

發明專利說明書

(本申請書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

200410690

※申請案號：92118759

※申請日期：92年07月09日

※IPC分類：

壹、發明名稱：

(中) 皮膚疾病之外用療法

(外) Topical treatment of skin diseases

貳、申請人：(共 1 人)

1. 姓 名：(中) 艾爾比恩股份有限公司

(英) ELBION AG

代表人：(中) 1. 邦德 凱斯勒

(英) 1. KASTLER, BERND

地 址：(中) 德國瑞德布曼斯諾街一九一號

(英) Meissner Str. 191, 01445 Radebeul, Germany

國籍：(中英) 德國 GERMANY

參、發明人：(共 6 人)

1. 姓 名：(中) 克里斯 羅得費特

(英) RUNDFELDT, CHRIS

地 址：(中) 德國寇司韋格曼倫松街十一號

(英) Melanchthonstrasse 11, D-01640 Coswig, Germany

2. 姓 名：(中) 曼福德 齊茲曼

(英) KIETZMANN, MANFRED

地 址：(中) 德國葛羅伯格威朵梅梅勒路二號

(英) Memeler Str. 2, 30938 Grossburgwedel, Germany

3. 姓 名：(中) 喬琴 霍普曼

(英) HOPPMANN, JOACHIM

地 址：(中) 德國羅德保伯哈德一福斯路十九號

(英) Bernhard-Voss-Str. 19, 01445 Radebeul, Germany

4. 姓 名：(中) 沃夫剛 鮑曼

(英) BAUMER, WOLFGANG

地 址：(中) 德國漢諾威葛羅伯巴特林克三十四號

(英) Grosse Bartlinge 34, 30171 Hannover, Germany

5. 姓 名：(中) 希迪高德 柯柏

(英) KUB, HILDEGARD

地 址：(中) 德國德勒斯登凱勒街六號

(英) Kieler StraBe 6, 01109 Dresden, Germany

6. 姓 名：(中) 諾伯特 霍夫岡

(英) HÖFGEN, NORBERT

地 址：(中) 德國歐登多—歐利拉胡芬維格路一號

(英) Hufenweg 1, D-01458 Ottendorf-Okrilla, Germany

肆、聲明事項：

◎本案申請前已向下列國家（地區）申請專利 ☐ 主張國際優先權：

【格式請依：受理國家（地區）；申請日；申請案號數 順序註記】

1. 美國 ; 2002/07/11 ; 60/395,221 ☒ 有主張優先權

(英) Grosse Bartlinge 34, 30171 Hannover, Germany

5. 姓 名：(中) 希迪高德 柯柏

(英) KUB, HILDEGARD

地 址：(中) 德國德勒斯登凱勒街六號

(英) Kieler StraBe 6, 01109 Dresden, Germany

6. 姓 名：(中) 諾伯特 霍夫岡

(英) HÖFGEN, NORBERT

地 址：(中) 德國歐登多—歐利拉胡芬維格路一號

(英) Hufenweg 1, D-01458 Ottendorf-Okrilla, Germany

肆、聲明事項：

◎本案申請前已向下列國家（地區）申請專利 ☐ 主張國際優先權：

【格式請依：受理國家（地區）；申請日；申請案號數 順序註記】

1. 美國 ; 2002/07/11 ; 60/395,221 ☒ 有主張優先權

(1)

玖、發明說明

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於一種供治療炎性及/或過敏性皮膚疾病的方法，彼包括外用投藥一經經基取代之吡啶。

【先前技術】

磷酸二酯酶（PDE）同功酶牽涉到因調整環狀核苷酸值而致之細胞訊號轉導串聯的調節。資料 11 PDE 同功酶基因家族已可識別（Giembycz，2000 年）。這些同功酶之細胞分布及生化功能各有所不同。在患有遺傳性過敏症皮膚炎之病患（特別是小孩）的白血球中，可發現高度的 PDE 4 活性（Butler 等人，1983 年；Cooper 等人，1985 年）。PDE 4 在炎性細胞，如單核細胞、單核細胞衍生之巨噬細胞（Gantner 等人，1997 年）、嗜曙紅血球（Dent 等人，1994 年）、及 B 淋巴細胞（Cooper 等人，1985 年）中是一主要同功酶。PDE 4 抑制劑可藉由增加細胞內 cAMP 量而展現非常強的抗炎效果。經由 cAMP 分解的抑制作用 PDE 4 抑制劑可調整細胞內的功能（如減弱過氧化物之產生）及基因轉錄（如抑制合成及/或釋放炎性細胞活素）（Giembycz，2000 年，Kuss 等人，2002 年）。因 PDE4 也表現在角化細胞時，所以這些細胞就也是另外的潛在性藥理學目標，以便藉由使用 PDE4 抑制劑來控制炎性疾病（Chujor 等人，1998 年）。

經基吡啶，其做為 PDE4 抑制劑之用途及其製法係揭

(2)

示於國際公告申請案 WO 99/55696 案號。這些化合物可用於和嗜曙紅血球之活性相關的疾病上，特別是炎性氣道疾病，例如支氣管性氣喘、過敏性鼻炎、過敏性結膜炎、遺傳性過敏症皮膚炎、濕疹、過敏性血管炎、炎性及增生性皮膚疾病如牛皮癬或角化症。這些化合物可行的投藥形式有口服、非經腸、靜脈內、經皮、外用、鼻內等方式之製劑。一特別佳之化合物是 AWD 12-281。

PDE4 抑制劑 AWD 12-281 (N-(3,5-二氨基-4-吡啶基)-2-[1-(4-氟苄基)-5-羥基-1H-吡啶-3-基]-2-氧代乙醯胺) 在過敏性支氣管縮小的模式上已試驗成功。彼在被動性敏化之人類氣道中可顯著地減低過敏原之引起支氣管痙攣效應 (Schmidt 等人, 2000 年)。AWD 12-281 可在抗原刺激之人體細胞內抑制炎性介體從鼻息肉中釋出，例如 GM-CSF (粒性白血球-巨噬細胞菌落刺激因子)、TNF- α (腫瘤壞死因子 α) 及組織胺 (Kuss 等人, 2002 年)。此外，AWD 12-281 可在活體外抑制人類嗜曙紅血球的脫粒作用。在活體內，敏化之 Brown Norway 老鼠中，AWD 12-281 可顯著地減少和抗原有關之後期氣道反應中支氣管小泡灌洗時嗜曙紅血球的累積。同時，在參養之豬中，AWD 12-281 也可對 LPS 誘發之肺部嗜中性白血球增多顯出抑制效果 (Kuss 等人, 2002 年)。

另外的 PDE 4 抑制劑是西洛米樂司 (cilomilast)，目前被評估用於氣喘 (Griswold 等人, 1998 年，

(3)

Giembycz, 2000 年) 及慢性阻塞性肺病之治療。特別地, 和慢性阻塞性肺病有關的 II/III 期臨床試驗已證明在臨床上肺功能可顯著地增加 (Giembycz, 2001 年, Dyke & Montana, 2002 年)。

爲了刺激免疫學上之炎症, 已建立 (Ehinger 等人, 2000 年) 的老鼠耳朵腫脹率試驗 (MEST) 是使用根據 Gad 等人 (1986 年) 之對甲苯-2, 4-二異氰酸酯 (TDI) 敏化的老鼠。經 Dearman 等人 (1996 年) 證實, 在 BALB/c 老鼠中經 TDI 敏化的皮膚會導致 Th2-形態之細胞活素產生。曝露於 TDI 之動物, 其活化之淋巴結細胞將產生相當量的間白素 4 及 10, 但只有少量的干擾素 γ 。端視敏化狀態而定, 接觸性過敏原 TDI 會誘發 IgE-單獨性 (短時間曝露) 或 IgE-依存性 (長時間曝露) 過敏性皮膚炎 (Scheerens 等人, 1999 年)。至於高 IgE 值只會在長時間曝露之敏化中獲得。在一個研究中, 敏化進行了 120 天之久。

爲了不同 PDE 4 抑制劑在過敏性及/或炎症反應的療效, 已進行多個研究以便獲得關於各個 PDE 4 抑制劑的有效性資料。爲了改善 TDI 誘發之耳朵腫脹的徵狀, 可測量老鼠耳朵之細胞活素間白素 (IL) 4、IL-6 及 MIP-2。

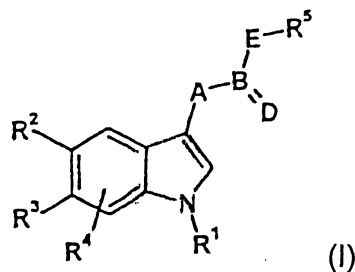
頃發現, 在 TDI 激發以做爲治療上之干擾後, 以外用投藥 AWD 12-281 可顯著地抑制耳朵腫脹。相對照下, 用做爲對照組化合物之 PDE 4 抑制劑西洛米樂司 (SB207499) 則失敗了。此結果顯示出外用投服羥基吡啶

(4)

如 AWD 12-281 在預防及治療過敏性或炎性皮膚疾病上很有效用。

【發明內容】

因此，本發明係關於一種供治療皮膚疾病的方法，彼包括外用投藥一治療上有效量的化學式 (I) 之化合物或彼之藥理學上可接受之鹽：



其中

R^1 表示

(i) 直鏈或支鏈之 $-C_{1-12}$ 烷基或是單-或多不飽和之 $-C_2-C_{12}$ 烯基，

可選擇地可經如下之基單-或多取代： $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-HN_2$ 、 $-NHC_{1-6}$ 烷基、 $-N(C_{1-6} \text{ 烷基})_2$ 、 $-NHC_{6-14}$ 芳基、 $-N(C_{6-14} \text{ 芳基})_2$ 、 $-N(C_{1-6} \text{ 烷基})(C_{6-14} \text{ 芳基})$ 、 $-NHCOR^6$ 、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $-F$ 、 $-Cl$ 、 $-Br$ 、 $-I$ 、 $-O-C_{1-6}$ 烷基、 $-O-C_{6-14}$ 芳基、 $-O(CO)R^6$ 、 $-S-C_{1-6}$ 烷基、 $-S-C_{6-14}$ 芳基、 $-SOR^6$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_2R^6$ 、 $-OSO_2C_{1-6}$ 烷基、 $-OSO_2C_{6-14}$ 芳基、 $-(CS)R^6$ 、 $-COOH$ 、 $-(CO)R^6$ 、具有 3-14 環員之單-、二-或三環狀飽和或單-或多不飽和之碳環、具有 5-15 環員及 1-6 個雜原子（且較

(5)

佳地爲 N、O 及 S) 之單一、二或三環狀飽和或單一或多不飽和之雜環，其中 C₆₋₁₄ 芳基及碳環以及雜環取代基可選擇地經 R⁴ 單一或多取代，

(ii) 具有 3-14 環員之單一、二或三環狀飽和或單一或多不飽和之碳環，或具有 5-15 環員及 1-6 個雜原子（且較佳地爲 N、O 及 S）之單一、二或三環狀飽和或單一或多不飽和之雜環，或者是具有 3-10 環員之碳環狀或雜環狀飽和或單一或多不飽和之螺環，其中雜環狀系統含有 1-6 個雜原子，且較佳地是 N、O 及 S，

可選擇地可經如下之基單一或多取代：-OH、-SH、-HN₂、-NHC₁₋₆ 烷基、-N(C₁₋₆ 烷基)₂、-NHC₆₋₁₄ 芳基、-N(C₆₋₁₄ 芳基)₂、-N(C₁₋₆ 烷基)(C₆₋₁₄ 芳基)、-NHCOR⁶、-NO₂、-CN、-F、-Cl、-Br、-I、-O-C₁₋₆ 烷基、-O-C₆₋₁₄ 芳基、-O(CO)R⁶、-S-C₁₋₆ 烷基、-S-C₆₋₁₄ 芳基、-SOR⁶、-SO₃H、-SO₂R⁶、-OSO₂C₁₋₆ 烷基、-OSO₂C₆₋₁₄ 芳基、-(CS)R⁶、-COOH、-(CO)R⁶、具有 3-14 環員之單一、二或三環狀飽和或單一或多不飽和之碳環、具有 5-15 環員及 1-6 個雜原子（且較佳地爲 N、O 及 S）之單一、二或三環狀飽和或單一或多不飽和之雜環，其中 C₆₋₁₄ 芳基及碳環以及雜環取代基可選擇地經 R⁴ 單一或多取代，

R⁵ 表示

具有 3-14 環員之單一、二或三環狀飽和或單一或

(6)

多不飽和之碳環或是具有 5-15 環員及 1-6 個雜原子（且較佳地為 N、O 及 S）之單一、二-或三環狀飽和或單一或多不飽和之雜環，或具有 3-10 環員之碳環狀或雜環狀飽和或單一或多不飽和之螺環，其中雜環狀系統含有 1-6 個雜原子，且較佳地是 N、O 及 S，

可選擇地可經如下之基單一或多取代：-OH、-SH、-HN₂、-NHC₁₋₆ 烷基、-N(C₁₋₆ 烷基)₂、-NHC₆₋₁₄ 芳基、-N(C₆₋₁₄ 芳基)₂、-N(C₁₋₆ 烷基)(C₆₋₁₄ 芳基)、-NHCOR⁶、-NO₂、-CN、-F、-Cl、-Br、-I、-O-C₁₋₆ 烷基、-O-C₆₋₁₄ 芳基、-O(CO)R⁶、-S-C₁₋₆ 烷基、-S-C₆₋₁₄ 芳基、-SOR⁶、-SO₃H、-SO₂R⁶、-OSO₂C₁₋₆ 烷基、-OSO₂C₆₋₁₄ 芳基、-(CS)R⁶、-COOH、-(CO)R⁶、具有 3-14 環員之單一、二-或三環狀飽和或單一或多不飽和之碳環、具有 5-15 環員及 1-6 個雜原子（且較佳地為 N、O 及 S）之單一、二-或三環狀飽和或單一或多不飽和之雜環，其中 C₆₋₁₄ 芳基及碳環以及雜環取代基可選擇地經 R⁴ 單一或多取代，

但附帶條件是 R⁵ 含有至少一個選自 -F、-Cl、-Br、-I 之取代基；

R²、R³ 表示氫或 -OH，其中二者取代基中之一個必須為 -OH；

R⁴ 表示

-H、-OH、-SH、-HN₂、-NHC₁₋₆ 烷基、

(7)

$-N(C_{1-6} \text{ 烷基})_2$ 、 $-NHC_{6-14} \text{ 芳基}$ 、 $-N(C_{6-14} \text{ 芳基})_2$ 、 $-N(C_{1-6} \text{ 烷基})(C_{6-14} \text{ 芳基})$ 、 $-NHCO R^6$ 、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $-COOH$ 、 $-(CO)R^6$ 、 $-(CS)R^6$ 、 $-F$ 、 $-Cl$ 、 $-Br$ 、 $-I$ 、 $-O-C_{1-6} \text{ 烷基}$ 、 $-O-C_{6-14} \text{ 芳基}$ 、 $-O(CO)R^6$ 、 $-S-C_{1-6} \text{ 烷基}$ 、 $-S-C_{6-14} \text{ 芳基}$ 、 $-SOR^6$ 、 $-SO_2R^6$ 、 $-C_1-C_6 \text{ 烷基}$ ，其中每一芳基或烷基可經 $-OH$ 、 $-F$ 、 $-Cl$ 、 $-Br$ 、 $-I$ 單一或多取代；

R^6 表示

$-H$ 、 $-HN_2$ 、 $-NHC_{1-6} \text{ 烷基}$ 、 $-N(C_{1-6} \text{ 烷基})_2$ 、 $-NHC_{6-14} \text{ 芳基}$ 、 $-N(C_{6-14} \text{ 芳基})_2$ 、 $-N(C_{1-6} \text{ 烷基})(C_{6-14} \text{ 芳基})$ 、 $-O-C_{1-6} \text{ 烷基}$ 、 $-O-C_{6-14} \text{ 芳基}$ 、 $-S-C_{1-6} \text{ 烷基}$ 、 $-S-C_{6-14} \text{ 芳基}$ 、直鏈或支鏈之 $-C_{1-12} \text{ 烷基}$ ，

單一或多不飽和之直鏈或支鏈 $-C_{2-12} \text{ 烯基}$ ，

具有 3-14 環員之單一、二-或三環狀飽和或單一或多不飽和之碳環，

具有 5-15 環員及 1-6 個雜原子（且較佳地為 N、O 及 S）之單一、二-或三環狀飽和或單一或多不飽和之雜環；

A 表示一個鍵，或

$-(CH_2)_m-$ 、 $-(CH_2)_m-(CH=CH)_n-$
 $(CH_2)_p-$ 、 $-(CHOZ)_m-$ 、 $-(C=O)-$ 、 $-(C=S)-$ 、 $-(C=N-Z)-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NZ-$ ，

(8)

其中 m 、 $p=0-3$ 而 $n=0-2$ ，以及

Z 表示

$-H$ ，或

直鏈或支鏈之 $-C_{1-12}$ 烷基，

單-或多不飽和之直鏈或支鏈 $-C_{2-12}$ 烯基，

具有 3-14 環員之單-、二-或三環狀飽和或單-或多不飽和之碳環，

具有 5-15 環員及 1-6 個雜原子（且較佳地為 N 、 O 及 S ）之單-、二-或三環狀飽和或單-或多不飽和之雜環；

B 表示碳或硫，或是 $-(S=O)-$ ；

D 表示氧、硫、 CH_2 或 $N-Z$ ，

其中，若 B 表示碳時，則 D 為 S 或 CH_2 ；

E 表示一個鍵，或

$-(CH_2)_m-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-(N-Z)-$ ，

其中 m 及 Z 具有如上所定義。

本發明進一步係關於如化學式 (I) 之化合物的藥學上可接受鹽類。

在化學式 (I) 之化合物中 R^5 較佳地係選自具有至少一個鹵素取代基之單環狀飽和或單-或多不飽和之碳環及雜環，更佳地係具有選自至少一個，如 2 或 3 個鹵素取代基之單環狀芳族碳環及雜環， R^5 之特別佳的實例是具有至少一個鹵素取代基之吡啶或苯環，如 3,5-二氨基-4-吡啶基、2,6-二氨基苯基、2,6-二氨基-4-三氟

(9)

甲基苯基、2, 6-二氯基-4-三氟甲氧基苯基等。

R^1 較佳地係選自 C_1-C_{12} 烷基，亦即 C_1-C_4 烷基，其可選擇地經碳環如苯環取代。 R^1 之特別佳的實例是乙基、丙基（正-丙基或異丙基）、苄基及經鹵素取代之苄基，如 4-氟基苄基、2, 6-二氟基苄基等。再者， R^1 可選自單環狀飽和或單-或多不飽和之碳環及雜環，其可選擇地是經取代。

R^2 較佳地係 OH，而 R^3 較佳地是 H。A 較佳地係選自 $-(C=O)-$ 及 $-(CHOH)-$ 。B 較佳地為 C，D 較佳地係 O，以及 E 較佳地為 $-(N-H)-$ 。化合物 (I) 之特別佳的實例係 AWD 12-281 ($N-(3, 5-二氯基-4-吡啶基)-2-[1-(4-氟苄基)-5-羥基-1H-吡啶-3-基]-2-氧代乙醯胺$) 或彼之藥學上可接受鹽。

本發明之化合物特別適於治療炎性及/或過敏性皮膚疾病，尤其是與病理學上增加 PDE 4-活性相關的皮膚疾病，舉例之有過敏性皮膚炎，如過敏性皮膚炎。

一般而言，化學式 (I) 之化合物或彼之藥學上可接受鹽可用於藥劑之製造上，以便用來預防或治療人類或哺乳類中因皮膚之炎性反應以及皮膚細胞干擾性增生和分化所引起的病症情況。化學式 (I) 之化合物可用於治療皮膚的炎性反應，像鞅膜炎、硬皮病、界限性沉著症 (circumscripta)、丹毒、尋常天疱瘡、葉狀天疱瘡及大疱性類天疱瘡。該等化合物對活化之 T-細胞或其他免疫系統之細胞，如粒性白血球、肥大細胞、巨噬細胞、或這些

(10)

免疫細胞之相關介體（如細胞活素）所引起之炎性皮膚疾病（如扁平紅色苔蘚）也很有功效。再者，這些化合物對治療自體免疫學上的皮膚表現，如皮膚肌炎、紅斑性狼瘡也具有活性。

由於這些化合物能提升環狀 AMP 值，所以彼等可用來治療人類或非人類哺乳動物的良性或惡性增生性皮膚疾病。本文所用之增生性皮膚疾病，一詞係表示以表皮、真皮或其附器內細胞加速分裂為特徵且與不完全之組織分化有關的良性或惡性增生性皮膚疾病。此類疾病包括：牛皮癬、遺傳性過敏症皮膚炎、非特定之皮膚炎、一級刺激物接觸之皮膚炎、過敏性接觸之皮膚炎、或過敏性病變如遺傳性過敏症、蕁麻疹、濕疹、角膜結膜炎、基礎性及鱗片狀細胞皮膚癌、薄片狀魚鱗癬、表皮皮膚角化症、簡單性表皮鬆解、惡化前陽光誘發之皮膚角化症、非惡性皮膚角化症、痤瘡、及皮脂漏之皮膚炎、萊爾氏徵候群、人類之肉芽腫皮膚損傷及遺傳性過敏症皮膚炎、搔癢症及參養之動物的癩疥瘡。

由於該等化合物能減低炎性反應，所以可用於治療因細菌、病毒、黴菌或寄生蟲感染而誘發之皮膚疾病。這些疾病的實例有游走性紅斑、皮結核、萊姆疾病、皮膚性利什曼原蟲病、毒性外皮壞死溶解、膿皮病、癬以及痔疾。

化學式（I）之化合物也可用於治療皮膚之炎性反應，像是鞏膜炎、硬皮病、界限性沉著症、丹毒、尋常天疱瘡、葉狀天疱瘡及大疱性類天疱瘡。

(11)

由於皮膚細胞之增生是受細胞內 cAMP 值所影響，所以化學式 (I) 之化合物可支援損傷的治療。

化合物 (I) 可以外用方式，亦即經皮方式之調製物，較佳地是含有活性成份及合適之藥學上可接受載劑、稀釋劑及佐劑的水性或油性懸浮液形式來投藥。

通常，化學式 (I) 之化合物，或若適當的話，彼之藥學上可接受鹽係與習知之外用賦形劑組合而以外用調製物方式投藥。舉例之，外用調製物可為軟膏、糊劑、擦劑、滴劑、乳霜或洗劑、浸漬式敷料劑、凝膠劑、凝膠貼劑、噴霧劑及氣溶膠，其並可含有適當之習知添加劑如防腐劑、幫助藥物穿透之溶劑及軟膏與乳霜中之潤膚劑。這些調製物也可含有相容之已知載劑，如乳霜或軟膏基底、及洗劑用之乙醇或油醇。合適之乳霜、洗劑、凝膠、貼劑軟膏、噴霧劑或氣溶膠調製物也可用於化學式 (I) 之化合物或適當的話，彼之藥學上可接受之鹽。若是直腸及肛門皮膚粘膜之治療，則可以栓劑來投藥。

活性化合物之劑量規定將隨著患者年齡及體重、欲治療疾病之特性與嚴重性及類似因素而變化。每日劑量規定可依獨立劑量或細分為每日二或多次之劑量投服，且其範圍是 0.01 - 5000 毫克。

在本發明之特別佳的具體實施例中，該化合物可依已患病之皮膚面積給藥。舉例之，該化合物可在一過敏性激發後服用，亦即在待治療之患者已曝露於過敏原之後，且較佳地係在第一次過敏徵狀被觀察到之後。特定地，在過

(12)

敏性激發後該化合物的第一次投藥可在 48 小時，較佳地在 24 小時後。然後，持續用藥直至所需效果達到為止。

化合物 (I) 可以單獨活性成份或與至少一個另外之藥學試劑組合的方式投藥。舉例之，化學式 (I) 之化合物可與刺激 cAMP 產生之藥物組合，例如擬交感神經之胺類如異丙腎上腺素、 α -乙基異丙腎上腺素、羥甲異丁腎上腺素、苯腎上腺素及黃麻碱；黃嘌呤衍生物如茶碱及氨苯碱，以及皮質激素類如脫氫皮質甾醇，同時如 ACTH 之腎上腺刺激物也可涵蓋在內。藥學試劑之組合物也像類固醇、免疫抑制劑（如他克莫司、斥消靈 (sirolimus)、環孢霉素、皮美克利妙 (pimecrolimus)）、環狀加氧酶抑制劑（如茚甲新、雙氯芬酸、異丁苯丙酸）、或抗組織胺（苯海拉明、羥嗪、氯雷他定、仙特敏）一樣對免疫系統具有影響力。化學式 (I) 之化合物可同時地與其他用來治療或處理皮膚疾病的試劑一起給藥，例如類維生素 A、1, 8, 9 蒽三酚、維生素 D 衍生物、阿勒佛瑟 (alefacept)、達利珠 (daclizumab)、安特納瑟 (etanercept)。受細菌、病毒、黴菌或寄生蟲感染之皮膚疾病的治療可使用抗生素如磺醯胺、紅黴素及四環素來支援。由於趨化激素 (IP-10) 或細胞活素 (IL-1 β 、IL-2) 之蛋白質會影響皮膚細胞之分化及增生，所以在治療皮膚疾病時以這些介體或抗體做為輔助可能效益。

更進一步地，本發明將以下列圖及實施例來詳細解說。

(13)

圖 1：藉使用 "Franz" 擴散細胞及鼠科動物背部皮膚來測量 ^{14}C AWD 12-281 之皮膚滲透性。 ^{14}C AWD 12-281 之活性係在 360 分鐘之培育期間於血漿中測得。有兩個獨立實驗的結果。 $15\mu\text{l}$ (110322970 dpm) ^{14}C AWD 12-281 (溶解於 1:1 之丙酮/DMSO) 將塗敷在剃過的皮膚上。

圖 2：在 TDI-激發前 2 小時，單獨地將 AWD 12-281、西洛米樂司 (cilomilast)、雙氟拉松局部塗敷於將受 TDI 敏化之老鼠耳朵上的效果。長條圖表示 1、5 及 24 小時後之耳朵腫脹率，相對於 TDI-激發前所得之值。相較於未處理之對照組 (白色長條)，經 TDI 處理之老鼠的耳朵腫脹率 (黑色長條) 有顯著的增加。AWD 12-281 (1%，直影線長條) 以及西洛米樂司 (3%，斜影線長條) 及雙氟拉松 (0.05% 灰色長條) 在所有測量時間都可顯著地抑制腫脹。當與 TDI 處理之動物比較時， $*P<0.05$ ， $**P<0.01$ ， $***P<0.001$ (每組中 $n=6$ (TDI=12))。

圖 3：在 TDI-激發後 1 小時 (治療干擾)，單獨地將 AWD 12-281、西洛米樂司 (cilomilast)、雙氟拉松局部塗敷於受 TDI 敏化之老鼠耳朵上的效果。長條圖表示 TDI-激發後 5 及 24 小時之腫脹率。在激發後 5 小時的處理組之間並沒有顯著差異。在激發後 24 小時，當與 TDI 激發之對照組老鼠比較時，AWD 12-281 (1%，白色長條) 以及雙氟拉松 (0.05%，灰色長條) 可顯著地抑制腫脹，西洛米樂司 (3%，斜影線長條) 則沒有顯著的抑制

(14)

力。 ** $P < 0.01$, (每組中 $n=6$ ($TDI=12$)) 。

圖 4：在以長期 (120 天) 重複曝露之敏化範例的 TDI 敏化之老鼠中，AWD 12-281 對 TDI 誘發之耳朵腫脹的效果。長條圖表示在 TDI- 激發後 1、5 及 24 小時之耳朵腫脹率。在激發後 1 及 5 小時的各組之間並沒有顯著差異。但在激發後 24 時，與 TDI 處理之對照組老鼠 (白色長條) 比較時，於 TDI 激發後 1 小時投予 AWD 12-281 (3% , 黑色長條) 可顯著地抑制腫脹。 ** $P < 0.01$ (每組中 $n=5$) 。

圖 5：在 TDI 激發後 24 小時，於均質化老鼠耳朵中之間白素 4 (A)、間白素 6 (B) 及巨噬細胞炎性蛋白質 2 (C) 的濃度。試樣是取自外用治療之實驗 (可參閱圖 2)。在 TDI 激發之老鼠耳朵中顯著增加了間白素 4、中間白素 6 及巨噬細胞炎性蛋白質 2。AWD 12-281 (1%) 可減緩 (IL-4 , MIP-2) 些微地增加或使 (IL-6) 顯著變弱。西洛米樂司 (3%) 以及雙氟拉松 (0.05%) 可顯著地減低所有的介體濃度。當與 TDI 處理之動物比較時 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ (每組中 $n=6$ ($TDI=12$)) 。

圖 6：在老鼠中，PDE 4 抑制劑對 TDI 誘發之耳朵腫脹的效果。老鼠耳朵以 0.5%TDI 處理。1 小時後，(灰色長條) 組之老鼠再以 3%AWD 12-281、10%西洛米樂司治療或留置不治療 (TDI)。24 小時後，測量耳朵腫脹率 (黑色長條)。AWD 12-281 可明顯減少耳朵腫脹率，

(15)

但西洛米樂司卻無法展現一顯著的抑制效果（ $p=0.09$ ）。

【實施方式】

實施例

1. 材料與方法

1.1 敏化過程

從 Charles River 河（Sulzfeld，德國）中獲取 8 週大之雌性 BALB/c 老鼠（20 公克體重）。所有動物都是健康且在 22℃ 及配合 12 小時亮光/黑暗循環下安置成一組每籠 6 隻老鼠。水及標準飲食都可隨意地取用。

放置 1 週後，先剃除老鼠腹部皮膚的毛，再用 Veet® 脫毛。隨後，用粘著膠帶剝光腹部皮膚的角層 10 次。關於活性敏化，則是以 100 μ l 的 5%TDI 丙酮溶液連續 4 天施用在剝光的表皮上。

21 天後，經由在左耳的內面及外面施用 10 μ l 之 5%TDI 丙酮溶液以檢測敏化狀態，藉此促進過敏反應。在激發前及激發後 24 小時，用 cutimeter 量計（型號 7309，Mitutoyo，Neuss，Germany 公司）測量耳朵厚度。腫脹率是以比較激發前與激發後 24 小時之值來計算。在與早先估計的各別基礎值（約 230 μ m）比較時，激發後 24 小時具有平均腫脹差數小於 20%的動物將以未敏化而排除。其他老鼠則根據其腫脹強度而平均地分布到各處理組（ $n=6$ ），如此每一組都含括有各種不同程度的動物。彼等需休息直到 7 天後耳朵厚度已幾乎達到一正常值。為

(16)

了排除殘留在耳朵上之過敏原，未處理之右耳將用於主要實驗。

1.2 外用塗敷

第一組的老鼠（ $n=6$ ）未敏化及激發。第二組（ $n=12$ ）則在右耳施用 $20\mu\text{l}$ （各 $10\mu\text{l}$ 在內面及外面） 0.5% 之 TDI 丙酮溶液。TDI 激發前兩小時，第三及第四組（各為 $n=6$ ）先以 $20\mu\text{l}$ （各 $10\mu\text{l}$ 在內面及外面）AWD 12-281（ $1\% = 200\mu\text{g}$ ）或 $20\mu\text{l}$ 西洛米樂司（ $3\% = 600\mu\text{g}$ ；各溶於 9:1 之丙酮/DMSO）處理右耳。雙氟拉松（ $20\mu\text{l}$ ， $0.05\% = 10\mu\text{g}$ ，溶於丙酮）則充當為腎上腺皮質類脂醇正對照組（ $n=6$ ）。這些老鼠在 TDI 激發後 24 小時將因頸部脫臼而犧牲，然後收集耳朵（參閱下文）。

為了刺激治療情況，三個額外組（ $n=6$ ）可在 TDI 激發後 1 小時（也就是說，直接在測量耳朵厚度之後）以檜敷方式接受 AWD 12-281（ 1% ）、西洛米樂司（ 3% ）或雙氟拉松（ 0.05% ）。耳朵厚度也在 TDI 激發後 5 及 24 小時後測量。

第一次激發後 5 週，以 AWD 12-281（ 1% ）及西洛米樂司（ 3% ）”治療上”處理之動物將再次激發。激發前，其中一組並以 AWD 12-281（ 3% ）處理。

再者地，以長期曝露於 TD 的模式進行實驗以獲得 AWD 12-281 治療效果之資料。因此，每間隔 10 天持續達 120 天以 $100\mu\text{l}$ 之 0.5% TDI 處理 10 隻老鼠的腹部皮

(17)

膚。在上一次腹部處理後 10，以 20 μ l 之 0.5%TDI 並分開成 10 μ l 在耳朵外表面及 10 μ l 在內面方式以激發老鼠的左耳。TDI 激發後 1 小時以 AWD 12-281 (3%) 治療 5 隻老鼠，而另 5 隻則佯裝治療。在激發之前及之後的 1、5 及 24 小時，測量耳朵厚度。

1.3 細胞活素之測量

將一部份收集之耳朵固定於 4%之甲醛中以做組織學切片，並用和皮膚厚度及粒性白血球累積有關的蘇木素-曙紅染色。這些參數將在 40 倍放大倍率下於 10 個範圍內測量。取樣後，剩餘之組織將急速冷凍並立刻儲存於液態氮中。至於生物化學參數之測量，是在液體氮下使老鼠耳朵均質化。將組織均漿放置於 200 μ l 之 RPMI 1640 培養基中，並加入蛋白酶抑制劑 Pefabloc® (1 毫莫耳)，並將試樣強烈地混合。離心 (10000 公克，10 分鐘，4℃) 後，收集上層清液並測量蛋白質含量。將試樣儲存在 -80℃ 下，直到測得細胞活素。藉由商品化全套工具並根據製造商指示經由 ELISA 測量試樣中的間白素 (IL) 4，IL-6 及 MIP-2。

1.4 ¹⁴C AWD 12-281 通過鼠科動物背部皮膚之穿透力

¹⁴C AWD 12-281 穿透鼠科動物背部皮膚之能力可於擴散細胞 (Franz 細胞) 中試驗。將乾燥剃過毛之鼠科動

(18)

物背部皮膚放置在擴散細胞上，如此 1.5 公分（直徑）的皮膚側邊會與溫暖（34℃）的緩衝液（牛血清）接觸。將 15 μ l （110322970 dpm）之 ^{14}C AWD 12-281（溶解於 1 : 1 之丙酮/DMSO）塗敷於剃過毛之皮膚上。在 15、60、120、180、240、300、及 360 分鐘時取樣，並在 β 計數器（Beckman, Munich, Germany 公司）中測量。實驗進行兩次。

1.5 試劑

TDI 係由 Sigma-Aldrich Chemie (Deisenhofen, Germany) 公司提供。AWD 12-281、 ^{14}C AWD 12-281 及西洛米樂司則取自 AWD (Dresden, Germany) 公司。丙酮、PEG200 及 DMSO 是由 Merck (Darmstadt, Germany) 公司購得；甲醛溶液取自 Fluka (Deisenhofen, Germany) 公司，Miglyol 及羥乙基纖維素取自 Caesar & Loritz (Hilden, Germany) 公司，以及 RPMI 1640 培養基則取自 Biochrom (Berlin, Germany) 公司。測量細胞活素之 ELISAs 是由 R&D systems (Wiesbaden, Germany) 公司購得。Pefabloc® 係購自 Boehringer Mannheim (Germany) 公司。脫毛乳霜 (Veet®) 則是 Reckitt & Colman (Hamburg, Germany) 公司的商標。粘著膠帶 (Tesa-film®) 乃由 Beiersdorf (Hamburg, Germany) 公司取得。蛋白質含量是用 Biorad® 測定法 (Muenchen, Germany) 公司來測量。

(19)

1.6 統計學上之評估

結果是以平均值及標準誤差 (SE) 來表示。不同處理組的顯著差異是藉助於 Mann-Whitney 試驗法 (U-試驗) 來檢查。當經 TDI 處理之對照組老鼠係與三至五個不同組做比較時, 該經 TDI 處理之老鼠的數目在大部份實驗中都是兩倍 ($n=12$)。

2. 結果

2.1 ^{14}C AWD 12-281 通過鼠科動物背部皮膚之穿透力

在兩個實驗中, 於可顯示 AWD 12-281 之皮膚穿透力的緩衝液中測量放射性之增加。在塗敷後 360 分鐘所測得之放射量乃類似於 0.22 及 0.08% 之總活性 (圖 1)。

2.2 外用投藥

老鼠耳朵腫脹率

在 TDI 激發後 1、5 及 24 小時, 對照組老鼠在耳朵厚度上顯示了約 30%、20% 及 60% 之增加率。在 TDI 激發前 2 小時以外敷方式投予 AWD 12-281 (1%)、西洛米樂司 (3%) 及雙氟拉松 (0.05%), 則可在所有測量時間上明顯地抑制 TDI-誘發之腫脹率 (圖 2)。

用來試驗 AWD 12-281 之治療效果的試驗組在 TDI 激發 (也就是投藥之前直接激發) 後 1 小時顯示出 25-

(20)

30%之間的腫脹率。投藥之後，在TDI激發後5小時並不會顯著觀察到進一步的腫脹，而且不同的治療組也沒有顯見差異。然而，在激發後24小時AWD 12-281及雙氟拉松可明顯地抑制TDI誘發之耳朵腫脹率。西洛米樂司則只引起輕微但不明顯的腫脹率減緩（圖3）。

在長時間（120天）敏化之最後試驗中，將TDI塗敷於耳朵上使激發1小時後，耳朵厚度增加率是接近40%。在激發後1小時外部投藥AWD 12-281施以“治療”，則於激發後5小時可引起輕微的抑制。與未處理之對照組比較時，激發後24小時腫脹幾乎被AWD 12-281消除（圖4）。

組織學檢查

在TDI激發後24小時，老鼠耳朵皮膚之組織學檢查顯現了明顯水腫及炎性細胞（主要是粒性白血球）的流出。AWD 12-281、西洛米樂司及雙氟拉松都可顯著地抑制這些炎性過程（表1）。

老鼠皮膚中之炎性介體

在第一次治療後5週再激發，於老鼠耳朵中通常會有較高的細胞活素濃度。這很顯明地是因為耳朵皮膚中有炎性細胞殘留物之故。這些結果（TDI與AWD 12-281 3%之比較）乃各別列於表2。

在激發後24小時於TDI處理之老鼠皮膚中IL-4將

(21)

顯著增加（圖 5a）。1%之 AWD 12-281 則顯現輕微的抑制效果，然而 3%之 AWD 12-281（表 2）、西洛米樂司（3%）及雙氟拉松（0.05%）將可顯著地抑制增加率。

在激發後 24 小時，IL-6 濃度也會因 TDI 而明顯增高。AWD 12-281（1%，3%）、西洛米樂司（3%）及雙氟拉松（0.05%）都能顯著地抑制此回應。AWD 12-281（3%）、西洛米樂司及雙氟拉松的抑制效果將供比較，同時 AWD 12-281（1%）只顯現輕微效果（圖 5b 及表 2）。

MIP-2 係人類 IL-8 之功能性同系物，其在 TDI 激發後也會增加。然而，1%之 AWD 12-281 只輕微地減緩此增加率，3%之 AWD 12-281、西洛米樂司（3%）及雙氟拉松（0.05%）將可顯著地減少 MIP-2 濃度之增加率（圖 5C 及表 2）。

3. 討論

已有研究進行調查 PDE4 抑制劑對 TDI 激發之老鼠耳朵腫脹率的效果。TDI 塗敷在皮膚上會誘導出主要的 Th2-形態細胞活素媒介之反應，其可由曝露於 TDI 之動物的活化淋巴結細胞中有高量間白素 4 及 10 來證明，但卻只有低量的干擾素 α （Dearman 等人，1996 年，Hayashi 等人，2001 年）。吾人所得結果顯示另外的細胞活素如 IL-1 β 、IL-6 及 MIP-2 也牽涉到 TDI 之過敏/炎性細胞反應。初炎性細胞活素之增加會伴隨著炎性細胞如嗜中性

(22)

白血球及嗜曙紅血球的流出（表 1）及明顯的水腫。所以，耳朵腫脹可用做為功能參數。

進行 AWD 12-281 之皮膚滲透性試驗。在吾人實驗中，AWD 12-281 有非常良好的吸引力，並能穿透緩衝液內。在 Franz 擴散細胞中測量人類皮膚，6 小時後所觀察之累積吸收率各別為 0.08 及 0.22%，若與氫化可體松比較時，乃相當於其 10 倍大的吸收率（Hueber 等人，1994 年）。

有關 TDI 激發前 PDE 4 的外用治療之結果可確定前者的發現（Ehinger 等人，2000 年）。在此一研究中，為了考慮到 PDE 4 不同的 IC_{50} s，AWD 12-281 是以較低劑量投藥。AWD 12-281 的 IC_{50} s 比西洛米樂司低約 10 倍（Griswold 等人，1998 年，Kuss 等人，2002 年）。

對照前者之結果，經由修正敏化之記錄以獲得更明顯的正面控制是可行的。藉由重複使用此研究所揭示之敏化記錄，是能夠再現並標準化激發後 24 小時對 TDI 之回應（資料未顯示）。由於此一時間點的高回應，吾人能偵測到高量的細胞活素。為了更接近臨床環境，乃決定檢測 PDE4 抑制劑在治療過敏性/炎性反應的效果。所以，TDI 激發後 1 小時給予 PDE 4 抑制劑時，炎性過程便開始藉由 30% 之平均耳朵腫脹率來表現。雖然，AWD 12-281 是以低劑量（1%）投藥，但其能在激發後 24 小時顯著地減少 TDI 之炎性回應。此舉可經由該檢測長時間曝露於 TDI 之結果的研究而確認。此長時間曝露的結果之一是在激發後

(23)

1 小時耳朵腫脹率就提高，可能是因有更多經 IgE 媒介的回應之故（Scheerens 等人，1999 年）。在此長時間曝露研究中，投予較高劑量（3%）之 AWD 12-281 幾乎可消除 TDI 誘發之腫脹（圖 4）。當與正對照組比較時，經 AWD 12-281 治療之老鼠的耳朵組織學檢查顯示了炎性細胞及血管滲漏幾近於全數消失（未顯現）。

爲了檢測回應 TDI 誘發之耳朵腫脹的炎性介體，將測量在待治療之老鼠耳朵中的細胞活素間白素（IL） 4、IL-6 及 MIP-2。

在患有遺傳性過敏症皮膚炎之病患的劇烈受侵襲之皮膚損傷中可顯見到 IL-4 的過量產生（Hanifin 等人，1996 年，Segergel 等人，1999 年）。所以，吾人乃感興趣於 TDI 對老鼠皮膚中 IL-4 產生之影響。因表皮深層之星狀細胞及角化細胞無法產生此 IL-4 細胞活素，所以其在皮膚中的來源是有限的（Shreedhar 等人，1998 年，Morita 等人，2001 年）。因此，令人有興趣的是將此一非常好的結果登記在正對照組中。肥大細胞（Harvima 等人，1994 年；Dastyh 等人，1999 年）及 Th₂ 細胞之流出（Shreedhar 等人，1998 年）很顯明地是皮膚中 IL-4 的來源。在活體內，西洛米樂司對 IL-4 之抑制能力也已證明是慢性唑酮－誘發之接觸性敏感的模式（Griswold 等人，1998 年）。AWD 12-281（1%）引起之調節效果不足是導因於劑量低，而 3%之 AWD 12-281 對 IL-4 濃度可產生 80%的抑制率（表 2B）。

(24)

在活體外，IL-6 會經由 TDI 而升高 (Mattoli 等人，1991 年)。當炎性刺激後角化細胞會分泌出 IL-6 (McKenzie 等人，1990 年)。在 LPS 刺激之巨噬細胞中也揭示了 PDE 4 抑制劑可抑制 IL-6 之釋出 (Kambayashi 等人，1995 年)。

對嗜中性白血球之趨化性而言，MIP-2 是一至關緊要的細胞活素。本文已證明經 TDI 激發之耳朵腫脹會伴隨著大量嗜中性白血球的流出。西洛米樂司、雙氟拉松及 AWD 12-281 (3%) 的抑制效果可解釋為，當以 PDE 4 抑制劑或糖皮質激素治療後嗜中性白血球會減緩流出。

將這些結果連結在一起可暗示出，AWD 12-281 以及西洛米樂司依過敏性皮膚炎的模式抑制炎性反應。若經由外用途徑，AWD 12-281 的炎性回應是值得信賴，並且以 3% 投藥比 1% 投服更可明顯地增進抑制率 (圖 3 及圖 4)。雖然，西洛米樂司 (3%) 經由口服及腹膜內途徑也有抑制效果，但在 TDI 激發後才投藥時就缺少顯著的抑制效果 (圖 3)。須考慮到，過敏反應的治療在臨床上是比預防性投藥更為重要，而這些資料則顯示了 AWD 12-281 及其相關之氫化吡啶化合物在治療皮膚疾病，特別是治療皮膚中過敏性/炎性反應上的優勢。

(25)

表 1

TDI 激發後 24 小時於老鼠耳朵中細胞流出物的組織學檢查。組織試樣是從外部處理之實驗中取得(參考圖 2)

	未處理		甲苯-2,4-二異氰酸酯		
	對照組	媒介物	AWD 12-281 (1%)	西洛米樂司 (3%)	雙氟拉松 (0.05%)
粒性白血球在 皮膚中之計分	-	+++	+	-/+	-/+

表 2

A) TDI 激發後 24 小時之耳朵腫脹率，及以 AWD 12-281 (3%) 治療後 TDI 激發後 24 小時，在均質化之老鼠耳朵中 IL-4、IL-6 及 MIP-2 (pg/400µg 蛋白質) 的平均值 (+ s.e. 平均值)，** P<0.01。

B) AWD 12-281 (3%)、西洛米樂司 (3%) 及雙氟拉松 (0.05%) 之抑制效果 (TDI 誘發之合成的平均抑制率 (%)) 的比較。

A)

經 TDI 激發		
	媒介物 (對照組)	AWD 12-281 (3%)
耳朵 腫脹率 (%)	51±7	1±2**
IL-4	67±2	12±3**
IL-6	89±5	42±6**
MIP-2	286±39	72±8**

(26)

B)

細胞活素	AWD 12-281 (3%)	西洛米樂司 (3%)	雙氟拉松 (0.05%)
IL-4	81	74	50
IL-6	52	49	52
MIP-2	75	66	76

參考文獻

BUTLER, J. M., CHAN, S.C., STEVENS, S.R. & HANIFIN, J. M. (1983 年)。在遺傳性過敏症皮膚炎中因環狀 AMP-磷酸二酯酶之提高而使白血球組織胺之釋出增加。J. Allergy Clin. Immunol. 71 期，490-497 頁。

COOPER, K.D., KANK, K., CHAN, S.C. & HANIFIN, J. M. (1985 年)。在活體外,藉由 RO 20-1724 抑制磷酸二酯酶可減低遺傳性過敏症皮膚炎細胞之高-IgE 合成。J. Invest. Dermatol. 84 期，477-482 頁。

DASTYCH, J., WALCZAK-DRZEWIECKA, A., WYCZOLKOWSKA, J. & METCALFE, D.D. (1999 年)。曝露於氯化汞之鼠科動物其肥大細胞會釋放與細粒有關之 N-乙酰基-β-D-己糖胺酶並分泌 IL-4 及 TNF-α。J. Allergy Clin. Immunol. 103 期，1108-1114 頁。

DEARMAN, R.J., BASKETTER, D.A. & KIMBER, I (1996 年)。以老鼠誘發之發散性細胞活素分泌剖面圖為

(27)

函數之化學物過敏原的特性表示。Toxicol. Appl. Pharmacol. 138 期, 308-316 頁。

DENT, G., GIEMBYCZ, M.A., EVANS, P.M., RABE, K.F. & BARNES, P.J. (1994 年)。人類嗜曙紅血球呼吸性破裂之抑制作用及經由 IV 型態磷酸二酯酶抑制劑的環狀 AMP 水解作用：與 β 腎上腺素受體興奮劑舒喘寧之交互作用。J. Pharmacol. Exp. Ther. 271 期, 1167-1174 頁。

DYKE, H.J. & MONTANA, J.G. (2002 年)。PDE 4 抑制劑治療潛在性之更新。Expert. Opin. Investig. Drugs 11 期, 1-13 頁。

EHINGER, A.M., GORR, G., HOPPMANN, J., TELSER, E., EHINGER, B. & KIETZMANN, M. (2000 年)。在免疫學炎症之模式中磷酸二酯酶 4 抑制劑 RPR 73401 的效果。Eur. J. Pharmacol. 392 期, 93-99 頁。

ENK, A.H. & KATZ, S.I. (1992 年)。接觸性敏化之誘發期中的先前分子現象。Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89 期, 1398-1402 頁。

EZEAMUZIE C.I. (2001 年)。使藉由磷酸二酯酶 IV 抑制劑以抑制人類嗜曙紅血球之脫粒作用的另外之腺苷酸環化酶活化之需求。Eur. J. Pharmacol. 417 期, 11-18 頁。

GAD, S.C., DUNN, B.J., DOBBS, D.W., REILLY, C. & WALSH, R.D. (1986 年)。另一皮膚敏化試驗之發展

(28)

與確認：老鼠耳朵腫脹試驗（MEST）。Toxicol. Appl. Pharmacol. 84 期,93－114 頁。

GANTNER, F., KUPFERSCHMIDT, R., SCHUDT, C., WENDEL, A. & HATZELMANN, A. （1997 年）。活體外人類單核細胞與巨噬細胞之區別：PDE 輪廓圖之變化及其與腫瘤壞死因子（由 PDE 抑制劑釋出）之抑制的關係。Br. J. Pharmacol. 121 期,221－231 頁。

GIEMBYCZ, M.A. （2000 年）。磷酸二酯酶 4 抑制劑及氣喘之治療：我們現今在何處及由此欲往何處？Drugs 59 期,193－212 頁。

GIEMBICZ, M.A. （2001 年）。西洛米樂司：用於氣喘及慢性阻塞性肺病之第二代磷酸二酯酶 4 抑制劑。Expert Opin. Investig. Drugs 10 期,1361－1379 頁。

GRISWOLD, D.E., WEBB, E.F., BADGER, A.M., GORYCKI, P.D., LEVANDOSKI, P.A., BARNETTE, M.A., GROUS, M., CHRISTENSEN, S. & TORPHY, T.J. （1998 年）。SB 207499（Ariflo）,第二代磷酸二酯酶 4 抑制劑,其在活體內可減低腫瘤壞死因子及間白素－4 之產生。J. Pharmacol. Exp. Therap. 287 期,705－711 頁。

HANIFIN, J.M., CHAN, S.C., CHENG, S.B., TOFTE, S.J., HENDERSON, W.R., KIRBY, D.S. & WEINER, E.S. （1996 年）。型態 4 磷酸二酯酶抑制劑在遺傳性過敏症皮膚炎中具有臨床上及活體外之抗炎效果。J. Invest. Dermatol. 107 期,51－56 頁。

(29)

HARVIMA, I.T., HORSMANHEIMO, L.,
NAUKKARINEN, A. & HORSMANHEIMO, M. (1994 年)
。皮膚炎症中之肥大細胞及細胞活素。Arch. Dermatol.
Res. 287 期, 61-67 頁。

HATZELMANN, A. & SCHUDT, C. (2001 年)。新
穎之 PDE 4 抑制劑 roflumilast 在活體外的抗炎及免疫調節
潛力。J. Pharmacol. Exp. Therap. 297 期, 267-279 頁。

HAYASHI, M., HIGASHI, K., KATO, H. & KANEKO,
H. (2001 年)。藉使用反轉錄聚合酶之鏈反應方法以低
分子量化合物誘發 Th1 或 Th2 的評估：兩個老鼠種類
, C57BL/6 及 Balb/c 之比較。Toxicol Appl. Pharmacol.
177 期, 38-45 頁。

HEER, S., KUESTERS, S. & SZELENYI, I. (1999 年)
。選擇性磷酸二酯酶 4 抑制劑 AWD 12-281 及糖皮質
激素對脂多糖 (LPS) - 誘發之 TNF (釋放於稀釋或未稀
釋之健康志願者血液中) 的活體外效果。N.-S. Archiv
Pharmacol. 359 期, (補增版 3 期), 327 頁。

HUEBER, F., SCHAEFER, H. & WEPIERRE, J. (1994 年)。在類固醇之 percutaneous 吸收中經表皮及經
濾泡途徑之作用：人類皮膚之活體外研究。Skin
Pharmacol. 7 期, 237-244 頁。

KAMBAYASHI, T., JAKOB, C.O., ZHOU, D.,
MAZUREK, N., FONG, M. & STRASSMANN, G. (1995 年)
。環狀核苷酸磷酸二酯酶型態 IV 參與了 IL-10 之調節

(30)

及隨後的 TNF 和 IL-6 (由受內毒素刺激之巨噬細胞所釋出) 的抑制。J. Immunol. 155 期, 4909-4916 頁。

KAROL, M.H., TOLLERUD, D.J., CAMPBELL, T.P., FABBRI, L., MAESTRELLI, P., SAETTA, M. & MAPP, C.E. (1994 年)。用以鑑別甲苯二異氰酸酯吸入性激發之回應形式的氣道過度反應及循環 IgE 之預測值。Am. J. Respir. Crit. Care Med. 149 期, 611-615 頁。

KONDO, S., PASTORE, S., SHIVJI, G.M., MCKENZIE, R.C. & SAUDER, D.N. (1994 年)。敏化時表皮之細胞活素輪廓圖的特性表示及過敏性接觸皮膚炎和刺激性接觸皮膚炎的誘發期。Lymphok. Cytok. Res. 13 期, 367-375 頁。

KUSS, H., HOEFGEN, N., EGERLAND, U., HEER, S., MARX, D., SZELENYI, I., SCHUPKE, A., GASPARIC, M., OLBRICH, M., HEMPEL, R., HARTENHAUER, H., KRONE, D., BERTHOLD, K., KRONBACH, T. & RUNDFELDT, C. (2002 年)。AWD 12-281。Drug Future 27 期, 111-116 頁。

MAESTRELLI, P., DI STEFANO, A., OCCARI, P., TURATO, G., MILANI, G., PIVIROTTI, F., MAPP, C.E., FABBRI, L.M. & SAETTA, M. (1995 年)。在患有甲苯二異氰酸酯誘發之氣喘的患者中其氣道黏膜內之細胞活素。Am. J. Respir. Crit. Care Med. 151 期, 607-612 頁。

MCKENZIE, R.C. & SAUDER, D.N. (1990 年)。角

(31)

化細胞之細胞活素在炎症及免疫中的角色。J. Invest. Dermatol. 95 期 (補增版), 105S-107S 頁。

SCHEERENS, H., BUCKLEY, T.L., MUIS, T.L., GARSSSEN, J., DORMANS, J., NIJKAMP, F.P. & VAN LOWEREN, H. (1999 年)。老鼠長期局部地曝露於甲苯二異氰酸酯中將導致抗體產生以及經鼻內激發後三小時會有活體內之氣道過度反應。Am. J. Respir. Crit. Care med. 159 期, 1074-1080 頁。

SCHMIDT, D.T., WATSON, N., DENT, G., RUEHLMANN, E., BRANSCHIED, D., MAGNUSSEN, H. & RABE, K.F. (2000 年)。在被動敏化之人類氣道中選擇性及非選擇性磷酸二酯酶抑制劑對過敏原-及白細胞三烯-誘發之收縮的效果。Br. J. Pharmacol. 131 期, 1607-1618 頁。

SIKORSKI, E.E., GERBERICK, G.F., LIMARDI, L.C. (1997 年)。於活體內皮膚模式中接續塗敷接觸性過敏原及皮膚刺激物時表皮中細胞活素信習之評估。J. Invest. Dermatol. 108 期, 662 頁。

SPERGEL, J.M., MIZOGUSCHI, E., OETTGEN, H., BHAN, A.K. & GEHA, R.S. (1999 年)。在鼠科動物皮膚炎模式中 TH1 及 TH2 細胞活素之作用。J. Clin. Invest. 103 期, 1103-1111 頁。

TOFOVIC, S.P., ZACCHARIA, L.C., CARCILLO, J.A. & JACKSON, E.K. (2000 年)。在活體內之早期深刻性內血毒症中型態 IV 磷酸二酯酶抑制劑的強心效果及對釋

(32)

出之細胞活素的抑制作用。Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 27 期, 787-792 頁。

TOMINAGA, M., KOHNO, S., TANAKA, K. & OHATA, K. (1985 年)。有關甲苯二異氰酸酯 (TDI) - 誘發之延遲型態敏感過度的研究。Jpn. J. Pharmacol. 39 期, 163-171 頁。

VERGHESE, M.W., MCCONNELL, R.T., STRICKLAND, A.B., GOODING, R.C., STIMPSON, S.A., YARNALL, D.P., TAYLOR, J.D. & FURDON, P.J. (1955 年)。經由型態 IV 之 cAMP-磷酸二酯酶 (cAMP-PDE) 抑制劑對人類單核細胞-衍生之 TNF (及 IL-1 (的分化調節。J. Pharmacol. Exp. Ther. 272 期, 1310-1320 頁。

【圖式簡單說明】

圖 1：藉使用 "Franz" 擴散細胞及鼠科動物背部皮膚來測量 ^{14}C AWD 12-281 之皮膚滲透性。

圖 2：在 TDI-激發前 2 小時，單獨地將 AWD 12-281、西洛米樂司 (cilomilast)、雙氟拉松局部塗敷於將受 TDI 敏化之老鼠耳朵上的效果。

圖 3：在 TDI-激發後 1 小時 (治療干擾)，單獨地將 AWD 12-281、西洛米樂司 (cilomilast)、雙氟拉松局部塗敷於受 TDI 敏化之老鼠耳朵上的效果。

圖 4：在以長期 (120 天) 重複曝露之敏化範例的

(33)

TDI 敏化之老鼠中，AWD 12-281 對 TDI 誘發之耳朵腫脹的效果。

圖 5：在 TDI 激發後 24 小時，於均質化老鼠耳朵中之間白素 4（A）、間白素 6（B）及巨噬細胞炎性蛋白質 2（C）的濃度。

圖 6：在老鼠中，PDE 4 抑制劑對 TDI 誘發之耳朵腫脹的效果。

伍、中文發明摘要

發明之名稱：皮膚疾病之外用療法

本發明係關於一種供治療炎性及/或過敏性皮膚疾病的方法，彼包括外用投藥一經經基取代之吲哚。

陸、英文發明摘要

發明之名稱：

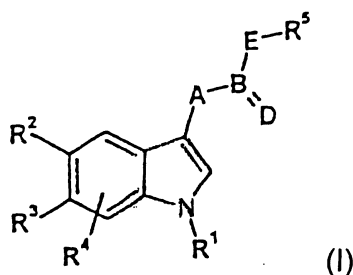
Topical treatment of skin diseases

The present invention relates to a method for the treatment of an inflammatory and/or allergic skin disease comprising topically administering a substituted hydroxy indol.

(1)

拾、申請專利範圍

1. 一種可經由外用投藥以治療皮膚疾病之藥學組成物，彼包含一治療上有效量的化學式 (I) 之化合物或彼之藥理學上可接受鹽：



其中

R^1 表示

(i) 直鏈或支鏈之 $-C_{1-12}$ 烷基或是單一或多不飽和之 $-C_2-C_{12}$ 烯基，

可選擇地可經如下之基單一或多取代： $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-HN_2$ 、 $-NHC_{1-6}$ 烷基、 $-N(C_{1-6} \text{ 烷基})_2$ 、 $-NHC_{6-14}$ 芳基、 $-N(C_{6-14} \text{ 芳基})_2$ 、 $-N(C_{1-6} \text{ 烷基})(C_{6-14} \text{ 芳基})$ 、 $-NHCOR^6$ 、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $-F$ 、 $-Cl$ 、 $-Br$ 、 $-I$ 、 $-O-C_{1-6}$ 烷基、 $-O-C_{6-14}$ 芳基、 $-O(CO)R^6$ 、 $-S-C_{1-6}$ 烷基、 $-S-C_{6-14}$ 芳基、 $-SOR^6$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_2R^6$ 、 $-OSO_2C_{1-6}$ 烷基、 $-OSO_2C_{6-14}$ 芳基、 $-(CS)R^6$ 、 $-COOH$ 、 $-(CO)R^6$ 、具有 3-14 環員之單一、二-或三環狀飽和或單一或多不飽和之碳環、具有 5-15 環員及 1-6 個雜原子（且較佳地為 N、O 及 S）之單一、二-或三環狀飽和或單一或多不飽和之雜環，其中 C_{6-14} 芳基及碳環及雜環取代基之彼等部份可選擇地經 R^4 單一或多取代，

(2)

(ii) 具有 3-14 環員之單一、二-或三環狀飽和或單一或多不飽和之碳環，或具有 5-15 環員及 1-6 個雜原子（且較佳地為 N、O 及 S）之單一、二-或三環狀飽和或單一或多不飽和之雜環，或者是具有 3-10 環員之碳環狀或雜環狀飽和或單一或多不飽和之螺環，其中雜環狀系統含有 1-6 個雜原子，且較佳地是 N、O 及 S，

可選擇地可經如下之基單一或多取代：-OH、-SH、-HN₂、-NHC₁₋₆ 烷基、-N(C₁₋₆ 烷基)₂、-NHC₆₋₁₄ 芳基、-N(C₆₋₁₄ 芳基)₂、-N(C₁₋₆ 烷基)(C₆₋₁₄ 芳基)、-NHCOR⁶、-NO₂、-CN、-F、-Cl、-Br、-I、-O-C₁₋₆ 烷基、-O-C₆₋₁₄ 芳基、-O(CO)R⁶、-S-C₁₋₆ 烷基、-S-C₆₋₁₄ 芳基、-SOR⁶、-SO₃H、-SO₂R⁶、-OSO₂C₁₋₆ 烷基、-OSO₂C₆₋₁₄ 芳基、-(CS)R⁶、-COOH、-(CO)R⁶、具有 3-14 環員之單一、二-或三環狀飽和或單一或多不飽和之碳環、具有 5-15 環員及 1-6 個雜原子（且較佳地為 N、O 及 S）之單一、二-或三環狀飽和或單一或多不飽和之雜環，其中 C₆₋₁₄ 芳基及碳環以及雜環取代基可選擇地經 R⁴ 單一或多取代，

R⁵ 表示

具有 3-14 環員之單一、二-或三環狀飽和或單一或多不飽和之碳環或是具有 5-15 環員及 1-6 個雜原子（且較佳地為 N、O 及 S）之單一、二-或三環狀飽和或單一或多不飽和之雜環，或具有 3-10 環員之碳環狀或雜環

(3)

狀飽和或單一或多不飽和之螺環，其中雜環狀系統含有 1—6 個雜原子，且較佳地是 N、O 及 S，

可選擇地可經如下之基單一或多取代：—OH、—SH、—HN₂、—NHC₁₋₆ 烷基、—N(C₁₋₆ 烷基)₂、—NHC₆₋₁₄ 芳基、—N(C₆₋₁₄ 芳基)₂、—N(C₁₋₆ 烷基)(C₆₋₁₄ 芳基)、—NHCOR⁶、—NO₂、—CN、—F、—Cl、—Br、—I、—O—C₁₋₆ 烷基、—O—C₆₋₁₄ 芳基、—O(CO)R⁶、—S—C₁₋₆ 烷基、—S—C₆₋₁₄ 芳基、—SOR⁶、—SO₃H、—SO₂R⁶、—OSO₂C₁₋₆ 烷基、—OSO₂C₆₋₁₄ 芳基、—(CS)R⁶、—COOH、—(CO)R⁶、具有 3—14 環員之單一、二—或三環狀飽和或單一或多不飽和之碳環、具有 5—15 環員及 1—6 個雜原子（且較佳地為 N、O 及 S）之單一、二—或三環狀飽和或單一或多不飽和之雜環，其中 C₆₋₁₄ 芳基及碳環以及雜環取代基可選擇地經 R⁴ 單一或多取代，但附帶條件是 R⁵ 含有至少一個選自 —F、—Cl、—Br、—I 之取代基；

R²、R³ 表示氫或 —OH，其中二者取代基中之一個必須為 —OH；

R⁴ 表示

—H、—OH、—SH、—HN₂、—NHC₁₋₆ 烷基、—N(C₁₋₆ 烷基)₂、—NHC₆₋₁₄ 芳基、—N(C₆₋₁₄ 芳基)₂、—N(C₁₋₆ 烷基)(C₆₋₁₄ 芳基)、—NHCOR⁶、—NO₂、—CN、—COOH、—(CO)R⁶、—(CS)R⁶、—F、—Cl、—Br、—I、—O—C₁₋₆ 烷基、—O—C₆₋₁₄ 芳

(4)

基、 $-\text{O}(\text{CO})\text{R}^6$ 、 $-\text{S}-\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $-\text{S}-\text{C}_{6-14}$ 芳基、 $-\text{SOR}^6$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}^6$ 、 $-\text{C}_1-\text{C}_6$ 烷基，其中每一芳基或烷基可經 $-\text{OH}$ 、 $-\text{F}$ 、 $-\text{Cl}$ 、 $-\text{Br}$ 、 $-\text{I}$ 單一或多取代；

R^6 表示

$-\text{H}$ 、 $-\text{HN}_2$ 、 $-\text{NHC}_{1-6}$ 烷基、 $-\text{N}(\text{C}_{1-6} \text{ 烷基})_2$ 、 $-\text{NHC}_{6-14}$ 芳基、 $-\text{N}(\text{C}_{6-14} \text{ 芳基})_2$ 、 $-\text{N}(\text{C}_{1-6} \text{ 烷基})(\text{C}_{6-14} \text{ 芳基})$ 、 $-\text{O}-\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $-\text{O}-\text{C}_{6-14}$ 芳基、 $-\text{S}-\text{C}_{1-6}$ 烷基、 $-\text{S}-\text{C}_{6-14}$ 芳基、

直鏈或支鏈之 $-\text{C}_{1-12}$ 烷基，

單一或多不飽和之直鏈或支鏈 $-\text{C}_{2-12}$ 烯基，

具有 3-14 環員之單一、二-或三環狀飽和或單一或多不飽和之碳環，

具有 5-15 環員及 1-6 個雜原子（且較佳地為 N、O 及 S）之單一、二-或三環狀飽和或單一或多不飽和之雜環；

A 表示一個鍵，或

$-(\text{CH}_2)_m-$ 、 $-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}=\text{CH})_n-(\text{CH}_2)_p-$ 、 $-(\text{CHOZ})_m-$ 、 $-(\text{C}=\text{O})-$ 、 $-(\text{C}=\text{S})-$ 、 $-(\text{C}=\text{N}-\text{Z})-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{NZ}-$ ，

其中 m 、 $p=0-3$ 而 $n=0-2$ ，以及

Z 表示

$-\text{H}$ ，或

直鏈或支鏈之 $-\text{C}_{1-12}$ 烷基，

(5)

單－或多不飽和之直鏈或支鏈－ C_{2-12} 烯基，

具有 3－14 環員之單－、二－或三環狀飽和或單－或多不飽和之碳環，

具有 5－15 環員及 1－6 個雜原子（且較佳地為 N、O 及 S）之單－、二－或三環狀飽和或單－或多不飽和之雜環；

B 表示碳或硫，或是－（S=O）－；

D 表示氧、硫、 CH_2 或 N－Z，

其中，若 B 表示碳時，則 D 為 S 或 CH_2 ；

E 表示一個鍵，或

－（ CH_2 ） $_m$ －、－O－、－S－、－（N－Z）－，

其中 m 及 Z 具有如上所定義。

2. 如申請專利範圍第 1 項之藥學組成物，其中 R^5 係選自具有至少一個鹵素取代基之單環狀飽和或單－或多不飽和之碳環及雜環。

3. 如申請專利範圍第 2 項之藥學組成物，其中 R^5 係選自具有至少一個鹵素取代基之單環狀芳族碳環及雜環。

4. 如申請專利範圍第 3 項之藥學組成物，其中 R^5 係具有至少一個鹵素取代基之吡啶環。

5. 如申請專利範圍第 3 項之藥學組成物，其中 R^5 係具有至少一個鹵素取代基之苯環。

6. 如申請專利範圍第 1 項之藥學組成物，其中 R^1 係選自 $C_1 - C_{12}$ 烷基，其可選擇地經取代。

7. 如申請專利範圍第 1 項之藥學組成物，其中 R^1 係

(6)

選自單環狀飽和或單一或多不飽和之碳環或雜環，其可選擇地經取代。

8. 如申請專利範圍第 1 項之藥學組成物，其中 R^2 表示 OH，而 R^3 表示 H。

9. 如申請專利範圍第 1 項之藥學組成物，其中 A 係選自 $-(C=O)-$ 及 $-(CHOH)-$ 。

10. 如申請專利範圍第 1 項之藥學組成物，其中 B 表示 C。

11. 如申請專利範圍第 1 項之藥學組成物，其中 D 表示 O。

12. 如申請專利範圍第 1 項之藥學組成物，其中 E 表示 $-(N-H)-$ 。

13. 如申請專利範圍第 1 項之藥學組成物，其中該化合物 (I) 係 $N-(3,5-二氯基-4-吡啶基)-2-[1-(4-氟苄基)-5-羥基-1H-吡啶-3-基]-2-氧代乙醯胺$ 。

14. 如申請專利範圍第 1-13 項中任一項之藥學組成物，其中皮膚疾病係指為過敏性及/或炎性疾病。

15. 如申請專利範圍第 14 項之藥學組成物，其中該過敏性疾病是過敏性皮膚炎。

16. 如申請專利範圍第 1-13 項中任一項之藥學組成物，彼可投藥予受疾病所苦之皮膚面積。

17. 如申請專利範圍第 16 項之藥學組成物，彼可在過敏性激發後投藥。

(7)

18. 如申請專利範圍第 17 項之藥學組成物，彼可在過敏性激發後 18 小時之久才投藥。

19. 如申請專利範圍第 1－13 項中任一項之藥學組成物，彼可進一步包含至少一個另外之藥學試劑。

20. 如申請專利範圍第 19 項之藥學組成物，其中該另外之藥學試劑係一可刺激 cAMP 產生之藥物。

21. 如申請專利範圍第 20 項之藥學組成物，其中該另外之藥學試劑係皮質類固醇。

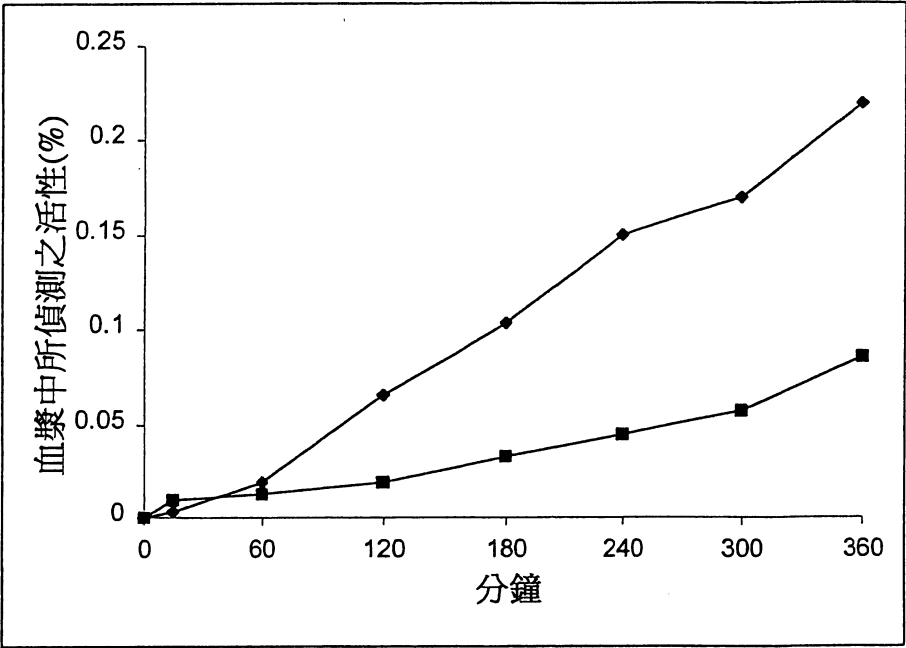


圖 1

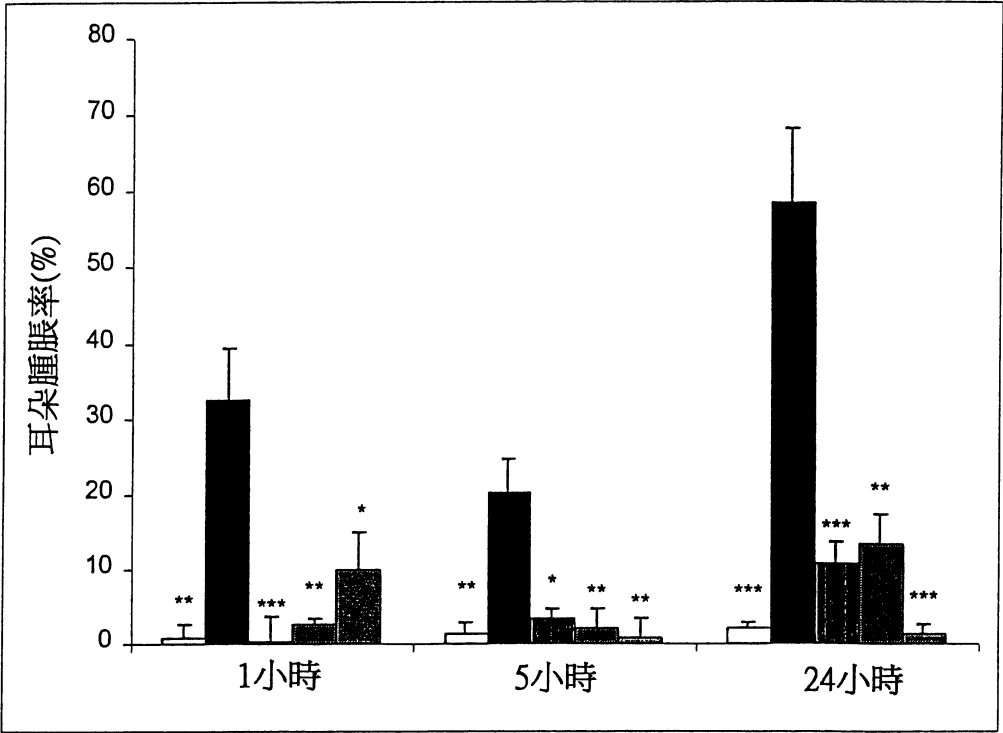


圖2

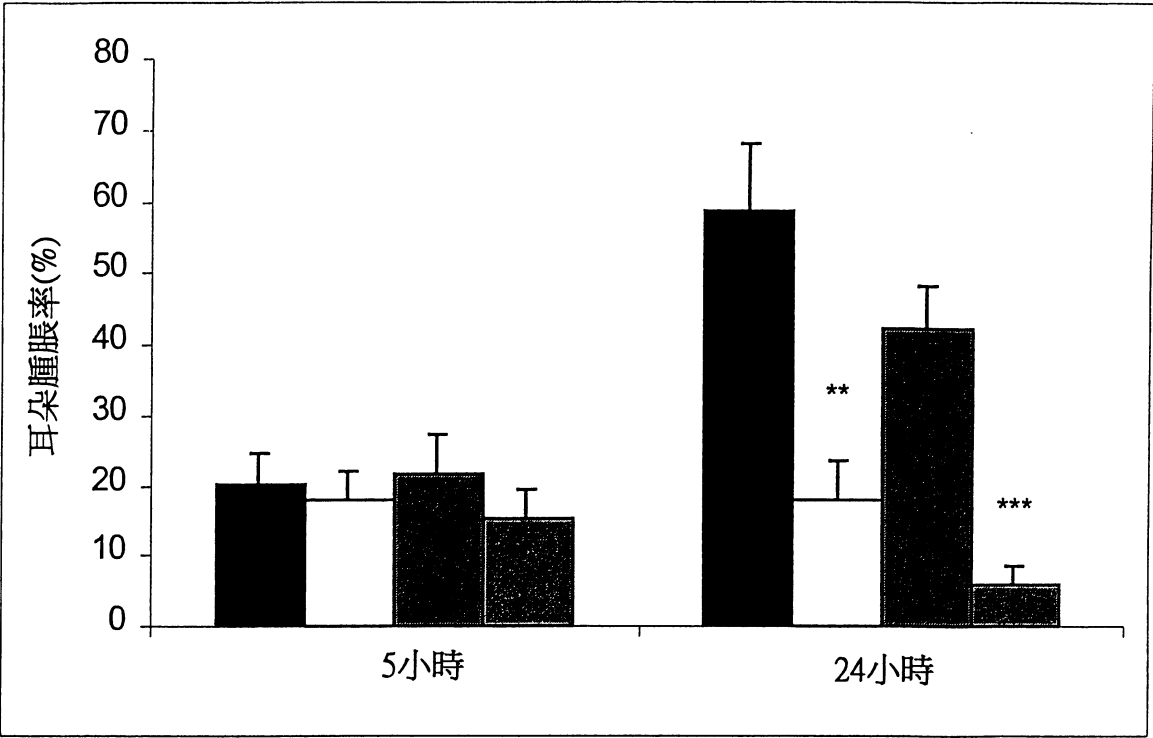


圖 3

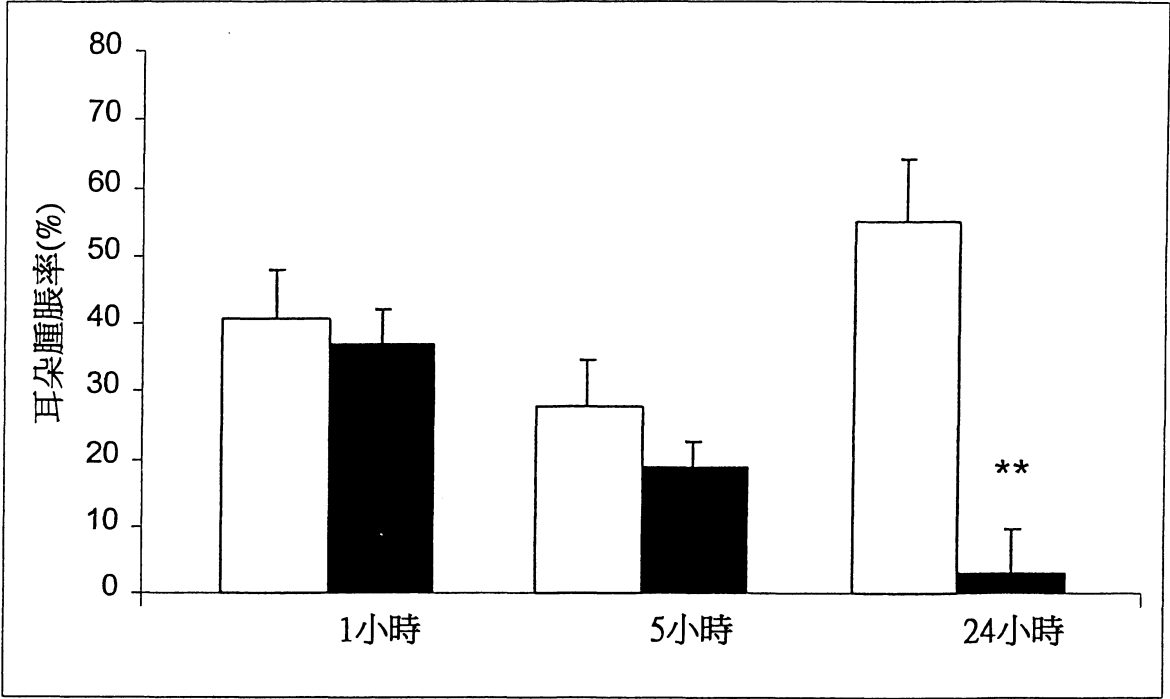


圖 4

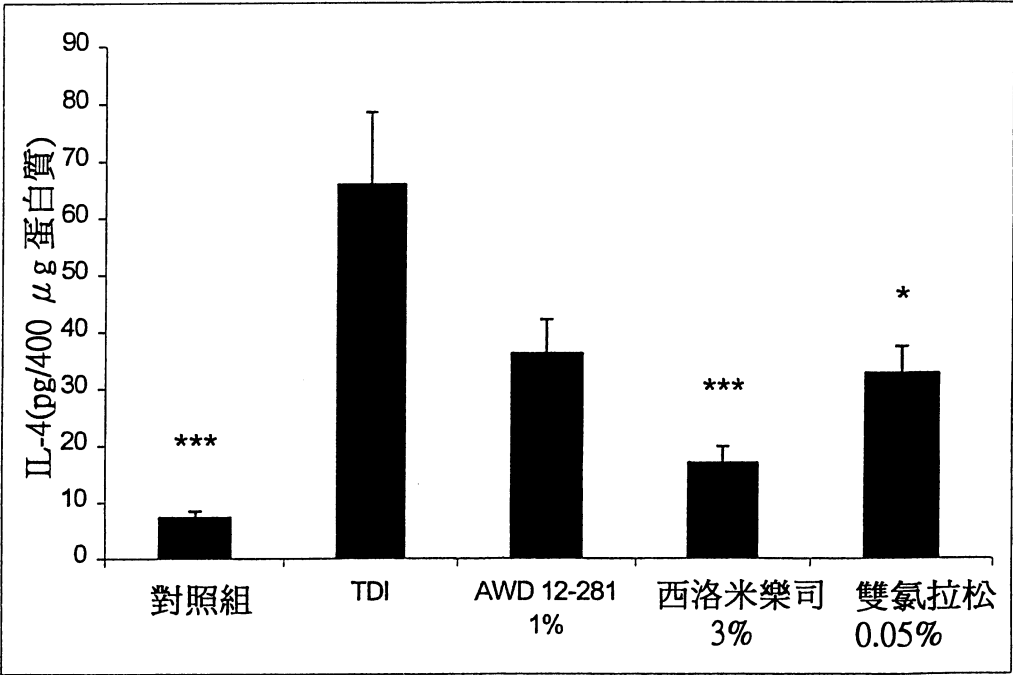


圖 5a

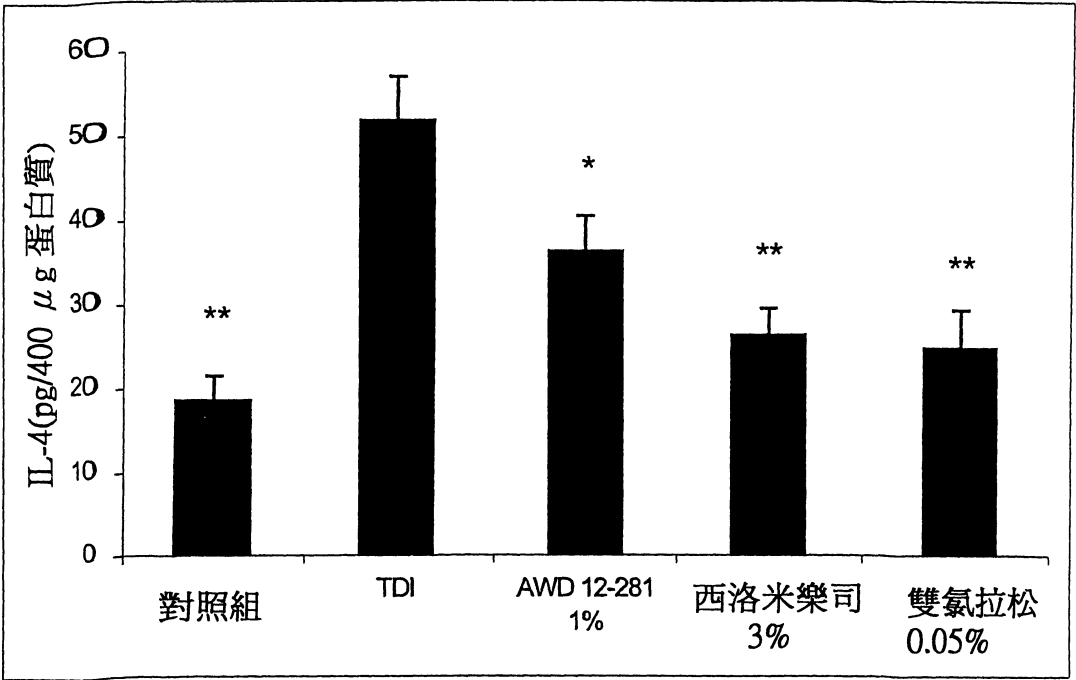


圖5b

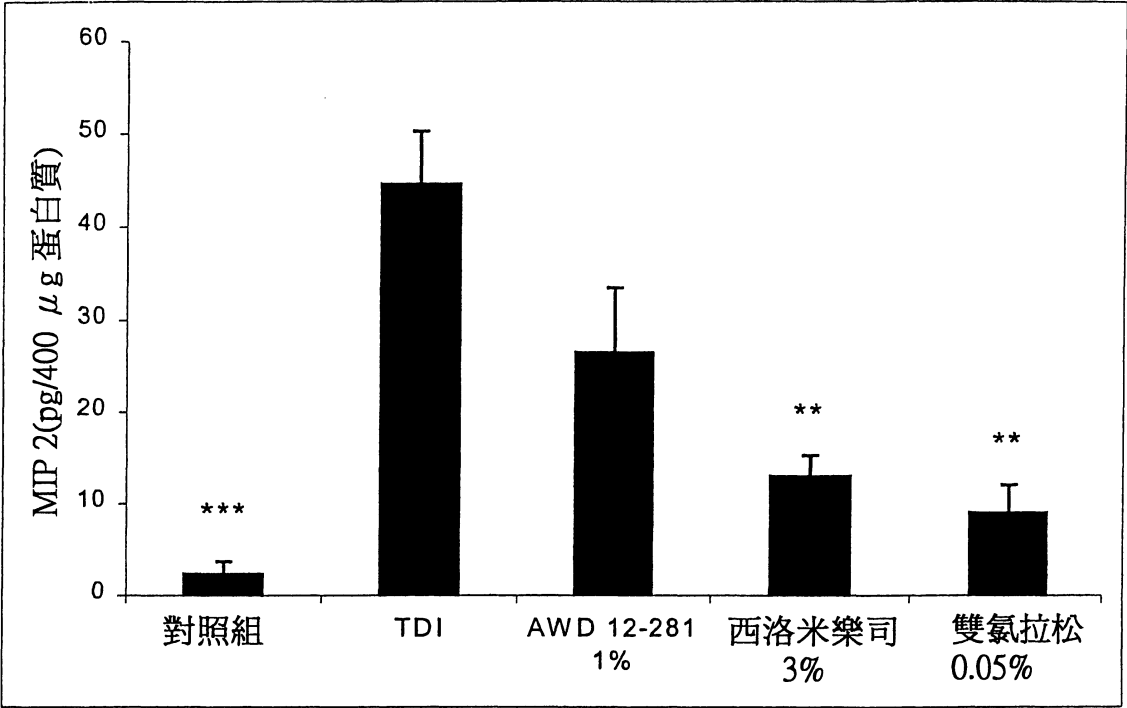


圖5c

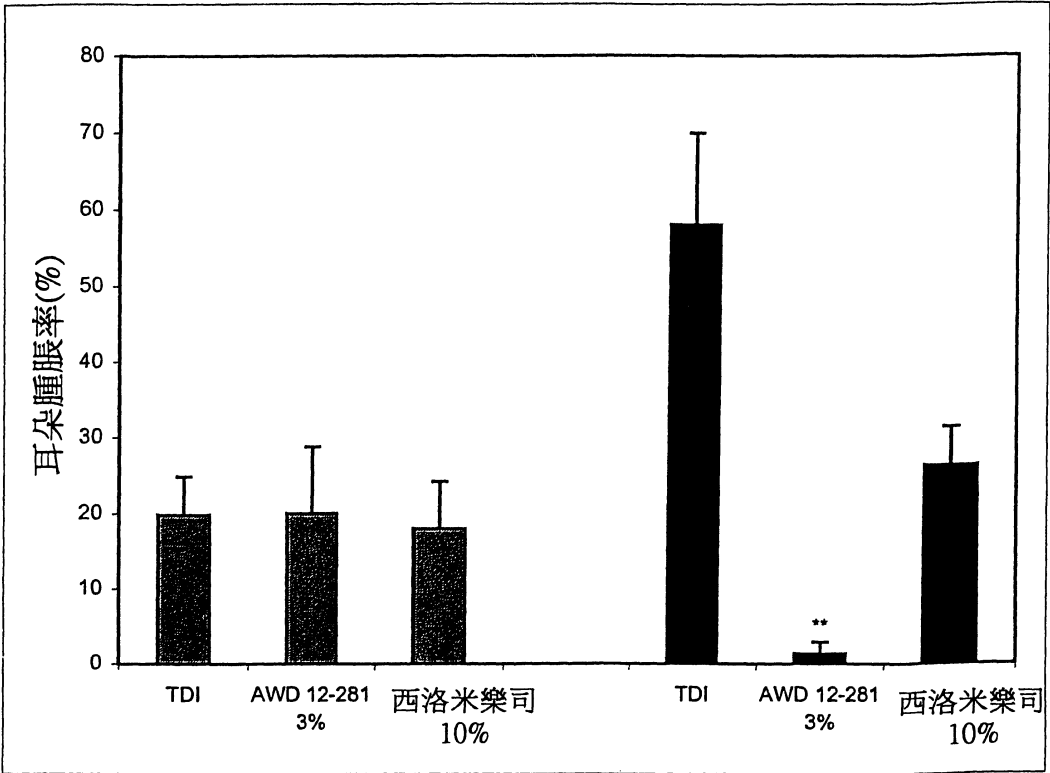


圖 6

柒、指定代表圖：

(一)、本案指定代表圖為：第 1 圖

(二)、本代表圖之元件代表符號簡單說明： 無

捌、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

