



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201726701 A

(43)公開日：中華民國 106 (2017) 年 08 月 01 日

(21)申請案號：106112410

(22)申請日：中華民國 102 (2013) 年 04 月 24 日

(51)Int. Cl. : *C07J63/00 (2006.01)* *A61K31/56 (2006.01)*
A61P1/00 (2006.01) *A61P11/00 (2006.01)*
A61P17/00 (2006.01) *A61P27/02 (2006.01)*
A61P35/00 (2006.01) *A61P37/00 (2006.01)*

(30)優先權：2012/04/27 美國 61/687,669
 2013/03/08 美國 61/775,288
 2013/03/13 美國 61/780,444

(71)申請人：瑞塔醫藥有限責任公司 (美國) REATA PHARMACEUTICALS, INC. (US)
 美國

(72)發明人：安德森 艾瑞克 ANDERSON, ERIC (US)；劉曉峰 LIU, XIAOFENG (CN)；戴克
 安德利亞 DECKER, ANDREA (DE)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：33 項 圖式數：132 共 303 頁

(54)名稱

齊墩果酸 (BARDOXOLONE METHYL) 之 2, 2-二氟基丙醯胺衍生物、多晶型及其使用方法

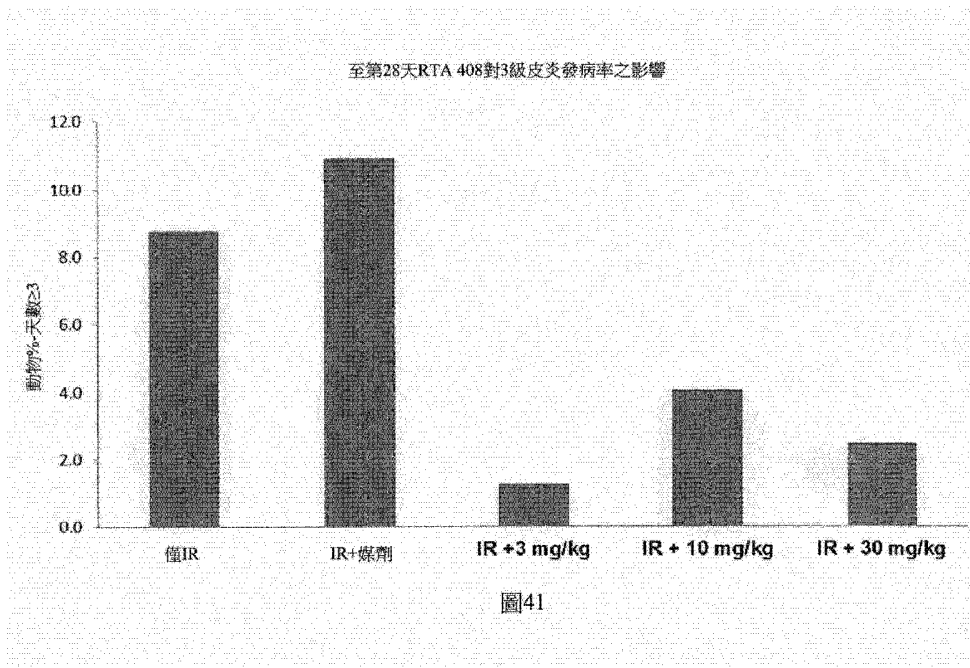
2,2-DIFLUOROPROPIONAMIDE DERIVATIVES OF BARDOXOLONE METHYL, POLYMORPHIC FORMS AND METHODS OF USE THEREOF

(57)摘要

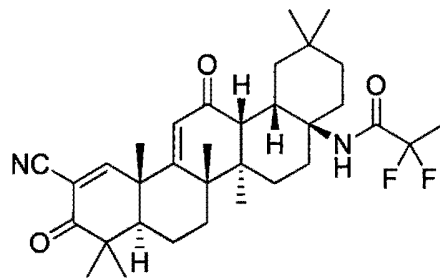
本發明大體上係關於化合物：N-((4aS,6aR,6bS,8aR,12aS,14aR,14bS)-11-氰基-2,2,6a,6b,9,9,12a-七甲基-10,14-二側氧基-1,2,3,4,4a,5,6,6a,6b,7,8,8a,9,10,12a,14,14a,14b-十八氫萘-4a-基)-2,2-二氟丙醯胺、其多晶型、其製備及使用方法、其醫藥組合物以及其套組及製品。

The present invention relates generally to the compound: N-((4aS,6aR,6bS,8aR,12aS,14aR,14bS)-11-cyano-2,2,6a,6b,9,9,12a-heptamethyl-10,14-dioxo-1,2,3,4,4a,5,6,6a,6b,7,8,8a,9,10,12a,14,14a,14b-octadecahydropicen-4a-yl)-2,2-difluoropropanamide, polymorphic forms thereof, methods for preparation and use thereof, pharmaceutical compositions thereof, and kits and articles of manufacture thereof.

指定代表圖：



特徵化學式：



發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】

齊墩果酸(BARDOXOLONE METHYL)之2,2-二氟基丙醯胺衍生物、多晶型及其使用方法

2,2-DIFLUOROPROPIONAMIDE DERIVATIVES OF
BARDOXOLONE METHYL, POLYMORPHIC FORMS AND
METHODS OF USE THEREOF

【技術領域】

本發明大體上係關於化合物：

N-((4a*S*,6a*R*,6b*S*,8a*R*,12a*S*,14a*R*,14b*S*)-11- 氰基 -2,2,6a,6b,9,9,12a-七 甲 基 -10,14- 二 側 氧 基 -1,2,3,4,4a,5,6,6a,6b,7,8,8a,9,10,12a,14,14a,14b-十八氫芒-4a-基)-2,2-二氟丙醯胺，

本文中亦稱為RTA 408、63415或PP415。本發明亦關於其多晶型、其製備及使用方法、其醫藥組合物以及其套組及製品。

【先前技術】

天然存在之三萜類齊墩果酸(oleanolic acid)之消炎及抗增生活性已藉由化學改質而獲提高。舉例而言，已研發2-氰基-3,12-二氧齊墩果-1,9(11)-二烯-28-酸(CDDO)及相關化合物。參見Honda等人，1997；Honda等人，1998；Honda等人，1999；Honda等人，2000a；Honda等人，2000b；Honda等人，2002；Suh等人，1998；Suh等人，1999；Place等人，2003；Liby等人，2005；及美國專利8,129,429、7,915,402、8,124,799及7,943,778，其均以引用的方式併入本文中。已在II期及III期臨床試驗中評估甲酯(齊墩果酸(bardoxolone methyl/CDDO-Me))治

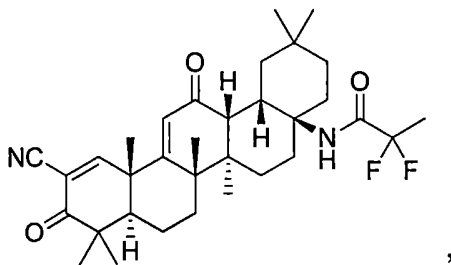
療及預防糖尿病性腎病變及慢性腎病的作用。參見Pergola等人, 2011, 其以引用的方式併入本文中。

亦已展示齊墩果酸之合成三萜類類似物為細胞發炎過程(諸如由小鼠巨噬細胞中可誘導之氧化氮合成酶(iNOS)及COX-2之IFN- γ 誘導)之抑制劑。參見Honda等人, (2000a); Honda等人, (2000b); Honda等人, (2002); 以及美國專利 8,129,429、7,915,402、8,124,799 及 7,943,778, 其均以引用的方式併入本文中。已證實來源於齊墩果酸之化合物可影響多種蛋白質目標之功能且藉此調節與氧化應激壓力、細胞週期控制及炎症有關的若干重要細胞信號傳導路徑之活性(例如 Dinkova-Kostova等人, 2005; Ahmad等人, 2006; Ahmad等人, 2008; Liby等人, 2007a; 以及美國專利 8,129,429、7,915,402、8,124,799 及 7,943,778)。

鑒於已知三萜類衍生物之生物活性型態不同, 及鑒於可使用具有有效抗氧化及消炎作用之化合物治療或預防的疾病品種繁多, 以及尚未滿足的由該類疾病所代表之高度醫學需要, 需要合成對於治療或預防一或多種適應症而言具有不同生物活性型態之新穎化合物。

【發明內容】

在本發明之一些態樣中, 提供具有下式之化合物(本文中亦稱為 RTA 408、63415或pp415):



或其醫藥學上可接受之鹽。

在一些實施例中, 化合物係呈醫藥學上可接受之鹽形式。在一些實施例中, 化合物不呈鹽形式。

在本發明之另一態樣中，提供上述化合物之多晶型。在一些實施例中，多晶型之X射線粉末繞射圖形($\text{CuK}\alpha$)包含約 $14^\circ 2\theta$ 處之鹵基峰。在一些實施例中，X射線粉末繞射圖形($\text{CuK}\alpha$)進一步包含約 $8^\circ 2\theta$ 處之肩峰。在一些實施例中，X射線粉末繞射圖形($\text{CuK}\alpha$)係實質上如圖59中所示。在一些實施例中，多晶型之 T_g 為約 150°C 至約 155°C ，包括例如約 153°C 之 T_g 或約 150°C 之 T_g 。在一些實施例中，多晶型之差示掃描熱量測定(DSC)曲線包含以約 150°C 至約 155°C 為中心的吸熱峰。在一些實施例中，吸熱峰以約 153°C 為中心。在一些實施例中，吸熱峰以約 150°C 為中心。在一些實施例中，差示掃描熱量測定(DSC)曲線係實質上如圖62中所示。

在一些實施例中，多晶型為溶劑合物，其X射線粉末繞射圖形($\text{CuK}\alpha$)包含約 5.6 、 7.0 、 10.6 、 12.7 及 $14.6^\circ 2\theta$ 處之峰。在一些實施例中，X射線粉末繞射圖形($\text{CuK}\alpha$)係實質上如圖75中之頂部圖形所示。

在一些實施例中，多晶型為溶劑合物，其X射線粉末繞射圖形($\text{CuK}\alpha$)包含約 7.0 、 7.8 、 8.6 、 11.9 、 13.9 (雙峰)、 14.2 及 $16.0^\circ 2\theta$ 處之峰。在一些實施例中，X射線繞射圖形($\text{CuK}\alpha$)係實質上如圖75中自頂部開始第二幅圖形所示。

在一些實施例中，多晶型為乙腈半溶劑合物，其X射線粉末繞射圖形($\text{CuK}\alpha$)包含約 7.5 、 11.4 、 15.6 及 $16.6^\circ 2\theta$ 處之峰。在一些實施例中，X射線繞射圖形($\text{CuK}\alpha$)係實質上如圖75中自底部開始第二幅圖形所示。在一些實施例中，多晶型之 T_g 為約 196°C 。在一些實施例中，多晶型之差示掃描熱量測定(DSC)曲線包含以約 196°C 為中心的吸熱峰。在一些實施例中，差示掃描熱量測定(DSC)曲線係實質上如圖116中所示。

在一些實施例中，多晶型為溶劑合物，其X射線粉末繞射圖形($\text{CuK}\alpha$)包含約 6.8 、 9.3 、 9.5 、 10.5 、 13.6 及 $15.6^\circ 2\theta$ 處之峰。在一些實

施例中，X射線繞射圖形(CuK α)係實質上如圖75中之底部圖形所示。

在本發明之另一態樣中，提供醫藥組合物，其包含由上述化合物或其多晶型(諸如上文及下文中描述之多晶型中之任一者)組成之活性成分及醫藥學上可接受之載劑。在一些實施例中，醫藥組合物經調配以藉由以下方式投與：經口、脂肪內、動脈內、關節內、顱內、皮內、病灶內、肌肉內、鼻內、眼內、心包內、腹膜內、胸膜內、前列腺內、直腸內、鞘內、氣管內、瘤內、臍帶內、陰道內、靜脈內、腦室內、玻璃體內、經脂質體、經局部(locally)、經黏膜、非經腸、經直腸、結膜下、皮下、舌下、經表面(topically)、經頰、經皮、經陰道、脂內、以脂質組合物形式、經由導管、經由灌洗、經由連續輸注、經由輸注、經由吸入、經由注射、經由局部傳遞或經由局部灌注。在一些實施例中，醫藥組合物經調配以用於經口、動脈內、靜脈內或表面投藥。在一些實施例中，醫藥組合物經調配以用於經口投藥。

在一些實施例中，醫藥組合物經調配為硬膠囊或軟膠囊、錠劑、糖漿、懸浮液、乳液、溶液、固態分散體、粉片或酏劑形式。在一些實施例中，本發明之醫藥組合物進一步包含增強溶解性及分散性之試劑。舉例而言，增強溶解性及分散性之試劑包括(但不限於)PEG、環聚葡萄糖及纖維素衍生物。在一些實施例中，化合物或多晶型懸浮於芝麻油中。

在其他實施例中，醫藥組合物經調配以用於表面投藥。在其他實施例中，醫藥組合物經調配為洗劑、乳膏劑、凝膠、油劑、軟膏劑、油膏劑、乳液、溶液或懸浮液形式。在一些實施例中，醫藥組合物經調配為洗劑、乳膏劑或凝膠形式。在一些實施例中，活性成分量為約0.01重量%至約5重量%、約0.01重量%至約3重量%、或0.01重量%、0.1重量%、1重量%或3重量%。

在本發明之另一態樣中，提供治療或預防有需要之患者中與炎症或氧化應激壓力有關之病狀的方法，其包含投與患者治療有效量之如上文或下文所描述之醫藥組合物。本發明亦關於化合物 *N*-((4*aS*,6*aR*,6*bS*,8*aR*,12*aS*,14*aR*,14*bS*)-11-氰基-2,2,6*a*,6*b*,9,9,12*a*-七甲基-10,14-二側氧基-1,2,3,4,4*a*,5,6,6*a*,6*b*,7,8,8*a*,9,10,12*a*,14,14*a*,14*b*-十八氫萘-4*a*-基)-2,2-二氟丙醯胺(或RTA 408)或其醫藥學上可接受之鹽，或該化合物之多晶型(諸如上文或下文中所描述之多晶型中之任一者)，或包含上述實體中之任一者及醫藥學上可接受之載劑的醫藥組合物(包括例如上述醫藥組合物)，其係用於治療或預防與炎症或氧化應激壓力有關之病狀。本發明亦關於上述化合物、多晶型或醫藥組合物之用途，其係用於製備用以治療或預防與炎症或氧化應激壓力有關之病狀的藥劑。在一些實施例中，病狀與炎症有關。在其他實施例中，病狀與氧化應激壓力有關。在一些實施例中，病狀為皮膚疾病或病症、敗血症、皮炎、骨關節炎、癌症、炎症、自體免疫疾病、炎症性腸病、由局部或全身曝露於離子化放射線引起之併發症、黏膜炎、急性或慢性器官衰竭、肝病、胰臟炎、眼睛疾病、肺病或糖尿病。

此外，本發明係關於化合物 *N*-((4*aS*,6*aR*,6*bS*,8*aR*,12*aS*,14*aR*,14*bS*)-11-氰基-2,2,6*a*,6*b*,9,9,12*a*-七甲基-10,14-二側氧基-1,2,3,4,4*a*,5,6,6*a*,6*b*,7,8,8*a*,9,10,12*a*,14,14*a*,14*b*-十八氫萘-4*a*-基)-2,2-二氟丙醯胺(或RTA 408)或其醫藥學上可接受之鹽，或該化合物之多晶型(諸如上文或下文中所描述之多晶型中之任一者)，或包含上述實體中之任一者及醫藥學上可接受之載劑的醫藥組合物(包括例如上述醫藥組合物)，其係用於治療或預防選自以下之病狀：皮膚疾病或病症、敗血症、皮炎、骨關節炎、癌症、炎症、自體免疫疾病、炎症性腸病、由局部或全身曝露於離子化放射線引起之併發症、黏膜炎、急性或慢性器官衰竭、肝病、胰臟炎、眼睛疾病、肺病

或糖尿病。因此，本發明係關於上述化合物、多晶型或醫藥組合物之用途，其係用於製備用以治療或預防選自以下之病狀的藥劑：皮膚疾病或病症、敗血症、皮炎、骨關節炎、癌症、炎症、自體免疫疾病、炎症性腸病、由局部或全身曝露於離子化放射線引起之併發症、黏膜炎、急性或慢性器官衰竭、肝病、胰臟炎、眼睛疾病、肺病或糖尿病。本發明亦關於一種治療或預防有需要之患者中選自以下之病狀的方法：皮膚疾病或病症、敗血症、皮炎、骨關節炎、癌症、炎症、自體免疫疾病、炎症性腸病、由局部或全身曝露於離子化放射線引起之併發症、黏膜炎、急性或慢性器官衰竭、肝病、胰臟炎、眼睛疾病、肺病或糖尿病，該方法包含投與患者治療有效量之上述化合物、多晶型或醫藥組合物。在一些實施例中，病狀為皮膚疾病或病症，諸如皮炎、熱或化學灼傷、慢性傷口(chronic wound)、粉刺、脫髮、其他毛囊病症、大皰性表皮鬆解、曬傷、曬傷併發症、皮膚色素沉著病症、老化相關皮膚病狀；手術後傷口、由皮膚損傷或灼傷產生之疤痕、牛皮癬、自體免疫疾病或移植物抗宿主疾病之皮膚癢狀、皮膚癌、或涉及皮膚細胞過度增殖之病症。在一些實施例中，皮膚疾病或病症為皮炎。在一些實施例中，皮炎為過敏性皮炎、異位性皮炎、由化學暴露引起之皮炎或放射線誘發之皮炎。在其他實施例中，皮膚疾病或病症為慢性傷口。在一些實施例中，慢性傷口為糖尿病性潰瘍、褥瘡或靜脈性潰瘍。在其他實施例中，皮膚疾病或病症為脫髮。在一些實施例中，脫髮係選自禿髮或藥物誘發之脫髮。在其他實施例中，皮膚疾病或病症為皮膚色素沉著病症。在一些實施例中，皮膚色素沉著病症為白斑病。在其他實施例中，皮膚疾病或病症為涉及皮膚細胞過度增殖之病症。在一些實施例中，涉及皮膚細胞過度增殖之病症為表皮角化病。

在其他實施例中，病狀為自體免疫疾病，諸如類風濕性關節

炎、狼瘡、克羅恩氏病(Crohn's disease)或牛皮癬。在其他實施例中，病狀為肝病，諸如脂肪肝病或肝炎。

在其他實施例中，病狀為眼睛疾病，諸如葡萄膜炎、黃斑變性、青光眼、糖尿病性黃斑水腫、瞼炎、糖尿病性視網膜病變、角膜內皮疾病或病症、手術後炎症、乾眼症、過敏性結膜炎或一種結膜炎形式。在一些實施例中，眼睛疾病為黃斑變性。在一些實施例中，黃斑變性為乾性形式。在其他實施例中，黃斑變性為濕性形式。在一些實施例中，角膜內皮疾病或病症為富克斯內皮角膜營養失調症(Fuchs endothelial corneal dystrophy)。

在其他實施例中，病狀為肺病，諸如肺部炎症、肺纖維化、COPD、哮喘、囊腫性纖維化或特發性肺纖維化。在一些實施例中，COPD係由香菸煙霧誘發。

在其他實施例中，病狀為敗血症。在其他實施例中，病狀為由放射線療法或化學療法引起之黏膜炎。在一些實施例中，黏膜炎經口呈現。在其他實施例中，病狀與曝露於放射線有關。在一些實施例中，放射線曝露引起皮炎。在一些實施例中，放射線曝露為急性曝露。在其他實施例中，放射線曝露為分次曝露。

在其他實施例中，病狀為癌症。在一些實施例中，癌症為癌瘤、肉瘤、淋巴瘤、白血病、黑素瘤、中皮瘤、多發性骨髓瘤或精原細胞瘤。在其他實施例中，癌症為膀胱癌、血癌、骨癌、腦癌、乳癌、中樞神經系統癌、子宮頸癌、結腸癌、子宮內膜癌、食道癌、膽囊癌、生殖器癌、泌尿生殖道癌、頭癌、腎癌、喉癌、肝癌、肺癌、肌肉組織癌、頸癌、口腔或鼻黏膜癌、卵巢癌、胰臟癌、前列腺癌、皮膚癌、脾癌、小腸癌、大腸癌、胃癌、睪丸癌或甲狀腺癌。

在一些實施例中，在用放射線療法或化學療法治療個體之前或是在用放射線療法或化學療法治療個體之後立即投與醫藥組合物，其中

化學療法不包含RTA 408或其多晶型。在一些實施例中，在用放射線療法、化學療法或其兩者治療個體之前及之後投與醫藥組合物。在一些實施例中，治療放射線療法或化學療法之副作用。在一些實施例中，副作用為黏膜炎及皮炎。在一些實施例中，治療可增強放射線療法或化學療法之功效。在一些實施例中，化學療法包含投與患者治療有效量之5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil)或多西他賽(docetaxel)。

本發明亦涵蓋其他組合療法。舉例而言，在一些實施例中，治療個體中之癌症之方法包含投與個體醫藥學上有效量之本發明化合物，該等方法可進一步包含一或多種選自由以下組成之群的治療：投與醫藥學上有效量之第二藥物、放射線療法、免疫療法、基因療法及手術。在一些實施例中，該等方法可進一步包含：(1)使腫瘤細胞與該化合物接觸，接著使腫瘤細胞與第二藥物接觸；(2)使腫瘤細胞與第二藥物接觸，接著使腫瘤細胞與該化合物接觸；或(3)使腫瘤細胞與該化合物及第二藥物同時接觸。在某些實施例中，第二藥物可為抗生素、消炎藥、抗贅生劑、抗增生劑、抗病毒劑、免疫調節劑或免疫抑制劑。在其他實施例中，第二藥物可為烷化劑、雄激素受體調節劑、細胞骨架瓦解劑、雌激素受體調節劑、組蛋白-脫乙酰基酶抑制劑、HMG-CoA還原酶抑制劑、異戊二烯基-蛋白質轉移酶抑制劑、類視色素受體調節劑、拓撲異構酶抑制劑或酪胺酸激酶抑制劑。在某些實施例中，第二藥物為5-阿紮胞苷(5-azacitidine)、5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil)、9-順式視黃酸(9-cis-retinoic acid)、放線菌素D(actinomycin D)、亞利崔托寧(alitretinoin)、全反式視黃酸(all-trans-retinoic acid)、脂質體蒽環黴素(annamycin)、阿西替尼(axitinib)、貝林斯特(belinostat)、貝伐單抗(bevacizumab)、貝瑟羅汀(bexarotene)、伯舒替尼(bosutinib)、白消安(busulfan)、卡西他濱(capecitabine)、卡鉑(carboplatin)、卡莫司汀(carmustine)、CD437、塞地蘭尼

(cediranib)、西妥昔單抗(cetuximab)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、順鉑(cisplatin)、環磷醯胺(cyclophosphamide)、阿糖胞苷(cytarabine)、達卡巴嗪(dacarbazine)、達沙替尼(dasatinib)、道諾黴素(daunorubicin)、地西他濱(decitabine)、多烯紫杉醇(docetaxel)、海兔毒素-10 (dolastatin-10)、去氧氟尿苷(doxifluridine)、小紅莓(doxorubicin)、表柔比星(epirubicin)、埃羅替尼(erlotinib)、依託泊苷(etoposide)、吉非替尼(gefitinib)、吉西他濱(gemcitabine)、吉妥珠單抗奧唑米星(gemtuzumab ozogamicin)、六甲三聚氰胺(hexamethylmelamine)、黃膽素(idarubicin)、異環磷醯胺(ifosfamide)、伊馬替尼(imatinib)、伊立替康(irinotecan)、異維甲酸(isotretinoin)、伊沙匹隆(ixabepilone)、拉帕替尼(lapatinib)、LBH589、洛莫司汀(lomustine)、氮芥(mechlorethamine)、美法侖(melphalan)、巯基嘌呤(mercaptopurine)、甲胺喋呤(methotrexate)、絲裂黴素(mitomycin)、米托蒽醌(mitoxantrone)、MS-275、奈拉替尼(neratinib)、尼羅替尼(nilotinib)、亞硝基脲(nitrosourea)、奧賽力鉑(oxaliplatin)、太平洋紫杉醇(paclitaxel)、普卡黴素(plicamycin)、丙卡巴肼(procarbazine)、司馬沙尼(semaxanib)、司莫司汀(semustine)、丁酸鈉、苯基乙酸鈉、鏈脲菌素(streptozotocin)、辛二醯苯胺異羥肟酸(suberoylanilide hydroxamic acid)、舒尼替尼(sunitinib)、他莫昔芬(tamoxifen)、替尼泊甙(teniposide)、塞派替(thiopeta)、硫鳥嘌呤(tioguanine)、拓朴替康(topotecan)、TRAIL、曲妥珠單抗(trastuzumab)、維甲酸(tretinoin)、曲古抑菌素A (trichostatin A)、丙戊酸(valproic acid)、伐柔比星(valrubicin)、凡德他尼(vandetanib)、長春鹼(vinblastine)、長春新鹼(vincristine)、長春地辛(vindesine)或長春瑞濱(vinorelbine)。

亦涵蓋治療或預防個體之具有發炎成分之疾病的方法，該方法

包含投與個體醫藥學上有效量之本發明之化合物。在一些實施例中，疾病可為例如狼瘡或類風濕性關節炎。在其他實施例中，疾病可為炎症性腸病，諸如克羅恩氏病或潰瘍性結腸炎。在其他實施例中，具有發炎成分之疾病可為心血管疾病。在其他實施例中，具有發炎成分之疾病可為糖尿病，諸如1型糖尿病或2型糖尿病。在其他實施例中，RTA 408、其多晶型及醫藥組合物亦可用於治療與糖尿病有關的併發症。該等併發症為熟習此項技術者所熟知且包括(但不限於)例如肥胖症、高血壓、動脈粥樣硬化、冠心病、中風、周邊血管疾病、高血壓、腎病變、神經病變、肌壞死、視網膜病變及代謝症候群(症候群X)。在其他實施例中，具有發炎成分之疾病可為皮膚病，諸如牛皮癬、粉刺或異位性皮炎。該等皮膚病之治療方法中之RTA 408、其多晶型及醫藥組合物之投藥可為(但不限於)例如表面或經口投藥。

在其他實施例中，具有發炎成分之疾病可為代謝症候群(症候群X)。具有此症候群之患者之特徵為具有三種或三種以上選自以下五種症狀之群的症狀：(1)腹部肥胖；(2)高甘油三酯血症；(3)高密度脂蛋白膽固醇(HDL)過低；(4)高血壓；及(5)升高之空腹葡萄糖量，若患者亦患有糖尿病，則升高之空腹葡萄糖量可在2型糖尿病之特徵範圍內。此等症狀中之每一者均定義於以引用的方式併入本文中之Third Report of the National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III, or ATP III), National Institutes of Health, 2001, NIH公開案第01-3670號中。具有代謝症候群之患者無論是否具有或罹患顯性糖尿病，其罹患上文列出之隨2型糖尿病而出現之大血管及微血管併發症(諸如動脈粥樣硬化及冠心病)的風險均增加。

本發明之另一通用方法需要一種治療或預防個體之心血管疾病

之方法，該方法包含投與個體醫藥學上有效量之本發明化合物。在一些實施例中，心血管疾病可為(但不限於)例如動脈粥樣硬化、心肌病變、先天性心臟病、充血性心臟衰竭、心肌炎、風濕性心臟病、瓣膜疾病(valve disease)、冠狀動脈病、心內膜炎或心肌梗塞。治療或預防個體之心血管疾病之方法亦預期組合療法。舉例而言，該等方法可進一步包含投與醫藥學上有效量之一或多種心血管藥物。心血管藥物可為(但不限於)例如降低膽固醇藥、抗高血壓藥、鈣離子通道阻斷劑、抗高血壓藥或HMG-CoA還原酶抑制劑。在一些實施例中，心血管藥物之非限制性實例包括胺氯地平(amlodipine)、阿斯匹林(aspirin)、依澤替米貝(ezetimibe)、非洛地平(felodipine)、拉西地平(lacidipine)、樂卡地平(lercanidipine)、尼卡地平(nicardipine)、硝苯地平(nifedipine)、尼莫地平(nimodipine)、尼索地平(nisoldipine)或尼群地平(nitrendipine)。在其他實施例中，心血管藥物之其他非限制性實例包括阿替洛爾(atenolol)、布新洛爾(bucindolol)、卡維地洛(carvedilol)、可樂寧(clonidine)、多沙唑嗪(doxazosin)、吲哚哌胺(indoramin)、拉貝洛爾(labetalol)、甲基多巴(methyldopa)、美托洛爾(metoprolol)、納多洛爾(nadolol)、氧烯洛爾(oxprenolol)、苯氧苯甲胺(phenoxybenzamine)、酚妥拉明(phentolamine)、品多洛爾(pindolol)、派唑嗪(prazosin)、普萘洛爾(propranolol)、特拉唑嗪(terazosin)、地莫洛爾(timolol)或妥拉蘇林(tolazoline)。在其他實施例中，心血管藥物可為例如士他汀(statin)，諸如阿托伐他汀(atorvastatin)、西立伐他汀(cerivastatin)、氟伐他汀(fluvastatin)、洛伐他汀(lovastatin)、美伐他汀(mevastatin)、匹伐他汀(pitavastatin)、普伐他汀(pravastatin)、羅素他汀(rosuvastatin)或辛伐他汀(simvastatin)。

亦涵蓋治療或預防個體之神經退化性疾病之方法，其包含投與個體醫藥學上有效量之本發明化合物。在一些實施例中，神經退化性

疾病可選自例如由以下組成之群：帕金森氏病(Parkinson's disease)、阿茲海默氏病(Alzheimer's disease)、多發性硬化(MS)、亨庭頓氏病(Huntington's disease)及肌萎縮性側索硬化。在特定實施例中，神經退化性疾病為阿茲海默氏病。在特定實施例中，神經退化性疾病為MS，諸如原發性進行性、復發緩解型、繼發性進行性或進行性復發型MS。在一些實施例中，個體可為例如靈長類動物。在一些實施例中，個體可為人類。

在包含投與個體醫藥學上有效量之本發明化合物的治療或預防個體之神經退化性疾病之方法的特定實施例中，治療可抑制個體之腦或脊髓中神經元之脫髓鞘。在某些實施例中，治療可抑制發炎性脫髓鞘。在某些實施例中，治療可抑制個體之腦或脊髓中神經元軸突之橫斷。在某些實施例中，治療可抑制個體之腦或脊髓中神經突之橫斷。在某些實施例中，治療可抑制個體之腦或脊髓中神經元之細胞凋亡。在某些實施例中，治療可刺激個體之腦或脊髓中神經元軸突之髓鞘再生。在某些實施例中，治療可恢復在MS發作後喪失之功能。在某些實施例中，治療可預防新的MS發作。在某些實施例中，治療可預防由MS發作引起之失能。

本發明之一個一般態樣涵蓋治療或預防個體之由iNOS基因過度表現表徵之病症的方法，其包含投與個體醫藥學上有效量之本發明之RTA 408、多晶型或醫藥組合物。

本發明之另一個一般態樣涵蓋抑制個體細胞中IFN- γ 誘導之氧化氮產生之方法，其包含投與該個體醫藥學上有效量之本發明之RTA 408、多晶型或醫藥組合物。

本發明之另一通用方法涵蓋治療或預防個體之由COX-2過度表現表徵之病症的方法，其包含投與個體醫藥學上有效量之本發明之RTA 408、多晶型或醫藥組合物。

亦涵蓋治療個體之腎臟/腎病(renal/kidney disease ; RKD)之方法，其包含投與個體醫藥學上有效量之本發明化合物。參見美國專利8,129,429，其以引用的方式併入本文中。RKD可由例如毒性傷害引起。毒性傷害可由(但不限於)例如顯影劑或藥物引起。藥物可為例如化學治療劑。在某些實施例中，RKD可由局部缺血/再灌注損傷引起。在某些實施例中，RKD由糖尿病或高血壓引起。在一些實施例中，RKD可由自體免疫疾病引起。RKD可進一步定義為慢性RKD或急性RKD。

在包含投與個體醫藥學上有效量之本發明化合物的治療個體之腎臟/腎病(RKD)之某些方法中，個體已進行或正進行透析。在某些實施例中，個體已進行腎移植或為進行腎移植之候選者。個體可為靈長類動物。靈長類動物可為人類。此方法或任何其他方法中之個體可為例如牛、馬、犬、貓、豬、小鼠、大鼠或天竺鼠。

本發明亦涵蓋改良個體中之腎小球過濾率或肌酸酐清除率之方法，其包含投與個體醫藥學上有效量之本發明之RTA 408、多晶型或醫藥組合物。

在一些實施例中，以每天單次劑量投與醫藥組合物。在其他實施例中，以每天一次以上劑量投與醫藥組合物。在一些實施例中，以醫藥學上有效量投與醫藥組合物。

在一些實施例中，劑量為約1 mg/kg至約2000 mg/kg。在其他實施例中，劑量為約3 mg/kg至約100 mg/kg。在其他實施例中，劑量為約3、10、30或100 mg/kg。

在其他實施例中，醫藥組合物係經表面投與。在一些實施例中，表面投藥係投與至皮膚。在其他實施例中，表面投藥係投與至眼部。

在其他實施例中，醫藥組合物係經口投與。在其他實施例中，

醫藥組合物係經眼內投與。

本發明之其他目的、特徵及優點將根據以下詳細描述而變得顯而易見。然而，應理解在指示本發明之特定實施例時，詳細描述及特定實例僅作為說明給出，此係因為熟習此項技術者將根據此詳細描述顯而易知在本發明之精神及範疇內的各種改變及修改。注意到僅因為特定化合物歸屬於一個特定通式並不意謂其不可亦屬於另一通式。

【圖式簡單說明】

以下圖式形成本說明書之一部分且經納入以進一步說明本發明之某些態樣。在圖式中可發現一或多個德語詞彙，包括「Masseänderung」及「temperatur」，其分別意謂「質量變化」及「溫度」。藉由參考此等圖式中之一者以及本文呈現之特定實施例的詳細說明，可更好地理解本發明。

圖1 - RAW264.7細胞中RTA 408對IFN γ 誘導之氧化氮產生及細胞活力之影響。

圖2a及圖2b - RTA 408對抗氧化性反應元(ARE)活化之影響：(a) NQO1-ARE螢光素酶活性；(b) GSTA2-ARE螢光素酶活性。

圖3a-f - 在用(a) RTA 402、(b) 63415、(c) 63170、(d) 63171、(e) 63179及(f) 63189進行細胞處理後，相對Nrf2 GST ARE之增加倍數。該等圖形亦展示使用WST1細胞增殖試劑且在1小時後量測吸光度來分析之細胞活力。所有藥物均於DMSO中投與且細胞在384孔培養盤中於DMEM (低葡萄糖+10% FBS+1% 青黴素鏈黴素(Penicillin Streptomycin)+0.8 mg/mL遺傳黴素)中以10,000個細胞/孔生長。

圖4a-d - HFL1肺纖維母細胞中RTA 408對Nrf2目標基因表現之影響。(a) NQO1；(b) HMOX1；(c) GCLM；(d) TXNRD1。

圖5a-d - BEAS-2B支氣管上皮細胞中RTA 408對Nrf2目標基因表現之影響。(a) NQO1；(b) HMOX1；(c) GCLM；(d) TXNRD1。

圖6a及圖6b - RTA 408對Nrf2目標蛋白質含量之影響。(a) SH-SY5Y細胞；(b) BV2細胞。

圖7 - RAW264.7細胞中RTA 408對NQO1酶活性之影響。

圖8 - AML-12肝細胞株中RTA 408對總麩胱甘肽含量之影響。

圖9 - RTA 408對作為NADPH之標記之WST-1吸光度的影響。

圖10a-d - RTA 408對涉及NADPH合成之基因表現之影響。(a) H6PD；(b) PGD；(c) TKT；(d) ME1。

圖11a及圖11b - (a)具有WST1活力及重疊WST1/2活力之小鼠NIH3T3細胞株中RTA 408對TNF α 誘導之NF κ B螢光素酶報導體活化之影響。(b)小鼠NIH3T3細胞株中TNF α 誘導之NF κ B螢光素酶報導體之活化。圖形展示相對變化倍數與RTA 408濃度變化對數之間的函數關係。

圖12 - RTA 408對TNF α 誘導之NF- κ B螢光素酶報導體構築體之活化的影響。

圖13a及圖13b - (a)具有WST1活力及重疊WST1/2活力之人類A549細胞株中RTA 408對TNF α 誘導之NF κ B螢光素酶報導體之活化的影響。(b)人類A549細胞株中TNF α 誘導之NF κ B螢光素酶報導體活化。圖形展示相對變化倍數與RTA 408濃度變化對數之間的函數關係。

圖14 - RTA 408對TNF α 誘導之I κ B α 磷酸化作用之影響。

圖15a-d - RTA 408對轉胺酶基因表現之影響：(a) ALT1(GPT1)；(b) ALT2(GPT2)；(c) AST1(GOT1)；(d) AST1(GOT2)。星號表示與對照組相比具有統計顯著差異(* $P < 0.05$ ；** $P < 0.01$)。

圖16 - 經培養之肌細胞中RTA 408對丙酮酸酯含量之影響(* $P < 0.05$)。

圖17 - 肺部LPS介導之炎症模型中63415之作用(與LPS治療有關

之促炎性細胞激素之變化%)。在雌性BALB/c小鼠中在時間第0、24及48小時每天一次投與化合物63415共3天，接著在最後一次投與63415後1小時投與LPS。在LPS投藥後20小時處死動物。檢驗BALF之促炎性細胞激素表現。63415以劑量依賴性方式降低促炎性細胞激素，其中在TNF- α 、IL-6及IL-12中之峰值降低作用在50%-80%範圍內。

圖18a及圖18b - 小鼠中RTA 408對LPS誘導之肺部炎症之影響。(a)炎性細胞激素；(b) Nrf2目標。在時間第0、24、48、72、96及120小時每天一次向雌性BALB/c小鼠(n=10)投與RTA 408共6天，接著在第121小時投與LPS且在第141小時處死動物。分析BALF中之促炎性細胞激素蛋白質表現。分析肺中之Nrf2生物標記。星號表示與鹽水對照組相比具有統計顯著差異(* $P < 0.05$ ；** $P < 0.01$ ；*** $P < 0.001$)。

圖19a及圖19b - 博萊黴素(bleomycin)誘發之肺部炎症中63415對BALF浸潤物之影響：(a) BAL流體細胞計數；(b)體重。在第-10至28天在C57BL/6小鼠中每天一次投與63415共39天。在第0天提供博萊黴素。每天量測體重。在處死時獲得BALF細胞計數。觀測到發炎性浸潤物顯著減少。未觀測到慢性炎症評分、間質性纖維化或纖維變性病灶數目之顯著改良。

圖20a及圖20b - 大鼠中RTA 408對博萊黴素誘導之肺纖維化之影響。(a) PMN；(b)羥基脯胺酸。星號表示與博萊黴素對照組相比具有統計顯著差異(* $P < 0.05$)。

圖21 - 來自罹患博萊黴素引起之肺纖維化之大鼠的肺中RTA 408對Nrf2目標酶的影響。星號表示與鹽水對照組相比具有統計顯著差異(* $P < 0.05$ ；** $P < 0.01$ ；*** $P < 0.001$)。

圖22a-e - 小鼠中RTA 408對香菸煙霧誘發之COPD之影響。(a) KC；(b) IL-6；(c) TNF- α ；(d) IFN- γ ；(e) RANTES。測試3 mg/kg(低)、10 mg/kg(中)及30 mg/kg(高)劑量之RTA 408 (63415)。在

同一研究中測試AIM類似物(63355)以進行比較。星號表示與CS對照組具有統計顯著差異。

圖23 - 來自罹患香菸煙霧誘發之COPD之小鼠的肺中RTA 408對Nrf2目標酶的影響。星號表示與鹽水對照組相比具有統計顯著差異(* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$)。劍號表示與暴露於香菸煙霧及投與之媒劑的小鼠相比具有統計顯著差異(† $P < 0.05$)。

圖24a-d - 敗血症之BALB/c小鼠模型中63415 (RTA 408)對體重之影響。在第0天向所有動物投與LPS。(a)體重：63415 (RTA 408)；(b)體重：RTA 405；(c)全身LPS：存活%：63415 (RTA 408)；(d)全身LPS：存活%：RTA 405。在第-2至2天每天一次投與RTA 405及63415 (RTA 408)共5天。化合物63415 (RTA 408)改良存活率。經63415處理之BALB/c小鼠中體重與時間的函數關係充當敗血症模型。

圖25 - 放射線誘發之口部黏膜炎模型中63415之作用。在第-5至-1天及第1至15天每天兩次向雄性敘利亞金黃倉鼠(Syrian Golden Hamster)投與RTA 405或63415共20天。在第0天進行放射。基於臨床表現將黏膜炎評分歸於0至5範圍內(0：完全健康；1-2：輕度至重度紅斑；3-5：不同程度潰瘍)。63415在30 mg/kg及100 mg/kg劑量下改良黏膜炎，其中潰瘍減少至多36%。

圖26 - C57BL/6小鼠中之14天小鼠毒性研究中63415對Nrf2目標基因誘導之影響。評估每天一次經口處理共14天之小鼠之肝臟中Nrf2目標基因之mRNA。觀測到多種Nrf2目標基因之mRNA表現顯著增加且與組織暴露一致。

圖27a及圖27b - 大鼠肝臟中63415對Nrf2目標基因誘導之影響：(a)目標基因；(b)陰性調節劑。評估每天一次經口處理共14天之大鼠之肝臟中Nrf2目標基因之mRNA。

圖28a及圖28b - 猴組織中63415對Nrf2目標基因之影響。(a)肝

臟；(b)肺。使用Panomics QuantiGene® 2.0 Plex技術評估每天一次經口處理共14天之猴中Nrf2目標基因之mRNA。

圖29a及圖29b - 小鼠肝臟中63415對Nrf2目標酶活性之影響：(a) NQO1活性；(b) GST活性。評估每天一次經口處理共14天之小鼠之肝臟中之Nrf2目標酶活性。以劑量依賴性方式誘導NQO1及GST酶活性。

圖30a及圖30b - 大鼠肝臟中63415對Nrf2目標酶活性之影響。(a) NQO1活性；(b) GST活性。評估每天一次經口處理共14天之大鼠之肝臟中之Nrf2目標酶活性。以劑量依賴性方式誘導NQO1及GST酶活性。

圖31a及圖31b - 獼猴之各種組織中63415對Nrf2目標酶活性誘導之影響。(a) NQO1活性；(b) GSR活性。

圖32a及圖32b - 小鼠肝臟、肺及腦中之RTA 408濃度，及每天經口投藥14天後小鼠肝臟中之NQO1活性。(a)每天經口投藥14天後小鼠中RTA 408之組織分佈。資料表示研究中最後一次給藥後4小時收集的組織中RTA 408濃度之平均值 $\pm$ SD。誤差條上的數字表示平均值。(b) 小鼠肝臟RTA 408含量與NQO1酶活性之相關性。由此報導標繪個別小鼠肝臟RTA 408肝臟含量與個別酶活性之關係圖。

圖33a及圖33b - 大鼠血漿、肝臟、肺及腦中之RTA 408濃度，及每天經口投藥14天後大鼠肝臟中之NQO1活性。(a)每天經口投藥14天後大鼠中RTA 408之組織分佈。資料表示研究中最後一次給藥後4小時收集的組織中RTA 408濃度之平均值 $\pm$ SD。誤差條上的數字表示平均值。*自平均值計算排除兩個值，因為其為離群值(定義為引起資料集合無法用於夏皮羅-威爾克常態測試(Shapiro-Wilk normality test)的值)。(b)大鼠肝臟RTA 408含量與NQO1酶活性之相關性。由此報導標繪個別大鼠肝臟RTA 408含量與個別酶活性之關係圖。在第6天自100

mg/kg RTA 408劑量組收集組織，且此組中觀測到的毒性阻礙肝臟NQO1酶活性評估。

圖34a及圖34b - 猴PBMC中63415處理對Nrf2活化之影響。(a) PBMC NQO1與血漿濃度關係圖；(b)肺NQO1與PBMC NQO1關係圖。

圖35 - 63415之14天猴毒性研究之概述。所有劑量均良好耐受而無不良臨床徵象。臨床化學資料表明無顯著毒性。

圖36 - 在經眼及經口表面投藥後，給藥時間對RTA 408之血漿濃度之影響。在每天經眼表面投與RTA 408持續5天後亦量測RTA 408之血漿濃度且確定與第一天後獲取之量測值保持相對一致。

圖37a及圖37b - 猴血漿中RTA 408暴露與PBMC中之NQO1及SRXN1 mRNA表現之相關性：(a) NQO1；(b) SRXN1。

圖38 - 經眼表面給藥5天後眼睛內各種組織或液體中RTA 408之濃度與時間的關係。在經眼表面投藥後亦量測血漿中之RTA 408濃度。

圖39 - 經表面投與不同濃度RTA 408時，RTA 408對由急性放射線曝露引起之3級皮炎之發病率的影響。

圖40 - 經表面投與不同濃度RTA 408時，30天處理過程中RTA 408對由急性放射線曝露引起之2級皮炎之發病率的影響。

圖41 - 經口投與不同濃度RTA 408時，28天處理過程中RTA 408對由急性放射線曝露引起之2級皮炎之發病率的影響。

圖42a及圖42b - (a)每一個包括測試中使用之所有動物的不同對照組中皮炎之臨床評分與時間之關係函數之曲線下面積分析。(b)每一個僅包括在試驗中完成整個30天之動物的不同對照組中皮炎之臨床評分與該評分之持續時間之關係函數的曲線下面積分析。

圖43 - 未經處理、未經放射線曝露且未經處理、僅用媒劑處理及經三種口服劑量之RTA 408 (3、10及30 mg/kg)處理之組中急性放射

性皮炎之第一盲式平均評分(Average 1st blind score)與時間之函數關係。皮炎評分係基於以下量表：0表示完全健康，1-2表示輕度至中度紅斑且具有最小至輕微脫屑，3-4表示中度至重度紅斑及脫屑且5表示明顯潰瘍。

圖44 - 自第4天至第30天每隔一天量測之未經處理、未經放射線曝露且未經處理、僅用媒劑處理及經三種口服劑量之RTA 408 (3、10及30 mg/kg)處理之動物中急性放射性皮炎之平均評分與時間之函數關係。皮炎評分係基於以下量表：0表示完全健康，1-2表示輕度至中度紅斑且具有最小至輕微脫屑，3-4表示中度至重度紅斑及脫屑且5表示明顯潰瘍。

圖45 - 自第4天至第30天每隔一天量測之未經處理、未經放射線曝露且未經處理、僅用媒劑處理及經三種表面用量之RTA 408 (0.01%、0.1%及1%)處理之動物中急性放射性皮炎之平均評分與時間之函數關係。皮炎評分係基於以下量表：0表示完全健康，1-2表示輕度至中度紅斑且具有最小至輕微脫屑，3-4表示中度至重度紅斑及脫屑且5表示明顯潰瘍。

圖46 - 部分放射性皮炎之臨床評分與時間之間的關係圖及各測試組之皮炎評分變化。皮炎評分係基於以下量表：0表示完全健康，1-2表示輕度至中度紅斑且具有最小至輕微脫屑，3-4表示中度至重度紅斑及脫屑且5表示明顯潰瘍。

圖47 - AUC分析圖形展示整個觀測期內各測試組之皮炎評分(嚴重程度×天數)。自研究第4天至第30天每隔一天評估皮炎評分。

圖48a及圖48b - (a) 經處理之前列腺癌細胞株LNCaP之595 nm下之吸光度圖形展示經化學治療劑及RTA 408處理之細胞之相對細胞毒性作用與僅經RTA 408處理之細胞之相對細胞毒性作用之比較。(b) 經處理之前列腺癌細胞株DU-145之595 nm下之吸光度圖形展示經化

學治療劑及RTA 408處理之細胞之相對細胞毒性作用與僅經RTA 408處理之細胞之相對細胞毒性作用之比較。

圖49 - 成像小鼠之彩色照片之黑白版本展示三種小鼠之腫瘤之螢光素酶活性：未經處理之對照動物、僅進行離子化放射(單次劑量，18 Gy)之動物、及進行離子化放射(單次劑量，18 Gy，第0天)且投與RTA 408 (17.5 mg/kg腹膜內投藥，第-3天至第-1天每天一次，接著在第1、3及5天以單次劑量投與)之動物。由箭頭指示之色彩表示強度，其中強度係按最高至最低強度次序由紅色、黃色、綠色及藍色表示。

圖50 - 在穿刺術誘導後，與MaxiDex® (0.1%地塞米松)及瑪普科特(mapracorat)(淺色條柱)之文獻值相比，RTA 408之不同調配物(深色條柱)之水性體液蛋白質濃度降低。

圖51 - 由63415進行之活體內NO之劑量依賴性抑制。藉由經口管餵投與CD-1小鼠(n=6) DMSO或AIM。24小時後投與LPS (5 mg/kg)。在LPS投藥後24小時，收集全血以用於NO分析法。藉由格里斯反應(Griess Reaction)由還原之去蛋白質血漿確定NO抑制。

圖52 - 小鼠組織中63415之廣泛分佈。每天一次經口投與小鼠25 mg/kg 63415或25 mg/kg RTA 405共3天。在最後一次給藥後6小時收集血液(血漿及全血)及組織(腦、肝臟、肺及腎臟)。進行藥物含量之半定量分析。在CNS中觀測到顯著含量。

圖53 - 小鼠肝臟、肺及腎臟中63415之NQO1活性誘導。每天一次向小鼠經口投與25 mg/kg共3天。在最後一次給藥後6小時收集組織且進行NQO1活性分析。在多個組織中觀測到有意義的NQO1活化。

圖54 - 63415之14天小鼠毒性研究之概述。每天一次向C57BL/6小鼠經口投藥共14天。終點包括存活率、體重及臨床化學。所有動物在第14天均存活。與媒劑組相比未發生顯著體重變化，且基於臨床化

學，在任何劑量下均不存在毒性證據。

圖55 - 來自C57BL/6小鼠中14天小鼠毒性研究之63415之組織分佈。在最後一次給藥後4小時收集腦、肺及肝臟樣品且使用敏感性LC/MS/MS方法對63415內含物進行定量。暴露於10 mg/kg及100 mg/kg：在肺中分別超過活體外NO誘導之IC₅₀達55倍及1138倍。在腦中暴露於10 mg/kg及100 mg/kg分別超過活體外NO誘導之IC₅₀達29倍及541倍。

圖56 - 史泊格多利大鼠(Sprague Dawley rat)中63415之組織分佈。在第14天或第6天最後一次給藥(100 mg/kg)後4小時收集組織，提取且使用敏感性LC/MS/MS方法對63415內含物進行定量。63415良好分佈於目標組織中。在肺及腦中暴露於10 mg/kg分別超過活體外NO抑制之IC₅₀達294倍及240倍。

圖57 - 獼猴中化合物63415之目標組織分佈。在第14天最後一次給藥後4小時收集組織。提取63415內含物且使用敏感性LC/MS/MS方法進行定量。

圖58 - 樣品PP415-P1之FT-拉曼光譜(FT-Raman spectrum)(3400-50 cm⁻¹)，其對應於非晶形式(類別1)。

圖59 - 樣品PP415-P1之PXRD (1.5-55.5 °2θ)圖形，其對應於非晶形式(類別1)。

圖60 - 樣品PP415-P1之TG-FTIR熱分析圖(25°C -350°C)，其對應於非晶形式(類別1)。

圖61 - 樣品PP415-P1於DMSO-d₆中之¹H-NMR光譜，其對應於非晶形式(類別1)。

圖62 - 樣品PP415-P1之DSC熱分析圖，其對應於非晶形式(類別1)。

圖63 - 樣品PP415-P1之DVS等溫線，其對應於非晶形式(類別1)。

1)。

圖64 - 與DVS量測前之物質(底部)相比，DVS量測後樣品PP415-P1(頂部)之FT-拉曼光譜(其對應於非晶形式(類別1))未發生變化。光譜已經縮放且沿y方向偏移以用於比較。

圖65 - 與DVS量測前之物質(底部)相比，DVS量測後樣品PP415-P1(頂部)之PXRD圖形(其對應於非晶形式(類別1))未發生變化。圖形未經縮放但沿y方向偏移以用於比較。

圖66 - 樣品PP415-P40之PXRD圖形(頂部)與溶劑合物形式(類別2)之圖形(底部，樣品PP415-P19)一致。圖形已經縮放且沿y方向偏移以用於比較。

圖67 - 一週後穩定性樣品PP415-P2a(頂部)、PP415-P3a(自頂部開始第2位)、PP415-P4a(中間)及PP415-P5a(自底部開始第2位)之PXRD圖形(其對應於非晶形式(類別1))與時間點 t_0 時之起始物質(底部，樣品PP415-P1)相比未顯示差異。圖形未經縮放但沿y方向偏移以用於比較。

圖68 - 兩週後穩定性樣品PP415-P2b(頂部)、PP415-P3b(自頂部開始第2位)、PP415-P4b(中間)及PP415-P5b(自底部開始第2位)之PXRD圖形(其對應於非晶形式(類別1))與時間點 t_0 時之起始物質(底部，樣品PP415-P1)相比未顯示差異。圖形未經縮放但沿y方向偏移以用於比較。

圖69 - 四週後穩定性樣品PP415-P2c(頂部)、PP415-P3c(自頂部開始第2位)、PP415-P4c(中間)及PP415-P5c(自底部開始第2位)之PXRD圖形(其對應於非晶形式(類別1))與時間點 t_0 時之起始物質(底部，樣品PP415-P1)相比未顯示差異。圖形未經縮放但沿y方向偏移以用於比較。

圖70 - 溶劑合物形式(類別2)之樣品(PP415-P7：頂部；PP415-

P8：自頂部開始第2位；PP415-P9：自頂部開始第3位；PP415-P10：自頂部開始第4位；PP415-P11：中間；PP415-P15：自底部開始第4位；PP415-P17：自底部開始第3位；PP415-P21：自底部開始第2位；PP415-P24：底部)之FT-拉曼光譜($2400-50\text{ cm}^{-1}$)。光譜已經縮放且沿y方向偏移以用於比較。

圖 71 - 溶劑合物形式(類別2)(PP415-P7：頂部)之FT-拉曼光譜($1750-1000\text{ cm}^{-1}$)與非晶形式(類別1)(PP415-P1：底部)之光譜明顯不同。光譜已經縮放且沿y方向偏移以用於比較。

圖 72 - 類別2(樣品PP415-P19：頂部)、類別3(樣品PP415-P6：自頂部開始第2位)、類別4(樣品PP415-P13：自底部開始第2位)及類別5(樣品PP415-P14：底部)之FT-拉曼光譜($1750-1000\text{ cm}^{-1}$)彼此顯著不同。光譜已經縮放且沿y方向偏移以用於比較。

圖 73 - 溶劑合物形式(類別2)之樣品(PP415-P7：頂部；PP415-P8：自頂部開始第2位；PP415-P10：自頂部開始第3位；PP415-P15：自頂部開始第4位；PP415-P17：中間；PP415-P18：自底部開始第4位；PP415-P19：自底部開始第3位；PP415-P21：自底部開始第2位；PP415-P24：底部)之PXRD圖形($2-32^\circ 2\theta$)。圖形已經縮放且沿y方向偏移以用於比較。

圖 74 - 溶劑合物形式(類別2)之一些樣品(PP415-P7：頂部；PP415-P8：自頂部開始第2位；PP415-P10：中間；PP415-P21：自底部開始第2位；PP415-P24：底部)之PXRD圖形($11-21^\circ 2\theta$)。圖形已經縮放且沿y方向偏移以用於比較。

圖 75 - 類別2(樣品PP415-P19：頂部)、類別3(樣品PP415-P6：自頂部開始第2位)、類別4(樣品PP415-P13：自底部開始第2位)及類別5(樣品PP415-P14：底部)之PXRD圖形($2-32^\circ 2\theta$)顯著不同。圖形已經縮放且沿y方向偏移以用於比較。

圖76 - 樣品PP415-P7之TG-FTIR熱分析圖，其對應於溶劑合物形式(類別2)。

圖77 - 樣品PP415-P21之TG-FTIR熱分析圖，其對應於溶劑合物形式(類別2)。

圖78 - 樣品PP415-P24之TG-FTIR熱分析圖，其對應於溶劑合物形式(類別2)。

圖79 - 樣品PP415-P29之TG-FTIR熱分析圖，其對應於溶劑合物形式(類別2)。

圖80 - 樣品PP415-P47之TG-FTIR熱分析圖，其對應於溶劑合物形式(類別2)。

圖81 - 樣品PP415-P48之TG-FTIR熱分析圖，其對應於溶劑合物形式(類別2)。

圖82 - 溶劑合物形式(類別2)(底部，樣品PP415-P7)與乾燥溶劑合物形式(類別2)(頂部，樣品PP415-P30)之FT-拉曼光譜($1800-700\text{ cm}^{-1}$)類似且僅展示在圖形內幾乎無法區分的微小差異。光譜經縮放以用於比較。

圖83 - 乾燥溶劑合物形式(類別2)樣品PP415-P30(頂部)之PXRD圖形與溶劑合物形式(類別2)樣品PP415-P7(底部)之圖形的比較。圖形未經縮放但沿y方向偏移以用於比較。

圖84 - 乾燥樣品PP415-P30之TG-FTIR熱分析圖，其對應於溶劑合物形式(類別2)。

圖85 - 乾燥樣品PP415-P18(淺灰色)之FT-拉曼光譜與原始樣品PP415-P15(深灰色)之光譜一致且僅展示在圖形內幾乎無法區分的微小差異。光譜已經縮放且沿y方向偏移以用於比較。

圖86 - 儘管兩者均為溶劑合物形式(類別2)，但乾燥樣品PP415-P18(頂部)之PXRD圖形與原始樣品PP415-P15(底部)之圖形顯示微小差

異。圖形已經縮放且沿y方向偏移以用於比較。

圖87 - 樣品PP415-P18之TG-FTIR熱分析圖，其對應於溶劑合物形式(類別2)。

圖88 - 樣品PP415-P17(頂部)之FT-拉曼光譜與乾燥樣品PP415-P19(中間)及PP415-P32(底部)之光譜幾乎一致且僅展示在圖形內幾乎無法區分的微小差異。光譜已經縮放且沿y方向偏移以用於比較。

圖89 - 乾燥樣品PP415-P19(中間)之PXRD圖形與原始樣品PP415-P17(頂部)之圖形不同但仍對應於類別2形式。另一乾燥樣品PP415-P32(底部)之圖形展示更寬峰及較低S/N比率。材料結晶度較低，但仍對應於類別2形式。圖形已經縮放且沿y方向偏移以用於比較。

圖90 - 樣品PP415-P19之TG-FTIR熱分析圖，其對應於溶劑合物形式(類別2)。

圖91 - 樣品PP415-P32A之TG-FTIR熱分析圖，其對應於溶劑合物形式(類別2)。

圖92 - 樣品PP415-P21(頂部)之FT-拉曼光譜與乾燥樣品PP415-P28(中間)及PP415-P34(底部)之光譜一致。光譜已經縮放且沿y方向偏移以用於比較。

圖93 - 乾燥樣品PP415-P28(中間)及PP415-P34(底部)之PXRD圖形展示更寬峰及較低S/N比率，表明樣品與原始樣品PP415-P21(頂部)之圖形相比結晶度較低。圖形稍微不同但仍與類別2形式一致。其已經縮放且沿y方向偏移以用於比較。

圖94 - 乾燥樣品PP415-P28之TG-FTIR熱分析圖，其對應於溶劑合物形式(類別2)。

圖95 - 乾燥樣品PP415-P34之TG-FTIR熱分析圖，其對應於溶劑合物形式(類別2)。

圖96 - 溶劑合物形式(類別3)之樣品(PP415-P6：頂部；PP415-

P12：中間；PP415-P20：底部)之FT-拉曼光譜($2400\text{--}50\text{ cm}^{-1}$)。光譜已經縮放且沿y方向偏移以用於比較。

圖 97 - 溶劑合物形式(類別3)之樣品(PP415-P6：頂部；PP415-P12：自頂部開始第2位；PP415-P20：自底部開始第2位)之FT-拉曼光譜($1750\text{--}1000\text{ cm}^{-1}$)彼此極類似且僅具有微小差異，例如在約 1690 cm^{-1} 處，但與類別1 (PP415-P1：底部)明顯不同。光譜已經縮放且沿y方向偏移以用於比較。

圖 98 - 溶劑合物形式(類別3)之樣品(PP415-P6：頂部；PP415-P12：中間；PP415-P20：底部)之PXRD圖形($2\text{--}32^\circ 2\theta$)。圖形已經縮放且沿y方向偏移以用於比較。

圖 99 - 溶劑合物形式(類別3)之樣品(PP415-P6：頂部；PP415-P12：中間；PP415-P20：底部)之PXRD圖形($13.5\text{--}18.5^\circ 2\theta$)展示微小差異。圖形已經縮放且沿y方向偏移以用於比較。

圖 100 - 樣品PP415-P6之TG-FTIR熱分析圖，其對應於溶劑合物形式(類別3)。

圖 101 - 樣品PP415-P12之TG-FTIR熱分析圖，其對應於溶劑合物形式(類別3)。

圖 102 - 乾燥溶劑合物形式(類別3)樣品PP415-P25之TG-FTIR熱分析圖。

圖 103 - 另一乾燥溶劑合物形式(類別3)樣品PP415-P33之TG-FTIR熱分析圖。

圖 104 - 溶劑合物形式(類別3)(頂部，樣品PP415-P6)、乾燥溶劑合物形式(類別3)(中間，樣品PP415-P25)及另一乾燥溶劑合物形式(類別3)(底部，樣品PP415-P33)之FT-拉曼光譜($1800\text{--}700\text{ cm}^{-1}$)一致。光譜已經縮放且沿y方向偏移以用於比較。

圖 105 - 溶劑合物形式(類別3)(頂部，樣品PP415-P6)、乾燥溶劑

合物形式(類別3)(中間，樣品PP415-P25)及另一乾燥溶劑合物形式(類別3)(底部，樣品PP415-P33)之PXRD圖形($4-24^\circ 2\theta$)。圖形已經縮放且沿y方向偏移以用於比較。

圖106 - 樣品PP415-P13之TG-FTIR熱分析圖，其對應於乙腈溶劑合物形式(類別4)。

圖107 - 乙腈溶劑合物形式(類別4)(深灰色，樣品PP415-P13)與經乾燥之乙腈溶劑合物形式(類別4)物質(淺灰色，樣品PP415-P26)之FT-拉曼光譜($1800-700\text{ cm}^{-1}$)一致且完美重疊。光譜經縮放以用於比較。

圖108 - 乾燥乙腈溶劑合物形式(類別4)樣品PP415-P26(底部)之PXRD圖形與乙腈溶劑合物形式(類別4)樣品PP415-P13(頂部)之參考圖形之比較。圖形未經縮放但沿y方向偏移以用於比較。

圖109 - 乾燥乙腈溶劑合物形式(類別4)樣品PP415-P26之TG-FTIR熱分析圖。

圖110 - 乙腈溶劑合物形式(類別4)(頂部，樣品PP415-P35)與乾燥乙腈溶劑合物形式(類別4)(中間，樣品PP415-P36及底部，樣品PP415-P37)之FT-拉曼光譜($1800-700\text{ cm}^{-1}$)彼此對應。光譜已經縮放且沿y方向偏移以用於比較。

圖111 - 乙腈溶劑合物形式(類別4)(頂部，樣品PP415-P35)與乾燥乙腈溶劑合物形式(類別4)(中間，樣品PP415-P36及底部，樣品PP415-P37)之PXRD圖形($4-24^\circ 2\theta$)彼此一致。圖形已經縮放且沿y方向偏移以用於比較。

圖112 - 乾燥乙腈溶劑合物形式(類別4)樣品PP415-P36之TG-FTIR熱分析圖。

圖113 - 乾燥乙腈溶劑合物形式(類別4)樣品PP415-P37之TG-FTIR熱分析圖。

圖 114 - 去溶劑化乙腈溶劑合物形式(類別4)(樣品PP415-P37)之DVS等溫線。

圖 115 - 與DVS量測前之物質(頂部)相比，DVS量測後乙腈溶劑合物形式(類別4)樣品PP415-P37(底部)之PXRD圖形未發生變化。圖形未經縮放但沿y方向偏移以用於比較。

圖 116 - 去溶劑化乙腈溶劑合物形式(類別4)(樣品PP415-P37)之DSC熱分析圖。

圖 117 - 非晶形式(類別1)樣品PP415-P1與去溶劑化乙腈溶劑合物形式(類別4)樣品PP415-P36之約1:1混合物之DSC熱分析圖。

圖 118 - 非晶形式(類別1)樣品PP415-P1與去溶劑化乙腈溶劑合物形式(類別4)樣品PP415-P36之約1:1混合物(實驗編號：PP415-P39)之DSC熱分析圖。在173℃下停止加熱掃描(步驟1)30分鐘(步驟2)且接著繼續加熱掃描(步驟3)。

圖 119 - 樣品PP415-P14之TG-FTIR熱分析圖，其對應於THF溶劑合物形式(類別5)。

圖 120 - THF溶劑合物形式(類別5)(虛線，樣品PP415-P14)、經乾燥之THF溶劑合物形式(類別5)物質(虛線，樣品PP415-P27)及非晶形式(類別1)(實線，樣品PP415-P1)之FT-拉曼光譜(1800-1100 cm^{-1})。光譜經縮放以用於比較且展示微小量值變化，但幾乎不存在相應光譜形狀變化。

圖 121 - 乾燥THF溶劑合物形式(類別5)樣品PP415-P27(頂部)之PXRD圖形與THF溶劑合物形式(類別5)樣品PP415-P14(底部)之圖形的比較。圖形未經縮放但沿y方向偏移以用於比較。

圖 122 - 樣品PP415-P27之TG-FTIR熱分析圖，其對應於乾燥THF溶劑合物(類別5)。

圖 123 - 樣品PP415-P41(頂部)之PXRD圖形與THF溶劑合物形式

(類別5)(中間，樣品PP415-P14)之圖形一致且與庚烷溶劑合物形式(類別2)(底部，樣品PP415-P19)之圖形不一致。圖形已經縮放且沿y方向偏移以用於比較。

圖 124 - 樣品PP415-P45(頂部)之PXRD圖形與THF溶劑合物形式(類別5)(中間，樣品PP415-P14)之圖形一致且與庚烷溶劑合物形式(類別2)(底部，樣品PP415-P19)之圖形不一致。圖形已經縮放且沿y方向偏移以用於比較。

圖 125 - 樣品PP415-P41(頂部)之PXRD圖形對應於THF溶劑合物形式(類別5)。在乾燥樣品PP415-P41一天後(自頂部開始第2位，樣品：PP415-P44)，物質主要呈非晶形。剩餘一些具有低強度之寬峰。在進一步乾燥隔夜後(自底部開始第2位，樣品PP415-P44a)，該等寬峰之強度進一步降低。展示非晶形式(類別1)作為參考(底部，樣品：PP415-P42)。圖形未經縮放但沿y方向偏移以用於比較。

圖 126 - 樣品PP415-P44a之TG-FTIR熱分析圖，其對應於非晶形式(類別1)。

圖 127 - 樣品PP415-P45(頂部)之PXRD圖形對應於THF溶劑合物形式(類別5)。在乾燥樣品PP415-P45一天後(自頂部開始第2位，樣品PP415-P46)，物質主要呈非晶形。剩餘一些具有低強度之寬峰。在乾燥總共4天後(自底部開始第2位，樣品PP415-P46a)，圖形保持不變化。展示非晶形式(類別1)作為參考(底部，樣品PP415-P42)。圖形未經縮放但沿y方向偏移以用於比較。

圖 128 - 樣品PP415-P46a之TG-FTIR熱分析圖，其對應於非晶形式(類別1)。

圖 129 - 樣品PP415-P42(頂部)之PXRD圖形與非晶形式(類別1)(底部，樣品PP415-P1)之圖形一致。圖形已經縮放且沿y方向偏移以用於比較。

圖130 - 樣品PP415-P43(頂部)之PXRD圖形與等結構溶劑合物形式(類別2)(底部，樣品PP415-P19)之圖形一致且與THF溶劑合物形式(類別5)(中間，樣品PP415-P14)之圖形不一致。圖形已經縮放且沿y方向偏移以用於比較。

圖131 - 儘管存在一些差異，但樣品PP415-P47(頂部)及PP415-P48(中間)之PXRD圖形與等結構溶劑合物形式(類別2)(底部，樣品PP415-P19)之圖形基本上一致。圖形已經縮放且沿y方向偏移以用於比較。

圖132 - 樣品PP415-P49(頂部)之PXRD圖形與非晶形式(類別1)(底部，樣品PP415-P1)之圖形一致。圖形已經縮放且沿y方向偏移以用於比較。

【實施方式】

在一個態樣中，本發明提供化合物：

N-((4*aS*,6*aR*,6*bS*,8*aR*,12*aS*,14*aR*,14*bS*)-11- 氰基 -2,2,6*a*,6*b*,9,9,12*a*-七 甲 基 -10,14- 二 側 氧 基 -1,2,3,4,4*a*,5,6,6*a*,6*b*,7,8,8*a*,9,10,12*a*,14,14*a*,14*b*-十八氫苊-4*a*-基)-2,2-二氟丙醯胺，

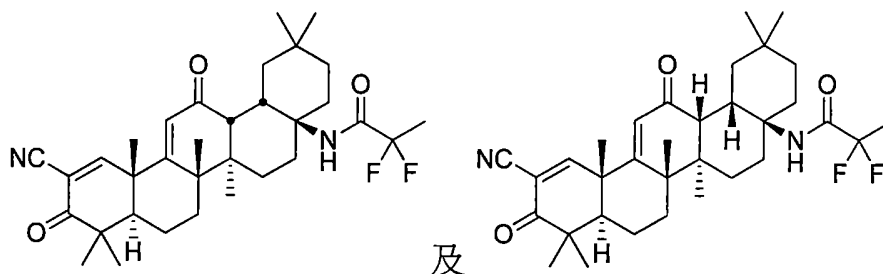
其在本文中亦稱為RTA 408、63415或PP415。在其他非限制態樣中，本發明亦提供其多晶型，包括其溶劑合物。在其他非限制態樣中，本發明亦提供其醫藥學上可接受之鹽。在其他非限制態樣中，亦提供該等化合物及其多晶型之製備方法、醫藥組合物以及套組及製品。

I. 定義

當用於化學基團情形中時：「氫」意謂-H；「羥基」意謂-OH；「側氧基(oxo)」意謂=O；「羰基」意謂-C(=O)-；「羧基」意謂-C(=O)OH(亦書寫為-COOH或-CO₂H)；「鹵基」獨立地意謂-F、-Cl、-

Br或-I；「胺基」意謂-NH₂；「羥基胺基」意謂-NHOH；「硝基」意謂-NO₂；亞胺基意謂=NH；「氰基」意謂-CN；「異氰酸酯基」意謂-N=C=O；「疊氮基」意謂-N₃；在單價情形下，「磷酸酯基」意謂-OP(O)(OH)₂或其去質子化形式；在二價情形下，「磷酸酯基」意謂-OP(O)(OH)O-或其去質子化形式；「巰基」意謂-SH；且「硫基」意謂=S；「磺醯基」意謂-S(O)₂-；且「亞磺醯基」意謂-S(O)-。本申請案中所示結構之原子上的任何未定義價數隱含地表示與該原子鍵結之氫原子。

在本發明之上下文中，結構式：



表示相同結構。當在碳上畫一個點時，該點表示與該碳連接之氫原子位於該頁面之平面外。

在申請專利範圍及/或本說明書中，當與術語「包含」結合使用時，字組「一」之使用可意謂「一種」，但其亦與「一或多種」、「至少一種」及「一種或一種以上」之含義一致。

在本申請案中，術語「約」用於指示值包括用以測定該值之裝置、方法之誤差的固有偏差或研究個體間存在之偏差。當用於X射線粉末繞射情形中時，術語「約」用於指示值與所報導值相差 $\pm 0.2^\circ 2\theta$ ，較佳為值與與所報導值相差 $\pm 0.1^\circ 2\theta$ 。當用於差示掃描熱量測定或玻璃轉移溫度情形中時，術語「約」用於指示值與最大峰值相差 $\pm 10^\circ\text{C}$ ，較佳為值與最大峰值相差 $\pm 2^\circ\text{C}$ 。當用於其他情形中時，術語「約」用於指示值與所報導值相差 $\pm 10\%$ ，較佳為值與所報導值相差 $\pm 5\%$ 。應理解，每當使用術語「約」時，亦包括對所指示精確數值之

特定參考。

術語「包含」、「具有」及「包括」為開放性連綴動詞。此等動詞中之一或多者的任何形式或時態(諸如「包含」、「具有」及「包括」)亦為開放性的。舉例而言，「包含」、「具有」或「包括」一或多個步驟之任何方法不限於僅具有彼一或多個步驟且亦涵蓋其他未列出之步驟。

當術語在本說明書及/或申請專利範圍中使用時，該術語「有效」意謂足以實現所需、預期或所欲結果。當在使用化合物治療患者或個體情形中使用時，「有效量」、「治療有效量」或「醫藥學上有效量」意謂當投與至個體或患者以用於治療疾病時足以實現該疾病治療之化合物量。

在X射線粉末繞射情形中，術語「鹵基峰」意謂寬峰，其通常在X射線粉末繞射圖中跨度 $> 10^\circ 2\theta$ ，通常為非晶形固體或系統之特徵。

當用作化合物之修飾語時，術語「水合物」意謂該化合物具有少於一個(例如半水合物)、一個(例如單水合物)或一個以上(例如二水合物)與各化合物分子締合之水分子，諸如呈化合物之固體形式。

如本文中所用，術語「IC₅₀」係指為所得最大反應之50%的抑制劑量。此定量量度指示抑制既定生物、生物化學或化學過程(或過程之組分，亦即酶、細胞、細胞受體或微生物)達一半程度所需之特定藥物或其他物質(抑制劑)的量。

第一化合物之「異構體」為各分子含有與第一化合物相同之組成原子但該等原子之三維組態不同的另一化合物。

如本文中所用，術語「患者」或「個體」係指活哺乳動物生物體，諸如人類、猴、牛、綿羊、山羊、犬、貓、小鼠、大鼠、天竺鼠或其轉殖基因物種。在某些實施例中，患者或個體為非人類動物。在

某些實施例中，患者或個體為靈長類動物。在某些實施例中，患者或個體為人類。人類個體之非限制性實例為成人、青少年、嬰兒及胎兒。

如本文中通常所用之術語「醫藥學上可接受」係指在合理醫學判斷範疇內適用於與人類及動物之組織、器官及/或體液接觸而無過度毒性、刺激性、過敏反應或其他問題或併發症且具有合理效益/風險比之化合物、物質、組合物及/或劑型。

「醫藥學上可接受之鹽」意謂如上文定義為醫藥學上可接受且具有所需藥理學活性的本發明化合物之鹽。該等鹽包括與無機酸形成之酸加成鹽，該等無機酸為諸如鹽酸、氫溴酸、硫酸、硝酸、磷酸及其類似物；或與有機酸形成之酸加成鹽，該等有機酸為諸如1,2-乙烷二磺酸、2-羥基乙烷磺酸、2-萘磺酸、3-苯基丙酸、4,4'-亞甲基雙(3-羥基-2-烯-1-甲酸)、4-甲基雙環[2.2.2]辛-2-烯-1-甲酸、乙酸、脂族單羧酸及脂族二羧酸、脂族硫酸、芳族硫酸、苯磺酸、苯甲酸、樟腦磺酸、碳酸、肉桂酸、檸檬酸、環戊烷丙酸、乙烷磺酸、反丁烯二酸、葡萄糖庚酸、葡萄糖酸、麩胺酸、乙醇酸、庚酸、己酸、羥萘甲酸、乳酸、月桂基硫酸、順丁烯二酸、蘋果酸、丙二酸、扁桃酸、甲烷磺酸、黏康酸、鄰(4-羥基苯甲酰基)苯甲酸、草酸、對氯苯磺酸、苯基取代之烷酸、丙酸、對甲苯磺酸、丙酮酸、水楊酸、硬脂酸、丁二酸、酒石酸、第三丁基乙酸、三甲基乙酸及其類似物。醫藥學上可接受之鹽亦包括鹼加成鹽，其可在存在之酸性質子能夠與無機鹼或有機鹼反應時形成。可接受之無機鹼包括氫氧化鈉、碳酸鈉、氫氧化鉀、氫氧化鋁及氫氧化鈣。可接受之有機鹼包括乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、緩血酸胺、*N*-甲基還原葡萄糖胺及其類似物。應認識到形成本發明之任何鹽之一部分的特定陰離子或陽離子並不關鍵，只要該鹽總體上為藥理學上可接受的即可。醫藥學上可接受之鹽及其製備與使用方

法之其他實例呈現於 *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, and Use* (P. H. Stahl及C. G. Wermuth編, Verlag Helvetica Chimica Acta, 2002)中。

「預防」包括：(1)抑制可能處於疾病風險中及/或易感染疾病但尚未經歷或顯示該疾病之任何或所有病理或症狀的個體或患者之疾病發作；及/或(2)減緩可能處於疾病風險中及/或易感染疾病但尚未經歷或顯示該疾病之任何或所有病理或症狀的個體或患者的疾病之病理或症狀之發作。

「前藥」意謂可在活體內藉由代謝作用轉化為本發明之抑制劑的化合物。前藥本身可具有或亦可不具有針對既定目標蛋白質之活性。舉例而言，包含羥基之化合物可以酯的形式投與，該酯藉由在活體內水解而轉化為羥基化合物。可在活體內轉化為羥基化合物之合適酯包括乙酸酯、檸檬酸酯、乳酸酯、磷酸酯、酒石酸酯、丙二酸酯、草酸酯、水楊酸酯、丙酸酯、丁二酸酯、反丁烯二酸酯、順丁烯二酸酯、亞甲基-雙- β -羥基萘甲酸酯、龍膽酸酯、羥乙磺酸酯、二-對甲苯甲醯基酒石酸酯、甲烷磺酸酯、乙烷磺酸酯、苯磺酸酯、對甲苯磺酸酯、環己基胺基磺酸酯、奎尼酸酯(quininate)、胺基酸酯及其類似物。類似地，包含胺基之化合物可以醯胺形式投與，該醯胺藉由在活體內水解而轉化為胺化合物。

「立體異構體」或「光學異構體」為相同原子鍵結至同一其他原子但該等原子之組態在三維上不同的既定化合物之異構體。「對映異構體」為彼此互為鏡像(如同左手與右手)的既定化合物之立體異構體。「非對映異構體」為不為對映異構體之既定化合物之立體異構體。對掌性分子含有對掌性中心，亦稱為立體中心或立體對稱中心，其為具有基團之分子中使得任何兩個基團之互換產生立體異構體之任何點(但未必為原子)。在有機化合物中，對掌性中心通常為碳、磷或

硫原子，但其他原子亦可能為有機及無機化合物中之立體中心。分子可具有多個立體中心，從而可存在其多種立體異構體。在立體異構現象由四面體立體對稱中心(例如四面體碳)引起之化合物中，推測可能存在之立體異構體之總數將不會超過 2^n ，其中 n 為四面體立體中心之數目。具有對稱性之分子之可能立體異構體之數目常少於最大可能立體異構體數目。對映異構體之50:50混合物係稱為外消旋混合物。或者，對映異構體之混合物可為對映異構性增濃的以使得一種對映異構體以超過50%之量存在。通常，可使用此項技術中已知的技術解析或分離對映異構體及/或非對映異構體。預期對於未定義之立體化學之任何對掌性立體中心或軸而言，該對掌性立體中心或軸可以其*R*形式、*S*形式或*R*形式與*S*形式之混合物形式存在，包括外消旋及非外消旋混合物。如本文中所用，片語「實質上不含其他立體異構體」意謂組合物含有 $\leq 15\%$ 、更佳 $\leq 10\%$ 、甚至更佳 $\leq 5\%$ 或最佳 $\leq 1\%$ 之另一(其他)立體異構體。

「治療」包括：(1)抑制經歷或顯示疾病之病理或症狀之個體或患者的疾病(例如抑制病理及/或症狀的進一步發展)；(2)改善正經歷或顯示疾病之病理或症狀之個體或患者的疾病(例如逆轉病理及/或症狀)；及/或(3)在正經歷或顯示疾病之病理或症狀之個體或患者中實現疾病之任何可量測程度的減退。

以上定義替代以引用的方式併入本文中的任何參考文獻中之任何矛盾定義。然而，不應認為定義某些術語之事實指示任何未定義之術語為不明確的。相反地，咸信所用的所有術語均明確地描述本發明以使得一般技術者可瞭解範疇且實施本發明。

II. RTA 408及合成方法

可根據以下實例部分中描述之方法製備RTA 408。該等方法可使用如由熟習此項技術者應用之有機化學原理及技術進一步改良及最佳

化。該等原理及技術教示於例如 *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure* (2007) 中，其以引用的方式併入本文中。

應認識到形成本發明之任何鹽之一部分的特定陰離子或陽離子並不關鍵，只要該鹽總體上在藥理學上可接受即可。醫藥學上可接受之鹽及其製備方法及用途之其他實例呈現於 *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, and Use* (2002) 中，其以引用的方式併入本文中。

RTA 408 亦可呈前藥形式。因為已知前藥加強藥物之許多理想品質(例如溶解性、生物可用性、製造等)，所以用於本發明之一些方法中之化合物可視需要以前藥形式傳遞。因此，本發明涵蓋本發明化合物之前藥以及傳遞前藥之方法。本發明中所用化合物之前藥可由以使得修飾物在常規操作中或活體內分解為母體化合物之方式修飾化合物中之官能基來製備。因此，前藥包括例如羥基、胺基或羧基鍵結於在前藥投與至患者時分別裂解形成羥基、胺基或羧酸之任何基團的本文所述之化合物。

RTA 408 可含有一或多個經不對稱取代之碳或氮原子且可分離成光學活性或外消旋形式。因此，除非特別指出特定立體化學或異構形式，否則涵蓋結構式之所有對掌性、非對映異構性、外消旋形式、差向異構形式及所有幾何異構形式。RTA 408 可呈外消旋體及外消旋混合物、單一對映異構體、非對映異構混合物及個別非對映異構體形式存在。在一些實施例中，獲得單一非對映異構體。本發明之 RTA 408 之對掌性中心可具有 *S* 或 *R* 組態。

此外，組成本發明之 RTA 408 之原子意欲包括該等原子之所有同位素形式。如本文所用之同位素包括具有相同原子序數、但不同質量數之原子。作為一般實例且並非限制，氫之同位素包括氕及氘，且碳

之同位素包括 ^{13}C 及 ^{14}C 。類似地，涵蓋本發明化合物之一或多個碳原子可由矽原子置換。此外，涵蓋RTA 408之一或多個氧原子可由硫或硒原子置換。

與先前技術中已知用於本文中所述適應症之化合物相比，RTA 408及其多晶型亦可具有以下優點：其更有效、毒性更低、作用時間更長、效力更高、產生更少副作用、更易於吸收及/或具有更好的藥物動力學型態(例如更高的口服生物可用性及/或更低的清除率)及/或具有其他有效藥理學、物理或化學優點。

III. RTA 408之多晶型

在一些實施例中，本發明提供RTA 408之不同固體形式，包括其溶劑合物。進行預調配及初步多形現象研究，且發現RTA 408具有較高的溶劑合物形成趨勢。類別2、3、4及5之結晶型與溶劑合物一致。關於類別說明，參見以下表1。未能成功嘗試乾燥類別2及3 (兩組等結構溶劑合物)，其與緊密結合之溶劑分子一致。在一些實施例中，乾燥類別4固體(乙腈溶劑合物)可產生等結構去溶劑化形式。在一些實施例中，乾燥類別5固體(THF溶劑合物)可產生非晶形式類別1。RTA 408之非溶劑合物形式包括非晶形式(類別1)及類別4之結晶去溶劑化溶劑合物(與類別4乙腈溶劑合物結構相同)。在一些實施例中，非晶形式具有高玻璃轉移溫度(其中 $T_g \approx 153^\circ\text{C}$ ($\Delta C_p = 0.72 \text{ J/g}^\circ\text{C}$))及僅輕微吸濕性($\Delta m = +0.4\%$ 50%→85%相對濕度)。在一些實施例中，非晶形式在高溫及濕度條件(亦即在 40°C /約75%相對濕度開放環境或在 80°C 封閉環境)下穩定至少四週。在一些實施例中，成功地以兩步驟方法(轉化為類別5且隨後乾燥類別5獲得非晶形式)以及直接單步驟方法(在冷水浴槽中自丙酮溶液沈澱)自類別2物質製備非晶形式(類別1)。類別4之結晶去溶劑化溶劑合物(與類別4溶劑合物結構相同)輕微吸濕(質量增加為約0.7重量%(自50%相對濕度至85%相對濕度))且可能

熔點為 196.1°C ($\Delta H = 29.31 \text{ J/g}$)。

藉由FT-拉曼光譜、PXRD、TG-FTIR、卡爾費歇爾滴定(Karl Fischer titration)、 $^1\text{H-NMR}$ 、DSC及DVS表徵63415之非晶形式(類別1)之樣品(關於其他細節，參見實例部分)。發現樣品含有約0.9重量% EtOH及微量 H_2O (根據TG-FTIR)。藉由卡爾費歇爾滴定確定水含量為0.5重量%。DSC表明具有高玻璃轉移溫度，其中 $T_g \approx 153^{\circ}\text{C}$ ($\Delta C_p = 0.72 \text{ J/g}^{\circ}\text{C}$)。根據DVS，物質具輕微吸濕性($\Delta m = +0.4\%$ 50% $\rightarrow$ 85%相對濕度)。在DSC或DVS實驗中未觀測到結晶。

在時間點第6小時、第24小時、第2天及第7天時於有機溶劑(包括丙酮、EtOAc、MeOH及MeCN)以及不同水性介質(例如1% Tween 80水溶液、1% SDS水溶液、1% CTAB水溶液)中研究非晶形式之化學穩定性。僅在MeCN中之溶液(7天後)及1% Tween 80水性介質之懸浮液(254 nm下所有時間點及242 nm下24小時、2天及7天後)中觀測到分解度 $\geq 1\%$ 。

此外，藉由在高溫及濕度條件(25°C /62%相對濕度及 40°C /75%相對濕度開放環境及 60°C 及 80°C 封閉環境)下儲存來研究非晶形式之穩定性。一週、兩週及四週後，藉由PXRD分析儲存之樣品。所有樣品均與非晶形起始物質相同。

進行超過30次結晶及乾燥實驗，包括懸浮液平衡、緩慢冷卻、蒸發及沈澱。除非晶形式(類別1)外，獲得四種新的結晶型(類別2、3、4及5)。

藉由FT-拉曼光譜、PXRD及TG-FTIR表徵四種新的形式(類別2、3、4及5)。所有形式均對應於溶劑合物(表1)。在真空或 N_2 流中進行乾燥實驗，目的在於獲得63415之結晶非溶劑合物形式。

表1. 所得類別之概述

類別	特徵	乾燥實驗結果
類別1	非晶形式	--
類別2	等結構溶劑合物(例如庚烷)	乾燥不成功
類別3	等結構溶劑合物(例如乙醇)	乾燥不成功
類別4	MeCN溶劑合物及去溶劑化溶劑合物	乾燥成功，結構未變化
類別5	THF溶劑合物	乾燥產生非晶形式

類別2：大部分所進行的結晶實驗產生類別2固體物質(參見以下實例部分)。其成員可對應於具有緊密結合之溶劑分子之等結構、非化學計量(< 0.5當量)溶劑合物(庚烷、環己烷、異丙醚、1-丁醇、三乙胺及可能其他溶劑(諸如己烷)、其他醚之溶劑合物等)。此類別內之拉曼光譜及PXRD圖形彼此極類似，因此結構可基本上一致且僅存在由所合併之不同溶劑引起的微小差異。

類別2樣品之乾燥實驗未產生結晶、非溶劑合物形式。即使高溫(80°C)及高真空(< 1×10^{-3} 毫巴)仍無法完全移除緊密結合之溶劑分子；始終保持溶劑含量> 2重量%。該等部分乾燥之樣品之結晶度降低，但既未轉化為不同結構亦未觀測到實質非晶體化。

類別3：類別3固體物質可由若干結晶作用獲得(參見以下實例部分)。類別3之樣品可能與具有緊密結合之溶劑分子之2PrOH、EtOH及可能丙酮之溶劑合物結構相同。其可對應於溶劑含量為約0.5當量之化學計量半溶劑合物或非化學計量溶劑合物。與類別2相同，此類別內之拉曼光譜及PXRD圖形彼此極類似，指示合併有不同溶劑之類似結構。

與類別2類似，未成功進行乾燥實驗。僅可部分移除極緊密結合之溶劑分子(亦即在 1×10^{-3} 毫巴及80°C下長達3天後自約5.4重量%變為約4.8重量%)。PXRD圖形保持不變化。

類別4可自7:3 MeCN/H₂O溶劑系統獲得(參見以下實例部分)。其最可能對應於結晶乙腈半溶劑合物。可藉由乾燥(在高溫下於真空或

N₂流中)移除大部分溶劑分子而不改變或破壞晶體結構(PXRD保持不變化)。因此，獲得結晶、非溶劑合物形式(或更確切言之，去溶劑化溶劑合物)。其具有輕微吸濕性(質量增加為約0.7重量%(自50%相對濕度至85%相對濕度))且可能熔點為196.1°C ($\Delta H=29.31$ J/g)。

類別5可自約1:1 THF/H₂O溶劑系統獲得。類別5含有結合之THF(且可能為H₂O)。由於無法容易地獨立定量該兩種組分之含量，因此未確定此結晶溶劑合物之確切性質。

乾燥類別5引起顯著去溶劑化且轉化為非晶形式(類別1)。在一些實施例中，可藉由使類別2庚烷溶劑合物懸浮於1:1 THF/H₂O中以形成類別5固體，接著進行乾燥及非晶體化來製備RTA 408之非晶形式。

可使用類別2起始物質進行旨在製備非晶形式(類別1)之實驗。以100 mg及3 g規模用類別2物質作為起始物質經兩步驟方法製備主要非結晶物質(類別1)(在100毫巴、80°C下乾燥若干天)。發現可藉由於冷水浴槽中非晶形式(類別1)自類別2物質之丙酮溶液直接沈澱來以單步驟方法製備完全非結晶物質(類別1)從而避免使用溶劑THF。

IV. 與炎症及/或氧化應激壓力有關之疾病

炎症為提供對感染性或寄生性生物體之抗性及其損傷組織之修復的生物過程。炎症通常特徵為局部血管擴張、發紅、腫脹及疼痛、白血球募集至感染或損傷部位、產生炎性細胞激素(諸如TNF- α 及IL-1)及產生活性氧物質或活性氮物質(諸如過氧化氫、超氧化物及過氧亞硝酸鹽)。在炎症後期，組織重塑、血管生成及瘢痕形成(纖維化)可作為傷口癒合過程之一部分而發生。在正常情況下，炎症反應受到調節且為暫時的，且一旦感染或損傷經適當處理，則以和諧方式消退。然而，若調節機制失效，則急性炎症可變得過度且危及生命。或者，炎症可變為慢性且引起累積性組織損傷或全身性併發症。基於至少本文中提出之證據，RTA 408可用於治療或預防炎症或與炎症有關之疾

病。

許多嚴重且難治之人類疾病涉及發炎過程之調節異常，該等疾病包括傳統上未視作發炎性病狀之疾病，諸如癌症、動脈粥樣硬化及糖尿病。在癌症情況下，炎性過程與包括腫瘤形成、發展、轉移及治療抗性之過程有關。在一些實施例中，RTA 408可用於治療或預防癌症，包括癌瘤、肉瘤、淋巴瘤、白血病、黑素瘤、中皮瘤、多發性骨髓瘤或精原細胞瘤，或膀胱癌、血癌、骨癌、腦癌、乳癌、中樞神經系統癌、子宮頸癌、結腸癌、子宮內膜癌、食道癌、膽囊癌、生殖器癌、泌尿生殖道癌、頭癌、腎癌、喉癌、肝癌、肺癌、肌肉組織癌、頸癌、口腔或鼻黏膜癌、卵巢癌、胰臟癌、前列腺癌、皮膚癌、脾癌、小腸癌、大腸癌、胃癌、睪丸癌或甲狀腺癌。目前瞭解到長期視作脂質代謝病症之動脈粥樣硬化主要為發炎性病狀，其中活化巨噬細胞在動脈粥樣硬化斑之形成及最終破裂中起重要作用。亦已展示發炎性信號轉導路徑之活化在胰島素抗性之發展以及與糖尿病性高血糖症有關之周邊組織損傷中起作用。活性氧物質及活性氮物質(諸如超氧化物、過氧化氫、氧化氮及過氧亞硝酸鹽)之過度產生為發炎性病狀之標誌。在多種疾病中已報導調節異常之過氧亞硝酸鹽產生的證據(Szabo 等人, 2007 ; Schulz 等人, 2008 ; Forstermann, 2006 ; Pall, 2007)。

諸如類風濕性關節炎、狼瘡、牛皮癬及多發性硬化症之自體免疫疾病涉及患病組織中發炎過程之不當及慢性活化，其係由免疫系統中自身識別與非自身識別及反應機制之功能障礙引起。在諸如阿茲海默氏病及帕金森氏病之神經退化性疾病中，神經損傷與微神經膠質細胞之活化及促炎性蛋白質(諸如誘導型氧化氮合成酶(iNOS))之含量升高有關。諸如腎衰竭、心臟衰竭、肝衰竭及慢性阻塞性肺病之慢性器官衰竭與慢性氧化應激壓力及炎症之存在密切相關，導致纖維化發展

及最終器官功能喪失。血管內皮細胞(其內襯於主血管及微血管中)中之氧化應激壓力可導致內皮功能障礙且咸信其為全身性心血管疾病、糖尿病併發症、慢性腎病及其他形式器官衰竭以及許多其他老化相關疾病(包括中樞神經系統及視網膜之退化性疾病)發展中之重要促進因素。

許多其他病症均涉及患病組織中之氧化應激壓力及炎症，該等病症包括炎症性腸病；發炎性皮膚病；與放射線療法及化學療法有關之黏膜炎及皮炎；眼睛疾病，諸如葡萄膜炎、青光眼、黃斑變性及各種形式之視網膜病變；移植失敗及排斥反應；局部缺血-再灌注損傷；慢性疼痛；骨骼及關節之退化性病狀，包括骨關節炎及骨質疏鬆症；哮喘及囊腫性纖維化；癲癇病症；及神經精神病狀，包括精神分裂症、抑鬱症、躁鬱症、創傷後壓力症、注意力不足症、自閉症系列障礙及飲食障礙(諸如神經性厭食症)。咸信發炎性信號傳導路徑之失調為肌肉萎縮疾病(包括肌肉萎縮症及各種形式之惡病質)之病理中的主要因素。

多種危及生命之急性病症亦涉及發炎性信號傳導之失調，該等病症包括涉及胰臟、腎臟、肝臟或肺之急性器官衰竭、心肌梗塞或急性冠狀動脈症候群、中風、敗血性休克、外傷、重度灼傷及全身性過敏反應(anaphylaxis)。

感染性疾病之許多併發症亦涉及發炎反應之失調。儘管發炎反應可殺死入侵病原體，但過度發炎反應亦可具有相當大的破壞性且在一些情況下可為感染組織中損傷之主要來源。此外，過度發炎反應亦可由於炎性細胞激素(諸如TNF- α 及IL-1)過度產生而引起全身性併發症。咸信此為由重度流行性感冒、重度急性呼吸道症候群及敗血症導致死亡之因素。

iNOS或環加氧酶-2 (COX-2)之異常或過度表現與許多疾病過程之

發病機制有關。舉例而言，顯然NO為有效突變劑(Tamir及Tannebaum, 1996)，且氧化氮亦可活化COX-2 (Salvemini等人, 1994)。此外，由致癌物氧偶氮甲烷(azoxymethane)誘導之大鼠結腸腫瘤中iNOS有明顯增加(Takahashi等人, 1997)。已展示齊墩果酸之一系列合成三萜類類似物為細胞發炎過程(諸如由小鼠巨噬細胞中可誘導之氧化氮合成酶(iNOS)及COX-2之IFN- γ 誘導)之強效抑制劑。參見Honda等人(2000a)；Honda等人(2000b)；及Honda等人(2002)，其均以引用的方式併入本文中。

在一個態樣中，本文中揭示之RTA 408在某種程度上由其抑制巨噬細胞衍生之RAW 264.7細胞中由暴露於 γ -干擾素誘導之氧化氮產生的能力表徵。RTA 408進一步由誘導抗氧化劑蛋白質(諸如NQO1)之表現及降低促炎性蛋白質(諸如COX-2及可誘導型氧化氮合成酶(iNOS))之表現的能力表徵。該等性質與治療多種涉及氧化應激壓力及發炎過程失調之疾病及病症有關，該等疾病及病症包括癌症、由局部或全身曝露於離子化放射線引起之併發症、由放射線療法或化學療法引起之黏膜炎及皮炎、自體免疫疾病、心血管疾病(包括動脈粥樣硬化)、局部缺血-再灌注損傷、急性及慢性器官衰竭(包括腎衰竭及心臟衰竭)、呼吸道疾病、糖尿病及糖尿病併發症、重度過敏、移植排斥反應、移植植物抗宿主疾病、神經退化性疾病、眼睛及視網膜疾病、急性及慢性疼痛、退化性骨疾病(包括骨關節炎及骨質疏鬆症)、發炎性腸疾病、皮炎及其他皮膚病、敗血症、灼傷、癲癇病症及神經精神病症。

在另一態樣中，RTA 408可用於治療罹患諸如眼睛疾病之病狀的個體。舉例而言，葡萄膜炎、黃斑變性(乾性形式及濕性形式)、青光眼、糖尿病性黃斑水腫、瞼炎、糖尿病性視網膜病變、角膜內皮之疾病及病症(諸如富克斯內皮角膜營養失調症)、手術後炎症、乾眼症、過敏性結膜炎及其他形式結膜炎為可用RTA 408治療之眼睛疾病之非

限制性實例。

在另一態樣中，RTA 408可用於治療罹患諸如皮膚疾病或病症之病狀的個體。舉例而言，皮炎，包括過敏性皮炎、異位性皮炎、由化學暴露引起之皮炎、及放射線誘發之皮炎；熱或化學灼傷；慢性傷口，包括糖尿病性潰瘍、褥瘡及靜脈性潰瘍；粉刺；脫髮，包括禿髮及藥物誘發之脫髮；其他毛囊病症；大皰性表皮鬆解；曬傷及其併發症；皮膚色素沉著病症，包括白斑病；老化相關皮膚病狀；手術後傷口癒合；預防或減少由皮膚損傷、手術或灼傷產生之疤痕；牛皮癬；自體免疫疾病或移植物抗宿主疾病之皮膚癢狀；預防或治療皮膚癌；涉及皮膚細胞過度增殖之病症(諸如表皮角化病)為可使用RTA 408治療之皮膚疾病之非限制性實例。

不受理論約束，威信抗氧化性/消炎性Keap1/Nrf2/ARE路徑之活化與本文中揭示之化合物之消炎性及抗癌性有關。

在另一態樣中，RTA 408可用於治療罹患由一或多個組織中之氧化應激壓力程度升高引起之病狀的個體。氧化應激壓力係由異常高或持續很久之含量之活性氧物質(諸如超氧化物、過氧化氫、氧化氮及過氧亞硝酸鹽(由氧化氮與超氧化物之反應形成))引起。氧化應激壓力可伴有急性或慢性炎症。氧化應激壓力可由以下原因引起：粒線體功能障礙、免疫細胞(諸如巨噬細胞及嗜中性白血球)之活化、急性曝露於外部試劑(諸如離子化放射線或細胞毒性化學治療劑(例如小紅黴))、外傷或其他急性組織損傷、局部缺血/再灌注、不良循環或貧血、局部或全身性低氧或高氧、炎症細胞激素及其他炎症相關蛋白之含量升高及/或其他異常生理狀態(諸如高血糖或低血糖)。

在許多該等病狀之動物模型中，已展示刺激誘導型血紅素加氧酶(HO-1)(Nrf2路徑之目標基因)之表現具有顯著治療作用，包括在心肌梗塞、腎衰竭、移植失敗及排斥反應、中風、心血管疾病及自體免

疫疾病之模型中(例如Sacerdoti等人, 2005 ; Abraham及Kappas, 2005 ; Bach, 2006 ; Araujo 等人, 2003 ; Liu 等人, 2006 ; Ishikawa 等人, 2001 ; Kruger等人, 2006 ; Satoh等人, 2006 ; Zhou等人, 2005 ; Morse及Choi, 2005 ; Morse及Choi, 2002)。此酶將游離血紅素分解為鐵、一氧化碳(CO)及膽綠素(其隨後轉化為有效抗氧化分子膽紅素)。

在另一態樣中, RTA 408可用於預防或治療由炎症加劇之氧化應激壓力引起的急性及慢性組織損傷或器官衰竭。此類別之疾病之實例包括: 心臟衰竭、肝衰竭、移植失敗及排斥反應、腎衰竭、胰臟炎、纖維化肺部疾病(尤其為囊腫性纖維化、COPD及特發性肺纖維化)、糖尿病(包括併發症)、動脈粥樣硬化、局部缺血-再灌注損傷、青光眼、中風、自體免疫疾病、自閉症、黃斑變性及肌肉萎縮症。舉例而言, 在自閉症情況下, 研究表明中樞神經系統中之氧化應激壓力提高可促進疾病發展(Chauhan及Chauhan, 2006)。

亦有證據將氧化應激壓力及炎症與中樞神經系統之許多其他病症之發展及病理相聯繫, 該等病症包括精神病症, 諸如精神病、重度抑鬱症及躁鬱症; 癲癇病症, 諸如癲癇症; 疼痛及感官症候群, 諸如偏頭痛、神經痛或耳鳴; 及行為症候群, 諸如注意力不足症。參見例如Dickerson等人, 2007 ; Hanson等人, 2005 ; Kendall-Tackett, 2007 ; Lencz等人, 2007 ; Dudhgaonkar等人, 2006 ; Lee等人, 2007 ; Morris等人, 2002 ; Ruster等人, 2005 ; McIver等人, 2005 ; Sarchielli等人, 2006 ; Kawakami等人, 2006 ; Ross等人, 2003, 其均以引用的方式併入本文中。舉例而言, 炎性細胞激素(包括TNF- α 、干擾素- γ 及IL-6)之含量升高與重度精神疾病有關(Dickerson等人, 2007)。微神經膠質細胞活化亦與重度精神疾病有關。因此, 下調炎性細胞激素及抑制微神經膠質細胞之過度活化可有利於患有精神分裂症、重度抑鬱症、躁鬱症、自閉症系列障礙及其他神經精神病症之患者。

因此，在涉及單獨氧化應激壓力或由發炎加劇之氧化應激壓力的病理中，治療可包含投與個體治療有效量之本發明化合物，諸如上文或整個本說明書中所述之該等化合物。治療可在氧化應激壓力之可預測狀態之前預防性投與(例如器官移植或向癌症患者施以放射線療法)，或其可在涉及確定之氧化應激壓力及發炎的背景下治療性投與。在一些實施例中，當使用本發明化合物治療接受放射線療法及/或化學療法之患者時，本發明化合物可在放射線或化學療法之前、同時及/或之後投與，或化合物可與其他療法組合投與。在一些實施例中，本發明化合物可預防與放射線療法或化學療法(使用不同藥劑)有關之副作用及/或降低其嚴重程度而不降低放射線療法或化學療法之抗癌作用。因為放射線療法及/或化學療法可能由於該等副作用而受劑量限制，因此在一些實施例中，本發明化合物可用於實現放射線療法及/或化學療法之更高劑量及/或更頻繁給藥例如從而產生更大治療功效。在一些實施例中，當與放射線療法及/或化學療法組合投與時，本發明化合物可增強既定劑量之放射線及/或化學療法之功效。在一些實施例中，當與放射線療法及/或化學療法組合投與時，本發明化合物可增強既定劑量之放射線及/或化學療法之功效及降低(或至少不增加)放射線及/或化學療法之副作用。在一些實施例中且不受理論約束，此組合功效可由本發明化合物抑制促炎性轉錄因子NF- κ B之活性引起。NF- κ B通常在癌細胞中慢性活化，且該活化與治療抗性有關且促進腫瘤發展(例如Karin, 2006；Aghajan等人, 2012)。在一些實施例中，本發明化合物亦可抑制其他促進炎症及癌症之轉錄因子，諸如STAT3 (例如He及Karin 2011；Grivennikov及Karin, 2010)。

RTA 408可用於治療或預防發炎病狀，諸如敗血症、皮炎、自體免疫疾病及骨關節炎。RTA 408亦可用於治療或預防發炎性疼痛及/或神經疼痛，例如藉由誘導Nrf2及/或抑制NF- κ B來實現。

RTA 408亦可用於治療或預防疾病，諸如癌症、炎症、阿茲海默氏病、帕金森氏病、多發性硬化、自閉症、肌萎縮性側索硬化、亨庭頓氏病、自體免疫疾病(諸如類風濕性關節炎、狼瘡、克羅恩氏病及牛皮癬)、炎症性腸病、所有其他咸信發病機制與氧化氮或前列腺素之過度產生有關之疾病以及與單獨氧化應激壓力或由炎症加劇之氧化應激壓力有關之病理學。RTA 408可用於治療或預防癌症，包括癌瘤、肉瘤、淋巴瘤、白血病、黑素瘤、中皮瘤、多發性骨髓瘤或精原細胞瘤，或膀胱癌、血癌、骨癌、腦癌、乳癌、中樞神經系統癌、子宮頸癌、結腸癌、子宮內膜癌、食道癌、膽囊癌、生殖器癌、泌尿生殖道癌、頭癌、腎癌、喉癌、肝癌、肺癌、肌肉組織癌、頸癌、口腔或鼻黏膜癌、卵巢癌、胰臟癌、前列腺癌、皮膚癌、脾癌、小腸癌、大腸癌、胃癌、睪丸癌或甲狀腺癌。

炎症之另一態樣為產生發炎性前列腺素，諸如前列腺素E。RTA 408可用於促進血管舒張、血漿外滲、局部疼痛、發熱及其他炎症症狀。酶COX-2之誘發形式與其產生有關，且在發炎組織中發現高含量之COX-2。因此，抑制COX-2可減輕許多發炎症狀，且大量重要消炎藥物(例如布洛芬(ibuprofen)及塞內昔布(celecoxib))藉由抑制COX-2活性起作用。已證實一類環戊烯酮前列腺素(cyPG)(例如15-去氧-前列腺素J2，亦稱為PGJ2)在刺激炎症之協調消退中起作用(例如Rajakariar等人，2007)。COX-2亦與環戊烯酮前列腺素之產生相關聯。因此，抑制COX-2可干擾炎症之完全消退，潛在地促進活化免疫細胞存留於組織中且導致慢性「鬱積」發炎。此作用可造成長時間使用選擇性COX-2抑制劑之患者中心血管疾病之發病率增加。

在一個態樣中，RTA 408可用於藉由選擇性活化調節氧化還原敏感性轉錄因子之活性的蛋白質上之調節性半胱胺酸殘基(RCR)來控制細胞內促炎性細胞激素之產生。已證實cyPG對RCR之活化會引發促

消退程式，其中有效誘導抗氧化性及細胞保護性轉錄因子Nrf2之活性且抑制促氧化性及促炎性轉錄因子NF- κ B及STAT之活性。在一些實施例中，RTA 408可用於增加抗氧化性及還原性分子(NQO1、HO-1、SOD1、 γ -GCS)之產生且減少氧化應激壓力及促氧化性及促炎性分子(iNOS、COX-2、TNF- α)之產生。在一些實施例中，RTA 408可用於藉由促進炎症消退及限制對宿主之過度組織損傷來使發炎性宿主細胞恢復至非發炎性狀態。

A. 癌症

在一些實施例中，本發明之RTA 408、多晶型及方法可用於誘導腫瘤細胞之細胞凋亡、誘導細胞分化、抑制癌細胞增殖、抑制發炎性反應及/或起化學預防功能。舉例而言，本發明提供具有以下特性中之一或多者的新穎多晶型：(1)能夠誘導惡性及非惡性細胞之細胞凋亡及分化，(2)在次微莫耳或奈莫耳水準下能夠作為多種惡性或惡變前細胞之增殖抑制劑，(3)能夠抑制發炎性酶誘導型氧化氮合成酶(iNOS)重新合成，(4)能夠抑制NF- κ B活化及(5)能夠誘導血紅素加氧酶-1 (HO-1)表現。

iNOS及COX-2之含量在某些癌症中升高且與癌發生有關且已證實COX-2抑制劑降低人類中原發性結腸腺瘤之發病率(Rostom等人, 2007; Brown及DuBois, 2005; Crowel等人, 2003)。iNOS表現於骨髓衍生之抑制細胞(MDSC)中(Angulo等人, 2000)且已證實癌細胞中之COX-2活性引起前列腺素E₂ (PGE₂)的產生，已證實前列腺素E₂誘導精胺酸酶於MDSC中之表現(Sinha等人, 2007)。精胺酸酶及iNOS為利用L-精胺酸作為受質且分別產生L-鳥胺酸與尿素以及L-瓜胺酸與NO的酶。已證實藉由MDSC自腫瘤微環境中去除精胺酸以及NO及過氧亞硝酸鹽之產生可抑制T細胞增殖且誘導T細胞之細胞凋亡(Bronte等人, 2003)。已證實對COX-2及iNOS之抑制可減少MDSC之積聚，恢復腫

瘤相關T細胞之細胞毒性活性及延緩腫瘤生長(Sinha等人, 2007; Mazzoni等人, 2002; Zhou等人, 2007)。

已暗示抑制NF- κ B及JAK/STAT信號傳導路徑作為一種抑制癌症上皮細胞增殖及誘導其細胞凋亡之策略。已證實STAT3及NF- κ B之活化可引起癌細胞中細胞凋亡之抑制且促進增殖、入侵及轉移。已展示此等過程中所涉及之許多目標基因藉由NF- κ B及STAT3來轉錄調節(Yu等人, 2007)。

除在癌症上皮細胞中之直接作用外, NF- κ B及STAT3在腫瘤微環境內發現之其他細胞中亦具有重要作用。動物模型中之實驗已證明癌細胞與造血細胞中均需要NF- κ B以擴展發炎對癌症引發及進程之作用(Greten等人, 2004)。癌細胞及骨髓細胞中NF- κ B之抑制分別減少所產生腫瘤之數目及大小。癌細胞中STAT3之活化引起若干種抑制腫瘤相關性樹突狀細胞(DC)成熟之細胞激素(IL-6、IL-10)的產生。此外, 在樹突狀細胞自身中藉由此等細胞激素活化STAT3。在癌症之小鼠模型中對STAT3之抑制使DC恢復成熟, 促進抗腫瘤免疫性且抑制腫瘤生長(Kortylewski等人, 2005)。在一些實施例中, RTA 408及其多晶型可用於治療癌症, 包括例如前列腺癌。在一些實施例中, RTA 408及其多晶型可以組合療法使用以治療癌症, 包括例如前列腺癌。參見例如以下實例H。

B. 多發性硬化及其他神經退化性病狀

在一些實施例中, 本發明之RTA 408、多晶型及方法可用於治療患者的多發性硬化(MS)或其他神經退化性病狀(諸如阿茲海默氏病、帕金森氏病或肌萎縮性側索硬化)。已知MS為中樞神經系統之發炎病狀(Williams等人, 1994; Merrill及Benvenist, 1996; Genain及Nauser, 1997)。基於若干研究, 有證據表明發炎性、氧化性及/或免疫機理與阿茲海默氏病(AD)、帕金森氏病(PD)、肌萎縮性側索硬化(ALS)及MS

之發病機制有關(Bagasra等人, 1995 ; McGeer及McGeer, 1995 ; Simonian及Coyle, 1996 ; Kaltschmidt等人, 1997)。流行病學資料表明長期使用NSAID (其阻斷花生四烯酸酯合成前列腺素)可顯著降低AD發展風險(McGeer等人, 1996 ; Stewart等人, 1997)。因此, 阻斷NO及前列腺素形成之藥劑可用於預防及治療神經退化性疾病之方法中。用於治療該疾病之成功的治療性候選物通常需要能夠滲透血腦障壁。參見例如美國專利公開案2009/0060873, 其以引用的方式併入本文中。

C. 神經炎症

在一些實施例中, 本發明之RTA 408、多晶型及方法可用於治療神經炎症患者。神經炎症囊括中樞神經系統中微神經膠質細胞及星形膠質細胞之反應及作用具有根本性發炎樣特徵且此等反應對多種神經病症之發病機制及進程而言重要的觀念。此等觀念已自阿茲海默氏病擴展至其他神經退化性疾病(Eikelenboom等人, 2002 ; Ishizawa及Dickson, 2001)、局部缺血/中毒性疾病(Gehrmann等人, 1995 ; Touzani等人, 1999)、腫瘤生物學(Graeber等人, 2002)且甚至擴展至正常腦發育。神經炎症合併有多種複雜細胞反應, 其包括微神經膠質細胞及星形細胞之活化以及細胞激素、趨化因子、補體蛋白、急性期蛋白之誘導、氧化損傷及相關分子過程, 且該等事件可對神經元功能造成有害影響, 引起神經元損傷, 引起進一步神經膠質活化且最終引起神經退化。

D. 腎臟疾病

在一些實施例中, 基於例如US 8,129,429 (其以引用的方式併入本文中)教示之方法, RTA 408以及其多晶型可用於治療罹患腎臟疾病及病症之患者, 包括腎衰竭及慢性腎病(CKD)。腎衰竭係全世界範圍內、尤其已開發國家中重要的醫學問題, 其導致代謝廢物不能完全自血液中清除且導致血液中電解質之濃度異常。雖然糖尿病及高血壓為

慢性腎衰竭(亦稱為慢性腎病(CKD))之最重要起因，但其亦與其他病狀(諸如狼瘡)有關。急性腎衰竭可因暴露於某些藥物(例如乙醯胺苯酚(acetaminophen))或有毒化學物質而產生，或因與休克或外科手術程序(諸如移植)有關之局部缺血-再灌注損傷而產生，且可導致慢性腎衰竭。在許多患者中，腎衰竭發展至患者需要定期透析或腎移植來繼續存活的階段。此等程序均具有高侵襲性且與顯著副作用及生活品質問題相關聯。雖然存在針對一些腎衰竭併發症(諸如副甲狀腺機能亢進及高磷酸鹽血症)之有效治療，但已證實尚不存在可用於停止或逆轉腎衰竭之潛在進程的治療。因此，可改善受損腎功能之藥劑將代表腎衰竭治療之重大進展。

發炎在CKD之病理中起顯著作用。在氧化應激壓力與腎功能障礙之間亦存在強烈的機械聯繫。NF- κ B信號傳導路徑在CKD進程中起重要作用，因為NF- κ B調節MCP-1之轉錄，MCP-1為負責單核細胞/巨噬細胞募集之趨化因子，單核細胞/巨噬細胞之募集引起發炎反應，最終使腎損傷(Wardle, 2001)。Keap1/Nrf2/ARE路徑控制編碼抗氧化酶(包括血紅素氧合酶1 (HO-1))之若干基因的轉錄。雌性小鼠中Nrf2基因之切除導致產生狼瘡樣絲球體腎炎(Yoh等人, 2001)。此外，若干研究已證實HO-1表現係回應於腎損傷及發炎而誘導且此酶及其產物膽紅素及一氧化碳在腎中起保護作用(Nath等人, 2006)。

急性腎損傷(AKI)可在局部缺血-再灌注、用某些藥理學藥劑(諸如順鉑(cisplatin)及雷帕黴素(rapamycin))治療及靜脈內注射醫學成像中所用之放射性造影劑後發生。如在CKD中，發炎及氧化應激壓力參與AKI之病理。並不完全瞭解放射性造影劑誘發之腎病(RCN)的潛在分子機制；然而，包括延長之血管收縮、受損之腎自體調節及造影劑之直接毒性之事件的組合很可能均造成腎衰竭(Tumlin等人, 2006)。血管收縮導致腎血流量降低且造成局部缺血-再灌注及活性氧物質產

生。在此等條件下，HO-1係經強烈誘導且已證實在若干不同器官(包括腎)中預防局部缺血-再灌注損傷(Nath等人, 2006)。特定言之，已證實HO-1之誘導在RCN之大鼠模型中具有保護性(Goodman等人, 2007)。再灌注亦在某種程度上經由NF- κ B信號傳導之活化來誘導發炎反應(Nichols, 2004)。已提議靶向NF- κ B作為預防器官損傷之治療策略(Zingarelli等人, 2003)。

E. 心血管疾病

在一些實施例中，本發明之RTA 408、多晶型及方法可用於治療心血管疾病患者。雖然CV疾病之病源學較為複雜，但大部分原因與關鍵器官或組織之血液供應不足或完全中斷有關。通常此病狀由一或多個動脈粥樣硬化斑之破裂引起，該一或多個動脈粥樣硬化斑之破裂導致血栓形成，其阻斷關鍵血管中之血流。

在一些情況下，動脈粥樣硬化可能在關鍵血管中十分廣泛使得發生狹窄(動脈狹窄)且關鍵器官(包括心臟)之血流量長期不足。該長期局部缺血可導致許多種類之終末器官損傷，包括與充血性心臟衰竭有關之心臟肥大。

當動脈內襯(內皮)之物理缺陷或損傷引發包括血管平滑肌細胞增殖及白血球浸潤至患病區域中之發炎反應時，發生動脈粥樣硬化，其為導致多種形式之心血管疾病之根本缺陷。最終，可形成稱為動脈粥樣硬化斑之複雜病灶，其由以上提及之細胞與攜帶膽固醇之脂蛋白及其他物質之沈積物之組合組成(例如Hansson等人, 2006)。儘管現有治療性處理提供顯著效益，但心血管疾病之死亡率仍然很高且仍顯著未滿足心血管疾病治療之需要。

已證實HO-1誘導在多種心血管疾病模型中為有益的且少量HO-1表現在臨床上與CV疾病風險升高有關。因此，本發明之RTA 408、多晶型及方法可用於治療或預防多種心血管病症，包括(但不限於)動脈

粥樣硬化、高血壓、心肌梗塞、慢性心臟衰竭、中風、蛛網膜下出血及再狹窄。在一些實施例中，本發明之RTA 408、多晶型及方法可與其他已知心血管療法(諸如(但不限於)抗凝血劑、血栓溶解劑、鏈激酶、組織纖維蛋白溶酶原活化因子、手術、冠狀動脈旁路接枝、氣囊血管成形術(balloon angioplasty)、使用血管支架、抑制細胞增殖之藥物或降低膽固醇含量之藥物)一起以組合療法使用。

F. 糖尿病

在一些實施例中，基於例如US 8,129,429 (其以引用的方式併入本文中)教示之方法，RTA 408及其多晶型可用於治療糖尿病患者。糖尿病係一種特徵為身體不能調節葡萄糖之循環含量的複雜疾病。此障礙可由缺乏胰島素(一種調節各種組織中葡萄糖之產生與吸收的肽激素)引起。缺乏胰島素使肌肉、脂肪及其他組織適當吸收葡萄糖之能力受損，引起高血糖症(血液中葡萄糖含量異常高)。該胰島素缺乏最通常由胰臟之胰島細胞的產生不足引起。在大多數狀況下，此由此等細胞之自體免疫破壞(稱為1型或青少年發作型糖尿病之病狀)而產生，但亦可歸因於身體外傷或一些其他原因。

當肌肉及脂肪細胞變得對胰島素反應不足且不適當吸收葡萄糖而引起高血糖症時，亦可產生糖尿病。此現象稱為胰島素抗性，且所產生之病狀稱為2型糖尿病。最常見類型之2型糖尿病與肥胖症及高血壓高度相關。肥胖症與脂肪組織之發炎狀態有關，認為脂肪組織之發炎狀態在胰島素抗性發展中起重要作用(例如Hotamisligil, 2006；Guilherme等人, 2008)。

糖尿病與許多組織損傷相關聯，在很大程度上係因為高血糖症(及低血糖症，其可由過多或不足時控劑量之胰島素引起)為氧化應激壓力之重要來源。本發明之RTA 408、多晶型及方法由於其保護免受氧化應激壓力損害之能力(尤其藉由HO-1表現之誘導)而可用於治療糖

尿病之多種併發症。如上所述(Cai等人, 2005), 懷疑肝臟中之慢性發炎及氧化應激壓力為2型糖尿病發展中之主要影響因素。此外, 諸如噻唑啉二酮之PPAR γ 促效劑能夠降低胰島素抵抗且已知其可有效治療2型糖尿病。在一些實施例中, 本發明之RTA 408、多晶型及方法可與PPAR γ 促效劑(諸如噻唑啉二酮)一起以組合療法使用。

G. 關節炎

在一些實施例中, 本發明之RTA 408、多晶型及方法可用於治療患有關節炎形式之患者。在一些實施例中, 可用本發明之RTA 408及多晶型治療之關節炎形式為類風濕性關節炎(RA)、牛皮癬性關節炎(PsA)、脊椎關節病(SpA)(包括僵直性脊椎炎(AS)、反應性關節炎(ReA)及腸病性關節炎(EA))、青少年類風濕性關節炎(JRA)及早期發炎性關節炎。

對於類風濕性關節炎, 第一徵象通常在滑液內襯層中出現, 伴隨滑液纖維母細胞增殖且其連接至關節邊緣之關節面(Lipsky, 1998)。隨後, 巨噬細胞、T細胞及其他發炎細胞募集至關節中, 該等細胞在其中產生多種介體(包括造成導致骨骼及軟骨破壞之慢性後遺症之細胞激素介白素-1 (IL-1)及在發炎中起作用之腫瘤壞死因子(TNF- α))(Dinarello, 1998; Arend及Dayer, 1995; van den Berg, 2001)。患有RA之患者的血漿中之IL-1濃度顯著高於健康個體的血漿中之IL-1濃度, 且血漿IL-1含量與RA疾病活性顯著相關聯(Eastgate等人, 1988)。此外, IL-1之滑液含量與RA之各種放射照相及組織學特徵有關(Kahle等人, 1992; Rooney等人, 1990)。

其他形式的關節炎包括牛皮癬性關節炎(PsA), 其為由關節炎與牛皮癬之關聯表徵之慢性發炎性關節病。研究已揭示PsA與其他脊椎關節病(SpA)(包含僵直性脊椎炎、反應性關節炎及腸病性關節炎之一組疾病)共有大量遺傳、病原性及臨床特徵(Wright, 1979)。根據顯示

在PsA但非RA中存在廣泛附著點炎(enthesitis)的成像研究，PsA屬於SpA群組的觀點近來已獲得進一步支持(McGonagle等人，1999；McGonagle等人，1998)。更特定言之，已假定附著點炎為SpA中發生之最早事件之一，導致脊柱中骨重塑及關節僵硬，以及當發炎附著點靠近周邊關節時導致關節滑膜炎。在牛皮癬性皮膚(Ettehadi等人，1994)及滑液(Partsch等人，1997)中已報導TNF- α 的量增加。近來試驗已證實抗TNF治療在PsA (Mease等人，2000)與僵直性脊椎炎(Brandt等人，2000)中的積極益處。

關於兒童中最普遍形式之關節炎的術語青少年型類風濕性關節炎(JRA)適用於特徵為慢性發炎及滑膜肥大之疾病家族。該術語與在歐洲被稱為青少年慢性關節炎及/或青少年特發性關節炎之疾病家族重疊，但並非完全同義。

多關節JRA為一種特徵為包括手之小關節之多個關節(四個或四個以上)中發炎及滑膜增殖的獨特臨床亞型(Jarvis, 2002)。JRA之此亞型由於其牽涉多個關節與其隨時間快速發展之能力而可為嚴重的。雖然在臨床上獨特，但多關節JRA並不單一旦患者在疾病表現、發作年齡、預後及治療反應方面不同。此等差異很可能反映可發生在此疾病中的免疫及發炎發作之性質之變化範圍(Jarvis, 1998)。

僵直性脊椎炎(AS)為脊椎關節病之廣泛疾病分類中之疾病子集。患有脊椎關節病之各種子集之患者具有通常極為不同之疾病病源，範圍自細菌感染至遺傳。然而，在所有亞群中，該疾病過程之最終結果為軸關節炎。

AS為一種具有骨骼外表現或不具有骨骼外表現的軸骨骼之慢性全身性發炎風濕性病。雖然主要侵襲薦髌關節及脊柱，但亦可能涉及髖及肩關節，且不太常見地涉及周邊關節或某些關節外結構(諸如眼睛、維管結構、神經系統及胃腸系統)。尚未完全理解疾病之病源

學(Wordsworth, 1995 ; Calin及Taurog, 1998)。病源學與I類主要組織相容性(MHC I) HLA-B27對偶基因(Calin及Taurog, 1998)強烈相關。AS在個體正值壯年時侵襲個體且由於其可能引起腱、韌帶、關節及骨骼之慢性疼痛及不可逆損傷而令人畏懼(Brewerton等人, 1973a ; Brewerton等人, 1973b ; Schlosstein等人, 1973)。

H. 潰瘍性結腸炎

在一些實施例中，本發明之RTA 408、多晶型及方法可用於治療潰瘍性結腸炎患者。潰瘍性結腸炎係一種在大腸內層中引起炎症及瘡(稱為潰瘍)之疾病。雖然炎症通常發生在直腸及結腸下部，但其可侵襲整個結腸。潰瘍性結腸炎亦可稱為結腸炎或直腸炎。炎症使結腸經常排空，引起腹瀉。潰瘍形成於炎症殺死結腸內層之細胞的位置處且潰瘍出血並產生膿液。

潰瘍性結腸炎為一種炎症性腸病(IBD)，炎症性腸病係對引起小腸及結腸中發炎之疾病的通稱。潰瘍性結腸炎可能難以診斷，因為其症狀類似於其他腸病症及IBD之另一類型(克羅恩氏病)。克羅恩氏病不同於潰瘍性結腸炎，因為其引起腸壁內較深處之炎症。克羅恩氏病亦通常發生在小腸，但其亦可發生在口腔、食道、胃、十二指腸、大腸、闌尾及肛門。

I. 克羅恩氏病

在一些實施例中，本發明之RTA 408、多晶型及方法可用於治療克羅恩氏病患者。克羅恩氏病之症狀包括腸發炎以及腸狹窄及癰之發展；神經病變通常伴隨此等症狀。雖然通常建議採用諸如5-胺基水楊酸鹽(例如馬沙拉嗪(mesalamine))或皮質類固醇之消炎藥，但該等藥物並不始終有效(Botoman等人, 1998中評述)。有時用環孢靈(cyclosporine)進行免疫抑制有益於對皮質類固醇有抵抗性或無耐受性之患者(Brynskov等人, 1989)。

在克羅恩氏病之活躍狀況下，升高濃度之TNF- α 及IL-6分泌至血液循環中，且黏膜細胞局部過度產生TNF- α 、IL-1、IL-6及IL-8(同上；Funakoshi等人，1998)。此等細胞激素對生理系統(包括骨骼發育、血細胞生成及肝臟、甲狀腺及神經精神功能)可具有廣泛影響。此外，已在患有克羅恩氏病之患者中觀測到IL-1 β /IL-1ra比率的不平衡(有利於促炎性IL-1 β)(Rogler及Andus, 1998；Saiki等人，1998；Dionne等人，1998；但參見Kuboyama, 1998)。

已建議用於克羅恩氏病之治療包括使用各種細胞激素拮抗劑(例如IL-1ra)、抑制劑(例如IL-1 β 轉化酶抑制劑及抗氧化劑)及抗細胞激素抗體(Rogler及Andus, 1998；van Hogezaand及Verspaget, 1998；Reimund等人，1998；Lugering等人，1998；McAlindon等人，1998)。詳言之，已試驗針對TNF- α 之單株抗體，在克羅恩氏病治療中獲得一定成功(Targan等人，1997；Stack等人，1997；van Dullemen等人，1995)。該等化合物可與本發明之RTA 408、多晶型及方法一起以組合療法使用。

J. 全身性紅斑狼瘡

在一些實施例中，本發明之RTA 408、多晶型及方法可用於治療SLE患者。全身性紅斑狼瘡(SLE)係一種特徵為自體抗體及免疫複合物在組織中沈積從而引起組織損傷之自體免疫風濕性疾病(Kotzin, 1996)。與諸如MS及1型糖尿病之自體免疫疾病相比，SLE可能直接涉及多個器官系統，且其臨床表現多樣且可變(由Kotzin及O'Dell, 1995評述)。舉例而言，一些患者可主要顯示皮疹及關節疼痛，展示自行緩解且很少需要藥物治療。該範圍之另一端為顯示需要用高劑量類固醇及細胞毒性藥物(諸如環磷醯胺)治療之重度且具進行性之腎損害的患者(Kotzin, 1996)。

一種由SLE產生之抗體IgG抗dsDNA在狼瘡性絲球體腎炎(GN)之

發展中起重要作用(Hahn及Tsao, 1993 ; Ohnishi等人, 1994)。絲球體腎炎為一種嚴重病狀，其中因腎小球基底膜之上皮側增長而使純化腎臟血液之腎小球的毛細管壁變厚。該疾病通常為慢性及進行性的，且可最終導致腎衰竭。

K. 大腸急躁症

在一些實施例中，本發明之RTA 408、多晶型及方法可用於治療大腸急躁症(IRS)患者。IRS係一種特徵為腹痛及腸習性改變的功能性障礙。此症候群可始於青年成人期且可與顯著失能相關聯。此症候群並非單一病症。實情為，已基於主要症狀來描述IRS之亞型：腹瀉、便秘或疼痛。在不存在諸如發熱、體重減輕及胃腸道出血之「警報」症狀的情況下，需要有限的處理。

越來越多的IRS之起源之證據表明感染性腸炎與IRS之後續發展之間的關係。炎性細胞激素可起作用。在具有積習性細菌性胃腸炎之病史之患者的調查(Neal等人, 1997)中，有25%報導腸習性不斷改變。在急性感染時症狀持續可歸因於心理應激壓力(Gwee等人, 1999)。

近來資料表明小腸中細菌過度生長可在IRS症狀中起作用。在一項研究(Pimentel等人, 2000)中，涉及進行氫呼吸測試之202名IRS患者中有157名(78%)具有關於細菌過度生長呈陽性的測試研究結果。在進行隨訪測試之47名個體中，25名患者(53%)報導在抗生素治療下症狀(亦即腹痛及腹瀉)得到改善。

L. 休格連氏症候群(Sjögren's Syndrome)

在一些實施例中，本發明之RTA 408、多晶型及方法可用於治療休格連氏症候群患者。原發性休格連氏症候群(SS)係一種慢性的緩慢進行性全身性自體免疫疾病，其主要侵襲中年女性(女性與男性之比率為9:1)，但其可出現在所有年齡(包括兒童期)(Jonsson等人, 2002)。該疾病之特徵為淋巴細胞浸潤及外分泌腺破壞，外分泌腺係由包括

CD4⁺、CD8⁺淋巴細胞及B細胞之單核細胞浸潤(Jonsson等人, 2002)。此外，在三分之一患者中可見腺體外(全身性)表現(Jonsson等人, 2001)。

在其他全身性自體免疫疾病(諸如RA)中，已鑑別對異位生發中心(GC)關鍵的因子。具有GC之類風濕性滑膜組織展示產生趨化因子CXCL13、CCL21及淋巴毒素(LT)- β (在濾泡中心及套區B細胞上偵測到)。對此等分析物之多變量回歸分析鑑別CXCL13及LT- β 為預測類風濕性滑膜炎中之GC的孤立性細胞激素(Weyand及Goronzy, 2003)。近來，已展示唾液腺中之CXCL13及CXCR5藉由募集B細胞及T細胞且因此促進SS中淋巴新生及異位GC形成而在發炎過程中起重要作用(Salomonsson等人, 2002)。

M. 牛皮癬

在一些實施例中，本發明之RTA 408、多晶型及方法可用於治療牛皮癬患者。牛皮癬係一種起鱗及發炎之慢性皮膚疾病，其侵襲2%至2.6%之美國人口或5,800,000至7,500,000名人類。當皮膚細胞自其在皮膚表面下之起點迅速上升且在其具有成熟機會之前聚積在表面上時，發生牛皮癬。雖然通常此移動(亦稱為更新)花費約1個月，但在牛皮癬中其可發生在僅僅數天中。在其典型形式中，牛皮癬產生經銀屑覆蓋之厚的紅色(發炎)皮膚片狀物。此等有時稱為斑之片狀物通常發癢或感到疼痛。雖然其最常出現在肘、膝、腿之其他部分、頭皮、下背、臉、手掌及腳底上，但其亦可出現在身體上任何地方之皮膚上。該疾病亦可侵襲手指甲、腳趾甲以及生殖器及口腔內部之軟組織。

牛皮癬為一種由免疫系統驅使之皮膚病症，尤其涉及一種稱為T細胞之白血球。通常，T細胞幫助保護身體免遭感染及疾病。在牛皮癬情況下，T細胞由於失誤而開始工作，且變得過於活躍以致其引發

其他免疫反應，此導致發炎及皮膚細胞快速更新。

N. 感染性疾病

在一些實施例中，本發明之RTA 408、多晶型及方法可有效治療感染性疾病，包括病毒性及細菌性感染。如上所述，該等感染可與重度局部性或全身性發炎反應有關。舉例而言，流行性感冒可引起肺之重度發炎，且細菌感染可引起全身性高發炎反應，包括多種炎性細胞激素之過度產生(其為敗血症之標誌)。此外，本發明之化合物可有效直接抑制病毒病原體之複製。先前研究表明相關化合物(諸如CDDO)可抑制巨噬細胞中HIV之複製(Vazquez等人, 2005)。其他研究表明抑制NF- κ B信號傳導可抑制流行性感冒病毒複製且環戊烯酮前列腺素可抑制病毒複製(例如Mazur等人, 2007; Pica等人, 2000)。

本發明係關於使用化合物RTA 408或其醫藥學上可接受之鹽、或該化合物之多晶型(諸如上文或下文中所描述之多晶型中之任一者)、或包含上述實體中之任一者及醫藥學上可接受之載劑之醫藥組合物(包括例如上述醫藥組合物)來治療或預防以上章節IV中所提及之疾病/病症/病狀中之每一者。

V. 醫藥調配物及投藥途徑

RTA 408可由多種方法投與，例如經口或藉由注射(例如皮下、靜脈內、腹膜內等)投與。視投藥途徑而定，可塗佈於一種物質中之活性化合物以保護化合物免於酸及可使化合物失活之其他自然條件的作用。其亦可藉由對疾病或創傷部位的連續灌注/輸注來投與。

為藉由除非經腸投藥以外的方式投與RTA 408，可能必需將化合物與一種預防其失活之物質一起塗佈或共同投與。舉例而言，可向患者投與於適當載劑(例如脂質體或稀釋劑)中之治療性化合物。醫藥學上可接受之稀釋劑包括生理食鹽水及水性緩衝溶液。脂質體包括水/油/水CGF乳液以及習知脂質體(Strejan等人, 1984)。

RTA 408亦可非經腸、腹膜內、脊椎內或腦內投與。可製備於甘油、液體聚乙二醇及其混合物中之分散液以及於油中之分散液。在正常儲存及使用條件下，該等製劑可含有防止微生物生長之防腐劑。

可藉由視需要在合適溶劑中合併所需量之RTA 408與以上列舉之成分中的一種或其組合，接著進行滅菌過濾來製備無菌可注射溶液。通常，藉由將治療性化合物併入含有鹼性分散介質及來自上文列舉之所需其他成分的無菌載劑中來製備分散液。在用於製備無菌可注射溶液之無菌粉末的狀況下，較佳製備方法為真空乾燥及冷凍乾燥，其自預先無菌過濾之溶液產生活性成分(亦即治療性化合物)加上任何其他所需成分之粉末。

可使用直接噴霧乾燥程序使RTA 408呈完全非晶形。RTA 408可經口投與，例如與惰性稀釋劑或可同化之可食用載劑一起投與。治療性化合物及其他成分亦可封裝於硬殼或軟殼明膠膠囊中，壓縮成錠劑，或直接併入患者之飲食中。對於口服治療性投藥，治療性化合物可與例如賦形劑合併且以可攝取錠劑、口腔錠、糖衣錠、膠囊(包括硬膠囊或軟膠囊)、酏劑、乳液、固態分散體、懸浮液、糖漿、粉片及其類似物形式使用。當然，組合物及製劑中治療性化合物之百分比可改變。該等治療有效組合物中治療性化合物之量為將獲得合適劑量之量。

出於投藥簡便性及劑量均一性考慮，將非經腸組合物調配成單位劑型尤其有利。如本文所用之單位劑型係指適用作待治療之患者之單一劑量的物理離散單元；各單元含有經計算以產生所需治療作用之預定量之治療性化合物以及所需醫藥載劑。本發明之單位劑型之規格係由以下因素指定且直接視其而定：(a)治療性化合物之獨特特徵及待達成之特定治療作用；及(b)用於治療患者中所選病狀之該治療性化合物的混配技術中固有之限制。

RTA 408亦可經表面投與至皮膚、眼睛或黏膜。在一些實施例中，化合物可製備為洗劑、乳膏劑、凝膠、油劑、軟膏劑、油膏劑、溶液、懸浮液或乳液形式。或者，若需要向肺部局部傳遞，則可藉由以乾粉或氣霧劑調配物形式吸入來投與治療性化合物。

將通常投與足以治療既定患者相關病狀之治療有效性劑量的RTA 408。舉例而言，可在可預測治療人類中疾病之功效的動物模型系統(諸如實例及圖式中所示之模型系統)中評估化合物之功效。

投與至患者之RTA 408或包含RTA 408之組合物之實際劑量可由物理及生理學因素確定，諸如年齡、性別、體重、病狀嚴重程度、所治療之疾病類型、先前或同時進行的治療性介入、患者之自發病及投藥途徑。該等因素可由熟習此項技術者確定。負責投藥之專業人員通常將確定組合物中一或多種活性成分之濃度及用於個別患者之合適劑量。若出現任何併發症，則劑量可由個別醫師作出調整。

有效量通常將在以每天一或多次劑量投與約0.001 mg/kg至約1000 mg/kg、約0.01 mg/kg至約750 mg/kg、約100 mg/kg至約500 mg/kg、約1.0 mg/kg至約250 mg/kg、約10.0 mg/kg至約150 mg/kg之間變化，持續一天或數天(當然視投藥模式及以上所討論之因素而定)。其他合適劑量範圍包括每天1 mg至10000 mg、每天100 mg至10000 mg、每天500 mg至10000 mg及每天500 mg至1000 mg。在一些特定實施例中，劑量小於每天10,000 mg，範圍為每天750 mg至9000 mg。

有效量可小於1毫克/公斤/天、小於500毫克/公斤/天、小於250毫克/公斤/天、小於100毫克/公斤/天、小於50毫克/公斤/天、小於25毫克/公斤/天或小於10毫克/公斤/天。或者其可在1毫克/公斤/天至200毫克/公斤/天範圍內。在一些實施例中，如以下實例C1中所描述，用量可為10、30、100或150 mg/kg (調配為於芝麻油中之懸浮液)。在一些實施例中，用量可為經口管餵每天投與3、10、30或100 mg/kg，如以

下實例C2及C3中所描述。在一些實施例中，如以下實例C6中所描述，用量可為經口投與10、30或100 mg/kg。舉例而言，關於糖尿病患者之治療，單位劑量可為使與未經治療之患者相比血糖降低至少40%的量。在另一實施例中，單位劑量為使血糖降低至與非糖尿病患者之血糖含量相差不超過10%之含量的量。

在其他非限制性實例中，劑量亦可能包含每次投與約1微克/公斤體重、約5微克/公斤體重、約10微克/公斤體重、約50微克/公斤體重、約100微克/公斤體重、約200微克/公斤體重、約350微克/公斤體重、約500微克/公斤體重、約1毫克/公斤體重、約5毫克/公斤體重、約10毫克/公斤體重、約50毫克/公斤體重、約100毫克/公斤體重、約200毫克/公斤體重、約350毫克/公斤體重、約500毫克/公斤體重至約1000毫克/公斤體重或大於1000毫克/公斤體重及其中任何可推導之範圍。在可由本文中列舉之數字推導之範圍之非限制性實例中，基於上述數字，可投與約5毫克/公斤體重至約100毫克/公斤體重、約5微克/公斤體重至約500毫克/公斤體重等之範圍。

在某些實施例中，本發明之醫藥組合物可包含例如至少約0.01% RTA 408。在其他實施例中，RTA 408可構成例如單元重量之約0.01%至約75%或約0.01%至約5%及其中任何可推導之範圍。在一些實施例中，如以下實例F及G中所描述，RTA 408可以調配物形式使用，諸如於芝麻油中之0.01%、0.1%或1%懸浮液。在一些實施例中，可使用醫藥學上合適載劑調配RTA 408以供表面投與至皮膚或眼睛或調配為濃度在約0.01%至10%範圍內的懸浮液、乳液或溶液。在一些實施例中，濃度在約0.1%至約5%範圍內。最佳濃度可視目標器官、特定製劑及所治療病狀而變化。

涵蓋包含RTA 408之藥劑之單次或多次劑量。一般熟習此項技術者可僅採用常規實驗來測定用於傳遞多次劑量之所需時間間隔。作為

實例，可以約12小時時間間隔每天投與患者兩次劑量。在一些實施例中，藥劑係一天投與一次。藥劑可按常規時程投與。如本文所用之常規時程係指預定指定時間段。常規時程可涵蓋相同時間段或長度不同的時間段，只要時程為預定即可。舉例而言，常規時程可包括以一天兩次、一天一次、兩天一次、三天一次、四天一次、五天一次、六天一次、每週一次、每月一次或其間任何設定天數或週數投藥。或者，預定常規時程可包含在第一週以每天兩次投與，接著在隨後數月內以每天一次投與等。在其他實施例中，本發明涵蓋藥劑可經口服用且投藥時間可視或可不視食物攝入而定。因此，舉例而言，可每天早晨及/或每天晚間服用藥劑，不論患者已吃飯或將吃飯均可。

VI. 組合療法

除單藥療法外，本發明中描述之RTA 408及多晶型亦可用於組合療法中。有效組合療法可由包括兩種藥劑之單一組合物或藥用調配物或由同時投與之兩種不同組合物或調配物(其中一種組合物包括RTA 408或其多晶型且另一種組合物包括第二種藥劑)達成。其他治療形態可在投與RTA 408或其多晶型之前、同時或之後投與。使用RTA 408或其多晶型之療法可在投與其他試劑之前或之後間隔數分鐘至數週投與。在分開投與其他試劑及RTA 408或其多晶型之實施例中，通常將確保每次傳遞時間之間不會間隔過長時間段，使得各藥劑仍能夠發揮有利組合作用。在該等實例中，涵蓋通常在約12至24小時內且更佳在約6至12小時內投與RTA 408或多晶型及其他治療劑，其中延遲時間最佳為僅約12小時。在一些情形中，可能需要延長時間段以獲得顯著治療，但各別投藥之間可間隔數天(2、3、4、5、6或7)至數週(1、2、3、4、5、6、7或8)。

亦涵蓋需要RTA 408或其多晶型或其他試劑之一次以上投藥。在此方面，可使用不同組合。作為說明，當RTA 408或其多晶型為

「A」且另一試劑為「B」時，例示性展示以下基於總共3次及4次投藥之排列：

A/B/A B/A/B B/B/A A/A/B B/A/A A/B/B B/B/B/A B/B/A/B
 A/A/B/B A/B/A/B A/B/B/A B/B/A/A B/A/B/A B/A/A/B B/B/B/A
 A/A/A/B B/A/A/A A/B/A/A A/A/B/A A/B/B/B B/A/B/B B/B/A/B

同樣涵蓋其他組合。可用於本發明中之藥理劑之非限制性實例包括任何已知對治療癌症有益的藥理劑。在一些實施例中，涵蓋RTA 408或其多晶型與癌症靶向免疫療法、基因療法、放射線療法、化學治療劑或手術之組合。亦涵蓋RTA 408或其多晶型與包括超過一種特定療法之超過一種上述方法之組合。在一些實施例中，免疫療法可為其他癌症靶向抗體，諸如(但不限於)曲妥珠單抗(Herceptin®)、阿侖單抗(alemtuzumab)(Campath®)、貝伐單抗(Avastin®)、西妥昔單抗(Eribitux®)及帕尼單抗(panitumumab)(Vectibix®)或結合抗體，諸如替坦異貝莫單抗(ibritumomab tiuxetan)(Zevalin®)、托西莫單抗(tositumomab)(Bexxar®)、維汀布妥昔單抗(brentuximab vedotin)(Adcetris®)、阿多-艾辛曲妥珠單抗(ado-trastuzumab emtansine)(Kadcyla™)或迪斯地尼介白素(denileukin dititox)(Ontak®)。此外，在一些實施例中，涵蓋將RTA 408或其多晶型與基於樹突狀細胞之免疫療法(諸如希普希勒-T (Sipuleucel-T)(Provenge®)或T細胞輸入免疫療法)一起以組合療法使用。

此外，涵蓋RTA 408或其多晶型與化學治療劑(諸如(但不限於)蒽環黴素(anthracycline)、紫杉烷(taxane)、甲胺喋呤、米托蒽醌、雌莫司汀(estramustine)、小紅莓、依託泊苷、長春鹼、卡鉑、長春瑞濱、5-氟尿嘧啶、順鉑、拓撲替康、異環磷醯胺、環磷醯胺、表柔比星、吉姆他濱(gemcitabine)、長春瑞濱、伊立替康、依託泊苷、長春鹼、培美曲塞(pemetrexed)、美法侖、卡培他濱及奧沙利鉑(oxaliplatin))組

合使用。在一些實施例中，RTA 408或其多晶型與放射線療法(包括(但不限於)使用離子化放射線)組合使用。在一些實施例中，癌症治療劑之作用經由與RTA 408及其多晶型一起投藥而協同增強。在一些實施例中，使用包括RTA 408之組合療法來治療癌症，包括例如前列腺癌。參見例如以下實例H。

在一些實施例中，該等方法可進一步包含(1)使腫瘤細胞與化合物接觸，隨後使腫瘤細胞與第二化學治療劑接觸，(2)使腫瘤細胞與第二化學治療劑接觸，隨後使腫瘤細胞與化合物接觸，或(3)使腫瘤細胞同時與化合物及第二化學治療劑接觸。在某些實施例中，第二化學治療劑可為抗生素、消炎藥、抗贅生劑、抗增生劑、抗病毒劑、免疫調節劑或免疫抑制劑。在其他實施例中，第二化學治療劑可為烷化劑、雄激素受體調節劑、細胞骨架瓦解劑、雌激素受體調節劑、組蛋白-脫乙酰基酶抑制劑、HMG-CoA還原酶抑制劑、異戊二烯基-蛋白質轉移酶抑制劑、類視黃素受體調節劑、拓撲異構酶抑制劑或酪胺酸激酶抑制劑。在某些實施例中，第二化學治療劑為5-阿紮胞苷、5-氟尿嘧啶、9-順式視黃酸、放線菌素D、亞利崔托甯、全反式視黃酸、脂質體蒽環黴素、阿西替尼、貝林斯特、貝伐單抗、貝瑟羅汀、伯舒替尼、白消安、卡西他濱、卡鉑、卡莫司汀、CD437、塞地蘭尼、西妥昔單抗、苯丁酸氮芥、順鉑、環磷醯胺、阿糖胞苷、達卡巴嗪、達沙替尼、道諾黴素、地西他濱、多烯紫杉醇、海兔毒素-10、去氧氟尿苷、小紅莓、表柔比星、埃羅替尼、依託泊苷、吉非替尼、吉西他濱、吉妥珠單抗奧唑米星、六甲三聚氰胺、黃膽素、異環磷醯胺、伊馬替尼、伊立替康、異維甲酸、伊沙匹隆、拉帕替尼、LBH589、洛莫司汀、氮芥、美法倫、巯基嘌呤、甲胺喋呤、絲裂黴素、米托蒽醌、MS-275、奈拉替尼、尼羅替尼、亞硝基脲、奧賽力鉑、太平洋紫杉醇、普卡黴素、丙卡巴肼、司馬沙尼、司莫司汀、丁酸鈉、苯基

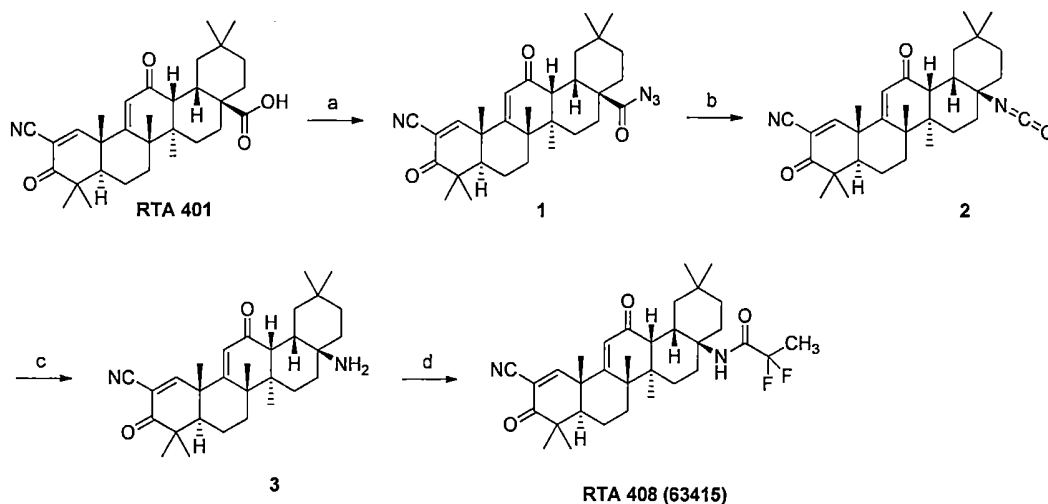
乙酸鈉、鏈脲菌素、辛二醯苯胺異羥肟酸、舒尼替尼、他莫昔芬、替尼泊甙、塞派替、硫鳥嘌呤、拓朴替康、TRAIL、曲妥珠單抗、維甲酸、曲古抑菌素A、丙戊酸、伐柔比星、凡德他尼、長春鹼、長春新鹼、長春地辛或長春瑞濱。

此外，涵蓋利用本發明之RTA 408、多晶型及醫藥組合物治療心血管疾病之組合療法。舉例而言，該等方法可進一步包含投與除本發明之RTA 408、多晶型及醫藥組合物以外的醫藥學上有效量之一或多種心血管藥物。心血管藥物可為(但不限於)例如降低膽固醇藥、抗高血脂藥、鈣離子通道阻斷劑、抗高血壓藥或HMG-CoA還原酶抑制劑。在一些實施例中，心血管藥物之非限制性實例包括胺氯地平、阿斯匹林、依澤替米貝、非洛地平、拉西地平、樂卡地平、尼卡地平、硝苯地平、尼莫地平、尼索地平或尼群地平。在其他實施例中，心血管藥物之其他非限制性實例包括阿替洛爾、布新洛爾、卡維地洛、可樂甯、多沙唑嗪、吲哚哌胺、拉貝洛爾、甲基多巴、美托洛爾、納多洛爾、氧烯洛爾、苯氧苯甲胺、酚妥拉明、品多洛爾、派唑嗪、普萘洛爾、特拉唑嗪、地莫洛爾或妥拉蘇林。在其他實施例中，心血管藥物可為例如士他汀，諸如阿托伐他汀、西立伐他汀、氟伐他汀、洛伐他汀、美伐他汀、匹伐他汀、普伐他汀、羅素他汀或辛伐他汀。

VII. 實例

包括以下實例以說明本發明之較佳實施例。熟習此項技術者應瞭解，以下實例中所揭示之技術表示由本發明者發現在實施本發明時充分起作用之技術，且因此可認為其構成本發明之較佳實施模式。然而，熟習此項技術者根據本發明應瞭解，在不偏離本發明之精神及範疇的情況下可對所揭示之特定實施例進行多種改變且仍獲得相同或類似結果。

A. 合成RTA 408 (63415)



試劑及條件：(a) $(\text{PhO})_2\text{PON}_3$ (DPPA)、 Et_3N 、甲苯， 0°C 下5分鐘，接著室溫下隔夜，約94%；(b) 苯， 80°C 下2小時；(c) HCl 、 CH_3CN ，室溫下1小時；(d) $\text{CH}_3\text{CF}_2\text{CO}_2\text{H}$ 、DCC、DMAP、 CH_2Cl_2 ，室溫下隔夜，73%(由**RTA 401**獲得)(4個步驟)。

化合物1：向反應器中之甲苯溶液(400 mL)中添加**RTA 401** (其可根據例如Honda等人，1998；Honda等人，2000b；Honda等人，2002；Yates等人，2007；及美國專利6,326,507及6,974,801 (其以引用的方式併入本文中)中教示之方法製備)(20.0 g，40.6 mmol)及 Et_3N (17.0 mL，122.0 mmol)且在攪拌下冷卻至 0°C 。在 0°C 下於攪拌下經5分鐘添加二苯基磷醯基疊氮化合物(DPPA)(13.2 mL，61.0 mmol)且混合物在室溫下持續攪拌隔夜(HPLC-MS檢驗表明無**RTA 401**殘留)。反應混合物直接裝載於矽膠管柱上且藉由管柱層析(矽膠，含0% EtOAc 之 CH_2Cl_2 至含5% EtOAc 之 CH_2Cl_2)純化，得到呈白色泡沫狀之**化合物1** (19.7 g，約94%，部分轉化為**化合物2**)。

化合物2：將**化合物1** (19.7 g，約38.1 mmol)及苯(250 mL)添加至反應器中且在攪拌下加熱至 80°C 保持2小時(HPLC-MS檢驗表明無**化合物1**殘留)。在減壓下濃縮反應混合物，得到呈固體殘餘物狀之粗**化合物2**，其未經純化即用於下一步驟中。

化合物3：將粗化合物**2** (≤ 38.1 mmol)及 CH_3CN (200 mL)添加至反應器中且在攪拌下冷卻至 0°C 。在 0°C 下經1分鐘添加 HCl (12 N, 90 mL)且在室溫下持續攪拌混合物1小時(HPLC-MS檢驗表明無化合物**2**殘留)。反應混合物冷卻至 0°C 且在攪拌下添加10% NaOH (約500 mL)。接著，在攪拌下添加飽和 NaHCO_3 (1 L)。藉由 EtOAc (2×500 mL)萃取水相。合併之有機相藉由 H_2O (200 mL)、飽和 NaCl (200 mL)洗滌，經 Na_2SO_4 乾燥且濃縮，得到呈淺黃色泡沫狀之粗化合物**3** (16.62 g)，其未經純化即用於下一步驟中。

RTA 408：在室溫下於攪拌下將粗胺**3** (16.62 g, 35.9 mmol)、 $\text{CH}_3\text{CF}_2\text{CO}_2\text{H}$ (4.7388 g, 43.1 mmol)及 CH_2Cl_2 (360 mL)添加至反應器中。接著，添加二環己基碳化二亞胺(DCC)(11.129 g, 53.9 mmol)及4-(二甲基胺基)-吡啶(DMAP)(1.65 g, 13.64 mmol)且在室溫下持續攪拌混合物隔夜(HPLC-MS檢驗表明無化合物**3**殘留)。過濾反應混合物以移除固體副產物且將濾液直接裝載於矽膠管柱上且藉由管柱層析(矽膠，含0% EtOAc 之己烷至含20% EtOAc 之己烷)純化兩次，得到呈白色泡沫狀之化合物**RTA 408** (16.347 g, 73%(由**RTA 401**經4個步驟獲得))： ^1H NMR (400 MHz, CD_3Cl) δ 8.04 (s, 1H), 6.00 (s, 1H), 5.94 (s, br, 1H), 3.01 (d, 1H, $J = 4.8$ Hz), 2.75-2.82 (m, 1H), 1.92-2.18 (m, 4H), 1.69-1.85 (m, 7H), 1.53-1.64 (m, 1H), 1.60 (s, 3H), 1.50 (s, 3H), 1.42 (s, 3H), 1.11-1.38 (m, 3H), 1.27 (s, 3H), 1.18 (s, 3H), 1.06 (s, 3H), 1.04 (s, 3H), 0.92 (s, 3H)； m/z 555 ($M+1$)。

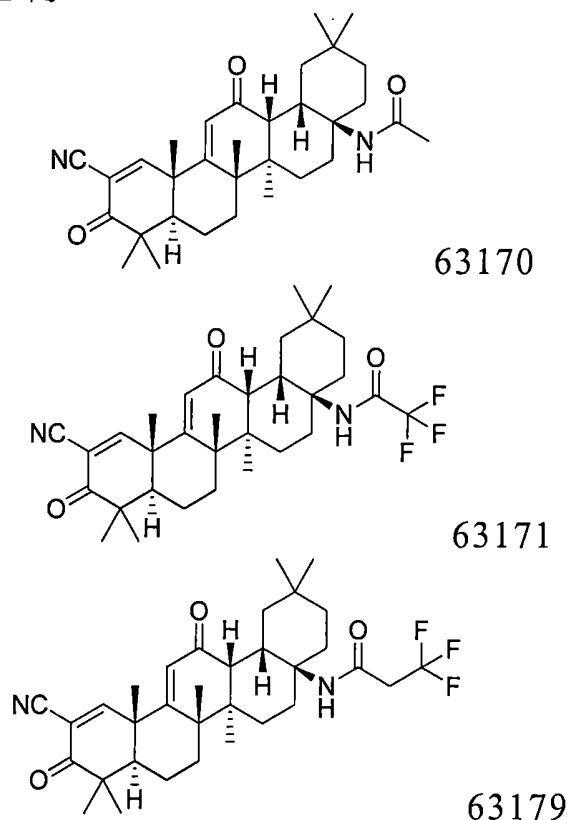
B. 藥效學

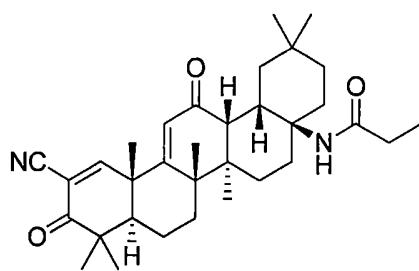
以下提供評估**RTA 408**之主要藥效作用之活體外及活體內研究之概述。

1. 活體外**RTA 408**對**Keap1-Nrf2**及**NF- κ B**之影響

AIM對 $\text{IFN}\gamma$ 誘導之NO產生的抑制作用具Nrf2依賴性(Dinkova-

Kostova, 2005)。將含RAW264.7小鼠巨噬細胞之補充有0.5% FBS之RPMI 1640以30,000個細胞/孔一式三份地塗於96孔培養盤中且在37℃及5% CO₂下培育。第二天，細胞用DMSO(媒劑)或RTA 408預先處理2小時，接著用20 ng/mL的小鼠IFN γ 處理24小時。使用格里斯試劑系統(Griess Reagent System)(目錄號G2930，Promega)根據製造商說明書量測培養基中之亞硝酸根(NO₂⁻)含量替代氧化氮，因為亞硝酸根為NO之主要穩定分解產物。使用WST-1細胞增殖試劑(目錄號11644807001，Roche Applied Science)根據製造商說明書評估細胞活力。基於針對細胞活力校正之IFN γ 誘導之氧化氮產生的抑制作用來測定IC₅₀值。用RTA 408處理使得IFN γ 誘導之NO產生受到劑量依賴性抑制，其中平均IC₅₀值為3.8 $\pm$ 1.2 nM。代表性實驗之結果展示於圖1中。發現RTA 408之IC₅₀值比化合物63170 (8 $\pm$ 3 nM)、63171 (6.9 $\pm$ 0.6 nM)、63179 (11 $\pm$ 2 nm)及63189 (7 $\pm$ 2 nM)之IC₅₀值低45%-65%。63170、63171、63179及63189為下式之化合物：



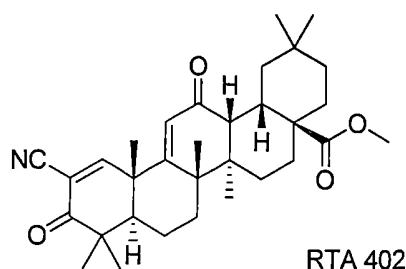


63189。

2. RTA 408對Nrf2目標基因之影響

在兩種不同螢光素酶報導體分析法中測試RTA 408以評估抗氧化性反應元(ARE)之活化。第一螢光素酶報導體測試受來源於人類NQO1基因之啟動子之單一ARE控制，該單一ARE使得能夠定量評估經培養之哺乳動物細胞中Nrf2轉錄因子之內源活性。藉由使Nrf2與在人類NADPH:苯醌氧化還原酶1 (NQO1)基因之啟動子區域中鑑別的對應於抗氧化性反應元(ARE)之特異性強化子序列(Xie等人, 1995)結合來控制螢火蟲螢光素酶自NQO1-ARE螢光素酶報導質體之表現。藉由使用HindIII/XhoI選殖位點(GenScript Corp., Piscataway, NJ)將人類NQO1-ARE (5'-CAGTCACAGTGACTCAGCAGAATCTG-3')插入pLuc-MCS載體中來構築NQO1-ARE螢光素酶報導質體。HuH-7人類肝細胞瘤細胞株(維持於補充有10% FBS及100 U/mL青黴素及100 U/mL鏈黴素之DMEM (Invitrogen)中)與NQO1-ARE螢光素酶報導質體及pRL-TK質體一起使用脂染胺2000 (Invitrogen)短暫轉染，pRL-TK質體組成性表現海腎螢光素酶且用作轉染量之正規化之內部對照。轉染30小時後，細胞用RTA 408處理18小時。藉由Dual-Glo螢光素酶分析法(目錄號E2920, Promega)分析螢火蟲螢光素酶及海腎螢光素酶活性，用L-Max II光度計(Molecular Devices)量測螢光信號。針對海腎螢光素酶活性校正螢火蟲螢光素酶活性，且計算經校正之螢火蟲螢光素酶活性與媒劑對照物(DMSO)相比之誘導倍數。圖2a展示此細胞株中由RTA 408進行之螢光素酶活性之劑量依賴性誘導。值表示三個獨立實驗之平均值。使HuH-7細胞中自NQO1 ARE之轉錄作用增加2倍所需的RTA

408 (12 nM)比63189 (14.9 nM)少20%。類似地，使HuH-7細胞中自NQO1 ARE之轉錄作用增加2倍所需的RTA 408分別比63170 (25.2 nM)及63179 (29.1 nM)少2.1至2.4倍。亦評估AREc32報導體細胞株中RTA 408對螢光素酶報導體活化之影響。此細胞株係來源於人類乳癌MCF-7細胞且在大鼠GSTA2 ARE序列之八個複本之轉錄控制下經螢火蟲螢光素酶報導體基因穩定轉染(Wang等人, 2006, 其以引用的方式併入本文中)。在用RTA 408處理18小時後，使用ONE-Glo螢光素酶分析系統(Promega, 目錄號E6110)根據製造商說明書量測螢火蟲螢光素酶活性。在AREc32報導體細胞株中觀測到劑量依賴性反應(圖2b)。用15.6 nM RTA 408處理後，在NQO1-ARE及GSTA2-ARE報導體分析系統中均明顯觀測到約2倍的螢光素酶活性誘導。當研究GSTA2-ARE (AREc32)螢光素酶活性研究之結果時，63415 (RTA 408)之GST對GSTA2-ARE誘導之影響可直接與RTA 402、63170、63171、63179及63189之影響以及WST1活力研究進行比較(圖3a-f)。與RTA 402之值相比，63415展示最快速的五種比較化合物之GSTA2-ARE介導之轉錄之誘導且在螢光素酶報導體分析法中達到4倍誘導需要93 nM濃度。所有其他化合物僅在高得多的濃度下才展示類似誘導作用，其中63170需要171 nM濃度、63171需要133 nM濃度、63179需要303 nM濃度且63189需要174 nM濃度以實現4倍螢光素酶活性誘導。該等值對應於與RTA 402相比需要活性化合物量增加1.86倍(63415)、3.40倍(63170)、2.65倍(63171)、6.05倍(63179)及3.47倍(63189)以產生相同活性量。



亦展示RTA 408可增加HFL1人類胎兒肺纖維母細胞及BEAS-2B人類支氣管上皮細胞株中已知Nrf2目標基因之轉錄量。HFL1細胞於補充有10%胎牛血清及1%青黴素-鏈黴素之F-12K培養基中培養。BEAS-2B細胞係於補充有10%胎牛血清及1%青黴素-鏈黴素之DMEM/F-12培養基中培養。將細胞以 2.5×10^5 個細胞/孔之密度塗於6孔盤中。在第二天，細胞用DMSO(媒劑)或RTA 408 (7.8、15.6、31.3、62.5或125 nM)處理18小時。各孔接收相同量媒劑。在處理後，移除培養基且使用RLT緩衝液(Qiagen)收集細胞。使用QIAshredder管柱(Qiagen，目錄號79654)將溶解產物均質化且使用RNeasy Mini套組(Qiagen，目錄號74104)分離RNA。對於反轉錄，RNA (1 μ g)與寡聚(dT)₁₂₋₁₈引子及H₂O組合使最終體積為23.25 μ L。混合物加熱至70°C保持10分鐘且接著置放於冰上。將含有8 μ L 5X第一股緩衝液(1st strand buffer)、2 μ L 1 mg/ml BSA、2 μ L 20 mM DTT、4 μ L 5 mM dNTP混合物、0.25 μ L RNaseOUT™及0.5 μ L Superscript® II反轉錄酶之母體混合物添加至RNA混合物中且在42°C下培育1小時。藉由加熱至70°C保持10分鐘使反應物不活化。在用於qPCR中之前用H₂O按1:3稀釋反應混合物。2.5 μ L經稀釋之反轉錄反應物與一組PCR引子(0.36 μ M最終濃度)、2X iQ™ SYBR® Green Supermix (Bio-Rad，目錄號170-8885)及H₂O組合使最終體積為20 μ L。PCR引子之序列如下：麩胺酸-半胱胺酸連接酶、修飾次單元(*GCLM*)，正向引子5'-GCTGTGGCTACTGCGGTATT-3'、反向引子5'-ATCTGCCTCAATGACACCAT-3'；血紅素加氧酶-1(*HMOX1*)正向引子5'-TCCGATGGGTCCTTACACTC-3'、反向引子5'-TAGGCTCCTTCCTCCTTTCC-3'；*NAD(P)H*脫氫酶、苯醌1(*NQO1*)正向引子5'-AAAACACTGCCCTCTTGTGG-3'、反向引子5'-GTGCCAGTCAGCATCTGGTA-3'；核糖體蛋白質S9 (*RPS9*)正向引子5'-GATGAGAAGGACCCACGGCGTCTG-3'、反向引子5'-

GAGACAATCCAGCAGCCCAGGAGGG-3'；硫氧還蛋白還原酶1 (TXNRD1)正向引子5'-ATTGCCACTGGTGAAAGACC-3'、反向引子5'-ACCAATTTTGTGGCCATGT-3'。所有引子均預先驗證特異性及擴增效率。使用以下循環條件擴增cDNA：(95°C下3分鐘，95°C下30秒循環44次，60°C下15秒，72°C下15秒，接著55°C至95°C (0.5°C增量)之熔融曲線)。使用比較性C_T方法($\Delta\Delta C_T$)測定各Nrf2目標基因之相對豐度。在孔中一式三份地進行各樣品之PCR反應。使用上述條件進行兩個獨立實驗。使用RTA 408處理HFL1肺纖維母細胞18小時引起若干Nrf2目標基因(包括NQO1、HMOX1、GCLM及TXNRD1)之表現增加，如由定量PCR所量測(圖4a-d)。對於所有測試之基因，RTA 408之誘導作用具劑量依賴性且在低至15.6 nM之濃度下仍明顯。用RTA 408處理BEAS-2B支氣管上皮細胞18小時引起所有評估之Nrf2目標基因之類似劑量依賴性增加(圖5a-d)。在類似濃度下，RTA 408亦增加正常人類腎小球膜細胞(nHMC)、小鼠BV2微神經膠質細胞株及人類SH-SY5Y神經母細胞瘤細胞株中Nrf2目標基因之表現。

在用RTA 408處理後，藉由西方墨點法(Western blot)量測SH-SY5Y及BV-2細胞中Nrf2目標NQO1及HMOX1之蛋白質含量。將SH-SY5Y細胞以 4×10^5 個細胞/孔之密度塗於6孔培養盤中。將BV-2細胞以 2.5×10^4 個細胞/孔之密度塗於6孔培養盤中。在塗佈後24小時(BV-2)或48小時(SH-SY5Y)，細胞用RTA 408處理24小時。在處理後，細胞用冷PBS洗滌兩次且在溶解緩衝液中收集。細胞經音波處理且藉由離心(18,000 rcf下10分鐘，Beckman Coulter，microfuge 18離心機)清除碎片。使用Bio-Rad蛋白質試劑以BSA作為標準物對上清液中之全部蛋白質進行定量。用SDS-PAGE分離等量的全部細胞蛋白質且將蛋白質轉移至硝化纖維素膜。薄膜於含有5%乳液(milk)之TBST(具有0.1% Tween-20之1x TBS)中阻斷1小時，用TBST洗滌3次且與初級抗體一起

在4°C下培育隔夜。NQO1抗體係來自Abcam(#AB2346)；HMOX1(HO-1)抗體係來自Santa Cruz(#sc-10789)；肌動蛋白抗體係來自Millipore(#MAB 1501)。在用TBST洗滌後，在室溫下經1小時添加含二級抗體之TBST+5%乳液。親和性純(AffiniPure)山羊抗兔或抗小鼠IgG二級抗體係來自Jackson ImmunoResearch(目錄號分別為#111-035-144及#115-035-146)。薄膜於TBST中洗滌，使用ECL顯色且曝露於X射線膜。用RTA 408處理亦以劑量依賴性方式增加SH-SY5Y細胞中之NQO1蛋白質含量(圖6a)。在未經處理或經RTA 408處理之SH-SY5Y細胞中未偵測到HMOX1蛋白質。在BV2細胞中，在至多125 nM之濃度下用RTA 408處理可增加NQO1及HMOX1蛋白質含量(圖6b)。SK-N-SH細胞中由RTA 408進行之Nrf2蛋白質表現之誘導的EC₅₀值(56.4 nM)比63171 (122 nM)、63189 (102 nM)及63179 (126 nM)之EC₅₀值低45%至65%。需要相同量的63170 (54.6 nM)。

使用細胞中西方NQO1分析法(in-cell western NQO1 assay)量測EC₅₀，其中細胞與所評估之化合物一起培育3天。在與相關化合物一起培育後，細胞與小鼠NQO1抗體反應且接著在第二天，細胞與IRDye-800CW-抗小鼠IgG抗體反應。觀測且接著分析目標信號。

與Nrf2目標基因及相應蛋白質產物之誘導一致，處理RAW264.7小鼠巨噬細胞24小時可以劑量依賴性方式增加NQO1酶活性，其中在7.8 nM下顯著增加(圖7)。藉由改良之Prochaska分析法(Prochaska及Santamaria, *Anal Biochem.* 169:328-336, 1988，其以引用的方式併入本文中)量測NQO1酶活性。

總而言之，該等來自多種細胞株之資料表明RTA 408處理可增加藉由抗氧化性反應元控制之轉錄活性、增加Nrf2目標基因之表現及增加NQO1 (Nrf2目標基因產物)之活性。

3. RTA 408對細胞氧化還原能力之標記的影響

麩胱甘肽及NADPH為保持細胞氧化還原能力所需的關鍵因子。已證實若干涉及麩胱甘肽合成之基因(例如GCLC及GLCM)及涉及NADPH合成之基因[例如己糖-6-磷酸脫氫酶(H6PD)及蘋果酸酶1(ME1)]係由Nrf2調節(Wu, 2011)。使用GSH-Glo™麩胱甘肽分析套組(Promega, 目錄號V6912)根據製造商說明書評估小鼠AML-12肝細胞株中RTA 408處理對總麩胱甘肽含量之影響。用RTA 408處理AML-12細胞24小時可以劑量依賴性方式增加總細胞麩胱甘肽含量(圖8)。所展示之資料表示兩個獨立實驗。在低至15.6 nM之RTA 408濃度下觀測到總麩胱甘肽增加超過2倍。使用RAW264.7小鼠模型, 由RTA 408進行之麩胱甘肽含量誘導之EC₅₀值(9.9 nM)比63170 (12.1 nM)、63171 (23.2 nM)及63189 (16 nM)之EC₅₀值低22%至57%。

在HCT-116細胞中評估RTA 408處理對NADPH含量之影響, 如由氧化還原敏感性染料WST-1 (Roche Applied Science, 目錄號11644807001)之吸光度所量測。通常使用WST-1吸光度藉由量測活細胞之NAD(P)H之醣解產量來評估細胞活力。因此, 當NADPH產量在不存在任何對細胞活力之影響情況下增加時, WST-1吸光度亦增加(Berridge等人, *Biochemica* 4:14-19, 1996, 其以引用的方式併入本文中)。亦證實與NADPH產量有關的若干關鍵基因係由Nrf2調節(Thimmulappa等人, *Cancer Research* 62:5196-5203, 2002; Wu等人, *Toxicological Sciences* 123(2):590-600, 2011, 其均以引用的方式併入本文中)。用RTA 408處理24小時可以劑量依賴性方式增加WST-1吸光度(圖9), 表明NADPH含量增加。

此研究中亦評估RTA 408對涉及NADPH合成途徑之基因之表現的影響。HCT-116細胞用RTA 408處理24小時, 且使用定量PCR量測H6PD、磷酸葡萄糖酸脫氫酶(PGD)、轉酮醇酶(TKT)及ME1之mRNA含量。將HCT 116細胞以 3×10^5 個細胞/孔之密度塗於6孔盤中。第二天,

細胞用DMSO(媒劑)、10 nM RTA 408或50 nM RTA 408處理24小時。各孔接收相同量的媒劑。在處理後，移除培養基且使用RLT緩衝液(Qiagen)收集細胞。使用QIAshredder管柱(Qiagen，目錄號79654)將溶解產物均質化且使用RNeasy Mini套組(Qiagen，目錄號74104)分離RNA。對於反轉錄，RNA (1 µg)與寡聚(dT)12-18引子及H₂O組合使最終體積為23.25 µL。混合物加熱至70°C保持10分鐘且接著置放於冰上。將含有8 µL 5X第一股緩衝液、2 µL 1 mg/ml BSA、2 µL 20 mM DTT、4 µL 5 mM dNTP混合物、0.25 µl RNaseOUT™及0.5 µL Superscript® II反轉錄酶之母體混合物添加至RNA混合物中且在42°C下培育1小時。藉由加熱至70°C保持10分鐘使反應物不活化。在用於qPCR中之前用H₂O按1:3稀釋反應混合物。2.5 µL經稀釋之反轉錄反應物與一組PCR引子(0.36 µM最終濃度)、2X iQ™ SYBR® Green Supermix (Bio-Rad，目錄號170-8885)及H₂O組合使最終體積為20 µL。PCR引子之序列如下：核糖體蛋白質S9 (*RPS9*)正向引子 5'-GATGAGAAGGACCCACGGCGTCTG-3'、反向引子 5'-GAGACAATCCAGCAGCCCAGGAGGG-3'；己糖-6-磷酸脫氫酶(*H6PD*)正向引子 5'-GAGGCCGTGTACACCAAGAT-3'、反向引子 5'-AGCAGTGGGGTGAAAATACG-3'、磷酸葡萄糖酸脫氫酶(*PGD*)正向引子 5'-AAGGCACTCTACGCTTCCAA-3'、反向引子 5'-AGGAGTCCTGGCAGTTTTCA-3'、轉酮醇酶(*TKT*)正向引子 5'-CATCTCCGAGAGCAACATCA-3'、反向引子 5'-TTGTATTGGCGGCTAGTTCC-3'；蘋果酸酶1 (*ME1*)正向引子 5'-TATATCCTGGCCAAGGCAAC-3'、反向引子 5'-GGATAAAGCCGACCCTCTTC-3'。所有引子均預先驗證特異性及擴增效率。使用以下循環條件擴增cDNA：(95°C下3分鐘，95°C下30秒循環44次，60°C下15秒，72°C下15秒，接著55°C至95°C (0.5°C增量)之熔

融曲線)。使用比較性CT方法($\Delta\Delta CT$)測定各目標基因之相對豐度。在孔中一式三份地進行各樣品之PCR反應。使用上述條件進行兩個獨立實驗。RTA 408處理引起涉及NADPH合成之基因之表現的劑量依賴性增加(圖10a-d)。

總而言之，RTA 408處理可增加AML-12肝細胞中之總麩胱甘肽含量且增加HCT-116細胞中之WST-1吸光度(NADPH產量標記)。此觀測結果與編碼涉及NADPH合成之酶的若干關鍵基因之表現增加相關聯。

4. RTA 408對TNF α 誘導之NF- κ B信號傳導之影響

NF- κ B為在調節多種免疫及發炎反應中起重要作用的轉錄因子。已在多種細胞株中證實RTA 402及其他AIM可抑制促炎性NF- κ B信號傳導(Shishodia, 2006 ; Ahmad, 2006 ; Yore, 2006)。使用小鼠NIH3T3/NF- κ B-luc細胞株(Panomics)，研究RTA 408以及化合物63171、63179、63170及63189對NF κ B-Luc報導體之影響。NIH3T3/NF- κ B-luc細胞株保持由NF- κ B反應元之八個複本調節的螢火蟲螢光素酶報導體構築體之染色體整合。可藉由量測NF- κ B IC₅₀值來定量該等化合物之影響。RTA 408展示1.2 μ M IC₅₀，其在針對活力進行校正時展示1.4 μ M之IC₅₀。其他四種化合物之NIH3T3/NF- κ B IC₅₀值為1.7、0.2、1.1及1.1 μ M，其在針對活力校正時的IC₅₀值分別為1.8、0.6、1.1及1.0 μ M。標繪RTA 408及其對NF- κ B之影響與給藥時程之間的關係曲線且相對倍數變化以及WST1及WST1/2展示於圖11a及圖11b中。在HeLa/NF- κ B-Luc細胞(在多種NF- κ B轉錄反應元控制下經螢光素酶報導體構築體穩定轉染之人類子宮頸腺癌細胞株)中評估RTA 408對TNF α 誘導之NF- κ B信號傳導之影響。HeLa/NF- κ B-Luc細胞用RTA 408預處理1小時，接著再用TNF α (10 ng/mL)處理5小時。在處理後，量測螢光且測定RTA 408預處理對TNF α 誘導之螢光素酶活性之影響。

三個獨立實驗之平均結果及標準偏差展示於圖12中。RTA 408以劑量依賴性方式抑制TNF α 誘導之NF- κ B活化，其中IC₅₀值為517 $\pm$ 83 nM。在另一種NF- κ B報導體細胞株(A549/NF- κ B-Luc)中觀測到類似結果，其中RTA 408抑制TNF α 誘導之NF- κ B活化，其IC₅₀值為627 nM(範圍為614-649 nM)。對於降低HeLa/NF- κ B-Luc細胞中NF- κ B啟動子報導體之表現，RTA 408之有效性分別比63189 (854 nM)及63170 (953 nM)高1.6至1.8倍。用人類A549細胞株進行之另一實驗表明RTA 408之IC₅₀為1.7 μ M且經活力校正之值為1.7 μ M。RTA 408之IC₅₀與63189、63179、63171及63170相比展示類似活性，63189、63179、63171及63170所展示之IC₅₀值分別為1.1、1.4、2.0及1.0。當該等值經活力校正時，分析法分別展示1.2、1.5、2.1及1.1 μ M IC₅₀。標繪NF- κ B之倍數變化與RTA 408濃度之間的關係曲線以及WST1及WST1/2曲線且展示於圖13a及圖13b中。

亦評估海拉細胞(HeLa cell)中RTA 408對TNF α 誘導之I κ B α 之磷酸化作用(NF- κ B途徑之活化中的關鍵步驟)之影響。海拉細胞用RTA 408預處理6小時，接著用TNF α (20 ng/mL)處理5分鐘。藉由西方墨點法評估I κ B α 之總量及磷酸化程度。一級I κ B α 抗體係來自Santa-Cruz (sc-371)，pI κ B α 抗體係來自Cell Signaling (9246)，肌動蛋白抗體係來自Millipore (MAB 1501)。過氧化酶結合之親和性純山羊抗兔(IgG)及過氧化酶結合之親和性純山羊抗小鼠IgG二級抗體係自Jackson ImmunoResearch購得。使用ECL對蛋白質墨點進行顯色且曝露於X射線膜。與螢光素酶報導體分析法之結果一致，RTA 408以劑量依賴性方式抑制TNF α 誘導之I κ B α 之磷酸化作用(圖14)。

亦證實RTA 408抑制其他促炎性信號傳導途徑，諸如IL-6誘導之信號轉導及轉錄活化因子3 (STAT3)磷酸化作用及NF- κ B配體之受體活化劑(RANKL)誘導之骨染色體異常誘發(osteoclastogenesis)。在海拉

細胞中，用1 μ M RTA 408預處理6小時可抑制IL-6誘導之STAT3之磷酸化作用。STAT3 (124H6)及磷-STAT3 (Tyr705)單株抗體係來自Cell Signaling Technology。過氧化酶結合之親和性純山羊抗兔IgG及過氧化酶結合之親和性純山羊抗小鼠IgG係來自Jackson ImmunoResearch。骨染色體異常誘發為多步驟分化過程，其由造血來源細胞上RANKL與其受體RANK之結合引起。此引起NF- κ B及MAPK之活化，從而又增加蝕骨細胞特異性目標基因(包括酒石酸抗性酸性磷酸酶(TRAP))之轉錄。在小鼠巨噬細胞細胞株RAW264.7中評估RTA 408對RANKL誘導之骨染色體異常誘發之影響。將RAW 264.7細胞以5,000個細胞/孔之密度塗於24孔培養盤中。第二天，細胞用RTA 408處理2小時且接著用50 ng/ml重組型小鼠RANKL (R&D systems)處理。培育經處理之細胞4天使其分化為蝕骨細胞。藉由量測TRAP活性來評估分化為蝕骨細胞之程度。簡言之，自各測試孔移出90微升條件化細胞培養基(conditioned cell culture media)且三等分至96孔培養盤之孔(30微升/孔)中。接著向各孔添加170 μ l TRAP分析緩衝液(Kamiya Biomedical)且培養盤在37°C下培育3小時。在培育後，使用Spectramax M2板讀取分光光度計測定540 nm下之吸光度。RTA 408以劑量依賴性方式抑制RANKL誘導之TRAP活性及蝕骨細胞形成，其中IC₅₀為約5至10 nM。

5. RTA 408對編碼轉胺酶之基因之表現的影響

在使用RTA 408進行之大鼠中之28天毒性研究中觀測到轉胺酶提高且在猴子中觀測到提高程度顯著較低。在人類中經口投與相關AIM(齊墩果酸)後觀測到類似研究結果(Pergola, 2011)。此影響之一種假設為AIM在無細胞毒性情況下直接或間接增加轉胺酶基因表現。為評估RTA 408處理是否影響轉胺酶mRNA含量，用RTA 408處理小鼠AML-12肝細胞18小時，且使用定量PCR量測編碼轉胺酶之基因中之mRNA含量。將AML-12細胞以 3×10^5 個細胞/孔塗於6孔培養皿中，每孔使用

2 ml培養基。第二天，在37℃下用DMSO(媒劑)或250 nM及500 nM RTA 408處理細胞18小時。各孔接收0.1% DMSO。進行三個獨立重複實驗。在處理後，移除培養基且使用RLT緩衝液(Qiagen)收集細胞。使用QIAshredder管柱(Qiagen，目錄號79654)將溶解產物均質化且使用RNeasy Mini套組(Qiagen，目錄號74104)分離RNA。對於反轉錄，RNA (1 µg)與寡聚(dT)12-18引子及H₂O組合使最終體積為23.25 µL。混合物加熱至70℃保持10分鐘且接著置放於冰上。將含有8 µL 5X第一股緩衝液、2 µL 1 mg/ml BSA、2 µL 20 mM DTT、4 µL 5 mM dNTP混合物、0.25 µl RNaseOUT™及0.5 µL Superscript® II反轉錄酶之母體混合物添加至RNA混合物中且在42℃下培育1小時。藉由加熱至70℃保持10分鐘使反應物不活化。在用於qPCR中之前用H₂O按1:3稀釋反應混合物。2.5 µL經稀釋之反轉錄反應物與一組PCR引子(0.36 µM最終濃度)、2X iQ™ SYBR® Green Supermix (Bio-Rad，目錄號170-8885)及H₂O組合使最終體積為20 µL。PCR引子之序列如下：核糖體蛋白L19 (*Rpl19*)正向引子5'-TCAGGCTACAGAAGAGGCTTGC-3'、反向引子5'-ACAGTCACAGGCTTGCGGATG-3'；*NAD(P)H*脫氫酶、苯醌1 (*Nqo1*)正向引子5'-TCGGGCTAGTCCCAGTTAGA-3'、反向引子5'-AAAGAGCTGGAGAGCCAACC-3'；麩胺酸丙酮酸轉胺酶1 (*Gpt1*或*Alt1*)正向引子5'-CACGGAGCAGGTCTTCAACG-3'、反向引子5'-AGAATGGTCATCCGGAAATG-3'；麩胺酸丙酮酸轉胺酶2 (*Gpt2*或*Alt2*)正向引子5'-CGCGGTGCAGGTCAACTACT-3'、反向引子5'-CCTCATCAGCCAGGAGAAAA-3'；麩胺酸草醯乙酸轉胺酶1 (*Got1*或*Ast1*)正向引子5'-GGCTATTCGCTATTTTGTGT-3'、反向引子5'-GACCAGGTGATTCGTACAAT-3'；麩胺酸草醯乙酸轉胺酶2 (*Got2*或*Ast2*)正向引子5'-AGAGTCCTCTTCAGTCATTG-3'、反向引子5'-ATGATTAGAGCAGATGGTGG-3'。所有引子均預先驗證特異性及擴增

效率。使用以下循環條件擴增cDNA：(95℃下3分鐘，95℃下30秒循環44次，60℃下15秒，72℃下15秒，接著55℃至95℃(0.5℃增量)之熔融曲線)。使用比較性CT方法($\Delta\Delta CT$)測定各目標基因之相對豐度。在孔中一式三份地進行各樣品之PCR反應。RTA 408處理可增加丙胺酸轉胺酶1 (Alt1或Gpt1)及天冬胺酸轉胺酶1 (Ast1或Got1)之mRNA含量(圖15a、15c)。RTA 408對丙胺酸轉胺酶2 (Alt2或Gpt2) mRNA含量無影響且降低天冬胺酸轉胺酶2 (Ast2或Got2)之mRNA含量(圖15b、15d)。該等結果證明RTA 408在所測試之濃度(250 nM或500 nM)下活體外影響轉胺酶基因表現。

6. RTA 408對醣解中間物之含量的影響

糖尿病小鼠中之研究表明齊墩果酸增加肌肉特異性胰島素刺激之葡萄糖攝取(Saha, 2010)。在人類中，與接受安慰劑之患者相比，更高百分比之接受齊墩果酸之患者報導經歷肌肉痙攣(Pergola, 2011)。亦在糖尿病患者中在胰島素投藥後報導肌肉痙攣，表明與肌肉葡萄糖代謝之可能關聯。經由評估所培養之齧齒動物C2C12肌細胞中乳酸及丙酮酸含量來評估RTA 408對醣解代謝之影響。為量測乳酸含量，分化之C2C12肌管在37℃下用1 μ M或2 μ M RTA 408或胰島素處理3小時。移出緩衝液且保存以用於量測細胞外乳酸含量。在量測乳酸前，藉由離心(14,000 rpm下10分鐘)使細胞碎片丸粒化。為量測細胞內乳酸，使細胞懸浮於含0.1% Triton X-100之PBS中且用25號針藉由剪切使細胞溶解。使細胞溶解產物離心(14,000 rpm下10分鐘，4℃)且量測上清液中之乳酸。使用乳酸分析套組(BioVision，目錄號K607-100)量測細胞內及細胞外乳酸。與胰島素處理類似，用1 μ M或2 μ M RTA 408處理分化之C2C12肌管3小時可以劑量依賴性方式顯著增加細胞內及細胞外乳酸含量。

為量測丙酮酸含量，分化之C2C12肌管用250或500 nM RTA 408

或100 nM胰島素處理18小時。在藥物處理後，移除培養基且細胞用PBS洗滌。將細胞溶解於丙酮酸分析緩衝液(丙酮酸分析套組，BioVision，目錄號K609-100)中。使細胞溶解產物離心(14,000 rpm下10分鐘，4℃)且量測上清液中之丙酮酸含量。用250 nM或500 nM RTA 408處理C2C12分化之肌管18小時亦以劑量依賴性方式顯著($P < 0.0001$ ，由星號標註)增加細胞內丙酮酸含量(圖16)。總而言之，該等結果表明RTA 408在所測試之濃度下可活體外影響肌肉醣解中間物；然而，尚不清楚人類中所測試之RTA 408濃度下此活體外系統之結果係如何與臨床相關劑量情況下對葡萄糖代謝之潛在影響相關。

7. 藉由MRP-1活體外評估RTA 408流出

藥物候選物之一種特徵為化物流出率。流出率量測化合物經轉運穿過細胞膜之便利性。MRP-1蛋白質或多藥物抗性輔助蛋白質1為有助於促進有機陰離子及其他小分子轉運穿過細胞膜之蛋白質家族中的一員。較大流出率通常意謂藥物候選物更易於轉運出細胞膜且調節細胞內過程的可能性較低。類似蛋白質亦調節穿過血腦障壁之化合物轉運。以實驗方式測定RTA 408之流出率MRP-1 (1.3)比63170 (10)及63171 (11.2)低約10倍且比63179 (56.5)及63189 (57.1)低40倍以上。不受理論約束，RTA 408可能並非MRP-1之優良受質及/或血腦障壁處p-醣蛋白介導之流出之候選物。在一些實施例中，RTA 408可用於治療中樞神經系統(CNS)病症。

C. 肺病之動物模型中RTA 408之保護作用

在肺病之若干動物模型中測試RTA 408以評估其在肺中的潛在功效。對於所有研究，以3 mg/kg至150 mg/kg範圍內之劑量每天經口投與於芝麻油中之RTA 408。大多數情況下，在誘導肺損傷反應前若干天開始投與RTA 408。

1. 小鼠中LPS誘導之肺部炎症

在兩項小鼠中LPS誘導之肺部炎症之研究中測試RTA 408。在第一項研究中(意欲為初步劑量範圍測試)，每天一次經口投與RTA 408 (30、100或150 mg/kg)保持3天，接著在最後一次給藥後1小時投與LPS。在LPS投藥後20小時(最後一次投與RTA 408後21小時)收集支氣管肺泡灌洗流體(BALF)且使用Luminex™技術評估促炎性標記(亦即IL-6、IL-12p40、TNF- α 及RANTES)之含量。RTA 408處理在所有劑量下均引起IL-12p40顯著減少且在100及150 mg/kg劑量下引起TNF α 顯著減少(圖17)。在第二項研究中，每天投與RTA 408 (10、30或100 mg/kg)保持六天，接著在最後一次給藥後1小時投與LPS。在此研究中，在100 mg/kg劑量下自第3天開始觀測到體重顯著降低。在10 mg/kg劑量下觀測到TNF α 顯著減少且在30 mg/kg劑量下觀測到IL-12p40、TNF α 及RANTES顯著減少(圖18a)。此研究中小鼠肺部之進一步評估顯示相關Nrf2目標基因之有意義的接合，包括10 mg/kg及30 mg/kg下顯著誘導NQO1酶活性(2,6-二氯苯酚-靛酚之降低率之量測值)及GSH總量增加(GSH-Glo™, Promega, Madison, WI)(圖18b)。

2. 博萊黴素誘導之肺纖維化

亦在小鼠及大鼠中之博萊黴素誘導之肺纖維化模型中評估RTA 408之作用。在第一項初步研究中，每天經口管餵投與小鼠RTA 408 (10、30或100 mg/kg)保持39天，其中在第10天進行博萊黴素攻擊(鼻內)。在給藥期的最後一天，收集肺組織且進行組織學研究以評估炎症及間質性纖維化程度。在此模型中，在所測試之RTA 408劑量下未觀測到統計顯著作用(圖19a及19b)。使用勒弗內斯呼吸研究所(Lovelace Respiratory Research Institute)廣泛表徵之肺纖維化之大鼠模型進行其他評估。在此研究中，在第0天藉由氣管內投藥用博萊黴素或生理食鹽水對大鼠進行攻擊。在攻擊後，動物每天經口管餵接受RTA 408 (3、10或30 mg/kg)保持28天。由於動物過度脫水及腹瀉，在

第14天停止30 mg/kg劑量之投藥。對於其餘動物，在第28天收集支氣管肺泡灌洗流體以用於藉由流動式細胞測量術評估促炎性浸潤物，且藉由LC-MS及組織病理學分析肺組織之羥基脯胺酸含量。用硫酸博萊黴素進行之攻擊誘導大量嗜中性白血球釋放及BALF中可溶性膠原蛋白增加以及肺中羥基脯胺酸增加。3 mg/kg及10 mg/kg RTA 408處理顯著抑制肺中之多形核(PMN)細胞浸潤且亦引起羥基脯胺酸沈積顯著降低(約10%至20%)(圖20a及20b)。

重要的是，組織病理學評估顯示經RTA 408處理之大鼠中膠原蛋白沈積顯著降低，如由三色染色法(trichrome staining)評估。而博萊黴素對照動物主要呈現中度染色，經10 mg/kg RTA 408處理之動物主要呈現最小至輕度染色(表2)。

表2：由三色染色強度評估之大鼠肺中RTA 408對膠原蛋白沈積之影響

染色強度 ^a	博萊黴素對照	RTA 408 (3 mg/kg)	RTA 408 (10 mg/kg)
最小	0	0	3
輕度	1	0	4
中度	7	7	1

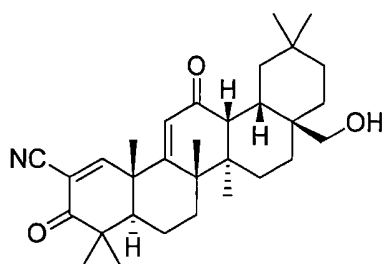
染色強度^a 值表示博萊黴素誘導之肺變化區域中具有間質三色染色之動物中之染色強度。

此研究中大鼠肺部之進一步評估亦顯示相關Nrf2目標基因之有意義的接合，如由Quantigene Plex 2.0 Multiplex分析法(Affymetrix, Santa Clara, CA)所分析(圖21)。在暴露於博萊黴素之大鼠肺部中，RTA 408顯著且以劑量依賴性方式提高NQO1、Txnrd、Gsr及Gst酶活性，表明此疾病環境中由RTA 408進行之Nrf2活化。藉由量測DCPIP之降低率來評估NQO1酶活性。使用自Cayman Chemical (Ann Arbor, MI)商購之套組量測Txnrd、Gst及Gst酶活性。

3. 小鼠中香菸煙霧誘發之COPD

亦在香菸煙霧誘發之COPD之小鼠模型中測試RTA 408。小鼠每

天經口管餵接受RTA 408 (3、10或30 mg/kg)保持兩週且在RTA 408給藥週期期間每週暴露於香菸煙霧五天。在研究結束時，收集肺組織及BALF以用於分析發炎性浸潤物及細胞激素。在此實驗中，低至3 mg/kg RTA 408之劑量的RTA 408之多劑量投藥引起促炎性細胞激素(包括KC (人類IL-8之功能性小鼠同系物)及TNF α)之顯著抑制，如使用Luminex™技術量測。此研究之結果之概述呈現於圖22a至圖22e中。在同一研究中測試AIM類似物(63355)以進行比較。63355為下式之化合物：



此研究中小鼠肺部之進一步評估亦顯示相關Nrf2目標基因之有意義的接合(圖23)。肺中之NQO1酶活性(量測為DCPIP之降低率)由於暴露於香菸煙霧而顯著降低；投與RTA 408可挽救此損害。30 mg/kg劑量之RTA 408亦誘導Txnrd酶活性。通常，Gsr酶活性不發生改變且Gst酶活性隨處理而降低-其兩者均可能為該等酶之臨時反應之結果。使用自Cayman Chemical (Ann Arbor, MI)商購之套組量測Txnrd、Gst及Gsr酶活性。

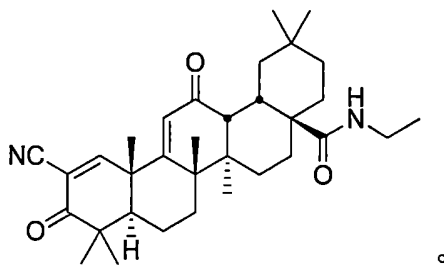
4. 小鼠中卵白蛋白誘發之哮喘

在卵白蛋白誘發之哮喘之小鼠模型中的預備試驗中評估RTA 408之潛在活性。在第0天及第14天藉由腹膜內注射卵白蛋白及氫氧化鋁使小鼠敏感化且在第14、25、26及27天用含卵白蛋白之生理食鹽水進行鼻內攻擊。小鼠在第1-13天及第15-27天每天經口管餵接受RTA 408 (3、10或30 mg/kg)。在致敏及卵白蛋白攻擊後，經媒劑處理之小鼠與經陽性對照物(地塞米松)處理之小鼠相比白血球總量顯著增加。亦在

經媒劑處理之小鼠中觀測到T細胞及B細胞數目增加。30 mg/kg RTA 408處理可顯著降低氣管內B細胞之數目及百分比。在氣管中偵測到，RTA 408 (3 mg/kg及30 mg/kg)亦顯著降低巨噬細胞數目而非巨噬細胞之平均百分比。該等觀測結果表示此模型中之潛在功效。

5. 小鼠中RTA 408對LPS誘發之敗血症之影響

在第0天藉由腹膜內注射LPS (21 mg/kg)誘發敗血症且跟蹤研究存活率直至第4天。自第-2天至第2天每天經口管餵投與RTA 408 (10、30或100 mg/kg)。在媒劑對照組中，60%動物存活至第4天(高於此模型中預期的約40%存活率)。在RTA 408處理組中，10 mg/kg劑量組中80%動物及30 mg/kg劑量組中90%動物存活至第4天(圖24c及圖24d)。對於100 mg/kg劑量組，90%動物存活至第4天且在第4天僅發生一起死亡病例。儘管該等RTA 408誘導之作用表示此模型中之顯著功效，但媒劑對照組中之相對高存活率排除了對照物處理組與RTA 408處理組之間的統計顯著差異。亦呈現使用化合物RTA 405獲得之結果(圖24a及24b)。RTA 405為下式之化合物：



6. RTA 408對放射線誘發之口腔黏膜炎之影響

使倉鼠暴露於針對頰囊(buccal cheek pouch)之急性放射線可產生與在人類口腔潰瘍性黏膜炎中所觀測類似之作用。該等作用包括中度至重度黏膜炎，其特徵為重度紅斑及血管舒張、淺表性黏膜糜爛及形成潰瘍。進行單項研究以評估此模型中RTA 408之作用。在第0天，各倉鼠接受40 Gy劑量之針對左側頰囊之急性放射。自第-5天至第-1天及第1天至第15天每天兩次經口投與RTA 408 (10、30或100 mg/kg)。

自第6天開始且持續至第28天，每隔一天使用標準6點評分量表評估口腔黏膜炎。30 mg/kg及100 mg/kg劑量之RTA 408均引起潰瘍性黏膜炎之持續時間顯著減少(圖25)。此外，亦觀測到黏膜炎評分 ≥ 3 之動物之百分比的劑量依賴性降低。然而，投與30 mg/kg或100 mg/kg RTA 408引起經照射倉鼠之體重增加的顯著劑量依賴性降低。由於體重減輕超過20%，在第2天，對100 mg/kg劑量組中之八隻倉鼠中的兩隻實施安樂死。

7. 活體內RTA 408對Nrf2生物標記之誘導之影響

如上文所描述，RTA 408之關鍵分子目標為Nrf2，Nrf2為抗氧化性細胞保護之中央轉錄調節子。Nrf2活化誘導一組細胞保護基因(包括NQO1、與GSH合成有關之酶[亦即麩胺酸-半胱胺酸連接酶催化及修飾次單元(Gclc及Gclm)]、與去毒作用有關之酶(亦即麩胱甘肽S-轉移酶[Gst])及流出轉運體[亦即多藥物抗性相關蛋白(Mrp)])的調升。該等基因之誘導作用產生由抗氧化能力增加、麩胱甘肽合成誘導及可能有害分子之結合及離開細胞而增強之協同細胞作用從而保護免受氧化損害。除上述各種動物模型中評估之功效終點及Nrf2目標基因表現外，亦使用自健康的經RTA 408處理之小鼠、大鼠及猴收集之組織評估RTA 408誘導Nrf2目標基因之表現的能力。

作為小鼠、大鼠及猴中RTA 408之無GLP型14天毒性研究之一部分，收集組織以用於量測所選Nrf2目標基因之mRNA及酶活性水準。對於小鼠及大鼠，在第14天最後一次給藥後4小時收集肝臟樣品。對於猴子，在第14天最後一次給藥後24小時收集血液(PBMC分離)、肝臟、肺及腦組織。如上文所描述，在組織勻漿中量測NQO1、Gst及谷胱甘肽還原酶(Gsr)之酶活性。使用Quantigene Plex 2.0技術根據製造商說明書測定mRNA含量，其涉及使用xMAP® Luminex®磁性珠粒對mRNA目標進行直接定量之基於雜交之分析法。此外，用TQD質譜儀

(Waters, Milford, MA)藉由LC/MS/MS方法量測血漿及組織中之RTA 408濃度。

RTA 408在10、30及100 mg/kg劑量下通常以劑量依賴性方式增加各種Nrf2目標基因之表現(圖26、圖27a、圖28a及圖28b)。由RTA 408引起之Nrf2目標基因之轉錄調升亦引起抗氧化反應之功能性增加，如由齧齒動物肝臟以及猴肝臟及肺中NQO1、Gst及Gsr酶活性之劑量依賴性增加表明(圖29a及圖29b、圖30a及圖30b、圖31a及圖31b)。此外，在齧齒動物中，RTA 408之肝臟暴露與NQO1 (Nrf2之原型目標基因)之酶活性水準有關(圖32b、圖33b)。在猴中，NQO1及硫氧還蛋白1 (sulfiredoxin 1; SRXN1)之PBMC中之mRNA表現量與血漿之RTA 408暴露有關(圖37a及圖37b)。總而言之，RTA 408增加Nrf2目標之mRNA含量及活性，且該等增加通常與組織及血漿暴露有關，表明Nrf2目標適宜充當Nrf2活化之生物標記(圖34a及圖34b)且可適用於評估健康人類個體中RTA 408之藥理學活性。

D. 安全性藥理學

使用RTA 408完成GLP順應性安全性藥理學程式。此包括活體外及活體內心血管系統(猴)研究以及大鼠中之呼吸系統及中樞神經系統之研究。

1. 評估RTA 408對表現於HEK293細胞中之經選殖hERG通道之影響

進行此研究以評估RTA 408對由穩定表現於人類胎腎(HEK293)細胞株中之hERG(人類醚-a-go-go相關基因)通道傳導之快速活化內向矯正鉀電流(I_{Kr})的影響。使用全細胞貼片夾電生理學方法評估RTA 408對hERG相關鉀電流之影響。在hERG QPatch_Kv11.1分析法中測定RTA 408之 IC_{50} 值為12.4 μ M。此值分別比63170 (4.9 μ M)及63189 (3.8 μ M)之值高2.5至3倍。RTA 408 IC_{50} 值與63171值(15.7 μ M)類似。

2. 獼猴中RTA 408之心血管評估

進行單項研究以評估有意識自由行動獼猴中RTA 408之潛在心血管作用。根據拉丁方格設計(Latin square design)向相同的四隻雄性及四隻雌性獼猴投與10、30及100 mg/kg劑量之媒劑(芝麻油)及RTA 408，其中每週對每種處理每種性別的一隻動物進行給藥，接著為投藥之間之14天清除期，直至各動物接受所有處理。以5 mL/kg之劑量體積向所有動物經口管餵投與媒劑及RTA 408。

為動物配備遙測傳輸器以用於量測體溫、血壓、心跳速率及心電圖(ECG)評估。自給藥前至少2小時開始持續監測體溫、心臟收縮壓、心臟舒張壓及平均動脈血壓、心跳速率及ECG參數(QRS持續時間及RR、PR及QT時間間隔)直至給藥後至少24小時。印出指定時間點時來自心血管監測資料之ECG圖，且由廣泛認可之獸醫心臟病專家進行定性評估。在研究中第一次投藥之前，持續監測未經處理之動物之心血管終點至少24小時，且以該等資料用於計算整個研究中經校正之QT時間間隔。

對所有動物每天至少觀測兩次發病率、死亡率、損傷及食物與水利用度。在給藥前、給藥後約4小時及心血管監測期完成後進行臨床觀測。在各處理投藥前一天量測及記錄體重。

10、30及100 mg/kg劑量之RTA 408未產生死亡率、不良臨床徵象或引起體重、體溫、血壓、或定性或定量(PR、RR、QRS、QT時間間隔)ECG參數之顯著變化(圖35；表45)。在100 mg/kg劑量組中，觀測到經校正之QT時間間隔之小幅(平均1.6%)但統計上顯著之增加；然而，個別動物資料未展示一致的QTc增加，表示其係與測試物件相關之效應。因此，由於變化程度較小且個別動物中缺乏一致反應，不認為該等微幅QTc增加與RTA 408處理有關。因此，在至多且包括100 mg/kg之劑量下，經口投與RTA 408對獼猴中之心血管功能無影響。

3. 大鼠中RTA 408之神經行為(Neurobehavioral)評估

在大鼠中評估RTA 408之潛在急性神經行為毒性。三個具有10隻雄性及10隻雌性CD[®] [CrI:CD[®] (SD)]大鼠之處理組接受3、10或30 mg/kg劑量之RTA 408。具有每種性別10隻動物之另一組充當對照且接受媒劑(芝麻油)。在第1天向所有組經口管餵投與一次10 mL/kg劑量體積之媒劑或RTA 408。

對所有動物每天進行兩次發病率、死亡率、損傷及食物與水利用度觀測。在第1天在給藥之前進行臨床徵象觀測且接著進行各功能性觀測組(FOB)評估。在給藥前(第-1天)及給藥後約4小時及24小時進行FOB評估。在第1天在給藥前量測及記錄體重。

3、10及30 mg/kg劑量之RTA 408未產生死亡率、不良臨床觀測結果或對所測試之任一種神經行為量測值之影響。在30 mg/kg組中在給藥後約24小時觀測到體重增加之輕微降低，其可能與測試物件有關。關於此研究中評估之基本神經行為終點，RTA 408在至多及包括30 mg/kg之劑量下在大鼠中未產生任何副作用。

4. 大鼠中RTA 408之肺評估

在大鼠中評估RTA 408對肺功能之潛在影響。三個具有八隻雄性及八隻雌性CD[®] [CrI:CD[®] (SD)]大鼠之處理組接受3、10或30 mg/kg劑量之RTA 408。具有每種性別八隻動物之另一組充當對照且接受媒劑(芝麻油)。在第1天向所有組經口管餵投與一次10 mL/kg劑量體積之媒劑或RTA 408。

對所有動物每天進行兩次死亡率、發病率、損傷以及食物與水利用度觀測。在給藥前、給藥後約4小時及8小時肺監測期完成後進行臨床觀測。在投與RTA 408當天量測及記錄體重。在給藥前監測肺功能(呼吸率、潮氣量及每分鐘呼吸量)保持至少1小時以建立基線且在給藥後監測至少8小時。

3、10及30 mg/kg劑量之RTA 408未產生死亡率、不良臨床觀測結

果或對所評估之任一種肺參數之影響。因此，關於此研究中評估之基本肺終點，RTA 408在至多及包括30 mg/kg之劑量下在大鼠中未產生任何副作用。

E. 非臨床性概述

1. 藥物動力學

已活體外及活體內研究RTA 408以評估其PK及代謝性質。已進行活體外研究以測定RTA 408血漿蛋白質結合及血液/血漿分配、細胞色素P450 (CYP450)抑制及誘導以及鑑別由小鼠、大鼠、猴及人類之肝微粒體形成之代謝物。已主要經由在毒理學研究中監測血漿及所選組織中之藥物含量來獲得與重複投與RTA 408後之活體內吸收率及分佈有關之資料。已使用基於敏感性及選擇性液相層析-質譜分析法之生物分析方法(LC/MS/MS)在適當精確度及準確度下量測血漿、血液及組織中之RTA 408濃度。用TQD及QToF質譜儀(Waters)進行量測。

a. 吸收率

在小鼠、大鼠及猴中研究單次及重複(每天)經口投藥後RTA 408之吸收率及全身藥物動力學特徵。在經口投與10 mg/kg至100 mg/kg劑量之懸浮調配物後，在小鼠中在1至2小時內觀測到最大濃度且在大鼠及猴中在1至24小時內觀測到最大濃度。全身RTA 408暴露量傾向於在大鼠最高且在小鼠且猴中觀測到較低含量。儘管在一些情況下，表觀長期吸收狀態阻礙明確半衰期估計值的計算，但在經口投藥後觀測之RTA 408之表觀終末半衰期之估計值通常在6小時至26小時範圍內。

全身RTA 408暴露量通常在雄性及雌性中類似。重複每天經口投藥後之RTA 408暴露量趨向於略高(≤ 2 倍)於單次給藥後觀測之暴露量。以懸浮調配物形式投與3至100 mg/kg劑量範圍內之RTA 408通常引起全身暴露量隨劑量成比例增加。然而，投與更高劑量(猴中100至800 mg/kg；大鼠中500至2000 mg/kg)不會引起類似暴露量增加，表明

吸收率在高於100 mg/kg之劑量下飽和。在向猴經口投與RTA 408之未最佳化(鬆散填充)之膠囊調配物(3 mg/kg)後，與懸浮調配物相比，經劑量校正之全身暴露量傾向於稍微降低。

在大鼠中使用單次及重複表面投藥研究RTA 408之吸收率及全身藥物動力學特徵。0.01%至3%範圍內之RTA 408投藥與類似經口給藥相比展示較低血漿濃度。全身RTA 408暴露量通常以劑量依賴性方式增加。表面投藥係調配為於芝麻油中之懸浮液。

使用兔評估RTA 408之眼部吸收率及全身藥物動力學特徵。每天一次經表面投與眼部RTA 408保持5天。眼部投藥與經口投與RTA 408相比展示較低RTA 408血漿濃度(圖36)。即使在連續5天後，血漿中之RTA 408量與經口投與RTA 408時第一次給藥後之濃度相比仍僅展示微小變化，其中血漿濃度幾乎高100倍(圖36)。

b. 分佈

在小鼠、大鼠、兔、犬、小種豬、猴及人類血漿中使用超離心方法在10至2000 ng/mL之RTA 408濃度下評估RTA 408之血漿蛋白質結合。RTA 408廣泛結合於血漿蛋白質。非臨床物種中之血漿蛋白質結合率在93%(小鼠)至> 99%(小種豬)範圍內，其中毒理學物種(大鼠及猴)中之結合率為95%且人類中之結合率為97%。在任何所測試之物種中均不存在濃度依賴性蛋白質結合之證據。血液-血漿分配實驗之結果表明RTA 408傾向於以線性方式主要分佈於血液之血漿部分中，其中所測試之所有物種及所有濃度下之血液:血漿比率< 1.0。

已在小鼠、大鼠及猴中研究經口投藥後組織中之RTA 408分佈。在14天非GLP毒性研究中，在研究中最後一次給藥後的單一時間點(4小時，大鼠及小鼠；24小時，猴)收集所選組織(肝臟、肺及腦)且使用LC/MS/MS分析RTA 408含量。RTA 408易於分佈於肺、肝臟及腦中。在肺中，在第4小時，小鼠及大鼠中之RTA 408濃度與血漿中之濃度類

似或略高於(< 2倍)血漿中之濃度，而在猴中，在第24小時，肺中之RTA 408濃度比血漿濃度高6至16倍。在腦中觀測到類似模式。相反，在小鼠及大鼠中，肝臟中之RTA 408濃度比血漿濃度高5至17倍(第4小時)且在猴中比血漿濃度高2至5倍(第24小時)。

在小鼠、大鼠及猴中藉由監測在14天毒性研究中收集之用於研究藥物暴露量之相同組織中之Nrf2目標基因誘導作用來評估組織中RTA 408之藥效作用。由RTA 408進行之Nrf2目標基因之誘導引起抗氧化反應增加，如由所檢驗之組織中NQO1、麩胱甘肽S-轉移酶(Gst)及谷胱甘肽還原酶(Gsr)酶活性之劑量依賴性增加證明。如上文所描述量測酶活性。此外，在齧齒動物中，RTA 408之肝臟含量與NQO1(Nrf2之原型目標基因)之酶活性水準有關。在猴中，NQO1及硫氧還蛋白1 (SRXN1)之周邊血液單核細胞(PBMC)中之mRNA表現量與血漿之RTA 408暴露量有關(圖37a及圖37b)。總而言之，齧齒動物及猴中Nrf2之RTA 408誘導之生物標記及該等誘導作用通常與組織及血漿之RTA 408暴露量充分相關。

當經由眼部表面投藥向兔投與RTA 408時，在角膜、視網膜或虹膜中發現最高化合物濃度，而玻璃體、房水及血漿中之RTA 408濃度則顯著較低(圖38)。

c. 代謝

已在將RTA 408與來自小鼠、大鼠、猴及人類之肝微粒體一起在菸鹼胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)再生系統及尿苷二磷酸葡醛酸轉移酶(UGT)反應混合物存在下培育60分鐘後研究RTA 408之代謝作用。在靈長類動物微粒體中觀測到RTA 408之大量更新，其中在猴及人類微粒體中在60分鐘培育結束後剩餘< 10%母體分子。相反，齧齒動物微粒體中之代謝程度較低，其中在培育結束後剩餘> 65%母體分子。由於缺乏RTA 408之各種潛在代謝物之可用可信標準，因此無法

進行所觀測之代謝物之定量評估。由定性觀點看來，在不同物種中觀測到類似的RTA 408代謝物模式且包括與RTA 408之還原及羥基化作用以及RTA 408或其還原/羥基化作用代謝物之葡萄糖醛酸反應一致的質量峰。未觀測到獨特人類代謝物，亦在一或多種臨床前物種中觀測到人類微粒體培育中之所有峰。詳言之，基於活體外微粒體資料，所有人類代謝物均存在於大鼠或猴、所選齧齒動物及非齧齒動物毒性物種中。

d. 藥物動力學藥物相互作用

使用彙集之人類肝微粒體及特定CYP450酶之標準受質評估RTA 408抑制細胞色素P450 (CYP450)介導之代謝的潛力。RTA 408直接抑制CYP2C8及CYP3A4/5，其對各酶之 K_i 值為約0.5 μM 。未觀測到對其他所測試之酶(CYP1A2、CYP2B6、CYP2C9、CYP2C19或CYP2D6)之顯著抑制，在所測試之最高濃度(3 μM)下，抑制率 $< 50\%$ 。此外，幾乎不存在或不存在對任一種所測試之酶之代謝依賴性抑制作用的證據。可基於該等資料確保研究CYP3A4/5介導之藥物-藥物相互作用之潛力的未來研究，且可在經口投藥後在胃腸(GI)道中局部實現可能的高濃度。

使用所培養之人類肝細胞評估RTA 408誘導CYP450酶表現之潛力。在原型誘導物引起預期之CYP活性增加之條件下，RTA 408 (至多3 μM)並非所培養之人類肝細胞中CYP1A2、CYP2B6或CYP3A4酶活性之誘導物。藉由監測分離之微粒體中非那西汀(phenacetin)(CYP1A2)、安非他酮(bupropion)(CYP2B6)及鞣固酮(CYP3A4)之受質轉化率來量測酶活性。

F. RTA 408對急性放射性皮炎之影響

已研究RTA 408作為急性放射性皮炎之表面或口服預防藥物之作用。使用雄性BALB/c小鼠，在第0天投與30 Gy劑量放射線(表3)。在

第-5天至第-1天及第1天至第30天向大鼠投與芝麻油媒劑或RTA 408。RTA 408係於芝麻油中以3、10及30 mg/kg經口投與以及以於芝麻油中之0.01%、0.1%及1%組合物形式經表面投與。自第4天至第30天每隔一天盲式評估皮炎。在第12天，觀測到典型皮炎峰且在給藥後4小時處死4隻小鼠。在第30天給藥後4小時處死剩餘小鼠。在第12天及第30天收集血漿以及經照射之皮膚樣品以用於mRNA及組織學檢查。

表3：急性放射性皮炎模型之研究設計

組	動物數目	放射 (第0天)	處理	處理時程
1	9 (雄性)	---	未經處理	---
2	10 (雄性)	30 Gy	未經處理	---
3	14 (雄性)	30 Gy	媒劑對照物(芝麻油)	第-5天至第-1天及第1天至第30天
4	14 (雄性)	30 Gy	RTA 408-0.01%或3 mg/kg	第-5天至第-1天及第1天至第30天
5	14 (雄性)	30 Gy	RTA 408-0.1%或10 mg/kg	第-5天至第-1天及第1天至第30天
6	14 (雄性)	30 Gy	RTA 408-1%或30 mg/kg	第-5天至第-1天及第1天至第30天

在小鼠經RTA 408處理之測試組中，當經口或經表面投與RTA 408時，皮炎發病率之嚴重程度似乎略微降低(圖39-42)。此外，測試組之平均皮炎臨床評分與時間之函數關係曲線表明與未經處理之測試組相比，以口服或表面形式投與RTA 408時(尤其在經口投與RTA 408情況下)產生的一些變化(圖43-45)。此外，如以下表4及表5中可見，在藉由經由經口投與RTA 408進行處理之小鼠中，臨床評分高於3之罹患皮炎之小鼠百分比顯著較低，而對於表面投與RTA 408之測試組，臨床評分高於2之罹患皮炎之小鼠百分比略微較低。

表4：每個測試組中在臨床皮炎檢查中評分高於2且接受含有RTA 408之表面處理的小鼠百分比

	第12天	第14天	第16天	第18天	第20天	第22天	第24天	第26天	第28天	第30天	動物%-天數 >=2	動物%-天數 >=3
1 無放射，未經處理	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
2 經照射，未經處理	0.0	50.0	83.3	83.3	83.3	100.0	66.7	50.0	50.0	50.0	35.6	0.0
3 經照射，芝麻油	21.4	45.0	60.0	50.0	40.0	40.0	0.0	0.0	0.0	0.0	16.6	0.0
4 經照射，RTA 408-0.01%	0.0	0.0	20.0	50.0	10.0	40.0	40.0	40.0	20.0	10.0	14.4	0.0
5 經照射，RTA 408-0.1%	7.1	10.0	20.0	80.0	60.0	40.0	30.0	10.0	0.0	0.0	16.3	0.0
6 經照射，RTA 408-1.0%	10.7	20.0	10.0	70.0	30.0	10.0	0.0	0.0	0.0	0.0	9.7	0.0

表5：每個測試組中在臨床皮炎檢查中評分高於3且接受含有RTA 408之經口處理的小鼠百分比

	第16天	第18天	第20天	第22天	第24天	第26天	第28天	動物%-天數 >=2	動物%-天數 >=3
1 無放射，未經處理	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0
2 經照射，未經處理	20	40	20	20	20	20	20	39.0	8.8
3 經照射，芝麻油	35	50	40	30	20	0	0	45.6	10.9
4 經照射，RTA 408-3 mg/kg	10	10	0	0	0	0	0	32.5	1.3
5 經照射，RTA 408-10 mg/kg	10	25	30	0	0	0	0	33.8	4.1
6 經照射，RTA 408-30 mg/kg	10	20	10	0	0	0	0	28.8	2.5

G. RTA 408對分次曝露放射性皮炎之影響

利用經表面投藥之RTA 408，量測RTA 408對改善分次曝露放射性皮炎之作用的影響。使用Balb/c小鼠，以0.01%至1%範圍內之三種劑量自第-5天至第30天每天投與小鼠含RTA 408之表面製劑。在第0天至第2天及第5天至第7天每天對小鼠進行6次10 Gy劑量之照射。自第4天開始每兩天一次盲式評估小鼠之臨床皮炎評分直至研究結束。在圖46中，圖形展示各組之平均臨床評分變化，其標繪為時間函數。圖形展示經RTA 408之0.1%至1%表面調配物處理之小鼠之評分的統計顯著改良。研究及處理參數可見於表6中。

表6：分次放射誘導之皮炎之研究條件

組	動物數目	放射 (第0天-第2天，第5 天-第7天)	處理	處理時程
1	9 (雄性)	---	未經處理	---
2	14 (雄性)	6×10 Gy	未經處理	---
3	18 (雄性)	6×10 Gy	媒劑對照物(芝麻油)	每天一次，第-5天至第30天
4	18 (雄性)	6×10 Gy	RTA 408-0.01%	每天一次，第-5天至第30天
5	18 (雄性)	6×10 Gy	RTA 408-0.1%	每天一次，第-5天至第30天
6	18 (雄性)	6×10 Gy	RTA 408-1%	每天一次，第-5天至第30天

藉由分析圖46中展示之平均臨床評分，進行曲線下面積(AUC)分析，其得到與皮炎持續時間長度有關之皮炎嚴重程度。此AUC分析使得可直接比較不同小鼠組及不同百分比之RTA 408組合物之作用(圖47及表7)。當RTA 408濃度為1%時，投與表面RTA 408調配物分別使2級及3級病灶自60%及33%(小鼠僅暴露於媒劑時)降低至21%及6%。其他RTA組合物展示一定活性，但不如1%調配物所展示之活性顯著。

表7：各處理組之皮炎評分之百分比

組	%(天數≥2)	%(天數≥3)
無放射，未經處理	0%	0%
放射，未經處理	66%	31%
放射，芝麻油	60%	33%
放射，RTA 408 (0.01%)	54%	29%
放射，RTA 408 (0.1%)	40%	13%
放射，RTA 408 (1%)	21%	6%

H. RTA 408與癌症治療劑對腫瘤生長之協同作用

進行RTA 408與傳統化學治療劑組合使用之作用的研究以測定潛在治療功效。進行活體外研究以測定RTA 408對兩種不同前列腺癌細胞株LNCaP及DU-145之作用。如圖48a中可見，當與0.125至0.5 μM 範圍內之劑量之RTA 408組合時，活體外用5-氟尿嘧啶處理前列腺癌細胞株(LNCaP)展示細胞毒性之統計顯著增加。使用前列腺細胞株DU-145及多西他賽，當投與0.125至0.75 μM RTA 408時，RTA 408以統計顯著方式增強化學治療劑之細胞毒性，如圖48b中所示。此證據支持RTA 408可與癌症治療劑協同作用且在一些實施例中可用於提供更大的治療癌症患者之功效的觀念。

在獲得成功的活體外分析法之結果後，使用經工程改造以表現螢火蟲螢光素酶之LNCaP/C4-2B及DU145人類前列腺癌(下文中分別稱為C4-2B-Luc及DU145-Luc)進行預備活體內分析法。應注意，該兩種細胞株均以雄激素無關方式生長。細胞於補充有10% FBS之RPMI 1640中培養。使用TrypLE Express (Invitrogen)收集細胞且於PBS中洗滌且進行計數。細胞於PBS中復原達到每30 μL 含 3×10^6 個細胞之最終濃度(除非另有說明)且在獨立試管中等分試樣。將減少生長因子之Matrigel (BD Bioscience)在 $+4^\circ\text{C}$ 下解凍隔夜且以30 μL 等分試樣轉移至試管中。細胞/Matrigel溶液轉移至培養池(vivarium)中且良好混合，隨後以1:1比率注射。每隻小鼠(每組 $n=1$ ，總共3隻動物)接受腫瘤細胞之單次皮下注射。歷時4週預先產生腫瘤。接著，一隻動物每天一次用RTA 408 (17.5 mg/kg，腹膜內)處理保持3天(第-3天至第-1天)。在第二天(第0天)，經RTA 408處理之動物及另一隻動物經單次劑量之18 Gy IR(定位於植入腫瘤之骨盆區域)處理。經RTA 408預處理之小鼠在隨後一週內每兩天一次接受三次額外RTA 408給藥(17.5 mg/kg，腹膜內)。第三隻動物不接受處理且充當陽性對照。經由活體成像每週一

次監測腫瘤進程。為偵測表現螢光素酶之腫瘤細胞，在成像前5分鐘根據製造商方案(Caliper LifeScience)向小鼠腹膜內注射D-螢光素。在成像前，藉由吸入異氟烷使小鼠麻醉且用IVIS Lumina XR系統(Caliper LifeScience)進行成像。對於標準化，確定使對照腫瘤成像所需的最小曝露時間且所有動物均在該等條件下成像。在第7天，與對照動物相比，在經IR處理之動物中未發現腫瘤尺寸顯著降低，而接受RTA 408及IR之動物展示較小腫瘤影像。在第14天及第21天，對照動物展示持續腫瘤發展及生長，而經離子化放射線處理之動物展示一些改良，大多數在第21天時明顯。另一方面，經RTA 408及離子化放射線處理之動物自第7天至第14天展示無進程且在第21天不存在可見腫瘤。每週腫瘤發展可見於圖49中。活體外及活體內資料均表明RTA 408似乎補充不同癌症治療劑之活性，因此增強治療劑之功效。

I. 眼部炎症模型中RTA 408之作用

使用攜帶新西蘭白化症病毒株(New Zealand albino strain)之兔進行RTA 408對眼部炎症之作用的研究。將兔分為5組，每組12隻兔，向其投與三種不同濃度之RTA 408 (0.01%、0.1%及1%)、0.1% Voltarene[®] collyre及媒劑(芝麻油)。每隻兔在穿刺誘導前60分鐘內接受三次滴注且在穿刺誘導後30分鐘內接受兩次滴注。每次滴注50 μ L且在兩隻眼睛中進行。在穿刺誘導後30分鐘在每個時間點時收集6隻動物的房水且在穿刺誘導後2小時再次收集。藉由房水中之蛋白質濃度確定炎症程度。如圖50中所示，RTA 408僅在0.01% RTA 408調配物情況下即展示與最高濃度之任一種其他參考化合物(馬西得斯(MaxiDex)或瑪普科特)類似的房水蛋白質減少。增加RTA 408濃度之作用似乎可忽略，因為所有RTA 408濃度似乎均在誤差內展示類似的降低房水蛋白質濃度之作用。

J. 多晶型篩選

進行化合物63415之預調配及多形現象研究。作為此研究之一部分，進行初步多形現象程式以鑑別在室溫下最穩定的無水形式及合適高機率之可能水合物。總共進行30次結晶實驗，包括相平衡、乾燥實驗及其他技術。藉由FT-拉曼光譜法表徵所有所得固體。藉由PXRD及TG-FTIR且視情況藉由DSC及DVS表徵所有新形式。

此外，製備且表徵非晶形式。進行若干使用不同技術及方法的實驗以製備非晶形式。藉由FT-拉曼光譜法、PXRD、TG-FTIR、DSC、DVS及卡爾-費希爾滴定表徵非晶形式。在四週過程中在升高之濕度及溫度條件下測試非晶形式之穩定性。

1. 起始物質及命名法

使用兩批63415作為起始物質(表8)。此報導中63415亦稱為PP415。此計劃期間接收或產生的所有樣品均具有PP415-P_x形式之唯一標識碼，其中P_x係指樣品/實驗編號(x=1、2、.....、n)。

表8：起始物質

樣品	材料	量	接收日期
PP415-P1	63415，批號：0141-66-1；MW = 554.7 g/mol，C ₃₃ H ₄₄ F ₂ N ₂ O ₃	5.0 g	2011年3月25日
PP415-P40	63415，批號：2083-69-DC；MW = 554.7 g/mol，C ₃₃ H ₄₄ F ₂ N ₂ O ₃	5.0 g	2011年5月27日

2. 化合物63415，批號0414-66-1 (PP415-P1)：非晶形式

藉由FT-拉曼光譜法、PXRD、TG-FTIR、卡爾-費希爾滴定、¹H-NMR、DSC、DVS及近似溶解度量測表徵63415(批號0414-66-1)起始物質。結果概述於表9中。

表9：63415起始物質(PP415-P1)之表徵

方法	結果
FT-拉曼光譜法	用作參考
PXRD	無尖銳的峰圖形，物質為非晶形
TG-FTIR	約0.9重量%(約0.1當量) EtOH及微量H ₂ O (25°C至200°C)，在T > 290°C下分解
卡爾-費希爾滴定	0.5重量% H ₂ O
¹ H-NMR	與結構一致，約0.08當量EtOH
DSC	第一次加熱掃描：玻璃轉移溫度T _g = 152.7°C (ΔC_p = 0.72 J/g°C)； 第二次加熱掃描：玻璃轉移溫度T _g = 149.7°C (ΔC_p = 0.45 J/g°C)
DVS	輕微吸濕性； Δm = +0.4% (50%→85%相對濕度)； FT-拉曼光譜法及PXRD無變化

將使用FT-拉曼光譜(圖58)作為起始物質之參考光譜。PXRD (圖59)展示無尖銳的峰圖形。約10-20 °2 θ 處的寬暈為非晶形物質之特徵。

TG-FTIR熱分析圖(圖60)表明在25°C與200°C之間逐漸損失約0.9重量% EtOH (亦即約0.1當量)及微量H₂O。分解在T > 290°C時開始。

藉由卡爾-費希爾滴定確定水含量為0.5重量%。

¹H-NMR光譜(圖61)與結構一致且展示約0.08當量EtOH，與TG-FTIR熱分析圖一致。

DSC熱分析圖(圖62)表明在第一次加熱掃描中非晶形物質之玻璃轉移溫度T_g = 152.7°C (ΔC_p = 0.72 J/g°C)。在淬滅冷卻後的第二次掃描中，玻璃轉移在T_g = 149.7°C (ΔC_p = 0.45 J/g°C)時發生。

DVS等溫線(圖63)表明在相對濕度自50%相對濕度降低至0%相對濕度時發生1.0重量%之逐漸質量損失；在0%相對濕度時達到平衡。在相對濕度增加至95%相對濕度後，獲得2.1重量%(相對於0%相對濕度下之質量)之逐漸質量增加；在95%相對濕度時達到平衡。在相對濕度自95%相對濕度降低至50%相對濕度時，最終質量比起始質量低0.2重量%。85%相對濕度下之0.4重量%質量增加(相對於起始質量)將樣品歸類為輕微吸濕。

DVS量測後樣品之FT-拉曼光譜(圖64)及PXRD圖形(圖65)與量測前樣品之光譜及圖形相比未發生變化。

在室溫下於十二種溶劑及四種溶劑混合物中藉由手動稀釋及目測來量測PP415-P1起始物質之近似溶解度(表10)。由於此方法之固有實驗誤差，溶解度值意欲視為粗略估計值且僅用於結晶實驗設計中。所有溶劑混合物均以體積比(v/v)列出。

表10：PP415-P1 (非晶形)起始物質之近似溶解度

溶劑	溶解度S [mg/mL]
甲苯	$S > 200$
DCM	$S > 200$
EtOAc	$S > 210$
丙酮	$S > 230$
MeCN	$S > 230$
DMF	$S > 210$
MeOH	$S < 210$
EtOH ^a	$105 < S < 210$
2PrOH	$16 < S < 19$
DEE	$S \geq 1^d$
庚烷	$S < 1$
H ₂ O	$S < 1$
2PrOH/H ₂ O (9:1) ^b	$7.9 < S < 8.5$
MeCN/H ₂ O (2:3) ^c	$S < 1$
EtOAc/庚烷(1:1) ^a	$100 < S < 200$
甲苯/DEE (1:1) ^a	$S > 220$

^a 約1天後觀測到沈澱作用；

^b 25℃下水活性 $a(\text{H}_2\text{O})$ 為約0.7；

^c 50℃下水活性 $a(\text{H}_2\text{O}) > 0.9$ ；^d 首先不完全溶解($S < 1$)，但固體殘餘物完全溶解隔夜($S > 1$)。

3. 化合物63415，批號2083-69-DC (PP415-P40)：類別2

63415(批號2083-69-DC)為庚烷溶劑合物。藉由PXRD表徵此物質(PP415-P40)且發現對應於類別2(圖66)。

類別2可對應於具有緊密結合之溶劑之等結構、非化學計量(<0.5當量)溶劑合物(庚烷、環己烷、異丙醚、1-丁醇、三乙胺及可能其他

溶劑(諸如己烷)及其他醚之溶劑合物)。

7.9 °2θ及13.8 °2θ下PP415-P40之圖形中可見的小型峰不對應於類別3、4或5之峰。此時尚不清楚其來源。

4. 非晶形式之化學穩定性

在七天時程中研究不同溶劑中非晶形式之化學穩定性。

在四種有機溶劑(丙酮、MeOH、MeCN、EtOAc)及三種水性界面活性劑介質(1% SDS水溶液、1% Tween 80水溶液、1% CTAB水溶液)中製備濃度為1 mg/mL之溶液/懸浮液。

製備各溶劑之四種獨立溶液/懸浮液，平衡6小時、24小時、2天及7天且接著藉由HPLC進行分析。

由HPLC層析獲得之相對面積%提供於表11中。化合物似乎在稀釋劑(含0.1%甲酸之MeCN)中稍微不穩定；在程序過程內(亦即約24小時內)，參考樣品(PP415-P1，在程序開始及結束時操作)之面積%在254 nm下自99.9%降低至99.3%且在242 nm下自99.9%降低至99.5%。由於此作用，在接近程序結束時量測之樣品(按以下次序設定：7天、2天、24小時、6小時)可能受影響且可能低估所得面積%。

表11：63415 (PP415-P1)^a之非晶形式之化學穩定性實驗

溶劑	在254 nm下				在242 nm下			
	7天	2天	24小時	6小時	7天	2天	24小時	6小時
丙酮	99.6%	99.6%	99.6%	99.6%	99.7%	99.7%	99.6%	99.6%
EtOAc	99.8%	99.8%	99.8%	99.7%	99.8%	99.9%	99.8%	99.7%
MeOH	99.8%	99.8%	99.7%	99.8%	99.8%	99.9%	99.7%	99.8%
MeCN	97.7%	99.5%	99.3%	99.4%	97.4%	99.5%	99.3%	99.3%
Tween 1% ^b	97.7%	97.1%	95.1%	97.6%	98.7%	98.7%	96.2%	99.1%
SDS 1% ^c	99.7%	99.6%	99.7%	99.7%	99.8%	99.7%	99.7%	99.7%
CTAB 1%	99.3%	99.4%	99.4%	99.6%	99.3%	99.4%	99.4%	99.7%

^a 在第三波長(210 nm)下，信號強度較弱且信雜比較大，因此不進行整合

^b 懸浮液，並非所有物質在所有時間點時均溶解

^c 懸浮液，並非所有固體在時間點24小時及6小時時溶解

在MeCN中之溶液(7天後)及1% Tween 80水性介質之懸浮液(254 nm下所有時間點及242 nm下24小時、2天及7天後)中觀測到分解度 $\geq 1\%$ 。

5. 非晶形式之儲存穩定性

為獲得更多與其基本性質及物理穩定性有關之資料，藉由儲存在高溫及相對濕度下對63415之非晶形式施加應力。

非晶形式(PP415-P1起始物質)之樣品儲存於25°C /約62%相對濕度(NH₄NO₃過飽和水溶液)及40°C /約75%相對濕度(NaCl過飽和水溶液)開放環境中及60°C及80°C下封閉環境中(表12)。在時間點0週、1週、2週及4週時，藉由PXRD檢驗樣品且與起始物質PP415-P1進行比較。

表12. 63415之非晶形式(PP415-P1)之儲存穩定性實驗

樣品	條件	時間點	PXRD結果
PP415-P2a	開放環境，25°C/約62%相對濕度	1週	非晶形
PP415-P2b	開放環境，25°C/約62%相對濕度	2週	非晶形
PP415-P2c	開放環境，25°C/約62%相對濕度	4週	非晶形
PP415-P3a	開放環境，40°C/約75%相對濕度	1週	非晶形
PP415-P3b	開放環境，40°C/約75%相對濕度	2週	非晶形
PP415-P3c	開放環境，40°C/約75%相對濕度	4週	非晶形
PP415-P4a	封閉環境，60°C	1週	非晶形
PP415-P4b	封閉環境，60°C	2週	非晶形
PP415-P4c	封閉環境，60°C	4週	非晶形
PP415-P5a	封閉環境，80°C	1週	非晶形
PP415-P5b	封閉環境，80°C	2週	非晶形
PP415-P5c	封閉環境，80°C	4週	非晶形

一週(時間點1週，圖67)、兩週(時間點2週，圖68)及四週(時間點4週，圖69)後，所有四種樣品仍然為非晶形，因為粉末X射線繞射圖顯示與時間點0週時之起始物質相比無差異。

6. 結晶及乾燥實驗

a. 結晶實驗

以非晶形式作為起始物質進行相平衡、自熱溶液結晶及蒸發實驗，以在適當高機率下鑑別室溫下最穩定的無水形式及可能的水合物。藉由FT-拉曼光譜法表徵所有所得物質；亦藉由PXRD表徵所選樣品。

根據FT-拉曼光譜之峰位置之相似性對其進行分類。將原始樣品(PP415-P1，參見表8)以及結晶產物進行分類。然而，相同類別之光譜並不絕對一致，但為類似的。可存在微小差異及峰偏移。僅考慮FT-拉曼光譜，難以確定一種類別之光譜是否屬於同一種多晶型。

確定PXRD圖形中之峰且接著使用*PANalytical X'Pert (Highscore Plus)*軟體將圖形分類為叢集。該等叢集鑑別具有高相似性之圖形。然而，叢集內存在微小但顯著的差異。因此，叢集內之圖形未必對應於相同多晶型，而可表示具有極類似分子結構之不同形式。在所有情況下，FT-拉曼類別均對應於PXRD叢集。

b. 懸浮液平衡實驗

在一種溶劑及十一種溶劑混合物中進行懸浮液平衡實驗(表13)。製備約100 mg PP415-P1於0.2至2.0 mL所選溶劑中之懸浮液且在22°C至24°C下震盪4至15天。回收固體且藉由FT-拉曼光譜法表徵；亦藉由PXRD表徵大部分固體。

表13. 以非晶形式(PP415-P1)為起始物質之懸浮液平衡實驗

樣品	溶劑/混合物	FT-拉曼類別	PXRD叢集
PP415-P6	2PrOH	3	3
PP415-P7	1:2 EtOAc/庚烷	2	2
PP415-P8	1:2丙酮/己烷	2	2
PP415-P9	1:3甲苯/DEE	2 ^d	--
PP415-P10	1:3 MeOH/TBME	2	2
PP415-P11	1:2 MEK/環己烷	2 ^d	--
PP415-P12	9:1 EtOH/H ₂ O ^a	3	3
PP415-P13	7:3 MeCN/H ₂ O ^b	4 ^d	4
PP415-P14	約1:1 THF/H ₂ O ^c	5 ^d	5
PP415-P29	1:2 EtOAc/TEA	2	2
PP415-P31	9:1 PEG/H ₂ O	1	1
PP415-P35	7:3 MeCN/H ₂ O ^b	4 ^d	4

水活性：^a $a(\text{H}_2\text{O})$ 為約 0.5 (50°C)；^b $a(\text{H}_2\text{O})$ 為約 0.85 (50°C)；^c $a(\text{H}_2\text{O}) > 0.99$ (64°C)；

^d 光譜含有溶劑信號

c. 自熱溶液結晶

在一種溶劑及四種溶劑混合物中製備PP415-P1之熱溶液(表14)。在以約0.2 K/min之速率緩慢冷卻至5°C後，在三種情況(-P20、-P21、-P24)下觀測到沈澱。在兩種情況(-P22、-P23)下，即使在4°C至5°C下儲存兩天後仍無固體沈澱。此處，在室溫下於N₂流下蒸發溶劑。回收固體且藉由FT-拉曼光譜法表徵，且對於光譜與非晶形起始物質不同的物質(FT-拉曼類別1)，亦藉由PXRD進行表徵。

表14：以非晶形式(PP415-P1)為起始物質之緩慢冷卻實驗

樣品	溶劑/混合物	條件	FT-拉曼類別	PXRD叢集
PP415-P20	約2:1丙酮/H ₂ O	55°C → 5°C	3 ^b	3
PP415-P21	約1:5 EtOH/環己烷	75°C → 5°C	2	2
PP415-P22	約1:3 MeCN/甲苯	75°C → 5°C ^a	1 ^b	--
PP415-P23	1:3 EtOAc/二噁烷	75°C → 5°C ^a	1 ^b	--
PP415-P24	1BuOH	75°C → 5°C	2 ^b	2

^a 緩慢冷卻且在5°C下攪拌2天後無沈澱；在室溫下於N₂流下蒸發溶劑。

^b 光譜含有溶劑信號

d. 蒸發/沈澱實驗

在三種溶劑混合物中製備PP415-P1之澄清溶液(表15)。接著在室溫下於環境條件下緩慢蒸發溶劑。然而，在三次實驗中的兩次實驗(-P15及-P17)中，白色固體在開始蒸發前沈澱。藉由FT-拉曼光譜法及PXRD檢驗所得固體。

表15. 非晶形式(PP415-P1)之緩慢蒸發實驗

樣品	溶劑/混合物	FT-拉曼類別	PXRD叢集
PP415-P15	1:2 DCM/IPE	2 ^a	2
PP415-P16	1:2 MeOH/甲苯	1 ^a	--
PP415-P17	1:3 EtOAc/庚烷	2 ^a	2

^a 光譜含有溶劑信號

e. 乾燥實驗

在真空中乾燥各類別之至少一種樣品以將溶劑合物去溶劑化且獲得63415之非溶劑化結晶形式(表16)。進一步藉由FT-拉曼光譜、PXRD及TG-FTIR表徵乾燥物質。

表16. 對由結晶實驗獲得之樣品進行乾燥實驗

樣品	起始物質(類別)	條件	結果
PP415-P18	PP415-P15 (2)	室溫，2-10毫巴，約2小時	2
PP415-P19	PP415-P17 (2)	室溫，2-10毫巴，約2小時	2
PP415-P25	PP415-P6 (3)	室溫，約3毫巴，約5天； 60°C，5-10毫巴，2×1小時； 40-50°C，5-20毫巴，約1天	3
PP415-P26	PP415-P13 (4)	室溫，約3毫巴，約5天； 60°C，5-10毫巴，2×1小時； 40-50°C，5-20毫巴，約1天	4
PP415-P27	PP415-P14 (5)	室溫，約3毫巴，約5天； 60°C，5-10毫巴，2×1小時； 40-50°C，5-20毫巴，約1天	1 ^a
PP415-P28	PP415-P21 (2)	室溫，約3毫巴，約5天； 60°C，5-10毫巴，2×1小時； 40-50°C，5-20毫巴，約1天	2 ^b
PP415-P30	PP415-P7 (2)	50-70°C，1-10毫巴，3天	2
PP415-P32	PP415-P19 (2)	80°C，<1×10 ⁻³ 毫巴，3天	2 ^b
PP415-P33	PP415-P25 (3)	80°C，<1×10 ⁻³ 毫巴，3天	3
PP415-P34	PP415-P28 (2)	80°C，<1×10 ⁻³ 毫巴，3天	2 ^b
PP415-P36	PP415-P35 (4)	80°C，<1×10 ⁻³ 毫巴，3天	4 ^c
PP415-P37	PP415-P35 (4)	80°C，N ₂ 流，3天	4 ^c
PP415-P44a	PP415-P41 (5)	80°C，100毫巴，2天	1 ^a
PP415-P46a	PP415-P45 (6)	80°C，100毫巴，4天	1 ^a

^a 成功去溶劑化，溶劑含量顯著減少，樣品主要為非晶形；PXRD中僅存在少數寬峰

^b 樣品結晶度較低，如由PXRD中之較寬峰指示

^c 成功去溶劑化，溶劑含量顯著減少，樣品仍為結晶；結構無變化

7. 新形式(類別)之表徵

a. 新類別之概述

除63415之非晶形式外，此研究中獲得四種新結晶型(表17)。

表17：所得類別之概述

類別	特徵	乾燥實驗結果
類別1	非晶形式	--
類別2	等結構溶劑合物(例如庚烷)	乾燥不成功
類別3	等結構溶劑合物(例如乙醇)	乾燥不成功
類別4	MeCN溶劑合物及去溶劑化溶劑合物	乾燥成功，結構未變化
類別5	THF溶劑合物	乾燥產生非晶形式

類別2：大部分結晶實驗產生類別2之固體物質。該等樣品可能對應於具有緊密結合之溶劑分子之等結構、非化學計量(< 0.5當量)溶劑合物(庚烷、環己烷、異丙醚、1-丁醇、三乙胺及可能己烷及其他醚之溶劑合物等)。此類別內之拉曼光譜及PXRD圖形彼此極類似，因此結構可基本上一致且僅存在有所合併之不同溶劑引起的微小差異。

類別2樣品之乾燥實驗未產生結晶、非溶劑合物形式。即使高溫(80°C)及高真空(<1×10⁻³毫巴)仍無法完全移除緊密結合之溶劑分子；始終保持溶劑含量>2重量%。該等樣品之結晶度降低，但既未轉化為不同結構亦未觀測到實質非晶體化。

類別3：類別3之固體物質係自若干結晶實驗獲得。類別3之樣品可能與具有緊密結合之溶劑分子之2PrOH、EtOH及可能丙酮之溶劑合物結構相同。其可對應於溶劑含量為約0.5當量之化學計量半溶劑合物或非化學計量溶劑合物。與類別2相同，此類別內之拉曼光譜及PXRD圖形彼此極類似，指示合併有不同溶劑之類似結構。

與類別2類似，乾燥實驗亦未成功。僅可部分移除極緊密結合之溶劑分子(在1×10⁻³毫巴及80°C下長達3天，自約5.4重量%變為約4.8重量%)。PXRD圖形保持不變化。

類別4：僅自7:3 MeCN/H₂O溶劑系統獲得類別4之物質。其最可能對應於結晶乙腈半溶劑合物。

可藉由乾燥(在高溫下於真空或N₂流中)移除大部分溶劑分子而不改變或破壞晶體結構(PXRD保持不變化)。因此，獲得結晶、非溶劑

合物形式(或更確切言之，去溶劑化溶劑合物)。其具有輕微吸濕性(質量增加為約0.7重量%(50%相對濕度至85%相對濕度))且熔點可能為196.1°C ($\Delta H=29.31$ J/g)。

類別5：類別5亦自僅一種溶劑系統(約1:1 THF/H₂O)獲得且含有結合之THF (及可能的H₂O)。由於無法獨立定量該兩種組分之含量，因此無法確定此結晶溶劑合物之確切性質。

乾燥類別5引起完全去溶劑化且轉化為非晶形式(類別1)。一種自類別2物質製備非晶形式之可能方法為使類別2轉化為類別5，接著進行乾燥及非晶體化。

b. 類別1-非晶形式

自少量結晶實驗獲得類別1 (63415之非晶形式)(表18)。大部分結晶實驗產生類別2、3、4或5之結晶物質。

起始物質PP415-P1為非晶形且屬於類別1。進行目的僅在於製備非晶形式(類別1)之其他實驗。

表18. 產生類別1之固體物質之結晶實驗

樣品	方法	溶劑	表徵	乾燥
PP415-P31	懸浮液平衡	9:1 PEG/H ₂ O	拉曼光譜、PXRD	--
PP415-P22	緩慢冷卻 ^a	約1:3 MeCN/甲苯	目測、拉曼光譜	--
PP415-P23	緩慢冷卻	1:3 EtOAc/二噁烷	目測、拉曼光譜	--
PP415-P16	蒸發/沈澱	1:2 MeOH/甲苯	目測、拉曼光譜	--

^a 緩慢冷卻且在5°C下攪拌2天後無沈澱；在室溫下於N₂流下蒸發溶劑。

c. 類別2-等結構溶劑合物(例如庚烷)

大部分結晶實驗產生類別2之固體物質(表19)。此外，使用一批類別2庚烷溶劑合物PP415-P40作為起始物質(參見表8)。

類別2之FT-拉曼光譜明顯彼此類似(圖70)但展示微小差異。其與非晶形起始物質類別1之光譜(圖71)及類別3、4及5之光譜(圖72)顯著

不同。

類別2之PXRD圖形(圖73)證實物質之結晶度。樣品之圖形彼此極類似但展示微小差異(圖74)。類別2圖形與類別3、4及5之圖形明顯不同(圖75)。

樣品PP415-P7之TG-FTIR熱分析圖(圖76)展示在自約100°C至290°C的兩個步驟中損失約7.5重量% EtOAc及庚烷及在溫度 $T > 290^{\circ}\text{C}$ 時分解。在TG-FTIR實驗前，在真空(10至20毫巴)中短暫乾燥樣品(約5分鐘)以移除過量的未結合之溶劑。EtOAc及庚烷損失在相同溫度範圍中一起發生；兩種溶劑似乎均在結構內緊密結合。半溶劑合物之理論EtOAc含量(沸點= 76°C)為7.4重量%，半溶劑合物之理論庚烷含量(沸點= 98°C)為8.3重量%。不幸的是，無法獨立地對兩種組分之含量進行定量。

樣品PP415-P21之TG-FTIR熱分析圖(圖77)展示在自約140°C至約250°C的兩個步驟中損失約5.8重量%環己烷及在溫度 $T > 250^{\circ}\text{C}$ 時分解。由於環己烷之沸點為 81°C ，因此溶劑似乎在結構內緊密結合。半溶劑合物之理論環己烷含量為7.1重量%。因此，樣品PP415-P18可能對應於非化學計量環己烷溶劑合物(溶劑含量 < 0.5 當量)。

樣品PP415-P24之TG-FTIR熱分析圖(圖78)展示在自約50°C至約160°C之步驟中損失約16.6重量% 1BuOH，在自160°C至230°C之第二步驟中進一步損失1BuOH(6.6重量%)及在溫度 $T > 230^{\circ}\text{C}$ 時分解。由於1BuOH之沸點為 117°C ，因此至少第二步驟之溶劑似乎在結構內緊密結合。半溶劑合物之理論1BuOH含量為6.3重量%。

樣品PP415-P29之TG-FTIR熱分析圖(圖79)展示在自約50°C至約220°C過程中損失約5.1重量% EtOAc及TEA，大部分係在180°C至210°C之步驟中損失。分解在溫度 $T > 220^{\circ}\text{C}$ 時發生。EtOAc及TEA損失在相同溫度範圍中一起發生；兩種溶劑似乎均在結構內緊密結合。

(在EtOAc沸點77°C及TEA沸點89°C下)。

樣品PP415-P47 (圖80)之TG-FTIR熱分析圖展示類別2在至多240°C之溫度下之典型兩步驟質量損失(總共約7.9重量% EtOAc)，表明極緊密結合之溶劑分子。

樣品PP415-P48之TG-FTIR熱分析圖(圖81)展示約3.5重量%甲酸乙酯及水之質量損失，首先逐漸損失且接著在180°C與200°C之間的步驟中顯著損失。在 $T > 240^{\circ}\text{C}$ 時的分解中可能伴有進一步甲酸乙酯損失。

因此，類別2之樣品可能均對應於具有緊密結合之溶劑分子之非化學計量(< 0.5 當量)、等結構溶劑合物。由於此類別之拉曼光譜及PXRD圖形彼此極類似，故結構可基本上彼此一致，僅存在由於所併入之溶劑分子之尺寸及形狀不同而引起的單位晶胞尺寸之微小變形或單位晶胞內原子位置的微小變化。

表19：產生類別2之固體物質之結晶實驗

樣品	方法	溶劑	表徵	乾燥
PP415-P7	懸浮液平衡	1:2 EtOAc/庚烷	拉曼光譜、PXRD、TG-FTIR	x
PP415-P8	懸浮液平衡	1:2丙酮/己烷	拉曼光譜、PXRD	--
PP415-P9	懸浮液平衡	1:3甲苯/DEE	拉曼光譜、PXRD	--
PP415-P10	懸浮液平衡	1:3 MeOH/TBME	拉曼光譜、PXRD	--
PP415-P11	懸浮液平衡	1:2 MEK/環己烷	拉曼光譜	--
PP415-P29	懸浮液平衡	EtOAc/TEA	拉曼光譜、PXRD、TG-FTIR	--
PP415-P15	蒸發/沈澱	1:2 DCM/IPE	拉曼光譜、PXRD	x
PP415-P17	蒸發/沈澱	1:3 EtOAc/庚烷	拉曼光譜、PXRD	x
PP415-P21	緩慢冷卻	約1:5 EtOH/環己烷	拉曼光譜、PXRD、TG-FTIR	x
PP415-P24	蒸發/沈澱	1BuOH	拉曼光譜、PXRD、TG-FTIR	--
PP415-P43 ^a	蒸發	(8:2) THF/己烷	PXRD	--
PP415-P47 ^a	蒸發	EtOAc	PXRD、TG-FTIR	--
PP415-P48 ^a	蒸發	甲酸乙酯	PXRD、TG-FTIR	--

^a 起始物質：PP415-P40，類別2；在所有其他實驗中使用PP415-P1(類別1)作為起始物質。

d. 類別2之樣品之乾燥實驗

在真空中(且一些在高溫下)乾燥類別2之若干樣品且嘗試將其去溶劑化以獲得63415之無水形式。乾燥樣品之細節及表徵提供於以下表20中。

然而，即使在80°C 及 $< 1 \times 10^{-3}$ 毫巴真空中乾燥三天仍無法完全移除緊密結合之溶劑分子；溶劑含量保持 > 2 重量%(參見樣品-P32及-P34)。PXRD圖形展示該等樣品之結晶度降低，但未觀測到轉化為不同結構。

表20. 類別2樣品之乾燥實驗

起始物質		乾燥	經乾燥之物質		
樣品	溶劑含量	條件	樣品	溶劑含量	類別
PP415-P7	EtOAc/庚烷 (約7.5%)	50-70°C, 1-10毫巴, 3天	PP415-P30	庚烷 (約2.5%)	2
PP415-P15	IPE (未知)	室溫, 2-10毫巴, 約2小時	PP415-P18	IPE (約7.0%)	2
PP415-P17	EtOAc(?)/庚烷 (未知)	室溫, 2-10毫巴, 約2小時	PP415-P19	庚烷 (約7.6%)	2
PP415-P19	庚烷 (約7.6%)	80°C, $< 1 \times 10^{-3}$ 毫巴, 3天	PP415-P32	庚烷 (約2.2%)	2 ^a
PP415-P21	環己烷 (約5.8%)	室溫, 約3毫巴, 約5天; 60°C, 5-10毫巴, 2×1小時; 40-50°C, 5-20毫巴, 約1天	PP415-P28	環己烷 (~3.0%)	2 ^a
PP415-P28 ^a	環己烷 (約3.0%)	80°C, $< 1 \times 10^{-3}$ 毫巴, 3天	PP415-P34	環己烷 (約2.3%)	2 ^a

^a 根據PXRD，結晶度稍微較低

因此，類別2溶劑合物似乎具有極緊密結合之溶劑分子。其難以去溶劑化或轉化/非晶形化。

e. PP415-P7 → PP415-P30

由1:2 EtOAc/庚烷中之懸浮液平衡實驗獲得之樣品PP415-P7(類別2)之固體物質在真空中乾燥(成為PP415-P30)若干天(1至10毫巴, 50°C至70°C)。

經乾燥之類別2物質(PP415-P30)之FT-拉曼光譜展示與原始光譜(樣品PP415-P7, 圖82)相比之微小差異，但仍對應於類別2。

經乾燥之類別2物質(PP415-P30)之PXRD圖形展示略微更寬、強度較低的峰(圖83)，但仍對應於類別2。

經乾燥之樣品PP415-P30之TG-FTIR熱分析圖(圖84)展示在約50°C至約250°C之兩個步驟中損失約2.5重量%庚烷(及一些EtOAc)且在溫度 $T > 250^{\circ}\text{C}$ 時分解。與樣品PP415-P7之TG-FTIR(圖76)相比，兩個溶劑損失步驟保留，但樣品中溶劑之總量自約7.5重量%(PP415-P7中)降低至約2.5重量%(PP415-P30中)。

因此，在高溫(50°C至70°C)及1至10毫巴真空中將此溶劑合物去溶劑化的嘗試僅引起部分溶劑損失。

f. PP415-P15 → PP415-P18

由1:2 DCM/IPE中之沈澱實驗獲得之樣品PP415-P15(類別2)之固體物質在室溫下於真空(約2至20毫巴)中乾燥(成為PP415-P18)約2小時。

PP415-P18之FT-拉曼光譜與樣品PP415-P15之光譜(圖85)一致，均對應於類別2。

PP415-P18之PXRD圖形展示與PP415-P15之圖形(圖86)的微小差異。PP415-P18仍對應於類別2。

TG-FTIR熱分析圖(圖87)展示自約140°C至約250°C的兩個步驟中損失約7.0重量% IPE且在溫度 $T > 250^{\circ}\text{C}$ 時分解。由於IPE之沸點為67°C，因此溶劑似乎在結構內緊密結合。半溶劑合物之理論IPE含量為8.4重量%。

不幸的是，未記錄乾燥步驟前物質之TG-FTIR。然而，由於溶劑似乎在結構內極緊密結合且在FT-拉曼光譜及PXRD圖形中未觀測到變化(或僅觀測到微小變化)，因此假設乾燥對結構或溶劑含量無顯著影響。

g. PP415-P17 → PP415-P19 → PP415-P32

由1:3 EtOAc/庚烷中之沈澱實驗獲得之樣品PP415-P17(類別2)之固體物質在室溫下於真空(約2至20毫巴)中乾燥(成為PP415-P19)約2小時。

PP415-P19之FT-拉曼光譜與樣品PP415-P17之光譜(圖88)一致；未觀測到變化且兩者均對應於類別2。

PP415-P19之PXRD圖形與PP415-P17之圖形(圖89)略微不同但仍對應於類別2。

TG-FTIR熱分析圖(圖90)展示自約140°C至約270°C的兩個步驟中損失約7.6重量%庚烷且在溫度 $T > 270^{\circ}\text{C}$ 時分解。由於庚烷之沸點為98°C，因此溶劑似乎在結構內緊密結合。半溶劑合物之理論庚烷含量為8.3重量%。

對與PP415-P32相同的樣品進行另一乾燥實驗(80°C， $< 1 \times 10^{-3}$ 毫巴，3天)。

FT-拉曼光譜保持不變化(圖88)。PXRD圖形仍對應於類別2(圖89)，但樣品之結晶度較低(因為峰更寬且S/N比率較低)。

TG-FTIR熱分析圖(圖90)展示損失約2.2重量%庚烷(大部分在自170°C至200°C的步驟中損失)且在溫度 $T > 250^{\circ}\text{C}$ 時分解。

因此，庚烷含量僅自7.6重量%降低至2.2重量%，證實溶劑分子之緊密結合。

h. PP415-P21 → PP415-P28 → PP415-P34

由約1:5 EtOH/環己烷中之緩慢冷卻實驗獲得之樣品PP415-P21(類別2)之固體物質在真空中乾燥(成為PP415-P28)若干天(2至20毫巴，室溫至60°C)。

經乾燥之類別2物質(PP415-P28)之FT-拉曼光譜展示與類別2(樣品PP415-P21，圖92)之光譜之微小差異，但仍對應於類別2。

經乾燥之類別2物質(PP415-P28)之PXRD圖形與PP415-P21之圖形

(圖93)相比展示更寬、強度較低的峰，表明經乾燥之樣品之結晶度較低。然而，圖形仍對應於類別2。

經乾燥之樣品PP415-P28之TG-FTIR熱分析圖(圖94)展示在約140°C至約250°C之兩個步驟中損失約3.0重量%環己烷且在溫度 $T > 250^{\circ}\text{C}$ 時分解。與樣品PP415-P21之TG-FTIR(圖77)相比，兩個溶劑損失步驟保留，但樣品中溶劑之總量自約5.8重量%(PP415-P21中)降低至約3.0重量%(PP415-P28中)。

因此，此溶劑合物之去溶劑化似乎僅引起部分溶劑損失及部分結晶度損失。

進行此樣品之進一步乾燥(80°C下， $< 1 \times 10^{-3}$ 毫巴，3天)產生PP415-P34。

FT-拉曼光譜保持不變化(圖92)。PXRD圖形仍對應於類別2(圖93)，但樣品之結晶度較低(因為峰更寬且S/N比率較低)。

TG-FTIR熱分析圖(圖95)展示自25°C至270°C的兩個步驟中損失約2.3重量%環己烷且在溫度 $T > 270^{\circ}\text{C}$ 時分解。

因此，環己烷含量僅自3.0重量%降低至2.3重量%，證實溶劑分子之緊密結合。

i. 類別3-等結構溶劑合物(例如乙醇)

若干結晶實驗產生類別3之固體物質且藉由FT-拉曼光譜法、PXRD及TG-FTIR進行表徵(表21)。

類別3之FT-拉曼光譜明顯彼此類似(圖96)但展示微小差異(圖97)。類別3之光譜與非晶形起始物質類別1之光譜(圖98)及類別2、4及5之光譜(圖72)顯著不同。

類別3之PXRD圖形(圖99)證實物質之結晶度。三種樣品之圖形彼此類似但展示微小但顯著的差異(圖100)。類別3圖形與類別2、4及5之結晶圖形(圖75)顯著不同。

樣品 PP415-P6 之 TG-FTIR 熱分析圖 (圖 100) 展示在自 25°C 至 250°C 過程中損失約 5.4 重量 % 2PrOH，大部分係在約 170°C 至 190°C 之步驟中損失。分解在溫度 $T > 250^\circ\text{C}$ 時開始。在 TG-FTIR 實驗前，在真空 (10 至 20 毫巴) 中短暫乾燥樣品 (約 5 分鐘) 以移除過量的未結合之溶劑。半溶劑合物之理論 2PrOH (沸點 = 82°C) 含量為 5.1 重量 %。

樣品 PP415-P12 之 TG-FTIR 熱分析圖 (圖 101) 展示在自 25°C 至 250°C 過程中損失約 4.9 重量 % EtOH (及微量水)，大部分係在約 160°C 至 190°C 之步驟中損失。分解在溫度 $T > 250^\circ\text{C}$ 時開始。半溶劑合物之理論 EtOH (沸點 = 78°C) 含量為 4.0 重量 %。

因此，類別 3 之樣品似乎為 2PrOH、EtOH 及可能丙酮與緊密結合之溶劑內含物之等結構溶劑合物。其可對應於化學計量半溶劑合物。然而，不能排除該等形式為非化學計量溶劑合物。

由於此類別之拉曼光譜及 PXRD 圖形彼此極類似，因此結構可基本上一致，僅存在由於併入不同溶劑分子而引起的單位晶胞尺寸之微小變形或單位晶胞內原子位置的微小變化。

表 21. 產生類別 3 之固體物質之結晶實驗

樣品	方法	溶劑/混合物	表徵	乾燥
PP415-P6	懸浮液平衡	2PrOH	拉曼光譜、PXRD、TG-FTIR	X
PP415-P12	懸浮液平衡	9:1 EtOH/H ₂ O	拉曼光譜、PXRD、TG-FTIR	--
PP415-P20	緩慢冷卻	約 2:1 丙酮/H ₂ O	拉曼光譜、PXRD	--

j. 類別 3 之樣品之乾燥實驗

由 2PrOH 中之懸浮液平衡實驗獲得之一種類別 3 (PP415-P6) 之樣品在真空中乾燥 (成為 PP415-P25) 若干天 (2 至 20 毫巴，室溫至 60°C，表 22)。

此經乾燥之類別 3 物質 (樣品 PP415-P25) 之 TG-FTIR 熱分析圖 (圖 102) 展示在自 50°C 至 250°C 過程中損失約 5.4 重量 % 2PrOH (大部分在

170℃至190℃之步驟中損失)，在290℃至320℃過程中再損失約1.0重量% 2PrOH且在溫度 $T > 320^{\circ}\text{C}$ 時分解。與原始類別3樣品PP415-P6 (溶劑含量為約5.4重量% 2PrOH)之TG-FTIR (圖103)相比，溶劑含量似乎未顯著降低。

在高真空及高溫($< 1 \times 10^{-3}$ 毫巴，80℃)下進一步乾燥(成為PP415-P33，表22)此物質3天以將溶劑合物去溶劑化及獲得63415之非溶劑化無水形式。

此經進一步乾燥之類別3物質(樣品PP415-P33)之TG-FTIR熱分析圖(圖103)展示在自50℃至210℃過程中損失約4.2重量% 2PrOH(大部分在160℃至190℃之步驟中損失)，在210℃至290℃過程中再損失約0.5重量% 2PrOH且在溫度 $T > 290^{\circ}\text{C}$ 時分解。

與樣品PP415-P6及PP415-P25之溶劑含量相比，溶劑含量僅自約5.4重量%降低至約4.8重量%。

表22. 類別3之樣品之乾燥實驗

起始物質		乾燥	經乾燥之物質		
樣品	溶劑含量	條件	樣品	溶劑含量	類別
PP415-P6	2PrOH (約5.4%)	室溫，約3毫巴，約5天； 60℃，5-10毫巴，2×1小時； 40-50℃，5-20毫巴，約1天	PP415-P25	2PrOH (約5.4%)	3
PP415-P25	2PrOH (約5.4%)	80℃， $< 1 \times 10^{-3}$ 毫巴，3天	PP415-P33	2PrOH (約4.8%)	3

類別3(樣品PP415-P6)、經乾燥之類別3物質(樣品PP415-P25)及經進一步乾燥之類別3物質(樣品PP415-P33)之FT-拉曼光譜一致且展示無變化(圖104)。

類別3(樣品PP415-P6)及經進一步乾燥之類別3物質(樣品PP415-P33)之PXRD圖形未展示任何顯著差異，但與最初乾燥之類別3物質(樣品PP415-P25，圖105)之圖形存在少數微小偏移及差異。所有圖形均對應於類別3。

由於乾燥對溶劑含量無較大影響，因此經乾燥之物質之FT-拉曼光譜及PXRD圖形與未經乾燥之物質相比展示無差異並不令人驚訝。

因此，類別3為一種具有極緊密結合之溶劑分子的等結構溶劑合物(2PrOH、EtOH及可能丙酮)，該等極緊密結合之溶劑分子由本文中應用之乾燥條件(在 1×10^{-3} 毫巴及80℃下長達3天)僅可部分移除(約5.4重量%至約4.8重量%)。

k. 類別4-乙腈溶劑合物

僅自7:3 MeCN/H₂O溶劑混合物獲得類別4 (表23)。與PP415-P35一樣，重複產生類別4 (PP415-P13)之實驗以製備更多物質以用於其他乾燥研究。

類別4 (樣品PP415-P13)之FT-拉曼光譜(圖72)及PXRD圖形(圖75)與類別2、3及5之光譜及圖形顯著不同。

類別4 (樣品PP415-P13，圖106)之TG-FTIR熱分析圖展示在自25℃至270℃過程中損失約3.4重量% MeCN (及微量水)，大部分係在約180℃至210℃之步驟中損失。分解在溫度 $T > 270^\circ\text{C}$ 時開始。在TG-FTIR實驗前，在真空(10至20毫巴)中短暫乾燥樣品(約5分鐘)以移除過量的未結合之溶劑。半溶劑合物之理論MeCN (沸點= 81℃)含量為3.6重量%。

表23. 產生類別4之固體物質之結晶實驗

樣品	方法	溶劑	表徵	乾燥
PP415-P13	懸浮液平衡	7:3 MeCN/H ₂ O	拉曼光譜、PXRD、TG-FTIR	X
PP415-P35	懸浮液平衡	7:3 MeCN/H ₂ O	拉曼光譜、PXRD、TG-FTIR	X

l. 類別4之乾燥實驗

由約7:3 MeCN/H₂O中之懸浮液平衡實驗獲得之類別4之樣品在真空中乾燥若干天或在N₂流下乾燥(表24)。

表24. 類別4之樣品之乾燥實驗

起始物質		乾燥	經乾燥之物質		
樣品	溶劑含量	條件	樣品	溶劑含量	類別
PP415-P13	MeCN (約3.4%)	室溫，約3毫巴，約5天； 60°C，5-10毫巴，2×1小時； 40-50°C，5-20毫巴，約1天	PP415-P26	MeCN (約2.8%)	4
PP415-P35	MeCN (約2.9%)	80°C， $< 1 \times 10^{-3}$ 毫巴，3天	PP415-P36	MeCN/H ₂ O ^a (約0.6%)	4
PP415-P35	MeCN (約2.9%)	80°C，N ₂ 流，3天	PP415-P37	MeCN/H ₂ O ^a (約0.9%)	4

^a 溶劑內含物可能為MeCN及H₂O，但由於含量較小而難以測定

經乾燥之類別4物質(PP415-P26)之FT-拉曼光譜與類別4 (PP415-P13，圖107)之光譜一致。

經乾燥之類別4物質(PP415-P26)之PXRD圖形僅展示與類別4(樣品PP415-P13)之圖形(圖108)之極微小差異。一些峰似乎更好地解析且峰強度偏移。未觀測到非晶體化。PP415-P26之圖形對應於類別4。

經乾燥之類別4物質(樣品PP415-P26)之TG-FTIR熱分析圖(圖109)展示在170°C至250°C之過程中損失約2.8重量% MeCN且在溫度T > 300°C時分解。與樣品PP415-P13之TG-FTIR (圖106)相比，樣品之溶劑含量自3.4重量%降低至2.8重量%。

因此，樣品似乎為部分去溶劑化溶劑合物。由於未剩餘足夠的物質以用於第二乾燥實驗及後續表徵，因此重複實驗PP415-P13 (與PP415-P35一樣)。製備更多的類別4物質且用此新近製備之物質進行兩次乾燥實驗：

- PP415-P36：在真空($< 1 \times 10^{-3}$ 毫巴)中於80°C下乾燥3天
- PP415-P37：在N₂流下於80°C下乾燥3天

該等經乾燥之類別4樣品(PP415-P36及PP415-P37)之FT-拉曼光譜對應於類別4 (亦即PP415-P35，圖110)之光譜。

類別4物質(樣品PP415-P35)與經乾燥之類別4樣品(樣品PP415-

P36及PP415-P37)之PXRD圖形(圖111)一致。經乾燥之樣品為結晶的。

該等經乾燥之類別4樣品之TG-FTIR熱分析圖(PP415-P36為圖112且PP415-P37為圖113)展示PP415-P36及PP415-P37在25°C至280°C之兩個步驟中僅具有微小溶劑含量(MeCN及/或H₂O)，其分別為約0.6重量%及約0.9重量%。溶劑內含物可能為MeCN及H₂O，但由於含量較小而難以測定。分解在溫度T > 280°C時開始。

因此，可移除此溶劑合物中之大部分溶劑而不破壞晶體結構。獲得結晶、非溶劑合物形式(或更確切言之，去溶劑化溶劑合物)。

m. 經乾燥及去溶劑化之類別4之進一步表徵

乾燥類別4 (MeCN溶劑合物)產生去溶劑化溶劑合物，其中溶劑含量降低至< 1重量%(TG-FTIR)。

在去溶劑化時結構中未發生變化(FT-拉曼光譜及PXRD)。未觀測到結晶度顯著損失。

因此，獲得63415之非溶劑化結晶形式(迄今唯一已知的一種)。

藉由DVS及DSC進一步表徵此去溶劑化類別4物質。

DVS等溫線(圖114)表明在50%相對濕度下之初始平衡時間期間發生約0.4重量%質量增加。在量測期間，在相對濕度自50%相對濕度降低至0%相對濕度時發生逐漸進行的可逆的約1.3重量%之質量損失。達到平衡。在相對濕度增加至95%相對濕度時，觀測到逐漸進行的約0.8重量%之質量增加(相對於50%相對濕度下之平衡質量)。達到平衡。在相對濕度降低至50%相對濕度後，最終質量保持比平衡起始質量低0.1重量%。相對濕度自50%相對濕度增加至85%相對濕度時的約0.7重量%之質量增加將樣品歸類為具有輕微吸濕性。

量測後樣品之PXRD圖形與量測前之圖形相比未發生變化(圖115)。

去溶劑化類別4物質之樣品之DSC熱分析圖(圖116)表明未發生由非晶形式引起之玻璃轉移(預期玻璃轉移將在約150°C下發生)，而改

為具有尖銳的吸熱峰，其在 $T = 196.1^{\circ}\text{C}$ 時具有最大值($\Delta H = 29.31 \text{ J/g}$)，可能對應於熔融，且在高達 270°C 下未發生分解。

此外，用非晶形物質(類別1)與去溶劑化類別4物質之約1:1混合物進行DSC實驗以研究非晶形物質是否將轉化及結晶成為去溶劑化類別4 (預期將在高於非晶形式之玻璃轉移溫度($T_g \approx 150^{\circ}\text{C}$)且低於去溶劑化類別4之熔點($T_m \approx 196^{\circ}\text{C}$)的溫度下發生(若存在)的事件)。

混合物之DSC熱分析圖(圖117)展示峰值位於 $T = 156.7^{\circ}\text{C}$ ($\Delta H = 1.47 \text{ J/g}$)處的吸熱事件及峰值位於 197.0°C ($\Delta H = 14.1 \text{ J/g}$)處的第二吸熱事件。第一事件可歸因於非晶形物質(在 $T_g \approx 150^{\circ}\text{C}$ 下發生玻璃轉移)。第二事件可對應於去溶劑化類別4在 $T_m \approx 196^{\circ}\text{C}$ 下熔融。混合物之熔化熱($\Delta H = 14.1 \text{ J/g}$)與純淨去溶劑化類別4之熔化熱($\Delta H = 29.3 \text{ J/g}$)的一半緊密相關。

在玻璃轉移與對應於非晶形物質之可能結晶之熔點之間的溫度範圍內未觀測到放熱事件。因此，在此時程內似乎未發生非晶形式轉化為去溶劑化類別4形式。

在用非晶形物質(類別1)與去溶劑化類別4物質之約1:1混合物進行的另一DSC實驗中，在 173°C (介於玻璃轉移與熔融之間)時停止加熱以獲得可能結晶時間。

混合物之DSC熱分析圖(圖118)展示峰值位於 $T = 161.4^{\circ}\text{C}$ ($\Delta H = 0.31 \text{ J/g}$)處的吸熱事件及峰值位於 201.4°C ($\Delta H = 11.4 \text{ J/g}$)處的第二吸熱事件。與第一實驗相同，第二峰之熔化熱未增加；未發現非晶形式轉化為去溶劑化類別4形式之指示。

彎曲基線(-50°C 至 150°C)很可能為假影(由於彎曲的樣品固持器蓋)。

n. 類別5- THF溶劑合物

僅自1:1 THF/ H_2O 溶劑混合物獲得類別5 (表25)。

類別5之FT-拉曼光譜(圖71)及PXRD圖形(圖75)與類別2、3及4之光譜及圖形顯著不同。

類別5 (樣品PP515-P14, 圖119)之TG-FTIR熱分析圖展示在25°C至200°C過程中損失約36.1重量% THF及H₂O, 大部分係在約100°C至130°C之步驟中損失。在TG-FTIR實驗前, 在真空(10至20毫巴)中短暫乾燥樣品(約5分鐘)以移除過量的未結合之溶劑。THF及H₂O損失在相同溫度範圍中一起發生。分解在溫度T > 300°C時開始。三溶劑合物之理論THF (沸點=66°C)含量為28.1重量%。不幸的是, 由於無法獨立地對兩種組分之含量進行定量, 因此無法確定確切溶合狀態。

提供關於樣品PP415-P41及PP415-P45之實驗及表徵之細節。

表25. 產生類別5之固體物質之結晶實驗

樣品	方法	溶劑	表徵	乾燥
PP415-P14	懸浮液平衡	1:1 THF/H ₂ O	拉曼光譜、PXRD、TG-FTIR	X
PP415-P41 ^b	懸浮液平衡	1:1 THF/H ₂ O	PXRD	X
PP415-P45 ^{b,c}	懸浮液平衡	1:1 THF/H ₂ O	PXRD	X

^b 起始物質: PP415-P40, 類別2; 在此表中之所有其他實驗中均使用PP415-P1 (類別1)作為起始物質

^c 3 g規模實驗替代100 mg規模

o. 類別5之樣品之乾燥實驗

由約1:1 THF/H₂O中之懸浮液平衡實驗獲得之類別5 (PP415-P14)之樣品在真空中乾燥(成為PP415-P27)若干天(2至20毫巴, 室溫至60°C, 表26)。

表26. 類別5之樣品之乾燥實驗

起始物質		乾燥	經乾燥之物質		
樣品	溶劑含量	條件	樣品	溶劑含量	類別
PP415-P14	THF及H ₂ O (約36重量%)	室溫, 約3毫巴, 約5天; 60°C, 5-10毫巴, 2×1小時; 40-50°C, 5-20毫巴, 約1天	PP415-P27	-- (約0.3重量%)	1 (+5) ^a

^a 主要為非晶形, 僅少數具有低S/N比率之寬峰

經乾燥之物質(PP415-P27)之FT-拉曼光譜與類別5 (PP415-P14, 圖120)之光譜不同且由於其峰變寬, 其與類別1 (非晶形起始物質PP415-P1)之光譜更類似。

經乾燥之類別5物質(PP415-P27)之PXRD圖形僅展示一些具有低S/N比率之低強度寬峰, 表明樣品之結晶度較低(圖121)。一些峰可對應於類別5, 而其他峰(亦即 $7.35^{\circ}2\theta$ 處)為新峰或發生偏移。

經乾燥之類別5物質之TG-FTIR熱分析圖(圖122)展示在 25°C 至 290°C 過程中之約0.3重量%之質量損失且在溫度 $T > 290^{\circ}\text{C}$ 時分解。樣品係無水的。

因此, 藉由在真空中乾燥, 物質損失其溶劑內含物以及其大部分結晶度。

8. 製備非晶形式之實驗

使用類別2物質(PP415-P40, 表8)作為起始物質進行旨在製備非晶形式(類別1)之實驗。嘗試若干策略及方法:

- 將類別2轉化為類別5, 接著乾燥類別5以獲得非晶形式(類別1)。
- 直接自類別2製備非晶形式(類別1), 在可能情況下使用ICH類別3溶劑。

以類別2物質為起始物質按兩步驟方法經類別5製備主要非晶形物質(100 mg規模及3 g規模)。

進行其他實驗以將程序簡化為單步驟方法, 從而避免使用ICH類別2溶劑THF及獲得完全非晶形物質。發現最有前景之方法為在冷水浴槽中自丙酮溶液沈澱。此直接方法產生比經類別5進行之兩步驟方法好得多的結果。

a. 經類別5製備非晶形式

進行使用類別2 (PP415-P40)作為起始物質之結晶實驗以將此庚烷

溶劑合物轉化為類別5 (可能為THF溶劑合物)，接著乾燥類別5以獲得非晶形物質(表27)。

認為類別5為良好中間步驟，因為其比類別2或3更易於去溶劑化及非晶體化。

表27. 旨在經類別5物質製備非晶形式(類別1)之實驗的概述

步驟	樣品	方法	條件	結果
1	PP415-P41	懸浮液平衡	1:1 THF/H ₂ O, 24°C, 3天	類別5
"	PP415-P45	懸浮液平衡	1:1 THF/H ₂ O, 室溫, 1天	類別5
2	PP415-P44a	乾燥	100毫巴, 80°C, 2天	類別1 ^a , 0.9重量% THF
"	PP415-P46a	乾燥	100毫巴, 80°C, 4天	類別1 ^a , 0.4重量% H ₂ O

^a 主要為非晶形，僅少數具有低S/N比率之寬峰

b. 步驟1：將類別2轉化為類別5

藉由使PP415-P40 (庚烷溶劑合物)物質懸浮於(1:1) THF/H₂O混合物中且使懸浮液在室溫下平衡來將庚烷溶劑合物(類別2)轉化為THF溶劑合物(類別5)(PP415-P41, 100 mg規模)。所得固體物質對應於THF溶劑合物(類別5)(圖123)。

與PP415-P41類似地進行自毫克規模增加至公克規模(×30, 亦即3公克規模)之第一按比例放大實驗：類別2庚烷溶劑合物起始物質(PP415-P40)於THF/H₂O (1:1)中平衡1天且成功轉化為類別5之THF溶劑合物(PP415-P45, 圖124)。

c. 步驟2：藉由乾燥使類別5物質非晶體化

考慮可在API MFG位點使用之條件，類別5物質(THF溶劑合物)在真空(約100毫巴)中於高溫下(80°C)乾燥。

100 mg規模實驗之物質(PP415-P41)在80°C及100毫巴下乾燥1天後，其大部分轉化為非晶形物質(PP415-P44, 圖125)。PXRD圖形僅展示一些具有低強度之寬峰。在進一步乾燥(80°C, 100毫巴)隔夜後，該等寬峰之強度進一步降低(PP415-P44a)。此物質之TG-FTIR展

示在25°C至280°C過程中逐漸損失約0.9重量% THF(及微量水)且在溫度 $T > 300^{\circ}\text{C}$ 時分解(圖126)。

3 g規模實驗之物質(PP415-P45)亦在80°C及100毫巴下乾燥(成為PP415-P46)。其經轉化隔夜從而大部分成為僅具有一些具有低強度之寬峰之非晶形物質(圖127)。在總共乾燥(80°C, 100毫巴)四天後, 該等寬峰仍然存在(-P46a, 圖128)。此物質之TG-FTIR展示無THF內含物, 但在25°C至250°C過程中逐漸損失約0.4重量%水且在溫度 $T > 250^{\circ}\text{C}$ 時分解(圖129)。

d. 直接獲得非晶形式

以類別2物質為起始物質按兩步驟方法經類別5製備非晶形式已基本上但未完全成功。因此, 進行其他實驗以將程序簡化為單步驟方法, 從而避免使用ICH類別2溶劑THF及獲得完全非晶形物質(表28)。

在類別2溶液在 N_2 流下於THF中之蒸發實驗中自類別2物質直接製備類別1非晶形式(PP415-P42, 圖129)。

為嘗試模擬具有大量殘餘溶劑之不完全乾燥之庚烷/己烷溶劑合物, 在(8:2) THF/己烷溶液中蒸發類別2溶液(使用己烷替代庚烷以在溶劑混合物中具有類似沸點)。然而, 所得固體對應於類別2 (等結構溶劑合物類別)而非類別5 (PP415-P43, 圖130)。

為避免使用ICH類別2溶劑THF, 在ICH類別3溶劑中進行蒸發實驗。

在 N_2 流下蒸發含類別2之EtOAc溶液產生具有對應於類別2之PXRD圖形之結晶材料(PP415-P47, 圖130)。TG-FTIR (圖80)在至多240°C之溫度下展示類別2典型兩步驟質量損失(共約7.9重量% EtOAc), 表明極密結合之溶劑分子。

在甲酸乙酯中蒸發亦產生結晶類別2物質且不產生非晶形式(PP415-P48, 圖131)。TG-FTIR (圖78)展示約3.5重量%甲酸乙酯之質

量損失，首先逐漸損失且接著在180°C與200°C之間的步驟中顯著損失。在 $T > 240^{\circ}\text{C}$ 時的分解中可能伴有進一步甲酸乙酯損失。

然而，藉由向冷(5°C)水浴槽中添加丙酮溶液使類別2物質成功轉化為類別1非晶形式(PP415-P49，圖132)。

此製備非晶形式之直接方法產生更好的結果且為比兩步驟方法更有前景的途徑。

表28. 旨在直接自類別2起始物質獲得非晶形式之實驗的概述

樣品	方法	溶劑	條件	結果
PP415-P42	蒸發	THF	N ₂ 流，1天	類別1
PP415-P43	蒸發	8:2 THF/己烷	N ₂ 流，1天	類別2
PP415-P47	蒸發	EtOAc	N ₂ 流，1天	類別2
PP415-P48	蒸發	甲酸乙酯	N ₂ 流，1天	類別2
PP415-P49	沈澱	丙酮	5°C下H ₂ O浴槽	類別1

9. 儀器-典型量測條件

FT-拉曼光譜法：具有OPUS 6.5軟體之*Bruker RFS100*；Nd:YAG 1064 nm激發，Ge偵測器，3500-100 cm⁻¹範圍；典型量測條件：100-300 mW標稱雷射功率，64-128次掃描，2cm⁻¹解析度。

PXRD：*Stoe Stadi P*；Mythen1K偵測器；Cu-K α 輻射；標準量測條件：傳輸；40 kV及40 mA管功率；彎曲Ge單色儀；0.02 °2 θ 步長，12秒或60秒步進時間，1.5-50.5 °2 θ 或1.0-55 °2 θ 掃描範圍；偵測器模式：步進掃描；1 °2 θ 或6 °2 θ 偵測器步長；標準樣品製備：10至20 mg樣品置放於兩個乙酸酯箔片之間；樣品固持器：Stoe傳輸樣品固持器；樣品在量測期間旋轉。

TG-FTIR：具有*Bruker FT-IR*光譜儀載體22之*Netzsch Thermo-Microbalance TG 209*；鋁坩堝(具有微孔)，N₂氛圍，10 K/min加熱速率，25°C-250°C或25°C-350°C範圍。

DSC：*Perkin Elmer DSC 7*；金坩堝(封閉或具有微孔)，在N₂環境中填充樣品，10 K/min加熱速率，-50°C至250°C或350°C範圍，在

各掃描之間有時驟冷(以-200 K/min)至-50°C。

DVS : *Projekt Messtechnik Sorptions Prüfsystem SPS 11-100n*或*Surface Measurement Systems DVS-1*。樣品置放於微量天平頂部的鋁或鉑固持器上且在50%相對濕度下平衡2小時，隨後開始預定之濕度程式：

- (1) 50 → 0%相對濕度(5%/小時)；0%相對濕度下5小時
- (2) 0 → 95%相對濕度(5%/小時)；95%相對濕度下5小時
- (3) 95 → 50%相對濕度(5%/小時)；50%相對濕度下2小時

基於85%相對濕度下與初始質量相比之質量增加對吸濕性分類如下：溶解(吸附足夠的水以形成液體)、極高吸濕性(質量增加 $\geq 15\%$)、吸濕性(質量增加 $< 15\%$ 但 $\geq 2\%$)、輕微吸濕性(質量增加 $< 2\%$ 但 $\geq 0.2\%$)或非吸濕性(質量增加 $< 0.2\%$)。

溶劑：所有實驗中均使用Fluka、Merck或ABCR分析級溶劑。

近似溶解度測定：藉由約10 mg物質於0.05 mL溶劑中之懸浮液之逐步稀釋測定近似溶解度。若在添加總共 > 10 mL溶劑後物質不溶解，則溶解度表示為 < 1 mg/mL。由於此方法之固有實驗誤差，溶解度值意欲視為粗略估計值且僅用於結晶實驗設計中。

化學穩定性測定：製備四份含1.0 mg PP415-P1物質之1.0 mL各別溶劑之樣品。所得懸浮液/溶液在溫度控制型 *Eppendorf Thermomixer Comfort* 震盪器中於25°C及500 rpm震盪速率下平衡7天、2天、24小時及6小時。視需要藉由過濾離心(0.5 μ m PVDF薄膜)來分離固相。濾液於稀釋劑(含0.1份甲酸之MeCN)中稀釋至濃度 ≤ 0.2 mg/mL (懸浮液情況未知且可能更低)且使用表29中提供之HPLC方法檢驗。作為參考，PP415-P1物質於稀釋劑中稀釋至0.25 mg/mL濃度且在HPLC程序開始及結束時添加。

HPLC結果

表29. 用於化學穩定性測定之HPLC方法

管柱	Zorbax Eclipse XDB-C18, 3×150 mm, 5 μm (CC19)		
溶離劑A	H ₂ O + 0.1%甲酸		
溶離劑B	MeCN + 0.1%甲酸		
梯度	0分鐘	50% A	50% B
	10.0分鐘	10% A	90% B
	15.0分鐘	0% A	100% B
	15.1分鐘	50% A	50% B
	20.0分鐘	50% A	50% B
流速	0.75 mL/min		
注射體積	10 μL		
波長	254 nm、242 nm、210 nm		
採集時間	20 min		
操作時間	20 min		
管柱溫度	25°C		
滯留時間	8.9-9.0 min		

10. 縮寫

方法：

AUC	曲線下面積分析
DSC	差示掃描熱量測定
DVS	動態蒸汽吸附
FT拉曼光譜	傅里葉變換拉曼光譜法(Fourier-transform Raman spectroscopy)
¹ H-NMR	質子核磁共振光譜法
HPLC	高效液相層析
PXRD	粉末X射線繞射
TG-FTIR	與傅里葉變換紅外線光譜法結合之熱重量法

化學物質：

1BuOH	1-丁醇
CTAB	溴化十六烷基三甲銨
DCM	二氯甲烷

DEE	乙醚
DMF	<i>N,N</i> -二甲基甲醯胺
EtOAc	乙酸乙酯
EtOH	乙醇
IPE	異丙醚
MeCN	乙腈
MEK	甲基乙基酮
MeOH	甲醇
PEG	丙二醇
PTFE	聚四氟乙烯、鐵氟龍(Teflon)
2PrOH	2-丙醇、異丙醇
SDS	十二烷基硫酸鈉
TBME	第三丁基甲醚
TEA	三乙胺
THF	四氫呋喃
Tween 80	聚氧乙烯(80)脫水山梨糖醇單油酸酯或聚山梨醇酯80

基因、蛋白質及生物參數：

AIM	抗氧化炎症調節劑
Akr1c1	醛-酮還原酶家族1，成員c1
ALP	鹼性磷酸酶
ALT	丙胺酸轉胺酶
ARE	抗氧化反應元
AST	天冬胺酸轉胺酶
AUC	曲線下面積
BAL	支氣管肺泡灌洗術

BALF	支氣管肺泡灌洗流體
Bil	膽紅素
BUN	血液尿素氮
COPD	慢性阻塞性肺病
COX-2	環加氧酶-2
Cr	肌酸
CYP450	細胞色素P450
Eh-1	環氧化物水解酶1
G6PD	葡萄糖-6磷酸脫氫酶
Gclc	麩胺酸-半胱胺酸連接酶，催化次單元
Gclm	麩胺酸-半胱胺酸連接酶，修飾次單元
Ggt1	γ -麩胺醯轉移酶
Glrx	麩氧還原酶-1
Glu	葡萄糖
GOT	麩胺酸-草醯乙酸轉胺酶
GPT1	麩胺酸-丙酮酸轉胺酶
Gpx3	麩胱甘肽過氧化酶3
GSH	麩胱甘肽
GSR	麩胱甘肽還原酶
GSs	麩胱甘肽合成酶
GST	麩胱甘肽S-轉移酶
GSTa1	麩胱甘肽S-轉移酶 α 1
GSTp1	麩胱甘肽S-轉移酶 π 1
Gy	戈雷
H6PD	己醣-6-磷酸脫氫酶
hERG	人類醚a-go-go相關基因

HMOX1	血紅素加氧酶(開環)1
HO-1	血紅素加氧酶
IFN γ	干擾素- γ
IL	介白素
iNOS	可誘導型氧化氮合成酶
I κ B α	B細胞抑制劑(α)中 κ 輕多肽基因強化子之細胞核因子
KC	小鼠IL-8相關蛋白
Keap1	Kelch類ECH相關蛋白-1
LPS	脂多醣
ME1	蘋果酸酶1
MPCE	微核化多染性紅血球
Mrp	metG相關蛋白
Mrps	多藥物抗性相關蛋白
NADPH	菸醯胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(還原)
NF κ B	活化B細胞之 κ -輕鏈強化子細胞核因子
NO	氧化氮
NQO1	NAD(P)H苯醌氧化還原酶1
Nrf2	類細胞核因子(紅血球衍生)-2
p- I κ B α	磷酸化I κ B α
PBMC	周邊血液單核細胞
PCE	多染性紅血球
PGD	磷酸葡萄糖酸脫氫酶
PMN	多形核
RANTES	表現及分泌之經調節及正常T細胞
SOD1	超氧化歧化酶1

SRXN1	硫氧還蛋白-1
TG	全部甘油酯
TKT	轉酮醇酶
TNF α	腫瘤壞死因子 α
Txn	硫氧還蛋白
TXNRD1	硫氧還蛋白還原酶1
xCT	溶質載劑家族7，成員11

其他：

API	活性醫藥成分
aq.	水性
b.p.	沸點
cryst.	結晶
decomp.	分解
d	天
eq.	當量
equil.	平衡
evap.	蒸發
h	小時
mat.	物質
min	分鐘
m.p.	熔點
MS	分子篩
part.	部分
precip.	沈澱
r.h.	相對濕度
rpm	轉/分鐘

r.t.	室溫(約25℃)
S/N	信雜比(比率)
solv.	溶劑
susp.	懸浮液
T	溫度
T _g	玻璃轉移溫度
theo.	理論
vis. obs.	目測
w	週
wt.-%	重量%

K. 其他表格

表30：樣品及進行之實驗之清單

樣品	實驗說明	測試方法	結果/備註
PP415-P1	在2011年3月25日接收約5 g 63415，批號0141-66-1；MW = 554.7 g/mol， $C_{33}H_{44}F_2N_2O_3$	FT-拉曼光譜： PP415P1.0 PP415P1.1 PXRDRD：117a TG-FTIR：a4285 ¹ H-NMR： Mar30-2011- ktr/30 DSC：d_9840 DVS：#0305_02 DVS後拉曼光譜 法： PP415P1_aDVS post-DVS PXRDRD：179a	FT-拉曼光譜：用作P1之參考 PXRDRD：非晶形，無結晶峰圖形 TG-FTIR：在25°C至200°C過程中損失約0.9重量%(約0.1當量) EtOH及微量H ₂ O，在T > 290°C時分解 ¹ H-NMR：與結構一致，約0.08當量EtOH DSC：第一次掃描：T _g = 152.7°C (ΔCp = 0.72 J/g°C)；第二次掃描：T _g = 149.7°C (ΔCp = 0.45 J/g°C) DVS：輕微吸濕性；Δm = +0.4% (50%→85%相對濕度)；0%相對濕度至95%相對濕度過程中總質量增加為2.1重量%。 DVS後拉曼光譜法及PXRDRD：無變化
PP415-P2	PP415-P1物質在25°C下開放環境中儲存於NH ₄ NO ₃ 飽和溶液中(亦即約62%相對濕度)；在1週(PP415-P2a)、2週(PP415-P2b)及4週(PP415-P2c)後檢驗樣品。	PXRDRD： 132a (-P2a) 191a (-P2b) 262a (-P2c)	PXRDRD：均為非晶形，對應於P1
PP415-P3	PP415-P1物質在40°C下開放環境中儲存於NaCl飽和溶液中(亦即約75%相對濕度)；在1週(PP415-P3a)、2週(PP415-P3b)及4週(PP415-P3c)後檢驗樣品。	PXRDRD： 133a (-P3a) 192a (-P3b) 263a (-P3c)	PXRDRD：均為非晶形，對應於P1
PP415-P4	PP415-P1物質在60°C下儲存於密閉容器中；在1週(PP415-P4a)、2週(PP415-P4b)及4週(PP415-P4c)後檢驗樣品。	PXRDRD： 134a (-P4a) 193a (-P4b) 264a (-P4c)	PXRDRD：均為非晶形，對應於P1

樣品	實驗說明	測試方法	結果/備註
PP415-P5	PP415-P1物質在80°C下儲存於密閉容器中；在1週(PP415-P5a)、2週(PP415-P5b)及4週(PP415-P5c)後檢驗樣品。	PXRD： 135a (-P5a) 194a (-P5b) 265a (-P5c)	PXRD：均為非晶形，對應於P1
PP415-P6	97.7 mg PP415-P1懸浮於0.4 mL 2-ProH中；獲得白色懸浮液；懸浮液在22°C下於400 rpm震盪下平衡；在接下來兩天內逐步添加總共0.5 mL溶劑；15天後藉由過濾離心(0.20 µm PTFE薄膜)回收固體物質；藉由FT-拉曼光譜法及PXRD進行檢驗；在真空(10-20 毫巴)中乾燥物質5分鐘；藉由TG-FTIR檢驗物質。	FT-拉曼光譜： PP415P6.0 PXRD：225a TG-FTIR：a4323	拉曼光譜：對應於類別3 PXRD：對應於類別3 TG-FTIR：在25°C至250°C過程中損失約5.4重量%，大部分係在約170°C至190°C之步驟中損失；分解在T > 250°C時開始
PP415-P7	104.3 mg PP415-P1懸浮於0.6 mL 1:2 EtOAc/庚烷中；獲得白色懸浮液；懸浮液在22°C下於400 rpm震盪下平衡；在接下來兩天內逐步添加總共0.2 mL溶劑混合物；15天後藉由過濾離心(0.20 µm PTFE薄膜)回收固體物質；藉由FT-拉曼光譜法及PXRD進行檢驗；在真空(10-20毫巴)中乾燥物質5分鐘；藉由TG-FTIR檢驗物質。	FT-拉曼光譜： PP415P7.0 PXRD：227a TG-FTIR：a4338	拉曼光譜：對應於類別2 PXRD：對應於類別2 TG-FTIR：在約100°C至290°C之兩個步驟中損失約7.5重量% EtOAc及庚烷；分解在T > 290°C時開始
PP415-P8	102.0 mg PP415-P1懸浮於0.4 mL 1:2丙酮/己烷中；獲得白色懸浮液；懸浮液在22°C下於400 rpm震盪下平衡；在接下來兩天內逐步添加總共0.2 mL溶劑混合物；15天後藉由過濾離心(0.20 µm PTFE薄膜)回收固體物質；藉由FT-拉曼光譜法及PXRD進行檢驗。	FT-拉曼光譜： PP415P8.0 PXRD：228a	拉曼光譜：對應於類別2 PXRD：對應於類別2
PP415-P9	102.6 mg PP415-P1懸浮於0.4 mL 1:3甲苯/乙醚中；獲得白色懸浮液；懸浮液在22°C下於400 rpm震盪下平衡；在接下來兩天內逐步添加總共0.2 mL溶劑混合物；15天後藉由過濾離心(0.20 µm PTFE薄膜)回收固體物質；藉由FT-拉曼光譜法進行檢驗。	FT-拉曼光譜： PP415P9.0	拉曼光譜：對應於類別2，含有溶劑信號
PP415-P10	102.5 mg PP415-P1懸浮於0.2 mL 1:3 MeOH/TBME中；獲得澄清溶液；溶液在22°C下於400 rpm震盪下平衡；1天後觀測到濃稠懸浮液；添加0.2 mL溶劑混合物；懸浮液在22°C下於400 rpm震盪下繼續平衡；總共15天後藉由過濾離心(0.20 µm PTFE薄膜)回收固體物質；藉由FT-拉曼光譜法及PXRD進行檢驗。	FT-拉曼光譜： PP415P10.0 PXRD：229a	拉曼光譜：對應於類別2 PXRD：對應於類別2

樣品	實驗說明	測試方法	結果/備註
PP415-P11	97.1 mg PP415-P1懸浮於0.4 mL 1:2 MEK/環己烷中；獲得白色懸浮液；懸浮液在22°C下於400 rpm震盪下平衡；15天後藉由過濾離心(0.20 µm PTFE薄膜)回收固體物質；藉由FT-拉曼光譜法進行檢驗。	FT-拉曼光譜： PP415P11.0	拉曼光譜：對應於類別2，含有溶劑信號
PP415-P12	98.6 mg PP415-P1懸浮於0.2 mL 9:1 EtOH/H ₂ O中；獲得白色懸浮液；懸浮液在22°C下於400 rpm震盪下平衡；在接下來兩天內逐步添加總共0.2 mL溶劑混合物；15天後藉由過濾離心(0.20 µm PTFE薄膜)回收固體物質；藉由FT-拉曼光譜法及PXRDR進行檢驗；在真空(10-20毫巴)中乾燥物質5分鐘；藉由TG-FTIR檢驗物質。	FT-拉曼光譜： PP415P12.0 PXRDR : 230a TG-FTIR : a4324	拉曼光譜：對應於類別3 PXRDR : 對應於類別3 TG-FTIR : 在自25°C至250°C過程中損失約4.9重量% EtOH (及微量水)，大部分係在約160°C至190°C之步驟中損失；分解在T > 250°C時開始
PP415-P13	95.9 mg PP415-P1懸浮於0.2 mL 7.3 MeCN/H ₂ O中；獲得兩個澄清的分離相；溶液在22°C下於400 rpm震盪下平衡；1天後觀測到濃稠懸浮液；添加0.2 mL溶劑混合物；懸浮液在22°C下於400 rpm震盪下繼續平衡；總共15天後藉由過濾離心(0.20 µm PTFE薄膜)回收固體物質；藉由FT-拉曼光譜法及PXRDR檢驗物質；物質在真空(10-20毫巴)中乾燥5分鐘；藉由TG-FTIR檢驗物質。	FT-拉曼光譜： PP415P13.0 PXRDR : 231a TG-FTIR : a4321	拉曼光譜：對應於類別4，含有溶劑信號 PXRDR : 對應於類別4 TG-FTIR : 在25°C至270°C過程中損失約3.4重量% MeCN (及微量水)，大部分係在約180°C至210°C之步驟中損失；分解在T > 270°C時開始
PP415-P14	95.8 mg PP415-P1懸浮於0.2 mL 9:1 THF/H ₂ O中；獲得兩個澄清的分離相；溶液在22°C下於400 rpm震盪下平衡；1天後觀測到一個澄清相；添加0.2 mL H ₂ O；觀測到白色沈澱；懸浮液在22°C下於400 rpm震盪下平衡；總共15天後藉由過濾離心(0.20 µm PTFE薄膜)回收固體物質；藉由FT-拉曼光譜法及PXRDR檢驗物質；物質在真空(10-20毫巴)中乾燥5分鐘；藉由TG-FTIR檢驗物質。	FT-拉曼光譜： PP415P14.0 PXRDR : 232a TG-FTIR : a4322	拉曼光譜：對應於類別5，含有溶劑信號 PXRDR : 對應於類別5 TG-FTIR : 在25°C至200°C過程中損失約36.1重量% THF及H ₂ O，大部分係在約100°C至130°C之步驟中損失；分解在T > 300°C時開始
PP415-P15	100.6 mg PP415-P1溶解於0.2 mL 1:2 DCM/IPE中；獲得澄清溶液；在< 1分鐘內觀測到白色固體沈澱；添加0.2 mL溶劑混合物；用單層組織覆蓋小瓶且使溶劑在環境條件下蒸發；在若干小時後獲得濕潤的白色固體物質；藉由FT-拉曼光譜法及PXRDR檢驗固體。	FT-拉曼光譜： PP415P15.0 PXRDR : 137a	拉曼光譜：對應於類別2，含有溶劑信號 PXRDR : 對應於類別2

樣品	實驗說明	測試方法	結果/備註
PP415-P16	100.3 mg PP415-P1溶解於0.2 mL 1:2 MeOH/甲苯中；獲得澄清溶液；用單層組織覆蓋小瓶且使溶劑在環境條件下蒸發；在若干天後獲得玻璃狀物質；藉由FT-拉曼光譜法檢驗物質。	FT-拉曼光譜： PP415P16.0	FT-拉曼光譜法：對應於類別1，含有甲苯溶劑峰
PP415-P17	101.0 mg PP415-P1溶解於0.3 mL 1:3 EtOAc/庚烷中；獲得澄清溶液；在< 1分鐘內觀測到白色固體沈澱；添加0.2 mL溶劑混合物；用單層組織覆蓋小瓶且使溶劑在環境條件下蒸發；在若干小時後獲得濕潤的白色固體物質；藉由FT-拉曼光譜法及PXRDXRD檢驗固體。	FT-拉曼光譜： PP415P17.0 PXRDXRD：138a	拉曼光譜：對應於類別2，含有溶劑信號 PXRDXRD：對應於類別2
PP415-P18	PP415-P15物質在真空(2-20毫巴)中於室溫下乾燥約2小時；藉由FT-拉曼光譜法、PXRDXRD及TG-FTIR檢驗乾燥的白色固體。	FT-拉曼光譜： PP415P18.0 PXRDXRD：149a TG-FTIR：a4301	拉曼光譜：對應於類別2 PXRDXRD：對應於類別2 TG-FTIR：在約140°C至約250°C之兩個步驟中損失約7.0重量% IPE；分解在T > 250°C時開始
PP415-P19	PP415-P17物質在真空(2-20毫巴)中於室溫下乾燥約2小時；藉由FT-拉曼光譜法、PXRDXRD及TG-FTIR檢驗乾燥的白色固體。	FT-拉曼光譜： PP415P19.0 PXRDXRD：150a TG-FTIR：a4302	拉曼光譜：對應於類別2 PXRDXRD：對應於類別2 TG-FTIR：在約140°C至約270°C之兩個步驟中損失約7.6重量%庚烷；分解在T > 270°C時開始
PP415-P20	98.8 mg PP415-P1懸浮於2.0 mL H ₂ O中；懸浮液加熱至50°C；緩慢且逐步添加4.0 mL丙酮；獲得澄清溶液；溶液加熱至55°C且保持在55°C下30分鐘；經4小時10分鐘緩慢冷卻至5°C(以約0.2 K/min)；藉由真空過濾(P4孔徑)回收固體；藉由FT-拉曼光譜法及PXRDXRD檢驗固體。	FT-拉曼光譜： PP415P20.0 PXRDXRD：226a	拉曼光譜：對應於類別3，含有溶劑信號 PXRDXRD：對應於類別3

樣品	實驗說明	測試方法	結果/備註
PP415-P21	100.9 mg PP415-P1懸浮於2.0 mL環己烷中；懸浮液加熱至70°C；緩慢且逐步添加0.5 mL環己烷及0.5 mL EtOH；稀懸浮液由於溶劑添加過程中的其他沉澱而變得更濃稠；懸浮液加熱至75°C且保持在75°C下30分鐘；經5小時緩慢冷卻至5°C(以約0.23 K/min)；藉由真空過濾(P4孔徑)回收固體；藉由FT-拉曼光譜法及PXRD檢驗固體；物質在真空(10-20毫巴)中乾燥5分鐘；藉由TG-FTIR檢驗物質。	FT-拉曼光譜： PP415P21.0 PXRD：218a TG-FTIR：a4326	拉曼光譜：對應於類別2 PXRD：對應於類別2 TG-FTIR：在約140°C至約250°C之兩個步驟中損失約5.8重量%環己烷；分解在T > 250°C時開始
PP415-P22	151.1 mg PP415-P1懸浮於1.5 mL甲苯中；懸浮液加熱至70°C；獲得澄清溶液；添加0.5 mL MeCN；溶液加熱至75°C且保持在75°C下30分鐘；經5小時緩慢冷卻至5°C(以約0.23 K/min)；觀測到澄清溶液且無沉澱；澄清溶液在5°C下攪拌2天；未觀測到沉澱；溶劑在N ₂ 流下於室溫下蒸發；獲得玻璃狀物質；藉由FT-拉曼光譜法進行檢驗。	FT-拉曼光譜： PP415P22.0	拉曼光譜：對應於類別1，含有溶劑信號
PP415-P23	150.6 mg PP415-P1懸浮於1.5 mL二噁烷中；懸浮液加熱至70°C；獲得澄清溶液；添加0.5 mL EtOAc；溶液加熱至75°C且保持在75°C下30分鐘；經5小時緩慢冷卻至5°C(以約0.23 K/min)；觀測到澄清溶液且無沉澱；澄清溶液在5°C下攪拌2天；未觀測到沉澱；溶劑在N ₂ 流下於室溫下蒸發；獲得玻璃狀物質；藉由FT-拉曼光譜法進行檢驗。	FT-拉曼光譜： PP415P23.0	拉曼光譜：對應於類別1，含有溶劑信號
PP415-P24	99.4 mg PP415-P1懸浮於0.3 mL 1BuOH中；懸浮液加熱至70°C；獲得澄清溶液；隨後不久觀測到白色固體沉澱；添加0.5 1BuOH；仍為懸浮液；懸浮液加熱至75°C且保持在75°C下30分鐘；經5小時緩慢冷卻至5°C(以約0.23 K/min)；藉由真空過濾(P4孔徑)回收固體；藉由FT-拉曼光譜法及PXRD檢驗固體；物質在真空(10-20毫巴)中乾燥5分鐘；藉由TG-FTIR檢驗物質。	FT-拉曼光譜： PP415P24.0 PXRD：219a TG-FTIR：a4325	拉曼光譜：對應於類別2，含有溶劑信號 PXRD：對應於類別2 TG-FTIR：在約50°C至約160°C之步驟中損失約16.6重量% 1BuOH，在160°C至230°C之第二步驟中進一步損失1BuOH (6.6重量%)；在溫度T > 230°C時分解

樣品	實驗說明	測試方法	結果/備註
PP415-P25	在真空中乾燥PP415-P25物質：在60°C及約5毫巴下乾燥約1小時；在室溫及約3毫巴下乾燥4.5天；在60°C及約10毫巴下乾燥1小時；在40°C-50°C及5-20毫巴下乾燥約20小時，藉由FT-拉曼光譜法、PXRD及TG-FTIR檢驗固體。	FT-拉曼光譜： PP415P25.0 PXRD：258a TG-FTIR：a4337	拉曼光譜：對應於類別3 PXRD：對應於類別3 TG-FTIR：在50°C至250°C過程中損失約5.4重量% 2PrOH，大部分係在170°C至190°C之步驟中損失，在290°C至320°C過程中再次損失約1.0重量% 2PrOH；在T > 320°C時分解
PP415-P26	在真空中乾燥PP415-P13物質：在60°C及約5毫巴下乾燥約1小時；在室溫及約3毫巴下乾燥4.5天；在60°C及約10毫巴下乾燥1小時；在40°C-50°C及5-20毫巴下乾燥約20小時，藉由FT-拉曼光譜法、PXRD及TG-FTIR檢驗固體。	FT-拉曼光譜： PP415P26.0 PXRD：259a TG-FTIR：a4335	拉曼光譜：對應於類別4 PXRD：對應於類別4 TG-FTIR：在170°C至250°C過程中損失約2.8重量% MeCN；在T > 300°C時分解
PP415-P27	在真空中乾燥PP415-P14物質：在60°C及約5毫巴下乾燥約1小時；在室溫及約3毫巴下乾燥4.5天；在60°C及約10毫巴下乾燥1小時；在40°C-50°C及5-20毫巴下乾燥約20小時，藉由FT-拉曼光譜法、PXRD及TG-FTIR檢驗固體。	FT-拉曼光譜： PP415P27.0 PXRD：260a TG-FTIR：a4336	拉曼光譜：似乎對應於類別1與類別5之混合物 PXRD：樣品僅部分結晶；少數寬峰對應於類別5；因此對應於非晶形類別1與類別5之混合物 TG-FTIR：在25°C至290°C過程中損失約0.3重量%；在T > 290°C時分解
PP415-P28	在真空中乾燥PP415-P21物質：在60°C及約5毫巴下乾燥約1小時；在室溫及約3毫巴下乾燥4.5天；在60°C及約10毫巴下乾燥1小時；在40°C-50°C及5-20毫巴下乾燥約20小時，藉由FT-拉曼光譜法、PXRD及TG-FTIR檢驗固體。	FT-拉曼光譜： PP415P28.0 PXRD：261a TG-FTIR：a4334	拉曼光譜：對應於類別2 PXRD：對應於類別2，樣品結晶度較低，如由寬峰指示 TG-FTIR：在約140°C至約250°C之兩個步驟中損失約3.0重量%環己烷；在T > 250°C時分解

樣品	實驗說明	測試方法	結果/備註
PP415-P29	132.2 mg PP415-P1懸浮於0.8 mL 1:2 EtOAc/TEA中；觀測到固相外觀發生變化；攪拌及音波處理；懸浮液在24°C下於500 rpm震盪下平衡；4天後藉由過濾離心(0.20 µm PTFE薄膜)回收固體物質；藉由FT-拉曼光譜法及PXRDR檢驗物質；物質在真空(10-20毫巴)中乾燥5分鐘；藉由TG-FTIR檢驗物質。	FT-拉曼光譜： PP415P29.0 PXRDR : 282a TG-FTIR : a4346	拉曼光譜：對應於類別2 PXRDR : 對應於類別2 TG-FTIR : 在約50°C至約220°C過程中損失約5.1重量% EtOAc及TEA，大部分係在180°C至210°C之步驟中損失；在T > 220°C時分解
PP415-P30	PP415-P7物質在真空中於50°C-70°C及1-10毫巴下乾燥3天；藉由FT-拉曼光譜法、PXRDR及TG-FTIR檢驗固體。	FT-拉曼光譜： PP415P30.0 PXRDR : 290a TG-FTIR : a4347	拉曼光譜：對應於類別2 PXRDR : 對應於類別2 TG-FTIR : 在約50°C至約250°C之兩個步驟中損失約2.1重量%庚烷(及一些EtOAc)；在T > 250°C時分解
PP415-P31	137.6 mg PP415-P1懸浮於2 mL 9:1 H ₂ O/PEG 400中；獲得白色懸浮液；懸浮液在24°C下於400 rpm震盪下平衡；5天後藉由真空過濾回收固體物質；固體用少量H ₂ O洗滌3次；藉由FT-拉曼光譜法及PXRDR檢驗物質。	FT-拉曼光譜： PP415P31.0 PXRDR : 320a	拉曼光譜：對應於類別1 PXRDR : 非晶形，對應於類別1
PP415-P32	PP415-P19物質在真空中於80°C及< 1×10 ⁻³ 毫巴下乾燥；1天後藉由TG-FTIR (a4362)檢驗物質；在總共3天後藉由TG-FTIR (a4365)、FT-拉曼光譜法及PXRDR檢驗物質(如P32A一樣)。	FT-拉曼光譜： PP415P32.0 PXRDR : 331a (P32A) TG-FTIR : a4362 (P32) a4365 (P32A)	拉曼光譜：對應於類別2 PXRDR : 對應於類別2，結晶度較低 TG-FTIR P32 : 損失2.8重量%庚烷(25°C-250°C)，大部分係在170°C至200°C之步驟中損失；在T > 250°C時分解 TG-FTIR P32A : 損失2.2重量%庚烷(25°C-250°C)，大部分係在170°C至200°C之步驟中損失；在T > 250°C時分解
PP415-P33	PP415-P19物質在真空中於80°C及< 1×10 ⁻³ 毫巴下乾燥；3天後藉由FT-拉曼光譜法、PXRDR及TG-FTIR檢驗物質。	FT-拉曼光譜： PP415P33.0 PXRDR : 332a TG-FTIR : a4366	拉曼光譜：對應於類別3 PXRDR : 對應於類別3 TG-FTIR : 損失約4.2重量% 2PrOH (50°C至210°C)，大部分係在160°C至190°C之步驟中損失，再損失約0.5重量% 2PrOH (210°C至290°C)；在T > 290°C時分解

樣品	實驗說明	測試方法	結果/備註
PP415-P34	PP415-P19物質在真空中於80°C及 $< 1 \times 10^{-3}$ 毫巴下乾燥；3天後藉由FT-拉曼光譜法、PXRD及TG-FTIR檢驗物質。	FT-拉曼光譜： PP415P34.0 PXRD：333a TG-FTIR：a4367	拉曼光譜：對應於類別2 PXRD：對應於類別2，結晶度較低 TG-FTIR：在25°C至270°C之兩個步驟中損失約2.3重量%環己烷；在 $T > 270^\circ\text{C}$ 時分解
PP415-P35	158.4 mg PP415-P1懸浮於0.2 mL MeCN/H ₂ O中獲得兩個澄清的分離相；溶液在24°C下於400 rpm震盪下平衡；3天後觀測到濃稠懸浮液；添加0.1 mL溶劑混合物；懸浮液在24°C下於400 rpm震盪下繼續平衡；總共5天後藉由過濾離心(0.20 μm PTFE薄膜)回收固體物質；藉由FT-拉曼光譜法及PXRD檢驗物質；物質在真空(10-20毫巴)中乾燥10分鐘；藉由PXRD及TG-FTIR檢驗物質。	FT-拉曼光譜： PP415P35.0 PXRD：326a TG-FTIR：a4363	拉曼光譜：對應於類別4，含有溶劑信號 PXRD：對應於類別4 TG-FTIR：在25°C至250°C過程中損失2.9重量% MeCN；在 $T > 250^\circ\text{C}$ 時分解
PP415-P36	PP415-P35物質在真空中於80°C及 $< 1 \times 10^{-3}$ 毫巴下乾燥；3天後藉由FT-拉曼光譜法、PXRD及TG-FTIR檢驗物質。	FT-拉曼光譜： PP415P36.0 PXRD：339a TG-FTIR：a4369	拉曼光譜：對應於類別4 PXRD：對應於類別4 TG-FTIR：在25°C至280°C之兩個步驟中損失約0.6重量%(可能為H ₂ O及/或MeCN)；在 $T > 280^\circ\text{C}$ 時分解
PP415-P37	PP415-P35物質在N ₂ 流中於80°C下乾燥；3天後藉由FT-拉曼光譜法、PXRD、TG-FTIR、DSC及DVS檢驗物質。	FT-拉曼光譜： PP415P37.0 PXRD：340a TG-FTIR：a4370 DSC：d_9907 DVS：dvs1176 DVS後之 PXRD：363a	拉曼光譜：對應於類別4 PXRD：對應於類別4 TG-FTIR：在25°C至280°C之兩個步驟中損失約0.9重量%(可能為H ₂ O及/或MeCN)；在 $T > 280^\circ\text{C}$ 時分解 DSC：T = 196.1°C ($\Delta H = 29.31 \text{ J/g}$)處之尖銳吸熱峰；在高達270°C下未發生分解 DVS：輕微吸濕性； $\Delta m = +0.7\%$ (50%→85%相對濕度)；總質量增加為2.1重量%(0%相對濕度至95%相對濕度) DVS後之PXRD：對應於類別4
PP415-P38	DSC實驗：組合1.275 mg PP415-P1與1.344 mg PP415-P36；在N ₂ 中平衡3分鐘；樣品以10 K/min自-50°C加熱至270°C。	DSC：d_9917	DSC

樣品	實驗說明	測試方法	結果/備註
PP415-P39	DSC實驗：組合2.17 mg PP415-P1與2.20 mg PP415-P36；使用刮勺混合固體；在N ₂ 中平衡3分鐘；樣品以10 K/min自-50°C加熱至173°C；保持在173°C下30分鐘；以10 K/min自173°C加熱至270°C。	DSC : d_9923	DSC
PP415-P40	在2011年5月27日接收約5 g 63415，批號：2083-69-DC；MW = 554.7 g/mol，C ₃₃ H ₄₄ F ₂ N ₂ O ₃	PXRD : 390a	PXRD：對應於類別2
PP415-P41	101.3 mg PP415-P40懸浮於0.20 mL THF/H ₂ O (1:1)中；獲得白色懸浮液；懸浮液在24°C下平衡；3天後藉由過濾離心(0.2 µm PTFE薄膜)回收固體；固體物質在真空中乾燥5分鐘；藉由PXRD檢驗固體。	PXRD : 400a	PXRD：對應於類別5
PP415-P42	104.6 mg PP415-P40溶解於0.20 mL THF中；獲得澄清溶液；溶劑在N ₂ 流中蒸發隔夜；獲得白色固體；藉由PXRD檢驗固體。	PXRD : 405a	PXRD：非晶形(類別1)
PP415-P43	101.8 mg PP415-P40溶解於0.20 mL THF/己烷(8:2)中；獲得澄清溶液；溶劑在N ₂ 流中蒸發隔夜；獲得白色固體；藉由PXRD檢驗固體。	PXRD : 429a	PXRD：對應於類別2
PP415-P44	PP415-P41在真空(約100毫巴)中於80°C下乾燥；1天後藉由PXRD (474a)檢驗固體；繼續乾燥隔夜；再藉由PXRD (482a)及TG-FTIR檢驗固體。	PXRD : 474a、482a TG-FTIR : a4401	PXRD：均主要為非晶形(類別1)，一些具有低強度之寬峰 TG-FTIR：約0.9重量% THF (25°C至280°C)；在T > 300°C時分解
PP415-P45	3.03 g PP415-P40懸浮於6.0 mL THF/H ₂ O (1:1)中；獲得白色懸浮液；懸浮液在室溫下平衡；1天後藉由過濾離心回收小份等分試樣且藉由PXRD檢驗；藉由真空過濾回收全部樣品之固體；樣品在真空(約10毫巴)中乾燥10分鐘。	PXRD : 471a	PXRD：對應於類別5
PP415-P46	PP415-P45物質在真空(約100毫巴)中於80°C下乾燥；在乾燥隔夜後藉由PXRD (481a)檢驗固體；繼續乾燥；4天後藉由PXRD (496a)及TG-FTIR檢驗固體PP415-P46a。	PXRD : 481a、496a TG-FTIR : a4410	PXRD：均主要為非晶形(類別1)，一些具有低強度之寬峰 TG-FTIR：約0.4重量% H ₂ O (25°C至250°C)；在T > 250°C時分解

樣品	實驗說明	測試方法	結果/備註
PP415-P47	101.8 mg PP415-P40溶解於0.4 mL EtOAc中；獲得澄清溶液；溶劑在N ₂ 流中蒸發隔夜；獲得白色固體；藉由PXRDRD及TG-FTIR檢驗固體。	PXRDRD：492a TG-FTIR：a4412	PXRDRD：對應於類別2 TG-FTIR：約6.2重量% EtOAc (25°C至170°C)，1.7重量% EtOAc (170°C至240°C)，在T > 240°C時分解
PP415-P48	101.1 mg PP415-P40溶解於0.4 mL 甲酸乙酯中；獲得澄清溶液；溶劑在N ₂ 流中蒸發隔夜；獲得白色固體；藉由PXRDRD及TG-FTIR檢驗固體。	PXRDRD：493a TG-FTIR：a4413	PXRDRD：對應於類別2 TG-FTIR：約3.5重量% 甲酸乙酯(25°C至200°C)；在T > 200°C時分解
PP415-P49	205.3 mg PP415-P40溶解於0.3 mL 丙酮中；獲得澄清溶液；逐滴添加至30.0 mL H ₂ O (預先冷卻至5°C)中；獲得稀的白色懸浮液；在5°C下攪拌稀懸浮液隔夜；獲得較濃稠白色懸浮液；藉由真空過濾(孔徑P4)回收固體；獲得188.3 mg 白色固體；藉由PXRDRD檢驗固體。	PXRDRD：593a	PXRDRD：非晶形(類別1)

表31. 圖51之參數

化合物	NO _x 含量(與LPS對照物相比之百分比)	
	13 mg/kg	25 mg/kg
RTA 405 *	44%	26%
63415	30%	18%
		16%

表32. 63415：原發性活體內ADMET-關鍵原發性ADMET分析法及終點

分析法	關鍵終點
14天小鼠毒性	可耐受性、體重、臨床化學 組織分佈
14天大鼠毒性	肝臟中之Nrf2目標基因mRNA表現及酶活化 可耐受性、體重、臨床化學及有限組織病理學 組織分佈及血漿TK
14天猴毒性	肝臟中之Nrf2目標基因mRNA表現及酶活化 可耐受性、體重、臨床化學及有限組織病理學 組織分佈及血漿TK 多個組織及PBMC中之Nrf2目標基因mRNA表現及酶活化

表33. 圖54之參數

	媒劑	63415		
劑量(mg/kg)	0	10	30	100
ALT (U/L)	100	39	63	91
AST (U/L)	156	98	147	167
ALP (U/L)	120	131	110	98
總膽紅素(mg/dL)	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2
BUN (mg/dL)	17	15	15	15
Cr (mg/dL)	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2
Glu (mg/dL)	288	307	285	273

表34. 活體內微核研究中63415之基因毒性為陰性

處理 (n = 5/組)	PCE/全部紅血球 (平均值 $\pm$ SD)	與對照物相比之變化 (%)	MPCE/1000 PCE之數目 (平均值 $\pm$ SD)	評分之MPCE/PCE之數目
24小時時間點				
芝麻油	0.588 $\pm$ 0.04	-	0.2 $\pm$ 0.27	2/10000
125 mg/kg	0.543 $\pm$ 0.03	-8	0.3 $\pm$ 0.27	3/10000
250 mg/kg	0.520 $\pm$ 0.06	-12	0.3 $\pm$ 0.27	3/10000
500 mg/kg	0.426 $\pm$ 0.07	-28	0.0 $\pm$ 0.00	0/10000
1000 mg/kg	0.498 $\pm$ 0.05	-15	0.2 $\pm$ 0.27	2/10000
1500 mg/kg	0.499 $\pm$ 0.06	-15	0.4 $\pm$ 0.22	4/10000
2000 mg/kg	0.531 $\pm$ 0.05	-10	0.2 $\pm$ 0.27	2/10000
48小時時間點				
芝麻油	0.526 $\pm$ 0.05	-	0.3 $\pm$ 0.27	3/10000
125 mg/kg	0.453 $\pm$ 0.03	-14	0.2 $\pm$ 0.27	2/10000
250 mg/kg	0.391 $\pm$ 0.02	-26	0.2 $\pm$ 0.27	2/10000
500 mg/kg	0.339 $\pm$ 0.05	-36	0.3 $\pm$ 0.45	3/10000
1000 mg/kg	0.344 $\pm$ 0.04	-35	0.1 $\pm$ 0.22	1/10000
1500 mg/kg	0.376 $\pm$ 0.05	-39	0.4 $\pm$ 0.42	4/10000
2000 mg/kg	0.360 $\pm$ 0.03	-32	0.1 $\pm$ 0.22	1/10000

表35. 圖35之參數

處理	天數	ALT (U/L)	AST (U/L)	ALP (U/L)	總膽紅素 (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Cr (mg/dL)	總蛋白 (g/dL)	白蛋白 (g/dL)	葡萄糖 (mg/dL)	膽固醇 (mg/dL)	TG (mg/dL)
媒劑	BL	30	29	320	0.15	23	0.63	7.2	4.1	87	124	52
	第14天	37	37	345	0.23	18	0.63	6.9	4.1	63	130	64
10 mg/kg	BL	46	32	351	0.18	35	0.78	7.4	4	74	146	51
	第14天	46	38	382	0.23	27	0.68	7.2	4	39	144	82
30 mg/kg	BL	32	32	409	0.18	23	0.7	7.3	4.2	85	125	47
	第14天	47	43	416	0.2	20	0.58	7.2	4	53	122	64
100 mg/kg	BL	32	35	381	0.15	24	0.7	6.9	4	96	137	37
	第14天	43	37	390	0.18	24	0.55	6	3.2	32	93	61

表36. 63415及63355之活體外活性

	63415	63355
NO IC ₅₀ (nM) , RAW264.7	4.0±1	0.63±0.06
WST-1 IC ₅₀ (nM) , RAW264.7	125	150
NQO1-ARE (HuH7中在62.5 nM下翻倍)	5.3±1.0	6.5±0.9

表37. 圖52之參數

化合物	血漿	全血	腦	肝臟	肺	腎臟
RTA 405 (nM)	130	1165	93	1143	1631	2357
63415 (nM)	51	679	1081	985	533	1604

表38. 圖53之參數

化合物	肝臟	肺	腎臟
RTA 405	1.93	1.48	8.25
63415	10.9	1.75	10.9

* * * * *

可根據本發明在無不當實驗情況下製備及執行本文中揭示及主張之所有化合物、多晶型、調配物及方法。儘管已根據較佳實施例描述本發明之化合物、多晶型、調配物及方法，但熟習此項技術者將顯而易見可在不偏離本發明之概念、精神及範疇情況下對本文中所描述之化合物、多晶型、調配物及方法以及方法中之步驟或步驟順序作出變化。更特定言之，顯然可用某些化學及生理學相關試劑替代本文中所描述之試劑而獲得相同或類似結果。熟習此項技術者可顯而易見的所有該等類似取代及修飾均視為屬於由隨附申請專利範圍所界定之本發明之精神、範疇及概念內。

參考文獻

以下參考文獻以引用的方式明確併入本文中以提供對本文所述內容之例示性程序性或其他細節補充。

美國專利6,326,507

美國專利6,974,801

美國專利7,915,402

美國專利7,943,778

美國專利8,124,799

美國專利8,129,429

美國專利公開案2009/0060873

Abraham and Kappas, *Free Radical Biol. Med.*, 39:1-25, 2005.

Aghajan *et al.*, *J Gastroenterol Hepatol. Suppl* 2:10-14, 2012.

Ahmad, *et. al.*, *Cancer Res.*, 68:2920-2926, 2008.

Ahmad, *et. al.*, *J. Biol. Chem.*, 281:35764-9, 2006.

Angulo *et al.*, *Eur. J. Immunol.*, 30:1263-1271, 2000.

Araujo, *et. al.*, *J. Immunol.*, 171(3):1572-1580, 2003.

- Arend and Dayer, *Arthritis Rheum.*, 38:151-160, 1995.
- Bach, *Hum. Immunol.*, 67(6):430-432, 2006.
- Bagasra *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92:12041-12045, 1995.
- Blake, *et. al. Am J Respir Cell Mol Biol* 42:524-36, 2010.
- Berridge *et al.*, *Biochemica* 4: 14-19, 1996.
- Botoman *et al.*, *Am. Fam. Physician*, 57(1):57-68, 1998.
- Brandt *et al.*, *Arthritis Rheum.*, 43:1346-1352, 2000.
- Brewerton *et al.*, *Lancet.*, 1:904-907, 1973a.
- Brewerton *et al.*, *Lancet.*, 1:956-957, 1973b.
- Bronte *et al.*, *Trends Immunol.*, 24:302-306, 2003.
- Brown and DuBois, *J. Clin. Oncol.*, 23:2840-2855, 2005.
- Brynskov *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 321(13):845-850, 1989.
- Cantin, *et. al.*, *J Clin Invest* 79:1665-73, 1987.
- Cai *et al.*, *Nat. Med.*, 11(2):183-190, 2005.
- Calin and Taurog, In: *The Spondylarthritides*, Calin *et al.* (Eds.), Oxford, UK. Oxford University Press, 179, 1998.
- Car, *et. al.*, *Am J Respir Crit Care Med* 149:655-9, 1994.
- Cernuda-Morollon, *et. al. J Biol Chem* 276:35530-6, 2001.
- Chan and Kan, *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:12731-6, 1999.
- Chauhan and Chauhan, *Pathophysiology*, 13(3):171-181. 2006.
- Chen and Kunsch, *Curr Pharm Des* 10:879-91, 2004.
- Cho, *et. al.*, *Am J Respir Cell Mol Biol* 26:175-82, 2002.
- Crowell *et al.*, *Mol. Cancer Ther.*, 2:815-823, 2003.
- Cuzzocrea, *et. al.*, *Mol Pharmacol* 61:997-1007, 2002.
- Dickerson, *et. al.*, *Prog Neuropsychopharmacol Biol. Psychiatry*, March 6, 2007.

- Dinareello, *Int. Rev. Immunol.*, 16:457-499, 1998.
- Dinkova-Kostova, *et. al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 102(12):4584-4589, 2005.
- Dionne *et al.*, *Clin. Exp. Immunol.*, 112(3):435-442, 1998.
- Douglas, *et. al., Am J Respir Crit Care Med* 158:220-5, 1998.
- Dudhgaonkar, *et. al., Eur. J. Pain*, 10(7):573-9, 2006.
- Eastgate, *et al.*, *Lancet*, 2(8613):706-9, 1988.
- Eikelenboom *et al.*, *Glia*, 40(2):232-239, 2002.
- Ettehadhi *et al.*, *Clin. Exp. Immunol.*, 96(1):146-151, 1994.
- Fischer, *et. al., Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 6:413-21, 2011.
- Forstermann, *Biol. Chem.*, 387:1521, 2006.
- Funakoshi *et al.*, *Digestion*, 59(1):73-78, 1998.
- Gebel, *et. al., Toxicol Sci* 115:238-52, 2010.
- Gehrmann *et al.*, *Glia*, 15(2):141-151, 1995.
- Genain and Nauser, *J. Mol. Med.*, 75:187-197, 1997.
- Goodman *et al.*, *Kidney Int.*, 72(8):945-953, 2007.
- Graeber *et al.*, *Glia*, 40(2):252-259, 2002.
- Greten *et al.*, *Cell*, 118:285-296, 2004.
- Grivennikov and Karin, *Cytokine Growth Factor Rev.* 21(1):11-19, 2010.
- Guilherme *et al.*, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 9(5):367-77, 2008.
- Gwee *et al.*, *Gut.*, 44(3):400-406., 1999.
- Hallgren, *et. al., Am Rev Respir Dis* 139:373-7, 1989.
- Hahn and Tsao, In: *Dubois' Lupus Erythematosus*, 4th Ed, Wallace and Hahn (Eds.), Lea and Febiger, Philadelphia, 195-201, 1993.
- Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, and Use*, Stahl and

Wermuth Eds.), Verlag Helvetica Chimica Acta, 2002.

Hanson, *et al.*, *BMC Medical Genetics*, 6(7), 2005.

Hansson *et al.*, *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.*, 1:297-329, 2006.

Hayden and Ghosh, *Cell* 132:344-62, 2008.

He and Karin, *Cell Res.*, 21(1):159-168, 2011.

Honda, *et al.* *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 12:1027-1030, 2002.

Honda, *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 16(24):6306-6309, 2006.

Honda, *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 7:1623-1628, 1997.

Honda, *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 8(19):2711-2714, 1998.

Honda, *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 9(24):3429-3434, 1999.

Honda, *et al.*, *J. Med. Chem.*, 43:4233-4246, 2000a.

Honda, *et al.*, *J. Med. Chem.*, 43:1866-1877, 2000b.

Hotamisligil, *Nature*, 444(7121):860-7, 2006.

Iizuka, *et al.*, *Genes Cells* 10:1113-25, 2005.

Ikezaki, *et al.*, *Food Chem Toxicol* 34:327-35, 1996.

Ishii, *et al.*, *J Immunol* 175:6968-75, 2005.

Ishikawa, *et al.*, *Circulation*, 104(15):1831-1836, 2001.

Ishizawa and Dickson, *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 60(6):647-657, 2001.

Jarvis, *Curr. Opin. Rheumatol.*, 10(5):459-467, 1998.

Jarvis, *Pediatr. Ann.*, 31(7):437-446, 2002.

Jonsson *et al.*, *Oral Dis.*, 8(3):130-140, 2002.

Jonsson *et al.*, *Trends Immunol.*, 22(12):653-654, 2001.

Kahle *et al.*, *Ann. Rheum. Dis.*, 51:731-734, 1992.

Kaltschmidt *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94:2642-2647, 1997.

- Karin, *Nature*, 441(7092):431-436, 2006.
- Kawakami, *et. al.*, *Brain Dev.*, 28(4):243-246, 2006.
- Kawamoto, *et. al.*, *J Biol Chem* 275:11291-9, 2000.
- Kendall-Tackett, *Trauma Violence Abuse*, 8(2):117-126, 2007.
- Kensler, *et. al.*, *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 47:89-116, 2007.
- Kikuchi, *et. al.*, *Respir Res* 11:31, 2010.
- Kim, *et. al.*, *Mutat Res* 690:12-23, 2010.
- King, *et. al.*, *Am J Respir Crit Care Med* 184:92-99, 2011.
- Kinnula, *et. al.*, *Am J Respir Crit Care Med* 172:417-22, 2005.
- Klingsberg, *et. al.*, *Respirology* 15:19-31, 2010.
- Kortylewski *et al.*, *Nat. Med.*, 11:1314-1321, 2005.
- Kotzin and O'Dell, In: *Samler's Immunologic Diseases*, 5th Ed., Frank *et al.* (Eds.), Little Brown & Co., Boston, 667-697, 1995.
- Kotzin, *Cell*, 85:303-306, 1996.
- Kruger, *et. al.*, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 319(3):1144-1152, 2006.
- Kuboyama, *Kurume Med. J.*, 45(1):33-37, 1998.
- Lee, *et. al.*, *Mol Cell* 36:131-40, 2009.
- Lee, *et. al.*, *Glia.*, 55(7):712-22, 2007.
- Lencz, *et. al.*, *Mol. Psychiatry*, 12(6):572-80, 2007.
- Levonen, *et. al.*, *Biochem J* 378:373-82, 2004.
- Li and Kong, *Mol Carcinog* 48:91-104, 2009.
- Liby, *et. al.*, *Cancer Res.*, 65(11):4789-4798, 2005.
- Liby, *et. al.*, *Mol. Cancer Ther.*, 6(7):2113-9, 2007b.
- Liby, *et. al.*, *Nat. Rev. Cancer*, 7(5):357-356, 2007a.
- Lipsky, In: *Harrison's principles of internal medicine*, Fauci *et al.*(Eds.), 14th Ed., NY, McGraw-Hill, 1880-1888, 1998.

- Liu, *et. al.*, *FASEB J.*, 20(2):207-216, 2006.
- Lu, *et. al.*, *J. Clin. Invest.*, 121(10):4015-29, 2011.
- Lugering *et al.*, *Ital. J. Gastroenterol. Hepatol.*, 30(3):338-344, 1998.
- Malhotra, *et. al.*, *Am J Respir Crit Care Med* 178:592-604, 2008.
- March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*, 2007.
- Mazur *et al.*, *Cell Microbiol.*, 9(7):1683-94, 2007.
- Mazzoni *et al.*, *J. Immunol.*, 168:689-695, 2002.
- McAlindon *et al.*, *Gut*, 42(2):214-219, 1998.
- McGeer and McGeer, *Brain Res. Brain Res. Rev.*, 21:195-218, 1995.
- McGeer *et al.*, *Neurology*, 19:331-338, 1996.
- McGonagle *et al.*, *Arthritis Rheum.*, 41:694-700, 1998.
- McGonagle *et al.*, *Curr. Opin. Rheumatol.*, 11:244-250, 1999.
- McIver, *et. al.*, *Pain*, 120(1-2):161-9, 2005.
- Mease *et al.*, *Lancet*, 356:385-390, 2000.
- Merrill and Benvenist, *Trends Neurosci.*, 19:331-338, 1996.
- Mochizuki, *et. al.*, *Am J Respir Crit Care Med* 171:1260-6, 2005.
- Morbidity & Mortality: 2009 Chart Book on Cardiovascular, Lung, and Blood Diseases. National Heart, Lung, and Blood Institute, 2009.
- Morris, *et. al.*, *J. Mol. Med.*, 80(2):96-104, 2002.
- Morse and Choi, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 172(6):660-670, 2005.
- Morse and Choi, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 27(1):8-16, 2002.
- Nath *et al.*, *Neurology*, 66(1):149-150, 2006.

- Neal *et al.*, *BMJ.*, 314(7083):779-782, 1997.
- Nichols, *Drug News Perspect.*, 17(2):99-104, 2004.
- Ohnishi *et al.*, *Int. Immunol.*, 6:817-830, 1994.
- Ogushi, *et. al.*, *J Med Invest* 44:53-8, 1997.
- Pall, *Med. Hypoth.*, 69:821-825, 2007.
- Parambil, *et. al.*, *Chest* 128:3310-5, 2005.
- Partsch *et al.*, *Br. J. Rheumatol.*, 24:518-523, 1997.
- Pergola, *et. al.*, *N Engl J Med* 365:327-336, 2011.
- Pica *et al.*, *Antimicrob Agents Chemother.*, 44(1):200-4, 2000.
- Pimentel *et al.*, *Am. J. Gastroenterol.*, 95(12):3503-3506, 2000.
- Place, *et. al.*, *Clin. Cancer Res.*, 9(7):2798-806, 2003.
- Prochaska and Santamaria, *Anal Biochem.* 169:328-336, 1988.
- Rajakariar, *et. al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104(52):20979-84, 2007.
- Rangasamy, *et. al.*, *J Clin Invest* 114:1248-59, 2004.
- Rangasamy, *et. al.*, *J Exp Med* 202:47-59, 2005.
- Reimund *et al.*, *Eur. J. Clin. Invest.*, 28(2):145-150, 1998.
- Renauld, *J Clin Pathol* 54:577-89, 2001.
- Rogler and Andus, *World J. Surg.*, 22(4):382-389, 1998.
- Rooney *et al.*, *Rheumatol. Int.*, 10:217-219, 1990.
- Ross, *et. al.*, *Am. J. Clin. Pathol.*, 120(Suppl):S53-71, 2003.
- Ross, *et. al.*, *Expert Rev. Mol. Diagn.*, 3(5):573-585, 2003.
- Rossi, *et. al.*, *Nature* 403:103-8, 2000.
- Rostom *et al.*, *Ann. Intern. Med.*, 146, 376-389, 2007.
- Ruster, *et. al.*, *Scand. J. Rheumatol.*, 34(6):460-3, 2005.
- Sacerdoti, *et. al.*, *Curr Neurovasc Res.* 2(2):103-111, 2005.

- Saha, *et. al.*, *J Biol Chem* 285:40581-92, 2010.
- Saiki *et al.*, *Scand. J. Gastroenterol.*, 33(6):616-622, 1998.
- Salomonsson *et al.*, *Scand. J. Immunol.*, 55(4):336-342, 2002.
- Salvemini, *et. al.*, *J. Clin. Invest.*, 93(5):1940-1947, 1994.
- Sarchielli, *et. al.*, *Cephalalgia*, 26(9):1071-1079 , 2006.
- Satoh, *et. al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103(3):768-773, 2006.
- Schlosstein *et al.*, *NE J. Medicine*, 288:704-706, 1973.
- Schulz, *et. al.*, *Antioxid. Redox. Sig.*, 10:115, 2008.
- Selman, *et. al.*, *Ann Intern Med* 134:136-51, 2001.
- Sheppard, *J Clin Invest* 107:1501-2, 2001.
- Shishodia, *et. al.*, *Clin Cancer Res* 12:1828-38, 2006.
- Simonian and Coyle, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 36:83-106, 1996.
- Singh, *et. al.*, *Free Rad Biol Med* 46:376-386, 2009.
- Sinha *et al.*, *Cancer Res.*, 67:4507-4513, 2007.
- Sporn, *et. al.*, *J Nat Prod* 74:537-45, 2011.
- Sriram, *et. al.*, *Pulm Pharmacol Ther* 22:221-36, 2009.
- Stack *et al.*, *Lancet*, 349(9051):521-524, 1997.
- Standiford, *et. al.*, *Chest* 103:121S, 1993.
- Standiford, *et. al.*, *J Immunol* 151:2852-63, 1993.
- Stewart *et al.*, *Neurology*, 48:626-632, 1997.
- Straus, *et. al.*, *Proc Natl Acad Sci USA* 97:4844-9, 2000.
- Strejan, *et. al.*, *J. Neuroimmunol.*, 7:27, 1984.
- Strieter, *Am J Respir Crit Care Med* 165:1206-7, 2002.
- Suh, *et. al.*, *Cancer Res.*, 58:717-723, 1998.
- Suh, *et. al.*, *Cancer Res.*, 59(2):336-341, 1999.

- Sussan, *et al.*, *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:250-5, 2009.
- Szabo, *et al.*, *Nature Rev. Drug Disc.*, 6:662-680, 2007.
- Takahashi, *et al.*, *Cancer Res.*, 57:1233-1237, 1997.
- Tamir and Tannebaum, *Biochim. Biophys. Acta*, 1288:F31-F36, 1996.
- Taniguchi, *et al.*, *Eur Respir J* 35:821-9, 2010.
- Targan *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 337(15):1029-1035, 1997.
- Thimmulappa *et al.*, *Cancer Research* 62: 5196-5203, 2002.
- Third Report of the National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III, or ATP III), National Institutes of Health, 2001, NIH Publication No. 01-3670.
- Touzani *et al.*, *J. Neuroimmunol.*, 100(1-2):203-215, 1999.
- Tumlin *et al.*, *Am. J. Cardiol.*, 98(6A):14K-20K, 2006.
- van den Berg, *Semin. Arthritis Rheum.*, 30(5S-2):7-16, 2001.
- van Dullemen *et al.*, *Gastroenterol.*, 109(1):129-135, 1995.
- van Hogezaand and Verspaget, *Drugs*, 56(3):299-305, 1998.
- Vazquez *et al.*, *J. Virol.*, 79(7):4479-91, 2005.
- Wakabayashi, *et al.*, *Antioxid Redox Signal* 13:1649-63, 2010.
- Wang *et al.*, *Cancer Res.*, 66:10983-10994, 2006.
- Wardle, *Nephrol. Dial. Transplant.*, 16(9):1764-8, 2001.
- Weyand and Goronzy, *Ann. NY Acad. Sci.*, 987:140-149, 2003.
- Williams *et al.*, *Clin. Neurosci.*, 2(3-4):229-245, 1994.
- Wordsworth, In: *Genes and Arthritis*, Brit. Medical Bulletin, 51:249-266, 1995.
- Wright, *Clin. Orthop. Related Res.*, 143:8-14, 1979.

Wu, *et al.*, *Toxicol Sci* 123:590-600, 2011.

Xie, *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 270(12):6894-6900, 1995.

Yates, *et al.*, *Mol. Cancer Ther* 6(1):154-162, 2007.

Yore, *et al.*, *Mol Cancer Ther* 5:3232-9, 2006.

Yoh *et al.*, *Kidney Int.*, 60(4):1343-1353, 2001.

Yu *et al.*, *Nat. Rev. Immunol.*, 7:41-51, 2007.

Zhou, *et al.*, *Am. J. Pathol.*, 166(1):27-37, 2005.

Zhou *et al.*, *Cancer Sci.*, 98:882-889, 2007.

Zingarelli *et al.*, *J. Immunol.*, 171(12):6827-6837, 2003.

【符號說明】

無

發明摘要

※ 申請案號：106112410（由102114730分割）

※ 申請日：102/04/24

※IPC 分類：
C07F 63/00 (2006.01)
A61K 31/56 (2006.01)
A61P 1/00 (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01)
A61P 27/02 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)

【發明名稱】

齊墩果酸(BARDOXOLONE METHYL)之2,2-二氟基丙醯胺衍生物、多晶型及其使用方法

2,2-DIFLUOROPROPIONAMIDE DERIVATIVES OF
 BARDOXOLONE METHYL, POLYMORPHIC FORMS AND
 METHODS OF USE THEREOF

【中文】

本發明大體上係關於化合物：

N-((4a*S*,6a*R*,6b*S*,8a*R*,12a*S*,14a*R*,14b*S*)-11- 氰基 -2,2,6a,6b,9,9,12a-七 甲 基 -10,14- 二 側 氧 基 -1,2,3,4,4a,5,6,6a,6b,7,8,8a,9,10,12a,14,14a,14b-十八氫萘-4a-基)-2,2-二氟丙醯胺、

其多晶型、其製備及使用方法、其醫藥組合物以及其套組及製品。

【英文】

The present invention relates generally to the compound:

N-((4a*S*,6a*R*,6b*S*,8a*R*,12a*S*,14a*R*,14b*S*)-11-cyano-2,2,6a,6b,9,9,12a-heptamethyl-10,14-dioxo-1,2,3,4,4a,5,6,6a,6b,7,8,8a,9,10,12a,14,14a,14b-octadecahydronicen-4a-yl)-2,2-difluoropropanamide, polymorphic forms thereof, methods for preparation and use thereof, pharmaceutical compositions thereof, and kits and articles of manufacture thereof.

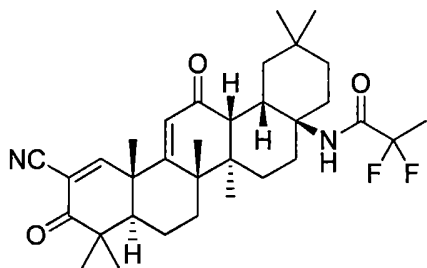
【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（41）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

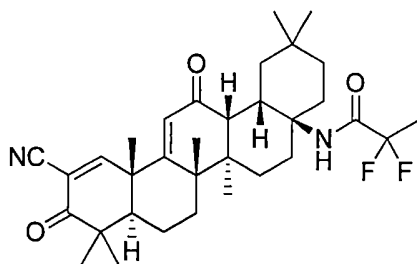
無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：



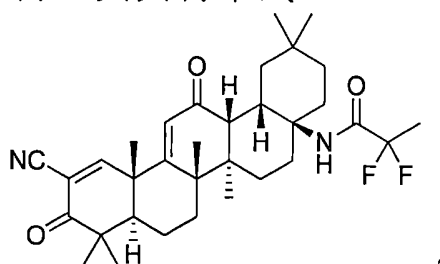
申請專利範圍

1. 一種化合物，其具有下式：



或該式之醫藥學上可接受之鹽。

2. 如請求項1之化合物，其具有下式：



3. 如請求項2之化合物，其係用於藥劑中。

4. 一種如請求項2之化合物之固體形式，

其中該固體形式為非晶形且具有包含 $14^{\circ}2\theta$ 處之鹵基峰的X射線粉末繞射圖形(CuK α)；或

其中該固體形式為結晶溶劑合物，其具有包含 5.6 、 7.0 、 10.6 、 12.7 及 $14.6^{\circ}2\theta$ 處之峰的X射線粉末繞射圖形(CuK α)；或

其中該固體形式為結晶溶劑合物，其具有包含 7.0 、 7.8 、 8.6 、 11.9 、 13.9 (雙峰)、 14.2 及 $16.0^{\circ}2\theta$ 處之峰的X射線粉末繞射圖形(CuK α)；或

其中該固體形式為結晶乙腈半溶劑合物，其具有包含 7.5 、 11.4 、 15.6 及 $16.6^{\circ}2\theta$ 處之峰的X射線粉末繞射圖形(CuK α)；或

其中該固體形式為結晶溶劑合物，其具有包含 6.8 、 9.3 、 9.5 、 10.5 、 13.6 及 $15.6^{\circ}2\theta$ 處之峰的X射線粉末繞射圖形(CuK α)。

5. 如請求項4之固體形式，其中該固體形式為非晶形且具有包含 $14^{\circ}2\theta$ 處之鹵基峰的X射線粉末繞射圖形(CuK α)。
6. 如請求項5之固體形式，其係用於藥劑中。
7. 一種醫藥組合物，其包含：
 活性成分，其由如請求項2之化合物或如請求項5之固體形式所組成，及
 醫藥學上可接受之載劑。
8. 如請求項7之醫藥組合物，其中該醫藥組合物經調配以藉由以下方式投與：經口、脂肪內、動脈內、關節內、顱內、皮內、病灶內、肌肉內、鼻內、眼內、心包內、腹膜內、胸膜內、前列腺內、直腸內、鞘內、氣管內、瘤內、臍帶內、陰道內、靜脈內、腦室內、玻璃體內、經脂質體、經局部、經黏膜、非經腸、經直腸、結膜下、皮下、舌下、經表面、經頰、經皮、經陰道、脂內(in crèmes)、以脂質組合物形式、經由導管、經由灌注、經由連續輸注、經由輸注、經由吸入、經由注射、經由局部傳遞或經由局部灌注。
9. 如請求項8之醫藥組合物，其中該醫藥組合物係調配為硬膠囊或軟膠囊、錠劑、糖漿、懸浮液、乳液、溶液、固態分散體、粉片或酏劑。
10. 如請求項8之醫藥組合物，其中該醫藥組合物經調配以用於選自以下之表面投藥：洗劑、乳膏劑、凝膠、油劑、軟膏劑、油膏劑、乳液、溶液及懸浮液。
11. 如請求項7至10中任一項之醫藥組合物，其中該活性成分之量為0.01重量%至5重量%。
12. 一種如請求項2之化合物或如請求項5之固體形式或如請求項7至11中任一項之醫藥組合物之用途，其係用於製備用以治療患者與

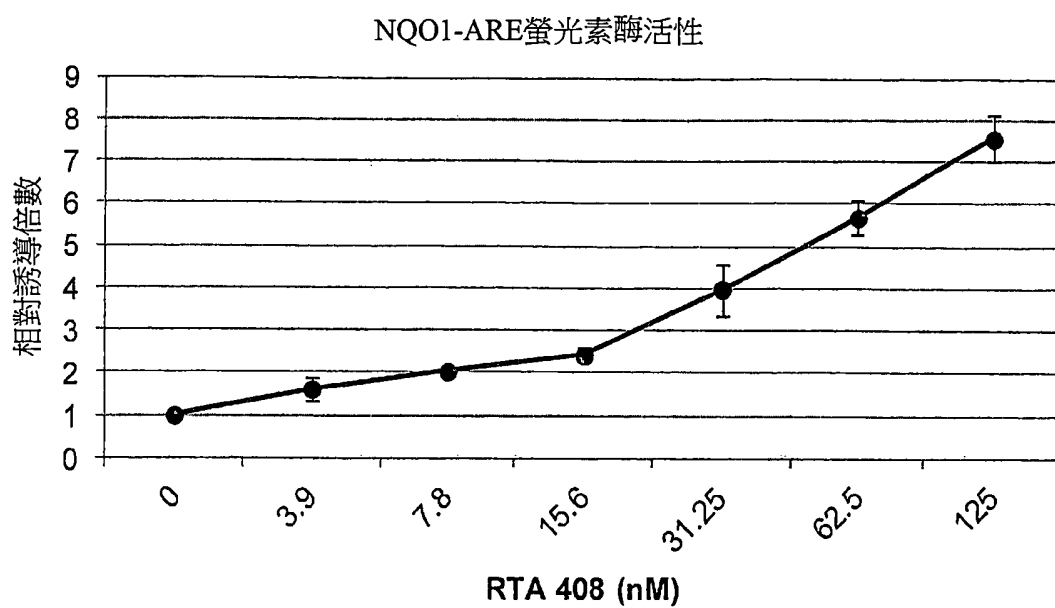
炎症或氧化應激壓力有關之病狀的藥劑。

13. 如請求項12之用途，其中該病狀為皮膚疾病或病症、敗血症、皮炎、骨關節炎、癌症、炎症、自體免疫疾病、神經退化性疾病、炎症性腸病、由局部或全身曝露於離子化放射線引起之併發症、黏膜炎、急性或慢性器官衰竭、肝病、胰臟炎、眼睛疾病、肺病或糖尿病。
14. 如請求項13之用途，其中該病狀為選自以下之皮膚疾病或病症：皮炎、熱灼傷或化學灼傷、慢性傷口、粉刺、脫髮、其他毛囊病症、大疱性表皮鬆解、曬傷、曬傷併發症、皮膚色素沉著病症、老化相關皮膚病狀、手術後傷口、由皮膚損傷或灼傷產生之疤痕、牛皮癬、自體免疫疾病或移植物抗宿主疾病之皮膚癥狀、皮膚癌及涉及皮膚細胞過度增殖之病症。
15. 如請求項13之用途，其中該皮炎為過敏性皮炎、異位性皮炎、由化學暴露引起之皮炎或放射線誘發之皮炎。
16. 如請求項13之用途，其中該病狀為選自以下之自體免疫疾病：類風濕性關節炎、狼瘡、克羅恩氏病(Crohn's disease)及牛皮癬。
17. 如請求項13之用途，其中該病狀為選自脂肪肝疾病或肝炎之肝病。
18. 如請求項13之用途，其中該病狀為選自以下之眼睛疾病：葡萄膜炎、黃斑變性、青光眼、糖尿病性黃斑水腫、瞼炎、糖尿病性視網膜病變、角膜內皮疾病或病症、手術後炎症、乾眼症、過敏性結膜炎及一種結膜炎形式。
19. 如請求項13之用途，其中該病狀為選自以下之肺病：肺部炎症、肺纖維化、COPD、哮喘、囊腫性纖維化及特發性肺纖維化。

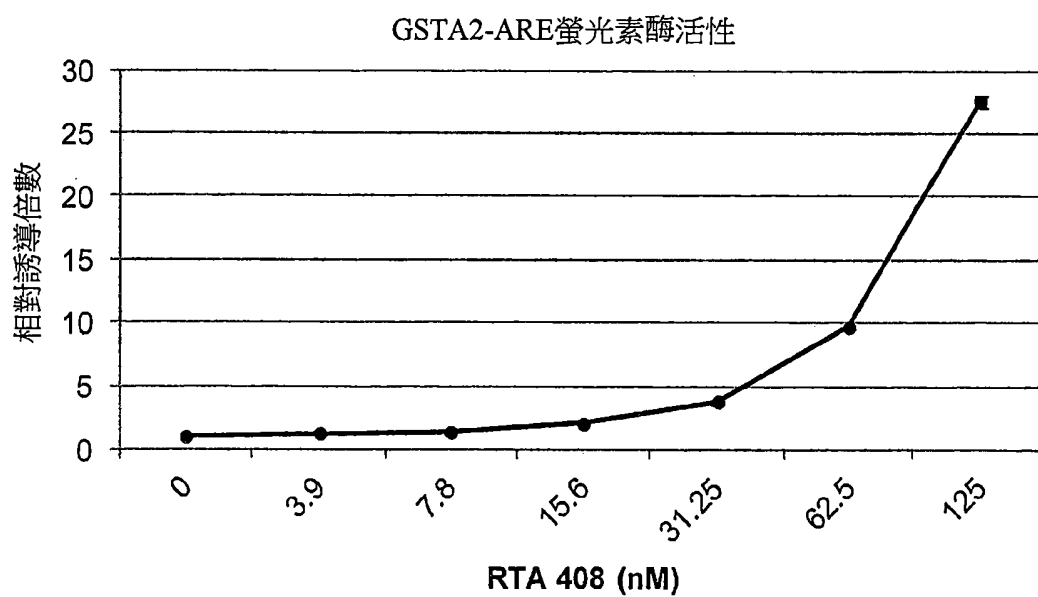
20. 如請求項13之用途，其中該病狀為由放射線療法或化學療法引起之黏膜炎。
21. 如請求項13之用途，其中該病狀為選自以下之癌症：癌瘤、肉瘤、淋巴瘤、白血病、黑素瘤、中皮瘤、多發性骨髓瘤及精原細胞瘤。
22. 如請求項13之用途，其中該病狀為黑素瘤。
23. 如請求項13之用途，其中該病狀為選自以下之癌症：膀胱癌、血癌、骨癌、腦癌、乳癌、中樞神經系統癌、子宮頸癌、結腸癌、子宮內膜癌、食道癌、膽囊癌、生殖器癌、泌尿生殖道癌、頭癌、腎癌、喉癌、肝癌、肺癌、肌肉組織癌、頸癌、口腔或鼻黏膜癌、卵巢癌、胰臟癌、前列腺癌、皮膚癌、脾癌、小腸癌、大腸癌、胃癌、睪丸癌及甲狀腺癌。
24. 如請求項13之用途，其中該癌症為肺癌。
25. 如請求項12之用途，其中該藥劑係在該患者接受該放射線療法或該化學療法治療之前或之後投與，其中該化學療法不包含如請求項2之化合物。
26. 如請求項25之用途，其中該化學療法包含投與患者治療有效量之5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil)或多西他賽(docetaxel)。
27. 如請求項25之用途，其中該藥劑之投與減少該放射線療法或該化學療法之副作用。
28. 如請求項27之用途，其中該副作用為黏膜炎及皮炎。
29. 一種如請求項2之化合物之用途，其係用於製備用以治療患者癌症之藥劑。
30. 如請求項29之用途，其中該癌症為黑素瘤。
31. 如請求項29之用途，其中該患者亦正以免疫療法治療中。
32. 如請求項31之用途，其中該免疫療法係基於樹突狀細胞之免疫

療法或T細胞輸入免疫療法。

33. 如請求項31之用途，其中該免疫療法係癌症靶向抗體。



(a)



(b)

圖2a及2b

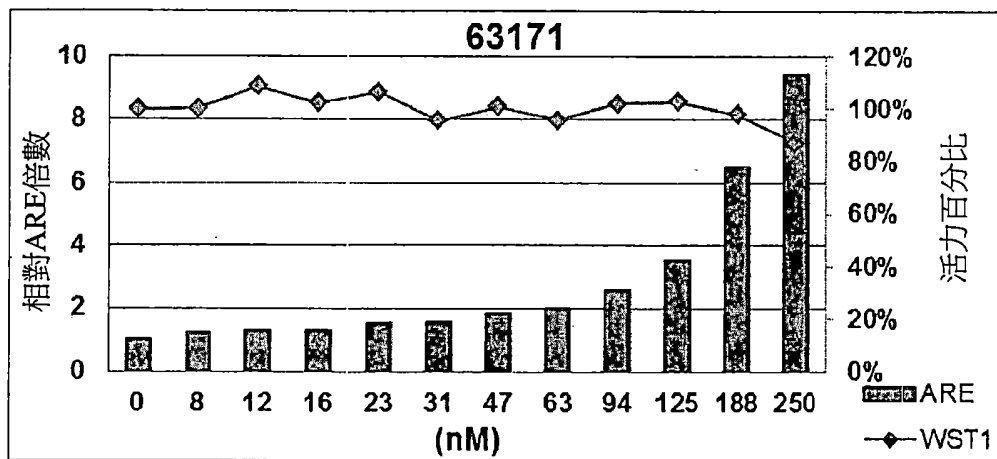
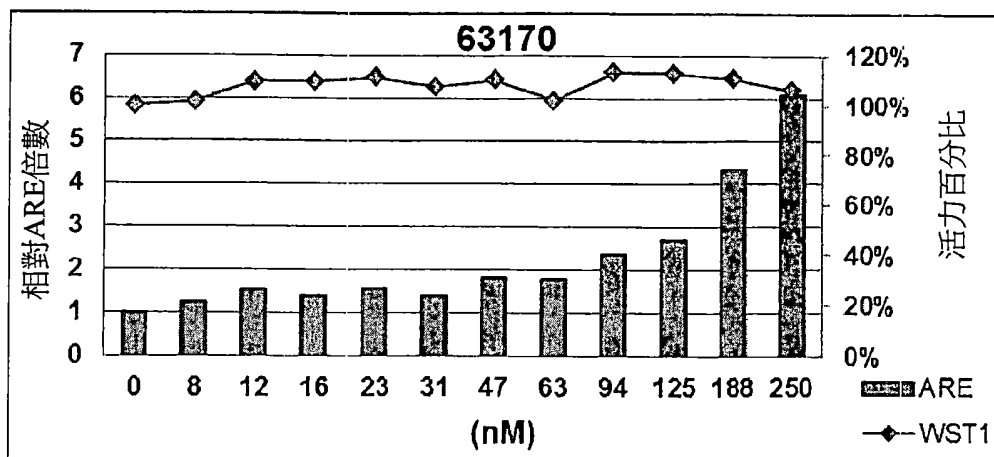


圖3c及3d

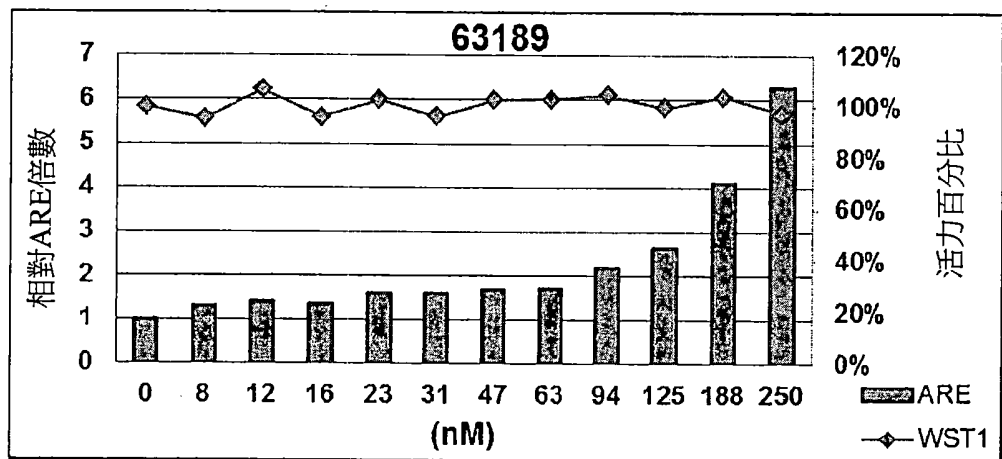
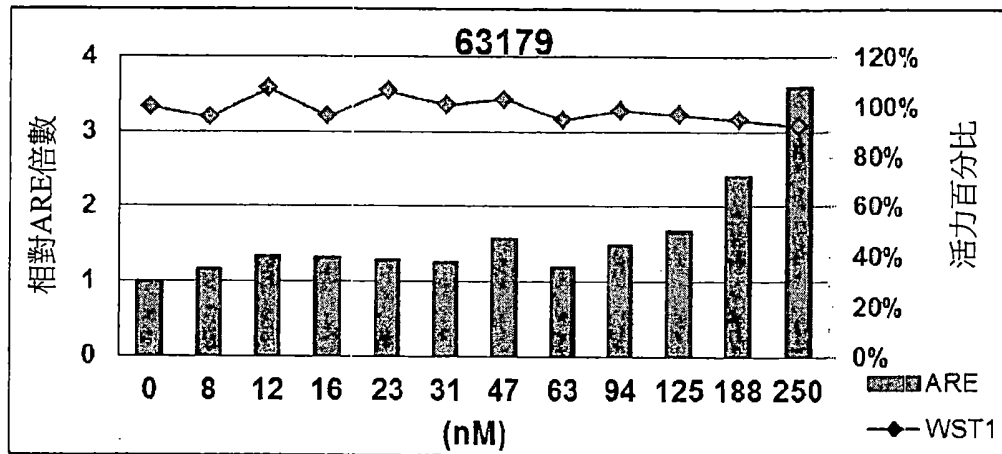


圖3e及3f

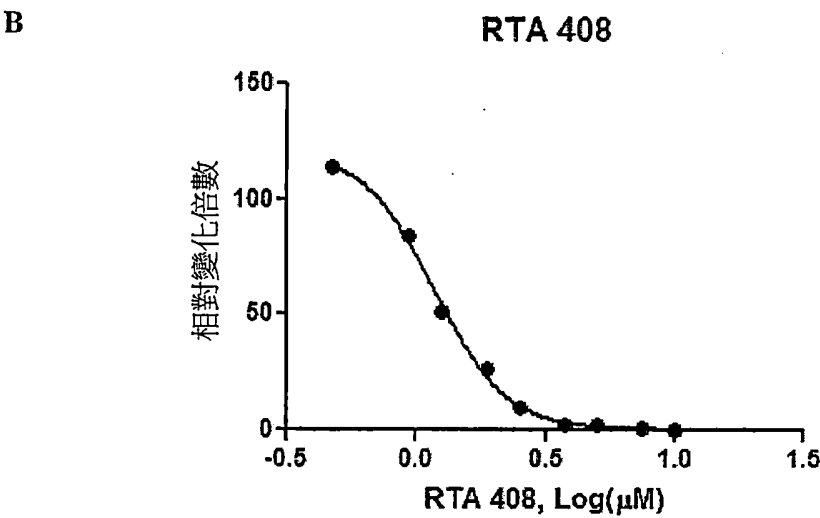
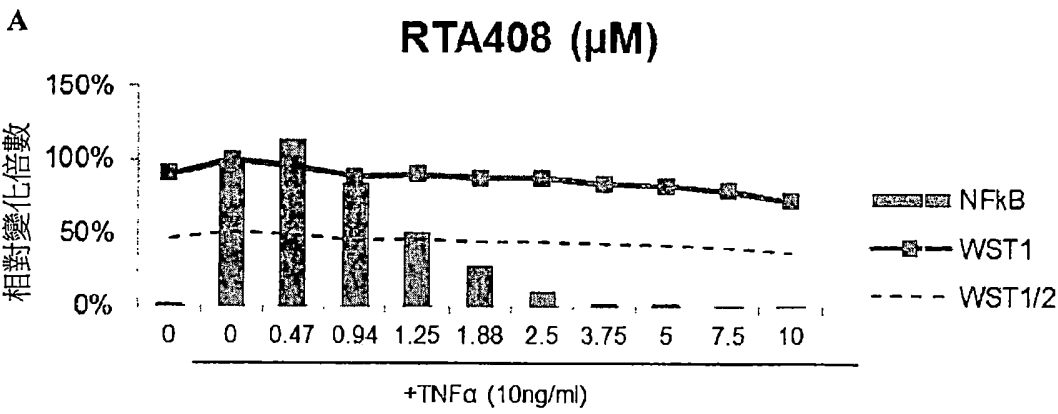


圖11a及11b

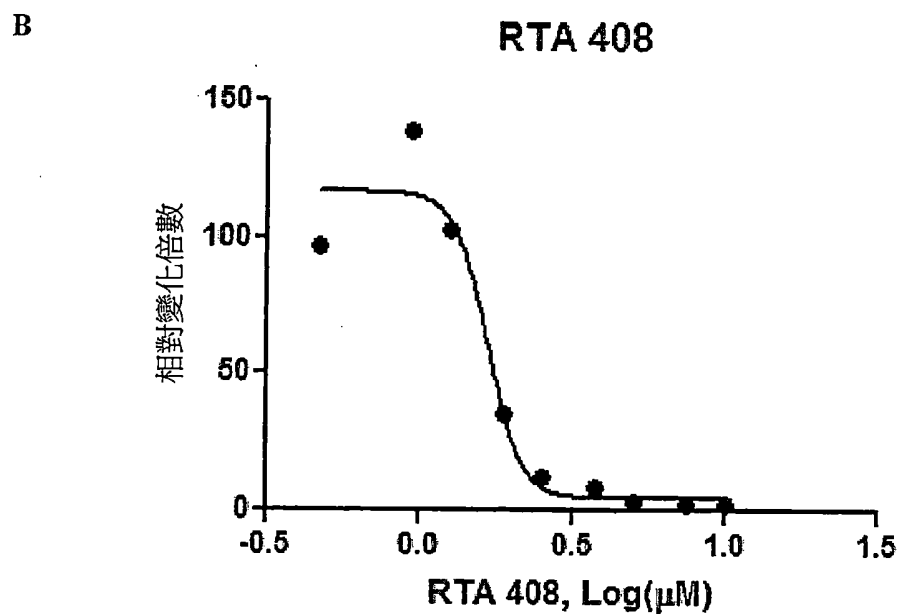
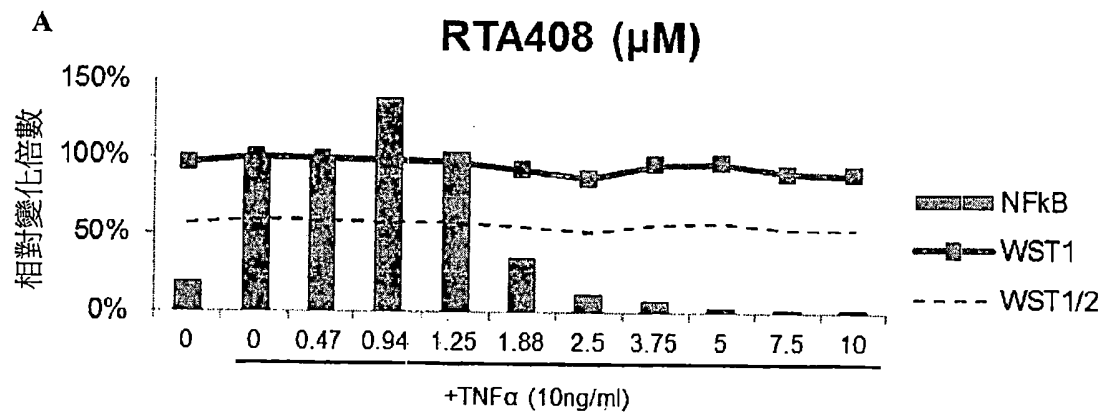


圖13a及13b

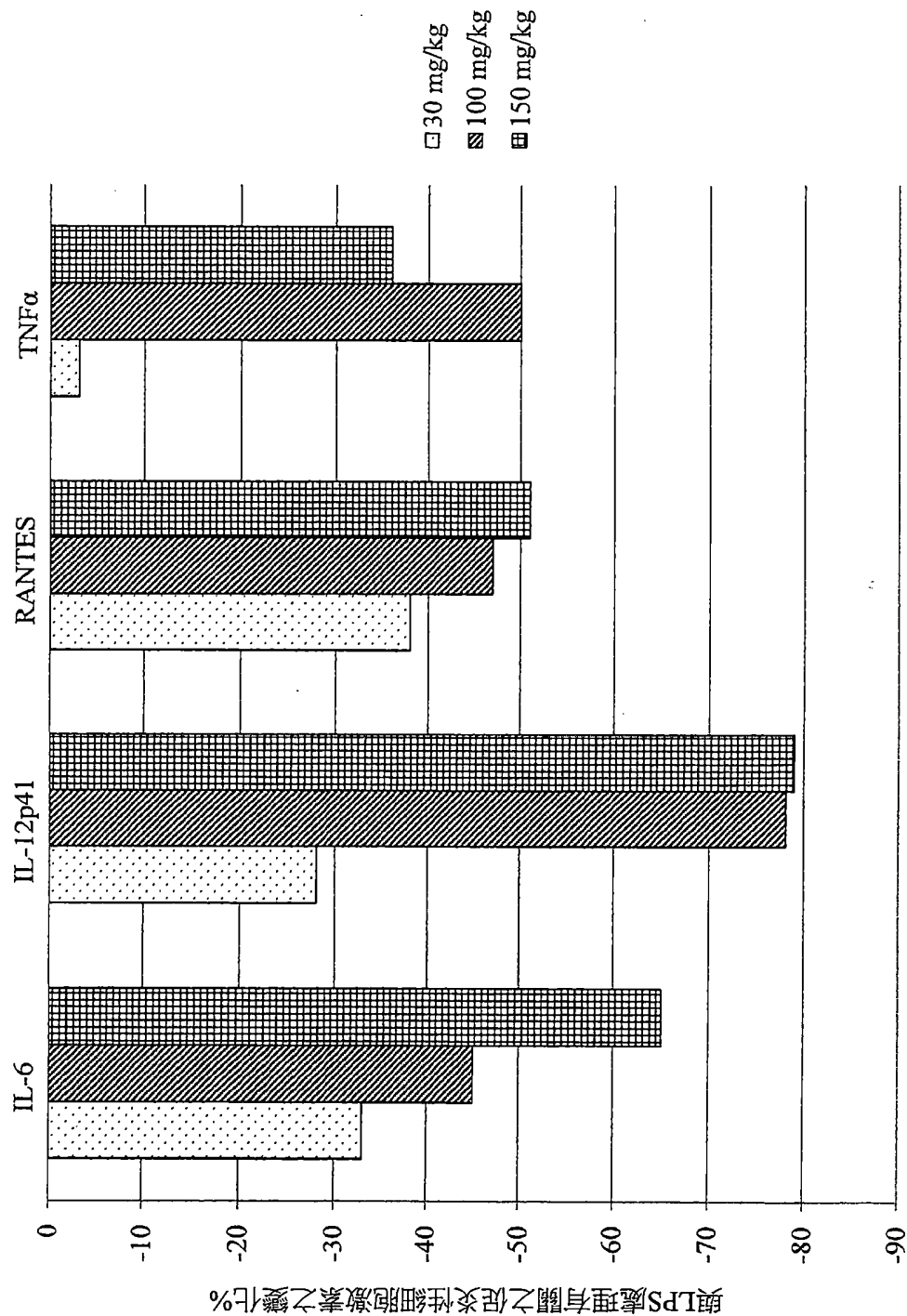
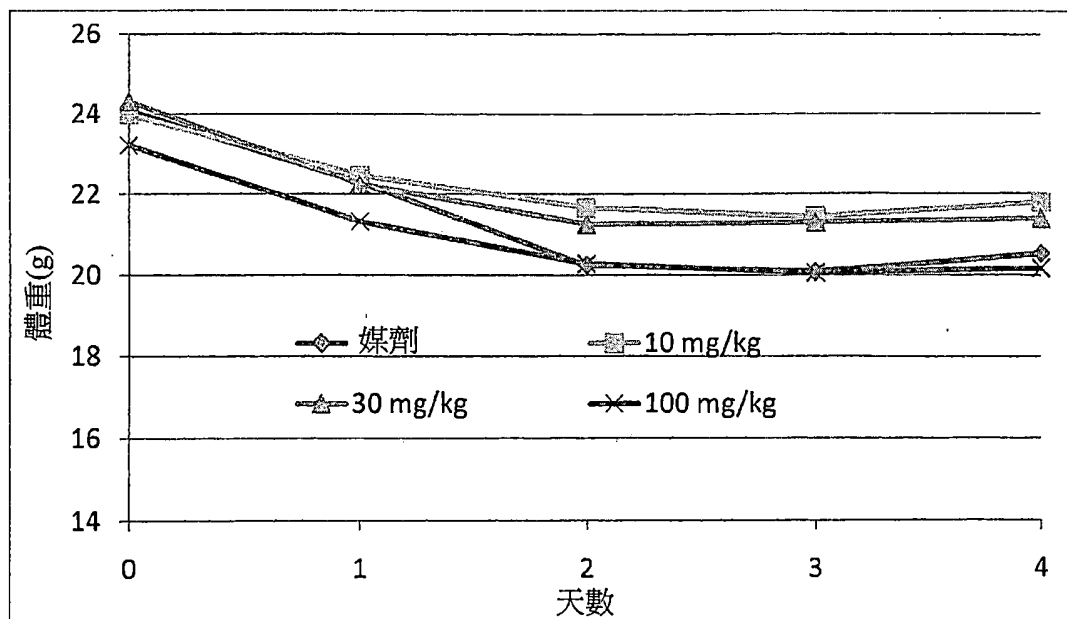


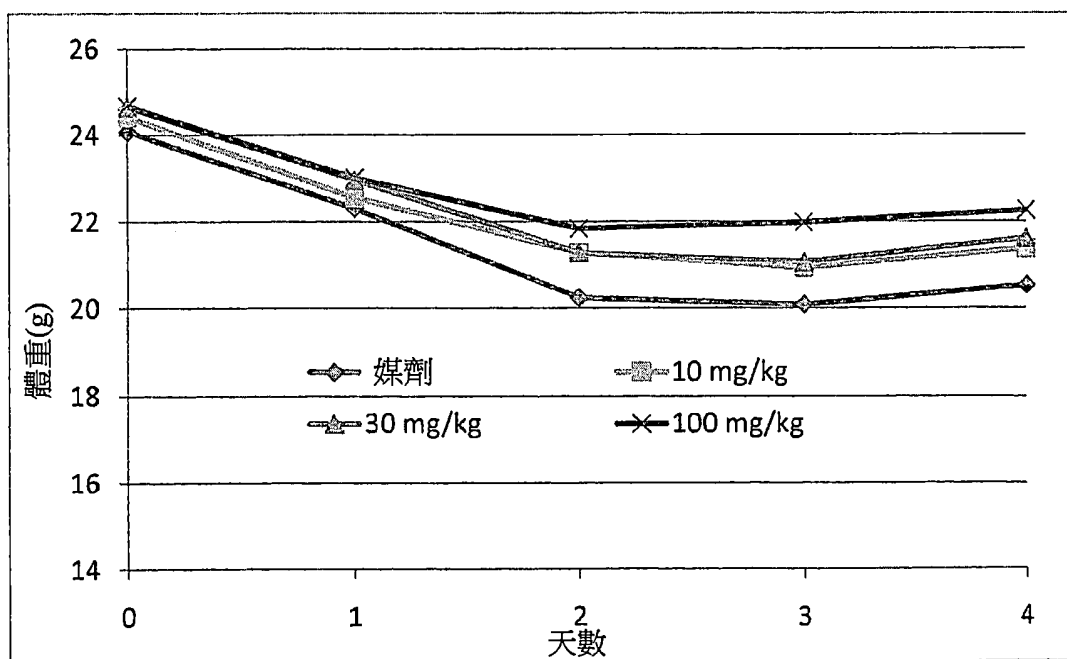
圖17

全身性LPS：體重：63415



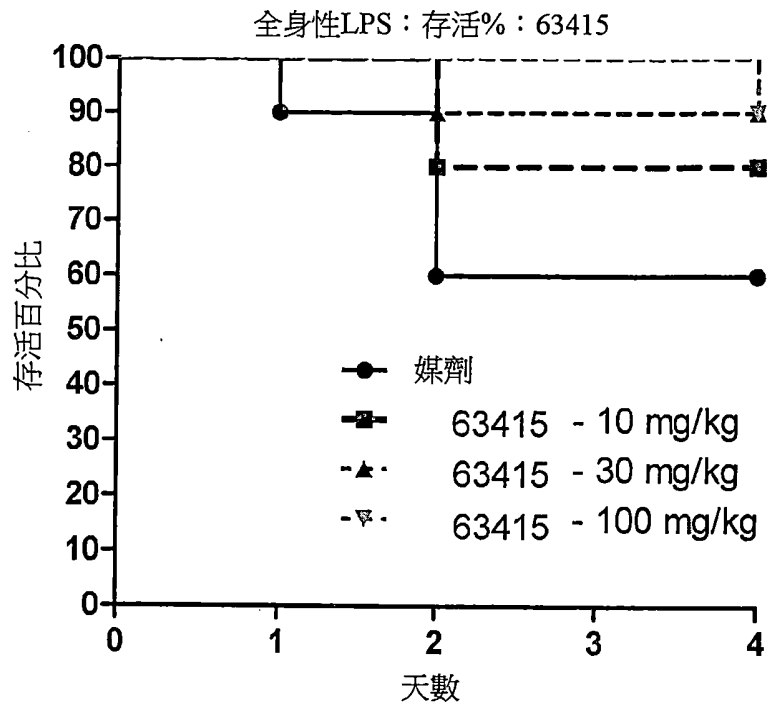
(a)

全身性LPS：體重：RTA 405

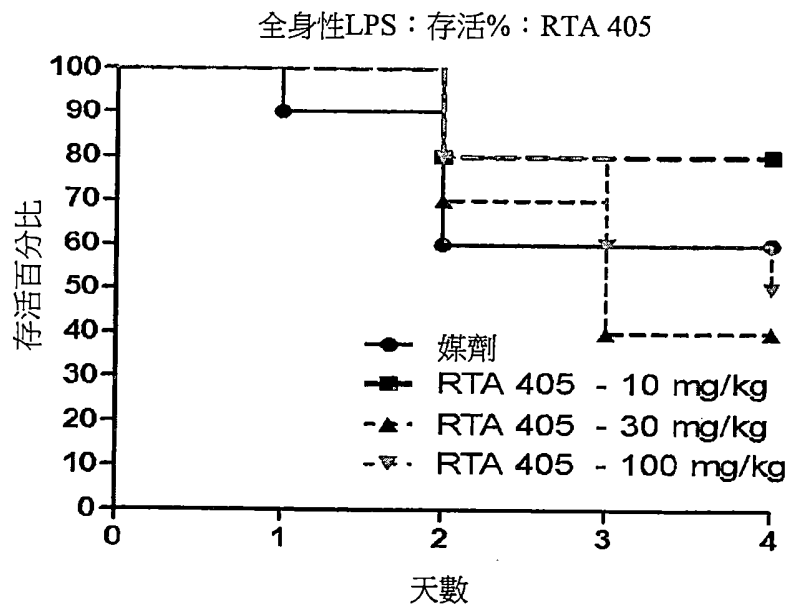


(b)

圖24a及24b

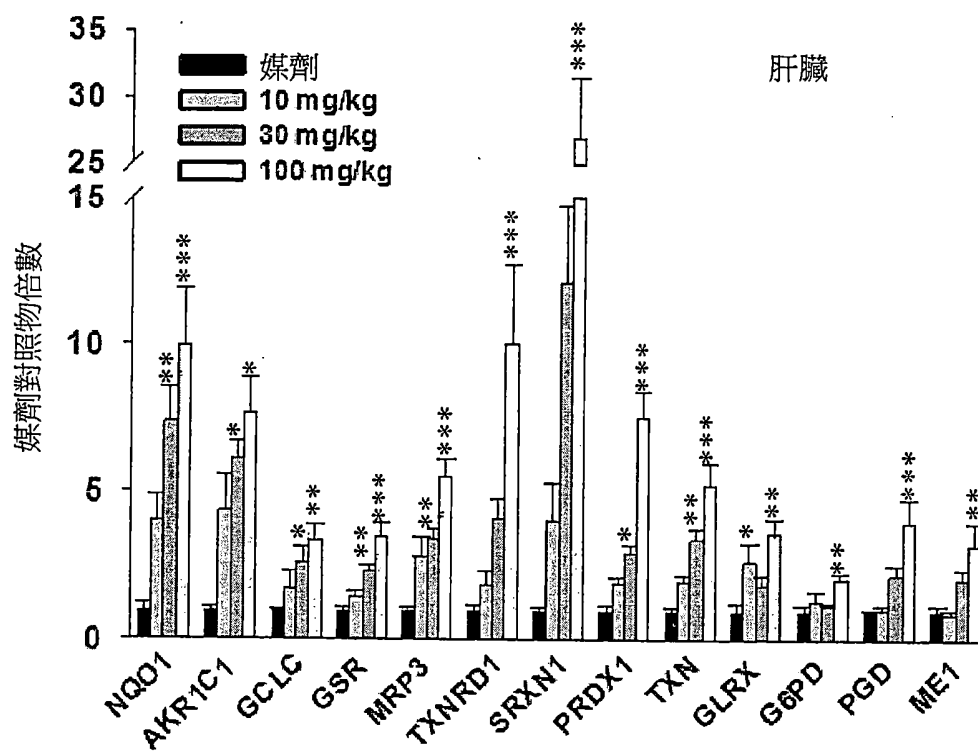


(c)

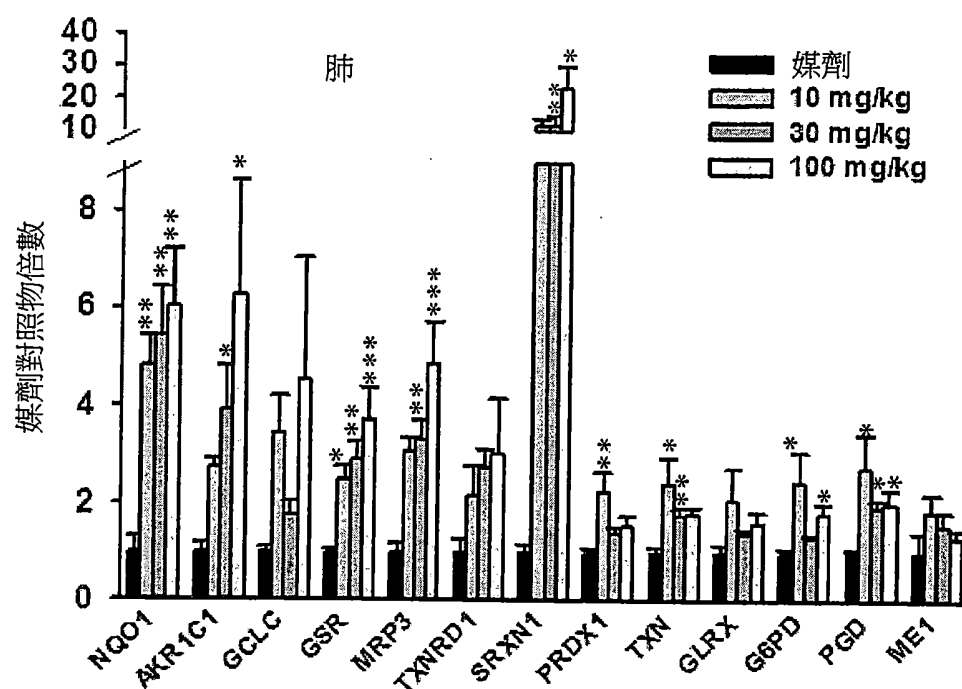


(d)

圖24c及24d

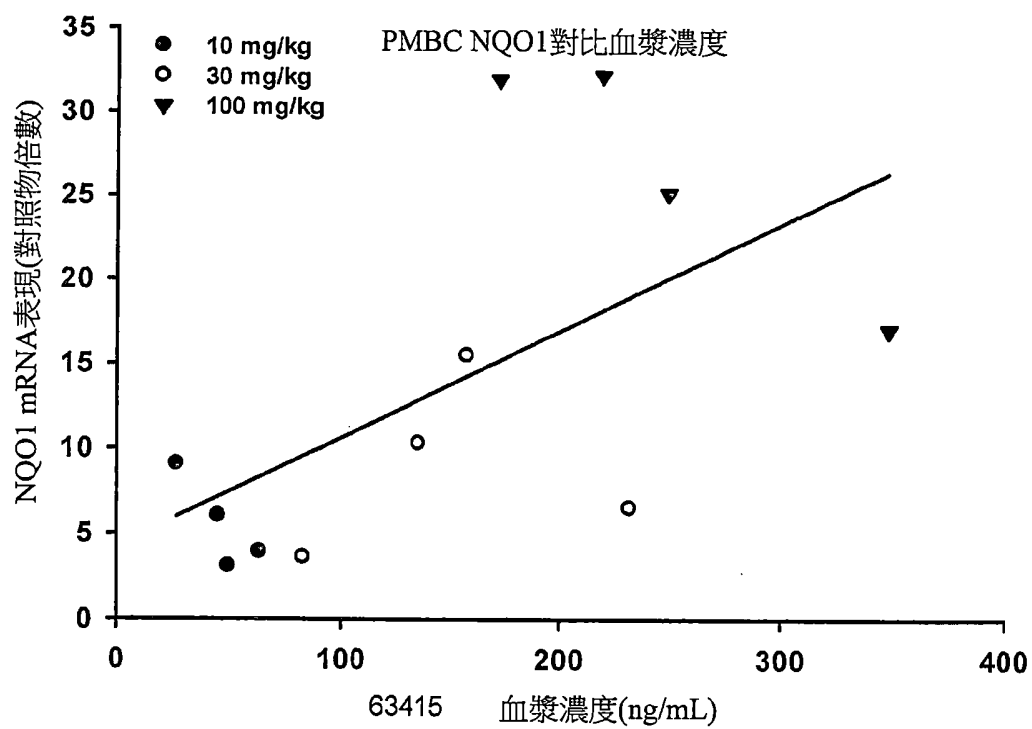


(a)

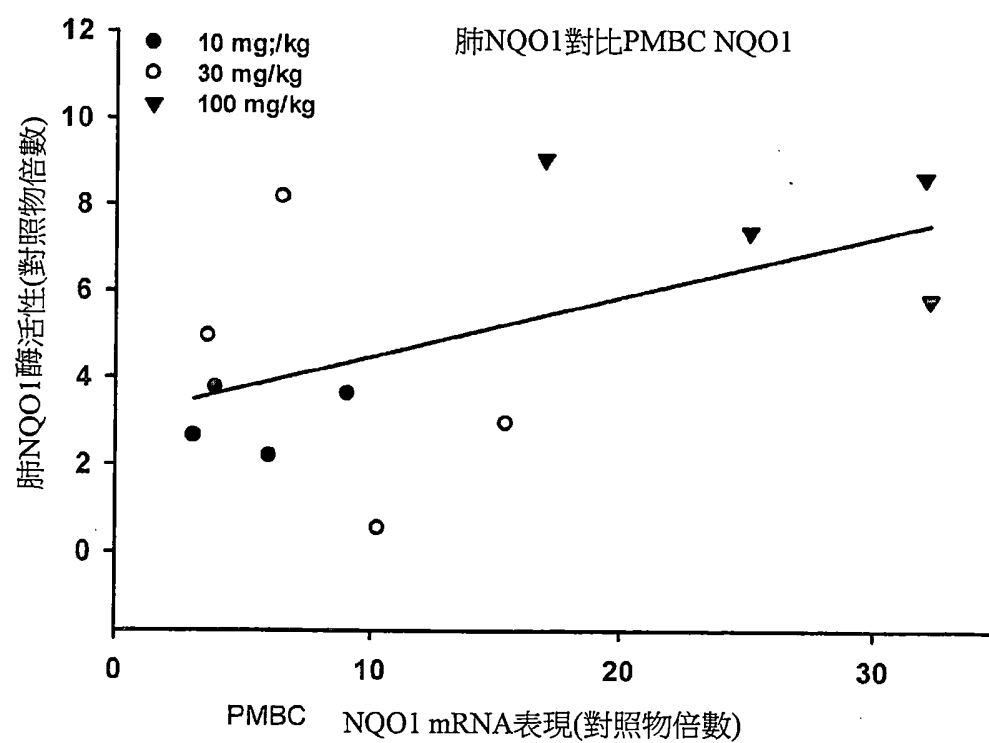


(b)

圖28a及28b



(a)



(b)

圖34a及34b

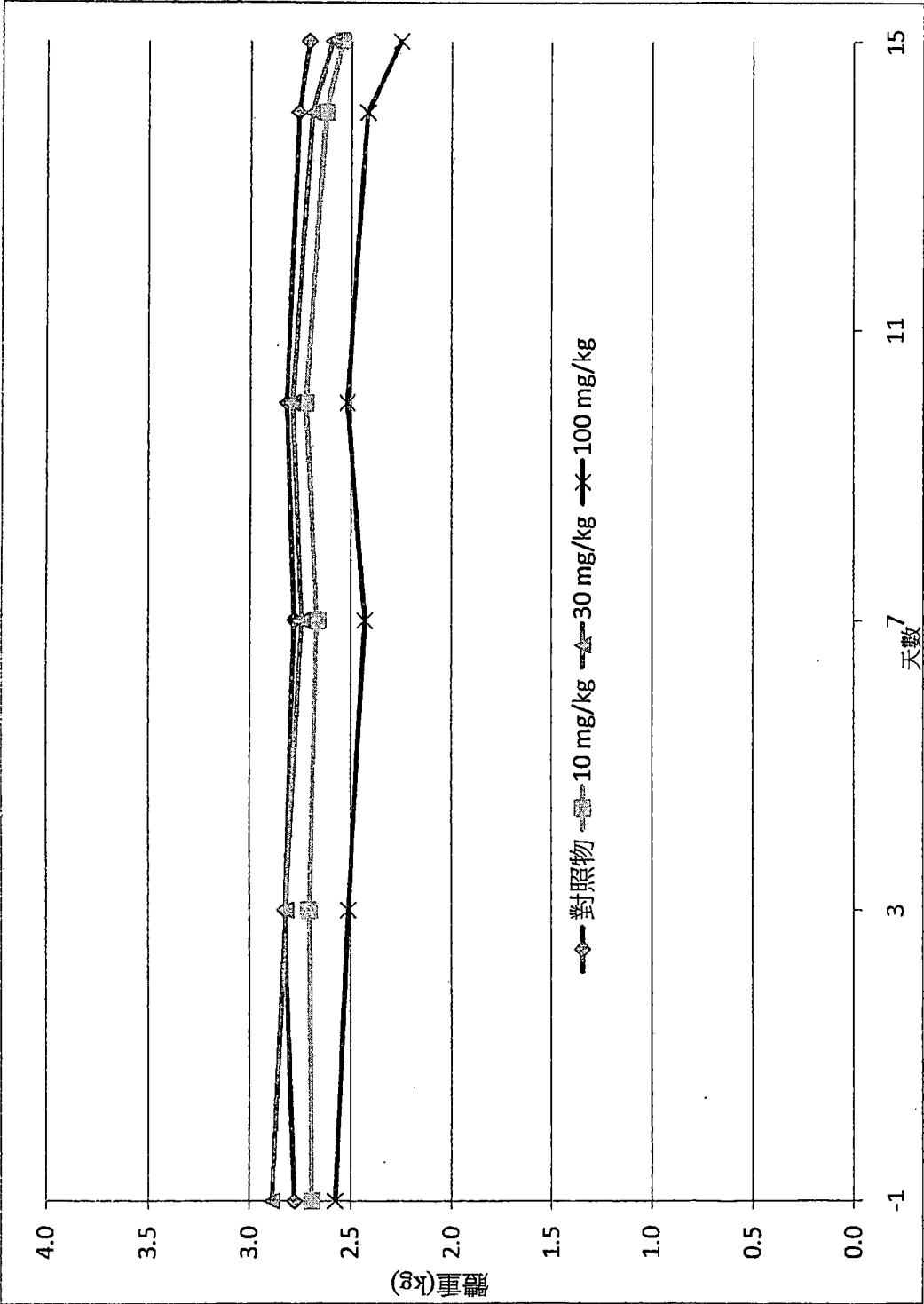


圖35

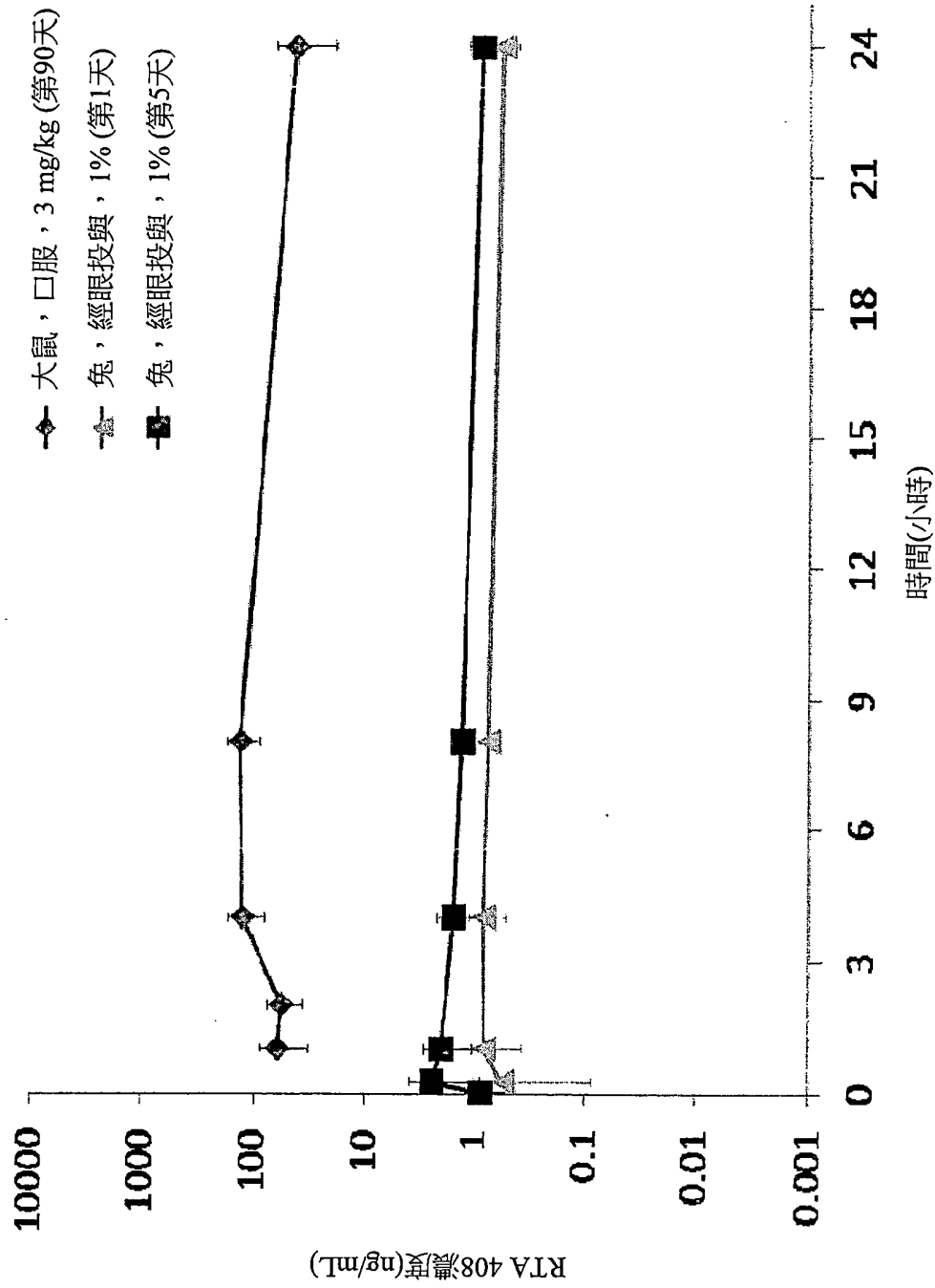
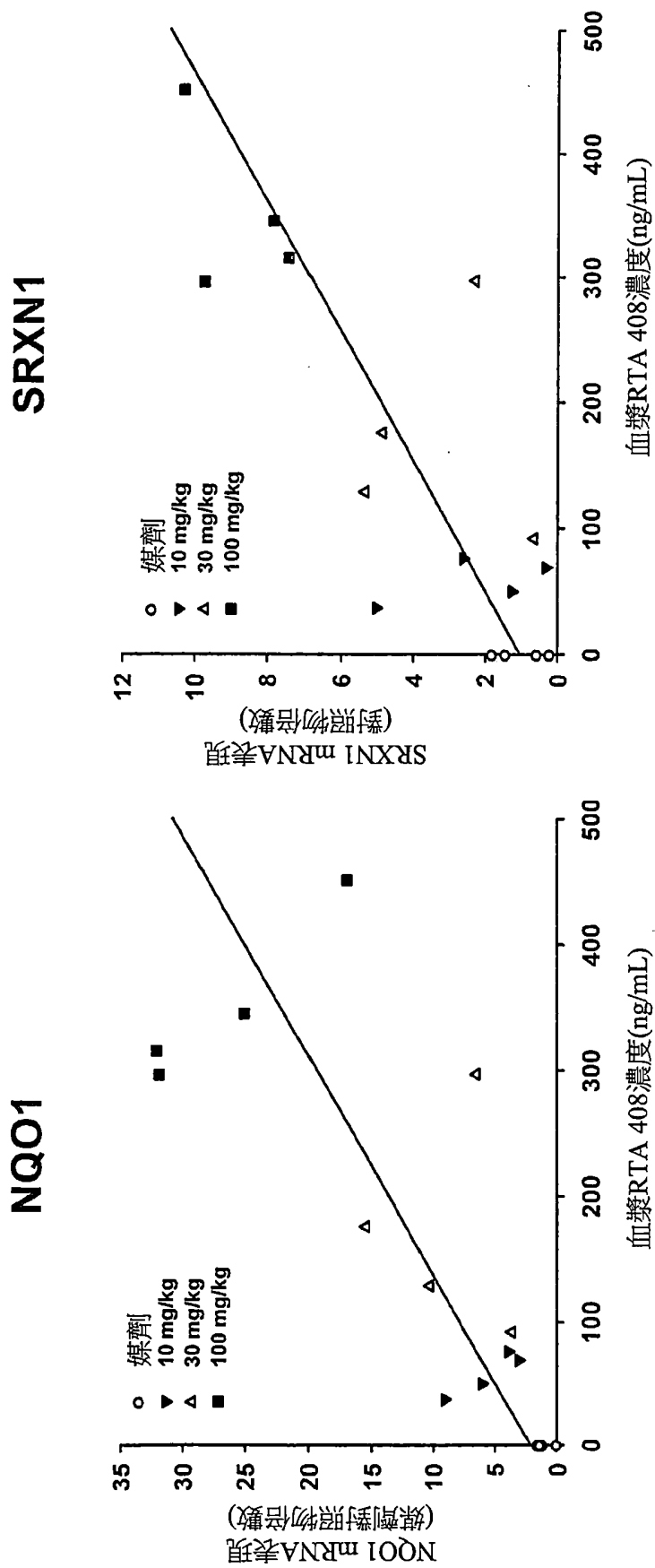


圖36



(b)

(a)

圖37a及37b

RTA 408對3級皮炎發病率之影響

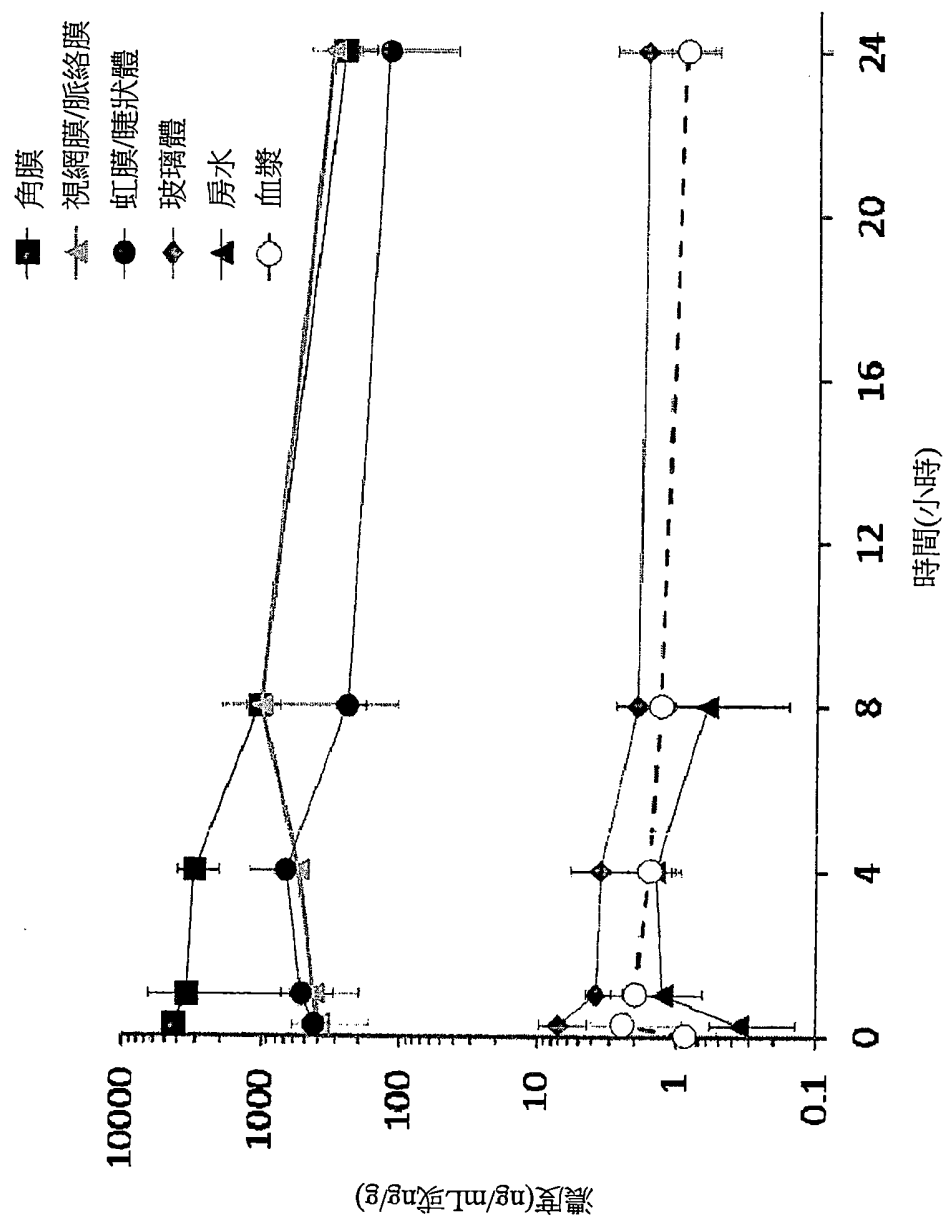


圖38

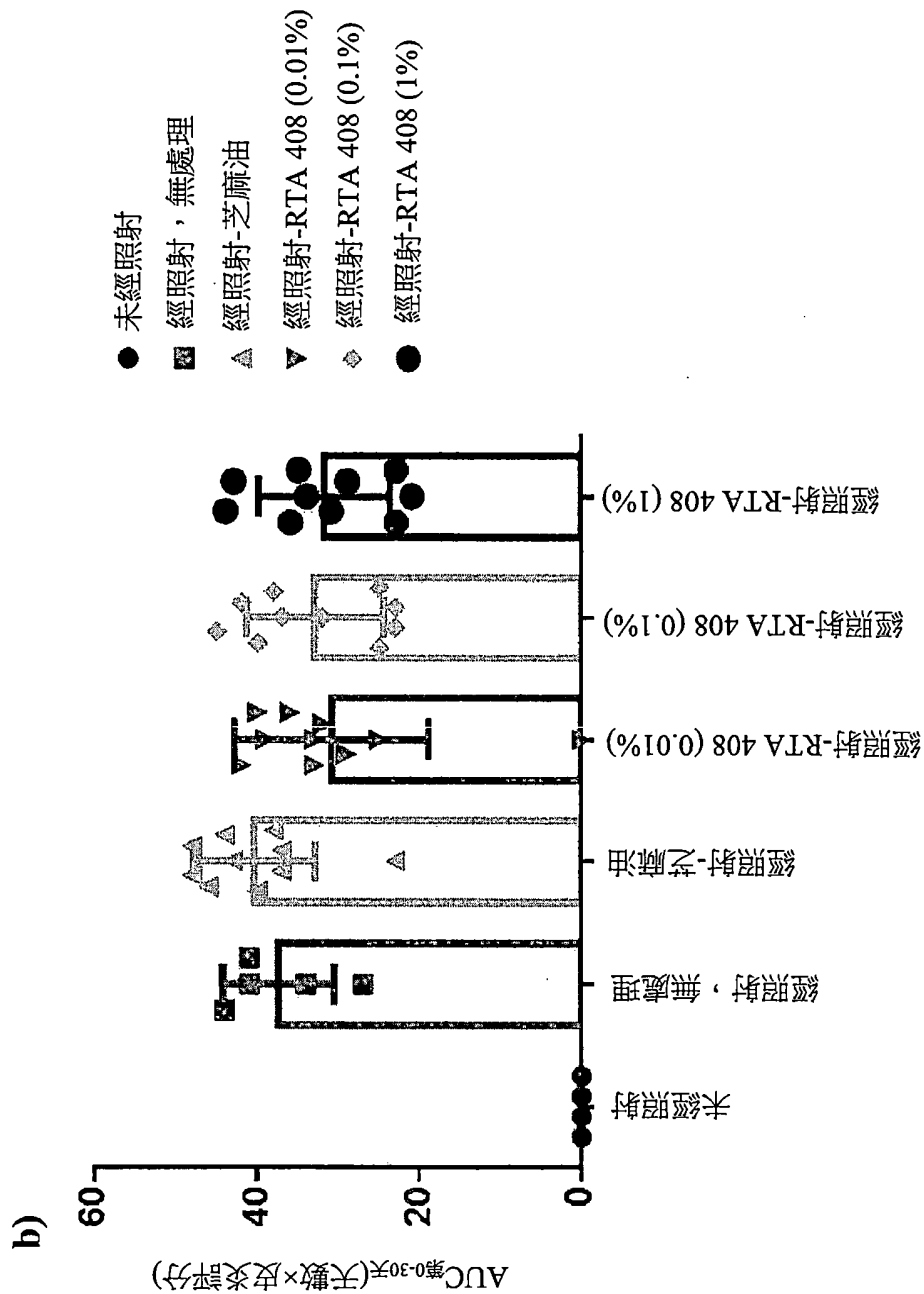


圖42b

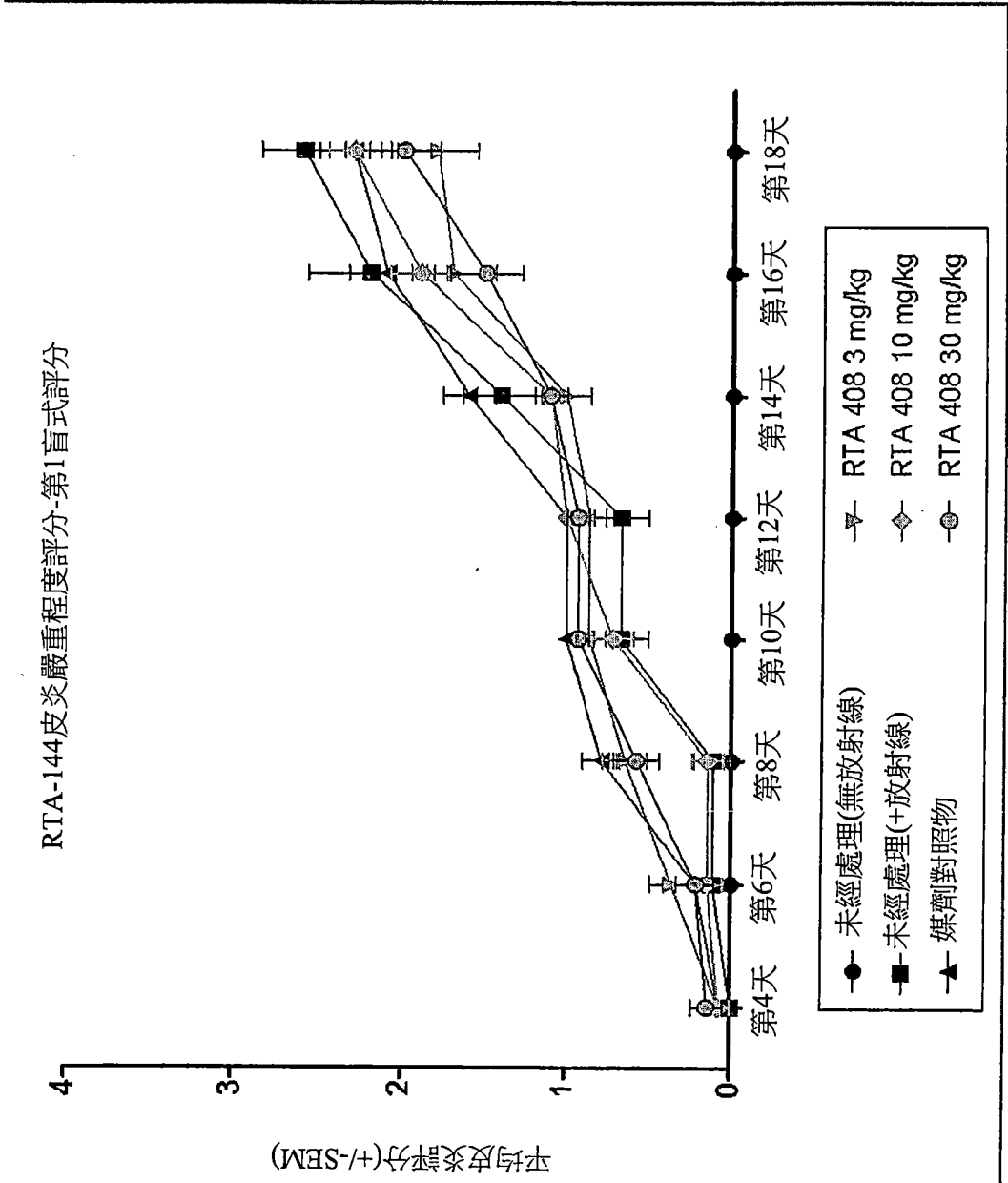


圖43

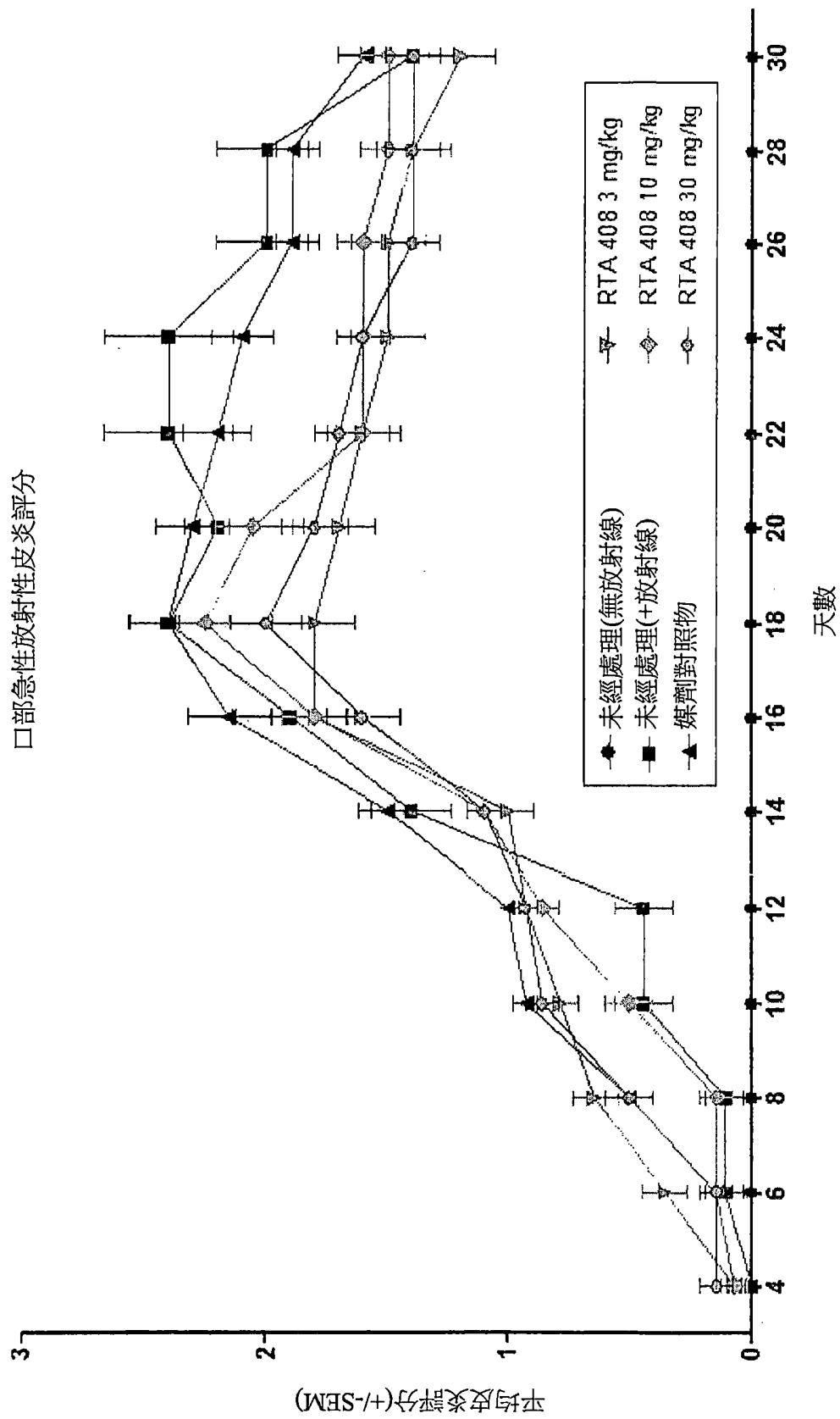


圖44

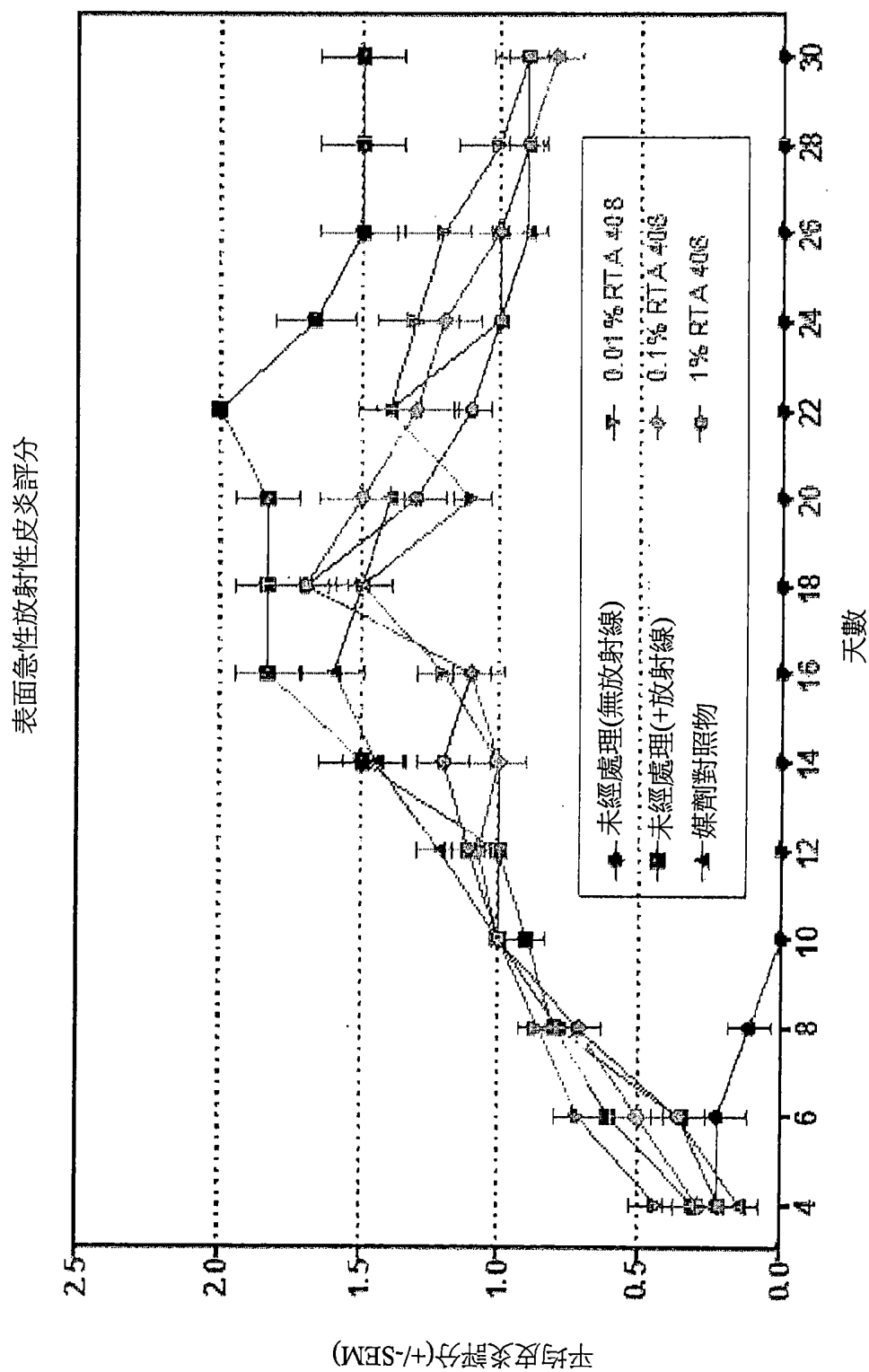


圖45

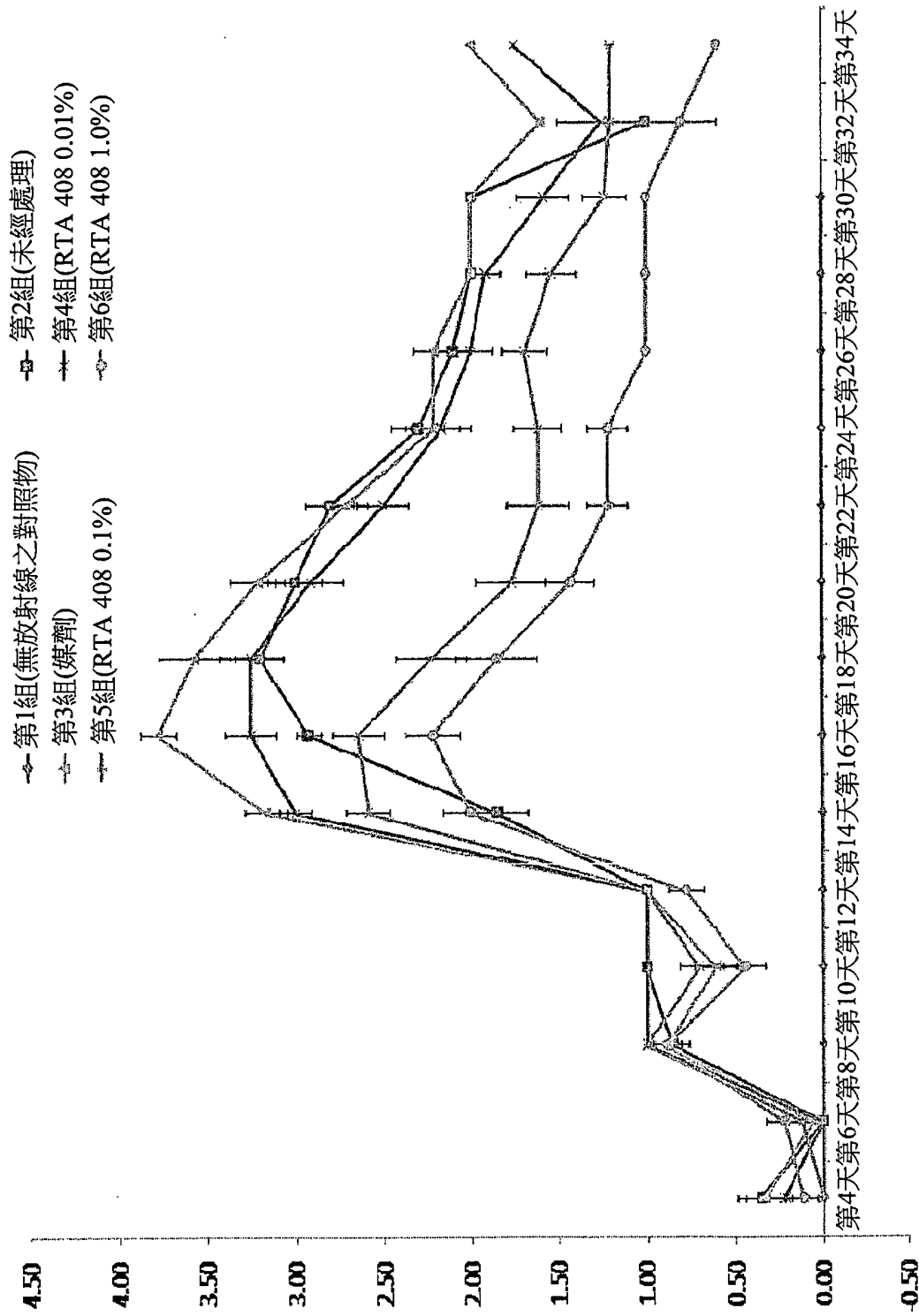


圖46

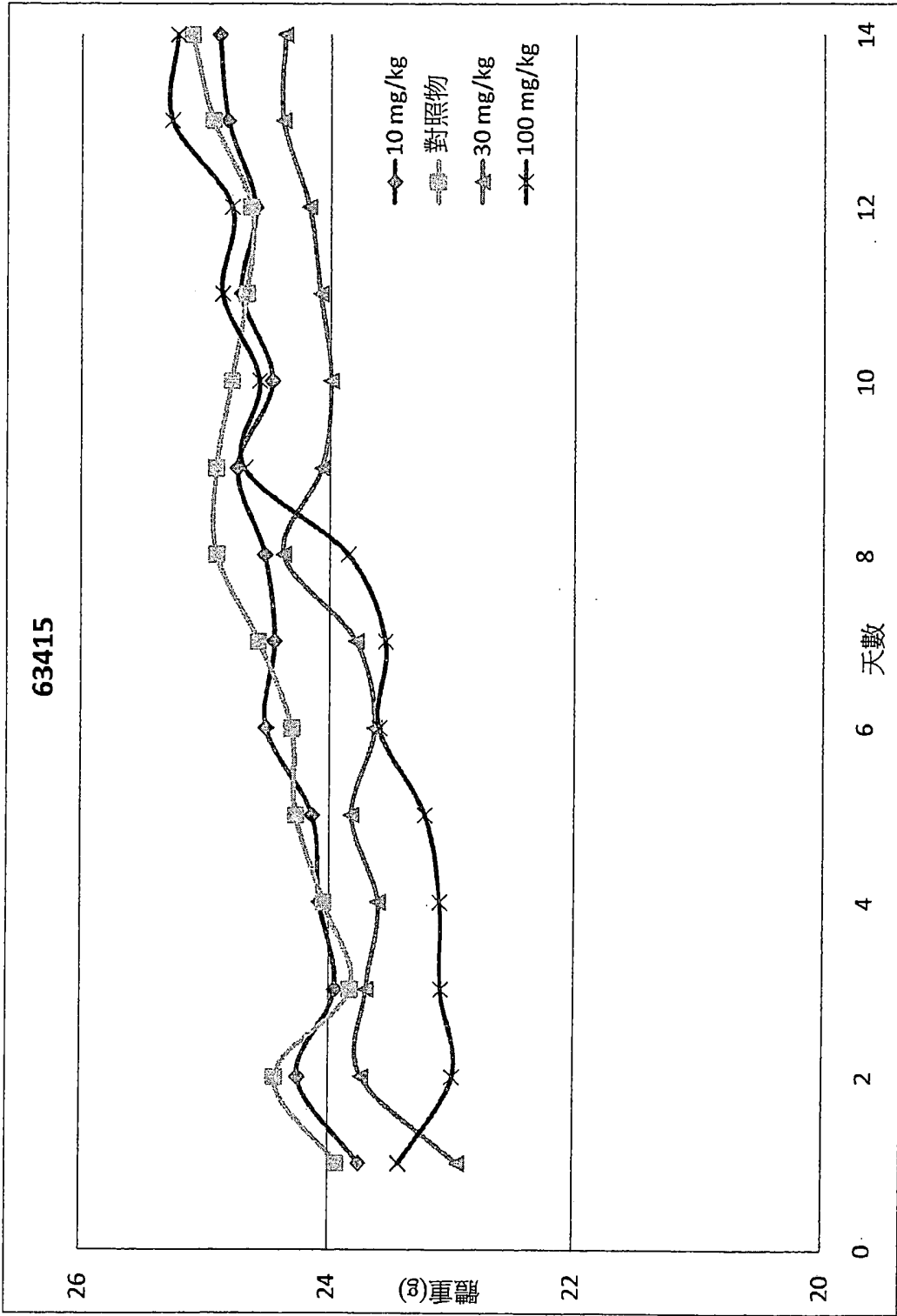


圖54

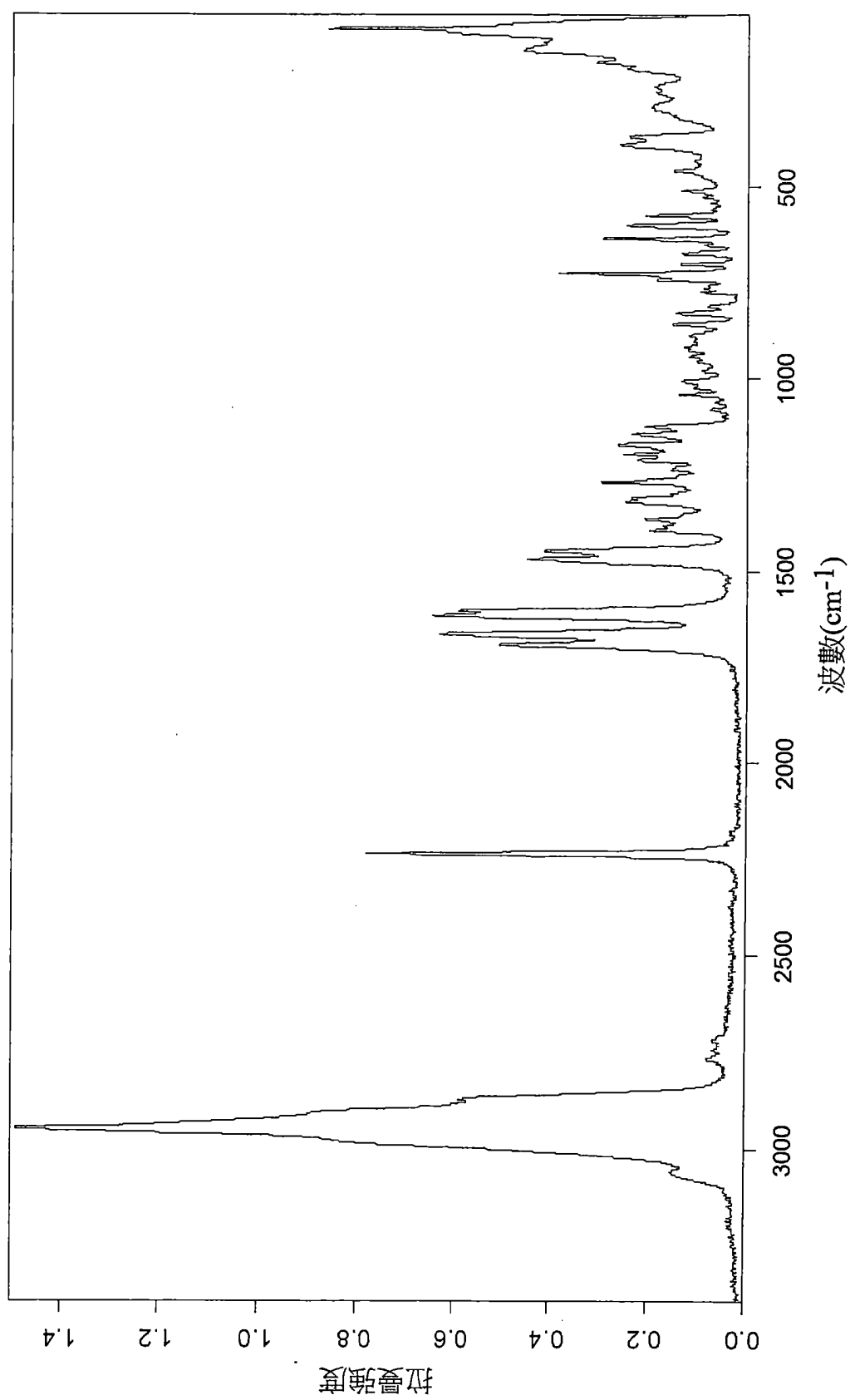


圖 58

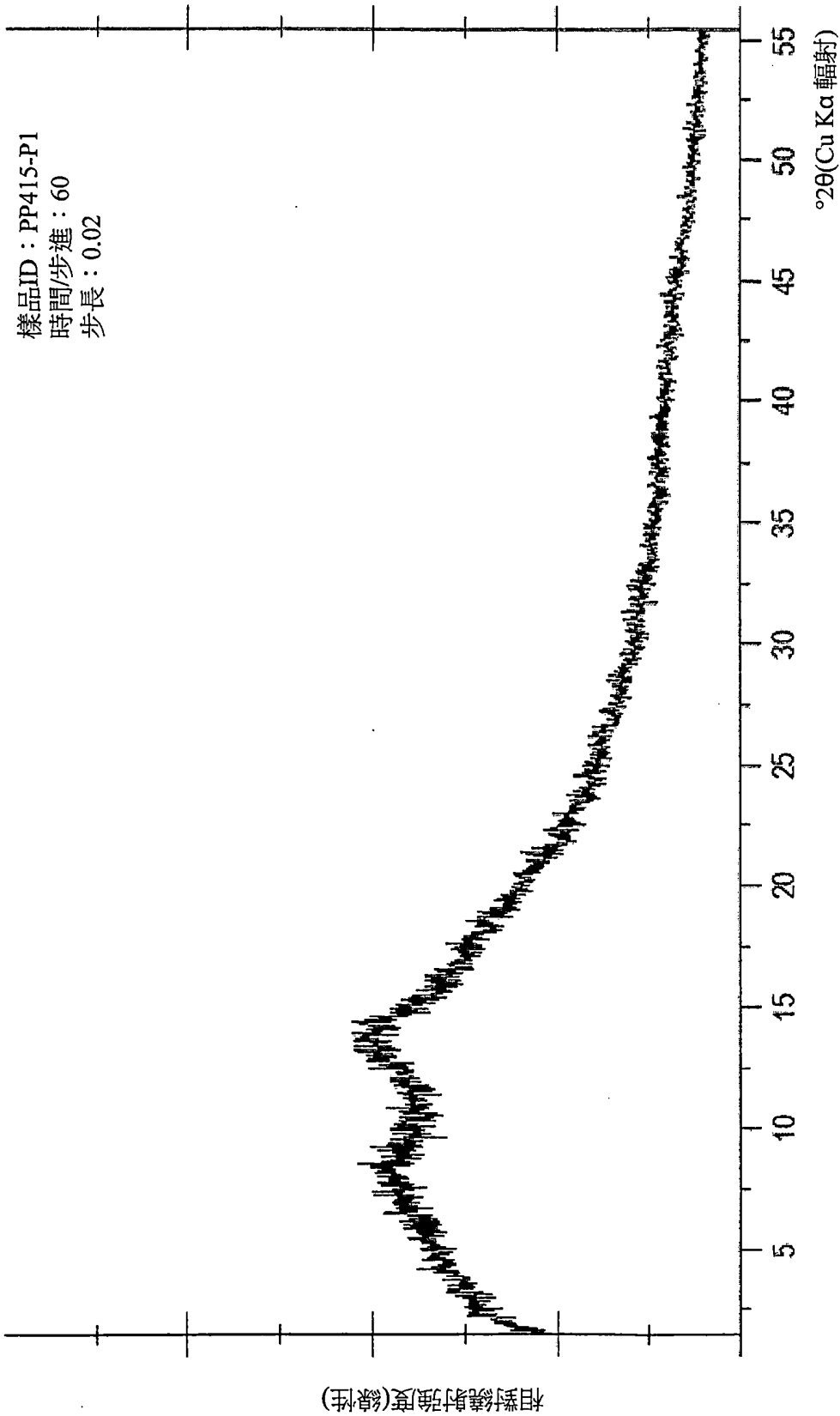


圖 59

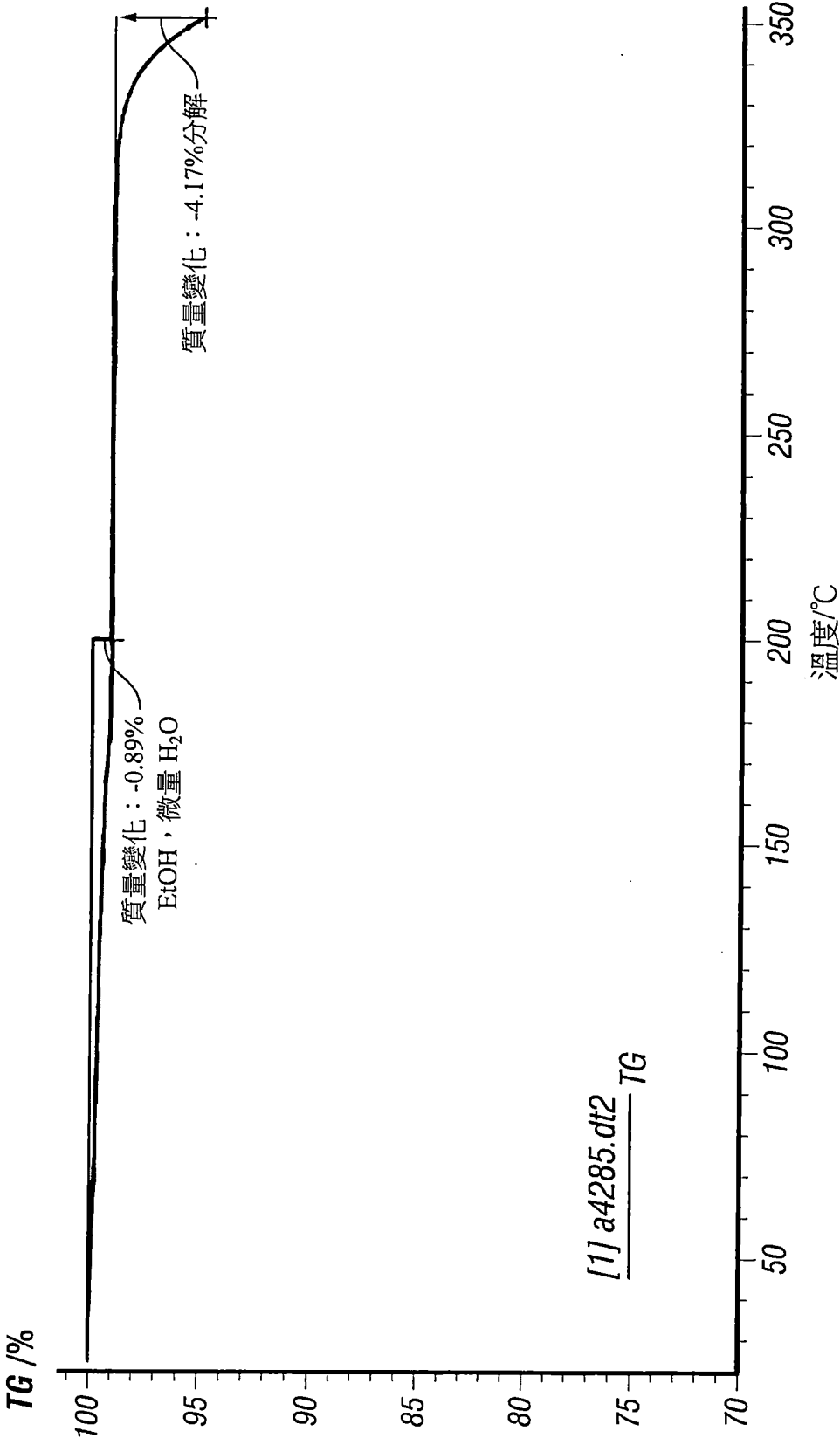


圖 60

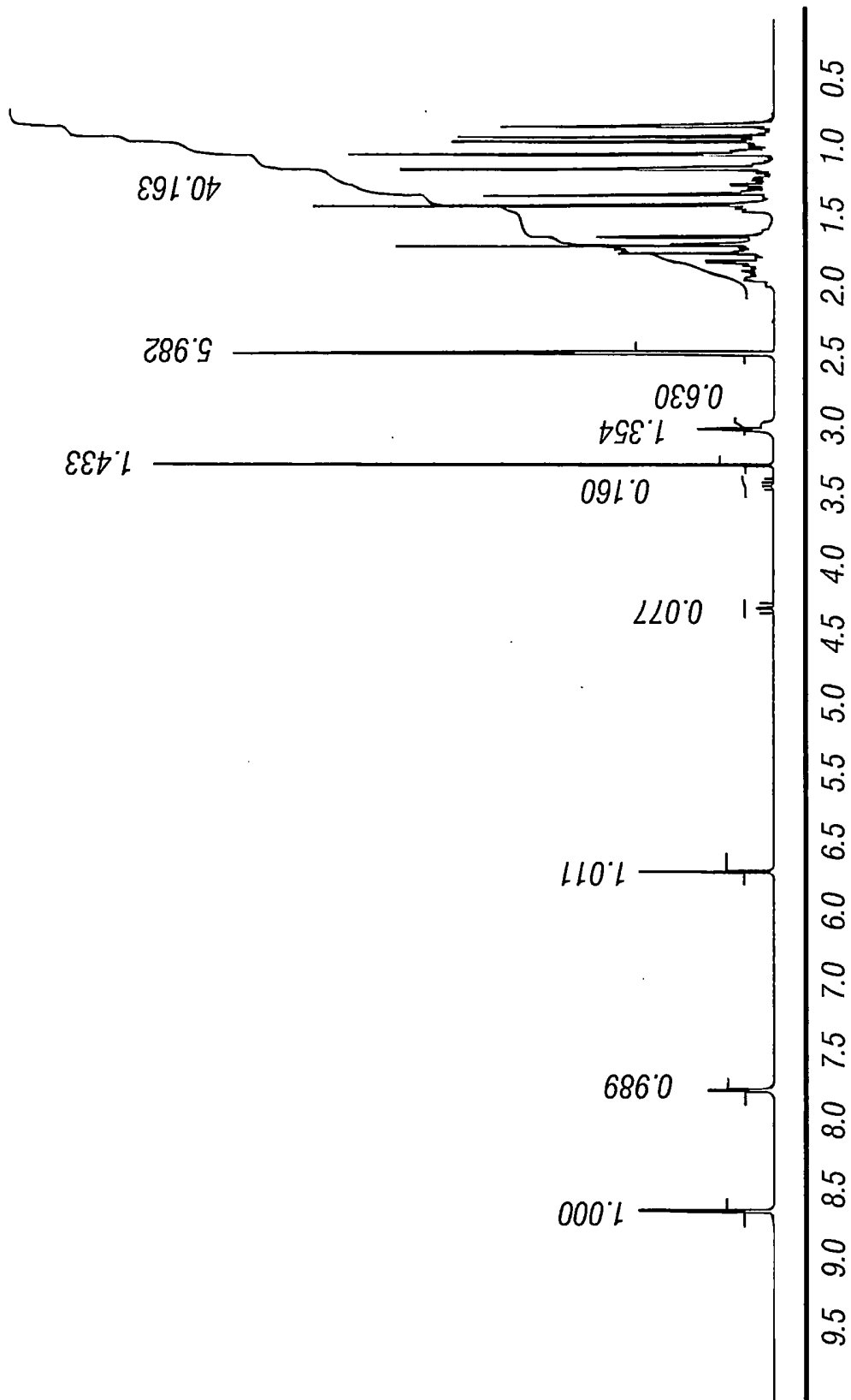


圖 61

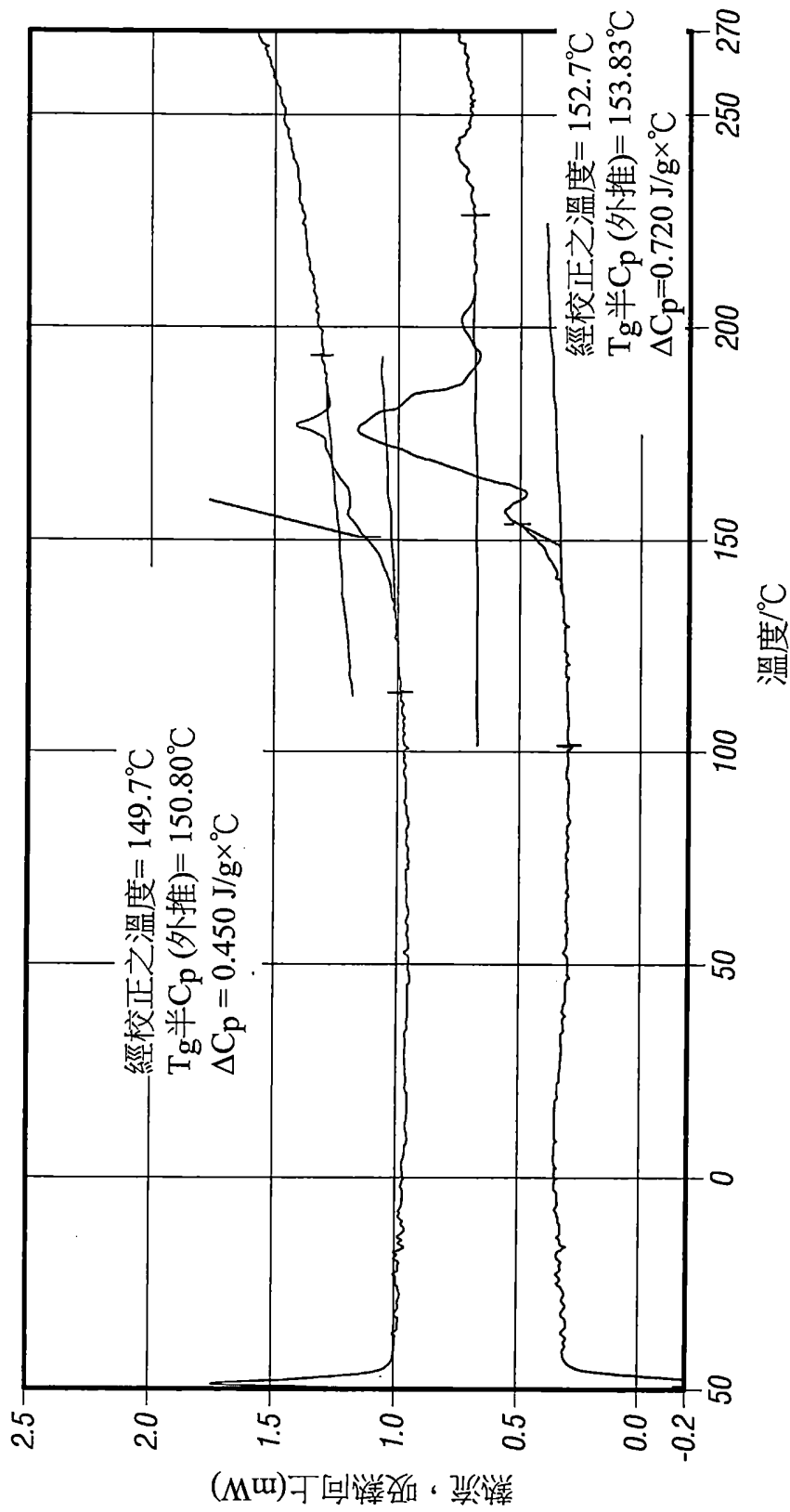


圖 62

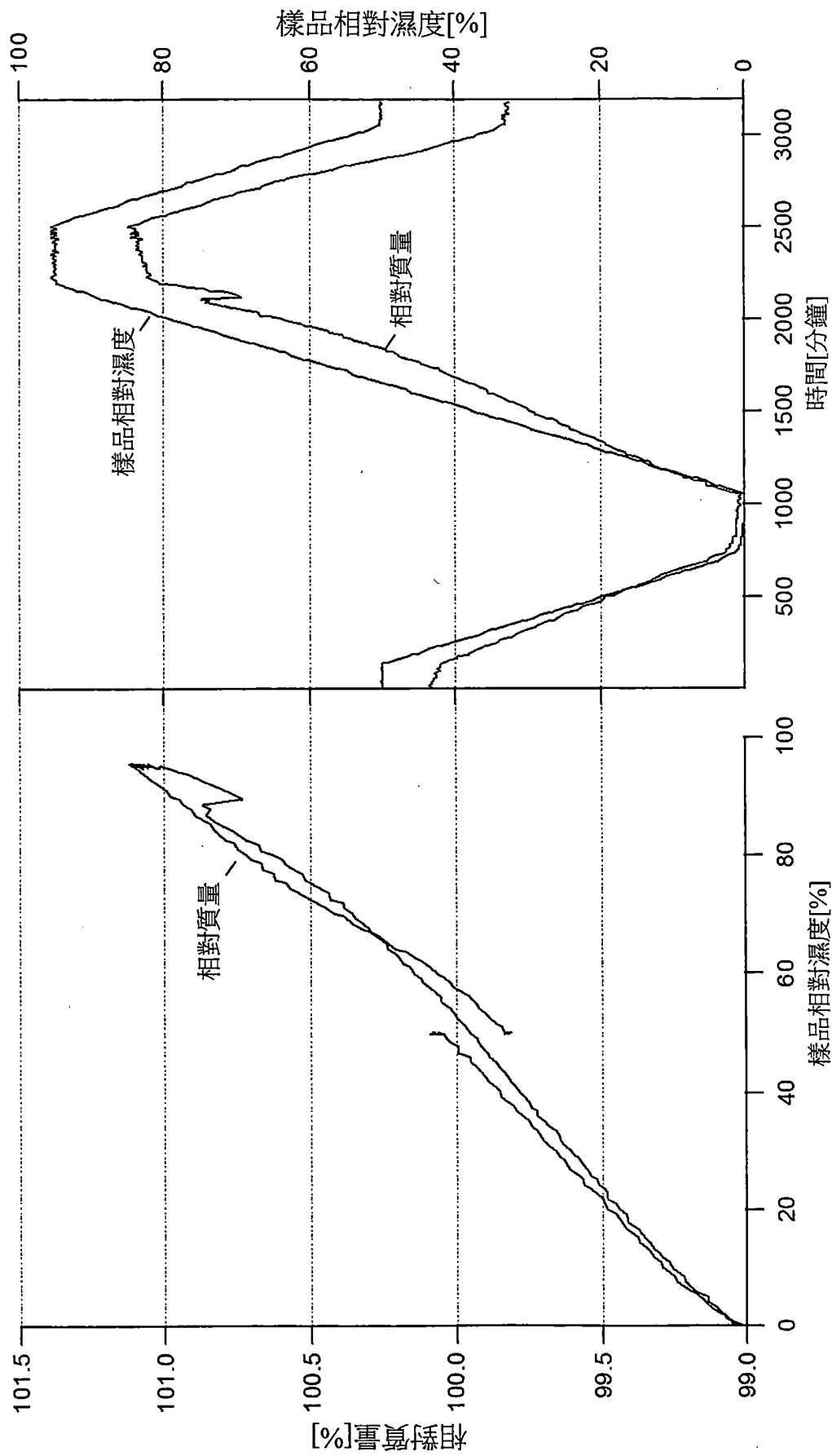


圖 63

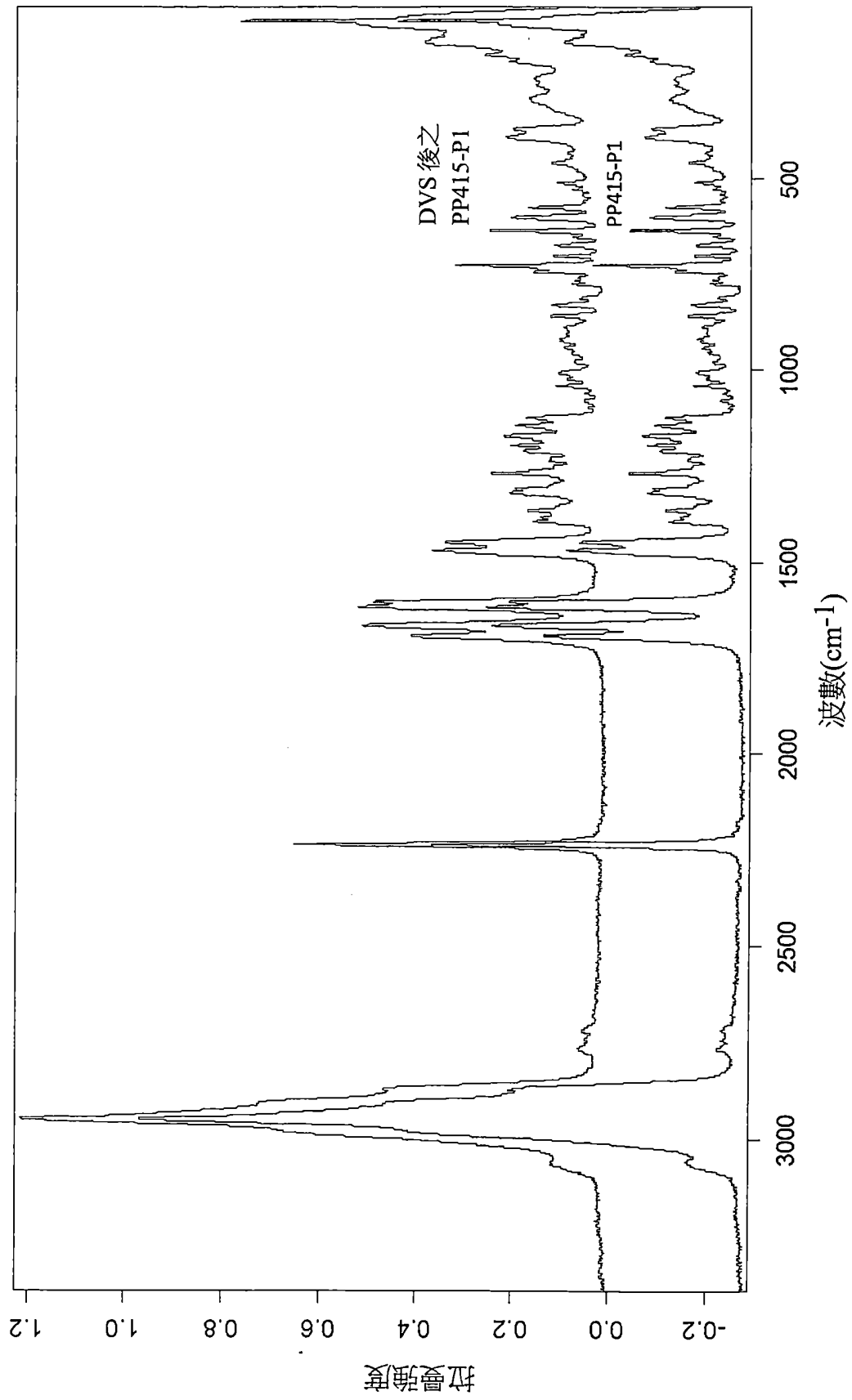


圖 64

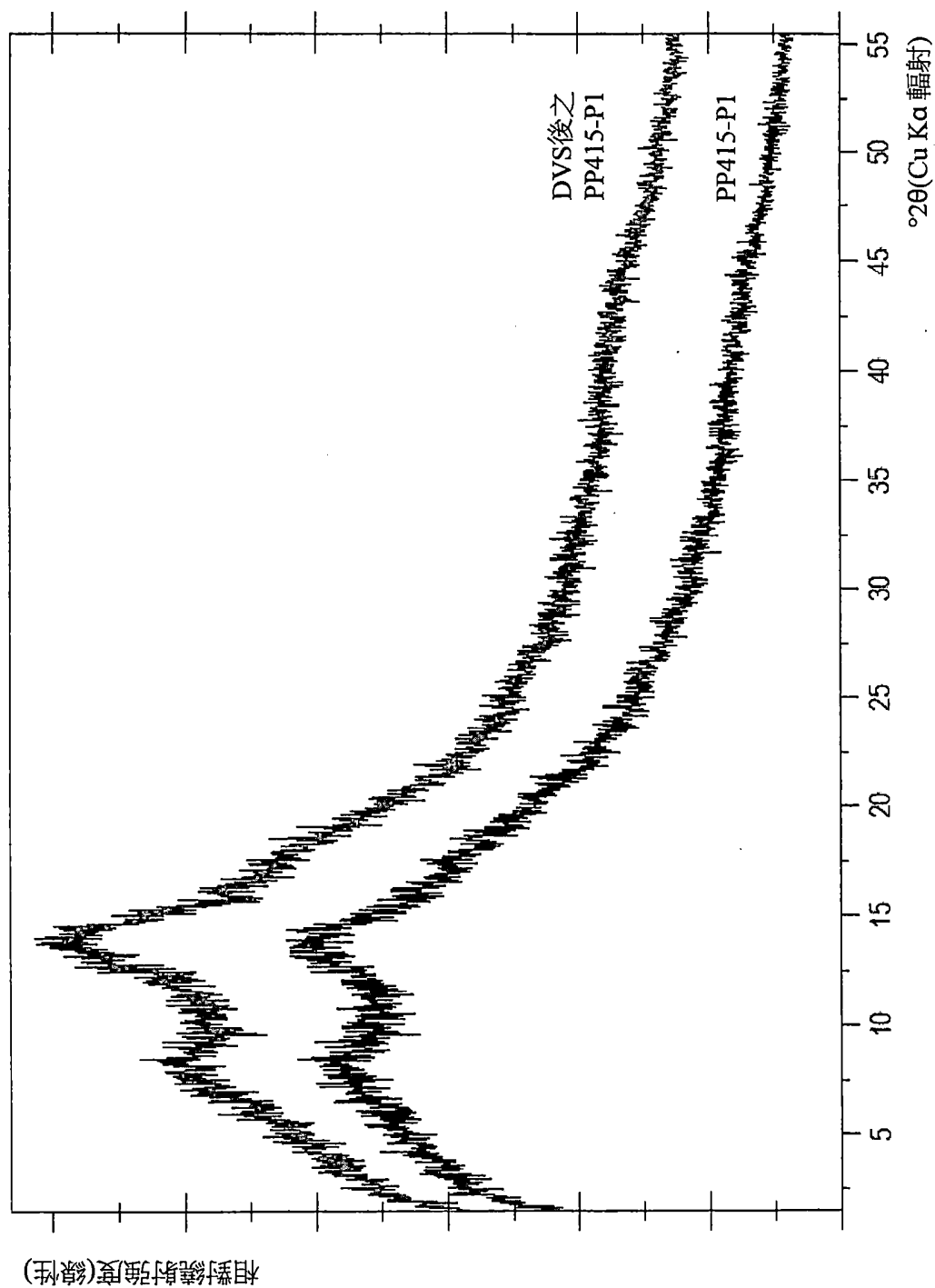


圖 65

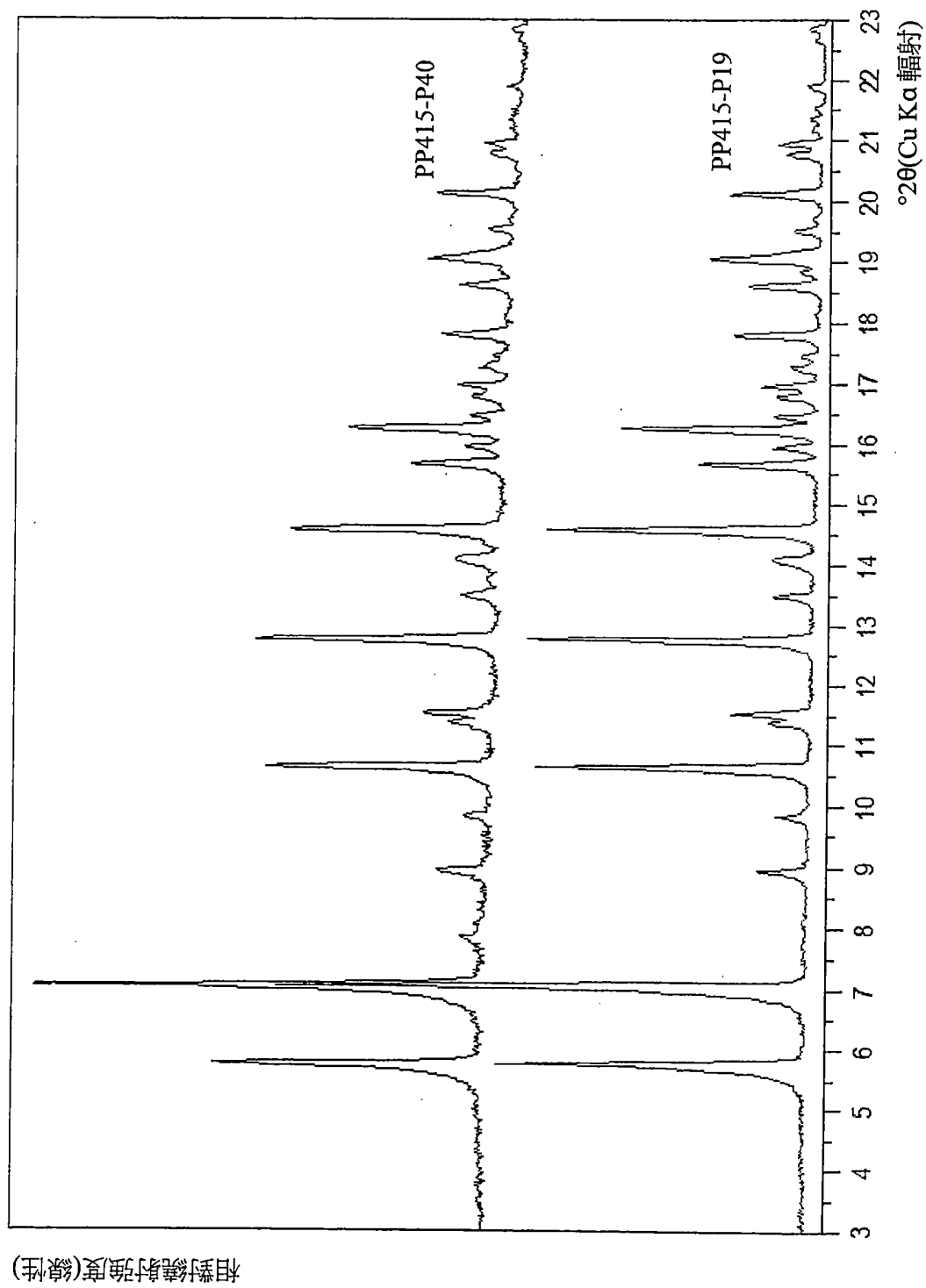


圖 66

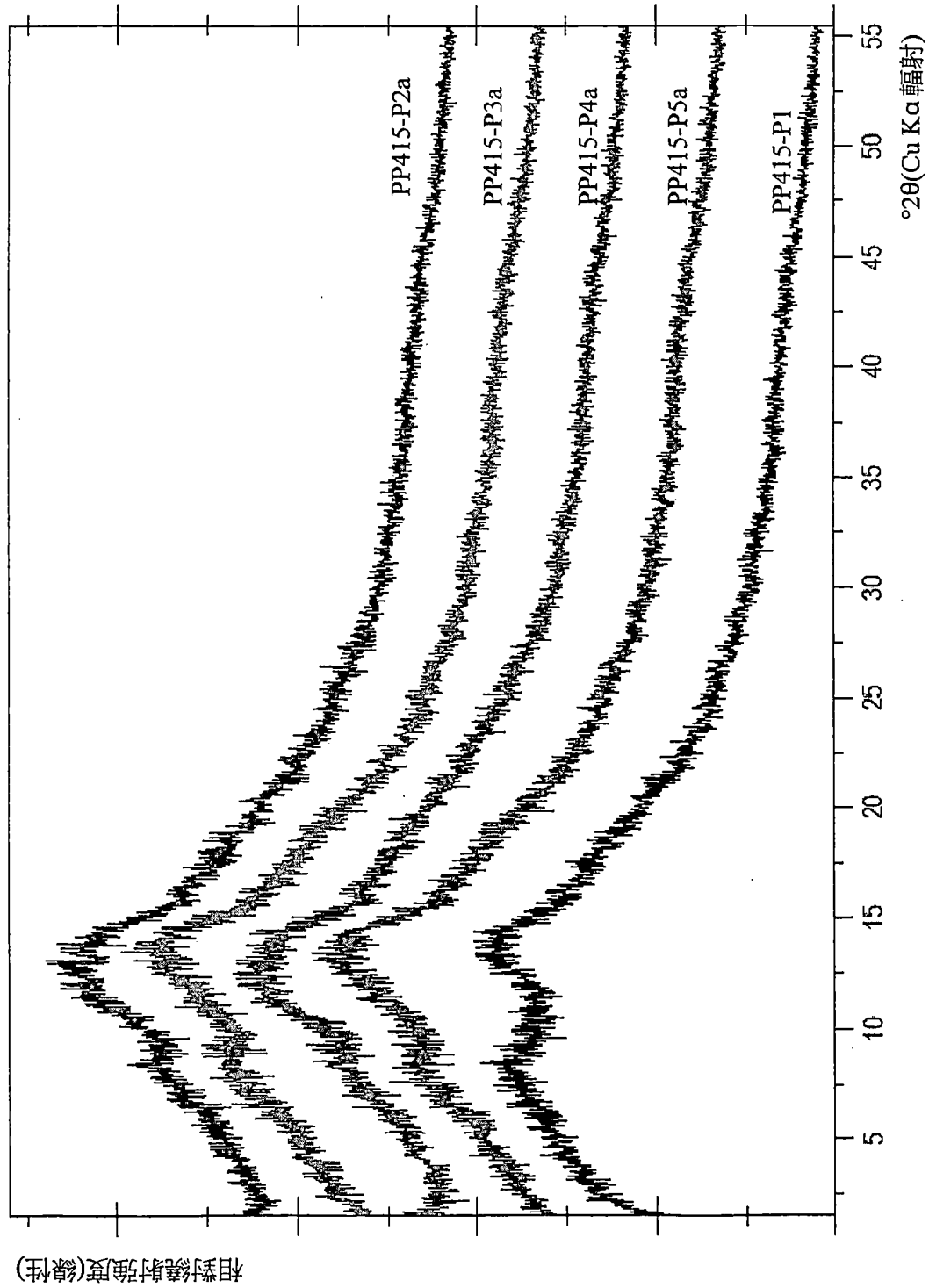


圖67

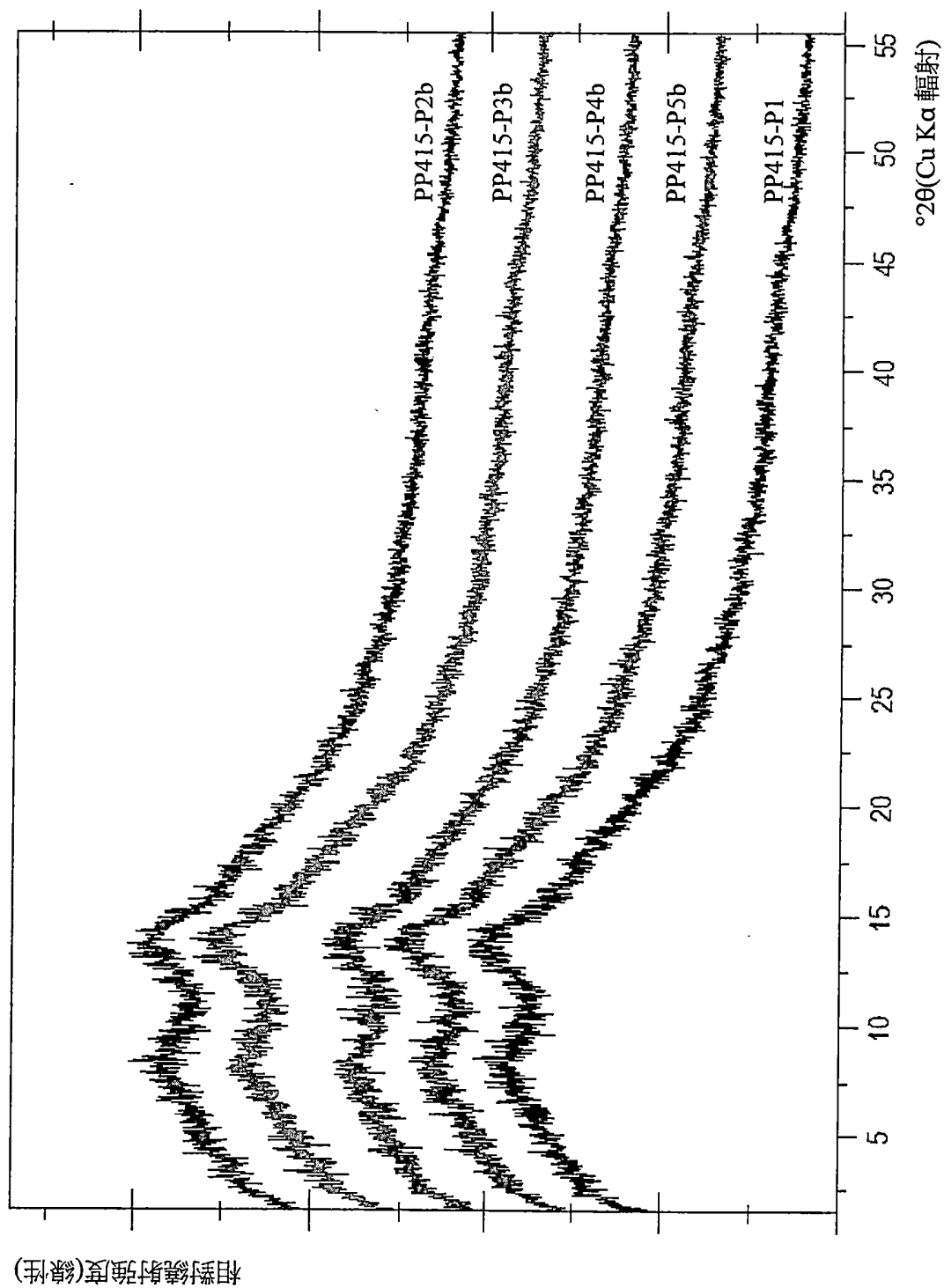


圖68

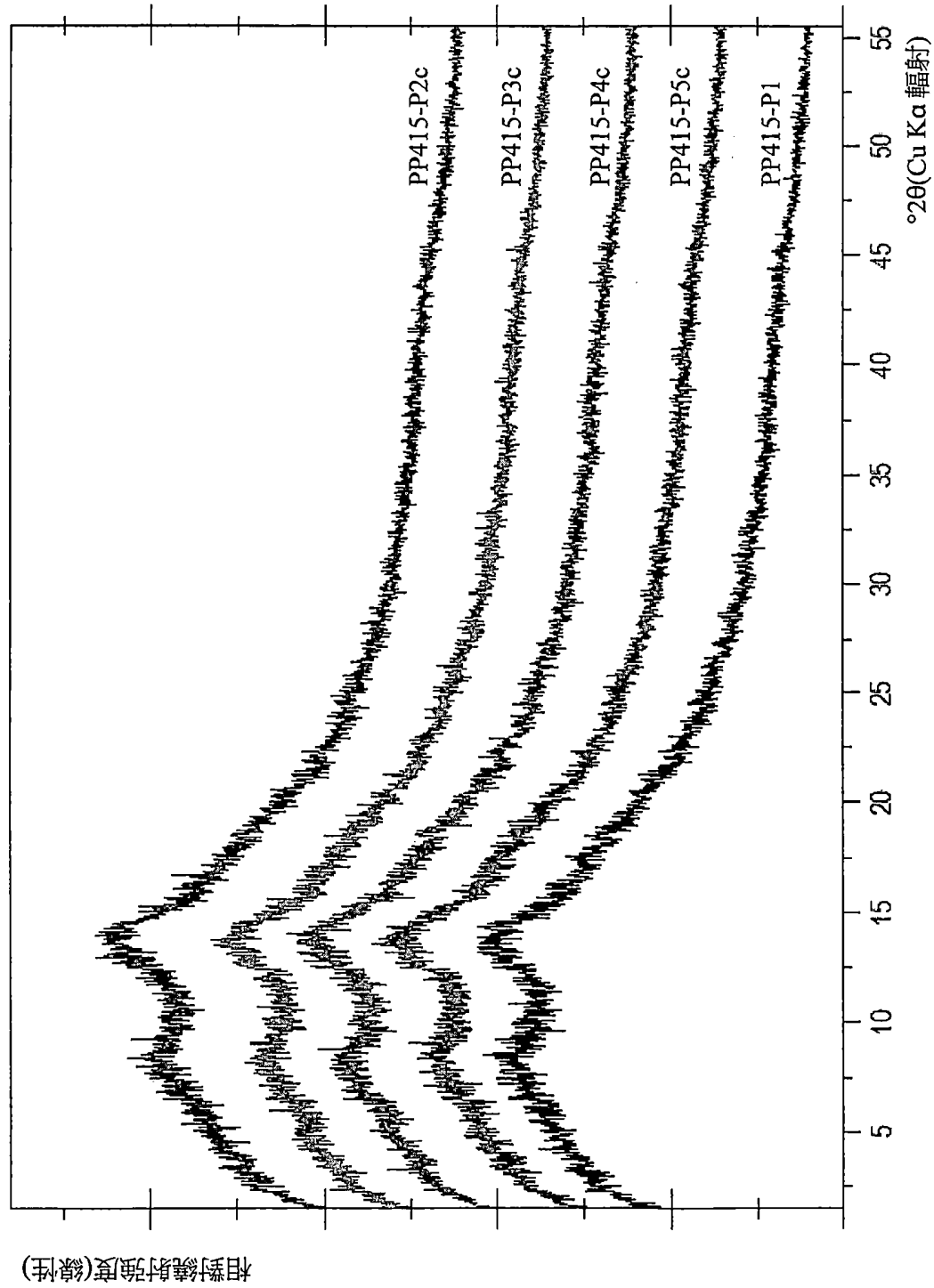


圖 69

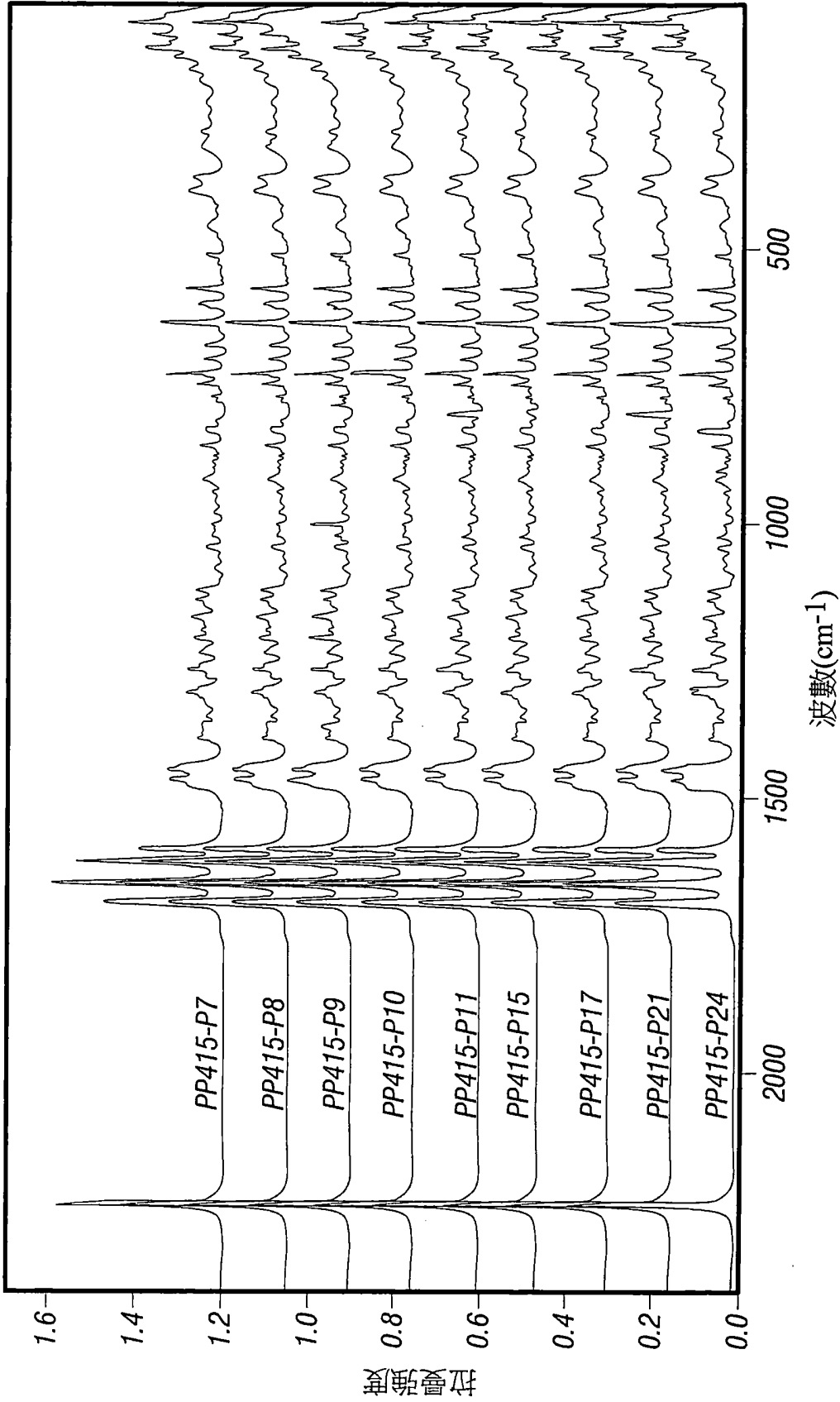


圖70

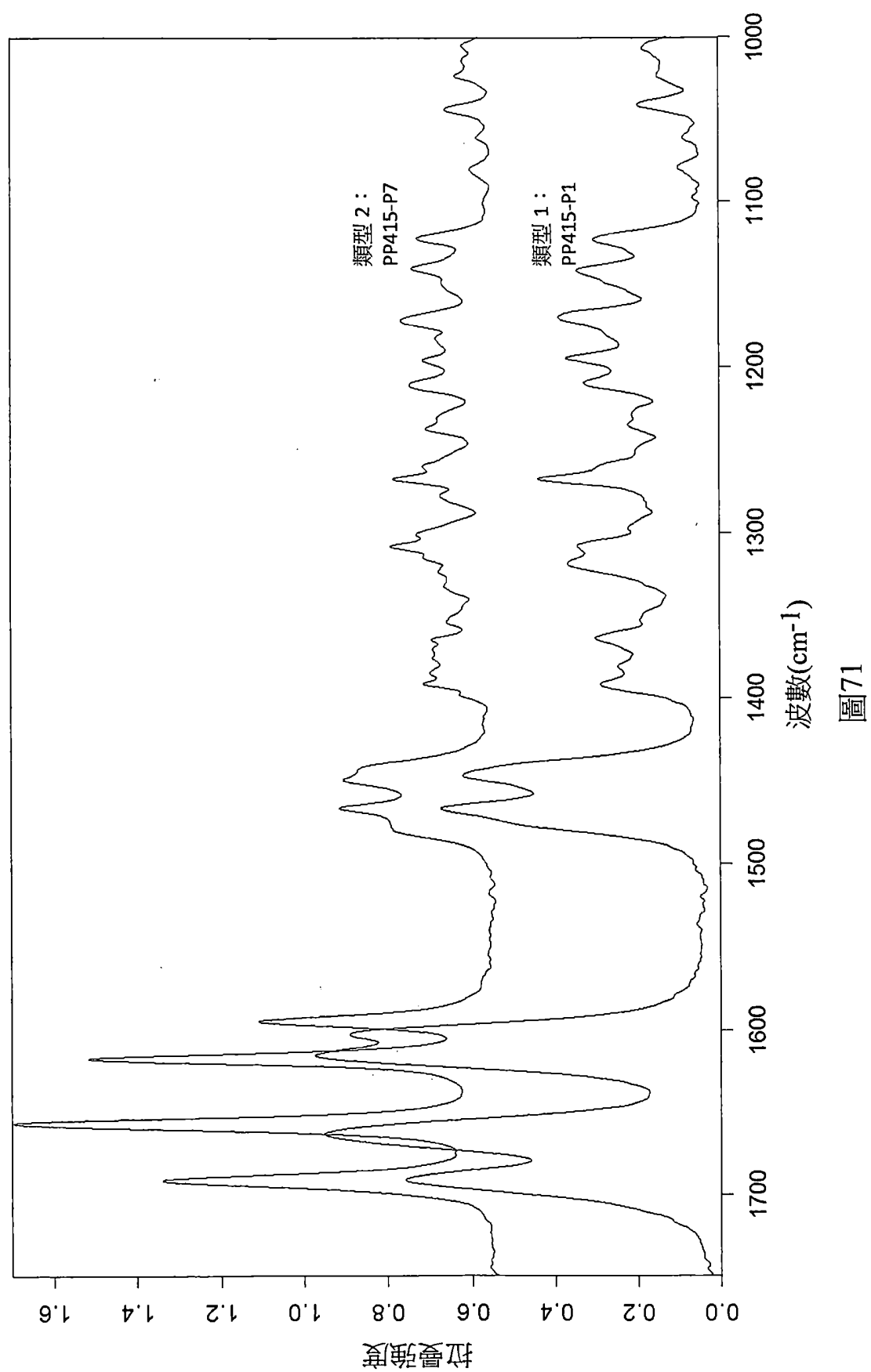


圖71

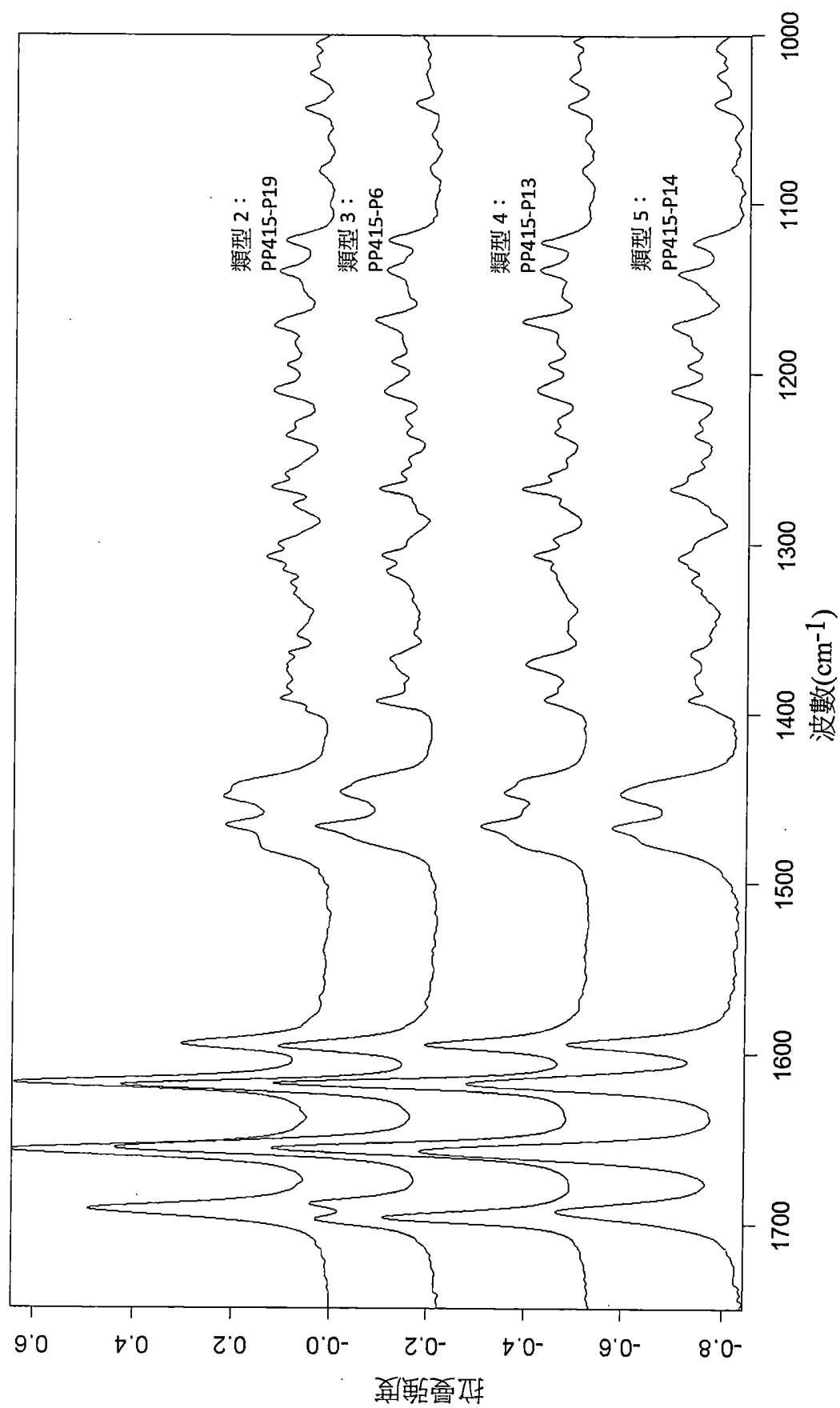
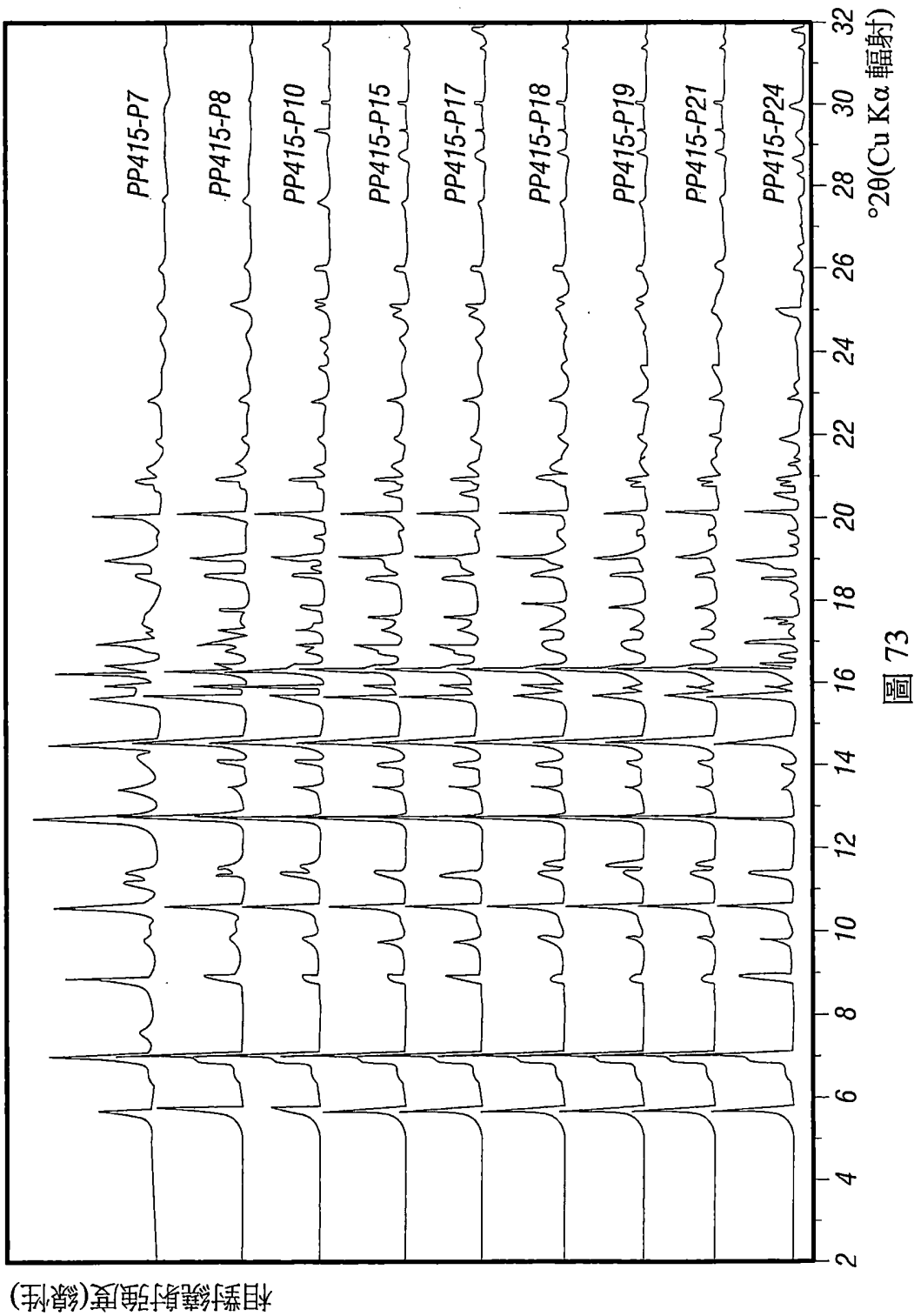


圖72



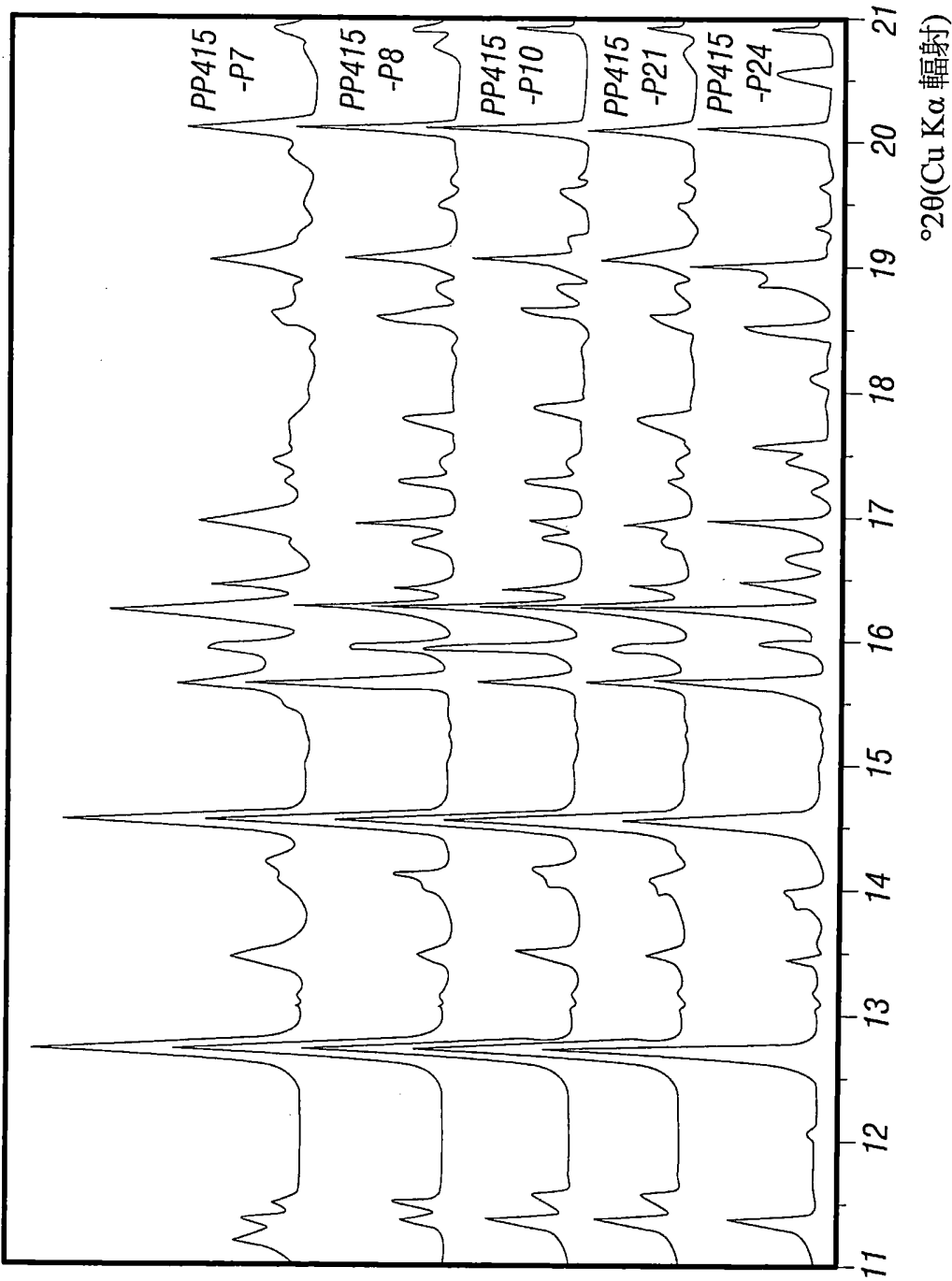


圖 74

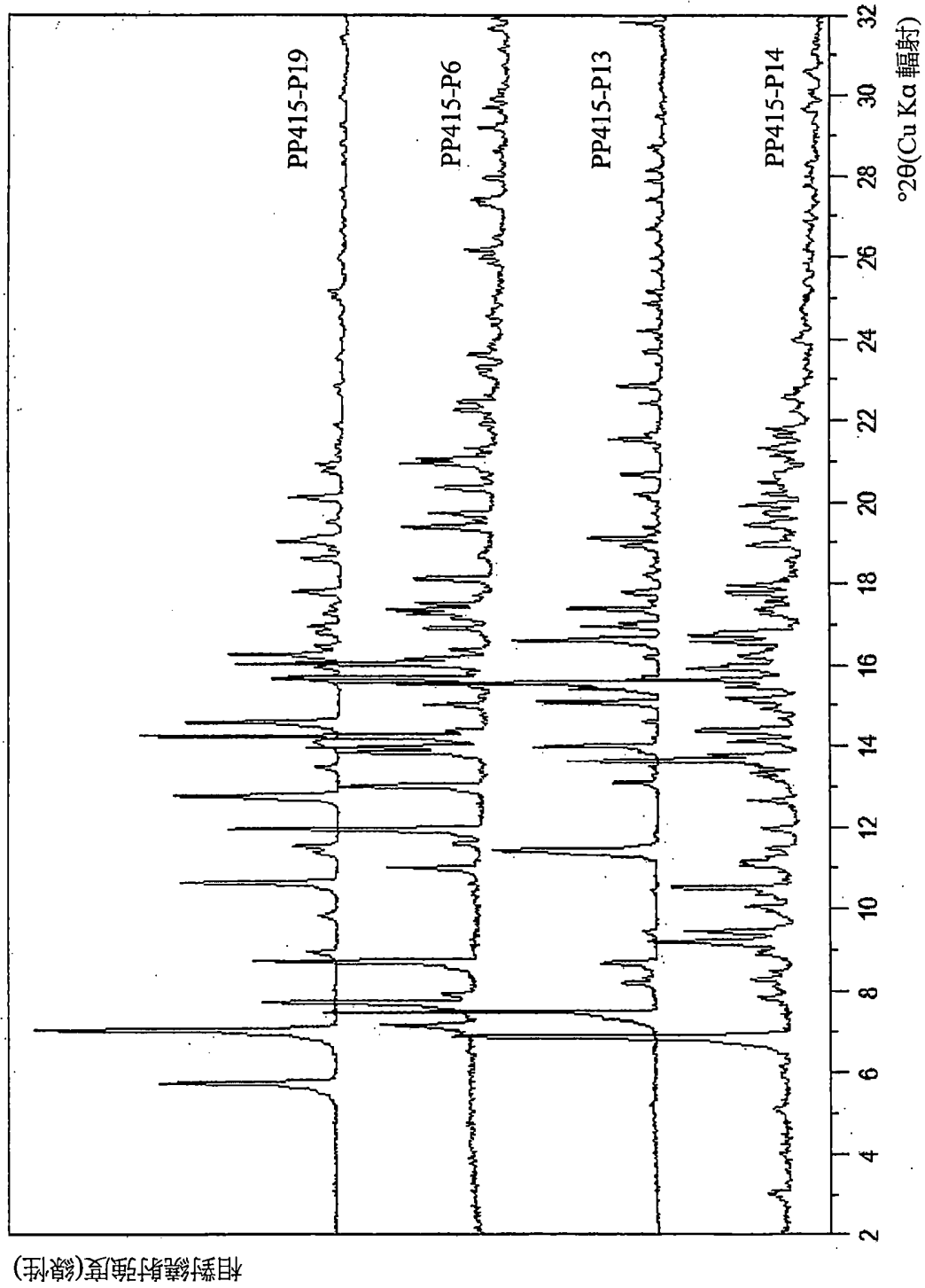


圖75

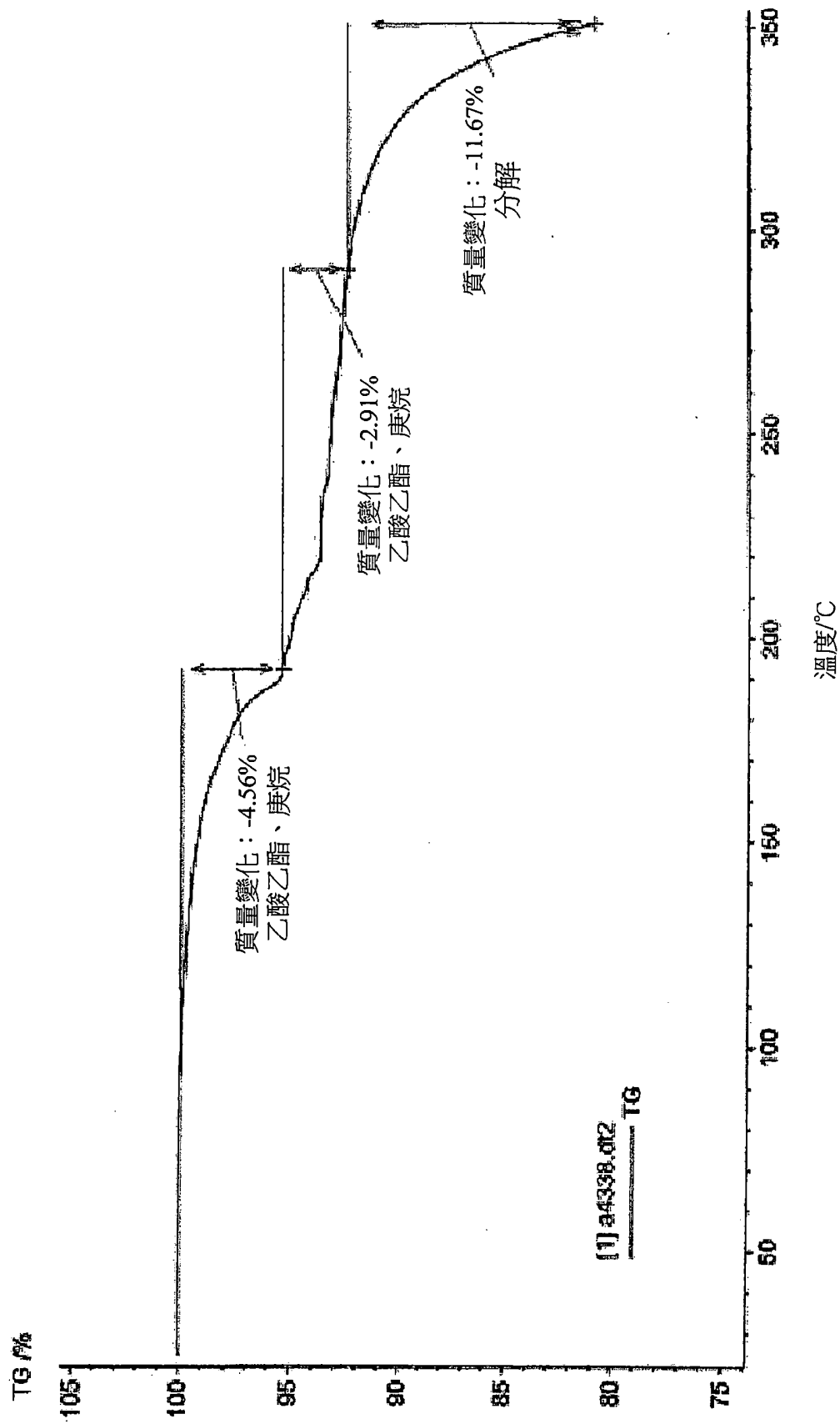


圖76

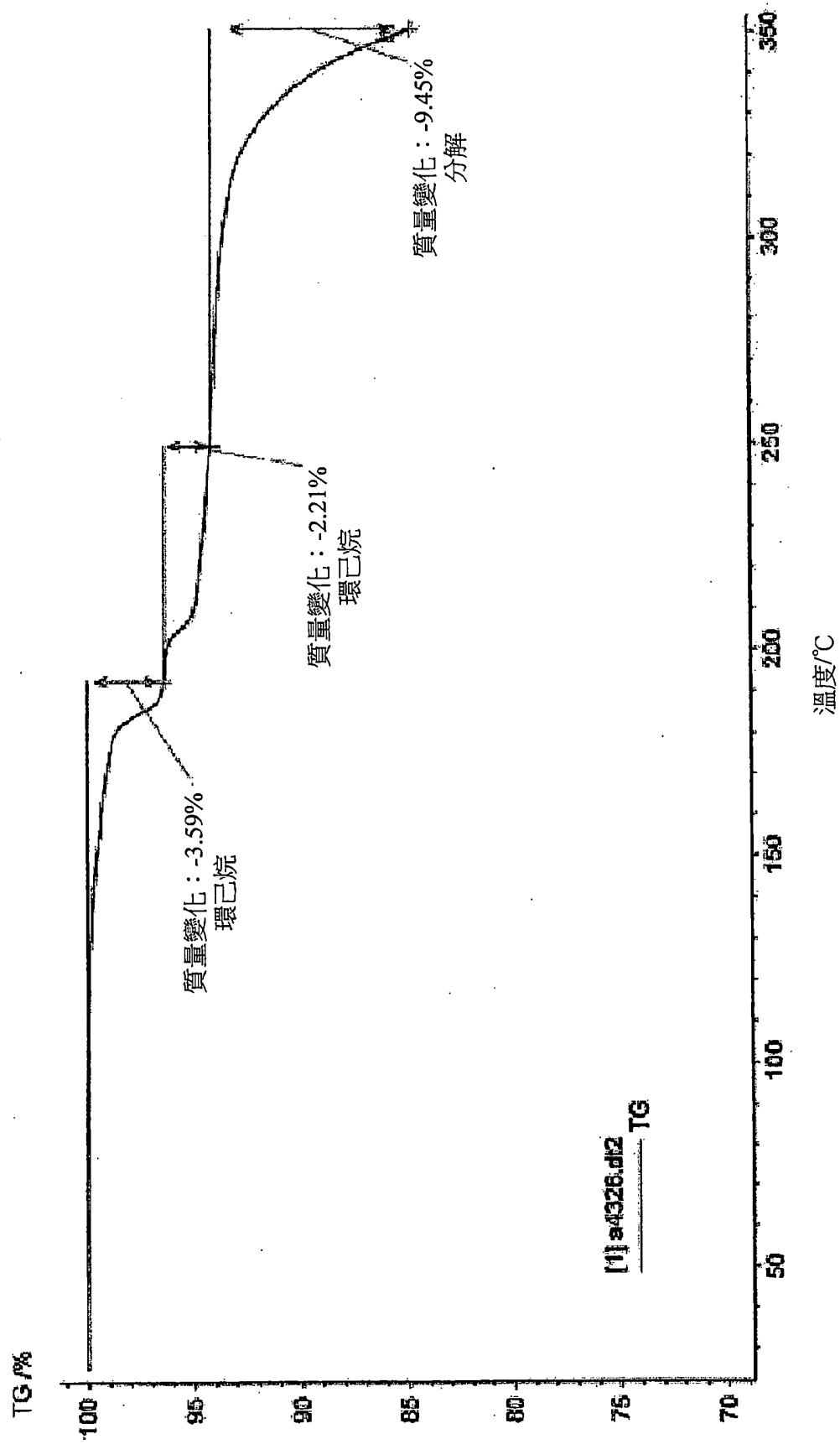


圖 77

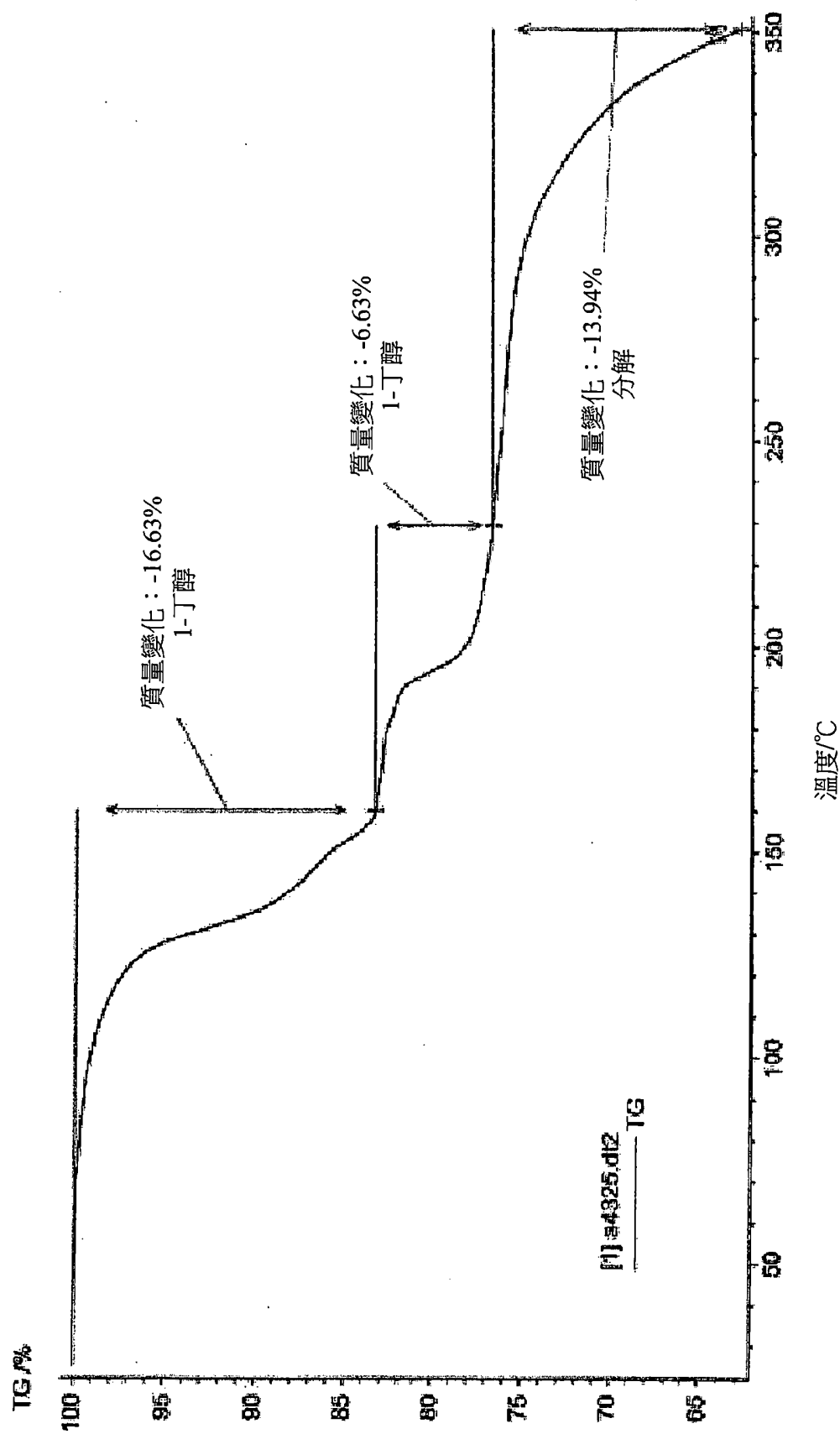


圖78

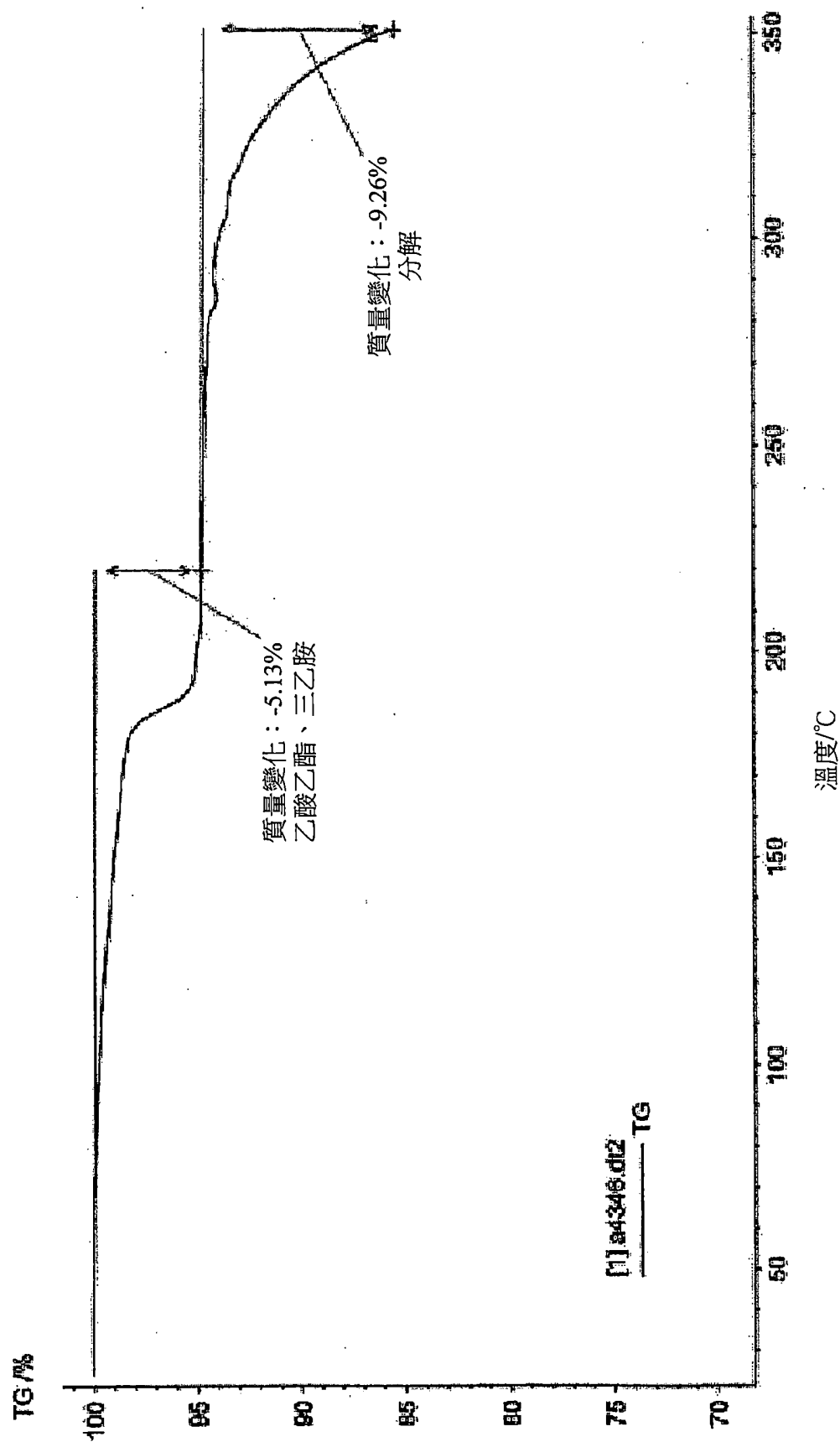


圖79

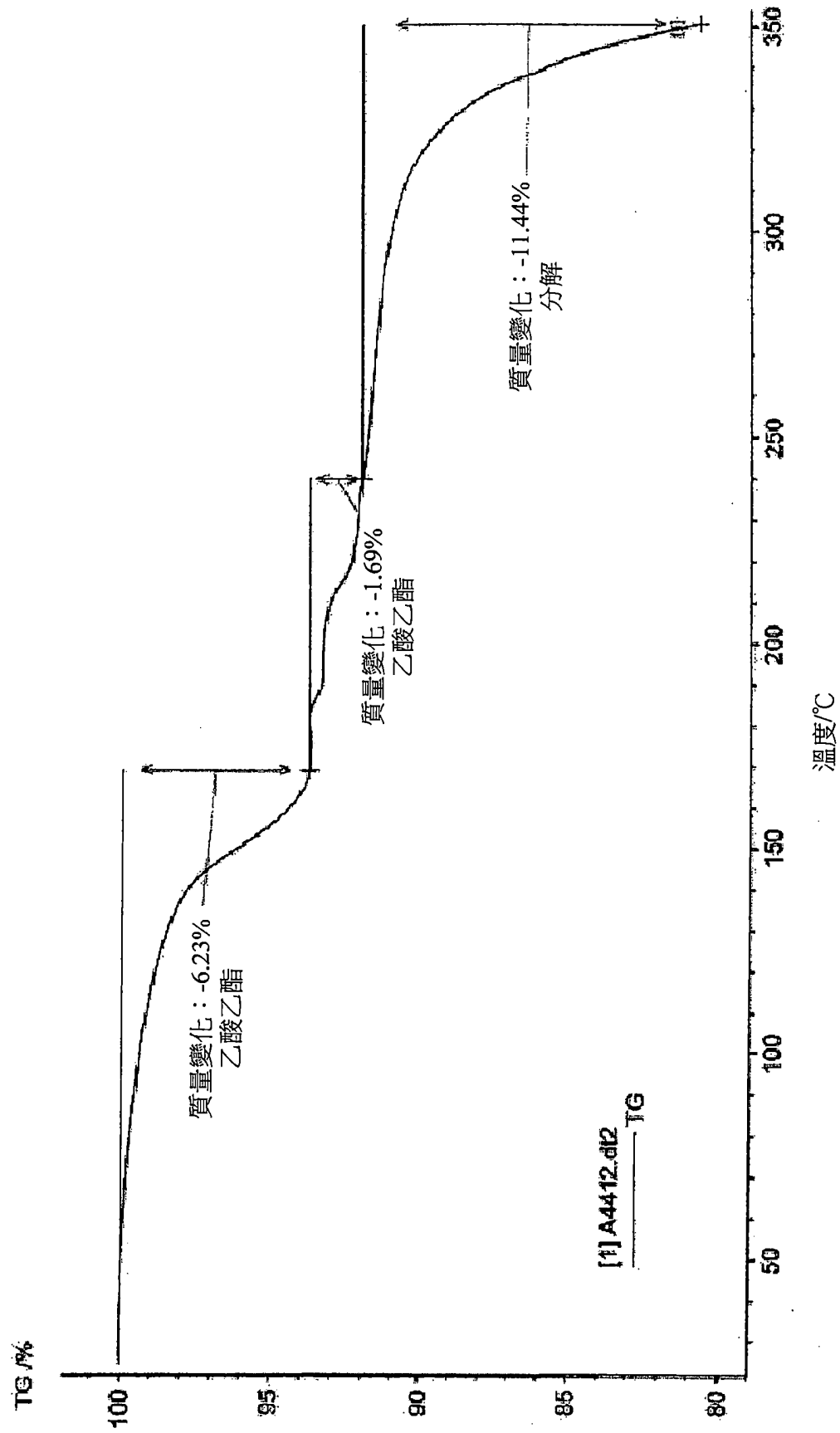


圖80

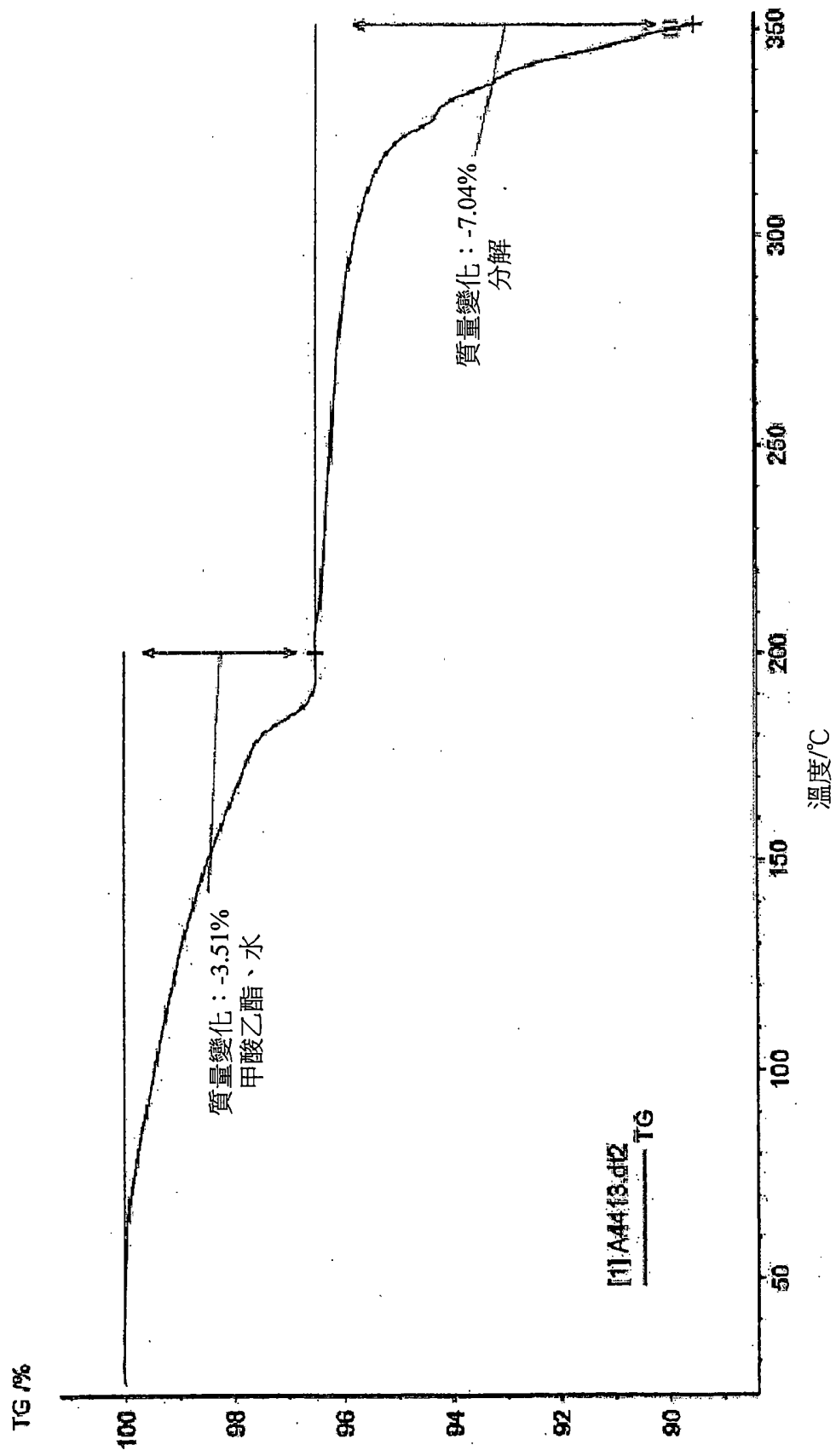


圖81

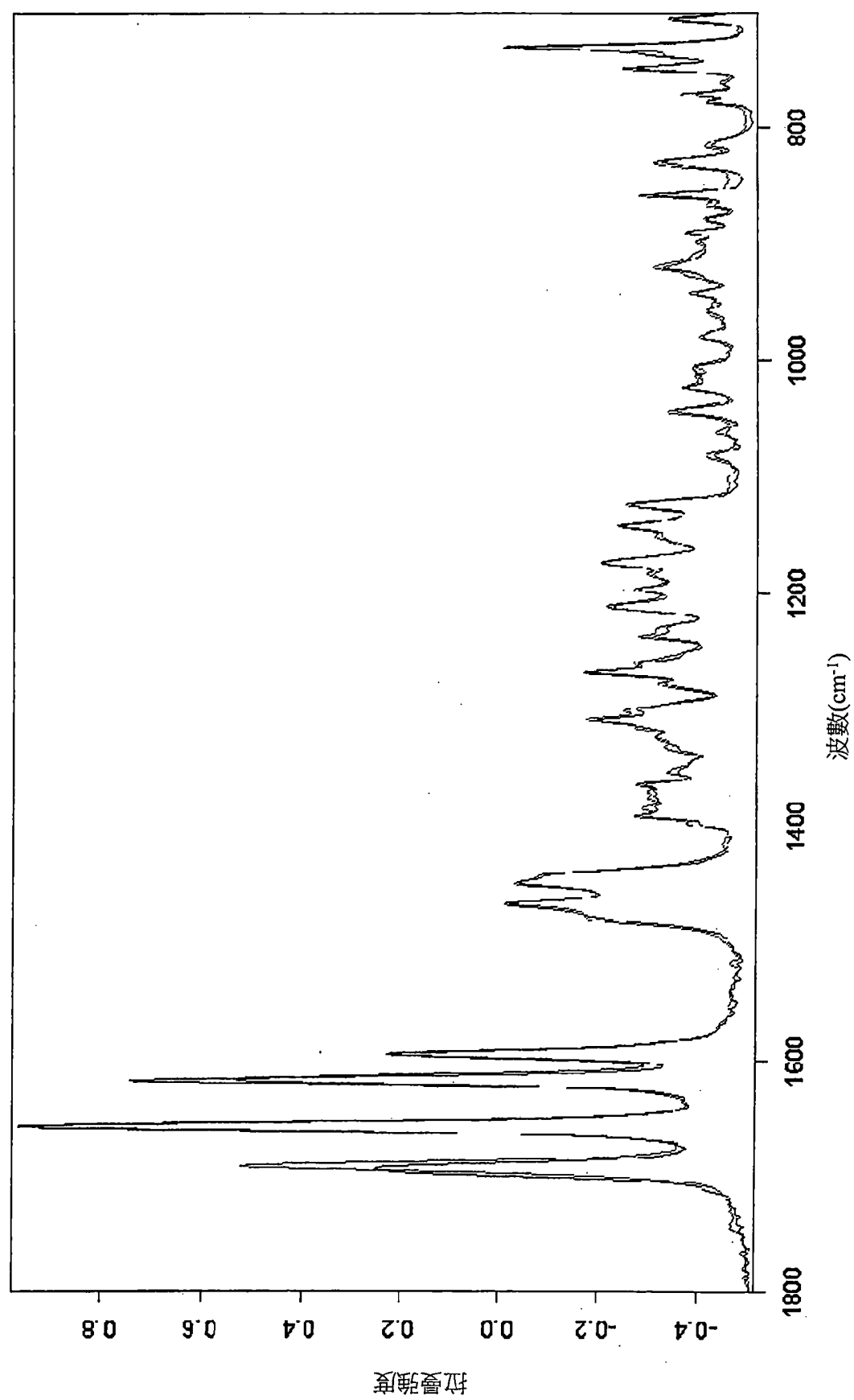


圖 82

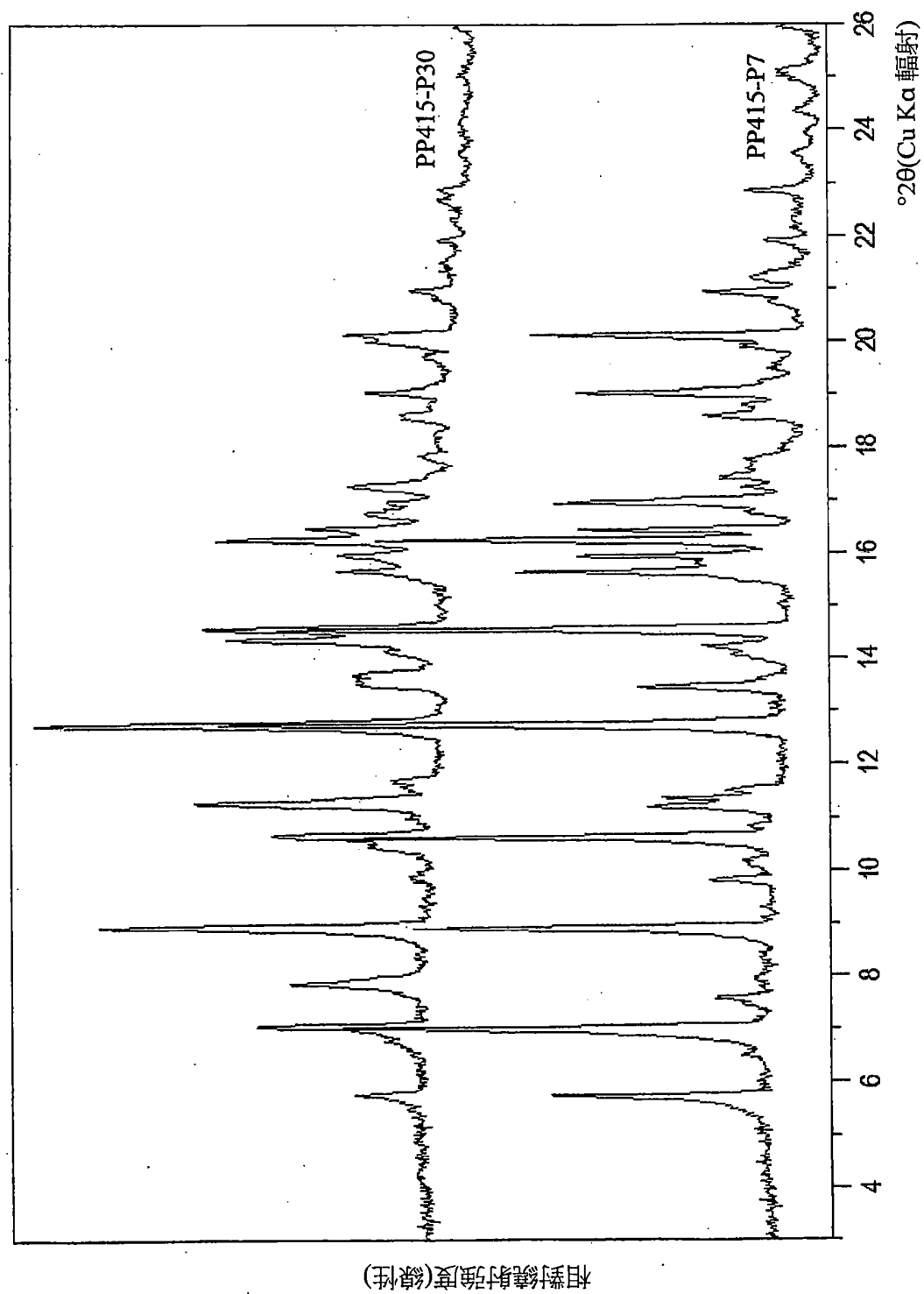


圖83

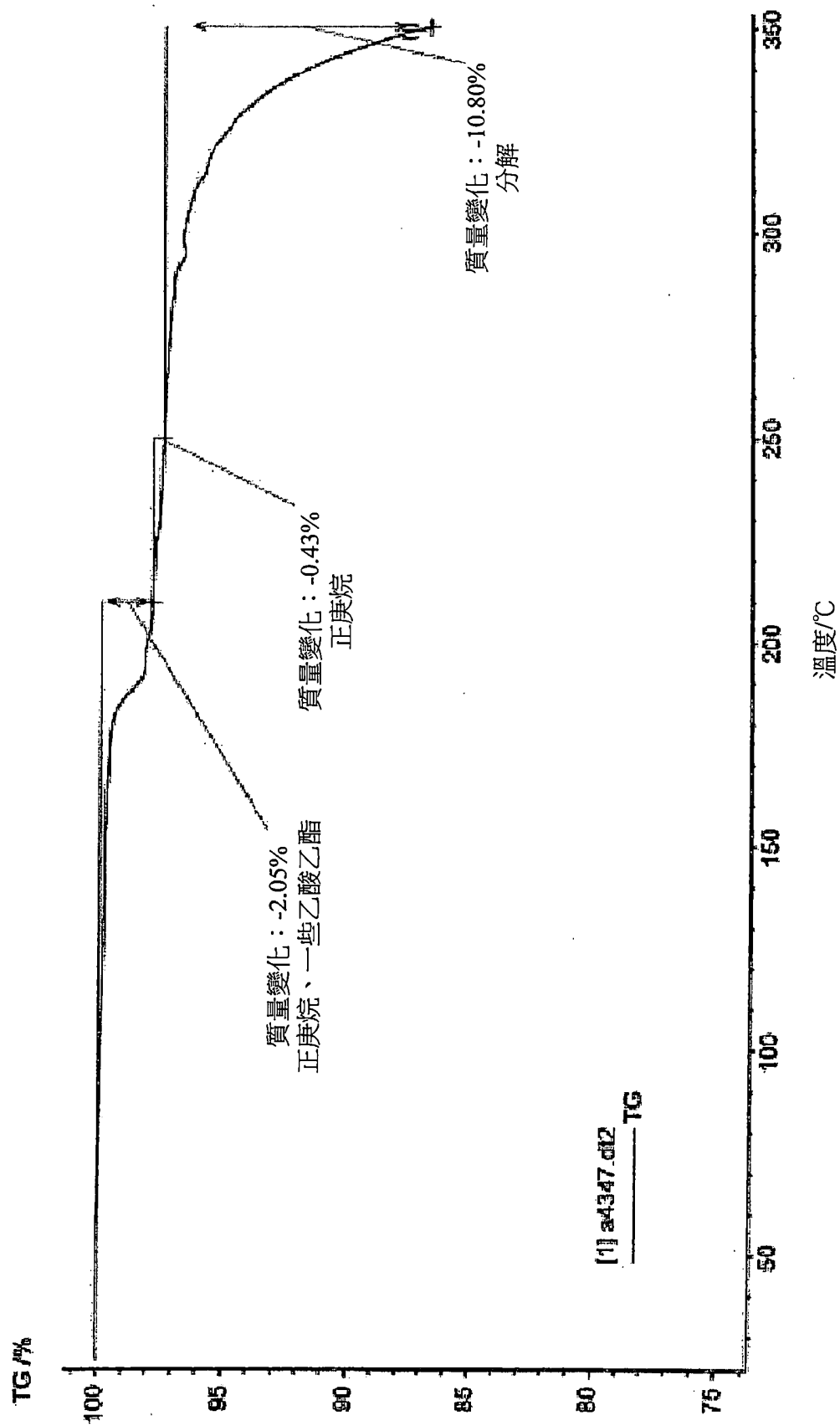


圖84

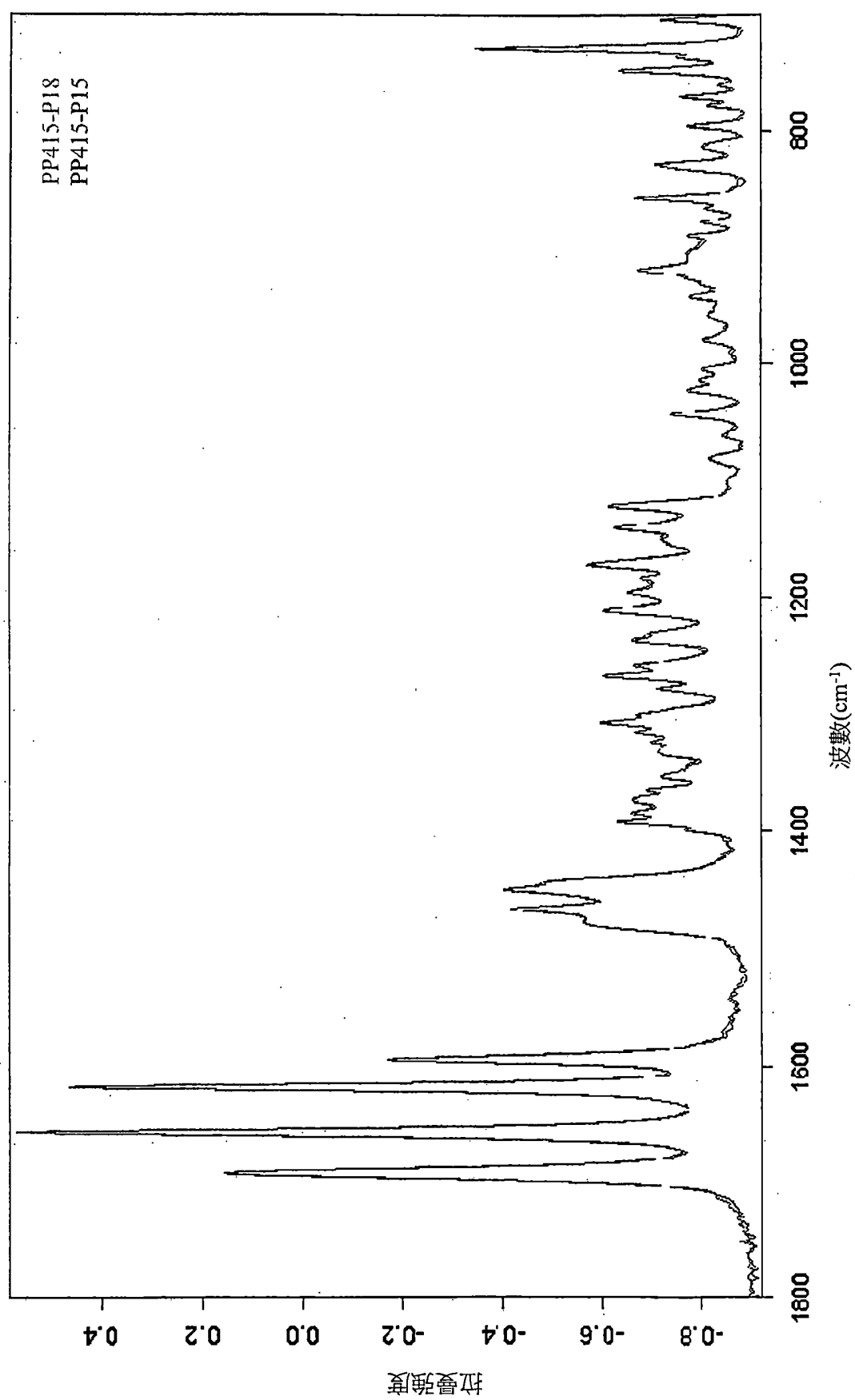
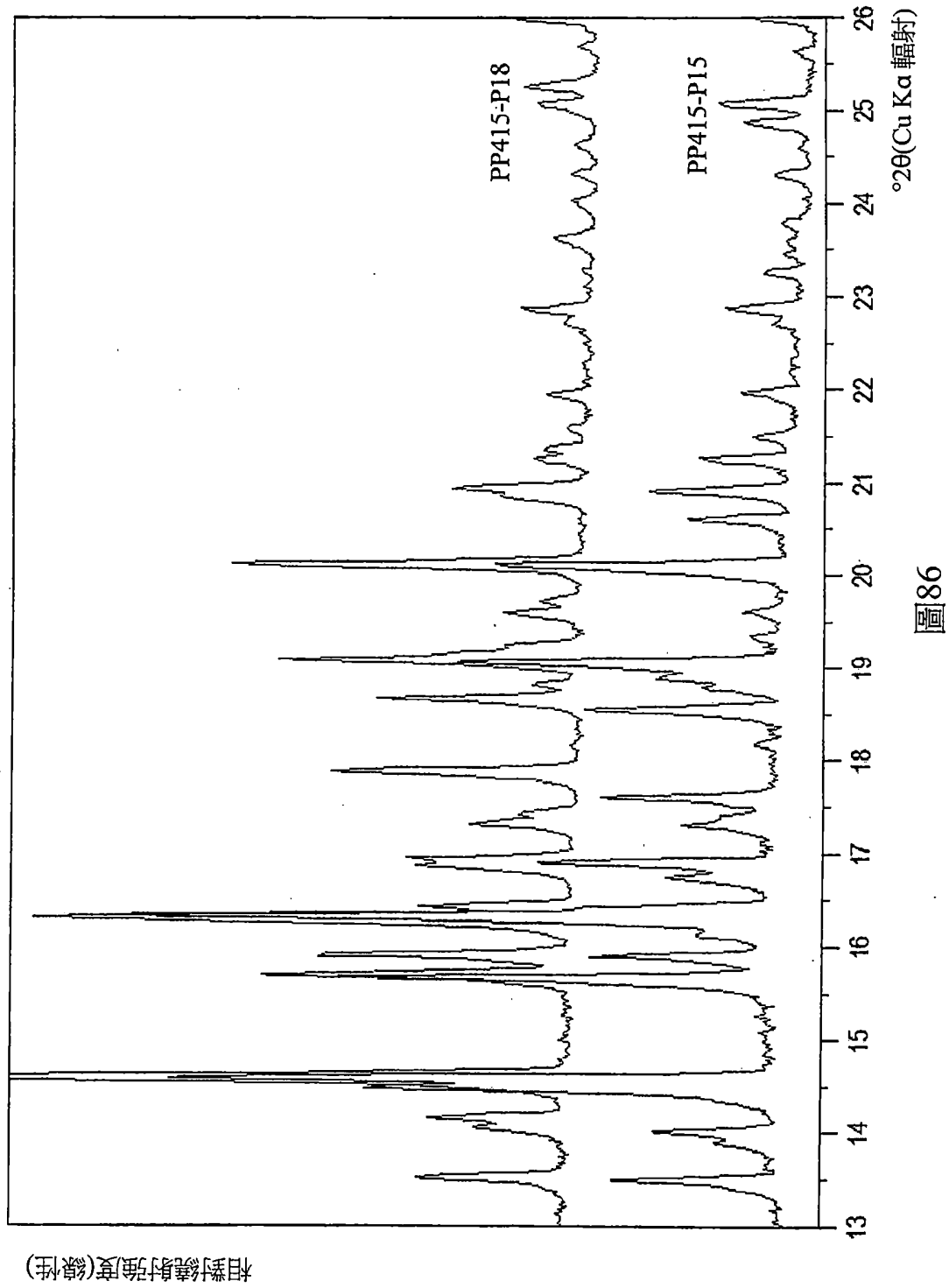


圖85



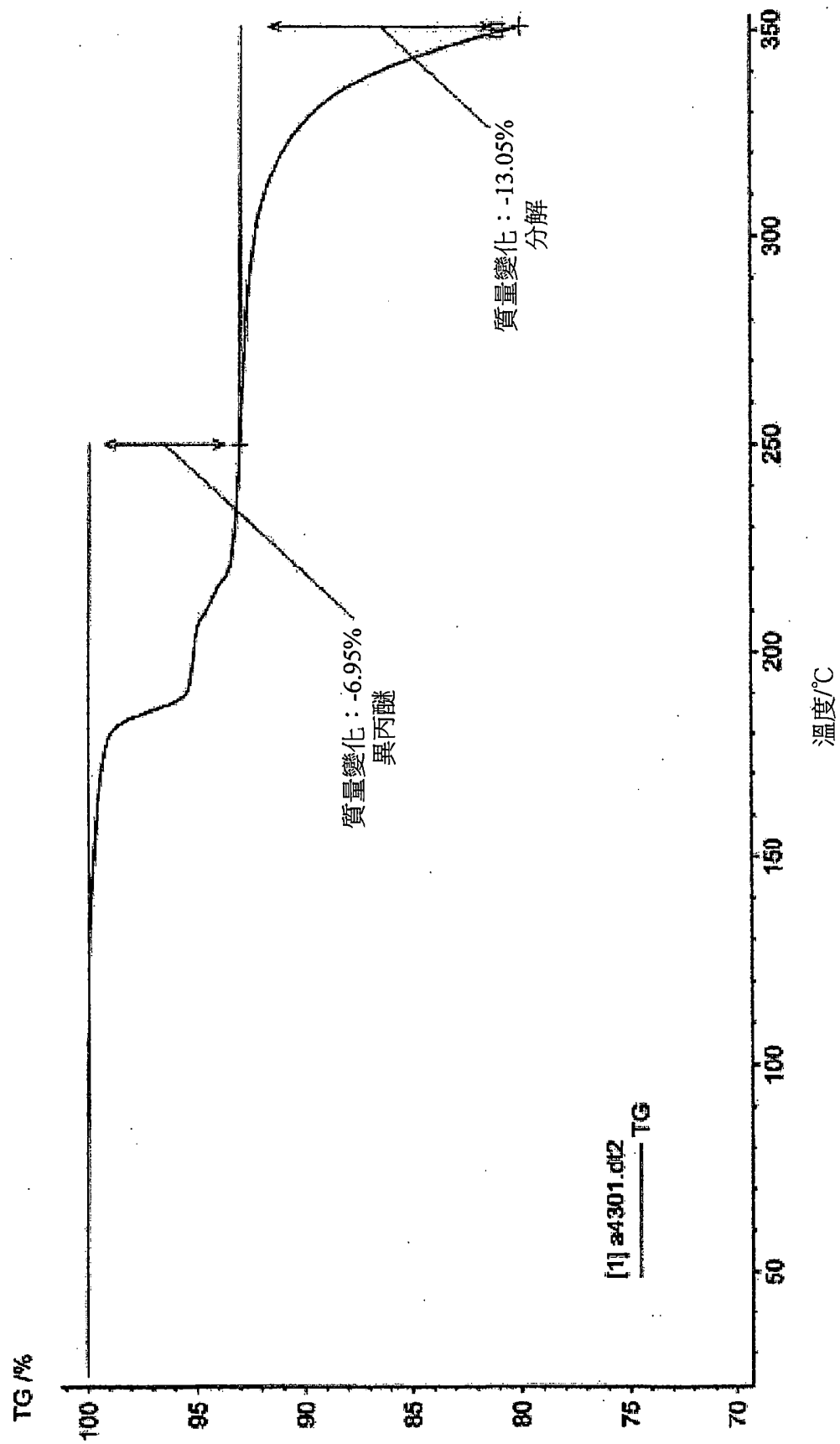


圖 87

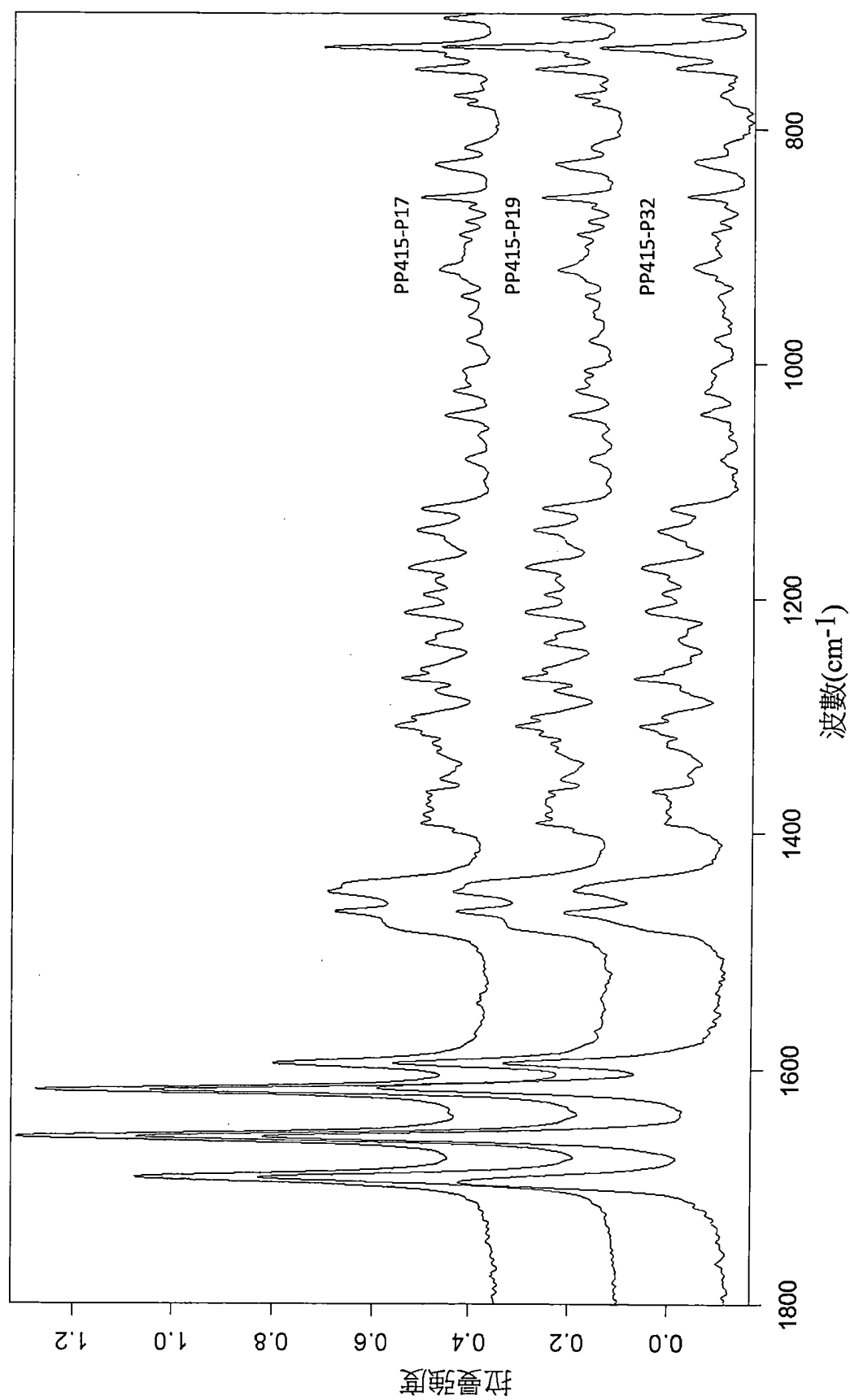


圖 88

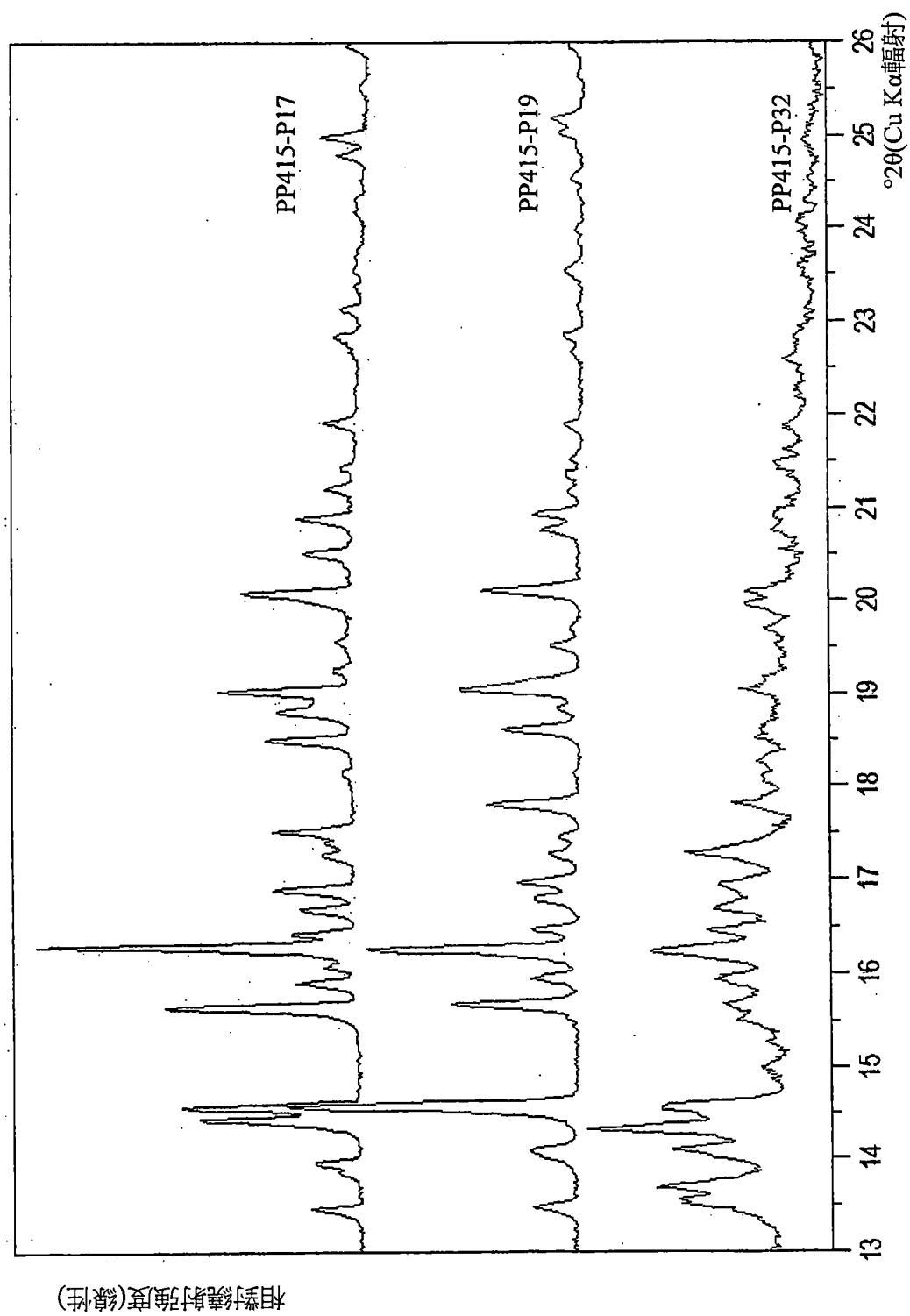


圖89

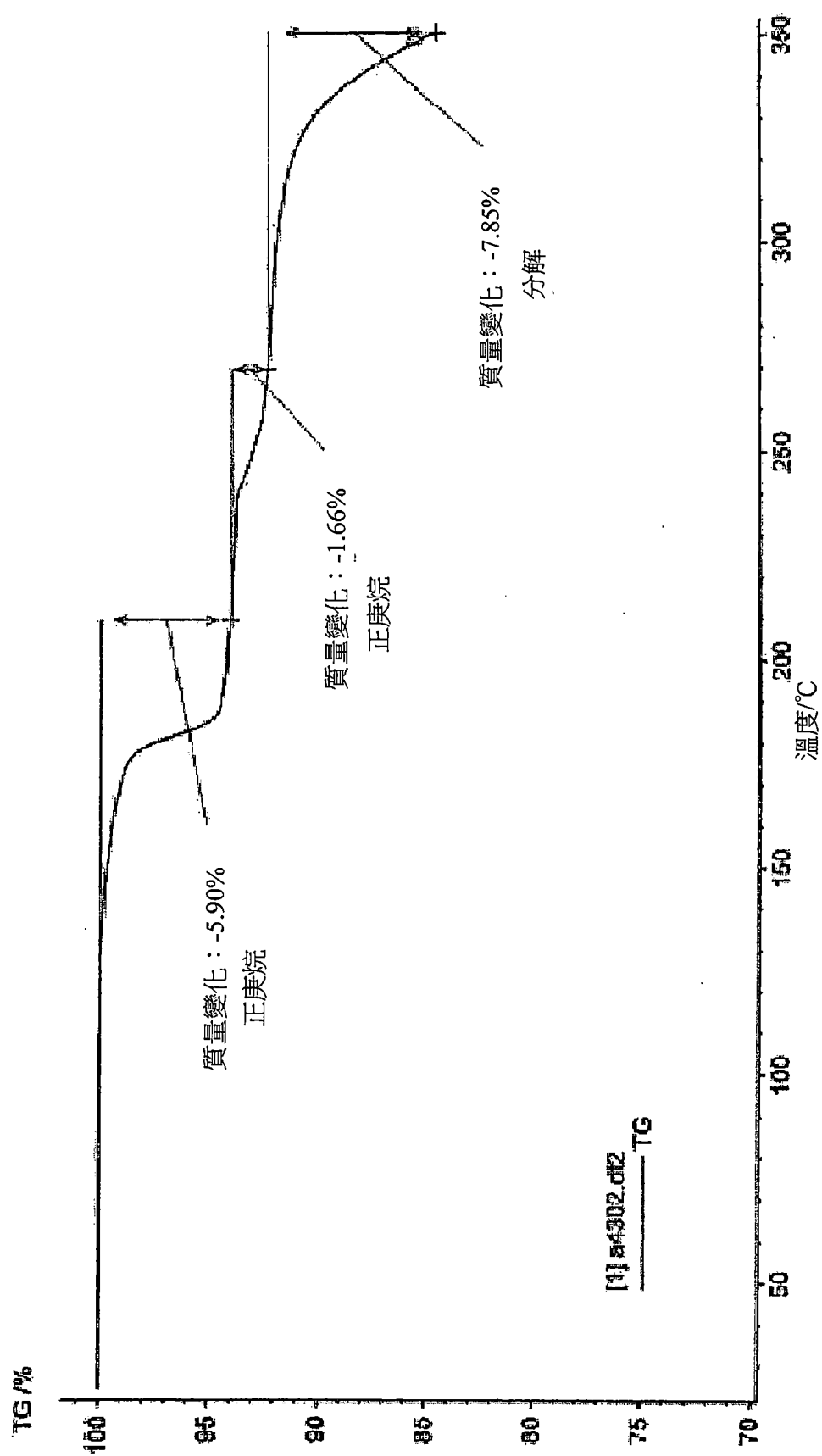


圖90

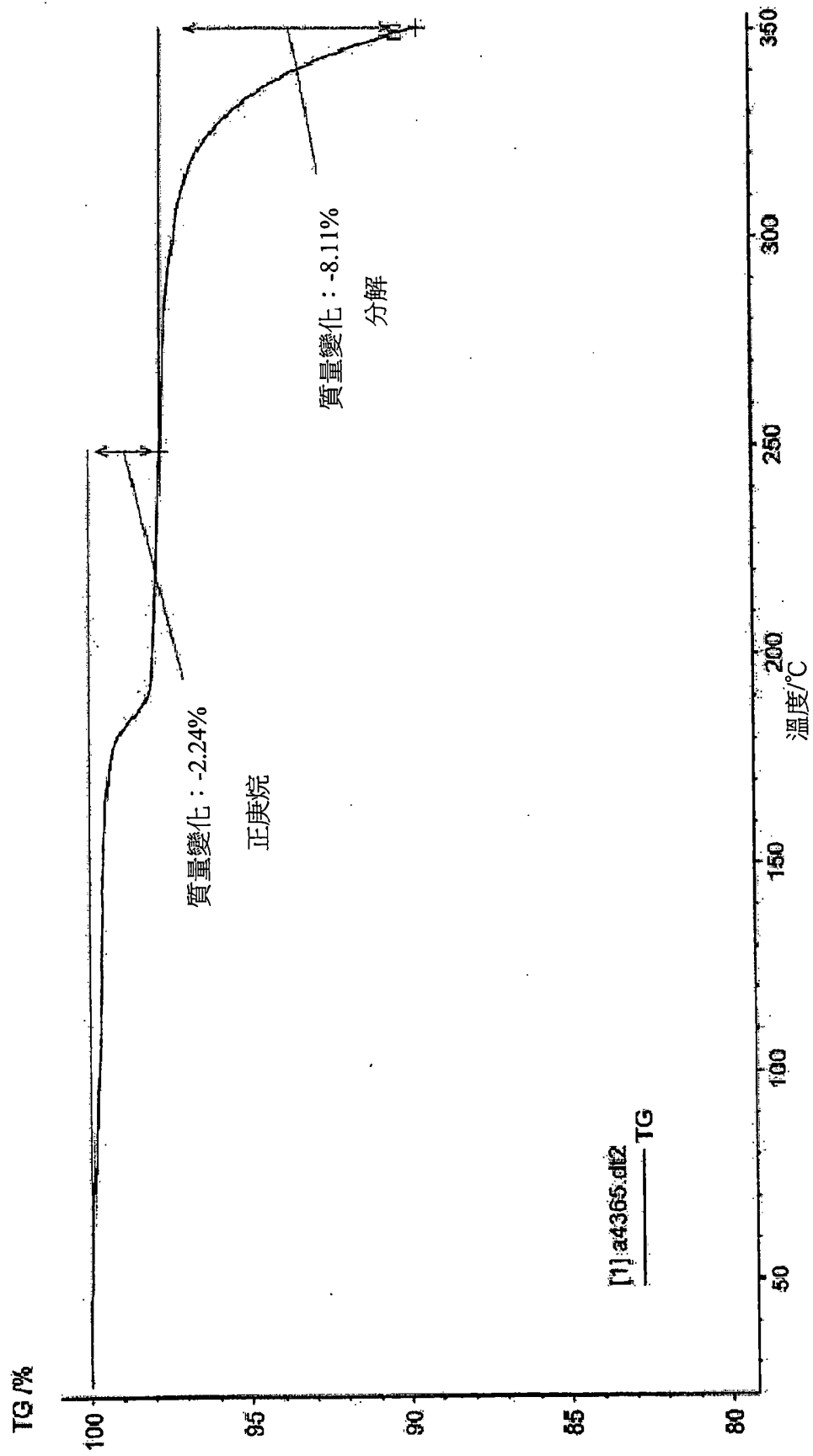


圖91

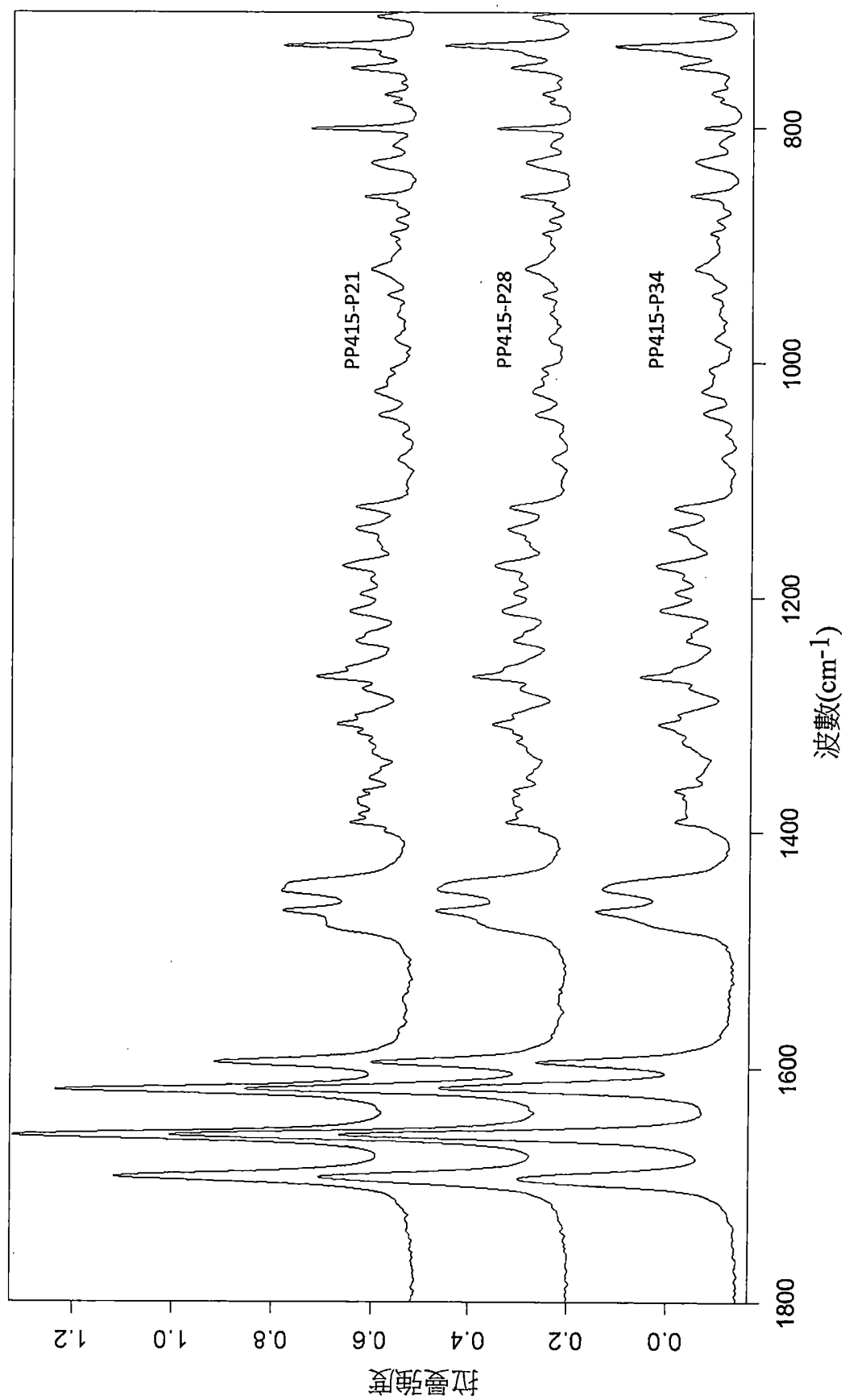


圖92

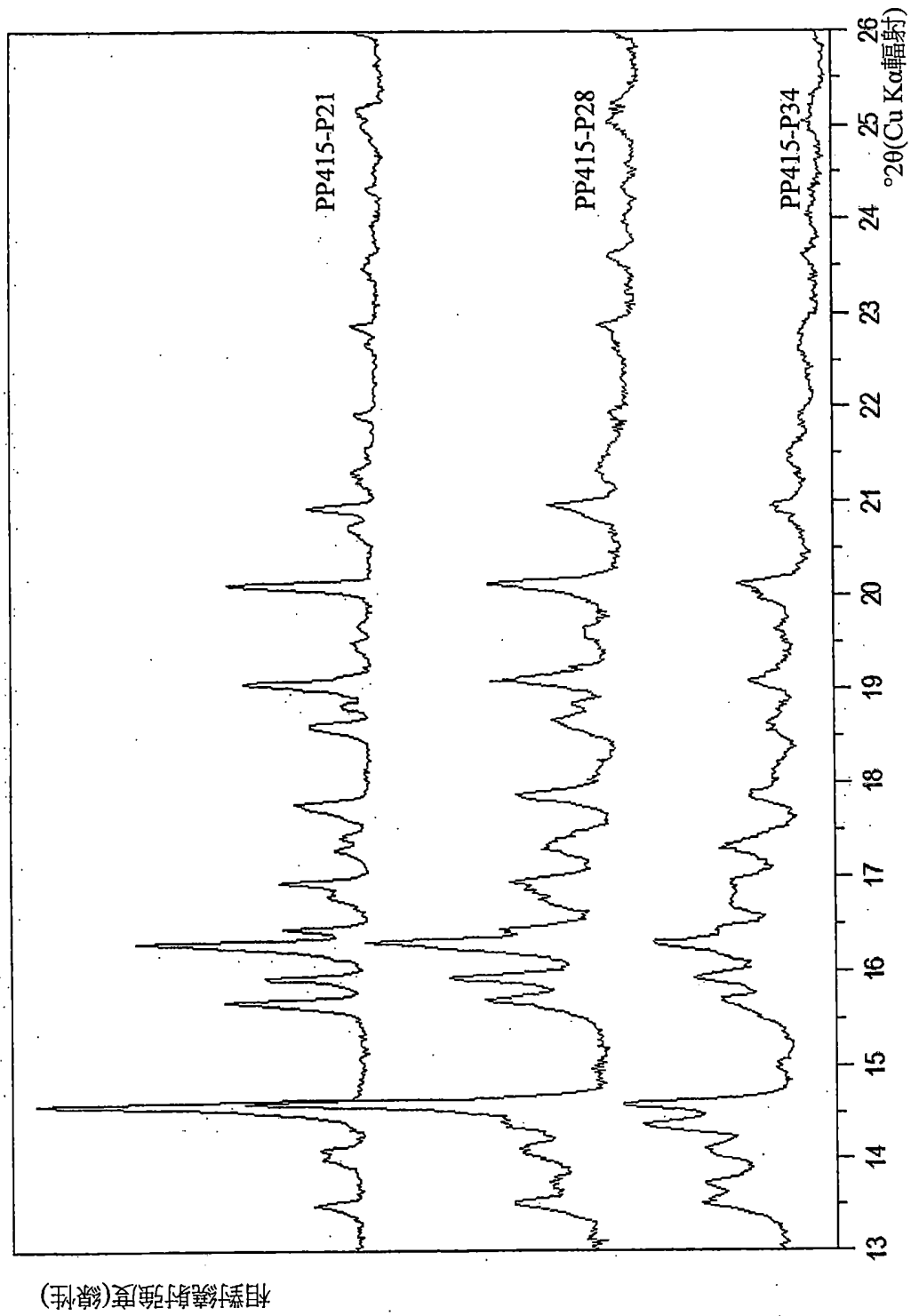


圖93

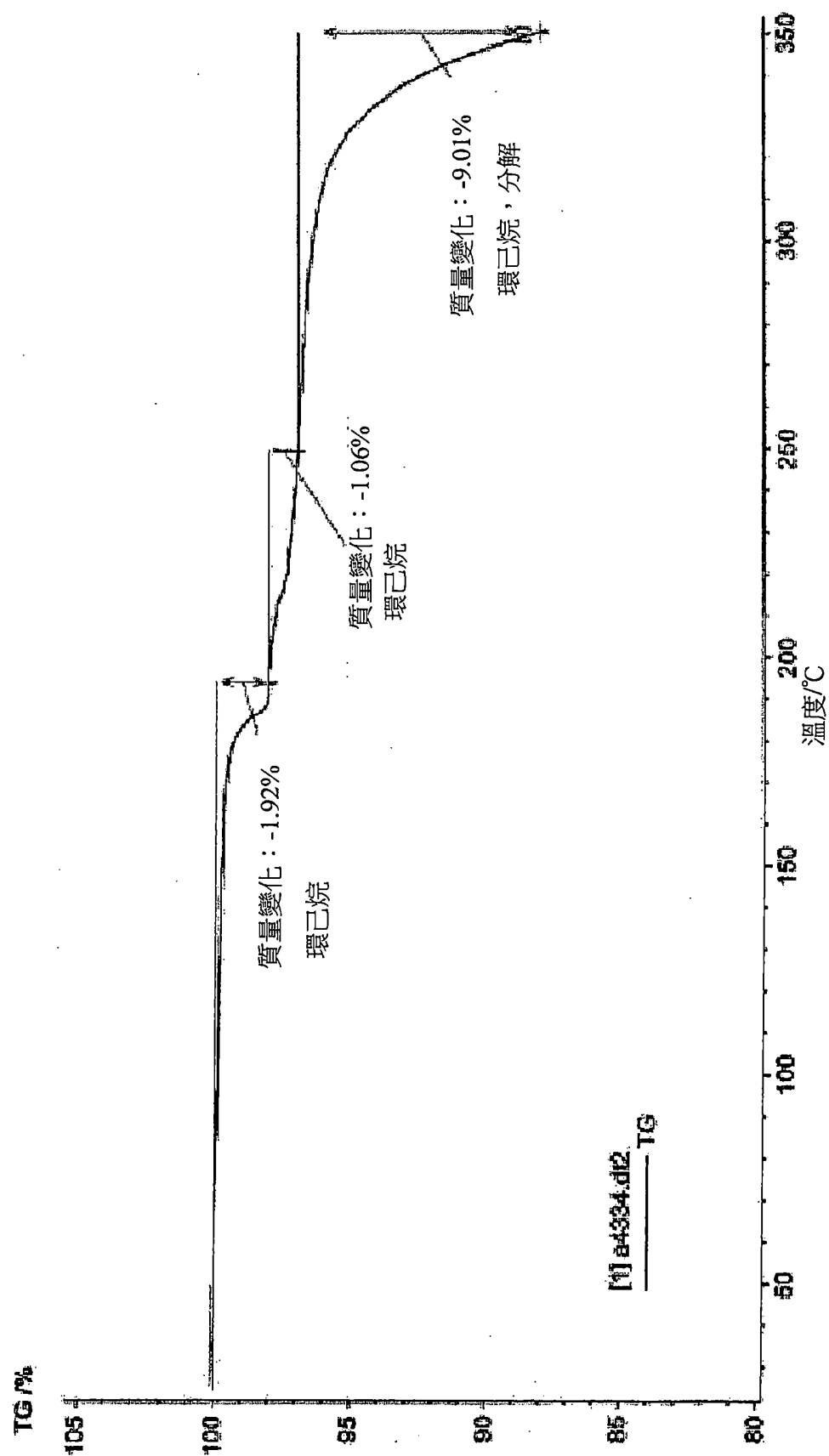


圖94

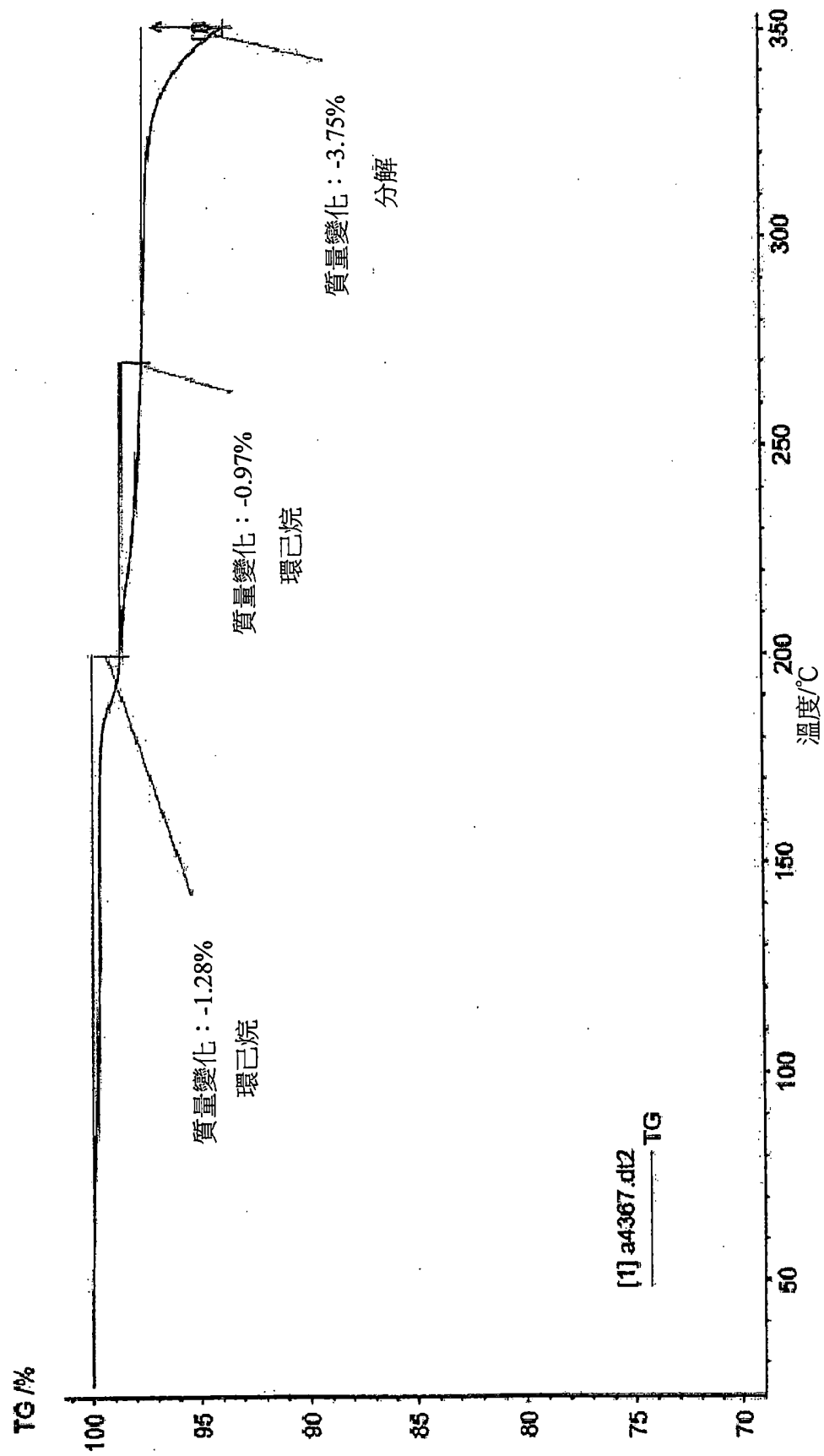


圖95

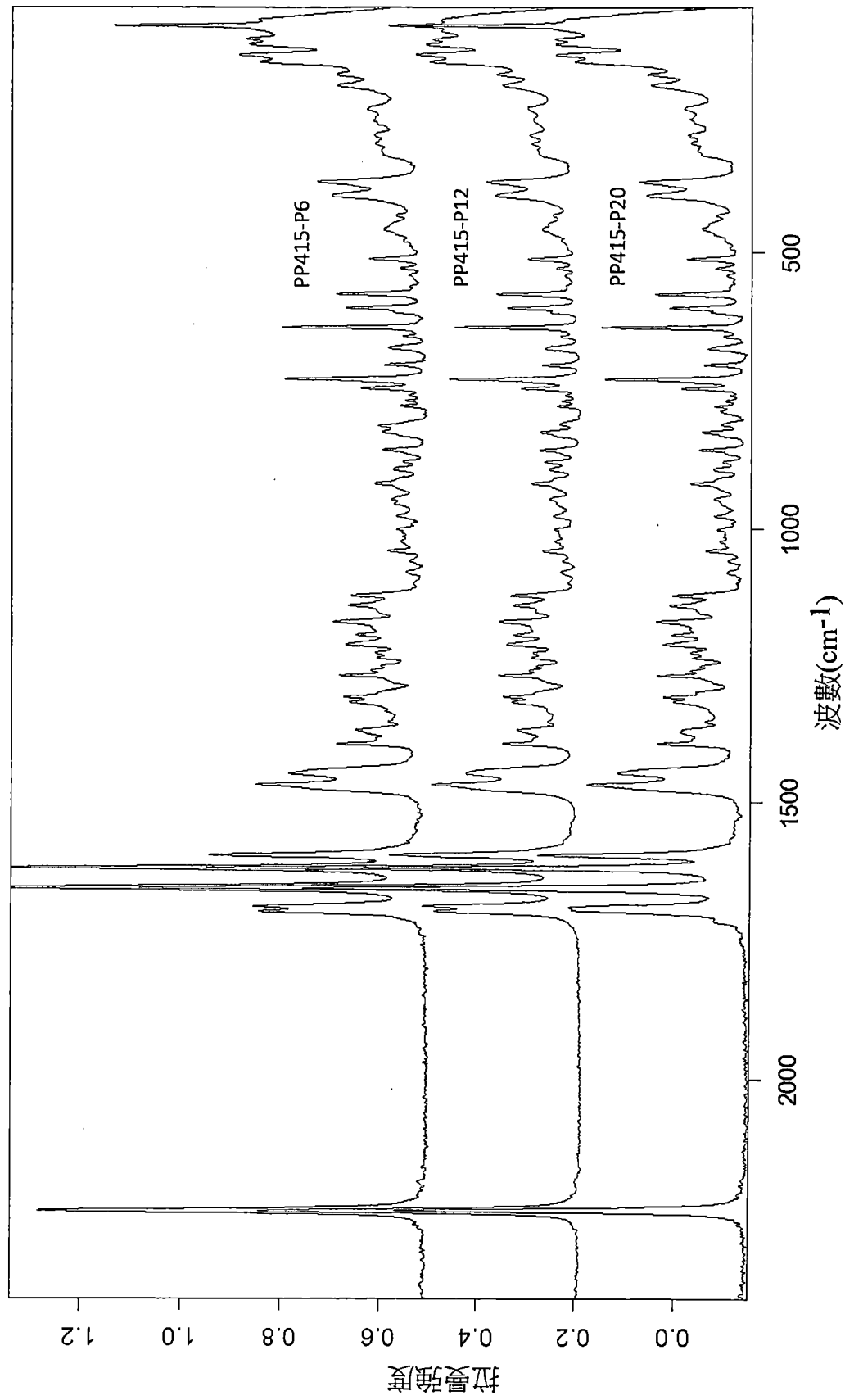


圖96

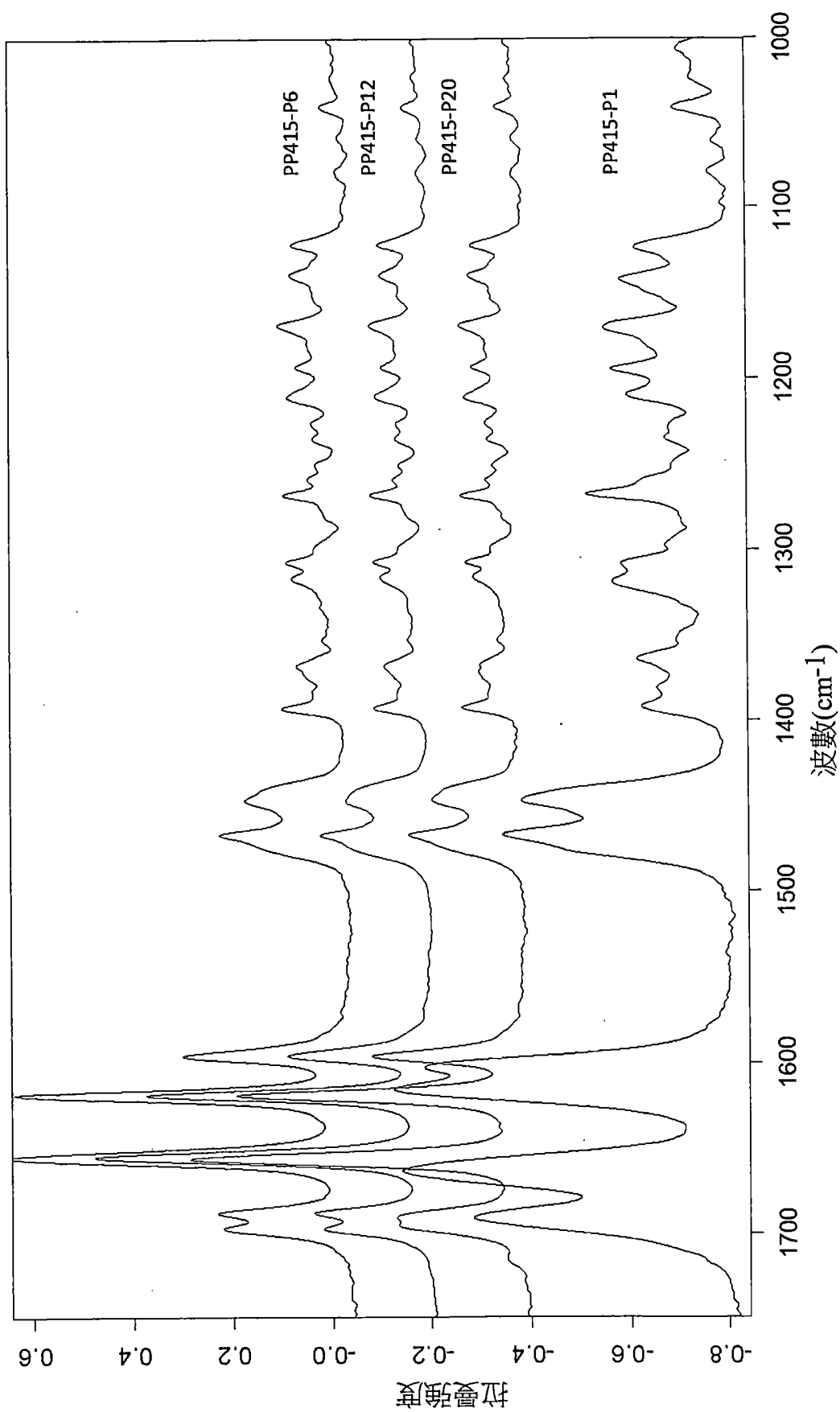


圖97

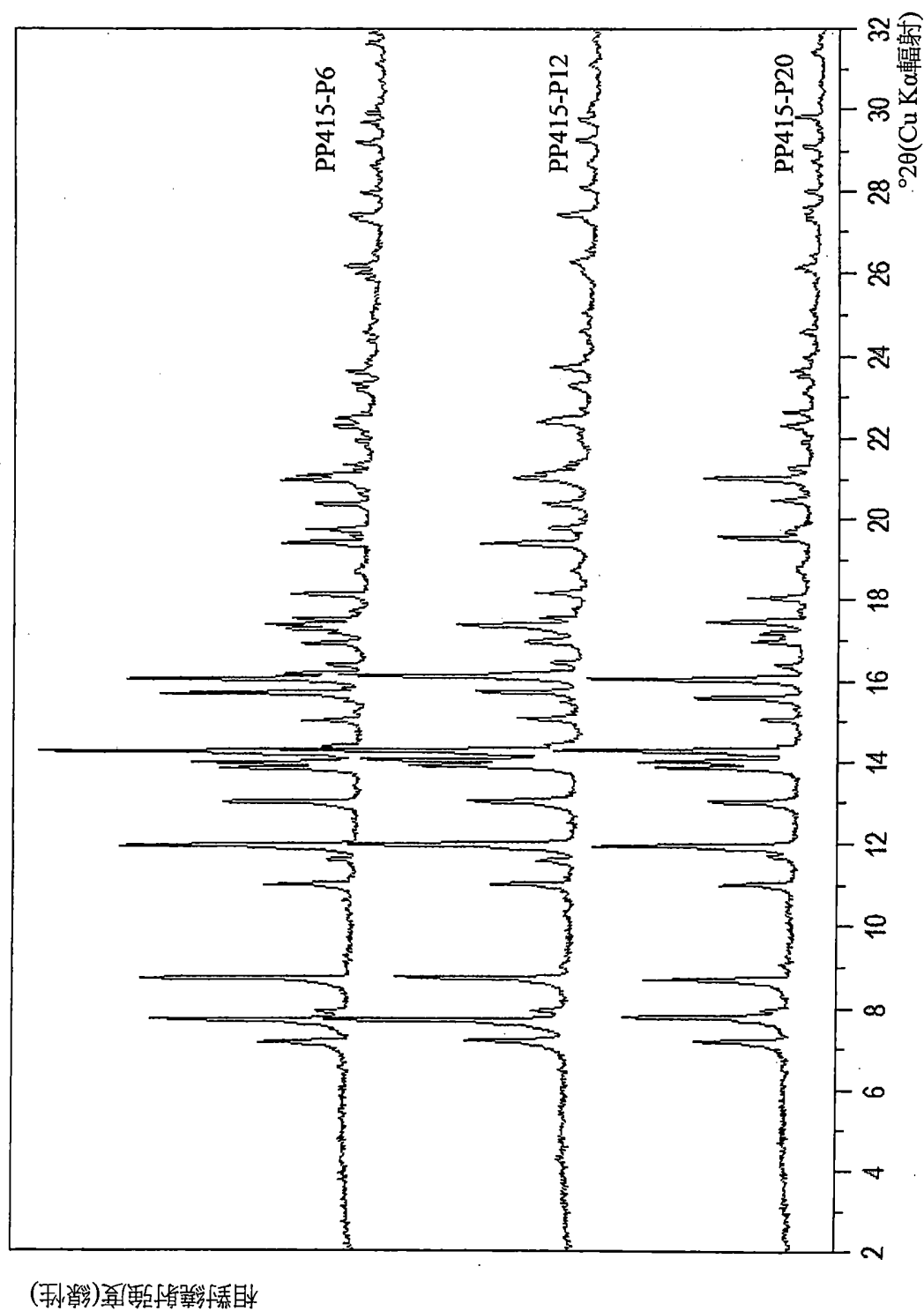


圖98

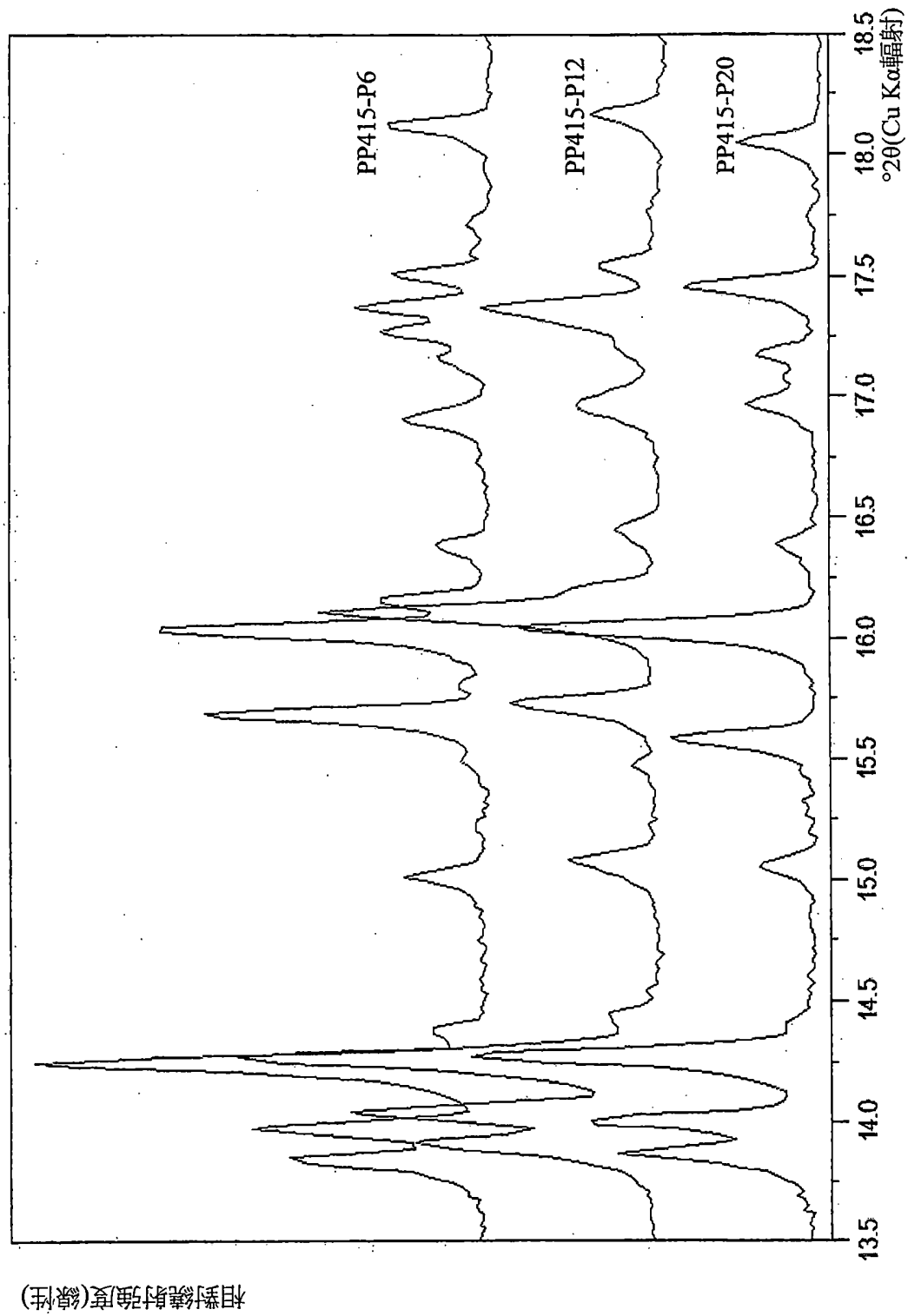


圖99

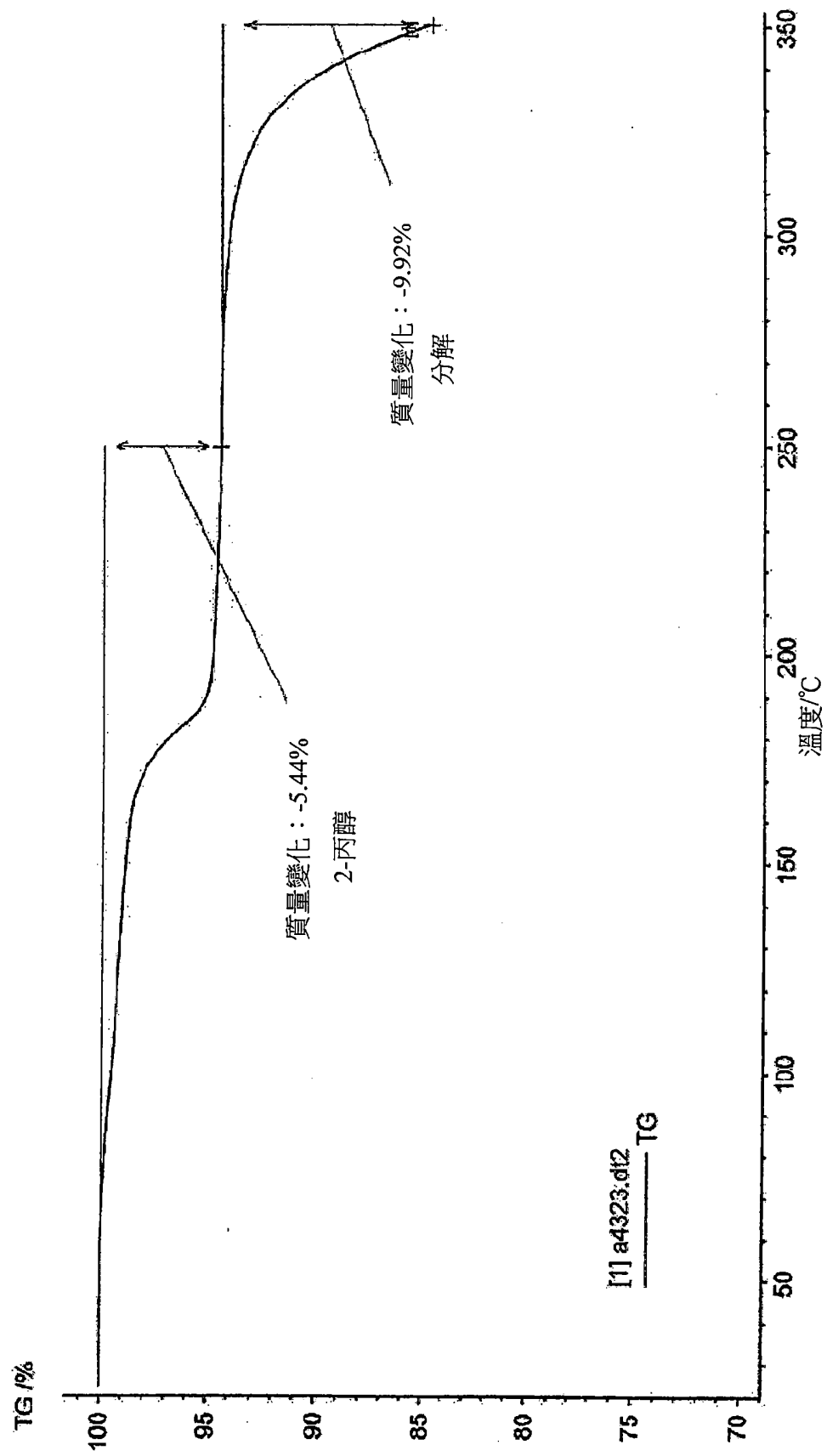


圖100

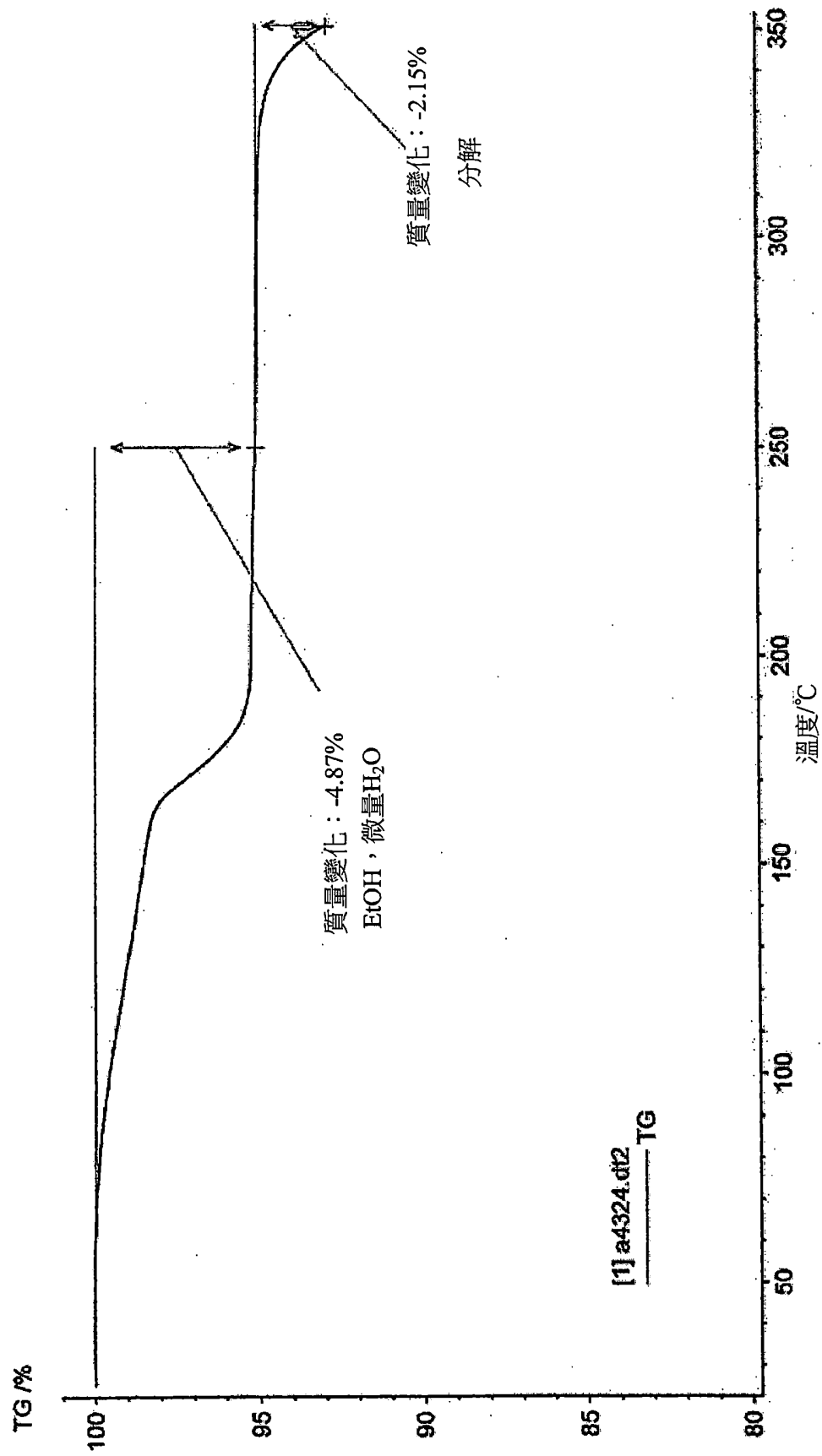


圖 101

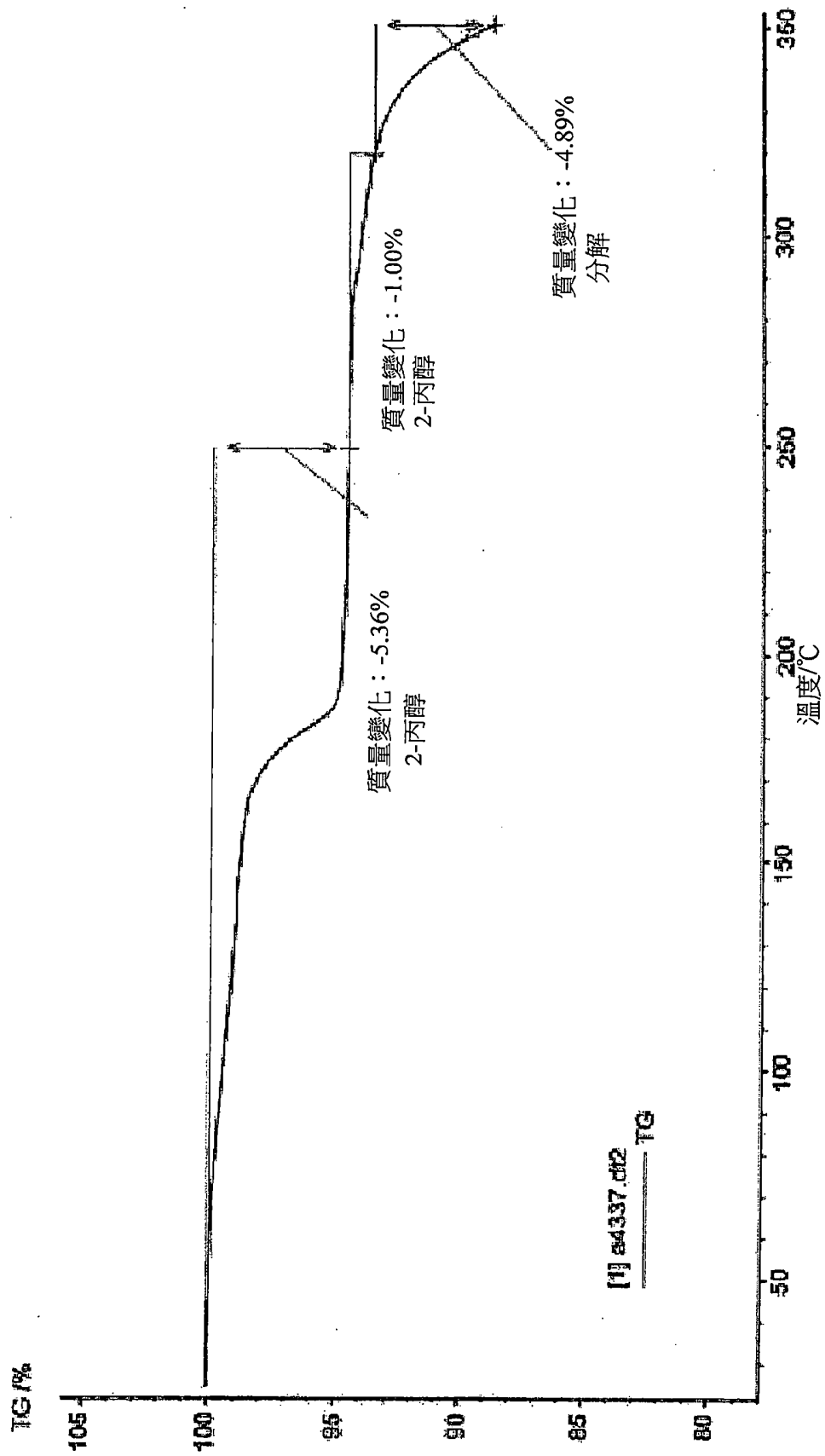


圖102

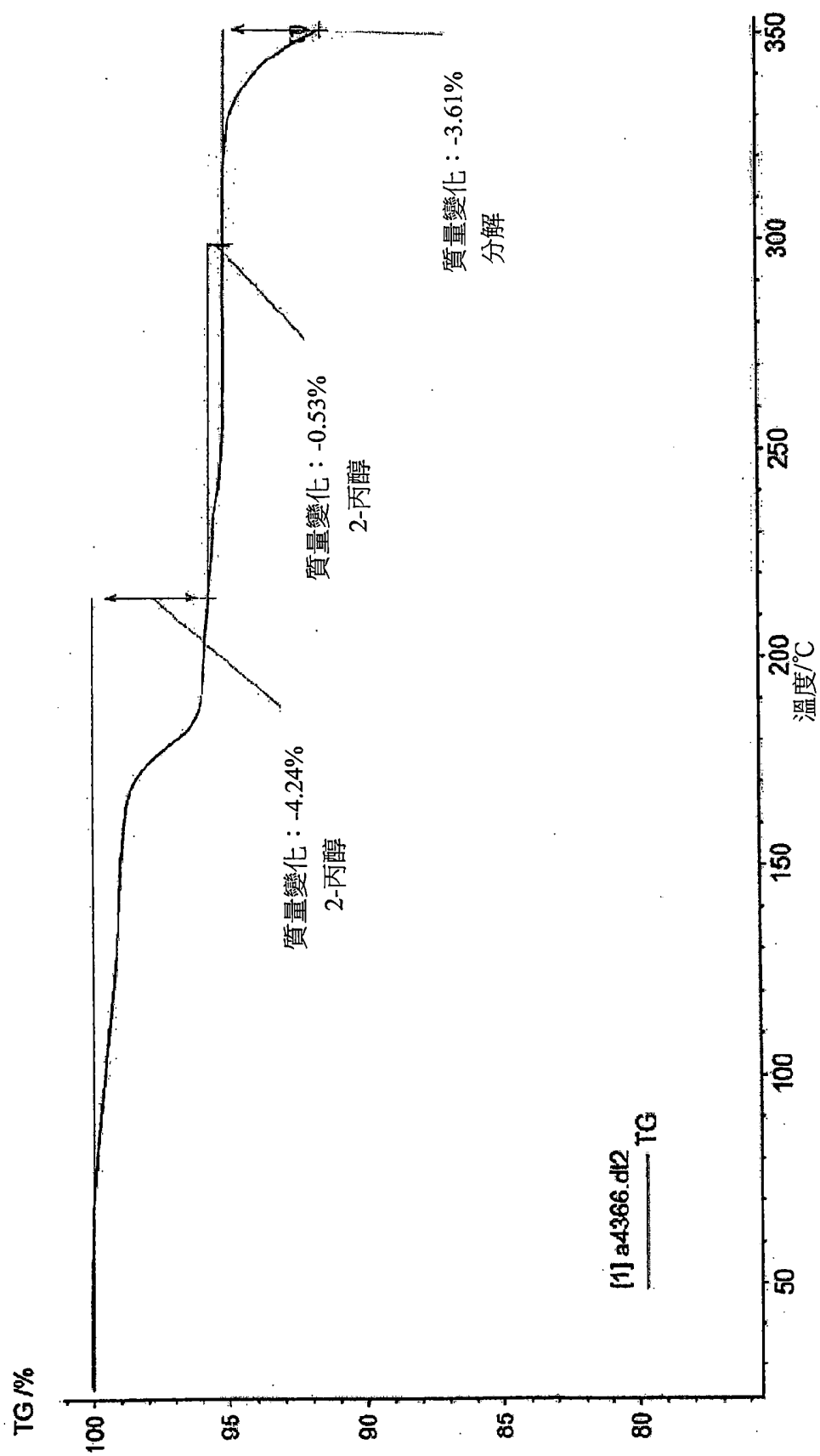


圖103

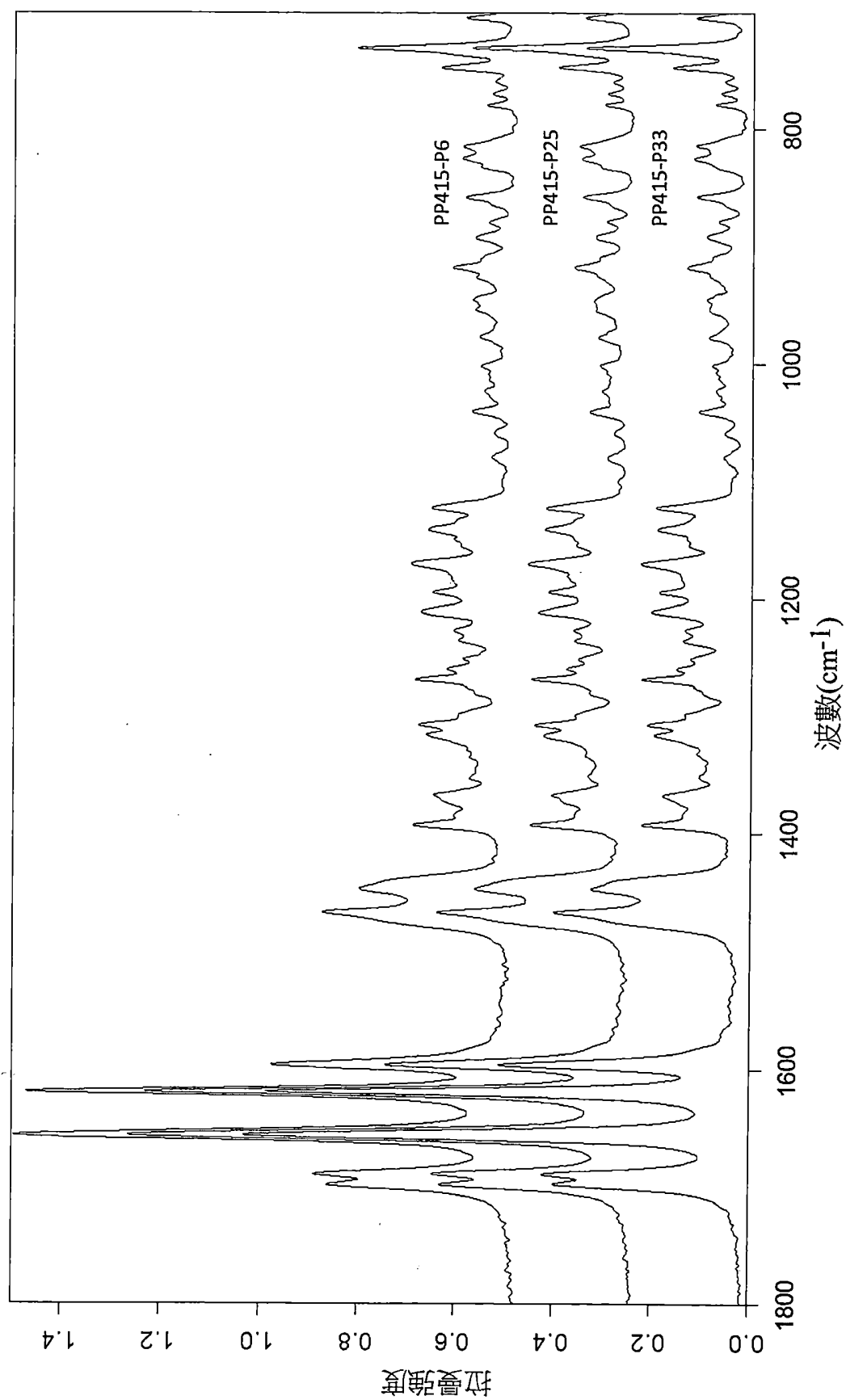


圖104

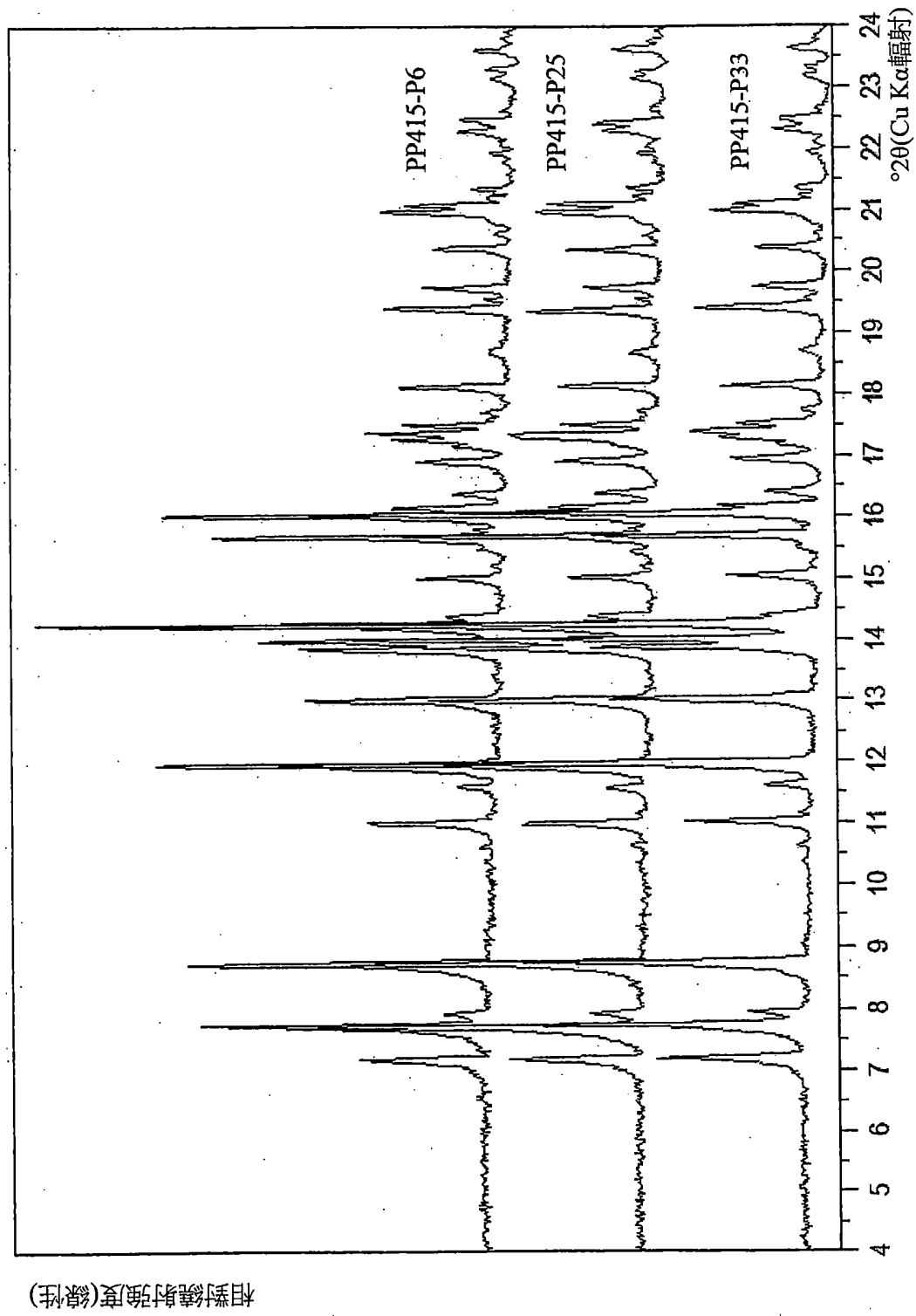


圖105

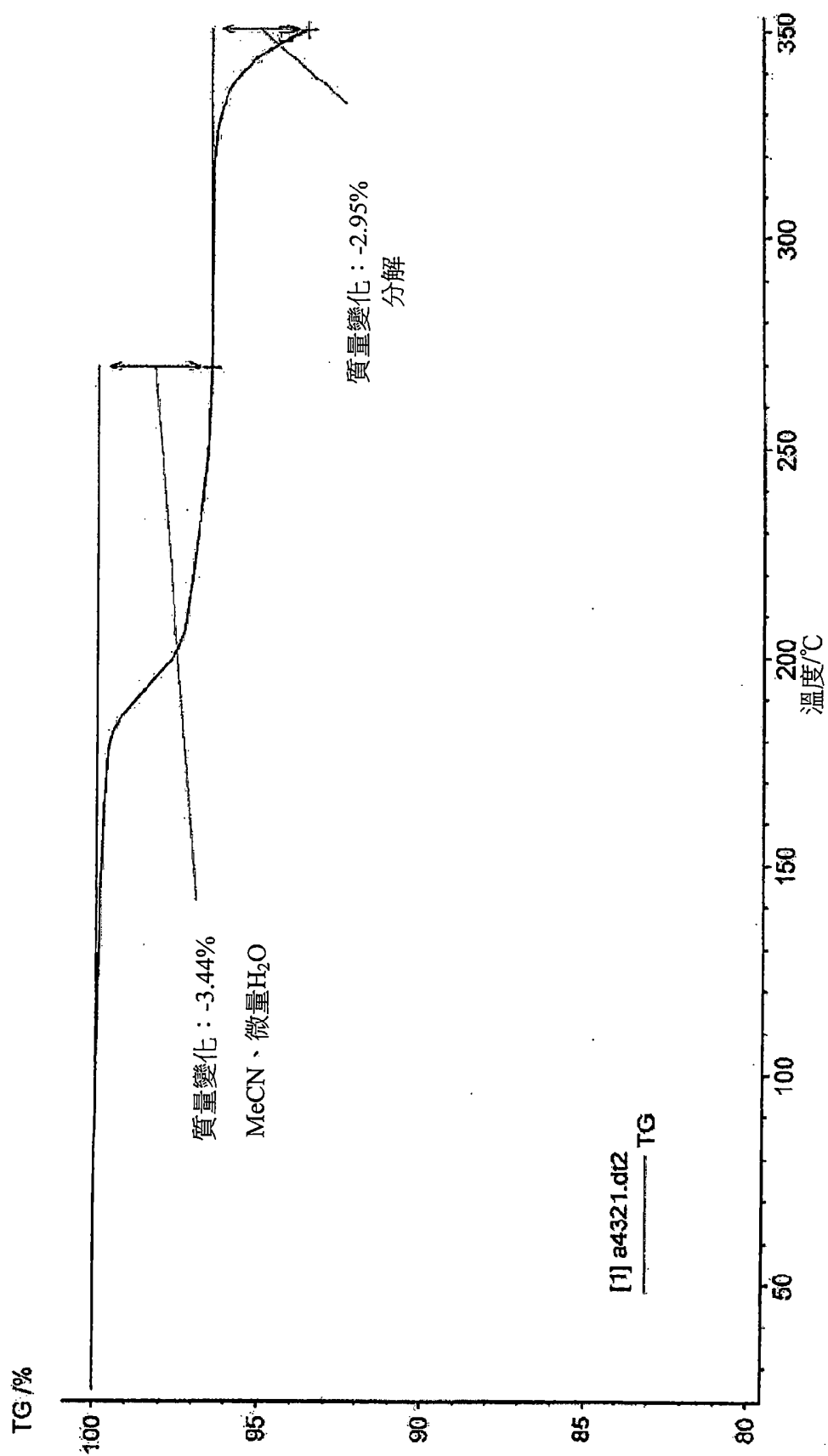


圖106

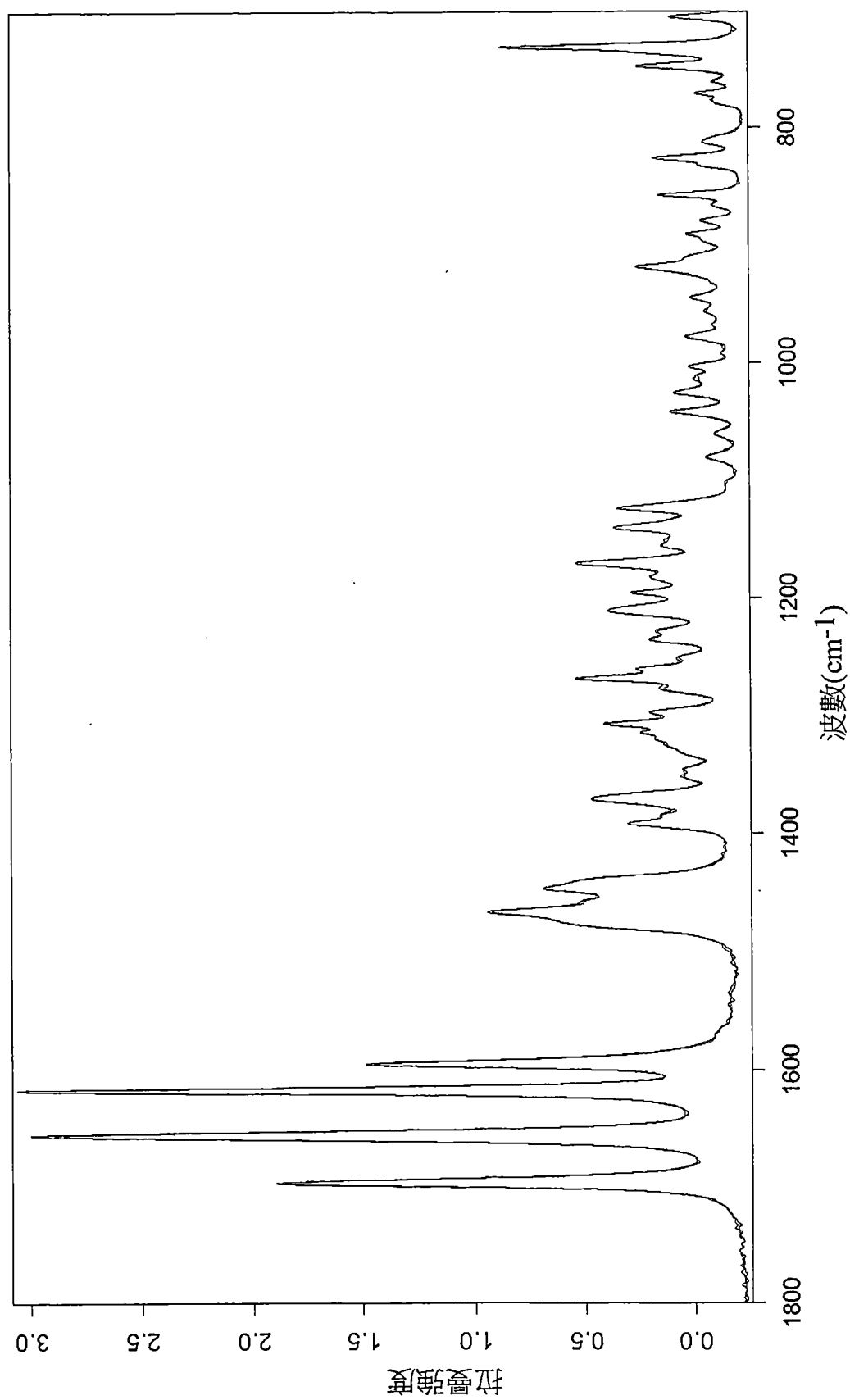


圖107

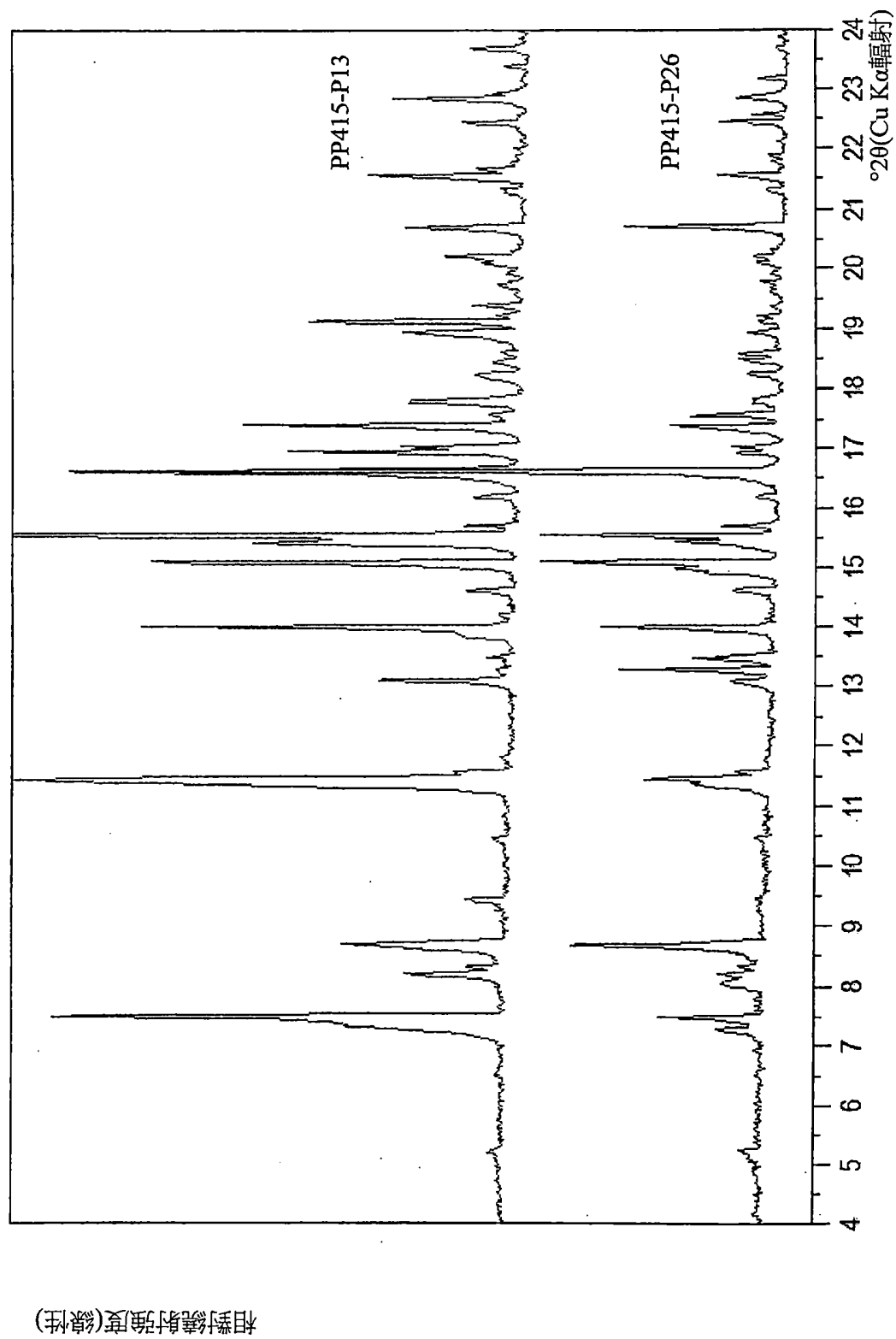


圖 108

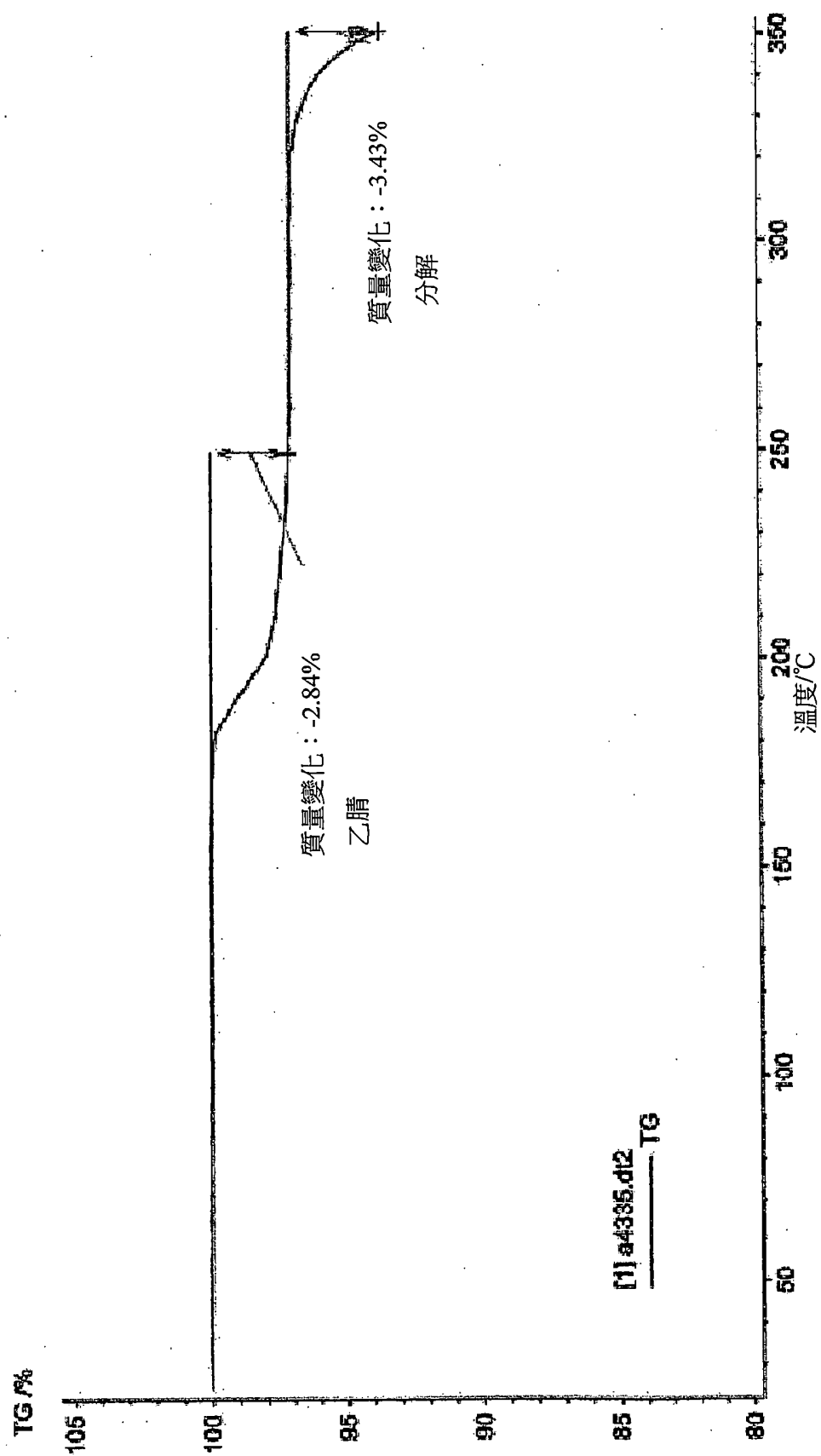


圖109

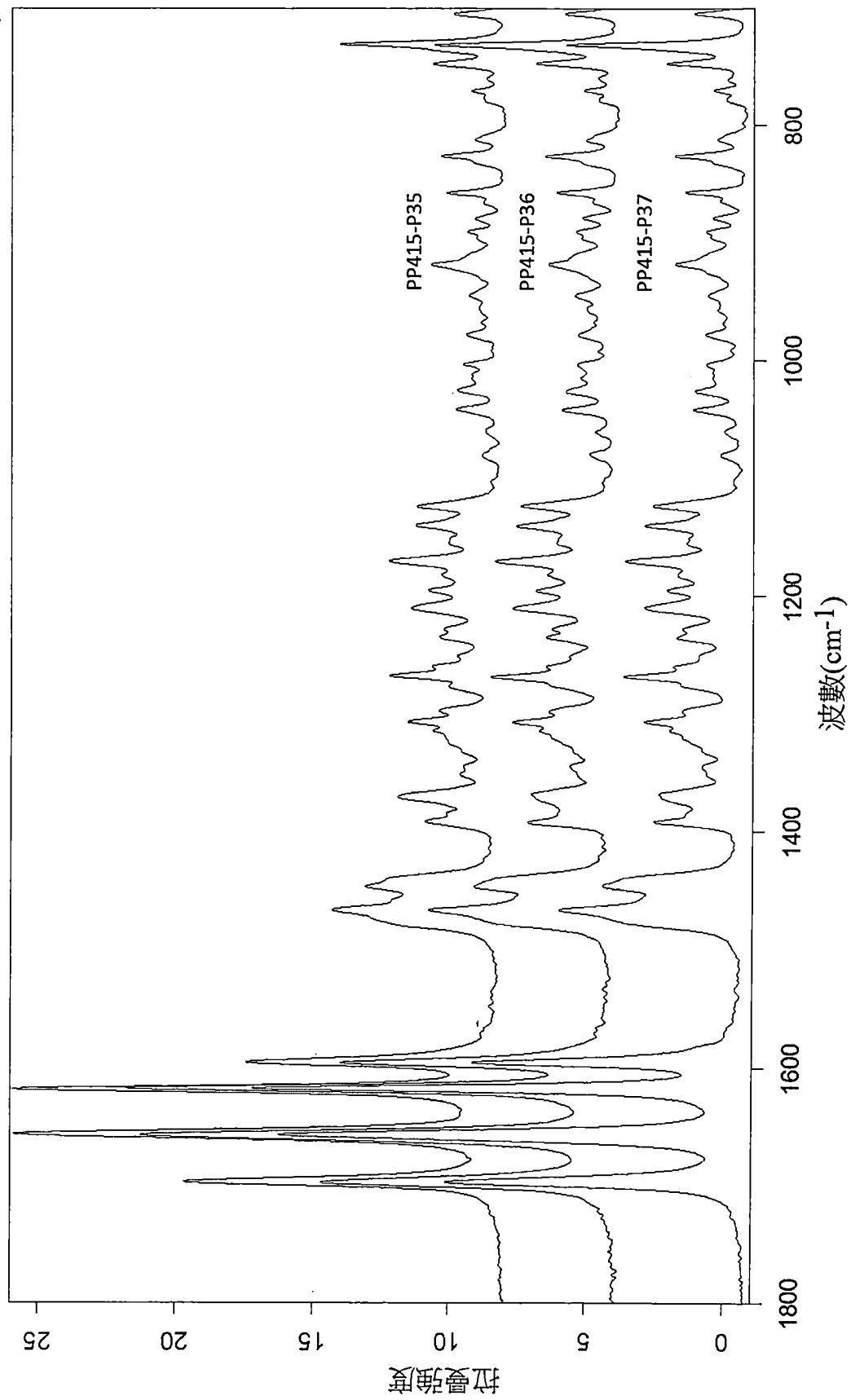


圖 110

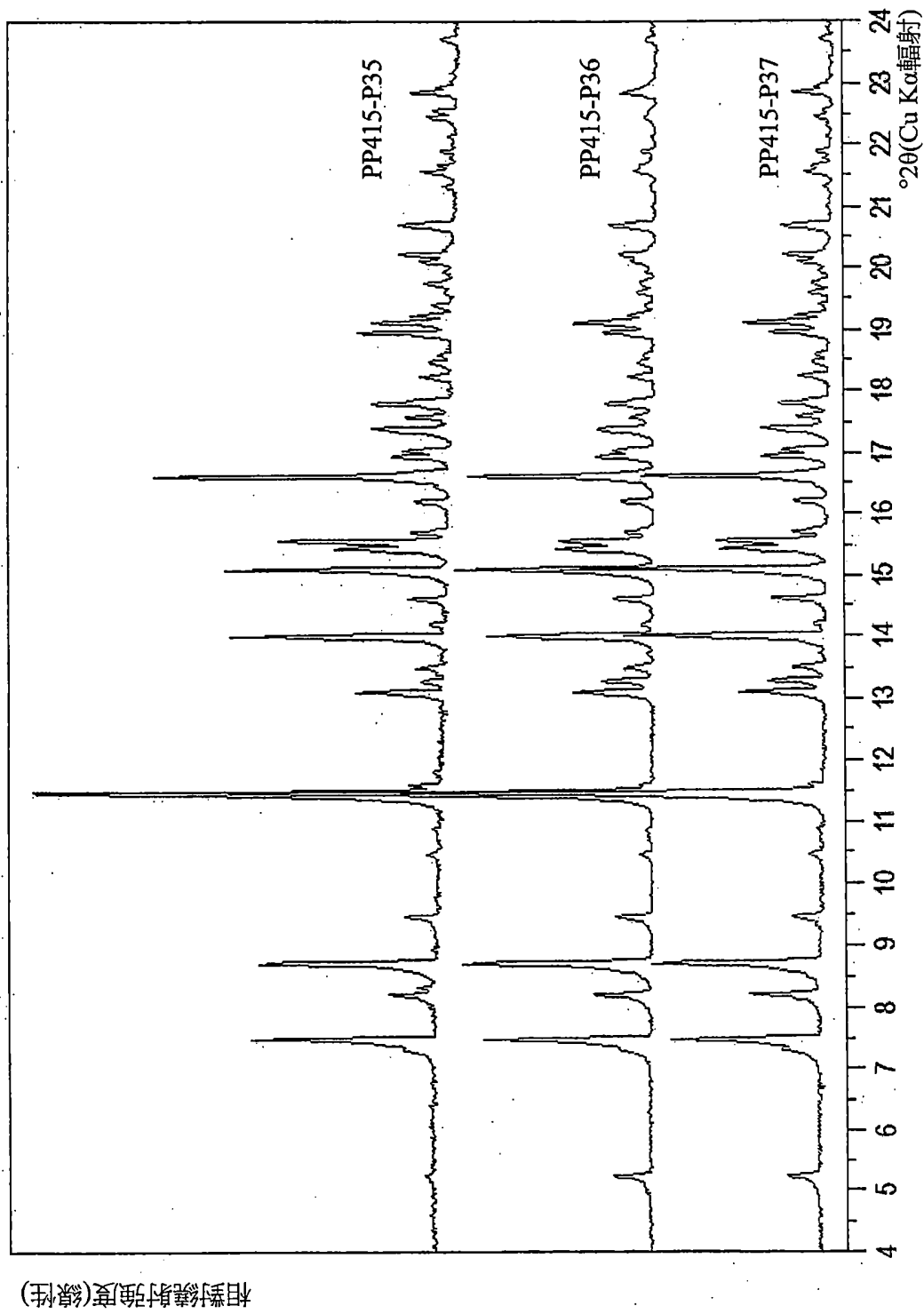


圖111

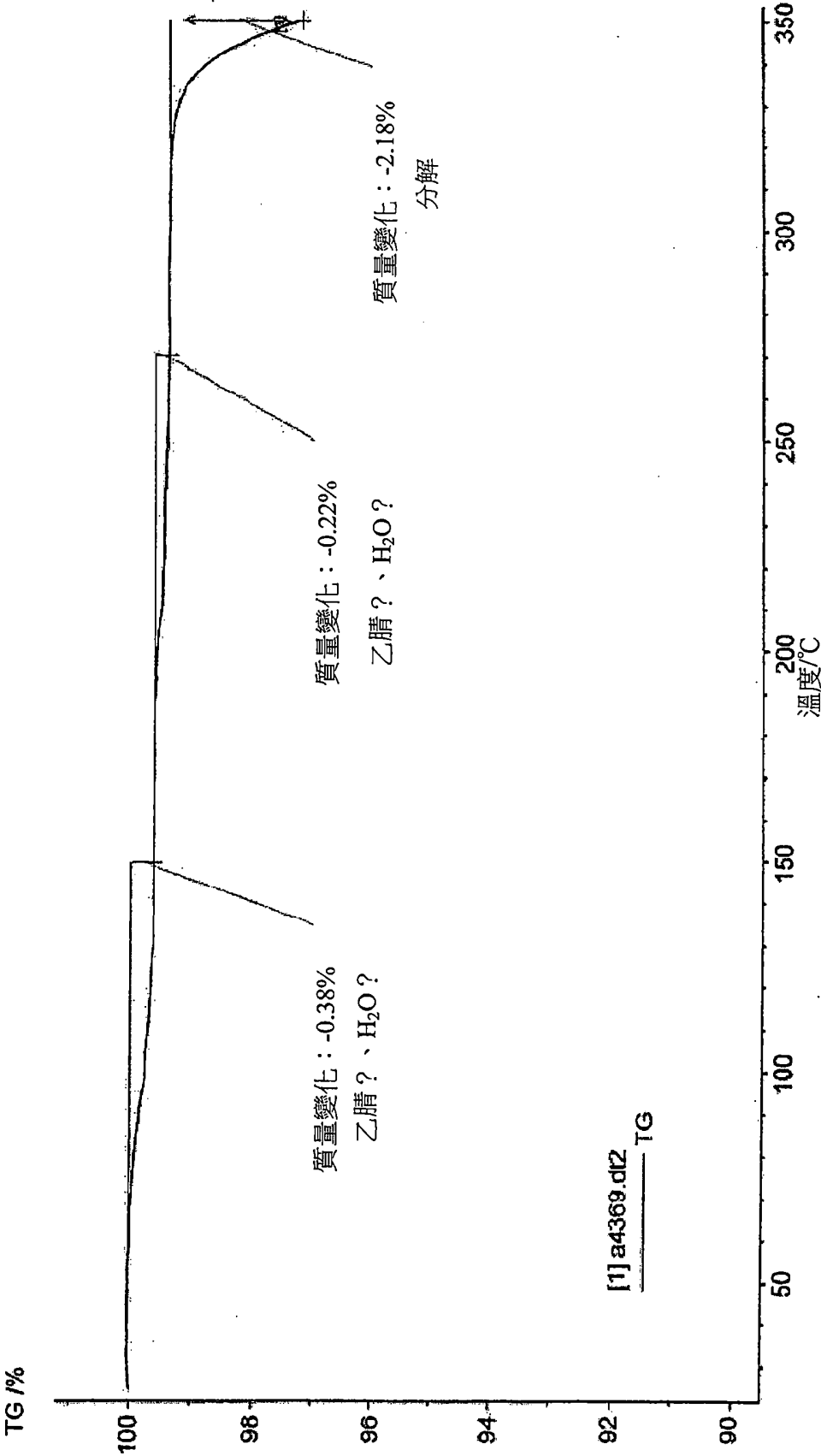


圖112

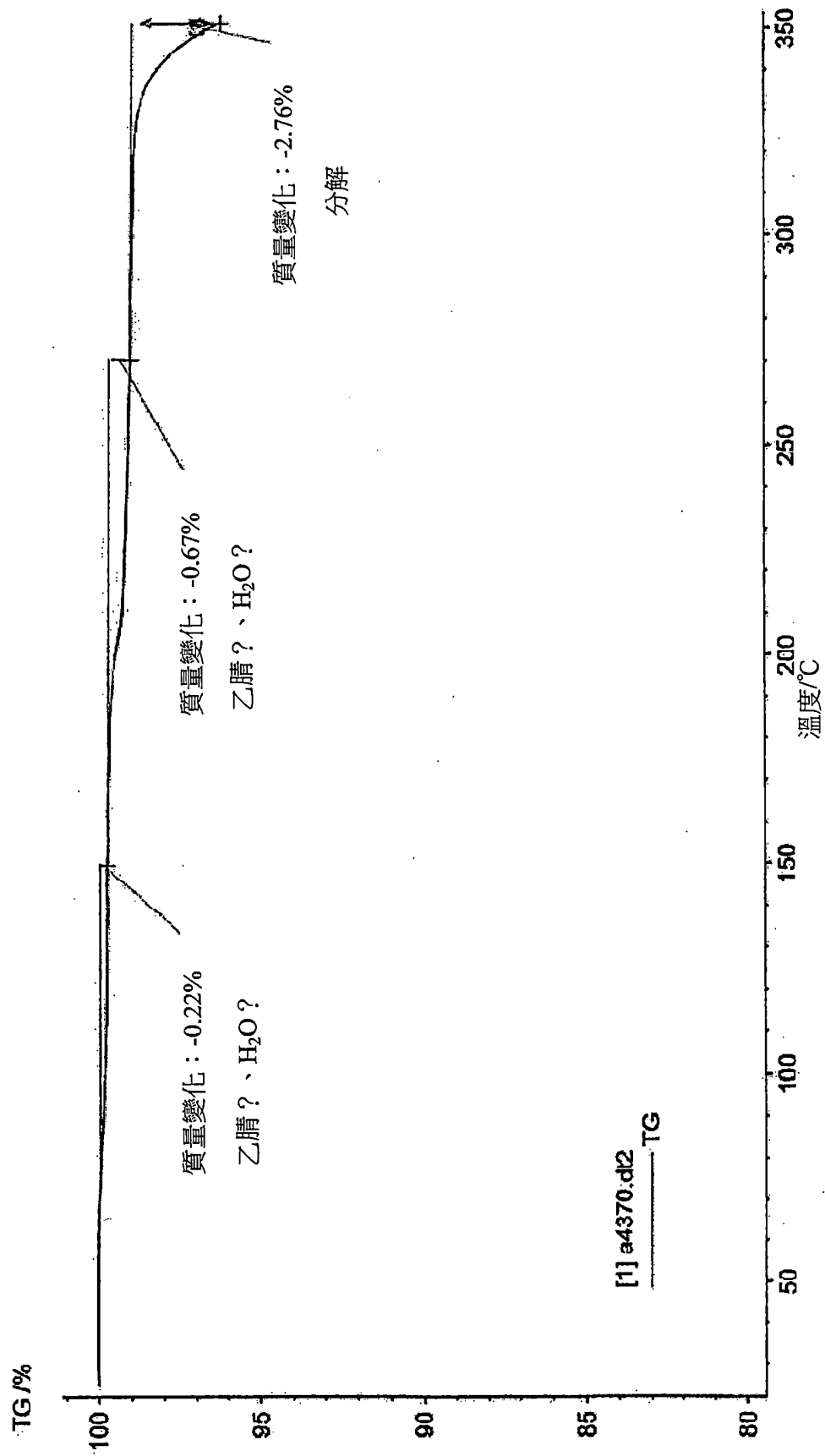


圖113

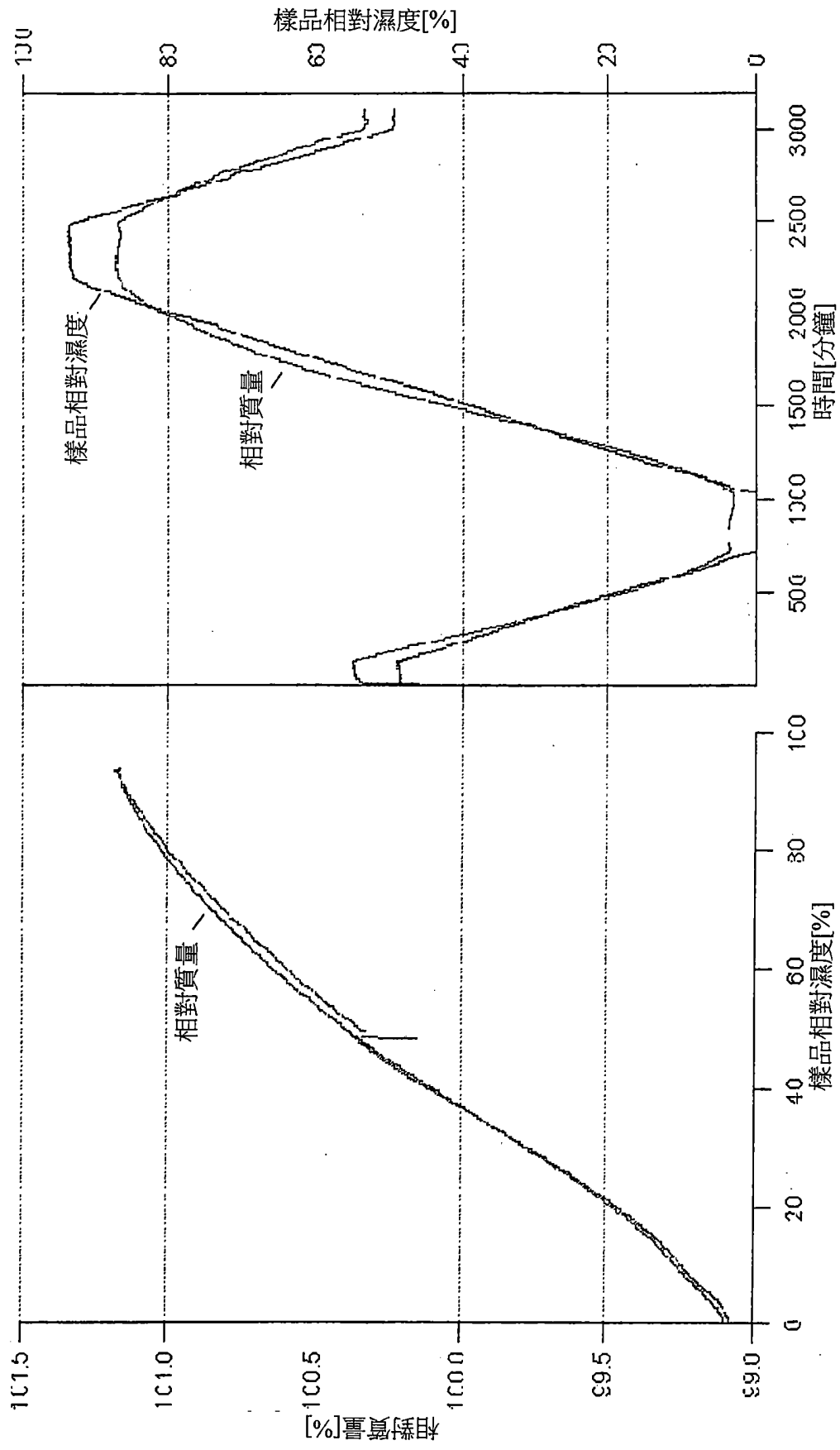


圖114

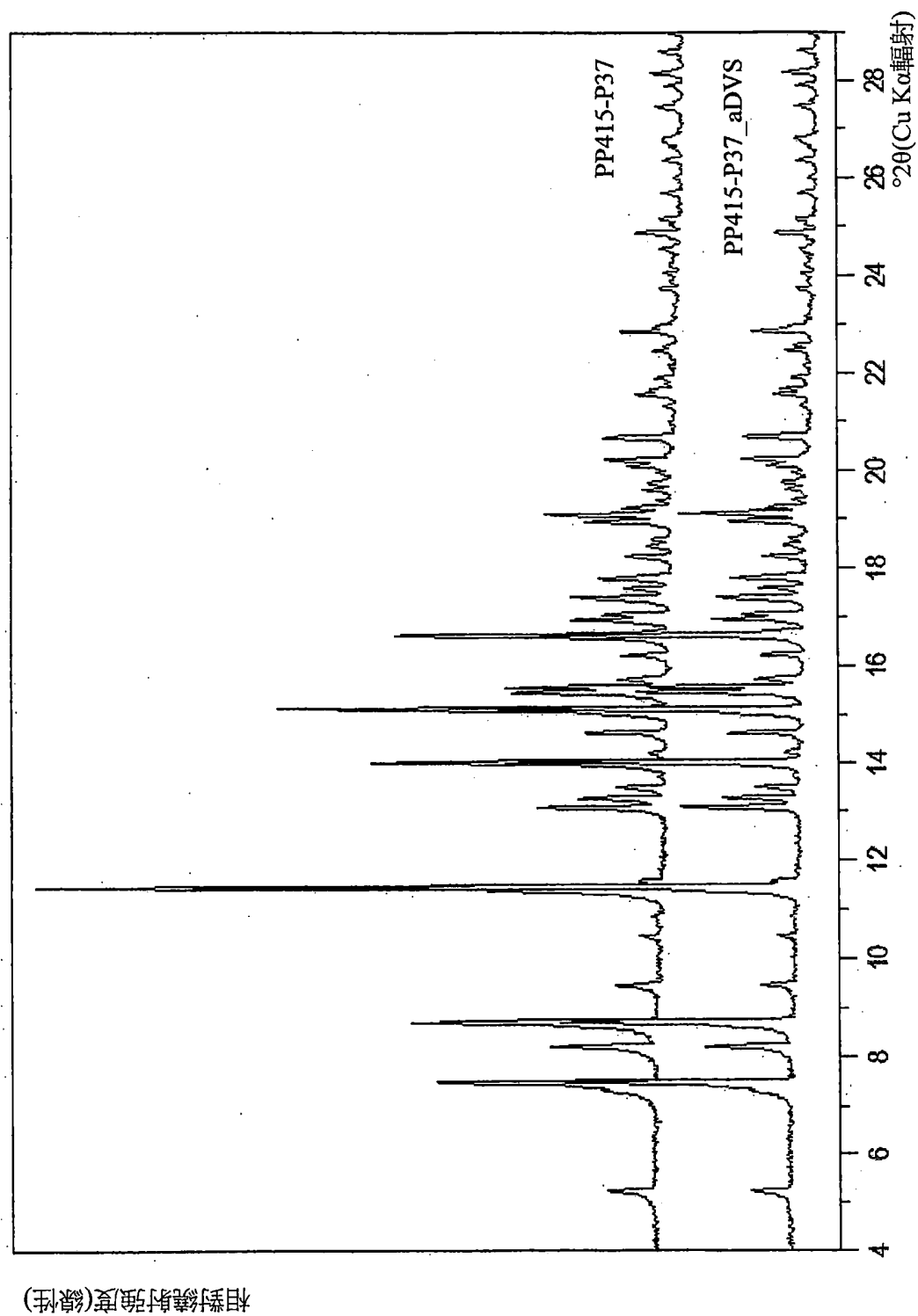


圖 115

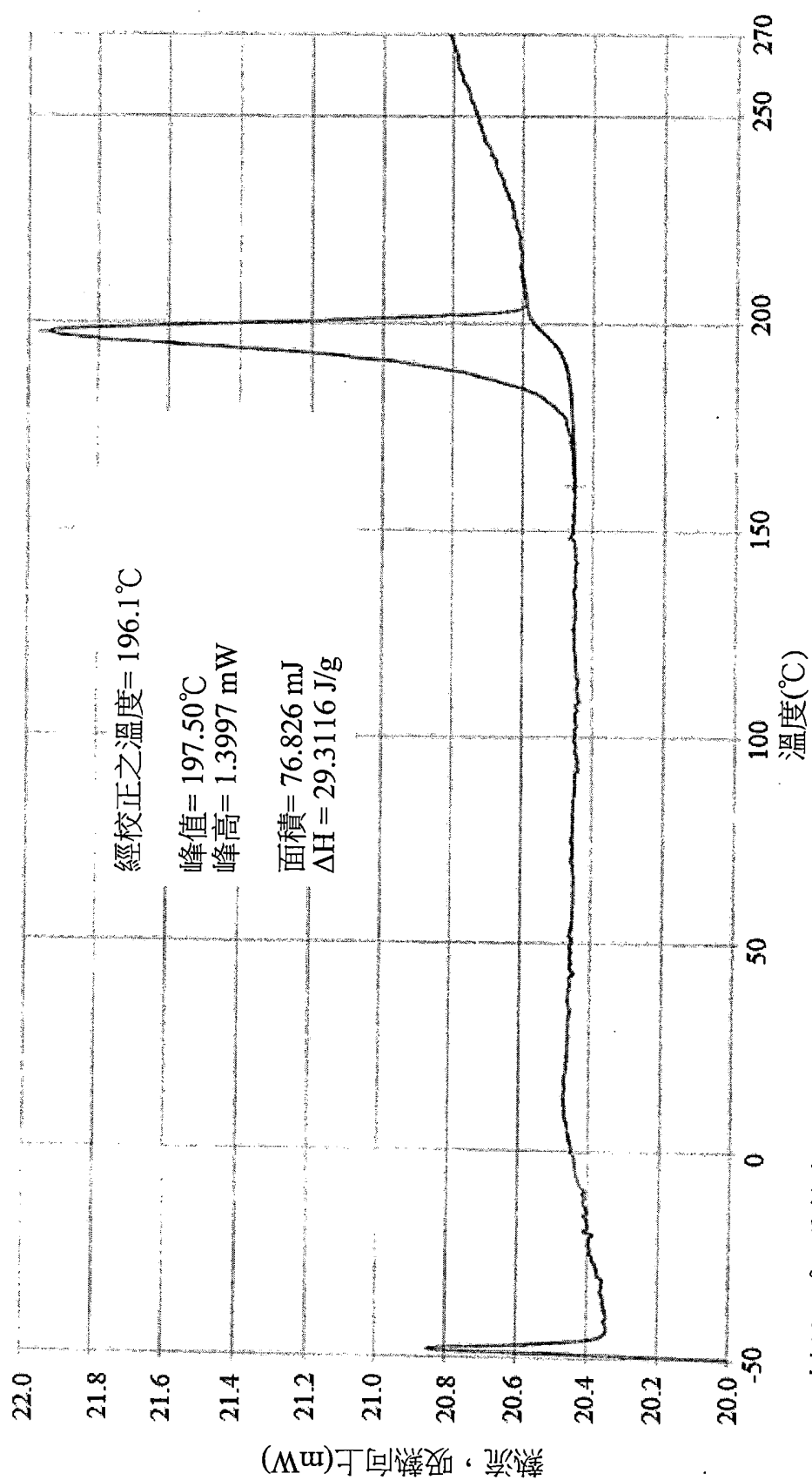
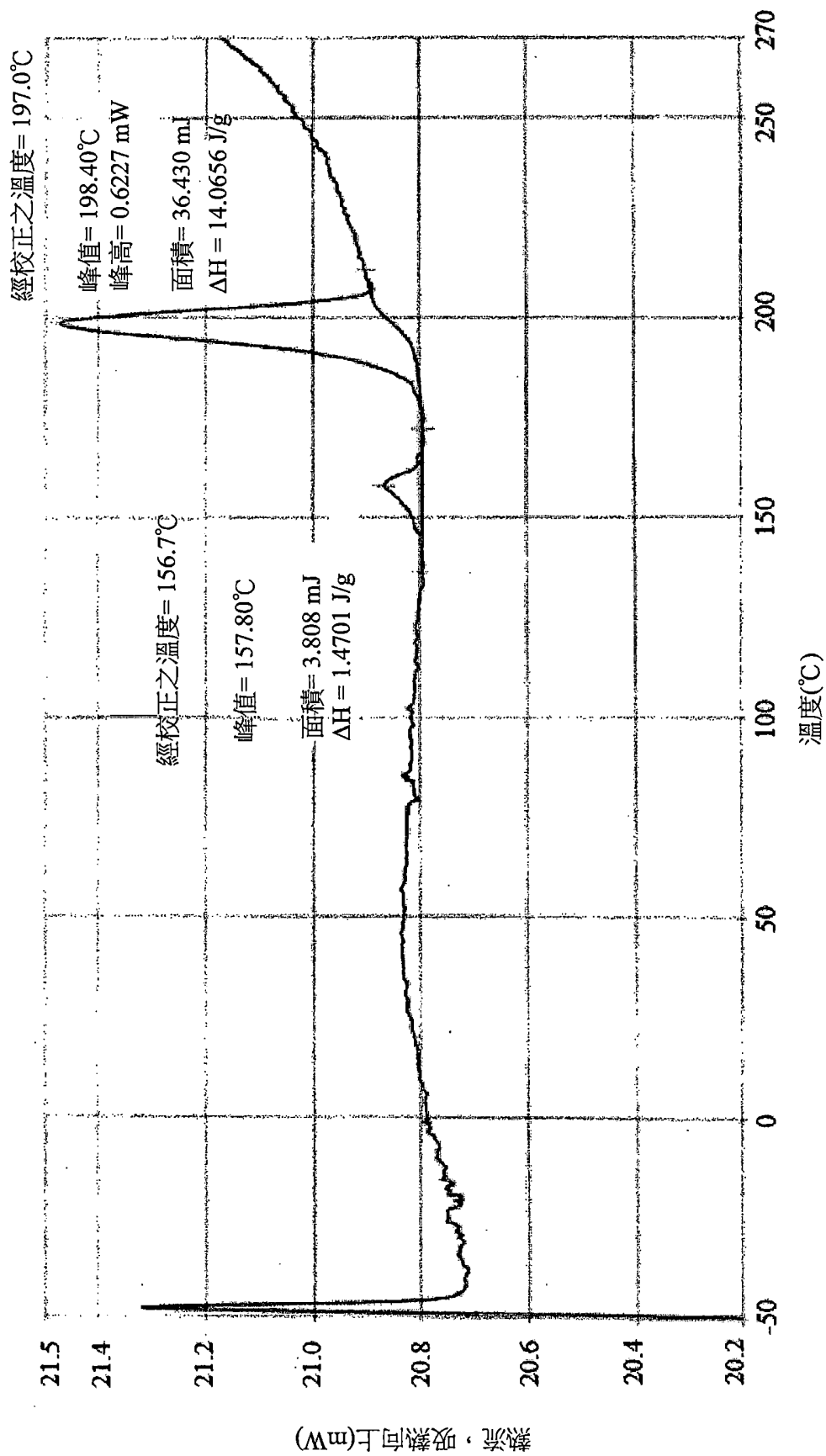
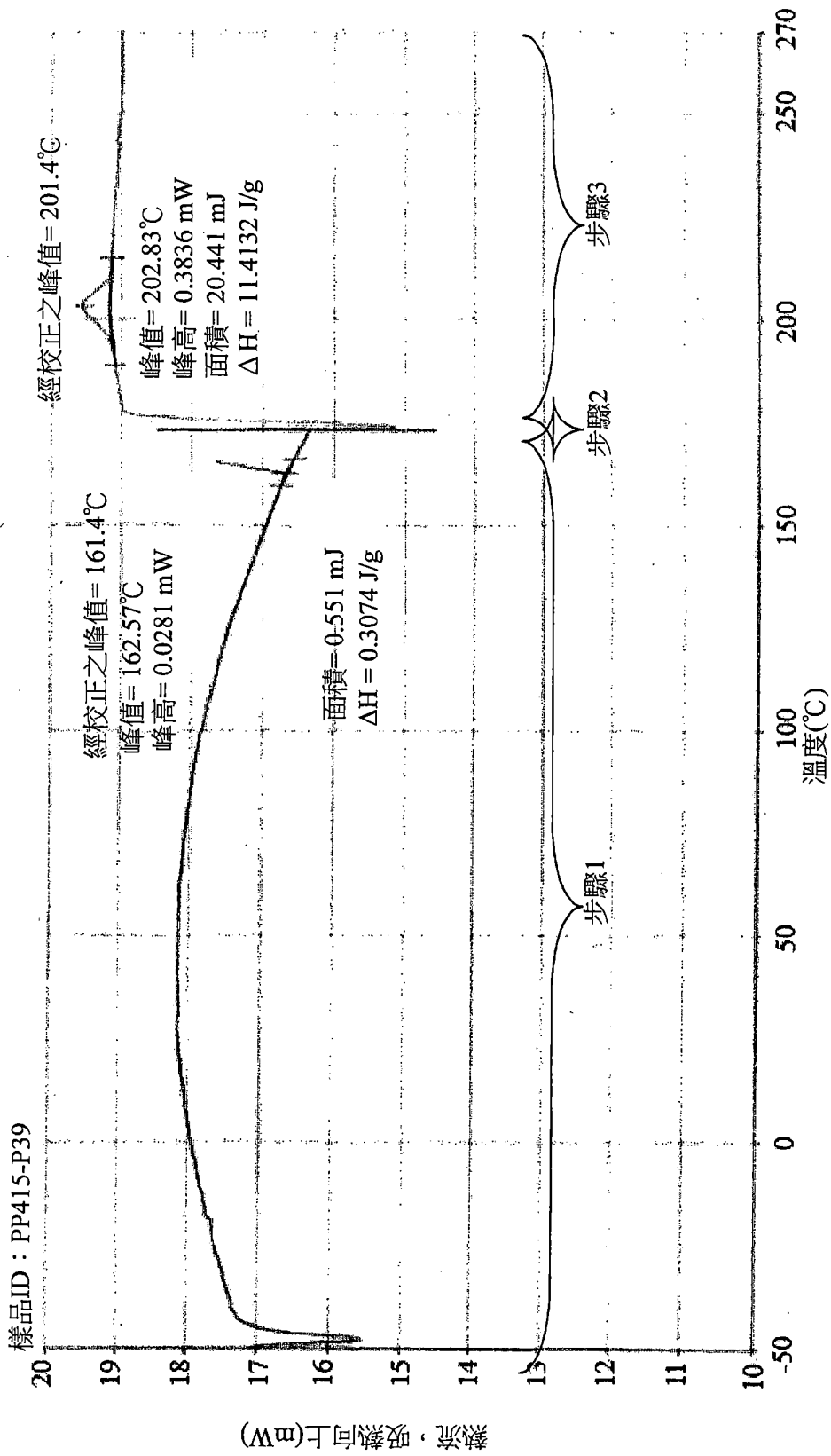


圖116



以10.00°C/分鐘自-50.00°C加熱至270.00°C

圖117



- 1) 以10.00°C/分鐘自-50.00°C加熱至173.00°C
- 2) 在173.00°C下保持30.0分鐘
- 3) 以10.00°C/分鐘自173.00°C加熱至270.00°C

圖118

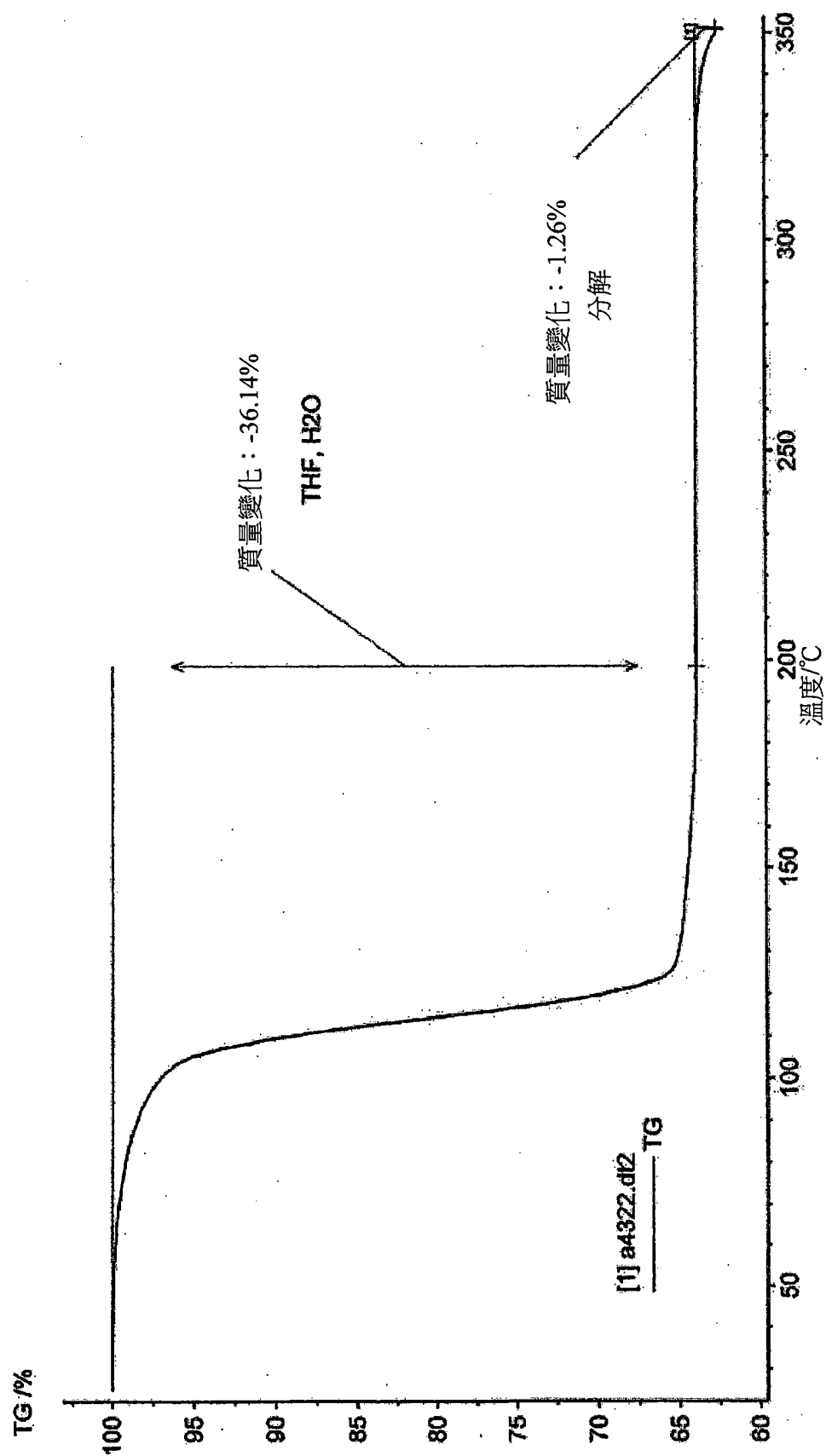


圖119

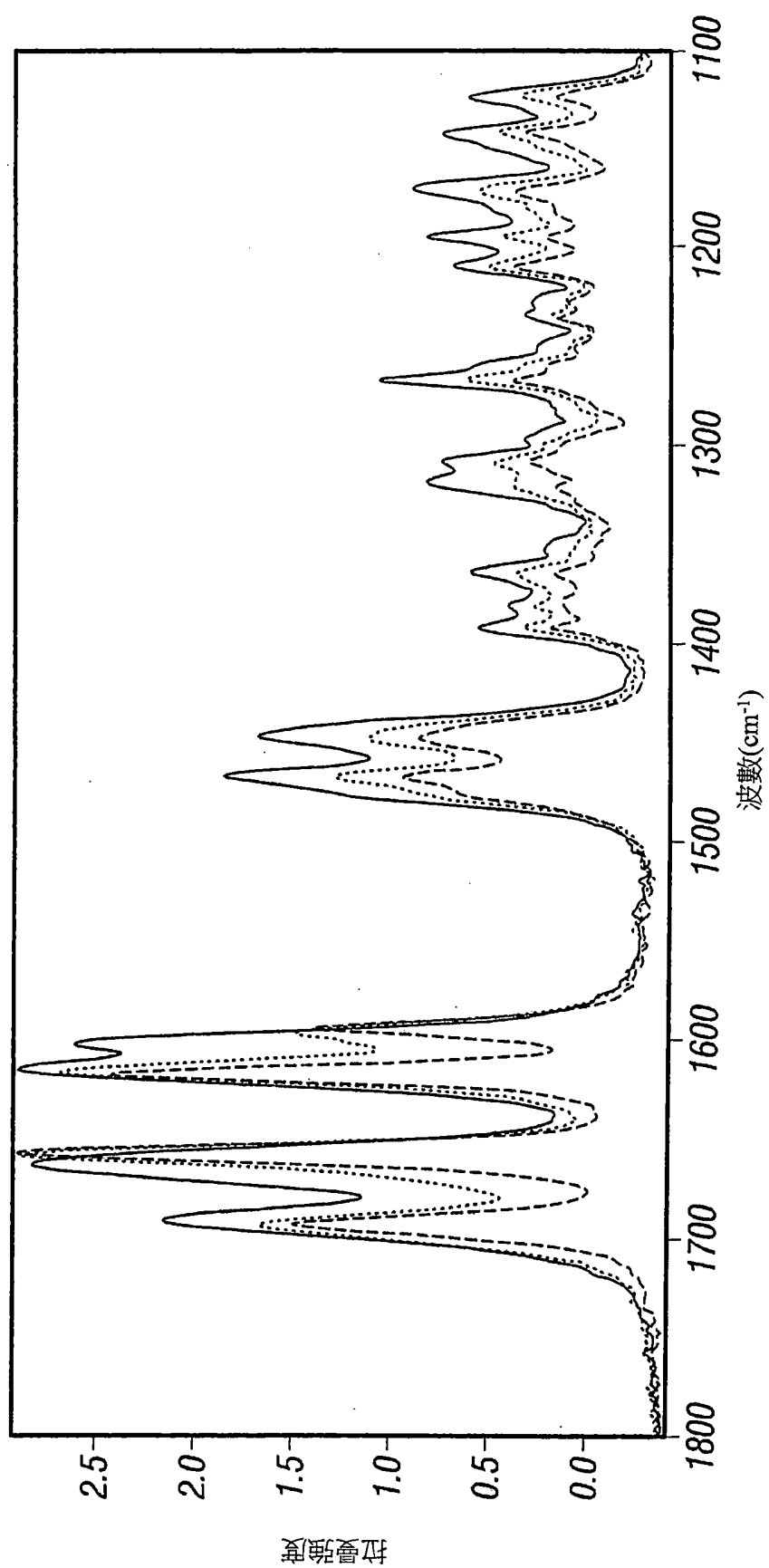


圖120

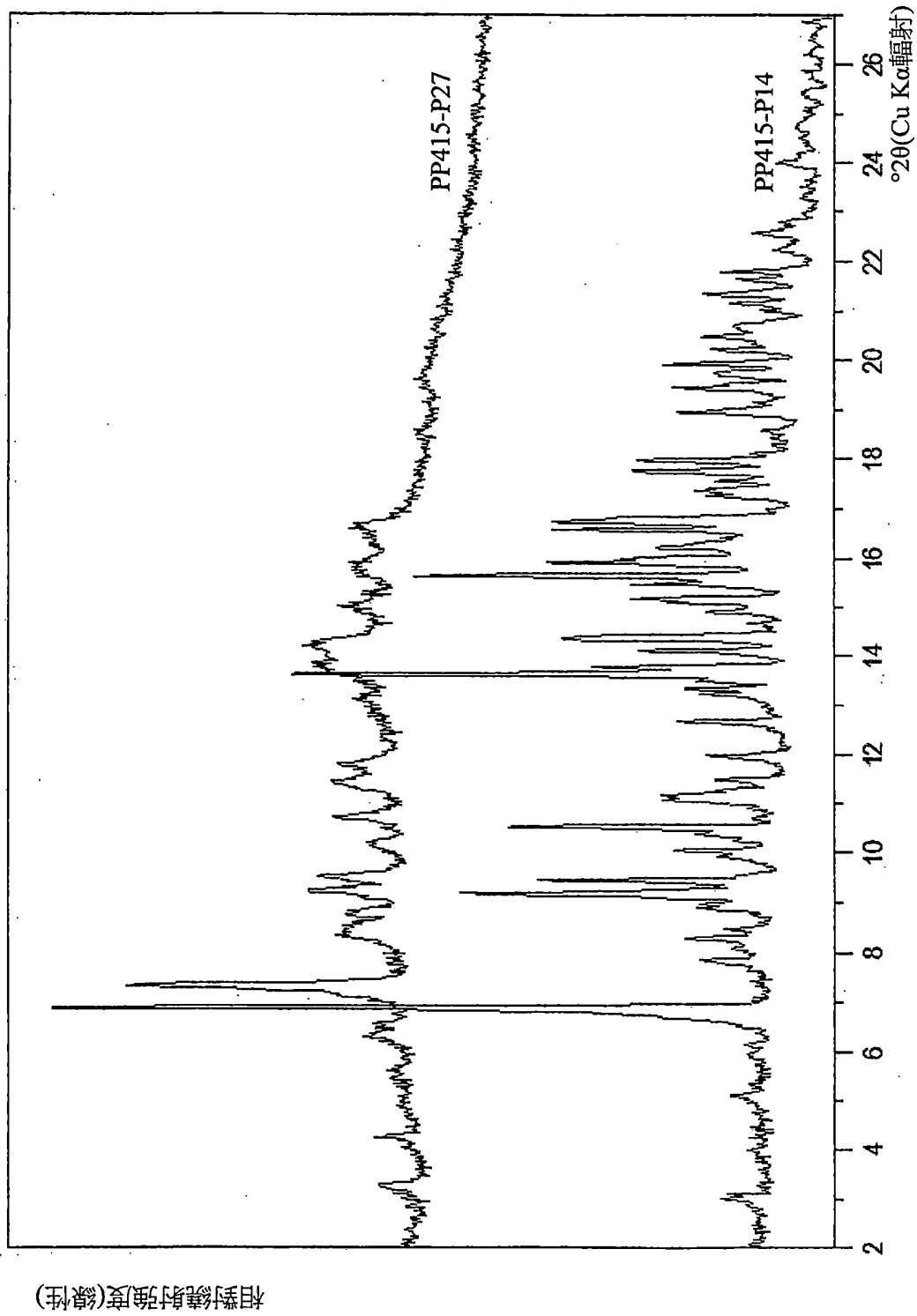


圖 121

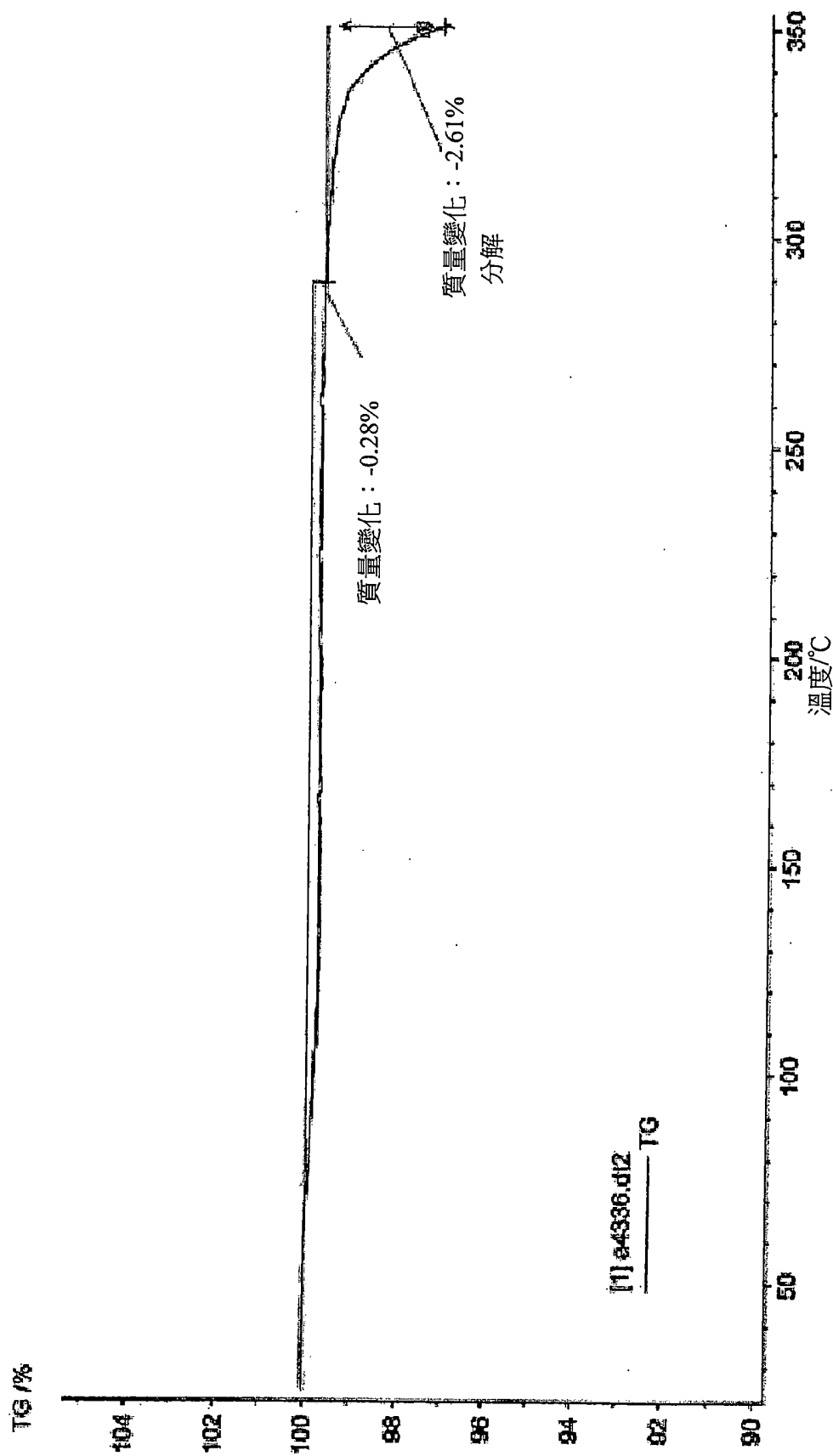


圖122

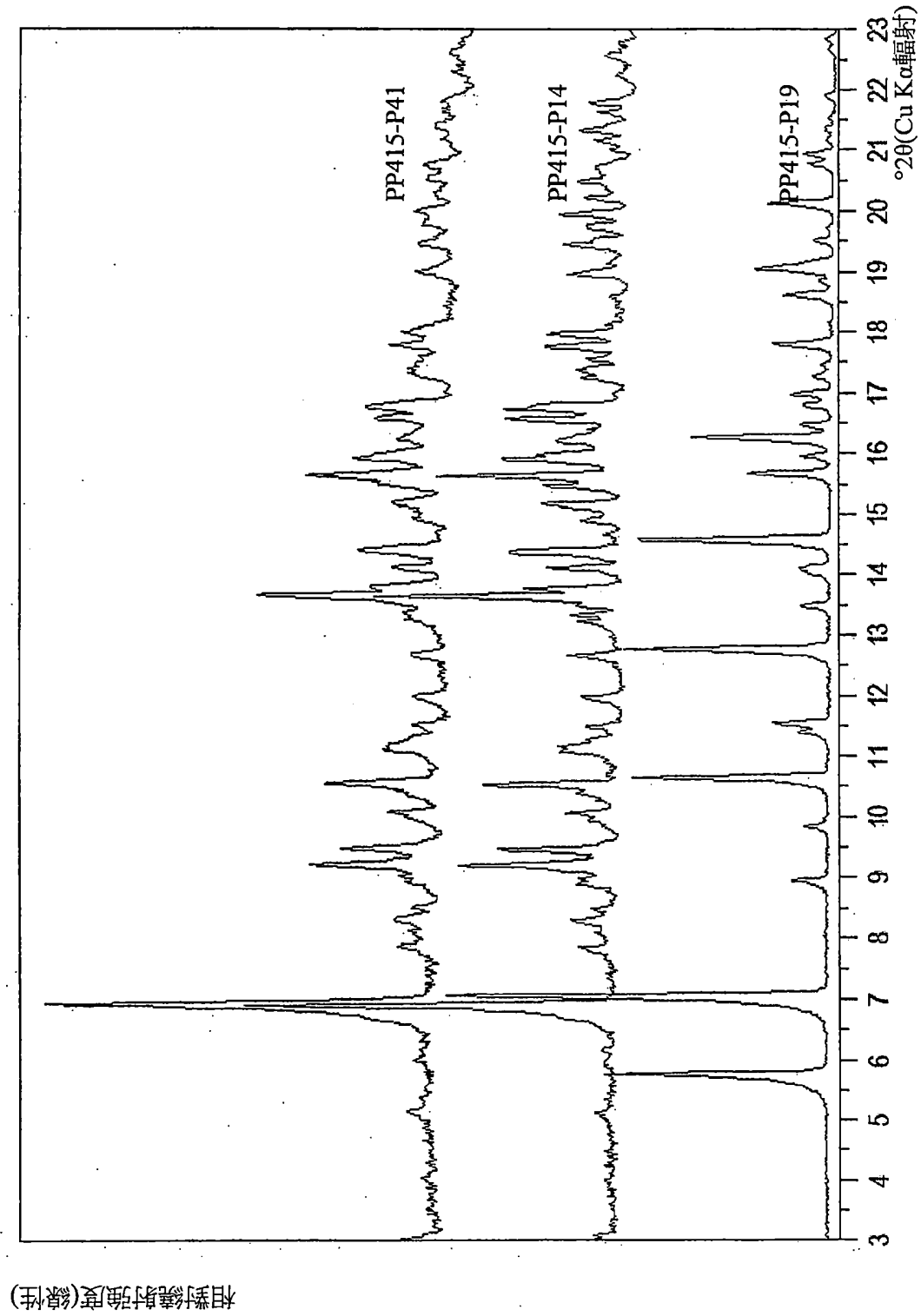


圖123

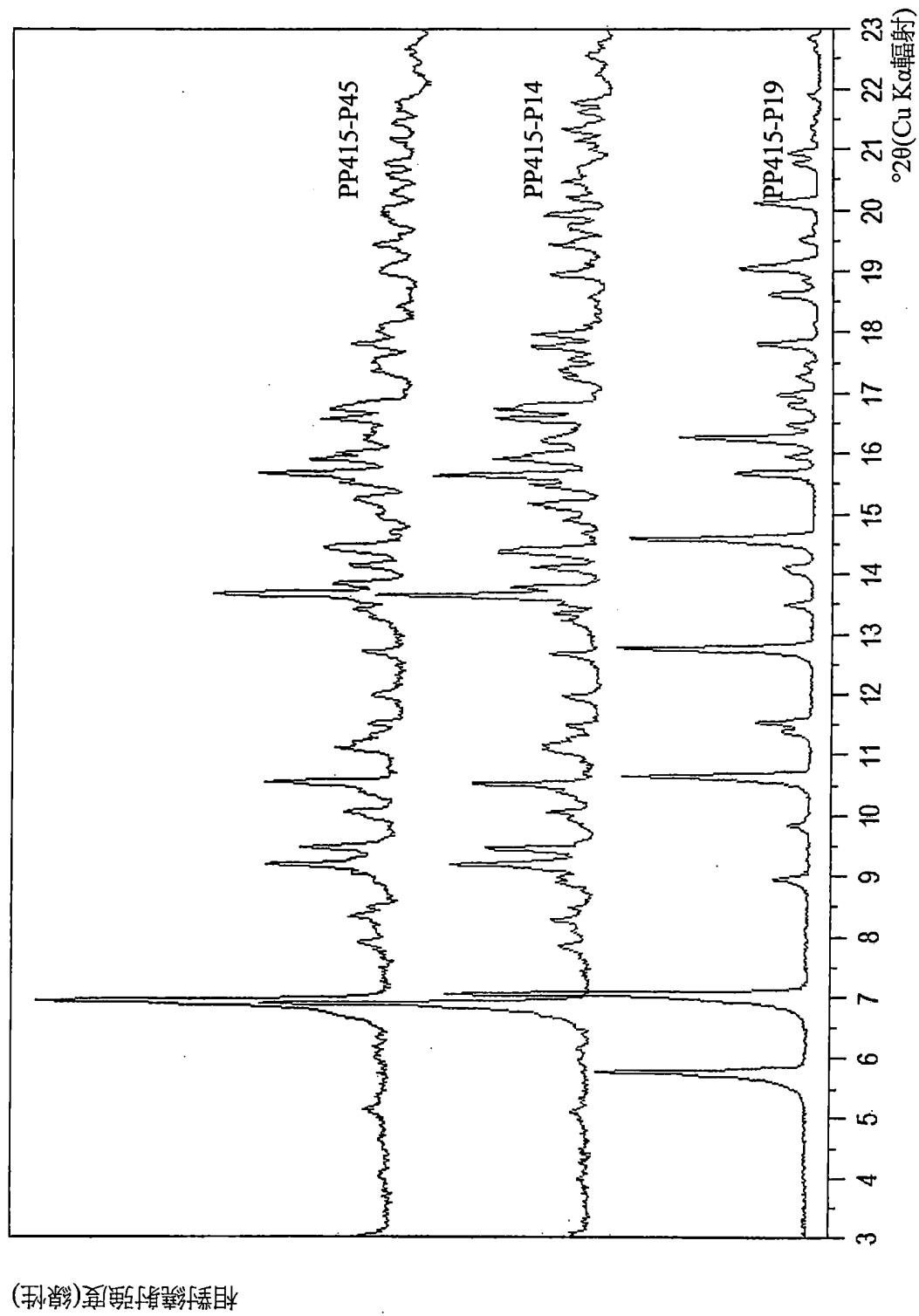


圖 124

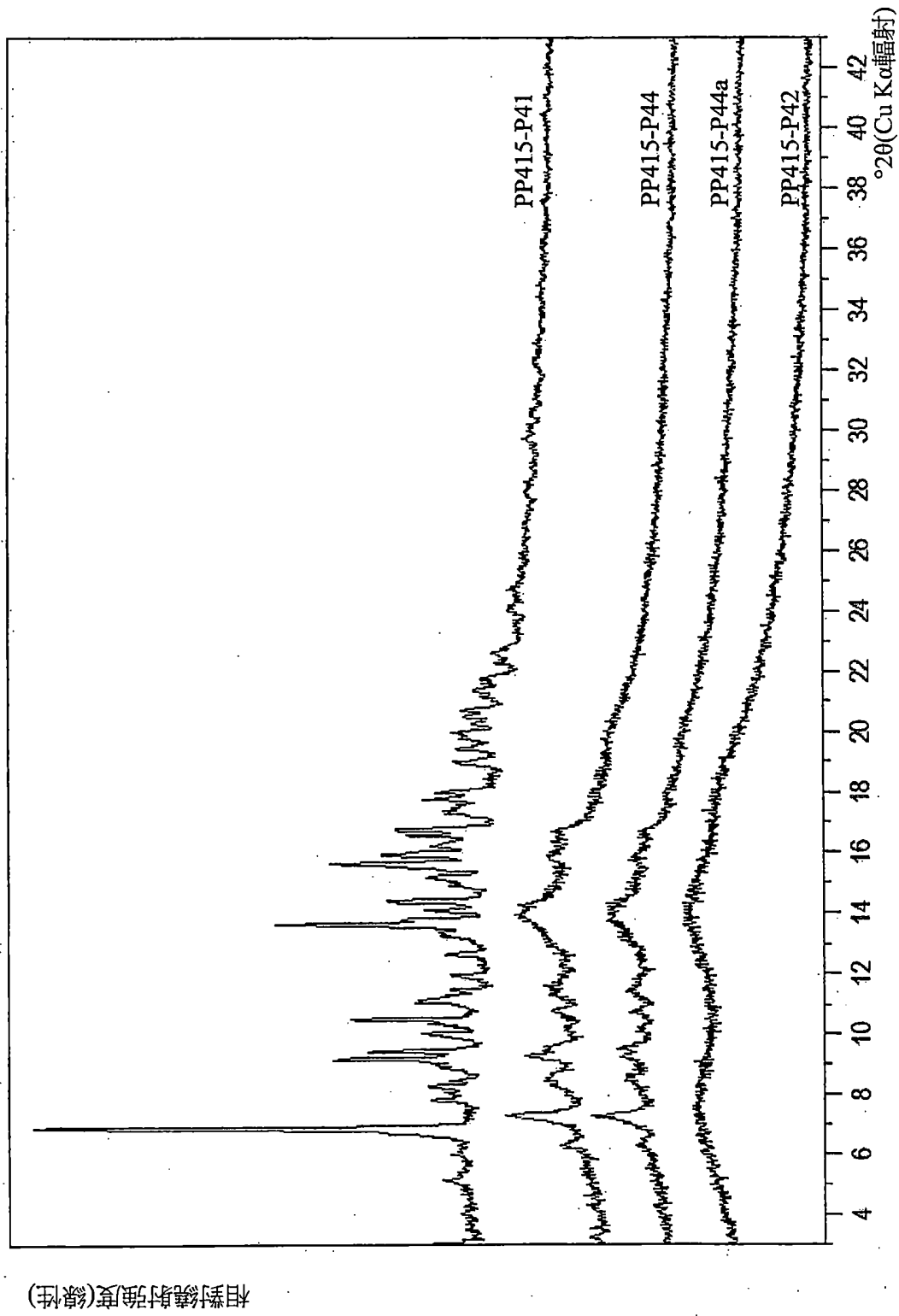


圖125

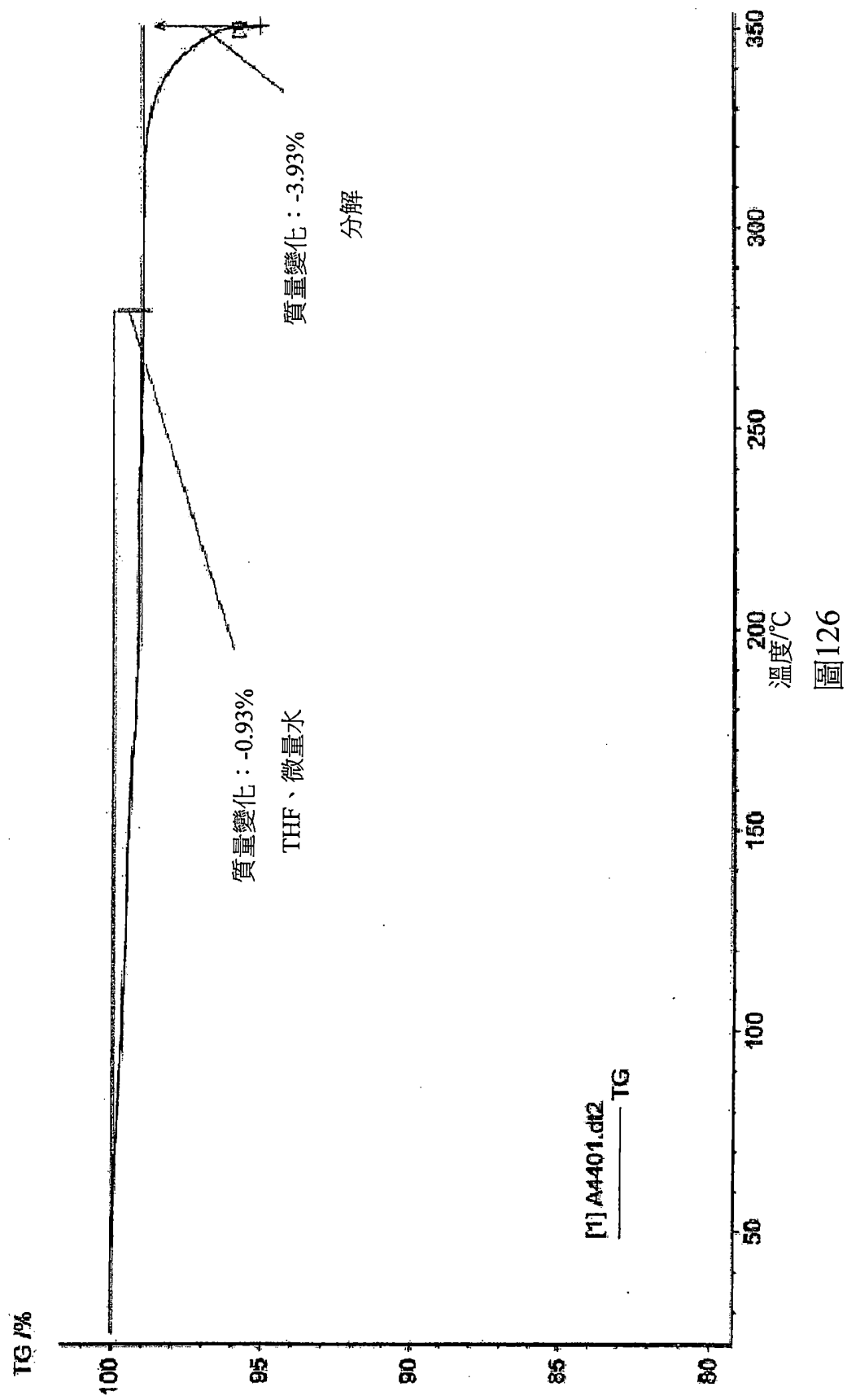


圖126

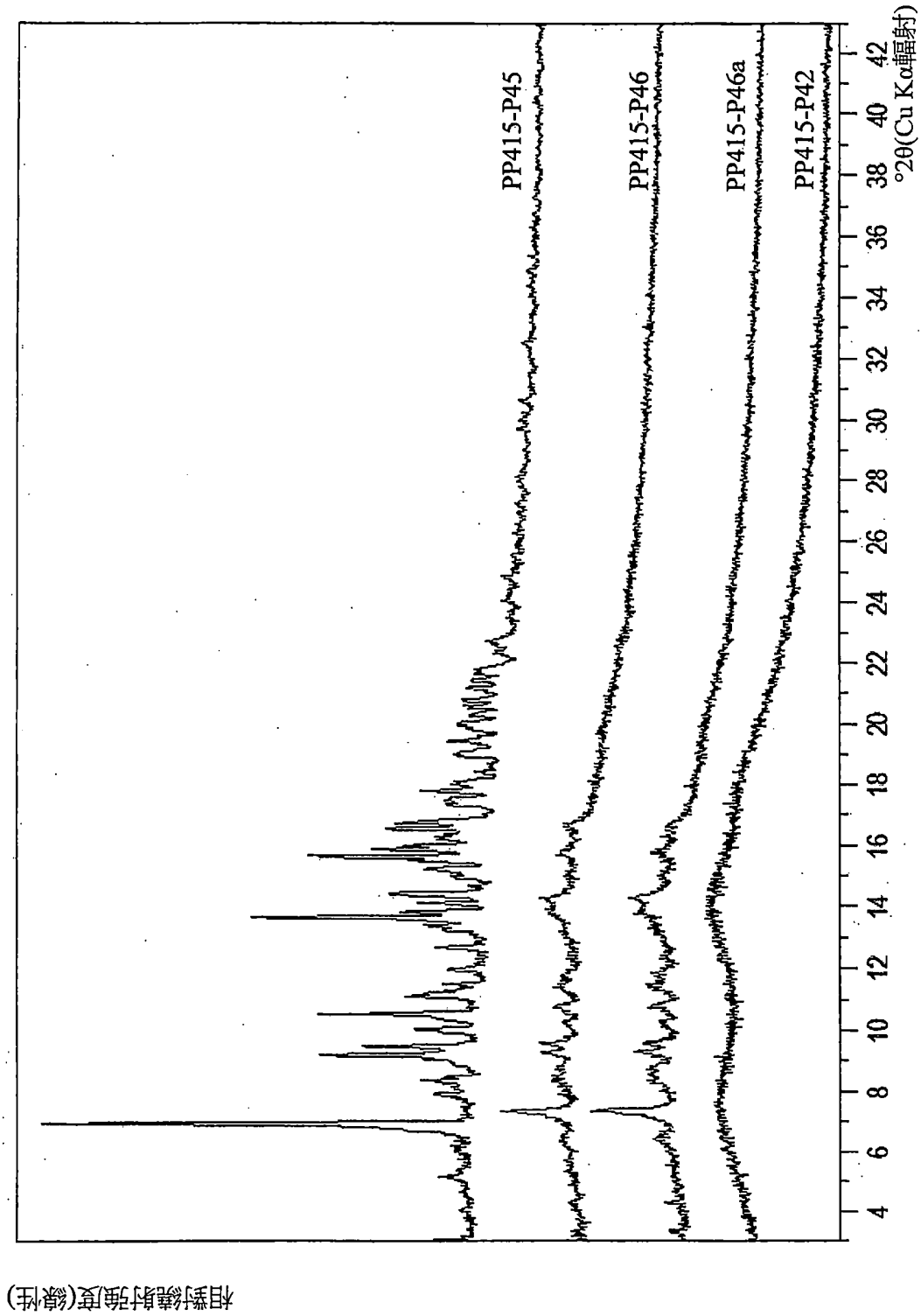
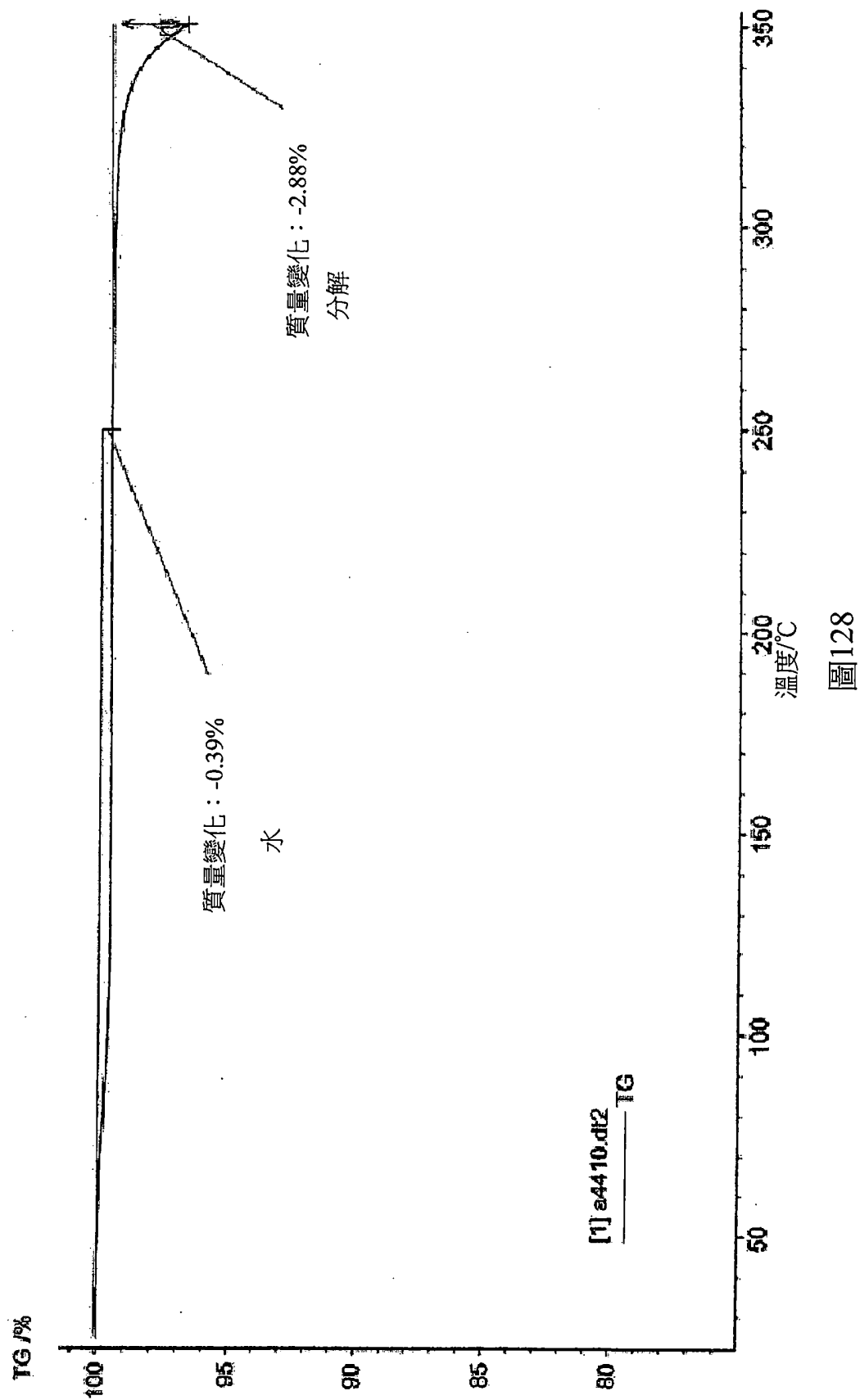


圖127



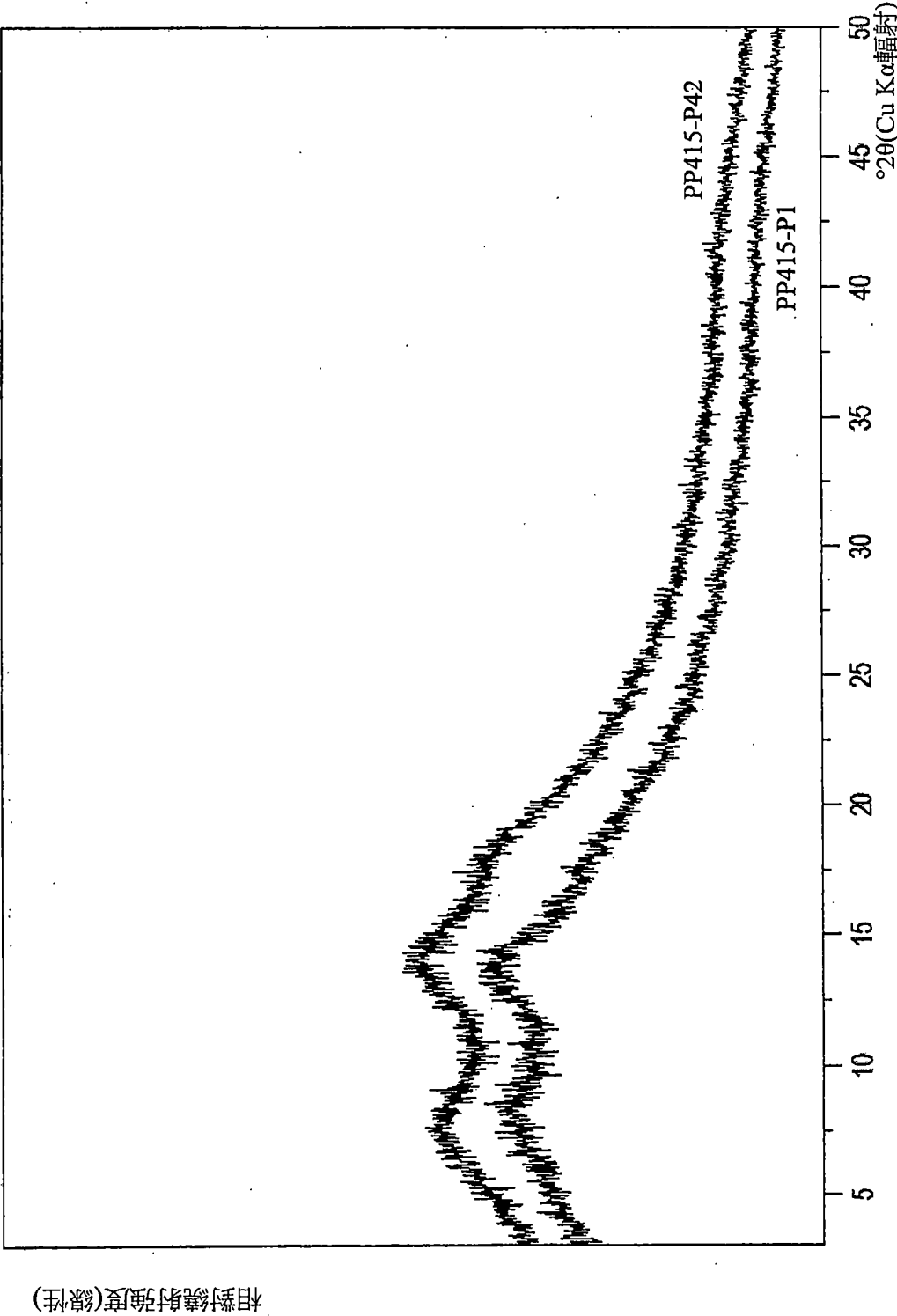


圖 129

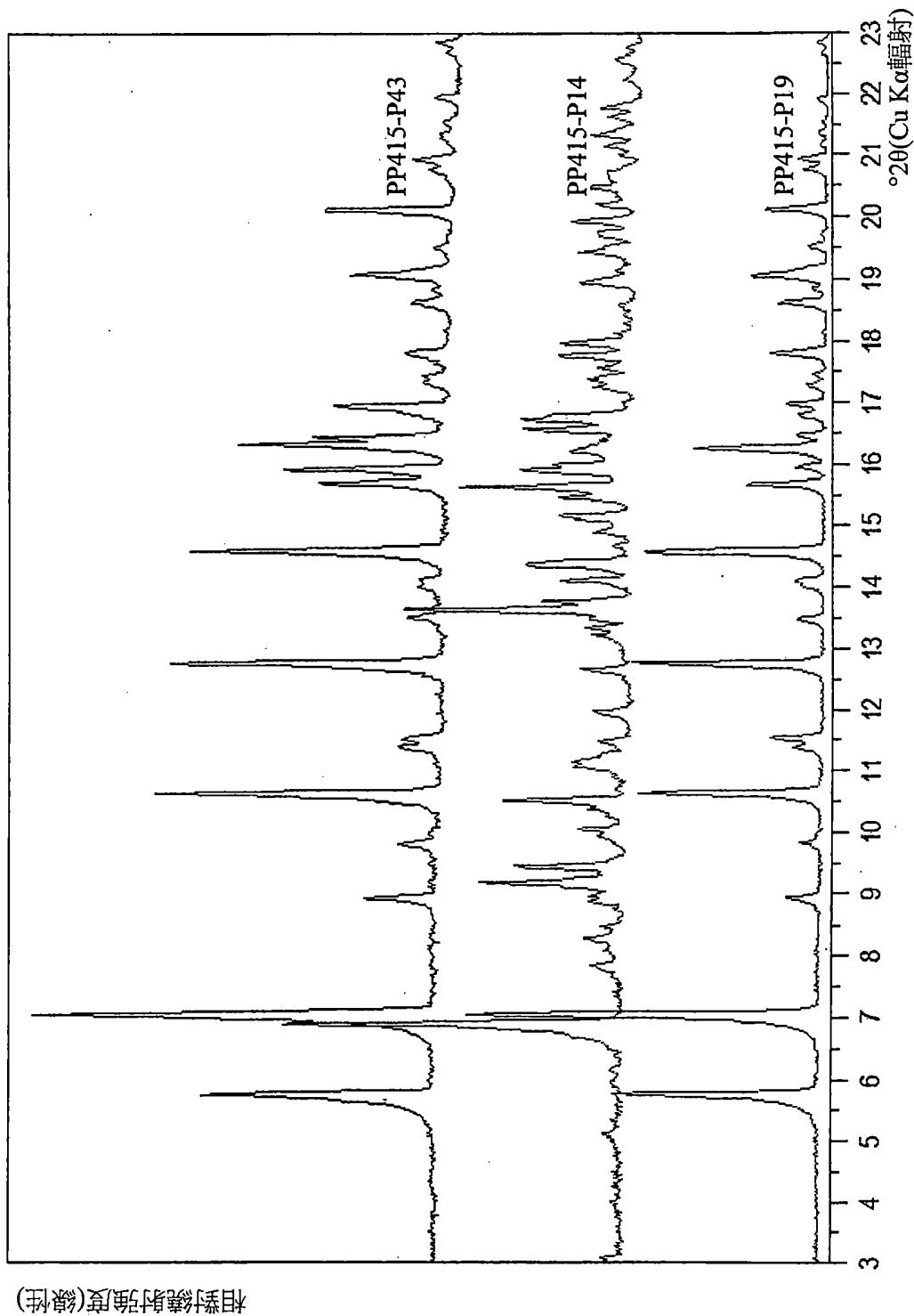


圖130

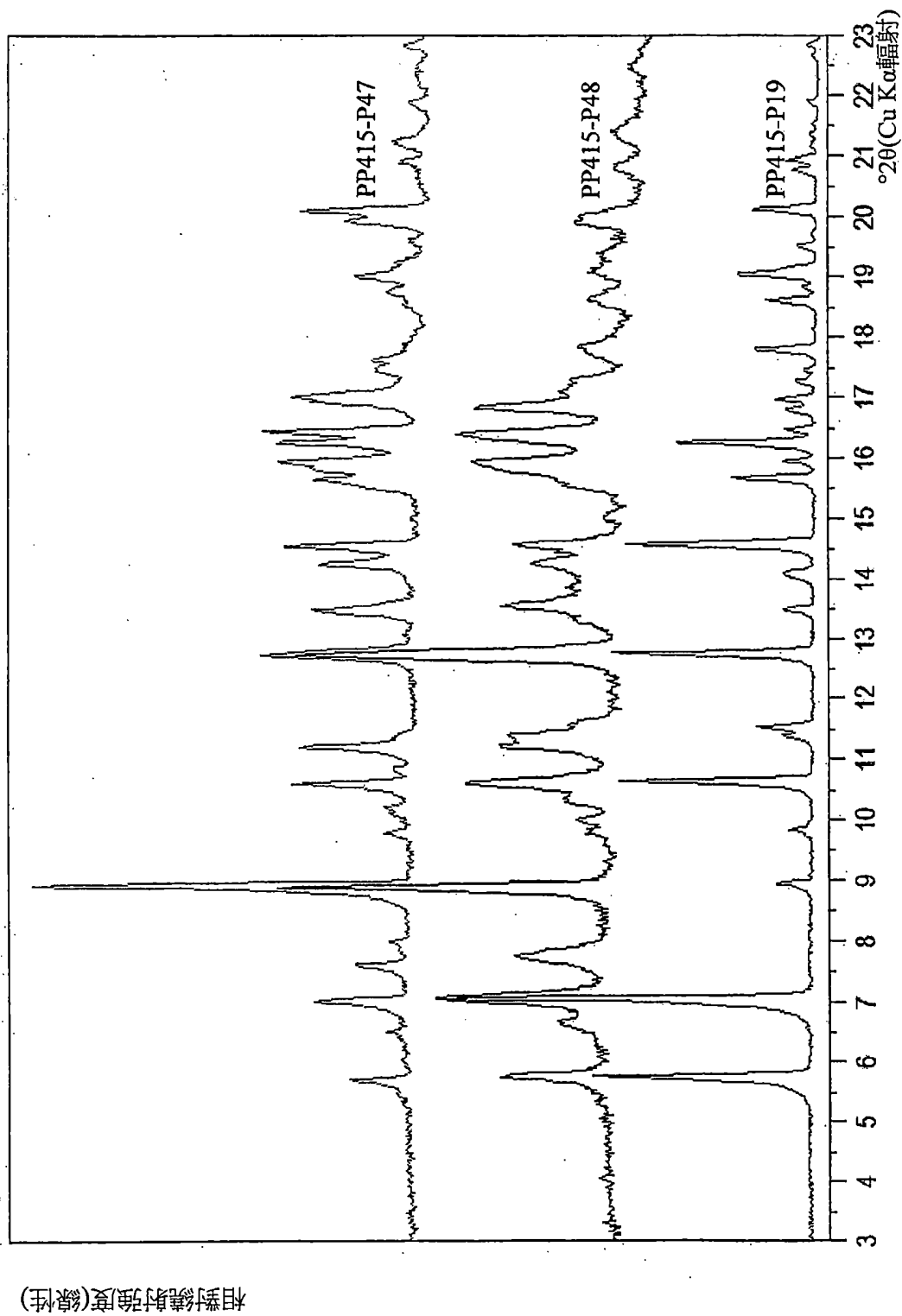


圖131

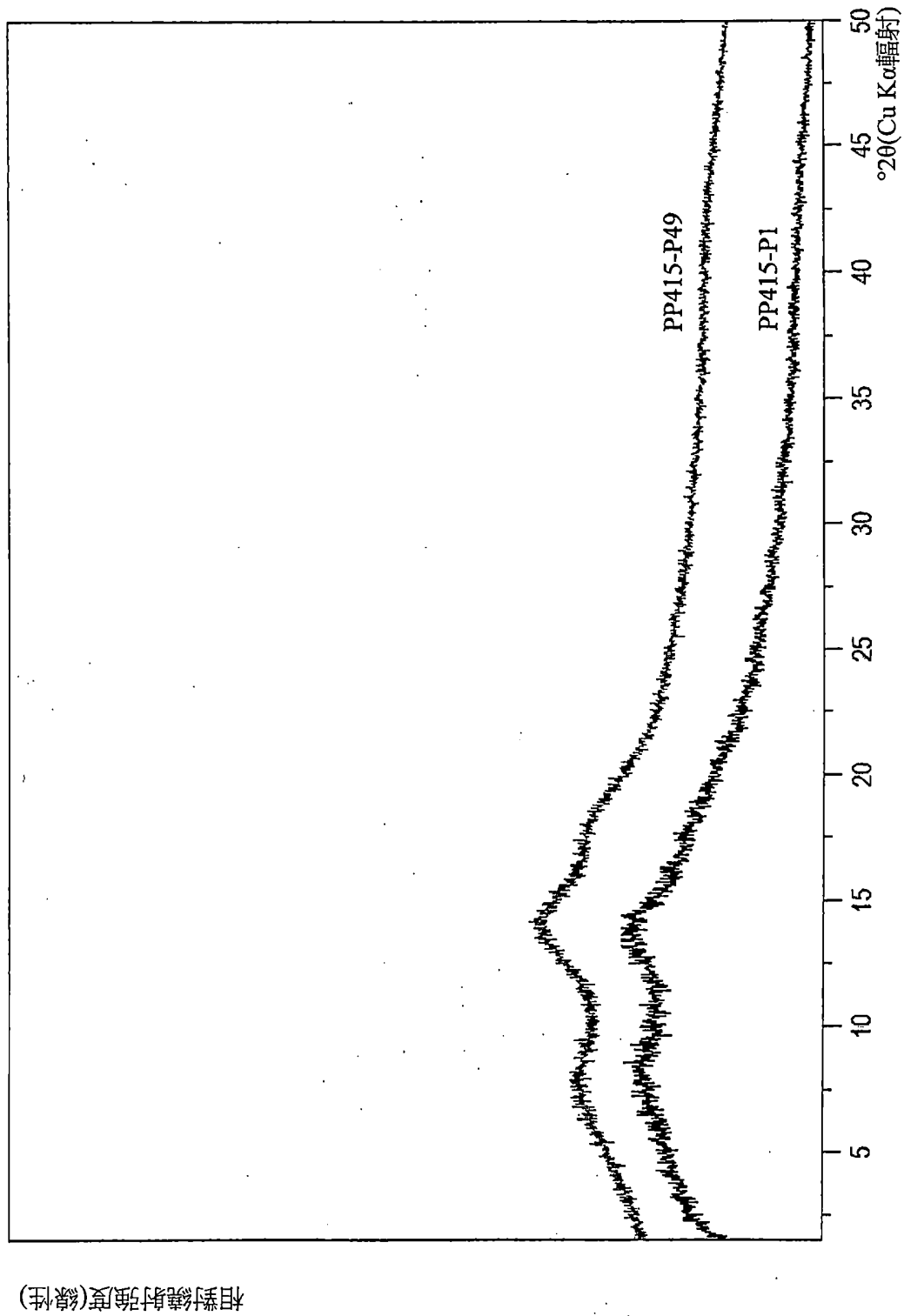


圖132