

205507

| | |
|------|------------|
| 申請日期 | 81.3.6 |
| 案號 | 81101708 |
| 類別 | A61K 31/52 |

公告本

A4
C4

(以上各欄由本局填註)

(81101708)

發明專利說明書
~~新型~~

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

| | | |
|--------------|---------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 一、發明名稱 創作 | 中文 | 黃嘌呤於製備具免疫抑制活性之醫藥的用途 |
| | 英文 | Use of xanthines for the preparation of a medicament having immuno supressing activity |
| 二、發明人 創作 | 姓名 | 1 畢雅各 (James A. BIANCO) 2 辛傑克 (Jack W. SINGER) 3 鄒威廉 (William J. NOVICK, Jr.) |
| | 籍貫 (國籍) | 1 - 3 皆美國 |
| | 住、居所 | 1 華盛頓州 98116 西雅圖市艾帝路 2920 號 2920 Alki Avenue, Seattle, Washington, 98116 2 華盛頓州 98122 西雅圖市東春街 3515 號 3515 East Spring Street, Seattle, Washington, 98122 3 紐澤西州 08833 黎巴嫩市貝特路 2 號 R.D. Nr. 2, Bartles Road, Lebanon, NJ 08833 |
| 三、申請人 | 姓名 (名稱) | 美商赫斯脫-羅沙藥品公司 Hoechst-Roussel Pharmaceuticals Incorporated 美國佛瑞德癌症研究中心 The Fred Hutchinson Cancer Research Center |
| | 籍貫 (國籍) | 美國 |
| | 住、居所 (事務所) | 美國新澤西州 08876 沙蒙威城北區 202-206 路 Route 202-206 North, Somerville, New Jersey 08876, U.S.A. 美國華盛頓州 98104 西雅圖市哥倫比亞街 1124 號 1124 Columbia Street, Seattle, Washington 98104, U.S.A. |
| | 代表人 姓名 | 蘇傑依 (Jay T. Scheck, Jr.) 薛蘇珊 (Susan Charrin) |

五、發明說明 (1)

發明背景

本發明係關於使用黃嘌呤作為哺乳動物之免疫抑制劑。在本發明之一具體實施例中黃嘌呤抑制哺乳動物之淋巴細胞的活化作用。在另一具體實施例中，本發明係關於使用黃嘌呤抑制與人類自體免疫疾病有關之作用。

脊椎動物之免疫系統保護他們免於由(病原)微生物，諸如：細菌及病毒，由寄生蟲，及由癌細胞引起疾病。免疫系統藉由如免疫反應之已知方法，特異性地辨別及選擇性地消除外來侵入者。

免疫系統已經引出提供生物其對種種不同的抗原，可特異性地反應。為了免疫反應，發生緊接著之抗原挑戰，抗原不僅必須被抗原特異性淋巴細胞辨識，而且此辨識事件必定導致各種不同的細胞反應。T 淋巴細胞與 B 淋巴細胞一起，代表細胞免疫系統的 2 個抗原特異性組份。靜止 T 淋巴細胞之活化對大部份免疫反應是關鍵，因為細胞活化使細胞運用其調節或效應器活性。於活化期間相對靜止之細胞進行複雜改變，包括分化及增生。

導致外來侵入者之中和及消除的免疫反應，也可引起疾病。包括免疫系統的疾病可分成 2 類。當此系統之組份不能起作用時，造成缺失疾病，這些疾病臨床上本身出現對侵染低抗性及喪失免疫監督功能。當此系統於不適當情況下反應時，造成過敏性疾病。例如：對本身

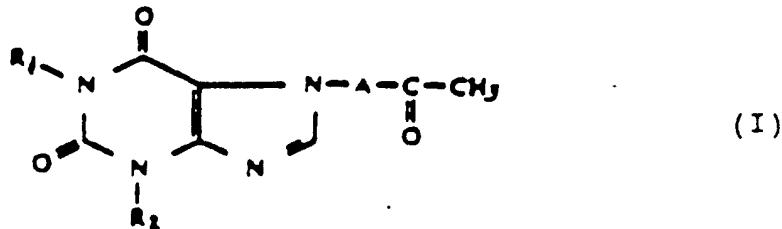
五、發明說明 (2)

組份的免疫反應，可導致免疫耐受性崩潰，引起自體免疫疾病。自體免疫疾病是一種其中身體使得對其本身組成抗原其中之一產生免疫反應，然後再引起病理損害，多數器官及組織包括在自體免疫病中。自體免疫性在臨床醫學上是一主要問題並且是大經濟損失的原因。

在此技藝上存在一種需求藉由抑制哺乳動物之免疫系統，控制免疫反應之方法，也存在臨床上處理過敏性疾病，包括人類自體免疫疾病的一種需求。因為防止自體免疫疾病的現有治療及方法，不完全令人滿意，因為自體免疫疾病是使病人遭受到免疫反應病症之苦的主要原因，所以必須發現防止或治療此種疾病的新探討。

發明摘要

本發明藉由提供抑制哺乳動物例如：人之淋巴細胞，包括T淋巴細胞及B淋巴細胞活化之方法，本發明幫助實現這些需求。更特定言之，本發明藉由將denbufylline以外之至少一種式(I)之7-(氨基烷基)1,3-二烷基黃嘌呤投藥給人，提供抑制哺乳動物淋巴細胞活化之方法。



(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝
訂
線

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

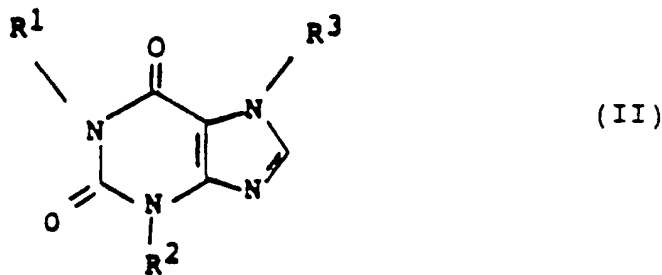
五、發明說明 (3)

式中

R_1 及 R_2 為相同或相異並且個自分別選自包括具 2-6 個碳原子之直鏈或支鏈烷基，環己基，直鏈或支鏈烷氧烷基，及羥烷基；且

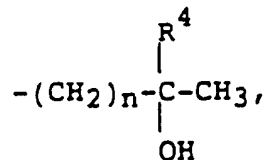
A 是具高達 4 個碳原子之烴基，其可被甲基取代者，式 (I) 之黃嘌呤是以抑制淋巴細胞活化有效量使用之。

本發明也提供抑制哺乳動物淋巴細胞活化之方法，其包括將式 II 之化合物投與哺乳動物



式中 R^1 及 R^3 至少其中之一是

a) 具三級醇官能之下式之分支羥烷基

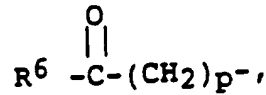


式中 R^4 代表具 1-3 個碳原子之烷基且 n 代表 2-5 之整數，其他 R^1 或 R^3 基可隨意存在，代表氫原子或具高達 6 個碳原子之脂族烴基，其碳鏈可被高達 2 個氧原子中斷或可

五、發明說明 (4)

用羥基或氧基取代，或

b) R¹ 或 R³ 至少其中之一是下式之氧基烯丙基



式中 R⁶ 是 C₁-C₆ 烷基，且 P=2, 3 或 4；其他 R¹ 或 R³ 如上面所定義者且 R² 代表具 1-4 個碳原子之烷基。

式 (II) 之黃嘌呤是以抑制淋巴細胞活化有效量使用之。熟知之醫藥 pentoxifylline 是通式 (II) 以內之一化合物的實例。pentoxifylline ("PTX") 是於商標 Trental[®] 下，於商場上可取得，呈口服用之片劑形式。雖然此化合物使用作為改善血液流動性質之醫藥，已經有一段時間 (臨床試驗在 1971 年)，但是並未報導作為淋巴細胞活化之抑制劑有效。

附圖之簡明描述

本發明藉由參照附圖，將會更完全了解，其中：

圖 1 展示 PTX 及 7-乙氧甲基-1-(5-羥基-5-甲己基)-3-甲基黃嘌呤，對 T 細胞活化抗原之表現的作用，保藉由雙向 MLR 培養 6 天後，直接免疫螢光分析之。

圖 2 展示於 PHA 刺激單核細胞 (2 個獨立實驗) 或雙向 MLR，添加重組人類腫瘤壞死因子 (rhTNF)，200 單位 / 毫升之作用。

較佳具體實例之詳細描述

五、發明說明 (5)

某些黃嘌呤根據本發明用於抑制T淋巴細胞之反應，藉以抑制哺乳動物為對象之免疫反應。包括在本發明中的生物方法的特性，將是首先被描述者。接著將詳細描述黃嘌呤及黃嘌呤之製法。下列為活體外試驗所獲得的結果。

1. 黃嘌呤作為免疫抑制劑

黃嘌呤當根據本發明使用時，抑制幾種類型之效應細胞(效應炎性細胞以外)之活化或起作用。即黃嘌呤抑制淋巴細胞，即T淋巴細胞及B淋巴細胞之活化。更特定言之，黃嘌呤能夠抑制一種或多種選自包括T輔助細胞，T細胞毒性細胞，T抑制細胞，天然殺手細胞，負責抗體依賴性細胞調節細胞毒性之殺手細胞，T遲滯過敏性細胞，B淋巴細胞，及這些細胞類型每一種之亞組的淋巴細胞之活化。被黃嘌呤抑制之T細胞的活化，甚至在巨噬細胞，嗜中性細胞及白血球衍生的細胞動素(cytokines)，諸如腫瘤壞死因子(TNF)缺乏下也可證明。

於淋巴細胞活化過程期間，B及T淋巴細胞進行若干改變，包括細胞增生，細胞分化，膜脂肪改變，離子通量，環狀核苷酸變更，蛋白質磷酸化，增加或減少特定組成及新活化基因之RNA的合成，增加或減少特定組成及新活化基因產物之蛋白質的合成，細胞體積增加(胚

五、發明說明 (6)

胞轉化), 抗體產生, 或DNA合成。黃嘌呤當根據本發明使用時, 能夠抑制一或多個這些項目。

在實驗模式中可使用各種不同參數, 以證明淋巴細胞活化。例如: 可藉由觀察早期訊號轉導(signal transduction)事件, 例如: 增加細胞質自由態鈣; 細胞表面抗原, 例如: 介白素2 (IL-2)受體及II類(MHC)分子的表現; 淋巴動素例如: IL-2的產生; 細胞增生; 或細胞溶解活性。如藉細胞增生表示之淋巴細胞活化, 已經用於證明根據本發明之黃嘌呤的作用。

更特定言之, 由不相關之個體白血球的共同培養, 導致胚胎轉化及增生, 與於分裂素(mitogen)添加至T-細胞, 所觀察到的結果相似。此反應之基礎顯示得自一個體的T-細胞, 被另一個體之細胞表面標記活化。由2個個別之血液白血球之共同培養稱之為"混合白血球培養"或"MLC", 而此反應稱之為"混合白血球反應"或"MLR"。由淋巴狀器官獲得之細胞的共同培養, 稱之為"混合淋巴細胞培養"或"混合淋巴細胞反應"。因為甚至在混合白血球反應中, 參與細胞是末稍血液T淋巴細胞, 一般於2種培養類型之間, 實質上並沒有差異。因此, 這些表示於本文可交替使用。

MLR在本發明中被利用作為人類淋巴細胞活化之活體外類似反應。更特定言之, MLC在本發明中可使用作

五、發明說明 (7)

為活體外分析，供測定較佳黃嘌呤及其用於特定臨床設定的量。一種在抑制人類MLR上有強反應之黃嘌呤，最好使用作為根據本發明之免疫抑制劑。

MLR可用習用技術進行之。供MLR之培養細胞，可由末梢血液，脾臟，淋巴節，或胸腺產生。細胞數量可由幾個數量級變化之。刺激細胞可藉由照射或用抗生素處理，使失活，以瓦解DNA複製、若須要，培養基可藉由自體，同源，異源，或異種起源之血清蛋白補給。培養可經幾天期間進行之。反應細胞受刺激細胞的刺激程度，可由³H胸腺嘧啶核苷或放射性標記胺基酸之吸收速率或藉計數胚胎及分裂細胞測定之。若使用放射性標記，可於收成之前幾小時，添加至培養中。

在淋巴細胞之細胞表面上的受體，也已經使用作為根據本發明之淋巴細胞活化之抑制作用的量度。更特定言之，若干細胞表面分子於與T細胞之活化，分化，及增生有關之事件發生期間，出現在T淋巴細胞的表面上。這些包括淋巴動素受體，例如：IL-2，營養受體，II類MHC抗原，及其他細胞表面分子。當這些細胞表現分子的大部分出現是受轉錄調節時，這些分子的發生可使用作為細胞活化之量度。

藉由抑制淋巴細胞之活化，本發明也使其可能抑制自身抗體的增生。自身抗體是由動物(或人)產生之抗體

五、發明說明 (8)

，其結合至在其本身細胞或細胞外蛋白質中存在之抗原。自身抗體透過幾種致病機制，包括受體刺激，受體抑制，免疫複合物的形成，調理作用，補體依賴性溶解作用，及生理肽的抑制作用操作。使用根據本發明之黃嘌呤，使其可能切斷一或多種這些致病機制。

本發明之方法也用於治療為過敏性疾病，例如：自體免疫疾病所苦的人為對象。根據本發明可治療之自體免疫疾病包括器官特異性自體免疫疾病，諸如下列：

內分泌系統

自體免疫(橋本氏病)甲狀腺炎

甲狀腺機能亢進(Grave氏病，甲狀腺毒症)

1型糖尿病(胰島素依賴型或幼年型糖尿病)

胰島素抗性糖尿病

自體免疫腎上腺不足(Addison氏病)

自體免疫卵巢炎

自體免疫睪丸炎

造血系統

自體免疫溶血性貧血("溫"自身抗體型)

自體免疫溶血性貧血(受寒凝集素病)

陣發性受寒血色素尿症

自體免疫血小板減少症

自體免疫嗜中性白血球減少症

五、發明說明 (9)

惡性貧血

純紅血球貧血症

自體免疫血凝固病(循環中的抗凝血物質)

神經肌肉系統

重症肌無力

自體免疫多數神經炎

多發性硬化

實驗過敏性腦脊髓炎

皮膚

天庖瘡及其他大庖病

心肺系統

風濕性心臟炎

Goodpasture氏症候群(肺出血及腎炎)

心臟切開術後症候群(Dressler氏症候群)

根據本發明可治療之自體免疫疾病也包括全身性自體免疫疾病，例如：

全身性紅斑狼瘡

類風濕性關節炎

Sjogren氏症候群(角膜炎，腮腺炎，及關節炎)

多肌炎

皮肌炎

硬皮病(進行性全身硬化症)

五、發明說明 (1D)

使誘發自體免疫疾病的這2種(器官特異性及全身性)出現的致病機制是不同的。與器官特異性相當有關的自體免疫作用是具耐受性而且抑制T細胞族群，MHC抗原的畸形表現，及MHC基因的變異。全身性自體免疫疾病的病因，可包括多株B細胞活化，以及T細胞，T細胞受體及MHC基因之異常性。

將會了解，本發明可使用作為病人之最小或侵襲性免疫抑制性治療。更特定言之，當根據本發明使用黃嘌呤時，它們功用係藉由降低宿主之免疫反應，作為免疫抑制劑。根據本發明黃嘌呤可於使用化學免疫抑制劑，諸如：烷化劑，抗代謝劑，類皮質固醇，或抗生素；物理免疫抑制劑，例如：離子化輻射；免疫試劑，諸如：抗淋巴細胞血清或抗淋巴細胞球蛋白；或供特異性抑制之抗原或多株或單株抗體投藥之前，之後，或同時使用之。

更特定言之，黃嘌呤可於免疫抑制劑例如：環磷醯胺(cyclophosphamide)，胺甲蝶呤(methotrexate)，環芽孢素A(cyclosporin A)，強的松(prednisone)，甲基強的松(methylprednisone)，抗胸腺細胞球蛋白，與人類淋巴細胞亞族群具反應性之單株抗體，或這些治療劑混合投藥之前，投藥期間，或投藥之後給藥。這些免疫抑制劑是根據通常用於免疫抑制作用之服用法使用之。

五、發明說明 (1)

同樣地，黃嘌呤根據本發明可與類皮質固醇例如：強的松及甲基強的松；環芽孢素A，azathioprine；抗淋巴細胞血清或球蛋白；與人類淋巴細胞亞族群具反應性之單株抗體；或這些治療劑混合，一起投藥使用之。再一次，這些免疫抑制劑是根據通常用於免疫抑制的服用法使用之。

本發明也使其可能抑制人為對象的異源移植反應之作用。更特定言之，黃嘌呤根據本發明是用於調節對異源移植，其中未處理排斥以別的方式導致移植物損失之處的免疫反應。急性移植排斥主要是經細胞調節之免疫反應。

異源移植反應在人為對象中，可以宿主對移植物反應(HVGR)或以移植物對宿主反應(GVHR)表示。HVGR由於宿主抗性或持久性宿主免疫性，導致移植失敗或排斥。宿主細胞可損害贈與衍生組織之接合或贈與衍生細胞之增生及分化。

使用根據本發明之黃嘌呤，使其可能增加移植方法的可行性。此黃嘌呤於異源移植反應，例如：HVGR及GVHR之預防及治療兩者都是有價值的治療劑。存活之緊跟接合，主要是與急性GVHD之嚴重性有關。本發明預期使其可能抑制GVHR，及GVHD相關之還原作用。

2. 黃嘌呤投藥給病人

五、發明說明 (2)

黃嘌呤之有效量可藉各種不同方法中的任一種，投藥給一受驗者，例如：以膠囊或片劑經口投藥，或以無菌溶液之形式非經腸投藥，例如：藉靜脈內或肌內注射，當黃嘌呤本身有效時，為了安定性，宜於結晶化，增加溶解度等，可以其醫藥上可接受之附加鹽之形式調配及投藥。

較佳醫藥上可接受之附加鹽包括礦酸例如：鹽酸，硫酸，硝酸等之鹽類；一鹼價羧酸，例如：醋酸，丙酸等之鹽類；二鹼價羧酸例如：馬來酸，富馬酸，草酸等之鹽類；及三鹼價羧酸例如：羥基琥珀酸，檸檬酸等之鹽類。

此黃嘌呤可經口投藥，例如：與惰性稀釋劑或與可食用載劑一起投藥。它們可包在明膠膠囊或壓成片劑。為了口服治療性投藥。化合物可與賦形劑合併並且以片劑，錠劑，膠囊劑，醃劑，懸浮劑，糖漿，乾膠片，咀嚼膠等形式使用之。這些製劑應含至少0.5%活性化合物，但是此含量可依特定形式而異，可合宜地介於單位重量的4.0%-約70%。在此種組合物中黃嘌呤的量是使得可獲得適宜劑量。根據本發明製得之較佳組合物及製劑，要使得口服劑量單位形式包含約1.0毫克-約400毫克活性化合物。

片劑，丸劑，膠囊劑，錠劑等含下列組份：黏合劑

五、發明說明 (13)

，例如：微結晶性纖維素，黃耆膠或明膠，賦形劑，例如：澱粉或乳糖；崩散劑例如：藻朓酸，Primolgel，玉米澱粉等；潤滑劑，例如：硬脂酸鎂或Sterotes；助流劑，例如：膠態二氧化矽；致甜劑，例如：蔗糖或糖精；或芳香劑，例如：薄荷，水楊酸甲酯，或柳橙調味劑。當劑量單位形式是膠囊劑時，除了上述類型之物質以外，可包含液體載劑例如：脂肪油。

其他劑量單位形式可包含修改劑量單位之物理形式的其他物質，例如：作為包衣。因此片劑或丸劑可用糖，蟲膠，或其他腸溶劑塗覆。糖漿劑除了活性化合物之外，可含蔗糖作為致甜劑，及防腐劑，染料，著色劑，及調味劑。在製備這些組合物中使用的物質，在所使用量之下，應是醫藥上純粹並且是無毒。

為了非經腸治療投藥，此黃嘌呤可併入一溶液或懸浮液。這些製劑應含至少0.1%前述化合物，但是可於其重量的0.5%-約50%間變化。在此種組合物中活性化合物的量是使得可獲得一適宜劑量。製備根據本發明較佳組合物及製劑，使得非經腸劑量單位包含0.5毫克-100毫克活性化合物。

黃嘌呤之溶液或懸浮液也可包括下列組份：無菌稀釋劑，例如：注射用水，食鹽水溶液，固定油，聚乙二醇，甘油，丙二醇或其他合成溶劑；抗細菌劑，例如：苧

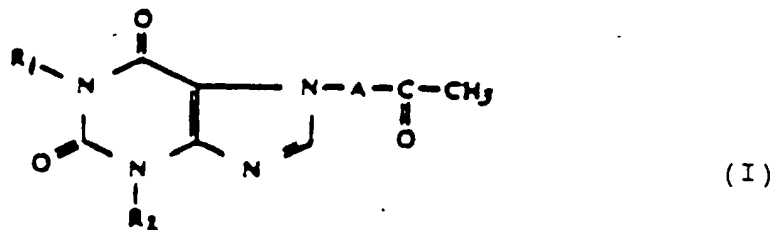
五、發明說明 (4)

醇或對-經基苯甲酸甲酯；抗氧化劑，例如：抗壞血酸或亞硫酸氫鈉；鉗合劑，例如：乙二胺四醋酸；緩衝液，例如：醋酸鹽，檸檬酸鹽，或磷酸鹽；及調整張力之劑，例如：氯化鈉或葡萄糖。非經腸製劑可裝在管形瓶中，可丟棄注射器，或由玻璃或塑膠製成之多劑量管形瓶中。

當式 (I) 或式 (II) 之黃嘌呤投與一需要此種治療之對象，而劑量值將變化時，以每天約 1,200-約 2,400 毫克之有效口服，非經腸，或靜脈內亞致死劑量投藥時，將可達到良好結果。用於骨髓移植治療特定較佳服用法，包括 PTX 在食鹽水溶液 (100 毫克/5 毫升) 中，於 1/2 毫克/公斤/小時連續靜脈內投藥 20 天，隨後以 2,000 毫克/天口服至移植後 100 天。可是要了解就任一特定對象，特殊劑量服用法應調整至個別需求及管理或監督黃嘌呤投藥之人的專業判斷，應進一步了解本文所說明之劑量只是例示而不是將本發明之範圍或實務限制至任何程度。

3. 式 (I) 之嘌呤的描述及製備

可用於本發明之一組黃嘌呤具下列化學式：



五、發明說明 (15)

在式 (I) 中取代基 R_1 及 R_2 是相同或相異並且個自分別選自包括具 2-6 個碳原子之直鏈或分支烷基，環烷基，烷氧烷基，及羥烷基。取代基 A 代表具高達 4 個碳原子之烴基，其可被甲基取代者。

很多的式 (I) 之化合物可用於本發明，例如：式 (I) 之黃嘌呤可被烷基或被烷氧基或羥烷基取代者。適宜之烷基包括分支及直鏈基，例如：乙基，丙基，異丙基，丁基，第二丁基，第三丁基，戊基，己基等。烷氧基取代之烷基包括在混合烷氧基及烷基中含 2-6 個碳原子之分支及直鏈基，包括甲氧甲基，戊氧甲基，甲氧乙基，丁氧乙基，丙氧丙基等。羥烷基為那些含 1-6 個碳原子者，例如：羥甲基，羥乙基，羥丙基，羥乙基等。

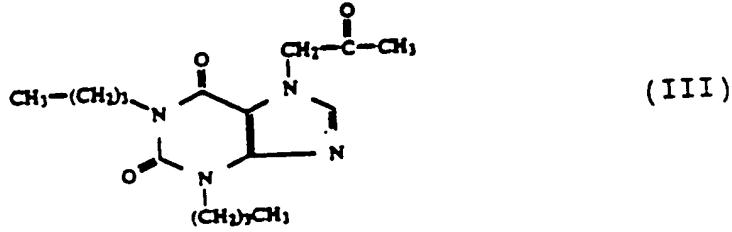
在式 (I) 中由 A 代表之烴基是二價飽和脂族烴基，即亞甲基，次乙基，次丙基及次丁基，其在鄰接羰基之碳上，用甲基取代者。此種經甲基取代之基包括亞乙基，1,2-丙撐，及 1,3-丁撐基。

將會了解本發明之方法可用在活體內變成上述式 (I) 之其中一種黃嘌呤之化合物，以及活體內產生之代謝物類似由式 (I) 之上述黃嘌呤形成之代謝物的化合物實際應用之。

式 (I) 以內之化合物已經被發現在抑制淋巴細胞活化上無效是 denbufylline。此化合物具下列化學式，其

五、發明說明 (6)

也參照本文縮寫為 "DBOPX"。



"DBOPX"

化合物 (III) 在由 MLR 證明抑制淋巴細胞活化之能力，尚未經活體外證明。

在本發明中使用之式 (I) 之化合物，可使用已知技術合成之。例如：化合物可於提昇溫度下，視情況在溶劑存在下，由式 (III) 之對應取代 1,3-二烷基黃嘌呤



式中 R₁ 及 R₂ 如上面所定義者，與相當於式 (IV) 之 α, β - 不飽和甲基酮反應製備之



式 (IV) 中之取代基 R 代表氫或甲基。此反應可在鹼性基質中進行。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝 · · · · · 訂 · · · · · 線 · · · · ·

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明(6)

製備之變更方法包括令通式 II, 其 R₁ 及 R₂ 如上面所定義之 1,3-二烷基黃嘌呤衍生物之鹼金屬鹽, 與相當於式 (V) 之氧基烷基鹵化物反應



式中 A 如上面所定義者, 且 Hal 代表鹵素原子, 較佳氯或溴。

這些反應較佳於 40° - 80°C 之溫度範圍下, 視情況於升壓或減壓下進行, 但是通常是於大氣壓力下進行。個別起始化合物可以化學當量或過量使用之。在製備之變更方法中, 鹼性鹽可事先製備或在其本身反應中製備之。

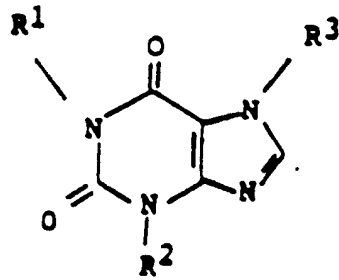
在此反應中使用之適宜溶劑是水可溶混化合物, 較佳低碳醇, 例如: 甲醇, 丙醇, 異丙醇, 及各種不同丁醇; 以及丙酮; 吡啶; 三乙胺; 多元醇, 例如: 乙二醇及乙二醇單甲醚或單乙醚。

式 (I) 之化合物已知其明顯的作用在增加血液流經骨骼肌及其低毒性。在本發明中使用之化合物的更詳細描述及這化合物的製法包含在美國專利 4,242,345 其中確定之全部揭示內容並且將其併於本文供參考。

4. 式 (II) 之黃嘌呤的描述及製備

五、發明說明(8)

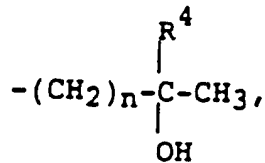
移植反應，尤其GVHR之抑制作用，也可藉由將式
(II)之黃嘌呤投與病人達到目的



(II)

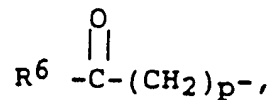
式中R¹及R³至少其中之一是

(a) 下式具三級醇官能之分支羥烷基



式中R⁴代表具1-3個碳原子之烷基且n代表2-5之整數，其他R¹或R³基可隨意存在，其代表氫原子及具高達6個碳原子之脂族烴基R⁵，其碳鏈可被高達2氧原子中斷或可用烴基或氧基取代，或

(b) R¹或R³至少其中之一是下式之羧基烯丙基



式R⁶是C₁-C₆烷基，且p=2, 3或4；其他R¹或R³如上面所定義者，且R²代表具1-4個碳原子之烷基。式(II)之黃

五、發明說明 (19)

嘌呤是以抑制移植反應，尤其GVHR有效之量使用之。於這些化合物之中商場上可取得之化合物是 pentoxifylline (Trental[®])。在通式 (II) 以內的一群其他化合物，可用於抑制GVHR活性。這些化合物之中確認如下。

.....
 (請先閱讀請背而之注意事項再填寫)(頁)

.....
 裝.....
 訂.....
 線.....

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明 (20)

式 (II) 之 GVHR 抑制化合物

| 化合物號碼 | R ₁ | R ₂ | R ₃ |
|-------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 2 | $\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{CH}_3-\text{C}-(\text{CH}_2)_4- \end{array}$ | -CH ₃ | -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃ |
| 3 | $\begin{array}{c} \text{OH} \\ \\ \text{CH}_3-\text{C}-(\text{CH}_2)_4- \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$ | -CH ₃ | -CH ₂ -CH ₂ -O-CH ₃ |
| 4 | " | " | -CH ₂ -O-(CH ₂) ₂ -O-CH ₃ |
| 5 | " | " | -H |
| 6 | " | " | -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃ |
| 7 | " | " | $\begin{array}{c} \text{OH} \\ \\ -\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}_3 \end{array}$ |
| 8 | " | " | $\begin{array}{c} \text{OH} \\ \\ -\text{CH}_2-\text{CH}-(\text{CH}_3)_2 \end{array}$ |
| 9 | " | -CH ₂ -CH ₃ | -CH ₂ -O-CH ₂ -CH ₃ |
| 10 | " | -CH ₃ | $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ -(\text{CH}_2)_4-\text{C}-\text{CH}_3 \\ \\ \text{OH} \end{array}$ |
| 11 | " | " | -CH ₂ -O-CH ₂ -CH ₃ |

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝 · · · · · 訂 · · · · · 線

五、發明說明 ()₂₁

要了解本發明之方法可用活體內改變成式(II)之上述黃嘌呤的其中之一化合物，以及活體內產生之代謝物類似由式(II)之上述黃嘌呤形成之代謝物的化合物實際應用之。例如：口服及靜脈內投藥之後，pentoxifylline幾乎完全被代謝。下列幾種代謝物已經在人尿中被確認，其為代謝物排泄之主要路徑：

- | | |
|---------|-------------------------|
| 代謝物 I | 1-(5-羥己基)-3,7-二甲基黃嘌呤 |
| 代謝物 II | 1-(5,6-二羥己基)-3,7-二甲基黃嘌呤 |
| 代謝物 III | 1-(4,5-二羥己基)-3,7-二甲基黃嘌呤 |
| 代謝物 IV | 1-(4-羧丁基)-3,7-二甲基黃嘌呤 |
| 代謝物 V | 1-(3-羧丙基)-3,7-二甲基黃嘌呤 |
| 代謝物 VI | 1-(5-氧基己基)-3-甲基黃嘌呤 |
| 代謝物 VII | 1-(5-羥己基)-3-甲基黃嘌呤 |

代謝物 I 及 V 是主要代謝物。代謝物 V 是主要尿代謝物，計算約為投藥劑量的 50-60%。只有微量 pentoxifylline 及代謝物 I 被發現在尿中。pentoxifylline 之二羥基衍生物(代謝物 II 及 III)佔排泄產物的大約 12%，代謝物 IV 約為代謝產物的 8%。

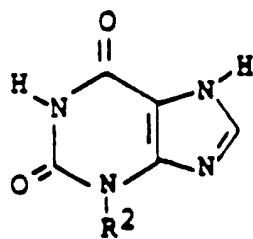
式(II)之化合物可根據美國專利 3,737,433 及比利時專利 831,051 之揭示內容製備之(其中 R¹/R³ 是氧基烯丙基)。若其中 R¹/R³ 至少其中之一是三級醇者，可能必須參考 1986 年 7 月 8 日提出之國際申請案 PCT/EP86/

五、發明說明 (2)

00401, 1985年7月8日之德國優先權的專利申請。此申請案請求, 作為其發明, 涵蓋在本發明中的是式 (II) 之黃嘌呤之合成途徑的各種不同具體實施例。

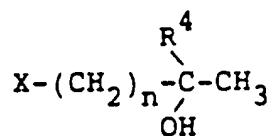
一具體實施例之實例包括

a) 令式 (VII) 之 3-烷基黃嘌呤



(VII)

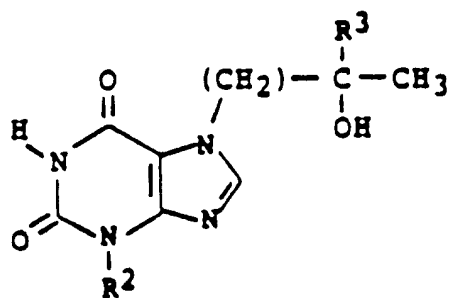
式中 R^3 代表具有高達 4 個碳原子之烷基, 與式 (VIII) 之烷化劑反應



(VIII)

式中 X 代表鹵素, 較佳氯, 溴, 或碘, 或磷酸酯基或磷酸酯基, 且其中 R^4 及 n 具上述意義者, 經反應獲得式

(IX)



(IX)

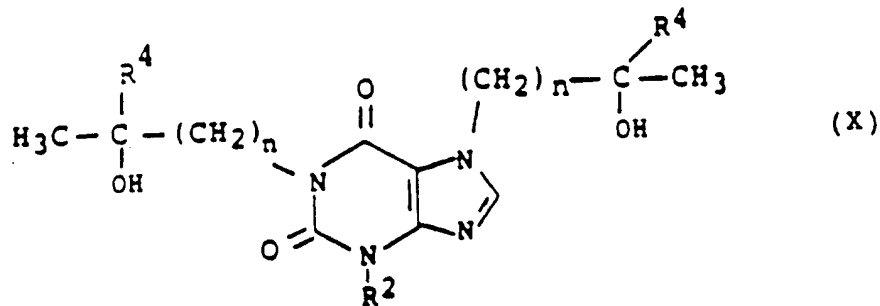
(請先閱讀背而之注意事項再填寫本頁)

裝 · · · · · 訂 · · · · · 線 · · · · ·

五、發明說明 (23

在 R³ 位置上有三級經烷基且 R¹ 位置上有氫之化合物，及

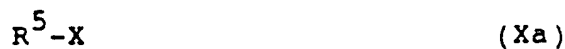
a₁) 用相同或相異之式 (VIII) 之烷化劑將上述化合物烷化，獲得根據本發明式 (X)



在 R¹ 及 R³ 位置上有 2 個相同或相異三級經烷基之化合物

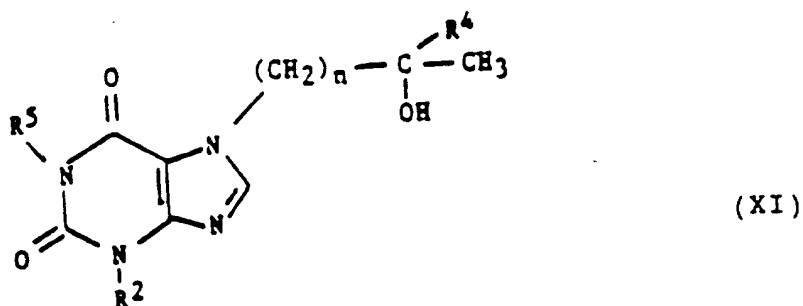
，或

a₂) 用式 (Xa) 之化合物



式中 X 具有式 (VIII) 所給之意義且 R⁵ 具上述意義者，將

上述化合物轉變成式 (XI) 之化合物

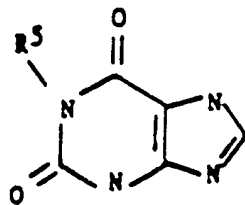


五、發明說明 () 24

在所有情況下，較佳在鹼性基質存在下操作或使用呈其鹽類形式之黃嘌呤。

另一具體實施例包括

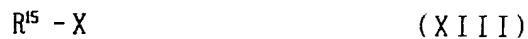
b) 將式 (XII) 之 1,3-二烷化黃嘌呤之 7-位取代，較佳在鹼性基質存在下或以其鹽之形式，藉由與式 (VIII) 之化合物，以一步反應，獲得式 (XI) 之化合物。



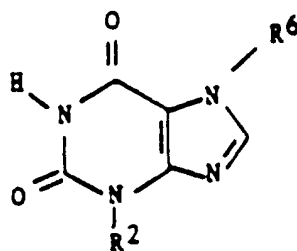
(XII)

另一具體實施例包括

c) 首先令式 (VII) 之 3-烷基黃嘌呤，同樣較佳在鹼性基質存在下或以其鹽類形式，與式 (XIII) 之化合物反應



形成式 (XIV) 之 3,7-二取代黃嘌呤



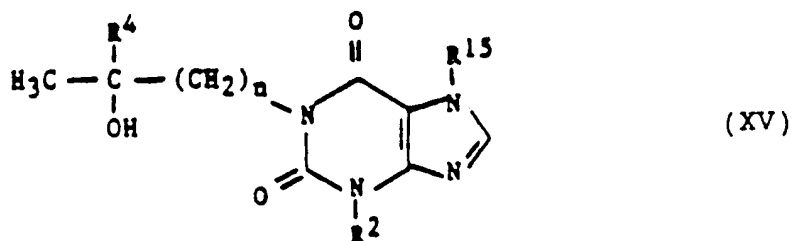
(XIV)

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

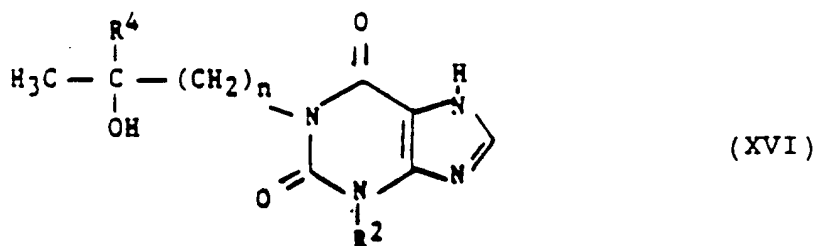
裝
訂
線

五、發明說明 (25)

式中 R^5 具 R^5 提及之意義或代表苄基或二苄甲基，然後在其 1-位上取代，再次較佳於鹼性基質存在下或以其鹽類形式，與式 (VII) 之化合物反應，獲得式 (XV) 之化合物



式中 R^5 代表苄基或二苄甲基，並且將式 (XV) 其中 R^5 代表苄基或二苄甲基或烷氧甲基或烷氧烷氧甲基之化合物，於還原或水解條件下轉變成本發明式 (XVI) 之化合物



若須要，其後再與式 (VIII) 或 (Xa) 之化合物反應，獲得根據本發明式 (X) 或 (XV) 之化合物。

另一具體實施例包括

d) 將根據本發明式 (XI) 或 (XV) 其中 R^5 或 R^5 代表氧基

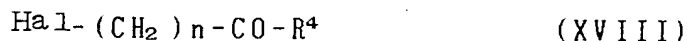
五、發明說明 () 26

烷基之化合物，用酮基之習用還原劑還原，獲得相當於根據本發明之經羥烷化黃嘌呤。

在此使用作為起始物質之式 (VII) 或 (XII) 之 3-烷基-或 1,3-二烷基黃嘌呤及式 (VIII), (Xa), 及烷化劑大部分是已知或藉由文獻上揭示之方法, 可容易地製得。因此, 式 (VIII) 之三級醇, 例如: 可藉有金屬合成獲得, 由立體上未受阻之式 (XVII) 之鹵基酮



在具羰基之還原性烷化作用之所謂的合成反應中, 與烷基金屬代合物 R^4-M , 尤其鎂, 鋅, 或鋰, 例如: 以烷基鎂鹵化物 R^4-MgHal (格利納化合物) 形式或烷基鋰化合物 R^4-Li 之形式, 於通常條件下反應 (例如: 參閱 Houben-Weyl, Vol. VI-1a, Part 2 (1980), pp. 928-40, 尤其 pp. 1021ff 及 1104-1112)。以相同方式, 具式 (XVIII) 之鹵基酮。



與甲基鎂鹵化物或甲基鋰鹵化物反應, 同樣產生標的化合物。

相當於式 (XVII) 及 (XVIII) 之羥基酮, 以普通方法, 用烷基金屬化合物, 直接或暫時將羥基保護, 例如: 藉由用 5,6-二氫-4H-吡喃形成乙縮醛, 也可順利地轉變為成二醇 (例如: 參閱 Houben-Weyl, Vol. VI/1a, Part

五、發明說明(27)

2 (1980), pp. 1113-1124), 由此藉由末端一級羥基, 用磺醯基或磷醯鹵化物或酸酐, 宜在鹼性基質之存在下, 選擇性酯化, 形成式 (VIII) 之化合物。

合成式 (VIII) 之三級醇衍生物的其他可能方法包括 ω -氯-1-溴鏈烷之單金屬取代, 獲得 ω -氯烷基金屬化合物 (Houben-Weyl, Vol. XIII/2a (1973), pp. 102 及 319) 且其後與酮 $R^4-CO-CH_3$ 反應, 由於形成作為中間體之醇化物, 副產物形成的程度減至最小, 因為藉適當溫度控制, 隨著金屬鹽之消去, 其傾向閉環, 或使用 ω -鹵基-1-鏈醇作為起始物質, 其以普通方式金屬取代, 較佳呈四氫吡喃基-(2)醚之形式或於羥基之醇化物 ($MO-(CH_2)_n-Hal$) 之後, 用任何預期烷基金屬化合物金屬化 (例如: 參閱 Houben-Weyl, Vol. XIII/2a (1973), p. 113), 然後令其與酮 $R^4-CO-CH_3$ 反應, 獲得在前述節段中提及之二醇 (Houben-Weyl, Vol. VI/1a, Part 2 (1980), p. 1029), 其後用適宜之磺酸或磷酸衍生物, 將一級羥基選擇性酯化。

式 (VIII) 其中 R^4 代表甲基之化合物的合宜捷徑是經 ω -鹵基烷酸烷酯 ($Hal-(CH_2)_n-COO-$ 烷基) 與 2 當量的甲基金屬化合物之反應取得, 此酯基透過酮反應, 產生導入 2 個甲基之三級醇 (Houben-Weyl, Vol. VI/1a, Part 2 (1980), pp. 1171-1174)。以相同方式, ω -羥基羧酸酯用甲基金屬化合物, 在有或無羥基保護, 例如: 呈

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝
訂
線

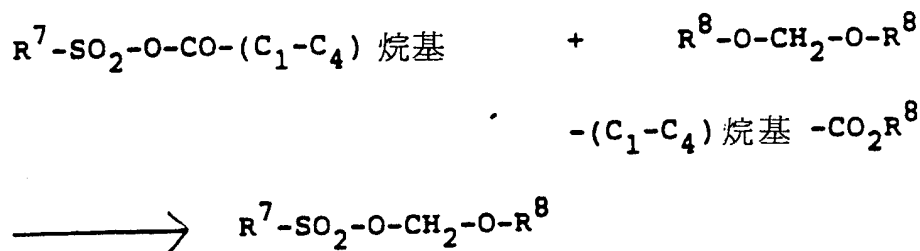
五、發明說明 (28)

四氫吡喃基-(2)或甲氧甲基酯之形式，或視情況呈內酯如環狀酯之形式，使轉變成二醇(例如：參閱(Houben-Weyl, Vol. VI/1a, Part 2 (1980), pp. 1174-1179)，由此式(VIII)之活性烷化劑，藉由一級羥基用磷醯或磷醯鹵化物或酸酐，選擇性酯化，依次可獲得。

因此藉由上述方法可製得之式(VIII)的適宜化合物是[(ω -1)-羥基-(ω -1)-甲基]丁基，-戊基，-己基，及-庚基，[(ω -2)-羥基-(ω -2)-甲基]戊基，-己基，-庚基，及-辛基，及[(ω -3)-羥基-(ω -3)-甲基]己基，-庚基，-辛基，及-壬基氯化物，溴化物，碘化物，磷酸酯，及磷酸酯。

式 $R^5-X(Xa)$ 或 $R^5-X(XIII)$ 之化合物中，適於將 R^5 導入黃嘌呤架構之1-或7-位及 R^5 導入黃嘌呤架構之7-位，烷氧甲基及烷氧烷氧甲基衍生物佔一特殊位置，作為其鹵化物者，確實可成功地使用作為反應物，但是毒性問題至少大規模使用上，可發生，為了此原因，在此特殊情況較佳是使用對應磷酸酯，其例如：藉由脂族羧酸及脂族或芳族磷酸之混合酐(M.H. Karger等，J. Org. Chem. 36 (1971), pp. 528-531)與甲醛二烷基乙縮醛或二烷氧烷基乙縮醛，以均勻且接近定量反應可容易地取得(M.H. Karger等，J. Amer. Chem. Soc. 91 (1969), pp. 5663/5665)：

五、發明說明 (29)



在此方程式中， R^7 代表脂族基諸如：甲基，乙基，或三氟甲基，或芳族基，例如：苯基，4-甲苯基，或4-溴苯基，但較佳是甲基或4-甲苯基，且 R^8 代表落於 R^5 或 R^6 之定義下的烷基或烷氧烷基。

此反應可在此物質或在對反應物惰性之無水質子惰性之溶劑，於 -20° 至 $+40^\circ C$ ，較佳 0° 至 $+20^\circ C$ 之溫度間進行。高度反應性磺酸酯中間體不需單離，其對水解敏感並且熱不安定；較佳立刻使用作為供黃嘌呤之氮原子上取代之粗產物，不需通常添加之鹼性縮合劑。

單-或二取代黃嘌呤衍生物，(IX)，(XVI)，(VII)，(VIII) 或 (Xa) 或 (XIII) 的反應。通常在分配劑或對反應物惰性之溶劑中進行。實務上代表特別是偶極，質子惰性溶劑，例如：甲酰胺，二甲替甲酰胺，二甲替乙酰胺，N-甲基吡咯酮，四甲基脲，六甲基磷酸三酰胺，二甲亞砷，丙酮，或丁酮；可是，醇類例如：甲醇，乙二醇，及其單-或二烷基醚，具1-4個碳原子之烷基，但兩者一起最多有5個碳原子者，乙醇，丙醇，異丙醇，及

五、發明說明 (30)

各種不同的丁醇；烴類例如：苯，甲苯，或二甲苯；鹵化烴，例如：二氯甲烷或氯仿；吡啶，及上述溶劑之混合液或其與水之混合液也可使用。

此“烷化反應”適宜在鹼性縮合劑之存在下進行。適於此之物質的實例是鹼金屬或鹼土金屬氫氧化物，碳酸鹽，氫化物，醇化物，及有機鹼，例如：三烷基胺（例如：三乙胺或三丁胺），四級銨或氫氧化磷及有固定，視情況取代銨或磷基之交聯樹脂。此黃嘌呤衍生物也可以其分開製得之鹽類的形式，諸如：鹼金屬，鹼土金屬，或視情況取代之銨或磷鹽，直接用於此烷化反應中。單-及二取代黃嘌呤衍生物也可在上述無機縮合劑之存在下或以其鹼金屬或鹼土金屬鹽之形式，在所謂相轉移催化劑，例如：如三級胺，四級銨或磷鹽，或冠醚的幫助下，較佳在2-相系統中，於相轉移催化條件下，也可被烷化。適宜相轉移催化劑中，一般商場上可取得的是四(C₁-C₄)烷基-及甲基三甲基銨及-磷鹽，甲基-，十四烷基-，苯基-，及苄基三(C₁-C₄)烷基-及十六烷基三甲基銨以及(C₁-C₂)烷基-及苄基三苯基磷鹽，具較大且更對稱構造陽離子之化合物，一般證明是更有效。

藉由上述方法導入 Ia, R^S, 及 R^S 基，一般是於 0° - 所使用之特定反應基質之沸點的反應溫度間進行，較佳是於 20° - 130° 之溫度間，視情況於升或減壓下進行

(請先閱讀背而之注意事項再填寫本頁)

裝
訂
線

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明 (31)

，為此反應時間可計算為少於1小時或高達幾小時。

3-烷基黃嘌呤(VIII)產生根據本發明式(X)之化合物的反應，要求導入2個三級經烷基。相同或相異取代基，可接連著接至黃嘌呤架構，或2個相同經烷基在單一罐反應中，可連接上去，不需將中間體單離。

由式(XV)之化合物還原斷裂苄基及二苯甲基，形成黃嘌呤7-位之原子，是於生物鹼及肽合成上之保護基技術的架構上，特別發展出來之標準條件下進行，因此可推測為普遍知道之條件。除化學還原之外，尤其苄基化合物與鈉在液氮中(Houben-Weyl, Vol. XI/1 (1957), pp. 974-975)，2個上述芳烷基藉由催化氫解，使用昂貴金屬催化劑消除之，也是特別實用者(Houben-Weyl, Vol. XI/1 (1957), pp. 968-971及Vol. IV/1c Part I (1980), pp. 400-404)。低碳醇在此通常使用作為反應基質(視情況添加甲酸或氨)，或質子惰性溶劑諸如：二甲替甲醯胺或尤其是冰醋酸；可是也可使用其與水之混合液。特別適宜之氫化催化劑是鈹黑及披鈹活性炭或硫酸鈹，而其他昂貴金屬諸如：鉑，銠，及鈦通常會引起副反應，因為競爭性環氫化作用所致，所以只是有條件地可使用之。此氫解作用較佳是於20°C-100°C之溫度間及於大氣壓力，或較佳略微過度加壓高達大約10巴壓力下進行，反應時間一般需要幾分鐘到幾小時。

五、發明說明 (32)

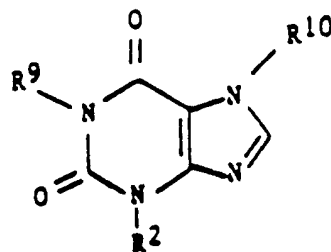
在 R^5 之位置上具有烷氧甲基或烷氧烷氧甲基之式 (XV) 之 1,3,7-三取代黃嘌呤代表 O,N-乙縮醛。因此，其在 7-位之取代基；於酸水解之普通條件下，可裂開（參照 Houben-Weyl, Vol. VI/Ib (1984), pp. 741-745），同樣可形成式 (XVI) 之 7H 化合物。水解可消除之較佳基的實例是甲氧基，乙氧基，及丙氧甲基以及甲氧乙氧基及乙氧乙氧甲基。此反應宜在稀礦酸諸如：鹽酸或硫酸中加熱，視情況添加冰醋酸，二噁烷，四氫呋喃，或低碳醇作為溶液促進劑施行之。過氧酸或有機酸諸如：三氧醋酸，甲酸，及醋酸，與催化量之礦酸混合也是有用的。尤其烷氧烷氧甲基化合物也可藉由使用路易士酸例如：溴化鋅及四氯化鈦，在無水基質中，較佳在二氯甲烷或氯仿中使斷裂，於水合完成反應工作期間，自然水解而形成 7-溴甲基或 7-溴鋅衍生物為中間體。在礦酸溶液中裂解，必須選擇反應溫度，使得在 1-位上之三級羥烷基不會發生顯著的脫水；所以溫度通常低於 100°C 。

式 (XI) 及 (XV) 在 R^5 或 R^5 位上有氧基烷基之黃嘌呤還原成對應羥烷基化合物，原則上用鹼金屬或藉催化氫化，確實可發生，但選擇之方法包括於很溫和條件下並且以高產量，與簡單金屬氫化物 (MH_n)，複合金屬氫化物 ($M^1 (M^2 H_n)_m$)，或有機金屬氫化物，發生此反應 (Houben-Weyl, Vol. IV/1d (1981), pp. 267-282, 及

五、發明說明 (33)

vol. VI/1b (1984), pp. 141-155)。許多複合金屬氫化物可用於酮之還原，最常使用之試劑可被提及者，例如：阿蘭酸鋰，氫硼化鋰，尤其氫硼化鈉，其較易於處置者，因為其較低反應性，尤其容許在醇，醇水，及純水溶液或懸浮液中工作，此外其他慣用之惰性溶劑諸如：醚類（例如：乙醚，四氫呋喃，及1,2-二甲氧基乙烷），烴類及吡啶，腈類諸如：乙腈，也可使用作為反應基質，氫化作用，其適宜在 0°C ~特定溶劑之沸點的溫度間，但較佳於室溫下進行，一般迅速發生反應並且在幾分鐘至幾小時之內完成反應。

式(II)之三級羥烷基黃嘌呤，也可由式(XIX)之經取代黃嘌呤反應製備之



(XIX)

e) 下式之含 2 個相同或相異基者



或



或式(XX)或(XXI)之只有一取代基，及氫或 R^5 或 R^5 基在 R^9 及 R^{10} 之位置上者，與 (C_1-C_3) 烷基-或甲基金屬化合物

五、發明說明 (34)

，用羰基之還原性“烷化作用”，獲得根據本發明式

(IX)-(XVI)之黃嘌呤，或

f)式(XIX)其具有2個相同或相異之式

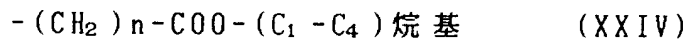


基者，其中Hal較佳代表氯或溴，或只有一此種基及氫或取代基 R^5 或 R^6 在其他位置，在末端位置上者金屬取代，然後令它們與式(XVIII)之酮反應



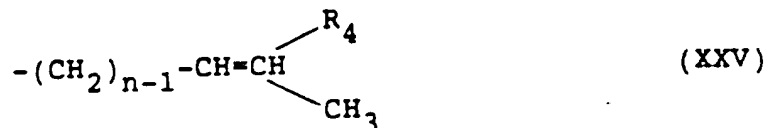
將羰基還原性烷化，獲得根據本發明之式(IX)-(XVI)之黃嘌呤，或

g)將在 R^9 及/或 R^{10} 位上具(XXIV)基且其他位置視情況為氫或 R^5 或 R^6 基之式(XIX)之黃嘌呤



藉由每個烷氧羰基2當量的甲基金屬化合物，使轉變成式(IX)-(XVI)其中 R^4 代表甲基之黃嘌呤，或

h)將式(XIX)之黃嘌呤，其具2個相同或相異之式(XXV)基



或只有一此種基及氫或 R^5 或 R^6 基在 R^9 及 R^{10} 位上，其中(XXV)基可含C=C雙鍵，而且在分支碳原子上也呈位置異構

五、發明說明 (35)

排列，例如：作為 $-C=CH_2$ 者，藉由遵守 Markownikoff 規則之酸催化水合作用，使轉變成根據本發明之式 (IX)-(XVI) 之黃嘌呤轉化及藉由方法 e)-h)，若獲得根據本發明在 1-或 7-位上具氫原子者，視情況在鹼性基質中或以其鹽類形式，與式 (VIII) 或 (Xa) 或 (XIII) 之烷化劑反應，使轉變成式 (X) 或 (XI) 或 (XV) 其中 R^2 , R^4 , R^5 , R^6 及 n 在上面式中具有上述意義之三取代化合物。

3-烷基化單-或二氧基烷基-(XIXa), $-(\omega$ -鹵烷基)(XIXb), $-(\omega$ -烷氧羰基)-((XIXc) 及 -烯基黃嘌呤 (XIXd) 為作為起始物質所必要者，為已知化合物或可例如：由 3-烷基-黃嘌呤 (VII) 及磺醯氧基-或鹵基酮 (XVII) 及 (XVIII), ω -鹵烷基磺酸酯，或 1, ω -二鹵基鏈烷 (參照例如：V.B. Kalcheva 等, Journal fur Prakt, Chemie 327 (1985) pp. 165-168), ω -磺醯氧基或 ω -鹵基羧酸烷酯或磺醯氧基或相當於式 (XXV) 之鹵基烯，於先前供單-及二取代黃嘌呤與式 (VIII) 及 (Xa) 之化合物之烷基化作用詳細描述之反應條件下，就可容易地製得。

在黃嘌呤 (XIXa) 及 (XIXc) 在 R^9 及 R^{10} 基起作用之有機金屬反應中，此方法原則上與使用作為烷化劑之式 (VIII) 三級醇的製備所描述之方法相同。因此，酮 (XIXa) 及酯 (XIXc) 之還原性烷化作用，例如：用烷基鉀

五、發明說明 (36)

， -鈉， -鋰， -鋅， -鎘， -鋁， 及 -錫化合物可發生此反應。最近推薦烷基鋰及 -鋅化合物 (D. Seebach等, Agnew. Chem. 95 (1983), pp. 12-26) 也可使用。可是因為鈉及鉀之烷基金屬化合物，因為其高反應性，所以傾向副反應，而鋅及鎘之烷基金屬化合物則相當惰性，通常烷基鋰及 -鎂 (格利納) 化合物較佳。

強親核性有機金屬化合物對水解及氧化很敏感，所以其安全處置需要在無水基質中，視情況於惰性氣體下操作。普通溶劑或分配劑主要是那些也適於製備烷基金屬化合物者。實務上實例尤其是具一或多個醚氧原子之醚類，例如：乙醚，丙醚，丁醚或異戊醚，1,2-二甲氧基乙烷，四氫呋喃，二噁烷，四氫吡喃，呋喃，及苯甲醚，及脂族或芳族烴類，例如：石油醚，環己烷，苯，甲苯，二甲苯，二乙基苯，及四氫萘；可是，三級胺諸如：三乙胺，或偶極質子惰性溶劑諸如：六甲基磷酸三醯胺，以及上述溶劑之混合液也可成功地使用之。羰基化合物 (XIXa) 及 (XIXc) 與具式 $R^4-MgHal$ 之格利納化合物之反應，藉由將有機金屬化合物放在醚中並且滴加酮及酯之二氯甲烷或 1,2-二氯乙烷溶液，也可有利地施行之。通常推薦添加溴化鎂，因為其在複合環狀過渡狀態會沈澱，所以能夠增加有機金屬化合物之親核性。

酮或酯及有機金屬化合物一般是於 $-20^{\circ}C$ - $100^{\circ}C$ 之

五、發明說明 (37)

溫度間，較佳於 0°C - 60°C ，或於室溫下混合，不需外面冷卻，烷基金屬化合物通常以略微過量使用之。然後藉由迴流下短暫加熱通常可使反應完全，一般此加熱時間幾分鐘到幾小時是適當的。所形成之醇化物較佳是用氯化銨水溶液或稀醋酸使分解。

金屬鎂及鋰主要是適於 ω -鹵烷基黃嘌呤(XIXb)之金屬取代。另一方面，鹵素原子用鋰取代，其可能使用有機鋰試劑，一般1-丁基-，2-丁基-，特丁基-，或苯基鋰，佔一附屬角色。可是，使用特別是由格利納化合物製得者，宜在特別適於黃嘌呤(XIXa)及(XIXc)與烷基金屬化合物之反應所列出之醚，烴，三級胺，或質子惰性之溶劑中，於 25° - 125°C 之溫度間較佳低於 100°C 反應製備之。若金屬取代反應是在烴內進行，然後添加醚，諸如：四氫呋喃，或三級胺，諸如：三乙胺，以化學當量進行，通常證明是有用的。使用催化劑諸如：丁醇，氯化鋁，四氯化矽，四氫甲烷，及鋁或鎂醇化物，也是有幫助的，在鹵素-金屬交換中，氯化物通常比對應溴化物及碘化物的反應更慢，但是通常它們提供有機金屬化合物較好產量。為了加速反應開始，通常推薦添加一些溴化鎂，一些碘粒，或幾滴溴，四氫甲烷或甲基碘與略微加熱。獲得之格利納化合物通常不單離，但是立刻與式(XXIII)之酮，於黃嘌呤(XIXa)及(XIXc)之還原

五、發明說明 (38)

性烷基化作用所描述之反應條件下反應。

將水加至具式 (XXV) 構造要素之烯基黃嘌呤 (XIXd) 的 C=C 雙鍵，其中羥基附加至具較少氫之碳原子，以便依 Markownikoff 規則形成三級醇，此反應通常在水溶液或懸浮液中，在強酸例如：硫酸，硝酸，或磷酸存在下發生。鹵化氫及磷酸，例如：三氟甲磺酸，酸交換樹脂，三氟化硼錯合物，或草酸，也可使用作為催化劑。可是，最好是在硫酸內，用 50~65% 之酸濃度及 0° ~ 10°C 之溫度操作，通常是足夠的。可是，有時候也可使用較低或較高之酸濃度及 / 或反應溫度。在任何情況下，反應溫度應盡可能保持低溫，因為高於大約 60°C，逆脫水成烯，可能令人不安地顯著發生。

添加對酸惰性之溶劑例如：1,4-二噁烷，苯，或甲苯，有時候也提供益處。因為酯在酸催化水合作用中，可以中間體形成，尤其當使用高酸濃度時，爲了酯水解，於酸作用之後，推薦用大量水與短暫加熱處理此反應批次及在鹼性範圍內處置該混合物。

根據本發明之 1-及 7H-化合物 (IX) 或 (XVI)，藉由用化合物 (XIII) 之 (VIII) 或 (Xa) 之 N-烷基化，將其轉變成式 (X) 或 (XV) 之三取代黃嘌呤，在上面已經詳細描述過。

依烷基 R⁴ 之鏈長 (至少 C₂) 及 / 或取代基 R⁵ 之構造 (例

五、發明說明 (39)

如：2-經丙基)，式(II)之三級經烷基黃嘌呤可具有一或2個不對稱碳原子，因此可能以立體異構形式存在。所以本發明係關於純粹立體異構化合物及其混合物。

本發明現在將更詳細地描述在下列實施例中，更特定言之，為了證明此申請專利之發明的有效性，式(II)之化合物經試驗證明活體內抑制GVHR之作用。雖然在通式(I)及(II)內各種不同化合物都是有效，但是它們係關於例示pentoxifylline (PTX")作為特定較佳黃嘌呤。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝
訂
線

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

修正 82. 1. 12
20559 年 月 日
補充

專利申請案第81101708號
ROC Patent Appln. No.81101708
中文說明書修正頁-附件(三)

Amended Pages of the Chinese Specification - Encl. (III)
(民國 82 年 1 月 12 日 修正並送呈)

(Amended & Submitted on January 12, 1993)

五、發明說明 ()
實施例 1

甲基黃嘌呤衍生物對 T-細胞活化之作用

當由 2 個無關之個體取得之血液單核細胞一起培養時，相互刺激發生，導致 T 細胞活化及胚種遺傳並且最後造成細胞毒 T 細胞及記憶細胞的產生。此複雜系列事件，稱之為混合白血球反應 (MLR)，於 HLA-DR 座位上需要遺傳上異位 (genetic disparities)。抗原加工處理及表現需要單核細胞。因此 MLR 是測量淋巴細胞辨識及對非自身抗原反應並且作為些與移植對宿主疾病 (GVHD) 及異源移植排斥有關之細胞事件的活體外表現。

pentoxifylline (PTX), 1-(5-氧基己基)-3,7-二甲基黃嘌呤，在 U937 細胞中，可能藉由減少轉錄，可防止內毒素誘發 TNF mRNA 之間上調節 (upregulation)。由於 TNF 在淋巴細胞活化中之潛在重要角色，PTX 之作用，其第一代謝物 (M1)，及相關化合物 7-乙氧甲基-1-(5-羥基-5-甲己基)-3-甲基黃嘌呤，對 T 細胞活化以 MLR 及藉植物凝血素 (PHA) 評價之。

圖 1 展示 PTX 及 7-乙氧甲基-1-(5-羥基-5-甲己基)-3-甲基黃嘌呤，藉由在雙向 MLR 中培養 6 天之後，直接免疫螢光測定，分析其對 T 細胞活化抗原之表現。使用下列異硫氰酸螢光素 (FITC) 或藻紅素 (PE) 共軛抗體：IgG1 及 IgG2a 同型 (isotype) 對照組，抗-HLe-1 (CD45)，抗

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

.....
裝.....
訂.....
線.....
.....

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明 (41)

-LeuM3 (CD14), 抗-Leu4 (CD3), 抗-IL2-受體 (CD25), 抗-鐵傳遞蛋白受體 (CD71), 抗HLA-DR, 及抗Leu23 (CD69)。(所有抗體得自Becton-Dickinson, San Jose, CA.)。使用製造商推薦之方法進行染色(20升抗體/ 10^6 細胞在0.1毫升磷酸鹽緩衝食鹽水中, 於室溫染20分鐘)。細胞洗2次, 在Becton-Dickinson FACSan流動血球計數器上再懸浮及分析, 於Consort 30軟體下操作。淋巴細胞分析閘以前端散射器及側散射器為基礎決定之, 並且藉由檢查CD45及CD14顯示之2色免疫螢光確認之。數據以螢光大於適當同型對照組之螢光大之細胞的百分比表示之。

圖2展示於PHA刺激過之單核細胞(2個獨立實驗)或雙向MLR, 添加200單位/毫升重組人類腫瘤壞死因子(rhTNF)的作用。rhTNF(Genentech公司)於培養開始時, 添加至含PTX之微效價井中。對照組包括PTX單獨(已示出)及TNF單獨(未示出)。無PHA或異源細胞, TNF不刺激單核細胞生長。在細胞培養中, 無PTX也不會抑制 $^3\text{Htdr}$ 併入, 結果是三重複井之平均SD。

當由正常個體取得之血液單核細胞單獨, 用PHA, 及以雙向MLR, 有及無PTX或3個相關化合物, PTX, 其M1代謝物, 及7-乙氧甲基-1-(5-羥基-5-甲己基)-3-甲基黃嘌呤[化合物1]一起培養時, 以濃度依賴方式,

五、發明說明 (42)

在培養 6 天之後，主動抑制 $^3\text{Htdr}$ 吸收，如表 1 所示。

表 1

以對照培養之百分比表示氘化胸腺嘧啶核苷吸收之抑制作用

| | PHA | | MLR | |
|---------------------|--------------|-------------|--------------|------------|
| | (%控制) | | (%控制) | |
| 對照組 | (100) | | (100) | |
| PTX | 49.2 | 16.2 | 33.4 | 12.2 |
| M1 | 11.2 | | 6.1 | |
| 化合物 1 | 43.8 | 9.4 | 35.7 | 4.1 |
| 化合物 2 | 78.6 | 20.7 | 73.4 | 11.9 |
| <u>Denbufylline</u> | <u>103.9</u> | <u>26.9</u> | <u>103.5</u> | <u>5.9</u> |

化合物 1=7-乙氧甲基-5-(5-羥基-5-甲己基)-3-甲基黃嘌呤

化合物 2=1-(5-羥基-5-甲己基)-3-甲基黃嘌呤

Denbufylline=7-丙酮基-1,3-二丁基黃嘌呤

所有數值除了 M1 之外，都代表由 6-8 個獨立實驗之計算結果的平均。M1 結果是 2 個獨立實驗之平均。

用 PTX 及 M1，試驗之最高濃度 (1mM) 最有效，但是於低至 0.01mM 濃度，觀察到顯著 $^3\text{Htdr}$ 吸收之抑制作用。當藉錐蟲藍染料排斥評估時，在試驗培養中，細胞成活力沒有減低 (在所有組中細胞成活力 .95%)。當自 MLR

五、發明說明 (43)

萃取全部細胞RNA時，與個別培養之單核細胞之培養比較時，TNF mRNA有一些向上調節作用。可是，TNF mRNA之基本濃度很容易就可偵測，可能由於於培養期間有一些活化作用、這也由顯著程度的³Htdr吸收反映出來。在含PTX及7-乙氧甲基-1-(5-羥基-5-甲己基)-3-甲基黃嘌呤之MLR中，TNF mRNA之濃度顯著降低(圖1)。對PHA反應減低，而用PTX觀察MLR，藉添加200單位/毫升濃度的重組人類TNF，並未被消除。

於T細胞活化期間，某些可使用作為活化標記之細胞表面決定子的表現增加。圖2展示PTX及7-乙氧甲基-1-(5-羥基-5-甲己基)-3-甲基黃嘌呤對一個CD₂，一個非活化依賴性pan-T抗原及4個活化依賴性抗原之表現的作用。雖然於各組之間CD₂的表現沒有差異，但是7-乙氧甲基-1-(5-羥基-5-甲己基)-3-甲基黃嘌呤及PTX兩者都降低HLA-DR，鐵傳遞蛋白受體，IL-2受體，及雙向MLR培養中之CD69，降至接近由單一授體培養6天，在單核細胞中觀察到的濃度。

PTX，其主要代謝物其中之，，M1，及結構類似物，7-乙氧甲基-1-(5-羥基-5-甲己基)-3-甲基黃嘌呤[化合物1]，每一化合物都抑制T細胞活化及增生，兩者都藉由用PHA直接刺激及在MLR中施行。如先前所示在內毒素刺激單核細胞中，PTX降低TNF mRNA表現及細胞動素釋放

五、發明說明 (4)

至培養基。藉添加過量 rhTNF，並未使 MLR 之 PTX 抑制作用反轉，推測在 T 細胞活化上重要之其他基因，也受 PTX 影響。例如：此數據顯示 PTX 降低抗原誘發之 IL-2 受體之向上調節，因此可減弱由 IL-2 之 autocrine 刺激，而 PTX 在單核細胞中阻斷內毒素誘發之 TNF mRNA 的產生，其由經活化 T 細胞對 TNF 產生的作用 先前尚未被描述。

此活體外數據暗示經選定甲基黃嘌呤衍生物，其在活體內幾乎沒有有害之副作用，可能有臨床上有用之免疫抑制性質。

總之，抗原進入身體引發免疫系統。藉輔助細胞捕捉抗原，其抗原決定體引見給 B 及 T 淋巴細胞。經抗原刺激之 B 及 T 細胞彼此相互作用，以引發增生及分化成效應細胞。這些最終分化之細胞及其產物，與抗原混合並且引發其消除之機制。使用根據本發明之黃嘌呤，使其可能藉由抑制淋巴細胞之活化，使用黃嘌呤作為免疫抑制劑。因此，以此方式可調節淋巴細胞活性，使得可有效地治療免疫系統之過敏性疾病。結果應可改善為自體免疫疾病所苦之病人的預後 (prognosis)。

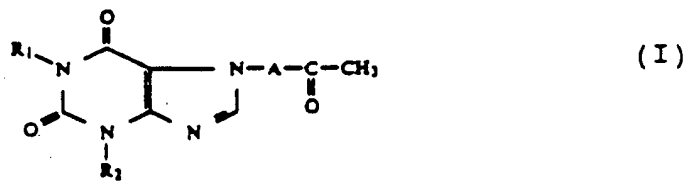
(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝
訂
線

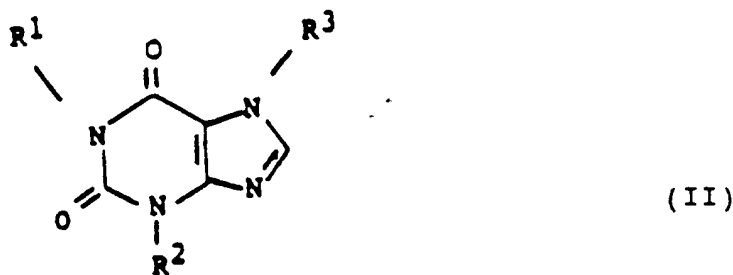
四、中文發明摘要(發明之名稱:

黃嘌呤於製備具免疫抑制活性之醫藥
的用途

本發係關於在抑制淋巴細胞活化上有效之一族由
denbufylline以外之式(I)之7-(氧基烷基)1,3-二烷基
黃嘌呤組成之化合物



式中 R₁ 及 R₂ 是相同或相異並且是選自包括具 2-6 個碳原
子之直鏈或分支烷基，環己基，烷氧烷基及羧烷基，且
A 代表具高達 4 個碳原子，可被甲基取代之烴基。另一
族有效化合物是由式(II)之化合物組成



式中 R₁ 及 R₃ 至少其中之一是

附註：本案已向

美

國(地區) 申請專利，申請日期：

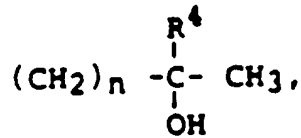
1990年11月30日

案號：

620,480

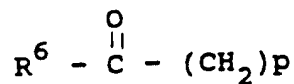
四、中文發明摘要(發明之名稱：)

a) 下式之分支羥烷基



式中 R^4 代表具 1-3 個碳原子之烷基且 n 代表 2-5 之整數，其他 R^1 或 R^3 基可隨意存在，其代表氫原子或具高達 6 個碳原子之脂族烴基 R^5 ，其碳鏈可被高達 2 個氧原子中斷或可用羥基或氧基取代，或

b) 下式之羧基烯丙基



式中 R^6 是 $\text{C}_1 - \text{C}_6$ 且 p 是 2, 3 或 4，剩餘之 R^1 或 R^3 如上面所定義者，且 R^2 是 $\text{C}_1 - \text{C}_4$ 烷基；淋巴細胞活化之抑制作用顯現在為自體免疫疾病所苦的人之身上。

- 2-A -

附註：本案已向

國(地區) 申請專利，申請日期：

案號：

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

裝

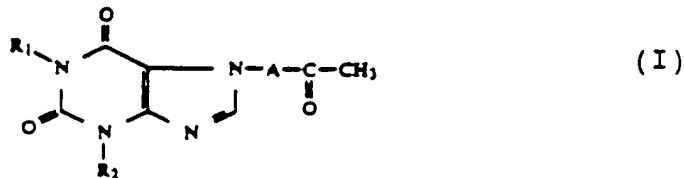
訂

線

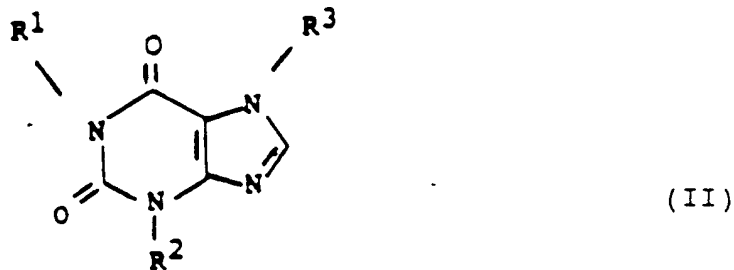
四、~~本~~發明摘要(發明之名稱: Use of xanthines for the preparation of)
a medicament having immuno supressing activity

ABSTRACT OF THE DISCLOSURE

A family of compounds effective in suppressing lymphocyte activation is comprised of 7-(oxoalkyl) 1,3-dialkyl xanthines, other than denbufylline, of the formula



in which R_1 and R_2 are the same or different and are selected from the group consisting of straight-chain or branched alkyl radicals with 2 to 6 carbon atoms, cyclohexyl, alkoxyalkyl and hydroxyalkyl radicals, and A represents a hydrocarbon radical with up to 4 carbon atoms which can be substituted by a methyl group. Another family of effective compounds is comprised of compounds of the formula



wherein at least one of R_1 and R_3 is either

- 2-B -

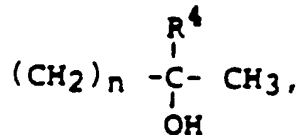
附註: 本案已向

國(地區) 申請專利, 申請日期:

案號:

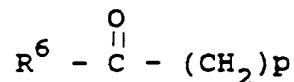
四、~~本~~文發明摘要(發明之名稱:)

a) a branched hydroxyalkyl group of the formula



in which R^4 stands for an alkyl group with 1 to 3 carbon atoms and n stands for a whole number from 2 to 5, the other R^1 or R^3 group that may optionally be present stands for a hydrogen atom or an aliphatic hydrocarbon group R^5 with up to 6 carbon atoms, whose carbon chain may be interrupted by up to 2 oxygen atoms or may be substituted with a hydroxy or oxo group, or

b) an oxoallyl group of the formula



wherein R^6 is $\text{C}_1\text{-C}_6$ and p is 2, 3 or 4, the remaining R^1 or R^3 being as defined above, and R^2 is an alkyl group $\text{C}_1\text{-C}_4$; The suppression of lymphocyte activation is indicated in humans afflicted with autoimmune disease.

- 2-C -

附註：本案已向

國(地區) 申請專利，申請日期：

案號：

公告本

圖 1

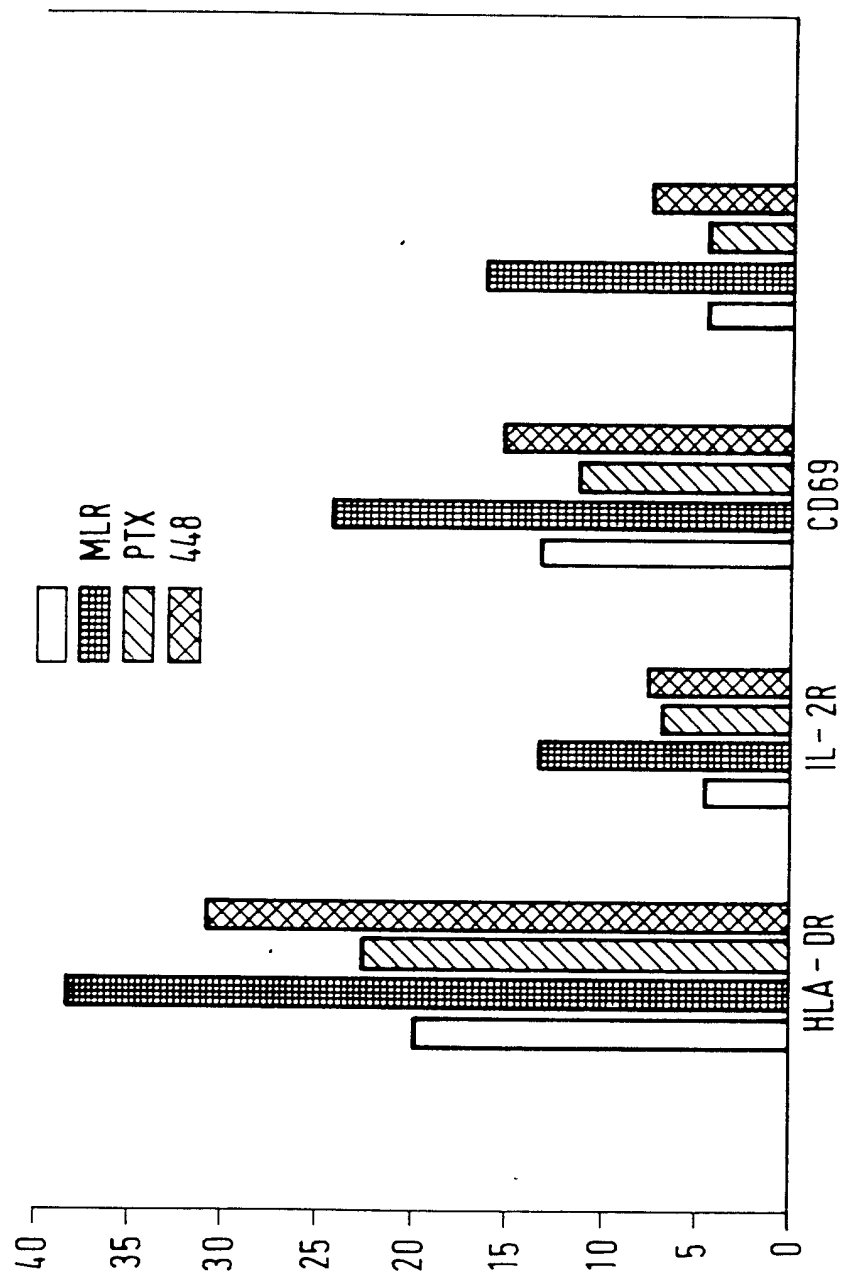
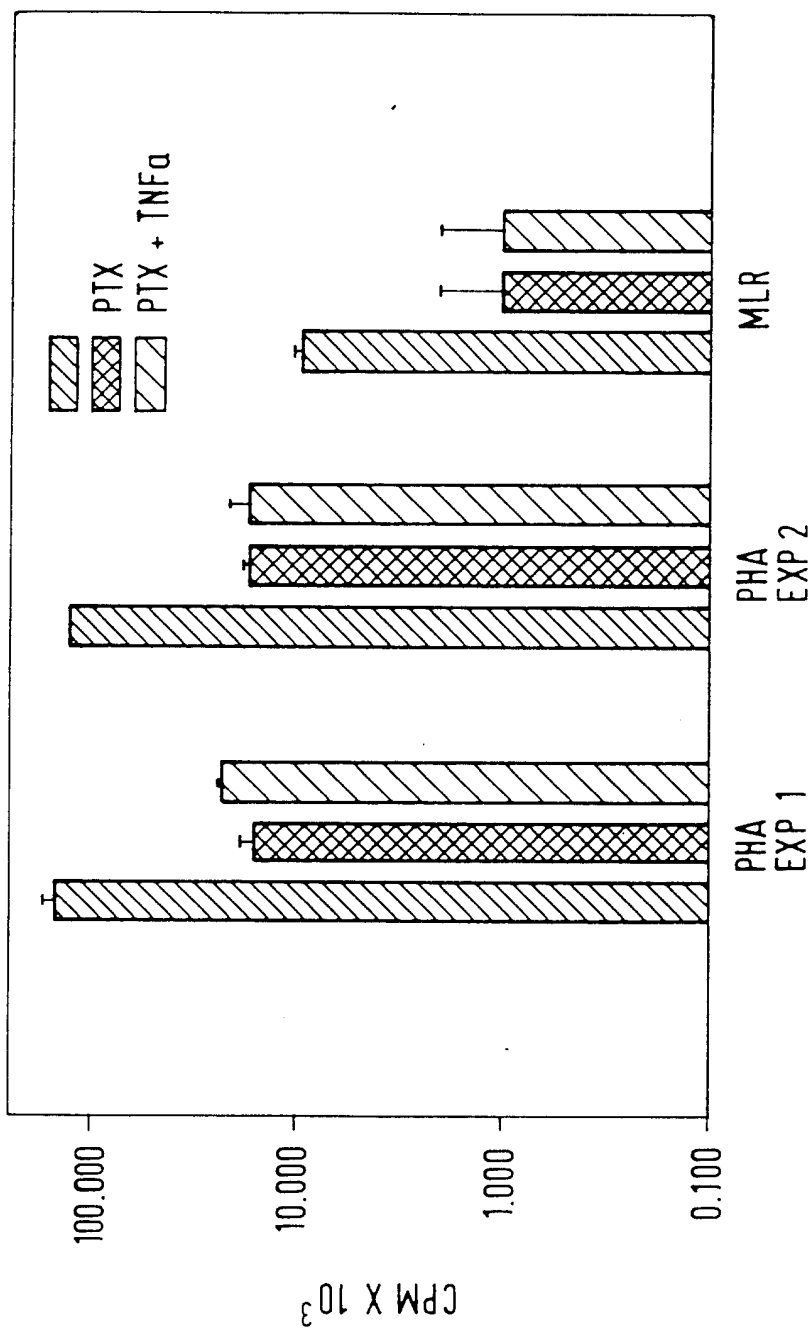


圖 .2



修正 82. 1. 12
補充 05/06 月 日

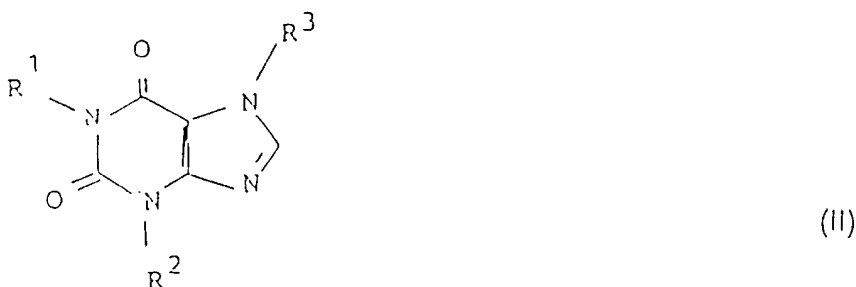
公告本

A7
B7
C7
D7

六、申請專利範圍

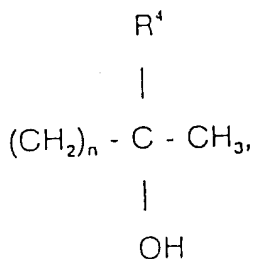
專利申請案第81101708號
ROC Patent Appln. No. 81101708
修正之申請專利範圍中文本 - 附件 (一)
Amended Claims in Chinese - Encl. (I)
(民國 82 年 1 月 12 日 送呈)
(Submitted on January 12, 1993)

1. 一種供抑制哺乳動物之淋巴細胞活化之醫藥組合物，其包含至少一種式 II 之化合物：



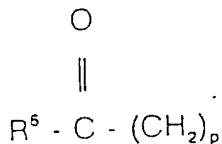
式中 R¹ 及 R³ 至少其中之一是

- a) 下式之分支羧烷基



式中 R⁴ 代表具 1-3 個碳原子之烷基且 n 代表 2-5 之整數，其他 R¹ 或 R³ 基可隨意存在，代表氫原子或具高達 6 個碳原子之脂族烴基 R⁵，其碳鏈可被高達 2 個氧原子中斷或可用羥基或氧基取代，或

- b) 下式之羧基烯丙基



(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

205507

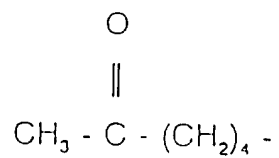
A7
B7
C7
D7

六、申請專利範圍

式中 R⁶ 是 C₁ - C₆ 且 p 是 2, 3 或 4, 剩餘之 R¹ 或 R³ 如上面所定義者, 且 R² 是 C₁ - C₄ 烷基者。

2. 根據申請專利範圍第 1 項之醫藥組合物, 其中前述淋巴細胞是 T 淋巴細胞或 B 淋巴細胞。
3. 根據申請專利範圍第 1 項之醫藥組合物, 其中前述哺乳動物是人。
4. 根據申請專利範圍第 1 項之醫藥組合物, 其中前述化合物是 pentoxifylline。
5. 根據申請專利範圍第 1 項之醫藥組合物, 其中前述式 II 之化合物中

R¹ 是

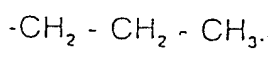


R² 是



且

R³ 是



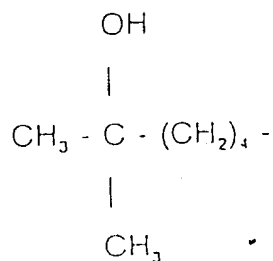
6. 根據申請專利範圍第 1 項之醫藥組合物, 其中前述式 II 之化合物中

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

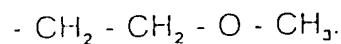
裝 訂 線

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

六、申請專利範圍

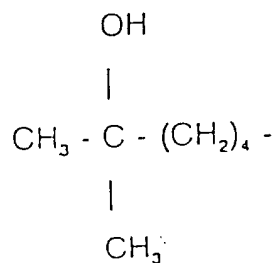
R¹ 是R² 是

且

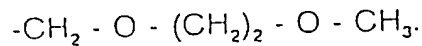
R³ 是

7. 根據申請專利範圍第1項之醫藥組合物，其中前述

式II之化合物中

R¹ 是R² 是

且

R³ 是

8. 根據申請專利範圍第1項之醫藥組合物，其中前述

式II之化合物中

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

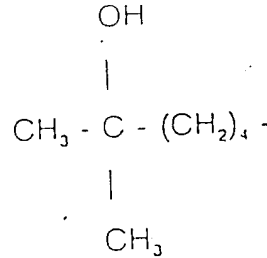
裝

訂

線

六、申請專利範圍

R¹ 是



R² 是



且

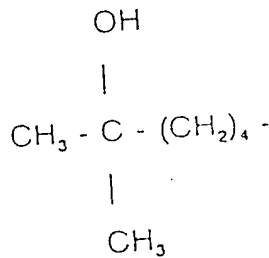
R³ 是



9. 根據申請專利範圍第 1 項之醫藥組合物，其中前述

式 II 之化合物中

R¹ 是

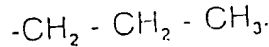


R² 是



且

R³ 是



10. 根據申請專利範圍第 1 項之醫藥組合物，其中前述

式 II 之化合物中

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

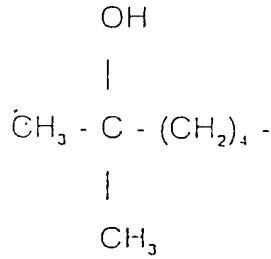
裝

訂

線

六、申請專利範圍

R¹ 是

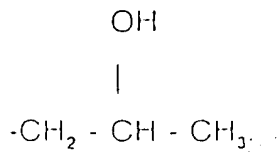


R² 是



且

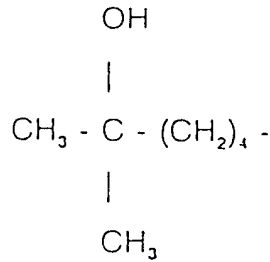
R³ 是



11. 根據申請專利範圍第 1 項之醫藥組合物，其中前述

式 II 之化合物中

R¹ 是

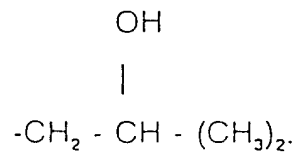


R² 是



且

R³ 是



12. 根據申請專利範圍第 1 項之醫藥組合物，其中前述

式 II 之化合物中

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

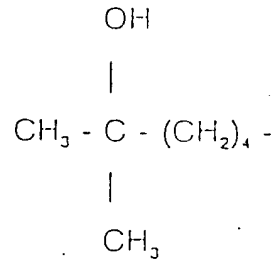
裝

訂

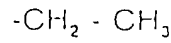
線

六、申請專利範圍

R¹ 是

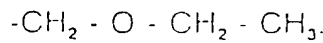


R² 是



且

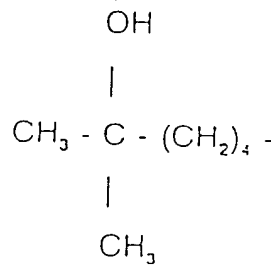
R³ 是



13. 根據申請專利範圍第 1 項之醫藥組合物，其中前述

式 II 之化合物中

R¹ 是

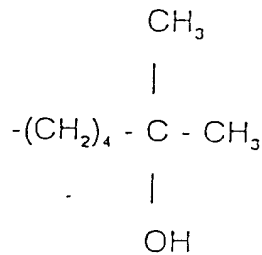


R² 是



且

R³ 是



14. 根據申請專利範圍第 1 項之醫藥組合物，其中前述

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

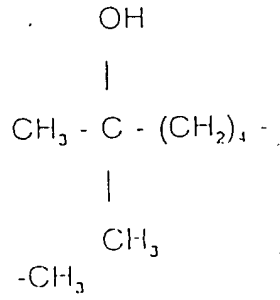
205507

A7
B7
C7
D7

六、申請專利範圍

式 II 之化合物中

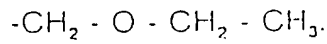
R¹ 是



R² 是

且

R³ 是



(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝
訂
線

經濟部中央標準局員工消費合作社印製