

205542

公告本

申請日期	80年 9月17日
案 號	80107366
類 別	CO7D405/06, 407/06, 213/50 A61K31/44

A4

C4

(以上各欄由本局填註)

發明
新型 專利說明書

一、發明名稱	中 文	鈣攝入抑制劑
	英 文	Calcium uptake inhibitors
二、發明人	姓 名	1. 羅勃特·岱納司坦 Dinerstein Robert Joseph 2. 米歇爾·愛德華 Edwards Michael L. 3. 戴維·斯堤米瑞可 Stemerick David M. 4. 凱西·狄克馬 Diekema Keith Allen
	籍 貫 (國籍)	美國
	住、居所	1. 美國俄亥俄州辛辛那提市·康寇坡地7801號 7801 Concord Hills Place, Cincinnati, OH 45243, USA 2. 美國俄亥俄州辛辛那提市鹿角道12033號 12033 Deerhorn Drive, Cincinnati, OH 45240 USA 3. 美國俄亥俄州·扉爾園卡白廣場5598號 5598 Carlsbad Court, Fairfield, OH 45014, USA 4. 美國俄亥俄州·西契斯特席斯特林道7994號 7994 Thistlewood Drive, West Chester, OH 45069, USA
	住、居所	
三、申請人	姓 名 (名稱)	麥樂陶氏製藥股份有限公司 Merrell Dow Pharmaceuticals Inc.
	籍 貫 (國籍)	美國
	住、居所 (事務所)	美國俄亥俄州45215辛辛那提蓋布瑞斯東路 2110號 2110 E. Galbraith Road, Cincinnati OH 45215 U.S.A.
	代表人 姓 名	賈瑞·迪·史屈瑞特 Street Gary D.

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

裝

訂

線

五、發明說明 (1)

本發明之範疇

本發明係關於 1 - 芳基 - 3 - 吡啶基 - 2 - 丙烯 - 1 - 酮，這些化合物在作為白血球及血小板中鈣攝入抑制劑方面之用途，及含彼些作為有效成分之化合物之藥學組成物，以及彼之製法。

背 景

多形核白血球（白血球）乃提供主要之防禦媒介以對抗微生物之感染。此侵襲微生物之反應將使細胞氧化過程（產生羥基團）及非氧化過程（消化性酵素；脊髓過氧化酶，彈力酶等）活化而能有效地殺死微生物。然而，白血球對外來挑戰之反應亦能使宿主組織破壞，且在許多非感染性疾病之發病上佔有重要之位置。

白血球具有多種不同之機轉使彼能由細胞表面接受體起始以因應外來之挑戰。接受體活化作用或一般之細胞活化作用將改變細胞之生理機能，因而使細胞本身“活化”，細胞內之發起活化作用訊號之分子通常稱為第二信使，第一信使則為細胞外之活化配位基本身。

許多細胞中之一種主要第二信使為鈣離子 (Ca^{+2})。有兩種一般之路徑可使細胞表面之接受體得知要產生細胞內之鈣訊號。一種係使磷脂酶 C 活化。此酵素可產生肌醇三磷酸酯，彼可繼而釋出細胞內所貯存之鈣，此外，細胞接受體可開啓或關閉限制出入之離子管道，因而使鈣由細胞外側進入。漿膜內之 Ca^{+2} 管道乃更進一步區分成兩

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝 訂 線

五、發明說明 (2)

種形式：(1) 電壓敏感性鈣管道，當離子之小量且短暫之流動使橫跨漿膜之電壓略微改變時將予以活化，或(2) 接受體操作性管道，彼乃藉由接受體配位基而直接開啓，第一種型式之管道主要係於電壓敏感性細胞諸如神經元及肌細胞中運作。而許多細胞(如白血球)主要並非電壓敏感性細胞，但具有細胞表面接受體而能有效地結合至漿膜內之接受體敏感性 Ca^{+2} 管道上。某些配位基之結合作用可使這些接受體活化，因而使管道開啓並令 Ca^{+2} 通過細胞溶質內，彼乃有效以作為第二信使。

當細胞活化時(相當於 Ca^{+2} 之流入)，則細胞內可與 Ca^{+2} 結合之結構將依彼等之相對親合力及對鈣之專一性而回應此變化。有一些 Ca^{+2} 依賴性蛋白質係為已知。第一種被發現且予持性化之此蛋白質為於電活性骨骼肌細胞內所發現之向寧蛋白 C，稍後所發現之鈣結合性蛋白質為在電壓及接受體敏感性細胞內均遍布之鈣調節素。在漸增數之細胞蛋白質中，已知被鈣調節素以 Ca^{+2} 依賴性方法所調節者為某些形式之環狀核苷酸磷酸二脂酶及腺苷酸環酶，以及膜結合式鈣依賴性腺嘌呤核苷三磷酸酶，磷酸化激酶，肌凝蛋白輕鏈激酶，以及彼等與核分裂裝置之軸及與肌動蛋白纖維束之聯合。雖然彼些鈣依賴性或被 Ca^{+2} 依賴性酶所影響之蛋白質總數並未知，然而鈣明顯地是使這些過程活化之必要媒介。

當白血球活化時，有許多重要事情可發生而導致細胞內之鈣促成性疾病。例如，白血球(尤其是嗜中性白血球

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

· · · · · 裝 · · · · · 訂 · · · · · 線 · · · · ·

五、發明說明 (3)

) 乃被視為在宿主之下列疾病之症狀及組織損傷上扮演不可缺之角色：痛風，類風濕性關節炎，免疫脈管炎，血管球性腎炎，炎性腸病，成人呼叫痛苦症候群，氣腫，氣喘，與溶血有關之熱損傷，及慢性炎症位置上之惡性腫瘤 (Malech及Gallin; 1987)。因此吾人期望抑制白血球內之 Ca^{+2} 攝入以減輕或緩解這些與鈣之攝入有關之免疫及炎性疾病之進行。

白血球內之 Ca^{+2} 攝入以及免疫及炎症疾病之改善亦可擴展到彼些與皮膚及真皮組織有關之疾病。彼些局部相關之炎性疾病包括與皮膚及真皮有關者，例如嗜中性皮膚病，慢性皮膚病，牛皮癬，接觸性皮膚炎，異位性及脂漏性皮膚炎，及痤瘡。

鈣亦為血小板內之重要介體，吾人已詳知 Ca^{+2} 為血液凝固之內部路徑中之必要介體。例如，在凝血過程及血栓形成中必需使用 Ca^{+2} 係已詳知，如果將螯合劑諸如 EDTA，檸檬酸鹽或草酸鹽加入以與鈣結合，則這些過程可於試管試驗中被抑制，及於活體試驗中受到某種程度之抑制。吾人已知 Ca^{+2} 在溶解纖維蛋白之階式過程中扮演不可缺之角色，且其係為活性機轉使得溶解纖維蛋白之反應可被治療性地調節。

血小板之一主要功能係在血管受傷之部位發生，彼乃於受傷處形成血凝塊以使傷口閉合，此反應亦具有許多不利之副作用，例如在缺血性再灌流期間，血栓之形成可引起動脈之閉合到達導致心肌梗塞之程度。因此在許多事例

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝
訂
線

五、發明說明 (4)

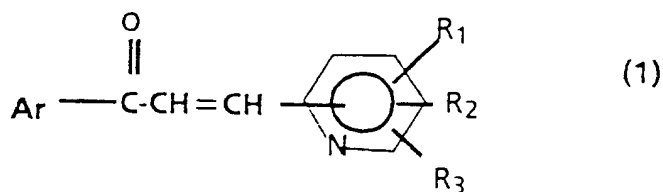
中均期望抑制血小板內 Ca^{+2} 之攝入以控制溶解血栓之反應。

Ca^{+2} 進入細胞溶質內之作用 (藉由各種不同形式之接受體促成性活化作用或藉由細胞內儲存品之釋出而完成) 乃嚴格地連結在某些白血球活化作用及血小板集結作用之細胞事例中。改善 Ca^{+2} 流動路徑將可提供調節白血球及血小板反應之機轉。因此, 抑制 Ca^{+2} 流動之化合物可予期望能降低與白血球活化作用有關之 Ca^{+2} 依賴性疾病過程, 抑制免疫及炎性疾病, 以及解決某些血栓溶解狀況中涉及血小板集結作用之問題。

本發明之略要說明

本發明係關於新穎之 1 - 芳基 - 3 - 芳基 - 2 - 丙烯 - 1 - 酮衍生物, 其乃有用以作為與急性及慢性發炎及免疫疾病 (包括皮膚及真皮組織之相關疾病) 有關之白血球內之鈣攝入抑制劑。最後, 本發明亦關於使用 1 - 芳基 - 3 - 吡啶 - 2 - 丙烯 - 1 - 酮衍生物以治療心臟血管系統之鈣依賴過程包括血栓溶解系統疾病上之用途。

本發明係關於式 (1) 化合物:



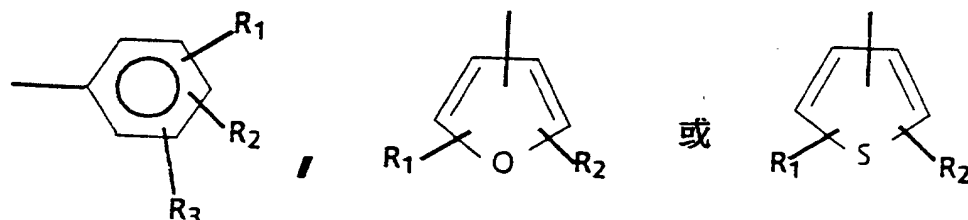
(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝 訂 線

五、發明說明 (5)

其中

A r 為下式之基團：



其中

R₁ , R₂ 及 R₃ 乃各自為氫；鹵素；C₁ - C₆ 烷基；C₁ - C₆ 烷氧基；C₁ - C₆ 烷基硫；或 - N (Y₁) (Y₂) , 其中 Y₁ 及 Y₂ 乃各自為氫或 C₁ - C₆ 烷基；或 X₂ - (A r) - (CH₂)_n - O - , 其中 A r 為苯基或苯基，n = 0 或 1 , X = C₁ - C₆ 烷氧基或 - N (Y₁) (Y₂) , 其中 Y₁ 及 Y₂ 乃如前所述，且 Z = 0 , 1 , 2 ; 或

其製藥上可接受性鹽。

本發明亦提供抑制需此治療之病患之鈣攝入之方法，其包括施用有效治療抑制量之式 (1) 化合物。

本發明之詳細說明

本文所謂 "C₁ - C₆ 烷基" 係指具一至六個碳原子之飽和直或支鏈烴基團。在此範圍內之實例包括甲基，乙基，正丙基，異丙基，正丁基，異丁基，另丁基，特丁基，正戊基，正己基等。所謂 "C₁ - C₆ 烷氧基" 係指甲氧基，乙氧基，丙氧基等。所謂 "C₁ - C₆ 烷基硫" 係

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

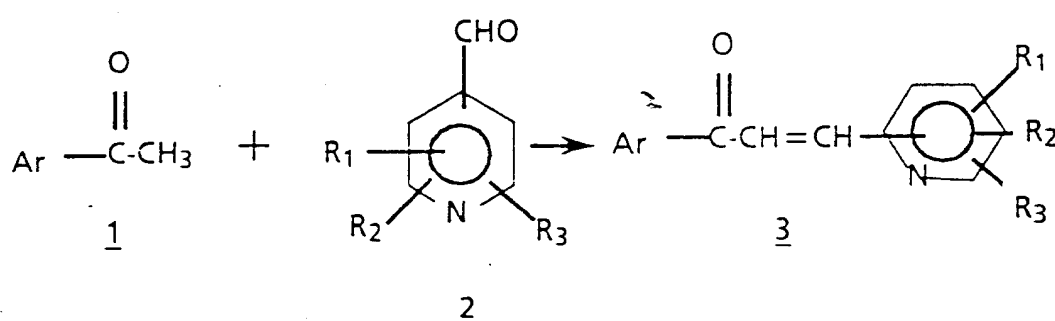
裝·····訂·····線

五、發明說明 (6)

指甲基硫，乙基硫等。當然，所謂 $X_z - (Ar) - (CH_2)_n - O -$ 尤其亦包括苄氧基，(4-甲氧基)苄氧基，(4-二甲胺基)苄氧基等。所謂“鹵素”係指氟，氯，溴或碘原子。

式(1)化合物可藉使用熟知技藝者已詳知之步驟及技術而製得。供製備式(1)化合物之一般合成程序乃示於圖表A中，除非另有說明，否則所有取代基均如前所述。

圖表 A



通常，結構3之1-芳基-3-吡啶基-2-丙烯-1-酮化合物可藉將結構1之適當鹼與結構2之適當吡啶羧醛縮合而製得。例如，結構3之1-芳基-3-吡啶基-2-丙烯-1-酮化合物可藉將結構1之適當酮與結構2之適當吡啶-羧醛於乙酸鈷(II)及2,2'-聯吡啶之存在下，於適當極性，質子惰性溶劑諸如二甲替甲醯胺中進行縮合而製得。此外，偶合作用可於乙酸吡啶之存在下，於適當極性溶劑諸如乙醇中進行。

供圖表A所示之一般合成步驟所用之初始物質可由熟

五、發明說明(8)

令無水乙酸鈷(II) (700 mg, 4 mmol) 溶於二甲替甲醯胺中。再將2, 2'-聯吡啶 (620 mg, 4 mmol) 加入並予攪拌30分鐘。繼而加入3-(三氟甲基)乙醯苯 (9.4 g, 50 mmol) 及4-吡啶羧醛 (5.3 g, 50 mmol) 再於80℃下加熱18小時。而後將溶劑蒸發, 再將徐留物藉硅膠色層分離法 (1:1 甲苯/乙酸乙酯) 予以純化。而予以再結晶 (乙酸乙酯/己烷), 即得標題化合物; mp 89-90℃。

$C_{15}H_{10}F_3NO$ 之理論分析值: C, 64.98; H, 3.64; N, 5.05

實測值: C, 64.90; H, 3.64; N, 4.92

實例 3

1-(4-二甲胺基苯基)-3-(4-吡啶基)-2-丙烯-1-酮

將無水乙酸鈷(II) (3.5 mg, 20 mmol) 置於乾燒瓶中。再令之溶於二甲替甲醯胺 (500 ml) 中, 並加入2, 2'-聯吡啶 (3 g, 20 mmol), 再予攪拌30分鐘。繼而加入4-(二甲胺基)-乙醯苯 (50 g, 306 mmol), 及4-吡啶羧醛 (25 g, 230 mmol), 再於85℃下加熱20小時。而後將溶劑蒸發, 再將徐留物藉硅膠色層分離法 (2:1 甲苯/乙酸乙酯) 予以純化。而予以再結晶 (乙醚/二氯甲烷), 即得1.8 g 標題化合物; mp 150-151℃。

$C_{16}H_{16}N_2O$ 之理論分析值: C, 76.16; H, 6.39; N, 11.10

實測值: C, 76.45; H, 6.45; N, 11.08

五、發明說明(9)

實例 41-(2-呋喃基)-3-(4-吡啶基)-2-丙烯-1-酮

令無水乙酸鈷(II) (700 mg, 4 mmol) 溶於二甲替甲醯胺 (150 ml) 中。再將 2,2'-聯吡啶 (600 mg, 4 mmol) 加入並予攪拌 30 分鐘。繼而加入 4-吡啶羧酸 (5 g, 50 mmol) 及 2-乙醯基呋喃 (5.5 g, 50 mmol)。再於 80℃ 下加熱 18 小時。而後將溶劑蒸發，再將徐留物藉硅膠色層分離法 (1:1 甲苯/乙酸乙酯) 予以純化，即得 30 mg 標題化合物；mp 122-124℃。

C₁₂H₉N₂O₂之理論分析值：C, 72.35；H, 4.55；N, 7.03

實測值：C, 72.20；H, 4.46；N, 6.67

實例 51-(噻吩-2-基)-3-(4-吡啶基)-2-丙烯-1-酮

令無水乙酸鈷(II) (700 mg, 4 mmol) 溶於二甲替甲醯胺 (100 ml) 中。再將 2,2'-聯吡啶 (600 mg, 4 mmol) 加入並予攪拌 30 分鐘。而後加入 2-乙醯基噻吩 (6.3 g, 50 mmol) 及 4-吡啶羧酸 (5 g, 50 mmol)，再於 80℃ 下加熱 18 小時。而後將溶劑蒸發，再將徐留物藉硅膠色層分離法 (1:1 甲苯/乙酸乙酯) 予以純化。繼而予以再結晶 (乙醚/己烷)，即得 120 mg 標題化合物；mp 150.5-152℃。

C₁₂H₉N₂O₂S之理論分析值：C, 66.95；H, 4.21；N, 6.51

實測值：C, 67.04；H, 4.32；N, 6.41

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 (10)

實例 6

1 - (3, 4, 5 - 三甲氧基苯基) - 3 - (3 - 吡啶基)
- 2 - 丙烯 - 1 - 酮

將 3, 4, 5 - 三甲氧基乙醯苯 (5.25 g, 25 mmol), 3 - 吡啶羧醛 (2.35 ml, 25 mmol), 吡啶 (4.93 ml, 50 mmol), 乙酸 (2.86 ml, 50 mmol) 及乙醇 (25 ml) 結合。再於迴流下加熱 6 小時, 並令蒸餾液通過 3 Å 分子篩之柱 (25 g) 中。繼而以乙酸乙酯 (600 ml) 稀釋, 再以 1 N 氫氧化鈉 (200 ml) 水, 飽和氯化鈉先後清洗。而後乾燥 (MgSO₄) 並將溶劑蒸發。再藉硅膠色層分離法 (90% 乙酸乙酯 / 己烷) 予以純化。繼而予以再結晶 (二氯甲烷 / 乙酸 / 己烷), 即得 1.75 g 標題化合物; mp 137 - 8 °C。

C₁₇H₁₇N O₄ 之理論分析值:

C, 68.21; H, 5.73; N, 4.68;

實測值: C, 68.12; H, 5.75; N, 4.46

。

實例 7

1 - (3, 4, 5 - 三甲氧基苯基) - 3 - (2 - 吡啶基)
- 2 - 丙烯 - 1 - 酮

將 3, 4, 5 - 三甲氧基乙醯苯 (5.25 g, 25 mmol), 2 - 吡啶羧醛 (2.35 ml, 25

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝
訂
線

五、發明說明 (7)

知技藝者輕易製得。

下列實例係代表圖表 A 所述之一般合成法。這些實例當然僅供說明之目的，而非限定本發明之範圍。本文中，下列之稱謂乃具有指定之定義：“g”意指公克；“mmol”意指毫莫耳；“mL”意指毫升；“bp”意指沸點；“℃”意指攝氏度數；“mmHg”意指毫米汞柱；“mp”意指熔點；“mg”意指毫克；“μM”意指微莫耳；“μg”意指微克，Å 意指埃。

實例 11-(4-甲巰基苯基)-3-(4-吡啶基)-2-丙烯-1-酮

將無水乙酸鈷 (II) (0.8 g, 4 mmol) 置於乾燒瓶中。再將二甲指甲醯胺 (150 mL) 及 2,2'-聯吡啶 (600 mg, 4 mmol) 加入，並予攪拌 30 分鐘。繼而加入 4-(甲巰基)-乙醯苯 (4 g, 24 mmol) 及 4-吡啶羧醛 (2.6 g, 24 mmol)。再於 80℃ 下加熱 20 小時，而後將溶劑蒸發，再將徐留物藉硅膠色層分離法 (1:1 甲苯/乙酸乙酯) 予以純化。繼而予以再結晶 (乙酸乙酯/己烷)，即得 0.8 g 標題化合物；mp 133-134℃。

C₁₅H₁₃N₃O₃ 之理論分析值：C, 70.55；H, 5.13；N, 5.49

實測值：C, 70.44；H, 5.03；N, 5.25

實例 21-(3-三氟甲基苯基)-3-(4-吡啶基)-2-丙烯-1-酮

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

五、發明說明 (11)

mmol), 哌啶 (4.93 ml, 50 mmol), 乙酸 (2.86 ml, 50 mmol) 及乙醇 (25 ml) 結合。再於迴流下加熱 6 小時, 並令蒸餾液通過 3 Å 分子篩之柱 (25 g) 中。繼而以乙酸乙酯 (600 ml) 稀釋, 再以飽和碳酸氫鈉, 水, 飽和氯化鈉先後清洗。而後乾燥 (MgSO₄), 並將溶劑於真空中蒸發。再藉硅膠色層分離法 (70% 乙酸乙酯/己烷) 予以純化。繼而予以再結晶 (二氯甲烷/乙醚/己烷), 即得標題化合物; mp 94-5 °C。

C₁₇H₁₇N O₄ 之理論分析值:

C, 68.21; H, 5.73; N, 4.68;

實測值: C, 68.25; H, 5.72; N, 4.52。

實例 81-苯基-3-(4-吡啶基)-2-丙烯-1-酮

將 4-吡啶羧醛 (9.53 ml, 0.1 mol), 乙酸 (3.0 ml, 0.05 mol), 哌啶 (5.0 ml, 0.05 mol), 及乙醇 (20 ml) 結合。再於迴流下加熱, 並令蒸餾液通過 3 Å 分子篩之柱中。繼而將乙醛苯 (5.82 ml, 0.05 mol) 之乙醇 (20 ml) 液於 8 小時期間分 8 等份加入, 並予迴流過夜。繼而將溶劑於真空中蒸發, 令徐留物溶於二氯甲烷 (700 ml) 中, 以 1 N 氫氧化鈉 (2 X) 清洗, 並予乾燥 (

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝
訂
線

五、發明說明 (12)

MgSO₄)。而後將溶劑於真空中蒸發，再將徐留物藉硅膠色層分離法(80%乙酸乙酯/己烷)予以純化。令產物溶於二氯甲烷(600ml)中，以含亞硫酸氫鈉(2.5g)之水(100ml)，水(100ml)及飽和氯化鈉清洗。再予乾燥(MgSO₄)，將溶劑於真空中蒸發，並予結晶(2X，乙醚)。繼而於50℃及真空(1mmHg)下乾燥後，即得3.7g標題化合物；
m.p. 77-8℃。

C₁₇H₁₇NO之理論分析值：

C, 80.38; H, 5.30; N, 6.69;

實測值：C, 80.24; H, 5.30; N, 6.66。
。

下列化合物可藉類同於上述實例1至8之步驟而製得：

1-(噻吩-2-基)-3-(3-吡啶基)-2-丙烯-1-酮；

1-(噻吩-2-基)-3-(2-吡啶基)-2-丙烯-1-酮；

1-(2-呋喃基)-3-(3-吡啶基)-2-丙烯-1-酮；

1-(2-呋喃基)-3-(2-吡啶基)-2-丙烯-1-酮；

1-(4-二甲胺基苯基)-3-(3-吡啶基)-2-

丙 烯 - 1 - 酮 ;

1 - (4 - 二甲氨基苯基) - 3 - (2 - 吡啶基) - 2 - 丙烯 - 1 - 酮 ;

1 - [(4 - 甲 巯 基) 苯 基] - 3 - (3 - 吡 啶 基) - 2
- 丙 烯 - 1 - 酮 ;

1 - [(4 - 甲 巯 基) 苯 基] - 3 - (2 - 吡 啶 基) - 2
- 丙 烯 - 1 - 酮 ;

1 - (3 - 三氟甲基苯基) - 3 - (3 - 吡啶基) - 2 - 丙烯 - 1 - 酮 ;

1 - (3 - 三氟甲基苯基) - 3 - (2 - 吡啶基) - 2 - 丙烯 - 1 - 酮 ;

本發明之一體現係提供抑制白血球內鈣攝入之方法。本文所謂“抑制”係指任何可使鈣攝入至白血球內之速度減緩，或被妨礙，遏止或中斷之方法，但不必使鈣攝入至受影響細胞或組織中之量完全斷除。

本文中可互換使用之鈣及鈣離子係指曾經積極地參與白血球細胞組成過程之鈣元素及其離子狀況。此外，當然，藉式（1）化合物以抑制鈣攝入白血球中之作用可影響一或多種鈣之元素狀態，而不應限定為鈣之任何離子形式及／或其與任何特定抗衡離子之聯合；例如，氯化鈣，碳酸鈣，氟化鈣等均為已知，且被考慮在本文所用之鈣定義用。

鈣攝入白血球中之作用為白血球活化作用之一種訊號

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)

裝訂線

五、發明說明 (14)

，且對細胞而言係作為第二信使。鈣之攝入通常係依某第一信使而定，例如，依配位基結合至其細胞表面接受體上之作用而定。配位基結合至其接受體之作用可用以開啓 Ca^{+2} 管道，令 Ca^{+2} 進入細胞溶質，彼乃於此處作為第二信使。當細胞活化時（相當於 Ca^{+2} 之流入），有許多事情發生以導致或成為免疫或炎性疾病之原因。

白血球包括免疫系統之細胞類，彼等乃在組織學及生化上與免疫系統之其它細胞區分。本文所謂白血球乃包括五種主要之細胞類：嗜中性白血球，嗜鹼性白血球，嗜伊性白血球，巨噬細胞及淋巴球。這些細胞可更進一步進行細胞型式之分類；例如，嗜中性白血球當然可更進一步包括多形核白血球。所有之主要白血球類均相關，彼等均由祖始之骨髓莖細胞中所衍出。雖然嗜中性白血球乃在本文中廣泛地使用，然因所有細胞均由骨髓莖細胞所衍生，故嗜中性白血球乃用以作為白血球活化之實例，而非意指對使用或施用式（1）化合物（可能因任何特定形式白血球或免疫系統細胞之活化所致或顯徵候）有任何限制。此外，白血球之活化（其中，活化過程用以限制或中斷鈣之攝入以影響疾病之治療）乃不被因多重細胞或組織型式所致之疾病所限制，且包括細胞及組織交互反應之錯合型交互反應。本發明之一體現係抑制白血球內之鈣攝入，其中，抑制之效應將導致白血球巨噬細胞功能獲得良好之調節。因此，白血球細胞當然可藉由所抑制之功能度而更進一步地分類；例如，吾人可使用巨噬細胞或具巨噬細胞功能之

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝
訂
線

五、發明說明 (15)

細胞作為本文已知之白血球細胞中之一細胞群或亞群。

白血球乃大幅度地對各種不同之炎性及免疫狀況有所反應。這些事例中，接受體活化作用或一般之細胞活化作用將改變細胞之生理狀況，因而使白血球活化。所謂“活化作用”通常係指白血球變得活化之過程或狀況，其特徵為細胞對鈣之攝入有反應，且同時變得活化或保持於活化狀態。

因白血球活化作用所引起之細胞氧化及非氧化機轉之活化作用在許多免疫疾病過程之發展上扮演重要之角色。部分之細胞防禦系統，包括宿主之不利症狀及組織損傷方面，參與之白血球之活化作用有部分為鈣依賴性。其中之白血球（主要為嗜中性白血球）被視為在宿主之症狀及組織損傷中扮演重要角色之非感染性疾病包括：痛風，類風濕性關節炎，免疫脈管炎，血管球性腎炎，嗜中性皮病，炎性腸病，心肌梗塞，成人呼吸痛苦症候群，氣腫，氣喘，與溶血有關之熱損傷，及慢性炎症位置上之惡性腫瘤（Malech及Gallin；1987）。

許多之自體免疫疾病，諸如痛風，自體免疫關節，自體免疫脈管炎及某些形式之血管球性腎炎中，嗜中性白血球乃被發現累積在關節及軟組織處且成為關節及軟組織遭破壞之原因。雖然有許多疾病過程與這些疾病之病理一生理狀況有關，然而嗜中性白血球補充至彼處之作用已被充分證實，且係負責這些疾病之大部分可觀察到之組織病理狀況。本文中，有許多模型系統之研究明顯地證實，由嗜

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝
訂
線

五、發明說明 (16)

中性白血球活化作用所引起之非氧化過程（尤其是嗜中性白血球彈力酶及其它溶解蛋白質及溶解糖之酶之釋出）可直接破壞宿主組織。

有許多不同之皮膚病症係與嗜中性白血球滲入皮膚之外皮及真皮組織中之作用有關。其中有嗜中性白血球參與疾病進展之皮膚病包括（但不限定於）牛皮癬形皮病，於史偉特氏（Sweet's）症候群及貝奇特氏（Behcet's）病中所發現之以血管為主之嗜中性皮病，以及壞疽性膿皮病，這些疾病過程中，嗜中性白血球係增加及保持炎性症狀，加強組織損傷，因而阻礙復原。

有許多其它之疾病（諸如炎性腸病及心肌梗塞）係與特定器官內之嗜中性白血球功能失調有關，經由動物之研究指出，腸內噬中性白血球循環之異常將導致這些細胞之異常活化。同理，嗜中性白血球業顯示已補充至心肌組織之梗塞處，且在心肌梗塞發生後之組織損傷度增強上扮演重要之角色。

有許多呼吸病症包括成人呼叫痛苦症候群（ARDS），氣腫，及氣喘等之病因係處嗜中性白血球之滲入及疾病之惡化有關，肺組織中之嗜中性白血球促成性氧化破壞作用可能為這些病症之重要成因。此外，嗜中性白血球之累積，以及彈力酶之釋出可能在氣腫所發生之組織破壞上扮演重要之角色且可能在過敏性氣喘之炎性反應晚期扮演重要之角色。過敏反應（此時嗜中性白血球乃釋出其構份）則可在母細胞組織胺釋出後發生。

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝
訂
線

五、發明說明 (17)

嗜中性白血球活化作用在一般疾病致因中係與補體活化作用有關。吾人已詳知補體可使嗜中性白血球活化，同時產生羥基團，嗜中性白血球活化後所產生之羥基團可能與補體活化作用共同地成為紅血球脆弱及血管內溶血之原因。

本文所謂“炎症”乃指涉及免疫系統白血球之絕大多數過程，且係為涉及“炎性狀況”之過程。臨床上，炎症主要可包括一或多種下列之症狀：紅，腫，熱，痛，功能喪失及發燒。然而，炎症所伴隨之一些細胞狀況包括（但不限定於）白血球活化作用，白血球著邊作用及遊出作用，及白血球滲出作用。“炎症”亦可指任何狀況，亦即可以初期或潛伏期炎性狀況存在，白血球可參與其基本致因或使疾病狀況永存或擴展。本文中涉及炎性狀況之過程乃視為與免疫系統之白血球有關，且彼可在“免疫系統”目錄內及在可以式（1）化合物治療之被白血球影響之狀況中所看到。可影響鈣攝入至白血球中之本發明化合物亦被視為可能有利以改善與炎症及／或免疫疾病有關之狀況。

類似於本發明方法之發展以消除嗜中性白血球之反應或使嗜中性白血球氧化代謝物及顆粒內容物鈍化之作用將有用以限制這些非感染性炎性疾中之組織破壞度。

血小板為存在血液中且由骨髓巨核細胞中所衍出之無核細胞。血小板亦為凝血所需，且有助於血管壁裂口之復原。血小板形成血凝塊及使受損血管組織復原之反應亦具有許多有害之副作用；例如，在缺血性再灌注期間，血栓

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

.....裝訂線.....

五、發明說明 (18)

之形成及相關之血小板集結作用最終可導致動脈之閉合，動脈及靜脈之關閉或閉合亦已詳知可導致心肌梗塞之發生。吾人亦詳知鈣及凝血過程及血栓形成中所需者；例如；藉由結合至鈣上之EDTA及其它螯合劑所調節之凝血反應乃於本範疇中更加確定。因此，吾人考慮抑制鈣攝入血小板中，使其本身作為活存之媒介以治療性地調節血小板之活化作用，此包括血管活性介體之釋出及血小板集結塊之形成，此用法乃施至需此治療之病患體內。

本文所謂“病患”係指溫血動物諸如受特定免疫疾病狀況所苦之哺乳動物。此稱謂定義範圍內之實例為狗，貓，鼯鼠，馬，牛，羊及人類。

吾人相信式(1)化合物對於白血球及血小板內之鈣攝入具有抑制之效應，因此可緩解與免疫調節作用有關之鈣依賴性機轉，包括炎性及免疫疾病。然而，本發明當然不被任何特定之理論或建議之機轉所限制以解釋其於終用途應用上之效應。式(1)化合物之使用當然亦包括所有其基團，如衍生物(1a)，(1b)，(1c)及(1d)。

如同熟知技藝者所詳知，某些炎性及免疫疾病中之各種不同疾病狀況係以使鈣攝入白血球中之事例為特徵。本文中，使鈣攝入白血球中之事例可指導致初始狀況之初始事例或指保持炎性或免疫狀況之事例。此外，熟知技藝者亦詳知，某些心臟血管疾病係以使鈣攝入血小板中之事例為特徵，此些事例可指導致彼狀況之初始事例或指保持心

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

.....裝.....訂.....線.....

五、發明說明 (19)

臟血管疾病狀況之事例。

本發明尤其提供治療受白血球內鈣依賴性疾病狀況所苦之病患之方法，其中，此疾病狀況可為（但不限定於）炎性或免疫疾病，其方法包括施用有效抑制鈣攝入量之式（1）化合物。

式 (1) 化合物之有療效抑制鈣攝入量係指有效以控制與免疫疾病狀況有關之白血球活化作用之量。所謂“控制活化作用”係指可使免疫疾病之進展減緩，妨礙，遏止或中斷之所有方法，而不必指所有疾病症狀之消除。

此外，熟知技藝者亦詳知，某些心臟血管疾病係以導致鈣攝入血小板中之事例為特徵，此事例可指導致彼狀況之初始事例或指保持心臟血管狀況之事例。

本發明亦提供治療受血小板內鈣依賴性疾病所苦之病患之方法，其中，此疾病狀況可為（但不限定於）心臟血管疾病，其方法包括施用有效抑制鈣攝入量之式（1）化合物。

式 (1) 化合物之有療效抑制鈣攝入量係指有效以控制與心臟血管疾病狀況有關之血小板功能之量。所謂“控制與心臟血管疾病有關之血小板功能”係指使心臟血管疾病之進展減緩，妨礙，遏止或中斷，而不必指所有疾病症狀之消除。

免疫或心臟血管狀況或疾病中之具療效之抑制量可經由隨從診斷醫師（如同熟知技藝者）藉使用慣用技術或藉觀察類同環境下所得之結果而輕易決定。欲決定具療效之

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝訂線

五、發明說明 (20)

劑量，伴隨之診斷醫師乃考慮許多因素，包括（但不限定於）：哺乳類之種類；其大小，年齡及一般健康狀況；所涉及之特定疾病；疾病之程度，牽連或嚴重性；個別病患之反應；所施用之特定化合物；施用型式；所施用製劑之生物利用性；所擇定之劑量服法；伴隨藥物之使用；及其它有關之環境。

吾人期望式（1）化合物之有效量乃在每天每公斤體重約 0.1 毫克（mg/kg/天）至約 100 mg/kg/天間變化。理想之量約為 0.5 至 10 mg/kg/天。

欲達成治療受上述病況所苦之病患之目的，式（1）化合物可以任何形式以有效量施用而使化合物具生物利用性，包括口部及非經腸部之路徑。例如，式（1）化合物可經由口部，皮下，肌內，靜脈內，經皮，鼻內，直腸部或局部施用，通常以口部施用較為理想。熟知組成物製備技藝者可依所擇化合物之特性，待治療之疾病狀況，疾病之發展階段，及其它有關之環境而輕易地決定適當之施用形式。

化合物可單獨施用或與製藥上可接受性載體或賦形劑結合成藥學組成物之形式施用，彼之比例及特性乃藉由所擇化合物之溶解度及化學性質，所擇定之施用路徑，及標準製藥操作而輕易決定。本發明化合物（本身即有效）可以其製藥上可接受性酸加成鹽之形式予以組成及施用以達具安定性，方便結晶，及增加溶解度等目的。

本發明之另一體現係提供含有有效量式（1）化合物

（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)

並混合或聯合一或多種製藥上可接受性載體或賦形劑之藥學組成物。式 (1) 化合物之所謂“有效抑制鈣攝入量”係指適於抑制白血球內鈣攝入之有效抑制量，而此抑制作用可供治療受免疫或炎性疾病所苦之病患。此外，式 (1) 化合物之所謂“有效抑制鈣攝入量”亦指適於抑制血小板內鈣攝入之有效抑制量，此抑制作用可供治療心臟血管系統疾病所苦之病患。

藥學組成物係依製藥技藝中已詳知之方法製得。載體或賦形劑可為固態，半固態，或液態物質，彼可作為供有效成分所用之載色劑或介質。適當之載體或賦形劑已於技藝中詳知。藥學組成物可適於供口部，非經腸部，或局部使用，且可以藥片，膠囊，坐藥，溶液，懸浮液等形式施至病患體內。

本發明化合物可（例如）使用惰性稀釋劑或可食用載體經由口部施用。彼等可裝在凝膠膠囊中或壓縮成藥片。供口部治療施用之目的方面，化合物可與賦形劑混合，且可以藥片，錠劑，膠囊，酏劑，懸浮液，糖漿，威化餅及口香糖等形式使用，這些製劑至少必需含有 4 % 本發明化合物（有效成分），但可依特定形式而加以變化，且最好介於 4 % 至約 70 重量 % 單位間。化合物存在於組成物中之量為可獲得適當之劑量者。本發明所製備之理想組成物及製劑係為可使口服劑量單位形式含有 5.0 - 300 毫克之本發明化合物者。

藥片，丸劑，膠囊，錠劑等亦可含有一或多種下列之

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

.....裝.....訂.....線.....

五、發明說明 (22)

輔劑：結合劑諸如微晶纖維素，黃耆膠或凝膠等；賦形劑諸如澱粉或乳糖等，崩解劑諸如藻朊酸，Primogel，或玉米澱粉等；潤滑劑諸如硬脂酸鎂或Sterotex等；滑動劑諸如膠態二氧化硅等；及甜化劑諸如蔗糖或糖精素可予加入，或增香劑諸如薄荷，水楊酸甲酯或橘增香劑等。當劑量單位形式為膠囊時，其除了含有上述形式之物質外，亦可含有液態載體諸如聚乙二醇或脂油等。其它單位劑量形式則可含有可改良劑量單位物理形式之其它各種不同物質例如塗料。因此，藥片或丸劑可塗附上糖，蟲膠或其它腸溶塗料。糖漿除含有本化合物外，亦可含有作為甜化劑之蔗糖且可含有防腐劑，染料，著色劑及增香劑。製備這些不同組成物所用之物料必需在製藥上為純質且在所用之量上為無毒性。

欲達非經腸部治療施用之目的，本發明化合物可併入溶液或懸浮液中。這些製劑必需含有至少0.1%本發明化合物，但可在0.1至約50重量%間加以變化。本發明化合物於此組成物中之量為可獲得適當之劑量者，本發明所製備之理想組成物及製劑係為可使非經腸部劑量單位含有5.0至100毫克本發明化合物者。

本發明式(1)化合物亦可局部施用，當局部施用時，則適當之載體可包括溶液，軟膏或膠基質。此基質可(例如)包括下列之一或多者：礦脂，羊毛脂，聚乙二醇，蜂蠟，礦油，稀釋劑諸如水及醇等，及乳化劑及安定劑。局部用組成物所含有之式1或其製藥鹽濃度約為0.1至

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝·訂·線

五、發明說明 (23)

約 10% w/v (每單位體積之重量百分比)。

溶液或懸浮液亦可包括一或多種下列輔劑：無菌稀釋劑諸如注射用火，鹽水溶液，固定油，聚乙二醇，甘油，丙二醇或其它合成溶劑等；抗菌劑諸如苯醇或對位羥基苯甲酸甲酯等；抗氧化劑諸如抗壞血酸或亞硫酸氫鈉等；螯合劑諸如乙二胺四乙酸等；緩衝劑諸如乙酸鹽，檸檬酸鹽，或磷酸鹽等，及調節張力之製劑諸如氯化鈉或右旋糖等。此非經腸部之製劑可裝在安瓿，可丟棄式注射管或由玻璃或塑膠所製之多重劑量瓶中。

下列稱謂及 (簡稱) 乃彼此同義：多形核白血球 (PMNL)，〔4 - (2 - 羥乙基) - 1 - 哌嗪 - 乙烷磺酸 (HEPES)，用以在離心期間表示離心力所用之重力倍數因子 (xg)，毫升 (mL)，攝氏度數 (°C)，鈣離子 (Ca^{+2})，十億分之米 (nm)，二甲亞砷 (DMSO)，乙撐雙 (氧化乙烯脞基) - 四乙酸 (EGTA)，克 (g)，毫克 (mg)，十億分之克 (ng)，莫耳 (M)，毫莫耳 (mM)，微莫耳，(μM)，調理化酵母聚糖 (OZ)，大戟二萜醇肉豆蔻酸酯乙酸酯 (PMA)，甲醯基 - 蛋胺醯基 - 白胺醯基 - 苯基丙胺酸 (fMLP)，白三烯 B_4 (LTB_4)。

化合物通常係以三字母之簡寫 "MDL"，一空格而後五或六個數字之延伸號碼代表。下列為代表性實例：1 - 苯基 - 3 - [(4 - 苄氧基) 苯基] - 2 - 丙炔 - 1 - 酮 (MDL 100, 225)；1 - 苯基 - 3 - (4 -

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝
訂
線

五、發明說明 (24)

吡啶基) - 2 - 丙炔 - 1 - 酮 (MDL 101, 098) ; 1 - (4 - 二甲胺基苯基) - 3 - (4 - 吡啶基) - 3 - 丙炔 - 1 - 酮 (MDL 102, 175) ; 1 - 苯基 - 3 - [(4 - 苄氧基) 苯基] - 2 - 丙炔 - 1 - 酮 (MDL 101, 097) ; 1 - (4 - 二甲胺基苯基) - 3 - (4 - 吡啶基) - 2 - 丙烯 - 1 - 酮 (MDL 101, 240) ; 1 - 苯基 - 3 - (4 - 吡啶基) - 2 - 丙烯 - 1 - 酮 (MDL 29, 355) ; 1 - (4 - 二乙胺基苯基) - 3 - (4 - 喹啉基) - 2 - 丙炔 - 1 - 酮 (MDL 102, 387) 。

白血球對活化作用訊號 (刺激劑) 之反應可藉於試管試驗內測定細胞內之鈣, 或藉測定相關因素諸如過氧化物陰離子, 及骨髓過氧化酶而得知。此外, 白血球於活體內對刺激作用之反應可於水腫之動物模型, 諸如角叉菜膠誘導性鼠腳水腫模型, 路易斯鼠之輔劑誘導性關節炎模型及鼠皮膚之局部過敏壞死反應中估測。本發明者證實, 使用本申請專利範圍化合物之方法及彼等於先前分析法中之使用法。

物 料

Sprague-Dawley鼠 (150 - 250克) 係由Harlan Sprague-Dawley鼠 (Indianapolis, IN) 獲得。漢克氏 (Hank's) 均衡化鹽 (HBSS; Gibco, Grand Island, NY) 乃補充上20 mM HEPES, 並調整至pH

五、發明說明 (25)

7. 4, 酪胺酸鈉係由 I C N Biochemical (Cleveland, OH) 獲得。Fura-2/AM 則由 Molecular Probe (Eugene, OR) 獲得。愛爾諾黴素 (Ionomycin) 係由 Cal Biochem. (San Diego, CA) 獲得。過氧化物歧化酶係由 D D I Pharmaceuticals (Mountain View, CA) 獲得。所有其它試劑則由 Sigma 化學公司 (St. Louis, MO) 獲得, 所有購得之試劑均認定為標準者。

多形核白血球之分離作用 (PMNL)

鼠之 PMNL 係於腹膜內注射 6 ml 8% 酪胺酸鈉後由滲出液中取得。注射之十八小時後, 藉二氧化碳吸入法將鼠隻宰殺, 再將腹腔以漢克氏均衡化之鹽溶液 (HBSS) 灌洗。藉離心法將 PMNL 濃縮液, 藉低張溶解法移去污染之紅血球。而後將 PMNL 藉離心作用 ($400 \times g$ 10 分鐘) 清洗兩次, 並令之再懸浮於 HBSS 中。細胞活存力乃藉錐蟲藍排斥作用而得知大於 90%, 且藉 Wright-Giemsa 染色法得知有 90% 以上之細胞為 PMNL。

細胞內之鈣之測量

細胞內之鈣值係使用 Fura-2 作為螢光指示劑 (Grynkiewicz et al., 1985) 而得知。使用 Korchak 等人之方法 (1988) 將 Fura-2 以乙醯氧基甲酯之形式 (Fura-2/AM) 裝入 PMNL 中。特別地, 將 1×10^8

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝訂線

五、發明說明 (26)

PMNL / ml 與 $10 \mu\text{M}$ Fura-2 / AM 共同於 HBSS 中，於 37°C 下保溫 10 分鐘，而後將細胞懸浮液以 HBSS 稀釋 10 倍，繼而保溫另 20 分鐘。再將細胞離心（於 25°C 下以 $400 \times g$ 之速離心 8 分鐘），並令 PMNL (1×10^7 個細胞 / ml) 再度懸浮於含 1% 牛血清白蛋白之 HBSS 中。繼而將細胞於室溫下貯藏，並於 3 小時內使用。

細胞內鈣值之測定係使用雙重波長分光光度計 (Photon Technology International, New Brunswick, NJ) 而得。將 2 ml PMNL 懸浮液 (1×10^7 個細胞 / ml) 於 37°C 下磁性攪拌。並於活化前，將細胞與化合物於 37°C 下預保溫 15 分鐘。當化合物溶於 DMSO 中並直接加入時，DMSO 於最終細胞懸浮液中之濃度從未超過 0.3%。加入化合物或載色劑及刺激劑後之總體積變化從未超過 3%，細胞內之鈣濃度係藉將 $7 \mu\text{M}$ 愛爾諾黴素加至 PMNL（於含 1% BSA 之 HBSS 中）中以設定細胞中之最大鈣值而予以校正。繼而以 20 mM EGTA 處理 1 小時以得最小之鈣值。Grynkievich 等人之方法 (1985) 乃用以定量細胞內之鈣值（假定 Fura-2 之 K_D 值為 240 nm ）。每一實驗乃於三個分別之場合重覆進行，鈣變化之型式為這些實驗之代表。

骨髓過氧化酶 (MPO) 之釋出

MPO 之釋出係使用鄰聯二茴香胺之 MPO 催化劑氧

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝
訂
線

五、發明說明 (27)

化作用而測知。此實驗係於96孔式微滴定盤 (Webster及Henson, 1978) 中進行。每一孔中, 將50毫升 (μl) 整份之PMNL懸浮液 (2×10^7 個細胞/ ml , 於HBSS中) 與含載色劑 (0.3% DMSO) 或抑制劑之50 μl HBSS共同於37℃下保溫30分鐘。最終之DMSO濃度從未超過0.3%且於每一實驗之整個過程中保持恒定。欲活化PMNL, 則將50 μl 之下列之一者於37℃下加入達30分鐘: N-甲醯基-Met-Leu-Phe (fMLP; 0.1 μM); 大戟二帖醇肉豆蔻酸酯乙酸酯 (PMA, 200 ng/ ml); 或鼠血清之調理化酵母聚糖 (OZ; 2.6 mg/ ml , 藉Ward等人之方法製得, 1983)。如適當的話, 將刺激劑加至亦含化合物或載色劑之50 μl HBSS中以避免抑制劑之濃度改變。細胞活化作用乃藉將微滴定盤於22℃下以600 x g之速離心5分鐘而終止。繼而將整份 (100 μl) 上層液由每一孔中移出, 再轉移至96孔式平底微滴定盤中以供MPO之分析。將新製得之含50 μl 0.2 M磷酸鈉緩衝液 (pH 6.2), 25 μl 3.9 mM鄰聯二茴香胺及25 μl 0.015 M過氧化氫之溶液加至每一整份之上層液中。空白組份使用不含過氧化氫之相同溶液獲得, 再將微滴定盤混合, 而後於室溫下於暗室中保溫約15分鐘。繼而於450 nm下測量樣品之吸光度。

(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)

過氧化物陰離子 (S O A) 之產生

過氧化物陰離子之產生係使用可與 Leslie 法 (1987) 相比之方法採用微滴定盤而測定，且於催化酶 (Arthur 等人, 1987) 之存在下進行。將整份 (50 μ l) 鼠 PMNL 懸浮液 (2×10^7 個細胞 / ml, 於 H B S S 中) 依上述之方法與含載色劑 (0.3% D M S O) 或化合物之 50 μ l H B S S 共同於 37 $^{\circ}$ C 下保溫 30 分鐘。再將含 5.98 mg / ml 細胞色素 C (Sigma 第 III 型) 及 0.1 mg / ml 催化酶 (如適當的話加上化合物) 之 100 毫升緩衝液加至每一樣品中。供分光光度測量所用之空白組 (於細胞色素 C, 催化酶及 S O D 存在下含有未受刺激之細胞) 亦予製備。欲活化 PMNL, 乃將 75 μ l P M A 或 O Z 加入以獲得細胞活化劑 (加上上述供 M P O 釋出之載色劑或抑制劑) 之最終濃度, 再將細胞更進一步於 37 $^{\circ}$ C 下保溫 60 分鐘。活化作用則藉於 4 $^{\circ}$ C 下以 600 x g 之速離心 5 分鐘而終止。繼而將整份 (200 μ l) 上層液轉移至第二個平孔微滴定盤中, 再於 550 nm 下予以分光光度地測量。

實例 9各種不同刺激劑對 PMNL 細胞內之鈣之效應

使用 f M L P 將預先裝有 Fura-2 之鼠 PMNL 予以刺激, 繼而測量細胞內之鈣值 (圖 1), 趨化性肽 f M L P 產生雙相反應, 第一個尖峰乃於提供肽刺激劑之

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝訂線

五、發明說明 (29)

30 秒後達到最大值，而於約 100 秒及達到第二個最高峰。

雙相反應係與 Korchak 等人 (1986) 對人類嗜中性白血球所做之結果相符，其中，反應之尖峰乃相當於細胞內之鈣之早期釋出，彼是使用 LTB₄ 之反應所得。反應之第二相（相當於在刺激後之 100 秒時所呈現之第二尖峰）則與細胞外之鈣之流入有關，通常由刀豆球朊 A 誘導性反應所產生，熟知技藝者所解釋之雙相反應中，第一相係指細胞內鈣之釋出，第二相則相當於細胞外鈣之流入。

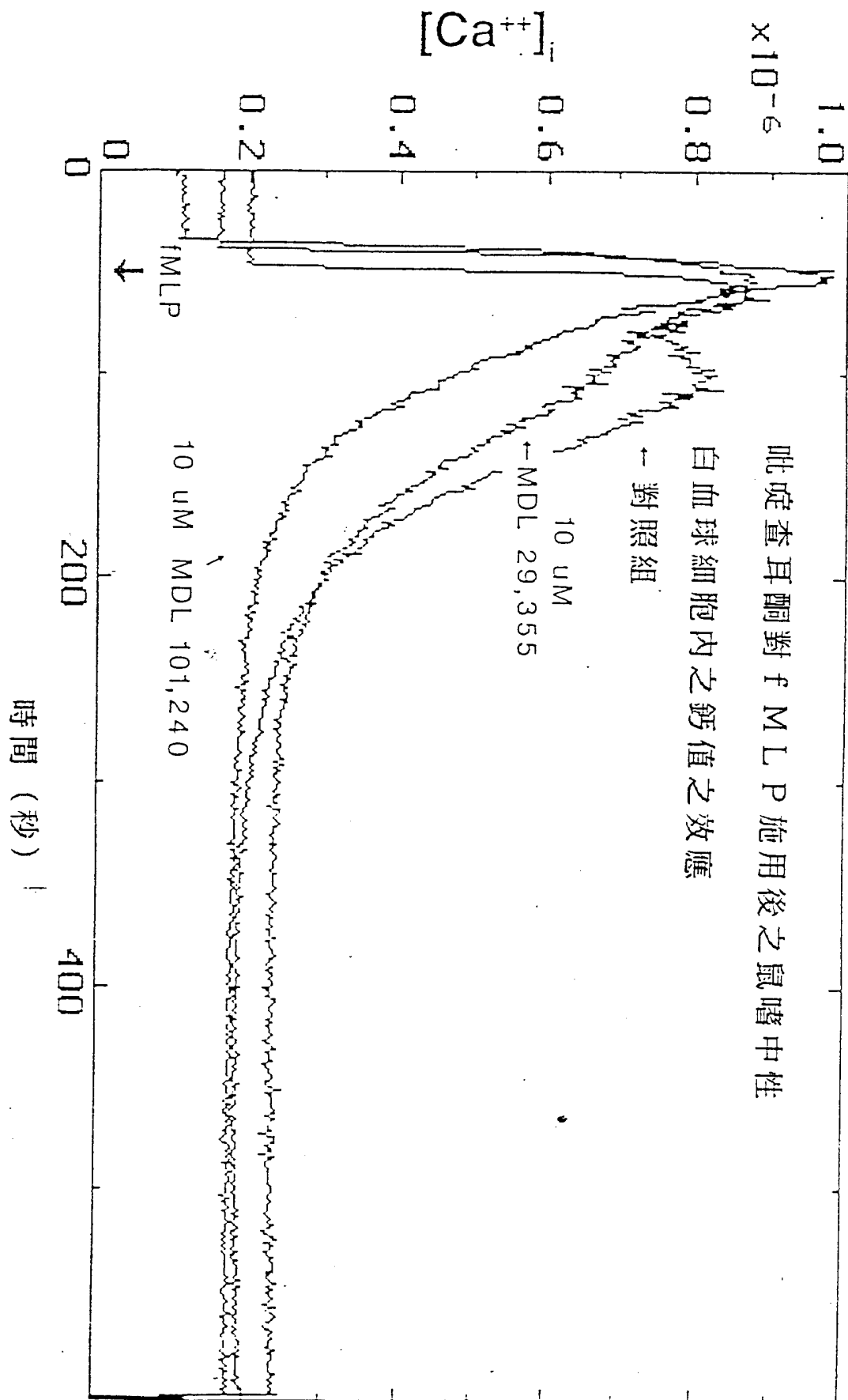
。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

.....裝.....訂.....線.....

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

五、發明說明 (30)



五、發明說明 (31)

如圖 1 所示，將 PMNL 與指定濃度之 MDL 101, 240 或 MDL 29, 355 預保溫後，將使第二個彼之細胞內之鈣變化受到選擇性濃度依賴性壓制作用。吾人可見第二尖峰被式 (1) 化合物 (以 MDL 101, 240 及 MDL 29, 355 之活性代表) 抑制之作用可有效地抑制經處理之 PMNL 之鈣攝入。吾人亦可見 MDL 101, 240 之抑制作用乃強於 MDL 29, 355 者，但因彼等均可壓制第二相之反應，故均具有明顯之抑制效應。然而，在高濃度 ($> 100 \mu m$) 下，化合物確實開始影響第一相 (資料未示)。對照組之反應 (其中並無式 (1) 化合物涵蓋在 fMLP 刺激劑中) 則顯示可觀察到之雙相反應。

實例 10化合物對鼠 PMNL 酵素釋出及過氧化物陰離子產生之效應

鼠 PMNL 係於含 Ca^{+2} 之 HBSS 中分離出。如同下圖中所簡示，鼠 PMNL 於細胞鬆弛素 B 存在下進行之 fMLP 刺激作用或使用調理化酵母聚糖或使用愛爾諾黴素進行之作用將導致骨髓過氧化酶之釋出 (fMLP / MPO, OZ / MPO, 及 ION / MPO; 分別為第 2 列, 第 4 列及第 6 列)。加入指定濃度之 MDL 29, 355 或 MDL 101, 240 後可使骨髓過氧化酶之釋出受到劑量依賴性之抑制。同樣地, PMA 及

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝·訂·線

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

抑制劑對鼠 PAN-MPO 及 SOA 之
MDL 29.355 抑制作用之效應

1 CONC (μ M) MDL 102,175	2 FMLP/MPO	3 SEM	4 OZ/MPO	5 SEM	6 ION/MPO	7 SEM	8 PMA/SOA	9 SEM	10 OZ/SOA	11 SEM
300	104.2	4.4	42.4	15.1	99.6	4.7	103.8	9.1	102.0	1.5
100	100.6	2.7	7.1	3.5	89.1	1.9	21.1	5.6	67.6	2.4
30	53.3	11.2	3.2	0.6	24.4	7.4	-12.3	12.7	27.5	6.8
10	16.5	7.1	3.6	7.4	14.8	6.5	-20.7	12.3	2.5	8.9
3	5.0	13.1	3.4	7.6	-1.7	7.3	-30.2	2.5	-12.6	13.6
1	0.1	7.4	-1.7	5.6	-4.5	6.9	-29.5	10.7	-10.7	18.2

SEM 為前一計數之實驗中之平均值之標準誤差

五、發明說明 (33)

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝訂線

測試範圍, PMN MPO 及 SOA 之

MDL 102, 240 抑制作用之效應

1 CONC (μ M)	2 FM/P/MPO	3 SEM	4 OZ/MPO	5 SEM	6 ION/MPO	7 SEM	8 PMA/SOA	9 SEM	10 OZ/SOA	11 SEM
MDL 102, 175										
100	112.5	9.3	141.5	23.5	35.6	13.1	81.5	1.7	85.0	3.2
30	67.3	3.6	82.5	5.5	12.0	13.6	34.5	3.5	66.3	9.4
10	31.2	1.4	28.1	4.8	-2.0	13.6	5.9	3.3	21.3	11.6
3	11.7	5.7	7.3	11.0	-5.0	4.4	4.7	1.1	2.5	13.0
1	13.1	6.6	2.5	11.0	-8.0	6.0	-7.2	3.0	-7.8	8.4

SEM 為前一計數之實驗中之平均值之標準誤差

五、發明說明 (35)

實例 1 1角叉菜膠誘導性鼠腳水腫

本試驗係使用重 90 至 100 克之卻爾斯河雄 Sprague-Dawley 鼠。左後腳之發炎係藉將 1% 角叉菜膠溶液 (0.05 cc) 注射至腳之蹠表面上而誘生。對側腳則注射等量之鹽水。藥物乃於腳注射之一小時前由口部或腹膜內施入 (1 cc / 100 克)。注射角叉菜膠之三小時後，測量對照及發炎腳之體積差異。令每一隻腳浸於水銀井中，再記錄水銀被取代之量。腳係均勻地浸至水銀中最高達髮線之起端。而後使用連接至示波記錄器上之靜脈壓電功率轉送器以測量被取代之小量之水銀量。每一測量群平均由四隻鼠組成，而群乃進行三次各別之測量。角叉菜膠誘導性鼠腳水腫試驗之結果乃示於下表中。

角叉菜膠誘導性鼠腳水腫

<u>化合物</u>	<u>路徑</u>	<u>抑制作用 %</u>
MDL 29,355	腹膜內	51.4 ± 8.5

實例 1 2路易斯鼠之輔劑誘導性關節炎模型

將 0.1 ml 酪結核桿菌 (Difco) 之礦油液 (5 mg . ml) 或單獨地將礦油由皮內加至重 150 - 200 克之近親交配之雌路易斯鼠 (Charles River) 之尾中。再

五、發明說明 (36)

由接種之當天開始，使用水銀取代法測定右及左後肢之腳水腫狀況達32天。再由第1天開始，將某一些鼠隻以30 mg/kg (口服) MDL 29, 355 每日處理一次。在第20天，當對照組之腳水腫達到最大程度時，經MDL 29, 355 處理之動物可使腳腫脹程度顯著地降低， $36.4\% \pm 16.6\%$ 。在第32天，經處理之動物之腳腫脹程度則與未經處理之對照組無顯著差異（抑制度為 $30.9\% \pm 22.4\%$ ），但3隻經處理動物中有一者從未顯現輔劑關節炎，然而所有對照組均顯現。

實例 13鼠皮膚之局部過敏壞死反應

令重200-250克已麻痺之雄Sprague-Dawley鼠(Charles River)由靜脈內接受100 mg/kg 無菌牛血清白蛋白(BSA)溶液(5 mg/ml)。注射液立即地再將100 μ g 兔抗-BSA之鹽水溶液由皮內注入。此將產生免疫複體促成性炎症(過敏壞死反應)，其中之免疫複體可固定可吸引嗜中性白血球之補體釋出因子。嗜中性白血球乃繼而被活化而導致以出血性斑點顯現之局部組織破壞。反應之程度則藉影像分析技術測定斑點之大小而反映出。當於過敏壞死反應起始前之30分鐘，以100 mg/kg之劑量將MDL 29, 355由腹膜內施入時，則出血性斑點之大小乃降低 $55.0\% \pm 16.8\%$ 。當將MDL 29, 355以100 μ g之劑量與抗體共同

五、發明說明 (37)

由皮內施入時，則出血性斑點之大小乃降低 $41.7\% \pm 12.5\%$ 。

.....
(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：鈣攝入抑制劑)

本發明係關於1-芳基-3-吡啶基-2-丙烯-1-酮，這些化合物在作為白血球及血小板中鈣攝入抑制劑方面之用途，及含彼些作為有效成分之化合物之藥學組成物，及彼之製法。

英文發明摘要(發明之名稱：Calcium uptake inhibitors)

This invention relates to 1-aryl-3-pyridinyl-2-propene-1-ones, the use of these compounds as calcium uptake inhibitors in leukocytes and thrombocytes, and pharmaceutical compositions containing these compounds as active ingredients, and the process of their preparation.

附註：本業已向

美國

國(地區) 申請專利，申請日期：

1990.9.20

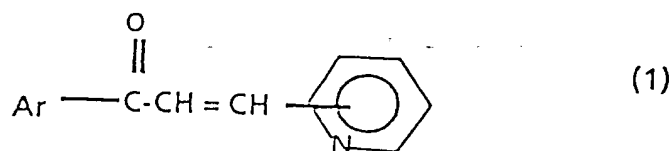
案號：

585,412

六、申請專利範圍
附件： 第 80107366 號專利申請案
中文申請專利範圍修正本

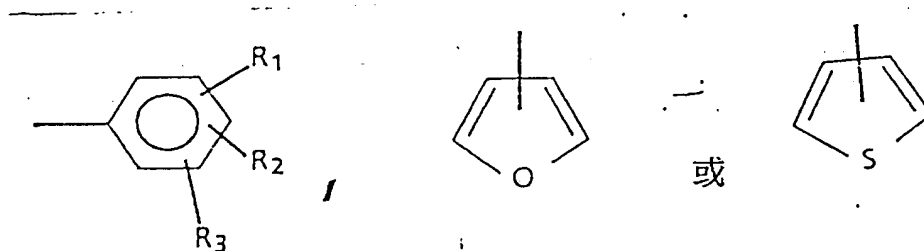
民國 82 年 4 月 修正

1. 下式化合物



其中

Ar 為下式之基團：



其中

R₁ , R₂ 及 R₃ 乃各自為氫；C₁ - C₆ 烷氧基；
C₁ - C₆ 烷基硫或 - N (Y₁) (Y₂) , 其中 Y₁
及 Y₂ 乃各自為氫或 C₁ - C₆ 烷基；
或其製藥上可接受性鹽。

2. 根據申請專利範圍第 1 項之化合物，其中，化合物係 1 - (噻吩 - 2 - 基) - 3 - (4 - 吡啶基) - 2 - 丙烯 - 1 - 酮。

205548

A7
B7
C7
D7

六、申請專利範圍

3. 根據申請專利範圍第1項之化合物，其中，化合物係1 - [(3, 4, 5 - 三甲氧基) 苯基] - 3 - (2 - 吡啶基) - 2 - 丙烯 - 1 - 酮。

4. 根據申請專利範圍第1項之化合物，其中，化合物係1 - [(3, 4, 5 - 三甲氧基) 苯基] - 3 - (3 - 吡啶基) - 2 - 丙烯 - 1 - 酮。

5. 根據申請專利範圍第1項之化合物，其中，化合物係1 - (呋喃 - 2 - 基) - 3 - (4 - 吡啶基) - 2 - 丙烯 - 1 - 酮。

6. 根據申請專利範圍第1項之化合物，其中，化合物係1 - (4 - 二甲胺基苯基) - 3 - (4 - 吡啶基) - 2 - 丙烯 - 1 - 酮。

7. 根據申請專利範圍第1項之化合物，其中，化合物係1 - 苯基 - 3 - (4 - 吡啶基) - 2 - 丙烯 - 1 - 酮。

8. 根據申請專利範圍第1項之化合物，其中，化合物係1 - [(4 - 甲巰基) 苯基] - 3 - (4 - 吡啶基) - 2 - 丙烯 - 1 - 酮。

9. 根據申請專利範圍第1項之化合物，其中，化合物係1 - (3 - 三氟甲基苯基) - 3 - (4 - 吡啶基) - 2 - 丙烯 - 1 - 酮。

10. 一種用於抑制病患體內白血球內鈣攝入之藥學組成物，其包括抑制鈣攝入有效量之申請專利範圍第1項化合物，並結合至少一種製藥上可接受性載體。

六、申請專利範圍

1 1 . 根據申請專利範圍第 1 0 項之藥學組成物，其中，病患係患有免疫疾病。

1 2 . 根據申請專利範圍第 1 0 或 1 1 項之藥學組成物，其中，病患係患有類風濕性關節炎。

1 3 . 根據申請專利範圍第 1 0 或 1 1 項之藥學組成物，其中，病患係患有免疫脈管炎。

1 4 . 根據申請專利範圍第 1 0 項之藥學組成物，其中，病患係患有發炎疾病。

1 5 . 根據申請專利範圍第 1 0 項之藥學組成物，其中，病患係患有嗜中性皮病。

1 6 . 一種供抑制病患體內血小板內鈣攝入之藥學組成物，其包括抑制鈣攝入有效量之申請專利範圍第 1 項化合物，其結合至少一種製藥上可接受性載體。

1 7 . 根據申請專利範圍第 1 6 項之藥學組成物，其中，病患係患有心臟血管病症。

1 8 . 根據申請專利範圍第 1 6 項之藥學組成物，其中，病患係患有心肌梗塞。

1 9 . 根據申請專利範圍第 1 6 項之藥學組成物，其中，病患係患有缺血性再灌注之損傷。