

(由本局填寫)

承辦人代碼：
大 類：
I P C 分類：

A6
B6

本案已向：

美 國 (地 區) 申 請 專 利 , 申 請 日 期 : 案 號 : , ☒有 ☐無主 張 優 先 權
1998 年 9 月 25 日 60/101,887 (主 張 優 先 權)

有 關 微 生 物 已 寄 存 於 : , 寄 存 日 期 : , 寄 存 號 碼 :

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

裝

訂

線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

五、發明說明(1)

[發明背景]

1.發明領域：

本發明有關醫藥活性化合物及利用或包括一種或多種該化合物之醫藥組成物。較佳的化合物對於治療或預防非所欲之栓塞特別有用。本發明亦包含治療栓塞之方法。本發明具有包含篩選使用於治療或預防栓塞之候選化合物之寬廣應用譜。

2.背景：

血凝塊經由減少血液的流失而協助止血。大體上，血凝塊藉由血管損傷而引發，且需要血小板聚集、凝固因子、及抑制血纖維蛋白溶酶作用。凝固因子藉由與血管損傷相關之級聯而形成血凝塊(概括參見 L. Stryer, *Biochemistry*, 3rd Ed, W.H. Freeman Co., New York; 及 A.G. Gilman et al., *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 8th Edition McGraw Hill Inc., New York, pp.1311-1331)。

組織因子(TF)，具有 263 個胺基酸之一種整合膜蛋白，係負責引發凝固蛋白酶之級聯。血管的損傷使血液暴露至表現於內皮下細胞表面之組織因子，導致與血漿因子 VII (FVII)或活化因子 VII (FVII a)形成鈣依賴及高親和力之複合物。結合至 TF 促使酶原 FVII 藉由若干蛋白酶(例如 X a 因子、或凝血酶)迅速進行蛋白水解分裂成為活性絲胺酸蛋白酶 FVII a。TF 藉由效果強烈地增強 FVII a 對其蛋白受質因子 IX 及 X 之催化效率，亦擔任其主要的共因子。TF/ VII a 複合物經由有限的蛋白水解作用使因子 IX (FIX)及

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

線

五、發明說明(2)

X(FX)活化，終於導致產生凝血酶及使血纖維蛋白沉積。於病態情況下，例如動脈粥瘤硬化，或下列侵入性外科過程如微血管移植片、血管造形術、配置植入裝置(如：移植膜、導管、或動脈與靜脈分流器)、或動脈內膜切除術，由TF引發之凝固可導致栓塞性病徵，其可造成如：心臟發作、中風、不穩定的絞痛病、或其它冠狀動脈病徵。

栓塞亦會併發多種血栓性栓塞病徵及凝固病，分別例如肺栓塞(如：含栓塞之心房纖維顫動、深靜脈栓塞等)及散布性血管內凝固。體液之操作亦能造成非所欲之血栓，特別是在輸血或體液取樣以及包括體外循環(如：心與肺的分流手術)及滲析過程中之體液操作。

某些抗凝血劑已用於減輕或避免與栓塞相關之血凝塊。藉由適當抗凝血劑或其混合物之給藥，包含一或多種薰草素衍生物(如：殺鼠靈、及雙薰草素醇)或帶電聚合物(如：肝素、水蛭素、或赫如勞(hirulog))，時常能夠減小或消除血凝塊。參見如 Gilman et al., *supra*, R.J. Beigering et al., *Ann. Hemathol.*, 72: 177(1996); J.D. Willerson, *Circulation*, 94: 866(1996)。

某些含抗血小板活性之抗體亦已用於減輕多種栓塞。例如，ReoPro™為一種用於常規性給藥以減輕多種血栓性栓塞病徵(例如發生自血管造形術、心肌梗塞、不穩定的絞痛病、及冠狀動脈狹窄者)之治療性抗體。此外，ReoPro™可利用作為預防藥，以降低心肌梗塞及絞痛病之風險(J.T. Willerson, *Circulation*, 94: 866(1996); M.L.

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

線

五、發明說明(3)

Simmons et al., *Circulation*, **89**: 596(1994))。

然而，使用先前之抗凝血劑時常會伴隨副作用例如出血、再閉塞、「白色凝塊」徵候群、刺激、生育不全、血小板減少症、與肝機能障礙。抗凝血劑之長期給藥特別會增加發生致命疾病的風險。

蛋白質基礎的藥劑可能較安全，但通常局限於治療急性的情況，且時常限制於非經腸之給藥。由於蛋白質治療劑產生免疫反應的可能性增加相當高的製造成本及/或限制口部的生物利用性所以此類藥劑被認為較不適合於長期治療慢性疾病(例如動脈粥瘤硬化、心臟發作之主要原因)。

因此，業界希望擁有新穎之抗凝血藥劑，特別是希望擁有能夠較長期給藥之新穎之抗凝血藥劑，以治療慢性情況，例如動脈粥瘤硬化。

[發明概述]

頃已發現對於治療或預防非所欲的栓塞非常有用之醫藥活性化合物及組成物。本發明之較佳化合物係組織因子(TF)拮抗劑，其最好特異性地阻斷由人類組織因子/因子VII a 複合物所催化之人類因子X及IX之活化。亦發現利用本文所揭示的化合物及組成物治療或預防栓塞之方法。

本發明更特別之方法包含給予治療有效量之至少一種本發明的化合物或組成物藥劑。此化合物或組成物一般給予需要治療之哺乳動物，例如易感染、患有、或復元自非所欲的栓塞之人類病人，或患有、復元自、或易感染其它

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

線

五、發明說明(4)

疾病或受組織因子(例如心與血管的疾病、細胞增生病症、手術後併發症、或免疫病症)強烈影響之病症。較佳化合物及組成物亦可用於治療或預防由多種栓塞(例如本文所揭示的特別病症)強烈影響之公認病症。

本發明亦包含阻斷或抑制屬組織因子依賴性之因子 X 及/或因子 IX 之活化之方法。此類方法一般包含使組織因子與 TF 阻斷化合物接觸，藉此抑制因子 X 或因子 IX 與組織因子或 TF/VII a 形成官能複合物，最好是 TF 阻斷化合物結合至組織因子，因而抑制該官能複合物之形成。抑制或預防形成該官能複合物可具有十分廣泛的應用，包括用於治療哺乳動物之上述疾病或病症，特別是患有或易感染該等疾病或病症之人類。

本發明之較佳化合物通常於偵檢及較佳為測量由 TF 介入之血液凝塊之至少一種試驗中展現優良之阻斷活性。更特別之試驗為測量特異血凝固因子活性之標準活體外檢定，該檢定公認係於 TF 或 TF 相關複合物(例如人類 TF/VII a 複合物)存在下提供最適結果。於檢定中，視所選擇之特異檢定法而定，所提供之 TF 可為重組體分子或自天然來源純化之分子。

更特別的活體外檢定係偵檢及測量特異血凝固因子之活性，該血凝固因子於人類 TF 或人類 TF/VII a 複合物存在下具有增強之公認活性。較令人感興趣的則為測量因子 X 至 FX a 及因子 IX 至 FIX a 之 TF 依賴性活化之標準活體外檢定。此類檢定有時於本文中稱為「初級篩選檢定」或

(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)

相關術語、或慣用語例如「發現方法」，以表示於篩選化合物中之較佳檢定用途。

例如，本發明之特佳化合物於測量因子X至FXa之TF依賴性活化之初級篩選檢定中展現優良阻斷活性。此外，較佳化合物於測量因子IX至FIXa之TF依賴性活化之初級篩選檢定中展現優良阻斷活性。

需瞭解慣用語「優良阻斷活性」或相關慣用語係意指本發明化合物用於降低或抑制因子X至FXa及/或因子IX至FIXa之TF/VIIa依賴性活化之較佳利用。較佳化合物係合成或半合成的化合物，例如下述所揭示之彼等小分子化合物。下列提供關於初級篩選檢定之更特別揭示。

本發明之較佳化合物展現約 $100\mu\text{M}$ 或更少之 IC_{50} (相對於適當對照組，需要抑制約50%因子X活化之濃度)，較佳為約 $10\mu\text{M}$ 或更少。此外，較佳化合物於檢定中展現相等於或大於約70%之TF或TF/VIIa依賴性FX活化之抑制率。較佳具體實例中，初級篩選檢定包含下列所有步驟：

1)在導向形成因子Xa之條件下，摻合TF/VIIa複合物與因子X至適當檢定溶液中；

2)使溶液與偵檢標記因子Xa受質接觸；及

3)偵檢溶液中之標記產物，作為因子X活化之表示。

此初級篩選檢定之較佳利用可有效測量候選化合物降低或消除TF或TF/VIIa依賴性因子X活化之能力。此檢定一般具有彈性，且當需要時能夠精巧地操控試驗化合物

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

線

五、發明說明(6)

阻斷因子 X 活化之能力。例如，可於上述表示之任一項或多項步驟中添加候選化合物，對於多數篩選應用以在步驟 1) 添加化合物為較佳。

方法中所使用之較佳 TF/VII a 複合物包含 TF，其已暴露於導向暴露優異 TF 阻斷位置之條件中。單離及使用 TF 之更詳細條件係提供於下。

如上所提及，另一初級篩選檢定係用於測量藉由 TF 或 TF/VII a 之因子 IX 活化之標準活體外檢定。此實例中，較佳化合物於檢定中展現約 200 μ M 或更少之 IC₅₀ (相對於適當對照組，檢定中需要抑制約 50% 因子 IX 活化之濃度)，較佳為約 10 μ M 或更少。較佳具體實例中，測量因子 IX 活化之標準檢定包含下列所有步驟：

1) 在導向形成因子 FIX a 之條件下，摻合 TF/VII a 複合物與因子 IX 至適當檢定溶液中；

2) 使溶液與 FX 和偵檢標記 FX a 受質接觸；及

3) 於溶液中偵檢標記產物，作為藉由 TF/VII a 之因子 IX a 活化之表示。

於較佳具體實例中，此篩選檢定可有效測量候選化合物降低或消除因子 IX 活化之包容力或能力。檢定一般對於 FIX a 之 TF 或 TF/VII a 依賴性形成係敏感的，且能夠以多種方式使用，以測試所欲化合物阻斷因子 IX 活化之包容力或能力。例如，可於上述表示之一項或多項步驟中添加待進一步測試之化合物，對於多數篩選應用以在步驟 1) 添加化合物為較佳。本發明之典型較佳化合物在此初級篩

(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)

選檢定實例中展現優良阻斷活性。

本發明之進一步較佳初級篩選為測量外在途徑凝塊之凝血酶原時間(PT)試驗或檢定。此試驗於此領域中已標準化，且常規地用於測量生物樣品(例如血漿)中的凝塊。

本發明之更佳化合物在 PT 檢定中展現優良抑制活性。典型較佳化合物在 PT 檢定中相對於適當對照組，可增加血漿凝塊時間至少約 5%至約 10%(秒)。PT 檢定之較佳利用測量由 TF 介入之血漿凝塊時間且如下述進行：

1)在導向血漿凝固之條件下，於適當檢定溶液中提供添加檸檬酸鹽之血漿；

2)在引發血漿凝固之適當條件下，於溶液中摻合適當組織因子製劑及鈣；及

3)於溶液中測量凝塊時間，以測定凝血酶原凝塊時間(PT)。

PT 檢定之較佳利用可測量受試化合物延長凝血酶原凝塊時間之能力。PT 檢定在此領域中係已熟知，且可經一種或組合的方式使用，以測試化合物增加或阻斷凝血酶原凝塊時間之包容力或能力。

本發明之更佳化合物在上述之至少一種初級檢定(因子 X、因子 IX 活化及/或 PT 試驗)中展現優良活性。

於上述任一種或多種初級篩選檢定中，TF 或 TF/VII a 依賴性活化之優良抑制性至少在許多情形下可歸究於該化合物對 TF/VII a 及/或 FX a 活性之影響。如上所討論，本發明之較佳化合物為 TF 拮抗劑，且一般在測量由 TF 介

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明(8)

入之血凝固之較佳活體外檢定中，展現優良阻斷活性。因此通常希望將於上述一種或多種初級篩選檢定中具有優良阻斷活性之化合物，進一步於至少一種及較佳為超過一種之下述「二次篩選檢定」中進行測試。此類二次檢定有助於進一步鑑定及選擇具有所欲的 TF 拮抗劑活性之候選化合物，如：剔除具有所欲活性以外的活性之考慮化合物，例如強烈影響蛋白酶活性之化合物。

有多種二次檢定可根據本發明進行，以進一步評估於初級檢定中所鑑定之化合物，如：進一步評估於初級檢定中所鑑定之活性，或測定某些非所欲活性之存在。例如，本發明之較佳化合物又在無助於測量 TF 拮抗作用之其它二次篩選檢定中，展現實際上減小或可忽略的活性。換言之，此類二次檢定並非 TF 依賴性。此類檢定之特別實例包含被設定用於測量凝血酶、胰蛋白酶、或活化因子(例如 FX a、FIX a、或 FVII a)者。同時，較佳化合物於經活化之部份促凝血酶原激酶時間(APTT)試驗或檢定中，亦展現可忽略的活性。此類二次篩選檢定之更特殊實例見於討論及下述實施例中。

於本文所揭示之包含以上所討論之初級篩選及二次試驗之任一種或所有檢定中，候選化合物可為單一的活性藥劑或可結合待測試之其它藥劑，包含其它化合物或本發明之組成物。於此具體實例中，篩選檢定對於偵檢及較佳為化合物、藥劑、或組成物間協合作用之定量特別有用。

本文揭示對抗人類組織因子之多種抑制劑。此類化合

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

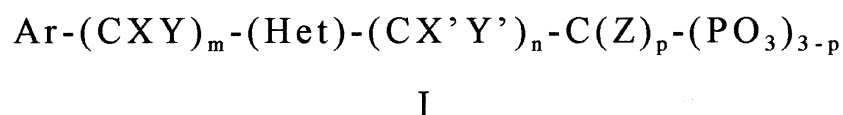
線

五、發明說明(9)

物可於本文所揭示之篩選檢定以及本發明之治療或預防方法中使用。

例如，本文揭示膦酸酯化合物，有時稱為「TF拮抗劑」、「TF阻斷化合物」、或類似慣用語。本發明之較佳化合物為小分子且不包含肽鍵聯基團者。更特別之化合物係由膦酸酯基與帽蓋(headpiece)所組成。一般而言，帽蓋經共價鍵結至膦酸酯基上，且包含或由胺基或環狀結構(例如芳基)所組成。於帽蓋包含芳基之具體實例中，帽蓋較佳藉由氮或氧原子鍵合至膦酸酯(較佳為雙膦酸酯)基上。較佳芳基為苯基，其可經以下討論之一或多個其它基團所取代。於帽蓋為胺基之具體實例中，需瞭解該化合物可以第一胺化合物為代表。

更具體而言，本發明之較佳化合物包含具有下述式 I 者：



Ar 為視情況經取代之碳環芳基、或視情況經取代之雜芳基；

Het 為視情況經取代之 N、O、或 S；

各 X、各 Y、各 X'、各 Y'、及各 Z 係各自獨立為氫；鹵素；羥基；巰基；胺基；視情況經取代之烷基，較佳具有 1 至約 12 個碳，更佳為 1 至約 6 個碳；視情況經取代之烯基，較佳具有約 2 至 12 個碳，更佳為約 2 至 6 個碳；視情況經取代之炔基，較佳具有約 2 至 12 個碳，更佳為

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (10)

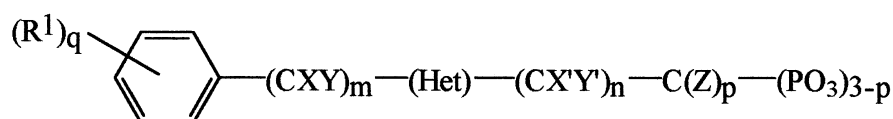
約 2 至 6 個碳；視情況經取代之烷氧基，較佳具有 1 至約 12 個碳，更佳為 1 至約 6 個碳；視情況經取代之烷硫基，較佳具有約 1 至 12 個碳，更佳為約 1 至 6 個碳；視情況經取代之烷亞磺醯基，較佳具有約 1 至 12 個碳，更佳為約 1 至 6 個碳；視情況經取代之烷磺醯基，較佳具有約 1 至 12 個碳，更佳為約 1 至 6 個碳；或視情況經取代之烷胺基，較佳具有約 1 至 12 個碳，更佳為約 1 至 6 個碳；

m 為 0(其中雜原子係直接取代於芳基上)至 4 之整數，且較佳為 0、1、或 2；

n 為 0 至 4 之整數，且較佳 n 為 1 或 2；

p 為 1(該化合物為雙膦酸酯)或 2(該化合物具有單一末端 PO_3 基團)；及其醫藥可接受之鹽類。

此外，較佳化合物包含上述式 I 中 Ar 為碳環芳基，特別是苯基者，例如下述式 II 之化合物：



II

其中 X、Y、Het、X'、Y'、Z、m、n、及 p 係與上述式 I 之定義相同；

其中各 R^1 係獨立為鹵素(F、Cl、Br、I)；胺基；羥基；硝基；羧基；巰基；視情況經取代之烷基，較佳具有 1 至約 20 個碳原子，更佳為 1 至約 10 個碳原子，又更佳為 1 至約 6 個碳原子；視情況經取代之烯基，較佳具有 2 至約 20 個碳原子，更佳為 2 至約 10 個碳原子，又更佳為

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

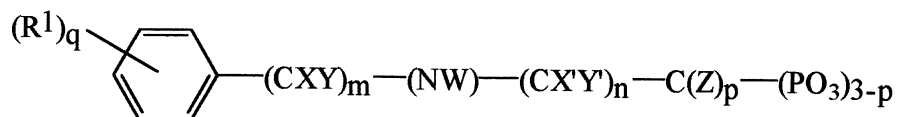
線

五、發明說明 (11)

2 至約 6 個碳原子；視情況經取代之炔基，較佳具有 2 至約 20 個碳原子，更佳為 2 至約 10 個碳原子，又更佳為 2 至約 6 個碳原子；視情況經取代之烷氧基，較佳具有 1 至約 20 個碳原子，更佳為 1 至約 10 個碳原子，又更佳為 1 至約 6 個碳原子；視情況經取代之烷硫基，較佳具有 1 至約 20 個碳原子，更佳為 1 至約 10 個碳原子，又更佳為 1 至約 6 個碳原子；視情況經取代之烷亞磺基，較佳具有 1 至約 20 個碳原子，更佳為 1 至約 10 個碳原子，又更佳為 1 至約 6 個碳原子；視情況經取代之烷磺基，較佳具有 1 至約 20 個碳原子，更佳為 1 至約 10 個碳原子，又更佳為 1 至約 6 個碳原子；視情況經取代之烷胺基，較佳具有 1 至約 20 個碳原子，更佳為 1 至約 10 個碳原子，又更佳為 1 至約 6 個碳原子；視情況經取代之烷鹽基，較佳具有 1 至約 20 個碳原子，更佳為 1 至約 10 個碳原子，又更佳為 1 至約 6 個碳原子；視情況經取代之碳環芳基；或視情況經取代之芳烷基；

q 為 0(苯環位置全以氫取代)至 5 之整數，且較佳 q 為 0、1、2 或 3；及及其醫藥可接受之鹽類。

上述式 I 及 II 之化合物中，附加之化合物包含，其中基團 Het 為視情況經取代之氮或氧者，例如具有下述式 III 及 IV 之化合物：



III

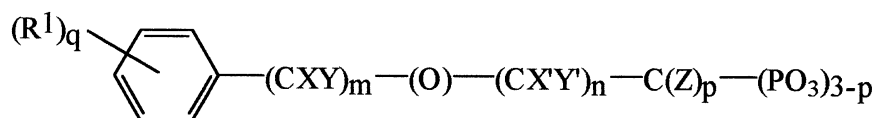
(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (12)



IV

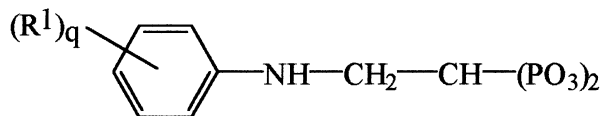
其中式 III 及 IV 之各 R^1 、X、Y、X'、Y'、Z、q、m、n、及 p 係與上述式 I 及 II 之定義相同；且 W 為氫；視情況經取代之烷基，較佳具有 1 至約 8 個碳原子，更佳為 1 至約 6 個碳原子；視情況經取代之烯基，較佳具有 2 至約 8 個碳原子，更佳為 2 至約 6 個碳原子；視情況經取代之炔基，較佳具有 2 至約 8 個碳原子，更佳為 2 至約 6 個碳原子；視情況經取代之烷氧基，較佳具有 1 至約 8 個碳原子，更佳為 1 至約 6 個碳原子；視情況經取代之烷硫基，較佳具有 1 至約 8 個碳原子，更佳為 1 至約 6 個碳原子；視情況經取代之烷亞磺醯基，較佳具有 1 至約 8 個碳原子，更佳為 1 至約 6 個碳原子；視情況經取代之烷磺醯基；視情況經取代之烷胺基；視情況經取代之烷醯基，較佳具有 1 至約 8 個碳原子，更佳為 1 至約 6 個碳原子；視情況經取代之碳環芳基；或視情況經取代之芳烷基；

式 III 之附加化合物包含氮基團為直接(未插入碳或其它原子)苯環取代基者，及式 IV 之特佳化合物包含氧為直接環取代基或存在單一亞甲基者，例如具有下述式 III a 及 IV a 之化合物：

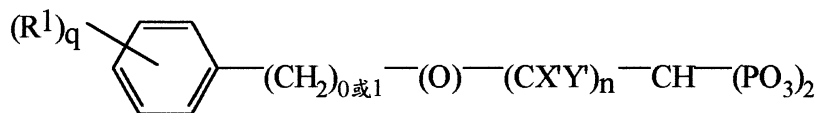
(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂 線

五、發明說明 (13)



III a



IV a

其中 R^1 、 X' 、 Y' 、 n 、及 q 係與上述式 I 及 II 之定義相同；及彼等化合物之醫藥可接受鹽類。

本發明之附加化合物結合組織因子(TF)，以至於 FX 無法有效結合至 TF/因子 VII a 複合物上，因此 FX 無法有效轉換為其活化形式(FX a)。本發明之較佳化合物可藉由有效阻斷 FX 結合或接近 TF 分子而抑制 TF 功能。例如，參見下述實施例 2 之結果。本文所用之「本發明之化合物」包含上述具有式 I、II、III、III a、IV、及 IV a 之化合物。

於較佳方面，本發明提供抑制哺乳動物血凝固及血凝塊形成之方法、抑制哺乳動物凝血酶產生之方法、及治療或預防哺乳動物血栓性栓塞病症之方法。本發明之方法一般包括給予哺乳動物(例如靈長類動物，特別是人類)治療有效量之本發明化合物。

本發明之化合物對減輕受組織因子(TF)影響之多種疾病特別有用。術語「強烈影響」表示根據公認的檢定或試驗，由於 TF 之存在，疾病之嚴重性或持續時間增加。特別疾病包含栓塞，特別是預防或抑制再狹窄，或於侵入性醫學程序例如動脈或心臟的手術(如：血管造形術、動脈

(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)

內膜切除術)後之其它栓塞，包含預防與矯形外科或其它手術相關之深靜脈栓塞。本發明之化合物亦能使用於減小或甚至有效消除發生自使用醫學植入裝置(如：導管、移植膜、動脈與靜脈的分流器、或其它醫學裝置)之血凝固。本發明之化合物亦有用於預防心肌梗塞之長期風險。本發明之化合物亦有用於治療栓塞情況，其係與急性前骨髓細胞性白血病、糖尿病、多發性骨髓瘤、與敗血病休克相關之散布性血管內凝固、與感染相關之暴發性紫癍病、成年呼吸痛苦徵候群、不穩定的絞痛病、及與主動脈瓣或血管補缺術相關之栓塞併發症等相關。

本化合物之附加用途包含治療動脈粥瘤硬化、炎症、及作為抗血管原藥劑，尤指治療癌症，特別是固體癌症，例如存在肺、胸、肝、腦、或其它組織中之癌症之用途。

本發明之化合物亦能於哺乳動物(特別是人類患者)之體外循環中作為抗凝血劑用。此類方法中，係於較早或於體外循環(例如可發生於心與肺的分流手術、器官移植片手術、或其它長時間手術)期間給予哺乳動物足夠抑制血流凝固之量之一種或多種本發明化合物。

本發明之化合物亦能使用於活體內診斷方法，包含病人之活體內診斷成像。

本發明之化合物亦能使用於活體外檢定，如：選擇性地抑制因子X活化。本發明之此類檢定有用於測定病人具有血凝固或血凝塊之存在或可能性。

本發明亦提供包括有效量之一種或多種本發明之化合

(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)

物及醫藥可接受之載體之醫藥組成物。

本發明之其它方面討論如下。

[圖示簡單說明]

第 1 圖為下述實施例所使用篩選檢定之流程圖。

第 2(a)、2(b)、2(c)及 2(d)圖揭示下列實施例之結果。

第 3 圖表示藉由某些本發明 TF 拮抗劑，即化合物 1、2、3、4 及 5 之 IC_{50} 值及蛋白酶活性抑制率之圖表。標示「佛薩麥(Fosamax)」之化合物係以化學式 NH_2 -雙膦酸酯表示。

第 4 圖表示在凝血酶原時間(PT)檢定中，特殊 TF 拮抗劑(化合物 1 及 2)之效果之圖表。

第 5 圖表示在 TF/VII a 依賴性活化檢定中，化合物 1 對 FX 的 K_m 值之影響之圖表。

第 6 圖表示化合物 1 對 TF/VII a 依賴性 FX 活化之抑制率曲線圖。檢定中 FX 濃度為 30nM。

第 7 圖表示化合物 1 對 TF/VII a 依賴性 FX 活化之抑制率曲線圖。檢定中 FX 濃度為 5nM。

[發明之詳細說明]

如上所討論，本發明之特徵為化合物，例如醫藥活性化合物，及尤其是利用或包括一種或多種該化合物之醫藥組成物。較佳化合物為藉由本文揭示的標準活體外篩選檢定所測定之有效 TF 拮抗劑。特佳化合物對於治療或預防非所欲之栓塞非常有用。本發明具有包含用於篩選具有顯著 TF 拮抗活性之候選化合物之寬廣應用譜。

(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)

如上所討論，本發明之較佳化合物及組成物在至少一種且較佳為所有初級篩選檢定(因子 X 或因子 IX 之 TF 或 TF/VII a 依賴性活化、及 PT 檢定)中，為展現顯著阻斷活性之優良 TF 拮抗劑。特佳化合物於先前討論之經活化之部份促凝血酶原激酶時間(APTT)檢定中不展現顯著之阻斷活性。更佳者為在下述討論之其它二次檢定中，例如用於測量胰蛋白酶、凝血酶、因子 X a、因子 IX a、及因子 VII a 活性之檢定中，表現不顯著之活性之本發明化合物。

本文揭示之標準活體外檢定為此領域所熟知，且一般為可彈性調整。再者，該類檢定可方便操作以偵檢及定量所需之 TF 拮抗活性。在具有優良抗血小板活性、抗溶解血栓活性、或抗凝血活性之其它治療性或實驗藥劑存在下，該類檢定一般適合於測試本發明化合物或組成物。此外，該類檢定可與公認的抗 TF 抗體用於測試效果。在此具體實施例中，標準活體外檢定於偵檢及較佳為測量本發明化合物或組成物展現之顯著合作或協同效果特別有用。

先前討論之初級篩選檢定的更特別實例係如下述。該檢定係用於測量 TF/VII a 依賴性因子 X 活化作用之基準。較佳化合物在檢定中展現少於約 $100\ \mu\text{M}$ 之 IC_{50} ，且較佳為少於約 $10\ \mu\text{M}$ ，以作為檢定中優良阻斷活性之例證。更佳具體實例中，初級篩選較佳包含下列步驟：

1)於適當檢定溶液中，摻合約 0.1nM 人類重組體 TF/VII a 複合物(經脂化)、約 180nM 人類 FX、及介於約 0.5 微升至約 10 微升間的至少一種欲測試之化合物(視情況溶

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

線

五、發明說明 (17)

解於適當的賦形劑中，例如水或二甲亞砜(DMSO)，且於 37℃ 將反應保溫數分鐘至多達約一小時或一小時以上；

2)使溶液與適當鉗合劑(例如伸乙二胺四乙酸(EDTA))接觸，以降低或終止因子 X 活化；

3)使溶液與可偵檢量之 FX a 特異性色原受質(如光譜酶(Spectrozyme)FX a 或 S-2756)接觸，且於 37℃ 保溫；及

4)偵檢溶液中所產生之發色團，作為因子 X 活化之表示。

本文論及之「用於測量 TF/VII a 依賴性因子 X 活化之標準檢定」或類似慣用語最好參照上述步驟 1)至 4)。於下述實施例 2 中可發現關於該檢定之更詳細揭示，其中用於測量 TF/VII a 依賴性因子 X 活化之標準檢定，係經特別更改使適合於 405nm 處 FX 產生之發色團之光譜偵檢。

用於本方法之較佳 TF/VII a 複合物包含暴露於適合展現優良 TF 阻斷位置條件之 TF。該 TF 分子可經由一種或組合之方式獲得。在一種方法中，人類 TF 可自過度產生的永存細胞系或由人腦衍生的丙酮粉末而獲得。TF 較佳於存在至少一種非離子清淨劑，例如 TRITON® X-100(聚氧乙烯基(10)異辛基苯基醚)，並在鹽類及 pH 之適度條件下(如：100mM NaCl 及 pH 8.0)予以單離。非離子清淨劑之較佳量係依意指用途而不同，但通常用量係介於約 0.05%至約 0.5%(w/v)之間。參見下述實施例之「一般解說」以得到關於單離人類 TF 之更詳細資訊。

此外，較佳 TF 係暴露於測量 TF/VII a 依賴性因子 X

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

表

訂

線

五、發明說明(18)

活化用標準檢定之條件。參見下述實施例 2 以得到關於彼標準檢定之更詳細揭示。

此外，本發明之較佳化合物於測量 TF/VII a 依賴性因子 IX 活化之其它初級篩選檢定中展現優良阻斷活性。較佳化合物在檢定中展現少於約 $200 \mu\text{M}$ 之 IC_{50} ，且較佳為少於約 $10 \mu\text{M}$ ，以作為檢定中優良阻斷活性之例證。於更特別之具體實例中，標準檢定較佳包含下列步驟：

1) 於適當檢定溶液中，摻合約 0.7nM TF/VII a 複合物與 300nM 因子 IX 和 1000nM 因子 X、及介於約 0.5 微升至約 10 微升間的至少一種欲測試之化合物(視情況溶解於適當的賦形劑中，例如水或二甲亞砜(DMSO))，且在適合形成 FIX a 及 FX a 之條件下，於 37°C 保溫該溶液約數分鐘至多達約一小時；

2) 使溶液與適當鉗合劑(例如 EDTA)接觸，以終止 FIX 活化；

3) 使溶液與 FX a 特異性色原受質(如光譜酶 FX a)接觸，且於 37°C 保溫；及

4) 偵檢溶液中之發色團，作為因子 IX 活化之表示。

本文論及之「用於測量 TF/VII a 依賴性因子 IX 活化之標準檢定」或類似慣用語可詳細參照上述步驟 1) 至 4)。參見下述實施例 2 中經更改使適合於 405nm 處較佳發色團的光譜偵檢之標準檢定的更詳細說明。

下述第 3 圖中之表表示本發明特定 TF 拮抗劑(即化合物 1、化合物 2、化合物 3、化合物 4 及化合物 5)與佛薩

(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)

麥之詳細 IC_{50} 值。由測量 TF/VII a 依賴性因子 X 活化及 TF/VII a 依賴性因子 IX 活化之標準檢定可測出該值。如第 3 圖之表中所見，此等化合物在此等檢定中提供優良阻斷活性。

如上所討論，本發明之較佳化合物在 PT 檢定中又展現優良之凝塊時間抑制率，相對於適當對照組，較佳增加凝塊時間約 20% 至至少 100%，且更佳為約 20% 至至少 500%。凝塊時間通常以秒測量。較佳之 PT 檢定一般係藉由添加適量(如約 1 至 3nM)經脂化的組織因子至包含習知添加檸檬酸鹽血漿之檢定溶液中進行之。PT 檢定測量由 TF 介入之血漿凝塊時間，且較佳遵照下述步驟而進行：

1) 在適當檢定溶液中提供約 0.1 毫升添加檸檬酸鹽之血漿，將前者與介於約 0.5 微升至 10 微升間的至少一種欲測試之化合物(視情況溶解於賦形劑中，例如水或二甲亞砜(DMSO))結合，且在室溫下保溫約 3 至 10 分鐘；

2) 摻合約 0.2 毫升(約 1 至 3nM 重組體人類組織因子)及約 5 至 10mM 鈣至溶液中以引發血漿凝固；及

3) 測量血漿凝塊時間以測定凝血酶原凝塊時間(PT)。

本文論及之「標準 PT 檢定」或類似慣用語或術語可詳細參照上述步驟 1) 至 3)。亦可參見 *Williams Hematology*, 5th Ed.(Beutler, E. et al. Eds.) McGraw-Hill, Inc. Health Professions Div., New York，作為更多關於進行 PT 檢定之特別揭示。

如上所提及，本發明提供多樣檢定，用於偵檢及較佳

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

五、發明說明 (20)

為測量本發明之較佳化合物拮抗優良 TF 活性之能力。亦如上所討論，某些標準活體外篩選檢定於本文中有時稱為「二次篩選檢定」，以表示一種或多種或所有前述提及的初級篩選檢定之較佳用途。該等特別的二次篩選檢定結合一種或多種初級篩選檢定之實施，可提供特徵為優良抗 TF 活性的廣譜之有用化合物。

本文揭示之二次篩選檢定包含適合偵檢及較佳為測量因子 VII a(FVII a)、因子 IX a(FIX a)、因子 X a(FX a)、凝血酶、胰蛋白酶、或拉塞耳氏(Russell's)蛇毒(RVV)之催化活性者。多數實例中，此等檢定之最佳實施不需要添加 TF。本發明之較佳化合物為特異性 TF 拮抗劑，且在此等檢定中一般可展現實際上降低或可忽略的活性。二次篩選試驗結合先前討論的初級及較佳二次篩選檢定之實施，有助於選擇展現高度特異性的抗 TF 活性之較佳化合物。關於此等二次篩選檢定，本文論及之「降低」或「可忽略」活性係表示由適當對照組(例如水或 DMSO)所展現之約 2%至約 10%的活性。

如上所討論，本發明提供廣譜之醫藥活性化合物及組成物，其有用於治療或預防非所欲之栓塞。較佳化合物為組織因子(TF)拮抗劑，且最好可特異性地阻斷由人類組織因子/因子 VII a 複合物所催化之人類因子 X 與 IX 之活化。本發明之例證化合物包含上述定義之式 I、II、III、III a、IV、及 IV a 之抗凝血劑膦酸酯。

本發明之例證化合物為雙膦酸酯，亦即上述諸式中 p

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

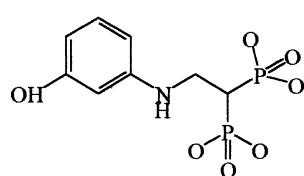
訂

線

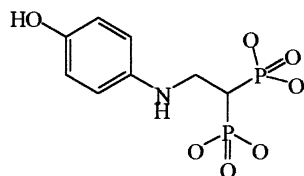
五、發明說明 (21)

為 1 且存在兩個 PO_3 基團之化合物。上述諸式之較佳 R^1 環取代基包含羥基、鹵素、烷基(例如 C_{1-6} 烷基)、胺基、及烷胺基(例如單或二(C_{1-4})烷基)。較佳 W 基團(視情況之胺基取代基)包含氫及視情況經取代之烷基，特別為 C_{1-6} 視情況經取代之烷基。較佳 X、Y、X'、Y'、及 Z 基團包含氫及視情況經取代之烷基，特別為 C_{1-6} 視情況經取代之烷基。

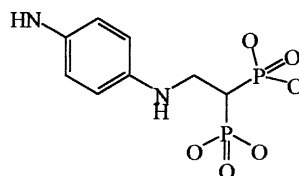
本發明之附加化合物包含下述化合物 1 至 6，及彼等化合物的醫藥可接受之鹽類。下列化合物 1、2 及 6 為特別佳。本發明所有揭示內容中均使用命名 1 至 6 之彼等化合物，且係指如下所示結構之特定化合物。



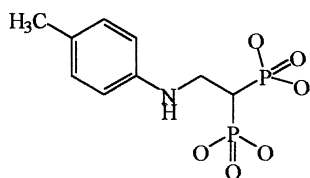
1



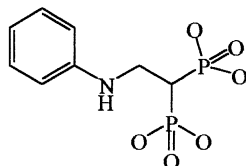
2



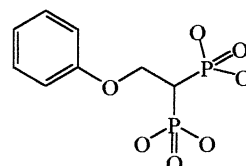
3



4



5



6

本發明化合物(包含如上所定義之式 I、II、III、III a、IV、及/或 IV a 之化合物)之適當鹵素取代基團為 F、Cl、Br、及 I。本文所用之烷基術語除非另行修正，否則係指環狀及非環狀基團，而環狀基團含有至少三個碳環原子。一般

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

線

五、發明說明 (22)

以脂環烷基為較佳。本發明之化合物中烯基及炔基具有一或多個不飽和鍵聯，一般為 1 至約 3 或 4 個不飽和鍵聯。本文所用之烯基及炔基術語亦指環狀及非環狀基團，而一般以直鏈或分支鏈之非環狀基團為更佳。本發明化合物之烷氧基具有一或多個氧鍵聯，一般為 1 至約 5 或 6 個氧鍵聯。本發明化合物之烷硫基具有一或多個硫醚鍵聯，一般為 1 至約 5 或 6 個硫醚鍵聯。本發明化合物之烷亞磺基具有一或多個亞磺基(SO)鍵聯，一般為 1 至約 5 或 6 個亞磺基鍵聯。本發明化合物之烷磺基具有一或多個磺基(SO₂)鍵聯，一般為 1 至約 5 或 6 個磺基鍵聯。本發明化合物之較佳烷基包含具有一或多個一級、二級、及/或三級胺基，較佳為 1 至約 3 或 4 個胺基之基團。適合的烷基具有一或多個羰基，一般為 1 至約 4 或 5 個羰基。烷氧基、烷硫基、烷亞磺基、烷磺基、烷基、及其它基團可適當地為線型或支鏈型。本文所使用之碳環芳基為具有 1 至 3 個不相連的環或稠環及 6 至 18 員碳環之非雜芳基，且可包含如苯基、萘基、聯苯基、萘基、菲基等。較佳為苯基及萘基。適合的雜芳基具有 1 至 3 個環，各環為 3 至 8 員環，及具有 1 至約 3 個雜原子(N、O、或 S)。特別適合的雜芳基包含如噻吩基、呋喃基、吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、咪唑基、吡咯基、噻吩基、噻唑基、噁唑基、咪唑基、吡嗪基、及苯并噻唑基。

如上述所定義諸式之式 I、II、III、III a、IV、及/或

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

線

五、發明說明 (23)

IV a 之化合物較佳具有作為苯環上之對位取代基存在之 R^1 基團。

如上述所討論之 R^1 、W、X、Y、X'、Y'、氮「Het」基團及 Z 基團皆為視情況經取代者。可存在於「經取代」之 R^1 、W、X、Y、X'、Y'、Het 及 Z 取代基上之適當基團包含如：鹵素，例如氟、氯、溴、及碘；氫基；羥基；硝基；疊氮基；巰基；烷醯基，如 C_{1-6} 烯基(例如乙醯基等)；羧胺基；烷基，包含具有 1 至約 12 個碳原子，較佳為 1 至約 6 個碳原子之彼等基團；烯基及炔基，包含具有一或多個不飽合鍵聯，及 2 至約 12 個碳原子，較佳為 2 至約 6 個碳原子之基團；烷氧基，具有一或多個氧鍵聯，及 1 至約 12 個碳原子，較佳為 1 至約 6 個碳原子；烷硫基，包含具有一或多個硫醚鍵聯，及 1 至約 12 個碳原子，較佳為 1 至約 6 個碳原子之部份；烷亞磺醯基，包含具有一或多個亞磺醯基鍵聯，及 1 至約 12 個碳原子，較佳為 1 至約 6 個碳原子之部份；烷磺醯基，包含具有一或多個磺醯基鍵聯，及 1 至約 12 個碳原子，較佳為 1 至約 6 個碳原子之部份；胺烷基，例如具有一或多個 N 原子，及 1 至約 12 個碳原子，較佳為 1 至約 6 個碳原子之基團；具有 6 或更多個碳之碳環芳基，特別是苯基；芳氧基，例如苯氧基；具有 1 至 3 個不相連的環或稠環及 6 至約 18 個碳環原子之芳烷基，較佳基團為苯甲基；具有 1 至 3 個不相連的環或稠環及 6 至約 18 個碳環原子之芳烷氧基，較佳基團為 O-苯甲基；或雜芳基或雜脂環基，具有各環係

五、發明說明 (24)

3 至約 8 員及一或多個 N、O 或 S 原子之 1 至 3 個不相連的環或稠環，如：薰草基、喹啉基、吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、呋喃基、吡咯基、噻吩基、噻唑基、噁唑基、咪唑基、吡嗪基、苯并呋喃基、苯并噻唑基、四氫呋喃基、四氫嘧啶基、六氫吡啶基、嗎啉基、及吡咯啶基。本發明化合物之「經取代」之 R¹、W、X、Y、及 Z 取代基，可由一或多個適合的基團(例如直接詳列如上者)，取代於一或多個可利用的位置上，一般為 1、2 或 3 位置。

本發明化合物可由此項技藝中一般悉知之步驟予以製備。例如，式 I 的磷酸類可由形成相對應的烷基二酯後轉化為二酸而製備，如：以溴三甲矽烷處理二酯，接著使中間體進一步反應以提供本發明之化合物。參見例如，C. R. Degenhardt et al., *J. Org. Chem.*, 51: 3488-3490(1986); I. S. Alfer et al., *Izv. Akad. Nauk SSSR*, 1122-1126(1984); I. S. Alfer et al., *Izv. Akad. Nauk SSSR*, 2802-2806(1983); 及美國專利 5,728,650 號案。亦參見下述實施例 1。

本文論及之「TF 阻斷化合物」、「TF 拮抗劑」、或類似術語一般包含本文所揭示之在至少一種初級篩選檢定(例如 PT 檢定)中，可展現優良阻斷活性之彼等化合物。更特別的 TF 阻斷化合物可特異性地結合 TF。就理論而言，在沒有預期之情形下，化合物一般認為可經由足以分別降低或阻斷對 FX 或 FIX 活化的方式，而阻斷 FX 或 FIX 結合至 TF。

本文論及之組成物的「治療有效量」係指對宿主(例

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

表

訂

線

五、發明說明 (25)

如哺乳動物，尤其是靈長類動物，例如人類病人)產生所欲效果之量。較佳可使用熟習此領域人士悉知的多個終點(end-points)追蹤該效果。例如，所欲之效果係如經由增強心臟功能及尤其是受驗者血管中之血流，測得之心與血管功能之增加或穩定。此等影響可被追蹤及通常依據治療效果，(如：改善心與血管的功能、減輕一種或多種表示危及心臟功能或相關血管分布功能之症狀)的觀點、或其它詳述生理檢定予以測量。本發明並未意謂包含於此等特殊方法中，意謂順應特殊施用(例如栓塞、癌、或動脈粥瘤硬化)之更多方法，對此領域中熟習的工作者而言係為明顯的。

如上所討論，本發明之化合物可對哺乳動物，較佳為靈長類動物例如人類給藥，以預防或減少栓塞。本發明化合物有用的治療法包含治療或預防靜脈栓塞及肺栓塞、動脈栓塞如：心肌局部缺血、心肌梗塞、不穩定的絞痛病、與栓塞相關的中風、及末梢動脈栓塞。本發明之化合物亦可用於治療或預防動脈粥瘤硬化性疾病，如：冠狀動脈疾病、大腦動脈疾病、及末梢動脈疾病。參見如 Wilde, R. G. et al. *Bioinorganic & Medicinal Chemistry Letters* 167-172(1995)。本發明之化合物亦可用於包括人工器官、心瓣、醫學植入裝置(如內在裝置，例如導管、移植膜等)等之抗凝血治療。本發明之化合物亦可用於治療涉及血凝固相關病症之其它病症或疾病，如：癌、炎性疾病(特別是關節炎)、與糖尿病。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂
線

五、發明說明 (26)

於特定之報告中，一種或多種化合物亦可當作唯一的治療藥劑給藥。或者，本發明之化合物可與其它治療藥劑共同給藥，如經引導使於血凝固機制中相互作用之醫藥，例如鏈球菌激酶、組織血纖維蛋白溶酶活化因子(tPA)、尿激酶、及可溶解凝塊之其它藥劑。本發明之化合物亦可與例如一種或多種其它抗凝血劑(如：肝素、水蛭素、或赫如勞)、或抗血小板(如：ReoPro 或阿斯匹靈)之其它藥劑給藥。於此等組合治療中，在給予一種或多種其它適當抗凝血劑、抗血小板、溶解血栓或其它藥劑之前或之後，可以本發明化合物給藥，以增加或延長所欲之抗凝固活性。

本發明之化合物可經由鼻內、口服、或注射(如：肌內、腹膜內、皮下、或靜脈內注射)、或經皮、眼內、經腸的方式給藥。靜脈內或非經腸的給藥法包含如：皮下、腹膜內、或肌內給藥。一般較佳為口服給藥法。最適劑量可以習知方式決定。本發明之化合物適合以質子化及水溶性形式對受驗者給藥，如有機或無機酸之醫藥可接受鹽類，如：鹽酸鹽、硫酸鹽、半硫酸鹽、磷酸鹽、硝酸鹽、乙酸鹽、草酸鹽、檸檬酸鹽、順丁烯二酸鹽、甲磺醯鹽等。

本發明之化合物可單獨或組合一種或多種如上述討論的其它治療藥劑，與習知賦形劑混合成為醫藥組成物使用，該賦形劑即適合施用於非經腸、經腸、或鼻內之醫藥可接受有機或無機載體物質，不會與活性化合物產生有害反應且對其接受者為無害。

(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)

適合的醫藥可接受載體包含但不局限於水、鹽類溶液、醇、植物油、聚乙二醇、明膠、乳糖、直鏈澱粉、硬酯酸鎂、滑石、矽酸、黏性石蠟、香料油、脂肪酸單甘油酯與二甘油酯、石油醚脂肪酸酯、羥甲基纖維素、聚乙烯吡咯啉酮等。醫藥製劑可被滅菌，且若需要可與輔助劑混合，如：潤滑劑、防腐劑、安定劑、潤濕劑、乳化劑、影響滲透壓的鹽類、緩衝劑、著色劑、調味劑、及/或芳烴物質等，其不會與活性化合物產生有害反應。

對於非經腸的施用特別適合者為溶液(較佳為油性或水溶液)，以及懸浮劑、乳劑、或包含栓劑之植入物。安瓿為方便的單位劑量。

對於經腸的施用，特別適合者為具有滑石及/或糖載體黏合劑等之片劑、糖衣錠、或膠囊，其中載體較佳為乳糖及/或玉米澱粉及/或馬鈴薯澱粉。可利用其中使用甜味賦形劑之糖漿、酏劑等。持續性釋放組成物可調配成包含以差異分解性包衣(如：微膠囊化、多重包衣等)保護活性成分者。

合適的給藥調配物之討論一般參見 *Remington's Pharmaceutical Sciences*, (Mack Publishing Co., Easton PA, (1980))。

需瞭解所提供治療使用的活性化合物之實際較佳量係根據下列而改變：利用的特殊化合物、調配的特別組成物、施用的方式、給藥的特定位置等。熟習此項技藝人士對於所提供給藥報告之最適給藥可使用遵照前述指標的習知劑

(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)

量測定試驗迅速確定。一般而言，一種或多種式 I 化合物之適當有效劑量為每天每公斤接受者體重可介於約 0.01 至 100 毫克間，較佳為每天每公斤接受者體重可介於約 0.01 至 20 至 50 毫克間。

本文所提及的全部文件係完全合併作為全體的參考文獻。

下述非限定之實施例可說明本發明。

[一般解說]

以下的實施例中，可從酶研究實驗室公司 (Enzyme Research Laboratories Inc.) 獲得純化的人類因子 VII a、IX、與 X、凝血酶、及拉塞耳氏蛇毒。胰蛋白酶係得自 Boehringer Mannheim。色原受質 S-2222、S-2288、S-2238、及 S-2765 係得自 DiaPharma Group 公司，及光譜酶 FX a 係得自 American Diagnostica 公司。截斷的重組體人類組織因子 (如由 243 個胺基酸所組成) 係於 *E. coli* 中表現，及以免疫親和性層析術純化。較佳之截斷重組體人類組織因子缺乏細胞質區域。天然人類 TF 係從人類癌細胞系 J82，以含有 0.1M NaCl、1mM EDTA、0.3% Triton X-100 之 50mM Tris-HCl、pH 8.0 萃取而得。其它來源之天然 TF 係從動物大腦丙酮粉末，以相同的緩衝劑萃取而得。其它全部試劑均得自 Sigma。

實施例 1：1-(雙膦酸根)-2-胺基(3-羥苯基)乙烷製劑(上述化合物 1)

可遵照 Degenhardt et al., *J. Org. Chem.*, 51 : 3488-

五、發明說明 (29)

3490(1986)之方法製造該化合物。簡言之，將三聚甲醛(104.2 克，3.47 莫耳)及二乙胺(50.8 克，0.69 莫耳)結合於 2 升甲醇中，加熱混合物至澄清。將熱移除，添加 $\text{CH}_2(\text{PO}_3(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2)_2$ (200 克，0.69 莫耳)。將混合物迴流 24 小時，接著添加另外 2 升甲醇，在 35°C 及減壓下濃縮溶液。添加 1 升甲苯至濃縮物中，濃縮生成之溶液，重覆添加甲苯及濃縮。將生成之中間物接著溶於 1 升無水甲苯中，添加對甲苯磺酸單水合物(0.5 克)，迴流混合物。移除生成之甲醇，例如藉由丁-斯達克(Dean-Stark)阱或分子篩。14 小時後，濃縮溶液，以氯仿稀釋，以水(2×150 毫升)洗滌，經 MgSO_4 乾燥後而濃縮。若需要，可純化生成之化合物 $(\text{CH}_2 = \text{C}(\text{PO}_3(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2)_2)$ ，例如蒸餾。化合物 $\text{CH}_2 = \text{C}(\text{PO}_3(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2)_2$ 可接著如所需予以反應以提供本發明化合物。特別是可與 NH_2 (3-羥苯基)經由麥可反應(Michael reaction)而提供標題化合物， $\text{CH}_2 = \text{C}(\text{PO}_3(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2)_2$ 。磷酸二酯藉由以溴三甲矽烷處理可轉換為二酸(參見如 Morita et al., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 54: 267(1981))。

實施例 2：篩選

對於抑制組織因子/因子 VII a(TF/VII a)之化合物之初級篩選，係根據 TF/VII a 依賴性 FX 活化作用檢定法(參見第 1 圖之流程圖)。此檢定中，TF/VII a 複合物活化 FX 之能力係於兩個不連續階段測定。第一階段(FX 活化)中，不活性 FX 藉由 TF/VII a，於磷脂及鈣存在下，轉換為活性酶形式(FX a)。第二階段(FX a 活性檢定)中，在指示時間添

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

線

五、發明說明 (30)

加 EDTA 至 FX 活化混合物中以鉗合鈣，因此導致終止 FX → FX a 轉換。TF/VII a 活性係需要鈣的，接著經由對 FX a 具特異性之色原受質(例如 S-2222、S-2756、或光譜酶 FX a)測量 FX a 活性。於初級篩選中，將得自先前製備之化學庫之化合物在 TF/VII a 依賴性 FX 活化檢定中，以相當高濃度(~0.833mM)先進行試驗，以鑑定出可能的 TF 途徑拮抗劑(參見第 1 圖)。然而，於此酶偶合檢定中，化合物對於 TF/VII a 依賴性 FX 活化之抑制作用，可明顯歸究於化合物對 TF/VII a 及/或 FX a 活性之影響。因此，二次篩選試驗係為測定抑制如何發生及抑制機制而設計。於二次篩選實驗中，係測試由初級篩選鑑定出之化合物對於因子 VII a(FVII a)、因子 IX a(FIX a)、因子 X a(FXa)、凝血酶、拉塞耳氏蛇毒(RVV)、及胰蛋白酶之催化活性之影響。可進行另外的試驗(例如 TF/VII a 依賴性因子 IX 活化檢定及凝血酶原時間(PT)檢定)確定所欲之活性，並進行二次試驗進一步選擇具有優良 TF 拮抗活性而未展現非所欲活性之化合物。

A. 初級篩選：TF/VII a 依賴性 FX 活化

初級檢定係使用 TF/VII a 依賴性 FX 活化檢定，在 96 個凹槽板上進行二重複。將被篩選的所有化合物皆溶於二甲亞砜(DMSO)中，其它試劑在 25mM HEPES-NaOH、5mM CaCl₂、150mM NaCl、0.1%BSA、pH 7.5 中製備或稀釋。對使用 TF 之檢定而言，純化的人類重組體 TF(100nM)在 50mM Tris-HCl、pH 7.5、0.1%牛血清白蛋白(BSA)中，以

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂
線

五、發明說明 (31)

磷脂醯膽鹼(0.07 毫克/毫升)及磷脂醯絲胺酸(0.03 毫克/毫升)，於 37°C 先進行脂化 30 分鐘。接著結合等體積之 100nM 經脂化的 TF 及 100nM FVII a 製備 TF/VII a 複合物之儲備溶液。將複合物於 37°C 保溫 30 分鐘，接著將其均分成數份且存放於 -70°C 下以於未來使用。

篩選檢定係將 5 微升之各化合物(約 10mM，於 DMSO 中)或 DMSO 置於 96 個凹槽板之各凹槽中，接著添加 45 微升 TF/VII a 複合物(0.1nM)。以吸量管尖或是藉由在 Lab-Line 滴定板振動器上振動凹槽板 30 秒混合各凹槽中的成分。於 37°C 保溫凹槽板 15 分鐘後，添加 10 微升人類 FX(180nM)至各凹槽中且如上述混合。然後將該板於 37°C 保溫 3 至 15 分鐘，接著添加 10 微升 EDTA(400mM，於 144mM HEPES、864mM NaCl、0.576%BSA 中 pH 調節至 7.5)至各凹槽中以終止 FX 活化。添加 10 微升 FX a 受質(5mM 光譜酶 FX a、或 3.2mM S-2765)至各凹槽以測量 FX a 活性。該板如上述混合，在 37°C 保溫約 15 分鐘後，以 20 微升 50%乙酸終結 FX a 活性。然後以 ELISA 讀數讀取 405nm 處之吸收率。OD_{405nm} 值轉移至微軟試算表(Microsoft Excel)檔案上且以下式計算 TF/VII a 依賴性 FX 活化之抑制百分率：

$$\% \text{抑制率} = 100 - (100 \times A/B)$$

其中 A 及 B 分別為存在及缺乏化合物下之 OD 值。將 TF/VII a 依賴性 FX 活化表現等於或大於 70%抑制率之任一種化合物，指派作為二次篩選試驗之候選物。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (32)

B. 二次篩選

於初級篩選中鑑定出之彼等化合物以 10、50 或 100 倍之稀釋濃度(參見第 1 圖之流程圖)，在 TF/VII a 依賴性 FX 活化檢定中重覆試驗。在稀釋濃度中未能表現顯著抑制率(顯示其抑制作用不具特異性或非常微弱)之化合物即不再進一步試驗。將在稀釋濃度中抑制 TF/VII a 依賴性 FX 活化之化合物，進一步試驗其對抑制下列蛋白酶、胰蛋白酶、RVV、凝血酶、FX a、FVII a、及 FIX a 的活性之能力。目標為鑑定出能特異性地防止 FX(及 FIX)結合至 TF/VII a 複合物上，或妨礙 TF 及 VII a 交互作用以致於阻斷 FX(及 FIX)活化之化合物。然而，具有廣泛能力(不具特異性)而抑制多種蛋白酶活性之彼等化合物即不再進一步研究。選擇出符合特定準則(換言之，以低濃度(<0.1mM)抑制 TF/VII a 依賴性 FX 活化，但對於蛋白酶活性無顯著影響)之化合物，包含化合物 1 及 2(其結構示於上)，鑑定其為強 TF 拮抗劑並進一步加以研究。

實施例 3：本發明之化合物對於 FVII a、FX a、凝血酶、及胰蛋白酶之影響

欲測試化合物 1 及 2 是否抑制凝固蛋白酶及胰蛋白酶，可進行下述檢定。

A. FVII a 活性檢定

因子 VII a(FVII a)活性或 TF 及 VII a 交互作用的影響之測定，於 TF 存在下，係使用 FX 及小肽(色原)受質，於缺乏 TF 下，則使用 FX 作為受質。使用對 FVII a 具特異性之

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

線

五、發明說明 (33)

色原受質 S-2288 之檢定係直接測量化合物對 FVII a 催化活性之影響。此檢定中，先使 55 微升 TF/ FVII a 複合物(含有 10nM TF 及 10nM VII a)與 5 微升 DMSO(或經稀釋之 DMSO)或化合物，在 96 個凹槽板中，於 37°C 保溫 15 分鐘，接著與 20 微升 8mM S-2288 摻合。反應於 37°C 保溫 1 至 2 小時。以 20 微升 50%乙酸終結反應後，測量 405nm 處之吸收率。由缺乏及存在化合物下之 OD_{405nm} 值，計算 TF/VII a 活性之抑制百分率。結果如表 1(第 2(a)圖)所示並顯示化合物 1 及 2 對於 TF/VII a 對 S-2288 之催化活性未具有顯著的影響，表示此類化合物未結合至 FVII a 之活化位置上，也未妨礙 TF 及 VII a 交互作用。若此二化合物結合至 VII a 活化位置或防止 TF 及 VII a 形成活化複合物，則可預期彼等將抑制 TF/VII a 對 S-2288 之活性。

B. FX a 活性檢定

在任何化合物均不存在下，FX 藉由 TF/VII a 複合物而轉化為 FX a。因此，在 50 毫升管中添加 54 微升 TF/VII a(50nM)至 27 毫升緩衝液。接著添加 6 毫升 FX (180nM)，且於 37°C 保溫 15 分鐘。添加 6 毫升 EDTA 次終止 FX 活化。將 5 微升化合物或 DMSO 置於 96 個凹槽板之各凹槽中，進行二重複，然後添加上述產生之 65 微升 FX a 至各凹槽中且混合之。在 37°C 保溫 15 分鐘後，添加 10 微升 FX a 受質光譜酶 FX a，於 37°C 保溫 20 分鐘。添加 20 微升 50%乙酸後，接著測量 405nm 處之吸收率。由缺乏及存在化合物下之 OD_{405nm} 值，計算 FX a 活性之抑制百分率。表 1(第

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

線

五、發明說明 (34)

2(a)圖)所示結果表示化合物 1 及 2 未抑制 FX a 活性，暗示 TF/VII a 依賴性 FX a 活化之抑制並非由於此二化合物對 FX a 活性之抑制。

C. 凝血酶活性檢定

凝血酶活性檢定係將 55 微升緩衝液與 5 微升 DMSO 或化合物混合，接著添加 10 微升凝血酶(20nM)。混合及於 37°C 保溫 10 分鐘。然後添加 10 微升受質 S-2238，令其於 37°C 保溫 15 至 20 分鐘。接著測量 405nm 處之吸收率，且由缺乏及存在化合物下之 OD_{405nm} 值，計算凝血酶活性之抑制百分率。如表 1(第 2(a)圖)所示結果表示化合物 1 及 2(結構示於上)未抑制凝血酶活性。

D. 胰蛋白酶活性檢定

胰蛋白酶活性檢定係將 4 微升胰蛋白酶(100nM)先與 61 微升緩衝液、5 微升 DMSO 或 5 微升化合物(於 DMSO 中)混合，接著於 37°C 保溫 15 分鐘。然後添加 10 微升受質 S-2222(4.8mM)開始反應。於 37°C 保溫 15 分鐘後，以 20 微升 50%乙酸終止反應。接著測量 405nm 處之吸收率，且由缺乏及存在化合物下之 OD_{405nm} 值，計算胰蛋白酶活性之抑制百分率。表 1(第 2(a)圖)中之結果表示化合物 1 及 2(結構示於上)未抑制胰蛋白酶活性。

亦參見顯示使用 83 μ M 化合物 1 或化合物 2 對因子 X a 及因子 VII a 活性之抑制百分率之第 3 圖。第 3 圖亦示出 63 μ M 化合物 1 或化合物 2 對凝血酶活性之抑制百分率。該圖中亦示出 71 μ M 化合物 1 或化合物 2 對胰蛋白

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

表

訂

線

五、發明說明 (35)

酶活性之抑制百分率。

實施例 4：TF 拮抗劑對於受 RVV、FIX a、及 FVII a 所催化之 FX 活化之影響

除了 TF/VII a 複合物之外，RVV、FIX a、及 FVII a 亦能夠在活體外活化 FX。可進行下述檢定探討 1 及 2(結構示於上)對於 RVV、FIX a、及 VII a 所催化之 FX 活化之影響。由此類檢定之數據可協助瞭解此類化合物之結合位置及其抑制機制。

A.RVV 依賴性 FX 活化

添加 45 微升 RVV(0.1nM)至含有 5 微升經稀釋之 DMSO(或緩衝液)或化合物之 96 個凹槽板之各凹槽中，然後混合及於 37°C 保溫 15 分鐘。接著添加 10 微升 FX(180nM)，且於 37°C 保溫 15 分鐘。於添加 10 微升 EDTA(400mM)及 10 微升光譜酶 FX a(5mM)後，反應於 37°C 保溫 20 分鐘。添加 20 微升 50%乙酸後，接著測量 405nm 處之吸收率。由缺乏及存在化合物下之 OD_{405nm} 值，計算 RVV 依賴性 FX 活化之抑制百分率。表 2(第 2(b)圖)所示之數據表示化合物 1 及 2(結構示於上)未抑制 RVV 催化活性，及彼等未結合至 FX 之分裂位置。獨立之研究已證實所有 FX 活化酶(TF/VII a、FVII a、FIX a、及 RVV)在 FX 上皆分裂相同位置。

B.FIX a 依賴性 FX 活化檢定

在化合物不存在下，先將 FIX 藉由 TF/VII a 轉化為 FIX a，此反應於 50 毫升管中進行。於 37°C 保溫 TF/VII a(0.67nM、

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

線

五、發明說明 (36)

10 毫升)15 分鐘後，添加 FIX (300nM、0.123 毫升)並於 37°C 保溫 30 分鐘。然後添加 1.54 毫升 EDTA(400mM)以終止 FIX 活化。接著將 65 微升上述 FIX a 樣品轉移至含有 5 微升稀 DMSO(或緩衝液)或化合物(於稀 DMSO 或緩衝液中)之 96 個凹槽板之凹槽中。添加 10 微升 FX (1000nM)、10 微升聚離胺酸(300nM)、及 10 微升光譜酶 FX a(5mM)至各凹槽，且於 37°C 保溫直到 OD_{405nm} 值達至 0.8。添加 20 微升 50%乙酸後，接著測量 405nm 處之吸收率。由缺乏及存在化合物下之 OD_{405nm} 值，計算 FIX a 活性之抑制百分率。同樣地，化合物 1 及 2 未抑制 FIX a 活性，彼等亦未結合至 FX 而使 FX 不被 FIXa 活化(表 2、第 2(b)圖)。

C.FVII a 依賴性 FX 活化

單獨存在於磷脂及鈣中之 FVII a，雖然活化速率非常低，但亦能活化 FX。此實驗設計為探討於省略 TF 下，化合物 1 及 2 是否可抑制 FVII a 依賴性 FX 活化。可抑制 FVII a 依賴性 FX 活化意指兩種化合物可結合至 FVII a 上，而未抑制則表示兩種化合物未結合至 FVII a 或 FX 上。此檢定以相當高 FVII a 濃度完成。將 6 微升化合物 1(1mM，於 10%DMSO 中)或 10%DMSO 與 40 微升含有磷脂醯膽鹼(0.07 毫克/毫升)及磷脂醯絲胺酸(0.03 毫克/毫升)之 25mM HEPES-NaOH、5mM CaCl₂、150mM NaCl、0.1%BSA(pH 7.5)混合。然後添加及混合 4 微升 FVII a(1.5 μM)及 10 微升 FX (180nM)。混合物於 37°C 保溫 1 小時。接著添加 10 微升 EDTA(400mM)，藉由移除因子 VII 活性所需之鈣，以終

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

線

五、發明說明 (37)

止 FVII 活性。然後添加 10 微升 FX a 受質 S-2765(3.2mM) 以測量由 FVII a 所產生之 FX a 活性。於 37°C 保溫 16 分鐘後，添加 20 微升 50%乙酸以終結反應。讀取 405nm 處之吸收率，且由缺乏及存在化合物 1 下之 OD_{405nm} 值，計算 FVII a 依賴性 FX 活化之抑制百分率。表 2(第 2(b)圖)所示數據表示化合物 1 未抑制 FVII a 依賴性 FX 活化，顯示其未結合至 FVII a 或 FX 上。

D. 抑制 TF/VII a 依賴性 FX 活化

為了測定化合物 1 及 2 於低濃度下，對 TF/VII a 依賴性 FX 活化之抑制，於 DMSO 中之化合物以 10mM HEPES-NaOH(pH 7.5)稀釋，然後以先前敘述之初級篩選方法進行檢定。表 3(第 2(c)圖)為化合物 1 及 2 對 TF/VII a 依賴性 FX 活化之滴定結果。若干實驗中，將兩化合物溶於 0.1M NaOH 中，然後以水稀釋至 16.5mM NaOH。由表 3 的數據，化合物 1 及 2(結構示於上)抑制 TF/VII a 依賴性 FX 活化之 IC₅₀(抑制 50%TF/VII a 依賴性 FX 活化之抑制劑濃度)值，化合物 1 為 19.0 μM 及化合物 2 為 9.7 μM。

E. 抑制 TF/VII a 依賴性 FIX 活化

TF/VII a 不只能活化 FX，而且亦能轉化 FIX 為 FIX a。欲探討 1 及 2 兩拮抗劑是否能夠阻斷由 TF/VII a 所催化之 FIX 活化，而進行 FIX 活化實驗。於 96 個凹槽板之各凹槽中，添加 5 微升稀 DMSO 或化合物，之後添加 45 微升 TF/VII a(0.67nM)。混合及於 37°C 保溫 15 分鐘後，添加 10 微升 FIX(300nM)，且於 37°C 保溫 10 分鐘。添加 10 微升

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

線

五、發明說明 (38)

EDTA(400nM, 於 144mM HEPES、864nM NaCl、0.576%BSA 中, pH 調節至 7.5), 然後添加 10 微升 FX (1000nM)、10 微升聚離胺酸、及 10 微升光譜酶 FX a(6mM)。於 37°C 保溫 3 小時後, 接著添加 20 微升 50%乙酸, 然後測量 405nm 處之吸收率。由缺乏及存在化合物下之 OD_{405nm} 值, 計算 TF/VII a 依賴性 FIX 活化之抑制百分率。表 4(第 2(d)圖)之數據顯示化合物 1 及 2(結構示於上)抑制 TF/VII a 依賴性 FIX 活化, 與 TF/VII a 依賴性 FX 活化中所見相似。

實施例 5: TF 拮抗劑之抑制機制

上述實施例 3 及 4 顯示本發明之化合物係 TF 特異拮抗劑。為了明白 TF 拮抗劑之抑制機制, 可進行下述實驗。在使用兩種不同 FX 濃度之兩種檢定條件下, 以 0 至 84 μ M 之化合物 1 滴定。於其一條件下, 在添加 FX 之前, 化合物 1 與 TF/VII a 於 37°C 預先保溫 15 分鐘後。於另一條件下, 同時添加及混合 TF/VII a、FX、與化合物 1。其中一組實驗以 5nM FX 進行, 另一組則以 30nM FX 進行。由第 6 及 7 圖所示結果可見, 預保溫實驗之 IC₅₀ 值稍微低於同時添加實驗之 IC₅₀ 值(FX 為 5nM 時為 8.3 μ M 與 18.1 μ M 之比較; FX 為 30nM 時, 為 12.5 μ M 與 33.2 μ M 之比較)。此外, IC₅₀ 值隨著 FX 濃度提高而增加。例如, 於此二檢定條件下, 當 FX 自 5nM 提高至 30nM 時, IC₅₀ 值分別自 8.3 μ M 與 18.1 μ M 增加至 12.5 μ M 與 33.2 μ M。彼等數據暗示化合物 1 係相互競爭結合至 TF。

TF/VII a 依賴性 FX 活化之進一步動力學分析顯示, 化

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

線

五、發明說明 (39)

化合物 1 對 FX 受質之表觀 K_m 值顯著地增加(參見第 5 圖)。此表示(1)化合物 1 為 TF/VII a 複合物之競爭性抑制劑，(2)化合物 1 與 TF/VII a 之結合阻斷 FX 與 TF/VII a 複合物之結合。經由等溫熱量測定分析亦可直接觀察到化合物 1 與 TF(243 種脂化形式或 219 種非脂化形式)之結合上。

實施例 6：本發明之化合物在凝血酶原時間(PT)檢定中之影響

凝血酶原時間(PT)試驗可如下進行：

PT 檢定係以 Electra 800(Medical Automation 公司)於 37°C 進行。經由添加 0.2 毫升脂化的重組體人類組織因子至 0.105 毫升人類血漿(Ci-Trol 對照標準 I，得自 VWR、目錄編號 68100-336)中，以引發 PT 反應。添加 1 毫升純水至 Ci-Trol 之各小玻璃瓶中且混合至溶解。若使用一個以上小玻璃瓶時，則適於將彼等合併至一個容器內。添加 5 微升 DMSO 或 5 微升化合物至含有 0.1 毫升 Ci-Trol 之雙槽光析管之各槽中。使用 0.1 毫升管尖之吸量管有助於混合，確定槽中無氣泡。接著將化合物(或 DMSO)與血漿(Ci-Trol)混合，添加 0.2 毫升脂化的重組體組織因子(1 至 3nM)至血漿中，且在 10 分鐘內測量凝塊時間。第 4 圖之數據指示化合物 1 及 2 顯著延長由 TF 引發之 PT 時間。

茲已參照較佳具體實例詳細說明本發明。然而，需瞭解熟習此項技藝人士於詳慮本揭示內容後，可於本發明之精神及領域範圍內修飾及改良。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

線

四、中文發明摘要（發明之名稱：用以治療血栓性栓塞症或動脈粥瘤硬化或用以抑制血液凝結之醫藥組成物）

本發明係包含用以治療栓塞之醫藥活性化合物與治療方法，及利用或包括一種或多種該化合物之醫藥組成物。本發明化合物對於治療或預防非所欲之栓塞，例如血栓性栓塞症或動脈粥瘤硬化，或抑制血液凝結特別有用。

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄）

裝

訂

線

英文發明摘要（發明之名稱：）

Pharmaceutical Composition for Treatment of Thromboembolic Disorder or Atherosclerosis or to Inhibit Blood Coagulation

The invention includes pharmaceutically active compounds for treating thrombosis treatment and pharmaceutical compositions that utilize or comprise one or more such compounds. Compound of the invention are particularly useful for treatment or prophylaxis of undesired thrombosis e.g. a thromboembolic disorder or atherosclerosis, or to inhibit blood coagulation.

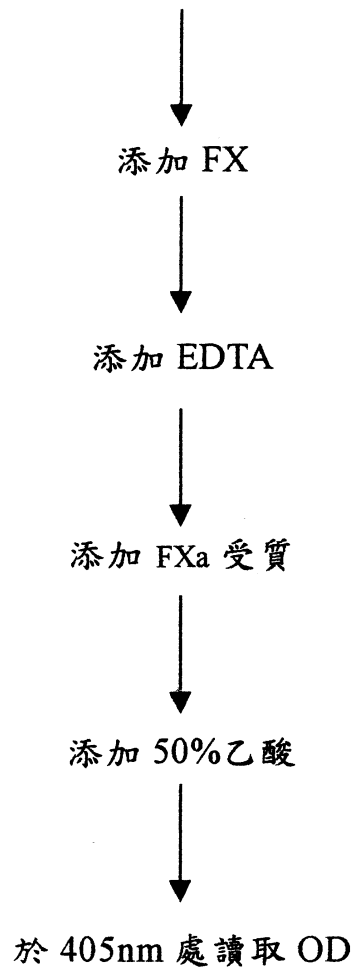
TF/VIIa 依賴性因子 X 活化

TF/VIIa/磷脂 Ca^{++} +DMSO(經稀之 DMSO 或緩衝液)

或化合物

在 37°C 15 分鐘

公 告 本



第 1 圖

表 1

化合物	FXa 活性之%		FVIIa 活性之%		凝血酶活性之%		胰蛋白酶活性之%	
	抑制率於		抑制率於		%抑制率於		%抑制率於	
	714 μ M	71 μ M	833 μ M	83 μ M	625 μ M	63 μ M	625 μ M	63 μ M
化合物 2	3	3	27	5	57	-16	-8	-16
化合物 1	7	1	42	1	41	-9	-2	10

註：化合物於 DMSO 中，且若需要，則以 10mM Hepes-NaOH(pH 7.5)稀釋。

第 2(a)圖

表 2

化合物	由下列所催化之 FX 活化作用之 %抑制率			
	TF/VIIa	RVV	FIXa	FVIIa
化合物 2				
96 μ M	nd*	6.1	23.2	nd
32 μ M	94.5	1.8	6.8	nd
化合物 1				
100 μ M	nd	nd	nd	6.0
96 μ M	nd	5.0	21.7	nd
32 μ M	85.0	4.9	0.0	nd

註：*nd 未測定

化合物於 DMSO 中，且若需要則以 10mM Hepes-NaOH(pH 7.5) 稀釋。

第 2(b)圖

表 3

化合物濃度(μ M)	化合物 2 之 % 抑制率	化合物 1 之 % 抑制率
0	0	0
2	6	1
4	10	7
8	45	14
16	62	42
32	84	83
48	92	91
96	96	94

註：使化合物 1 及 2 溶於 0.1M NaOH 中，然後以水稀釋至 16.5mM 之 NaOH。在添加 FX 之前，化合物以 TF/VIIa 於 37°C 預保溫 15 分鐘。添加 FX 之後，使反應於 37°C 保溫 15 分鐘。

第 2(c)圖

表 4

化合物濃度(μ M)	化合物 2 之%抑制率	化合物 1 之%抑制率
0	0	0
2	24.7	
4	39.9	-0.3
8	67.2	20.8
16	79.4	26.9
32	87.5	61.1
48		84.5
96		90.3

註：化合物 1 及 2 於 DMSO 中，以 10mM Hepes-NaOH(pH 7.5)稀釋。

第 2(d)圖

化合物	因子X活化 IC ₅₀ 值(μ M)	因子IX活化 IC ₅₀ 值(μ M)	FXa 活性% 抑制率於 83 μM	FVIIa 活性% 抑制率於 83 μM	凝血酶活性 %抑制率於 63 μM	胰蛋白酶活 性%抑制率 於 71 μM
化合物 1	10	26	4	1	0	4
化合物 2	6.5	5.5	3	5	0	0
化合物 3	70	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
化合物 4	>200	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
化合物 5	100	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
佛薩麥	80	n.d.	n.d.	n.d.	0	n.d.

註：n.d.未測定

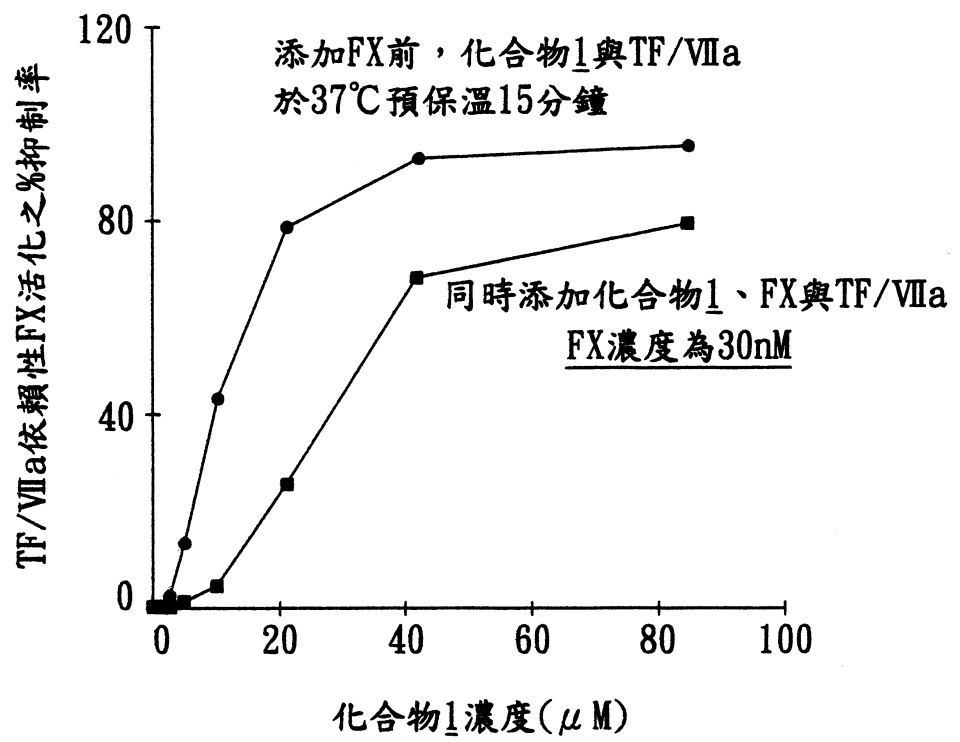
第 3 圖

化合物	PT 凝塊時間(秒)	APTT 凝塊時間(秒)
對照組(DMSO)	37.0	29.4
化合物 1(167 μ M)	75.3	35.4
化合物 2(167 μ M)	76.8	33.0

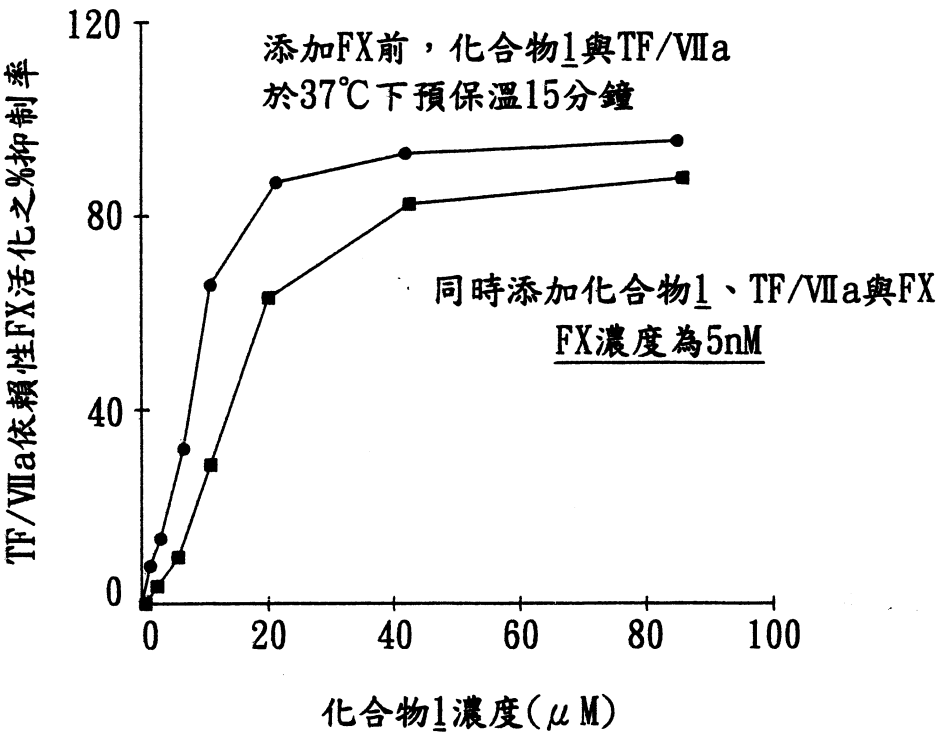
第 4 圖

化合物	FX 之 K_m (nM)
對照組(DMSO)	19
10 μ M 化合物 1(於 DMSO 中)	37
20 μ M 化合物 2(於 DMSO 中)	76

第 5 圖



第 6 圖



第 7 圖

39
年
八

公告本

申請日期	28. 9. 27
案 號	88116517
類 別	A61K31/33, 31/66, C07F9/38

修正 補充	A4 本92年1月3日 C4
----------	----------------------

(以上各欄由本局填註)

發 明 專 利 說 明 書 I222865 新 型		
一、發明 名稱	中 文	用以治療血栓性栓塞症或動脈粥瘤硬化或用以抑制血液凝結之醫藥組成物
	英 文	PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR TREATMENT OF THROMBOEMBOLIC DISORDER OR ATHEROSCLEROSIS OR TO INHIBIT BLOOD COAGULATION
二、發明人 創作	姓 名	1.焦進安 3.艾斯伯藍札·L·尼維斯 5.迪恩·P·泰勒 2.勞倫斯·K·呂普欽 4.黃慶祥
	國 籍	1.中國 2.3.4.5.美國
	住、居所	1.美國·佛羅里達州 33326·韋斯敦·西拜里奇大道 121 號 2.美國·佛羅里達州 33183·邁阿密·西南第 142 大道 8320 號 3.美國·佛羅里達州 33322·布蘭坦遜·西北第 78 廣場 1130 號 4.美國·佛羅里達州 33332·韋斯敦·溫渥爾 2966 號 5.美國·佛羅里達州 33327·韋斯敦·貝波音大道 2563 號
三、申請人	姓 名 (名稱)	蘇諾爾分子公司
	國 籍	美國
	住、居所 (事務所)	美國·佛羅里達州 33025·米勒麻·北商園路 2810 號
	代 表 人 姓 名	迪恩·P·泰勒

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

裝

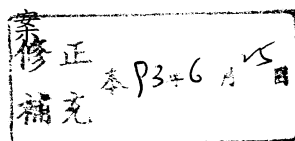
訂

線



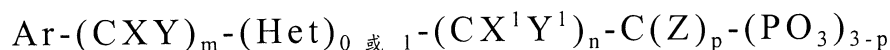
第 88116517 號專利申請

申請專利範圍修正本



(93 年 6 月 25 日)

1. 一種用以治療血栓性栓塞症或動脈粥瘤硬化或用以抑制血液凝結之醫藥組成物，該組成物包括下述式 I 之化合物：



I

其中 Ar 為視情況經羥基、胺基或 C_{1-2} 烷基取代之苯基或萘基；

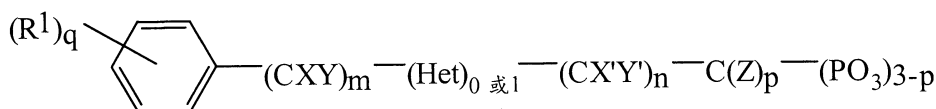
Het 為 NH 或 O；

各 X、各 Y、各 X^1 及 Y^1 、及各 Z 係各自獨立為氫；

及

m 為 0；n 為 1；p 為 1；及其醫藥可接受之鹽類。

2. 如申請專利範圍第 1 項之醫藥組成物，其中，該化合物為下述式 II：



II

其中 Het 為 NH 或 O；

各 X、各 Y、各 X' 、各 Y' 、及各 Z 係各自獨立為氫；

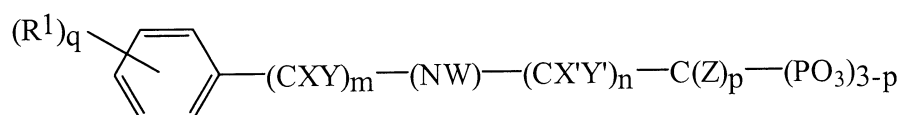
各 R^1 係獨立為鹵素；胺基；羥基；或 C_{1-2} 烷基；

及

m 為 0；n 為 1；p 為 1；q 為 0 或 1；及其醫藥可

接受之鹽類。

3. 如申請專利範圍第 1 項之醫藥組成物，其中，該化合物為下述式 III：



III

其中各 X、各 Y、各 X'、各 Y'、及各 Z 係各自獨立為氫；

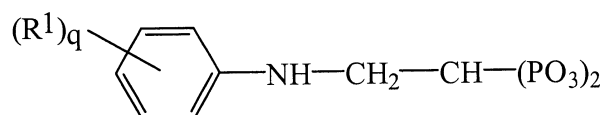
m 為 0；n 為 1；p 為 1；

W 為氫；

R¹ 係獨立為鹵素；胺基；羥基；或 C₁₋₂ 烷基；及

q 為 0 或 1；及其醫藥可接受之鹽類。

4. 如申請專利範圍第 1 項之醫藥組成物，其中，該化合物為下述式 III a：



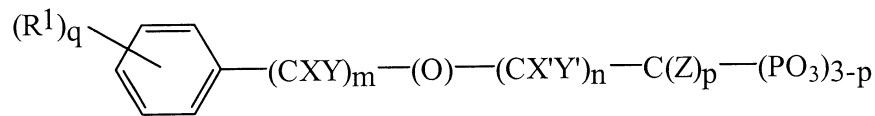
III a

其中 R¹ 係獨立為鹵素；胺基；羥基；或 C₁₋₂ 烷基；

及

q 為 0 或 1；及其醫藥可接受之鹽類。

5. 如申請專利範圍第 1 項之醫藥組成物，其中，該化合物為下述式 IV：



IV

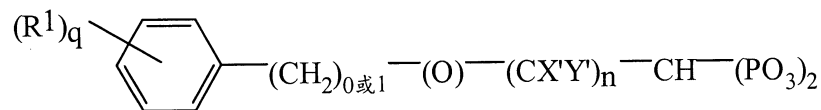
其中各 X、各 Y、各 X'、各 Y'、及各 Z 係各自獨立為氫；

m 為 0；n 為 1；p 為 1；

R¹ 係獨立為鹵素；胺基；羥基；或 C₁₋₂ 烷基；及

q 為 0 或 1；及其醫藥可接受之鹽類。

6. 如申請專利範圍第 1 項之醫藥組成物，其中，該化合物為下述式 IV a：



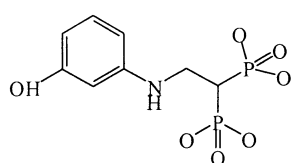
IV a

其中各 X' 及各 Y' 係獨立為氫；

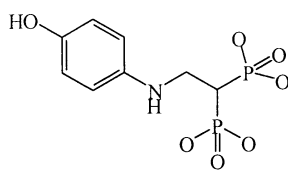
R¹ 係獨立為鹵素；胺基；羥基；或 C₁₋₂ 烷基；及

n 為 1；q 為 0 或 1；及其醫藥可接受之鹽類。

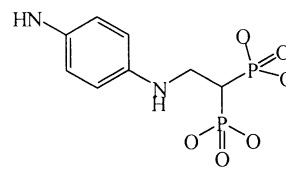
7. 如申請專利範圍第 1 項之醫藥組成物，其中 Ar 係經羥基取代者。
8. 如申請專利範圍第 2 項之醫藥組成物，其中至少一個 R¹ 為羥基。
9. 如申請專利範圍第 3 項之醫藥組成物，其中至少一個 R¹ 為羥基。
10. 如申請專利範圍第 1 項之醫藥組成物，其中，該化合物為下列化合物中之一者：



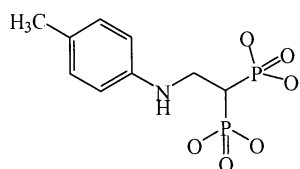
1



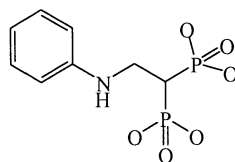
2



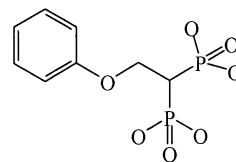
3



4



5



6

或其醫藥可接受之鹽類。

- 11.如申請專利範圍第 1 項之醫藥組成物，其中該組成物係用於治療血栓性栓塞症。
- 12.如申請專利範圍第 2 項之醫藥組成物，其中該組成物係用於治療血栓性栓塞症。
- 13.如申請專利範圍第 3 項之醫藥組成物，其中該組成物係用於治療血栓性栓塞症。
- 14.如申請專利範圍第 4 項之醫藥組成物，其中該組成物係用於治療血栓性栓塞症。
- 15.如申請專利範圍第 5 項之醫藥組成物，其中該組成物係用於治療血栓性栓塞症。
- 16.如申請專利範圍第 6 項之醫藥組成物，其中該組成物係用於治療血栓性栓塞症。
- 17.如申請專利範圍第 7 項之醫藥組成物，其中該組成物係用於治療血栓性栓塞症。
- 18.如申請專利範圍第 8 項之醫藥組成物，其中該組成物係用於治療血栓性栓塞症。

- 19.如申請專利範圍第 9 項之醫藥組成物，其中該組成物係用於治療血栓性栓塞症。
- 20.如申請專利範圍第 10 項之醫藥組成物，其中該組成物係用於治療血栓性栓塞症。
- 21.如申請專利範圍第 1 至 20 項中任一項之醫藥組成物，其中該組成物係用於治療動脈粥瘤硬化。
- 22.如申請專利範圍第 1 至 20 項中任一項之醫藥組成物，其中該組成物係用於抑制血液凝結。
- 23.如申請專利範圍第 1 至 20 項中任一項之醫藥組成物，復包括醫藥可接受之載體。
- 24.如申請專利範圍第 21 項之醫藥組成物，復包括醫藥可接受之載體。
- 25.如申請專利範圍第 22 項之醫藥組成物，復包括醫藥可接受之載體。