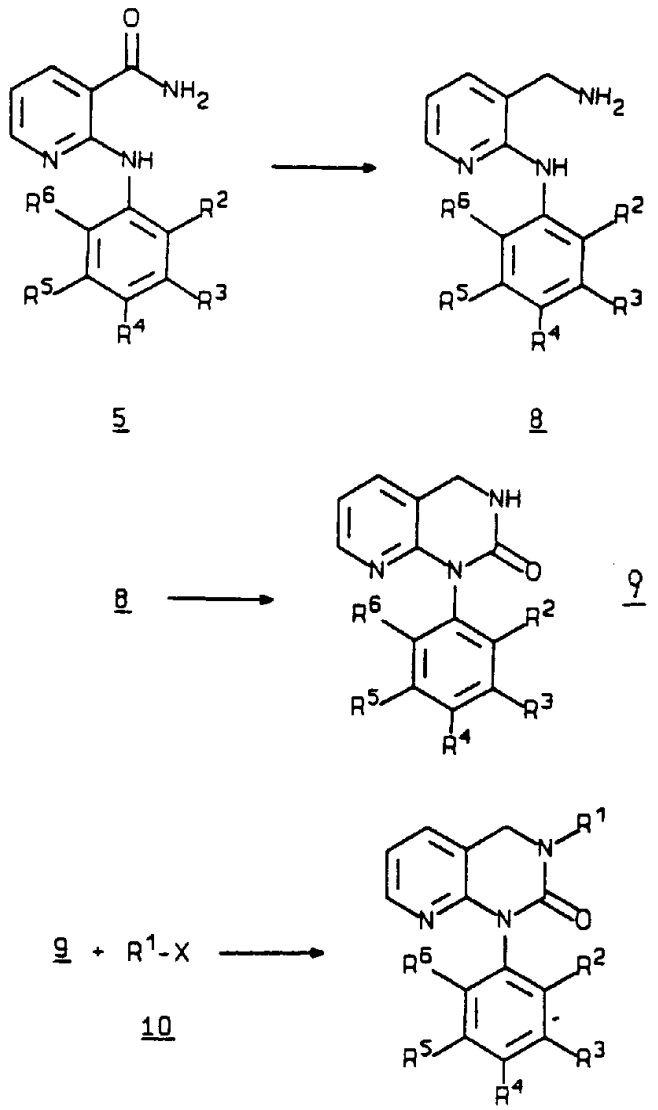
将任意取代的 2-苯胺基-3-氨基甲酰吡啶(式 5)溶于极性的非质子传递溶剂(如二甲基甲酰胺或四氢呋喃，优选四氢呋喃)。向此溶液中加入约 3 摩尔当量的 NaH 。在惰性气氛下室温搅拌该溶液 3 分钟。逐步加入约 1.5 摩尔当量的 1, 1′-羰基二咪唑。加热回流产生的悬浮液约 18 小时。冷却该混合物至室温，真空除去溶剂。向产生的固体物质中加入水以使未反应的 NaH 分解。将悬浮液用合适溶剂(如乙酸乙酯)萃取，并用干燥剂(如 $MgSO_4$)处理。滤出固体物质并除去溶剂，得到 1-(任意取代的苯基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮类(式 6)。

式 I 的制备，其中 Y 为-C(O)-

将 1-(任意取代的苯基)-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮(式 6)混悬于非质子传递溶剂(如，四氢呋喃、丙酮、二甲基甲酰胺，优选二甲基甲酰胺)，并加入约 2 摩尔当量的强碱(如， K_2CO_3 或 NaH，优选 K_2CO_3)，接着逐步加入杂环芳基烷基卤(式 7)。在惰性气氛下将产生的反应混合物搅拌回流约 18 小时。将该溶液冷却至约室温并除去溶剂。向产生的残余物加入水，并用合适的溶剂(如乙酸乙酯)萃取所得溶液，得到 1-(任意取代的苯基)-3-(任意取代的杂环芳基)烷基-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮[式 I，其中 Y 是-C(O)-]。通过色谱层析或重结晶纯化所需的产物。

或者，将 1-(任意取代的)-3-[(任意取代的芳基/杂环芳基)烷基]吡啶(式 5，其中 Z 为 R^1)溶于非质子传递溶剂(如四氢呋喃)中，并加入约 1.3 摩尔当量的金属氢化物(如氢化钠)，接着加入羰基二咪唑(CDI)。在惰性气氛下将产生的反应混合物搅拌回流 3 － 18 小时。冷却该溶液至约室温并除去溶剂。反应混合物的进一步处理及所需产物的分离按上述步骤进行。

反应流程 B



式 I，其中 Y 是$-CH_2-$

式 8 的制备

通过以约 1g/50ml 的浓度溶解相应的任意取代的 2-芳基-3-氨基甲酰基吡啶(即式 5 化合物，例如参考反应流程 A 所述的制得)于非质子传递溶剂(如四氢呋喃或乙酸乙酯，优选四氢呋喃)之中，制备任意取代的 2-苯胺基-3-氨基甲基-吡啶(即式 8 化合物)。将溶液冷却至约 0 ℃。将该溶液逐步加入至约 4.6 摩尔当量的硼还原剂(优选

1.0M BH_3-THF 溶液)。在惰性气氛下将反应混合物冷却至约 0 ℃，在约 0 ℃搅拌约 1 小时并回流约 18 小时。将 6M HCl 加入至反应混合物直至 pH 小于 7 。除去溶剂并加入强碱〔如，氢氧化钠(固体)或氢氧化钾(固体)〕，使之饱和。用乙酸乙酯等合适溶剂萃取碱饱和的残余物。收集有机相并除去溶剂，得到任意取代的 2-苯胺基-3-氨基甲基吡啶(式 8)。该产物用于制备相应的式 9 化合物，未进一步纯化。

或者，对于在苯基基团上对还原较不敏感的取代基，使用较强的还原剂(如，氢化锂铝)进行制备。可通过以约 1g/50ml 的浓度溶解相应的取代的 2-苯胺基-3-氨基甲酰基吡啶(即式 5 化合物，例如参考反应流程 A 所述的制备)于非质子传递溶剂(如四氢呋喃或乙酸乙酯，优选四氢呋喃)之中，并冷却至约 0 ℃来制备任意取代的 2-苯胺基-3-氨基甲基吡啶(即式 8 化合物)。将约 3.0 摩尔当量的还原剂，如氢化锂铝，加入至非质子传递溶剂(如四氢呋喃或乙酸乙酯，优选四氢呋喃)中，形成悬浮液，将其加热回流。将式 5 的溶液逐步加入至回流着的悬浮液，并搅拌回流约 18 小时。将反应混合物冷却至约室温然后淬灭反应。滤出残余的固体物质，除去溶剂使混合物浓缩。产物通过萃取入合适的溶剂(如乙酸乙酯)之中而得到分离。任意取代的 2-苯胺基-3-氨基甲基吡啶(式 8)被用于制备相应的式 9 化合物，而未进一步纯化。

<u>式 9 的制备</u>

按照反应流程 A 所给出的制备式 6 化合物的方法，从式 8 化合物制备 1-(任意取代的苯基)-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮(式 9)。

<u>式 I 的制备，其中 Y 是-(CH_2)-</u>

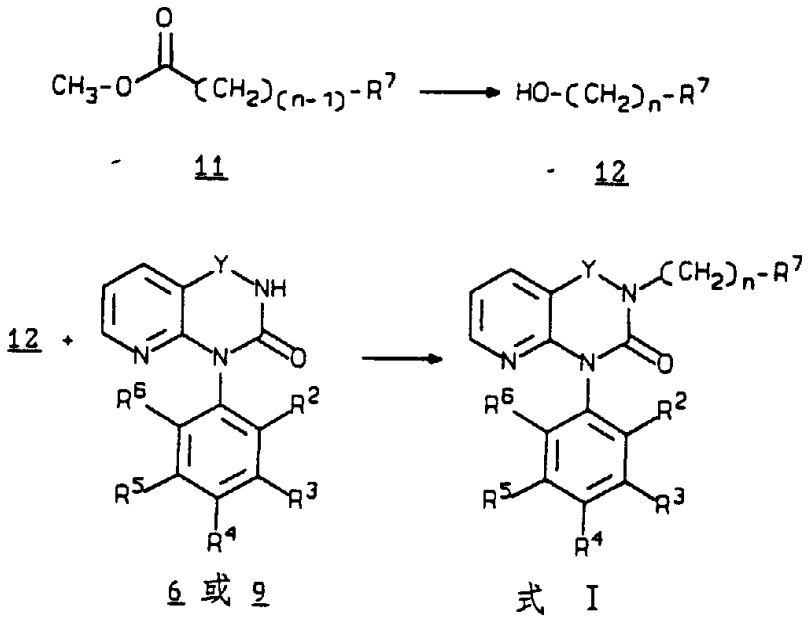
按照制备 Y 是-C(O)-的式 I 化合物的反应流程 A 中给出的方

法，用式 9 化合物与相应的取代的杂环芳基烷基卤或芳基烷基卤(式 10)反应，分别制备任意取代的 3-杂环芳基烷基-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮或 3-芳基烷基-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮(式 I，其中 Y 是-CH_2-)。

反应流程 C、D、E、F、G、H、I 及 J 的起始原料

反应流程 C、D、E、F、G、H、I 及 J 的起始原料的制备是按照反应流程 A(式 I，其中 Y 是-C(O)-)及反应流程 B(式 I，其中 Y 是-CH_2-)中给出的方法进行的。5-甲氧羰基-2-甲基-嘧啶(式 11)是从 Aldrich 化学试剂公司得到的。

反应程 C



化合物 12 的制备

将任意取代的甲氧羰基杂环芳基或任意取代的甲氧羰基芳基化合物(式 11，其中 R^7 是芳基或杂环芳基，且 n 为 1 或 2)溶解于惰性溶剂(如甲苯)中，并将其冷却至-50 至-100 ℃的温度范围，优选约-78 ℃。将约 2 摩尔当量的还原剂，如二异丁基氢化铝逐步加入至溶液中。搅拌反应混合物 1 小时后，使其升温至约室温。然后搅拌反应混合物约 10-26 小时，优选约 18 小时。反应混合物的淬灭是通过逐步加入溶剂，如甲醇，再加入酸(如 1M HCl)来进行的。用合适的有机溶剂萃取后分离所需的产物，得到相应的任意取代的羟甲基杂环芳基或任意取代的羟甲基芳基化合物(式 12)，产物用于下一步骤而未进一步纯化。

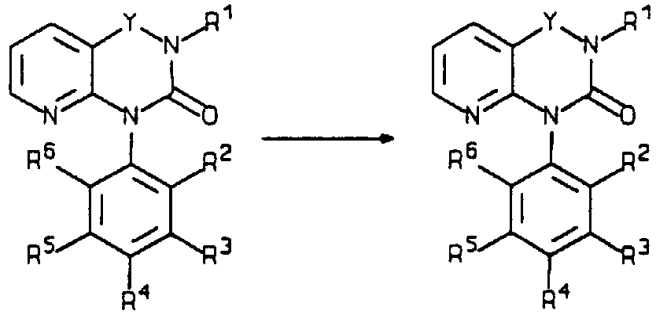
式 I 的制备

1-(任意取代的苯基)-3-(任意取代的杂环芳基或芳基)烷基-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮及 1-(任意取代的苯基)-3-(任意取代的杂环芳基或芳基)烷基-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮的制备，可以例如，使用 Mitsunobu， O.，等， Synthesis， 1981 年 1 月， 1 － 28 所述的方法，或者按照下述方法进行。

将任意取代的吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮或吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮〔即式 6 或式 9 化合物，例如分别如反应流程 A 和反应流程 8 中所述制得〕溶解于溶剂，如四氢呋喃或乙醚，优选四氢呋喃。在惰性气氛和室温下，边搅拌边向此溶液中加入约 1 摩尔当量的任意取代的羟甲基杂环芳基或任意取代的羟甲基芳基化合物(即式 12)和约 2 摩尔当量的三苯膦。搅拌下将约 2 摩尔当量的偶氮二羧酸二异丙酯(溶于合适溶剂如四氢呋喃中)逐步加入反应混合物中。在惰性气氛和室温下搅拌反应混合物约 1.5-4.5 小时，优选约 3 小时。除去溶剂，用色谱层析分离和纯化产物，得到相应的 1-(任意取代的苯基)-3-(任意取代的杂环芳基或芳基)烷基-吡啶并[2,

3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮和 1-(任意取代的苯基)-3-(任意取代的杂环芳基或芳基)烷基-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮。

反应流程 D

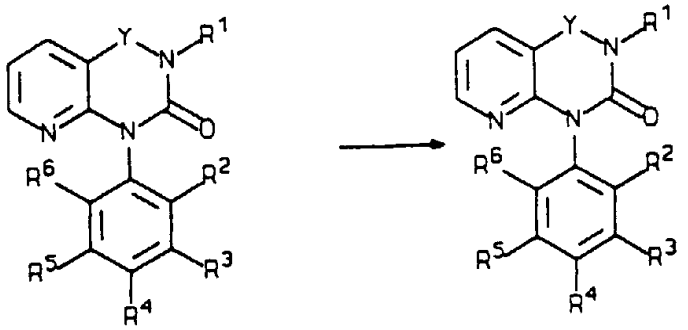


式 I，其中 R^2、R^3、R^4、R^5和/或 R^6是-CN　　式 I，其中 R^2、R^3、R^4、R^5和/或 R^6是-C(O)NH_2

<u>式 I 的制备，其中 R^3是-C(O)NH_2</u>

将 1-(任意取代的氰基苯基)-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮或吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮[按反应流程 A(其中 Y 为-C(O)-)或反应流程 B(其中 Y 为-CH_2-)来制备，其中式 3 的反应剂是 2-、3-、4-、5-或 6-氰基苯胺]混悬于水中，浓度约 1.5 mmol/ml。向此悬浮液中加入约 50 摩尔当量的浓 H_2SO_4。将此悬浮液加热至 60-120 ℃，优选约 90 ℃，保持 1.5 － 4.5 小时，优选约 3.0 小时。反应混合物的淬灭是通过加入 10 % Na_2CO_3溶液或类似物直至 pH 为中性来进行的。除去溶剂，通过色谱层析法分离和纯化产物，得到任意取代的 1-(氨基甲酰基苯基)-吡啶并[2, 3-d] 嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮或-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮(即式 I，其中 R^2、R^3、R^4、R^5和/或 R^6是-C(O)NH_2)。

反应流程 E



式 I，其中 R^2、R^3、R^4、R^5 和/或 R^6 是 $-C(O)-OCH_3$

式 I，其中 R^2、R^3、R^4、R^5 和/或 R^6 是 $-C(O)NR^8R^9$ 其中 R^8 和 R^9 独立地为氢或低级烷基

氨基化铝、氨基化甲基铝和氨基化二甲基铝试剂的制备可例如采用由 Weinreb. M.等， Synthetic Communications， 12(13)， 989-003(1992)所述的方法或按照下述方法进行。

氨基化铝试剂的制备

将氯化铵细粉化并溶于合适的溶剂(如甲苯，浓度为约 1 mmol/ml)，在惰性气氛和室温下将其搅拌约 30 分钟，然后将其冷却至 0-5 ℃，加入约 1 mol 当量的 2M 三甲基铝(于甲苯中)的溶液，得到氨基化铝试剂。

氨基化甲基铝和氨基化二甲基铝试剂的制备

分别用氯化甲基铵，或氯化二甲基铵替代氯化铵，按照上述方法，制备氨基化甲基铝试剂和氨基化二甲基铝试剂。

式 I 的制备，其中 R^2、R^3、R^4、R^5 和/或 R^6 是-C(O)NR^8R^9，其中 R^8 和 R^9 为氢

将 1-(任意取代的甲氧羰基苯基)-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮或吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮[即，式 I，其中 R^2、R^3、R^4、R^5 和/或 R^6 是-C(O)-OCH_3，例如参考反应流程 A(其中 Y 为-C(O)-)或反应流程 B(其中 Y 为-CH_2-)所述的方法制备]混悬于合适的溶剂(如，甲苯，浓度约为 1 mmol/10 ml)中。向该悬浮液中加入约 3 摩尔当量的氨基化铝试剂(如上制备)。将悬浮液加热至 60-100 ℃，优选约 80 ℃，搅拌约 3-7 小时，优选约 5 小时。将反应混合物冷却至约室温并用酸溶液(如，5 % HCl)猝灭，然后用碱中和。除去溶剂，通过色谱层析分离和纯化产物，得到任意取代的 1-(氨基甲酰基苯基)-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮或-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮(式 I，其中 R^2、R^3、R^4、R^5 和/或 R^6 是-C(O)- NR^8R^9，其中 R^8 和 R^9 是氢)。

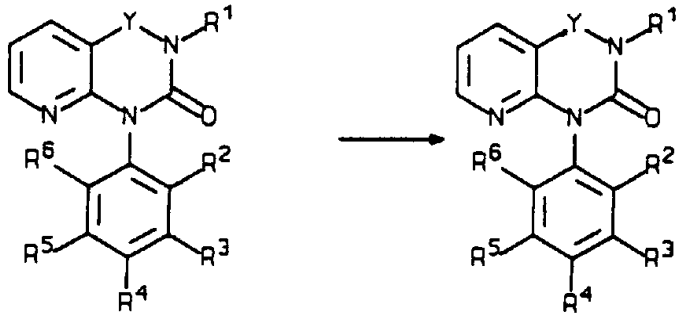
式 I 的制备，其中 R^2、R^3、R^4、R^5 和/或 R^6 是-C(O)NR^8R^9，其中 R^8 是氢且 R^9 是甲基

按照上述的方法，用氨基化甲基铝试剂替代氨基化铝试剂，得到任意取代的 1-(甲基氨基甲酰基苯基)-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮或-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮(式 I，其中 R^2、R^3、R^4、R^5 和/或 R^6 是-C(O)-NR^8R^9，R^8 是氢且 R^9 是甲基)。

式 I 的制备，其中 R^2、R^3、R^4、R^5 或 R^6 是-C(O)NR^8R^9，其中 R^8 和 R^9 是甲基

按上述的方法，并用氨基化二甲基铝试剂替代氨基化铝试剂，得到任意取代的 1-(二甲基氨基甲酰基苯基)-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮或-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮(式 I，其中 R^2、R^3、R^4、R^5 和/或 R^6 是-C(O)-NR^8R^9，其中 R^8 和 R^9 为甲基)。

反应流程 F

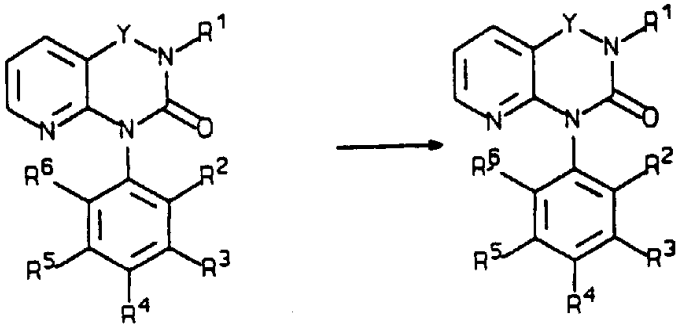


式 I，其中 R^2、R^3、R^4、R^5和/或 R^6是-S-CH_3　　式 I，其中 R^2、R^3、R^4、R^5和/或 R^6是-S(O)CH_3

式 I 的制备，其中 R^2、R^3、R^4、R^5和/或 R^6是-S(O)CH_3

将 1-(任意取代的甲硫基苯基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮或吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮[即式 I，其中，R^2、R^3、R^4、R^5和/或 R^6是-SCH_3，按反应流程 A(其中 Y 是-C(O)-)或反应流程 B(其中 Y 是-CH_2-)制备]溶解于合适的溶剂(如，二氯甲烷)中，并冷却至约 0 ℃。向溶液中加入约 1 摩尔当量的氧化剂，如，间氯过氧苯甲酸。在约 0 ℃搅拌反应混合物约 2 小时。反应混合物经洗涤(如，先用 10 % Na_2SO_3 溶液，后用饱和 $NaHCO_3$)和分离，纯化(萃取至合适的溶剂中)并干燥，得到 1-(甲亚磺酰苯基)-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮或-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮(式 I，其中 R^2、R^3、R^4、R^5和/或 R^6是-S(O)-CH_3)。

反应流程 G

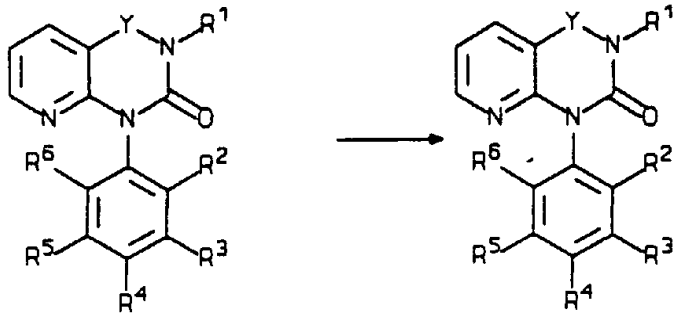


式 I，其中 R^2、R^3、R^4、R^5和/或 R^6是-S-CH_3　　式 I，其中 R^2、R^3、R^4、R^5和/或 R^6是-S(O_2)CH_3

式 I 的制备，其中 R^2、R^3、R^4、R^5和/或 R^6是-S(O_2)CH_3

将 1-(任意取代的甲硫基苯基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮或吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮[即式 I，其中 R^2、R^3、R^4、R^5和/或 R^6是-SCH_3，按反应流程 A(其中 Y 是-C(O)或反应流程 B(其中 Y 是-CH_2-)制备]溶解于合适的溶剂(如甲醇)中，并冷却至约 0 ℃。向该溶液中加入约 3 摩尔当量的氧化剂，例如，过一硫酸钾，即 $2KHSO_5 \cdot KHSO_4 \cdot K_2SO_4$，(该试剂从 Aldrich Chemical Company 买得，商标“OXONE®”)，优选 $2KHSO_5 \cdot KHSO_4 \cdot K_2SO_4$ 的 50 %水溶液。在约室温搅拌反应混合物约 4 小时。通过萃取将所需产物分离并纯化，得到所需的任意取代的 1-(甲磺酰苯基)-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮或-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮〔式 I，其中 R^2、R^3、R^4、R^5和/或 R^6是-S(O_2)-CH_3〕。

反应流程 H

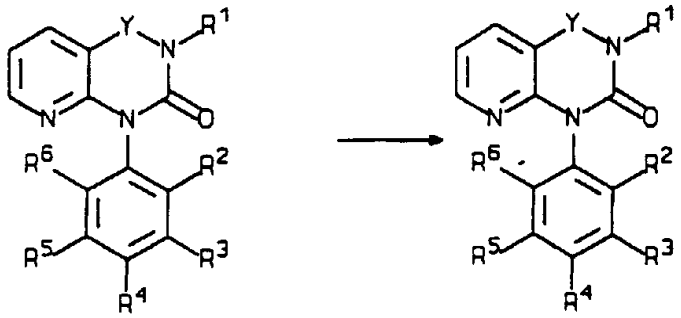


式 I，其中 R^2、R^3、R^4、R^5和/或 R^6是-C(O)-OCH_3　　式 I，其中 R^2、R^3、R^4、R^5和/或 R^6是-CH_2-OH

式 I 的制备、其中 R^2、R^3、R^4、R^5和/或 R^6是-C H_2OH

在惰性气氛下，将 1-(任意取代的甲氧羰基苯基)-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮或吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮[即式 I，其中 R^2、R^3、R^4、R^5和/或 R^6是-C(O)-OCH_3，按反应流程 A(其中 Y 是-C(O)-)或反应流程 B(其中 Y 为-CH_2-)制备]溶解于合适的溶剂(如甲苯，浓度约为 1 mmol/10 ml)中并冷却至-50--100 ℃，优选-78 ℃。在约-78 ℃向该溶液中逐渐加入约 2 摩尔当量的还原剂，例如，二异丁基氢化铝(即 DIBAL)的苯液、硼氢化钠络合物，优选 DIBAL 的苯溶液。30 分钟后，使反应混合物升温至约 0 ℃并加入约 15 摩尔当量的氟化钠和水(约 1 ml/0.3 g 氟化钠)。搅拌该溶液约 5 分钟，使其升温至室温并剧烈搅拌约 30 分钟。然后萃取该反应混合物。从有机相中分取所需的 产物，得到任意取代的 1-(羟甲基苯基)-取代的-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮或-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮(式 I，其中 R^2、R^3、R^4、R^5和/或 R^6是-CH_2OH)。

反应流程 I

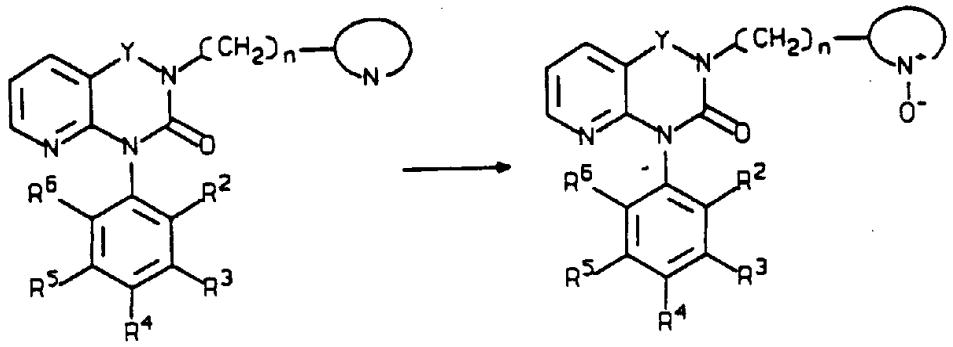


式 I，其中 R^2、R^3、R^4、R^5和/或 R^6是$-NO_2$　　式 I，其中 R^2、R^3、R^4、R^5和/或 R^6是$-NH_2$

<u>式 I 的制备、其中 R^2、R^3、R^4、R^5和/或 R^6是$-NH_2$</u>

将 1-(任意取代的硝基苯基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮或吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮[即式 I，其中 R^2、R^3、R^4、R^5和/或 R^6是$-NO_2$，按反应流程 A(其中 Y 是-C(O)-)或反应流程 B(其中 Y 是$-CH_2-$)制备]溶解于溶剂(如甲醇)中，浓度约为 0.02 mmol/ml 溶剂。还原剂如水合肼和阮内镍试剂等的溶液的制备方法为：将约 1.5 摩尔当量的水合肼、约 1.5 摩尔当量的阮内镍和溶剂(如甲醇)合并，浓度约为 0.02 mmol/ml 溶剂，并将混合物回流 5 分钟。将起始原料溶液滴加至还原剂中，将反应混合物回流 1 小时。过滤反应混合物(通过例如硅藻土或类似物)并用溶剂(如甲醇)洗涤。除去溶剂，通过制备性薄层色谱法进一步纯化产物，得到任意取代的 1-(氨基苯基)-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮或-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1 H, 3H)-酮(式 I，其中 R2、R3、R4、R5 和/或 R^6是$-NH_2$)。

反应流程 J



式 I 的 N-氧化物的制备

将 1-(任意取代的苯基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮或吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮[即式 I,其中 R^7 是 N-杂环芳基,按反应流程 A(其中 Y 是-C(O)-)或反应流程 B(其中 Y 是-CH_2-)制备]溶于合适的溶剂(如二氯甲烷或四氢呋喃)中,并冷却至约 0 ℃。向该溶液中加入约 0.5 摩尔当量的氧化剂，如间氯过氧苯甲酸。在约 0 ℃搅拌反应混合物约 1 小时后,使其升温至室温并搅拌 12-24 小时,优选 18 小时。用 10 摩尔当量(摩尔过量)的合适猝灭剂(如 Na_2SO_3、Na_2CO_3)处理反应混合物，搅拌 1-2 小时，优选约 1.5 小时. 通过过滤从反应混合物中分离出固体的所需产物，将其洗涤并干燥，得到吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮或-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮起始原料的相应的所需 N-氧化物。

式 I 的盐的制备

式 I 的药学上可接受的盐的制备方法为：搅拌下，将式 I 的化合物溶解在合适的溶剂(如甲醇)中，加入 1-3 摩尔当量(优选约 2 摩尔当量)的合适的酸(如盐酸)或碱(如碱土金属的氢氧化物,如氢氧化锂、氢氧化钙、氢氧化钾、氢氧化钠或其类似物；优选氢氧化钠)。

使用对本领域技术熟练者显而易见的方法，通过冻干或沉淀分离该盐。

优选化合物

本发明优选的是其中 Y 是 C(O)，尤其其中 R^7 是吡啶基(特别是 4-吡啶基或 3-吡啶基)，R2、R4、R5 和 R^6 是氢，n 是 1 且 R^3 是吸电子取代基，如卤素(尤其是氯原子)、硝基或甲氧羰基的式 I 化合物。

特别优选的是下列式 I 的化合物:

1-(3-硝基苯基)-3-(3-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮、1-(3-硝基苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]-嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮、1-(3-甲氧羰基苯基)-3-(3-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮、1-(3-甲氧羰基苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮、1-(3-氯苯基)-3-(3-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮以及 1-(3-氯苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2,3- d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮。

优选的方法及最后步骤

优选的用于制备任意取代的 1-芳基-3-(杂环芳基烷基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮或 1-芳基-3-(杂环芳基烷基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮的方法，包括在强碱的存在下，使适当取代的吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮或吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮与适当取代的杂环芳基烷基卤反应。

优选的用于制备任意取代的 1-芳基-3-(2,5-二甲基吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮或 1-芳基-3-(2,5-二甲基吡啶甲

基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮的方法，包括在分子内脱水试剂(如 DIAD/三苯膦的组合物)存在下，使适当取代的吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮或吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮与适当取代的杂环芳基烷基醇反应。

优选的用于制备任意取代的 1-(氨基甲酰基苯基)-3-(杂环芳基烷基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮或 1-(氨基甲酰基苯基)-3-(杂环芳基烷基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮的方法，包括使适当取代的 1-(氰基苯基)-3-(杂环芳基烷基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮或 1-(氰基苯基)- 3-(杂环芳基烷基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮与强酸作用。

优选的用于制备任意取代的 1-(N-烷基氨基甲酰基苯基)-3-(杂环芳基烷基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮或 1-(N-烷基氨基甲酰基苯基)-3-(杂环芳基烷基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮的方法，包括使适当取代的 1-(甲氧羰基苯基)-3-(杂环芳基烷基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮或 1-(3-甲氧羰基苯基)-3-(杂环芳基烷基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮与适当取代的氨基化铝试剂相作用。

优选的用于制备任意取代的 1-(甲亚磺酰苯基)-3-(杂环芳基烷基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮或 1-(甲亚磺酰苯基)-3-(杂环芳基烷基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮的方法，包括使适当取代的 1-(甲硫基苯基)-3-(杂环芳基烷基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮或 1-(甲硫基苯基)-3-(杂环芳基烷基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮与氧化剂作用。

优选的用于制备任意取代的 1-(甲磺酰苯基)-3-(杂环芳基烷基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮或 1-(甲磺酰苯基)-3-(杂环芳

基烷基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮的方法，包括使适当取代的1-(甲硫基苯基)-3-(杂环芳基烷基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮或1-(甲硫基苯基)-3-(杂环芳基烷基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮与氧化剂作用。

优选的用于制备任意取代的1-(羟甲基苯基)-3-(杂环芳基烷基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮或1-(羟甲基苯基)-3-(杂环芳基烷基吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮的方法，包括使适当取代的1-(甲氧羰基苯基)-3-(杂环芳基烷基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮或1-(甲氧羰基苯基)-3-(杂环芳基烷基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮与还原剂作用。

优选的用于制备任意取代的1-(氨基苯基)-3-(杂环芳基烷基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮或1-(氨基苯基)-3-(杂环芳基烷基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮，包括使适当取代的1-(硝基苯基)-3-(杂环芳基烷基)吡啶并[2,3- d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮或1-(硝基苯基)-3-(杂环芳基烷基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮与还原剂作用。

效用、测试和给药

一般效用

本发明的化合物，包括其药学上可接受的盐、酯和醚，以及包含它们的组合物，尤其可用作消炎剂、免疫抑制剂、抗同种移植排斥剂、抗移植物抗宿主疾病剂、抗敏剂(如，哮喘、鼻炎和特异反应性皮炎)、抗自身免疫疾病剂或止痛剂。本发明的化合物起PDE Ⅳ选择性抑制剂的作用，因而能调节cAMP水平。这样，这些化合物可用作治疗与cAMP相关的特别是那些由白细胞cAMP调节的病症或疾病。

例如，炎症、自身免疫疾病、移植物抗宿主疾病和同种移植排斥是由淋巴细胞增生表现出的病症。增生是由特定水平的 cAMP 的存在而触发的。淋巴细胞增长的抑制系通过由淋巴细胞磷酸二酯酶的抑制引起的 cAMP 水平的增加而得以实现。

测试

作为 PDE Ⅳ抑制剂的化合物的效力和选择性由以下测定，例如，实施例 23 所述的方法或其改进确定。

本发明化合物的免疫调节和消炎活性可用多种体外和体内测试方法测定。

对促有丝分裂刺激引起的淋巴细胞增生的抑制可由 Greaves 等，〔“ Activation of human T and B Lymphocytes by polyclondmitogens，”(用多克隆促有丝分裂剂活化人 T 及 B 淋巴细胞)，Nature，248，698-701(1974)〕所述的方法或其改进来测定(参见，实施例 24)。

应答于抗原免疫的淋巴细胞活化的抑制，可按 Wunderlich 等，Nature(1970)，Vol，228，P.62 描述的方法或其改进通过对溶细胞的 T-细胞的抑制作用的测试来进行体外测定。

免疫调节可按 Jerne 的溶血性血小板测定法[Jerne 等，“ The agar plaque technique for recognizing antiobody， producing cells，” Cell-bound Antibodies, Amos, B.和 Kaprowski, H.编 (Wistar Institute Press， Philadelphia)1963， p.109]或其改进来测定(参见实施例 25)。

抗炎活性可由花生酸诱导的鼠耳水肿测定法[Young 等， J. Invest. Derm.， 82:367-371(1 984)]测定(参见实施例 26)。

抗炎活性也可由辅助关节炎测定法[Pearson， C.M.， Proc. Soc. Exp. Biol. Med.， 91:95-101(1956)]或其改进来测定(参见实施例 27)。

治疗自身免疫疾病时的抗自身免疫活性可采用 Theofilopoulos 等人在 Advances in Immunology， Vol 37， 269-390 页中(1985)所述的通过MRL/1pr鼠的存活率或其改进的方法(参见实施例 28)来测定。

止痛活性可按苯醌诱导的小鼠翻滚测定法[Hendershot 等， J. Pharmacol. Exp. Ther.， 125:237-240(1959)]测定(参见实施例 29).

给药

本发明的化合物以治疗有效剂量给药，即，当对需要的哺乳动物给药时，该量足以进行上述治疗(例如，减轻或治疗哺乳动物的炎症、疼痛和/或发热). 在此所述的活性化合物或盐可以以任何可接受的习用的剂型给药。

配方中的药物含量可在本领域技术熟练者的采用的全部范围内变动，如，以配方总量计，约 0.01 重量百分比(% w)到约 99.99 % w 的药物和约 0.01 % w 到 99.99 % w 的赋形剂. 较好的是药物存在量为约 10 % w 到约 70 % w。

通常，可接受的日剂量为每天每千克受药者体重约 0.001 到 50 mg，较好是每天每千克体重约 0.05 到 25mg，而最好是每天每千克体重约 0.01 到 10mg。这样，对 70 kg 的人给药，依据所治疗的各人和病况，剂量为每天约 0.07mg 到 3.5g，较好是每天约 3.5 mg 到 1.75g，而最好是每天约 0.7mg 到 0.7g。这种使用最佳化完全是在本领域普通技术人员所知范围内的。

给药可通过可接受的全身性或局部途径，例如，经非肠道、口服(特别对婴儿配方)、静脉、经鼻、经皮或局部途径，以固体、半固体或液体剂型的形式，例如，片剂、栓剂、丸剂、胶囊剂、粉剂、溶液、悬浮液、气雾剂、乳剂或类似的，较好是适合以精确剂量简单给药的单位剂量形式。组合物可包括常规的药物载体或赋形剂和式 I 的活性化合物，另外，也可包括其它的药剂(medicinal agents)、制药用药剂(pharmaceutical agents)、载体、辅剂等等。载体可选自多种油，包括那些来自石油、动物油、植物油或合成的，例如，花生油、豆油、矿物油、芝麻油、以及类似物。水、盐水、葡萄糖水溶液、和乙二醇类是优选的液体载体，尤其是作为注射液。合适的药物载体包括淀粉、纤维素、滑石粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽、大米、面粉、白垩、硅胶、硬脂酸镁、硬脂酸钠、甘油单硬脂酸酯、氯化钠、干脱脂乳、甘油、丙二醇、水、乙醇、和类似的。其它合适的药物载体及其配方物记述在 E. W. Martin 的“Remington's Pharmaceutical Sciences”中。

如果需要，给药的药物组合物也可包括少量无毒辅剂，如湿润剂或乳化剂、 pH 缓冲剂和类似的，例如，乙酸钠、单月桂酸脱水山梨糖醇酯、三乙醇胺油酸酯，等等。

本发明的化合物通常以药物组合物的形式给药，所述药物组合物包括药物赋形剂与式 I 化合物。配方中的药物含量可在本领域技术熟练者所采用的全部范围内变动，如，以配方总量计，约 0.01 重量百分比(% w)到 99.99 % w 的药物和约 0.01 % W 到 99.99 % w 的赋形剂。较好地，配方物的约 3.5 到 60 % w 为药用活性化合物，其余为合适的药用赋形剂。

静脉给药

业已证实，静脉注射是治疗剂的重要给药途径。本发明的化合物可由此途径给药，例如，通过将化合物、其盐、酯或醚溶解到适当的溶剂(如水或盐水)中或掺入脂质体配方中接着分散在可接受的输注液中。本发明的化合物的典型的每日剂量可通过一次输注或者一系列周期性的间歇输注来给药。

口服给药

口服给药可用于传输式 I 化合物，可采用合适的每日剂量制度，所述每日剂量制度可根据病情程度或对肾的损害程度或对同时服用的其它药物的毒性作用的补偿进行调节。对于这种口服给药，可通过任何通常使用的赋形剂，例如，药用级甘露糖醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、滑石粉、纤维素、葡萄糖、明胶、蔗糖、碳酸镁等的掺和而形成药学上可接受的、无毒的组合物。这种组合物的形式是溶液、混悬液、片剂、丸剂、胶囊剂、粉剂、缓释制剂等。这种组合物可含 0.01wt/wt % 到 99.99wt /wt %，但较好的是含 25wt/wt % 到约 80wt/wt % 的式 I 化合物。

较好地，组合物是胶囊、丸剂或片剂的形式，这样，组合物则包括与活性组分一起的稀释剂如乳糖、蔗糖、磷酸二钙等；崩解剂如淀粉或其衍生物；润滑剂如硬脂酸镁等；以及粘合剂如淀粉、聚乙烯吡咯烷酮、阿拉伯树胶、明胶、纤维素及其衍生物等。就给婴儿口服给药而言，较好的是采用液体配方(如糖浆或悬浮液)。

气雾剂给药

气雾剂给药是一种将治疗药物直接传送至呼吸道的有效的方

法。这种方法的一些优点是：1)减小或避免了胃肠道的酶降解和不易吸收而产生的影响以及肝脏首过效应造成的治疗药物的损失；2)它为那些因为分子大小、电荷或对肺外靶位的亲合性而不能到达在呼吸道的靶位的治疗药物提供了一种给药方法；3)它提供了通过肺泡(aveoli)快速吸收入体内的方法；以及4)它避免其它器官系统暴露于治疗药物，当这种暴露可能引起不需要的副作用时，这是重要的。由于这些原因，气雾剂给药对治疗哮喘、肺部的局部感染和肺部及呼吸道的其它疾病或病况尤其显示其优越所在。

有三种药用吸入装置：喷雾器式吸入器、定量吸入器(MDI)及干粉吸入器(DPI)。喷雾器式装置产生一股高速空气流，它使治疗药物(已被配制成液态)雾状喷入病人的呼吸道。MDI典型地有用压缩气体包装的制剂。启用时，该装置由压缩气体释放出一定量的治疗药物，因而提供了施用固定量药物的可靠方法。MDI使用氯氟烃(CFC)作为压缩气体来抛射治疗药物。近年来，CFC被与地球臭氧层的破坏联系起来。因而，现正在寻找可供选择的对臭氧无威胁的抛射剂，作为CFC的可能替代品。

DPI给予的是自由流动粉末形式的治疗剂，该治疗剂能在患者呼吸时，由装置分散在病人吸入的空气流中。为了得到自由流动粉末，将治疗药物与赋形剂如乳糖一起配制。一定量的治疗药物被以胶囊形式贮备并在每一次启用时给出。使用的DPI的例子有Spinhaler®(用于色甘酸二钠给药)、Rotahaler®(用于舒喘灵给药)和Turbuhaler®(用于硫酸特普他林给药)。所有上述方法都能用于本发明化合物的用药，尤其用于治疗哮喘和其它相似或相关的呼吸道紊乱。

脂质体配方

用脂质体为基的药物配方近来已达到人类临床试验阶段。它们的优点据认为是与由药物的脂质体包裹而产生的体内组织的分布和药物动力学参数的良好变化有关，并且技术熟练者可以将它使用于本发明的化合物。

处方可设计成向着疾病部位的靶药[见:Lopez-Berestein 等， J. Infect. Dis.， 151:704-710(1985)； Gotfredsen 等， Biochemical Pharmacology， 32: 3389-3396(1983)]；或者朝向网状内皮系统的靶药[见 Eppstein 等， Int. J. Immunothera py， 2:115-126(1986)]，以提高药物作用时间[见 Gabizon 等， Cancer Res.， 42: 4734(1982); Eppstein 等，肽类药物的传递系统(Delivery Systems for Peptide Drugs,) S.S. Davis 、 L. Illum 和 E. Tomlinson 编， Plenum Pub. Corp.， New York， PP. 277-283; C.A. Hunt， Biochemica et Biophy sica Acta.， 719:450-463(1982);和 Senior 等， Bioch emica et Biophysica Acta.， 839:1-8(1985)]，或将药物从对它的毒性影响特别敏感的器官转移[见 Weinstein 等， Phar mac， Ther.， 24:207-233(1983)； Olson 等， Eur. J. Canc er Clin. Oncol.， 18:167-176(1982):和 Gabzion 等，同上]。

用于注射或口服给药的控释脂质体液体药用处方记述在美国专利 4,016,100 中。也已有人建议制备冻干的脂质体/肽药物混合物填于肠衣胶囊，用于口服药物传递，参见美国专利 4,348,384 。

栓剂

对于通过栓剂进行全身性给药，传统的粘合剂和载体包括，例如，聚烷基二醇(polyalkaline glycol)或甘油三酯(如， PEG 1000 (96

%)和 PEG 4000(4 %)]。这些栓剂可以用含有约 0.5wt/wt %至约 10wt/wt %，最好为约 1wt/wt %至约 2wt/wt %活性组分的混合物制成。

液剂

可液体给药的药用组合物的制备可以例如通过将上述活性化合物(约 0.5 %至约 20 %)以及任选的药用辅料在载体如水、盐水、葡萄糖水溶液、甘油、乙醇和类似物中溶解、分散等，由此形成溶液或悬浮液。

对本领域那些技术熟练者，制备这些剂量形式的确切方法是已知的或明显的；例如，见 Remington's Pharmaceutical Sciences，Mac k Pubilshing Company，Easton，Pennsylvania，第 16 版，1980。

在任何情况下，给药的组合物应含有药学有效量的活性化合物，以解除按照本发明的教导进行治疗的特定病症。

实施例

下列制备方法和实施例可使那些本领域技术熟练者能更清晰地理解并实施本发明。这些实施例不应被认为是对本发明范围的限定，而是仅作为用作说明的和具有代表性的本发明内容。

实施例 1

2-氯烟酸钾的制备

1.式 2

将 2-氯烟酸(50g，317.5mmol)悬浮于乙醇(1400ml)中。于室温

搅拌下用 30 分钟向该溶液中逐步加入氢氧化钾片(20g，349.5mmol)。搅拌该悬浮液 18 小时，其间先形成透明溶液，接着沉淀出白色固体，即 2-氯烟酸的钾盐。除去四分之三的溶剂。分离出沉淀，用乙醚洗涤，并空气干燥，得到 58g(296.5mmol， 93 %得率)2-氯烟酸钾， mp > 270 ℃。

实施例 2

2-(3-硝基苯胺基)-3-羧基吡啶的制备

2A. 式 4，其中 R^3 是硝基

将 2-氯烟酸钾(89g， 455mmol)悬浮于 630ml 二甲基甲酰胺中。向此悬浮液中加入 3-硝基苯胺(75.3mg， 546mmol)、乙酸铜(5.1g， 25.5mmol)和 N-乙基吗啉(52.3g， 455mmol)。在 N_2 下边搅拌边回流 4 小时。将反应混合物冷却至室温，加入 6M HCl 将 pH 调节至 4 - 5。从反应混合物中分离出黄色沉淀，用水洗并空气干燥，得到 66.3g(256mmol， 56 %得率)2-(3-硝基苯胺基)-3-羧基吡啶， 262-264 ℃。

2B. 其它式 4 化合物的制备，具不同的 R^2-R^6

通过按照实施例 2A 的方法，并用下列化合物替代 3-硝基苯胺，例如:

4-甲基-3-硝基苯胺，

3-氰基苯胺，

苯胺，

3-氯苯胺，

3-甲氧羰基苯胺以及

3-甲硫基苯胺，

3-氨基苯乙酮

得到下列化合物:

2-(4-甲基-3-硝基苯胺基)-3-羧基吡啶,

2-(3-氰基苯胺基)-3-羧基吡啶, mp 246-247 ℃,

2-苯胺基-3-羧基吡啶,

2-(3-氯苯胺基)-3-羧基吡啶,

2-(3-甲氧羰基苯胺基)-3-羧基吡啶,

2-(3-甲硫基苯胺基)-3-羧基吡啶, mp 170-172 ℃, 以及

2-(3-甲基羰基苯胺基)-3-羧基吡啶。

实施例 3

2-(3-硝基苯胺基)-3-氨基甲酰基吡啶的制备

3A. 式 5, 其中 R^3 是硝基

将 2-(3-硝基苯胺基)-3-羧基吡啶(66.3g, 256mmol)悬浮于苯(1100ml)中。边搅拌边向此悬浮液中滴加亚硫酰氯(66.3ml)。将此反应混合物回流 4 小时。趁溶液仍热时,滤除溶液中过量的固体物质。除去溶剂,得到 69.7g(251mmol, 98 %得率)的粗 2-(3-硝基苯胺基)-3-氯甲酰基吡啶(即酰基氯),为固体,将其用于下一步而未进一步纯化。

将 2-(3-硝基苯胺基)-3-氯甲酰基吡啶溶于四氢呋喃(2000ml)中,边搅拌边向反应混合物中滴加 70ml 的 30 % NH_4OH 溶液。室温搅拌反应混合物 18 小时。向混合物中加入水以溶解形成的固体氯化铵。除去四氢呋喃,过滤产生的含水浆液并洗涤,得到黄体固体。将该固体水洗并空气干燥,得到 64.8g(25 0mmol, 99 %得率)2-(3-硝基苯胺基)-3-氨基甲酰基吡啶, mp240-241 ℃。

3B. 其它式 5 化合物的制备

通过按实施例 3A 的方法，并用下列化合物替代 2-(3-硝基苯胺基)-3-羧基吡啶，例如:

2-(4-甲基-3-硝基苯胺基)-3-羧基吡啶，

2-(3-氰基苯胺基)-3-羧基吡啶，

2-苯胺基-3-羧基吡啶，

2-(3-氯苯胺基)-3-羧基吡啶，

2-(3-甲硫基苯胺基)-3-羧基吡啶，

以及

2-(3-甲氧羰基苯胺基)-3-羧基吡啶，

得到下列化合物:

2-(4-甲基-3-硝基苯胺基)-3-氨基甲酰基吡啶，

2-(3-氰基苯胺基)-3-氨基甲酰基吡啶， mp 218-219 ℃，

2-苯胺基-3-氨基甲酰基吡啶，

2-(3-氯苯胺基)-3-氨基甲酰基吡啶，

2-(3-甲氧羰基苯胺基)-3-氨基甲酰基吡啶，以及

2-(3-甲硫基苯胺基)-3-氨基甲酰基吡啶。

3C. 式 5 化合物的制备，其中 Z 是 R^1

将 2-(3-甲基羰基苯胺基)-3-羧基吡啶(2.56, 10mmol)溶于 DMF。在氮气氛下加入苄胺(1.18g， 11mmol)，接着加入 1-羟基苯并三唑(2.7g， 20mmol)和 1-(3-二甲氨基-丙基)-3-乙基碳化二亚胺(3 .83g， 20mmol)。室温搅拌反应混合物 18 小时。边搅拌边加入水/乙酸乙酯(150mL/50mL)的混合物。将二相分离，用水洗涤有机相 3 次，然后用 Na_2SO_4 干燥。滤除 Na_2SO_4，真空除去溶剂。将棕色固体与醚共研，过滤并空气干燥，得到 2.9g 1-(3-甲基羰基-苯胺

基)-3-(苄氨基羰基)吡啶。

实施例 4

1-N-(3-硝基苯基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶

-2, 4-(1H, 3H)-二酮的制备

4A. 式 6，其中 Y 是-C(O)-，R^3是硝基

将 2-(3-硝基苯胺基)-3-氨基甲酰基吡啶(20g， 77.5mmol)溶于四氢呋喃(2000ml)中。将氢化钠(在油中的 60 %分散液)(12.4g，310.0mmol)在己烷中洗涤后加入溶液中。在惰性气氛和室温下搅拌该溶液 5 分钟。向溶液中用 15 分钟逐步加入 CDI(1,1′-羰基二咪唑)(18.8g， 116.2mmol)，室温搅拌产生的混合物 1 小时，接着回流 24 小时。除去溶剂，得到棕色残余物。向残余物中加入水，得到的溶液用乙酸乙酯(5 × 300ml)萃取。将二相分离，蒸发有机相，将产物用 EtOAc/Et_2O 重结晶，得到 12g(42.4mmol， 54.5 %得率)1-(3-硝基苯基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮， mp 262-263 ℃。

4B. 其它式 6 化合物的制备

通过按实施例 4A 的方法，并用下列化合物替代 2-(3-硝基苯胺基)-3-氨基甲酰基吡啶，例如:

1-(4-甲基-3-硝基苯胺基)-3-氨基甲酰基吡啶，

1-(3-氰基苯胺基)-3-氨基甲酰基吡啶，

1-苯胺基-3-氨基甲酰基吡啶，

1-(3-氯苯胺基)-3-氨基甲酰基吡啶，

1-(3-甲氧羰基苯胺基)-3-氨基甲酰基吡啶，以及

1-(3-甲硫基苯胺基)-3-氨基甲酰基吡啶，

得到下列化合物:

1-(4-甲基-3-硝基苯基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮,

1-(3-氰基苯基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮, mp 88-89 ℃,

1-苯基-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮,

1-(3-氯苯基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮,

1-(3-甲氧羰基苯基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮, 以及

1-(3-甲硫基苯基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮,

mp > 280 ℃

实施例 5

1-(3-硝基苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧 啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮的制备

5A. 式 I，其中 Y 是-C(O)-, R^1是 4-吡啶甲基且 R^3是硝基

将 1-(3-硝基苯基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮(12.0g， 42.2mmol)加入到 2 升丙酮中，边搅拌边温热直至形成溶液。向该溶液中加入碳酸钾(23.4g， 169.3mmol)粉末和 4-氯甲基吡啶盐酸盐(10.4g， 63.4mmol)。在回流温度搅拌该溶液 18 小时。趁热过滤溶液。除去四分之三的溶剂，产生沉淀。将溶液冷却至 0 ℃，过滤沉淀。沉淀物用醚洗涤并空气干燥，得到 10.0g(26.6mmol， 63 % 得率)1-(3-硝基苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮， mp 207-209 ℃。

5B. 式 I，具不同的 R^2-R^6

通过按照实施例 5A 的方法，并用下列化合物替代 1-(3-硝基苯基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮，例如:

1-(4-甲基-3-硝基苯基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮,

1-(3-氰基苯基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮,

1-苯基-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)- 二酮,

1-(3-氯苯基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮,

1-(3-甲氧羰基苯基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)- 二酮,

1-(3-甲硫基苯基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮，以及

1-(3-氟苯基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮,

制得下列化合物:

1-(4-甲基-3-硝基苯基)-3-(3-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮， mp 221-222 ℃,

1-(3-氰基苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮， mp 174-176 ℃,

1-苯基-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮， mp 202-203 ℃,

1-(3-氯苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2 ,4(1H,2H)-二酮， mp 196.0-196.6 ℃,

1-(3-甲氧羰基苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮， mp 207-208 ℃,

1-(3-甲硫基苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮， mp 205-206 ℃，以及

1-(3-氟苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮， mp 184.5-185 ℃。

5C. 其它式 I 化合物，具不同的 R^1

通过按照实施例 5A 的方法，并用下列化合物替代 4-氯甲基吡啶盐酸盐，例如:

2-(氯甲基)吡啶，

3-(氯甲基)吡啶，以及

2-(氯甲基)喹啉，

制得下列化合物:

1-(3-硝基苯基)-3-(2-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮， mp 194-195 ℃，

1-(3-硝基苯基)-3-(3-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮， mp 232-234 ℃，以及

1-(3-硝基苯基)-3-(2-喹啉甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮， mp 209-210 ℃。

5D. 其它式 I 化合物，具不同的 R^1 和 R^2-R^6

通过按照实施例 5A 的方法，并用下列化合物替代 4-氯甲基吡啶盐酸盐和 1-(3-硝基苯基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮，例如:

1-(4-甲基-3-硝基苯)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮，以及 3-氯甲基吡啶，

1-(3-氯苯基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮以及 3-(氯甲基)吡啶，以及

1-(3-甲氧羰基苯基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮以及3-(氯甲基)吡啶;

制得下列化合物:

1-(4-甲基-3-硝基苯基)-3-(3-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮, mp 221-222 ℃,

1-(3-氯苯基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮以及3-(氯甲基)嘧啶, 以及

1-(3-甲氧羰基苯基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮以及3 -(氯甲基)吡啶;

得到下列化合物:

1-(4-甲基-3-硝基苯基)-3-(3-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮, mp 221-222 ℃,

1-(3-氯苯基)-3-(3-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮, mp 181-183 ℃, 以及

1-(3-甲氧羰基苯基)-3-(3-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮, mp 188 ℃。

5E. 自式5(Z为R^1)化合物制备式(I)化合物的另一种方法

在氮气氛下边搅拌边将 1-(3-甲基羰基苯胺基)-3-(苄氨基羰基)吡啶(1.0g, 2.9mmol)(如上3C中所述制得)溶于无水THF(100mL)中。用己烷洗涤NaH(0.14g, 3.6mmol)以除去矿物油, 然后将其加入至反应混合物。室温搅拌该混合物30分钟, 一次加入羰基二咪唑(CDI, 0.58g, 3.6mmol)。回流加热该反应物6小时。加入水(50ml), 用乙酸乙酯萃取该混合物。有机相用水和盐水洗涤,用 Na_2SO_4 干燥, 蒸发溶剂, 得到 935mg 未纯化的物质。经硅胶色谱层析的

二次纯化，用乙酸乙酯/已烷(1/1)洗脱，得到 50mg 1-(3-甲基羰基苯基)-3-(苄基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮(4.6 %)， mp218-218.5 ℃。

实施例 6

2-(3-氯苯胺基)-3-氨基甲基吡啶的制备

6A. 式 8，其中 R^3 为氯

将氢化锂铝(4.6g， 121.2mmol)于四氢呋喃(300ml)中的混悬液加热回流。向此回流着的混悬液中缓慢滴加 2-(3-氯苯胺基)-3-氨基甲酰基吡啶(10.0g， 40.4mmol)于四氢呋喃(200ml)中的溶液(例如，如实施例 3B 中所述制得)。搅拌反应混合物 18 小时，冷却至室温。将四氢呋喃和水的溶液(20ml， 50 ： 50)、 20ml 10 % NaOH 和 20 ml 水加入至反应混合物。生成白色沉淀并将其滤除。除去四分之三的溶剂，将残留物萃取至乙酸乙酯(5 × 100ml)中并用其洗涤。溶液用 $MgSO_4$ 干燥后，过滤除去 $MgSO_4$。蒸发溶剂得到 10.3g 2-(3-氯苯胺基)-3-氨基甲基吡啶，为浅黄色油状物，直接使用未进一步纯化。

6B. 其它式 8 化合物的制备

通过按照实施例 6A 的方法，并用其它 2-取代-3-氨基甲酰基吡啶替代 2-(3-氯苯胺基)-3-氨基甲酰基吡啶，可以制备其它 2-取代-3-氨基甲基吡啶。

实施例 7

1-(3-氯苯基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮的制备

7A. 式 9，其中 Y 是-CH_2-且 R^3 是氯

将氢化钠(预先在己烷中洗涤)加入 2-(3-氯苯胺基)-3-氨基甲基吡啶(10.3g， 44.1mmol)于四氢呋喃(200ml)中的溶液中。室温搅拌该混合物 5 分钟。边搅拌边向溶液中逐步加入 1,1′-羰基二咪唑(10.7g， 66.1mmol)，加毕回流溶液 22 小时。除去溶剂，将水加入残余物中。将固体物质萃取入乙酸乙酯中，用水洗并用 $MgSO_4$ 干燥。滤除 $MgSO_4$ 并蒸发溶剂。产物用乙酸乙酯/乙醚重结晶，得到 5.7g(21.9mmol, 50 % 得率)1-(3-氯苯基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮， mp 188-187 ℃，为鞣质状固体。

7B. 其它式 9 化合物的制备

通过按照实施例 7A 的方法，并用其它 2-取代-3-氨基甲基吡啶替代 2-(3-氯苯胺基)-3-氨基甲基吡啶，可以制备其它 1-取代-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮类。

实施例 8

1-(3-氯苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮的制备

8A. 式 I，其中 Y 是-CH_2-， R^1 是 4-吡啶甲基且 R^3 是氯

将氢化钠(在油中的 50 % 分散液)(364mg， 7.6mmol)预先在己烷中洗涤后，加入 1-(3-氯苯基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮(500mg， 1.9mmol)于四氢呋喃(100ml)中的溶液中。室温搅拌该混悬液 5 分钟后，加入 4-氯甲基吡啶盐酸盐。回流该混悬液 18 小时。除去溶剂后，将水加入残余物中。残余物用乙酸乙酯(2 × 25ml)萃取二次。通过制备性薄层色谱层析(乙酸乙酯为洗脱液)纯化该残余物，得到 116mg(0.33mol， 17 % 得率)1-(3-氯苯基)-3-(4-吡啶甲基)

吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮， mp 132-134 ℃，为白色固体。

8B. 式 I，其中 Y 是-CH_2-，具不同的 R^2-R^6。

通过按照实施例 8A 的方法，并用其它 1-取代-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮替代 1 -(3-氯苯基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮，可以制备其它 1-取代-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮类。

8C. 式 I，其中 Y 是-CH_2-，具不同的 R^1

通过按照实施例 8A 的方法，并用下列化合物替代 4-氯甲基吡啶盐酸盐:

3-氯甲基吡啶，

制得下列化合物:

1-(3-氯苯基)-3-(3-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2 (1H, 3H)-酮， mp 179-180 ℃。

实施例 9

2-(3-硝基苯胺基)-3-氨基甲基吡啶的制备

9. 式 8，其中 R^3 是硝基

将 2-(3-硝基苯胺基)-3-氨基甲酰基吡啶(1.8g， 6.9mmol)(例如，如实施例 3A 中所述制得)溶于无水四氢呋喃(20ml)中，于 15 分钟内将其滴加入冷的(0 ℃)1M 甲硼烷的四氢呋喃(16.0ml，16.0mmol)溶液中。回流 8 小时后使反应混合物冷却至室温，滴加 4ml 6N HCl 使其酸化。生成橙色沉淀。将酸性溶液置于冰浴中并用 NaOH 粒(10 粒 ≈ 2.0g)将其中和。该反应是放热的。将浆状物冷却

至 0 ℃，并用乙酸乙酯萃取(5 × 25ml)。合并有机相，用 $MgSO_4$ 干燥，过滤并除去溶剂。得到 1.5g 2-(N-硝基苯胺基)-3-氨基甲基-吡啶，为橙色油状物，直接使用未进一步纯化。

实施例 10

1-(3-硝基苯基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮的制备

10A.式 9，其中 Y 是-CH_2-且 R^3 是硝基

按照实施例 7 的步骤，用 2-(3-氯苯胺基)-3-氨甲基吡啶代替 2-(3-硝基苯胺基)-3-氨甲基吡啶[1.5g(未纯化物)， 6.1mmol)]，制得 1.0g(3.7mmol, 61 %得率)1-(3-硝基苯基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮， mp 236-238 ℃，为棕色固体。

实施例 11

1-(3-硝基苯基)-3-苄基吡啶并[2, 3-d]嘧啶

-2(1H, 3H)-酮的制备

11A.式 I，其中 Y 是-CH_2-且 R^3 是硝基

将 1-(3-硝基苯基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮(300mg，1.1mmol)混悬于丙酮(100ml)中。向此混悬液中加入 K_2CO_3 粉(607mg， 4.4mmol)和苄基溴(282mg， 1.65mmol)。回流该混悬液 18 小时。趁热过滤混悬液，除去未反应的 K_2CO_3。蒸发溶剂，通过制备性薄层色谱层析(用乙酸乙酯洗脱)纯化残余物，得到 104mg(0.289mmol， 26 %得率)1-(3-硝基苯基)-3-苄基吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮(mp 144-145 ℃)，为黄色固体。

11B.式 I，具不同的 R^1

按照实施例 11A 的方法，并用 4-氯甲基吡啶盐酸盐替代苄基溴，得到 1-(3-硝基苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮， mp 169-170 ℃。

实施例 12

1-(3-氯苯基)-3-[5-(2-甲基)吡啶甲基]吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮的制备

5-羟甲基-2-甲基吡啶的制备

将 5-甲氧羰基-2-甲基吡啶(3.0g， 19.8mmol)溶于甲苯(60ml)中并冷却至-78 ℃。向该溶液中滴加 39.7ml 1M 二异丁基氢化铝的甲苯溶液。在-78 ℃搅拌该反应混合物 1 小时，使其升温至室温并再搅拌 18 小时。然后在室温将甲醇滴加入反应混合物中。搅拌该混合物直至生成稠厚的胶状物。将 1N HCl(10ml)加入以溶解该胶状物。分离生成的各相，将有机相萃取入乙酸乙酯中并用 $MgSO_4$ 干燥。除去溶剂，得到未纯化的 5-羟甲基-2-甲基吡啶(540mg)，为油状物，直接使用未进一步纯化。

12A.式 I，其中 R^1 是 5-(2-甲基)吡啶甲基

将 1-(3-氯苯基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮(983mg， 3.59mmol，例如如实施例 4B 中所述制得)溶于四氢呋喃(25ml)中。在惰性气氛和室温下边搅拌边将 5-羟甲基-2-甲基吡啶(540 mg， 3.99mmol)和三苯膦(1.4g， 5.39mmol)加入此溶液中。将偶氮二甲酸二异丙酯即 DIAD(1.1g， 5.39mmol)的四氢呋喃(25ml)溶液滴加入该溶液中。在惰性气氛和室温下搅拌反应混合物 3 小时。除去溶剂，将残余物色谱层析，得到 1.1g(2.9mmol， 81 %得

率)1-(3-氯苯基)-3-[5-(2-甲基)吡啶甲基]吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮， mp 174-175.5 ℃，为白色固体。

12B. 式 I，其中 Y 为-C(O)-，具不同 R^1 和 R^2-R^6

通过按照实施例 12A 的方法，并用下列化合物替代 5-羟甲基-2-甲基吡啶和 1-(3-硝基苯基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2， 4(1H, 3H)-二酮:

5-羟甲基-2-甲氧基吡啶和 1-(3-氯苯基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮,

5-羟甲基-2-甲氧基吡啶和 1-(3-硝基苯基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮，以及

2-氯-4-羟甲基-6-甲基吡啶和 1-(3-硝基苯基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮,

制得下列化合物:

1-(3-氯苯基)-3-[5-(2-甲氧基)吡啶甲基]吡啶并[2,3- d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮， mp 190.8-191.8 ℃,

1-(3-硝基苯基)-3-[5-(2-甲氧基)吡啶甲基]吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮， mp 214.7-216 ℃，以及

1-(3-硝基苯基)-3-[4-(2-氯-6-甲基)吡啶基甲基]吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮， mp 2199.1-200.7 ℃。

12C. 1-(3-氯苯基)-3-[5-(2-羟基)吡啶甲基]吡啶并[2,3- d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮的制备

向磁力搅拌过的 1-(3-氯苯基)-3-[5-(2-甲氧基)吡啶甲基]吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮(120mg， 0.30mmol;按 12B 制备)的

氯仿(5ml)溶液中加入碘化钠(67mg， 0.45mmol)，接着滴加氯化三甲硅烷(48.9mg， 0.45mmol)。回流搅拌该反应混合物 18 小时，然后冷却至室温。加入甲醇(1mL)并在室温搅拌混合物 30 分钟。真空除去溶剂，残余物用硅胶色谱层析，二氯甲烷/甲醇(9 ： 1)洗脱，得到 85mg 1-(3-氯苯基)-3-[5-(2-羟基)吡啶甲基]吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮(74 %得率)，为白色固体， mp 28 1.5-282.0 ℃。

12D.式 I，其中 Y 是$-CH_2-$

通过按照实施例 12A 的方法，并用其它 1-取代-吡啶并[2,3- d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮类替代 1-(3-硝基苯基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮，可以制备其它 1-取代-3-[5-(2-甲基)吡啶并甲基]吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮类。

实施例 13

1-(3-氨基甲酰基苯基)-3-(4-吡啶甲基) 吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮的制备

13A.式 I，其中 R^3 是$-C(O)NR^8R^9$

将 1-(3-氰基苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮(例如按实施例 5B 所述制备， 100mg， 0.3mmol)混悬于 0.2ml 水中，向其中加入 0.9ml 浓硫酸。将混悬液加热至 90 ℃并搅拌 3 小时[由 TLC(薄层层析)监测反应完全与否]。反应结束，混合物通过缓慢加入 10 % Na_2CO_3 溶液(直至石蕊试纸显示 pH 达中性)而淬灭，得到固体。将该固体萃取入乙酸乙酯中，并用 $MgSO_4$ 干燥。除去溶剂，残余物用制备性薄层层析(用乙酸乙酯洗脱)进一步纯化，得到 64mg(0.17mmol， 57 %得率)1-(3-氨基甲酰基苯基)-3-(4-

吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮， mp 244-245 ℃。

13B.式 I，其中 Y 是-C(O)-，具不同的 R^1

通过按照实施例 13A 的方法，并用其它 1-(氰基苯基)-3-取代-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮类替代 1-(氰基苯基)- 3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮，制得其它 1-(氨基甲酰基苯基)-3-取代-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4- -(1H, 3H)-二酮类。

13C. 式 I，其中 Y 是-CH_2-

通过按照实施例 13A 的方法，并用其它 1-(氰基苯基)-3-取代-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮类替代 1-(氰基苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮，可以制得其它 1-氨基甲酰基苯基-3-取代-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮类。

实施例 14

1-(3-氨基甲酰基苯基)-3-(3-吡啶甲基)吡啶并[2， 3- d]嘧啶 -2, 4-(1H, 3H)-二酮的制备

14A. 氨基化甲基铝试剂的制备

将固态氯化铝(81.8g， 1.53mmol)磨碎并用 P_2O_5 干燥。将氯化铵溶于无水甲苯(3ml)中并在惰性气氛和室温下搅拌 30 分钟。在搅拌的同时，将溶液冷却至 5 ℃，并将 2M 三甲基铝的甲苯溶液(0.77ml ， 1.53mmol)缓慢加入溶液中，生成的试剂为氨基化甲基铝。

14B. 式 I，其中 R^3 是-C(O)NR^8R^9

将 1-(3-甲氧羰基苯基)-3-(3-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮(200mg， 0.51mmol)混悬于甲苯(5ml)中。将该混县液加入至甲基铝试剂(实施例 14A 中制得)中。在 80 ℃搅拌该混悬液 5 小时。使反应混合物冷却，用 5 % HCl 淬灭并用饱和 $NaHCO_3$ 中和。蒸发反应混合物，将生成的残余物溶于乙醇并滤除固体盐。除去溶剂，得到约 200mg 粗产物。产物由制备性薄层层析(用 CH_2Cl_2 ： CH_3OH 9 ： 1 洗脱)纯化，得到 80mg(0.21mmol， 42 %得率)1-(3-氨基甲酰基苯基)-3-(3-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮， mp 219-220 ℃。

14C.式 I，其中 Y 是-C(O)-

通过按照实施例 14A 的方法，并用其它 1-(甲氧羰基苯基)-3-取代-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-二酮类替代 1-(3-甲氧羰基苯基)-3-(3-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮，可以制得其它 1-(氨基甲酰基苯基)-3-取代-吡啶并[2,3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-二酮类。

14D.式 I，其中 Y 是-CH_2-

通过按照实施例 14A 的方法，并用其它 1-(甲氧羰基苯基)-3-取代-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-酮类替代 1-(3-甲氧羰基苯基)-3-(3-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮，可以制备其它 1-(氨基甲酰基苯基)-3-取代-吡啶并[2,3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-酮类。

实施例 15

1-(3-N-甲基氨基甲酰基苯基)-3-(3-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮的制备

15A. N-甲基氨基化甲基铝试剂的制备

将 37 % 的浓 HCl(12.6g)溶液滴加入 40 % 一甲胺(7.3ml)水溶液中，剧烈搅拌下将其冷却至 0 ℃。蒸发水溶液，得到甲胺盐酸盐，为白色固体结晶，用 P_2O_5 干燥. 在惰性气氛和室温下将干燥后的结晶粉碎并在甲苯(3ml)中搅拌 30 分钟。将该溶液冷却至 5 ℃，将 2M 三甲基铝的甲苯(0.51ml)溶液缓慢加入搅拌着的溶液中，生成试剂 N-甲基氨基化甲基铝。使该溶液升温至室温。

15B.式 I，其中 R^3 是-C(O)NR^8R^9，其中 R^8 是氢，R^9 是甲基

1-(3-甲氧羰基苯基)-3-(3-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮的混悬液是通过在搅拌下将物料(200mg，0.51mmol)混悬于甲苯(5ml)中而制得。随后将混悬液滴加入 N-甲基氨基化甲基铝试剂(按实施例 15A 制备)中。在 80 ℃搅拌反应混合物 5 小时并使其冷却。然后用 5 % HCl 溶液和水将其淬灭，并用饱和 $NaHCO_3$ 中和(pH7)。蒸发溶剂，将残余物溶于丙酮/乙醇。通过过滤将固体盐从溶液中除去，真空除去余留的溶剂。得到黄色结晶。结晶通过制备性薄层层析纯化，得到 56mg(0.145mmol，28 % 得率)1-(3-N-甲基氨基甲酰基苯基)-3-(3-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮，mp 117 ℃。

15C.式 I，其中 Y 是-C(O)-，具不同的 R^2-R^6 和 R^1

通过按照实施例 15A 的方法，并用其它 1-(甲氧羰基苯基)-3-

取代的-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮替代 1-(3-甲氧羰基苯基)-3-(3-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮，可以制得其它 1-(N-甲基氨基甲酰基苯基)-3-取代-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮类。

15D.式 I，其中 Y 是-CH_2-

通过按照实施例 15A 的方法，并用其它 1-(甲氧羰基苯基)-3-取代-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮类替代 1-(3-甲氧羰基苯基)-3-(3-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮，可以制得其它 1-(N-甲基氨基甲酰基苯基)-3-取代-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮类。

实施例 16

1-(3-N,N′-二甲基氨基甲酰基苯基)-3-(3-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧-2, 4-(1H, 3H)-二酮的制备

16A. 甲基-N,N′-二甲基铝氨化物试剂的制备

将固体二甲胺盐酸盐(83.2mg， 1.02mmol)在惰性气氛下粉碎并用 P_2O_5 干燥。在惰性气氛下将粉碎的结晶在甲苯(3ml)中搅拌 30 分钟，并将其冷却至 5 ℃。将 2M 三甲基铝的甲苯溶液(0.51ml，1.02mmol)缓慢加入该溶液中，在室温搅拌 30 分钟，生成 N,N′-二甲基氨基化甲基铝试剂。

16B. 式 I，其中 R^3是-C(O)-NR^8R^9，其中 R^8和 R^9是甲基

将 1-(3-甲氧羰基苯基)-3-(3-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮(200mg， 0.51mmol)搅拌下混悬于甲苯(5ml)。将悬浮

液缓慢加入 N,N′-二甲基氨基化甲基铝试剂(按实施例 16A 制备)中。将反应混合物搅拌 5 小时，并加热至 80 ℃，冷却至 0 ℃，用 5 % HCl 淬灭并用饱和 $NaHCO_3$ 中和(pH7)。从反应混合物中除去溶剂。将生成的残余物溶于乙醇中，滤除任何残余固体盐。除去乙醇，得到 490mg 未纯化的 1-(3-N,N′-二甲基氨基甲酰基苯基)-3-(3-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮，为浅黄棕色粉末，粗产品通过制备性薄层层析(用乙酸乙酯洗脱)纯化，得到 12 2mg(0.304mmol， 60 %得率)纯产物， mp 87 ℃。

16C.式 I，其中 Y 是-C(O)-

通过按照实施例 16B 的方法，并用不同的 1-(甲氧羰基苯基)- 3-取代的吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮类替代 1-(3-甲氧羰基苯基)-3-(3-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮，可以制备其它 1-(N,N′-二甲基氨基甲酰基苯基)-3-(取代)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮类。

16D. 式 I，其中 Y 是-CH_2-

通过按照实施例 16B 的方法，并用不同的 1-(甲氧羰基苯基)- 3-取代的吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮类替代 1-(3-甲氧羰基苯基)-3-(3-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮，可以制备其它 1-(N,N′-二甲基氨基甲酰基苯基)-3-取代-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮类。

实施例 17

1-(3-甲亚磺酰苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶

-2, 4-(1H, 3H)-二酮的制备

17A.式 I，其中 R^3 是-S(O)-CH_3

将 1-(3-甲硫基苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮(100mg， 0.27mmol)(例如按实施例 5B 所述制备)溶于二氯甲烷(20ml)中并冷却至 0 ℃。将间-氯过氧苯甲酸(45mg，0.27mmol)加入该溶液中。在 0 ℃搅拌溶液 2 小时。然后先用 10 % $NaCO_3$(2ml)后用饱和 $NaHCO_3$(10ml)洗涤该溶液。分离有机相和水相，有机相用 $MgSO_4$ 干燥。除去溶剂，残余物通过制备性薄层层析(用乙酸乙酯洗脱)纯化，得到 51mg(0.13mmol， 48 %得率)1-(3-甲亚磺酰苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4(1H, 3H)-二酮，为白色固体， mp 218-219 ℃。

17B. 式 I，其中 Y 是-C(O)-

通过按实施例 17A 的方法，并用不同的 1-(甲硫基苯基)-3-取代-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮类替代 1-(3-甲硫基苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮，可以制备其它 1-(甲亚磺酰苯基)-3-取代-吡啶并[2, 3-d]嘧 啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮类。

17C. 式 I，其中 Y 是-CH_2-

通过按实施例 17A 的方法，并用不同的 1-(甲硫基苯基)-3-取代一吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮类替代 1-(3-甲硫基苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮，可以制备其它 1-甲亚磺酰苯基-3-取代-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮类。

实施例 18

1-(3-甲磺酰苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮的制备

18A. 式 I，其中 R^3 为-$S(O_2)$-CH_3

将 1-(3-甲硫基苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮(250mg， 0.664mmol)(例如按实施例 5B 中所述制备)溶于甲醇(3ml)并冷却至 0 ℃。向该溶液中，加入 $2KHSO_5 \cdot KHSO_4 \cdot K_2SO_4$ 的 50 %水溶液(该试剂可以从 Aldrich Chemical Company 购得，商标“OXONE®)。混浊的浆状物生成后室温搅拌 4 小时。往反应混合物加水(2.4ml)稀释，并用二氯甲烷(3 × 5ml)萃取三次。合并有机相并用 Na_2SO_4 干燥，然后过滤。除去溶剂，将残余物溶于乙酸乙酯/乙醚。将产物重结晶，得到 190mg (0.465mmol，79 %得率)1-(3-甲磺酰苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮， mp 254-256 ℃，为白色固体。

18B.式 I，其中 Y 是-C(O)-

通过按照实施例 18A 的方法，用不同的 1-(甲硫基苯基)-3-取代-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮类替代 1-(3-甲硫基苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮，可以制备其它 1-(甲磺酰苯基)-3-取代-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4(1H, 3H)-二酮类。

18C.式 I，其中 Y 是-CH_2-

通过按照实施例 18A 的方法，并用不同的 1-(甲硫基苯基)-3-取代-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮类替代 1-(3-甲硫基苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮，可以制备其它 1-(甲磺酰苯基)-3-取代-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮类。

实施例 19

1-(3-羟甲基苯基)-3-(3-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮的制备

19A. 式 I，其中 R^3 是-CH_2OH

在惰性气氛下将 1-(3-甲氧羰基苯基)-3-(3-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮(200mg)溶于甲苯(5ml)中，并冷却至-78 ℃。将 DIBAL-H 即二异丁基氢化铝在甲苯中的 1.0M 溶液(1.0ml，1.0mmol)用 5 分钟时间滴加入其中并在-78 ℃搅拌。30 分钟后，将反应溶液升温至 0 ℃，加入氟化钠(0.3g)和水(1ml)，并搅拌 5 分钟。使该溶液升温至室温并剧烈搅拌 30 分钟。将水(5ml)加入溶液中，分离出有机相并蒸发，得到 45mg 黄色固体(粗产物)。水相再用乙酸乙酯，接着用二氯甲烷萃取。收集有机层并蒸发，得到另 65mg 粗产物。合并粗产物，通过制备性薄层层析进行色谱分离(10 %甲醇的二氯甲烷溶液)，得到 25mg(0.069mmol， 14 %得率)1-(3-羟甲基苯基)-3-(3-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮， mp 197-198 ℃。

19B. 式 I，其中 Y 是-C(O)-

通过按照实施例 19A 的方法，并用不同的 1-(甲氧羰基苯基)- 3-取代-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮类替代 1-(3-甲氧羰基苯基)-3-(3-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮，可以制备其它 1-(羟甲基苯基)-3-取代-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮类。

19C. 式 I，其中 Y 是-CH_2-

通过按照实施例 19A 的方法，并用不同的 1-(甲氧羰基苯基)- 3-取代-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮类替代 1-(3-甲氧羰基苯基)-3-(3-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮，可以制备其它 1-(羟甲基苯基)-3-取代-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮类。

实施例 20

1-(3-氨基苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶

-2, 4-(1H, 3H)-二酮的制备

20A. 式 I，其是 R^3 是-NH_2

将 1-(3-硝基苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮(150mg， 0.4mmol，例如在实施例 5 中制得)溶于甲醇(20ml)。水合肼和阮内镍试剂的制备是通过将水合肼(3ml)加入 150mg 阮内镍(用甲醇洗涤四次)和甲醇(20ml)中而实现的。将该试剂回流 5 分钟，然后滴加起始物料的溶液。将溶液回流 1 小时。溶液在硅藻土上过滤并用甲醇洗涤。除去溶剂，将生成的残余物溶于二氯甲烷，用 $MgSO_4$ 干燥，过滤。除去溶剂，将生成的物质纯化并通过制备性薄层层析(用乙酸乙酯洗脱)分离。除去溶剂，将产物与乙醚共研，得到 73mg(0.26mmol， 66 % 得率)1-(3-氨基苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮， mp246 ℃，为白色结晶。

20B. 式 I，其中 Y 是-C(O)-

通过按照实施例 20A 的方法，并用不同的 1-(硝基苯基)-3-取代-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2(1H, 3H)-酮替代 1-(3-硝基苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮，可以制备其它 1-(氨基苯

基)-3-取代-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1 H, 3H)-二酮类。

20C. 式 I，其中 Y 是-CH_2-

通过按照实施例 20A 的方法，并用不同的 1-(硝基苯基)-3-取代-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-酮类替代 1-(3-硝基苯 基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮，可以制备其它 1-(氨基苯基)-3-取代-吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2 (1H, 3H)-酮类。

实施例 21

1-(3-硝基苯基)-3-(4-吡啶基-N-氧化物-甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮的制备

将 1-(3-硝基苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮(250mg， 0.67mmol，例如在实施例 5 中制得)溶于二氯甲烷(100ml)并冷却至 0 ℃。向该溶液中加入 231mg(0.67m mol)固体间-氯过氧苯甲酸(m-CPBA)。在 0 ℃搅拌该反应混合物 1 小时。使反应混合物升温至室温，再搅拌 18 小时。将 10 % Na_2SO_3 溶液(20ml)加入反应混合物中。室温搅拌混合物 1.5 小时。白色固状乳胶在反应混合物中形成。通过过滤分离出固体，并用饱和 $NaHCO_3$(2 × 10ml)和 H_2O (2 × 10ml)洗涤，空气干燥，得到 220mg(0.56mmol，84 % 得率)1-(3-硝基苯基)-3-(4-吡啶基-N-氧化物-甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮。特征的分析数据是:mp > 270 ℃; H^1-NMR(Me_2SO-d_6) δ 5.12(s,2H),7.39(q,1H)， 7.45(d,J=7.0,2H)，7.85(t,1H)， 7.91(dd,1H)， 8.16(d,J=7.0,2 H)， 8.36(dd,1H)，8.43(t,1H)， 8.50(dd,1H)，和 8.55(dd,1H)。

实施例 22

1-(3-硝基苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮盐酸盐的制备

将 1-(3-硝基苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮(450mg， 1.20mmol，例如在实施例 5 中制备)悬浮于甲醇(5ml)中。向此悬浮液中，加入 5ml 5 % HCl/甲醇溶液。搅拌该悬浮液 45 分钟，其间生成透明溶液。除去溶剂，将残余物与乙醚共研。生成白色沉淀，过滤分离，得到 439mg(1.06mmol， 89 %得率)1-(3-硝基苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶 -2, 4-(1H, 3H)-二酮盐酸盐(mp 265-270 ℃)。

实施例 23

对 PDE Ⅳ的抑制效力和选择性的测定

制备人血小板磷酸二酯酶(PDE Ⅲ)

按照在先前描述的记述于 Mol. Pharmacol. 20 ： 302-309， Alvarez， R.、 Taylor， A.、 Fazarri， J.J.和 Jacobs， J.R.(1981)中的方法可从人血中得到血小板高亲合性 cAMP PDE(PDE Ⅲ)。

把血液收集到抽真空的盛有 EDTA(7.7mM，最终浓度)的试管中。在聚碳酸酯试管中在 4 ℃以 200 × g 离心血液 15 分钟可得到 PRD。将血小板球丸混悬于一定体积的含有 1mM $MgCl_2$ 的缓冲剂 A (0.137M NaCl， 12.3mM N-三羟甲基氨基甲烷(Tris)-HCl 缓冲剂， pH 7.7)中。将低渗溶解化了的血小板混悬液在48， 000 × g 离心 15 分钟，保留上清液。将用干冰冷冻球丸并迅速在 22 ℃解冻。将上清液与球丸混合，所得混悬液在 48， 000 × g 离心 30 分钟。上清液部分以 0.5ml 等分在-20 ℃贮存，用作可溶性 PDE。通过用

10mM 冷的 pH7.7 的 Tris-HCl 缓冲剂稀释，将酶活性调整至在培养 10 分钟后 10-20 % 水解。

制备人淋巴细胞磷酸二酯酶(PDE Ⅳ)

在 7 % CO_2 下在含 L-谷氨酰胺和 10 % 的 Nu-血清的 RPMI 1640 液中，37 ℃培养人 B 细胞系(43D)。在测试前，约 1.5 × 18^8 的细胞在台式临床用(table top clinical)离心机中以 1000rpm 离心 10 分钟。将球丸再混悬于 2-3ml 的 45mM pH7.4 Tris-HCl 缓冲剂中。将混悬液均匀化并在 4 ℃以 12,000 × g 离心 10 分钟。用 Tris-HCl 缓冲液将上清液稀释至 28ml，并直接用于测定或在-20 ℃贮藏。DMSO 在 PDE 培养基中的最终浓度为 1 %。在每个测试(10 和 100μM)中都用硝喹宗(Nitraquazone)作为参考标准。

人血小板 cAMP 磷酸二酯酶的测定

磷酸二酯酶培养基含有 10mM pH7.7 Tris-HCl 缓冲剂、10mM $MgSO_4$、0.1-1 μ M [^{3}H]-AMP(0.2μCi)，总体积为 1.0ml。在加入酶后，将内容物混合并在 30 ℃培养 10 分钟。将试管浸没于沸水浴中 90 秒以终止反应。将试管在冰水浴中冷却后，往每个试管中加入 0.1ml(100μg)取自蛇毒的 5′-核苷酸酶(Crotalus atrox，Sigma V-7000)。将内容物混合并在 30 ℃培养 30 分钟。核苷酸酶反应是由将试管浸于沸水浴中 60 秒来终止的。按照 Anal.Biochem.，52：505-516 (1973)，Filburn，C.R.和 Karn，J.中描述的方法用氧化铝柱分离出带标记的腺苷。测定重复进行三次。cAMP 水解范围在 10-20 %。将测试化合物溶于 DMSO 中。当用达 0.1mM 的化合物测试时，DMSO 在磷酸二酯酶测定中的最终浓度为 1 %，当以化

合物增至 1mM 测试时， DMSO 浓度为 10 %，将这个活性与对照的 PDE 在 10 % DMSO 存在下的活性作比较。

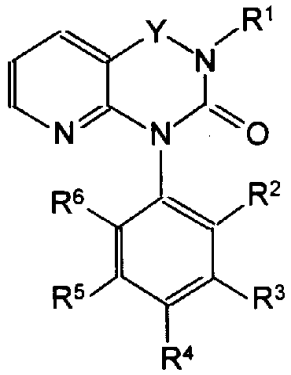
人淋巴细胞 cAMP 磷酸二酯酶的测定

磷酸二酯酶培养基含有 40mM pH7.7 的 Tris-HCl 缓冲剂、0.1mM $MgSO_4$ 、 3.75mM 巯基乙醇和 0.1-1.0μM [^{3}H] cAMP (0.2μCi)，总体积为 1.0ml 。反应按照前面所用的对人血小板 PDE 的方法进行。 DMSO 最终浓度为 1 %。

用人血小板 cAMP 磷酸二酯酶测定和人淋巴细胞 cAMP 磷酸二酯酶测定进行测试时，本发明的代表性化合物显示出对 PDE Ⅳ的抑制效力和选择性。

对人淋巴细胞 PDE Ⅳ的抑制

化合物 I	IC_{50}:	0.00026μM
化合物 II	IC_{50}:	0.00028μM
化合物 III	IC_{50}:	0.026μM
化合物 IV	IC_{50}:	0.00094μM



化合物 I 是式(I)的化合物，其中 Y 上-C(O)-， R^7 是 3-吡啶甲

基，R^3是硝基，R^2、R^4、R^5和R^6是氢；

化合物II是式(I)的化合物，其中Y是-C(O)-，R^7是4-吡啶甲基，R^3是硝基，R^2、R^4、R^5和R^6是氢；

化合物III是式(I)的化合物，其中Y是-C(O)-，R^7是4-吡啶基-N-氧化物-甲基，R^3是硝基，且R^2、R^4、R^5和R^6是氢；

化合物IV是式(I)的化合物，其中Y是-C(O)-，R^7是4-吡啶甲基，R^3是氯，且R^2、R^4、R^5和R^6是氢。

实施例24

用人外周血淋巴细胞对促细胞分裂剂的反应来测定免疫抑制活性。

本方法是最初由Greaves等描述的方法“用多克隆促有丝分裂剂活化人类T及B淋巴细胞”[“Activation of human T and B lymphocytes by polyclonal mitogens，)” Nature，248，698-701 (1974)]的改进。

在水溶性聚蔗糖(Ficoll-Paque)(Pharmacia 公司产品)中通过用密度梯度离心，从抗凝血化(肝素化)的全血中分离出人单核细胞(PBL)。洗涤后，将5 × 10^4细胞/孔在微量滴定板中与补充了1 %人血清、庆大霉素、碳酸氢钠、2-巯基乙醇、谷酰胺、非必需氨基酸和丙酮酸钠的最小必需培养基一起培养。促细胞分裂剂伴刀豆球蛋白A(Sigma)的使用浓度为2 μ g/ml。试验材料以10^{-4}到10^{-10}M浓度试验，在0时加入至培养基中。设四份培养物并在37 ℃在含5 % CO_2的潮湿气氛中培养48小时。在最后4小时每孔另加入1.0μCi的^{3}H-胸苷。用带自动收集器的玻璃纤维过滤器收集细胞并用标准闪烁法测定放射性。作图确定对促细胞分裂刺激的50 %抑制浓度

(“IC_{50}”)。

用这种方法测试时，本发明的代表性化合物显示出免疫抑制活性。

化合物Ⅰ、Ⅱ和Ⅳ的免疫抑制活性

	人 PBL 增殖 ED_{50}
化合物Ⅰ	0.005 μM
化合物Ⅱ	0.003 μM
化合物Ⅳ	0.01 μM

实施例 25

用溶血斑形成细胞测试法测定免疫抑制活性

该方法是“用于识别产生抗体的细胞的琼脂斑技术”，是首先由 Jerne 等氏所叙述的[Cell-boundAntibodies， A mos 和 Kaprowski 编(Wistar Institute Press， Philadelp hia， 1963).p.109]的改进。

用 1.25×10^8 羊血红细胞(SRBC)敏化每组 5-6 只成年 C3H 雌性小鼠，并同时用试验物质在水性载体中的口服剂处理。对照组的动物接受同样体积的载体。接种 SRBC 四天后，将脾脏在玻璃均浆器中分散。测定有核细胞(WBC)的数目，并将脾细胞混悬液与 SRBC、豚鼠补体和 0.5 %的琼脂溶液混合。将上述混合物的各等分部分(每个 0.1ml)滴加到一个培养平皿的四个隔开的四分之一圆上并盖上盖玻片。在 37 ℃培养两小时后，用解剖显微镜计算斑形成细胞(PFC)周围的溶血区域。对每只鼠脾计算总的 WBC/脾、PFC/脾和 PFC/10^6WBC(PPM)。然后与载体处理的对照组比较，计算

各处理组的几何平均值。

用这种方法测试时，本发明代表性化合物显示出免疫抑制活性。

化合物Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ和Ⅳ的免疫抑制活性

	免疫 PFC ED_{50}
化合物Ⅰ	> 30mg/kg
化合物Ⅱ	2mg/kg
化合物Ⅲ	2mg/kg
化合物Ⅳ	10mg/kg

实施例 26

用花生四烯酸诱发的鼠耳浮肿(AAEE)测定消炎活性

本方法是 Young 等，J.Invest，Derm，82:367-371(1984)所描述的方法的改进。

对 23-27g 的雌性 Charles River ICR 鼠用 0.2ml 试验物质给药。然后在耳部对鼠局部施加 20μl 花生四烯酸进行激发 1 小时后，测定直径 8mm 圆耳片的重量。计算耳塞重量的平均增加值。具消炎活性的物质能抑制耳塞重量增加。

当用这种方法测试时，本发明的代表性化合物显示出消炎活性。

化合物Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ和Ⅳ的抗炎活性

	AAEE ED_{50}
化合物Ⅰ	0.15mg/kg

化合物 II	0.02mg/kg
化合物 III	0.02mg/kg
化合物 IV	0.2mg/kg

实施例 27

用佐剂诱发小鼠关节炎测定抗炎活性

该方法是最初由 C.M.Pearson 在 Proc.Soc.Exp.Biol.Med.，91：95-101(1956)中描述的方法的改进。

在第 0 天在体重 160-180g 的白化的雌性 Charles River 鼠的尾部近 1/4 处皮下注射 0.1ml 加热灭活的乳酪分支杆菌在石蜡油中的悬浮液(10mg/ml)。从第一天开始，每天一次将在水性载体中的试验物质口服给药(0.5ml/剂量)，给药 17 天。在第 18 天，采用评分体系测定四脚足趾和尾的肿胀程度，四只爪的肿胀各评 0-4 分，尾的肿胀评 0-3 分，总分最大值为 19。

当采用这种测试方法时，本发明的代表性化合物显示出抗炎活性。

实施例 28

用 MRL/lpr 鼠的存活率测定对自身免疫疾病的活性

使 MRL/lpr 鼠患上以肾小球性肾炎、关节炎、动脉炎和淋巴组织增生为特征的多系统疾病。患这种疾病的小鼠的存活时间大约是不患病的 MRL/n 鼠的三分之一。如 Theofiolpoulos 等人在 Advances in Immunology，37：269-390(1985)中所述，这些鼠具有高的自身抗体发生率，而病程可看作是自身免疫性的。

本发明的代表性化合物显著延长了 MRL/lpr 鼠的寿命。

实施例 29

用苯基醌诱发的小鼠翻滚法(stretch)测定止痛活性

该方法是 Hendershoot 等人在 J.Pharmacol.Exp.Ther., 125 : 237-240(1959)中所述的方法的改进。

将在水性载体中的试验物质对每组 8 只的雌性 CD-1 鼠口服给药。在施用试验物质后的不同时间，由腹腔用药 0.25ml 0.02 % 的苯基醌溶液。在施用苯基醌十分钟内，记录每只鼠翻滚的次数。由平均翻滚数的抑制程度确定止痛活性。

采用这种方法试验时，本发明的代表性化合物显示出止痛活性。

实施例 30

胶囊剂配方

本实施例举例说明用于口服给药的含式 I 活性化合物如 1-(3-硝基苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮的代表性药用配方的制备。

组　　分	用量(mg/胶囊)
活性化合物	200mg
喷雾干燥过的乳糖	148mg
硬脂酸镁	2mg

将上述组份混合并装入硬壳明胶胶囊中。

其它式 I 的化合物，如按照实施例 1-22 制备的活性物，也可在实施例的可口服配方的制备中用作活性化合物。

实施例 31

口服剂配方

本实施例举例说明含式 I 活性化合物如含 1-(3-氯苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮的代表性药物配方的制备。

制备含以下组分的口服给药的混悬液:

组　分	数量
活性物质	1.0g
富马酸	0.5g
氯化钠	2.0g
对羟基苯甲酸甲酯	0.1g
粒状糖	25.5g
山梨糖醇(70 % 溶液)	12.85g
Veegum (硅酸铝镁) K(Vanderbilt 公司产品)	1.0g
香味剂	0.035mL
着色剂	0.5mg
蒸馏水	加至 100mL

其它式 I 的化合物，如那些实施例 1-22 中制备的，也可用作制备本实施例的口服给药配方物中的活性化合物。

实施例 32

片剂配方

本实施例举例说明含活性式 I 化合物如 1-(3-硝基苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2 ,4(1H, 3H)-二酮的代表性药物配方物

的制备。

制备具有以下组分的口服给药的片剂:

组　分	含量(mg/片)
活性物质	400mg
玉米淀粉	50mg
乳糖	145mg
硬脂酸镁	5mg

将上述组分紧密混合并压制成单沟片。

其它式I化合物，如那些按照实施例1-22制备的，也可用作制备本实施例的片剂配方物的活性化合物。

实施例33

注射剂的配方

本实施例举例说明含有式I活性化合物如1-(3-氯苯基)-3-(4-吡啶基甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮的代表性药物配方物的制备。

制备具有以下组分的注射剂:

组　分	数量
活性化合物	0.2g
水(蒸馏过的、灭菌的)	加水至20.0mL

其它式I化合物，如那些按照实施例1-22制备的也可用以制备本实施例的注射给药配方的活性化合物。

实施例 34

栓剂配方

本实施例举例说明含有式 I 活性化合物如 1-(3-硝基苯基)-3-(4-吡啶甲基)吡啶并[2, 3-d]嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮的代表性药物配方物的制备。

制备具有以下组分的总重 2.5g 的栓剂:

组　分	数量
活性物质	500mg
Witepsol H-15*	加至 2.5g

(*饱和植物脂肪酸的甘油三酯; 纽约州纽约市 Riches-Nelson 公司产品)。

其它式 I 的化合物, 如那些按实施例 1-22 制备的, 也可用作制备本实施例的栓剂配方物的活性化合物。

毒理学

品种:	小鼠
化合物:	化合物 I
剂量:	3 到 25mg/kg/天
给药持续时间	2 星期
结论	在试验的剂量水平未出现死亡

Ames 试验(体外沙门氏菌诱变性(Salmonella mutagenicity)试验)阴性。