

發明專利說明書

200526638

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號：9313173²

※ 申請日期：93.10.20

※ IPC 分類：C07D 403/12, 257/04,

A61K 31/41,

A61P 7/04, 25/00

一、發明名稱：(中文/英文)

2-(3,4-二甲基苯基)-4-{{2-羥基-3'-(1H-四唑-5-基)聯苯-3-基}-亞聯胺
基}-5-甲基-2,4-二氫吡唑-3-酮膽鹼2-(3,4-DIMETHYLPHENYL)-4-{{2-HYDROXY-3'-(1H-TETRAZOL-5-YL)
BIPHENYL-3-YL]-HYDRAZONO}-5-METHYL-2,4-DIHYDROPYRAZO
L-3-ONE CHOLINE

二、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文)(簽章)

美商史密斯克萊美占公司

SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION

代表人：(中文/英文)(簽章)

史都爾·蘇特/SUTER, STUART R.

住居所或營業所地址：(中文/英文)

美國賓州法拉迪菲市法蘭克林廣場 1 號

One Franklin Plaza, Philadelphia, Pennsylvania 19103, U.S.A.

國籍：(中文/英文)

美國/U.S.A.

三、發明人：(共 2 人)

姓名：(中文/英文)

1. 布朵夫/BROOK, CHRISTOPHER S.

2. 平立仁/PING, LI-JEN J.

國籍：(中文/英文)

1.和 2.均為美國/U.S.A.

四、聲明事項：

主張專利法第二十二條第二項 第一款或 第二款規定之事實，其事實發生日期為： 年 月 日。

申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號 順序註記】

有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：
美國；西元 2003 年 10 月 22 日；60/513,481

無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

主張專利法第三十條生物材料：

須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

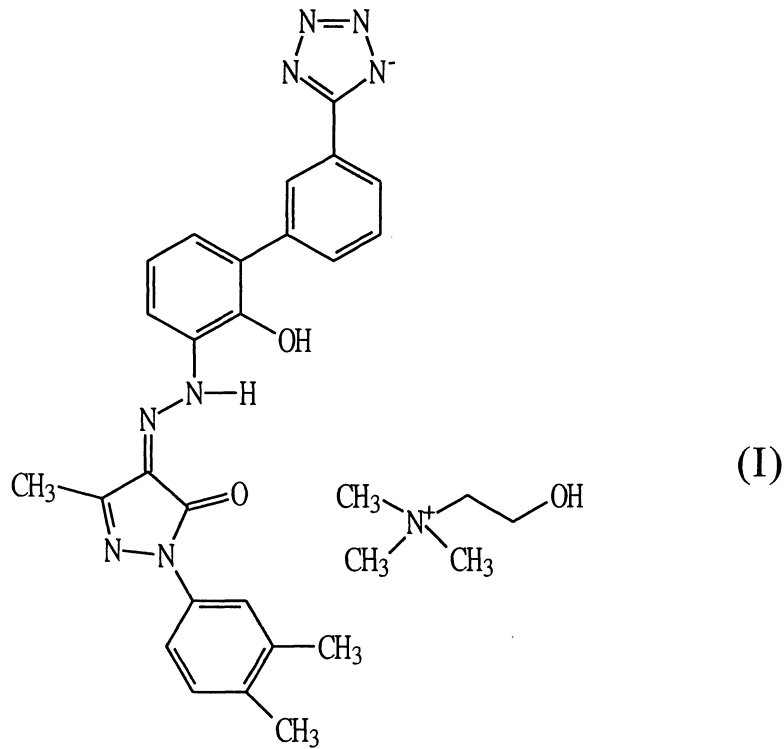
不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

九、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於一種經改進的血小板生成素(此後為TPO)模仿物，為 2-(3,4-二甲基苯基)-4-{[2-羥基-3'-(1H-四唑-5-基)聯苯-3-基]-亞聯胺基}-5-甲基-2,4-二氫吡唑-3-酮的膽鹼鹽。該化合物以結構 I 代表：



本發明之化合物被用做 TPO 受體的促進劑，特別是增進血小板的生產。

【先前技術】

2-(3,4-二甲基苯基)-4-{[2-羥基-3'-(1H-四唑-5-基)聯苯-3-基]-亞聯胺基}-5-甲基-2,4-二氫吡唑-3-酮為一種化合物，其與其醫藥可接受鹽類、水合物、溶劑化物及酯類，

被揭示並且請求用做 TPO 受體的促進劑，特別是增進血小板的生產，並且特別是在血小板減少症的治療上，是在國際申請書 PCT/US01/16863 號中，具有國際送件日為 2001 年五月 24 日；國際申請書 WO 01/89457 號中，及國際送件日為 2001 年十一月 29 日(實例 12 的化合物)，其整體揭示在此併為參考。國際申請書 PCT/US01/16863 號不特定揭示在此揭示之任何化合物的鹽形式。

【發明內容】

現在令人驚訝地發現:2-(3,4-二甲基苯基)-4-{{2-羥基-3'-(1H-四唑-5-基)聯苯-3-基}-亞聯胺基}-5-甲基-2,4-二氫吡唑-3-酮的膽鹼鹽具有許多超越游離酸的優點。該游離酸是難以溶於水。此不良溶解度反而影響該游離酸被調配成醫藥劑量形式的的能力，並且減少在活體中該化合物的生物有效性及口服曝露性。

當該游離酸被高度用做 TPO 受體的促進劑時，特別增進血小板的生產，並且特別是在血小板減少症的治療上，2-(3,4-二甲基苯基)-4-{{2-羥基-3'-(1H-四唑-5-基)聯苯-3-基}-亞聯胺基}-5-甲基-2,4-二氫吡唑-3-酮的膽鹼鹽具有增進之生物有效性及口服曝露性的額外優點。

本發明之化合物:2-(3,4-二甲基苯基)-4-{{2-羥基-3'-(1H-四唑-5-基)聯苯-3-基}-亞聯胺基}-5-甲基-2,4-二氫吡唑-3-酮膽鹼(此後稱為"活性原料"或化合物 A")，被用做 TPO 受體的促進劑，特別是增進血小板的生產，並且

特別是在血小板減少症的治療上。該活性原料可以習用劑量形式投藥，是根據對習知此藝者已熟知的技術、以組合活性原料及習用醫藥可接受載劑或稀釋劑製備，如在國際申請書 PCT/US01/16863 號中敘述的那些。

適當地，本發明包括在其範疇內之醫藥組成物，包含 (3,4-二甲基苯基)-4-{[2-羥基-3'-(1H-四唑-5-基)聯苯-3-基]-亞聯胺基}-5-甲基-2,4-二氫吡唑-3-酮膽鹼做為活性原料，與習用醫藥可接受載劑或稀釋劑一起。本發明之化合物 A 可以口服、非腸胃、皮內或局部的路徑投藥。在此所用之術語非腸胃包括靜脈、肌肉內、皮下、鼻內、直腸內、陰道內及腹膜內投藥。口服投藥通常為較佳。化合物 A 被調配成適於各投藥路徑的劑量形式，包括膠囊、藥片、藥丸、粉末及微粒。在此固體劑量形式中，活性化合物通常與至少一種惰性稀釋劑混合。當為一般實行時，口服劑量形式也可包含不是惰性稀釋劑的額外物質，例如：潤滑劑、滑動劑及抗氧化劑。在膠囊、藥片及藥丸的情況下，劑量形式也可包含緩衝劑。藥片及藥丸可另外製備成緩釋。

根據本發明、用於非腸胃投藥之製劑包括經消毒的水溶液，雖然可使用乳化物的非水性懸浮液。此類劑量形式也包含輔藥，如：防腐劑、濕潤劑、滲透劑、緩衝劑、乳化劑及分散劑。其可以例如：經由細菌留持濾器過濾、加入消毒劑到組成物中、輻射該組成物、或加熱該組成物而被消毒。

如在此所用，”膽鹼”意為 2-(羥基乙基)三甲基銨。

在上述醫藥劑量單位之本發明活性原料的劑量為有效、無毒性的份量，較佳是選自從 0.001-100 毫克/公斤總體重的範圍，較佳為 0.001-50 毫克/公斤。當治療需要 TPO 模仿物的病患時，所選的劑量較佳投藥是從每日 1-6 次，口服或非腸胃。非腸胃投藥的較佳形式包括局部、直腸、經皮、注射及連續灌注。對人類投藥的口服劑量單位較佳包含從 0.05 至 3500 毫克的活性原料，最佳是從 0.5 至 1,000 毫克的活性原料。口服投藥，其使用較低劑量為佳。然而，當安全並且對病患方便時，以可使用較高劑量的非腸胃投藥。上述的劑量係關於以游離酸表示之活性原料的份量。

要習知此藝者認知的是：活性原料之各別劑量的最佳份量及間隔，是由被治療之症狀的天性及程度、投藥之形式、路徑及位置、及所治療之特別病患決定，並且此最佳化可以習知技術決定。也要習知此藝者了解的是：治療的最佳時間，即：對所定天數、每天所給活性原料的劑量數，可由習知此藝者使用治療決定測試的習用程序來確定。

一般而言，本發明之化合物是將游離酸 2-(3,4-二甲基苯基)-4-{{2-羥基-3'-(1H-四唑-5-基)聯苯-3-基]-亞聯胺基}-5-甲基-2,4-二氫吡唑-3-酮，溶解於適當的有機溶劑中，如：乙醇及醋酸乙酯的混合物，過濾所得之混合物，以移除污染物，然後添加此溶液到例如：在有機溶劑中之 1.5 當量的氫氧化膽鹼溶液，該有機溶劑較佳為與水互溶

的溶劑，如:MeOH 或 THF。本發明之化合物通常是在 3 至 24 小時內被沉澱出來，然後被過濾並乾燥，例如:在真空中乾燥、或在升溫下空氣乾燥。

有機溶劑可從 Aldrich Chemical Company, Milwaukee, Wisconsin 獲得。

因為本發明之醫藥活性化合物是做為 TPO 模仿物而為活性的，其在治療血小板減少症及有減少血小板生產的其他症狀上顯示治療用途。

如在此所述，血小板減少症的治療是以增加血小板的生產來完成。

如在此所用，術語”血小板減少症”及其衍生，是廣泛地解釋為血小板數目上的任何減少到低於對健康個人所考慮為正常或理想。血小板減少症已知是具有許多成因而因素，包括、但不限於:輻射治療、化學治療、免疫治療、免疫性血小板減少症紫斑症(ITP, Bussel J. B. Seminars in Hematology, 2000, 37, Suppl 1, 1-49)、骨髓衰竭異常綜合症(MDS)、發育不全貧血症、AML、CML、病毒感染(包括、但不限於:HIV、C 型肝炎、病毒性腸炎)肝病、血液病骨髓清除、骨髓移植、幹細胞移植、周邊血液幹細胞移植、祖細胞缺乏症、幹細胞及祖細胞的多型態、缺乏 Tpo、嗜中性白血球減少症(Sawai, N. J. Leukocyte Biol., 2000, 68, 137-43)、樹狀細胞移動(Kuter D. J. Seminars in Hematology, 2000, 37, Suppl 4, 41-49)、增生、活化或分化。本發明之醫藥活性化合物被用來治療血小板減少症，

而不管導致該症狀的因素。當導致該症狀的因素未知或尚未鑑別時，本發明之醫藥活性化合物也被用來治療血小板減少症。

TPO 已證明做為幹細胞的流動劑(mobilizer)而到周邊血管(Neumann T. A.等人，Cytokines, Cell. & Mol. Ther., 200, 6, 47-56)。此活性可與幹細胞流動劑協同，如：G-CSF(Somolo 等人，Blood, 1999, 93, 2798-2806)。因此，在對接受骨髓根除化學治療之病患做造血幹細胞移植的白血球分離術之前，本發明之化合物被用來增加捐贈者之循環幹細胞的數目。

類似地，TPO 刺激脊髓細胞的生長，特別是有粒細胞/巨嗜細胞系的那些(Holly 等人，US-5989537)。有粒細胞/巨嗜細胞祖細胞是脊髓系的細胞，其成熟為嗜中性白血球、單核白血球、嗜鹼細胞、嗜伊紅血球。因此，本發明之化合物在有嗜中性白血球減少症狀之病患上具有刺激嗜中性白血球之增生的治療用途。

當預期到血液或血小板的減少時，本發明之化合物的預防用途被考慮。化合物 A 的預防用途，在血液或血小板的預期損失之前，造成血小板的累積、或血小板生產的開始。化合物 A 的預防用途包括、但不限於：移植手術、手術、在生小孩及腸保護之前的麻醉。

人類樹狀細胞已顯示表現 TPO 受體(Kumamoto 等人，Br. J. Haem., 1999, 105, 1025-1033)，並且 TPO 是樹狀細胞的有效流動劑。本發明之 TPO 模仿化合物也用做疫苗

輔藥，在其中其增加樹狀細胞的活性及流動性。化合物 A 用做免疫輔藥，與口服、經皮、皮下傳輸的疫苗及/或免疫調節劑組合而給予，藉以增加樹狀細胞的活性及流動性。

TPO 已知具有不同效果，包括對巨核細胞、血小板及幹細胞的抗凋亡(apoptotic)/存活效果，及對幹細胞及巨核細胞的增生效果(Kuter D. J. Seminars in Hematology, 2000, 37, 41-9)。這些 TPO 活性有效地增加幹及祖細胞的數目，使得當 TPO 與引發分化之其他細胞活素結合使用時，有協同效果。

本發明的另一個觀點提供一種在包括人類之需要彼的哺乳動物上治療退化性疾病的方法，其包含投藥給此哺乳動物治療有效份量的本發明化合物 A。

如在此所用，術語退化性疾病及其衍生意為選自下列的疾病狀態：神經系統不適，包括：橫肌骨髓炎、多重硬化症、在腦部或脊椎外傷之後的髓鞘脫失、急性腦部傷害、頭部外傷、周邊神經傷害、局部缺血腦部傷害、脊椎傷害、CNS 的遺傳性髓磷脂不適、癲癇、出生前後的窒息、窒息、缺氧症、癲癇重積狀態及中風；神經退化性疾病，如：老年癡呆症、帕金森氏(Parkinson's)症、舞蹈症及肌萎縮性脊髓側索硬化症；在組織的治療、修復及/或再生上，例如：心血管不適、心肌梗塞及心血管疾病/組織；及在肝臟疾病/組織、及腎臟疾病/組織的治療、修復及/或再生上；在 AIDS 的治療上；和糖尿病的治療上。

中風意指大腦血管病變(CVI)，並且包括急性血栓栓塞性中風。中風包括病灶及全身性局部缺血兩者。也包括短暫性大腦局部缺血發作、及大腦局部缺血伴隨的其他大腦血管問題。病患進行特定頸動脈內膜切除術、或其他大腦血管或血管一般手術步驟、或包括大腦血管造影法及類似之診斷性血管步驟。

其他發作的是頭部外傷、脊柱外傷、或來自一般性缺氧症、組織缺氧、血糖過少之傷害、及在手術期間所見來自栓塞、高灌注(hyperfusion)及組織缺氧的類似傷害。

化合物 A 被用於一系列的發作，例如：在心臟繞道手術期間、顱內出血發作時、出生前後窒息、心臟停止及癲癇重積狀態。

因此，本發明提供一種治療選自下列之疾病狀態的方法：神經系統不適，包括：橫肌骨髓炎、多重硬化症、在腦部或脊椎外傷之後的髓鞘脫失、急性腦部傷害、頭部外傷、脊椎傷害、周邊神經傷害、局部缺血腦部傷害、CNS 的遺傳性髓磷脂不適、癲癇、出生前後的窒息、窒息、缺氧症、癲癇重積狀態及中風；神經退化性疾病，如：老年癡呆症、帕金森氏症、舞蹈症及肌萎縮性脊髓側索硬化症；在組織的治療、修復及/或再生上，例如：心血管不適、心肌梗塞及心血管疾病/組織；及在肝臟疾病/組織、腸胃疾病/組織、及腎臟疾病/組織的治療、修復及/或再生上；在 AIDS 的治療上；和糖尿病的治療上，包含投要有效份量的化合物 A。

如在此所述，退化性疾病的治療是以投藥化合物 A 來完成，並且不限於作用的任何特別機制。如在此所述，用來治療退化性疾病的作用機制，是藉著刺激存活及/或生產幹細胞、及/或增加幹細胞功能及/或壽命。

退化性疾病已知具有許多原因的因素，包括、但不限於：病毒感染(包括、但不限於：HIV、C 型肝炎、病毒性腸炎)及肝病、老化、自動免疫疾病、神經疾病/損傷、肝臟疾病/損傷、腎臟疾病/損傷、腸胃疾病/損傷、心血管疾病/損傷、及胰臟疾病/損傷。本發明係關於治療退化性疾病，而不管導致該症狀的因素。當導致該症狀的因素未知或尚未鑑別時，本發明之醫藥活性化合物也被用來治療退化性疾病。

習知技藝的醫師能夠藉著本發明之方法決定適當的狀況，對其中可能或有退化性疾病危險，例如：中風、及遭受中風的病患投藥。

無論是否預期退化性疾病，本發明之化合物的預防用途被考慮。

化合物 A 治療退化性疾病的能力，以在 CD34+祖細胞增生分析方法中的活性證實。

CD34+祖細胞增生分析方法

化合物 A 被測試其刺激早期 CD34+祖細胞從人類骨髓中存活及增生的能力。在此分析方法中，經純化的人類 CD34+祖細胞在液態培養液中與化合物 A 培養高至 7 天，並且然後表現早期幹細胞標記 CD34 的細胞數目以流動細

胞計測量，並且與未處理細胞比較(見 Liu 等人，*Bone Marrow Transplantation*. 24:247-52, 1999)。

因此，本發明提供一種治療退化性疾病的方法，其包含投藥有效份量的化合物 A 給需要彼之病患。化合物 A 提供一種治療上述疾病狀態的方法，因為其治療退化性疾病的能力。

為此發現的一部份:活體投藥化合物 A 對治療帕金森氏症、舞蹈症及多重硬化症及局部缺血腦部傷害為有效的。幹細胞，包括成體骨髓幹細胞，被指出在治療多重硬化症上為有效的；Stangel M. 等人，*Progress in Neurobiology*, 68(5): 361-76, 2002 十二月。神經幹細胞及其在帕金森氏症、舞蹈症及多重硬化症及局部缺血腦部傷害的用途被 Ostenfield T. 等人敘述於 *Advances & Technical standards in Neurosurgery*, 28: 3-89, 2003。

再者，為此發現的一部份:活體投藥化合物 A 對組織之再生及修復為有用的，其反應對幹細胞的治療。此類組織為習知此藝者已熟知或容易確定的。例如:幹細胞被指出在治療有心肌梗塞、心血管不適及心血管疾病之病患為有用的；Stamm C. 等人，*Lancet*. 361(9351):45-6, 2003，及 Semsarian C., *Internal Medicine Journal*, 32(5-6):259-65, 2002。幹細胞被指出治療、修復及/或再生肝臟疾病/組織、腸胃疾病/組織、及腎臟疾病/組織；Choi D. 等人，*Cell transplantation*, 11(4): 359-68, 2002，Poulsom R. 等人，

Journal of Pathology, 197(4): 441-56, 2002, 及 Alison M. 等人, Journal of Pathology, 197(4): 419-23, 2002。

再者, 為此發現的一部份:活體投藥化合物 A 對治療糖尿病為有用的。幹細胞被指出治療糖尿病; Berna G. 等人, Biomedicine & Pharmacotherapy, 55(4): 206-12, 2001, 及 Beilhack GF 等人, Diabetes, 52(1); 59-68, 2003。

本發明的另一個觀點提供一種將本發明之化合物 A 與另一個活性原料共同投藥的方法, 另一個活性原料如: 對治療退化性疾病及/或血小板減少症已知的其他化合物, 該疾病包括化學治療引發的血小板減少症、及骨髓移植和減少血小板生產之其他症狀; 或當與 TPO 模仿物組合使用時已知具有用途的化合物。

如在此所用的術語”共同投藥”及其衍生, 是意為化合物 A 與另一個活性原料同時投藥、或分別連續投藥的任何方式, 該另一個活性原料已知來治療退化性疾病及/或血小板減少症, 包括化學治療引發的血小板減少症、及骨髓移植、和減少血小板生產的其他症狀。如在此所用的術語另一個活性原料, 包括當與 TPO 或 TPO 模仿物投藥時、已知具有或證實優越性質的任何化合物或治療劑。較佳地, 若投藥不是同時的, 該化合物是在互相接近的接近時間內投藥。再者, 化合物是否以相同劑量型式投藥並不重要, 例如:一個化合物可以局部投藥, 並且另一個化合物可以口服投藥。

本發明之 TPO 模仿化合物與已知作用在細胞上之存

活或增生的其他試劑結合，也對作用在細胞上的存活或增生為有用的。此類其他試劑包括、但不限於：G-CSF、GM-CSF、TPO、M-CSF、EPO、Gro-beta、IL-11、SCF、FTL3 配體、LIF、IL-3、IL-6、IL-1、造血生長因子、NESP、SD-01 或 IL-5、或任何前述試劑的生物活性衍生物、KT6352(Shiotsu Y. 等人，Exp. Hemat. 1988, 26, 1195-1201)、子宮鐵蛋白(Laurenz JC 等人，Comp. Biochem. & Phys., Part A. Physiology., 1997, 116-369-77)、FK23(Hasegawa T. 等人，Int. J. Immunopharm., 1996, 18 103-112)及鑑別為對表現 Tpo 受體之幹細胞、祖細胞或其他細胞具有抗凋亡、存活或增生性質的其他分子。

用於與本發明化合物 A 組合之另一個活性原料的實例包括、但不限於：化學保護或脊髓保護試劑，如：G-CSF、BB10010(Clemons 等人，Breast Cancer Res. Treatment, 1999, 57,127)、氮磷汀(Ethyol)(Fetscher 等人，Current Opinion in Hemat., 2000, 7, 255-60)、SCF、IL-11、MCP-4、IL-1-β、AcSDKP(Faudron 等人，Stem Cells, 1999, 17, 100-6)、TNF-a、TGF-b、MIP-1a(Egger 等人，Bone Marrow Transpl., 1998, 22(Suppl. 2), 34-35)、及鑑別為具有抗凋亡、存活或增生性質的其他分子。

用於與本發明 TPO 模仿化合物組合之另一個活性原料的另外實例包括、但不限於：幹細胞、巨核細胞、嗜中性白血球流動劑，如：化學治療試劑(即：環磷醯胺、依託泊苷(etoposide)、順鉑(cisplatin)、Ballestrero A. 等人，Oncology,

2000, 59, 7-13)、化學激素、IL-8、Gro-beta(King, A. G. 等人, J. Immun., 2000, 164, 3774-82)、受體促進劑或拮抗劑抗體、小分子細胞激素、或受體促進劑或拮抗劑、SCF、Ftl3 配體、黏著分子抑制劑或抗體, 如: 抗-VLA-4(Kikuta T. 等人, Exp. Hemat., 2000, 28, 311-7)、或抗-CD44(Vermeulen M. 等人, Blood, 1998, 92, 894-900)、細胞激素/化學激素/白細胞介素、或受體促進劑或拮抗劑抗體、MCP-4(Bekhout TA 等人, J. Biol. Chem., 1997, 272, 16404-16413 ; Uguccioni M. 等人, J. Exp. Med., 1996, 183, 2379-2384)。

本發明之化合物在需要彼之特別為人類的哺乳動物上被用做 TPO 模仿物。

本發明在包括人類之哺乳動物上引發 TPO 模仿物活性的方法, 包含對需要此活性的病患投藥有效 TPO 模仿物份量的本發明化合物 A。

本發明也提供化合物 A 在製造用於治療之醫藥品上的用途。

本發明也提供化合物 A 在製造用做 TPO 模仿物之醫藥品上的用途。

本發明也提供化合物 A 在製造用於增進血小板生產之醫藥品上的用途。

本發明也提供化合物 A 在製造用於治療血小板減少症之醫藥品上的用途。

本發明也提供化合物 A 在製造用於治療退化性疾病之醫藥品上的用途。

本發明也提供一種用於治療退化性疾病的醫藥組成物，其包含化合物 A 及醫藥可接受載劑。

本發明也提供一種用做 TPO 模仿物的醫藥組成物，其包含化合物 A 及醫藥可接受載劑。

本發明也提供一種用於治療血小板減少症的醫藥組成物，其包含化合物 A 及醫藥可接受載劑。

本發明也提供一種用於增進血小板生產的醫藥組成物，其包含化合物 A 及醫藥可接受載劑。

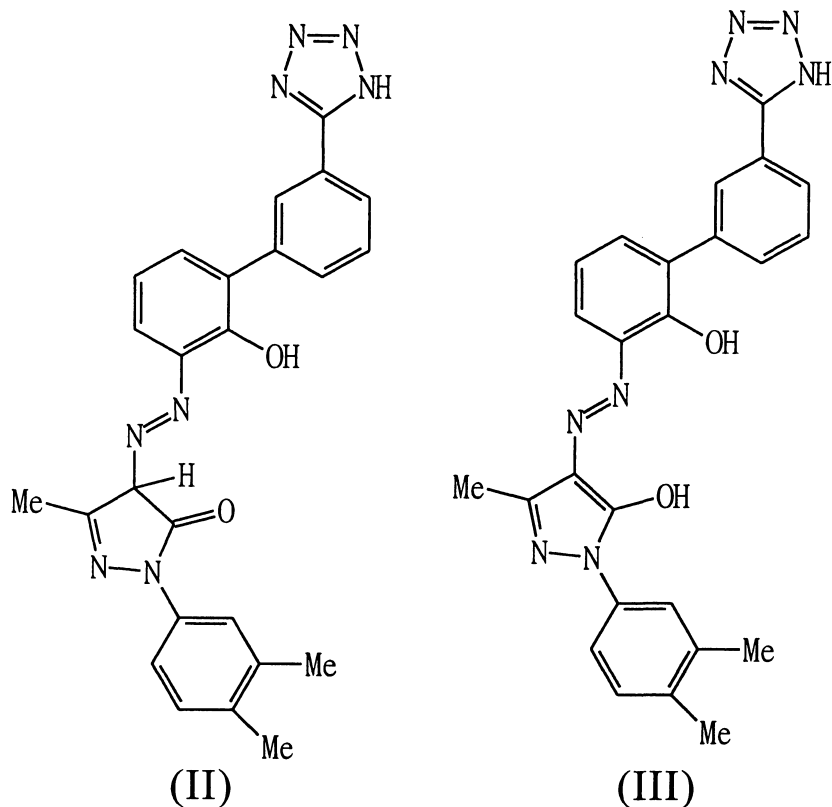
本發明也提供一種用於治療退化性疾病的醫藥組成物，其包含化合物 A 及醫藥可接受載劑。

藉著術語”如在此所用之治療及其衍生”意為預防性及治療性的治療。

在此說明書中引用的所有出版品，包括、但不限於專利及專利說明書，其整體如完成揭示地在此併為參考。

當本發明之化合物根據本發明投藥時，無不可接受毒性效果被預期。

所考慮的相當物—被習知此藝者所欣賞的是：化合物 A 也存在互變異構物。化合物 A 之互變異構物可包括、但不限於正式以下式(II 及 III)代表的結構。



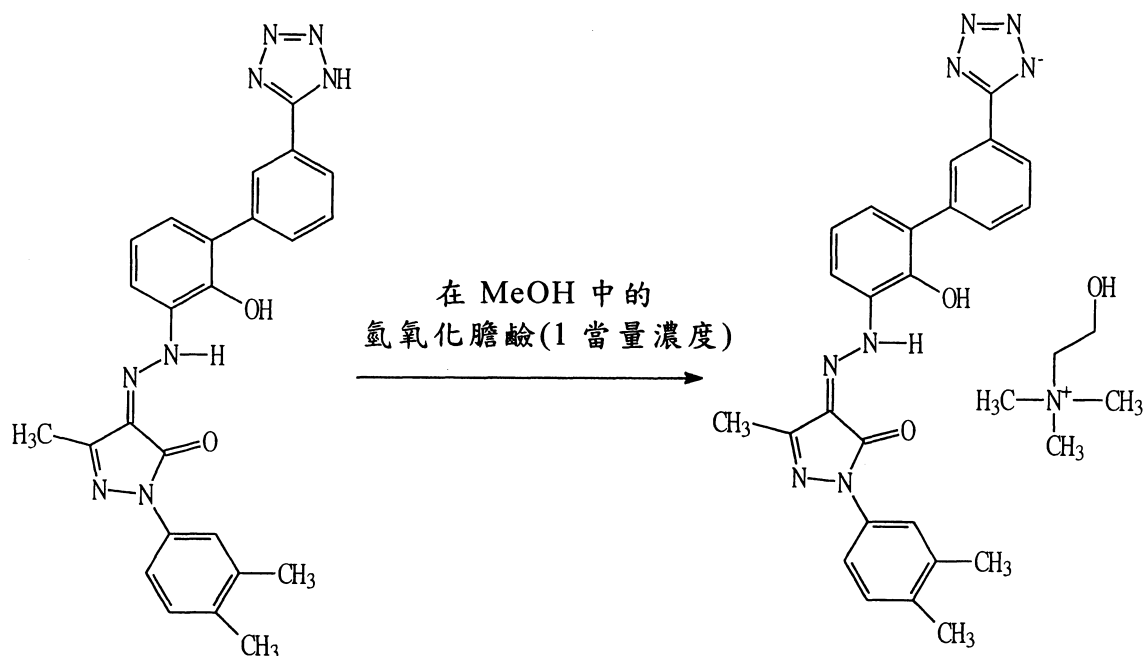
所有此類化合物被包括在本發明的範疇內，並且原本地包括在化合物 A 的定義中。

【實施方式】

下列實例進一步說明本發明。實例不意欲限制本發明的範疇如此上所定義及下列所請求的。

實例 1

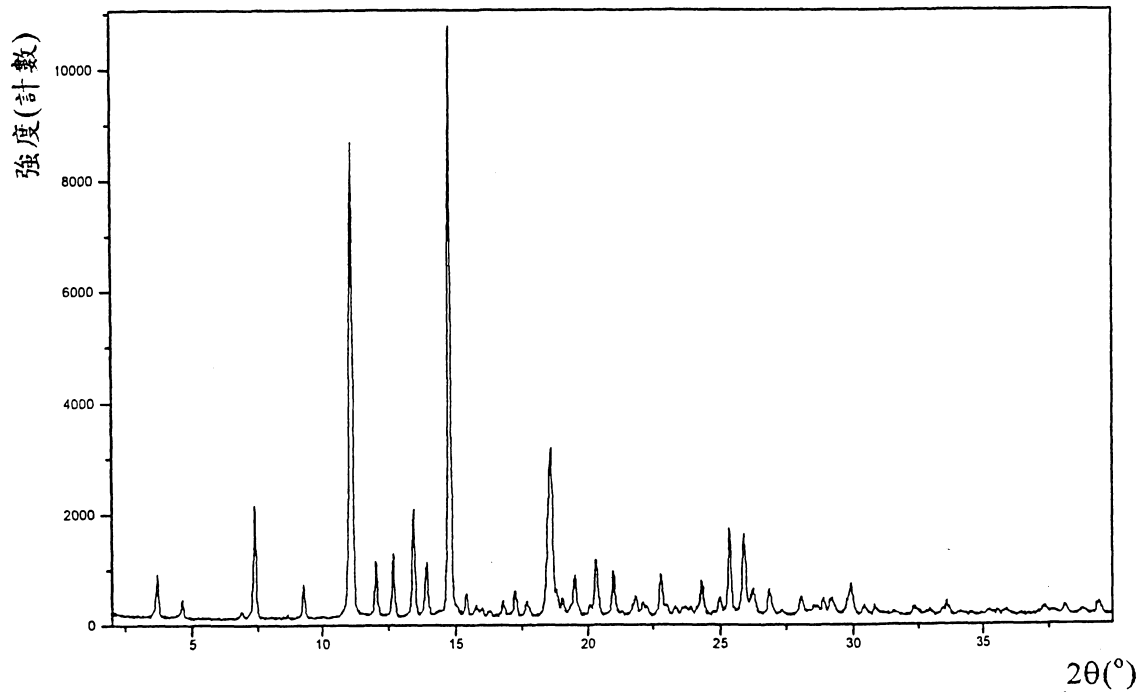
製備 2-(3,4-二甲基苯基)-4-{[2-羥基-3'-(1H-四唑-5-基)聯苯-3-基]-亞聯胺基}-5-甲基-2,4-二氫吡唑-3-酮膽鹼



2-(3,4-二甲基苯基)-4-{[2-羥基-3'-(1H-四唑-5-基)聯苯-3-基]-亞聯胺基}-5-甲基-2,4-二氫吡唑-3-酮，1.1克粗製橘色固體在 7 毫升的醋酸乙酯及 127 毫升的乙醇(190 酒精強度)中、約 40°C 下攪拌。對此懸浮液添加在甲醇中的 2.5 毫升氫氧化膽鹼(1 當量濃度)，造成一個深橘棕色溶液。添加水(1 毫升)到該深色溶液中，並且該混合物在約 35°C 下攪拌約 3 小時。在此期間，沉澱可見於溶液中。該懸浮液在約 20°C 下再攪拌 72 小時，並且然後以過濾分離並且在約 40°C 下乾燥 12 小時，產生 1.2 克(87%產率)的標題化合物為帶淺橘色的結晶。

該固體在 Phillops X'Pert Pro 繞射儀上、以 X-光粉末繞射證明為結晶。樣本以下列參數掃描:掃描範圍 2-35 度、2- θ ; 產生器動力:40 千伏特、40 毫安培; 輻射來源:Cu K α ; 掃描種類:連續式; 步驟時間:10.16 秒; 步驟尺

寸:0.0167 度每步驟 2- θ ; 樣本旋轉:每分鐘 25 轉。下列為 X-光粉末型式及尖峰列表。



號碼	位置[$^{\circ}2\text{Th.}$]	d-間隔[埃]	高度[cts]	相對強度[%]
1	3.7251	23.71979	765.16	7.1
2	4.6611	18.95844	281.32	2.61
3	6.9016	12.80813	132.23	1.23
4	7.398	11.97973	1973.41	18.23
5	8.631	10.24525	79.49	0.74
6	9.2935	9.51632	591.28	5.49
7	11.0789	7.98639	8263.89	76.71
8	12.0073	7.37092	1010.77	9.38
9	12.6611	6.99174	1142.5	10.61
10	13.4261	6.59499	1654.15	18.14
11	13.9252	6.35974	935.82	8.69
12	14.7822	5.9929	10773.16	100

13	15.4472	5.73636	448.55	4.16
14	15.821	5.60168	247.91	2.3
15	16.0339	5.52779	187.08	1.74
16	16.3397	5.42501	133.42	1.24
17	16.827	5.26898	323.14	3
18	17.2645	5.13643	503.18	4.76
19	17.7	5.01104	303.14	2.81
20	18.4645	4.79752	1781.54	16.54
21	18.617	4.76623	3054.95	28.36
22	18.8171	4.71597	523.32	4.86
23	19.0441	4.66028	351.15	3.26
24	19.4943	4.55365	759.39	7.05
25	20.0493	4.42284	237.18	2.2
26	20.2993	4.37486	976.47	9.06
27	20.9924	4.23196	826.54	7.67
28	21.8349	4.07054	401.19	3.72
29	22.1116	4.02021	277.22	2.57
30	22.7938	3.90141	772.82	7.17
31	23.3318	3.81267	198.84	7.85
32	23.6942	3.75516	194.32	7.8
33	24.3066	3.66191	645.51	6
34	24.9588	3.56169	361.6	3.36
35	25.337	3.51573	1565.54	14.53
36	25.8945	3.44085	1500.67	13.93

37	26.28	3.39125	464.38	4.31
38	26.8355	3.3223	491.62	4.56
39	28.0401	3.18225	379.9	3.53
40	28.8594	3.09375	323.9	3.01
41	29.1842	3.06005	347.59	3.23
42	29.9265	2.98582	615.82	5.72
43	30.4456	2.93608	205.95	1.91
44	30.887	2.89513	209.21	1.94
45	31.6721	2.82513	111.93	1.04
46	32.3596	2.76666	186.65	1.73
47	32.9388	2.71932	135.38	1.26
48	33.5777	2.66903	266.78	2.48
49	34.1496	2.62563	98.41	0.91
50	35.9386	2.49893	127	1.18
51	37.317	2.04973	197.26	1.83
52	38.1296	2.36023	208.09	1.93
53	38.8183	2.31992	140.58	1.3
54	39.4044	2.28676	240.8	2.24

DCS 資料顯示固體有分解地熔化，內熱開始在約 235.3°C。

質子 NMR(400 百萬赫茲，MeOH-d4 參考為 MeOH-d4 δ 3.32):

δ 2.28(s, 3H), 2.31(s, 3H), 2.39(s, 3H), 3.21(s, 9H), 3.47-3.49(t, 2H), 3.99-4.01(t, 2H), 7.10-7.13(dd, 1H),

7.17-7.18(d, 1H), 7.20-7.21(dd, 1H), 7.55-7.60(m, 3H), 7.68(br. s, 1H), 7.76-7.77(dd, 1H), 8.06-8.07(dd, 1H), 8.21(s, 1H)

IR 資料(DATR)

3023, 2920, 2853, 1648, 1606, 1541, 1503, 1457, 1410, 1367, 1334, 1267, 1257, 1224, 1191, 1155, 1135, 1117, 1097, 1024, 1000, 958, 920, 904, 874, 851, 806, 784, 760 726, 681 公分⁻¹

實例 2

製備 2-(3,4-二甲基苯基)-4-{{[2-羥基-3'-(1H-四唑-5-基)聯苯-3-基]-亞聯胺基}-5-甲基-2,4-二氫吡唑-3-酮膽鹼

2-(3,4-二甲基苯基)-4-{{[2-羥基-3'-(1H-四唑-5-基)聯苯-3-基]-亞聯胺基}-5-甲基-2,4-二氫吡唑-3-酮(2.0 克, 4.29 毫莫耳)被懸浮於乙醇(17 毫升)及水(1.85 毫升)中。棕色淤漿在室溫下以氫氧化膽鹼(2.68 毫升, 2.2 當量)(以在甲醇中 45%重量溶液供應)處理, 形成深紫色溶液, 其被攪拌 30 分鐘。該溶液被過濾、並且以乙醇(4 毫升)洗滌。在水(1.85 毫升)中的三氟醋酸(0.36 毫升, 1 當量)被添加到濾液中, 形成橘紅色淤漿, 其然後被加熱到 78°C(回流), 並且攪拌 30 分鐘。然後反應被冷卻到 60°C, 並且以乙醇(25 毫升, 12.5 體積)處理, 並且在 60°C 下再攪拌 1 小時。然後懸浮液被冷卻到室溫, 並且攪拌 17 小時。在過濾之後, 濾餅以以乙醇(8 毫升, 4 體積)洗滌。所得之固體在 50°C 下、真空中乾燥, 產生 2-(3,4-二甲基苯基)-4-{{[2-羥

基-3'-(1H-四唑-5-基)聯苯-3-基]-亞聯胺基}-5-甲基-2,4-二氫吡唑-3-酮膽鹼，為橘色固體(2.02 克，83%)。

質子 NMR 及 IR 資料與標題化合物一致。

實例 3

錠劑組成物

乳糖、微結晶纖維素、澱粉甘醇酸鈉、硬脂酸鎂及 2-(3,4-二甲基苯基)-4-{{2-羥基-3'-(1H-四唑-5-基)聯苯-3-基]-亞聯胺基}-5-甲基-2,4-二氫吡唑-3-酮膽鹼以下表 1 中顯示的比例攪合。然後該攪合物被壓縮成錠劑。

表 1

原料	毫克
2-(3,4-二甲基苯基)-4-{{2-羥基-3'-(1H-四唑-5-基)聯苯-3-基]-亞聯胺基}-5-甲基-2,4-二氫吡唑-3-酮膽鹼	8.45
微結晶纖維素	112
乳糖	70
澱粉甘醇酸鈉	8
硬脂酸鎂	2

實例 4

可注射非腸胃組成物

用於投藥 2-(3,4-二甲基苯基)-4-{{2-羥基-3'-(1H-四唑-5-基)聯苯-3-基]-亞聯胺基}-5-甲基-2,4-二氫吡唑-3-酮膽鹼的可注射形式，是藉著攪拌在 1.0 毫升一般食鹽水中的 5.0 毫克化合物而產生。

而本發明之較佳具體實施例如上述說明，要了解：本發明不限於在此揭示之精確指示，並且保留下列申請專利範圍範疇內之所有改變的權利。

【圖式簡單說明】

【主要元件符號說明】

五、中文發明摘要：

一種經改進的血小板生成素模仿物，為 2-(3,4-二甲基
苯基)-4- {[2-羥基-3'-(1H-四唑-5-基)聯苯-3-基]-亞聯胺
基}-5-甲基-2,4-二氫吡唑-3-酮的膽鹼鹽

六、英文發明摘要：

an improved thrombopoietin mimetic, the choline
salt of
2-(3,4-dimethylphenyl)-4- {[2-hydroxy-3'-(1H-tetrazol-5-yl)
biphenyl-3-yl]-hydrazono}-5-methyl-2,4-dihydropyrazol-3-
one.

十、申請專利範圍：

1. 2-(3,4-二甲基苯基)-4-{{[2-羥基-3'-(1H-四唑-5-基)聯苯-3-基]-亞聯胺基}-5-甲基-2,4-二氫吡唑-3-酮膽鹼}。
2. 一種醫藥組成物，包含 2-(3,4-二甲基苯基)-4-{{[2-羥基-3'-(1H-四唑-5-基)聯苯-3-基]-亞聯胺基}-5-甲基-2,4-二氫吡唑-3-酮膽鹼、及一種醫藥可接受載劑或稀釋劑。
3. 一種在需要彼之哺乳動物上治療血小板減少症的方法，其包含對此哺乳動物投藥治療有效份量之申請專利範圍第 1 項所述的化合物。
4. 如申請專利範圍第 3 項的方法，其中該哺乳動物為人。
5. 一種在需要彼之哺乳動物上增進血小板生產的方法，其包含對此哺乳動物投藥治療有效份量之申請專利範圍第 1 項所述的化合物。
6. 如申請專利範圍第 5 項的方法，其中該哺乳動物為人。
7. 如申請專利範圍第 3 項的方法，其中該化合物為口服投藥。
8. 如申請專利範圍第 3 項的方法，其中該化合物為非腸胃投藥。
9. 一種在病患上促進 TPO 受體的方法，其包含投藥有效份量之申請專利範圍第 1 項所述的化合物。
10. 一種製備醫藥組合物的方法，該醫藥組合物包含一種醫藥可接受載劑或稀釋劑及有效份量之申請專利範圍第 1 項所述的化合物，該方法包含將申請專利範

圍第 1 項所述之化合物與醫藥可接受載劑或稀釋劑結合。

11. 如申請專利範圍第 3 項的方法，進一步包含共同投藥治療有效份量之選自下列族群所組成的試劑：群落刺激因子、細胞激素、化學激素、白細胞介素、或細胞激素受體促進劑或拮抗劑、可溶性受體、受體促進劑或拮抗劑抗體、或以一或多個該試劑之相同機制作用的小分子或胜肽。
12. 如申請專利範圍第 11 項的方法，其中該試劑是選自下列所組成的族群：G-CSF、GM-CSF、TPO、M-CSF、EPO、Gro-beta、IL-11、SCF、FTL3 配體、LIF、IL-3、IL-6、IL-1、造血生長因子、NESP、SD-01、IL-8 或 IL-5、或任何該試劑的生物活性衍生物。
13. 如申請專利範圍第 2 項的醫藥組成物，進一步包含共同投藥治療有效份量之選自下列族群所組成的試劑：群落刺激因子、細胞激素、化學激素、白細胞介素、或細胞激素受體促進劑。
14. 如申請專利範圍第 13 項的組成物，其中該試劑是選自下列所組成的族群：G-CSF、GM-CSF、TPO、M-CSF、EPO、Gro-beta、IL-11、SCF、FTL3 配體、LIF、IL-3、IL-6、IL-1、或 IL-5、或任何該試劑的生物活性衍生物。
15. 一種增進從捐贈者獲得之血小板生產的方法，其包含對捐贈者在血小板分離術、血液捐贈或血小板捐贈

之前，投藥治療有效份量之如申請專利範圍第 1 項敘述的化合物。

16. 一種增進從捐贈者獲得之周邊血液幹細胞數目的方法，其包含對此捐贈者在白血球分離術之前，投藥治療有效份量之如申請專利範圍第 1 項敘述的化合物。
17. 如申請專利範圍第 16 項的方法，進一步包含共同投藥治療有效份量之造血細胞流動劑，是選自下列所組成的族群：群落刺激因子、細胞激素、化學激素、白細胞介素、或細胞激素受體促進劑、黏著分子拮抗劑或抗體。
18. 如申請專利範圍第 17 項的方法，其中該流動劑是選自下列所組成的族群：G-CSF、GM-CSF、TPO、EPO、Gro-beta、IL-8、環磷醯胺、VLA-4 抑制劑、SCF、FTL3 配體、或 G-CSF、GM-CSF、TPO、EPO、Gro-beta 或 IL-8 的生物活性衍生物。
19. 一種試管中或活體外增進巨核細胞成熟及/或血小板生產的方法，其包含添加有效份量之如申請專利範圍第 1 項敘述的化合物到表現 TPO 受體之細胞的培養介質中。
20. 一種試管中或活體外增進巨核細胞成熟及/或血小板生產的方法，其包含添加有效份量之如申請專利範圍第 1 項敘述的化合物到幹細胞、骨髓細胞、臍帶血細胞或周邊血液細胞的培養介質中。

21. 如申請專利範圍第 20 項的方法，其中該巨核細胞或血小板在化學治療或輻射治療之後被送回到哺乳動物。
22. 一種試管中或活體外增進在培養中幹細胞、骨髓細胞、臍帶血細胞、周邊血液細胞或表現 TPO 受體之其他種類細胞存活及/或增生的方法，其包含在含有有效份量之如申請專利範圍第 1 項敘述化合物的介質中培養該細胞。
23. 如申請專利範圍第 22 項的方法，進一步包含共同投藥治療有效份量之群落刺激因子、細胞激素、化學激素、白細胞介素、或細胞激素受體促進劑。
24. 如申請專利範圍第 22 項的方法，其中幹細胞在化學治療或輻射治療之後被送回到哺乳動物。
25. 一種在需要彼之包括人類的哺乳動物上、治療嗜中性白血球減少症的方法，其包含對此哺乳動物投藥治療有效份量之申請專利範圍第 1 項所述的化合物。
26. 一種試管中或活體外增進嗜中性白血球生產刺激的方法，其包含添加有效份量之如申請專利範圍第 1 項敘述化合物到幹細胞、骨髓細胞、臍帶血細胞或周邊血液細胞或表現 TPO 受體之其他種類細胞的培養介質中。
27. 如申請專利範圍第 26 項的方法，其中嗜中性白血球在化學治療或輻射治療之後被送回到哺乳動物。
28. 如申請專利範圍第 3 項的方法，其中該血小板減少

症是由於化學治療或輻射治療導致的骨髓抑制。

29. 如申請專利範圍第 3 項的方法，其中該血小板減少症是由於器官移植。
30. 如申請專利範圍第 3 項的方法，其中該血小板減少症是由於骨髓、幹細胞或肝臟移植。
31. 如申請專利範圍第 3 項的方法，其中該血小板減少症是由於原發性的血小板減少症紫斑症(ITP)。
32. 如申請專利範圍第 3 項的方法，其中該血小板減少症是由於骨髓衰竭異常綜合症(MDS)、發育不全貧血症或白血症。
33. 如申請專利範圍第 3 項的方法，其中該血小板減少症是由於病毒、真菌、微生物或寄生蟲感染。
34. 如申請專利範圍第 3 項的方法，其中該血小板減少症是由於肝臟官能障礙。
35. 如申請專利範圍第 3 項的方法，其中該血小板減少症是由於手術步驟。
36. 如申請專利範圍第 3 項的方法，其中該血小板減少症是藥物引發的。
37. 一種製備申請專利範圍第 1 項之化合物的方法，該方法包含：
 - i) 溶解 2-(3,4-二甲基苯基)-4-{{2-羥基-3'-(1H-四唑-5-基)聯苯-3-基]-亞聯胺基}-5-甲基-2,4-二氫吡唑-3-酮於有機溶劑中，形成溶液；
 - ii) 添加一或多當量的氫氧化膽鹼到該溶液中；及

iii) 單離該製備的化合物。

38. 一種在需要彼之哺乳動物上、治療退化性疾病的方法，其包含對此哺乳動物在活體中投藥治療有效份量之申請專利範圍第 1 項的化合物。
39. 如申請專利範圍第 38 項的方法，其中該哺乳動物為人。
40. 如申請專利範圍第 38 項的方法，其中該退化性疾病是選自：橫肌骨髓炎、多重硬化症、在腦部或脊椎外傷之後的髓鞘脫失、急性腦部傷害、頭部外傷、脊椎傷害、周邊神經傷害、局部缺血腦部傷害、CNS 的遺傳性髓磷脂不適、癲癇、出生前後的窒息、窒息、缺氧症、癲癇重積狀態、中風、老年癡呆症、帕金森氏症、舞蹈症、肌萎縮性脊髓側索硬化症、心血管不適、心肌梗塞、心血管疾病、肝臟疾病、腸胃疾病、腎臟疾病、AIDS、和糖尿病。
41. 如申請專利範圍第 38 項的方法，其中該退化性疾病是退化性神經疾病。
42. 如申請專利範圍第 40 項的方法，其中該化合物是口服投藥。
43. 如申請專利範圍第 40 項的方法，其中該化合物是非腸胃投藥。
44. 如申請專利範圍第 40 項的方法，進一步包含共同投藥治療有效份量之選自下列族群所組成的試劑：群落刺激因子、細胞激素、化學激素、白細胞介素、或

細胞激素受體促進劑、可溶性受體、受體促進劑或拮抗劑抗體、或以一或多個該試劑之相同機制作用的小分子或胜肽。

45. 如申請專利範圍第 44 項的方法，其中該試劑是選自下列所組成的族群：G-CSF、GM-CSF、TPO、M-CSF、EPO、Gro-beta、IL-11、SCF、FTL3 配體、LIF、IL-3、IL-6、IL-1、造血生長因子、NESP、SD-01、IL-8 或 IL-5、或任何該試劑的生物活性衍生物。

46. 如申請專利範圍第 40 項的方法，進一步包含共同投藥治療有效份量之造血細胞流動劑，是選自下列所組成的族群：群落刺激因子、細胞激素、化學激素、白細胞介素、或細胞激素受體促進劑、黏著分子拮抗劑或抗體。

47. 如申請專利範圍第 46 項的方法，其中該流動劑是選自下列所組成的族群：G-CSF、GM-CSF、TPO、EPO、Gro-beta、IL-8、環磷醯胺、VLA-4 抑制劑、SCF、FTL3 配體、或 G-CSF、GM-CSF、TPO、EPO、Gro-beta 或 IL-8 的生物活性衍生物。

48. 如申請專利範圍第 40 項的方法，其中該退化性疾病是由於病毒、真菌、微生物或寄生蟲感染。

49. 如申請專利範圍第 40 項的方法，其中該退化性疾病是由於肝臟官能障礙。

50. 如申請專利範圍第 40 項的方法，其中該退化性疾病是由於手術步驟。

51. 如申請專利範圍第 40 項的方法，其中該退化性疾病是由於以抗病毒或抗生素劑治療。
52. 如申請專利範圍第 40 項的方法，其中該退化性疾病是由於脊椎傷害。
53. 一種治療疾病狀態的方法，該疾病是選自：橫肌骨髓炎、多重硬化症、在腦部或脊椎外傷之後的髓鞘脫失、急性腦部傷害、頭部外傷、脊椎傷害、周邊神經傷害、局部缺血腦部傷害、CNS 的遺傳性髓磷脂不適、癲癇、出生前後的窒息、窒息、缺氧症、癲癇重積狀態、中風、老年癡呆症、帕金森氏症、舞蹈症、肌萎縮性脊髓側索硬化症、心血管不適、心肌梗塞、心血管疾病、肝臟疾病、腸胃疾病、腎臟疾病、AIDS、和糖尿病，其包含在活體中投藥治療有效份量之申請專利範圍第 1 項的化合物。
54. 一種治療退化性神經疾病的方法，其包含在活體中投藥治療有效份量之申請專利範圍第 1 項敘述的化合物。
55. 一種治療疾病狀態的方法，該疾病狀態是選自：橫肌骨髓炎、多重硬化症、在腦部或脊椎外傷之後的髓鞘脫失、急性腦部傷害、頭部外傷、脊椎傷害、周邊神經傷害、局部缺血腦部傷害、CNS 的遺傳性髓磷脂不適、癲癇、出生前後的窒息、窒息、缺氧症、癲癇重積狀態、中風、老年癡呆症、帕金森氏症、舞蹈症、肌萎縮性脊髓側索硬化症、心血管不適、心肌梗塞、

心血管疾病、肝臟疾病、腸胃疾病、腎臟疾病、AIDS、和糖尿病，其包含在活體中投藥治療有效份量之申請專利範圍第 2 項敘述的化合物。

56. 一種治療退化性神經疾病的方法，其包含在活體中投藥治療有效份量之申請專利範圍第 2 項敘述的化合物。

57. 一種在需要彼之哺乳動物上治療退化性疾病的方法，其包含對此哺乳動物投藥治療有效份量之申請專利範圍第 1 項的化合物。

58. 如申請專利範圍第 57 項的方法，其中該哺乳動物為人。

59. 如申請專利範圍第 37 項的方法，其中該溶液包含醋酸乙酯及乙醇的混合物。

60. 如申請專利範圍第 37 項的方法，其中該溶液包含四氫呋喃。

七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 () 圖。無

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

無

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

