

公告本

302367

申請日期	82 年 9 月 25 日
案 號	82107911
類 別	C7H19/67, A61K31/70

Int. Cl⁶

A4
C4

302367

(以上各欄由本局填註)

發 明 專 利 說 明 書									
新 型									
一、發明名稱	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 15%; text-align: center; vertical-align: top;">中 文</td> <td>具有 A-2 受體親和力之 2-經取代腺苷類化合物</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; vertical-align: top;">英 文</td> <td>2-substituted adenosines with A-2 receptor affinity</td> </tr> </table>	中 文	具有 A-2 受體親和力之 2-經取代腺苷類化合物	英 文	2-substituted adenosines with A-2 receptor affinity				
中 文	具有 A-2 受體親和力之 2-經取代腺苷類化合物								
英 文	2-substituted adenosines with A-2 receptor affinity								
二、發明人	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 15%; text-align: center; vertical-align: top;">姓 名</td> <td>(1) 諾頓·彼·皮特 Peet, Norton P. (2) 大衛·柏其汀 Borcharding, David Roger (3) 尼爾森·爾·藍茲 Lentz, Nelsen L.</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; vertical-align: top;">籍 貫 (國籍)</td> <td>(1) 美國 (2) 美國 (3) 美國</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; vertical-align: top;">住、居所</td> <td>(1) 美國俄亥俄州四五二四一辛辛那提卻斯特夏道 八〇二八號 8028 Chestershire Drive, Cincinnati, Ohio 45241, U. S. A. (2) 美國俄亥俄州·辛辛那堤·布瑞斯本廣場一二 一三七號 12137 Brisben Place, Cincinnati, OH 45249, U.S.A. (3) 美國俄亥俄州四五〇六九西崔斯特滾木道八二 六六號 8266 Rollingwood Way, West Chester, Ohio 45069, USA</td> </tr> </table>	姓 名	(1) 諾頓·彼·皮特 Peet, Norton P. (2) 大衛·柏其汀 Borcharding, David Roger (3) 尼爾森·爾·藍茲 Lentz, Nelsen L.	籍 貫 (國籍)	(1) 美國 (2) 美國 (3) 美國	住、居所	(1) 美國俄亥俄州四五二四一辛辛那提卻斯特夏道 八〇二八號 8028 Chestershire Drive, Cincinnati, Ohio 45241, U. S. A. (2) 美國俄亥俄州·辛辛那堤·布瑞斯本廣場一二 一三七號 12137 Brisben Place, Cincinnati, OH 45249, U.S.A. (3) 美國俄亥俄州四五〇六九西崔斯特滾木道八二 六六號 8266 Rollingwood Way, West Chester, Ohio 45069, USA		
姓 名	(1) 諾頓·彼·皮特 Peet, Norton P. (2) 大衛·柏其汀 Borcharding, David Roger (3) 尼爾森·爾·藍茲 Lentz, Nelsen L.								
籍 貫 (國籍)	(1) 美國 (2) 美國 (3) 美國								
住、居所	(1) 美國俄亥俄州四五二四一辛辛那提卻斯特夏道 八〇二八號 8028 Chestershire Drive, Cincinnati, Ohio 45241, U. S. A. (2) 美國俄亥俄州·辛辛那堤·布瑞斯本廣場一二 一三七號 12137 Brisben Place, Cincinnati, OH 45249, U.S.A. (3) 美國俄亥俄州四五〇六九西崔斯特滾木道八二 六六號 8266 Rollingwood Way, West Chester, Ohio 45069, USA								
三、申請人	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 15%; text-align: center; vertical-align: top;">姓 名 (名稱)</td> <td>(1) 麥樂陶氏製藥股份有限公司 Merrell Dow Pharmaceuticals Inc.</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; vertical-align: top;">籍 貫 (國籍)</td> <td>(1) 美國</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; vertical-align: top;">住、居所 (事務所)</td> <td>(1) 美國俄亥俄州四五二一五辛辛那提蓋布瑞斯東 路二一一〇號 2110 E. Galbraith Road, Cincinnati, OH 45215, U.S.A.</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; vertical-align: top;">代 表 人 姓 名</td> <td>(1) 賈瑞·迪·史屈瑞特 Street, Gary D.</td> </tr> </table>	姓 名 (名稱)	(1) 麥樂陶氏製藥股份有限公司 Merrell Dow Pharmaceuticals Inc.	籍 貫 (國籍)	(1) 美國	住、居所 (事務所)	(1) 美國俄亥俄州四五二一五辛辛那提蓋布瑞斯東 路二一一〇號 2110 E. Galbraith Road, Cincinnati, OH 45215, U.S.A.	代 表 人 姓 名	(1) 賈瑞·迪·史屈瑞特 Street, Gary D.
姓 名 (名稱)	(1) 麥樂陶氏製藥股份有限公司 Merrell Dow Pharmaceuticals Inc.								
籍 貫 (國籍)	(1) 美國								
住、居所 (事務所)	(1) 美國俄亥俄州四五二一五辛辛那提蓋布瑞斯東 路二一一〇號 2110 E. Galbraith Road, Cincinnati, OH 45215, U.S.A.								
代 表 人 姓 名	(1) 賈瑞·迪·史屈瑞特 Street, Gary D.								

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

裝 訂 線

302367

申請日期	82 年 9 月 25 日
案 號	82107911
類 別	

A4
C4

(以上各欄由本局填註)

發 明 專 利 說 明 書 新 型

一、發明 創作名稱	中 文	
	英 文	
二、發明人 創作	姓 名	④ 菲立普·威卓伯 Weintraub, Philip M.
	籍 貫 (國籍)	④ 美國 ④ 美國俄亥俄州辛辛那提市麥斯園巷八一四五號 8145 Maxfield Lane, Cincinnati, OH 45215, USA
	住、居所	
三、申請人	姓 名 (名稱)	
	籍 貫 (國籍)	
	住、居所 (事務所)	
	代 表 人 姓 名	

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

裝 訂 線

五、發明說明 (1)

發明領域

本發明是有關腺苷類似物之一類化合物，且其可選擇性地作用在腺苷受體上。

發明背景

腺苷之顯著的降血壓、鎮靜、解痙、及血管擴張作用在 50 年前首次被確認。接下來，腺苷所提出的生理角色次數有相當的增加。腺苷受體與腺苷酸環化酶在許多細胞上相關聯。對於研究這些受體功能近年來已列入各種腺苷類似物。烷基黃嘌呤類，如咖啡因及茶鹼，為最熟知之腺苷受體拮抗劑。

腺苷可能代表一種總括性的調控物質，因為似乎無特殊的細胞型式或組織獨特地負責其形成。基於此，腺苷並非各種內分泌激素。對於腺苷自神經或其他細胞之貯存及釋放亦無任何證據。因此，腺苷並非各種神經遞質。

在充作生理調控劑上腺苷可與前可腺素相比較。在二例中涉及代謝形成之酵素均係到處存在的，且似乎負責細胞生理狀態之變化。腺苷之受體就如同前列腺素的受體，是極廣泛存在的。最後，前列腺素及腺苷二者似乎均涉及和鈣離子有關之功能之調控。當然前列腺素衍生自膜前軀體，而腺苷則是衍生自細胞溶質之前軀體。

雖然腺苷可達成各種生理功能，特別多年來均將注意力針對可導致臨床應用的作用上。較顯著的是腺苷之心血管作用，其可造成血管擴張及低血壓，但也造成心抑鬱。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 (2)

腺苷之抗脂解、抗血栓及解凍作用也頗受關注。腺苷可刺激腎上腺細胞中之類脂醇生成，同樣可能是經由腺苷酸環化酶之活化作用。腺苷在神經傳遞上有抑制作用，且在中樞神經上並無自主活性。最後，腺苷之支氣管縮小作用及其經黃嘌呤類之拮抗作用；代表一個重要的研究領域。

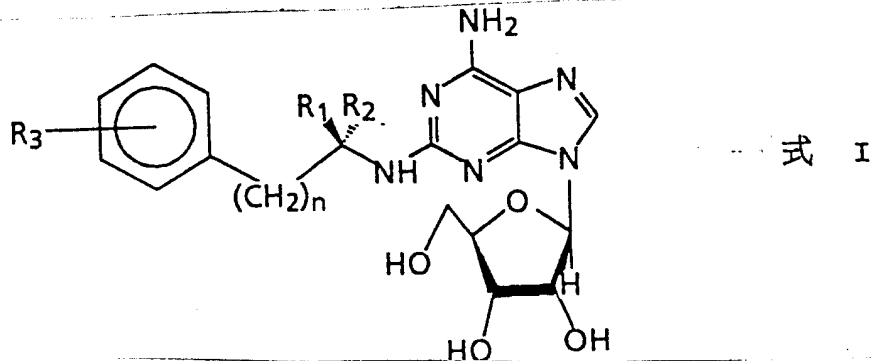
目前已確認，在腺苷作用中並非一者而是至少有二類細胞外受體涉入。其一對腺苷具有高度親和力，且至少在某些細胞中以一種抑制方式偶合至腺苷酸環化酶。有些人稱此為 A - 1 受體。另一類受體對腺苷具較低之親和力，且於許多細胞中以一種刺激方式偶合至腺苷酸環化酶。而此被稱為 A - 2 受體。

利用各種結構類似物，目前已可鑑定出腺苷受體。也已可得到抗拒代謝或吸收機制之腺苷類似物。其特別可貴，因為其顯而易見之效力較不受效應物系統之代謝移去所影響。腺苷類似物在 A - 1 及 A - 2 腺苷受體上呈現不同層次之效力，因此就腺苷受體本質而言可提供簡易分類生理反應之方法。就腺苷受體之涉入而言，腺苷受體之阻斷（拮抗作用）提供分類反應的另一方法。應注意到，發展與 A - 1 與 A - 2 腺苷受體具特異之強力拮抗劑可代表此研究領域之突破，及製備具有動物特異生理作用之腺苷受體選擇性藥物上之突破。

發明要點

本發明是有關下式 I 之化合物：

五、發明說明 (3)



其中 R_1 及 R_2 各自為獨立的氫或 $C_1 - C_4$ 烷基， R_3 是 $C_1 - C_4$ 烷基， $C_1 - C_4$ 烷氧基或鹵，且 n 是由 0 至 3 之整數。

發明說明

如此中所用的“ $C_1 - C_4$ 烷基”係指 1 至 4 個碳原子之飽和的直或分支的烴基。在此術語範圍內的包括甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、異丁基及其他。所謂“ $C_1 - C_4$ 烷氧基”係指由攜有 1 至 4 個碳原子之飽和的直或分支之氫碳基之氧基團組成之烷氧基，且尤其包括甲氧基、乙氧基、丙氧基、異丙氧基、正丁氧基、異丁氧基、第二丁氧基、第三丁氧基及其他。所謂“鹵”係指氟、氯、溴、或碘。

本發明化合物之立體異構作用是可能的，且上示的化學結構被視為包括所有可能的立體異構物及此種立體異構物之外消旋混合物。更特別地，當 R_1 及 R_2 如式 I 中所定義的且非相同的，個別的碳原子是具對掌性且光學異構作用是可能的。

本發明化合物之實例如下：

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

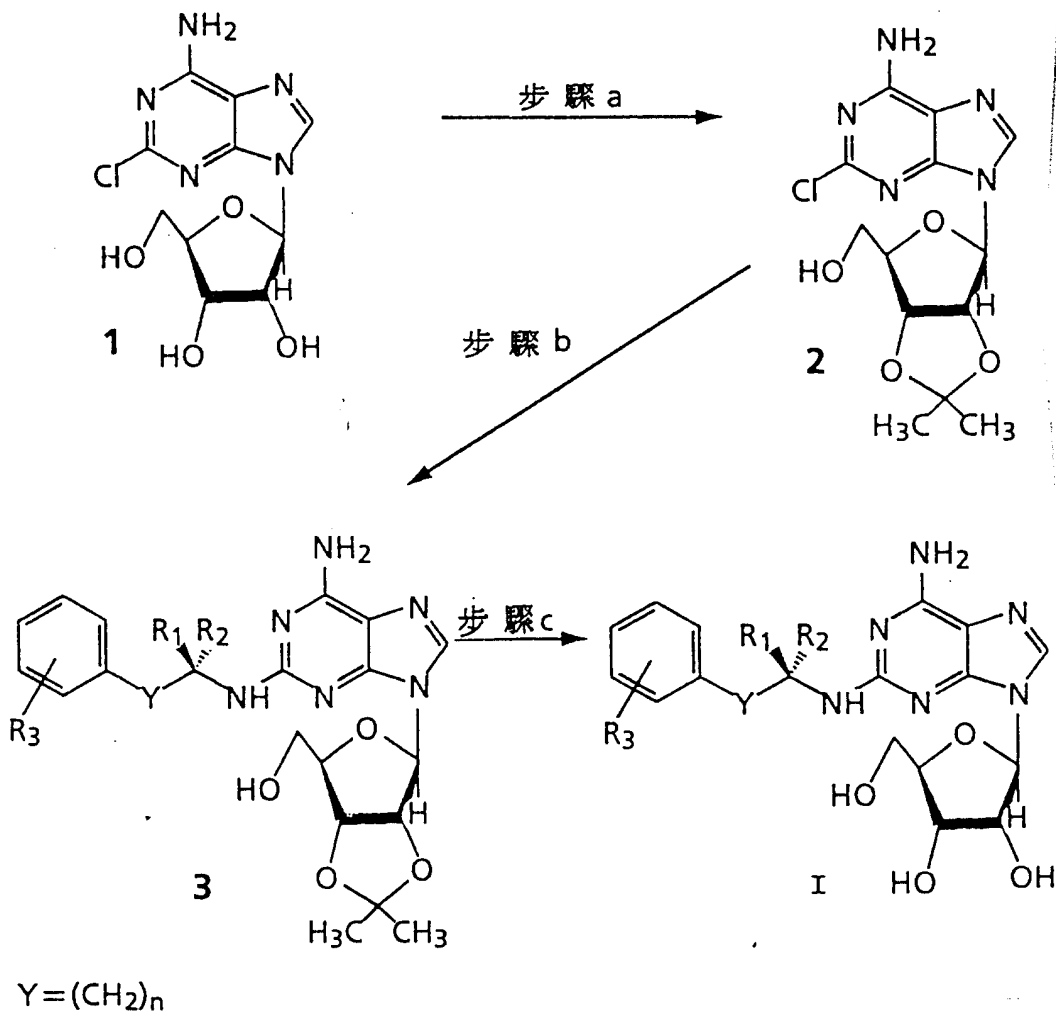
裝 訂

五、發明說明 (4)

1. (R) - 2 - [(苯基異丙基) 胺基] 腺苷
2. (S) - 2 - [(苯基異丙基) 胺基] 腺苷
3. (R) - 2 - [(1 - 苯基丙基) 胺基] 腺苷
4. (S) - 2 - [(1 - 苯基丙基) 胺基] 腺苷

式 I 化合物總概的合成方法示於流程 A。所有的取代基除非另有所示，均如先前所定義。用於此方法中之試劑及起始物是一般精藝者容易應用的。

流程 A



(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝 訂

五、發明說明 (5)

於流程 A， a 步驟， 2 - 氯腺苷 (1) 之 2' - 及 3' - 羥基以結構 (2) 所定義之醋酮酸酐保護之。依循 Hampton 之一般方法 [J. Am. Chem. Soc., 83, 3640 (1961)]， 1 當量的 2 - 氯腺苷與約 10 當量 2， 2 - 二甲氧丙烷及約 5 當量對位 - 甲苯磺酸混合於適當的溶劑中， 如 N， N - 二甲替甲醯胺。經室溫溫度下攪拌約 20 小時後， 產物分離並以精藝者熟知之技術純化。如， 加入過量適當的鹼水溶液。如飽和的碳酸氫鈉， 且於真空下除去溶劑。殘留物以適當的有機溶劑萃取， 如氯仿， 於硫酸鎂上乾燥、 過濾再於真空下濃縮。粗製產物以快速層析或再結晶方法純化， 以生成醋酮酸酐 (2)。

於流程 A， b 步驟， 醋酮酸酐 (2) 再以適當的經取代一級胺處理， 以生成結構 (3) 之二級胺。更特別地， 醋酮酸酐 (2) 與大量適當的經取代一級胺混合， 如 L - (-) - 苯異丙胺， D - (+) - 苯異丙胺， (R) - 1 - 苯基丙胺或 (S) - 1 - 苯基丙胺， 並在惰性氣體之大氣下、 如氮。混合物再攪拌加熱至約 130 °C 歷約 3 至 6 小時。於冷卻後， 產物以精藝者熟知之技術分離及純化。如， 粗製混合物以快速層析直接純化， 繼以旋轉層析， 利用如 3 % 至 6 % 甲醇 / 氯仿之適當溶離劑以生成二級胺 (3)。

於流程 A 中， c 步驟， 二級胺 (3) 再於酸性條件下去保護以生成式 I 化合物。特言之， 二級胺 (3) 以過量的適當酸處理， 如 1 M 塩酸， 並加熱至約 40 °C 至 50 °C

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 (6)

歷約 30 分。於冷卻後，產物以精藝者熟知之技術分離並純化。如，反應以過量適當的弱鹼處理，如飽和的碳酸氫鈉水溶液，再以適當的有機溶劑萃取，如氯仿。有機萃取物以無水硫酸鎂乾燥、過濾並於真空下濃縮。粗產殘留物可再以層析技術純化，如旋轉層析，再以醚性氯化氫處理以生成式 I 之塩酸塩。

選擇性腺苷受體作用物之治療用途

下表示出依據本發明之選擇性腺苷受體作用物更詳盡的強力治療用途。

<u>區域</u>	<u>作用</u>	<u>相關受體</u>
心血管	強心	A - 1 拮抗作用
心血管	控制心動頻數	A - 1 激動作用
心血管	增加冠狀血流	A - 2 激動作用
心血管	心管擴張	A - 1 (非常型) 激動作用
肺	支氣管擴張	A - 1 拮抗作用
肺	調控內泌素自巨大 細胞、嗜鹼性球之 釋出	在細胞表面上新 穎腺苷受體之交 互作用
肺	刺激呼吸； 處理逆理換氣反應 (嬰兒)	Ado 拮抗作用
腎	抑制腎激素釋出	A - 1 激動作用

五、發明說明 (7)

中樞神經系統	有助於鴉片製劑 脫癮	Ado 激動作用
中樞神經系統	鎮靜	A - 1 激動作用
中樞神經系統	解痙藥	A - 1 激動作用
中樞神經系統	抗抑鬱藥	A - 1 激動作用
中樞神經系統	抗精神病	Ado 激動作用
中樞神經系統	解焦慮	激動作用
中樞神經系統	抑制自我增生 行為 (Lesch- Nyhan 症狀)	Ado 激動作用
中樞神經系統	鎮靜	A - 2 激動作用

於心血管、肺及腎系統標的中，已為受體結合研究所鑑定之經設計化合物可以功能性活體內試驗來評估，此試驗直接顯示出人類之生理反映。嘌呤受體在藥理及功能重要性上之良好說明，可見 M. Williams 於 Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. , 27, 31 (1987)。在「腺苷受體調控劑之治療標的」一段中其陳述道「腺苷激動劑可有效地充作抗高血壓藥，以治療鴉片製劑脫癮，充作免疫勝任及腎激素釋放之調控劑，充作抗精神病藥及充作安眠藥。相反的，拮抗劑可充作中樞刺激劑，影響收縮力劑、強心藥、抗壓力劑、止喘藥、及可治療呼吸失調症」。由腺苷受體作用物所呈現的各種活性強調其在治療上之極大利用性，以及對重點作用劑之需求。

五、發明說明 (8)

腺苷經由作用在細胞一表面受體而呈現其各種生物作用。這些腺苷受體分二型式，即 A - 1 及 A - 2。A - 1 受體在操作上定義為許多^oC - N 經取代之腺苷類似物所作用之受體，如 R - 苯基異丙基腺苷 (R - P I A)，且環腺苷 (C H A) 較 2 - 氯腺苷及 N - 5 ' - 乙基羧醯胺基腺苷 (N E C A) 更具效力。在 A - 2 受體上，則效力次序是 N E C A > 2 - 氯腺苷 > R - P I A > C H A。

如上表中所說明的，腺苷受體負責各樣生理功能。腺苷受體主要二類型已明定。此為 A - 1 腺苷受體，其可為腺苷酸環化酶所抑制，及 A - 2 腺苷受體，為腺苷酸環化酶所刺激。對腺苷及腺苷類似物而言，A - 1 受體有較 A - 2 受體還高之親和力。腺苷及腺苷類似物之生理作用因以下事實而更複雜，即非選擇性腺苷受體作用物先與稍微遍存的低親和力 A - 2 受體結合，而當劑量增加時，結合至高親和力的 A - 2 受體，且最後於更高劑量下結合極高親和力之 A - 1 腺苷受體。(見 J.W.Daly, et al.,

Subclasses of Adenosine Receptors in the Central Nervous System Interaction with Caffeine and Related Methylxanthines, Cellular and Molecular Neurobiology, 3, (1), 69-80(1983))。

一般而言，腺苷之生理作用是經由腺苷酸環化酶之刺激或抑制所調介的。活化腺苷酸環化酶可增加環狀 A M P 之細胞內濃度，其一般被確認係細胞內之第二傳訊者。因此腺苷類似物之作用可由增加或拮抗經培養細胞株中環狀

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 (9)

A M P 增加之能力而偵測。在此方面的二個重要的細胞株為 V A 1 3 (W I - 3 8 V A 1 3 2 R A) , S V - 4 0 經轉形之 W I 3 8 人類胎兒肺纖維母細胞，其已知攜有腺苷受體之 A - 2 亞型，及脂質細胞已知攜有腺苷受體之 A - 1 亞型 (見 R.F. Bruns, Adenosine Antagonism by Purines , Pteridines and Benzopteridines in Human Fibroblasts, Chemical Pharmacology, 30 , 325-33(1981))。

由試管內研究中已熟知，8 - 苯基 - 1 , 3 - 二丙基黃嘌呤 (X C C) 之羧酸同類物是非選擇性的腺苷受體，在大鼠腦膜中 A - 1 受體上之 K_i 值為 $5.8 \pm 3 \text{ nM}$ ，且在大鼠腦切片之 A - 2 受體上 K_i 為 $3.4 \pm 1.3 \text{ nM}$ 。另一方面，8 - 苯基 - 1 , 3 - 二丙基黃嘌呤 (X A C) 之胺基同類物，對 A - 1 腺苷受體 40 倍更高之親和力，其 K_i 為 $1.2 \pm 0.5 \text{ nM}$ ，而比較下 A - 2 受體之 K_i 為 $4.9 \pm 1.0 \% \text{ nM}$ 。此外，在拮抗腺苷類似物之作用上，X A C 在心博速上較在血壓上更具強度。由於通常已知腺苷類似物在心臟上誘生之作用似乎是由 A - 1 受體所調介，而在血壓上則經由 A - 2 受體，由 X A C 在活體內條件下之選擇性可推知試管內腺苷受體活性與活體內之腺苷受體活性有關，且由於此選擇性可區別特異的生理作用。(見 B.B.Fredholm, K.A. Jacobsen , B. Jonzon, K.L. Kirk, Y.O.Li, and J.W.Daly, Evidence That a Novel 8 - Phenyl-Substituted Xanthine Derivative is a

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝
訂

五、發明說明 (10)

Cardioselective Adenosine Receptor Antagonist In Vivo, Journal of Cardiovascular Pharmacology, 9, 396-400, (1987), 以及 K.A. Jacobsen, K.L.Kirk, J. W. Daly, B. Jonzon, Y.O. Li, and B.B. Fredholm, Novel 8-Phenyl-Substituted Xanthine Derivative Is Selective Antagonist At Adenosine Receptors In Vivo, Acta Physiol. Scand. 341-42 (1985))。

也已知，腺苷可造成血壓顯著地降低。此血壓降低可能依 A - 2 受體調介之周圍抗阻減少而定。腺苷類似物也可降低心博速。此作用可能經由 A - 1 亞型之腺苷受體所調介。

因此，可容易地明白，藥理性投予此中所揭示之腺苷受體選擇性腺苷類似物，可造成選擇性結合至 A - 2 或 A - 1 受體，而此選擇性可再造成血壓之降低或心博速之減低，由是與這些活體內生理作用不相關聯。此種腺苷受體選擇性作用物之選擇，可由下文進一步詳述之方法來決定。

對腦腺苷 A - 2 受體親和力之試驗

下述之試驗可用來決定受試化合物與配體 [3 H] - 5 - N - 乙基 - 羧醯胺基腺苷 (NECA) 競爭由動物腦膜所製備之腺苷 A - 2 受體之效力。也見 R.R. Bruns, G.H. Lu. and T.A. Pugsley, Characterization of the A-2 Adenosine Receptor Labeled by [3H]NECA in Rat

五、發明說明 (1)

Striatal Membranes , Mol. Pharmacol., 29; 331-346 (1986))。年幼的公鼠 (C - D 種) , 得自 Charles River , 以斷頸法殺死並移出腦子。用於配體結合之膜分離自大鼠腦紋狀體。組織利用攪碎器 (定在 6 至 20 秒) 勻漿於 20 倍體積冰冷的 50 mM Tris-HCl 緩衝溶液中 (pH 7.7) 。勻漿物在 4 °C 下以 50,000 g 離心 10 分鐘。團塊再次勻漿於 20 倍體積緩衝溶液, 並如前般再離心。團塊最終懸浮於 40 倍體積 (按組織原先濕重之每克計) 之 50 mM Tris-HCl (pH 7.7) 中。

三份培育管, 接受 100 微升 [3 H] NECA (94 毫微莫耳濃度於分析中) , 100 微升 1 mM 環己基腺苷 (CHA) , 100 微升的 100 mM MgCl₂ 、 100 微升 1 IU / 毫升腺苷去胺酶, 100 微升由 10⁻¹⁰M 至 10⁻⁴M 以分析緩衝溶液 (50 mM Tris-HCl, pH 7.7) 稀釋之各濃度範圍之受試化合物, 及 0.2 微升膜懸液 (5 毫克濕重) 於 1 毫升 50 mM Tris-HCl (pH 7.1) 之終體積中。在 25 °C 下培育 60 分。各管經 GF / B 玻璃纖維濾膜, 以真空過濾之。濾器以 5 毫升冰冷的緩衝溶液潤洗二次。濾器上之膜轉移至液體閃爍計數小瓶中, 此中並加大 8 毫升 Omnifluor / 5 % Protosol。再以液體閃爍計數光譜測定術計數。

在 100 μM 2 - 氯腺苷存在下偵測較空白組過多之 [3 H] NECA 之比結合。與膜結合之總放射活性為加至試管中的約 2.5 %。由於此條件將總結合限制在放射

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝
訂

五、發明說明 (12)

活性之 10 % 以下，自由態配體之濃度於結合分析中並無可感知之變化。對膜之比結合約為總結合之 50 %。以 O. H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr and R.J. Randall, Protein Measurement With Folin Phenol Reagent, J. Biol. Chem., 193, 265-275 (1951) 之方法決定膜懸液中之蛋白質含量。

受試化合物可置換 15 % 以上之 [3 H] N E C A 結合，顯示對腺苷 A - 2 位置之親和力。造成配體結合 50 % 抑制作用之化合物莫耳濃度是 $I C_{50}$ 。於 100 - 1000 n M 範圍內之數值顯示是一個高強度化合物。

對腦腺苷 A - 1 受體結合位置之試驗

下述之試驗用來決定受試化合物與配體 [3 H] 環腺苷共同競爭由大鼠腦膜所製備之腺苷 A - 1 受體之強度。公的 Sprague-Panley 大鼠以斷頸法犧牲，再自全動物腦中分離出膜。(見 R. Goodman, M. Cooper, M. Gavish, and S. Snyder, Guanine Nucleotide and Cation Regulation of the Binding of [3H] Diethylphenylxanthine to Adenosine A-1 Receptors in Brain Membrane, Molecular Pharmacology, 21, 329-335 (1982)。

膜勻漿於 (利用攪拌器定在 7 歷 10 秒) 25 倍體積之冰冷的 50 m M Tris-HCl 緩衝溶液，p H 7.7 中。勻漿物在 4 °C 下以 19,000 r p m 離心 10 分鐘。團塊之洗滌係將之再懸浮於 25 倍體積之緩衝溶液中，

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 (13)

每毫升使用 2 I V 的腺苷去胺酶，並在 37 °C 下培育 30 分。勻漿物再次離心。最終之團塊再懸浮於 2.5 倍體積冰冷的緩衝溶液中。

三份培育管，接受 100 微升 [3 H] 環己基腺苷 (98 nM 於分析中)，200 微升在 $10^{-10}M$ 至 $10^{-6}M$ 以 50 nM Tris-HCl 緩衝溶液 (pH 7.7) 稀釋範圍內各種濃度之受試化合物，0.2 毫升膜懸液 (8 毫克濕重) 並以 Tris 緩衝溶液至最終約 2 毫升體積。在 25 °C 下進行 2 小時培育，且各自再經 GF / B 玻璃纖維濾器以真空過濾在 10 秒內終止。濾器上的膜轉移至閃爍計數小瓶中。濾器在 8 毫升 Omniflour / 5 % Protosol 中以液體閃爍計數光譜測定術計數。

以 $10^{-5}M$ 2 - 氦腺苷存在下，超出空白組來偵測 [3 H] 環腺苷之比結合。與膜結合之總放射活性約為加至試管的 5 %。對膜之比結合約為總結合之 90 %。由 Lowry, et al Ibid, 265 之方法決定膜懸液之蛋白質含量。

受試化合物置換 15 % 以上的 [3 H] 環己基腺苷可顯示對腺苷結合位置之親和力。

利用上述試驗步驟所得的腺苷受體結合親和力值

下表示出本發明範圍內許多化合物 (係指於先前之化合物實例，以與化合物名稱相互參考) 之腺苷受體結合親和力：

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝
訂

五、發明說明 (14)

化合物	A - 1 受體 K_i	A - 2 受體 K_i	A1 K_i / A-2 K_i
1.	8.4×10^{-6}	3.5×10^{-9}	2400
2.	5.8×10^{-6}	158×10^{-9}	37

核苷酸鳥嘌呤核苷三磷酸 (G T P) 已示出可差別地影響激動劑及拮抗劑與各種神經遞質受體之結合。一般而言，鳥嘌呤核苷酸可降低激動劑對受體之親和力，而並不同時減低拮抗劑之親和力。因此，已示 G T P 可降低充作腺苷拮抗劑 [3 H] - 3 - 二乙基 - 8 - 苯基黃嘌呤結合抑制劑之激動劑之強度，但拮抗劑則否。一般而言，G T P 可大大地減低嘌呤激動劑之強度，但拮抗劑在充作 [3 H] 苯基異丙基腺苷結合之抑制劑上則否，且因此是區別激動劑及拮抗劑之有效作用物。(見 L.P.Davies, S.C.Chow, J.H.Skerritt, D.J. Brown and G.A.R. Johnston, Pyrazolo [3,4-d]Pyrimidines as Adenosine Antagonists, Life Sciences, 34, 2117-28(1984)。要了解，一般而言，若 β - D - 呋喃核糖基存在於分子之 R_1 位置上則腺苷類似物可充作激動劑，若 R_1 是氫或苯基則充作拮抗劑。

化合物較好以組合物型式投予，含有化合物並摻合藥學上可接受之載劑，則對活性化合物呈化學惰性，且無副作用或在使用條件下無毒性之載劑。此組合物每毫升載劑可含有由約 0.1 微克以下至 500 毫克活性化合物 1 至

五、發明說明 (15)

約 99% 按重計之活性化合物，並混合藥學上可接受之載劑。

組合物可呈固體型式，如錠劑、膠囊劑、顆粒劑、飼料混合物、飼料添加物，及濃縮物、散劑、顆粒等；以及液體型式，如無菌可注射懸液劑，可口服之懸液劑或溶液劑。藥學上可接受之載劑可包括賦形劑，如表面活性分散劑，助懸劑、製錠粘合劑、潤滑劑、香料及著色劑。適當的賦形劑揭示於如 Remington's Pharmaceutical Manufacturing, 13 Ed., Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania (1965) 之教科書中。

以下實例示出如流程 A 所述之典型的合成。要了解實例僅供說明，不欲以任一方式限制本發明範圍。如以下實例中所用的， $[\alpha]_D^{20}$ 係指利用鈉 D 燈在 20°C 下化合物之旋光性， g 係指克， mm 指毫米， ml 指毫升， $^{\circ}C$ 為攝氏度數， TLC 係指薄層層析， mg 為毫克， μl 為微升，且 δ 為距四甲基的烷下流每百萬分之一。

實例 1

(R) - 2 - [(苯基異丙基) 胺基] 腺苷

流程 A . a 步驟

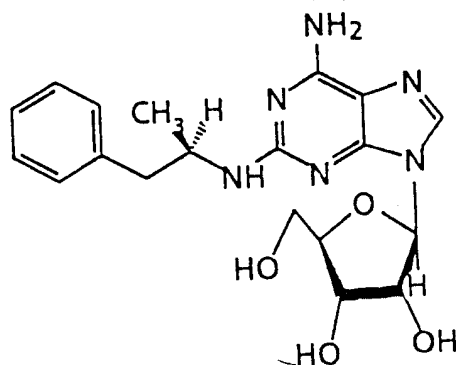
2 - 氯腺苷半水合物 (0.96 克，3.09 毫莫耳)，2, 2 - 二甲氧基丙烷 (3.2 克，30.9 毫莫耳) 對位 - 甲苯磺酸 (2.93 克，15.5 毫莫耳) 混

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝
訂

五、發明說明 (10)

合於 N, N - 二甲替甲醯胺中 (4 0 毫升) 。反應攪拌 2 0 小時, 再加飽和的碳酸氫鈉 (7 0 毫升) 。在真空中濃縮反應。



以氯仿萃取殘留物 (3 × 3 0 0 毫升) 。混合物有機萃取物, 於無水硫酸鎂上乾燥, 過濾、並真空濃縮。殘留物以旋轉層析純化 (5 % 甲醇 / 氯仿, 4 毫米板) 以生成 1 . 1 4 克醋酮酸酐 (2) 。

流程 A . b 步驟

混合醋酮酸酐 (2) (4 4 4 毫克, 0 . 1 3 毫莫耳) 與 L - (-) - 苯異丙胺 (3 . 4 克) 並加熱至 1 3 0 °C 歷 3 . 5 小時, 係於氮下並加上攪拌。於冷卻後, 以快速層析純出 (3 % 至 4 % 至 5 % 甲醇 / 氯仿), 再行旋轉層析 (3 % 至 4 % 至 5 % 甲醇 / 氯仿, 4 毫米板) 可生成二級胺 (3) (2 6 2 毫克) 。

流程 A , c 步驟

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

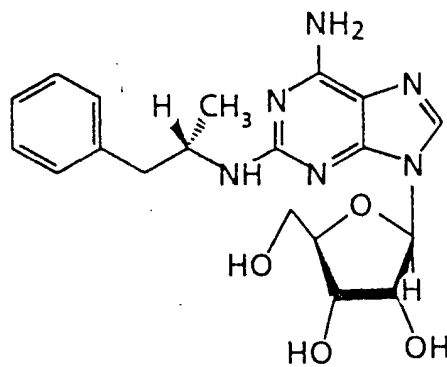
裝

訂

五、發明說明 (17)

以 1 M 鹽酸 (2 0 毫升) 處理二級胺 (3) (2 4 9 毫克 , 0 . 5 7 毫莫耳) , 並將反應加熱至 5 0 ° C 歷 3 0 分。反應冷卻再倒入飽和的碳酸氫鈉 (2 0 0 毫升) 中。反應以氯仿萃取 (3 × 1 5 0 毫升) 。混合有機萃取物 , 於無水硫酸鎂上乾燥、過濾、並真空濃縮。以旋轉層析純化殘留物 4 次 (2 % 至 4 % 至 8 % 至 1 5 % 甲醇 / 氯仿 , 4 毫米板) 以生成呈自由態鹼之標題化合物 (1 0 5 毫克) 。以醚性氯化氫處理、過濾、並在高真空下於五氧化磷上乾燥固體 , 而生成式 I 之鹽酸鹽 (4 8 毫克) 。 m p . 1 5 3 ° C 分解 ; [α] _D²⁰ = - 3 0 ° (c = 1 . 0 4 , H₂O) 。

實例 2



(S) - 2 - [(苯基異丙基) 胺基] 腺苷

流程 A , a 步驟

將 2 - 氯腺苷半水合物 (0 . 9 6 克 , 3 . 0 9 毫莫耳) , 2 , 2 - 二甲氧基丙烷 (3 . 2 克 , 3 0 . 9 毫莫

五、發明說明 (18)

耳) 及對位 - 甲苯磺酸 (2 . . 9 3 克 , 1 5 . 5 毫莫耳) 混合於 N , N - 二甲替甲醯胺中 (4 0 毫升) 。反應攪拌 2 0 小時 , 再加飽和的碳酸氫鈉 (7 0 毫升) 。反應在真空下濃縮。殘留物以氯仿 (3 × 3 0 0 毫升) 萃取。混合有機萃取物 , 於無水硫酸鎂上乾燥 , 過濾 , 再於真空下濃縮。以旋轉層析純化殘留物 (5 % 甲醇 / 氯仿 (4 毫米板)) 可生成 1 . 1 4 克醋酮酸酐 (2) 。

流程 A , b 步驟

混合醋酮酸酐 (2) (6 3 8 毫克 , 1 . 8 7 毫莫耳) 與 D - (+) - 苯異丙胺 (4 . 5 克) , 並加熱至 1 3 0 °C 歷 5 小時 , 此在氮氣下並攪拌之。於冷卻後 , 以快速層析純化 (3 % 至 5 % 至 1 0 % 甲醇 / 氯仿) 再行旋轉層析 4 次 (2 % 至 4 % 至 6 % 至 8 % 至 1 0 % 甲醇 / 氯仿 , 4 毫米板) 以生成二級胺 (3) (0 . 5 6 克) 。

流程 A , c 步驟

以 1 M 鹽酸 (4 0 毫升) 處理二級胺 (3) (0 . 4 6 克 , 1 . 0 5 毫莫耳) , 並將反應加熱至 4 5 °C 歷 1 5 分。反應冷卻再倒入飽和的碳酸氫鈉中 (3 0 0 毫升) 。以氯仿 (3 × 1 5 0 毫升) 萃取反應。混合有機萃取物 , 於無水硫酸鎂上乾燥 , 過濾 , 並真空濃縮生成呈自由態鹼之標題化合物 (0 . 4 0 克) 。以醚性氯化氫處理 , 過濾 , 並在高真空及五氧化磷下乾燥固體。自 1 0 % 甲

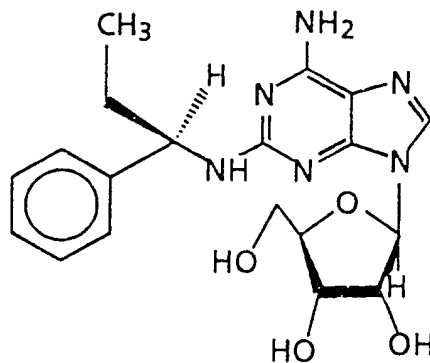
(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝 訂

五、發明說明 (19)

醇 / 二乙醚中再結晶，經高真空及五氧化磷乾燥後可生成式 I 之鹽酸鹽 (184 毫克)，m. p. 155 °C，分解 $[\alpha]_D^{20} = +9.75^\circ$ (c = 1.01, H₂O)。

實例 3



(R) - 2 - [(1 - 苯基丙基) 胺基] 腺苷

流程 A，b 步驟

醋酮酸酐 (2) (3.4 克，9.95 毫莫耳) 與 (R) - 1 - 苯基丙胺 (8.62 克) 混合，再迴流加熱 18 小時。以蒸餾移去某些過量的胺。冷卻後，以快速層析純化 (3% 甲醇 / 二氯甲烷)。以二乙醚研磨產物，可生成二級胺 (3) (1.38 克)；

¹H NMR (CDCl₃) δ 7.41 (1 H, s)，
7.21 - 7.34 (4 H, m)，7.14 - 7.22
(1 H, m)，5.69 (1 H, d)，5.50 (2 H
, s)，5.25 (1 H, d)，5.10 (1 H, t)
, 5.01 (1 H, q)，4.90 (1 H, q)，
4.41 (1 H, s)，3.93 (1 H, d)，

五、發明說明 (20)

3 . 8 0 (1 H , d) , 1 . 8 2 (2 H , pent) ,
1 . 6 0 (3 H , s) , 1 . 3 2 (3 H , s) ,
0 . 9 4 (3 H , t) ; I R (K B r) 3 4 5 0 -
3 1 0 0 , 1 6 3 3 , 1 5 9 9 公分⁻¹ , 分析估計
C₂₂H₂₈N₆O₄ ; C , 5 9 . 9 9 ; H , 6 . 4 1 ;
N , 1 9 . 0 8 。

實測值 : C , 5 9 . 9 9 ; H , 6 . 3 8 ;

N , 1 8 . 7 1 。

流程 A , c 步驟

以三氟醋酸 (2 0 毫升) 溶解上述二級胺 (3) 並以
水 (2 毫升) 處理。1 5 分鐘後於真空下移去溶劑。以水
/ 二氯甲烷處理殘留物，並以飽和的碳酸氫鈉使水相呈鹼
性。分相，於無水硫酸鈉上乾燥有機相，並真空濃縮。生
成之固體以快速層析純化 (5 % 至 1 0 % 至 1 5 % 甲醇 /
二氯甲烷) 再自丙酮中再結晶可生成標題化合物 (6 2 毫
克) ; ¹ H N M R (D M S O - d₆) δ

7 . 8 7 (1 H , s) , 7 . 3 8 (1 H , d) ,
7 . 2 7 (2 H , t) , 7 . 1 6 (1 H , t) ,
6 . 6 0 - 6 . 7 3 (3 H , m , 可變化) , 5 . 6 9 (1 H , d) ,
5 . 3 1 (1 H , d) , 5 . 0 2 +
5 . 1 2 (2 H , brs + d) , 4 . 8 3 (1 H , q) ,
4 . 5 2 (1 H , d d) , 4 . 1 7 (1 H , d d) ,
3 . 8 8 (1 H , d d) , 3 . 6 4 - 3 . 7 3 (1 H ,

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝
訂

五、發明說明 (2)

m) , 3 . 4 7 - 3 . 5 9 (1 H , m) 2 . 0 8 (3 H , s , M e ₂ S O) , , 1 . 6 3 - 1 . 8 9 (2 H , m) , 0 . 9 6 (3 H , t) ; I R (K B r) 3 4 2 3 - 3 2 9 0 公分⁻¹。

分析估計 (C₁₉H₂₄N₆O₄ · 1 / 2 C₃H₆O :

C , 5 7 . 3 3 ; H , 6 . 3 4 ; N , 1 9 . 5 7 。

實測值 : C , 5 9 . 9 6 ; H , 6 . 7 3 ;

N , 1 9 . 9 2 。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝
訂

四、中文發明摘要(發明之名稱：

具有 A - 2 受體親和力之 2 - 經取代腺苷類化合物)

本發明是揭示一種腺苷類似物，其可選擇性作用在腺苷受體上且大體上作用如腺苷激動劑。自試管內研究中可知，由於此選擇性的結果可區別特異的生理作用且於試管內之腺苷受體活性與活體內之腺苷受體活性有關。

可在所揭示化合物選擇性結合活性之基礎上製備主題化合物之藥學製劑，其可加強某些生理作用而同時減少他者，如在不減低心跳速率下降低血壓。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

裝

訂

線

英文發明摘要(發明之名稱：2-substituted adenosines with A-2 receptor affinity)

Adenosine analogues which act selectively at adenosine receptors and which act in general as adenosine agonists are disclosed. From *in vitro* studies it is known that specific physiological effects can be distinguished as a result of this selectivity and that adenosine receptor activity *in vitro* correlates with adenosine receptor activity *in vivo*.

Pharmaceutical preparations of the subject compounds can be prepared on the basis of the selective binding activity of the compounds disclosed herein which will enhance certain physiological effects while minimizing others, such as decreasing blood pressure without decreasing heart rate.

附註：本案已向

國(地區)申請專利、申請日期：

案號：

美國

1992.9.30

07/954,180

302367

A8
B8
C8
D8

修正
本 84年12月16日
補充

六、申請專利範圍

附件 C :

第 82107911 號 專利 申請 案

中文 申請 專利 範圍 修正 本

民國 84 年 12 月 修正

1. (R) - 2 - [(苯 基 異 丙 基) 胺 基] 腺 苷 。
2. 一 種 具 A - 2 受 體 親 和 力 之 藥 學 組 合 物 ， 其 中 含 有 如 申 請 專 利 範 圍 第 1 項 之 化 合 物 ， 並 摻 合 有 藥 學 上 可 接 受 之 載 劑 。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

302367

附件A:第82107911號專利申請案

中文藥理實驗報告

修正
補充
本84年12月16日

民國84年12月呈

在 $1 \text{ mg} / \text{kg}$ 或 $0.1 \text{ g} / \text{l}$ 量 ($3 \times 0.1 \text{ mg} / \text{kg}$, 靜脈注射) 下, 用 (R)-2-[(苯基異丙基) 胺基] 腺苷 (MDL 10183) 分別處理三隻麻醉的狗。如圖 1 所示, $1 \text{ mg} / \text{kg}$ 的劑量最開始的 20 分鐘期間, 有效地將血壓降低了大約 45 mmHg (降低 68%) 且在 55 分鐘後, 血壓依然降低了 25 mmHg (降低 40%)。在最開始的 10 分鐘期間, 心跳速率降低 20 至 30%, 但是在 15 至 20 分鐘後, 又回到幾乎起始值。在此劑量下, 觀察到反射性心動快速。

圖 2 顯示單一 $0.1 \text{ mg} / \text{kg}$ (靜脈注射) 劑量的作用。在最開始的 30 分鐘期間, 血壓降低了 50 mmHg (最多降低 36%) 且在 90 分鐘後, 仍然降低 5 mmHg (降低 30%)。在實驗過程中, 心跳速率小幅增加至 10 bpm , 但不能視為典型反射性心動快速表徵。

在第三個實驗中, 投服三次 $0.1 \text{ mg} / \text{kg}$ 劑量 (靜脈注射), 每次投服間隔大約 20 分鐘。如圖 3 所示, 平均血壓降低約 60 mmHg (降低 40%), 血壓皆維持降低的狀態。重複給予劑量無法進一步降低血壓。圖 4 顯示在第一次投服劑量時, 心跳速率僅有輕度的增加 (15 至 20%), 但在 15 分鐘時回復至幾乎正常值。在投服後續之第二次劑量時, 未見進一步的增加。所觀察得之心跳速率的增加不能視為反射性心動快速。

此外, 另在麻醉的鼠體內進行

(靜脈注射) 之單一劑量或多劑量 (靜脈注射) 劑量的作用。在最開始的 20 分鐘期間, 有效地將血壓降低了大約 45 mmHg (降低 68%) 且在 55 分鐘後, 血壓依然降低了 25 mmHg (降低 40%)。在最開始的 10 分鐘期間, 心跳速率降低 20 至 30%, 但是在 15 至 20 分鐘後, 又回到幾乎起始值。在此劑量下, 觀察到反射性心動快速。

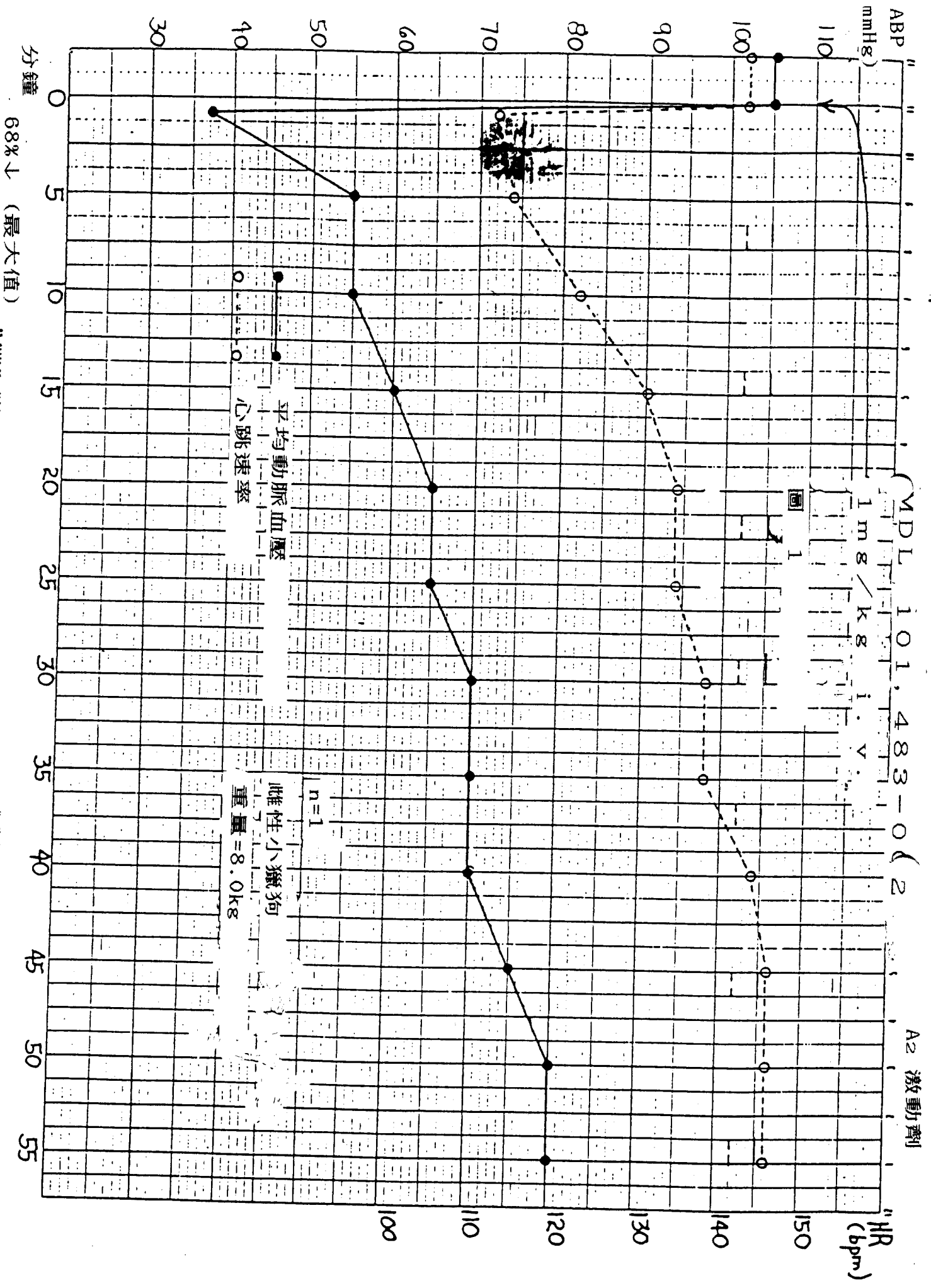
圖 2 顯示單一 $0.1 \text{ mg} / \text{kg}$ (靜脈注射) 劑量的作用。在最開始的 30 分鐘期間, 血壓降低了 50 mmHg (最多降低 36%) 且在 90 分鐘後, 仍然降低 5 mmHg (降低 30%)。在實驗過程中, 心跳速率小幅增加至 10 bpm , 但不能視為典型反射性心動快速表徵。

在第三個實驗中, 投服三次 $0.1 \text{ mg} / \text{kg}$ 劑量 (靜脈注射), 每次投服間隔大約 20 分鐘。如圖 3 所示, 平均血壓降低約 60 mmHg (降低 40%), 血壓皆維持降低的狀態。重複給予劑量無法進一步降低血壓。圖 4 顯示在第一次投服劑量時, 心跳速率僅有輕度的增加 (15 至 20%), 但在 15 分鐘時回復至幾乎正常值。在投服後續之第二次劑量時, 未見進一步的增加。所觀察得之心跳速率的增加不能視為反射性心動快速。

此外, 另在麻醉的鼠體內進行

其血壓及心跳速率的影響。在圖 5 中，(R)-2-[(苯基異丙基)胺基]腺苷及Ciba Geigy 之抗高血壓劑，CGS 21,680係以靜脈注射劑的形式投服，處理之間隔為20至30分鐘（此時，測量參數已回復至基線的位置），所得數據係以各次注射後，立即所產生之與基線比較下之最大改變來表示。劑量係以nmole 表示，相當於 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。在劑量達100nmoles（或大約 $0.1\text{mg}/\text{kg}$ （iv），給予狗的最低劑量）時，心跳速率未有顯著的變化，再次顯示未誘發反射性心動快速。在劑量高於1nmole時，(R)-2-[(苯基異丙基)胺基]腺苷及CGS 21,680皆明顯地降低了血壓，在30及100nmoles劑量時，(R)-2-[(苯基異丙基)胺基]腺苷所導致產生之血壓變化百分比較小，此乃因為在30分鐘時，血壓並未回復至預處理值。

綜論，不論在麻醉的狗或鼠身上，皆觀察得持續的血壓降低，但卻無反射心動快速的發生。此外，另附上(R)-2-[(苯基異丙基)胺基]腺苷之PANLABS PHARMASCREEN DATA CARD (Panlabs, Inc.)



分鐘 68% ↓ (最大值)

平均動脈血壓
心跳速率

雌性小獵狗
重量=8.0kg
n=1

ABP (mmHg) HR (bpm)

3/21/73

MDL 101, 483-002

1 mg/kg i.v.

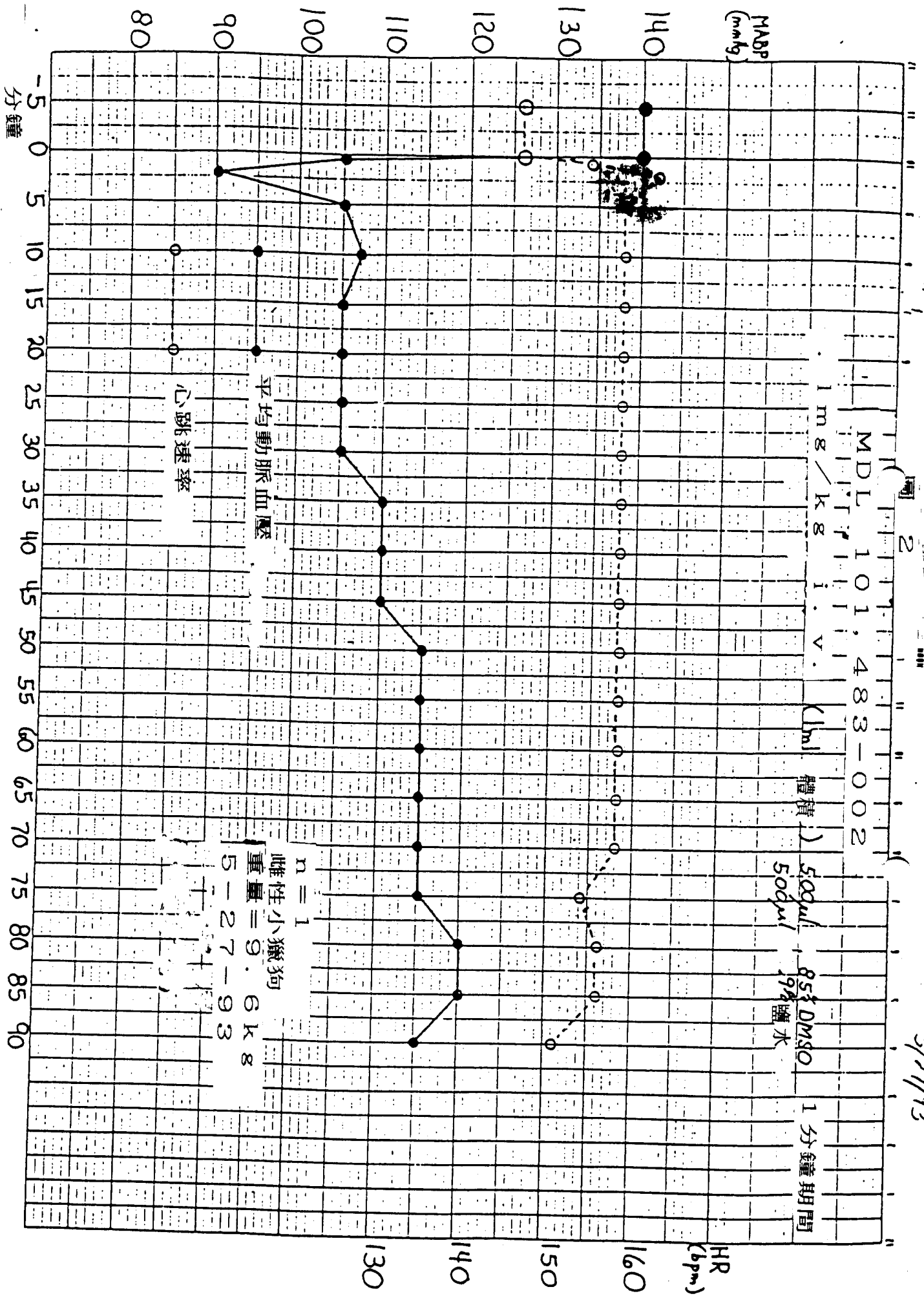
(1ml 體積)

500μl 85% DMSO
500μl 9% 鹽水

1 分鐘期間

MAP (mmHg)

HR (bpm)



平均動脈血壓

心跳速率

雌性小獵狗

n = 1
重量 = 9.6 kg
5-27-93

(36% ↓ (最大值))

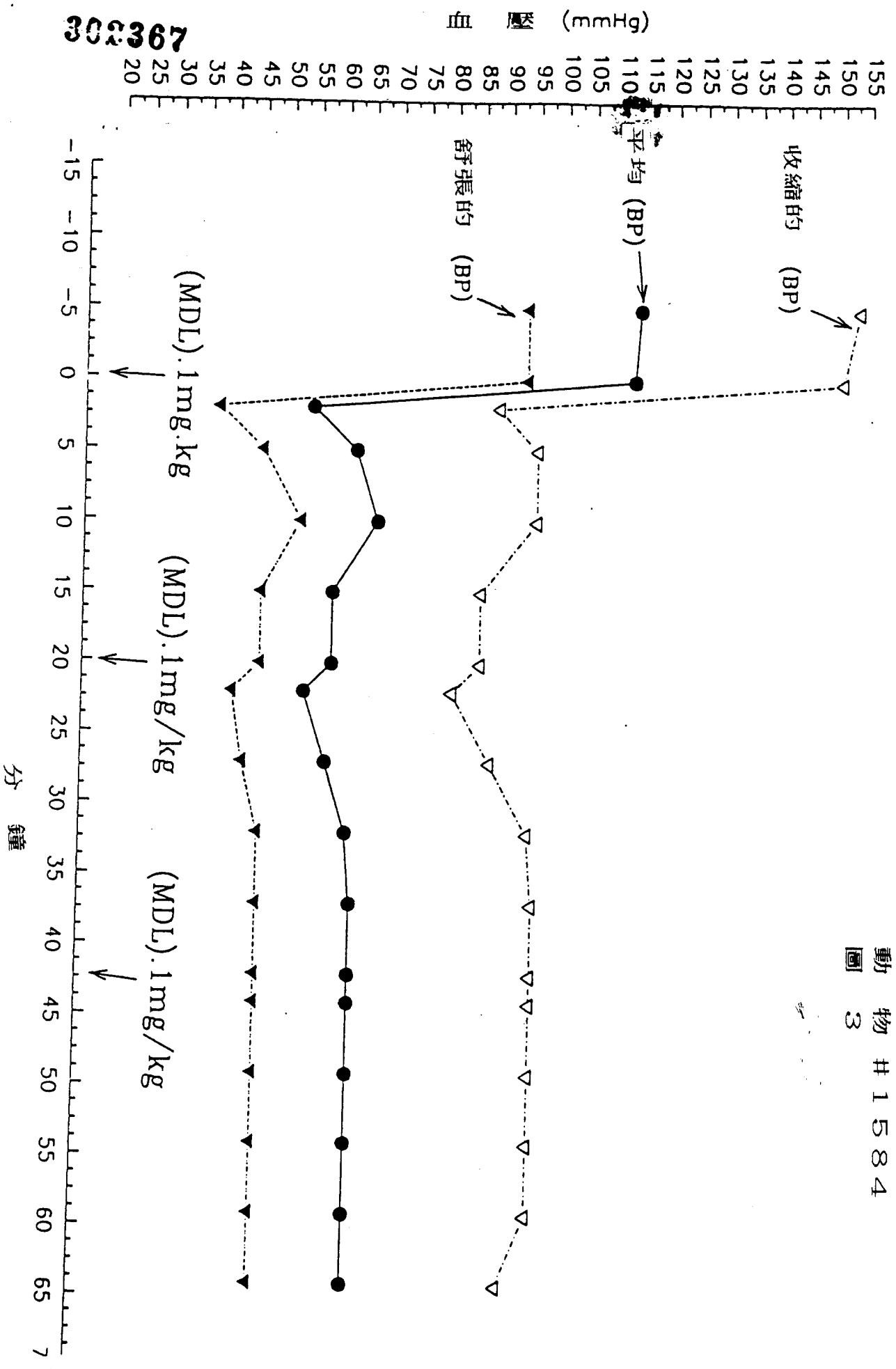
18% ↓

STATION 001 1 0000 10 000 1

100 900 1000 1000 1000 1

靜脈注射 M₁DL 101, 483 對於血壓之作用

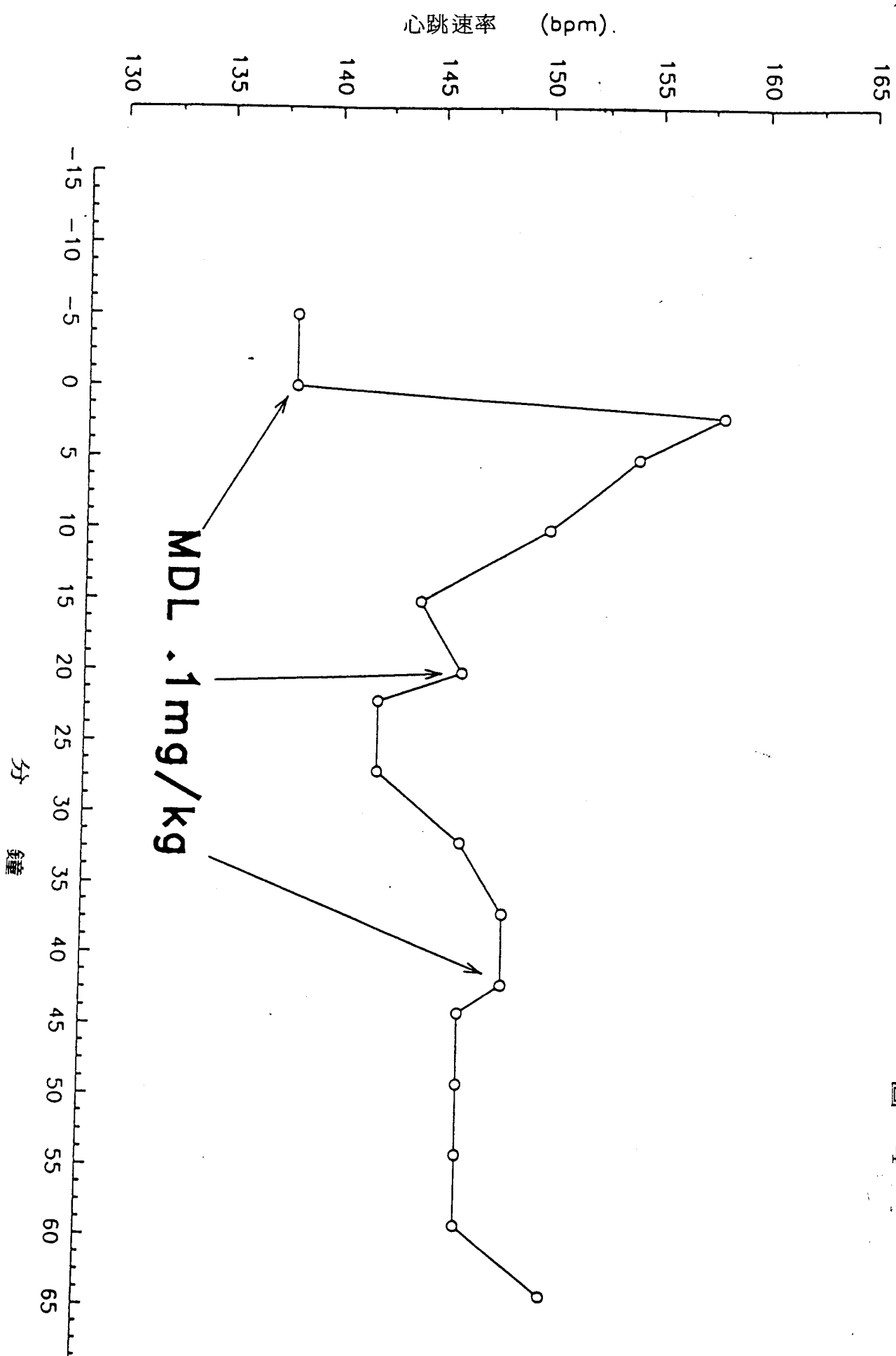
動物 # 1584
圖 3



302367

靜脈注射MDL 101, 483對於心跳速率的作用

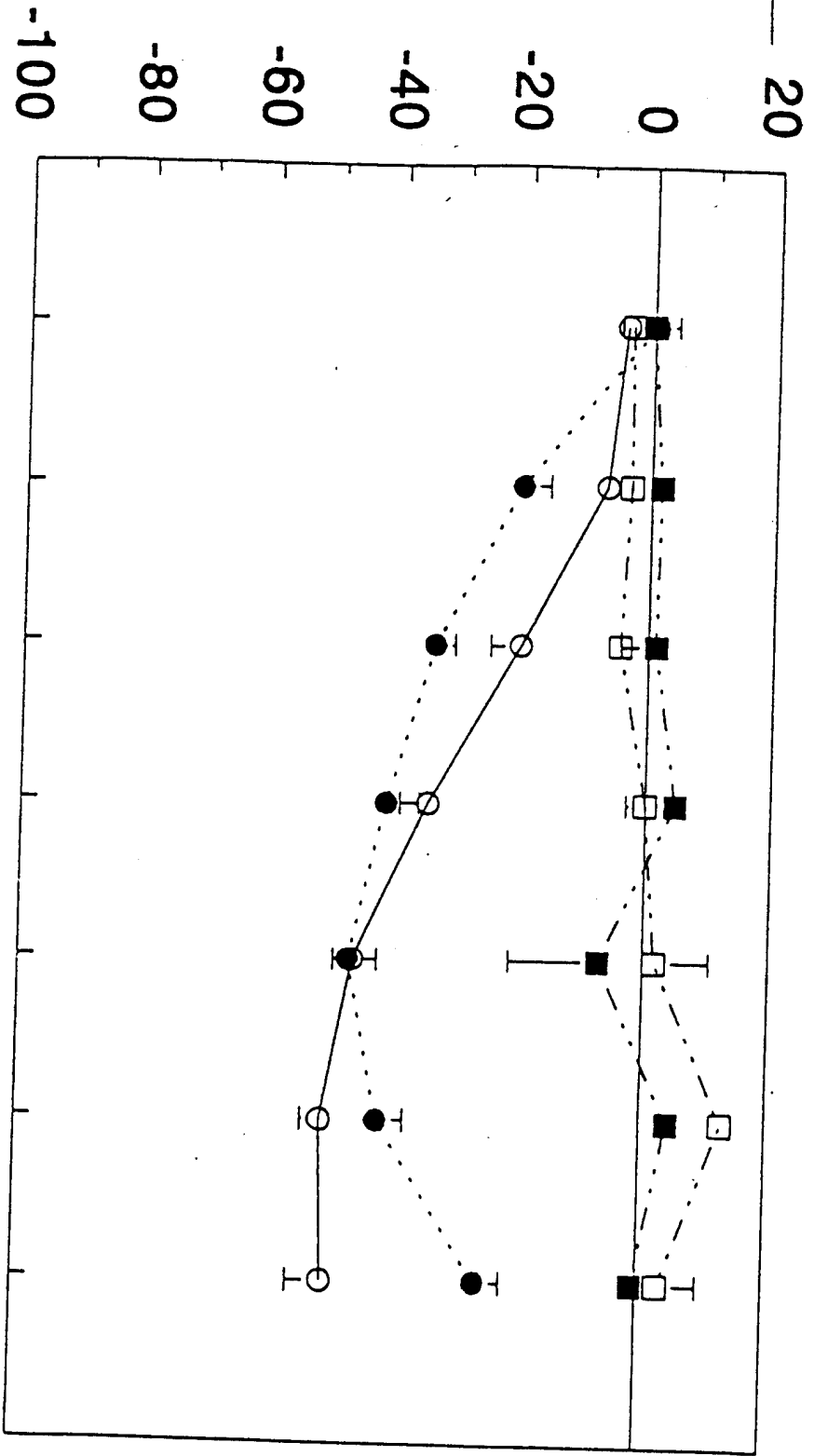
圖 4



鼠BP及HR之變化百分比

CGS 21,680C 及 MDL 101,483, i.v.

○ CGS (BP) N=10
 ● MDL (BP) N=5
 □ CGS (HR)
 ■ MDL (HR)



302367

變化 %

VEH .3 1 3 10 30 100

nmol/kg