



〔12〕发明专利申请公开说明书

〔21〕 申请号 91109006.1

〔51〕 Int.Cl⁵

C07C 49 / 76

〔43〕 公开日 1992 年 4 月 1 日

〔22〕申请日 91.9.18

〔30〕优先权

〔32〕90.9.20 〔33〕US 〔31〕585,759

〔71〕申请人 默里尔多药物公司

地址 美国俄亥俄州

〔72〕发明人 罗伯特·J·迪涅恩坦

杰福瑞·斯遂芬·萨博尔

凯思·阿林·迪科马

〔74〕专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
代理部

代理人 黄革生

A61K 31 / 12

说明书页数: 40 附图页数: 1

〔54〕发明名称 钙摄入抑制剂

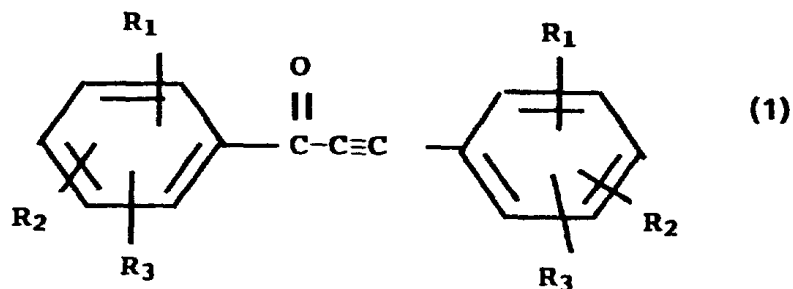
〔57〕摘要

本发明涉及 1-苯基-3-苯基-2-丙炔-1-酮, 这些化合物在白细胞和血小板中作为钙摄入抑制剂的应用, 以这些化合物作为活性成分的药物组合物, 以及它们的制备方法。

<20>

权 利 要 求 书

1. 式 (1) 化合物或其可药用的盐:



其中

R_1 、 R_2 和 R_3 各自独立, 为氢; $C_1 - C_6$ 烷基; $C_1 - C_6$ 烷氧基; 卤素; $-N(Y_1)(Y_2)$, 其中 Y_1 和 Y_2 各自为氢或 $C_1 - C_6$ 烷基; 或 $X_z - (Ar) - (CH_2)_n - O -$, 其中 Ar 为苯基或萘基, $n = 0$ 或 1 , $X = C_1 - C_6$ 烷氧基或 $-N(Y_1)(Y_2)$, 其中 Y_1 和 Y_2 的定义同前, $z = 0, 1, 2$ 。

2. 根据权利要求 1 的化合物, 其中化合物为 1-苯基-3-(3, 4, 5-三甲氧基苯基)-2-丙炔-1-酮。

3. 根据权利要求 1 的化合物, 其中化合物为 1-苯基-3-[3-(4-甲氧基苄氧基)苯基]-2-丙炔-1-酮。

4. 根据权利要求 1 的化合物, 其中化合物为 1-苯基-3-[(4-苄氧基)苯基]-2-丙炔-1-酮。

5. 根据权利要求 1 的化合物, 其中化合物为 1-(3, 4,

5-三甲氧基苯基)-3-苯基-2-丙炔-1-酮。

6. 根据权利要求1的化合物，其中化合物为1-苯基-3-苯基-2-丙炔-1-酮。

7. 根据权利要求1的化合物，其中化合物为1-苯基-3-(3-苄氧苯基)-2-丙炔-1-酮。

8. 根据权利要求1的化合物，其中化合物为1-(4-二甲氨基苯基)-3-(3-苄氧苯基)-2-丙炔-1-酮。

9. 根据权利要求1的化合物，其中化合物为1-(3-苄氧苯基)-3-(3-苄氧苯基)-2-丙炔-1-酮。

10. 根据权利要求1的化合物，其中化合物为1-苯基-3-(4-乙氧基苄氧基)苯基)-2-丙炔-1-酮。

11. 根据权利要求1的化合物，其中化合物为1-苯基-3-(4-(二甲氨基)苄氧基)苯基)-2-丙炔-1-酮。

12. 抑制患者白细胞中钙摄入的方法，它包括给患者服用钙摄入有效抑制量的权利要求1化合物。

13. 根据权利要求12的方法，其中患者患有免疫疾病。

14. 根据权利要求12或13的方法，其中患者患有类风湿性关节炎。

15. 根据权利要求12的方法，其中患者有免疫血管炎。

16. 根据权利要求12的方法，其中患者有炎性疾病。

17. 根据权利要求12的方法，其中患者有中性白细胞皮肤病。

18. 抑制患者血小板中钙摄入的方法，它包括给患者服用钙

摄入有效抑制量的权利要求 1 化合物。

19 . 根据权利要求 18 的方法，其中患者有心血管疾病。

20 . 根据权利要求 18 的方法，其中患者有心肌梗塞。

21 . 根据权利要求 18 的方法，其中患者有局部缺血损伤。

钙摄入抑制剂

本发明涉及1-苯基-3-苯基-2-丙炔-1-酮，这些化合物作为白细胞和血小板中钙摄入抑制剂的应用，以这些化合物作为活性成分的医药组合物，及其制备方法。

多形核白细胞（白细胞）提供了抵御微生物感染的基本方式。对入侵微生物的反应可激活细胞氧化过程（产生羟基自由基）和非氧化过程（消化酶；髓过氧化物酶；弹性蛋白酶等），以有效地杀伤微生物。然而，白细胞对外来攻击的反应也可造成对宿主组织的破坏，并在许多非感染性疾病状态的发病机理中起着重要作用。

白细胞具有各种各样的机制，使之能够产生由细胞表面受体发起的对外来攻击的反应。受体激活或总体细胞激活导致细胞生理学的改变，进而使其自身变为“被激活的”。激活的细胞内信号分子常常被称为第二信使，而第一信使则是细胞外激活配基本身。

许多细胞中的主要第二信使之一是钙离子（ Ca^{+2} ）。已知细胞表面受体产生细胞内钙信号有两种方式。其一是激活磷脂酶C。该酶产生三磷酸肌醇，后者又可在细胞内释放储存的钙。另外，细胞受体可开放或关闭闸门控制的离子通道，以使钙从细胞外进入。胞浆膜中的 Ca^{+2} 通道是两种类型的：（1）由小的瞬变离子流简单地改变跨膜电压时而激活的电压敏感性钙通道，或（2）由受体配基直接打开的受体操纵通道。第一种机制主要在电压敏感性细胞

如神经元和肌肉细胞中发挥作用。许多细胞，如白细胞，基本上都不是电压敏感性细胞，但具有功能上与胞浆膜上受体敏感性 Ca^{+2} 通道相联的细胞表面受体。对某些配基的连接即可激活这些受体，从而打开通道并使 Ca^{+2} 进入细胞溶质，然后在其中发挥第二信使作用。

当细胞被激活时，即相当于 Ca^{+2} 流入，细胞内结合 Ca^{+2} 的结构即依赖它们对钙的相对亲和性和特异性，对这些改变起反应。少数 Ca^{+2} 依赖性蛋白质是已知的。已发现并鉴定了特征的第一种蛋白质是见于电活性骨骼肌细胞中的肌钙蛋白C。后来发现的钙结合蛋白质是普遍存在于电压和受体敏感性细胞内的调钙蛋白。在许多细胞蛋白质中，已知由调钙蛋白以 Ca^{+2} 依赖方式调节的是某些形式的环核苷酸磷酸二酯酶和腺苷酸环化酶、以及膜结合的钙依赖性ATP酶、磷酸化酶激酶、肌球蛋白轻链激酶，并知道了它们与有丝分裂器之纺锤体和肌动蛋白丝之维管束的联系。虽然还不知道那些钙依赖性或受 Ca^{+2} 依赖性酶影响之蛋白质的总数，但已明确的是，钙作为激活这些过程的手段是必不可少的。

当白细胞被激活时，可发生许多在导致细胞内钙介导的疾病状态中起重要作用的过程。例如白细胞。主要是嗜中性白细胞，被认为在下列疾病的症状和宿主组织损伤中起组成作用：痛风、类风湿性关节炎、免疫性脉管炎、肾小球肾炎、肠道炎性疾病、成人呼吸窘迫综合症、肺气肿、哮喘、与溶血有关的热损伤以及慢性炎症部位的恶性肿瘤（Malech and Gallin, 1987）。因此，可望抑制白细胞中的钙摄入，以缓碍或减慢这

此与钙摄入有关的免疫和炎性疾病的进程。

白细胞中 Ca^{+2} 摄入和免疫与炎性疾病的改善也可扩展到那些与皮肤和真皮组织有关的疾病。包括于所列的那些局部相关炎性疾病中的是与皮肤和真皮有关的疾病，它们包括中性白细胞皮肤病、慢性皮炎、牛皮癣、接触性皮炎、特应性和脂溢性皮炎，以及痤疮。

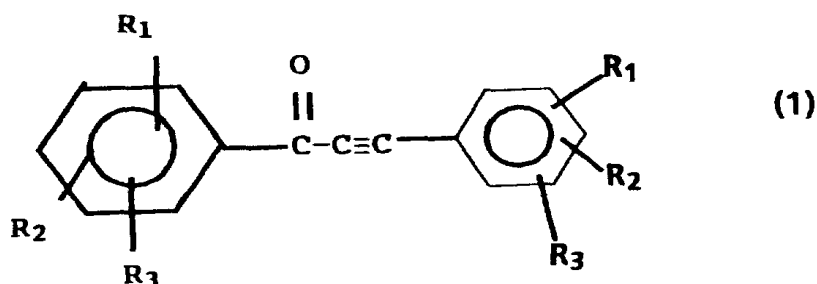
钙也是血小板中的重要介导体，其中已知 Ca^{+2} 是血液凝固之固有途径中必要的介导体。例如，已经知道在血液凝固过程和血栓形成中需要 Ca^{+2} ，且如果加入螯合剂如 EDTA，柠檬酸盐或草酸盐结合 Ca^{+2} ，这可在体外并在某种程度上在体内抑制这些过程。已认识到 Ca^{+2} 是血纤维蛋白溶解级联的必要成分，并且是在治疗上调整纤维蛋白溶解反应的活性机制。

血小板的基本功能之一是在血管损伤部位发挥的，在其中它们形成凝块聚集物以封闭伤口。这一反应也可有许多有害的副作用，例如在局部缺血再灌注期间，血栓形成可导致动脉阻塞，进而引起心肌梗死。因此在许多情况下期望抑制血小板中 Ca^{+2} 的摄入，以控制血栓溶解反应。

Ca^{+2} 借助各种形式受体介导的激活作用或释放细胞内储存进入细胞溶质中，是与白细胞激活和血小板聚集的某些细胞活动严格相关的。改变 Ca^{+2} 迁移的途径提供了一种调节白细胞和血小板反应的机制。因此，可以期望用抑制 Ca^{+2} 迁移的化合物来缓解与白细胞激活有关的 Ca^{+2} 依赖性疾病过程，抑制免疫和炎性疾病及解决某些血栓溶解状态中与血小板凝集有关的问题。

本发明涉及新的 1-苯基-3-苯基-2-丙炔-1-酮衍生物，它们可用作与急、慢性炎性和免疫性疾病，包括皮肤和真皮组织的相关疾病有关的白细胞中钙摄入的抑制剂。最后，本发明还涉及使用 1-苯基-3-苯基-2-丙炔-1-酮衍生物治疗心血管系统的钙依赖性病理过程，包括血栓溶解系统的疾病。

本发明涉及式 (1) 的化合物或其医药上可接受的盐：



其中

R_1 、 R_2 和 R_3 各自独立，为氢原子； $C_1 - C_6$ 烷基； $C_1 - C_6$ 烷氧基；卤素； $-N(Y_1)(Y_2)$ ，其中 Y_1 和 Y_2 各自独立，为氢原子或 $C_1 - C_6$ 烷基；或 $Xz - (Ar) - (CH_2)_n - O -$ ，其中 Ar 为苯基或萘基， $n = 0$ 或 1 ， $X = C_1 - C_6$ 烷氧基或 $-N(Y_1)(Y_2)$ ，其中 Y_1 和 Y_2 的定义同上， $z = 0, 1, 2$ 。

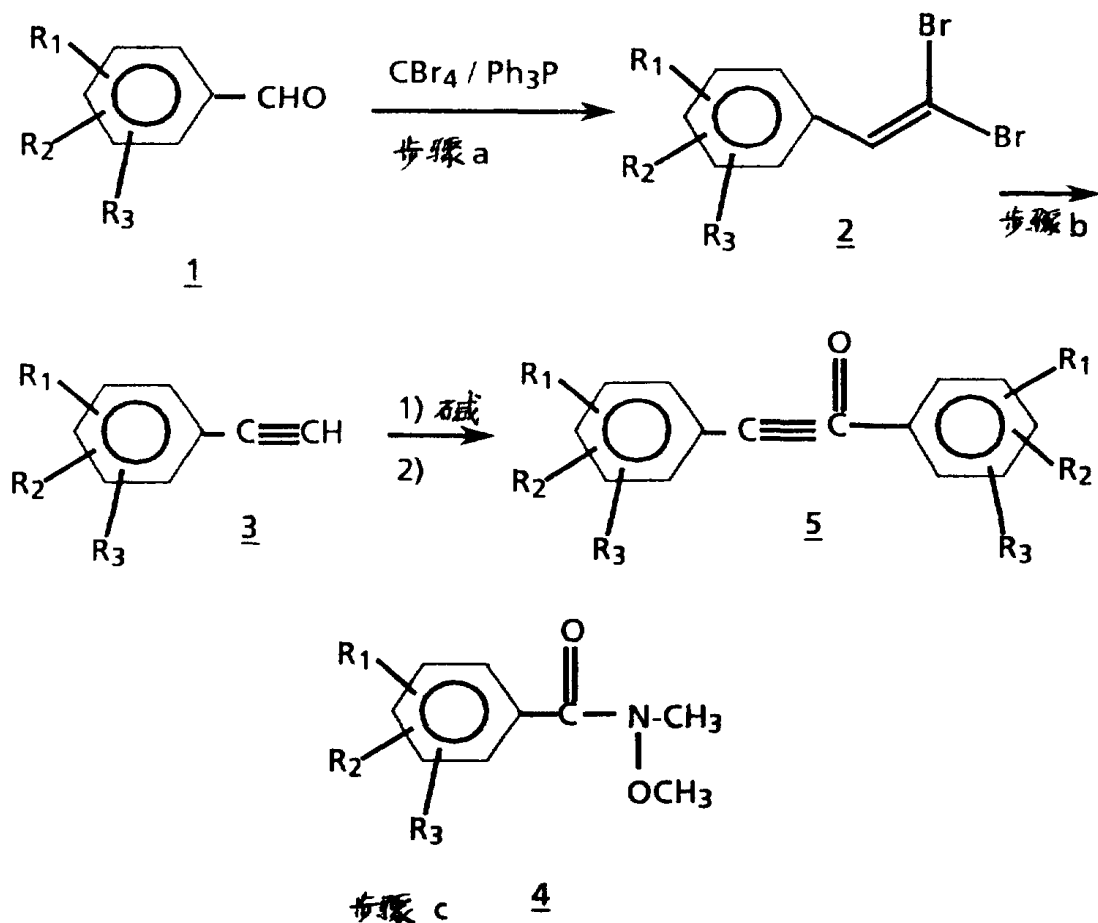
本发明也提供了一种抑制患者中钙摄入的方法，它包括给患者服用治疗上有效抑制量的式 (1) 化合物。

这里所用的术语“ $C_1 - C_6$ 烷基”是指具有 1-6 个碳原子的直链或支链饱和烃基。包括在这一术语范围内的是甲基、乙基、

正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、正己基等。术语“C₁-C₆烷氧基”是指甲氧基、乙氧基、丙氧基等。应当了解的是，术语X^z-(Ar)-(CH₂)_n-O-具体包括苄氧基、(4-甲氧基苄氧基、(4-二甲氨基)苄氧基等。术语“卤素”指氟、氯、溴或碘原子。

可利用本领域普通技术人员已知和熟悉的方法和技术来制备式(1)化合物。制备式(1)化合物的总的合成路线如反应路线A所示，其中除非另有说明，所有取代基均是前面所定义的。

反应路线A



一般来说，可按照反应路线A的三步方法制备结构5的1-苯基-3-苯基-2-丙炔-1-酮。

在步骤a中，可通过将结构式1适当的苯甲醛化合物与四溴化碳和三苯膦在合适的非质子传递溶剂如二氯甲烷中反应而制备适当的2'，2'-二溴苯乙烯（结构2）。

在步骤b中，可通过将适当的2'，2'-二溴苯乙烯化合物（结构式2）与非亲核碱如正丁基锂在合适的非质子传递溶剂如四氢呋喃中反应而制备合适的苯乙炔化合物（结构式3）。

在步骤c中，可通过以下步骤制备合适的1-苯基-3-苯基-2-丙炔-1-酮化合物（结构式5）：首先，在合适的非质子传递溶剂如四氢呋喃中，将合适的苯乙炔化合物（结构式3）与非亲核碱如正丁基锂、六甲基二硅氮烷基锂或二异丙基酰胺锂反应，然后将所产生的相应乙炔化锂与合适的N-甲氧基-N-甲基苯甲酰胺（Weinreb试剂）（结构式4）反应而产生相应的1-苯基-3-苯基-2-丙炔-1-酮化合物（结构式5）。

或者，通过将步骤b和步骤c合并而制备合适的1-苯基-3-苯基-2-丙炔-1-酮化合物（结构式5）。例如，可将步骤b获得的合适的乙炔化锂化合物直接用于与合适的N-甲氧基-N-甲基苯甲酰胺（Weinreb试剂）（结构式4）反应而产生相应的1-苯基-3-苯基-2-丙炔-1-酮化合物（结构式5）。

本领域普通技术人员很容易得到用于反应路线A所示总体合成方法的起始物。例如，Tetrahedron Letters, 22

(3 9) , 3 8 1 5 - 1 8 (1 9 8 1) 中提到某些N-甲氧基-N-甲基苯甲酰胺。

以下实施例代表了反应路线A所述的典型合成方法。这些实施例应该被看作是仅用于说明本发明,而不是以任何方式限制本发明的范围。以下术语的意思为:“g”指克;“mmol”指毫摩尔;“mol”指摩尔;“ml”指毫升;“bp”指沸点;“℃”指摄氏度;“mmHg”指毫米汞柱;“mp”指熔点;“mg”指毫克;“μmol”指微摩尔;“μg”指微克。

实施例 1

1-苯基-3-(3,4,5-三甲氧苯基)-2-丙炔-1-酮

步骤 a : 3,4,5-三甲氧基-2',2'-二溴苯乙烯
将四溴化碳(3.32 g, 10 mmol)和二氯甲烷(7 ml)混合并冷却至 0℃。滴加三苯膦(5.24 g, 20 mmol)的二氯甲烷(7 ml)溶液,并于 0℃搅拌 30 分钟。滴加 3,4,5-三甲氧基苯甲醛(0.981 g, 5 mmol)的二氯甲烷(10 ml)溶液。移去冰浴并于室温搅拌 30 分钟。倒入硅胶上并且 5%乙酸乙酯/己烷洗脱。真空蒸发掉溶剂后得到 1.57 g 标题化合物。

步骤 b 和步骤 c : 1-苯基-3-(3,4,5-三甲氧苯基)-2-丙炔-1-酮

将 3,4,5-三甲氧基-2',2'-二溴苯乙烯

(1.57 g, 4.46 mmol) 和四氢呋喃 (15 ml) 置于氩气环境下并冷却至 -78°C 。滴加正丁基锂 (于己烷中的 5.85 ml 1.6 M 溶液, 9.36 mmol) 并于 -78°C 搅拌 1 小时。移去冷却浴并于室温下搅拌 1 小时。冷却至 -78°C , 加入 N-甲氧基-N-甲基苯甲酰胺 (1 ml, 6.6 mmol)。移去冷却浴, 于室温搅拌 45 分钟。在乙醚和水之间分配后分离出有机相, 干燥并真空蒸发溶剂后产生固体。经重结晶 (1:2 氯仿/己烷) 后得到 0.48 g 标题化合物; mp $158-160^{\circ}\text{C}$ 。

实施例 2

1-苯基-3-[3-(4-甲氧基苄氧基)苯基]-2-丙炔-1-酮

步骤 a: 3-(4-甲氧基苄氧基)-2', 2'-二溴苯乙烯

混合 3-羟基苯甲醛 9.269 g, 22 mmol)、对-甲氧基苄基氯 (2.71 ml, 20 mmol)、碳酸钾 (3.04 g, 22 mmol)、碘化钠 (1.5 g, 10 mmol) 和丙酮 (60 ml)。回流加热 16 小时, 然后冷却至室温并真空除去溶剂, 产生固体残渣。将其在乙醚和 6% 氢氧化钠之间分配, 分离有机相, 并滤掉其中任何不溶性固体。经干燥 (MgSO_4)、过滤和真空蒸发溶剂后得到一固体。再经用己烷浆化该固体、过滤和风干后得到 4.10 g (84.6%) 3-(4-甲氧基苄氧基)苯甲醛; mp $78-81^{\circ}\text{C}$ 。

混合四溴化碳 (10.61 g, 32 mmol) 和二氯甲烷 (15 ml), 将其置于氩气环境下并冷却到 0 °C。滴加三苯膦 (16.77 g, 64 mmol) 的二氯甲烷 (15 ml) 溶液并于 0 °C 搅拌 30 分钟。滴加 3-(4-甲氧基苄氧基) 苯甲醛 (3.88 g, 16 mmol) 的二氯甲烷 (15 ml) 溶液。移去冰浴, 于室温下搅拌 1 小时。倒入硅胶上之后用 5% 乙酸乙酯/己烷洗脱。真空蒸发溶剂后产生一固体。经用己烷淤浆化、过滤和风干后产生 3.8 g (第一收获物) 和 0.405 g (第二收获物) 标题化合物; mp 76–79 °C。

步骤 b: 3-(4-甲氧基苄氧基) 苯乙炔

将正丁基锂 (于己烷中的 9 ml 2.5 M 溶液, 22.5 mmol) 和四氢呋喃 (50 ml) 置于氩气环境下, 并在干冰/丙酮浴中冷却。加入 3-(4-甲氧基苄氧基)-2', 2'-二溴乙烯 (4.25 g, 10.7 mmol) 的四氢呋喃溶液并于低温下搅拌 1 小时。移去冷却浴, 于室温下搅拌 1 小时。将黄色溶液倒入氯化铵饱和溶液中并萃取至乙醚。经分离有机相、干燥 (MgSO₄)、过滤和真空蒸发溶剂后得到一固体。再经重结晶 (己烷/氯仿) 后得到 1.73 g 标题化合物; mp 92–95 °C。

步骤 c: 1-苯基-3-[3-(4-甲氧基苄氧基) 苯基]-2-丙炔-1-酮

将六甲基二硅氮烷基锂 (于四氢呋喃中的 2 ml 1 M 溶液, 2 mmol) 和四氢呋喃 (8 ml) 置于氩气环境下并冷却至

0℃。加入3-(4-甲氧基苄氧基)苯乙炔(0.48 g, 2 mmol)的四氢呋喃溶液,并将该棕色溶液于0℃搅拌45分钟。加入N-甲氧基-N-甲基苯甲酰胺(0.4 g, 2.4 mmol),移去冷却浴后,于室温搅拌1小时。于乙醚和水之间分配混合物,分离出有机相并干燥(MgSO₄)。经过滤和真空蒸发溶剂后,产生一油状物。再经硅胶过滤和10%乙酸乙酯/己烷洗脱后产生粗固体。最后经重结晶(己烷,乙醚)后产生0.26 g(第一收获物)和0.15 g(第二收获物)标题化合物;mp 79-80℃。

实施例3

1-苯基-3-[(4-苄氧基)苯基]-2-丙炔-1-酮
步骤a: 4-苄氧基-2', 2'-二溴乙烯

将四溴化碳(3.32 g, 10 mmol)和二氯甲烷(7 ml)混合后,置于氩气环境下,并冷却至0℃。滴加三苯膦(5.24 g, 20 mmol)的二氯甲烷(7 ml)溶液,并于0℃搅拌30分钟。滴加4-苄氧基苯甲醛(1.06 g, 5 mmol)的二氯甲烷(10 ml)溶液。移去冷却浴后,于室温下搅拌2小时。倒入硅胶中并用5%乙酸乙酯/己烷洗脱。真空蒸发掉溶剂后产生1.68 g(91%)标题化合物。

步骤b和c: 1-苯基-3-[(4-苄氧基)苯基]-2-丙炔-1-酮

将4-苄氧基-2', 2'-二溴苯乙烯(1.68 g,

4.56 mmol) 和四氢呋喃 (15 ml) 置于氩气环境下, 并冷却至 -78°C 。滴加正丁基锂, 并于 -78°C 搅拌 45 分钟。移去冷却浴后, 于室温下搅拌 1 小时。然后将黄色溶液冷却至 -78°C , 并加入 N-甲氧基-N-甲基苯甲酰胺 (1 ml, 6.6 mmol)。移去冷却浴, 于室温下过夜搅拌, 在乙醚和水之间分配后分离有机相, 并干燥 (MgSO_4)。过滤和真空蒸发掉溶剂后产生固体。再经重结晶 (己烷/氯仿) 后产生 0.76 g 标题化合物; mp $122-124^{\circ}\text{C}$ 。

实施例 4

1-(3, 4, 5-三甲氧基苯基)-3-苯基-2-丙炔-1-酮

于室温下, 将 3, 4, 5-三甲氧基苯甲酰氯 (2.3 g, 10 mmol) 和 N,O-二甲基羟胺盐酸盐 (1.10 g, 11 mmol) 溶于无乙醇的氯仿中。冷却该溶液至 0°C 后加入吡啶 (1.85 g, 22 mmol)。室温下搅拌 1 小时并真空蒸发掉溶剂。残余物在氯化钠和乙醚与二氯甲烷的 1:1 混合物中分配。分离有机相, 经干燥 (MgSO_4) 和真空蒸发溶剂后产生一油状物。通过硅胶过滤油状物并用 65% 乙酸乙酯/己烷洗脱后产生 2.5 g N-甲氧基-N-甲基-(3, 4, 5-三甲氧基) 苯甲酰胺。

将六甲基二硅氮烷基锂 (于四氢呋喃中的 3 ml 1M 溶液, 3 mmol) 和四氢呋喃 (10 ml) 置于氩气环境下并冷却至

0℃。加入苯乙炔(0.33 ml, 3 mmol)后,于0℃搅拌30分钟。加入N-甲氧基-N-甲基-(3,4,5-三甲氧基)苯甲酰胺(0.76 g, 3 mmol),然后移去冷却浴,并于室温搅拌1小时。在乙醚和氯化钠饱和水溶液间分配后分离出有机相,并干燥(MgSO₄)。过滤并真空蒸发溶剂后将其倒入硅胶中。经用20%乙酸乙酯/己烷洗脱后得到一粗固体。通过重结晶(己烷/乙酸乙酯)得到0.31 g 标题化合物。mp 94-96℃。

实施例5

1-苯基-3-苯基-2-丙炔-1-酮

将二异丙酰胺锂(于环己烷中的10 ml 1.5 M溶液)和四氢呋喃(40 ml)置于氩气环境下,并冷却至0℃。滴加苯乙炔(1.65 ml, 15 mmol),然后移去冷却浴,并于室温下搅拌30分钟。所得黄色溶液冷却至0℃后滴加N-甲氧基-N-甲基苯甲酰胺(3.04 ml, 20 mmol)。移去冷却浴,并于室温下搅拌30分钟。然后将其倒入乙醚和水中,分离出有机相并干燥(MgSO₄)。经过滤和真空蒸发溶剂后得到一油状物。通过硅胶层析(2%乙酸乙酯/己烷)纯化和通过蒸馏进一步纯化后得到1.9 g 标题化合物;bp 210℃(真空中)。

实施例6

1-苯基-3-(3-苄氧基苯基)-2-丙炔-1-酮

步骤 a：3-苄氧基-2', 2'-二溴乙烯

将四溴化碳 (16.6 g, 50 mmol) 和二氯甲烷 (25 ml) 置于氩气环境下, 并冷却至 0 °C。滴加三苯膦 (26.2 g, 0.1 mol) 的二氯甲烷 (25 ml) 溶液, 并于 0 °C 搅拌 30 分钟, 再滴加 3-苄氧基苯甲醛 (5.31 g, 25 mmol) 的二氯甲烷 (50 ml) 溶液。移去冷却浴后, 于室温下搅拌 1 小时。然后将其倒入硅胶 (600 ml) 中, 并用 5% 乙酸乙酯/己烷进行洗脱, 得到 7.4 g (80.4%) 标题化合物。

步骤 b：3-苄氧基苯乙炔

将 3-苄氧基-2', 2'-二溴苯乙炔 (8.2 g, 22.3 mmol) 和四氢呋喃 (70 ml) 置于氩气环境下, 并冷却至 -70 °C。滴加正丁基锂 (于己烷中的 18.7 ml 1.5 M 溶液, 47 mmol)。于 -70 °C 搅拌 1 小时后再于室温下搅拌 1 小时。然后将其倒入乙醚和水中, 分离有机相并干燥 (MgSO₄)。过滤并真空蒸发溶剂, 再经过制备性液体层析 (2% 乙酸乙酯/己烷) 纯化后得到 2.73 g 标题化合物。

步骤 c：1-苄基-3-(3-苄氧基苯基)-2-丙炔-1-酮

将六甲基二硅氮烷基锂 (于四氢呋喃中的 15 ml 1 M 溶液, 15 mmol) 和四氢呋喃 (75 ml) 置于氩气环境下, 并用冰-水浴冷却。滴加 3-苄氧基苯乙炔 (3.13 g, 15 mmol) 的四氢呋喃溶液。于 0 °C 搅拌 45 分钟后滴加 N-甲氧基-N-甲基苯甲酰胺 (2.45 ml, 16 mmol)。移去冷

却浴并于室温下搅拌 1 小时。于乙醚和水之间分配后，分离有机相并干燥（ MgSO_4 ）。过滤和真空蒸发溶剂后得到一粗固体。经重结晶（己烷/乙酸乙酯）后得到 2.67 g（57%）标题化合物；mp 75–77 °C。

实施例 7

1-苯基-3-[3-(4-乙氧基苄氧基)苯基]-2-丙炔-1-酮

步骤 a：3-(4-乙氧基苄氧基)-2', 2'-二溴苯乙烯

将 4-乙氧基苯甲醛（3.3 g，22 mmol）、硼氢化钠（830 mg，22 mmol）和无水乙醇（25 ml）混合。于室温下进行搅拌，直至反应完全。然后将其倒入稀盐酸中并萃取至乙酸乙酯。分离出有机相，并且乙酸乙酯（2 X）萃取水相。合并有机相并干燥（ MgSO_4 ）。经真空蒸发溶剂和硅胶层析纯化后得到 4-乙氧基苄醇。

于四氢呋喃（25 ml）中混合 4-乙氧基苄醇（3.35 g，22 mmol）、3-羟基苯甲醛（2.69 g，22 mmol），三苯膦（5.8 g，22 mmol）和二乙基氮杂二羧酸酯（3.83 g，22 mmol）。于室温下在无水环境中搅拌至反应完成。真空浓缩溶液并用少量乙醚稀释。滤掉所有沉淀，并在真空下浓缩滤液。经硅胶层析纯化后得到 3-(4-乙氧基苄氧基)苯甲醛。

将四溴化碳 (10.61 g, 32 mmol) 和二氯甲烷 (15 ml) 混合后, 置于氩气环境, 并冷却至 0 °C。滴加三苯膦 (16.77 g, 64 mmol) 的二氯甲烷 (15 ml) 溶液后, 于 0 °C 搅拌 30 分钟。再滴加 3-(4-乙氧基苄氧基) 苯甲醛 (4.10 g, 16 mmol) 的二氯甲烷 (15 ml) 溶液。移去冷却浴后于室温下搅拌 1 小时。然后将其倒入硅胶上, 并用 5 % 乙酸乙酯/己烷洗脱。真空蒸发溶剂后得到标题化合物。

步骤 b: 3-(4-乙氧基苄氧基) 苯乙炔

将正丁基锂 (于己烷中的 9 ml 2.5 M 溶液, 22.5 mmol) 和四氢呋喃 (50 ml) 置于氩气环境下, 并在干冰/丙酮浴中冷却。加入 3-(4-乙氧基苄氧基)-2', 2'-二溴苯乙烯 (4.41 g, 10.7 mmol) 的四氢呋喃溶液, 于低温下搅拌 1 小时。移去冷却浴并于室温下搅拌 1 小时。倒入饱和氯化铵水溶液中并萃取至乙醚中。分离有机相, 经干燥 (MgSO₄)、过滤和真空蒸发溶剂后得到标题化合物。

步骤 c: 1-苯基-3-[3-(4-乙氧基苄氧基) 苯基]-2-丙炔-1-酮

将六甲基二硅氮烷基锂 (于四氢呋喃中的 2 ml 1 M 溶液, 2 mmol) 和四氢呋喃 (8 ml) 置于氩气环境下并冷却至 0 °C。加入 3-(4-乙氧基苄氧基) 苯乙炔 (0.51 g, 2 mmol) 的四氢呋喃溶液, 并于 0 °C 搅拌该溶液 45 分钟。加入 N-甲氧基-N-甲基苯甲酰胺 (0.4 g, 2.4 mmol), 移去冷却浴, 于室温下搅拌 1 小时。于乙醚和水之间分配混合物后

分离出有机相并干燥 (MgSO₄)。经过滤和真空蒸发溶剂后得到一油状物。再经硅胶过滤和用 10% 乙酸乙酯/己烷洗脱后得到粗固体物。最后经硅胶层析纯化后得到标题化合物。

实施例 8

1-苯基-3-[3-(4-(二甲氨基)苄氧基)苯基]-2-丙炔-1-酮

步骤 a: 3-(4-(二甲氨基)苄氧基)-2', 2'-二溴苯乙烯

将 4-二甲氨基苯甲醛 (3.3 g, 22 mmol)、硼氢化钠 (830 mg, 22 mmol) 和无水乙醇 (25 ml) 混合, 于室温下搅拌直至反应完全。然后将其倒入稀盐酸中并萃取至乙酸乙酯。分离有机相, 并用乙酸乙酯 (2 X) 萃取水相。合并有机相并干燥 (MgSO₄)。经真空蒸发溶剂和硅胶层析纯化后得到 4-(二甲氨基)苄醇。

于四氢呋喃 (925 ml) 中混合 4-(二甲氨基)苄醇 (3.35 g, 22 mmol)、3-羟基苯甲醛 (2.69 g, 22 mmol)、三苯膦 (5.8 g, 22 mmol) 和二乙基氮杂二羧酸酯 (3.83 g, 22 mmol)。于室温下在无水环境中搅拌至反应完成。真空浓缩溶液并用少量乙醚稀释。过滤掉所有沉淀物, 并真空浓缩滤液。经硅胶层析后得到 3-(4-(二甲氨基)-苄氧基)苯甲醛。

将四溴化碳 (10.61 g, 32 mmol) 和二氯甲烷

(15 ml) 混合后置于氩气环境下，并冷却至 0 °C。滴加三苯膦 (16.77 g, 64 mmol) 的二氯甲烷 (15 ml) 溶液，并于 0 °C 搅拌 30 分钟。然后滴加 3-(4-(二甲氨基)苄氧基)苯甲醛 (4.10 g, 16 mmol) 的二氯甲烷 (15 ml) 溶液。移去冷却浴，并于室温下搅拌 1 小时后，将其倒入硅胶中并用 5% 乙酸乙酯/己烷洗脱。经真空蒸发溶剂后得到标题化合物。

步骤 b: 3-(4-(二甲氨基)苄氧基)苯乙炔

将正丁基锂 (于己烷中的 9 ml 2.5 M 溶液) 和四氢呋喃 (50 ml) 置于氩气环境下并于干冰/丙酮浴中冷却。加入 3-(4-(二甲氨基)苄氧基)-2', 2'-二溴苯乙烯 (4.41 g, 10.7 mmol) 的四氢呋喃溶液，于低温下搅拌 1 小时。移去冷却浴后于室温下搅拌 1 小时。然后将其倒入氯化铵饱和水溶液中并萃取至乙醚。分离出有机相，经干燥 (MgSO₄)、过滤和真空蒸发溶剂后得到标题化合物。

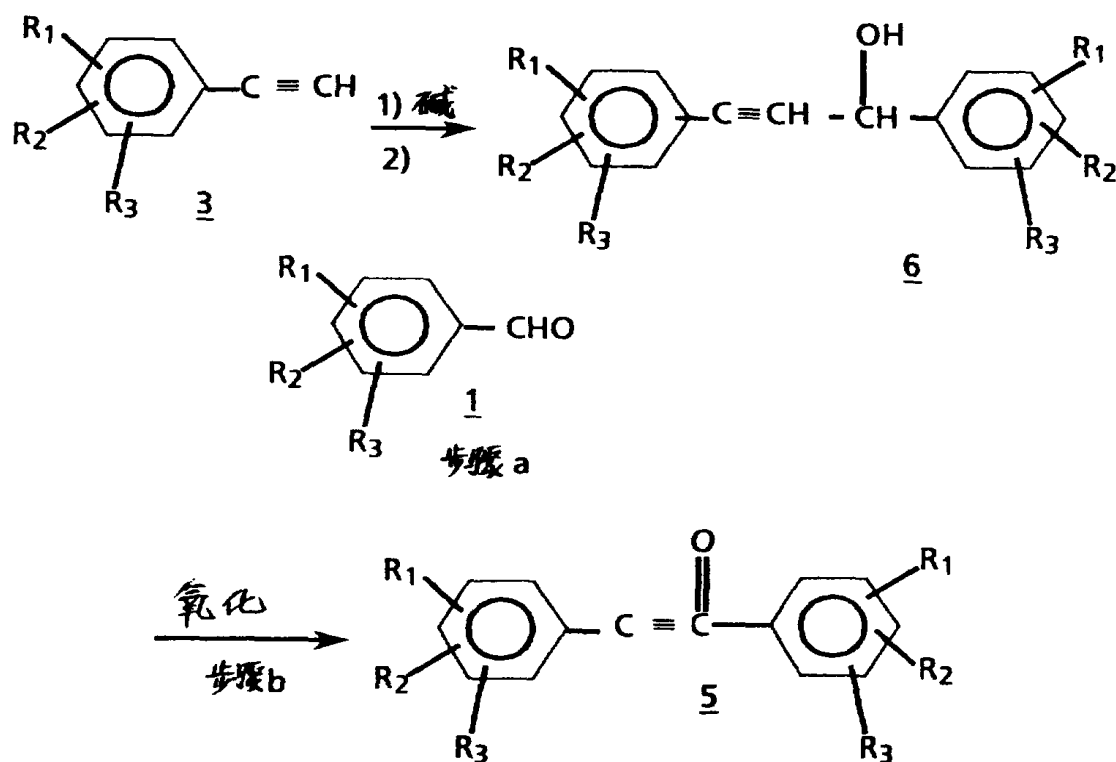
步骤 c: 1-苯基-3-[3-(4-(二甲氨基)苄氧基)苯基]-2-丙炔-1-酮

将六甲基二硅氮烷基锂 (于四氢呋喃中的 2 ml 1 M 溶液，2 mmol) 和四氢呋喃 (8 ml) 置于氩气环境下并冷却至 0 °C。加入 3-(4-(二甲氨基)苄氧基)苯乙炔 (0.51 g, 2 mmol) 的四氢呋喃溶液，并于 0 °C 搅拌溶液 45 分钟。加入 N-甲氧基-N-甲基苯甲酰胺 (0.4 g, 2.4 mmol) 后移去冷却浴，并于室温下搅拌 1 小时。于乙醚和水中分配混合物，分离有机相并干燥 (MgSO₄)。过滤和真空蒸发溶剂后得到一

油状物。再经硅胶过滤和用10%乙酸乙酯/己烷洗脱后得到粗固体。最后经硅胶层析纯化后得到标题化合物。

或者，按照反应路线B所提出的方法制备式(1)化合物，其中所有的取代基均如前所述(除非另有说明)。

反应路线B



一般地，可按照两步法用合适的结构式3苯乙炔化合物(反应路线A)来制备1-苯基-3-苯基-2-丙炔-1-酮化合物(结构式5)。

在步骤 a 中，结构式 6 的合适 α -[(苯基) 乙炔] 苯甲醇化合物可通过以下方式制备：首先，于合适的非质子传递溶剂如四氢呋喃中将合适的结构式 3 苯乙炔化合物与非亲核碱如正丁基锂、六甲基二硅氮烷基锂或二异丙酰胺锂反应而生成相应的乙炔化锂，然后将其与合适的结构式 1 苯甲醛化合物反应，而产生合适的结构式 6 α -[(苯基) 乙炔] - 苯甲醇化合物。

在步骤 b 中，利用本领域普通技术人员所已知和熟悉的方法和技术，将合适的结构式 6 α -[(苯基) 乙炔] - 苯甲醇化合物氧化成相应的 1 - 苯基 - 3 - 苯基 - 2 - 丙炔 - 1 - 酮化合物 (结构式 5)。例如，可利用 S w e r n 氧化反应 (二甲基亚砷、草酰氯和三苯膦)、在合适非质子传递溶剂如二氯甲烷中的重铬酸吡啶鎓氧化反应或在合适非质子传递溶剂如二氯甲烷中的锰酸钡氧化反应，将合适的结构式 6 α -[(苯基) 乙炔基] 苯甲醇化合物氧化成相应的结构式 5 1 - 苯基 - 3 - 苯基 - 2 - 丙炔 - 1 - 酮化合物。

本领域普通技术人员易于获得反应路线 B 所示整个合成方法中所使用的起始物。

以下实施例代表了典型的反应路线 B 所述合成方法。应当了解，这些实施例用于说明本发明，而不以任何方式限制本发明的范围。

实施例 9

1 - (4 - 二甲氨基苯基) - 3 - (3 - 苄氧基苯基) - 2 -

丙炔-1-酮

步骤 a: 1-(4-二甲氨基)- α -(3-苄氧基苯基)乙炔基-1-苯甲醇

将六甲基二硅氮烷基锂(于四氢呋喃中的 3 ml 1 M 溶液, 3 mmol)置于氩气环境下,并冷却至 0℃。加入 3-苄氧基苯乙炔(0.62 g, 3 mmol)(见实施例 6)的四氢呋喃(20 ml)后于 0℃搅拌 1 小时。再加入 4-二甲氨基苯甲醛(0.42 g, 2.8 mmol)的四氢呋喃溶液。移去冷却浴后于室温下搅拌 1 小时。然后将其倒入乙醚和水中,分离有机相并真空蒸发溶剂。经硅胶过滤、25%乙酸乙酯/己烷洗脱和真空蒸发溶剂后得到 0.58 g 标题化合物。

步骤 b: 1-(4-二甲氨基苯基)-3-(3-苄氧基苯基)-2-丙炔-1-酮

混合 1-(4-二甲氨基)- α -(3-苄氧基苯基)乙炔基-1-苯甲醇(0.55 g, 1.5 mmol)、重铬酸吡啶盐(0.75 g, 2 mmol)和二氯甲烷 9.15 ml)。于室温下搅拌 4 小时。用乙醚(100 ml)稀释并过滤固体。蒸发溶剂并结晶(己烷/乙醚)残余的油状物。再经重结晶(己烷/氯仿)后得到 0.1 g 标题化合物; mp 134-136℃。

实施例 10

1-(3-苄氧基苯基)-3-(3-苄氧基苯基)-2-丙炔-1-酮

步骤 a : 1-(3-苄氧基)- α -[(3-苄氧基苯基)乙炔基]-苯甲醇

将六甲基二硅氮烷基锂(于四氢呋喃中的 1.5 ml 1 M 溶液, 1.5 mmol)置于氩气环境下, 并冷却至 0 °C。加入 3-苄氧基苯乙炔(0.31 g, 1.5 mmol)(见实施例 6)的四氢呋喃(10 ml)溶液后, 于 0 °C 搅拌 1 小时。再加入 3-苄氧基苯甲醛(0.32 g, 1.5 mmol)的四氢呋喃溶液。移去冷却浴后于室温下搅拌 1 小时。将其倒入乙醚和水中, 分离有机相并真空蒸发溶剂。经硅胶过滤(25%乙酸乙酯/己烷洗脱)和真空蒸发掉溶剂后得到 0.44 g 标题化合物。339 E-175。

步骤 b : 1-(3-苄氧基苯基)-3-(3-苄氧基苯基)-2-丙炔-1-酮

混合 1-(3-苄氧基)- α -[(3-苄氧基苯基)-乙炔]-苯甲醇(0.44 g, 1.5 mmol)、重铬酸吡啶𬝓(0.78 g, 2 mmol)和二氯甲烷(15 ml)。于室温下搅拌 4 小时后用乙醚(100 ml)稀释, 并过滤固体。蒸发掉溶剂并通过硅胶层析纯化后得到 0.2 g 标题化合物。

可通过与上面实施例 1-10 中所述相似的方法来制备以下化合物:

1-苯基-3-(3,4,5-三乙氧基苯基)-2-丙炔-1-酮;

1-苯基-3-[4-(4-甲氧基苄氧基)苯基]-2-丙

炔-1-酮；

1-苯基-3-[(3-苄氧基)苯基]-2-丙炔-1-酮；

1-(3,4,5-三乙氧基苯基)-3-苯基-2-丙炔-1-酮；

1-(4-二甲氨基苯基)-3-(4-苄氧基苯基)-2-丙炔-1-酮；

1-(3-苄氧基苯基)-3-(4-苄氧基苯基)-2-丙炔-1-酮；

本发明的一个实施方案提供了一种抑制白细胞中钙摄入的方法。本文所用的术语“抑制”是指任何减慢、干扰、阻止或终止钙摄入到白细胞内的过程，而不一定要求完全地消除钙摄入到受影响之细胞或组织内。

术语钙和钙离子(Ca^{+2})在本文中可以互换使用，是指可主动参予白细胞之细胞过程的钙元素及其离子状态。此外，应明确的是，由式(I)的化合物抑制钙摄入白细胞内可影响钙的一种或多种元素状态，并不应限于钙的离子形式和/或其与任何特定相反离子的联系；例如，已知的氯化钙、碳酸钙、氟化钙等，都应被认为是在本文所限定之钙的定义范围内。

钙摄入到白细胞中是白细胞激活的信号过程之一并作为传达到细胞的第二信使。钙的摄入常常要依赖于某些第一信使，如配基与细胞表面受体结合。配基对其受体的结合可打开 Ca^{+2} 通道，使 Ca^{+2} 进入细胞溶质，然后发挥其第二信使功能。当细胞被激活时，即可发生与 Ca^{+2} 流入相应的许多过程，导致或有助于免疫性或炎症性疾病。

白细胞包括一类在组织学和生物化学上不同于免疫系统其他细胞的免疫系统细胞。本文所说的白细胞包括五大类细胞：嗜中性细胞、嗜碱细胞、嗜曙红细胞、巨噬细胞和淋巴细胞。各类细胞又可进一步分成不同的细胞类型；例如，嗜中性细胞可包括多形核白细胞。就其衍生于原始骨髓干细胞来说，各大类白细胞是相互关联的。虽然本文中普遍使用了术语嗜中性细胞，但它是作为说明白细胞作用的例子代表了衍生于骨髓干细胞的所有细胞，而且并不意味着对使用式(I)化合物的任何限制，这些限制可能是阻止任何特定类型白细胞或免疫

系统细胞之作用的原因或征象。再者，该过程内白细胞的作用是限制或终止钙的摄入以影响疾病过程的治愈，但它不受多细胞或组织类型所影响之疾病的限制，而且包含了细胞的复杂相互作用和组织相互作用。本发明的一个实施方案是抑制白细胞中钙的摄入，其中抑制作用导致了对白细胞之吞噬功能的有利调整。因此，可以根据被抑制的功能性对白细胞进行分类；例如，可以使用吞噬细胞或具有吞噬功能之细胞等术语，将包括于本文中称为白细胞的细胞分为不同的群或亚群。

白细胞对各种炎症和免疫状态起反应。在这些过程中，受体激活或整个细胞激活可因其中白细胞被激活而改变了细胞的生理学。术语“激活”常常是指白细胞逐渐被激活的过程或状态，特征在于在细胞渐被激活或保持激活状态时可对钙的摄入起反应。

因白细胞激活而激活的氧化和非氧化机制在许多免疫疾病过程的发展中起着重要作用。作为细胞防御系统的一部分，包括宿主的有害症状和组织损伤，参予白细胞的激活是部分地依赖于钙的。其中白细胞，特别是嗜中性白细胞被认为在宿主症状和组织损伤中起必要作用的非感染性疾病包括痛风、类风湿性关节炎、免疫性脉管炎、肾小球肾炎、中性白细胞性皮肤病、肠道炎性疾病、心肌梗塞、成人呼吸窘迫综合症、肺气肿、哮喘、与溶血有关的热损伤，以及慢性炎症部位的恶性肿瘤（Malech and Gallin, 1987）。

发现在许多自身免疫病，如痛风、自身免疫性关节炎、自身免疫性脉管炎及某些形式的肾小球肾炎中，嗜中性白细胞积聚于关节部位，并可破坏关节和软组织。虽然许多疾病过程参与这些疾病的病理生理改变，但文献中已明确报导嗜中性白细胞集中到该区域，并可能

对这些疾病的大部分可观察到的组织病理学方面负责。其中，在模型系统中所进行的许多研究已经证明，由嗜中性白细胞激活引起的非氧化过程，特别是嗜中性白细胞弹性蛋白酶及其他蛋白水解和糖酵解酶的释放可直接损伤宿主组织。

许多皮肤病变都与嗜中性白细胞渗入皮肤的外层和真皮组织有关。就其中嗜中性白细胞参予疾病进程的皮肤病来说，其包括但不限于牛皮癣状皮肤病，如见于 Sweet 氏综合症和 Behcet 氏病中的脉管性嗜中性白细胞性皮肤病，以及坏疽性脓皮病。在这些疾病过程中，嗜中性白细胞加剧和维持炎性症状，加重组织损伤并可能进而延缓治愈。

许多其他疾病，如肠道炎性疾病和心肌梗塞都与特定器官内中性白细胞功能有缺陷有关。动物实验研究提示，肠道内嗜中性白细胞循环异常，可导致这些细胞的异常激活。同样，已显示嗜中性白细胞被吸收到心肌组织的梗塞部位并在增加心肌梗塞后组织损伤程度中起作用。

包括成人呼吸窘迫综合症（ARDS）、肺气肿和哮喘在内的许多呼吸道疾病的发病都与嗜中性白细胞浸润及病情加重有关。嗜中性白细胞介导的肺组织氧化损伤可能是这些呼吸道疾病发病机理中的一个重要组成部分。此外，嗜中性白细胞积聚与弹性蛋白酶的释放可能对发生于肺气肿病变中的组织破坏有重要作用，且可能在变态反应性哮喘病的炎性反应后期起重要作用。变态反应期间嗜中性白细胞释放其成分，可能是由肥大细胞释放组织胺而出现的。

在疾病的一般性发病机理中，嗜中性白细胞活化可能与补体激活有关。已经知道，补体可激活嗜中性白细胞，同时产生羟基自由基。

嗜中性白细胞活化时产生羟基自由基，可能与红细胞脆性有关，而且血管内溶血与补体激活有关。

本文所用的术语“炎症”被看作是一种最常涉及免疫系统中白细胞的过程，并且是参予“炎症状态”的过程。在临床上，炎症的基本征象可包括下列一种或多种症状：红、肿、热、痛、功能丧失及发烧。而伴随炎症而发生的某些细胞活动可包括但不限于白细胞激活、白细胞游动和迁移，以及白细胞渗出。还考虑到，在存在早期或潜在炎症状态的任何条件下，白细胞可能构成其基本病因或可使疾病状态或条件持续存在或发展。其中，卷入炎性状态的过程在本文中被认为包括免疫系统的白细胞和已在“免疫性疾病”患者中作过评述的那些细胞及受可用式(I)化合物处理之白细胞影响的条件。还考虑到，影响钙摄入白细胞的本发明化合物，被认为在有关炎性和/或免疫性疾病状态的改善中是相当有益的。

发展如本发明所述的方法，以消除嗜中性白细胞反应或失活嗜中性白细胞氧化代谢产物及颗粒内容物，对于在这些非感染性炎症性疾病中限制组织破坏将是有用的。

血小板是血液中衍生于骨髓巨核细胞的无核细胞。血小板还参予血液凝固过程并帮助修复血管壁的破损。血小板形成血凝块并修复受损血管组织的反应也有许多有害的副作用；例如，在局部缺血再灌注期间，血栓形成和相关的血小板聚集可最终导致动脉阻塞。本领域内也已充分了解到，动脉和静脉壁的关闭或阻塞可导致心肌梗塞的发生。另外，已知在血液凝固和血栓形成过程中均需要钙；例如，本领域已明确证实，可用能结合钙的EDTA及其他螯合剂来调整凝血反应。因此可以预见，抑制钙摄入血小板内，可使其本身作为一种可行

的方法，借以在治疗上调节血小板激活作用，包括血管活性介质的释放及血小板团聚体的形成，从而将其用于治疗需要这种治疗的病人。

本文所使用的术语“病人”，是指温血动物，如患有特殊免疫性疾病的哺乳动物。应明确的是，狗、猫、大鼠、小鼠、马、牛、羊和人都是本文所指范围内的动物。

据信式（I）的化合物可对白细胞和血小板内钙的摄入发挥其抑制作用，从而提供了在包括炎性和免疫性疾病中参予免疫调节的可靠的钙依赖性机制。但应明确的是，本发明并不只限于任何特定理论或为解释在其有效性及其最终应用而提出的机制。另外，还应明确的是，式（I）化合物这个术语还包括了包括衍生物（1a）、（1b）、（1c）和（1d）在内的其所有残基。

如本领域技术人员所熟知的，某些炎性和免疫性疾病中的各种疾病状态都是以钙摄入白细胞内为特征的。本文所说的导致钙摄入白细胞内的现象，是指导致初始条件的初始现象，或者是与保持炎症或免疫状态相关的现象。此外，本领域技术人员也很清楚，某些心血管疾病的特征即在于存在导致血小板内钙摄入的现象，而且这些现象可以是导致有关病理状态的起始过程，也可以是保持心血管疾病状态的相关过程。

更具体地说，本发明提供了治疗患有白细胞内钙依赖性疾病状态之病人的方法，其中所说的疾病状态可以是但不只限于炎性或免疫性疾病，该方法包括给病人使用抑制钙摄入有效量的式（I）化合物。

抑制钙摄入治疗有效量的式（I）化合物是指所用剂量可有效地控制卷入免疫性疾病状态之白细胞的激活。术语“控制激活”是指所有可以减缓、干扰、阻止或终止免疫性疾病的进程，但不一定要求完

全地消除所有病症。

再者，本领域技术人员也十分了解，某些心血管病的特征即在于存在导致血小板内钙摄入的现象，而且这些现象可以是指导致有关病理状态的起始过程，也可以是维持心血管疾病状态的相关过程。

本发明还提供了治疗患有血小板中钙依赖性疾病状态之病人的方法，其中所说的疾病状态可以是但不只限于心血管病，该方法包括给予病人抑制钙摄入有效量的式(I)化合物。

式(I)化合物的抑制钙摄入治疗上的有效量是指在控制参予心血管疾病状态之血小板功能中有效的剂量。术语控制参予心血管病的血小板功能，是指减缓、干扰、阻止或终止心血管病的进展，而不一定要求完全消除所有病症。

作为本领域技术人员的诊断医师，使用常规技术并观察在类似环境下得到的结果，很容易地确定在免疫或心血管条件或疾病中的治疗上抑制有效量。在确定治疗有效剂量时，诊断医师要考虑许多因素，这些因素包括但不只限于：哺乳动物的品种、其大小、年龄、健康状况、所涉及的特定疾病、疾病的程度或严重性、病人的个体反应性、所使用的特殊化合物、给药方式、所用制剂的生物可利用性特征、选用的剂量、合并使用的药物及其他相关条件等。

式(I)化合物的治疗有效量可从每天每公斤体重约0.1mg至约100mg。优选剂量为大约0.5—10mg/kg/天。

在有效治疗处于上述疾病状态的病人时，可以以治疗有效量，以使化合物能被生物利用的任何方式使用式(I)的化合物，包括口服和胃肠道外给药。例如，可经口服、皮下、肌肉内、静脉内、皮内、鼻内、直肠、局部等途径给药。一般优选的是口服给药。本领域技术

人员可以根据所选化合物的特殊性质、被治疗的疾病状态、病情发展阶段及其他相关条件来选择适当剂型及给药方式。

该化合物可以单独使用，或者与医学上可接受的载体或赋形剂结合制成药物组合物使用，可根据所选化合物的溶解度和化学性质、给药途径及标准医药实践来确定其比例和特征。虽然本发明的化合物自身是有效的，但为了提高稳定性、便于结晶及提高溶解度等目的，可以其医药上可接受的酸加成盐的形式来配制并给药。

在另一实施方案中，本发明提供了包括有效量的式(I)化合物，并混有或结合有一种或多种医药上可接受之载体或赋形剂的医药组合物。术语“抑制钙摄入有效量”当用于式(I)的化合物时，是指适于抑制白细胞中钙摄入的有效抑制量，其中所说的抑制作用是针对患有免疫或炎性疾病之病人的。另外，当用于式(I)的化合物时，术语“抑制钙摄入有效量”也是指适于抑制血小板中钙摄入的有效抑制量，其中所说的抑制作用是针对患有心血管系统疾病之病人的。

可按医药领域中已知的方法制备该医药组合物。可作为活性成分之载体或介质的药用载体或赋形剂可以是固体、半固体或液体材料。适用的载体或赋形剂是本领域中已知的。该医药组合物可适于口服、胃肠道外或局部使用，并可以片剂、胶囊剂、栓剂、溶液剂、悬浮剂等形式给药。

本发明的化合物可以与惰性稀释剂或可食用载体一起口服给药。可以将其包装在白明胶胶囊中或者压成药片。为口服治疗给药之目的，化合物内可掺入赋形剂，并可以片剂、锭剂、胶囊剂、酏剂、悬浮剂、糖浆、囊剂、可嚼树胶等形式使用。这些制剂中，作为活性成

分至少应含有 4 % 的本发明化合物，但可根据不同剂型有所变化，且通常可在单位重量的 4 % 至大约 70 % 之间。存在于组合物中之化合物的量应能达到适当剂量。最好将根据本发明的组合物和制剂制成口服剂量单位形式，且可含有 5 . 0 — 3 0 0 mg 本发明的化合物。

片剂、丸剂、胶囊剂、锭剂等还可含有一种或多种下列辅助剂：粘结剂如微晶纤维素、黄蓍胶或白明胶；赋形剂如淀粉或乳糖；崩解剂如藻酸、Primogel、玉米淀粉等；润滑剂如硬脂酸镁或 Sterotex；助流剂如胶体二氧化硅；增甜剂如蔗糖或糖精；或香味剂如薄荷、水杨酸甲酯或橙香剂。如剂量单位形式是胶囊时，除含上述材料外，还可含有聚乙二醇或脂油等液态载体。其他剂量单位形式可含有其他各种改变该剂量单位之物理形式的材料，如包被剂。为此，可用糖、紫胶或其他包被剂包被片剂或丸剂。糖浆剂除含有本发明化合物外，还可含有蔗糖作为甜味剂、某些防腐剂、染料、着色剂及食用香料。用于制备上述各种组合物的材料应是药物纯的，并且在所用剂量下是无毒的。

为了进行胃肠道外治疗给药，可将本发明的化合物掺入溶液或悬浮液中。这些制剂至少应含有占其重量 0 . 1 % 的本发明化合物，但可以在 0 . 1 — 5 0 % 之间变化。存在于这些组合物中的本发明化合物的量应能达到适当的剂量。最好将根据本发明的组合物和制剂制成含有 5 . 0 — 1 0 0 mg 本发明化合物的胃肠道外给药的剂量单位。

本发明的式 (I) 化合物也可以局部给药，此时载体可适当地包含溶液、软膏或凝胶基剂。例如，基剂可包括一种或多种下列材料：凡士林、羊毛脂、聚乙二醇、蜂蜡、矿物油、水和醇等稀释剂，以及乳化剂和稳定剂。局部给药的配方中可含有约 0 . 1 — 1 0 % (W / V)

的式(I)化合物或其医药上可接受的盐。

溶液或悬浮液还可含有一种或多种下列辅助剂：无菌稀释剂如注射用水、盐水、固定油、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其他合成溶剂；抗菌剂如苯甲醇或羟苯甲酸甲酯；抗氧化剂如抗坏血酸或亚硫酸氢钠；螯合剂如乙二胺四乙酸；缓冲剂如乙酸盐、柠檬酸盐或磷酸盐；以及调节溶液离子强度的试剂如氯化钠或右旋糖。胃肠道外给药的制剂可以封装在玻璃或塑料制成的安瓿、一次性注射器或多剂量小瓶内。

应指出的是，本文所使用的下列术语和缩写符号彼此是可以替代使用的：多形核白细胞(P M N L)，[4 - (2 - 羟乙基) - 1 - 哌嗪 - 乙磺酸(H E P E S)、用于表示离心期间所产生之离心力的重力的倍增因数(X g)、毫升(m L)、摄氏度(°C)、钙离子(C a ⁺²)、毫微米(n m)、二甲基亚砷(D M S O)、亚乙基双(氧亚乙基次氮基) 四乙酸(E G T A)、克(g)、毫克(m g)、毫微克(n g)、摩尔(M)、毫摩尔(m M)、微摩尔(μ M)、调理化酵母聚糖(O Z)、佛波醇肉豆蔻酸乙酸酯(P M A)、甲酰 - 甲硫氨酰 - 亮氨酰 - 苯丙氨酸(f M L P)、白三烯 B₄ (L T B₄)。

常常用一个三字母缩写符号“ M D L ”、一个空格、及一个 5 或 6 位数字来代表这些化合物。其中应了解的是下列有代表性的化合物：1 - 苯基 - 3 - [(4 - 苄氧基) 苯基] - 2 - 丙炔 - 1 - 酮(M D L 1 0 0 , 2 2 5)；1 - 苯基 - 3 - (4 - 吡啶基) - 2 - 丙炔 - 1 - 酮(M D L 1 0 1 , 0 9 8)；1 - (4 - 二甲氨基苯基) - 3 - (4 - 吡啶基) - 3 - 丙炔 - 1 - 酮(M D L 1 0 2 , 1 7 5)；1 - 苯基 - 3 - [(4 - 苄氧基) 苯基] - 2 - 丙炔 - 1 - 酮(M D L

101, 097); 1-(4-二甲氨基苯基)-3-(4-吡啶基)-2-丙烯-1-酮(MDL 101, 240); 1-苯基-3-(4-吡啶基)-2-丙烯-1-酮(MDL 29, 355); 1-(4-二乙氨基苯基)-3-(4-喹啉基)-2-丙炔-1-酮(MDL 102, 387)。

可在体外检测细胞内钙或检测所释放的过氧化物阴离子、髓过氧化物酶等因子来估计白细胞对激活信号(刺激剂)的反应。另外,可用动物水肿模型来估计白细胞对体内刺激的反应,如可使用角叉胶诱导的大鼠爪水肿模型、佐剂诱导的路易斯大鼠关节炎模型,以及大鼠皮肤中的 Arthus 反应。本发明人已证实所要求化合物的使用方法及其在前述检测方法中的实用性。

材料

Sprague-Dawley 大鼠(150-250g)得自 Harlan Sprague-Dawley (Indianapolis, IN)。添加 20mM HEPES 并调到 pH 7.4 的 Hank 氏平衡盐(HBSS, Gibco, Grand Island, NY)。酪蛋白酸钠购自 ICN Biochemical (Cleveland, OH)。Fura-2/AM 购自 Molecular Probes (Eugene, OR)。离子霉素(Ionomycin)购自 Cal Biochem. (San Diego, CA)。过氧化物歧化酶购自 DDI Pharmaceuticals (Mountain View, CA)。所有其他试剂均得自 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO)。所有购买的试剂都在收到后立即使用。

多形核白细胞(PMNL)的分离

腹腔注射 6 mL 80% 酪蛋白酸钠后,从腹腔渗出液中得到大鼠

PMNL。注射后18小时，用二氧化碳吸入法杀死大鼠，用Hank氏平衡盐溶液(HBSS)冲洗腹腔。离心浓缩PMNL后，经高渗溶解法除去污染的红细胞。然后将PMNL离心洗涤($400 \times g$, 10分钟)两次并重新悬浮于HBSS中。经锥虫兰排除试验证明细胞存活率大于90%，且经Wright-Giemsa染色证明90%以上的细胞是PMNL。

细胞内钙的测定

使用Fura-2作为荧光指示剂(Grynkiiewicz et al, 1985)测得细胞内钙水平。使用Korchak等人(1988)的方法使Fura-2作乙酰基甲基酯(Fura-2/AM)填入PMNZ中。具体地说，使 1×10^8 个PMNL/mL在HBSS中与 $10 \mu M$ Fura-2/AM于 $37^\circ C$ 保温10分钟。用HBSS将细胞悬液稀释10倍并继续保温20分钟。然后离心(在 $25^\circ C$ 下以 $400 \times g$ 离心8分钟)分离细胞，并且将PMNL(1×10^7 细胞/毫升)重新悬浮于含有1%牛血清白蛋白的HBSS中。细胞于室温保存并在3小时内使用。

使用双波长荧光光度计(Photon Technology International, New Brunswick, NJ)测定细胞内钙水平。2 mL PMNL悬浮液(1×10^7 个细胞/mL)于 37° 下进行磁力搅拌。细胞与化合物于 $37^\circ C$ 预保温15分钟，然后即活化之。此时将化合物溶解于DMSO中并直接加入细胞悬液内，终细胞悬液内的DMSO不超过0.3%。加入化合物或载体及刺激剂所引起的总的体积改变不超过3%。随着向悬浮于含1%BSA之HBSS中的PMNL内加入 $7 \mu M$ 离子霉素(ionomycin)确

定最大钙水平，以校准细胞内钙浓度。然后用 20 mM EGTA 处理 1 小时，以得到最小钙水平。使用 Grynkiewicz 等人 (1985) 的方法定量分析细胞内钙水平，并假定 Fura-2 的 K_D 为 240 nM。在三个不同的时刻进行并重复各实验，而且钙改变的图形代表了这些重复实验的典型数据。

髓过氧化物酶 (MPO) 释放

使用 MPO 催化的邻联茴香胺的氧化作用来检测 MPO 释放。实验是在 96 孔微量滴定板 (Webster and Henson, 1978) 中进行的。各孔中的 50 μ l 等分的 PMNL 悬浮液 (2×10^7 细胞/mL, 在 HBSS 中) 加入 50 μ l 含有载体 (0.3% DMSO) 或抑制剂的 HBSS, 于 37 $^{\circ}$ C 下保温 30 分钟。DMSO 的终浓度绝不要超过 0.3%, 而且在各实验的整个过程中均保持不变。为激活 PMNL, 加入 50 μ l 下列物质中的一种并于 37 $^{\circ}$ C 下保温 30 分钟: N-甲酰-Met-Leu-Phe (fMLP; 0.1 μ M)、佛波醇肉豆蔻酸乙酸酯 (PMA, 200 ng/mL)、或大鼠血清调理的酵母聚糖 (OZ; 2.6 μ g/mL, 按 Ward 等人, 1983 所述方法制备)。可向含有化合物或载体的 50 μ l HBSS 中加入刺激剂, 以避免改变抑制剂浓度。于 22 $^{\circ}$ C 下以 600 $\times$ g 将滴定板离心 5 分钟, 以终止细胞激活过程。由各小孔内除去等分的上清液 (100 μ l), 移入 96 孔平底微量滴定板中进行 MPO 分析。向各等份上清液内加入 100 μ l 新制备的含有 50 μ l 0.2 M 磷酸钠缓冲液 (pH 6.2)、25 μ l 3.9 mM 邻联茴香胺和 25 μ l 0.015 M 过氧化氢的溶液。用不含过氧化氢的同一溶液作为空白对照。混合各孔内容物并在暗处室温下保温约 15 分钟。测定样品在

450 nm 处的吸光率。

过氧化物阴离子 (S O A) 的产生

使用 Leslie (1987) 所述者相似的方法检测过氧化物阴离子的产生，实验是在过氧化氢酶存在下，用微量滴定板完成的 (Arthur et al., 1987)。大鼠 PMNL 悬浮液 (2×10^7 个细胞，在 HBSS 中) 的等分样品 ($50 \mu l$) 与 $50 \mu l$ 含有载体 (0.3% DMSO) 或化合物的 HBSS 在 37°C 下保温 30 分钟。然后向各样品中加入 $100 \mu l$ 含有 5.98 mg/ml 细胞色素 C (Sigma III 型) 和 0.1 mg/ml 过氧化氢酶，并适当情况下加有化合物的缓冲液。进行分光光度检测的空白对照孔中含有未被刺激的细胞及细胞色素 C、过氧化氢酶和 SOD。为了激活 PMNL，加入 $75 \mu l$ PMA 或 OZ 以达到细胞激活剂的终浓度 (再加如上所述的 MPO 释放中的载体或抑制剂)，并于 37°C 继续保温 60 分钟。于 4°C 下以 $600 \times g$ 离心 5 分钟以终止激活过程。然后将上清液的等分样品 ($200 \mu l$) 移入第二个平底微量滴定板中，并在 550 nm 处进行分光光度检测。

实施例 1 1

各种刺激物对 PMNL 细胞内钙的影响

用 fMLP 刺激预先填充 Fura-2 的大鼠 PMNL，并定时监测细胞内钙的水平（图 1）。趋化肽 fMLP 产生了双相反应。第一个峰在给予肽刺激物 30 秒钟后达到最大值，第二个峰在给予肽刺激物后约 100 秒钟达到最大值。

该双相反应与 korchak 等人对人嗜中性白细胞所作实验的结果一致，其中反应峰相当于细胞内钙的早期释放（如由对 LTB₄ 的反应产生的）。相当于刺激后约 100 秒出现的第二个峰的第二个反应相与细胞外钙的流入有关。本领域技术人员可以理解到，双相反应意味着第一个相是细胞内钙的释放，第二个相当于细胞外钙的流入。

将 PMNL 与 MDL 101, 097 预保温（如附图所示）后，导致细胞内钙改变的第二个曲线的选择性浓度依赖性抑制。由 MDL 101, 097 的活性所代表的式（1）化合物对第二个反应峰的抑制，有效地抑制了被处理之 PMNL 的钙摄入。但是，在高浓度（ $> 100 \mu\text{m}$ ）时，化合物开始影响第一相（数据未示出）。对照反应——其中 fMLP 刺激物中未包括式（1）化合物，也显示出所观察到的双相反应。

实施例 1 2

化合物对大鼠 PMNL 酶释放及过氧化物阴离子产生的影响在含有 Ca^{+2} 的 HBSS 中分离鼠 PMNL。如下表所总结

的，在细胞松弛素B存在下、或在加入调理的酵母多糖或离子霉素的情况下，用fMLP刺激大鼠PMNL可导致髓过氧化物酶的释放（fMLP/MPO、OZ/MPO和ION/MPO，分别见2、4和6栏）。加入MDL102,175，显示出在给定浓度下对两种反应的剂量依赖性抑制。同样，PMA和OZ所诱导的过氧化物阴离子的产生也被所加入的MDL101,098以剂量依赖性方式所抑制（PMA/SOA和OZ/SOA分别见第2和第10栏）。这些数据也与在大鼠丧失细胞外钙情况下所看到的影响相符（数据未示出）。

刺激物对MDL 101, 098抑制
大鼠PMN MPO和SOA的影响

1 浓度 (μM) MDL101,098	2 IMLP/MPO	3 SEM	4 OZ/MPO	5 SEM	6 ION/MPO	7 SEM	8 PMA/SOA	9 SEM	10 OZ/SOA	11 SEM
100	96.2	1.8	97.2	4.5	88.4	4.1	97.2	2.3	115.0	10.1
30	80.8	9.0	92.2	1.1	12.7	2.7	70.0	10.3	61.5	8.3
10	34.9	5.7	48.7	8.6	5.7	2.5	29.1	5.8	20.3	5.0
3	7.5	6.1	14.7	7.7	0.0	1.3	-4.3	10.6	-7.5	6.6
1	2.9	4.4	5.4	10.9	-2.8	0.7	-20.7	7.9	-18.0	3.9

SEM是前面各编号实验之均值的标准误

实施例 1 3

芥子油诱导的小鼠耳水肿

将体重 30—60 g 的 Charles River 雄性 CD—1 小鼠随机分成几组。在腹膜注射前 30 分钟或口服给药前 1 小时，将它们的右耳注射 20 μ l 芥子油（于丙酮中的 10% 异硫氰酸盐）。30 分钟后处死小鼠，从每耳钻取直径 8 mm 的活组织进行检查并称重。用重量增加的百分数表示左耳（对照组）和右耳（处理组）重量的不同。芥子油诱导的小鼠耳水肿试验结果示于下表：

芥子油诱导的小鼠耳水肿

化合物	剂量 (mg/kg)	途径	抑制%
MDL 100, 225	100	腹膜注射	60.9 $\pm$ 11.7
	30		33.4 $\pm$ 14.6
	10		25.3 $\pm$ 17.8

实施例 1 4

角叉胶诱导的大鼠爪水肿

使用体重为 90—100 g 的 Charles River 雄性 Sprague Dawley 大鼠。在爪的底部表面注射 1% 角叉胶溶液 (0.05 cc) 以诱导左右爪的炎症。对照爪则注射

等体积的盐水。爪部注射之前 1 小时，通过腹膜注射服用 75 mg / kg 药物。角叉胶注射后 3 小时检测对照爪和发炎爪之体积的差异。将各爪浸入水银池内并记录所排除之水银的体积。将动物爪均匀地浸入水银中，达到毛与皮肤结合部分之细线的开始处。使用连有线路记录仪的静脉压转换器检测所排出之水银的微小体积变化。各组检测均取 4 只大鼠的平均值，每组各检测 3 次。角叉胶诱导的大鼠爪水肿试验的结果如下所示。

角叉胶诱导的大鼠爪水肿

化合物	途径	抑制%
MDL 100, 225	腹膜注射	24.3 ± 10.3%

说明书附图

