I832668

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 **(11)證書號數：TW I832668 B**

(45)公告日： 中華民國 113 (2024) 年 02 月 11 日

(21)申請案號：112101259 (22)申請日： 中華民國 105 (2016) 年 04 月 14 日

(51)Int. Cl.： ***C07D471/04 (2006.01)*** ***A61K31/4375 (2006.01)***
A61K31/435 (2006.01) ***A61K31/41 (2006.01)***
A61K31/34 (2006.01) ***A61P35/00 (2006.01)***

(30)優先權：2015/04/15 世界智慧財產權組織 PCT/CN2015/076639

(71)申請人：英屬開曼群島商百濟神州有限公司 (開曼群島) BEIGENE, LTD. (KY)
開曼群島

(72)發明人：張國良 ZHANG, GUOLIANG (CN) ；周 昌友 ZHOU, CHANGYOU (US)

(74)代理人：李文賢；盧建川

(56)參考文獻：

CN 103596926A

審查人員：官速貞

申請專利範圍項數：19 項 圖式數：45 共 104 頁

(54)名稱

B-RAF激酶抑制劑的無定形形式、鹽酸鹽、甲磺酸鹽、2-羥基乙磺酸鹽、L-酒石酸鹽或草酸鹽及其用途

(57)摘要

本發明涉及 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(三氟甲基)-1H-苯並[d]咪唑-2-基)-1a,6b-二氫-1H-環丙並[b]苯並呋喃-5-基)氧基)-3,4-二氫-1,8-二氮雜萘-2(1H)-酮(化合物 **1**)的無定形形式、鹽酸鹽、甲磺酸鹽、2-羥基乙磺酸鹽、L-酒石酸鹽或草酸鹽、醫藥組合物以及用於治療由 BRAF 或其他激酶介導的疾病或病症的治療用途。

The invention relates to amorphous form, hydrochloride, methanesulfonate, 2-hydroxyethanesulfonate, 1-tartrate, and oxalate salts of 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(trifluoromethyl)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)-1a,6b-dihydro-1H-cyclopropa[b]benzofuran-5-yl)oxy)-3,4-dihydro-1,8-naphthyridin-2(1H)-one (Compound **1**), pharmaceutical compositions, and therapeutic uses for treatment of diseases or disorders mediated by BRAF or other kinases.

指定代表圖：

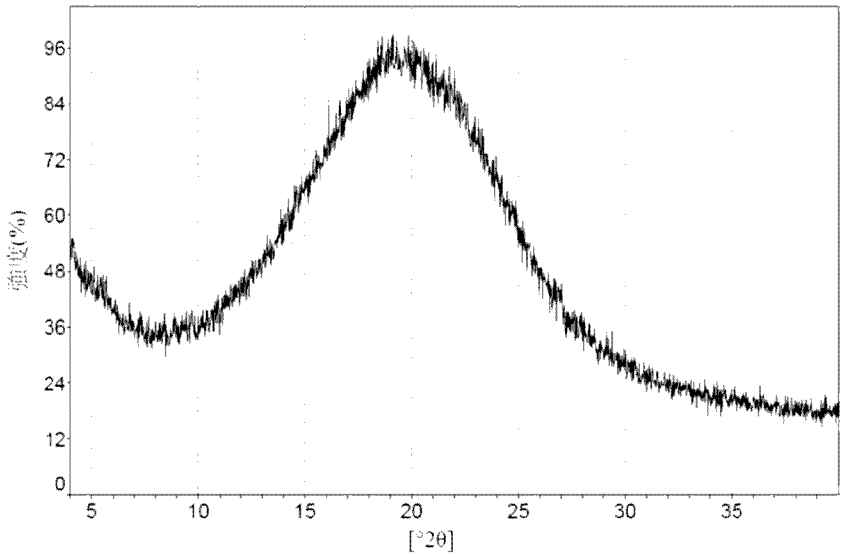
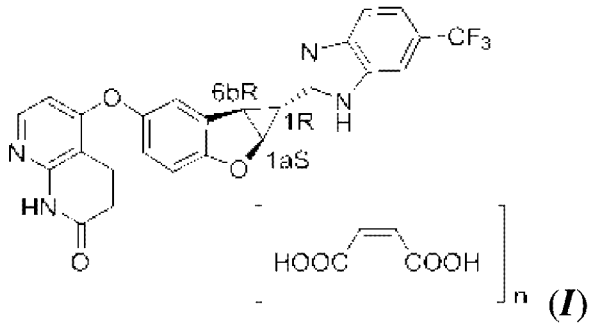

96
84
72
60
48
36
24
12
0
強度(%)
5
10
15
20
25
30
35
[°2θ]

圖 1

特徵化學式：


CF3
N
6bR
1R
N
H
O
N
1aS
HN
O
HOOC
COOH
n

(*I*)

I832668

【發明摘要】

【中文發明名稱】 B-RAF激酶抑制劑的無定形形式、鹽酸鹽、甲磺酸鹽、2-羥基乙磺酸鹽、L-酒石酸鹽或草酸鹽及其用途

【英文發明名稱】 AMORPHOUS FORM, HYDROCHLORIDE, METHANESULFONATE, 2-HYDROXYETHANESULFONATE, L-TARTRATE, AND OXALATE SALTS OF A B-RAF KINASE INHIBITOR AND USES THEREFORE

【中文】

本發明涉及5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(三氟甲基)-1H-苯並[d]咪唑-2-基)-1a,6b-二氫-1H-環丙並[b]苯並呋喃-5-基)氧基)-3,4-二氫-1,8-二氮雜萘-2(1H)-酮(化合物**1**) 的無定形形式、鹽酸鹽、甲磺酸鹽、2-羥基乙磺酸鹽、L-酒石酸鹽或草酸鹽、醫藥組合物以及用於治療由BRAF或其他激酶介導的疾病或病症的治療用途。

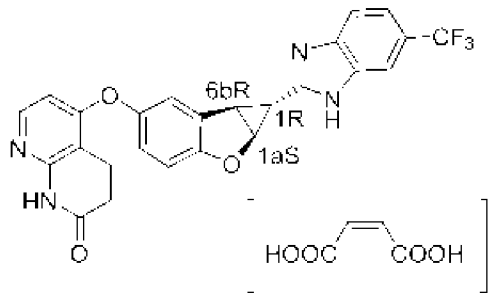
【英文】

The invention relates to amorphous form, hydrochloride, methanesulfonate, 2-hydroxyethanesulfonate, l-tartrate, and oxalate salts of 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(trifluoromethyl)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)-1a,6b-dihydro-1H-cyclopropa[b]benzofuran-5-yl)oxy)-3,4-dihydro-1,8-naphthyridin-2(1H)-one (Compound **1**), pharmaceutical compositions, and therapeutic uses for treatment of diseases or disorders mediated by BRAF or other kinases.

【指定代表圖】圖1

【代表圖之符號簡單說明】無

【特徵化學式】：



(*I*)

【發明說明書】

【中文發明名稱】 B-RAF 激酶抑制劑的無定形形式、鹽酸鹽、甲磺酸鹽、2-羥基乙磺酸鹽、L-酒石酸鹽或草酸鹽及其用途

【英文發明名稱】 AMORPHOUS FORM, HYDROCHLORIDE, METHANESULFONATE, 2-HYDROXYETHANESULFONATE, L-TARTRATE, AND OXALATESALTS OF A B-RAF KINASE INHIBITOR AND USES THEREFORE

【技術領域】

【0001】 本發明涉及B-RAF激酶抑制劑，即5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(三氟甲基)-1H-苯並[d]咪唑-2-基)-1a,6b-二氫-1H-環丙並[b]苯並呋喃-5-基)氧基)-3,4-二氫-1,8-二氮雜萘-2(1H)-酮(此後稱為化合物1)的無定形形式、鹽酸鹽、甲磺酸鹽、2-羥基乙磺酸鹽、L-酒石酸鹽或草酸鹽以及其用途。

【先前技術】

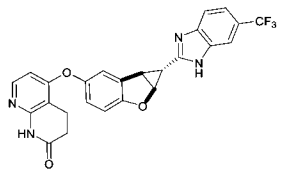
【0002】 B-RAF為對於細胞增殖及存活而言至關重要的RAF-MEK-ERK MAPK途徑的一部分的激酶。B-RAF突變已經發現於多於7%的人類癌症中，包括黑素瘤(43%) (參見H. Davies等人, *Nature*, 417 (2002), 949-54; D.R. English等人, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 17 (2008), 1774-80; G.V. Long等人, *Lancet Oncol.*, 13 (2012), 1087-95)、甲狀腺癌(27%) (參見Y. Cohen, *J Natl Cancer Inst*, 95 (2003), 625-7; E.T.Kimura等人, Cancer Res, 63 (2003),

1454-7)、結腸直腸癌(14%)(參見H. Davies等人, *Nature*, 417 (2002), 949-54; D.R. English等人, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 17 (2008), 1774-80; S. Ogino等人, *Gut*, 58 (2009), 90-6; C.P.Vaughn, *Genes Chromosomes Cancer*, 50 (2011), 307-12)、卵巢癌(15%)(參見H. Davies等人, *Nature*, 417 (2002), 949-54; S.E.Russell, *J Pathol*, 203 (2004), 617-9)及肺癌(2%)(參見M.S.Brose等人, *Cancer Res*, 62(2002), 6997-7000)。在黑素瘤中發現的多於90%的B-RAF突變為在B-RAF蛋白鏈的第600個胺基酸(V600E)上用穀胺酸取代纈胺酸，導致組成性啟動。

【0003】 在黑素瘤患者中使用B-RAF抑制劑諸如威羅菲尼(vemurafenib)及達拉菲尼(dabrafenib)的臨床經驗已經證實了有效性，其已經證實了標靶腫瘤依賴於B-RAF及MAPK信號傳導的概念。在其腫瘤中具有B-RAF V600E突變的黑素瘤患者中的選擇性抑制得到了令人驚訝的客觀反應率以及無進展生存期的延長。然而，第一代B-RAF抑制劑包括威羅菲尼及達拉菲尼具有眾多限制，例如：1)在突變或活化的RAS背景下，由於藉由誘導B-RAF/C-RAF異二聚體而導致MAPK信號傳導的反常增加，從而引起角化棘皮瘤或皮膚鱗狀細胞癌的進展；及2)在具有B-RAF V600E突變的黑素瘤之外(例如結腸直腸癌)的有限臨床活性。因此，可在此等領域改善的第二代抑制劑是高度期望的。

【0004】 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(三氟甲基)-1H-苯並[d]咪唑-2-基)-1a,6b-二氫-1H-環丙並[b]苯並呋喃-5-基)氧基)-3,4-二氫-1,8-二氮雜萘-2(1H)-酮(自由鹼，化合物**1**)已經披露為第二代B-RAF抑制

劑，其已經證實了針對絲胺酸/蘇胺酸激酶的RAF家族的有效抑制活性。參見WO 2013/097224 A1。



化合物**1**

【0005】 化合物**1**為用於治療具有在RAF-MEK-ERK促分裂原活化蛋白激酶(MAPK)途徑中的畸變(包括B-RAF突變及K-RAS/N-RAS突變)的癌症的分子標靶治療劑，其作為單一療法或與其他癌症療法的組合。然而，化合物**1**的自由鹼的相對較弱的口服吸收使其不適於醫藥產品開發。

【0006】 還已經發現基於圖1的XRPD結果，化合物**1**的自由鹼最初作為無定形固體獲得，以及化合物**1**的自由鹼在水中基本上不溶(<LOQ，在0.001 mg/mL)，且在0至80% RH為略微吸濕性的(2.2%水分增加)。

【0007】 此外，化合物**1**的合成不是有效的。各種因素，例如對於製備光學純的異構物而言對於對掌性HPLC柱的需求以及無定形形式的化合物**1**的自由鹼阻礙雜質由操作中排出的趨勢，使得化合物**1**的大規模製備及純化成為了一個挑戰。

【0008】 實際上，很難確信地預測具體化合物的哪種鹽是穩定的且適於醫藥加工。甚至更難預測的是具體化合物是否將會形成各種結晶固態形式以及此等結晶固態形式具有何種物理性質。

【0009】 因此，急需某些形式的化合物**1**，其具有顯著更好的生物利用度且在該醫藥配製及儲存過程中具有化學及物理穩定性，以及適

於大規模製備具有良好質量及可再現性的化合物**1**的方法也是急需的。

【發明內容】

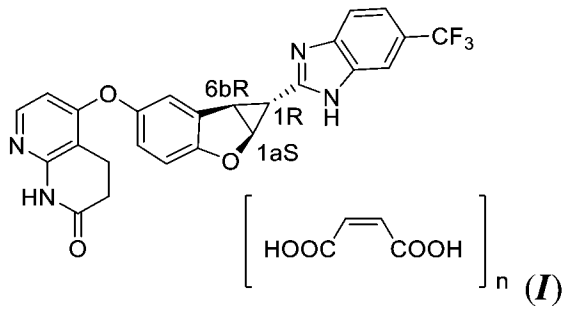
【0010】 本申請公開本發明以藉由提供化合物**1**的穩定的鹽及其結晶形式解決前述挑戰及需求。

【0011】 在第一態樣，本發明提供了5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(三氟甲基)-1H-苯並[d]咪唑-2-基)-1a,6b-二氫-1H-環丙並[b]苯並呋喃-5-基)氧基)-3,4-二氫-1,8-二氮雜萘-2(1H)-酮(“化合物**1**”)的鹽，其選自化合物**1**的鹽酸鹽、甲磺酸鹽、2-羥基乙磺酸鹽、L-酒石酸鹽、馬來酸鹽及草酸鹽。在一個實施例中，該鹽為醫藥上可接受的。在另一實施例中，該鹽為固態。在一個較佳的實施例中，該鹽為結晶形式。本申請的鹽為固體形式且顯示出與化合物**1**的自由鹼不同的結晶形式，這表明它們是潛在的鹽候選物。本申請的結晶形式的鹽具有適於醫藥製劑的優異的物理性質且可以高質量及良好的可再現性進行商業大規模製備。

【0012】 在化合物**1**的鹽酸鹽、甲磺酸鹽、2-羥基乙磺酸鹽、L-酒石酸鹽、馬來酸鹽及草酸鹽的結晶形式中，本發明的發明人預料不到地發現化合物**1**可形成馬來酸鹽，特別是結晶形式的倍半馬來酸鹽。具體地，令人驚訝地發現化合物**1**的馬來酸鹽(此後稱為“化合物**1**馬來酸鹽(maleate salt)”或“化合物**1**馬來酸鹽(maleate)”)可以多種結晶形式存在(多晶型物)，其在本申請中稱為結晶形式A*、A**、A、B、C、D、E、F、G、H、I、J、K、L及M。化合物**1**馬來酸鹽及其結晶

形式，特別是結晶形式A*及A，相比於其他鹽而言具有優異的性質，諸如改善的溶解性及穩定性，特別是長期化學/物理穩定性，這使得它們成為製劑及臨床應用的適當候選物。更具體地，相比於自由鹼而言，化合物**1**馬來酸鹽的形式A*、A及其他形式的改善的溶解性及/或長期化學/物理穩定性給該形式帶來了體內及體外快即溶出，且由此帶來了提高的生物利用度。

【0013】 在第二態樣，本申請提供了式(***I***)的化合物，其為5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(三氟甲基)-1H-苯並[d]咪唑-2-基)-1a,6b-二氫-1H-環丙並[b]苯並呋喃-5-基)氧基)-3,4-二氫-1,8-二氮雜萘-2(1H)-酮的馬來酸鹽：



(***I***)

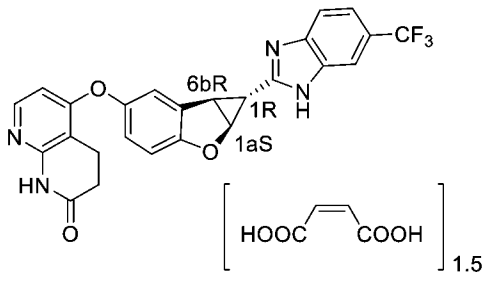
其中 n 為約 0.3 至約 1.5 的數字。

【0014】 在一個實施例中，在式(***I***)的化合物中，n為選自由下列組成之群組的數字：0.5±0.05、1.0±0.1及1.5±0.2。

【0015】 在另一實施例中，在式(***I***)的化合物中，n為0.5、1.0或1.5。

【0016】 在另一較佳的實施例中，式(***I***)的化合物為結晶形式。

【0017】 在另一較佳的實施例中，n為1.5，且化合物為式(***II***)的5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(三氟甲基)-1H-苯並[d]咪唑-2-基)-1a,6b-二氫-1H-環丙並[b]苯並呋喃-5-基)氧基)-3,4-二氫-1,8-二氮雜萘-2(1H)-酮的結晶倍半馬來酸鹽：



(*II*)。

【0018】 在一個實施例中，式(*II*)的化合物為結晶形式A*，其特徵在於其粉末X射線衍射圖包括具有獨立選自由下列組成之群組的2θ角值的7個或更多個衍射峰：6.3±0.2°、8.9±0.2°、9.4±0.2°、11.2±0.2°、12.6±0.2°、13.4±0.2°、17.9±0.2°、18.6±0.2°、18.8±0.2°、19.3±0.2°、20.1±0.2°、20.7±0.2°、21.2±0.2°、21.8±0.2°、22.4±0.2°、22.6±0.2°、23.3±0.2°、23.8±0.2°、24.7±0.2°、25.6±0.2°、26.1±0.2°、27.4±0.2°、28.3±0.2°、28.6±0.2°、29.0±0.2°、29.4±0.2°及30.4±0.2°。

【0019】 在另一實施例中，式(*II*)的化合物為結晶形式A**的單晶。

【0020】 在另一實施例中，式(*II*)的化合物為結晶形式A，其特徵在於其粉末X射線衍射圖包括具有獨立選自由下列組成之群組的2θ角值的3個或更多個衍射峰：8.3±0.2°、11.2±0.2°、17.9±0.2°、18.4±0.2°、18.6±0.2°、19.3±0.2°、20.8±0.2°及22.5±0.2°。

【0021】 在另一實施例中，式(*I*)的化合物為結晶形式B，其特徵在於其粉末X射線衍射圖包括具有獨立選自由下列組成之群組的2θ角值的3個或更多個衍射峰：11.1±0.2°、15.8±0.2°、17.7±0.2°、18.4±0.2°、19.6±0.2°、22.3±0.2°、23.1±0.2°及28.8±0.2°。

【0022】 在另一實施例中，式(*I*)的化合物為結晶形式C，其特徵在於其粉末X射線衍射圖包括具有獨立選自由下列組成之群組的2θ角值的3個或更多個衍射峰：3.1±0.2°、8.8±0.2°、11.2±0.2°、

17.8±0.2°、18.5±0.2°、19.3±0.2°、20.1±0.2°、20.7±0.2°、21.9±0.2°及22.4±0.2°。

【0023】 在另一實施例中，式(*I*)的化合物為結晶形式D，其特徵在於其粉末X射線衍射圖包括具有獨立選自由下列組成之群組的2θ角值的3個或更多個衍射峰：8.9±0.2°、14.9±0.2°、16.7±0.2°、17.8±0.2°、19.9±0.2°、20.4±0.2°、20.9±0.2°及26.9±0.2°。

【0024】 在另一實施例中，式(*I*)的化合物為結晶形式F，其特徵在於其粉末X射線衍射圖包括具有獨立選自由下列組成之群組的2θ角值的3個或更多個衍射峰：12.9±0.2°、17.0±0.2°、18.5±0.2°、19.4±0.2°、20.5±0.2°、22.5±0.2°及24.1±0.2°。

【0025】 在另一實施例中，式(*I*)的化合物為結晶形式G，其特徵在於其粉末X射線衍射圖包括具有獨立選自由下列組成之群組的2θ角值的7個或更多個衍射峰：3.4±0.2°、5.6±0.2°、7.0±0.2°、10.3±0.2°、10.9±0.2°、11.7±0.2°、12.4±0.2°、13.1±0.2°、14.0±0.2°、14.9±0.2°、16.4±0.2°、17.4±0.2°、18.6±0.2°、19.3±0.2°、20.1±0.2°、21.0±0.2°、21.9±0.2°、23.6±0.2°、24.2±0.2°、25.6±0.2°及26.4±0.2°。

【0026】 在另一實施例中，式(*I*)的化合物為結晶形式H，其特徵在於其粉末X射線衍射圖包括具有獨立選自由下列組成之群組的2θ角值的7個或更多個衍射峰：6.3±0.2°、9.0±0.2°、10.1±0.2°、11.2±0.2°、12.7±0.2°、14.5±0.2°、16.1±0.2°、16.6±0.2°、17.9±0.2°、18.1±0.2°、18.5±0.2°、19.0±0.2°、20.1±0.2°、

21.9±0.2°、22.4±0.2°、23.9±0.2°、25.1±0.2°、26.2±0.2°及28.7±0.2°。

【0027】 在另一實施例中，式(*I*)的化合物為結晶形式I，其特徵在於其粉末X射線衍射圖包括具有獨立選自由下列組成之群組的2θ角值的5個或更多個衍射峰：3.1±0.2°、5.5±0.2°、6.8±0.2°、10.8±0.2°、11.5±0.2°、13.7±0.2°、16.1±0.2°、16.3±0.2°、17.8±0.2°、19.8±0.2°、21.5±0.2°、23.8±0.2°、24.4±0.2°及28.3±0.2°。

【0028】 在另一實施例中，式(*I*)的化合物為結晶形式J，其特徵在於其粉末X射線衍射圖包括具有獨立選自由下列組成之群組的2θ角值的7個或更多個衍射峰：5.5±0.2°、8.2±0.2°、10.9±0.2°、11.3±0.2°、13.6±0.2°、14.8±0.2°、15.8±0.2°、17.4±0.2°、18.0±0.2°、19.1±0.2°、19.8±0.2°、20.0±0.2°、20.4±0.2°、21.1±0.2°、21.9±0.2°、22.6±0.2°、23.4±0.2°、24.1±0.2°、25.0±0.2°、26.1±0.2°、26.9±0.2°、27.3±0.2°、28.4±0.2°、29.1±0.2°、33.1±0.2°及35.9±0.2°。

【0029】 在另一實施例中，式(*I*)的化合物為結晶形式K，其特徵在於其粉末X射線衍射圖包括具有獨立選自由下列組成之群組的2θ角值的7個或更多個衍射峰：3.1±0.2°、8.9±0.2°、9.3±0.2°、11.2±0.2°、16.7±0.2°、17.9±0.2°、18.6±0.2°、18.8±0.2°、19.4±0.2°、20.2°±0.2°、21.9±0.2°、22.4±0.2°、23.4±0.2°、23.9±0.2°、24.6±0.2°、26.2±0.2°、27.4±0.2°、28.5±0.2°、29.4±0.2°及30.4±0.2°。

【0030】 在另一實施例中，式(*I*)的化合物為結晶形式L，其特徵在於其粉末X射線衍射圖包括具有以下2θ角值的衍射峰：9.7±0.2°及14.1±0.2°。

【0031】 在另一實施例中，式(*I*)的化合物為結晶形式M，其特徵在於其粉末X射線衍射圖包括具有獨立選自由下列組成之群組的2θ角值的7個或更多個衍射峰：5.0±0.2°、9.3±0.2°、11.3±0.2°、14.9±0.2°、15.9±0.2°、17.4±0.2°、18.0±0.2°、18.7±0.2°、19.4±0.2°、20.2°±0.2°、22.1±0.2°、23.4±0.2°、24.3±0.2°、25.4±0.2°、26.5±0.2°、27.5±0.2°、28.5±0.2°及29.3±0.2°。

【0032】 在某些實施例中，在式(*I*)的化合物中，n為1，即化合物**1**馬來酸鹽(1:1)。在其他實施例中，本申請提供了化合物**1**馬來酸鹽(1:1)結晶形式N，其特徵在於其粉末X射線衍射圖包括具有獨立選自由下列組成之群組的2θ角值的7個或更多個衍射峰：3.30±0.2°、6.61±0.2°、9.88±0.2°、11.73±0.2°、13.14±0.2°、15.23±0.2°、16.56±0.2°、17.94±0.2°、18.72±0.2°、19.34±0.2°、19.93±0.2°、20.76±0.2°、22.04±0.2°、22.95±0.2°、23.86±0.2°、25.19±0.2°、26.61±0.2°、28.36±0.2°、30.13±0.2°、31.36±0.2°、33.49±0.2°及37.22±0.2°。

【0033】 在另一實施例中，式(*I*)的化合物為結晶形式，其基本上特徵在於選自由下列組成之群組的粉末X射線衍射圖：**圖2**、**圖16**、**圖17**、**圖18**、**圖19**、**圖20**、**圖21**、**圖22**、**圖23**、**圖24**、**圖25**、**圖26**、**圖27**、**圖28**及**圖33**。

【0034】 在一些實施例中，化合物**1**馬來酸鹽(1:1)結晶形式N為化學穩定的結晶形式，其基本上特徵在於如**圖33**所示的粉末X射線衍射圖。

【0035】 在另一態樣，本申請提供了製備式(***I***)的5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(三氟甲基)-1H-苯並[d]咪唑-2-基)-1a,6b-二氫-1H-環丙並[b]苯並呋喃-5-基)氧基)-3,4-二氫-1,8-二氮雜萘-2(1H)-酮馬來酸鹽的結晶形式的方法，包括以下操作中的任一種：

(a) 將 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(三氟甲基)-1H-苯並[d]咪唑-2-基)-1a,6b-二氫-1H-環丙並[b]苯並呋喃-5-基)氧基)-3,4-二氫-1,8-二氮雜萘-2(1H)-酮的自由鹼或除了馬來酸鹽之外的鹽溶於溶劑或溶劑混合物以形成溶液或混懸液；將所得溶液或混懸液與馬來酸混合以形成混合物；並使 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(三氟甲基)-1H-苯並[d]咪唑-2-基)-1a,6b-二氫-1H-環丙並[b]苯並呋喃-5-基)氧基)-3,4-二氫-1,8-二氮雜萘-2(1H)-酮馬來酸鹽以目標結晶形式沈澱析出；

(b) 將 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(三氟甲基)-1H-苯並[d]咪唑-2-基)-1a,6b-二氫-1H-環丙並[b]苯並呋喃-5-基)氧基)-3,4-二氫-1,8-二氮雜萘-2(1H)-酮倍半馬來酸鹽溶解或混懸於溶劑或溶劑混合物；並使 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(三氟甲基)-1H-苯並[d]咪唑-2-基)-1a,6b-二氫-1H-環丙並[b]苯並呋喃-5-基)氧基)-3,4-二氫-1,8-二氮雜萘-2(1H)-酮馬來酸鹽以目標結晶形式沈澱析出；

(c) 儲存結晶 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(三氟甲基)-1H-苯並[d]咪唑-2-基)-1a,6b-二氫-1H-環丙並[b]苯並呋喃-5-基)氧基)-3,4-二氫-1,8-二

氮雜萘-2(1H)-酮倍半馬來酸鹽達較長的一段時間以獲得目標結晶形式；

(d) 加熱結晶或無定形 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(三氟甲基)-1H-苯並[d]咪唑-2-基)-1a,6b-二氫-1H-環丙並[b]苯並呋喃-5-基)氧基)-3,4-二氫-1,8-二氮雜萘-2(1H)-酮倍半馬來酸鹽至某一高溫，並冷卻該鹽以獲得目標結晶形式；及

(e) 使結晶或無定形 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(三氟甲基)-1H-苯並[d]咪唑-2-基)-1a,6b-二氫-1H-環丙並[b]苯並呋喃-5-基)氧基)-3,4-二氫-1,8-二氮雜萘-2(1H)-酮馬來酸鹽暴露於溶劑的蒸汽以獲得目標結晶形式。

【0036】 在該態樣的一個實施例中，操作(a)或(b)還包括獨立選自由下列組成之群組的一個或多個操作：加熱、過濾除去不溶雜質、蒸餾溶劑、添加反萃溶劑或溶劑混合物、添加晶種、添加一種或多種沈澱誘導劑、冷卻、沈澱及過濾收集結晶產物。

【0037】 在該態樣的另一個實施例中，在操作(a)或(b)中，該溶劑或溶劑混合物選自水、低級烷基醇、酮、醚、酯、低級脂族羧酸、低級脂族腈、視情況鹵代的芳香溶劑以及它們的組合。

【0038】 在該態樣的另一個實施例中，在操作(a)或(b)中，該溶劑為異丙醇、乙醇、甲醇、丙酮、THF、1,4-二噁烷、乙酸、乙腈、水或它們的組合。

【0039】 在該態樣的另一個實施例中，在操作(a)中，該自由鹼為經分離且純化的自由鹼、經分離但未純化的自由鹼或含有自由鹼的粗反應產物。

【0040】 在該態樣的另一個實施例中，在操作(c)中，該較長的一段時間為至少三天、至少一周或至少兩周。

【0041】 在該態樣的另一個實施例中，在操作(d)中，該高溫為至少40°C、至少60°C、至少80°C或至少100°C，但低於倍半馬來酸鹽的分解溫度。

【0042】 在該態樣的另一個實施例中，在操作(e)中，該蒸汽為乙酸的蒸汽。

【0043】 在該態樣的另一個實施例中，該方法選自：

1) 操作(a)或(b)，其使用異丙醇-水(v/v > 60/40)作為溶劑以產生結晶形式 A*；

2) 操作(a)或(b)，其使用丙酮作為溶劑以產生結晶形式 A**；

3) 操作(a)或(b)，其使用 IPA-水(v:v=4:1)混合物作為溶劑以產生結晶形式 A；

4) 操作(a)或(b)，其使用 1,4-二噁烷作為溶劑以產生結晶形式 B；

5) 操作(a)或(b)，其使用乙醇作為溶劑以產生結晶形式 C；

6) 操作(a)或(b)，其使用甲醇作為溶劑以產生結晶形式 D；

7) 操作(a)或(b)，其使用乙腈-水(v:v=1:1)混合物作為溶劑以產生結晶形式 F；

8) 操作(a)或(b)，其使用乙酸-水混合物作為溶劑以產生結晶形式 G；

9) 操作(a)或(b)，其使用四氫呋喃(THF)作為溶劑以產生結晶形式 H；

10) 操作(a)或(b)，其使用 IPA-水(v:v=3:1)混合物作為溶劑以產生結晶形式 I；

11) 操作(c)，其在環境溫度儲存結晶形式 D 達兩周以產生結晶形式 K；

12) 操作(c)，其在環境溫度儲存結晶形式 J 達兩周以產生結晶形式 M；

13) 操作(d)，其加熱結晶形式 G 至 140°C，然後冷卻至環境溫度以產生結晶形式 L；及

14) 操作(e)，其使結晶形式 A 與乙酸蒸汽相互作用以產生結晶形式 J。

【0044】 在一些實施例中，本申請提供了製備化合物**1**的倍半馬來酸鹽(此後有時稱為“化合物**1**倍半馬來酸鹽(maleate salt)”或“化合物**1**倍半馬來酸鹽(maleate)”)的結晶形式的方法，包括在低於回流溫度的溫度，例如在約50°C使化合物**1**及馬來酸的混合物在i-PrOH及H_2O的混合溶劑中混合；或在低於回流溫度的溫度，例如在約50°C使化合物**1**與馬來酸在i-PrOH及H_2O的混合溶劑中的混合物或混懸液或溶液混合，或在低於回流溫度的溫度，例如在約50°C使化合物**1**在i-PrOH及H_2O的混合溶劑中的混合物或混懸液或溶液與馬來酸混合，其中i-PrOH的量大於40 vol%、較佳為60vol%且較更佳為90vol%，按照i-PrOH及水的總體積計。在某些較佳的實施例中，上面提及的混合溶劑用i-PrOH代替。在其他實施例中，該方法還包括在冷卻至室溫後將晶種添加至所得混合物中，然後使該混合物靜置一段時間，諸如12小時、24小時、2、3或4天或1周、2周。

【0045】 在一些實施例中，本申請提供了製備化合物**1**馬來酸鹽(1:1)的結晶形式的方法，包括使化合物**1**倍半馬來酸鹽的結晶形式與

甲醇混合。在一些實施例中，上述混合在攪拌下進行。在一些實施例中，化合物**1**馬來酸鹽(1:1)的結晶形式為本申請披露的形式N。在一些實施例中，化合物**1**馬來酸鹽的結晶形式為選自由下列組成之群組的任一種：結晶形式A*、A**、A、B、C、D、F、G、H、I、J、K、L及M。在一些實施例中，上述混合進行約1天或2天或3天或4天、5天或6天或1周或2周。化合物**1**倍半馬來酸鹽(1:1.5)轉化至馬來酸鹽(1:1)提供了一種製備及/或進一步純化活性醫藥成分化合物**1**的有成本效益的方法，其具有非常簡單的操作，例如藉由在甲醇中在室溫或高溫簡單攪拌化合物**1**倍半馬來酸鹽，例如結晶形式A*、A**及A中的任一種。已經發現該轉化引起所得結晶物質(即化合物**1**馬來酸鹽(1:1)結晶形式)的結晶粒度降低，其繼而可提高醫藥產品的溶出速率並進一步提高醫藥產品的化學純度。在此態樣，已經預期該轉化進一步簡化醫藥產品的製備方法，例如不使用微粉化及碾壓操作。

【0046】 在另一態樣，本申請提供了醫藥組合物，其包含根據本申請所述的任一實施例的式(***I***)或式(***II***)的化合物及醫藥上可接受之載體。

【0047】 在一個實施例中，該醫藥組合物適於口服投予。

【0048】 在另一實施例中，該醫藥組合物為錠劑或膠囊劑的形式。

【0049】 在另一實施例中，該錠劑或膠囊劑的單位劑量為5-80 mg。

【0050】 在另一實施例中，該化合物在醫藥組合物中的重量百分比為1-99%。

【0051】 在另一態樣，本申請提供了治療或預防受試者諸如人類中疾病或病症的方法，包括對該受試者投予治療有效量的根據本申請所述的任一實施例的式(***I***)或式(***II***)的化合物或包含式(***I***)或式(***II***)的化合物的醫藥組合物。

【0052】 在一個實施例中，該疾病或病症為選自由下列組成之群組的癌症：腦癌、肺癌、腎癌、骨癌、肝癌、膀胱癌、乳腺癌、頭頸癌、卵巢癌、黑素瘤、皮膚癌、腎上腺癌、子宮頸癌、結腸直腸癌、淋巴瘤或甲狀腺腫瘤以及它們的併發症。

【0053】 在另一實施例中，該疾病選自BRAF、NRAS及KRAS突變的腦癌、肺癌、腎癌、骨癌、肝癌、膀胱癌、乳腺癌、頭頸癌、卵巢癌、黑素瘤、皮膚癌、腎上腺癌、子宮頸癌、結腸直腸癌、淋巴瘤或甲狀腺腫瘤以及它們的併發症。

【0054】 在另一實施例中，化合物的投予劑量為1-100 mg/天，且投予頻率為每日一至三次。

【0055】 在另一實施例中，化合物的投予劑量為5-50 mg/天，且投予頻率為每日一至三次。

【0056】 在另一實施例中，化合物的投予劑量為10-40 mg/天，且投予頻率為每日一次。

【0057】 在另一實施例中，化合物為5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(三氟甲基)-1H-苯並[d]咪唑-2-基)-1a,6b-二氫-1H-環丙並[b]苯並呋喃-5-基)氧基)-3,4-二氫-1,8-二氮雜萘-2(1H)-酮馬來酸鹽，其為選自由下列組成之群組的結晶形式：結晶形式A*、A**、A、B、C、D、F、G、H、I、J、K、L、M及N。

【0058】 在另一態樣，本申請提供了根據本申請所述的任一實施例的式(*I*)或式(*II*)的化合物在製備用於治療與BRAF、NRAS及KRAS活性相關的疾病或病症的醫藥中的用途。

【0059】 在較佳的實施例中，該疾病為癌症。

【0060】 在另一較佳的實施例中，化合物為5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(三氟甲基)-1H-苯並[d]咪唑-2-基)-1a,6b-二氫-1H-環丙並[b]苯並呋喃-5-基)氧基)-3,4-二氫-1,8-二氮雜萘-2(1H)-酮馬來酸鹽，其為選自由下列組成之群組的結晶形式：結晶形式A*、A**、A、B、C、D、F、G、H、I、J、K、L、M及N。本發明的此等及其他態樣將在參照以下附圖、實施方式及請求項而得到更好的理解。

【圖式簡單說明】

【0061】

圖1顯示了無定形形式的化合物1的X射線衍射圖。

圖2顯示了化合物1倍半馬來酸鹽的結晶形式A* (從異丙醇/水中結晶)的X射線衍射圖。

圖3顯示了化合物1鹽酸鹽(1:1)的X射線衍射圖。

圖4顯示了化合物1甲磺酸鹽(1:1)的X射線衍射圖。

圖5顯示了化合物1 2-羥基乙磺酸鹽(1:1)的X射線衍射圖。

圖6顯示了化合物1 L-酒石酸鹽(1:1)的X射線衍射圖。

圖7顯示了化合物1草酸鹽(1:1)的X射線衍射圖。

圖8顯示了由化合物1分別與磷酸(1:1)、甲苯磺酸(1:1)、乙二磺酸(1:1)、硫酸(1:1)獲得的固體、API漿液對照及API的X射線衍射圖的疊加。

圖9顯示了由化合物1分別與L-乳酸(1:1)、L-蘋果酸(1:1)、丙二酸(1:1)、菸醯胺(1:1)、糖精(1:1)、琥珀酸(1:1)獲得的固體、API漿液對照及API的X射線衍射圖的疊加。

圖10顯示了由化合物1分別與苯甲酸(1:1)、檸檬酸(1:1)、富馬酸(1:1)、龍膽酸(1:1)、乙醇酸(1:1)獲得的固體、API漿液對照及API的X射線衍射圖的疊加。

圖11顯示了由化合物1與菸酸(1:1)獲得的固體、菸酸漿液對照、API漿液對照及API的X射線衍射圖的疊加。

圖12顯示了由化合物1與己二酸(1:1)獲得的固體、己二酸漿液對照、API漿液對照及API的X射線衍射圖的疊加。

圖13顯示了化合物1倍半馬來酸鹽的單晶形式A** (藉由從丙酮中結晶獲得的單晶)的絕對結構。

圖14示出了化合物1倍半馬來酸鹽的單晶形式A**的氫鍵。

圖15顯示了化合物1倍半馬來酸鹽的單晶形式A**的晶體堆積。

圖16顯示了使用MERCURY軟體計算的化合物1倍半馬來酸鹽的單晶形式A**的理論XRPD圖。

圖17顯示了化合物1倍半馬來酸鹽的結晶形式A (從異丙醇/水中重結晶獲得)的X射線衍射圖。

圖18顯示了化合物1馬來酸鹽的結晶形式B的X射線衍射圖。

圖19顯示了化合物1馬來酸鹽的結晶形式C的X射線衍射圖。

圖20顯示了化合物1馬來酸鹽的結晶形式D的X射線衍射圖。

圖21顯示了化合物1馬來酸鹽的結晶形式F的X射線衍射圖。

圖22顯示了化合物1馬來酸鹽的結晶形式G的X射線衍射圖。

圖23顯示了化合物1馬來酸鹽的結晶形式H的X射線衍射圖。

圖24顯示了化合物1馬來酸鹽的結晶形式I的X射線衍射圖。

圖25顯示了化合物1馬來酸鹽的結晶形式J的X射線衍射圖。

圖26顯示了化合物1馬來酸鹽的結晶形式K的X射線衍射圖。

圖27顯示了化合物1馬來酸鹽的結晶形式L的X射線衍射圖。

圖28顯示了化合物1馬來酸鹽的結晶形式M的X射線衍射圖。

圖29顯示了化合物1倍半馬來酸鹽的結晶形式A*的1H-NMR譜。

圖30顯示了化合物1倍半馬來酸鹽的結晶形式A*的13C-NMR譜。

圖31顯示了藉由DVS的化合物1倍半馬來酸鹽的結晶形式A*的吸濕性(即水分吸收)。

圖32顯示了化合物1馬來酸鹽(1:1)的結晶形式N的1H-NMR譜。

圖33顯示了化合物1馬來酸鹽(1:1)的結晶形式N的X射線衍射圖。

圖34顯示了化合物1倍半馬來酸鹽的結晶形式A的1H-NMR譜。

圖35顯示了化合物1馬來酸鹽(1:1.2)的結晶形式B的1H-NMR譜。

圖36顯示了化合物1馬來酸鹽(1:1.3)的結晶形式C的1H-NMR譜。

圖37顯示了化合物1馬來酸鹽(1:1)的結晶形式D的1H-NMR譜。

圖38顯示了化合物1馬來酸鹽(1:0.5)的結晶形式F的1H-NMR譜。

圖39顯示了化合物1馬來酸鹽(1:0.5)的結晶形式G的1H-NMR譜。

圖40顯示了化合物1馬來酸鹽(1:1)的結晶形式H的1H-NMR譜。

圖41顯示了化合物1馬來酸鹽(1:0.5)的結晶形式I的1H-NMR譜。

圖42顯示了化合物1馬來酸鹽(1:1)的結晶形式J的1H-NMR譜。

圖43顯示了化合物1馬來酸鹽(1:1)的結晶形式K的1H-NMR譜。

圖44顯示了化合物1馬來酸鹽(1:0.3)的結晶形式L的1H-NMR譜。

圖45顯示了化合物1馬來酸鹽(1:1.3)的結晶形式M的1H-NMR譜。

【實施方式】

【0062】 在製備本發明的鹽的過程中，研究了在製藥工業中通常使用的許多鹽形成劑。具體地，本發明研究的鹽形成劑包括選自由下列組成之群組的25種酸或鹽形成劑：鹽酸、硫酸、磷酸、甲磺酸、2-羥基乙磺酸、苯磺酸、乙醇酸、l-乳酸、富馬酸、l-酒石酸、檸檬酸、l-蘋果酸、琥珀酸、馬尿酸、馬來酸、己二酸、苯甲酸、龍膽酸、丙二酸、乙二磺酸、甲苯磺酸、草酸、菸酸、菸醯胺及糖精。

【0063】 然而，化合物**1**與僅六種鹽的反應顯示出形成鹽。具體地，化合物**1**與六種酸包括鹽酸(**圖3**)、甲磺酸(**圖4**)、2-羥基乙磺酸(**圖5**)、L-酒石酸(**圖6**)、馬來酸(**圖2**、**圖17**等)及草酸(**圖7**)的鹽的固體形式顯示出與自由鹼、API對照及固體酸對照不同的結晶形式。與本申請的以上六種結晶鹽不同的是，其他鹽無法結晶。

【0064】 在一個態樣，本申請提供了化合物**1**倍半馬來酸鹽，其藉由本申請披露的方法大量地製備。如在**圖2**中所示，化合物**1**倍半馬來酸鹽為結晶形式(本申請稱為結晶形式A*)並且其X射線粉末衍射圖通常具有以下峰衍射角(其中“間距”在**圖2**中顯示為“d-值”)：

表 1. 化合物 1 倍半馬來酸鹽(結晶形式 A*)的 X 射線衍射圖

峰#	衍射角(2-θ)	間距	相對強度
1	6.253	14.13519	10.0
2	8.906	9.92940	30.9
3	9.378	9.43099	28.13
4	11.212	7.89173	38.55
5	12.5523	7.06862	8.177
6	13.362	6.62652	13.20
7	17.898	4.95609	88.46
8	18.550	4.78320	100.0
9	18.800	4.72011	43.37
10	19.316	4.59525	36.49
11	20.131	4.41102	83.24
12	20.740	4.28292	17.94
13	21.190	4.19287	16.90
14	21.821	4.07307	36.93
15	22.381	3.97242	56.88
16	22.559	3.94149	32.65
17	23.341	3.81112	24.44

18	23.849	3.73111	29.73
19	24.708	3.60331	11.49
20	25.581	3.48226	11.77
21	26.117	3.41211	20.07
22	27.395	3.25570	21.16
23	28.280	3.15580	15.24
24	28.596	3.12169	16.38
25	29.032	3.07578	16.13
26	29.354	3.04276	14.76
27	30.372	2.94304	10.81

【0065】 化合物**1**倍半馬來酸鹽的結晶形式A*為相當穩定的結晶形式。在微粉化以變為具有約1-10微米的平均細微性(D90)的均勻分佈的精細顆粒後，其可容易地配製為醫藥產品以用於臨床使用。

【0066】 在另一實施例中，本申請提供了化合物**1**倍半馬來酸鹽的單晶形式A**。使用由藉由在丙酮中緩慢冷卻而生長得到的單晶採集的一組衍射數據確定化合物**1**倍半馬來酸鹽的結晶形式A**的結構。結晶數據及結構精修列於表2。

表 2：化合物 1 倍半馬來酸鹽(結晶形式 A)的單晶數據及結構精修**

經驗式	$C_{25}H_{18}F_3N_4O_3 \cdot 1.5C_4H_4O_4$	-
式量	652.5	
溫度	173(2)K	-
波長	1.54178Å	-

晶系，空間群	單斜晶	C2
晶胞尺寸	a=19.7026(5) Å b=5.1350(2) Å c=28.4299(8) Å	α=90.00° β=93.692(2)° γ=90.00°
體積	2870.36(16) $Å^3$	-
Z，計算密度	4	1.505 Mg/m^3
吸收係數	1.076 mm^{-1}	-
F(000)	1336	-
晶體細微性	0.09 x 0.08 x 0.05 mm	-
數據採集的θ範圍	4.50至66.10°	-
限制參數	-20<=h<-23, -6<=k<=5, -30<=l<=32	- - -
採集的反射/單值	7195 / 3684 [R(int)=0.0272]	-
完整性	92.6%	-
精修方法	全矩陣最小二乘法，F^2	-
數據/限制/參數	3684 / 2 / 436	-
擬合優度，F^2	1.033	-
最終R指數[I>2σ(I)]	R1=0.0818	wR2=0.2276

絕對結構參數	0.1(5)	
最大衍射峰及衍射孔	0.535及-0.411e $Å^{-3}$	-

【0067】 **圖13**所示的化合物**1**馬來酸鹽的單晶結構確定了倍半馬來酸鹽，其中自由鹼分子的咪唑氮原子被質子化。如經0.1(5)的絕對結構參數所表明，極有可能地確定C1(S)、C2(R)及C3(R)的絕對構型。**圖14**證實了氫鍵相互作用。該結構證實了處於*bc*平面的二維結構。化合物**1**的自由鹼分子及馬來酸根陰離子藉由沿b軸的分子間相互作用(N3…N3 2.797Å)及氫鍵(N2-H2…O4 2.760Å)連接。然後帶式結構(tape structure)經馬來酸根陰離子藉由沿c軸的分子間相互作用(N3…O7 3.008Å及N4…O7 2.715Å)及氫鍵 (N1-H1…O8 2.659Å)連接以形成二維結構。化合物**1**倍半馬來酸鹽的晶體堆積示於**圖15**。使用MERCURY軟體計算的化合物**1**倍半馬來酸鹽的單晶形式A**的理論PXRD圖示於**圖16**。

【0068】 在另一實施例中，本申請提供了化合物**1**倍半馬來酸鹽的結晶形式A。如**圖17**所示，結晶形式A的X射線粉末衍射譜圖通常具有以下峰衍射角(其中“間距”在**圖17**中顯示為“d-值”)：

表 3. 化合物 1 倍半馬來酸鹽(結晶形式 A)的 X 射線衍射圖

峰#	衍射角 (2θ)	間距	相對強度
1	8.27	9.90600	30.76
2	11.238	7.87344	7.95
3	17.881	4.96051	100

4	18.353	4.83408	11.84
5	18.569	4.77847	14.65
6	19.336	4.59064	24.76
7	20.757	4.27949	8.36
8	22.543	3.94417	9.52

【0069】 在另一實施例中，本申請提供了化合物**1**馬來酸鹽的結晶形式B。如在**圖18**中所示，結晶形式B的X射線粉末衍射譜圖通常具有以下峰衍射角(其中“間距”在**圖18**中顯示為“d-值”)：

表 4. 化合物 1 馬來酸鹽(結晶形式 B)的 X 射線衍射圖

峰#	衍射角(2θ)	間距	相對強度
1	11.064	7.99711	25.70
2	15.830	5.59824	23.75
3	17.735	5.00106	60.43
4	18.433	4.81337	100.00
5	19.569	4.53629	49.28
6	22.298	3.98695	15.61
7	23.136	3.84440	11.05
8	28.772	3.10295	8.09

【0070】 在另一實施例中，本申請提供了化合物**1**馬來酸鹽的結晶形式C。如在**圖19**中所示，結晶形式C的X射線粉末衍射譜圖通常具有以下峰衍射角(其中“間距”在**圖19**中顯示為“d-值”)：

表 5. 化合物 1 馬來酸鹽(結晶形式 C)的 X 射線衍射圖

峰#	衍射角(2θ)	間距	相對強度
1	3.088	28.60902	9.98
2	8.848	9.99908	46.62
3	11.189	7.90827	9.76
4	17.789	4.98615	100
5	18.537	4.78670	36.03
6	19.308	4.59714	14.97
7	20.139	4.40940	27.63
8	20.710	4.28897	14.07
9	21.851	4.06750	12.59
10	22.427	3.96427	24.96

【0071】 在另一實施例中，本申請提供了化合物**1**馬來酸鹽的結晶形式D。如在**圖20**中所示，結晶形式D的X射線粉末衍射譜圖通常具有以下峰衍射角(其中“間距”在**圖20**中顯示為“d-值”)：

表 6. 化合物 1 馬來酸鹽(結晶形式 D)的 X 射線衍射圖

峰#	衍射角(2θ)	間距	相對強度
1	8.8814	9.95688	100
2	14.852	5.96478	62.23
3	16.662	5.32061	21.84
4	17.849	4.96938	63.17
5	19.866	4.46927	14.65

6	20.427	4.34779	23.50
7	20.875	4.25534	77.17
8	26.946	3.30884	10.36

【0072】 在另一實施例中，本申請提供了化合物**1**馬來酸鹽的結晶形式F。如在**圖21**中所示，結晶形式F的X射線粉末衍射譜圖通常具有以下峰衍射角(其中“間距”在**圖21**中顯示為“d-值”)：

表 7. 化合物 1 馬來酸鹽(結晶形式 F)的 X 射線衍射圖

峰#	衍射角(2θ)	間距	相對強度
1	12.8950	6.86490	48.90
2	17.002	5.21500	100.00
3	18.539	4.78590	80.53
4	19.376	4.58097	25.72
5	20.526	4.32695	12.38
6	22.450	3.96024	26.20
7	24.109	3.69134	27.52

【0073】 在另一實施例中，本申請提供了化合物**1**馬來酸鹽的結晶形式G。如在**圖22**中所示，結晶形式G的X射線粉末衍射譜圖通常具有以下峰衍射角(其中“間距”在**圖22**中顯示為“d-值”)：

表 8. 化合物 1 馬來酸鹽(結晶形式 G)的 X 射線衍射圖

峰#	衍射角(2θ)	間距	相對強度
1	3.351422	26.36357	14.43
2	5.638473	15.67420	27.54
3	6.998775	12.63047	67.95

4	10.329730	8.56388	29.94
5	10.919920	8.10232	23.42
6	11.694360	7.56744	16.36
7	12.362260	7.16005	22.10
8	13.112730	6.75191	30.97
9	13.984910	6.33272	28.84
10	14.943380	5.92863	16.07
11	16.407270	5.40281	74.55
12	17.376000	5.10373	18.05
13	18.558810	4.78103	16.17
14	19.308660	4.59702	31.06
15	20.132270	4.41078	100.00
16	21.012040	4.22805	22.15
17	21.881810	4.06192	23.11
18	23.564930	3.77547	44.67
19	24.154400	3.68465	51.53
20	25.587090	3.48149	13.17
21	26.364010	3.38063	21.61

【0074】 在另一實施例中，本申請提供了化合物**1**馬來酸鹽的結晶形式H。如在**圖23**中所示，結晶形式H的X射線粉末衍射譜圖通常具有以下峰衍射角(其中“間距”在**圖23**中顯示為“d-值”)：

表 9. 化合物 1 馬來酸鹽(結晶形式 H)的 X 射線衍射圖

峰#	衍射角(2θ)	間距	相對強度

1	6.294908	14.04108	9.99
2	9.040457	9.78209	10.48
3	10.074560	8.78021	24.60
4	11.204790	7.89696	11.80
5	12.692280	6.97462	14.26
6	14.473290	6.12011	14.35
7	16.101530	5.50471	36.24
8	16.622550	5.33332	17.30
9	17.855220	4.96781	29.67
10	18.097650	4.90181	32.61
11	18.501470	4.79572	41.68
12	19.042360	4.66070	36.42
13	20.114010	4.41474	100.00
14	21.917240	4.05543	16.94
15	22.433180	3.96331	18.58
16	23.879340	3.72646	18.50
17	25.098100	3.54820	15.92
18	26.213960	3.39964	12.23
19	28.673350	3.11340	10.18

【0075】 在另一實施例中，本申請提供了化合物**1**馬來酸鹽的結晶形式I。如在**圖24**中所示，結晶形式I的X射線粉末衍射譜圖通常具有以下峰衍射角(其中“間距”在**圖24**中顯示為“d-值”)：

表 10. 化合物 1 馬來酸鹽(結晶形式 I)的 X 射線衍射圖

峰#	衍射角(2θ)	間距	相對強度
1	3.086569	28.62517	15.12
2	5.525770	15.99363	47.95
3	6.845361	12.91319	33.34
4	10.789930	8.19964	14.63
5	11.528000	7.67627	16.64
6	13.741150	6.44451	12.46
7	16.140190	5.49161	100.00
8	16.329510	5.42837	53.02
9	17.837260	4.97277	17.37
10	19.805120	4.48289	19.75
11	21.490820	4.13492	29.27
12	23.778480	3.74204	24.24
13	24.430650	3.64361	10.93
14	28.340390	3.14921	14.75

【0076】 在另一實施例中，本申請提供了化合物**1**馬來酸鹽的結晶形式J。如在**圖25**中所示，結晶形式J的X射線粉末衍射譜圖通常具有以下峰衍射角(其中“間距”在**圖25**中顯示為“d-值”)：

表 11. 化合物 1 馬來酸鹽(結晶形式 J)的 X 射線衍射圖

峰#	衍射角(2θ)	間距	相對強度
1	5.453070	16.20669	13.27
2	8.181307	10.80732	37.62
3	10.914730	8.10616	29.43

4	11.306440	7.82619	30.63
5	13.644550	6.48992	46.61
6	14.758270	6.00257	28.91
7	15.798340	5.60966	68.33
8	17.372670	5.10470	20.50
9	17.962700	4.93833	27.49
10	19.145700	4.63578	65.51
11	19.832200	4.47683	45.48
12	20.015630	4.43622	50.52
13	20.387440	4.35614	51.65
14	21.088800	4.21283	25.59
15	21.899390	4.05869	100.00
16	22.560170	3.94129	22.65
17	23.370140	3.80649	29.34
18	24.136010	3.68742	44.18
19	25.034500	3.55707	14.16
20	26.132190	3.41010	33.46
21	26.873870	3.31764	35.15
22	27.263660	3.27109	37.17
23	28.403150	3.14240	21.20
24	29.067850	3.07204	12.67
25	33.124220	2.70452	10.36
26	35.894930	2.50187	10.55

【0077】 在另一實施例中，本申請提供了化合物**1**馬來酸鹽的結晶形式K。如在**圖26**中所示，結晶形式K的X射線粉末衍射譜圖通常具有以下峰衍射角(其中“間距”在**圖26**中顯示為“d-值”)：

表 12. 化合物 1 馬來酸鹽(結晶形式 K)的 X 射線衍射圖

峰#	衍射角(2θ)	間距	相對強度
1	3.115252	28.36168	18.53
2	8.922593	9.91104	19.50
3	9.344002	9.46499	13.34
4	11.217130	7.88830	20.74
5	16.682200	5.31439	15.77
6	17.929610	4.94737	63.98
7	18.580880	4.77540	75.23
8	18.842720	4.70963	66.62
9	19.380270	4.58020	32.04
10	20.168150	4.40301	100.00
11	21.857140	4.06644	45.71
12	22.422840	3.96512	62.91
13	23.410410	3.80004	32.07
14	23.929130	3.71882	36.53
15	24.623550	3.61550	14.68
16	26.159740	3.40657	37.04
17	27.437630	3.25074	23.90

18	28.503550	3.13156	17.59
19	29.361540	3.04197	13.34
20	30.382770	2.94201	10.52

【0078】 在另一實施例中，本申請提供了化合物**1**馬來酸鹽的結晶形式L。如在**圖27**中所示，結晶形式L的X射線粉末衍射譜圖通常具有以下峰衍射角(其中“間距”在**圖27**中顯示為“d-值”)：

表 13. 化合物 1 馬來酸鹽(結晶形式 L)的 X 射線衍射圖

峰#	衍射角(2θ)	間距	相對強度
1	9.698117	9.12016	77.30
2	14.051610	6.30281	100.00

【0079】 在另一實施例中，本申請提供了化合物**1**馬來酸鹽的結晶形式M。如在**圖28**中所示，結晶形式M的X射線粉末衍射譜圖通常具有以下峰衍射角(其中“間距”在**圖28**中顯示為“d-值”)：

表 14. 化合物 1 馬來酸鹽(結晶形式 M)的 X 射線衍射圖

峰#	衍射角(2θ)	間距	相對強度
1	5.034370	17.55360	12.31
2	9.305185	9.50438	13.27
3	11.256770	7.86061	27.54
4	14.880450	5.95356	11.84
5	15.926370	5.56486	19.75
6	17.354960	5.10987	30.82
7	18.013680	4.92447	72.36

8	18.719310	4.74040	61.47
9	19.383410	4.57946	43.82
10	20.210580	4.39386	100.00
11	22.125110	4.01780	70.61
12	23.388940	3.80347	42.17
13	24.313510	3.66090	42.06
14	25.384410	3.50883	55.22
15	26.475530	3.36665	60.01
16	27.463200	3.24777	45.10
17	28.476490	3.13447	29.51
18	29.269130	3.05137	22.64

【0080】 在另一實施例中，本申請提供了化合物**1**馬來酸鹽(1:1) 結晶形式N。如在**圖33**中所示，結晶形式N的X射線粉末衍射譜圖通常具有以下峰衍射角(其中“間距”在**圖33**中顯示為“d-值”)：

表 15. 化合物 1 馬來酸鹽(1:1) (結晶形式 N)的 X 射線衍射圖

峰#	衍射角(2θ)	間距	相對強度
1	3.295141	26.81374	29.53
2	6.606152	13.38023	31.10
3	9.875418	8.95682	37.94
4	11.729470	7.54487	10.71
5	13.142240	6.73681	18.08
6	15.234010	5.81617	12.66

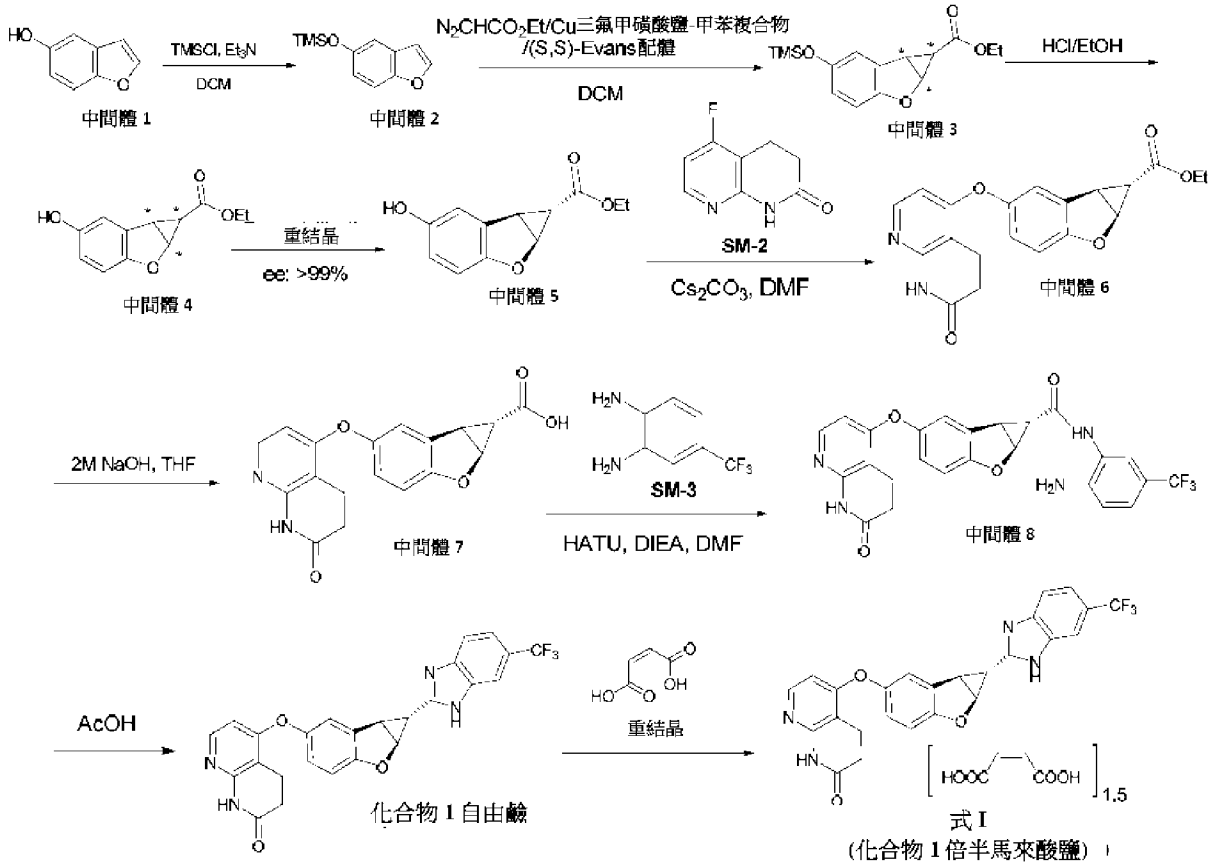
7	16.564110	5.35201	61.06
8	17.935520	4.94575	21.08
9	18.719110	4.74045	49.78
10	19.339860	4.58967	65.12
11	19.929920	4.45510	45.61
12	20.761080	4.27858	100.00
13	22.042190	4.03272	35.16
14	22.951470	3.87497	23.00
15	23.861870	3.72915	19.25
16	25.185120	3.53614	33.97
17	26.607380	3.35026	29.63
18	28.356330	3.14748	18.66
19	30.131030	2.96602	10.90
20	31.356510	2.85284	4.92
21	33.490100	2.67581	4.87
22	37.224360	2.41551	4.86

【0081】 對於如上所述的結晶形式A*、A**、A、B、C、D、F、G、H、I、J、K、L、M及N，僅匯總了主峰(即最具有特徵性的、顯著的、獨特的及/或可重現的峰)；其他峰可經常規方法由衍射譜圖獲得。如上所述的主峰可在誤差界限(在最後給出的小數位+或−2，或在指定值+或−0.2)內重現。

【0082】 在另一態樣，本申請提供了製備式(*I*)或式(*II*)的化合物的方法。

【0083】 在一個實施例中，本申請提供了根據方案1所述的操作製備或純化的化合物**1**倍半馬來酸鹽的結晶形式A*。本申請披露的新的合成方法及結晶/重結晶方法克服了與先前報道的方法相關的許多問題，諸如製備了具有>99%光學純度的關鍵對掌性中間體，並且提供了優於現有方法的許多優勢。值得注意的是，本申請披露的方法特別適於具有高質量及良好收率的化合物**1**倍半馬來酸鹽的可重現的、商業規模的製備。

反應圖 1



【0084】 化合物**1**倍半馬來酸鹽的結晶形式可藉由以下一般方法製備：將化合物**1**倍半馬來酸鹽的結晶形式A*與溶劑加熱直到完全溶解。濾過後，冷卻，結晶，濾過並乾燥，獲得相應的不同的結晶形式。製備化合物**1**倍半馬來酸鹽的結晶形式A的結晶方法的實例描述

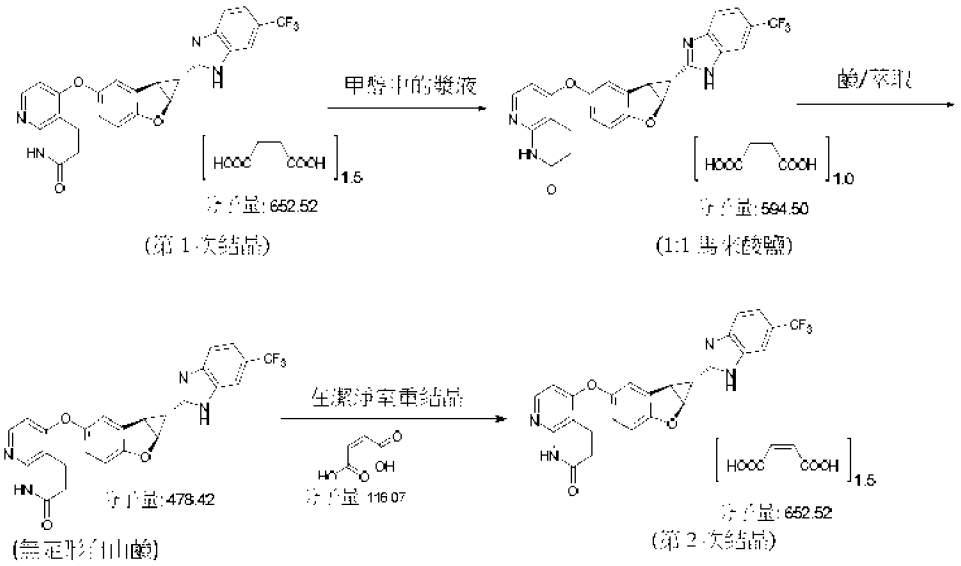
於實例3 (如下)。上述結晶可在單一溶劑、有機溶劑混合物或水及有機溶劑混合物中進行。用於結晶的適當的有機溶劑可選自但不限於低級烷基醇、酮、醚、酯、鹵代烴、烷、鹵代苯、脂族腈及其他芳香溶劑。較佳的溶劑包括例如異丙醇、乙酸乙酯、水、N,N-二甲基甲醯胺、甲醇、乙醇、丙酮、乙腈及其混合物。

【0085】 化合物**1**的自由鹼最初作為無定形固體獲得，其為略微吸濕性的，在0至80% RH具有2.2%水分增加。在動態蒸汽吸附(DVS)後未觀察到形式轉化。其顯示出非-雙折射現象，由偏振光顯微鏡顯示出不規則形態。

【0086】 本申請披露了化合物**1**的鹽酸鹽、甲磺酸鹽、2-羥基乙磺酸鹽、L-酒石酸鹽、馬來酸鹽及草酸鹽，其中令人驚訝地發現，該馬來酸鹽，具體地為倍半馬來酸鹽，具有醫藥候選物的期望的性質。例如，化合物**1**並未形成結晶酒石酸鹽，且草酸鹽具有較差的結晶性。儘管2-羥基乙磺酸鹽、甲磺酸鹽及HCl鹽顯示出在水中的相對良好的溶解性，但是HCl鹽是化學不穩定的，其在60°C及40°C/75% RH保持一周後具有顯著的降解，且2-羥基乙磺酸鹽及甲磺酸鹽均是吸濕性的，其在0至80% RH具有約4%的重量增加。2-羥基乙磺酸鹽及甲磺酸鹽也在60°C及40°C/75% RH保持一周後顯示出降解，且由此預期缺乏期望的長期化學穩定性。另一態樣，倍半馬來酸鹽(1:1.5自由鹼/馬來酸)具有良好的結晶性，如經本申請披露的XRPD圖所證實，其微溶于水且在60°C及40°C/75% RH保持一周後未顯示出降解，這證實了可能的長期穩定性；因此，選擇倍半馬來酸鹽用於進一步開發。

【0087】 如果期望或需要，化合物**1**倍半馬來酸鹽的純度可藉由經甲醇-漿液方法將倍半馬來酸鹽轉化為馬來酸鹽(1:1比例的自由鹼/酸)而進一步改善。1:1馬來酸鹽結晶鹽的形成引起了雜質的有效排出。自由鹼的無定形形式也可以高純度藉由如下製備：將1:1馬來酸鹽用鹼處理，然後用溶劑萃取。藉由將自由鹼用馬來酸處理來製備具有顯著更高純度的倍半馬來酸鹽結晶鹽(反應圖2)。

反應圖 2



【0088】 本申請的術語“低級烷基醇”包括直鏈或支鏈C_1-C_8，較佳為C_1-C_6，較更佳為C_1-C_4烷基醇。具體實例包括但不限於甲醇、乙醇、異丙醇及丁醇。

【0089】 除非另外說明，否則本申請使用的術語“約”是指數字(例如溫度、pH、體積等)可在±10%，較佳±5%內變化。

【0090】 本發明的結晶形式的結晶也可在含有至少一種溶劑的適當的溶劑系統中進行，其藉由蒸發溶劑，冷卻及/或添加抗溶劑(不能使化合物**1**倍半馬來酸鹽溶解的溶劑，包括但不限於本申請所述的彼等)以實現在該溶劑系統中的過飽和。

【0091】 結晶可使用或不使用晶種來進行，其描述於本發明中。

【0092】 本發明提供的各個結晶形式在具體條件下開發，這取決於結晶方法的具體的熱力學及平衡性質。因此，熟習此項技術者將認識到形成的結晶是結晶方法的動力學及熱力學性質的結果。在某些條件(例如溶劑、溫度、壓力及化合物濃度)下，具體的結晶形式相比於其他結晶形式可為更穩定的(或者事實上相比於其他結晶形式是更穩定的)。然而，具體結晶的相對低的熱力學穩定性可具有有利的動力學穩定性。除了動力學之外的其他因素，諸如時間、雜質分佈、攪拌及存在或不存在晶種，也可影響結晶形式。

【0093】 在另一態樣，本申請提供了醫藥組合物，其各自含有有效量的化合物**1**馬來酸鹽及醫藥上可接受之載體，該化合物**1**馬來酸鹽具有上述任一種結晶形式：A*、A**、A、B、C、D、F、G、H、I、J、K、L、M及N，具體地為化合物**1**倍半馬來酸鹽的結晶形式A*。活性化合物可占該組合物的1-99% (按重量計)，較佳為1-70% (按重量計)或較更佳為1-50% (按重量計)或最佳為5-40% (按重量計)。

【0094】 醫藥組合物可以如下形式口服投予：諸如膠囊劑、錠劑、丸劑、粉末、持續釋放注射劑，諸如無菌溶液、混懸液或乳液的形式；經局部處理形式投予，諸如糊劑、乳膏劑或軟膏劑；或經直腸形式投予，諸如栓劑。醫藥組合物可為適於精確投予應用的單位劑型。此外，醫藥組合物可包含其他活性成分。

【0095】 適當的醫藥載體包括水、各種有機溶劑及各種惰性稀釋劑或填充劑。需要時，醫藥組合物可含有各種添加劑，諸如香料、粘合劑及賦形劑。對於口服投予，錠劑及膠囊劑可含有各種賦形劑諸如檸

檸酸；各種崩解劑諸如澱粉、海藻酸及一些矽酸鹽；及各種粘合劑諸如蔗糖、明膠及阿拉伯膠。此外，通常在製備錠劑中使用潤滑劑，包括硬脂酸鎂及滑石填充劑。相同類型的固體成分也可用於配製軟及硬明膠膠囊。當口服投予需要水性混懸液時，活性化合物可與各種甜味劑或矯味劑、色素或染料組合混合。需要時，可採用各種乳化劑或產生混懸液；可採用稀釋劑諸如水、乙醇、丙二醇、甘油或其組合。

【0096】 上述醫藥組合物較佳口服投予。

【0097】 上述醫藥組合物較佳為膠囊劑或錠劑形式。

【0098】 在另一態樣，本申請提供了本申請化合物(即化合物**1**馬來酸鹽及任一種上述結晶形式A*、A**、A、B、C、D、F、G、H、I、J、K、L、M及N)在製備用於治療與抑制Braf激酶或其他激酶諸如EGFR、VEGFR、EPHA、EPHB等相關的癌症的醫藥中的用途。

【0099】 在一個實施例中，本申請提供了本申請化合物(即化合物**1**馬來酸鹽及任一種上述結晶形式A*、A**、A、B、C、D、F、G、H、I、J、K、L、M及N)在製備用於治療或預防哺乳動物胰腺炎、腎病、癌症、血管發生或血管發生相關疾病的醫藥中的用途。

【0100】 本申請的化合物**1**馬來酸鹽及任一種上述結晶形式A*、A**、A、B、C、D、F、G、H、I、J、K、L、M及N，或化合物**1**馬來酸鹽(1:1)結晶形式N可用於治療或預防選自但不限於以下的疾病：腫瘤血管發生；慢性炎性疾病諸如類風濕性關節炎、動脈粥樣硬化；皮膚疾病諸如銀屑病及硬皮病；糖尿病誘導的皮膚疾病、糖尿病視網膜病、早產兒視網膜病變、年齡相關的變性色斑、血管瘤、膠質瘤、卡波西內部腫瘤、卵巢癌、乳腺癌、肺癌、胰腺癌、淋巴瘤、前列腺

癌、結腸癌及皮膚腫瘤，以及它們的併發症。在本申請提及的哺乳動物中，較佳為人類。

【0101】 上述治療方法的標靶疾病較佳選自B-RAF、NRAS及K-RAS突變體腫瘤諸如B-RAF或NRAS或K-RAS突變體非小細胞肺癌、結腸直腸癌、子宮內膜癌、腎癌、骨癌、肝癌、膀胱癌、胸部癌、頸癌、食管癌、胃癌、結腸癌、直腸癌、乳腺癌、卵巢癌、黑素瘤、皮膚癌、腎上腺癌、子宮頸癌、淋巴瘤或甲狀腺腫瘤，以及它們的併發症。

【0102】 上述方法可與任何化學療法(例如MEK抑制劑)、生物療法或放射療法組合使用。

【0103】 所投予的活性成分或化合物的劑量將由以下確定：待治療患者的個體需求、投予途徑、疾病或病症嚴重性、投予方案以及指定醫生的評價及判斷。然而，基於活性化合物，有效劑量的較佳範圍可為在單一或分開劑量中的約每日0.01-120 mg/kg體重；或較更佳為每日0.1-10 mg/kg體重。在一些情況下，更適當的是應用上述劑量範圍的下限，而在其他情況下，可使用較大劑量而不引起有害副作用。

【0104】 本申請的另一態樣提供用於臨床應用的化合物**1**倍半馬來酸鹽。具體地，本發明涉及使用化合物**1**馬來酸鹽的臨床治療，其採用針對癌症患者的以下治療選擇：化合物**1**馬來酸鹽及/或結晶形式A*、A**、A、B、C、D、F、G、H、I、J、K、L、M及N的劑量可為1-100 mg/天，投予頻率為每日1-3次；較佳劑量為5-50 mg/天，投予頻率為每日1-3次；較更佳為劑量為5-60 mg/天，投予頻率為1次/天；甚至較更佳為劑量為10-50 mg/天，投予頻率為每日1次。

【0105】 下述合成方法、具體實例及效能測試進一步描述了本發明的某些態樣。它們不應當以任何方式限制或限定本發明的範圍。

實例

【0106】 如下實例意在示例說明且著重於保證關於所使用的數字(例如量、溫度等)的準確性，但應當考慮到一些實驗誤差及偏差。除非另作說明，否則溫度以°C (攝氏度)計。試劑購自商業供應商諸如Sigma-Aldrich、Alfa Aesar或TCI，且無需進一步純化即可使用，除非另作說明。

【0107】 除非另作說明，否則下文闡述的反應在氮氣或氬氣的正壓下或使用乾燥管在無水溶劑中進行；反應燒瓶配備有用於經注射器引入底物及試劑的橡膠隔膜；且將玻璃器皿烘乾及/或加熱乾燥。

【0108】 除非另作說明，否則柱層析純化在如下儀器中進行：具有矽膠柱的Biotage系統(製造商：Dyax Corporation)或矽膠SepPak柱(Waters)；或使用預裝填的矽膠柱的Teledyne Isco Combiflash純化系統。

【0109】 ^{1}H NMR光譜及^{13}C NMR記錄於Varian儀器上，其以400 MHz操作，使用DMSO-d6作為溶劑。

【0110】 獲自無色板狀結晶的X射線強度數據在173(2) K使用Bruker APEX-II CCD衍射儀(Cu Kα輻射, λ= 1.54178 Å)測量。偏振光顯微鏡照片在室溫捕獲。

【0111】 在以下實例中，可使用以下縮寫：

AcOH 乙酸

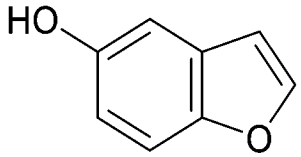
ACN		乙腈
API		活性醫藥成分，此後有時稱為化合物 **1**
Aq		水性
Brine		飽和氯化鈉水溶液
Bn		苄基
BnBr		苄基溴
CH_2Cl_2		二氯甲烷
DMF		N,N-二甲基甲醯胺
Dppf		1,1"-二(二苯基膦基)二茂鐵
DBU		1,8-二氮雜二環[5.4.0]十一碳-7-烯
DIEA	或	N,N-二異丙基乙基胺
DIPEA		
DMAP		4-N,N-二甲基氨基吡啶
DMF		N,N-二甲基甲醯胺
DMSO		二甲基亞碸
EtOAc		乙酸乙酯
EtOH		乙醇
Et_2O	或	乙醚
ether		
g		克
h 或 hr		小時
HATU		O-(7-氮雜苯並三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲鎓六氟磷酸鹽

HCl	鹽酸
HPLC	高效液相層析
IPA	2-丙醇
i-PrOH	異丙醇
Mg	毫克
mL	毫升
mmol	毫摩爾
MeCN	乙腈
MeOH	甲醇
min	分鐘
ms 或 MS	質譜
Na_2SO_4	硫酸鈉
PE	石油醚
PPA	多磷酸
Rt	保留時間
Rt 或 rt	室溫
TBAF	四丁基氟化銨
TBSCl	第三丁基二甲基氯矽烷
TFA	三氟乙酸
THF	四氫呋喃
TLC	薄層層析
TMSCl	三甲基氯矽烷
μL	微升

【0112】 **實例1：化合物1與各種鹽形成劑的鹽的形成**

【0113】 **實例1A：化合物1的自由鹼及化合物1倍半馬來酸鹽的結晶形式A*的製備**

【0114】 步驟1：中間體1的合成

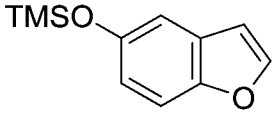


中間體 1

【0115】 在≤35°C的內部溫度在氮氣保護下向EtONa (154 kg)在DMF (989 kg)中的攪拌溶液中加入EtSH(68.6 kg)。將混合物在≤35°C的內部溫度攪拌60~90min。加入5-甲氧基苯並呋喃(58.75 kg)在DMF (55.0 kg)中的溶液。將混合物加熱至110-130°C，攪拌45小時，然後在低於90°C真空濃縮。在將混合物冷卻至10~20°C後，逐滴加入2N HCl (1326 kg)，隨後在≤35°C的內部溫度加入EtOAc (531 kg)及H_2O_2 (129 kg)。將混合物攪拌30~60min。在分離有機層後，將水相用EtOAc萃取。將合併的有機相用飽和鹽水洗滌兩次，然後將溶劑蒸發乾燥。在低於40°C將MeOH及NaOH (44.5 kg)在水(185 kg)中的溶液逐滴加入至殘留物。將混合物在30~40°C攪拌5-7小時。加入用水(77 kg)濕潤的活性炭(74 kg)。將混合物在30~40°C攪拌4-6小時並濾過；並將濾餅用MeOH及水洗滌。將DCM加入至濾液中並在低於40°C將pH用35% aq. HCl調節為1。將水相用DCM萃取，並將有機相用25% NaCl洗滌並在低於40°C濃縮。殘留物直接用於下一步中。^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6) δ 9.14 (s, 1H), 7.86 (d, *J* = 2.0 Hz,

1H), 7.36 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 6.94 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 6.79 (dd, *J* = 2.0, 0.9 Hz, 1H), 6.74 (dd, *J* = 8.8, 2.4 Hz, 1H) ppm。MS: M/e 135 $(M+1)^+$。

【0116】 步驟2：中間體2的合成

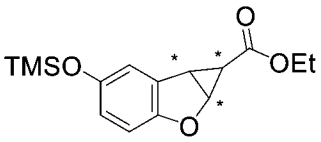


中間體 2

【0117】 在-5至0°C向苯並呋喃-5-醇(中間體1, 33.1 kg)及Et3N (50.8 kg)在DCM (155 kg)中的攪拌溶液中逐滴加入TMSCl (30.4 kg)在DCM (50 kg)中的溶液。將混合物溫熱至0~10°C並在該溫度攪拌2小時(IPC檢驗的INT-1/INT-2=37.4%)。將混合物冷卻至-5至0°C並逐滴加入TMSCl (10.6 kg)在DCM (8 kg)中的溶液，然後將混合物溫熱至0~10°C並在該溫度攪拌1h。將混合物在低於40°C濃縮，並向該混合物中加入正庚烷。將混合物攪拌20-30分鐘並濾過，並將濾餅用正庚烷洗滌。將溶劑由濾液蒸餾出以獲得粗的中間體2 (INT-2%: 62.7%, KF: 0.01%)。在-5至0°C向上述粗的中間體2及Et_3N (8.6 kg)在DCM (149 kg)中的攪拌溶液中逐滴加入TMSCl (9.0 kg)在DCM (10 kg)中的溶液。將混合物溫熱至0~10°C並在該溫度攪拌1h (TLC顯示反應完成)。將反應混合物在低於40°C濃縮，並向該混合物中加入正庚烷。將混合物攪拌20-30分鐘，然後濾過，並將濾餅用正庚烷洗滌。將溶劑由濾液蒸餾出以獲得中間體2 (41.5 kg, INT-2 %: 98.1%)，其為無色油狀物。^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6) δ 7.69 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.21 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 6.84 (d, *J* = 2.5 Hz,

1H), 6.61 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 6.56 (dd, *J* = 8.8, 2.5 Hz, 1H), 0.00 (s, 9H) ppm。

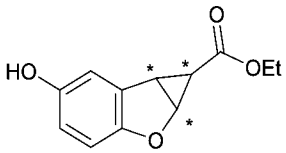
【0118】 步驟3：中間體3的合成



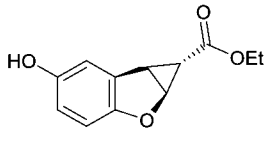
中間體 3

【0119】 將三氟甲磺酸亞銅(I) (與甲苯的2:1複合物, 0.41 kg)及(S, S)-Evans配體(0.552 kg)在DCM (160 kg)在環境溫度在氮氣氣氛下攪拌1-2 小時。加入中間體2 (37.0 kg)，隨後在20~30°C緩慢加入重氮乙酸乙酯(58 kg)在DCM (450 kg)中的溶液。將反應混合物在20~30°C攪拌0.5~1h (IPC: INT-2/INT-3≤0.2%, 殘留N_2CHCO_2Et: 0.05%≤1.0%)。在40~50min內在20~30°C將EDTA二鈉(0.05 mol/L, 150 kg)溶液三次加入至反應混合物。將有機相用25% NaCl水溶液在20~30°C洗滌兩次並在低於30°C濃縮。將殘留物減壓蒸餾並將粗的中間體3 (36.26 kg, 84.5%)在120~144°C採集。粗的化合物包括內型-對映異構物，其可在下一步除去。^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6) δ 6.79 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 6.59 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.42 (dd, *J* = 8.4, 2.4 Hz, 1H), 4.95 (dd, *J* = 5.4, 1.0 Hz, 1H), 3.08 (dd, *J* = 5.4, 3.2 Hz, 1H), 1.02 (dd, *J* = 3.1, 1.2 Hz, 1H), 0.00 (s, 9H) ppm。

【0120】 步驟4及5：中間體5及中間體6的合成



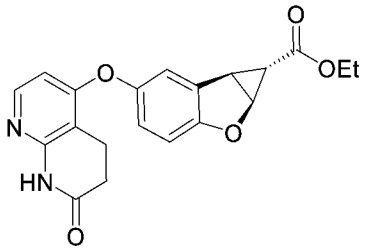
中間體 5



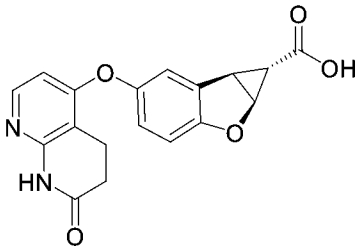
中間體 6

【0121】 在20~30°C向中間體4 (36.3 kg)在MeOH (108 kg)中的溶液中加入HCl/MeOH溶液(5M, 0.11 kg)，並將混合物攪拌2-3小時(IPC: L/M: 0.5%, 對掌性純度90.0%)。在20~30°C逐滴加入Et_3N (0.22 kg)。將混合物濃縮並將殘留物用正庚烷/EtOAc (4:1)稀釋，然後濃縮。在將溫度調節至10~20°C並在10~20°C攪拌2~4小時後，將混合物濾過得到濕產物(中間體5: 94.0%, 對掌性純度: 90.5%)。^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6) δ 9.05 (s, 1H), 6.89 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 6.72 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.55 (dd, *J* = 8.4, 2.4 Hz, 1H), 5.11 (dd, *J* = 5.4, 1.0 Hz, 1H), 3.27 (dd, *J* = 5.4, 3.0 Hz, 1H), 1.19 - 1.17 (m, 1H) ppm。將粗產物用正庚烷/EtOAc (20:1)製成漿液三次得到淺黃色固體，將其在40~50°C乾燥12~16小時得到16.55 kg產物(中間體6: 98.6%; 對掌性純度: 99.3%)。

【0122】 步驟6及7：中間體7及中間體8的合成



中間體 7

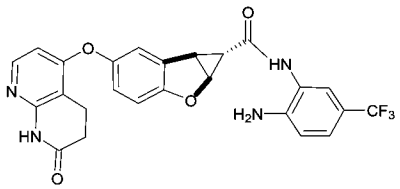


中間體 8

【0123】 在40~60°C向中間體6 (14 kg)及5-氟-3,4-二氫-1,8-二氮雜萘-2(1*H*)-酮(SM2, 11.2kg)在DMF (66kg)中的溶液中加入Cs_2CO_3 (26kg)，並將混合物溫熱至110~120°C並在110~120°C攪拌3小時。將反應pH在25~35°C用乙酸(12.0 kg)調節為6。加入水(520kg)並將混合物攪拌1~2小時。濾過後，將固體用EA (78kg)製成漿液得到濕產物(純度：(中間體7 + 中間體8) %: 98%)。將氫氧化鈉水溶液

(125kg, 2M)加入至濕產物在THF (240kg)中的攪拌溶液中並在20~30°C攪拌2~3小時(IPC: INT-7/INT-8: 0.9%)。將混合物在20~30°C用4N HCl (37kg)調節為pH 4~5，然後攪拌0.5~1h。將混合物在低於50°C濃縮並將固體由溶液沈澱析出。濾過後，將濕產物在35~45°C在THF中重新製成漿液達1~2小時，然後濾過。將所得的濕產物在45~65°C乾燥40小時得到標題化合物中間體8 (18.95kg: 化學純度99%, 對掌性純度100%)。^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6) δ 12.59 (s, 1H), 10.43 (s, 1H), 7.92 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H), 7.29 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 6.97 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 6.93 (dd, *J* = 8.8, 2.4 Hz, 1H), 6.21 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H), 5.21 (dd, *J* = 5.4, 1.0 Hz, 1H), 3.27 – 3.25 (m, 1H), 2.89 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H), 2.51 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 1.19 (dd, *J* = 3.0, 1.0 Hz, 1H) ppm。MS: M/e 339 $(M+1)^+$。

【0124】 步驟8：中間體9的合成

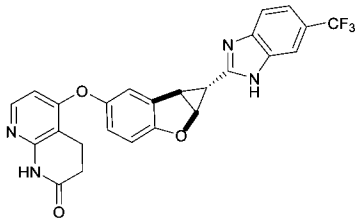


中間體 9

【0125】 在0~15°C將中間體8(13.3kg)、DIPEA (16kg)及HATU (18.1kg)在DMF (167kg)中的溶液逐滴加入至4-(三氟甲基)苯-1,2-二胺(SM3, 7.6 kg)在DMF(74 kg)中的混合物。將混合物在20~25°C攪拌4~6小時(IPC: INT-9/INT-9: 未檢測到)。將活性炭(5.3kg)在DMF(7.5kg)中的溶液加入至反應混合物，在40~45°C攪拌2~4小時，然後濾過。在15~30°C將水(846kg)逐滴加入至濾液，並在攪拌1~2小時時固體從溶液中沈澱析出。將析出物濾過並在20~30°C在EtOH中

製成漿液2-4小時。濾過後，將濕產物在45~60°C乾燥37小時得到標題化合物中間體9 (17.60 kg: 95.5%)。

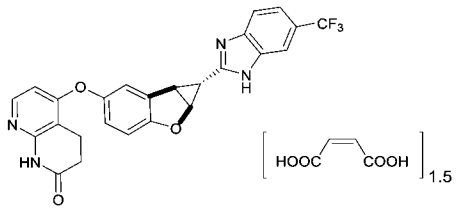
【0126】 步驟9：化合物**1**的自由鹼的合成



化合物 1 的自由鹼

【0127】 將中間體9 (17 kg)及水(1.5 kg)在AcOH(360 kg)中的溶液在65-70°C攪拌20小時(IPC: R/S≤1.0%)。將混合物在低於55°C濃縮乾燥，並將活性炭(17 kg)與MeOH(32 kg)加入至殘留物。將混合物在約50°C攪拌1h。濾過後，在低於45°C將濾液濃縮除去溶劑。將EA (160kg)及水(330 kg)加入至殘留物，隨後在20-30°C加入NaOH水溶液 (2mol/L)直到pH為8-9。分離有機層，並將水層用EA萃取。將合併的有機相用水洗滌兩次，濃縮乾燥得到化合物**1**，其為自由鹼形式。^{1}H-NMR (600 MHz, DMSO-d_6) δ 12.84 (s, 1H), 10.47 (s, 1H), 7.98 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 7.86 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 7.69 (m, 1H), 7.48 (t, J = 6.2 Hz, 1H), 7.38 (d, J = 2.6 Hz, 1H), 7.08 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.02 (dd, J = 8.7, 2.6 Hz, 1H), 6.29 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 5.43 (dd, J = 5.4, 1.2 Hz, 1H), 3.55 (dd, J = 5.3, 3.3 Hz, 1H), 2.95 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 2.55 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 1.97 (d, J = 1.3 Hz, 1H) ppm。

【0128】 步驟10：化合物**1**倍半馬來酸鹽的合成



(*I*)

化合物 1 倍半馬來酸鹽

【0129】 將IPA (83 kg)加入至步驟9的殘留物。將馬來酸(5 kg)在水(29 kg)中的溶液加入至混合物並在約50°C攪拌4小時，然後冷卻至35°C並在該溫度攪拌12小時。將所得的固體濾過，在40~60°C乾燥，並在微粉磨機中微粉化得到白色粉末(化合物**1**倍半馬來酸鹽, 8.36 kg)，其細微性為D90=4.1μm, D10=1.5μm, D50=2.4μm。粉末X射線衍射圖方法用於表徵結晶形式A*的結構，參見**圖2**。化合物**1**倍半馬來酸鹽的結晶形式A*的^{1}H-NMR譜示於**圖29**。化合物**1**倍半馬來酸鹽的結晶形式A*的^{13}C-NMR譜示於**圖30**。

【0130】 溶解性研究顯示出獲得了比化合物**1**的自由鹼(<LOQ，0.001 mg/mL)顯著更好的化合物**1**倍半馬來酸鹽的結晶形式A*的水溶性(0.020 mg/mL)。

【0131】 發現化合物**1**倍半馬來酸鹽的結晶形式A*為非吸濕性的，其僅具有暴露於95% RH的0.1801%的水攝取，如在**圖31**中所示。

【0132】 實例1B：化合物1與其他鹽形成劑的鹽的製備

【0133】 將約150 mg化合物**1**的自由鹼用2 mL IPA溶於40 mL玻璃小瓶中。在磁力攪拌器上根據表16所列的摩爾比將適當的鹽形成劑在IPA (將鹽形成劑預先溶於IPA，對於彼等不能溶解的鹽形成劑而言，將混懸液加熱溶解)中的溶液緩慢滴定至自由鹼溶液中，然後在室溫保持攪拌24小時，使固體沈澱析出。如果未獲得固體，將抗溶劑(例

如庚烷)緩慢加入至溶液中，導致沈澱。離心固體經XRPD確定，以確定是否獲得新的結晶形式，然後在40°C真空乾燥過夜以進一步表徵。將混懸於IPA中的API及純的固體酸用作API對照及純的固體鹽形成劑對照以區分API或固體鹽形成劑的鹽/共結晶形成及多晶型。

【0134】 除了用馬來酸形成結晶鹽之外，結晶形式的固體也由以下五種酸發現，包括鹽酸(**圖3**)、甲磺酸(**圖4**)、2-羥基乙磺酸(**圖5**)、L-酒石酸(**圖6**, 可能未形成實際的酒石酸鹽且其恰為自由鹼的多晶型物，這是因為未檢測到酒石酸鹽的化學位移)及草酸(**圖7**)，其顯示出與自由鹼、API對照及固體酸對照不同的結晶形式。在形成的結晶鹽中，2-羥基乙磺酸鹽及馬來酸鹽相比於其他四種(鹽酸、甲磺酸、L-酒石酸及草酸)而言具有更好的結晶性。

【0135】 由其他鹽形成劑獲得的固體均為無定形形式(**圖8**、**圖9**、**圖10**)或具有純的固體鹽形成劑的相同形式(**圖11**及**圖12**)，這表明獲得了自由形式或無定形鹽或鹽形成劑與自由形式的混合物。

【0136】 表16. 化合物1與各種鹽形成劑的鹽形成匯總

鹽酸	1:1	白色混懸液	否	結晶
硫酸	1:1	膠狀物	否	無定形
磷酸	1:1	白色混懸液	否	無定形
甲磺酸	1:1	膠狀物	否	結晶
2-羥基乙磺酸	1:1	白色混懸液	否	結晶
苯磺酸	1:1	膠狀物	否	無定形
乙醇酸	1:1	白色沈澱	是	無定形

L-乳酸	1:1	白色沈澱	是	無定形
富馬酸	1:1	白色沈澱	是	無定形
L-酒石酸	1:1	膠狀物	否	結晶
檸檬酸	1:1	白色沈澱	是	無定形
L-蘋果酸	1:1	白色沈澱	是	無定形
琥珀酸	1:1	白色沈澱	是	無定形
馬尿酸	1:1	無沈澱	是	無定形
己二酸	1:1	白色沈澱	是	結晶(己二酸)
苯甲酸	1:1	白色沈澱	是	無定形
龍膽酸	1:1	白色沈澱	是	無定形
丙二酸	1:1	白色沈澱	是	無定形
乙二磺酸	1:1	白色混懸液	否	無定形
甲苯磺酸	1:1	膠狀物	否	無定形
草酸	1:1	白色混懸液	否	結晶
菸酸	1:1	白色混懸液	否	結晶(菸酸)
菸醯胺	1:1	白色沈澱	是	無定形
糖精	1:1	白色沈澱	是	無定形

【0137】 **實例2：化合物1倍半馬來酸鹽的單晶形式A**的製備**

【0138】 單晶生長篩選在94種不同條件(藉由改變溶劑、溫度及重結晶方法)下進行，由此藉由在丙酮中緩慢冷卻獲得了適於結構確定的單晶。

【0139】 **實例3：化合物1倍半馬來酸鹽的結晶形式A的製備**

【0140】 將化合物**1**的自由鹼(145 g)與63.5 g馬來酸(1.8當量)在1750 mL *i*-PrOH/H_2O (V:V = 4:1)中混合。將混合物回流直到所有固體溶解。將澄清溶液冷卻至室溫，加入一些晶種，然後將混合物留置靜置24 小時。將白色固體沈澱並濾過。將濾餅用約500 mL *i*-PrOH/H_2O (V:V = 4:1)洗滌並在50°C高真空乾燥48 小時得到標題產物(112 g)，其為結晶。粉末X射線衍射圖方法用於表徵結晶形式A的結構；參見**圖17**。TGA結果表明在高達120°C重量損失為0.3 wt%。DSC結果顯示了在194.2°C的熔融吸熱(起始溫度)。^{1}H-NMR光譜顯示了自由鹼/馬來酸的化學計量比為1/1.5 (參見**圖34**)。

【0141】 實例1A涉及化合物1倍半馬來酸鹽的結晶形式(即稱為形式A*)的大量生產且實例3涉及化合物1倍半馬來酸鹽的結晶形式(即稱為形式A)的實驗室製備。粉末X射線衍射圖、^{1}H-NMR譜及其他技術顯示了結晶形式A*及結晶形式A兩種結晶形式之間的一致性。

【0142】 **實例4：化合物1馬來酸鹽的結晶形式B的製備**

【0143】 化合物**1**馬來酸鹽的結晶形式B藉由將倍半馬來酸鹽的結晶形式A的1,4-二噁烷溶液以0.1°C/min的速率由60°C冷卻至5°C來製備以用於結晶。操作：於3-mL玻璃小瓶中稱重20.0 mg形式A固體，並添加1mL 1,4-二噁烷於小瓶中；在50°C以800 RPM的速度磁力攪拌混合物；在60°C平衡2 小時後使用0.45 μm尼龍膜過濾樣品；並以0.1°C/min的速率由60°C至5°C冷卻濾液。將樣品儲存在5°C，之後分離。粉末X射線衍射圖方法用於表徵結晶形式B的結構；參見**圖18**。

TGA結果表明在高達150°C重量損失為15.1 wt% (含有晶體1,4-二噁烷溶劑合物/水合物的分子)。DSC結果顯示在分解前多個重疊的吸熱(181.4及189.6°C)。^{1}H-NMR譜顯示了自由鹼/馬來酸的化學計量比為約1/1.2 (參見**圖35**)。

【0144】 **實例5：化合物1馬來酸鹽的結晶形式C的製備**

【0145】 化合物**1**馬來酸鹽的結晶形式C藉由以0.1°C/min的速率將化合物**1**的乙醇溶液由60°C冷卻至5°C來製備以用於結晶。操作：於3-mL玻璃小瓶中稱重21.3 mg 形式A固體，並添加1mL乙醇至小瓶中；以800 RPM的速度在50°C磁力攪拌混合物；在60°C平衡2小時後使用0.45 μm尼龍膜過濾樣品；並以0.1°C/min的速率由60°C至5°C冷卻濾液。將樣品儲存在5°C，之後分離。粉末X射線衍射圖方法用於表徵結晶形式C的結構；參見**圖19**。TGA結果表明在高達180°C的重量損失為7.0 wt% (含有晶體水合物的分子)。DSC結果顯示出在分解前的四個吸熱 (107.5、162.7、179.3及196.0°C)。^{1}H-NMR譜顯示了自由鹼/馬來酸的化學計量比為約1/1.3 (參見**圖36**)。

【0146】 **實例6：化合物1馬來酸鹽的結晶形式D的製備**

【0147】 化合物**1**馬來酸鹽的結晶形式D藉由在[dmin]CF_3COO離子液體的存在下在室溫緩慢蒸發化合物**1**倍半馬來酸鹽的結晶形式A的MeOH溶液來製備。操作：於20-mL玻璃小瓶中稱重150.2 mg形式A固體，並添加10.2 mL MeOH於小瓶中；使用0.45μm尼龍膜濾過混合物得到飽和儲備溶液；添加2.8 mg [dmin]CF_3COO離子液體至1-mL MeOH儲備溶液；並在室溫攪拌以誘導沈澱。粉末X射線衍射圖方法

用於表徵結晶形式D的結構；參見**圖20**。TGA結果表明在高達120°C的重量損失為6.3 wt% (含有晶體水合物的分子)。DSC結果顯示出在分解前的兩個吸熱(75.8及161.4°C)。^{1}H-NMR譜顯示了自由鹼/馬來酸的化學計量比為約1/1 (參見**圖37**)。

【0148】 **實例7：化合物1馬來酸鹽的結晶形式F的製備**

【0149】 化合物**1**馬來酸鹽的結晶形式F藉由將化合物**1**倍半馬來酸鹽的結晶形式A由ACN/H_2O (1:1, v/v)溶液結晶來製備。操作：於3-mL玻璃小瓶中稱重18.9 mg形式A固體，並添加1.5 mL ACN/H_2O (1:1, v/v)；並添加約2 mg聚合物混合物(聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、聚乙烯醇(PVA)、聚氯乙烯(PVC)、聚乙酸乙烯酯(PVAC)、羥丙甲基纖維素(HPMC)及甲基纖維素(MC)，其質量比為1:1:1:1:1:1)至混懸液中並在室溫攪拌以誘導沈澱。

【0150】 粉末X射線衍射圖方法用於表徵結晶形式F的結構；參見**圖21**。TGA結果表明在高達130°C的重量損失為3.2 wt% (含有ACN溶劑合物/水合物的分子)。DSC結果顯示出在分解前的三個吸熱(62.4、156.9及169.3°C)。^{1}H-NMR譜顯示了自由鹼/馬來酸的化學計量比為約1/0.5 (參見**圖38**)。

【0151】 **實例8：化合物1馬來酸鹽的結晶形式G的製備**

【0152】 化合物**1**馬來酸鹽的結晶形式G藉由將水加入至化合物**1**倍半馬來酸鹽的結晶形式A的乙酸溶液來製備。操作：於20-mL玻璃小

瓶中稱重20.2 mg形式A固體；添加1.0 mL乙酸至小瓶中並在室溫攪拌得到澄清溶液；並逐滴添加5 mL水於溶液以誘導沈澱。

【0153】 粉末X射線衍射圖方法用於表徵結晶形式G的結構；參見**圖22**。TGA結果表明在高達120°C的重量損失為11.0 wt% (含有晶體水合物的分子)。DSC結果顯示出在分解前的四個吸熱(84.3、126.9、139.4及187.3°C)。^{1}H-NMR譜顯示了自由鹼/馬來酸的化學計量比為約1/0.5 (參見**圖39**)。

【0154】 **實例9：化合物1馬來酸鹽的結晶形式H的製備**

【0155】 化合物**1**馬來酸鹽的結晶形式H藉由將化合物**1**倍半馬來酸鹽的結晶形式A在THF中在室溫製成漿液來製備。操作：於1.5-mL小瓶中稱重17.7 mg形式A固體，並添加0.3 mL THF至小瓶中得到混懸液；並以800 RPM的速度在室溫磁力攪拌混合物達3天。粉末X射線衍射圖方法用於表徵結晶形式H的結構；參見**圖23**。TGA結果表明在高達150°C的兩個步驟的重量損失為13.0 wt% (含有晶體THF溶劑合物/水合物的分子)。DSC結果顯示了在分解前的2個吸熱(124.5及178.0°C)。^{1}H-NMR譜顯示了自由鹼/馬來酸的化學計量比為約1/1 (參見**圖40**)。

【0156】 實例**10：化合物1馬來酸鹽的結晶形式I的製備**

【0157】 化合物**1**馬來酸鹽的結晶形式I藉由在室溫緩慢蒸發化合物**1**倍半馬來酸鹽的結晶形式A的IPA/H_2O (3:1, v/v)溶液來製備。操作：於3-mL玻璃小瓶中稱重13.8 mg形式A固體，並添加1.5 mL IPA/H_2O

(3:1, v/v)至小瓶中以獲得澄清溶液；在室溫由溶液蒸發溶劑以誘導沈澱。粉末X射線衍射圖方法用於表徵結晶形式I的結構；參見**圖24**。TGA結果表明在高達180°C的兩個步驟的重量損失為20.7 wt% (含有晶體IPA溶劑合物/水合物的分子)。DSC結果顯示出在分解前的四個重疊的吸熱(85.8、115.1及138.2°C)。^{1}H-NMR譜顯示了自由鹼/馬來酸的化學計量比為約1/0.5 (參見**圖41**)。

【0158】 **實例11：化合物1馬來酸鹽的結晶形式J的製備**

【0159】 化合物**1**馬來酸鹽的結晶形式J藉由化合物**1**馬來酸鹽的結晶形式A的固體與乙酸蒸汽之間的相互作用來製備。操作：於3-mL玻璃小瓶中稱重14.2 mg形式A固體；密封3-mL小瓶於含有2 mL乙酸的20-mL玻璃小瓶中；並保持系統在室溫達8天，使得蒸汽與固體相互作用。粉末X射線衍射圖方法用於表徵結晶形式J的結構；參見**圖25**。TGA結果表明在高達130°C的重量損失為19.3 wt% (含有晶體乙酸溶劑合物/水合物的分子)。DSC結果顯示出在分解前的三個吸熱(102.9、155.7及187.7°C)。^{1}H-NMR譜顯示了自由鹼/馬來酸的化學計量比為約1/1 (參見**圖42**)。

【0160】 **實例12：化合物1馬來酸鹽的結晶形式K的製備**

【0161】 化合物**1**馬來酸鹽的結晶形式K在環境條件儲存化合物**1**馬來酸鹽的結晶形式D達兩周後獲得。粉末X射線衍射圖方法用於表徵結晶形式K的結構；參見**圖26**。TGA結果表明在高達150°C的重量損失為4.2 wt% (含有結晶水合物的分子)。DSC結果顯示出在186.6°C

(峰溫度)熔化前的兩個吸熱(59.6及163.5°C)。^{1}H-NMR譜顯示了自由鹼/馬來酸的化學計量比為約1/1 (參見**圖43**)。

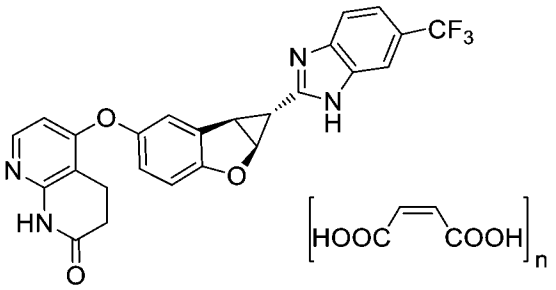
【0162】 實例**13：化合物1馬來酸鹽的結晶形式L的的製備**

【0163】 化合物**1**馬來酸鹽的結晶形式L藉由加熱化合物**1**馬來酸鹽的結晶形式G至140°C並冷卻至室溫獲得。粉末X射線衍射圖方法用於表徵結晶形式L的結構；參見**圖27**。TGA結果表明在高達120°C的重量損失為3.9 wt% (含有晶體水合物的分子)。DSC結果顯示出在183.9°C (峰溫度)熔化前的一個吸熱(141.1°C, 起始溫度)。^{1}H-NMR譜顯示了自由鹼/馬來酸的化學計量比為約1/0.3 (參見**圖44**)。

【0164】 實例**14：化合物1馬來酸鹽的結晶形式M的製備**

【0165】 化合物**1**馬來酸鹽的結晶形式M在環境條件儲存化合物**1**馬來酸鹽的結晶形式J達兩周後獲得。粉末X射線衍射圖方法用於表徵結晶形式L的結構；參見**圖28**。TGA結果表明在高達140°C的重量損失為1.4 wt% (含有晶體乙酸水合物/水合物的分子)。DSC結果顯示出多個吸熱(123.0、156.5、171.9、176.1及195.3°C)。^{1}H-NMR譜顯示了自由鹼/馬來酸的化學計量比為約1/1.3 (參見**圖45**)。

【0166】 **實例15：篩選形成化合物1馬來酸鹽及倍半馬來酸鹽的條件**



【0167】 條件1：化合物**1**與馬來酸在EtOAc中反應。

【0168】 在室溫向化合物**1** (47.8 mg)在EtOAc (5 mL)中的攪拌溶液中加入馬來酸在EtOAc (0.2 mol/L, v mL)中的溶液。將混合物攪拌30 min。將固體濾過並高真空乾燥得到標題鹽。令人驚訝的是，當使用0.5、0.9、1.8或3.0當量的馬來酸時，在所有條件下均獲得結晶化合物**1**倍半馬來酸鹽(1:1.5)。

【0169】 條件2：化合物**1**與馬來酸在EtOH中反應。

【0170】 操作：將化合物**1**及馬來酸在EtOH中的混合物回流20 min直到所有固體溶解。將溶液冷卻至環境溫度並靜置3小時。白色固體沈澱析出，並濾過並高真空乾燥得到標題化合物。令人驚訝地發現當使用1當量的馬來酸時，獲得結晶化合物**1**馬來酸鹽(1:1)；但是當馬來酸的量增加至1.3、1.5或3.5當量時，所有條件均獲得結晶化合物**1**倍半馬來酸鹽(1:1.5)作為產物。

【0171】 條件3：化合物**1**與馬來酸在MeOH中反應。

【0172】 操作：將化合物**1**及馬來酸在MeOH中的混合物回流20 min直到所有固體溶解。將溶液冷卻至環境溫度並留置靜置3小時。白色固體沈澱析出，並濾過並高真空乾燥得到化合物**1**馬來酸鹽(1:1)。令

人驚訝的是，使用MeOH作為溶劑，當使用1.0、1.5或3.5當量的馬來酸時，產物均一致地為粉末化化合物**1**馬來酸鹽(1:1)。

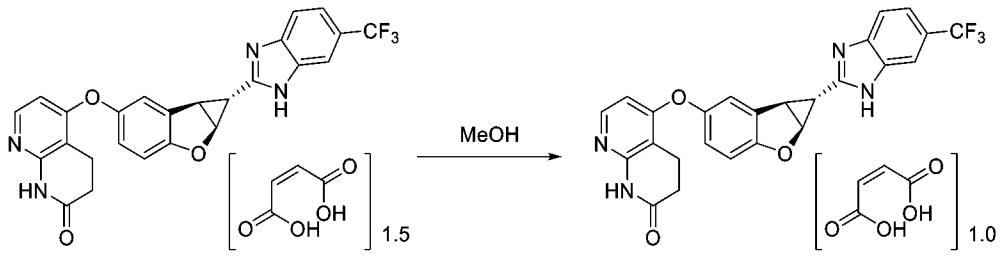
【0173】 條件4：化合物**1**與馬來酸在i-PrOH/水中反應。

【0174】 操作：將化合物**1** (145 g, 0.3 mol)及馬來酸(63 g, 0.54 mol)在混合溶劑(i-PrOH:H_2O=4:1，按體積計, 1.7 L)中的混合物回流直到所有固體溶解。將混合物冷卻至室溫，將一些晶種加入至溶液，並將混合物留置靜置24小時。白色結晶沈澱析出並濾過。將濾餅用500 mL該混合溶劑洗滌，在50°C高真空乾燥48小時得到化合物**1**倍半馬來酸鹽(112 g, 56.7%)，其為結晶針狀物。有趣的是，當使用40 vol% i-PrOH作為溶劑時，獲得結晶化合物**1**半馬來酸鹽(1:0.5)；而當60vol% i-PrOH、90vol% i-PrOH或100% i-PrOH用作溶劑時，所有條件均獲得結晶化合物**1**倍半馬來酸鹽(1:1.5)。

【0175】 條件5：化合物**1**與馬來酸在其他溶劑在反應。

【0176】 當使用其他溶劑(THF、丙酮、DME、1,4-二噁烷)時，根據上述相似的操作，獲得的產物一致地為化合物**1**倍半馬來酸鹽(1:1.5)。

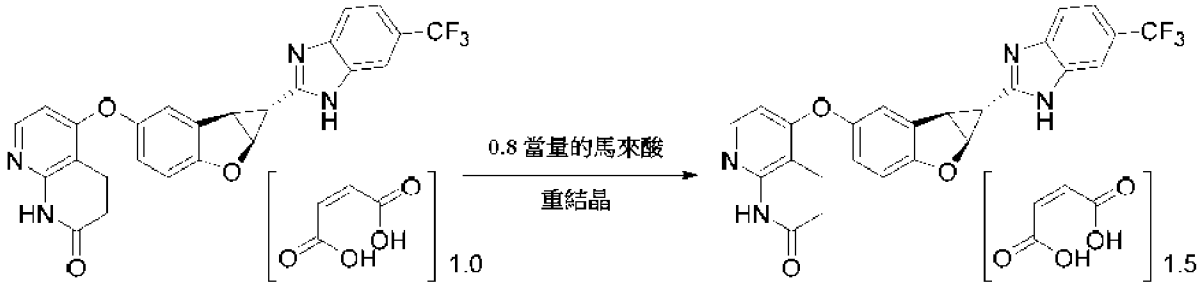
【0177】 條件6：化合物**1**倍半馬來酸鹽(1:1.5)轉化為馬來酸鹽(1:1)。



【0178】 將化合物**1**倍半馬來酸鹽的晶體(1.0 g, 1.53 mmol)混懸於MeOH (20 mL)並將混合物在室溫攪拌1天。將白色固體濾過。將濾餅用MeOH (10 mL)洗滌，並在紅外線燈下在50°C乾燥16 小時得到化合物**1**馬來酸鹽(1:1) (820 mg, 90%)，其為白色結晶固體。^{1}H NMR (400 MHz, dmso) δ 10.50 (s, 1H), 7.97 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.68 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.47 (dd, *J* = 8.4, 1.2 Hz, 1H), 7.38 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 7.08 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.01 (dd, *J* = 8.8, 2.4 Hz, 1H), 6.31 – 6.24 (m, 3H), 5.43 (dd, *J* = 5.2, 1.2 Hz, 1H), 3.55 (dd, *J* = 5.2, 3.2 Hz, 1H), 2.94 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 2.54 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 1.97 (dd, *J* = 3.2, 1.2 Hz, 1H) (詳細譜參見**圖32**)。

【0179】 粉末X射線衍射圖研究用於確定在條件6下且命名為化合物**1**馬來酸鹽(1:1)結晶形式N的所得白色結晶固體的結構 (**圖33**)。

【0180】 條件7：化合物**1**馬來酸鹽(1:1)轉化為倍半馬來酸鹽。



【0181】 將化合物**1**馬來酸鹽(1:1) (4.3 g)及馬來酸(0.67 g, 0.8當量的馬來酸)在i-PrOH/H_2O混合物(4:1, v/v, 50 mL)中的混合物回流1小

時。殘留少量的固體。加入另外5 mL該混合溶劑並將所得的混合物回流30分鐘，並且所有固體溶解。將混合物冷卻至室溫，然後留置靜置16小時。白色結晶沈澱析出並濾過。將濾餅用20 mL該混合溶劑洗滌，在紅外線燈下乾燥24小時得到化合物**1**倍半馬來酸鹽(3.2 g, 68%)，其為結晶針狀物。

【0182】 **實例16**

【0183】 化合物**1** API的雜質排出：將28.5 Kg的第一個結晶的倍半馬來酸鹽(化學純度= 98.82%)與甲醇在45-50°C攪拌4-5 h。然後將漿液混合物在20-30°C冷卻3-4 h，濾過得到濕濾餅(30.3 Kg; 化學純度= 99.76%)。將濕濾餅與乙酸乙酯及水混合，用碳酸鈉水溶液處理得到pH = 7-8，然後用水洗滌。在乙酸乙酯中獲得化合物**1**的自由鹼(16.2 Kg, 化學純度= 99.81%)。藉由蒸餾將乙酸乙酯替換為異丙醇。將自由鹼在i-PrOH中的溶液與馬來酸及倍半馬來酸鹽晶種的水溶液攪拌。將混合物在40-50°C攪拌若干小時並在20-30°C攪拌若干小時。將所得的固體濾過得到第二個結晶的倍半馬來酸鹽(19.6 Kg; 化學純度= 99.82%; 光學純度 = 100%)。

【0184】 **實例17：化合物1的鹽或結晶形式的穩定性研究**

【0185】 **實例17A：短期穩定性研究**

【0186】 進行短期穩定性研究以評價HCl鹽、甲磺酸鹽、2-羥基乙磺酸鹽及馬來酸鹽。

【0187】 分別在40 mL玻璃小瓶中稱重約2 mg (對於XRPD: 10 mg)的上述各個鹽。自由鹼形式用作對照。將封閉的樣品封蓋並用石蠟膜密封，而將開放的樣品用具有小孔的鋁箔覆蓋。將所有樣品在相應條件(60°C及40°C/75% RH)下儲存在穩定性室或乾燥烘箱中達1周。

【0188】 在兩種條件下在1周後HCl鹽近乎為淺黃色粉末，2-羥基乙磺酸鹽、甲磺酸鹽及馬來酸鹽的外觀藉由視覺觀察沒有變化。XRPD結果顯示針對所有鹽樣品未檢測到結晶形式轉化。

【0189】 化學穩定性結果匯總於表17。隨著TRS增加(HCl鹽> 2-羥基乙磺酸鹽 > 甲磺酸鹽 >馬來酸鹽 >自由鹼)檢測到可變降解。相反地，對於化合物**1**的鹽形成，溫度壓力(temperature stress)條件可能比濕度壓力(humidity stress)條件具有更大的影響，這是因為鹽樣品的透射拉曼光譜(TRS)在60°C增加更多。

【0190】 表17. 短期穩定性研究的匯總

鹽樣品	**TRS %**		
	0 天	60°C	40°C/75% RH
API 自由鹼	0.12	0.12	0.11
HCl 鹽	0.66	8.76	2.76
2-羥基乙磺酸鹽	0.08	1.16	0.51
甲磺酸鹽	0.11	0.55	0.14
化合物 **1** 倍半馬來酸鹽的結晶形式 A*	0.08	0.17	0.10

【0191】 **實例17B：長期穩定性研究**

【0192】 化合物**1**倍半馬來酸鹽的結晶形式A*的長期穩定性研究顯示出當儲存於25°C /60%RH達至多18個月(測定w/w: T0 = 99.1%及T18 = 98.8%)以及當儲存於40°C/75%RH 條件達至多6個月(測定w/w: T0 = 99.1%及T6 = 98.9%)時未出現顯著的化學純度變化。結果甚至顯示出在25°C /75% RH的24個月穩定性研究後化合物**1**倍半馬來酸鹽的結晶形式A*仍然保持98.5%的純度。此外，當儲存於25°C/60%RH達至多18個月且儲存於40°C/75%RH條件達至多6個月時未觀察到結晶形式及光學純度的變化。

【0193】 **效能測試**

【0194】 **測試1：化合物1倍半馬來酸鹽(測試的結晶形式A*)對激酶的抑制及選擇性**

方法：

【0195】 **Raf激酶測定：**

基於均相時間分辨熒光(HTRF)方法(Cisbio Bioassays)，在激酶活性測定中針對來自 Life Technologies 的重組體 B-Raf (V600E) (PV3849)、C-Raf (Y340D/Y341D) (PV3805)及野生型 Braf (PV3848)測試化合物 **1** 倍半馬來酸鹽的結晶形式 A*。該測定在含有 RAF 激酶、KM 濃度的 ATP、GST-標記的 MEK1 (K97R)及化合物 **1** 倍半馬來酸鹽的結晶形式 A*或 DMSO 的反應混合物於含有 25 mM Tris pH7.4、10 mM $MgCl_2$、0.5 mM EGTA、0.5 mM Na_3VO_4、5 mM β-甘油磷酸鹽、0.01% Triton X-100、2.5 mM DTT 及 0.1%

BSA 的緩衝液中進行。將激酶與化合物 **1** 倍半馬來酸鹽的結晶形式 A*在室溫(RT)培養 1 小時並且反應藉由加入 ATP 及 GST-MEK1 (具有 K97R 突變的全長蛋白，由細菌表達系統純化的重組體蛋白)起始。在室溫反應 1 小時後，根據製造商說明(Cisbio Bioassays)加入終止/檢測溶液。該終止/檢測溶液含有於含有 25 mM Tris pH7.4、400 mM KF、50 mM EDTA、0.1% BSA 及 0.01% Triton X-100 的緩衝液中的 Eu3+穴狀化合物結合的抗磷酸化(Phospho)MEK1/2 (Ser217/221)兔多克隆抗體及 d2-結合的抗 GST 小鼠單克隆抗體。在 1.5 小時培養後，在 PHERAstar FS 板讀取器(BMG Labtech)上測量 TR-FRET 信號(具有在 337 nm 波長激發的在 665 nm 的發射與在 620 nm 的發射的熒光比)。MEK1 的磷酸化導致抗磷酸化 MEK1/2 抗體與 GST-MEK1 蛋白的結合，其將熒光供體(Eu3+穴狀化合物)置於與在抗-GST 抗體上的受體 d2 的緊密接近的位置，由此導致由供體熒光基團(在 620 nm)向受體熒光基團(在 665 nm)的高度的熒光共振能量轉移。化合物 **1** 倍半馬來酸鹽的結晶形式 A*的 IC50 藉由由 Graphpad Prism 軟體將劑量響應%抑制數據擬合至四參數邏輯模型衍生得到。

【0196】 **EGFR、EPHA2、PDGFR-β、TXK、FLT3、VEGFR2、RET、BTK、ITK、TEC及SRC的激酶測定**

根據製造商的說明，在來自Cisbio Bioassays的HTRF KinEASE-TK測定中針對重組體EGFR/EPHA2/BTK (來自Carna Biosciences)、ITK/TEC/SRC/PDGFR-β/TXK/FLT3/VEGFR2/RET (來自 Life Technologies)及HER2 (aa676-1255, 從昆蟲表達系統中純化的重組

體蛋白)測試化合物**1**倍半馬來酸鹽的結晶形式A*。該測定在含有激酶、KM濃度的ATP、生物素化肽底物(61TK0BLC, Cisbio Bioassys)及化合物**1**倍半馬來酸鹽的結晶形式A*的反應混合物中進行。將激酶與化合物**1**倍半馬來酸鹽的結晶形式A*在室溫培養1小時或2小時(對於EGFR)並且反應藉由加入ATP及底物起始。反應後，根據製造商的說明加入終止/檢測溶液。該終止/檢測溶液含有於含有25 mM Tris pH7.4、400 mM KF、50 mM EDTA、0.01% BSA、0.01% Triton X-100的緩衝液中的Eu+穴狀化合物結合的抗磷酸化酪胺酸抗體(61T66kLB, CisBio Bioassys)及抗生蛋白鏈菌素-XL665(610SAXLB , CisBio Bioassys)。培養1小時後，在PHERAstar FS板讀取器(BMG Labtech)上記錄TR-FRET信號(具有在337 nm波長激發的在665 nm的發射與在620 nm的發射的熒光比)。生物素化肽底物的磷酸化導致Eu+穴狀化合物結合的抗磷酸化酪胺酸抗體及抗生蛋白鏈菌素-XL665兩者均與生物素化肽結合。供體(Eu+穴狀化合物)與受體(XL665)熒光基團的緊密接近導致由供體熒光基團(在620 nm)向受體熒光基團(在665 nm)的高度的熒光共振能量轉移。化合物**1**倍半馬來酸鹽的結晶形式A*的IC_{50}藉由由Graphpad Prism軟體將劑量響應%抑制數據擬合至四參數邏輯模型衍生得到。

結果：

【0197】 化合物**1**倍半馬來酸鹽(結晶形式A*)為V600E突變體B-RAF、野生型B-RAF及C-RAF酶的有效且可逆的抑制劑。此外，在目前為止已經測試的以下激酶中，化合物**1**倍半馬來酸鹽有效地抑制

EGFR、EPHA2、PDGFR-β、FLT3、VEGFR2及RET，而對HER2、SRC及TXK具有較弱抑制且對BTK、ITK及TEC無抑制。化合物**1**倍半馬來酸鹽所抑制的許多此等激酶已經鑒定為對於抗癌療法的可能的標靶且由此可提高潛在效能，以及將化合物**1**倍半馬來酸鹽的潛在應用擴大至寬範圍的腫瘤。

【0198】 表18. 化合物1倍半馬來酸鹽的結晶形式A*的酶抑制活性

酶	IC50 (nM)	酶	IC50 (nM)
BRAF V600E (416-766)	26	TEC	>10000
CRAF Y340,341D	3.5	HER2	2573
WT-BRAF	69	SRC	917
WT-EGFR	44	PDGFR-β	17
EPHA2	61	BTK	>10,000
ITK	>10,000	TXK	4800
FLT3	25	RET	18
VEGFR2	22		

【0199】 **測試2：化合物1倍半馬來酸鹽(測試的結晶形式A*)對人腫瘤細胞系的體外生長抑制**

方法：

【0200】 A375、Sk-Mel-28、HT29、Colo205、A431及HCC827細胞系購自美國標準培養收集所(American Type Culture Collection)。在細胞測定中使用的所有細胞系培養於指定的補充有10% 胎牛血清

(FBS, Thermo Scientific)、100個單位/mL青黴素(Gibco)、0.1 mg/mL鏈黴素(Gibco)的培養基以及具有5% CO_2的潮濕的37°C環境。細胞系由購買的原始細胞在三代內傳代的冷凍儲備液復蘇，且傳代不超過30次。

【0201】 使用基於TR-FRET的方法測量細胞磷酸化-ERK及磷酸化-EGFR。將細胞以96孔板的每孔3×10^4個接種並留置粘附16小時。然後將生長培養基替換為不含血清的100 μL培養基。然後將細胞用化合物的10點滴定處理。在化合物處理1小時後，將50 μL裂解緩衝液(Cisbio)加入至各孔中。然後將板在室溫在振搖下孵育30 min。將來自96孔板的各孔的總計16 μL的細胞裂解液轉移至384孔小體積白板中。將來自各孔的裂解液與2 μL Eu3+-或Tb3+-穴狀化合物(供體)標記的抗ERK或抗EGFR抗體(Cisbio)及2 μL D2 (受體)標記的抗磷酸化ERK或抗磷酸化EGFR抗體(Cisbio)在室溫培養2小時。使用PHERAstar FS板(BMG Labtech)測量FRET信號。使用GraphPad Prism軟體確定對於ERK或EGFR磷酸化的IC_{50}值。

【0202】 使用CellTiter-Glo發光法細胞活力測定(Promega)確定化合物在一組黑素瘤、結腸癌、乳腺癌及肺癌細胞中的生長抑制活性。針對各細胞系優化接種於96孔板的每孔的細胞數目，以保證在3天處理期內的對數生長。將細胞留置粘附16小時，然後用10點連續稀釋液處理，一式兩份。在3天暴露於化合物後，加入與存在于各孔中的細胞培養基的體積相等的體積的CellTiter-Glo試劑。將混合物置於定軌振盪器上達2分鐘以使得細胞裂解，隨後在室溫孵育10分鐘以使得發

光信號發展及穩定。使用PHERAstar FS讀取器(BMG Labtech)測量發光信號。使用GraphPad Prism軟體確定細胞活力的EC_{50}值。

結果:

【0203】 細胞測定已經證實了化合物**1**倍半馬來酸鹽抑制眾多RAF下游的直接信號傳導中間體。例如，化合物**1**倍半馬來酸鹽在B-RAF V600E突變體誘導的黑素瘤A375及Sk-Mel-28細胞中抑制ERK磷酸化，其中IC_{50}為32及77 nM。其也在B-RAF V600E突變體誘導的HT29及Colo205結腸直腸癌細胞中抑制ERK磷酸化，其中IC_{50}為103及53 nM。此外，化合物**1**倍半馬來酸鹽在過表達A431的EGFR及EGFR突變體HCC827肺癌細胞系中抑制EGFR磷酸化，其中IC_{50}為385及161 nM。在一組癌細胞系中已經評估了化合物**1**倍半馬來酸鹽的抗增殖活性。其顯示出針對眾多具有B-RAF突變的細胞系的抗增殖活性(表19)。

【0204】 **表19. 化合物1倍半馬來酸鹽的結晶形式A*抑制BRAF V600E誘導的細胞增殖。**

細胞系	**BRAF 狀態**	**化合物 1 EC_{50} (平均值 ± SD)**	**N**
A375	V600E	137 ± 0.5	2
Sk-Mel-28	V600E	251 ± 54	2
HT-29	V600E	138 ± 13	2
Colo-205	V600E	147 ± 0.6	2

【0205】 測試**3：化合物1倍半馬來酸鹽的結晶形式A*的體內藥理學腫瘤移植方法:**

【0206】 人癌細胞皮下接種於BALB/C裸小鼠的右腋窩區域以產生腫瘤異種移植物。在植入當天，將細胞培養基替換為新鮮培養基。三小時後，移除培養基並採集細胞且重新混懸于冷的(4°C) PBS，之後接種。將每只小鼠的右腋窩區域用70%乙醇清潔，之後細胞接種。經26號注射針對每只動物皮下注射於200μl細胞混懸液中的期望細胞於右前側。植入後，使用測徑器在平面上每週兩次測量腫瘤體積。使用下式計算腫瘤體積：$V = 0.5 \times (a \times b^2)$，其中a及b分別為腫瘤的長徑及短徑。

【0207】 對於體內效能研究，當平均腫瘤尺寸達到100~200 mm^3時，使用分層隨機化方法將動物分配於預期數目的組中，其中每組6-10只小鼠。該組由對照組(無藥物處理)及不同劑量水準的化合物**1**倍半馬來酸鹽的結晶形式A*的治療組(範圍為1-20 mg/kg)組成。所有劑量是基於自由鹼的重量。藉由口服管飼每日一次(qd)或兩次(bid)投予；投予頻率取決於腫瘤生長的個體情況。藉由口服管飼(p.o.)以10 ml/kg體重的體積投予治療。在評估體重後立即投予且由此調節投予的體積。個體體重及腫瘤體積每週確定兩次，其中在研究的持續時間內每日監測小鼠的毒性的臨床體征。一旦它們的腫瘤體積達到≥2000 mm^3、腫瘤潰爛或體重損失超過20%，則使用二氧化碳對小鼠實施安樂死。使用t檢驗分析所有組的數據。如果p值為<0.05，則認為其為統計學顯著的。

【0208】 使用下式計算腫瘤生長抑制(TGI)：

$$\%\text{生長抑制} = 100 \times \left(1 - \left(\frac{\{\text{處理 t}\} - \{\text{處理 t}_0\}}{\{\text{安慰劑 t}\} - \{\text{安慰劑 t}_0\}}\right)\right)$$

處理t = 在時間t處理的腫瘤體積

處理t_0 =在時間0處理的腫瘤體積

安慰劑t = 在時間t的安慰劑腫瘤體積

安慰劑t_0 =在時間0的安慰劑腫瘤體積

【0209】 對於PD研究，當平均腫瘤尺寸達到140-900 mm^3，使用分層次隨機化方法將動物分配於預期數目的組中，其中每組4只小鼠。該組由對照組(無藥物處理)及不同劑量水準的化合物**1**倍半馬來酸鹽的結晶形式A*治療組(範圍為1-20 mg/kg)組成。所有劑量是基於自由鹼的重量。藉由口服管飼每日一次(qd)或兩次(bid)投予。藉由口服管飼(p.o.)以10 ml/kg體重的體積投予所有治療。在評估體重後立即投予且由此調節投予的體積。在投予後的理想時間點使用二氧化碳對小鼠實施安樂死。在安樂死後立即解剖腫瘤組織，並使用液氮將其快速冷凍於預先填充有MP珠子的管中並在p-ERK測定前儲存在-80°C。將五百微升的完全裂解緩衝液加入至具有MP珠子的冷凍腫瘤中。在MP勻化設備中進行腫瘤組織的勻化，然後將裂解液在4°C以13,000 rpm快速離心10 min以除去不溶物質。藉由AlphaScreen® SureFire® p-ERK1/2測定(PerkinElmer)，兩微克的蛋白裂解液用於測量磷酸化ERK1/2水準。

結果：

【0210】 化合物**1**倍半馬來酸鹽(結晶形式A*)具有針對B-RAF V600E的有效的激酶抑制活性、在基於細胞的測定中的抗增殖活性以及在異種移植物模型中的抗腫瘤活性。化合物**1**倍半馬來酸鹽(結晶形式A*)具有針對裸小鼠中的人A375 黑素瘤(B-RAF V600E突變)、LOX 黑素瘤(B-RAF V600E突變)、Colo205結腸直腸癌(B-RAF V600E突變)、HT29結腸直腸癌(B-RAF V600E突變)、WiDr結腸直腸癌(B-RAF V600E突變)、HCC827 肺癌(EGFR突變)及A431表皮樣癌(EGFR過表達)異種移植物的顯著的抗腫瘤活性。此外，當與多西他賽(docetaxel)或MEK抑制劑司美替尼(selumetinib)(AZD6244)組合時，化合物**1**倍半馬來酸鹽(結晶形式A*)在人Calu-6肺腺癌(K-RAS突變)腫瘤中顯示出顯著的抗腫瘤活性。

【0211】 化合物**1**倍半馬來酸鹽的結晶形式A*的口服投予在小鼠的A375異種移植物中引起對ERK1/2磷酸化的時間依賴性及劑量依賴性抑制。腫瘤組織中的對p-ERK水準的抑制與化合物**1**的血漿及腫瘤藥物濃度很好地相關。此外，化合物**1**倍半馬來酸鹽(結晶形式A*)及MEK抑制劑AZD6244在Calu-6 K-RAS突變體非小細胞肺腺癌異種移植物模型中證實了對抑制p-ERK的強的協同作用。

【0212】 **<u>測試5：化合物1倍半馬來酸鹽(結晶形式A*)的毒理學</u>**

【0213】 針對評價化合物**1**倍半馬來酸鹽(結晶形式A*)的臨床前安全性進行了綜合臨床前毒性研究項目，包括在大鼠及犬中的28-天GLP研究及若干調查研究。此等研究考慮了針對抗癌藥物的臨床前研究的可用監督指導。在此等研究中，化合物**1**倍半馬來酸鹽證實了有

利的毒理學及安全性藥理學分佈。安全性藥理學測試結果顯示出化合物**1**倍半馬來酸鹽(結晶形式A*)對呼吸、血壓及循環功能不具有影響，且對自主神經系統活性或中樞神經系統不具有影響。額外的毒性測試結果未顯示出畸形形成、誘變及生殖毒性。

【0214】 **測試6：化合物1倍半馬來酸鹽的結晶形式A*的醫藥動力學**

【0215】 充分驗證的LC-MS/MS方法很好地用於化合物**1**倍半馬來酸鹽的結晶形式A*在Sprague-Dawley大鼠及米格魯犬中在單一劑量及多個劑量投予後的醫藥動力學(PK)研究。

【0216】 化合物**1**倍半馬來酸鹽的結晶形式A*在大鼠(51%至102%)及犬(41%至82%)中均具有高的口服生物利用度。其在口服投予後的消除半衰期在大鼠中的範圍為4.4至9.4小時且在犬中的範圍為3.3至4.9小時。

【0217】 動力學隨著大鼠中0.5至15 mg/kg的劑量範圍以及犬中1.5至15 mg/kg的劑量範圍為線性的。在多次投予後，在大鼠中觀察到略微累積(約2倍)。該略微累積在雌性大鼠中是統計學顯著的，但在雄性大鼠中不是統計學顯著的。在犬中多次投予後未觀察到累積。

【0218】 **測試7：化合物1倍半馬來酸鹽的結晶形式A*的ADME**

【0219】 化合物**1**廣泛分佈於各個組織中，但在腦組織中分佈少，這表明藥物無法容易地穿過血腦屏障。在大鼠肝中未發現對P450酶的顯著誘導作用，未發現化合物**1**倍半馬來酸鹽對醫藥代謝酶的抑制活性，除了對CYP2C8 (IC50 = 1.03 M)及CYP2C19 (IC50 = 1.96

M)的弱的抑制之外。CYP3A為負責化合物**1**代謝的主要的CYP同工型，而CYP1A2、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19及CYP2D6以較小的程度促進化合物**1**的代謝。

【0220】 **測試8：化合物1倍半馬來酸鹽的結晶形式A*及自由鹼的醫藥動力學比較**

【0221】 藥物及試劑：化合物**1**倍半馬來酸鹽的結晶形式A*，其在微粉化後具有的細微性為D90=4.1um，D10=1.5um，D50=2.4um。物質含量(純度)不低於98.0%。

【0222】 實驗動物：雄性及雌性米格魯犬。

【0223】 醫藥製備：稱重適當量的各物質並分散於0.5%羧甲基纖維素鈉(對於化合物**1**的自由鹼)或0.5%甲基纖維素溶液(對於化合物**1**倍半馬來酸鹽)。製備預期濃度的化合物**1**的混懸液。在該研究中用自由鹼計算化合物**1**的所有劑量及濃度。

【0224】 投予及樣品採集：在劑量投予前新鮮製備投予溶液。相應地記錄實際體重及注射的實際體積。使犬禁食過夜且允許在投予後4小時攝取食物。以0.5至15mg/kg的劑量範圍對犬口服投予每種混懸液。血樣(約1.0 mL)在投予前以及投予後高達36小時的不同時間經頭靜脈叢採集。經離心加工全血並採集血漿樣品且在分析前保持在冷凍器中。經蛋白沈澱加工血漿樣品。使用經驗證的液相層析串聯質譜(LC-MS/MS)方法確定血漿樣品中的化合物**1**的濃度。使用非隔室模型使用Pharsight WinNonlin分析血漿濃度-時間數據。

【0225】 **表20. 自由鹼及鹽形式的化合物1的C_{max}及濃度-時間曲線下面積**

化合物 **1**	口服劑量 (mg/kg)	C_{max} (ng/mL)	劑量標準化的 AUC_{0-inf} ($ng \cdot h \cdot kg \cdot ml^{-1} \cdot mg^{-1}$)
自由鹼 (凍幹的無定形形式)	1	257	1512
化合物 **1** 的 HCl 鹽	1	470	3640
倍半馬來酸鹽 (微粉化的結晶形式 A*)	0.5	342	4178
	1	607	2960
	1.5	861	3726
	4.5	2884	4390
	15	5307	2841

【0226】 以上實驗顯示出化合物**1**倍半馬來酸鹽的結晶形式A*的C_{max} (ng/mL)及AUC_{0-inf} (ng·h/mL)約為自由鹼形式的2-3倍。因此，化合物**1**倍半馬來酸鹽的結晶形式A*相比於化合物**1**的自由鹼(無定形形式的)而言具有顯著更好的相對生物利用度。

【0227】 **測試9：臨床試驗**

【0228】 使用化合物**1**倍半馬來酸鹽的結晶形式A*製備膠囊，I期臨床安全性研究在投予5、10、20、30、40及50 mg的單一劑量的25名受試者中完成。結果顯示出5-50 mg單一劑量是安全的且良好耐受

的。化合物**1**治療引起BRAF V600E黑素瘤患者中的部分應答、BRAF V600E PTC患者中的部分應答以及BRAF V600E CRC患者中的某些抗腫瘤活性。還招募並治療了16名KRAS癌症患者，3 PR及至少12名患者存活多於2.2個月(針對未治療的KRAS癌症患者報道的平均PFS，參見*Oncotarget*, **5**, 19, 2014)。此等初始數據證實了化合物**1**倍半馬來酸鹽(結晶形式A*)在治療Braf-及K-ras突變體癌症中是有效的。

【0229】 前述實例及某些實施例的描述應當理解為示例說明的，而不是如請求項進行限定的那樣限制本發明。將容易地認識到，可採用如上闡述的特徵的各種變化及組合而不偏離如在請求項中所闡述的本發明。所有此種變化意在包括在本發明的範圍內。將所有引用的參考文獻的全部內容藉由引用的方式併入本申請。

【0230】 應當理解的是，如果任何現有技術公開在本申請中被引用，則此種引用並不構成以下承認：該公開在任何國家構成了本領域公知常識的一部分。

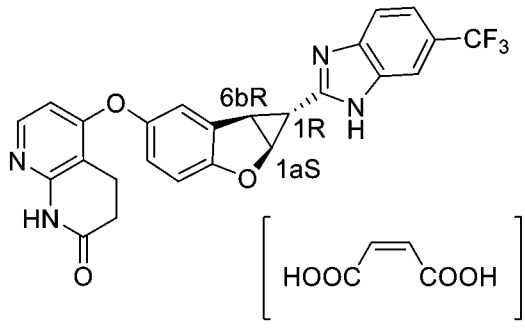
【0231】 在隨後的請求項以及先前的本發明的說明書中，除非由於表述語言或必要含義而需要對上下文另作說明，否則術語“包含”或其變化形式諸如“包括”或“含有”以包括在內的含義使用，即說明存在指定的特徵，但不排除在本發明的各個實施例中存在或添加其他特徵。

【0232】 本申請藉由識別引用所涉及的所有出版物、專利、專利申請及公開的專利申請的公開的全部內容藉由引用的方式併入本申請。

【符號說明】無

【發明申請專利範圍】

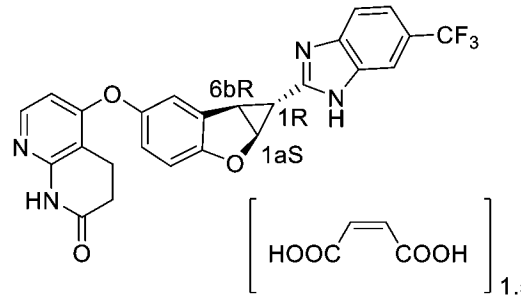
【請求項1】一種化合物，其為式(*I*)的 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(三氟甲基)-1H-苯並[d]咪唑-2-基)-1a,6b-二氫-1H-環丙並[b]苯並呋喃-5-基)氧基)-3,4-二氫-1,8-二氮雜萘-2(1H)-酮的馬來酸鹽的固體無定形形式、或 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(三氟甲基)-1H-苯並[d]咪唑-2-基)-1a,6b-二氫-1H-環丙並[b]苯並呋喃-5-基)氧基)-3,4-二氫-1,8-二氮雜萘-2(1H)-酮的鹽酸鹽、甲磺酸鹽、2-羥基乙磺酸鹽、L-酒石酸鹽或草酸鹽：



(*I*)，

其中 n 為 1.5。

【請求項2】如請求項 1 的化合物，其中該化合物為下式的 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(三氟甲基)-1H-苯並[d]咪唑-2-基)-1a,6b-二氫-1H-環丙並[b]苯並呋喃-5-基)氧基)-3,4-二氫-1,8-二氮雜萘-2(1H)-酮馬來酸鹽的固體無定形形式：



(*II*)，

該無定形形式之特徵基本上在於如圖 46 所示的 X 射線衍射圖。

【請求項3】如請求項 1 的化合物，其中該化合物為下式的 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(三氟甲基)-1H-苯並[d]咪唑-2-基)-1a,6b-二氫-1H-環丙並[b]苯並呋喃-5-基)氧基)-3,4-二氫-1,8-二氮雜萘-2(1H)-酮的鹽酸鹽，

該鹽酸鹽之特徵基本上在於如圖 47 所示的 X 射線衍射圖。

【請求項4】如請求項 1 的化合物，其中該化合物為下式的 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(三氟甲基)-1H-苯並[d]咪唑-2-基)-1a,6b-二氫-1H-環丙並[b]苯並呋喃-5-基)氧基)-3,4-二氫-1,8-二氮雜萘-2(1H)-酮的甲磺酸鹽，

該甲磺酸鹽之特徵基本上在於如圖 48 所示的 X 射線衍射圖。

【請求項5】如請求項 1 的化合物，其中該化合物為下式的 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(三氟甲基)-1H-苯並[d]咪唑-2-基)-1a,6b-二氫-1H-環丙並[b]苯並呋喃-5-基)氧基)-3,4-二氫-1,8-二氮雜萘-2(1H)-酮的 2-羥基乙磺酸鹽，

該 2-羥基乙磺酸鹽之特徵基本上在於如圖 49 所示的 X 射線衍射圖。

【請求項6】如請求項 1 的化合物，其中該化合物為下式的 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(三氟甲基)-1H-苯並[d]咪唑-2-基)-1a,6b-二氫-1H-環丙並[b]苯並呋喃-5-基)氧基)-3,4-二氫-1,8-二氮雜萘-2(1H)-酮的 L-酒石酸鹽，

該 L-酒石酸鹽之特徵基本上在於如圖 50 所示的 X 射線衍射圖。

【請求項7】如請求項 1 的化合物，其中該化合物為下式的 5-(((1R,1aS,6bR)-1-(6-(三氟甲基)-1H-苯並[d]咪唑-2-基)-1a,6b-二氫-1H-環丙並[b]苯並呋喃-5-基)氧基)-3,4-二氫-1,8-二氮雜萘-2(1H)-酮的草酸鹽，

該草酸鹽之特徵基本上在於如圖 51 所示的 X 射線衍射圖。

【請求項8】一種醫藥組合物，包含治療有效量的如請求項 1 至 7 中任一項的化合物及醫藥上可接受之載體。

【請求項9】如請求項 8 的醫藥組合物，其中該醫藥組合物適於口服投予。

【請求項10】 如請求項 8 的醫藥組合物，其中該醫藥組合物為錠劑或膠囊劑的形式。

【請求項11】 如請求項 8 的醫藥組合物，其中該錠劑或膠囊劑的單位劑量為 5-80 mg。

【請求項12】 如請求項 8 的醫藥組合物，其中該化合物在醫藥組合物中的重量百分比為 1-99%。

【請求項13】 一種如請求項 1 至 7 中任一項的化合物或如請求項 8 至 12 中任一項的醫藥組合物在製備用於治療或預防受試者中疾病或病症的藥物中的用途。

【請求項14】 如請求項 13 的用途，其中該疾病或病症為癌症。

【請求項15】 如請求項 14 的用途，其中該疾病或病症為選自由下列組成之群組的癌症：腦癌、肺癌、腎癌、骨癌、肝癌、膀胱癌、乳腺癌、頭頸癌、卵巢癌、黑素瘤、皮膚癌、腎上腺癌、子宮頸癌、結腸直腸癌、淋巴瘤或甲狀腺腫瘤以及它們的併發症。

【請求項16】 如請求項 13 的用途，其中該疾病選自 BRAF、NRAS 及 KRAS 突變的腦癌、肺癌、腎癌、骨癌、肝癌、膀胱癌、乳腺癌、頭頸癌、卵巢癌、黑素瘤、皮膚癌、腎上腺癌、子宮頸癌、結腸直腸癌、淋巴瘤或甲狀腺腫瘤以及它們的併發症。

【請求項17】　如請求項 13 的用途，其中如請求項 1 至 7 任一項的化合物的投予劑量為 1-100 mg/天，且投予頻率為每日一至三次。

【請求項18】　如請求項 13 的用途，其中如請求項 1 至 7 任一項的化合物的投予劑量為 5-50 mg/天，且投予頻率為每日一至三次。

【請求項19】　如請求項 13 的用途，其中如請求項 1 至 7 中任一項的化合物的投予劑量為 10-40 mg/天，且投予頻率為每日一次。

【發明圖式】

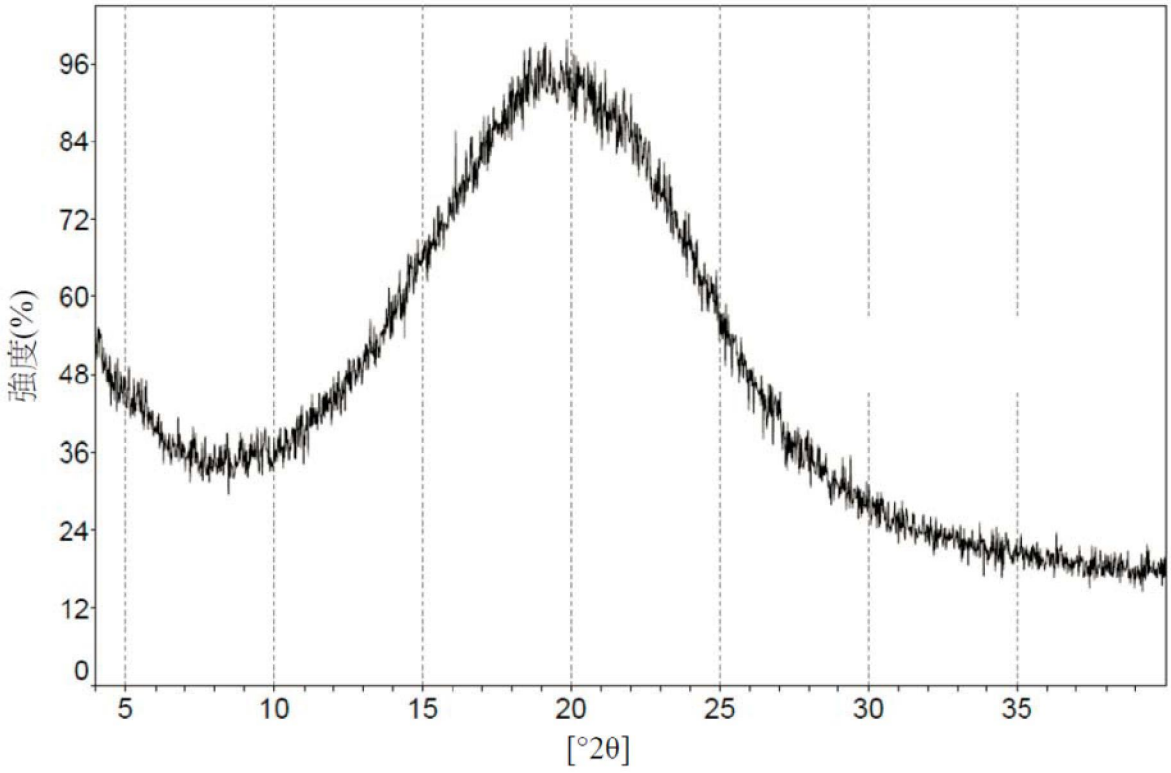

強度(%)
96
84
72
60
48
36
24
12
0
5
10
15
20
25
30
35
[°2θ]

圖 1

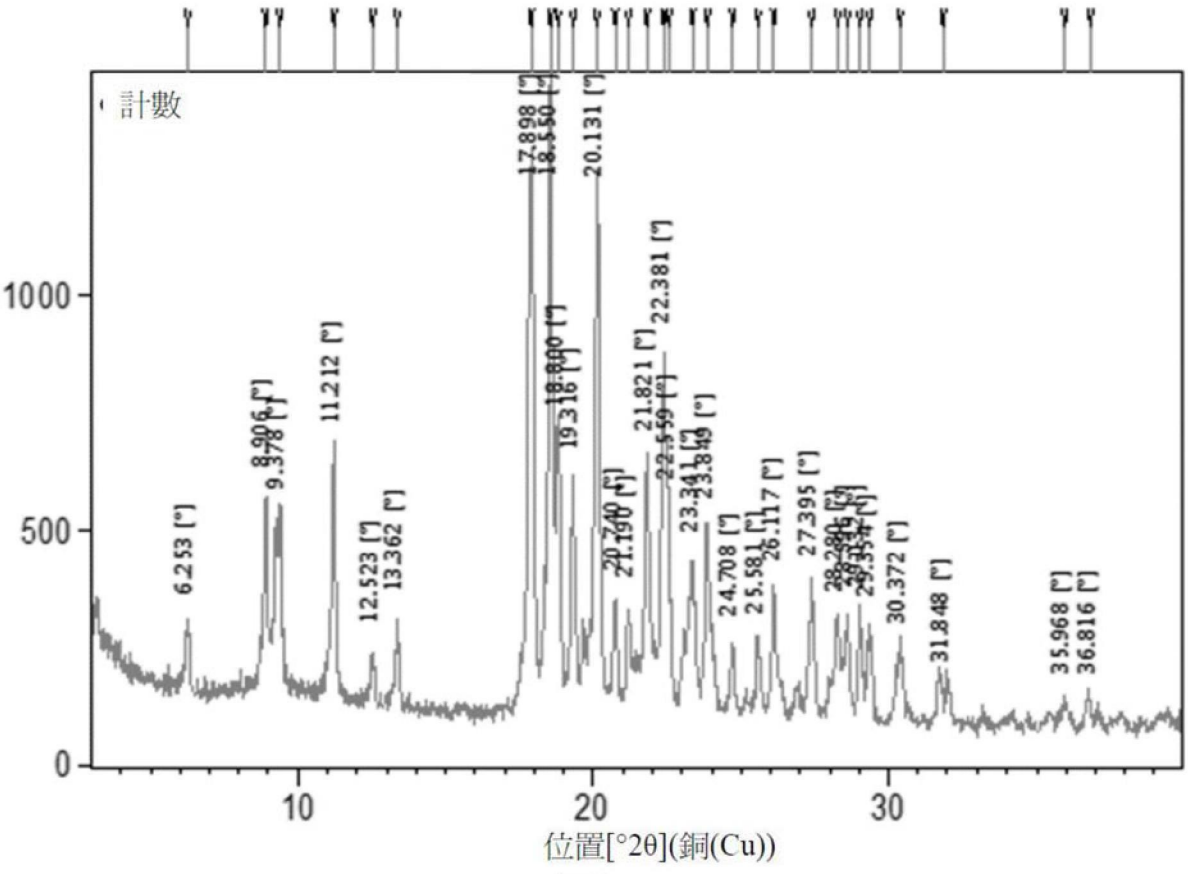

計數
1000
500
0
6.253 [°]
9.378 [°]
11.212 [°]
12.523 [°]
13.362 [°]
17.898 [°]
18.550 [°]
18.800 [°]
19.310 [°]
20.131 [°]
20.740 [°]
21.190 [°]
21.821 [°]
22.381 [°]
23.341 [°]
24.708 [°]
25.581 [°]
26.117 [°]
27.395 [°]
30.372 [°]
31.848 [°]
35.968 [°]
36.816 [°]
10
20
30
位置[°2θ](銅(Cu))

圖 2

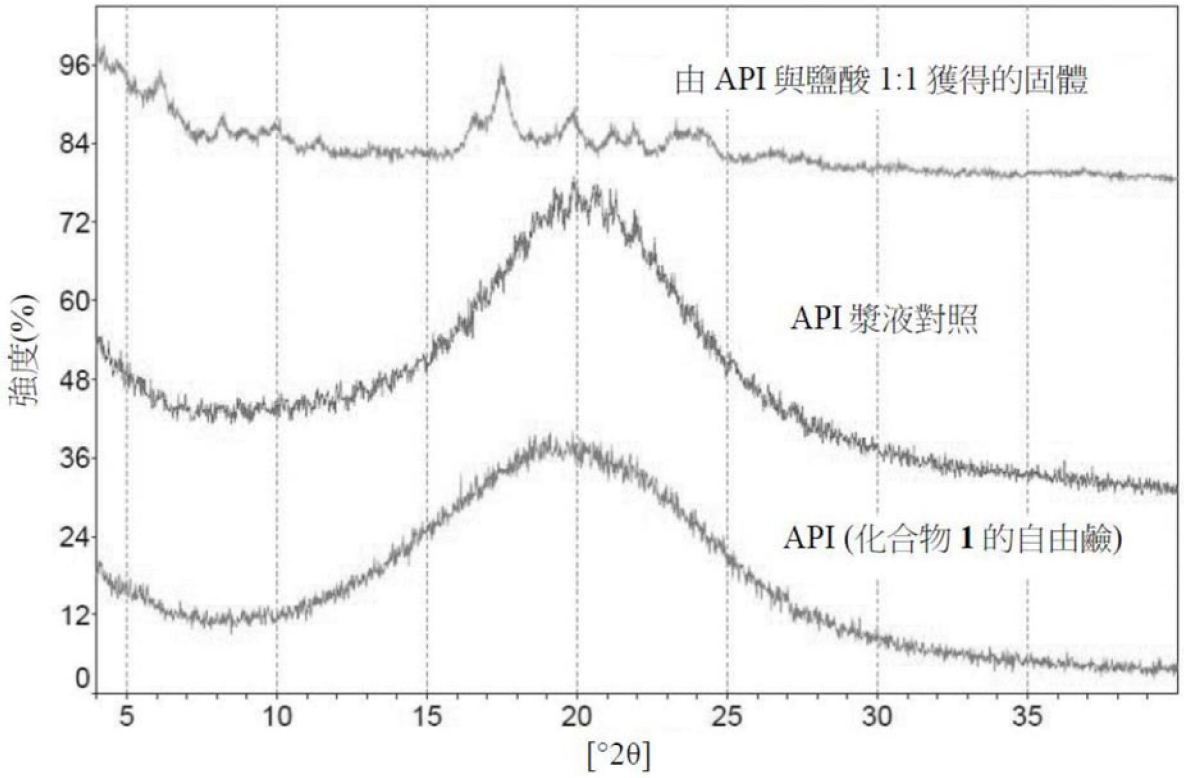

由 API 與鹽酸 1:1 獲得的固體
API 漿液對照
API (化合物 1 的自由鹼)
強度(%)
[°2θ]
0
12
24
36
48
60
72
84
96
5
10
15
20
25
30
35

圖 3

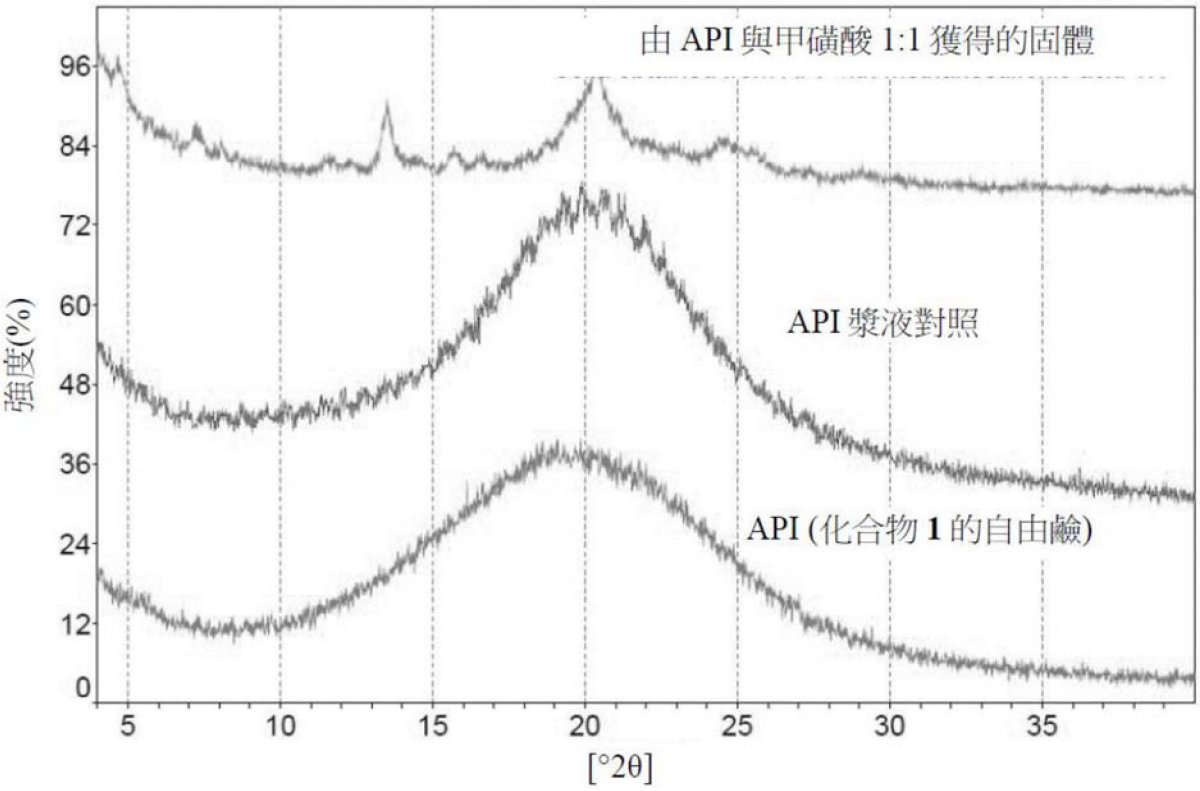

由 API 與甲磺酸 1:1 獲得的固體
API 漿液對照
API (化合物 1 的自由鹼)
強度(%)
[°2θ]
0
12
24
36
48
60
72
84
96
5
10
15
20
25
30
35

圖 4

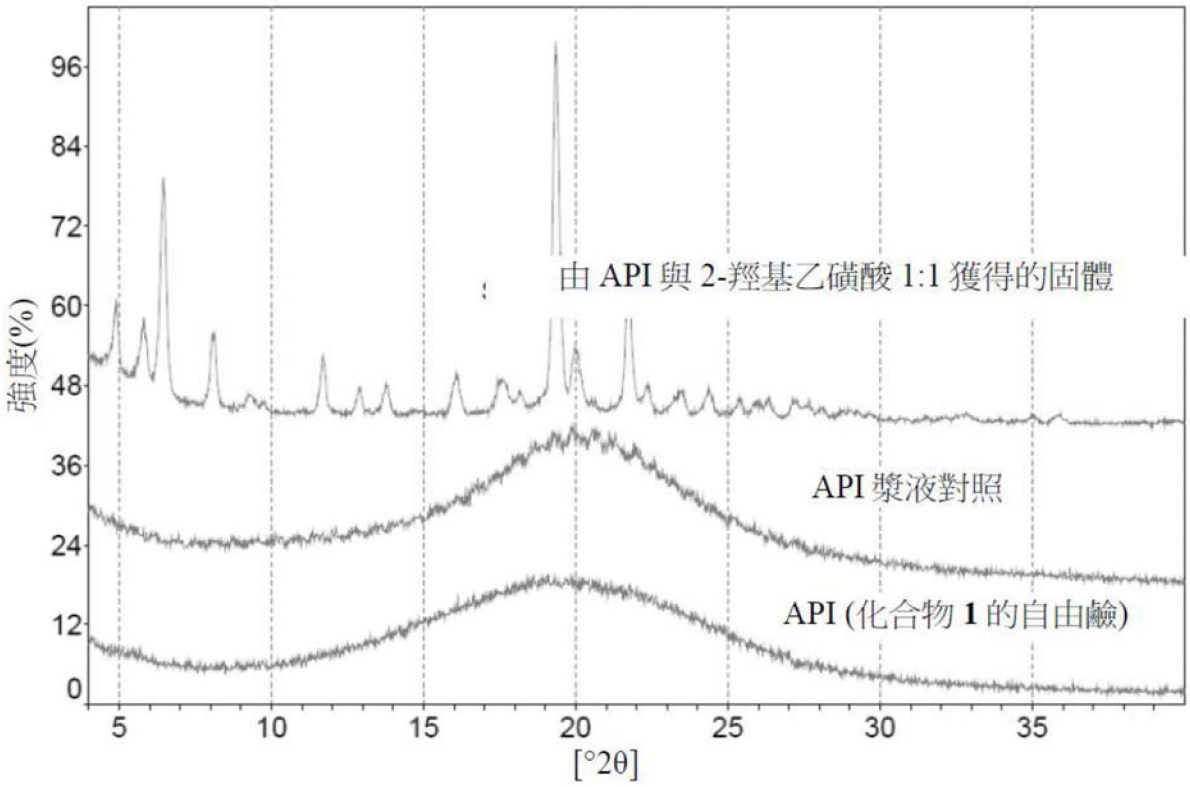

96
84
72
60
48
36
24
12
0
強度(%)
由 API 與 2-羥基乙磺酸 1:1 獲得的固體
API 漿液對照
API (化合物 1 的自由鹼)
5
10
15
20
25
30
35
[°2θ]

圖 5

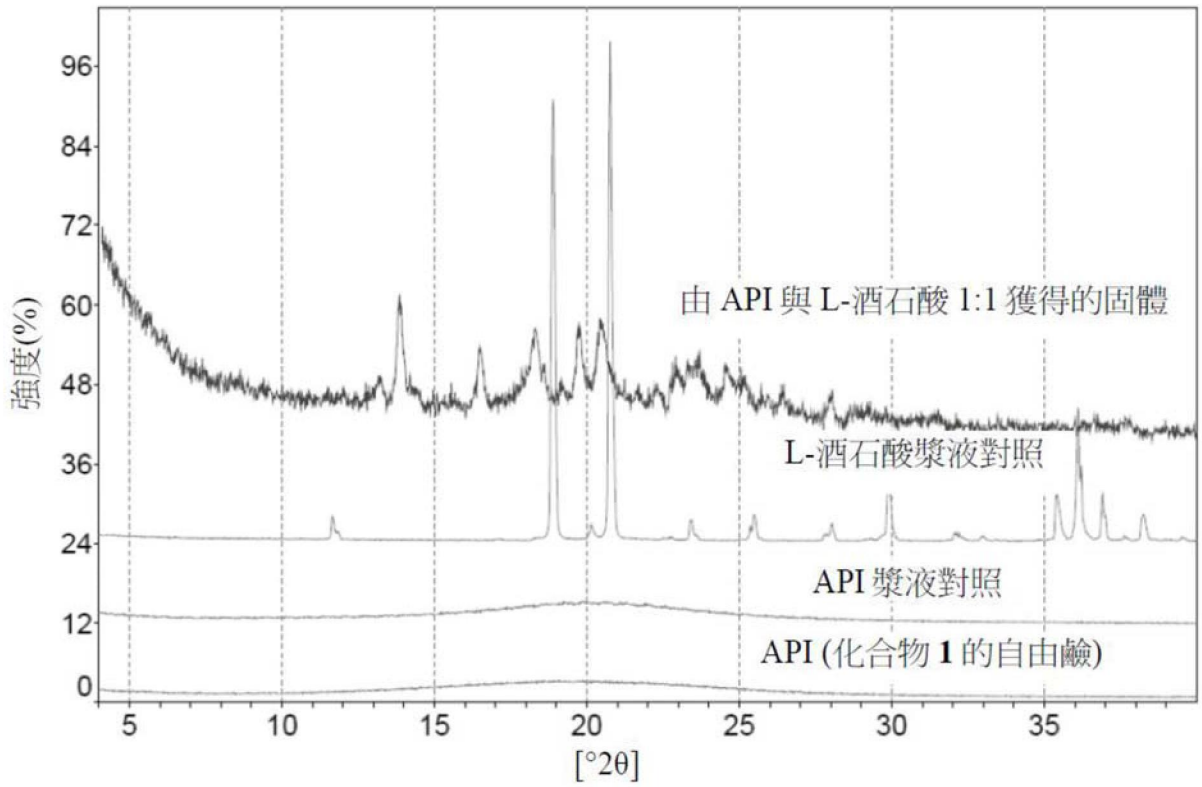

96
84
72
60
48
36
24
12
0
強度(%)
由 API 與 L-酒石酸 1:1 獲得的固體
L-酒石酸漿液對照
API 漿液對照
API (化合物 1 的自由鹼)
5
10
15
20
25
30
35
[°2θ]

圖 6

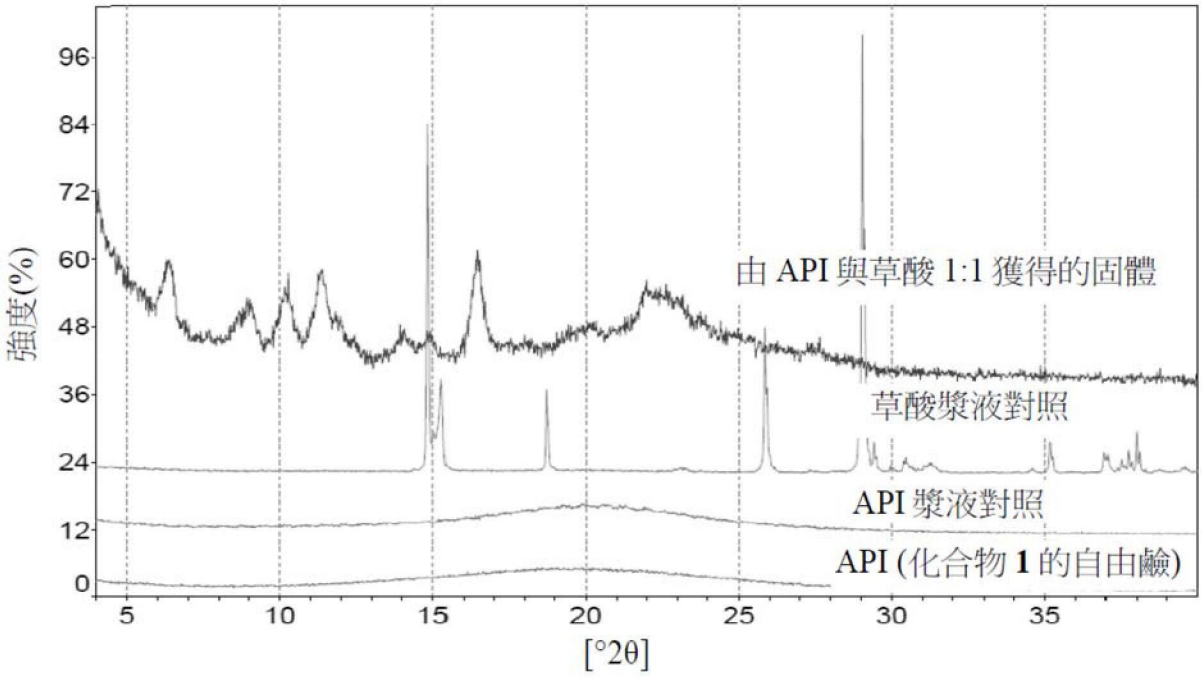

強度(%)
96
84
72
60
48
36
24
12
0
5
10
15
20
25
30
35
[°2θ]
由 API 與草酸 1:1 獲得的固體
草酸漿液對照
API 漿液對照
API (化合物 1 的自由鹼)

圖 7

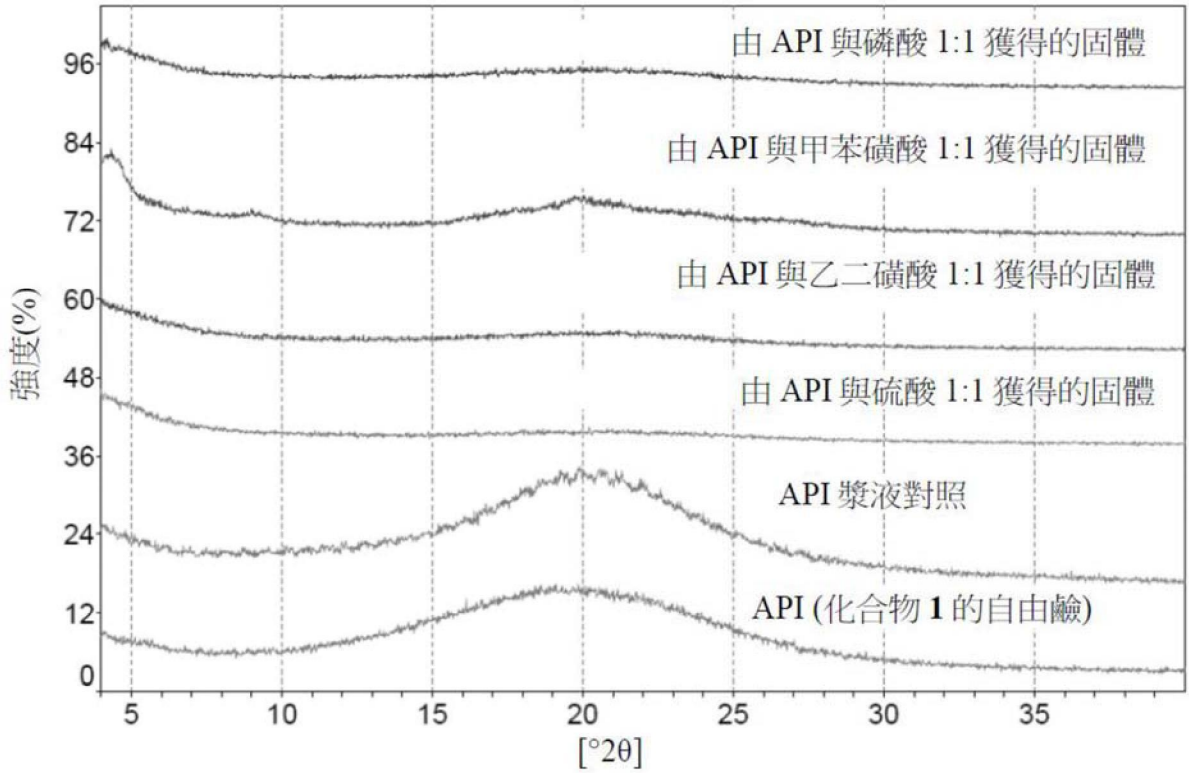

強度(%)
96
84
72
60
48
36
24
12
0
5
10
15
20
25
30
35
[°2θ]
由 API 與磷酸 1:1 獲得的固體
由 API 與甲苯磺酸 1:1 獲得的固體
由 API 與乙二磺酸 1:1 獲得的固體
由 API 與硫酸 1:1 獲得的固體
API 漿液對照
API (化合物 1 的自由鹼)

圖 8

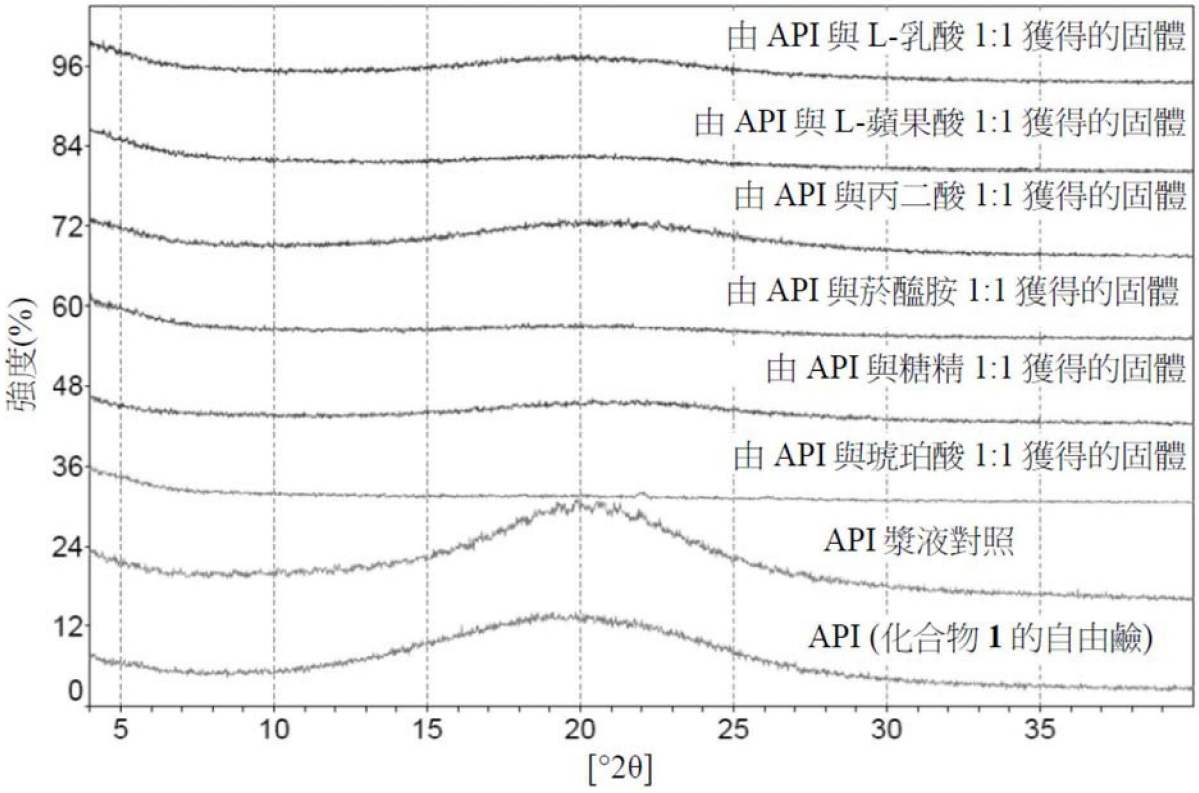

由 API 與 L-乳酸 1:1 獲得的固體
由 API 與 L-蘋果酸 1:1 獲得的固體
由 API 與丙二酸 1:1 獲得的固體
由 API 與菸醯胺 1:1 獲得的固體
由 API 與糖精 1:1 獲得的固體
由 API 與琥珀酸 1:1 獲得的固體
API 漿液對照
API (化合物 1 的自由鹼)
強度(%)
96
84
72
60
48
36
24
12
0
5
10
15
20
25
30
35
[°2θ]

圖 9

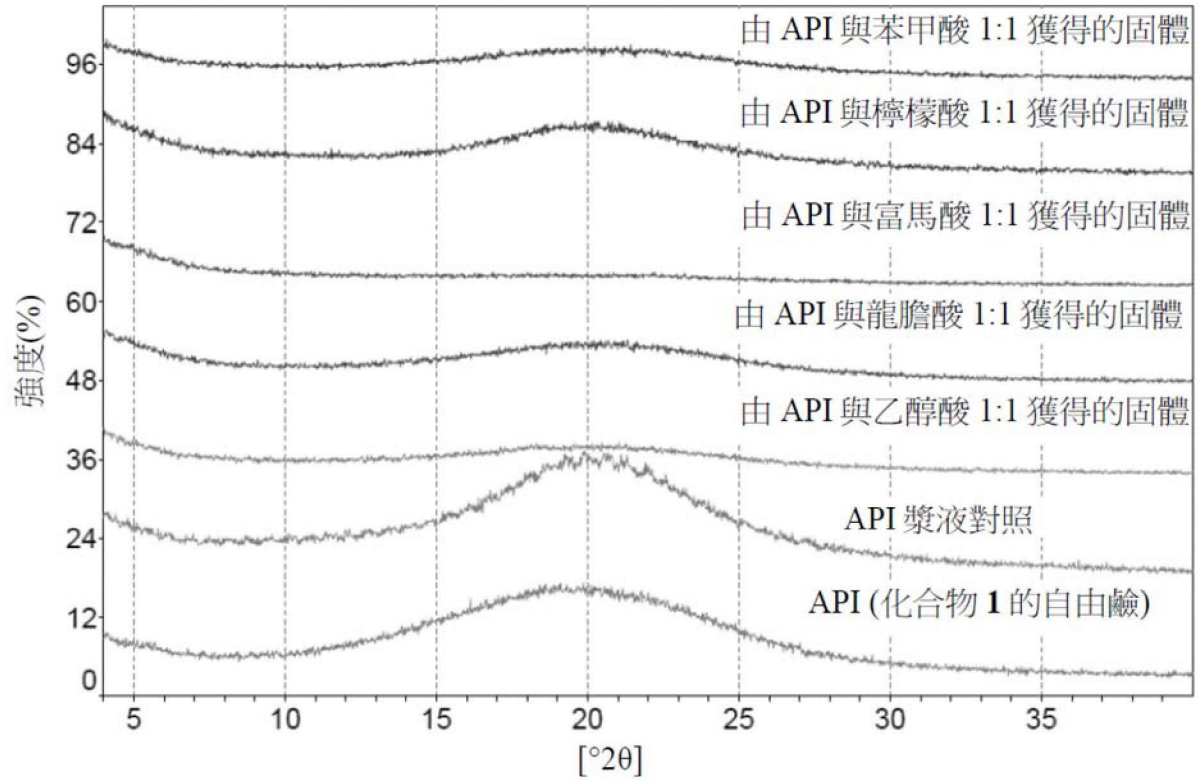

由 API 與苯甲酸 1:1 獲得的固體
由 API 與檸檬酸 1:1 獲得的固體
由 API 與富馬酸 1:1 獲得的固體
由 API 與龍膽酸 1:1 獲得的固體
由 API 與乙醇酸 1:1 獲得的固體
API 漿液對照
API (化合物 1 的自由鹼)
強度(%)
96
84
72
60
48
36
24
12
0
5
10
15
20
25
30
35
[°2θ]

圖 10

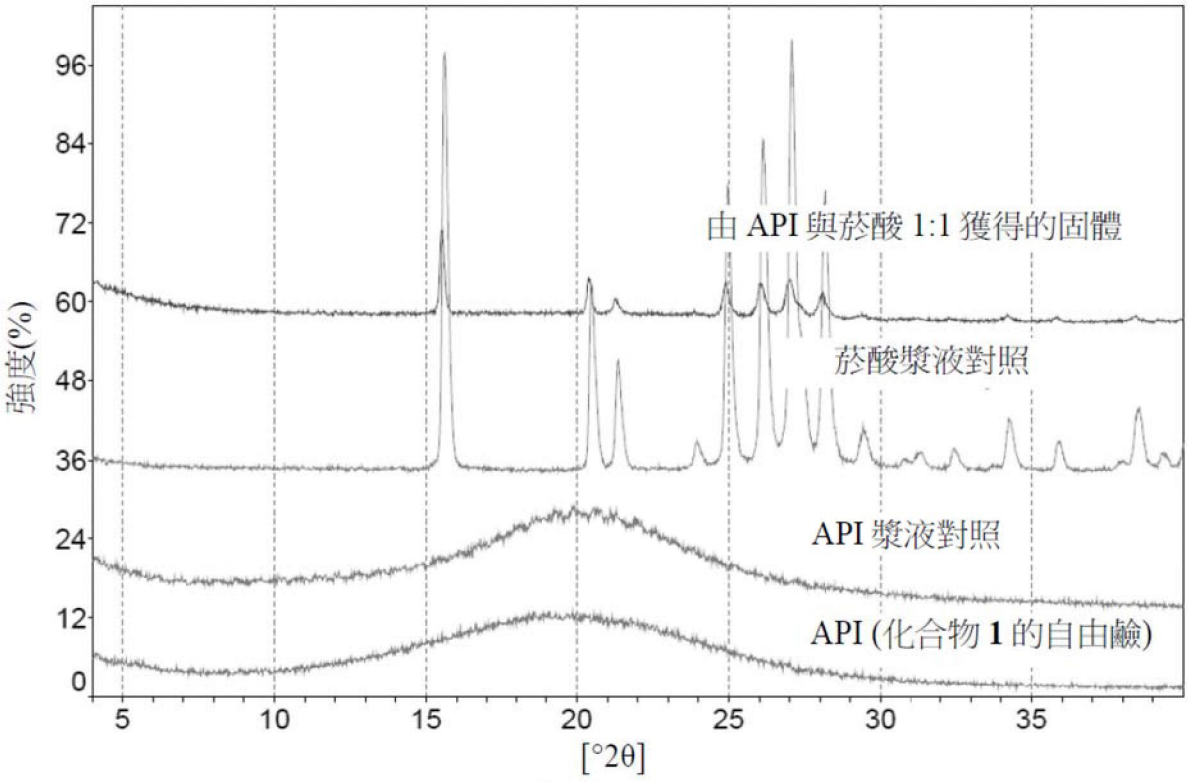

96
84
72
60
48
36
24
12
0
強度(%)
由 API 與菸酸 1:1 獲得的固體
菸酸漿液對照
API 漿液對照
API (化合物 1 的自由鹼)
5
10
15
20
25
30
35
[°2θ]

圖 11

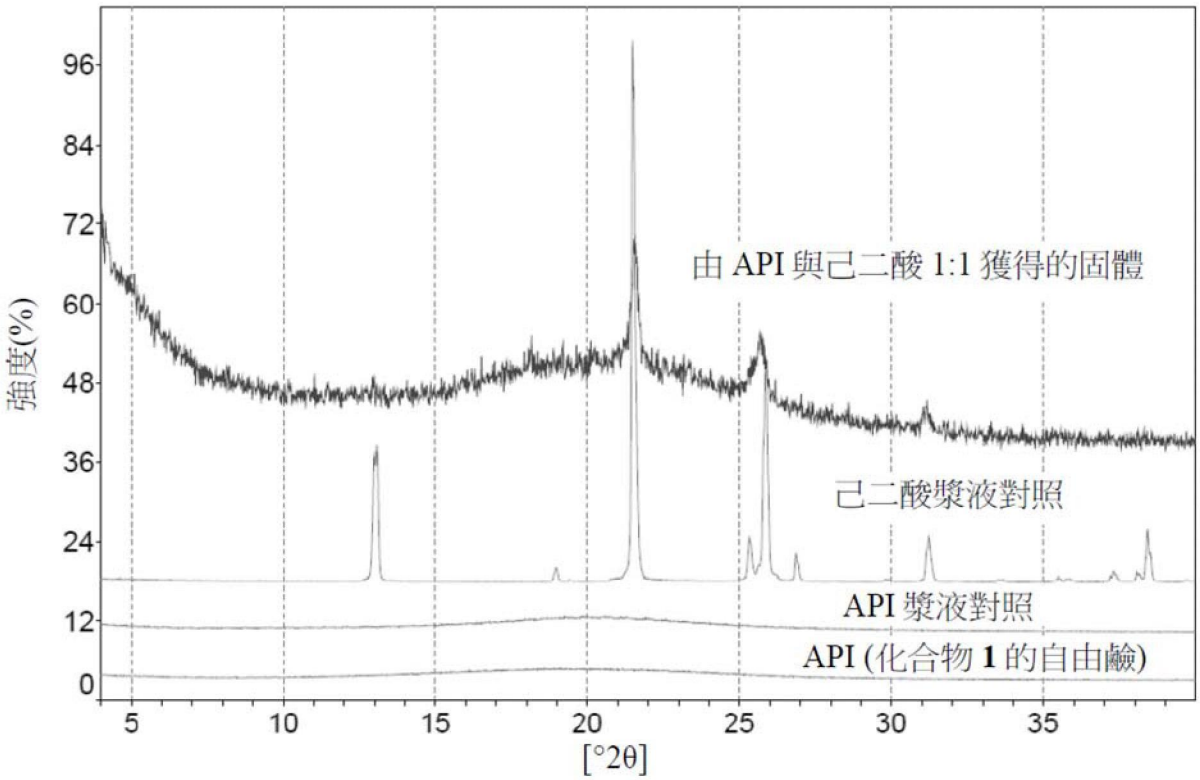

96
84
72
60
48
36
24
12
0
強度(%)
由 API 與己二酸 1:1 獲得的固體
己二酸漿液對照
API 漿液對照
API (化合物 1 的自由鹼)
5
10
15
20
25
30
35
[°2θ]

圖 12

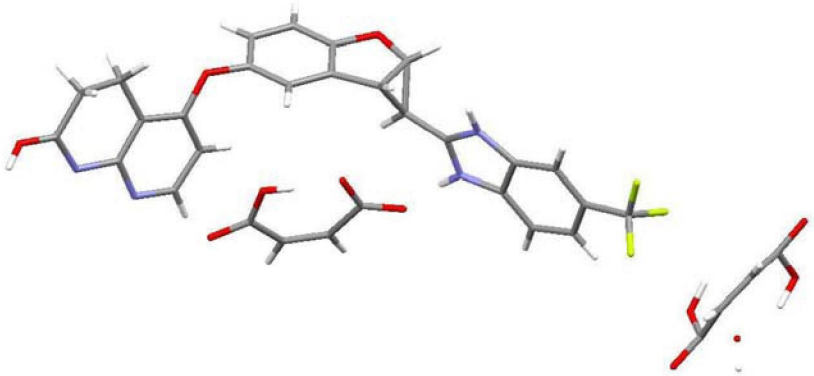


圖 13

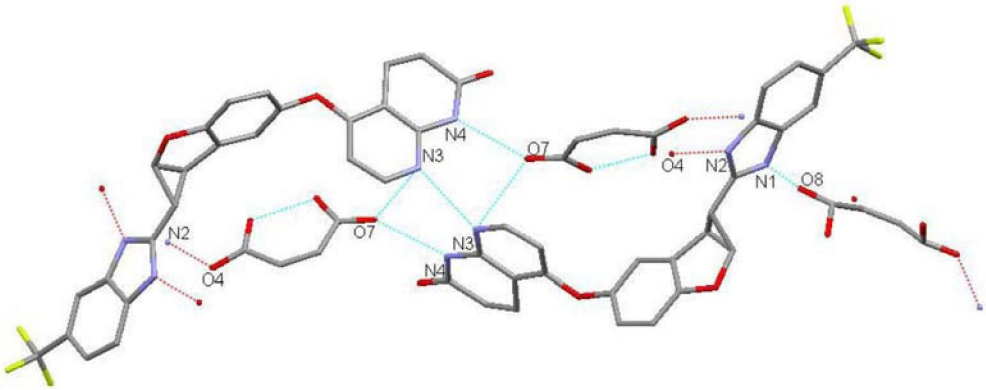


圖 14

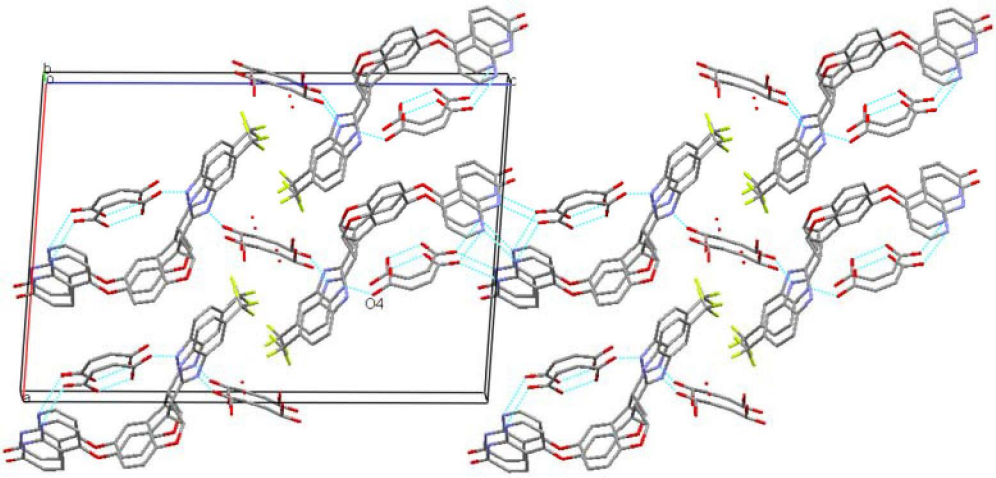


圖 15

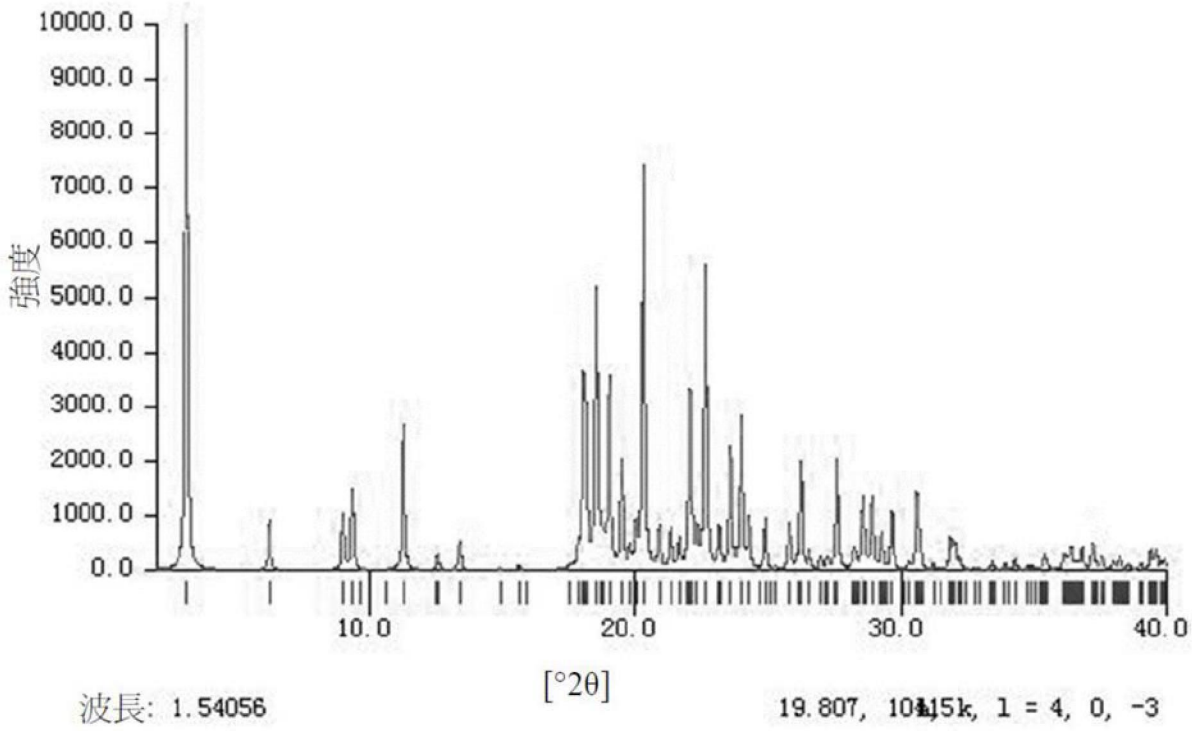

10000.0
9000.0
8000.0
7000.0
6000.0
5000.0
4000.0
3000.0
2000.0
1000.0
0.0
強度
10.0
20.0
30.0
40.0
[°2θ]
波長: 1.54056
19.807, 10[illegible]15k, 1 = 4, 0, -3

圖 16

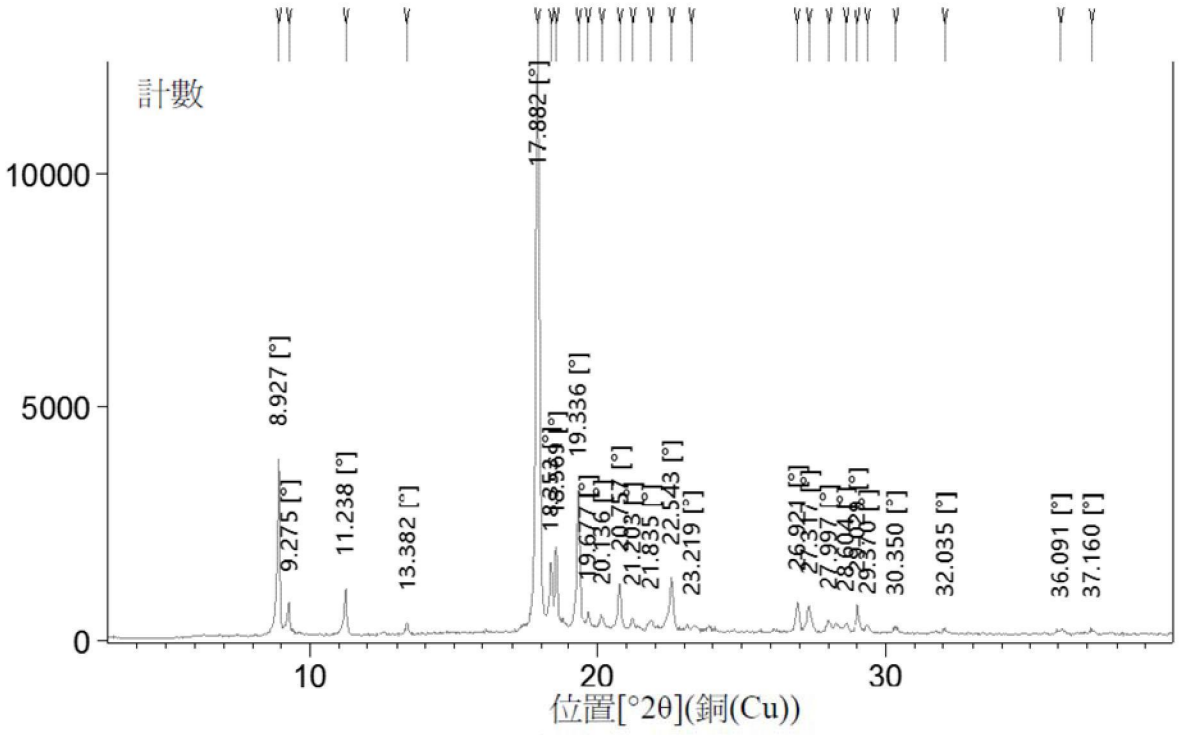

計數
10000
5000
0
8.927 [°]
9.275 [°]
11.238 [°]
13.382 [°]
17.882 [°]
19.336 [°]
22.543 [°]
23.219 [°]
30.350 [°]
32.035 [°]
36.091 [°]
37.160 [°]
10
20
30
位置[°2θ](銅(Cu))

圖 17

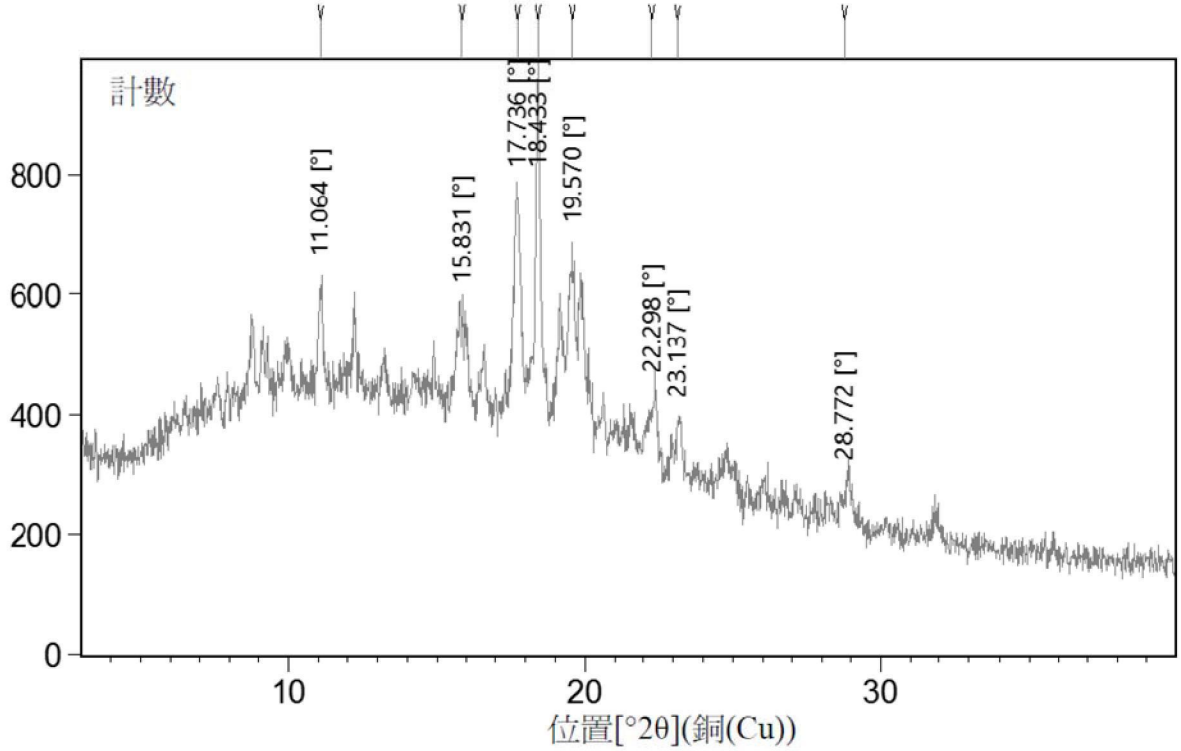

計數
800
600
400
200
0
10
20
30
11.064 [°]
15.831 [°]
17.736 [°]
18.433 [°]
19.570 [°]
22.298 [°]
23.137 [°]
28.772 [°]
位置[°2θ](銅(Cu))

圖 18

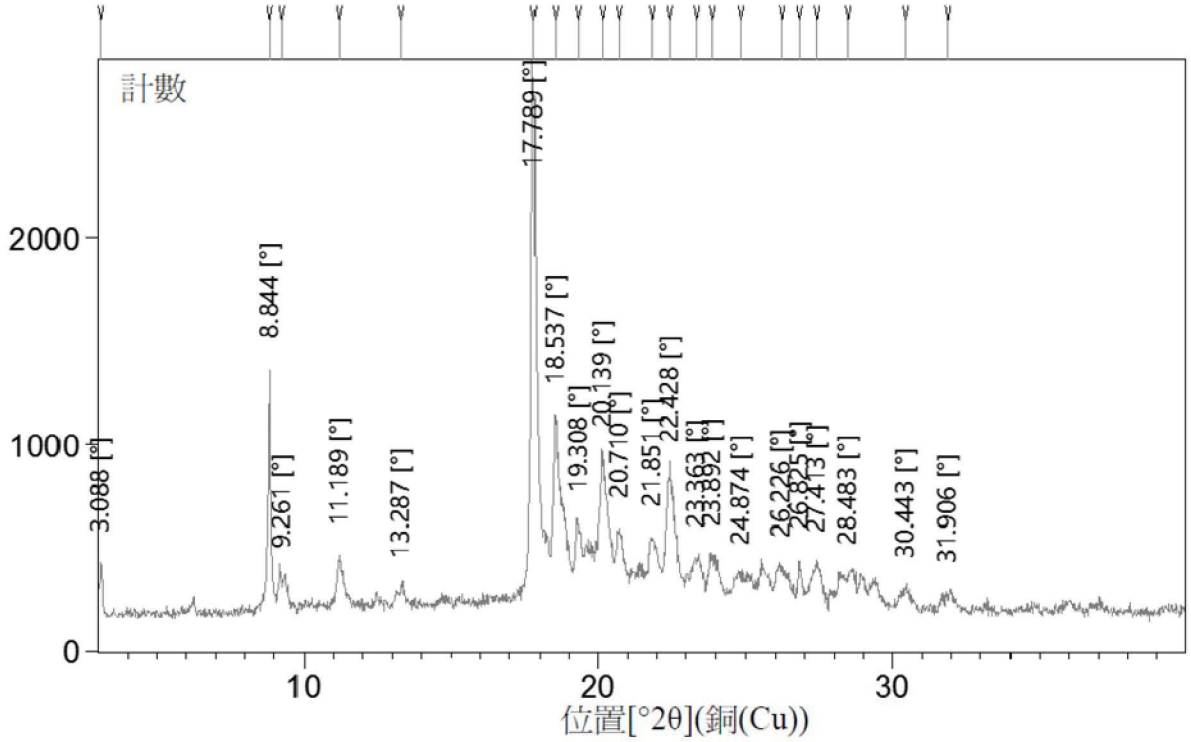

計數
2000
1000
0
10
20
30
3.088 [°]
8.844 [°]
9.261 [°]
11.189 [°]
13.287 [°]
17.789 [°]
18.537 [°]
19.308 [°]
20.139 [°]
20.710 [°]
21.851 [°]
22.428 [°]
23.363 [°]
23.892 [°]
24.874 [°]
26.226 [°]
26.825 [°]
27.413 [°]
28.483 [°]
30.443 [°]
31.906 [°]
位置[°2θ](銅(Cu))

圖 19

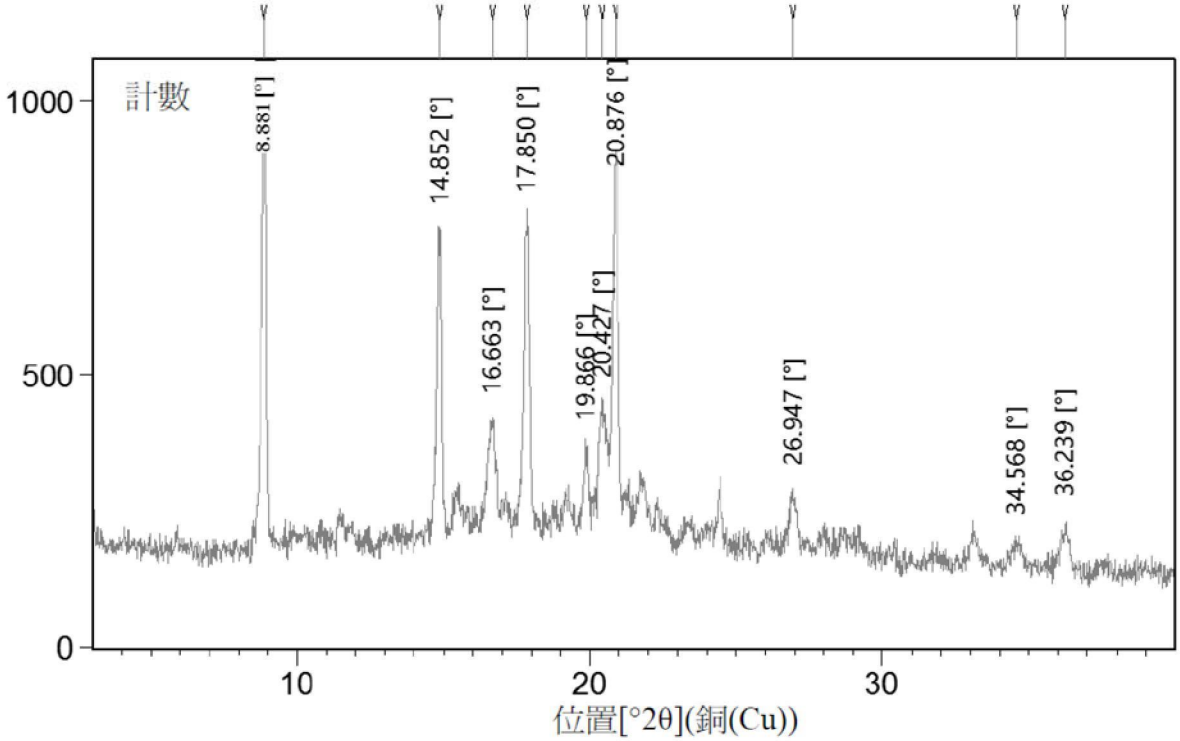

計數
1000
500
0
8.881 [°]
14.852 [°]
16.663 [°]
17.850 [°]
19.866 [°]
20.427 [°]
20.876 [°]
26.947 [°]
34.568 [°]
36.239 [°]
10
20
30
位置[°2θ](銅(Cu))

圖 20

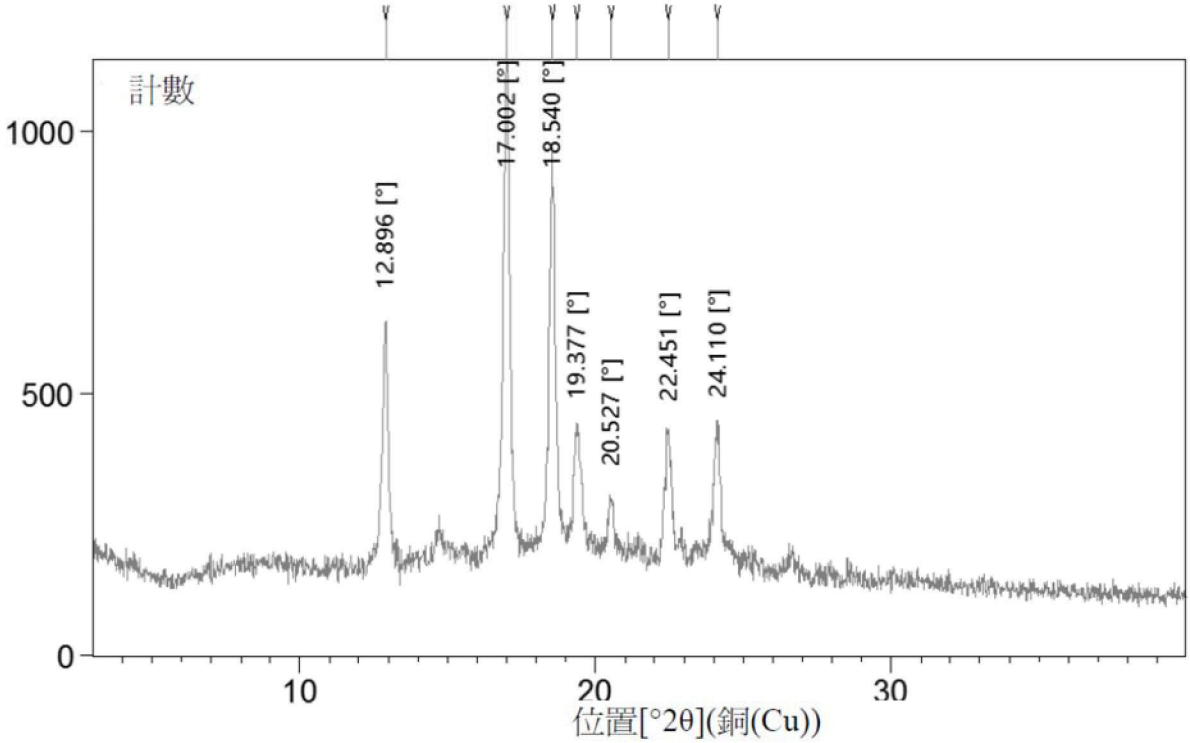

計數
1000
500
0
12.896 [°]
17.002 [°]
18.540 [°]
19.377 [°]
20.527 [°]
22.451 [°]
24.110 [°]
10
20
30
位置[°2θ](銅(Cu))

圖 21

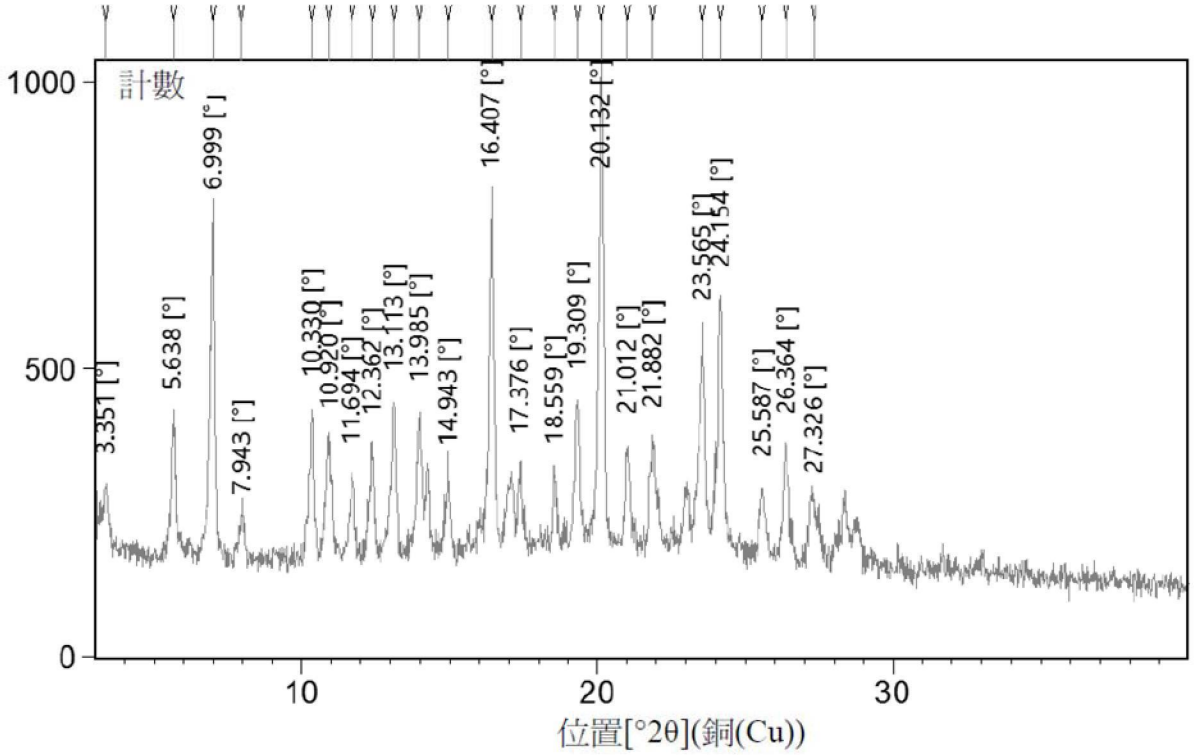

計數
1000
500
0
3.351 [°]
5.638 [°]
6.999 [°]
7.943 [°]
10.330 [°]
10.920 [°]
11.694 [°]
12.362 [°]
13.113 [°]
13.985 [°]
14.943 [°]
16.407 [°]
17.376 [°]
18.559 [°]
19.309 [°]
20.132 [°]
21.012 [°]
21.882 [°]
23.565 [°]
24.154 [°]
25.587 [°]
26.364 [°]
27.326 [°]
10
20
30
位置[°2θ](銅(Cu))

圖 22

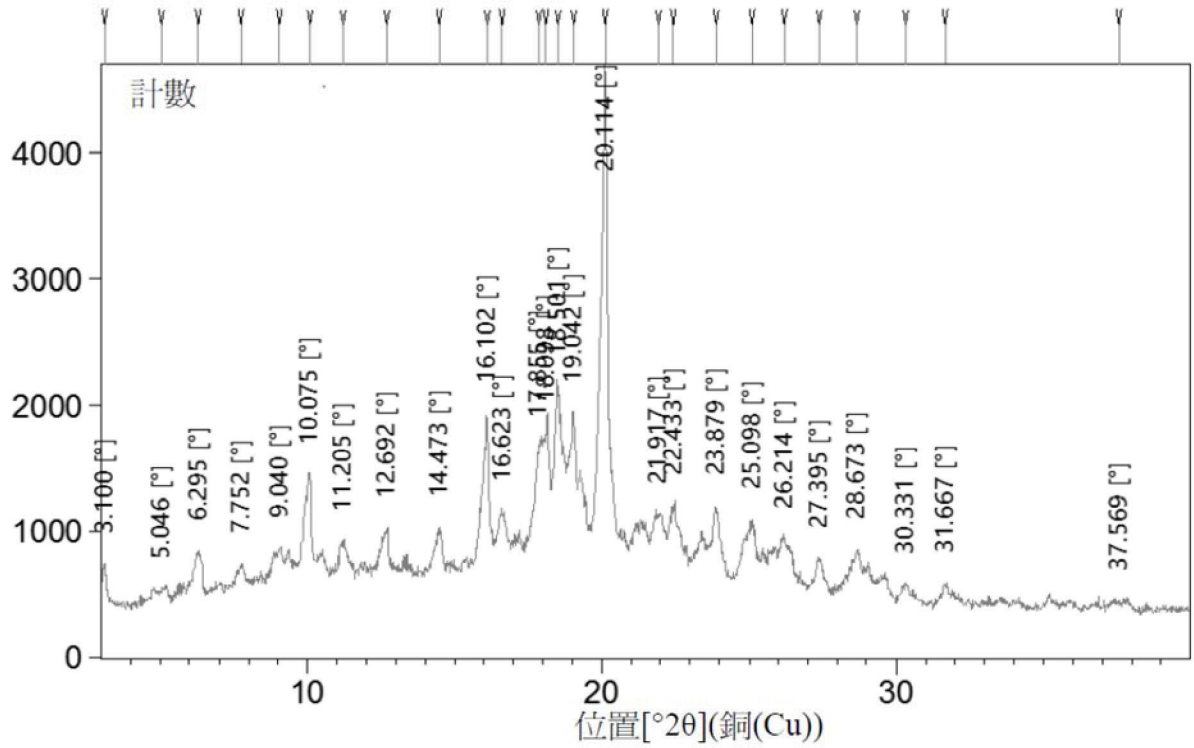

計數
4000
3000
2000
1000
0
3.100 [°]
5.046 [°]
6.295 [°]
7.752 [°]
9.040 [°]
10.075 [°]
11.205 [°]
12.692 [°]
14.473 [°]
16.102 [°]
16.623 [°]
17.855 [°]
18.501 [°]
19.042 [°]
20.114 [°]
21.917 [°]
22.433 [°]
23.879 [°]
25.098 [°]
26.214 [°]
27.395 [°]
28.673 [°]
30.331 [°]
31.667 [°]
37.569 [°]
10
20
30
位置[°2θ](銅(Cu))

圖 23

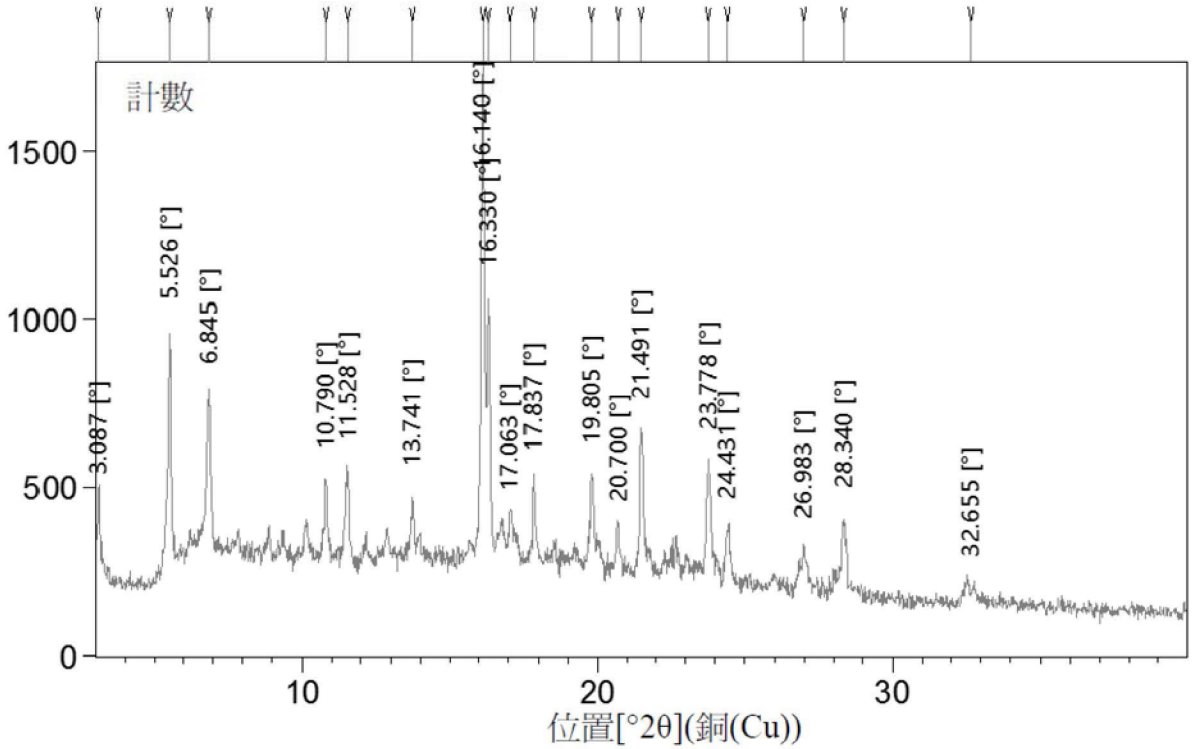

計數
1500
1000
500
0
10
20
30
位置[°2θ](銅(Cu))
3.087 [°]
5.526 [°]
6.845 [°]
10.790 [°]
11.528 [°]
13.741 [°]
16.140 [°]
16.330 [°]
17.063 [°]
17.837 [°]
19.805 [°]
20.700 [°]
21.491 [°]
23.778 [°]
24.431 [°]
26.983 [°]
28.340 [°]
32.655 [°]

圖 24

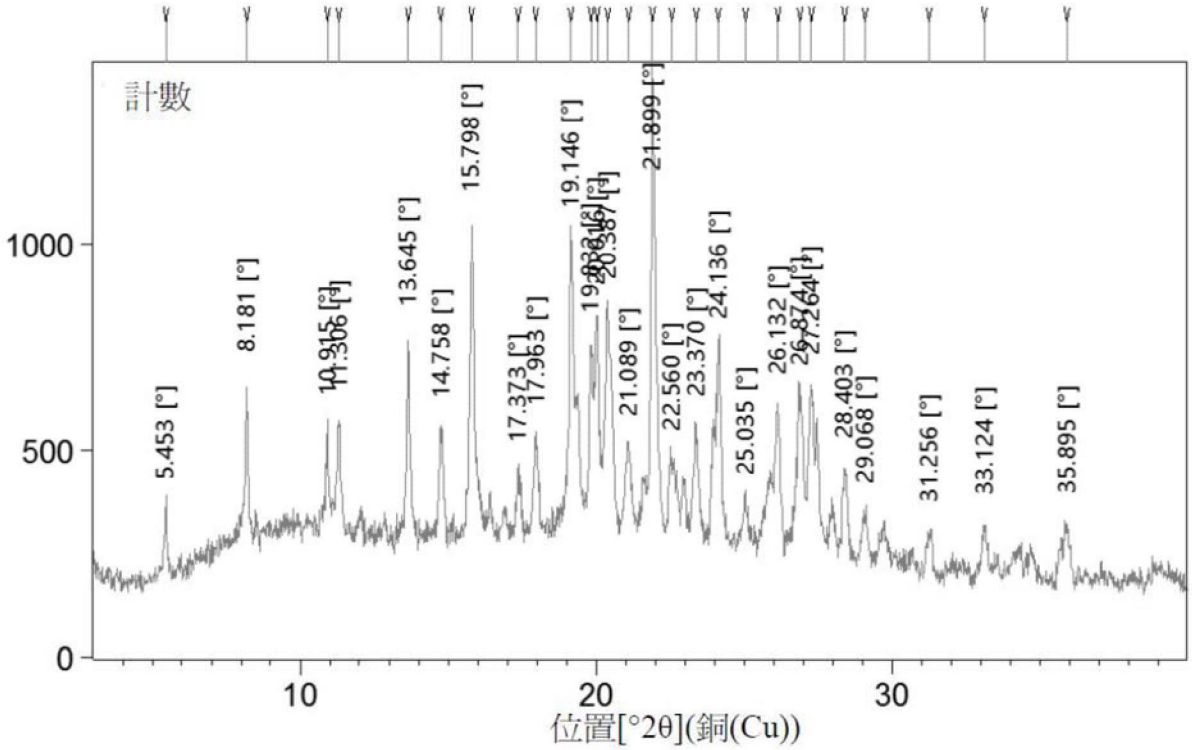

計數
1000
500
0
10
20
30
位置[°2θ](銅(Cu))
5.453 [°]
8.181 [°]
13.645 [°]
14.758 [°]
15.798 [°]
17.373 [°]
17.963 [°]
19.146 [°]
21.089 [°]
21.899 [°]
22.560 [°]
23.370 [°]
24.136 [°]
25.035 [°]
26.132 [°]
28.403 [°]
29.068 [°]
31.256 [°]
33.124 [°]
35.895 [°]

圖 25

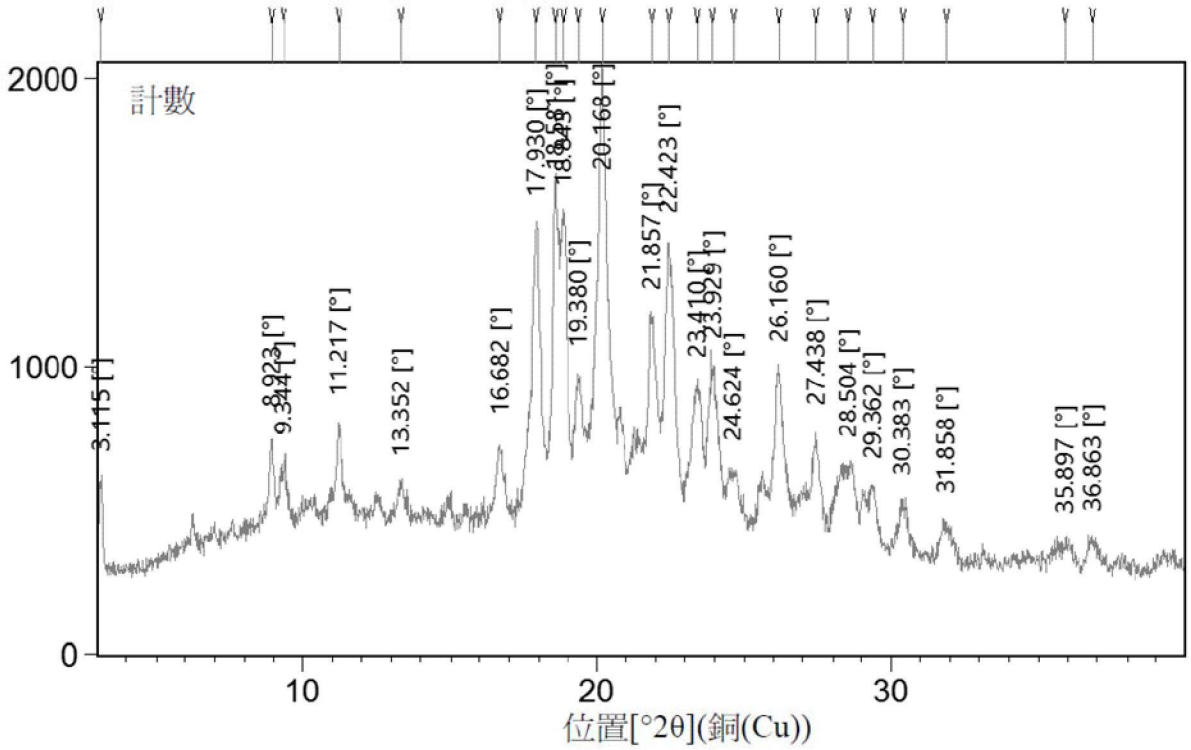

計數
2000
1000
0
3.115 [°]
9.344 [°]
11.217 [°]
13.352 [°]
16.682 [°]
17.930 [°]
19.380 [°]
20.168 [°]
21.857 [°]
22.423 [°]
23.410 [°]
24.624 [°]
26.160 [°]
27.438 [°]
28.504 [°]
29.362 [°]
30.383 [°]
31.858 [°]
35.897 [°]
36.863 [°]
10
20
30
位置[°2θ](銅(Cu))

圖 26

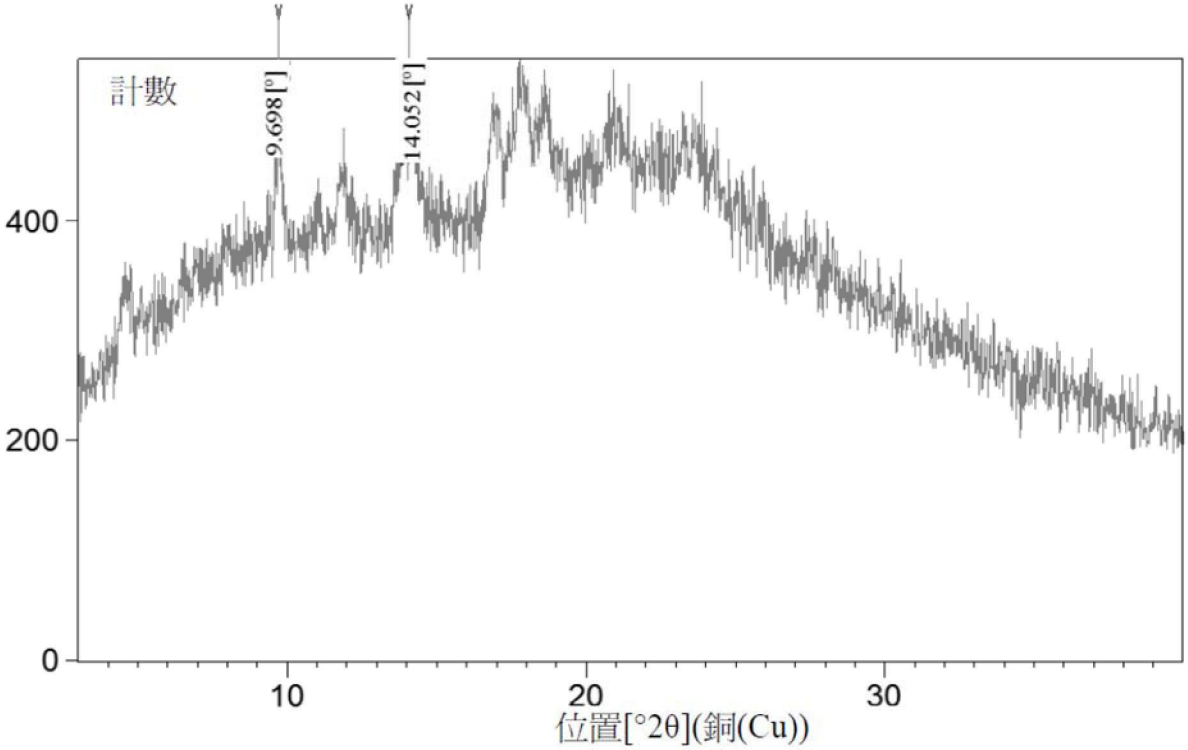

計數
9.698 [°]
14.052 [°]
400
200
0
10
20
30
位置[°2θ](銅(Cu))

圖 27

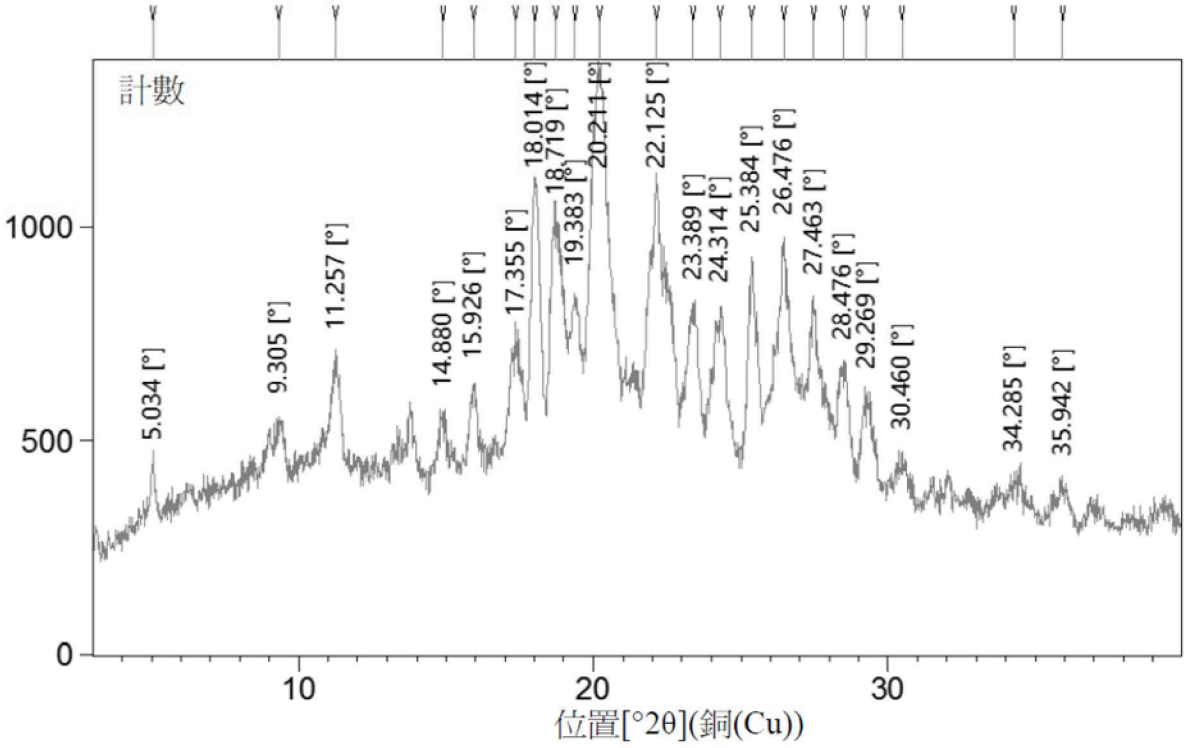

計數
1000
500
0
10
20
30
位置[°2θ](銅(Cu))
5.034 [°]
9.305 [°]
11.257 [°]
14.880 [°]
15.926 [°]
17.355 [°]
18.014 [°]
18.719 [°]
19.383 [°]
20.211 [°]
22.125 [°]
23.389 [°]
24.314 [°]
25.384 [°]
26.476 [°]
27.463 [°]
28.476 [°]
29.269 [°]
30.460 [°]
34.285 [°]
35.942 [°]

圖 28

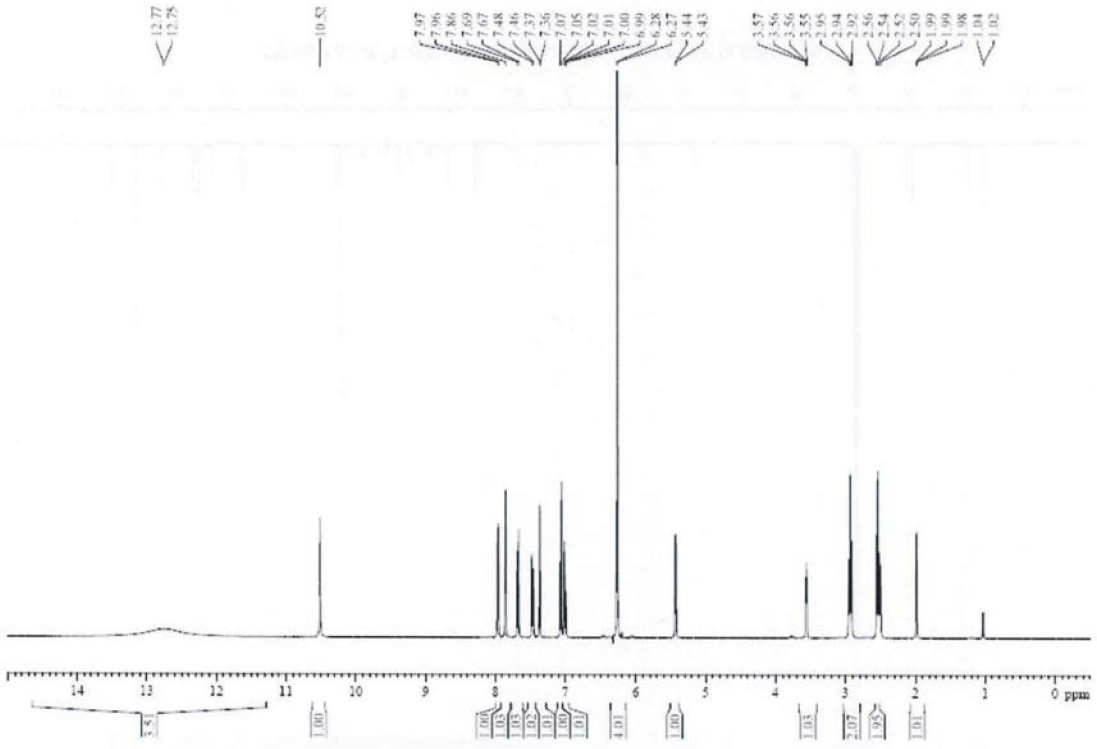


圖 29

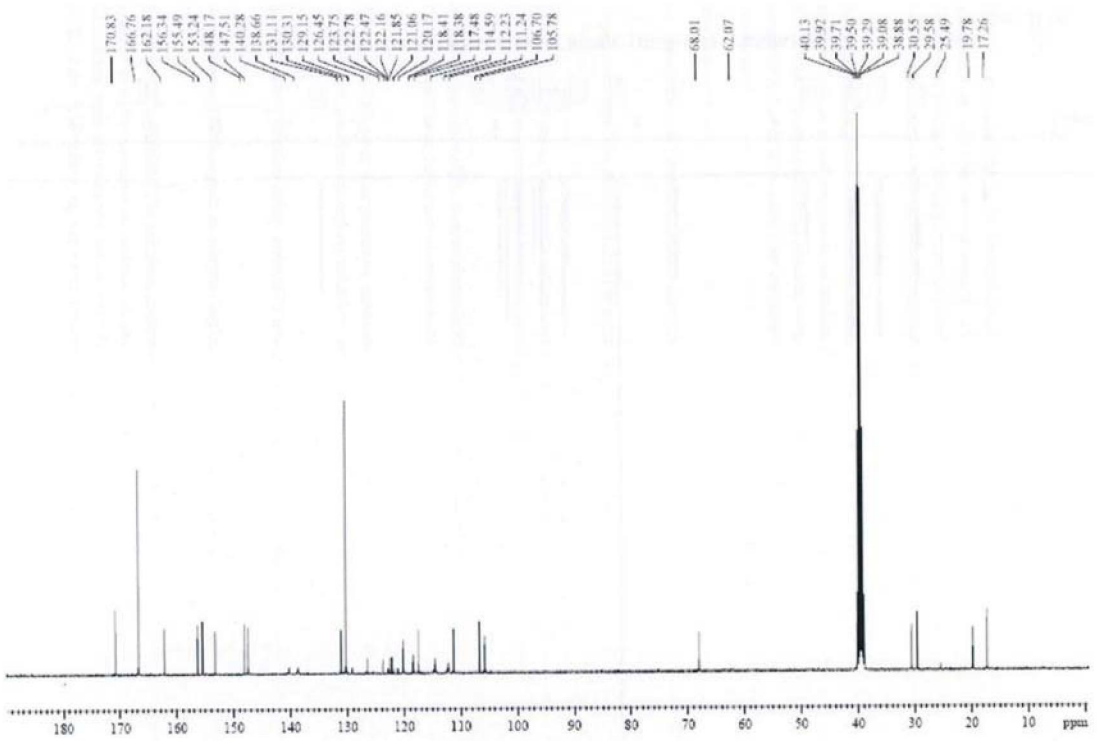
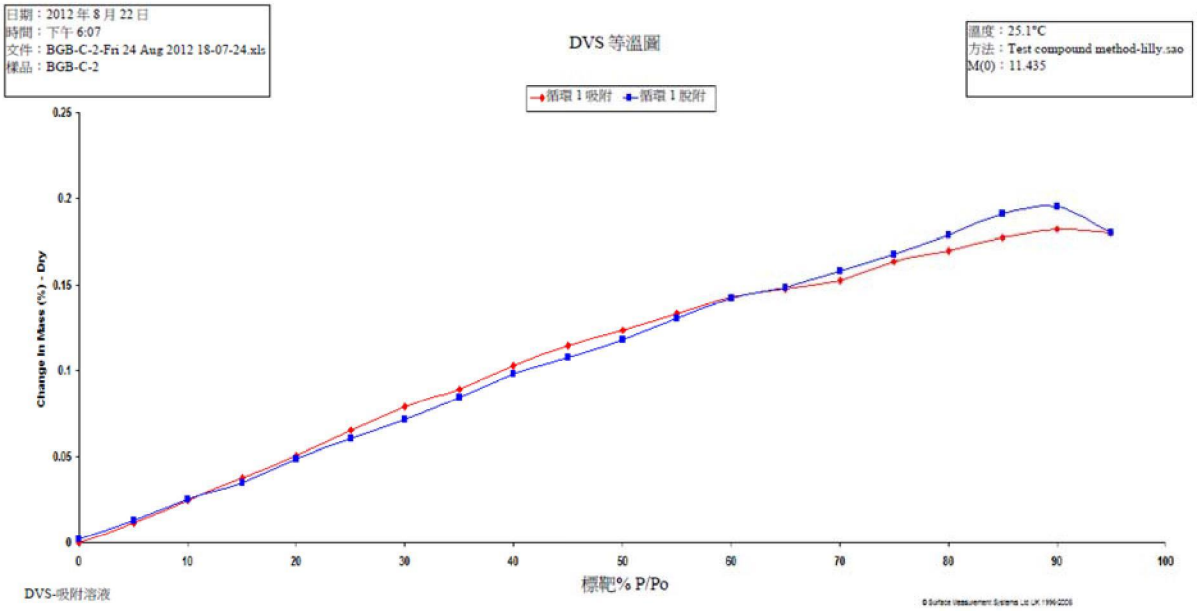


圖 30

藉由 DVS 的吸濕性(水分吸收)



化合物 **1** 倍半馬來酸鹽的結晶形式 A*的 DVS 等溫圖

圖 31

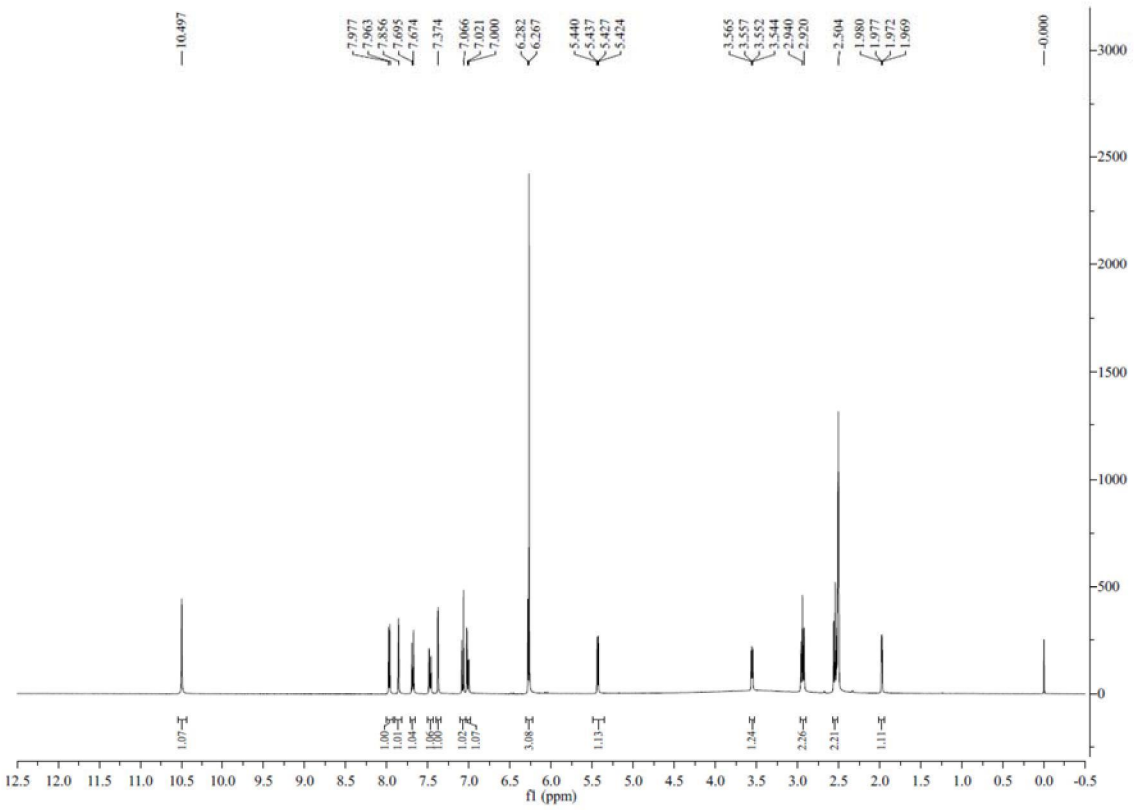

10.497
7.977
7.963
7.856
7.695
7.674
7.374
7.066
7.021
7.000
6.282
6.267
5.440
5.437
5.427
5.424
3.565
3.557
3.552
3.544
2.940
2.920
2.504
1.980
1.977
1.972
1.969
0.000
f1 (ppm)

圖 32

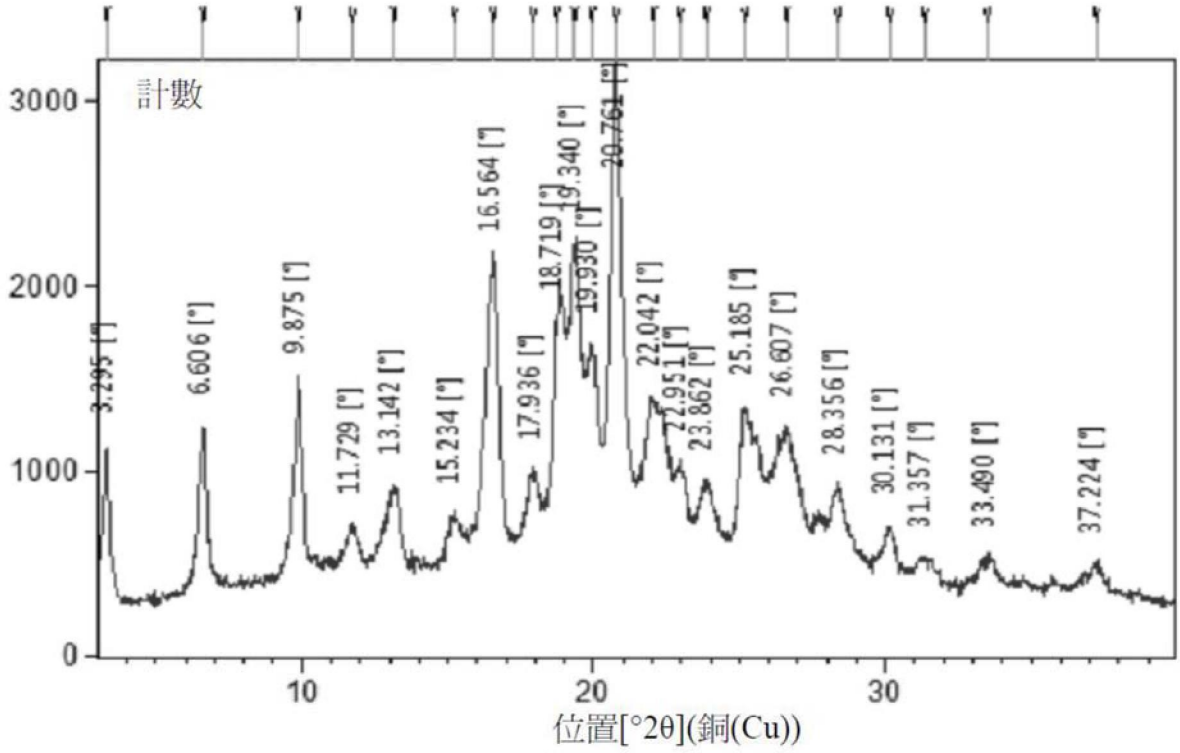

計數
3.295 [°]
6.606 [°]
9.875 [°]
11.729 [°]
13.142 [°]
15.234 [°]
16.564 [°]
17.936 [°]
18.719 [°]
19.340 [°]
19.930 [°]
20.761 [°]
22.042 [°]
22.951 [°]
23.862 [°]
25.185 [°]
26.607 [°]
28.356 [°]
30.131 [°]
31.357 [°]
33.490 [°]
37.224 [°]
位置[°2θ](銅(Cu))

圖 33

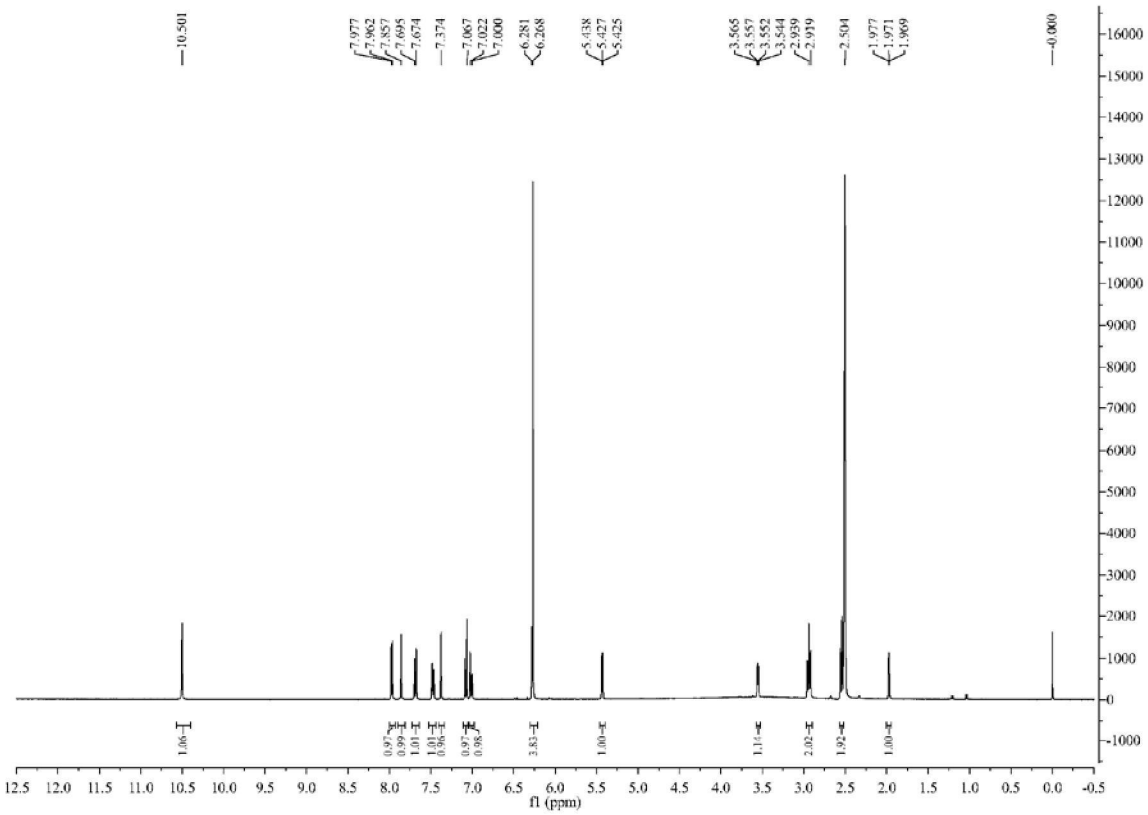

10.501
7.977
7.962
7.857
7.695
7.674
7.374
7.067
7.022
7.000
6.281
6.268
5.438
5.427
5.425
3.565
3.557
3.552
3.544
2.939
2.919
2.504
1.977
1.971
1.969
0.000
1.06
0.97
0.99
1.01
0.98
0.97
0.98
3.83
1.00
1.14
2.02
1.92
1.00
f1 (ppm)

圖 34

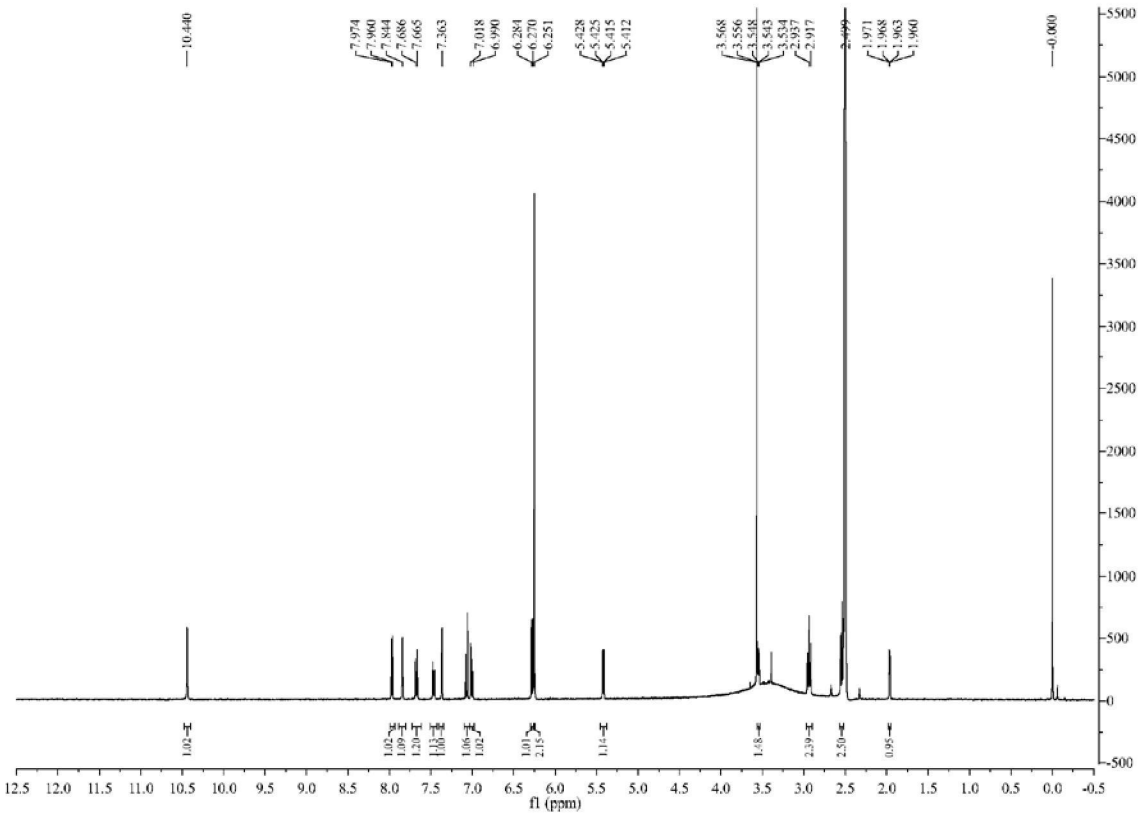

10.440
7.974
7.960
7.844
7.686
7.665
7.363
7.018
6.990
6.284
6.270
6.251
5.428
5.425
5.415
5.412
3.568
3.556
3.538
3.543
3.534
2.937
2.917
2.499
1.971
1.968
1.963
1.960
0.000
1.02
1.02
1.09
1.20
1.03
1.08
1.02
1.01
2.15
1.14
1.18
2.39
2.50
0.95
f1 (ppm)

圖 35

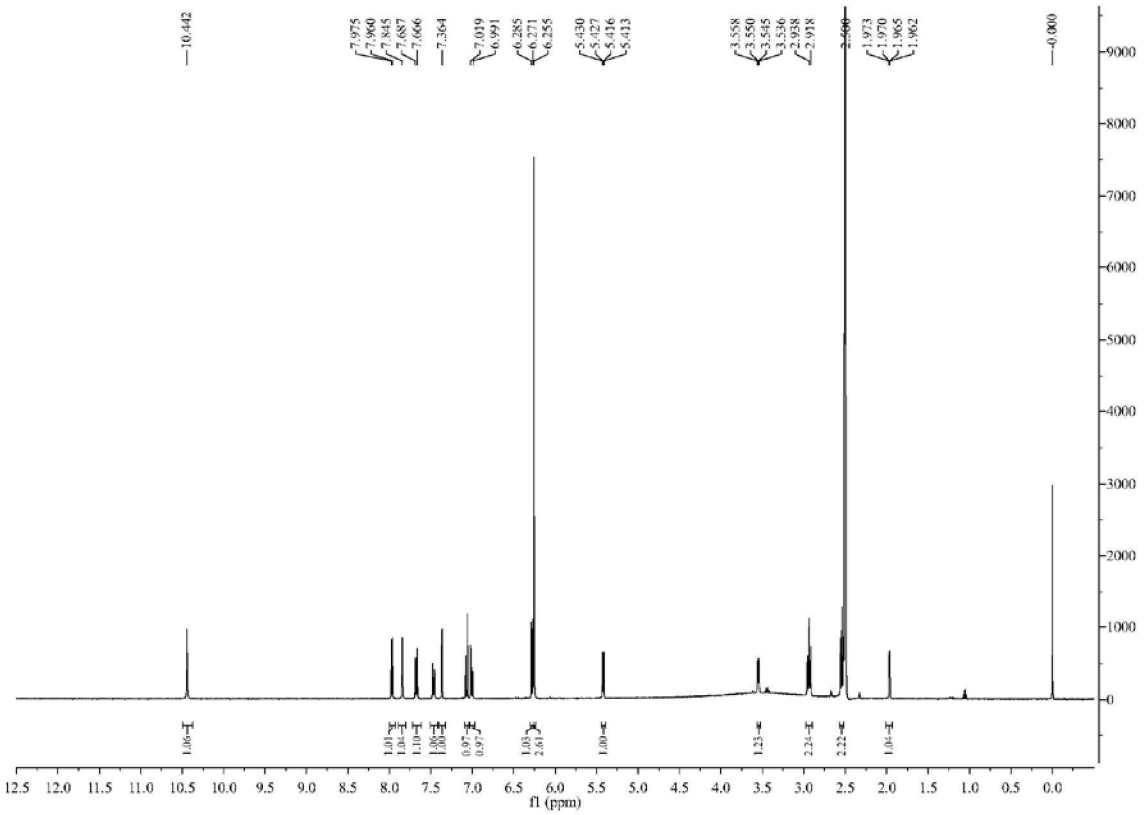

10.442
7.975
7.960
7.845
7.687
7.666
7.364
7.019
6.991
6.285
6.271
6.255
5.430
5.427
5.416
5.413
3.558
3.550
3.545
3.536
2.938
2.918
2.500
1.973
1.970
1.965
1.962
0.000
1.06
1.01
1.04
1.10
1.05
1.00
0.97
0.97
1.03
2.61
1.00
1.23
2.24
2.22
1.04
f1 (ppm)

圖 36

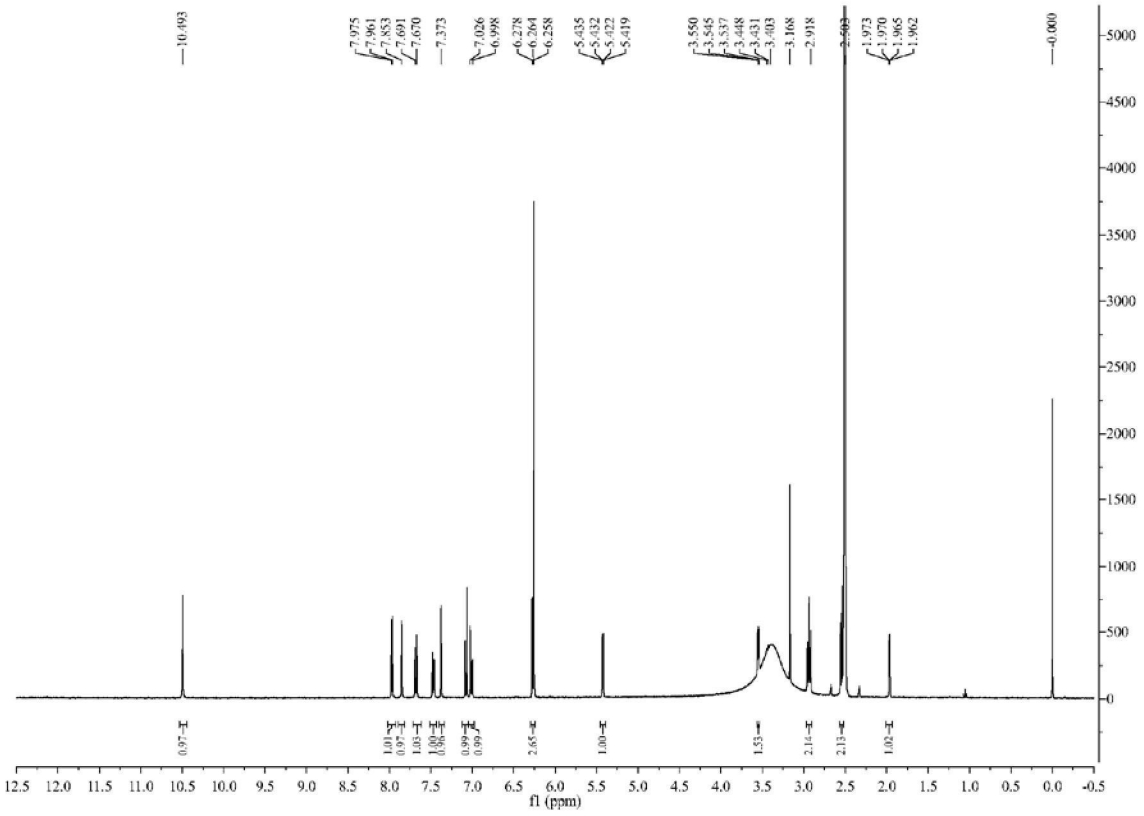

10.493
7.975
7.961
7.853
7.691
7.670
7.373
7.026
6.998
6.278
6.264
6.258
5.435
5.432
5.422
5.419
3.550
3.545
3.537
3.448
3.431
3.403
3.168
2.918
2.503
1.973
1.970
1.965
1.962
0.000
0.97
1.01
0.97
1.03
1.00
0.99
0.99
2.65
1.00
1.53
2.14
2.13
1.02
f1 (ppm)

圖 37

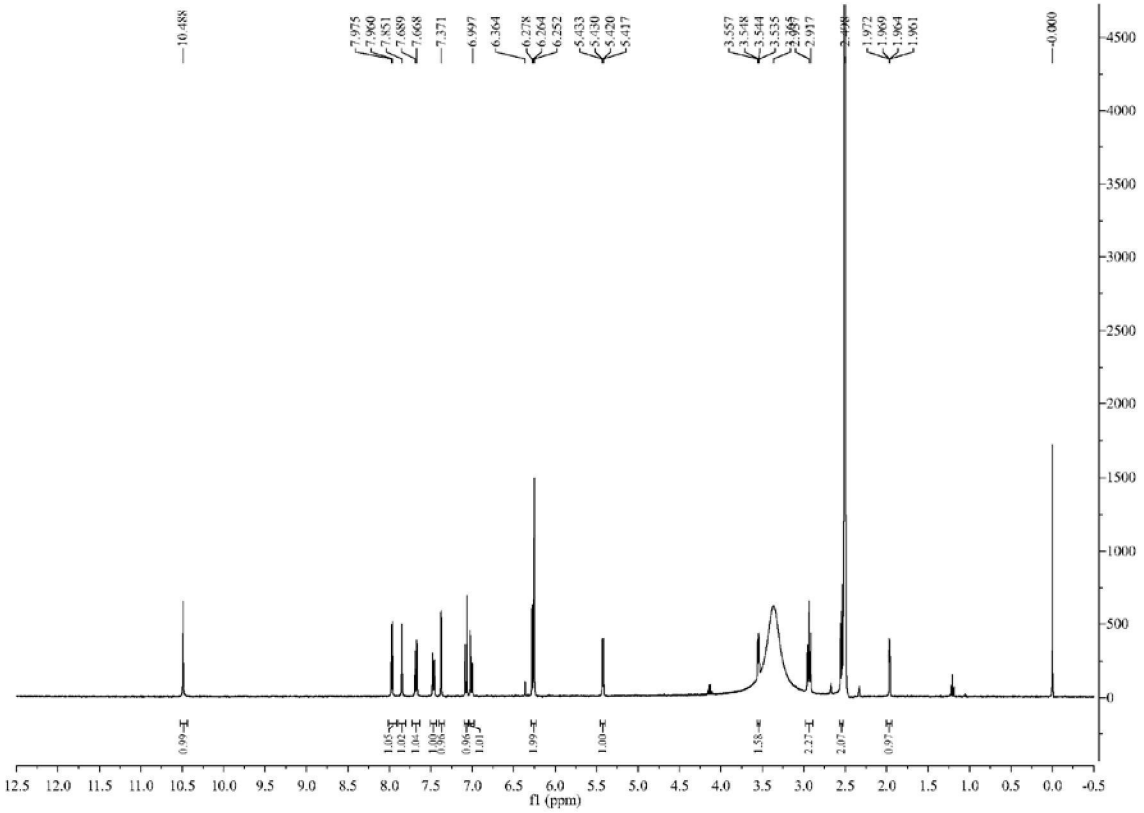

10.488
7.975
7.960
7.851
7.689
7.668
7.371
6.997
6.364
6.278
6.264
6.252
5.433
5.430
5.420
5.417
3.557
3.548
3.544
3.535
2.937
2.917
1.972
1.969
1.964
1.961
0.000
0.99
1.05
1.02
1.04
1.00
0.96
1.01
1.99
1.00
1.58
2.27
2.07
0.97
f1 (ppm)

圖 38

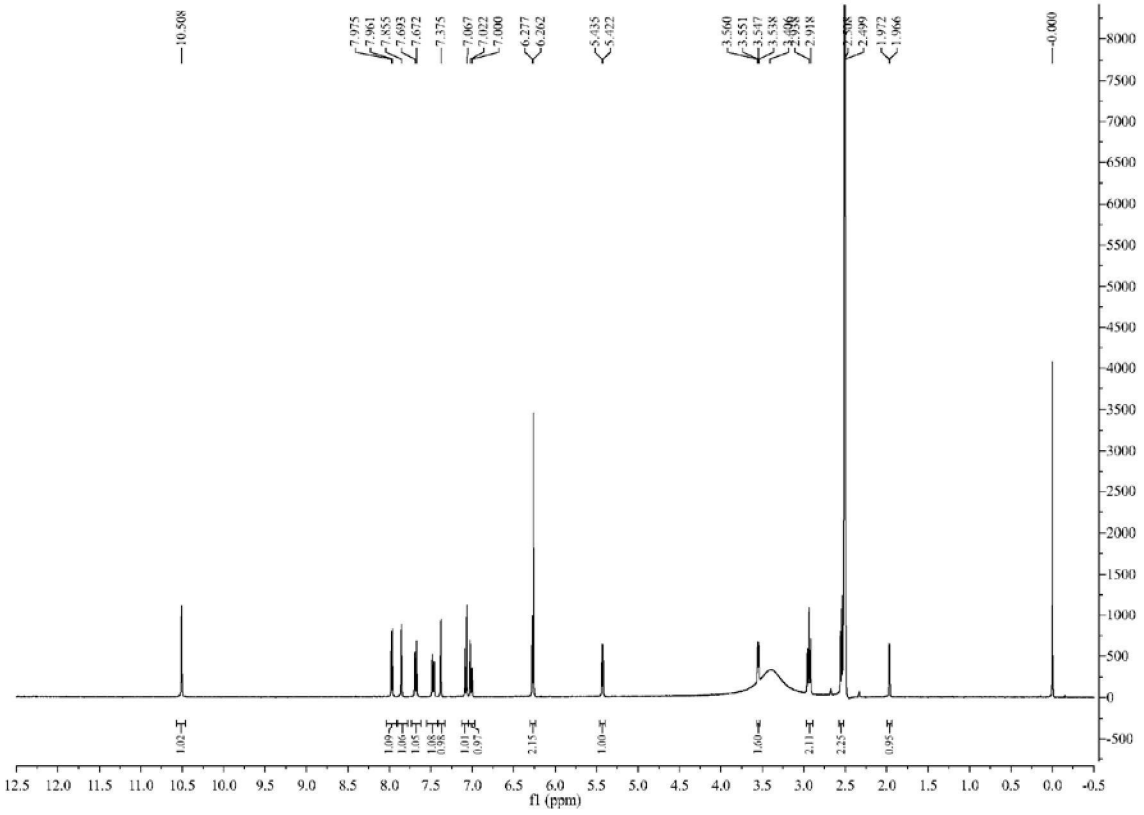

10.508
7.975
7.961
7.855
7.693
7.672
7.375
7.067
7.022
7.000
6.277
6.262
5.435
5.422
3.560
3.551
3.547
3.538
2.938
2.918
2.499
1.972
1.966
0.000
1.02
1.09
1.06
1.05
1.08
0.98
1.01
0.97
2.15
1.00
1.60
2.11
2.25
0.95
f1 (ppm)

圖 39

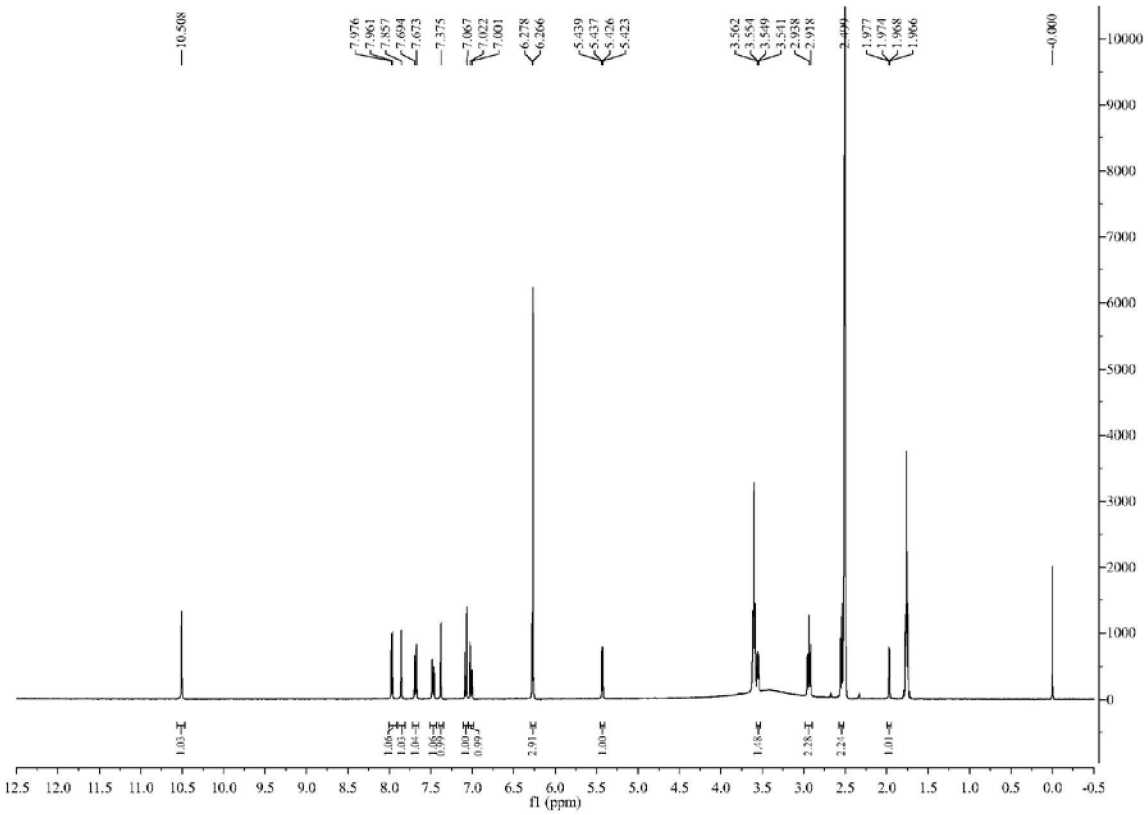

10.508
7.976
7.961
7.857
7.694
7.673
7.375
7.067
7.022
7.001
6.278
6.266
5.439
5.437
5.426
5.423
3.562
3.554
3.549
3.541
2.938
2.918
2.490
1.977
1.974
1.968
1.966
0.000
1.03
1.06
1.03
1.04
0.88
0.89
1.00
0.99
2.91
1.00
1.68
2.28
2.24
1.01
f1 (ppm)

圖 40

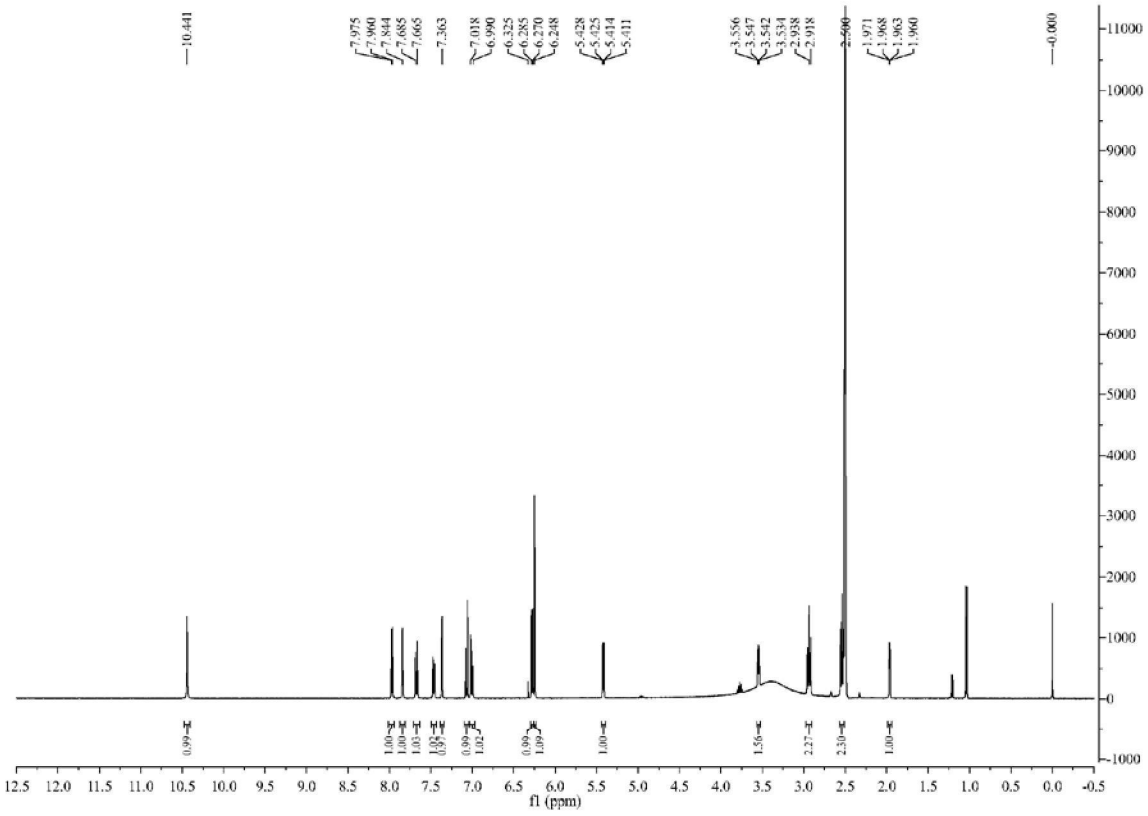

10.441
7.975
7.960
7.844
7.685
7.665
7.363
7.038
6.990
6.325
6.285
6.270
6.248
5.428
5.425
5.414
5.411
3.556
3.547
3.542
3.534
2.938
2.918
2.500
1.971
1.968
1.963
1.960
0.000
0.99
1.00
1.00
1.03
0.97
0.99
1.02
0.99
1.09
1.00
1.56
2.27
2.50
1.00
f1 (ppm)

圖 41

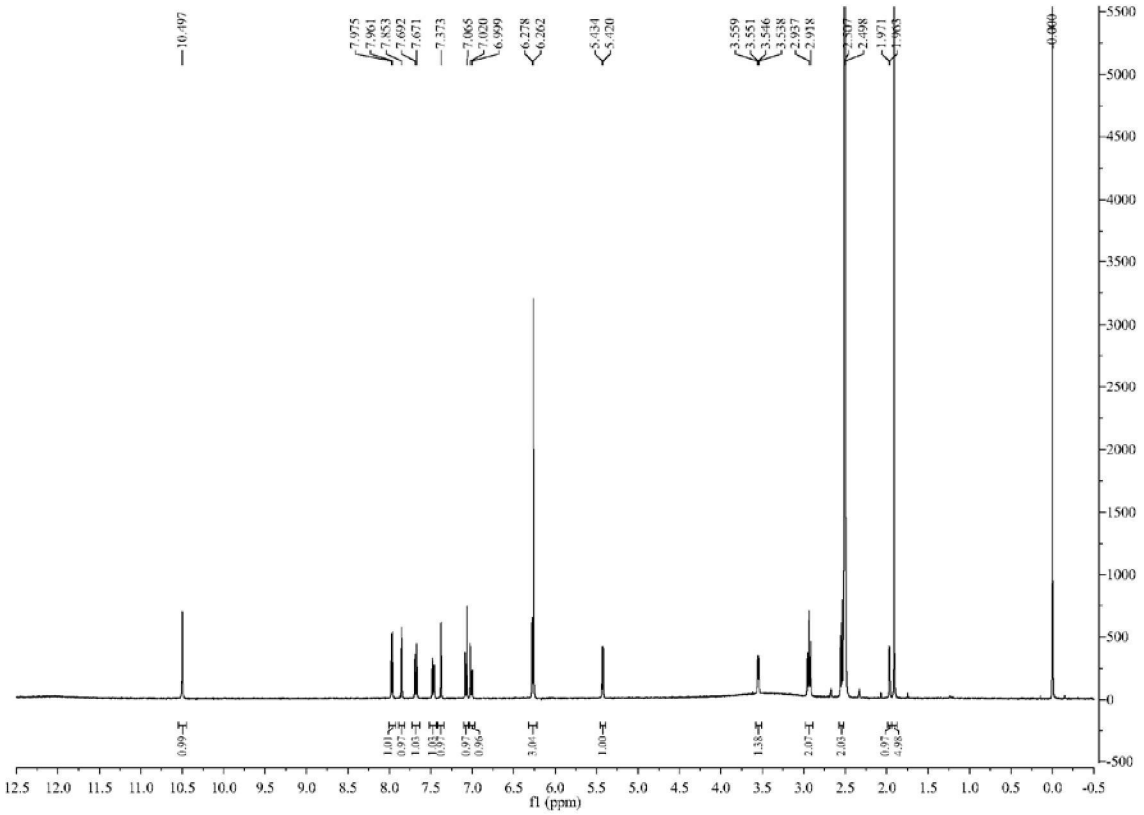

10.497
7.975
7.961
7.853
7.692
7.671
7.373
7.065
7.020
6.999
6.278
6.262
5.434
5.420
3.559
3.551
3.546
3.538
2.937
2.918
2.507
2.498
1.971
1.963
0.000
f1 (ppm)

圖 42

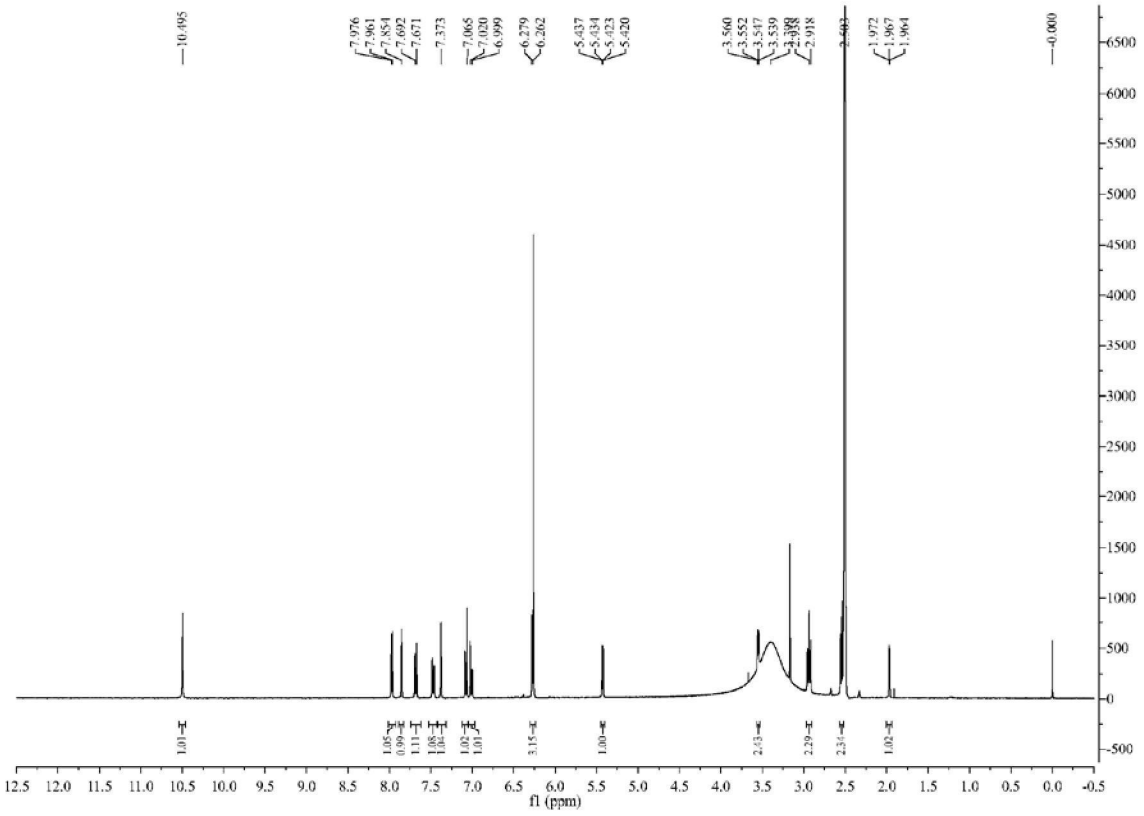

10.495
7.976
7.961
7.854
7.692
7.671
7.373
7.065
7.020
6.999
6.279
6.262
5.437
5.434
5.423
5.420
3.560
3.552
3.547
3.539
2.938
2.918
2.503
1.972
1.967
1.964
0.000
f1 (ppm)

圖 43

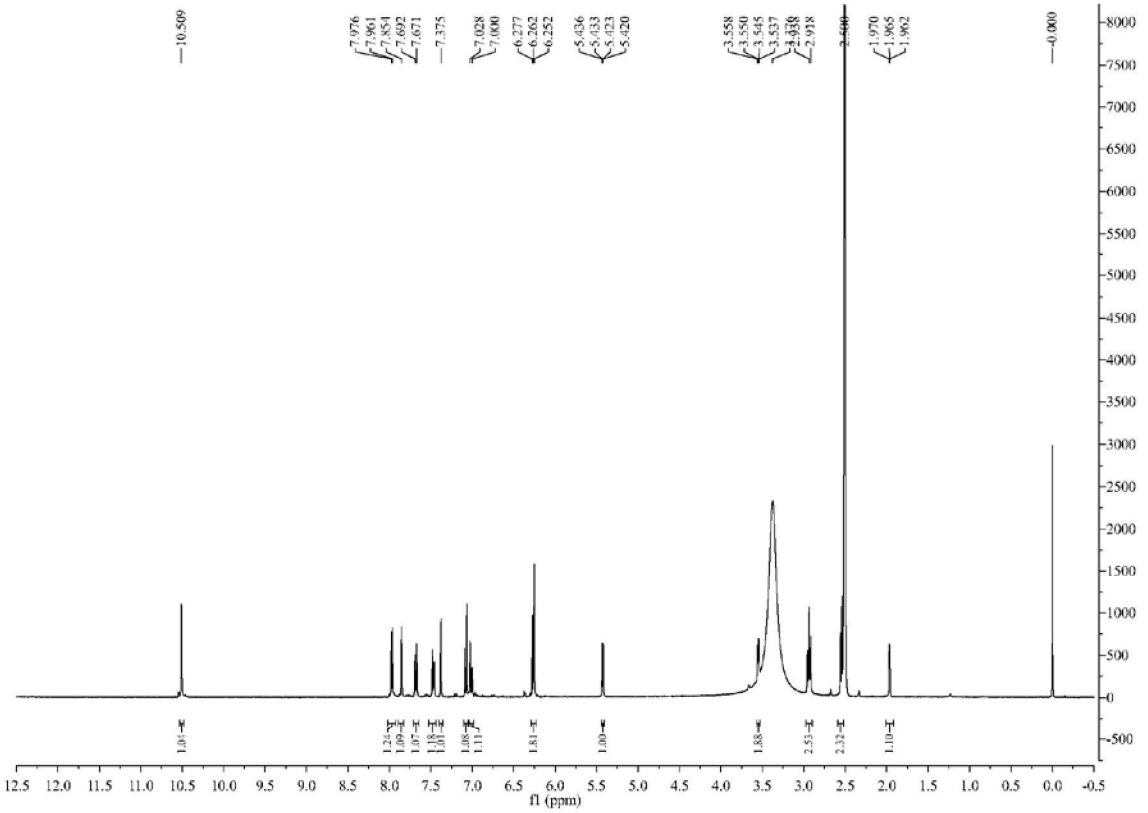

10.509
7.976
7.961
7.854
7.692
7.671
7.375
7.028
7.000
6.277
6.262
6.252
5.436
5.433
5.423
5.420
3.558
3.550
3.545
3.537
2.938
2.918
2.500
1.970
1.965
1.962
0.000
f1 (ppm)

圖 44

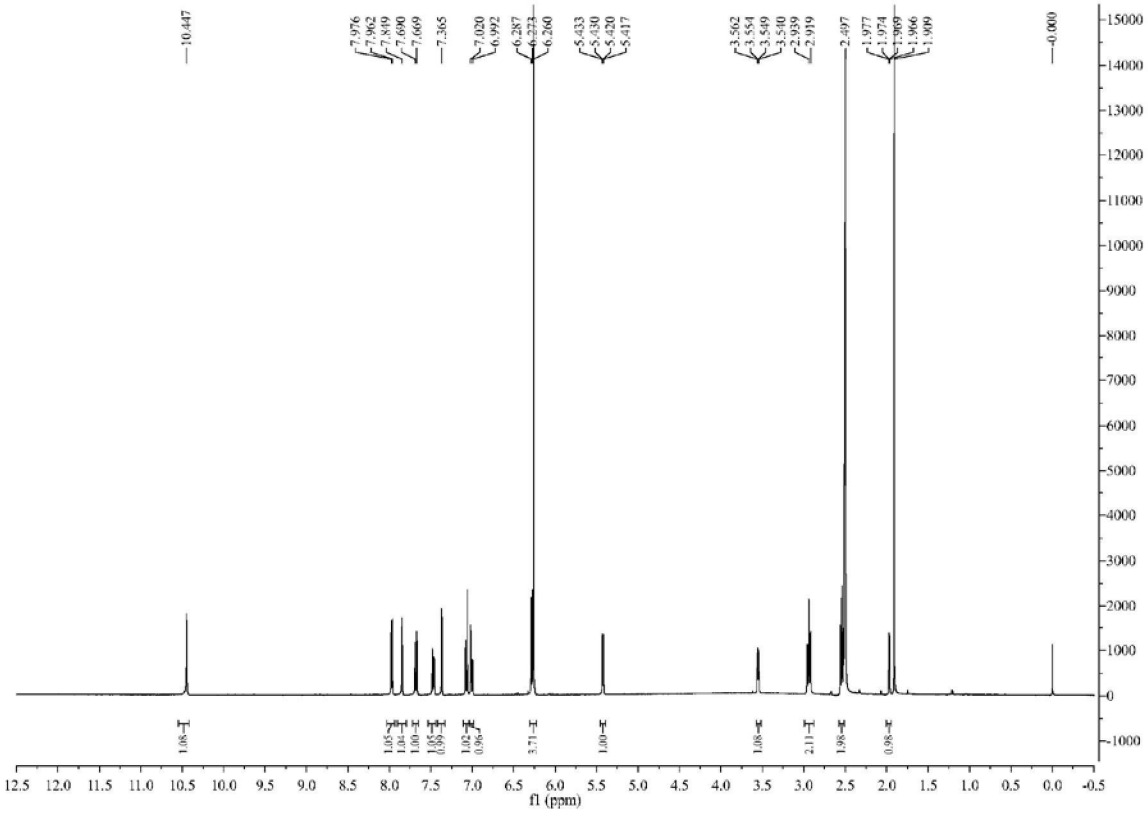

10.447
7.976
7.962
7.849
7.690
7.669
7.365
7.020
6.992
6.287
6.273
6.260
5.433
5.430
5.420
5.417
3.562
3.554
3.549
3.540
2.939
2.919
2.497
1.977
1.974
1.969
1.966
1.909
0.000
f1 (ppm)

圖 45