

九、發明說明

【發明所屬之技術領域】

本發明關於可抑制或調整熱休克蛋白質 Hsp90 之活性的新穎之化合物結晶型和鹽型並關於該化合物於治療或預防由 Hsp90 傳介之疾病狀態或狀況之用途。本發明亦提供用於製造該化合物及新穎之化學中間體的新穎方法。

【先前技術】

當回應細胞壓力（包括熱、毒素、放射線照射、感染、發炎及氧化劑）時，所有細胞均產生一組共通之熱休克蛋白質（Hsp）（Macario & de Macario 2000）。大部分熱休克蛋白質係作為分子性伴隨蛋白。伴隨蛋白在摺疊之中間階段結合並穩定蛋白質且允許蛋白質可摺疊成其功能狀態。正常狀況下，Hsp90 為最大量之胞質 Hsp。Hsp90 有二種人類同功型（isoform），主要之可誘導型 Hsp90 α 和次要之持續表現型 Hsp90 β ，還有另外二種侷限在其胞內位置之密切相關的伴隨蛋白（內質網之網質 GP96/GRP94；粒腺體 TRAP1）。除非另外指出，此處所使用之 Hsp90 包括所有這些類似物。Hsp90 在摺疊之最後階段與蛋白質結合，Hsp90 與其他 Hsp 之區分在於其蛋白質受質大部分涉及信號轉導。Hsp90 具有明顯之 ATP 結合部位，包含細菌促旋酶、拓撲異構酶及組胺酸激酶之 Bergerat 摺疊特徵。結合至 Hsp90 之 N-端袋的 ATP 顯示出係經過水解。此 ATP 酶活性造成 Hsp90 構形改變而此

對於客戶蛋白發生構形改變是必須的。

二聚體化結構區及第二 ATP 結合部位（其可調節 ATP 酶活性）係在接近 Hsp90 之 c 端找到。Hsp90 二聚體化顯示出對 ATP 之水解而言具關鍵性。Hsp90 之活化係透過與多種其他伴隨蛋白交互作用而進一步調節且可在與其他伴隨蛋白（包括 Hsp70、Hip、Hop、p23 及 p50cdc37）之複合物中被分離出。許多其他輔助伴隨蛋白亦顯示出可結合 Hsp90。現已出現一種簡化之模型，其中 ATP 結合胺基端之袋而改變 Hsp90 之構造，以允許其可與多重伴隨蛋白（multichaperone）複合物結合。首先，客戶蛋白質結合 Hsp70/Hsp40 複合物。然後，此複合物經由 Hop 與 Hsp90 結合。當 ADP 被 ATP 取代時，Hsp90 之構形改變，Hop 及 Hsp70 被釋出而吸收一組不同之輔助伴隨蛋白（包括 p50cdc37 及 p23）。ATP 水解作用造成這些輔助伴隨蛋白及客戶蛋白質自成熟之複合物釋出。安莎黴素（ansamycin）類抗生素除莠黴素（herbimycin）、格爾登黴素（geldanamycin）（GA）及 17-烯丙胺基-17-去甲氧基格爾登黴素（17-AAG）為阻斷 ATP 結合並防止轉化為成熟複合物之 ATP 結合部位抑制劑（Grenert et. al., 1997. J Biol Chem., 272:23834-23850）。

儘管 Hsp90 到處表現，相對於自正常細胞株衍生者，GA 對自腫瘤衍生之 Hsp90 具較高之結合親和力（Kamal et. al., Nature 2003; 425:407-410）。在異種移植老鼠模型中，GA 在腫瘤細胞中亦顯示更強之細胞毒性活性且以

較高濃度隔離在腫瘤中 (Brazidec J. Med. Chem. 2004, 47, 3865-3873)。再者，癌症細胞中，Hsp90 之 ATP 酶活性提高，此表示這些細胞中之壓力水準增加。Hsp90 基因增數亦曾被報導出現在癌症末期中 (Jolly and Morimoto JNCI Vol. 92, No. 19, 1564-1572, 2000)。

與癌症表型相關之遺傳不穩定性增加會導致非天然或變種蛋白質之產製增加。泛素通路亦藉由瞄準非天然或錯誤摺疊之蛋白質進行蛋白酶體降解來保護細胞不受非天然或錯誤摺疊蛋白質之傷害。變種蛋白質之本質並非天然原有，因此，可能顯示出構造不穩定性且其對於伴隨蛋白系統之需求增加 (Giannini et al., Mol Cell Biol. 2004; 24 (13):5667-76)。

有些證據顯示出相對於正常細胞中之“隱性”複合物，Hsp90 主要係在腫瘤細胞中之“活化的”多重伴隨蛋白複合物中找到。多重伴隨蛋白複合物之一種成分為 cdc37 輔助伴隨蛋白。Cdc37 在 ATP 結合部位之鹼基處結合至 Hsp90 且其可影響與“活化”狀態之 Hsp90 結合的抑制劑之解離速度 (Roe et. al., Cell 116, (2004), pp. 87-98)。咸信，結合 Hsp90-Hsp70 型伴隨蛋白複合物之客戶蛋白質更易受泛素化影響且瞄準蛋白酶體進行降解。E3 泛素連接酶已被鑑定出具有伴隨蛋白交互作用再現單位 (motifs)，且其中之一 (CHIP) 顯示出可促進 Hsp90 客戶蛋白質之泛素化及降解作用 (Connell et al., 2001. Xu et al., 2002)。

Hsp90 客戶蛋白質

已報告之 Hsp90 客戶蛋白質的數目現已超過 100 種。由於許多其客戶蛋白質涉及細胞傳訊、增殖及存活，Hsp90 最被關注而成爲腫瘤學靶的。二組客戶蛋白質，細胞傳訊蛋白質激酶及轉錄因子尤其暗示調節 Hsp90 可能具有作爲抗癌療法之潛在利益。

與細胞增殖及存活相關之 Hsp90 蛋白質激酶客戶蛋白質包括下列：

c-Src

細胞 Src (c-Src) 爲一種受體酪胺酸激酶，其對於由數種生長因子受體所啓動之有絲分裂而言是必要的，這些生長因子受體包括：表皮生長因子受體 (EGFR)、白血小板衍生之生長因子受體 (PDGFR)、株落刺激因子-1 受體 (CSF-1R) 及基礎纖維母細胞生長因子受體 (bFGFR)。C-Src 亦在許多過度表現 EGFR 及 ErbB2 之相同人類惡性腫瘤中過度表現及活化。Src 透過調節骨母細胞功能而對維持正常骨骼恆定來說爲必要者。

p185erbB2

ErbB2 (Her2/neu) 爲在多種不同惡性腫瘤 (包括：乳癌、卵巢癌、前列腺癌及胃癌) 中過度表現之受體酪胺酸激酶。ErbB2 起初被鑑定爲一種致癌基因，抑制 Hsp90

時將造成 *erbB2* 之多次泛素化 (polyubiquitination) 和降解。

Polo 有絲分裂激酶

似 Polo 激酶 (Plks) 為 M 期中細胞週期進展之重要調節劑。Plks 涉及有絲分裂紡錘體之組合及 CDK/細胞週期蛋白複合物之活化。Plk1 透過 Cdc25C 之磷酸化及活化來調節 CDKs 之酪胺酸去磷酸化。換言之，CDK1 之活化導致形成紡錘體及進入 M 期。

Akt (PKB)

Akt 在通路中藉由刺激細胞增殖及遏制細胞凋亡來調節細胞生長。藉安莎黴素抑制 Hsp90 將會透過泛素化及蛋白酶體降解而導致 Akt 半生期減少。Cdc37 結合 Hsp90 亦為負調節 Akt 所必要的。以安莎黴素治療後，癌細胞在治療後 24 小時阻滯於細胞週期之 G2/M 相並在 24-48 小時後進展至細胞凋亡。正常細胞亦在安莎黴素治療後 24 小時阻滯，但不會進展至細胞凋亡。

c-Raf、B-Raf、Mek

RAS-RAF-MEK-ERK-MAP 激酶通路傳介對生長信號之細胞反應。在約 15% 之人類癌症中 RAS 突變成致癌形式。此三種 RAF 基因為經由結合 RAS 而被調節之絲胺酸/蘇胺酸激酶。

EGFR

表皮生長因子受體（EGFR）參與細胞之生長、分化、增殖、存活、凋亡及移行。現已發現 EGFR 在多種不同癌症中過度表現且活化其激酶結構區之突變顯示出在肺部腺癌子類中具病原性。

Flt3

似 FMS 酪胺酸激酶 3（FLT3）為涉及細胞增殖、分化及凋亡之受體酪胺酸激酶。FLT3 活化亦導致磷脂酰肌醇 3-激酶（PI3K）活化及 RAS 信號轉導串聯反應。

c-Met

c-met 為結合肝細胞生長因子（HGF）及調節細胞能動性和細胞生長之受體酪胺酸激酶。c-met 在腫瘤（包括：甲狀腺癌、胃癌、胰臟癌及結腸癌）中過度表現。HGF 亦可在腫瘤周圍（包括肝臟轉移）偵測到。此暗示 c-met 及 HGF 在侵入及轉移中扮演著重要角色。

Cdk1、Cdk2、Cdk4、Cdk6

Cdk1、Cdk2、Cdk4 及 Cdk6 驅動細胞週期。CDK 之活性係經由其結合特殊次單位（諸如細胞週期素、抑制及組合因子）來調節。此 CDK 活性之受質特異性及時間之選擇係由其與特殊之細胞週期素的交互作用指定。Cdk4/

細胞週期素 D 及 Cdk6/細胞週期素 D 在 G1 期中活躍，Cdk2/細胞週期素 E 及 Cdk2/細胞週期素 A 在 S 期中活躍，而 Cdc2/細胞週期素 A 及 Cdc2/細胞週期素 B 在 G2/M 期中活躍。

細胞週期中，第 4 型細胞週期素倚賴性激酶（CDK4）在讓細胞從 G1 跨入 S 期的轉變中扮演著關鍵角色且其在許多人類癌症中被持續活化。在多種不同之人類腫瘤中，CDK4 活化子（細胞週期素 D1）過度表現，而 CDK4 抑制子（p16）被刪除。

現已研發出可逆式地將正常細胞阻斷在 G1/S 期或 G2/M 接壤期之 Cdk1/Cdk2 抑制劑。細胞較無法忍受 G2/M 阻滯，因此，其將經歷凋亡性細胞死亡。由於亦知 Hsp90 可影響細胞存活通路，此作用可進一步被 Hsp90 抑制劑放大。

Wee-1

Wee-1 蛋白質激酶在酪胺酸 15（Tyr15）上實現 CDC2 之抑制性磷酸化。此對在回應 DNA 受損時活化 G2 期檢查點是有必要的。

涉及細胞增殖及存活之 Hsp90 轉錄因子包括下列：

變種 p53

P53 為引起細胞週期阻滯及誘導細胞凋亡之腫瘤遏制子蛋白質。P53 在約半數之全部癌症中發生突變。變種

p53 與 Hsp90 相聯結且在以 Hsp90 抑制劑治療之癌細胞株中被負調節，但野生型 p53 之水準未受影響。

黃體素受體 / 雌激素受體 / 雄激素受體

約 70% 之罹患乳癌的停經後婦女具有表現雌激素受體之腫瘤。這些患者之第一線治療係針對防止透過此通路傳信而藉此抑制腫瘤生長。此可經由剝除卵巢、以促性腺激素釋出激素激動劑治療、抑制芳香化酶或以可結合雌激素受體但防止進一步傳信之特殊激動劑治療來達成。最後，患者發展出對這些干預法之抗性，此通常係由位在細胞膜上之雌激素受體及生長因子受體間的誤接干擾造成。在未配體狀態中，雌激素受體與促進激素結合之 Hsp90 複合。與成熟受體 Hsp90 複合物結合後，該配體受體可結合在涉及維持細胞增殖之靶的基因的調節區內之激素反應要素（HRE）。抑制 Hsp90 可起始雌激素受體之蛋白酶體降解而藉此防止經由此通路之進一步生長傳信。前列腺癌為激素倚賴性惡性腫瘤，其對減少睪固酮之循環水準或防止睪固酮結合雄激素受體之治療干預有反應。雖然患者剛開始時對這些治療有反應，但大部分後來均透過回復經由雄激素受體之傳信而發展出抗性。在配體結合前，雄激素受體係存在於與 Hsp90 及其他輔助伴隨蛋白之複合物（包括 p23 及免疫親和素）中。此交互作用將該雄激素受體維持在高親和力配體結合構造中。抑制 Hsp90 將導致雄激素受體及其他可能使腫瘤對進一步之激素治療敏感化的輔助伴隨蛋

白之蛋白酶體降解。

在，例如：抗激素療法中產生且可能對這類療法具抗性之突變的類固醇激素受體似乎在其穩定性及激素結合功能方面對 Hsp90 有較大之倚賴性。

Hif-1a

缺氧誘導因子-1a (HIF-1a) 為一種參與血管生成之控制基因表現的轉錄因子。HIF-1a 表現在大多數轉移腫瘤中且已知與 Hsp90 聯結。以安莎黴素治療腎癌細胞株將導致 HIF-1a 之泛素化及蛋白酶體降解。

Hsp90 抑制劑可影響許多對腫瘤細胞增殖中之信號轉導有意義的標靶。由於傳信通路過多且快速發展出抗性，調節單一靶的之活性的信號轉導抑制劑可能無法如此有效。

經由調節數種涉及細胞傳信及細胞增殖之靶的，Hsp90 抑制劑在許多增殖性病症的治療中證明具有效益。

ZAP70

ZAP-70 (Syk-ZAP-70 蛋白質酪胺酸激酶族之一員) 正常表現於 T 細胞及天然殺手細胞中且在起始 T-細胞傳信中扮演關鍵角色。然而，在約 50%之 CLL 病例中 (通常係在具有未突變之 B-細胞受體基因的病例中) 中，其亦異常表現。慢性淋巴球白血病 (CLL) 之白血病細胞中，免疫球蛋白重鏈可變區 (IgV_H) 基因的突變狀態為重要

之診斷因子。ZAP-70 在 CLL 細胞中之表現與 IgV_H 的突變狀態、疾病進展和存活有關。ZAP-70 陽性 CLL 較 ZAP-70 陰性 CLL 更具侵略性，這表示 ZAP-70 可能為此疾病之惡性情況的關鍵驅動力。在 B-CLL 淋巴母細胞中，ZAP-70 與 Hsp90 生理聯結，因此，抑制 Hsp90 可能使這些細胞對現存之化療或單株抗體治療敏感。

● 熱休克蛋白質及抗腫瘤藥物抗性

長久以來認為任何指定多肽之天然三級結構係由其一級（胺基酸）序列決定。然而，如上述說明，現已明白許多蛋白質在活體內之正確摺疊需要該作為分子伴隨蛋白之熱休克蛋白質（Hsps）的協助。雖然此伴隨蛋白功能在所有情況中對正常之細胞功能很重要，但其在承受壓力（如：承受熱、缺氧或酸中毒之壓力）之細胞中則變得至關重要。

● 這類狀況在腫瘤細胞中通常很普遍，此存在於不適之宿主環境中。因此，在這類細胞中常見到之 Hsps 的正調節似乎代表惡性細胞在危及蛋白質摺疊之情況下維持其蛋白體完整性之機制。因此，壓力蛋白質之調整劑或抑制劑一般而言（尤其是 Hsp90）代表一類具獨特之同時抑制數種脫離常軌之傳信通路能力的化療劑。因此，其可發揮抗腫瘤效果但排除（或減少發生）與其他治療範例相關之抗性。

再者，所有類型之治療性抗癌干預必然增加加諸於靶

的腫瘤細胞之壓力。在減輕這類壓力之有害作用時，Hsps 直接涉及抵抗癌症藥物及治療攝生法的效果。因此，壓力蛋白質功能之調整劑或抑制劑一般而言（尤其是 Hsp90）代表一類具有下列潛力之化療劑：（i）使惡性細胞對抗癌藥物及/或治療敏感；（ii）緩和或減輕對抗癌藥物及/或治療產生抗性；（iii）逆轉對抗癌藥物及/或治療之抗性；（iv）促成抗癌藥物及/或治療之活性；（v）延遲或預防對抗癌藥物及/或治療之抗性的開始。

作為抗-真菌劑、抗-原蟲劑或抗-寄生蟲劑之 HSP90 抑制劑

真菌感染已成為近年關切議題之主要原因係由於可用之抗-真菌劑有限且對已建立之抗-真菌劑（諸如唑類）具抗性的物種發生率增加。另外，免疫功能降低之患者族群（諸如器官移植患者、接受化療之癌症患者、燒傷患者、AIDS 患者或糖尿病酮酸血症患者）增加使得由真菌（諸如念珠菌、隱球菌及麴菌種，偶而，鐮孢菌、絲孢酵母及椎席樂（*Dreschlera*）菌種）造成之真菌機會感染的發生率增加。

因此，對於可用來治療逐漸增加之感染真菌患者（尤其是那些因為真菌對已存在之抗-真菌藥物產生抗性而造成之感染）的新抗-真菌劑仍有需要。

Hsp90 在演化中被保留下來，其可在細菌（如：大腸桿菌中之 HTPG）和酵母菌（如：HSC82 和 HSP82）中找

到。雖然在大腸桿菌型中未被正式鑑定出，在酵母菌及所有較高有機體中，Hsp90 族顯示出係作為許多如上述之必須蛋白質的伴隨蛋白。

由一範疇之病原所造成之感染係與回應 Hsp90 之抗體反應有關。例如：在受白色念珠菌感染之患者中，Hsp90 之 47kDa C-端片段為一種免疫優勢之抗原決定位。再者，此抗體反應與暗示對抗感染之保護效果的良好預後有關。對抗此多肽中之抗原決定位的重組抗體亦可在老鼠模型中防止侵襲性念珠菌症之感染。（見 Mathews et al *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2003 vol 47, 2208-2216 及其中之參考資料）。同樣地，表面表現之 Hsp90 係作為查加斯氏病（Chagas' disease）、蛔蟲病、利什曼原蟲症、弓形蟲病及因曼氏血吸蟲症引起之感染中的抗原且假設，對抗 Hsp90 之抗體可傳達對抗瘧原蟲感染及瘧疾的保護作用。

Mycograb（NeuTec Pharma/諾華公司）為一種對抗熱休克蛋白質 90 之人類重組單株抗體（其之發展係用於治療念珠菌感染且在早期試驗中顯示出顯著反應）。再者，天然產物 Hsp90 抑制劑格爾登黴素（Geldanamycin）、除莠黴素（Herbimycin）及根赤殼菌素（Radicicol）最初係藉其抗-真菌活性鑑定。關鍵之必須蛋白質已被鑑定係作為數種人類病原菌中之 Hsp90 客戶蛋白質（見 Cowen and Lindquist, *Science*. 2005 Sep 30; 309(5744):2175-6）。因此，Hsp90 可在病原菌（諸如念珠菌種）之生長中扮演重

要角色，且 Hsp90 抑制劑可用於治療一範疇內之感染疾病（包括念珠菌感染）。

現亦發現 Hsp90 可增加真菌發展抗-真菌藥物抗性之能力（見 Cowen LE, Lindquist S. “Hsp90 potentiates the rapid evolution of new traits: drug resistance in diverse fungi”. *Science*. 2005 Sep 30; 309(5744):2185-9）。因此，將 Hsp90 抑制劑與抗-真菌藥物共同投服可增強抗-真菌劑藥物之效力並藉由防止抗性表型出現來降低抗性。

Hsp90 抑制劑於疼痛、神經病況及中風之治療中

Cdk5 為絲胺酸/蘇胺酸激酶之 Cdk 族的成員，此族大部分為細胞週期之關鍵調節劑。Cdk5 活性係透過與其神經特異性活化子（p35 及 p39）聯結來調節。最近之證據暗示 CDK5 可磷酸化 tau 蛋白質及許多其他神經元蛋白質（諸如 NUDE-1、突觸蛋白 1、DARPP32 及 Munc18/Syntaxin 1A 複合物）。此證據亦暗示經由將 p35 轉化成 p25 所誘導出之異常 Cdk5 活性參與神經退化症（諸如阿茲海默氏症（AD）、肌萎縮性側索硬化（ALS）及 C 型尼曼匹克症（NPD））之發病。A β ₁₋₄₂ 治療後，tau 之異常過度磷酸化使微小管不穩定，促成軸索退化並形成含有神經纖維糾結（NFT）之配對的螺旋樣纖維（PHF）（一種主要之 AD 損害）。現進一步發現 Cdk5 對正確之神經元發展為必要的。

作為 CDK5 活性之調節劑的 p35 蛋白質最近被鑑定為

係 Hsp90 之客戶蛋白質，因此，CDK5 之活性可藉由改變 Hsp90 之水準和活性來調節。因此，抑制 Hsp90 可造成感受性個體中之 p35 損失、CDK5 受抑制、減少磷酸化 tau 蛋白質且將對罹患阿茲海默氏症者帶來助益。

另外，在玻管中利用已知作用劑抑制 Hsp90 顯示出可減少細胞系統中 tau 蛋白質聚集物之累積 (Dickey et al Curr Alzheimer Res. 2005 Apr; 2(2):231-8)。

Cdk5 亦顯示出涉及傳介疼痛之傳信。Cdk5 及 p35 二者顯示出在痛覺神經元中表現。在剔除 p35 之小鼠（其顯示出實質上降低之 Cdk5 活性）中，對疼痛性熱刺激之反應延遲 (Pareek, T.K., et al., Proceedings of the National Academy of Sciences., 103:791-796 (2006))。另外，投服細胞週期素激酶 5 (Cdk5) 抑制劑羅斯可維汀 (roscovitine) 顯示出可減弱大鼠中由福馬林誘導之感受接受性反應 (Wang, Cheng-haung, et al., Acta Pharmacologica Sinica., 26:46-50 (2005))。組織鈣蛋白酶 (calpain) 之活化為鈣倚賴性且已知其受 NMDA 受體鈣道活化所影響 (Amadoro, G; Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 103, 2892-2897 (2006))。NMDA 受體拮抗劑已知在臨床上可有效對抗神經病性疼痛狀況 (Christoph, T; et al., Neuropharmacology, 51, 12-17 (2006))。此效力可能與 NMDA 受體相關之鈣流入對組織鈣蛋白酶活性的效果及其接下去對 Cdk5 活性之效果相關聯。由於這類調整

Cdk5 活性之化合物可用於治療或預防疼痛，因此，藉由抑制 Hsp90 來調整 CDK5 調節劑 p35 可造成 CDK5 受抑制。

能夠擁有用於疼痛減輕治療（即，除了因緩和引起疼痛之潛在疾病或醫療狀況所造成之疼痛減輕外，直接減輕疼痛）中之作用劑是令人渴望的。

不同之 Cdk（尤其是 Cdk4、5 與 6）顯示出涉及或傳介缺氧及缺血損傷後之神經元死亡（Rashidan, J.; et al.; *Proceedings of the National Academy of Sciences.*, 102:14080-14085 (2005)）。再者，Cdk5 抑制劑黃酮吡醇（flavopiridol）顯示出在局部大腦缺血之大鼠模型中顯著減少神經元死亡（Osuga, H.; et al.; *Proceedings of the National Academy of Sciences.*, 97:10254-10259 (2000)）。Cdk5 抑制劑顯示出在神經元細胞死亡之壞死性及凋亡性範例中具保護效果（Weishaupt, J.; et al.; *Molecular and Cellular Neuroscience.*, 24:489-502 (2003)）。

中風為腦血管之狀況，其係在當到達大腦之正常血流中斷，且大腦接受太多或太少之血液時發生。中風為全世界中導致死亡的主要原因之一，亦為神經殘障最常見的原因之一。

缺血性中風（其為最普遍之中風類型）係由因動脈血流入受阻而引起之腦部血液循環不足所造成。通常，適當之大腦血液供應係由大腦內之動脈系統確保。然而，不同病症（包括發炎及動脈硬化）可引起血栓，即，在血管中

形成之血塊。血栓可中斷動脈血流，引起大腦缺血及隨後之神經學症狀。缺血性中風亦可由來自心臟之栓子（氣泡）卡在顱內血管，以不當之腦部血流造成灌流壓降低或增加血液黏性而引起。栓子可能由不同病症（包括心房纖維顫動及動脈硬化）引起。

第二型中風（出血性中風）涉及引向腦部之動脈出血或破裂。出血性中風造成血液流入腦組（包括腦部之硬膜上、硬膜下或蜘蛛膜下區域）織出血性中風通常係由曾暴露於動脈高血壓或血栓塞的動脈硬化性血管破裂造成。

一種阻止中風的機會係預防或降低處於中風風險中之患者的中風風險。中風之已知風險因子有多種，包括：血管性發炎、動脈硬化症、動脈性高血壓、糖尿病、高脂血症及心房纖維顫動。處於風險中之患者曾以控制血壓或管理血脂水準之作用劑治療且曾以抗血小板劑（諸如氯吡格雷（clopidogrel））及抗凝血劑治療。第二個機會係治療急性中風。然而，目前用於治療急性中風之藥學療法係侷限於在中風後3小時內之狹窄的治療時間窗內恢復血流。對於能在較長之治療時間窗內有效作用之作用劑仍有需要。另一種機會為急性中風期後之復原或修復，即，減少或預防半影中之續發的細胞傷害。對於能在中風後有效地減少或防止中風後之續發的細胞傷害的作用劑仍有需要。

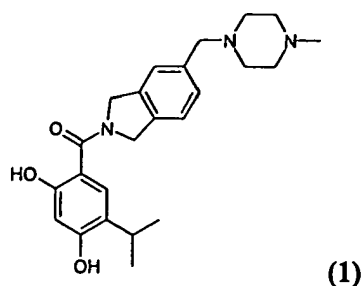
取得可用於超過一種上述之機會中，以治療中風之單一藥劑將是令人期待。這類作用劑可投給處於中風風險之患者，亦可投給罹患急性中風之患者，或接受急性中風期

後之復原或修復治療之患者。這類作用劑亦可瞄準超過一種之中風之生化串聯反應的明確機制。

Hsp90 抑制劑及 C 型肝炎和其他病毒疾病之治療

以病毒 RNA/DNA 感染宿主細胞將實質上改變細胞蛋白質合成之方向朝向由病毒核酸編碼之關鍵病毒蛋白質。由於對能量及合成先質需求增加而使得增加之蛋白質合成負擔對細胞形成壓力。熱休克蛋白質之正調節常為病毒感染的結果（至少有部分係由此壓力造成）。HSP 誘導作用之一種功能可能係協助穩定及摺疊於病毒複製之準備中產生的大量“外來”蛋白質。尤其是，最近之工作已暗示 Hsp90 對受 C 型肝炎（HCV）複製子感染之細胞穩定製造功能性 NS2/3 蛋白酶是有需要的。Hsp90 抑制劑亦證明可在活體外系統中阻斷病毒複製。（Nagakagawa, S, Umehara T, Matsuda C, et al Biochem. Biophys. Res Commun. 353 (2007) 882-888; Waxman L, Witney, M et al PNAS 98 (2001) 13931-13935）。

吾人稍早之申請案 PCT/GB2006/001382（其全部內容併為此文之參考資料）揭示以 2,4-二羥基苯甲酸之異吡啶啉鹽胺作為 Hsp90 抑制劑。特別揭示及例示於 PCT/GB2006/001382 中之一種化合物為具下列構造之化合物（2,4-二羥基-5-異丙基-苯基）-[5-（4-甲基-六氫吡啶-1-基甲基）-1,3-二氫-異吡啶-2-基]-甲酮。為了方便，本申請案中將此化合物稱為化合物 1 或式（1）化合物。



【發明內容】

發明摘要

本發明提供式(1)化合物之酸加成鹽(尤其是 L-乳酸鹽)、結晶型及新穎之類似物,其具有 Hsp90 抑制或調整活性,且可用於預防或治療由 Hsp90 傳介之疾病狀態或病況。本發明亦提供用於製備式(1)化合物及其酸加成鹽(尤其是 L-乳酸鹽)和其類似物與新穎之化學中間體的方法。本發明之範圍亦包括該化合物之治療用途。

一般偏好及定義

本專利說明書中,除非另外指出,“本發明之化合物”一詞係統稱(a)式(10)之新穎化合物及其鹽類、溶劑化物、N-氧化物和互變異構體,(b)式(1)化合物之酸加成鹽(尤其是 L-乳酸鹽)及(c)式(1)化合物之結晶型及其酸加成鹽(尤其是 L-乳酸鹽)。

此文所使用之“治療(treatment)”及相關詞“治療(treat)”及“治療(treating)”等詞係指疼痛之預防或防止性治療以及治癒或緩和性治療。因此,本詞包含當個體或患者已經歷疼痛之情況,以及目前尚未經歷,

但預期發生疼痛之情況。“治療 (treatment)”、“治療 (treat)”、“治療 (treating)”及相關詞亦涵蓋完全或部分減輕疼痛或預防疼痛。因此，例如：本發明化合物可防止已存在之疼痛更糟，或者其可減輕或甚至排除疼痛。當用於預防之意義時，該化合物可防止發展出任何疼痛或其可減輕可能發展出之疼痛的程度。

當應用在熱休克蛋白質 Hsp90 之活性時，此文所使用之“調整”一詞係意圖定義熱休克蛋白質之生物活性水準中的變化。因此，調整一詞包含使相關之熱休克蛋白質活性增加或減少之生理變化。後者中，調整可被描述為“抑制”。調整可直接或間接產生且可由任何生理層級之任何機制傳介，包括，例如：在基因表現之層級（包括，例如：轉錄、轉譯及/或後轉譯修改）、在編碼調節要素之基因表現的層級（該調節要素可直接或間接作用在熱休克蛋白質活性之水準上）。因此，調整可能意味提高/遏制熱休克蛋白質之表現，或熱休克蛋白質過度表現或表現洩足，包括基因增數（即，複數基因複本）及/或藉轉錄作用增加或減少表現，以及藉突變造成之熱休克蛋白質之高（或低）活性及（去）活化（包括去活化）。“經調整 (modulated)”、“調整 (modulating)”及“調整 (modulate)”等詞可交換使用。

當與此文所描述之熱休克蛋白質一起使用（並應用於，例如：不同生理過程、疾病、狀態、狀況、療法、治療或干預）時，此文所使用之“傳介”一詞係欲限制性地運

用，如此，該名詞所應用之不同過程、疾病、狀態、狀況、治療及干預為那些熱休克蛋白質 Hsp90 在其中扮演一生物角色者。當此名詞應用在疾病、狀態或狀況時，熱休克蛋白質 Hsp90 所扮演之生物角色可為直接或間接且對疾病、狀態或狀況之表現（或其病因學或進展）可能為必須及/或足夠的。因此，熱休克蛋白質 Hsp90 活性（尤其是異常水準之熱休克蛋白質 Hsp90 活性，如：Hsp90 過度表現）不必然為疾病、狀態或狀況之近因：而是，考量該經熱休克蛋白質 Hsp90 傳介之疾病、狀態或狀況係包括那些其中 Hsp90 僅部分參與，其本身具有多因子病因學及複雜進展者。當此名詞係應用在治療、預防或干預時（如：在本發明之“經 Hsp90 傳介的治療”及“經 Hsp90 傳介之預防”中），Hsp90 所扮演之角色可能為直接或間接且對本發明之治療操作、預防或干預可能為必須及/或足夠的。因此，由 Hsp90 傳介之疾病狀態或狀況包括對任何特殊之癌症藥物或治療之抗性（尤其是，包括對此文所描述之一或多種傳信抑制劑的抗性）的發展。

當應用在細胞週期素倚賴性激酶 5（CDK5）之活性時，此文所使用之“調整”一詞意圖定義激酶生物活性水準之變化。因此，調整包含造成相關激酶活性之增加或減少的生理變化。後者中，調整可描述為“抑制”。調整可直接或間接產生且可由任何生理層級之任何機制傳介，包括，例如：在基因表現之層級（包括，例如：轉錄、轉譯及/或後轉譯修改）、在編碼調節要素之基因表現的層級

（該調節要素直接或間接作用在細胞週期素倚賴性激酶 5（CDK5）之水準上）或在酶之層級（例如：細胞週期素倚賴性激酶 5（CDK5）活性（例如：藉由變構機制、競爭性抑制作用、活性部位去活化作用、反饋抑制性通路之擾亂，等））。因此，調整可能意味提高/遏制細胞週期素倚賴性激酶 5（CDK5）之表現，或細胞週期素倚賴性激酶 5（CDK5）過度表現或表現洩足，包括基因增數（即，複數基因複本）及/或藉轉錄作用增加或減少表現，以及藉突變造成之細胞週期素倚賴性激酶 5（CDK5）之高（或低）活性及（去）活化（包括去活化）。“經調整（modulated）”、“調整（modulating）”及“調整（modulate）”等詞可依此解釋。

當與此文所描述之細胞週期素倚賴性激酶 5（CDK5）一起使用（並應用於，例如：不同之生理過程、疾病、狀態、狀況、療法、治療或干預）時，此文所使用之“傳介”一詞係欲限制性地運用，如此，該名詞所應用之不同過程、疾病、狀態、狀況、治療及干預為那些細胞週期素倚賴性激酶 5（CDK5）在其中扮演一生物角色者。當此名詞應用在疾病、狀態或狀況時，細胞週期素倚賴性激酶 5（CDK5）所扮演之生物角色可為直接或間接且對疾病、狀態或狀況之表現（或其病因學或進展）可能為必須及/或足夠的。因此，細胞週期素倚賴性激酶 5（CDK5）活性（尤其是異常水準之細胞週期素倚賴性激酶 5（CDK5）活性，如：細胞週期素倚賴性激酶 5（CDK5）過度表

現) 不必然為疾病、狀態或狀況之近因：而是，考量該經 CDK5 傳介之疾病、狀態或狀況係包括那些其中 CDK5 僅部分參與，其本身具有多因子病因學及複雜進展者。當此名詞係應用治療、預防或干預時（如：在本發明之“經 CDK5 傳介的治療”中），CDK5 所扮演之角色可能為直接或間接且對本發明之治療操作、預防或干預結果可能為必須及/或足夠的。

此文所使用之“干預”一詞為用來定義任何產生在任何層級之生理變化的作用。因此，干預可包含誘導或壓抑任何生理過程、情況、生化通路或細胞/生化作用。本發明之干預通常係指使疾病或狀況之療法、治療或預防生效（或促成）。

當應用於二或多種化合物及/或作用劑（此文亦稱為或分）時，此文所使用之“組合物”一詞係意圖定義其中該二或多種化合物/作用劑相結合之物質。“經組合的（combined）”及“組合（combining）”等詞係據此解釋。

組合物中之二或多種化合物/作用劑的結合可為生理性或非生理性。生理上結合之組合的化合物/作用劑的實例包括：

- 在混合物中包含二或多種化合物/作用劑（例如：在相同之單位劑量內）之組成物（如：單一調和物）；
- 包含其中有二或多種化合物/作用劑以化學/物化方式連接之物質的組成物（例如：藉由交聯、分子聚附或結

合至共通之載劑部分)；

- 包含其中有二或多種化合物/作用劑以化學/物化方式共同包裝(例如：配置或包含在下列物質中：脂質囊泡、顆粒(如：微粒或奈米微粒)或乳劑小滴)之物質的組成物；

- 其中有二或多種化合物/作用劑係共同包裝或共同呈現(例如：為單位劑量之配置的一部分)之藥學套組、藥學包裝或患者包裝；

非生理上結合之組合的化合物/作用劑之實例包括：

- 包含至少一種該二或多種化合物/作用劑與用法說明之物質(例如：非單一調和物)，此用法說明係用於臨時結合至少一種化合物，以形成二或多種化合物/作用劑之生理性結合物；

- 包含至少一種該二或多種化合物/作用劑與用法說明之物質(例如：非單一調和物)，此用法說明係用於以該二或多種化合物/作用劑進行組合療法；

- 包含至少一種該二或多種化合物/作用劑與用法說明之物質，此用法說明係用於投藥給予已服用該二或多種化合物/作用劑之另外的化合物/作用劑的患者；

- 包含至少一種該二或多種化合物/作用劑(其量或形式特別適合與該二或多種化合物/作用劑之另外的化合物/作用劑一起使用)之物質。

此文所使用之“組合”一詞可指同一總體治療攝生法之一部分而投服的化合物/作用劑。因此，該二或多種化

合物 / 作用劑之各藥量學可能不同：其可以相同時間或不同時間投服。因此，可察知該組合物之化合物 / 作用劑可在相同之製藥調和物（即，一起）或不同之製藥調和物（即，分開）中依序（如：之前或之後）或同時投服。在相同之製藥調和物中同時投服係以單一調和物之形式投服，但以不同調和物同時投服則為非-單一調和物。在組合療法中之該二或多種化合物 / 作用劑之各藥量亦可能依投服途徑而有所不同。

此文所使用之“藥學套組”一詞界定一或多個藥學組成物之單位劑量與給藥裝置（例如：測量裝置）及 / 或遞送裝置（如：吸入器或針筒）（其選擇性地全部包含在共用之外包裝內）的列組。在包含二或多種化合物 / 作用劑之組合物的藥學套組中，個別化合物 / 作用劑可為單一或非單一調和物。單位劑量可包含在鋁箔盒（blister）之包裝中。該藥學套組可選擇性地進一步包含使用之用法說明。

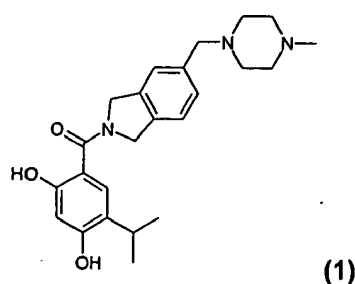
此文所使用之“藥學包裝”一詞界定一或多個藥學組成物之單位劑量（其選擇性地包含在共用之外包裝內）的列組。在包含二或多種化合物 / 作用劑之組合物的藥學包裝中，個別化合物 / 作用劑可為單一或非單一調和物。單位劑量可包含在鋁箔盒之包裝中。該藥學包裝可選擇性地進一步包含使用之用法說明。

此文所使用之“患者包裝”一詞界定一種開立給患者之包裝，其包含用於整個療程之藥學組成物。患者包裝通

常含有一或多個鋁箔盒。患者包裝優於傳統處方之利處為藥師將患者之藥物供給品從大批供給品分裝，患者永遠可接近包含在患者包裝中之仿單（其通常不會在患者之處方中看到）。包含此仿單顯示出可改良患者對醫師指示之服從性。

酸加成鹽

於第一種觀點中，本發明提供式（1）化合物之酸加成鹽



式（1）化合物之化學名為（2,4-二羥基-5-異丙基-苯基）-[5-（4-甲基-六氫吡啶-1-基甲基）-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮。

本申請書中，“鹽（salt）”及“酸加成鹽（acid addition salt）”與“鹽（salts）”及“酸加成鹽（acid addition salts）”可同樣地交換使用。除非另外指出，此文所使用之“鹽（salt）”及“鹽（salts）”等詞係指酸加成鹽。

提及化合物（2,4-二羥基-5-異丙基-苯基）-[5-（4-甲基-六氫吡啶-1-基甲基）-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮及其酸加成鹽時係包括在其範圍內之所有其溶劑化物、互變

異構物及同位素（本文中包括 N-氧化物及其他離子型）。

酸加成鹽可以多種酸類（包含無機酸及有機酸二者）形成。酸加成鹽之實例包括以選自下列之酸形成之鹽類：醋酸、2,2-二氯醋酸、己二酸、藻酸、抗壞血酸（例如：L-抗壞血酸）、天門冬胺酸（例如：L-天門冬胺酸）、苯磺酸、苯甲酸、4-乙醯胺基苯甲酸、丁酸、樟腦酸（如：（+）樟腦酸）、樟腦-磺酸、（+）-（1S）-樟腦-10-磺酸、癸酸、己酸、辛酸、碳酸、肉桂酸、檸檬酸、環己基胺基磺酸（cyclamic）、十二烷酸、十二烷基硫酸、乙-1,2-二磺酸、乙磺酸、2-羥基乙磺酸、甲酸、富馬酸、半乳糖二酸、龍膽酸、葡庚糖酸、D-葡萄糖酸、葡萄糖醛酸（如：D-葡萄糖醛酸）、麩胺酸（如：L-麩胺酸）、 α -氧代戊二酸、甘醇酸、馬尿酸、氫溴酸、氫氯酸、氫碘酸、羥乙基磺酸、異丁酸、乳酸（如：（+）-L-乳酸[其在本文他處可簡單稱為 L-乳酸]及（±）-DL-乳酸）、月桂基磺酸、乳糖酸、馬來酸、蘋果酸、（-）-L-蘋果酸、（±）-DL-扁桃酸、甲磺酸、黏酸、萘磺酸（如：萘-2-磺酸及萘-1,5-二磺酸）、1-羥基-2-萘酸、菸鹼酸、硝酸、油酸、乳清酸、草酸、棕櫚酸、巴諾酸（pamoic）、磷酸、丙酸、L-焦麩胺酸、水楊酸、4-胺基-水楊酸、癸二酸、硬脂酸、琥珀酸、硫酸、鞣酸、酒石酸（如：（+）-L-酒石酸）、硫氰酸、甲苯磺酸（如：對-甲苯磺酸）、十一烯酸、戊酸及 1-羥基萘-2-羧酸（xinafoic acid）。

特別之酸加成鹽為以氫氨酸、乳酸（如：L-乳酸）或硫酸形成之鹽。

較佳之鹽為以乳酸形成之鹽，即，乳酸鹽，尤其是L-乳酸鹽。

該酸加成鹽通常為藥學上可接受之鹽，藥學上可接受之鹽的實例討論於 Berge et al., 1977, "Pharmaceutically Acceptable Salts," J. Pharm. Sci., Vol. 66, pp. 1-19 中。然而，非藥學上可接受之鹽亦可製成中間體形式，再將其轉化成藥學上可接受之鹽。這類非藥學上可接受之鹽型（其可用於，例如：本發明化合物之純化或分離中）亦形成本發明之一部分。

在固體狀態中，本發明之鹽類可為結晶型或無定形或其混合物。

於一較佳體系中，該鹽類為無定形。

在無定形固體中，正常以結晶型存在之三次元構造並不存在且在無定形中之分子的彼此相關位置為實質上不規則的，見，例如：Hancock et al. J. Pharm. Sci. (1997), 86, 1。

於另一較佳體系中，該鹽類大體上為結晶型。

本發明之鹽類可藉由習知之化學方法（諸如：Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, P. Heinrich Stahl (Editor), Camille G. Wermuth (Editor), ISBN:3-90639-026-8, Hardcover, 388 pages, August 2002 中所描述者）從母化合物合成。一般而言，這類鹽類可藉由

在水中或有機溶劑中或此二者之混合物中將式（1）化合物之游離鹼型與合適之酸反應來製備。

於另一種觀點中，本發明提供製備（2,4-二羥基-5-異丙基-苯基）-[5-（4-甲基-六氫吡咩-1-基甲基）-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮之酸加成鹽的方法，該方法包含在溶劑（通常為有機溶劑）或溶劑之混合物中形成（2,4-二羥基-5-異丙基-苯基）-[5-（4-甲基-六氫吡咩-1-基甲基）-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮游離鹼之溶液並以酸處理該溶液，以形成該酸加成鹽之沈澱物。

該酸可以在溶劑（此溶劑可與其中溶有游離鹼之溶劑相溶混）中之溶液形式加入。游離鹼可完全溶解於其中之溶劑可能為一種該酸加成鹽無法溶解於其中之溶劑。或者，該游離鹼可完全溶解於其中之溶劑可能為一種該酸加成鹽可至少部分溶解於其中之溶劑，接著，再加入該酸加成鹽在其中之溶解度較差的不同溶劑，以使鹽自溶液中沈澱出。

於另一形成酸加成鹽之替換方法中係將（2,4-二羥基-5-異丙基-苯基）-[5-（4-甲基-六氫吡咩-1-基甲基）-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮溶解於包含揮發性酸之溶劑及選擇性地一種共溶劑中以藉此形成酸加成鹽與揮發性酸之溶液，然後，將所產生之溶液濃縮或蒸發以分離出該鹽。可以此方式製備之酸加成鹽的實例為醋酸鹽。

該鹽通常係在形成時自有機溶劑中沈澱出，因此可經由將固體自溶液中分開（如：藉由過濾）而將其分離出。

本發明之鹽型可藉由本技藝之技術熟習人士所熟知之方法轉化成游離鹼及選擇性地另一種鹽型。例如：該游離鹼可經由將鹽溶液通過含有胺固定相（如：Strata-NH₂管柱）之管柱來形成。或者，可以重碳酸鈉處理在水中之鹽溶液以分解鹽，並沈澱出游離鹼。然後，可將游離鹼與另一種酸藉由上述或本文中他處所描述的方法之一合併。

鹽類（諸如酸加成鹽）具有多種較對應之游離鹼為佳之優點。例如：鹽類具有下列一或多種較游離鹼為佳之優點在於其：

- 較易溶解，因此對 i.v. 投藥（如：經由注入）較佳；
- 具有較佳之穩定性（如：改良之耐儲時間）；
- 具較佳之熱穩定性；
- 鹼度較低，因此對 i.v. 投藥較佳；
- 具有用於產製之優點；
- 具有改良之在水溶液中的溶解度；
- 具有較佳之物化性質；
- 可能具有改良之抗癌活性；及
- 可能具有改良之治療指數。

式（1）化合物之 L-乳酸鹽的特殊優點為其：

- 非經水合，因此較易調製；
- 較游離鹼及其他測試之鹽型（即，以氫氯酸和硫酸形成之鹽）具較少之多形型；
- 為非吸濕性；及

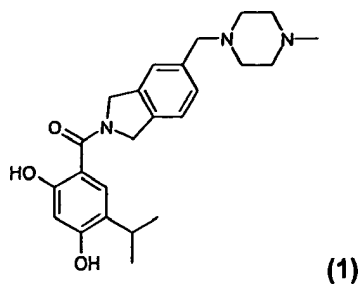
- 具有較游離鹼及其他測試之鹽為佳的溶解速率。

此文所使用之“穩定”或“穩定性”等詞包括化學穩定性及固態（物理）穩定性。“化學穩定性”一詞意指該化合物在正常之貯存條件下可以分離出之形式或調和物之形式（其中該化合物係以，如：與此文所描述之藥學上可接受之載體、稀釋劑或佐劑混合之形式提供）貯存，如：6個月或更久，更常為12個月或更久（例如：18個月或更久），而僅有很少或無化學降解或分解。“固態穩定性”意指該化合物在正常之貯存條件下可以分離出之固體形式或固體調和物之形式（其中該化合物係以，如：與此文所描述之藥學上可接受之載體、稀釋劑或佐劑混合之形式提供）貯存，而僅有很少或無固態轉形（如：水合、脫水、溶劑化、去溶劑化、結晶化、再結晶化或固態之相變動）。

“非吸濕的”和“非吸濕性”以及此文所使用之相關詞係指當暴露於高相對濕度（例如：90%相對濕度）之條件下時吸收少於5重量%（相對於其本身之重量）之水，及/或在高濕度條件下不會改變結晶型，及/或在高濕度之條件下不會將水吸入結晶體內（內部水）的物質。

結晶型

於另一觀點中，本發明提供式（1）化合物



或實質上為結晶型之其酸加成鹽。

“實質上為結晶型”意指式（1）化合物或其酸加成鹽為50%至100%之結晶型，更特別地，式（1）化合物或其鹽類可為至少50%結晶型，或至少60%結晶型，或至少70%結晶型，或至少80%結晶型，或至少90%結晶型，或至少95%結晶型，或至少98%結晶型，或至少99%結晶型，或至少99.5%結晶型，或至少99.9%結晶型，例如：100%結晶型。

較佳地，該式（1）化合物或其鹽為那些（或可選自該群體）95%至100%為結晶型者，例如：至少98%結晶型，或至少99%結晶型，或至少99.5%結晶型，或至少99.6%結晶型，或至少99.7%結晶型，或至少99.8%結晶型，或至少99.9%結晶型，例如：100%為晶型。

本發明之結晶型（為固態）可為溶劑化的（如：水合的）或非溶劑化的（如：無水的）。

於一較佳體系中，該結晶型為非溶劑化的（如：無水的）。

此文所使用之“無水”一詞不排除鹽（如：鹽之結晶）上或鹽中存有一些水之可能性。例如：鹽（如：鹽晶體）之表面上可能存有一些水或鹽（如：晶體）體中有少量

水。通常，每一無水型化合物分子包含少於 0.4 個分子之水，更宜為每一化合物分子包含少於 0.1 個分子之水，例如：0 分子之水。

於另一較佳體系中，該結晶型為溶劑化的。當結晶型為水合的，其可含有，例如：至多 3 個分子之結晶水，更常為至多 2 個分子之水，如：1 個分子之水或 2 個分子之水。亦可形成非化學計量性水合物，其中存在之水分子數少於一個或為非整數。例如：當其中存在之水少於一個分子時，可為，例如每一化合物分子存有 0.4、或 0.5、或 0.6、或 0.7、或 0.8、或 0.9 個分子之水。

其他溶劑化物包括醇鹽，諸如乙醇鹽及異丙醇鹽。

此文所描述之結晶型、其個別晶體及其晶體構造形成本發明之其他觀點。

結晶型及其晶體構造可利用多種技術決定其特徵，這些技術包括：X 光單晶結晶學、X 光粉末繞射（XRPD）、微差掃描量熱學（DSC）及紅外線光譜術，如：傅立葉（Fourier）轉換紅外線光譜（FTIR）。晶體在不同濕度條件下之行爲可藉由重量蒸氣吸附研究及 XRPD 分析。

化合物之晶體構造可藉由 X 光結晶學測定，此可根據習知方法（諸如那些描述於本文及下列文獻中者：Fundamentals of Crystallography, C. Giacovazzo, H. L. Monaco, D. Viterbo, F. Scordari, G. Gilli, G. Zanotti and M. Catti, (International Union of Crystallography/Oxford University Press, 1992 ISBN 0-19-855578-4 (p/b), 0-19-

85579-2 (h/b)) 進行測定。此技術涉及 X 光單晶繞射之分析及解釋。

或者，化合物之結晶型構造可藉由 X 光粉末繞射 (XRPD) 固態技術分析。XRPD 可根據習知方法 (諸如那些描述於本文及 Introduction to X-ray Powder Diffraction, Ron Jenkins and Robert L. Snyder (John Wiley & Sons, New York, 1996 中者) 進行。在 XRPD 繞射圖中出現清楚之峰 (相對於任意之背景雜訊) 表示該化合物具有一定之結晶度。

化合物之 X 光粉末樣式係藉 X 光繞射光譜之繞射角 (2θ) 及晶面間距 (interplanar spacing) (d) 參數決定其特徵。這些係藉布拉格公式 (Bragg's equation), $n\lambda = 2d \sin\theta$ (其中 $n=1$; λ =所使用之陰極的波長; d =晶面間距; 且 θ =繞射角) 相互關連。此處, 由於數據之特性, 晶面間距、繞射角及總體樣式對鑑定 X 光粉末繞射中之晶體很重要。相關強度不應嚴格解釋, 因其可根據晶體生長方向、顆粒大小及測量條件而有不同。另外, 繞射角通常意指重疊在 $2\theta \pm 0.2^\circ$ 之範圍內的角度。該峰意指主要之峰並包括在除了上述繞射角外, 不大於中等之峰者。

式 (1) 化合物及其酸加成鹽可以多種不同之結晶型存在, 這些將更詳細地描述於下文中並在實例中說明其特徵。

(2,4-二羥基-5-異丙基-苯基)-[5-(4-甲基-六氫吡啶-1-

基甲基)-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮之游離鹼的結晶型

式(1)化合物之游離鹼已被發現至少以6種不同之結晶型存在，其中三種(此處將該形式命名為FB1、FB2及FB5)在空氣中不穩定，另三種(此處將該形式命名為FB3、FB4及FB6)在空氣中穩定。該游離鹼之結晶型的特徵描述於下列實例6A中。

FB1 型

於一較佳體系中，本發明提供其結晶型之特徵為XRPD樣式之繞射角峰($2\theta/^\circ$)在5.52處的結晶型(2,4-二羥基-5-異丙基-苯基)-[5-(4-甲基-六氫吡嘰-1-基甲基)-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮。

較佳地，XRPD樣式亦顯示在15.21、16.11、16.72、18.21及20.29處之繞射角($2\theta/^\circ$)峰。

更佳地，XRPD樣式亦顯示在9.44、11.05、11.99、17.09、19.23、19.73、21.09及26.72處之繞射角($2\theta/^\circ$)峰。

最佳地，XRPD樣式大致上係如此文之第1圖中所示。

於另一觀點中，本發明提供用於製備結晶型FB1之方法，該方法包含將(2,4-二羥基-5-異丙基-苯基)-[5-(4-甲基-六氫吡嘰-1-基甲基)-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮溶解於正-丁醇中，以形成飽和溶液，然後加入二(異丙基)醚，以沈澱出結晶型FB1。

結晶型 FB1 在空氣中不穩定並在靜置時轉化成 FB3 型（見下述）。

因此，本發明亦提供用於製備如此文所定義之結晶型 FB3 之方法，該方法包含將 FB1 型暴露於空氣中一段足夠的時間，以令 FB1 型可轉形成 FB3。

FB2 型

於另一較佳體系中，本發明提供其結晶型之特徵為 XRPD 樣式之繞射角峰（ $2\theta /^\circ$ ）在 5.35 處的結晶型（2,4-二羥基-5-異丙基-苯基）-[5-（4-甲基-六氫吡啶-1-基甲基）-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮。

較佳地，XRPD 樣式亦顯示在 14.68，17.00，18.61，19.86 及 20.15 處之繞射角（ $2\theta /^\circ$ ）峰。

更佳地，XRPD 樣式進一步顯示在 6.73，10.40，10.67，18.26，18.87，19.24，21.13，21.44 及 26.86 處之繞射角（ $2\theta /^\circ$ ）峰。

最佳地，XRPD 樣式大致上係如此文之第 2 圖中所示。

於另一觀點中，本發明提供用於製備結晶型 FB2 之方法，該方法包含將（2,4-二羥基-5-異丙基-苯基）-[5-（4-甲基-六氫吡啶-1-基甲基）-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮溶解於 THF 中，以形成飽和溶液，然後加入醋酸異丙酯，以沈澱出結晶型 FB2。

結晶型 FB2 在空氣中亦不穩定並在靜置時轉化成 FB3

型（見下述）。

因此，本發明亦提供用於製備如此文所定義之結晶型 FB3 之方法，該方法包含將 FB2 型暴露於空氣中一段足夠的時間，以令 FB2 型可轉形成 FB3。

FB3 型

於另一較佳體系中，本發明提供其結晶型之特徵為 XRPD 樣式之繞射角峰（ $2\theta / ^\circ$ ）在 6.05 處的結晶型（2,4-二羥基-5-異丙基-苯基）-[5-（4-甲基-六氫吡嘰-1-基甲基）-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮。

較佳地，XRPD 樣式亦顯示在 12.15，13.60，15.77，17.82，18.89，19.64，20.20 及 20.93 處之繞射角（ $2\theta / ^\circ$ ）峰。

更佳地，XRPD 樣式進一步顯示在 7.87，9.15，10.22，16.62，17.16，22.19，23.33 及 24.53 處之繞射角（ $2\theta / ^\circ$ ）峰。

最佳地，XRPD 樣式大致上係如此文之第 3 圖中所示。

FB3 型在 40℃ 及 75% 相對濕度之空氣中可保持穩定至少一個月，因此，適合用於固體藥學組成物中。因此，於另一觀點中，本發明提供包含如此文所定義之結晶型 FB3 之（2,4-二羥基-5-異丙基-苯基）-[5-（4-甲基-六氫吡嘰-1-基甲基）-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮游離鹼的固態藥學組成物。

FB4 型

於另一較佳體系中，本發明提供其結晶型之特徵為 XRPD 樣式之繞射角峰 ($2\theta /^\circ$) 在 6.29 處的結晶型 (2,4-二羥基-5-異丙基-苯基)-[5-(4-甲基-六氫吡咩-1-基甲基)-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮。

較佳地，XRPD 樣式亦顯示在 8.91，9.96，14.11，16.11，17.11，18.48，19.91，21.57，22.46，23.59 及 24.88 處之繞射角 ($2\theta /^\circ$) 峰。

更佳地，XRPD 樣式進一步顯示在 12.62，17.40，17.88，19.33，20.35 及 27.25 處之繞射角 ($2\theta /^\circ$) 峰。

最佳地，XRPD 樣式大致上係如此文之第 4 圖中所示。

從 X-光結晶學研究中發現 FB4 具有屬於四方空間群 $P4_2/n$ 之晶體構造且具有在 293K $a=b=28.2$ ， $c=6.0\text{\AA}$ ， $\alpha=\beta=\gamma=90^\circ$ 之晶格參數。晶體堆積圖顯示於第 5 圖中。

因此，於另一較佳體系中，本發明提供 (2,4-二羥基-5-異丙基-苯基)-[5-(4-甲基-六氫吡咩-1-基甲基)-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮游離鹼，其為結晶型且：

(a) 具有如第 5 圖中所示之晶體構造；及/或

(b) 具有如藉此文表 5 中之座標界定的晶體構造；及/或

(c) 具有在 293K $a=b=28.2$ ， $c=6.0\text{\AA}$ ， $\alpha=\beta=\gamma=90^\circ$ 之晶格參數；及/或

(d) 具有屬於四方空間群 (諸如 $P4_2/n$) 之晶體構造

結晶型 FB4 為穩定之二水合物且可用於製備固態藥學組成物。因此，於另一觀點中，本發明提供包含如此文所定義之結晶型 FB4 之 (2,4-二羥基-5-異丙基-苯基) - [5- (4-甲基-六氫吡嘧啶-1-基甲基) -1,3-二氫-異吡啶-2-基]-甲酮游離鹼的固態藥學組成物。

於另一觀點中，本發明提供用於製備結晶型 FB4 之方法，該方法包含將 (2,4-二羥基-5-異丙基-苯基) - [5- (4-甲基-六氫吡嘧啶-1-基甲基) -1,3-二氫-異吡啶-2-基]-甲酮溶解於乙醇中以形成飽和溶液，然後加入二 (異丙基) 醚，以沈澱出結晶型 FB4。

FB5 型

於另一較佳體系中，本發明提供其結晶型之特徵為 XRPD 樣式之繞射角峰 ($2\theta /^\circ$) 在 7.12 處的結晶型 (2,4-二羥基-5-異丙基-苯基) - [5- (4-甲基-六氫吡嘧啶-1-基甲基) -1,3-二氫-異吡啶-2-基]-甲酮。

較佳地，XRPD 樣式亦顯示在 9.71，10.14，13.73，16.58，18.71，19.46，20.15 及 22.35 處之繞射角 ($2\theta /^\circ$) 峰。

更佳地，XRPD 樣式進一步顯示在 11.50，14.60，15.34，16.94，21.97，23.43 及 26.36 處之繞射角 ($2\theta /^\circ$) 峰。

最佳地，XRPD 樣式大致上係如此文之第 6 圖中所示

。

於另一觀點中，本發明提供用於製備結晶型 FB5 之方法，該方法包含將（2,4-二羥基-5-異丙基-苯基）-[5-（4-甲基-六氫吡啶-1-基甲基）-1,3-二氫-異吡啶-2-基]-甲酮溶解於異丙醇中，以形成飽和溶液，然後加入醋酸異丙酯，以沈澱出結晶型 FB5。

FB6 型

於另一較佳體系中，本發明提供其結晶型之特徵為 XRPD 樣式之繞射角峰（ $2\theta /^\circ$ ）在 18.66 處的結晶型（2,4-二羥基-5-異丙基-苯基）-[5-（4-甲基-六氫吡啶-1-基甲基）-1,3-二氫-異吡啶-2-基]-甲酮。

較佳地，XRPD 樣式亦顯示在 9.09，9.68，16.08，16.46，16.94，18.13，20.05 及 22.48 處之繞射角（ $2\theta /^\circ$ ）峰。

更佳地，XRPD 樣式進一步顯示在 4.60 及 26.53 處之繞射角（ $2\theta /^\circ$ ）峰。

最佳地，XRPD 樣式大致上係如此文之第 7 圖中所示

。

（2,4-二羥基-5-異丙基-苯基）-[5-（4-甲基-六氫吡啶-1-基甲基）-1,3-二氫-異吡啶-2-基]-甲酮與氫氯酸間形成之鹽類的結晶型

式 (1) 化合物之氫氨酸鹽已被發現至少以 5 種不同之結晶型存在，其中一種（此處將該形式命名為 FH3）在空氣中為穩定，另四種（此處將該形式命名為 FH1、FH2、FH4 及 FH5）在空氣中不穩定。

FH1 型

於另一較佳體系中，本發明提供其結晶型之特徵為 XRPD 樣式之繞射角峰 ($2\theta /^\circ$) 在 7.34 處的結晶型 (2,4-二羥基-5-異丙基-苯基)-[5-(4-甲基-六氫吡嘰-1-基甲基)-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮氫氨酸鹽。

較佳地，XRPD 樣式亦顯示在 5.59，7.99，10.33，14.32，15.29，18.59 及 25.32 處之繞射角 ($2\theta /^\circ$) 峰。

更佳地，XRPD 樣式進一步顯示在 11.70，13.95，14.72，16.37，16.82，19.99，20.40，20.82，21.26，22.57，23.01，24.60，25.82，27.10，28.27 及 28.78 處之繞射角 ($2\theta /^\circ$) 峰。

最佳地，XRPD 樣式大致上係如此文之第 8 圖中所示。

於另一觀點中，本發明提供用於製備結晶型 FH1 之方法，該方法包含將醋酸乙酯/HCl 和甲醇加入 (2,4-二羥基-5-異丙基-苯基)-[5-(4-甲基-六氫吡嘰-1-基甲基)-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮之游離鹼中，以產生一溶液，然後，移除溶劑以留下二-氫氨酸鹽。

FH2 型

於另一較佳體系中，本發明提供其結晶型之特徵為 XRPD 樣式之繞射角峰 ($2\theta /^\circ$) 在 3.40 處的結晶型 (2,4-二羥基-5-異丙基-苯基)-[5-(4-甲基-六氫吡嘰-1-基甲基)-1,3-二氫-異吡啶-2-基]-甲酮氫氯酸鹽。

較佳地，XRPD 樣式亦顯示在 6.81，9.03，11.84，15.70，16.10，18.13，20.84，23.19，23.94，24.78 及 25.65 處之繞射角 ($2\theta /^\circ$) 峰。

更佳地，XRPD 樣式進一步顯示在 6.04，13.01，13.69，16.59，17.17，21.39，21.87，24.78，25.97，26.94，27.59，28.06 及 29.53 處之繞射角 ($2\theta /^\circ$) 峰。

最佳地，XRPD 樣式大致上係如此文之第 9 圖中所示。

FH2 型可經由利用丙酮作為抗溶劑，自 FH1 型之飽和 DMF 溶液中沈澱出來製備。因此，於另一觀點中，本發明提供用於製備結晶型 FH2 之方法，該方法包含形成在 DMF 中之 FH1 型的飽和溶液，然後，加入丙酮以沈澱出 FH2 型。

FH3 型

於另一較佳體系中，本發明提供其結晶型之特徵為 XRPD 樣式之繞射角峰 ($2\theta /^\circ$) 在 9.35 處的結晶型 (2,4-二羥基-5-異丙基-苯基)-[5-(4-甲基-六氫吡嘰-1-基甲基)-1,3-二氫-異吡啶-2-基]-甲酮氫氯酸鹽。

較佳地，XRPD 樣式亦顯示在 10.40，10.78，12.51，14.78，18.74，19.09，21.68，22.32，23.07，24.86，25.14 及 29.02 處之繞射角（ $2\theta /^\circ$ ）峰。

更佳地，XRPD 樣式進一步顯示在 5.83，10.78，11.35，11.71，13.35，13.81，14.10，17.18，17.65，19.46，20.11，21.18，23.71，26.49，27.03，28.09，28.70 及 29.52 處之繞射角（ $2\theta /^\circ$ ）峰。

最佳地，XRPD 樣式大致上係如此文之第 10 圖中所示。

FH3 型可經由將在二噁烷中之 HCl 加入（2,4-二羥基-5-異丙基-苯基）-[5-（4-甲基-六氫吡啶-1-基甲基）-1,3-二氫-異吡啶-2-基]-甲酮游離鹼之乙醇溶液中來製備。因此，於另一觀點中，本發明提供用於製備 FH3 型之氫氯酸鹽的方法，該方法包含（i）將（2,4-二羥基-5-異丙基-苯基）-[5-（4-甲基-六氫吡啶-1-基甲基）-1,3-二氫-異吡啶-2-基]-甲酮溶解在乙醇中；（ii）將在二噁烷中之 HCl 的溶液加入其中；（iii）將所產生之混合物蒸發至乾燥；（iv）將殘質溶解在溫乙醇：水（9：1；5 毫升）中；（v）在溶液中引入晶種並將溶液攪拌至少 2 小時（如：至少 4 或 6 或 8 或 10 或 12 或 14 小時），再移出沈澱之 FH3 型。

FH4 型

於另一較佳體系中，本發明提供其結晶型之特徵為

XRPD 樣式之繞射角峰 ($2\theta /^\circ$) 在 11.62 處的結晶型 (2,4-二羥基-5-異丙基-苯基)-[5-(4-甲基-六氫吡咩-1-基甲基)-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮氫氨酸鹽。

較佳地，XRPD 樣式亦顯示在 7.04，11.62，15.54，16.68，18.54，20.73，22.26，22.94，23.77 及 25.07 處之繞射角 ($2\theta /^\circ$) 峰。

更佳地，XRPD 樣式進一步顯示在 9.89，12.30，13.27，14.14，16.06，17.99，19.24，23.36，24.63，25.72，26.91 及 27.63 處之繞射角 ($2\theta /^\circ$) 峰。

最佳地，XRPD 樣式大致上係如此文之第 11 圖中所示。

FH4 型可經由利用 1,4-二噁烷作為抗溶劑，自 DMF 溶液中沈澱出來製備。因此，於另一觀點中，本發明提供用於製備結晶型 FH4 之方法，該方法包含形成在 DMF 中之 FH1 型的飽和溶液，然後，加入 1,4-二噁烷以沈澱出 FH4 型。

FH5 型

於另一較佳體系中，本發明提供其結晶型之特徵為 XRPD 樣式之繞射角峰 ($2\theta /^\circ$) 在 2.32 處的結晶型 (2,4-二羥基-5-異丙基-苯基)-[5-(4-甲基-六氫吡咩-1-基甲基)-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮氫氨酸鹽。

較佳地，XRPD 樣式亦顯示在 6.15，11.79，15.79，20.81，22.76 及 23.76 處之繞射角 ($2\theta /^\circ$) 峰。

最佳地，XRPD 樣式大致上係如此文之第 12 圖中所示。

FH5 型可經由利用丙酮作為抗溶劑，自飽和之甲醇溶液中沈澱出來製備。

(2,4-二羥基-5-異丙基-苯基)-[5-(4-甲基-六氫吡啶-1-基甲基)-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮與 L-乳酸間形成之鹽類的結晶型

式(1)化合物的乳酸鹽呈一不穩定形式(FL3)與二穩定形式(FL1 與 FL2)。

FL1 型

於另一較佳體系中，本發明提供其特徵為繞射角峰值($2\theta/^\circ$)在 16.81 之 XRPD 樣式的結晶型(2,4-二羥基-5-異丙基-苯基)-[5-(4-甲基-六氫吡啶-1-基甲基)-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮 L-乳酸鹽。

較佳地，XRPD 樣式亦顯示在 6.53，13.10，14.13，14.40，17.22，18.65，19.52，19.82，22.33，22.84 及 23.09 處之繞射角($2\theta/^\circ$)峰。

更佳地，XRPD 樣式進一步顯示在 6.18，8.39，11.08，15.21，16.21，20.49，20.76，21.13，22.02，23.94，25.19，26.41，26.95 及 27.81 處之繞射角($2\theta/^\circ$)峰。

最佳地，XRPD 樣式大致上係如此文之第 13 圖中所示。

FL1 型可經由將 (2,4-二羥基-5-異丙基-苯基)-[5-(4-甲基-六氫吡啶-1-基甲基)-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮游離鹼懸浮在乙醇與 EtOAc 之混合物 (如: 體積比為 3:5) 中; 將 L-乳酸加入混合物中 (如: 其中該 L-乳酸為在乙醇中之溶液的形式); 使混合物澄清 (如: 經由加熱直到透明及/或濾除任何剩餘之固體); 一邊攪拌該澄清之混合物一邊引入晶種, 並藉由, 例如: 過濾移出結晶化之 FL1 型。

FL2 型

於另一較佳體系中, 本發明提供其特徵為繞射角峰值 ($2\theta / ^\circ$) 在 22.34 之 XRPD 樣式的結晶型 (2,4-二羥基-5-異丙基-苯基)-[5-(4-甲基-六氫吡啶-1-基甲基)-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮 L-乳酸鹽。

較佳地, XRPD 樣式亦顯示在 8.03, 10.71, 11.98, 13.13, 15.39, 16.09, 16.61, 17.26, 18.17, 18.82, 20.40, 21.01, 21.53, 22.34, 22.56, 23.71 及 27.70 處之繞射角 ($2\theta / ^\circ$) 峰。

更佳地, XRPD 樣式進一步顯示在 24.30, 24.65, 26.56 及 28.29 處之繞射角 ($2\theta / ^\circ$) 峰。

最佳地, XRPD 樣式大致上係如此文之第 14 圖中所示。

從 X-光結晶學研究中發現 FL2 具有屬於單斜空間群 $P2_1$ 之晶體構造且具有在 293K $a=5.8$, $b=16.6$, $c=14.9\text{\AA}$,

$\beta = 98$ ， $\alpha = \gamma = 90^\circ$ 之晶格參數。FL2 之晶體堆積圖顯示於此文第 15 圖中。

因此，於另一較佳體系中，本發明提供（2,4-二羥基-5-異丙基-苯基）-[5-（4-甲基-六氫吡咩-1-基甲基）-1,3-二氫-異吡啶-2-基]-甲酮 L-乳酸鹽，其為結晶型且：

（a）具有如第 15 圖中所示之晶體構造；及/或

（b）具有如藉此文表 16 中之座標所界定之晶體構造；及/或

（c）具有在 293 K $a=5.8$ ， $b=16.6$ ， $c=14.9\text{\AA}$ ， $\beta = 98$ ， $\alpha = \gamma = 90^\circ$ 之晶格參數；及/或

（d）具有屬於單斜空間群（諸如 $P2_1$ ）之晶體構造。

結晶型 FL2 為穩定之水合物，由於在不對稱單位中有三個晶體水的位置，其名義上為三水合物，但該晶體水的位置在室內溫度及濕度中並非 100%被佔據。FL2 型可用於製備固態藥學組成物。因此，於另一觀點中，本發明提供包含如此文所定義之 FL2 結晶型之（2,4-二羥基-5-異丙基-苯基）-[5-（4-甲基-六氫吡咩-1-基甲基）-1,3-二氫-異吡啶-2-基]-甲酮 L-乳酸鹽的固態藥學組成物。

FL2 型可經由利用丙酮作為抗溶劑，自飽和之水性甲醇溶液中沈澱出來製備。因此，於另一觀點中，本發明提供用於製備結晶型 FL2 之方法，該方法包含形成在甲醇：水（宜為 9：1 之比例）中之 FH1 型的飽和溶液，然後，加入丙酮以沈澱出 FL2 型。

FL3 型

於另一較佳體系中，本發明提供其特徵為繞射角峰值（ $2\theta /^\circ$ ）在 5.53 之 XRPD 樣式的結晶型（2,4-二羥基-5-異丙基-苯基）-[5-（4-甲基-六氫吡啶-1-基甲基）-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮 L-乳酸鹽。

較佳地，XRPD 樣式亦顯示在 11.07，13.16，16.69，17.17，18.00，18.49，19.28，21.05，22.47 及 22.84 處之繞射角（ $2\theta /^\circ$ ）峰。

更佳地，XRPD 樣式進一步顯示在 8.36，13.85，19.79，20.34，21.47，21.93，24.56，26.28，27.06，27.47 及 29.11 處之繞射角（ $2\theta /^\circ$ ）峰。

最佳地，XRPD 樣式大致上係如此文之第 16 圖中所示。

FL3 型為不穩定之形式。其可經由利用庚烷作為抗溶劑，自飽和 THF 溶液中沈澱出來製備。因此，於另一觀點中，本發明提供用於製備結晶型 FL3 之方法，該方法包含形成在 THF 中之 FH1 型的飽和溶液，然後，加入庚烷以沈澱出 FL3 型。

（2,4-二羥基-5-異丙基-苯基）-[5-（4-甲基-六氫吡啶-1-基甲基）-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮與硫酸間形成之鹽類的結晶型

硫酸鹽以二種不穩定之形式（FS1 及 FS2）和四種（

FS3、FS4、FS5 及 FS6) 穩定之形式存在。

1 : 1 鹽可經由將 (2,4-二羥基-5-異丙基-苯基)-[5-(4-甲基-六氫吡咩-1-基甲基)-1,3-二氫-異吡啶-2-基]-甲酮游離鹼溶解於硫酸中，再蒸發至乾燥來製備。

FS1 型

於另一較佳體系中，本發明提供其特徵為繞射角峰值 ($2\theta / ^\circ$) 在 4.79 之 XRPD 樣式的結晶型 (2,4-二羥基-5-異丙基-苯基)-[5-(4-甲基-六氫吡咩-1-基甲基)-1,3-二氫-異吡啶-2-基]-甲酮硫酸鹽。

較佳地，XRPD 樣式亦顯示在 10.02，11.28，14.38，15.27，16.91，18.29，20.12，21.76 及 22.32 處之繞射角 ($2\theta / ^\circ$) 峰。

更佳地，XRPD 樣式進一步顯示在 10.68，12.89，17.64，18.86，19.28，20.82，21.21，22.89，23.83，24.22，24.42，25.13 及 29.04 處之繞射角 ($2\theta / ^\circ$) 峰。

最佳地，XRPD 樣式大致上係如此文之第 17 圖中所示。

FS1 型可經由在室溫製備在水中之 1 : 1 鹽的飽和溶液 (見上述)，再慢慢加入乙腈以沈澱出 FS1 型來製備。

因此，於另一觀點中，本發明提供用於製備結晶型 FS1 之方法，該方法包含形成在水中之 1 : 1 鹽的飽和溶液，再慢慢加入乙腈以沈澱出 FS1 型。

FS2 型

於另一較佳體系中，本發明提供其特徵為繞射角峰值（ $2\theta /^\circ$ ）在 7.43 之 XRPD 樣式的結晶型（2,4-二羥基-5-異丙基-苯基）-[5-（4-甲基-六氫吡咩-1-基甲基）-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮硫酸鹽。

較佳地，XRPD 樣式亦顯示在 7.03，8.67，11.76，13.84，17.50 及 23.20 處之繞射角（ $2\theta /^\circ$ ）峰。

更佳地，XRPD 樣式進一步顯示在 4.17，8.09，9.27，9.65，10.41，10.98，12.53，14.55，15.39，16.24，16.89，18.05，18.93，19.47，24.21，25.21，25.75，26.62 及 27.67 處之繞射角（ $2\theta /^\circ$ ）峰。

最佳地，XRPD 樣式大致上係如此文之第 18 圖中所示。

於另一觀點中，本發明提供用於製備結晶型 FS2 之方法，該方法包含將式（1）化合物溶解在濃 H_2SO_4 中並加入乙腈（如：相對於 H_2SO_4 之 4 倍體積）以沈澱出 FS2 型。

FS3 型

於另一較佳體系中，本發明提供其特徵為繞射角峰值（ $2\theta /^\circ$ ）在 5.43 之 XRPD 樣式的結晶型（2,4-二羥基-5-異丙基-苯基）-[5-（4-甲基-六氫吡咩-1-基甲基）-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮硫酸鹽。

較佳地，XRPD 樣式亦顯示在 10.30，11.24，14.26，

14.91, 16.41, 17.53, 18.38, 18.61, 19.01, 19.92, 21.77, 22.67, 24.23 及 25.36 處之繞射角 ($2\theta / ^\circ$) 峰。

更佳地, XRPD 樣式進一步顯示在 4.81, 12.94, 13.98, 15.62, 19.38, 20.27, 20.71, 21.19, 23.79, 27.38 及 28.82 處之繞射角 ($2\theta / ^\circ$) 峰。

最佳地, XRPD 樣式大致上係如此文之第 19 圖中所示。

FS3 型可經由將 FS1 型在空氣中乾燥 2 天來製備。

FS4 型

於另一較佳體系中, 本發明提供其特徵為繞射角峰值 ($2\theta / ^\circ$) 在 7.48 之 XRPD 樣式的結晶型 (2,4-二羥基-5-異丙基-苯基)-[5-(4-甲基-六氫吡咩-1-基甲基)-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮硫酸鹽。

較佳地, XRPD 樣式亦顯示在 7.16, 7.97, 8.82, 9.09, 9.37, 10.45, 11.77, 14.36, 16.21, 16.99, 17.28, 17.59, 18.90, 23.13, 23.68 及 23.96 處之繞射角 ($2\theta / ^\circ$) 峰。

更佳地, XRPD 樣式進一步顯示在 4.64, 8.42, 13.25, 13.54, 15.03, 17.96, 19.43, 19.83, 21.36, 24.77, 25.64, 26.19, 26.73, 27.20, 27.76 及 28.64 處之繞射角 ($2\theta / ^\circ$) 峰。

最佳地, XRPD 樣式大致上係如此文之第 20 圖中所示。

FS4 型可經由將 FS2 型在 40℃ 及 75%RH 中溫育數週來製備。

FS5 型

於另一較佳體系中，本發明提供其特徵為繞射角峰值（ $2\theta / ^\circ$ ）在 7.99 之 XRPD 樣式的結晶型（2,4-二羥基-5-異丙基-苯基）-[5-（4-甲基-六氫吡咩-1-基甲基）-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮氫氨酸鹽。

較佳地，XRPD 樣式亦顯示在 7.11，9.33，9.57，10.45，11.64，13.27，14.28，15.60，16.98，17.65，18.01，18.80，23.21，23.51，23.92，25.06 及 26.24 處之繞射角（ $2\theta / ^\circ$ ）峰。

更佳地，XRPD 樣式進一步顯示在 4.70，14.65，15.12，19.32，19.83，21.08，24.30，27.28 及 28.67 處之繞射角（ $2\theta / ^\circ$ ）峰。

最佳地，XRPD 樣式大致上係如此文之第 21 圖中所示。

FS5 型可經由將 FS2 型風乾來製備。

FS6 型

於另一較佳體系中，本發明提供其特徵為繞射角峰值（ $2\theta / ^\circ$ ）在 4.82 之 XRPD 樣式的結晶型（2,4-二羥基-5-異丙基-苯基）-[5-（4-甲基-六氫吡咩-1-基甲基）-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮硫酸鹽。

較佳地，XRPD 樣式亦顯示在 9.98，14.45，15.38，16.97，18.18，20.23，20.93 及 22.29 處之繞射角（ $2\theta / ^\circ$ ）峰。

更佳地，XRPD 樣式進一步顯示在 11.35，12.92，17.52，19.42，21.31，21.66，21.89，22.84，23.04，23.94，24.51，25.26 及 29.18 處之繞射角（ $2\theta / ^\circ$ ）峰。

最佳地，XRPD 樣式大致上係如此文之第 22 圖中所示。

FS6 型可經由製備在 DMF 中之 1：1 鹽的飽和溶液（見上述），再加入甲苯以沈澱出 FS6 型來製備。

式（1）化合物之酸加成鹽及結晶型的藥學用途

於其他觀點中，本發明提供：

- 如此文所定義之式（1）化合物之酸加成鹽（如：L-乳酸鹽），或如此文所定義之式（1）化合物或其酸加成鹽（如：L-乳酸鹽）之結晶型，其係用於預防或治療由 Hsp90 傳介之疾病狀態或狀況。

- 一種如此文所定義之式（1）化合物之酸加成鹽（如：L-乳酸鹽），或如此文所定義之式（1）化合物或其酸加成鹽（如：L-乳酸鹽）之結晶型於製造用於預防或治療由 Hsp90 傳介之疾病狀態或狀況之藥物上的用途。

- 一種用於預防或治療由 Hsp90 傳介之疾病狀態或狀況的方法，該方法包含給予有此需要之個體如此文所定義之式（1）化合物之酸加成鹽（如：L-乳酸鹽），或如

此文所定義之式（1）化合物或其酸加成鹽（如：L-乳酸鹽）之結晶型。

- 如此文所定義之式（1）化合物之酸加成鹽（如：L-乳酸鹽），或如此文所定義之式（1）化合物或其酸加成鹽（如：L-乳酸鹽）之結晶型，其係用於緩和或減少由 Hsp90 傳介之疾病狀態或狀況發生。

- 一種如此文所定義之式（1）化合物之酸加成鹽（如：L-乳酸鹽），或如此文所定義之式（1）化合物或其酸加成鹽（如：L-乳酸鹽）之結晶型於製造用於緩和或減少由 Hsp90 傳介之疾病狀態或狀況發生之藥物上的用途。

- 一種用於緩和或減少由 Hsp90 傳介之疾病狀態或狀況發生之方法，該方法包含給予有此需要之個體如此文所定義之式（1）化合物之酸加成鹽（如：L-乳酸鹽），或如此文所定義之式（1）化合物或其酸加成鹽（如：L-乳酸鹽）之結晶型。

- 如此文所定義之式（1）化合物之酸加成鹽（如：L-乳酸鹽），或如此文所定義之式（1）化合物或其酸加成鹽（如：L-乳酸鹽）之結晶型，其係用於治療哺乳動物體內包含異常之細胞生長或由此產生之疾病或狀況。

- 一種如此文所定義之式（1）化合物之酸加成鹽（如：L-乳酸鹽），或如此文所定義之式（1）化合物或其酸加成鹽（如：L-乳酸鹽）之結晶型於製造用於治療哺乳動物體內包含異常之細胞生長或由此產生之疾病或狀況

之藥物上的用途

- 一種用於治療哺乳動物體內包含異常之細胞生長或由此產生之疾病狀態或狀況的方法，該方法包含給予哺乳動物可有效抑制異常之細胞生長之量的如此文所定義之式（1）化合物之酸加成鹽（如：L-乳酸鹽），或如此文所定義之式（1）化合物或其酸加成鹽（如：L-乳酸鹽）之結晶型。

- 如此文所定義之式（1）化合物之酸加成鹽（如：L-乳酸鹽），或如此文所定義之式（1）化合物或其酸加成鹽（如：L-乳酸鹽）之結晶型，其係用於緩和或減少哺乳動物體內包含異常之細胞生長或由此產生之疾病或狀況發生。

- 一種如此文所定義之式（1）化合物之酸加成鹽（如：L-乳酸鹽），或如此文所定義之式（1）化合物或其酸加成鹽（如：L-乳酸鹽）之結晶型於製造用於緩和或減少哺乳動物體內包含異常之細胞生長或由此產生之疾病或狀況發生之藥物上的用途

- 一種用於緩和或減少哺乳動物體內包含異常之細胞生長或由此產生之疾病或狀況發生的方法，該方法包含給予哺乳動物可有效抑制異常之細胞生長之量的如此文所定義之式（1）化合物之酸加成鹽（如：L-乳酸鹽），或如此文所定義之式（1）化合物或其酸加成鹽（如：L-乳酸鹽）之結晶型。

- 一種用於治療哺乳動物體內包含異常之細胞生長

或由此產生之疾病或狀況的方法，該方法包含給予哺乳動物可有效抑制 Hsp90 活性之量的如此文所定義之式 (1) 化合物之酸加成鹽（如：L-乳酸鹽），或如此文所定義之式 (1) 化合物或其酸加成鹽（如：L-乳酸鹽）之結晶型。

- 一種用於緩和或減少哺乳動物體內包含異常之細胞生長或由此產生之疾病或狀況發生的方法，該方法包含給予哺乳動物可有效抑制 Hsp90 活性之量的如此文所定義之式 (1) 化合物之酸加成鹽（如：L-乳酸鹽），或如此文所定義之式 (1) 化合物或其酸加成鹽（如：L-乳酸鹽）之結晶型。

- 如此文所定義之式 (10) 化合物，其係作為 Hsp90 之抑制劑。

- 一種抑制 Hsp90 之方法，該方法包含將 Hsp90 與抑制 Hsp90 之如此文所定義之式 (1) 化合物之酸加成鹽（如：L-乳酸鹽），或如此文所定義之式 (1) 化合物或其酸加成鹽（如：L-乳酸鹽）之結晶型接觸。

- 如此文所定義之式 (1) 化合物之酸加成鹽（如：L-乳酸鹽），或如此文所定義之式 (1) 化合物或其酸加成鹽（如：L-乳酸鹽）之結晶型，其係用於藉由抑制 Hsp90 之活性來調整細胞過程（例如：細胞分裂）。

- 一種藉由抑制 Hsp90 活性來調整細胞過程（例如：細胞分裂）之方法，其係使用如此文所定義之式 (1) 化合物之酸加成鹽（如：L-乳酸鹽），或如此文所定義之

式 (1) 化合物或其酸加成鹽 (如 : L-乳酸鹽) 之結晶型。

- 如此文所定義之式 (1) 化合物之酸加成鹽 (如 : L-乳酸鹽) , 或如此文所定義之式 (1) 化合物或其酸加成鹽 (如 : L-乳酸鹽) 之結晶型 , 其係用於預防或治療此文所描述之疾病狀態。

- 一種如此文所定義之式 (1) 化合物之酸加成鹽 (如 : L-乳酸鹽) , 或如此文所定義之式 (1) 化合物或其酸加成鹽 (如 : L-乳酸鹽) 之結晶型於製造藥物上之用途 , 其中該藥物係用於此文所定義之任一或多種用途。

- 一種藥學組成物 , 其包含如此文所定義之式 (1) 化合物之酸加成鹽 (如 : L-乳酸鹽) , 或如此文所定義之式 (1) 化合物或其酸加成鹽 (如 : L-乳酸鹽) 之結晶型及藥學上可接受之載體。

- 一種藥學組成物 , 其包含如此文所定義之式 (1) 化合物之酸加成鹽 (如 : L-乳酸鹽) , 或如此文所定義之式 (1) 化合物或其酸加成鹽 (如 : L-乳酸鹽) 之結晶型及為適合口服之形式的藥學上可接受之載體。

- 一種藥學組成物 , 其包含如此文所定義之式 (1) 化合物之酸加成鹽 (如 : L-乳酸鹽) , 或如此文所定義之式 (1) 化合物或其酸加成鹽 (如 : L-乳酸鹽) 之結晶型及為適合用於腸胃道外途徑投服 (例如 : 經由靜脈內 (i.v.) 途徑投服) 之形式的藥學上可接受之載體。

- 一種藥學組成物 , 其包含如此文所定義之式 (1

）化合物之酸加成鹽（如：L-乳酸鹽），或如此文所定義之式（1）化合物或其酸加成鹽（如：L-乳酸鹽）之結晶型及為適合用於注射或注入之靜脈內（i.v.）投服之形式的藥學上可接受之載體。

- 如此文所定義之式（1）化合物之酸加成鹽（如：L-乳酸鹽），或如此文所定義之式（1）化合物或其酸加成鹽（如：L-乳酸鹽）之結晶型，其係用於醫學用途。

- 如此文所定義之式（1）化合物之酸加成鹽（如：L-乳酸鹽），或如此文所定義之式（1）化合物或其酸加成鹽（如：L-乳酸鹽）之結晶型，其係用於上述及此文他處中所描述之任何用途及方法。

- 如此文所定義之式（1）化合物之酸加成鹽（如：L-乳酸鹽），或如此文所定義之式（1）化合物或其酸加成鹽（如：L-乳酸鹽）之結晶型，其係用於治療或預防患者之疾病狀態或狀況，該患者曾經過審查且經決定其所罹患之疾病或狀況對以該具有抗 Hsp90 活性之化合物進行之治療敏感或處於罹患該疾病或狀況之風險中。

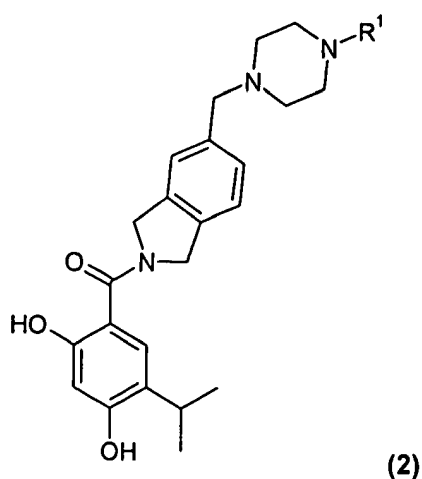
- 一種如此文所定義之式（1）化合物之酸加成鹽（如：L-乳酸鹽），或如此文所定義之式（1）化合物或其酸加成鹽（如：L-乳酸鹽）之結晶型於製造用於治療或預防患者之疾病狀態或狀況之藥物上的用途，該患者曾經過審查且經決定其所罹患之疾病或狀況對以該具有抗 Hsp90 活性之化合物進行之治療敏感或處於罹患該疾病或狀況之風險中。

• 一種用於診斷及治療由 Hsp90 傳介之疾病狀態或狀況的方法，該方法包含 (i) 審查且決定該患者之疾病或狀況是否為或可能罹患對以具抗 Hsp90 活性之化合物進行之治療敏感的疾病或狀況；及 (ii) 當經指出該患者之疾病或狀況具感受性後，給予該患者如此文所定義之式 (1) 化合物之酸加成鹽（如：L-乳酸鹽），或如此文所定義之式 (1) 化合物或其酸加成鹽（如：L-乳酸鹽）之結晶型。

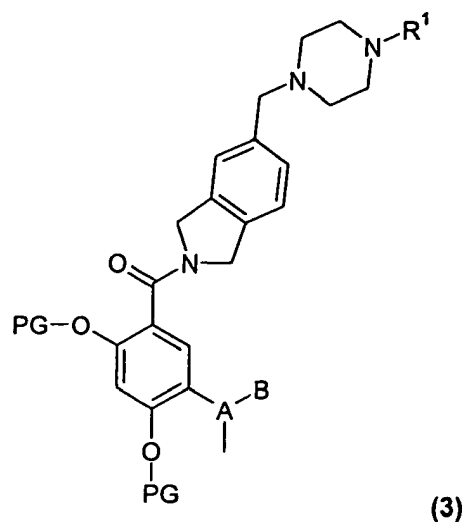
新穎方法

本發明亦提供用於製備式 (1) 化合物、其類似物及其酸加成鹽（如：L-乳酸鹽）之方法，以及用於製備式 (1) 化合物之合成方法中的關鍵中間體之新穎方法。

因此，於另一觀點中，本發明亦提供用於製備式 (2) 化合物之方法：



其中 R^1 為 C_{1-4} 烷基；該方法包含將式 (3) 之化合物進行催化性氫化作用：



(3)

其中 PG 為可在氫化條件下移除之保護基團且 A-B 為 CH-CH_3 或 C=CH_2 ，當該方法之產物為游離鹼時，再選擇性地將該式 (2) 化合物轉化成酸加成鹽（如：L-乳酸鹽）。

該保護基團 PG 宜為苄基團。

A-B 部分可為 CH-CH_3 或 C=CH_2 。

於一較佳體系中，該 A-B 部分為 C=CH_2 。

於另一較佳體系中，該 A-B 部分為 CH-CH_3 。

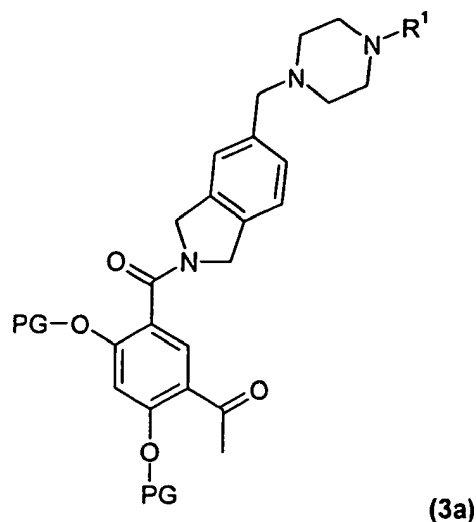
該催化性氫化作用通常係利用鈀催化劑（例如：碳上鈀（在炭上之鈀））進行。

上述方法可用來製備式 (1) 化合物或其乙基、丙基及丁基同系物。較佳地，該方法係用來製備其中 R^1 為甲基或乙基之化合物。

於一較佳體系中， R^1 為甲基，即，該方法係用來製備式 (1) 化合物。

於另一較佳體系中， R^1 為乙基。

式 (3) 化合物可經由將式 (3a) 化合物：



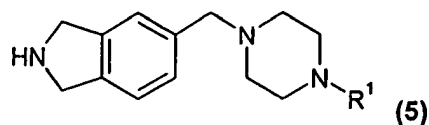
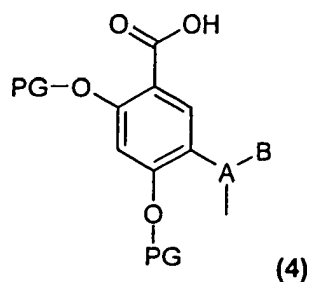
與威特格 (Wittig) 試劑或其他適合將 $-C(=O)-CH_3$ 轉化成 $-C(=CH_2)-CH_3$ 之試劑反應來製備。例如：可將苯乙酮化合物 (3a) 在諸如丁基鋰或第三-丁氧化鉀之鹼的存在下與威特格試劑 $MePPh_3Br$ 在 THF 中反應，以產生其中 A-B 為 $C=CH_2$ 之式 (3) 化合物。

因此，於另一觀點中，本發明提供用於製備如此文所定義之式 (3) 化合物的方法，該方法包含將如上述定義之式 (3a) 化合物與威特格試劑或其他適合將 $-C(=O)-CH_3$ 基團轉化成 $-C(=CH_2)-CH_3$ 基團之試劑反應。

或者，更佳地，式 (3) 化合物可經由將下列式 (4) 之經取代的苯甲酸或其活化型或衍生物與下列式 (5) 之異吲哚反應來製備。

因此，於另一觀點中，本發明提供用於製備如此文所定義之式 (3) 化合物的方法，該方法包含：

(a-i) 將式 (4) 化合物或其活化型或衍生物與式 (5) 化合物在形成醯胺之條件下反應：



本發明還提供用於製備如此文所定義之式 (2) 化合物的方法，該方法包含：

(a-i) 將如此文所定義之式 (4) 化合物或其活化型或衍生物與如此文所定義之式 (5) 化合物在形成醯胺之條件下反應，以產生式 (3) 化合物；及

(b) 將式 (3) 化合物進行催化性氫化作用以移除保護基團 PG，且當 A-B 為 C=CH₂ 時，將 A-B 基團還原成異丙基，且當該方法之產物為游離鹼時，再選擇性地將該式 (2) 化合物轉化成酸加成鹽（如：L-乳酸鹽）。

將苯甲酸 (4) 與異吲哚 (5) 反應前，可經由下列方法先將苯甲酸轉化成醯基氯：以硫醯氯處理、或在催化量之二甲基甲醯胺之存在下與草醯氯反應、或將酸之鉀鹽與草醯氯反應。然後，可在非干擾性鹼（諸如三乙胺）之存在下將醯基氯與異吲哚 (5) 反應。此反應可在極性溶劑（諸如二噁烷）中，約於室溫下進行。

上述之使用醯基氯的替換方法中可在常用來形成醯胺或肽鍵結之醯胺偶合劑的存在下將苯甲酸 (4) 與異吲哚 (5) 反應。該醯胺偶合劑之實例包括：1,1'-羰基二咪唑 (CDI)、1,3-二環己基碳二亞胺 (DCC) (Sheehan et al, J. Amer. Chem Soc. 1955, 77, 1067)、1-乙基-3-(3'-

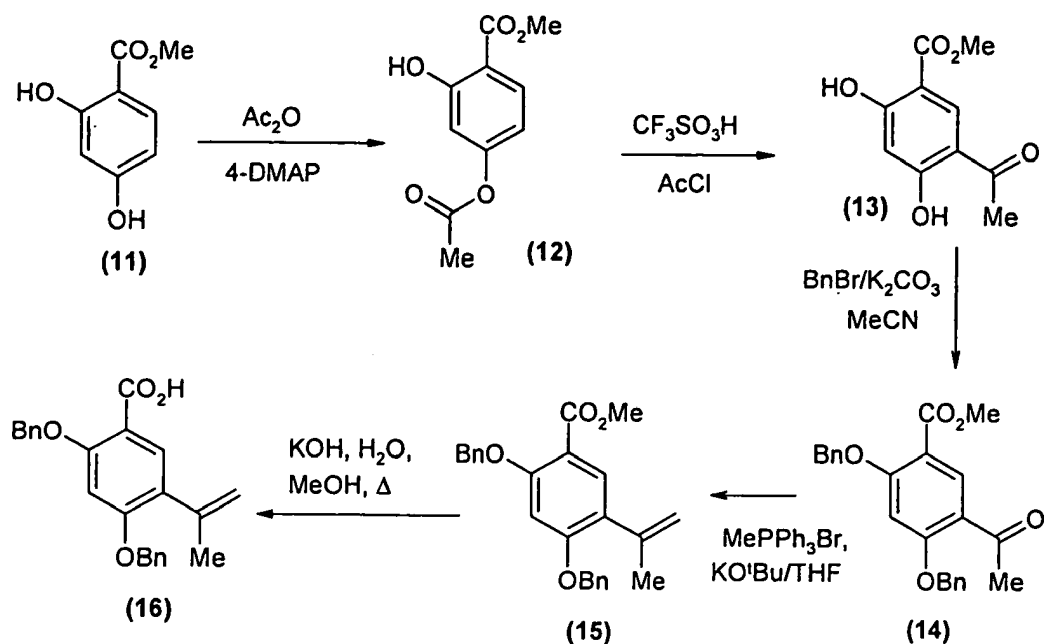
二甲胺丙基)-碳二亞胺(此處稱為 EDC 或 EDAC, 本技藝中亦稱為 EDCI 及 WSCDI) (Sheehan et al, J. Org. Chem., 1961, 26, 2525)、以鎂為基礎之偶合劑(諸如 O-(7-氮雜苯並三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲鎂六氟磷酸酯(HATU))及以磷為基礎之偶合劑(諸如 1-苯並三唑氧基三-(吡咯啶基)磷六氟磷酸化物(PyBOP) (Castro et al, Tetrahedron Letters, 1990, 31, 205)。以碳二亞胺為基礎之偶合劑與 1-羥基-7-氮雜苯並三唑(HOAt) (L. A. Carpino, J. Amer. Chem. Soc., 1993, 115, 4397)或 1-羥基苯並三唑(HOBt) (Konig et al, Chem. Ber., 103, 708, 2024-2034)組合使用較有利。較佳之偶合劑包括與 HOAt 或 HOBt 組合之 EDC (EDAC) 和 DCC。

一種特殊之偶合劑包含與 HOBt 組合之 EDC。

較佳之偶合劑為 1,1'-羰基二咪唑(CDI)。

偶合反應通常係在非水性、非質子性溶劑(諸如乙腈、二噁烷、二甲亞砜、二氯甲烷、二甲基甲醯胺或 N-甲基吡咯啶)或隨意地加上一或多種可溶混之共溶劑的水性溶劑中進行。此反應可在室內進行。此反應可在非干擾性鹼(例如:三乙胺或 N,N-二異丙基乙胺)之存在下進行。

其中 A-B 為 $C=CH_2$ 之式(4)化合物可藉由圖解 1 中所示之反應順序製備。



圖解 1

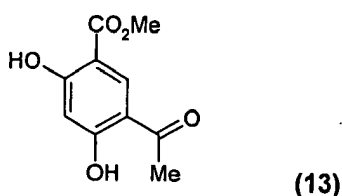
圖解 1 之起始物質為 2,4-二羥基苯甲酸甲酯 (11)，其經由在 N,N-二甲基-4-胺基吡啶之存在下與醋酸酐反應而單乙醯基化，以產生二酯 (12)。將二酯 (12) 轉化成經取代之苯乙酮 (13) 係經由將式 (12) 化合物與三氟甲磺酸及隨意之乙醯氯反應產生苯乙酮 (13) 來達成。在鹼 (諸如碳酸鉀) 之存在下，以苄基溴處理苯乙酮 (13) 以產生二苄基化合物 (14)，再在 THF 中，於鹼 (諸如丁基鋰或第三-丁氧基鉀) 之存在下，將其與威特格試劑 MePPh_3Br 反應，以產生異丙烯基化合物 (15)。酯水解成羧酸 (16) 之反應通常係經由以水性鹼金屬氫氧化物 (諸如氫氧化鉀、鈉) 處理來進行。水解反應可利用有機共溶劑 (諸如醇 (如：甲醇)) 進行，反應混合物通常係加熱至非極端之溫度，例如：至高約 50-90°C。

其中 A-B 為 $\text{CH}-\text{CH}_3$ 之式 (4) 化合物可依圖解 1 中之描述製備，但該異丙烯基化合物 (15) 係藉由催化性氫

化作用還原成對應之異丙基化合物，然後，所產生之二羥基化合物再在如上述之鹼的存在下與苄基溴反應而再苄基化。

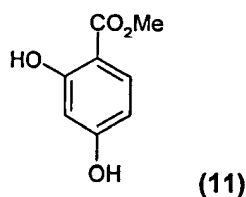
上述圖解 1 中說明之反應順序可產生較 PCT/GB2006/001382 之圖解 4 中的對應步驟之產量明顯為佳的產量，且使用較適合製造規模之合成法的試劑與條件。再者且最重要地，從大規模合成之觀點，圖解 1 中之反應順序可避免以色層分析純化之需求。

因此，本發明提供用於製備式 (13) 化合物之方法（“中間過程 A”）：



該方法包含：

(i) 將式 (11) 化合物



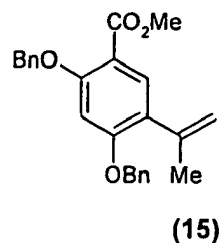
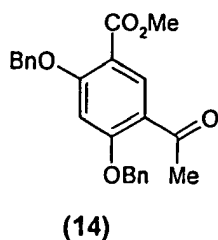
與 (a) 醋酸酐在 4-二甲胺基吡啶之存在下反應（通常係加熱至，如：至高約 60℃ 之溫度），再與 (b) 三氟甲磺酸及隨意之乙醯氯反應（通常係在室溫）；或

(ii) 將式 (11) 化合物與乙醯氯在陽離子交換樹脂（諸如 Amberlyst™ 15 樹脂）之存在下反應。

中間過程 A 產生較 PCT/GB2006/001382 中之對應方

法所揭示之產量為佳的式 (13) 化合物產量。

本發明亦提供用於製備式 (15) 化合物的方法 (“中間過程 B”) :

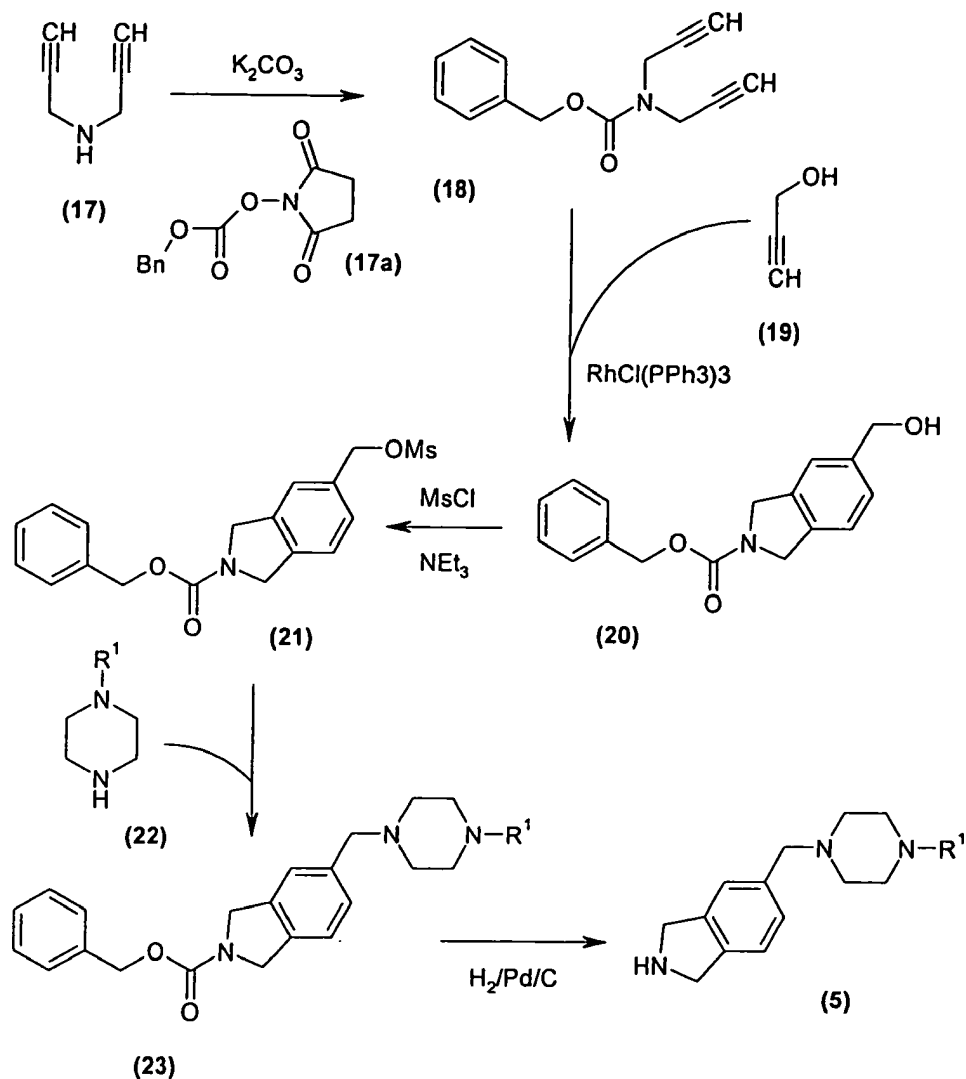


其係在 THF 中，於第三-丁氧化鉀之存在下，將式 (14) 化合物與威特格試劑 MePPh_3Br 反應來進行。

中間過程 B 產生較 PCT/GB2006/001382 之對應方法步驟 (其中在威特格反應中係使用正-丁基鋰作為鹼) 中所揭示之產量明顯為佳的產量。另外，第三-丁氧化鉀鹼較正-丁基鋰更適合製造規模之合成方法，且該反應可在室溫中進行，或僅適度降溫，然而，使用正-丁基鋰通常需要將反應混合物冷卻至 0°C 或更低之溫度。以色層分析法進行之純化並不需要。

於另一觀點中，本發明提供用於製備如此文所定義之式 (16) 化合物的方法，該方法包含中間過程 B，再利用鹼金屬氫氧化物 (諸如氫氧化鉀) 將化合物 (15) 之甲酯基團水解，以產生式 (16) 化合物。

異吡啶化合物 (5) 可經由圖解 2 中說明之合成途徑製備。

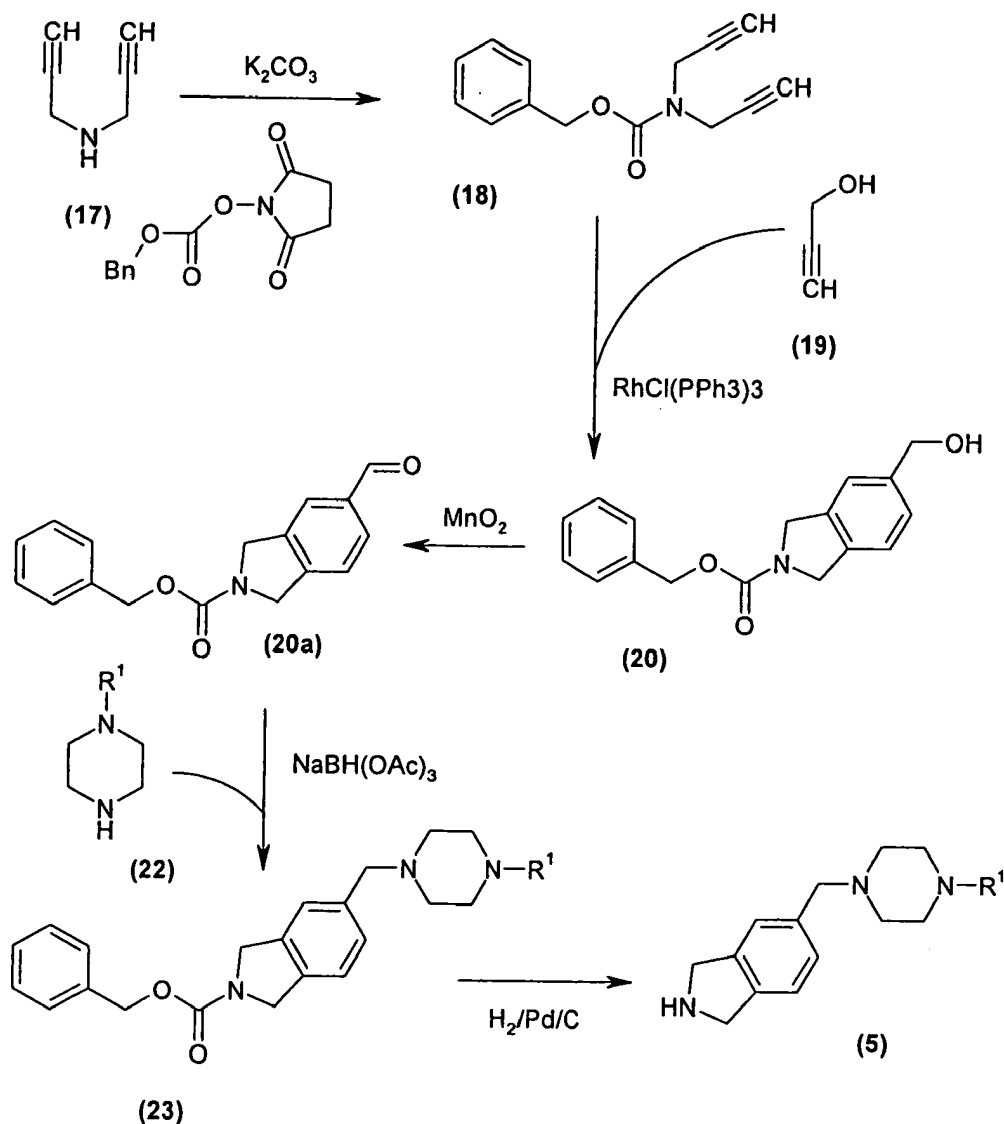


圖解 2

圖解 2 中，在碳酸鉀之存在下，在醋酸乙酯中將二炔丙胺（17）與 N-（苄氧基羰氧基）琥珀醯亞胺（17a）反應，以產生 Z-經保護之二炔丙胺（18）（“Z”一詞係指苄氧羰基團）。氯甲酸苄酯可作為 N-（苄氧基羰氧基）琥珀醯亞胺之替換基團以用來引入苄氧羰基保護基。然後，在威爾金森氏（Wilkinson's）催化劑之存在下，在 2+2+2 環加成反應中，將化合物（18）與炔丙醇（19）反應，以產生 Z-經保護之異吲哚（20）。然後，於非干擾性鹼（諸如三乙胺）之存在下，在極性溶劑（諸如 THF）

中將其與甲磺醯氯反應，以將異吲哚（20）上之羥甲基轉化成甲磺醯氧基，以產生甲磺醯基化合物（21）。將甲磺醯基化合物（21）與烷基六氫吡啶（22）在丙酮溶液中反應，以產生 Z-經保護之異吲哚（23）。在碳上鈀催化劑上進行氫化作用以移除苄氧羰基，產生未經保護之異吲哚化合物（5）。

圖解 2 中所示之反應順序的一種變化說明於圖解 2a 中。

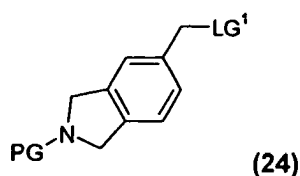


圖解 2a

圖解 2a 中，羥甲基吲哚（20）並非轉化成甲磺酸酯（21），而係在二氯甲烷中，利用二氧化錳氧化成對應之醛（21a），然後，在還原性胺化條件下（如：於三乙醯氧基硼氫化鈉之存在下），將醛與式（22）化合物反應，以轉化成式（23）化合物。然後，參考圖解 2，依上述藉由氫化作用去除 Z-基團，以產生中間物（5）。

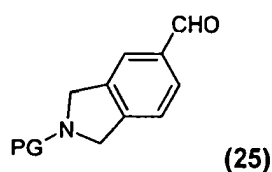
因此，於另一觀點中，本發明提供用於製備如此文所定義之式（5）化合物的方法，該方法包含：

（i）將式（24）化合物：



其中 PG 為保護基（諸如苄氧羰基）且 LG¹ 為脫離基（諸如甲磺醯氧基），與如此文所定義之式（22）化合物反應；或

（ii）將式（25）化合物：

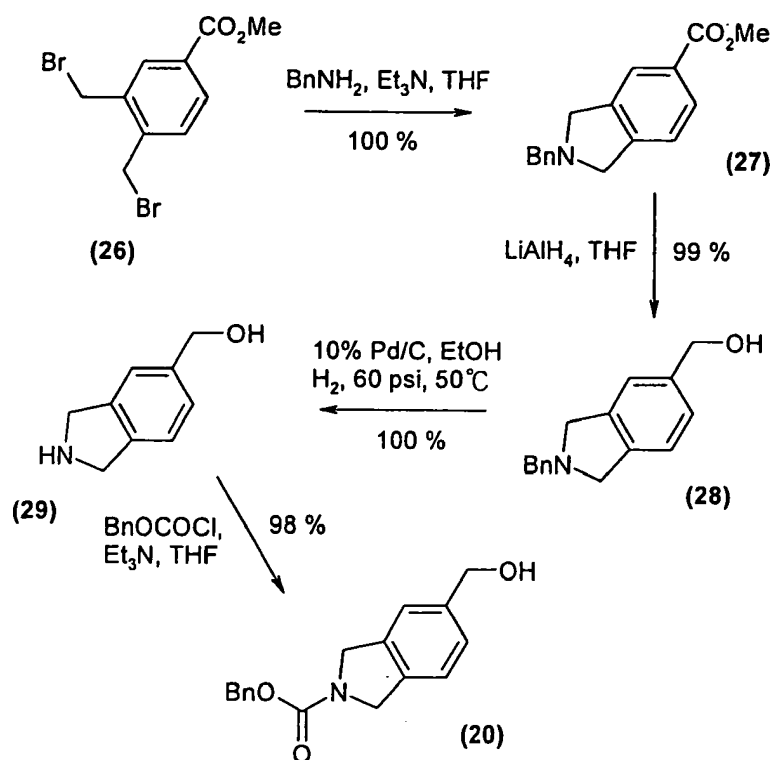


其中 PG 為保護基（諸如苄氧羰基），在還原性胺化條件下（如：於三乙醯氧基硼氫化鈉之存在下），與如此文所定義之式（22）化合物反應；

然後，去除保護基團 PG，例如：當 PG 為苄氧羰基時係藉由氫化作用。

在圖解 2 及 2a 中，中間體（20）係在過渡金屬催化

劑之存在下，藉 2+2+2 環加成反應製備。中間體 (20) 可在 2+2+2 環加成反應之替換反應中，藉由圖解 3 中所示之反應順序製備。



圖解 3

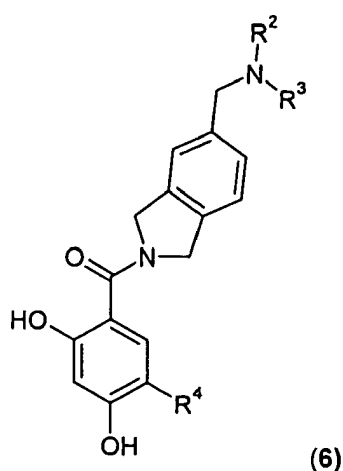
圖解 3 中，於非干擾性鹼（諸如三乙胺）之存在下，在極性非質子性溶劑（諸如四氫呋喃（THF））中將雙-溴甲基苯甲酸酯（26）與苄基胺反應，以產生 N-苄基二氫異吲哚中間體（27）。然後，在 THF 中，利用氫化鋁鋰將中間體（27）中之酯基團還原成對應之醇，以產生羥甲基二氫異吲哚中間體（28）。然後，在略微提高之溫度（如：至高約 50°C ）下，在醇（如：乙醇）溶劑中，藉由在碳上鈀催化劑上進行氫化作用來將羥甲基二氫異吲哚中間體（28）去苄基化，以產生中間體（29）。然後，將中間體（29）與適合將苄氧羰基（“Z”）引至二氫異吲

咪環之氮原子上的試劑反應，以將中間體（29）轉化成中間體（20）。例如：中間體（29）可在非干擾性鹼（諸如三乙胺）之存在下，於極性非質子性溶劑（諸如 THF）中與氯甲酸苄酯反應，以產生中間體（20）。

圖解 2、2a 及 3 中所示之合成途徑的實質利益為沿著途徑形成之不同中間體產物具有對大規模合成有極大益處之優越的物化性質。因此，當與圖解 1 中之步驟順序組合時可產生較吾人稍早之申請案 PCT/GB2006/001382 中對應之合成途徑明顯有利的合成途徑。尤其是，主要之益處包括：

- 較高之產量
- 較容易之純化作用（不需以色層分析法純化）
- 中間體之物化性質經過改良而變得較容易處理
- 較容易放大至製造規模

於另一觀點中，本發明提供用於製備式（6）化合物之方法，

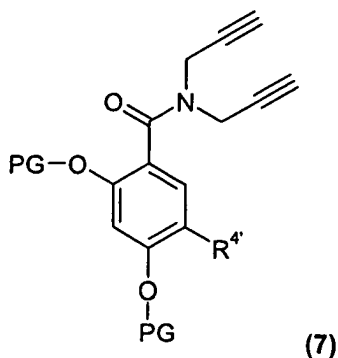


其中 R^2 及 R^3 為相同或相異且各為 C_{1-4} 烷基，或者， NR^2R^3 形成 4 至 7 員之飽和雜環，此雜環選擇性地含有另

一選自 O、N 及 S 之雜原子且選擇性地被一或二個 C₁₋₄ 烷基團所取代；而 R⁴ 係選自氫、鹵素、C₁₋₅ 烷基及 C₃₋₄ 環烷基團；

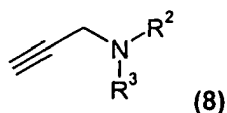
該方法包含：

(a-ii) 將式 (7) 化合物：

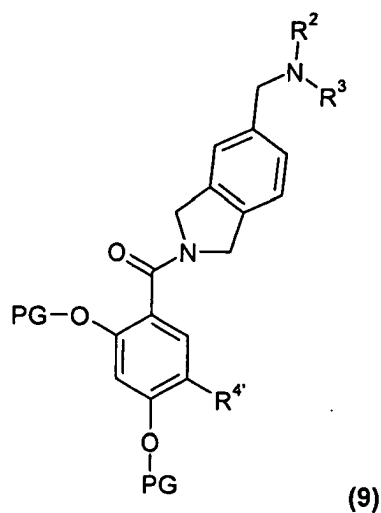


其中 PG 為可在氫化條件下移除之保護基且 R^{4'}係選自氫、鹵素、C₁₋₅ 烷基、C₂₋₅ 烯基及 C₃₋₄ 環烷基團；

與式 (8) 化合物：



在過渡金屬催化劑之存在下進行反應，以產生式 (9) 化合物；



及

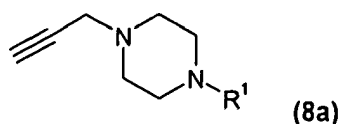
(b) 將式(9)化合物進行催化性氫化作用以移除保護基 PG 且，當 $R^{4'}$ 為 C_{2-5} 烯基時，將 $R^{4'}$ 基團還原成 C_{2-5} 烷基；然後，當式(6)化合物係製備成游離鹼形式時，選擇性地將該游離鹼轉化成酸加成鹽。

本發明還提供用於製備如此文所定義之式(9)化合物之方法，該方法包含：

(a-ii) 將如此文所定義之式(7)化合物與如此文所定義之式(8)化合物在過渡金屬催化劑之存在下進行反應。

式(7)化合物與式(8)化合物之反應為一種 2+2+2 環加成作用之實例(見 C. P. Dell, J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1, 1998, 3873-3905 之回顧及其中之參考資料)。該反應通常係在過渡金屬催化劑之存在下，於惰性溶劑(諸如甲苯)中一邊加熱(如：在室溫至 100°C 之溫度範圍內)進行。較佳之催化劑為威爾金森氏催化劑-氯三(三苯膦)化銦 ($RhCl(PPh_3)_3$)。

於一特殊之較佳體系中，式(8)化合物為式(8a)化合物：



其中 R^1 為如此文所定義者且宜為甲基或乙基。

式(8a)化合物可藉由在極性溶劑(諸如丙酮)中，於鹼(諸如碳酸鉀)之存在下，將炔丙基溴與式(22)化

合物反應（見圖解 2）來製備。

於一較佳體系中， R^1 為甲基，即，該方法係用於製備式（1）化合物。

於另一較佳體系中， R^1 為乙基。

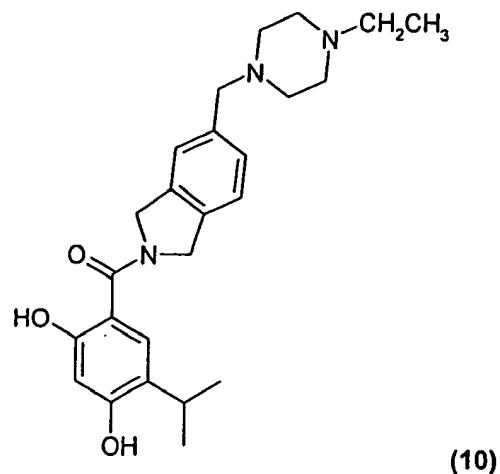
式（7）及（9）中， $R^{4'}$ 係選自氫、鹵素、 C_{1-5} 烷基、 C_{2-5} 烯基及 C_{3-4} 環烷基。於一較佳體系中， $R^{4'}$ 為異丙基或異丙烯基，更特別的為異丙烯基。

新穎之化學中間體

咸信，上述式（3）、（3a）、（5）、（7）、（9）、（14）、（15）、（16）、（20）、（20a）、（21）及（23）之化學中間體為新穎之中間體，因此，各自形成本發明之另一面向。

新穎之 Hsp90 抑制劑化合物

於另一觀點中，本發明提供如此文所定義之新穎的式（2）化合物（其中 R^1 為乙基）。該新穎化合物可由式（10）代表：



式 (10) 亦包含任何鹽類、溶劑化物、結晶型、互變異構體、N-氧化物及其同位素變體。

尤其是，本發明進一步提供：

- 如此文所定義之式 (10) 化合物，其係用於預防或治療由 Hsp90 傳介之疾病狀態或狀況。

- 一種如此文所定義之式 (10) 化合物於製造用於預防或治療由 Hsp90 傳介之疾病狀態或狀況之藥物上的用途。

- 一種用於預防或治療由 Hsp90 傳介之疾病狀態或狀況的方法，該方法包含給予有此需要之個體如此文所定義之式 (10) 化合物。

- 如此文所定義之式 (10) 化合物，其係用於緩和或減少由 Hsp90 傳介之疾病狀態或狀況發生。

- 一種如此文所定義之式 (10) 化合物於製造用於緩和或減少由 Hsp90 傳介之疾病狀態或狀況發生之藥物上的用途。

- 一種用於緩和或減少由 Hsp90 傳介之疾病狀態或

狀況發生之方法，該方法包含給予有此需要之個體如此文所定義之式（10）化合物。

- 如此文所定義之式（10）化合物，其係用於治療哺乳動物體內包含異常之細胞生長或由此產生之疾病或狀況。

- 一種如此文所定義之式（10）化合物於製造用於治療哺乳動物體內包含異常之細胞生長或由此產生之疾病或狀況之藥物上的用途。

- 一種用於治療哺乳動物體內包含異常之細胞生長或由此產生之疾病狀態或狀況的方法，該方法包含給予哺乳動物可有效抑制異常之細胞生長之量的如此文所定義之式（10）化合物。

- 如此文所定義之式（10）化合物，其係用於緩和或減少哺乳動物體內包含異常之細胞生長或由此產生之疾病或狀況發生。

- 一種如此文所定義之式（10）化合物於製造用於緩和或減少哺乳動物體內包含異常之細胞生長或由此產生之疾病或狀況發生之藥物上的用途。

- 一種用於緩和或減少哺乳動物體內包含異常之細胞生長或由此產生之疾病或狀況發生的方法，該方法包含給予哺乳動物可有效抑制異常之細胞生長之量的如此文所定義之式（10）化合物。

- 一種用於治療哺乳動物體內包含異常之細胞生長或由此產生之疾病或狀況的方法，該方法包含給予哺乳動

物可有效抑制 Hsp90 活性之量的如此文所定義之式 (10) 化合物。

- 一種用於緩和或減少哺乳動物體內包含異常之細胞生長或由此產生之疾病或狀況發生的方法，該方法包含給予哺乳動物可有效抑制 Hsp90 活性之量的如此文所定義之式 (10) 化合物。

- 如此文所定義之式 (10) 化合物，其係作為 Hsp90 之抑制劑。

- 一種抑制 Hsp90 之方法，該方法包含將 Hsp90 與抑制 Hsp90 之如此文所定義之式 (10) 化合物接觸。

- 如此文所定義之式 (10) 化合物，其係用於藉由抑制 Hsp90 之活性來調整細胞過程（例如：細胞分裂）。

- 一種藉由抑制 Hsp90 活性來調整細胞過程（例如：細胞分裂）之方法，其係使用如此文所定義之式 (10) 化合物。

- 如此文所定義之式 (10) 化合物，其係用於預防或治療此文所描述之疾病狀態。

- 一種如此文所定義之式 (10) 化合物於製造藥物上之用途，其中該藥物係用於此文所定義之任一或多種用途。

- 一種藥學組成物，其包含如此文所定義之式 (10) 化合物及藥學上可接受之載體。

- 一種藥學組成物，其包含如此文所定義之式 (10) 化合物及為適合口服之形式的藥學上可接受之載體。

- 一種藥學組成物，其包含如此文所定義之式（10）化合物及為適合經腸胃道外途徑投服（例如：經由靜脈內（i.v.）途徑投服）之形式的藥學上可接受之載體。

- 一種藥學組成物，其包含如此文所定義之式（10）化合物及為藉注射或注入而經由靜脈內（i.v.）投服之形式的藥學上可接受之載體。

- 如此文所定義之式（10）化合物，其係用於醫學用途。

- 如此文所定義之式（10）化合物，其係用於上述及此文他處中所描述之任何用途及方法。

- 如此文所定義之式（10）化合物，其係用於治療或預防患者之疾病狀態或狀況，該患者曾經過審查且經決定其所罹患之疾病或狀況對以具有抗 Hsp90 活性之化合物進行之治療敏感或處於罹患該疾病或狀況之風險中。

- 一種如此文所定義之式（10）化合物於製造用於治療或預防患者之疾病狀態或狀況之藥物上的用途，該患者曾經過審查且經決定其所罹患之疾病或狀況對以具有抗 Hsp90 活性之化合物進行之治療敏感或處於罹患該疾病或狀況之風險中。

- 一種用於診斷及治療由 Hsp90 傳介之疾病狀態或狀況的方法，該方法包含（i）審查患者以決定該患者所罹患或可能罹患之疾病或狀況是否為一種對以具有抗 Hsp90 活性之化合物進行之治療敏感的疾病或狀況；及（ii）當經指出該患者之疾病或狀況具感受性後，給予該患

者如此文所定義之式 (10) 化合物。

所提及之式 (10) 化合物亦包括其離子型、鹽類、溶劑化物、互變異構物、同位素及經保護之形式，例如：如下述所討論者。

式 (10) 包括具有一或多個同位素取代之化合物，提及一特殊元素時其範圍包括該元素的所有同位素。例如：提及氫時其範圍包括 ^1H 、 $^2\text{H}(\text{D})$ 及 $^3\text{H}(\text{T})$ 。類似地，提及碳及氧時，其範圍分別包括 ^{12}C 、 ^{13}C 及 ^{14}C 和 ^{16}O 及 ^{18}O 。

同位素可為放射活性或非放射活性。於本發明之一較佳體系中，該化合物不含有放射活性同位素。這類化合物宜用於治療。然而，於另一較佳體系中，該化合物可含有一或多種放射同位素。含有這類放射同位素之化合物可用於診斷。

式 (10) 化合物亦包含該化合物之任何多形型、溶劑化物（如：水合物）、化合物之複合物（如，包括與化合物（諸如環糊精）形成之複合物或晶籠或與金屬形成之複合物）。

生物活性及治療用途

式 (10) 和 (1) 之化合物及其鹽類（尤其是 L-乳酸鹽）和結晶型為 Hsp90 之抑制劑，因此，有利於治療多種增殖性病徵。這類增殖性病徵之實例不限於，但可選自癌症，例如：膀胱癌、乳癌、結腸癌（如：結腸直腸癌，諸

。

另一癌症之子集合包括：淋巴系之造血細胞腫瘤，例如：白血病、慢性淋巴性白血病、套細胞淋巴瘤及 B 細胞淋巴瘤（諸如瀰漫性大 B 細胞淋巴瘤）且隨意地進一步包括慢性髓性白血病及多發性骨髓瘤。

較佳之癌症子集合係由下列群體所組成：ErbB2 陽性乳癌、前列腺癌、肺癌及胃癌；慢性髓性白血病；雄激素受體倚賴性前列腺癌；Flt3 倚賴性急性髓性白血病；與 Braf 突變相關之黑色素瘤；多發性骨髓瘤；萬珂（Velcade）難治性多發性骨髓瘤；及胃腸道胃腸道基質瘤（GIST）。

其中，特佳之癌症為如此文所定義之多發性骨髓瘤及萬珂難治性腫瘤類型。

另一較佳之癌症子集合包括：激素難治性前列腺癌、轉移之黑色素瘤、HER2 陽性乳癌、突變種 EGFR 陽性非小細胞肺癌及具基立克（Gleevec）抗性之胃腸道基質瘤。

式（10）及（1）之 Hsp90 抑制劑化合物及其鹽類（尤其是 L-乳酸鹽）和結晶型亦可用於治療其他狀況，諸如病毒感染、寄生蟲病、自體免疫疾病（如：多發性硬化症及紅斑性狼瘡）、神經退化症（如：阿茲海默氏症）、發炎、第 I 及 II 型糖尿病、動脈粥狀硬化症及心臟疾病。

式（10）及（1）之 Hsp90 抑制劑化合物及其鹽類（尤其是 L-乳酸鹽）和結晶型在移植和免疫遏制中亦可具

有臨床益處。

當與現有或新治療劑組合時，式（10）及（1）之 Hsp90 抑制劑化合物及其鹽類（尤其是 L-乳酸鹽）和結晶型在先前描述之疾病中亦可具有臨床益處。

根據 Hsp90 客戶蛋白質之活性及臨床證據，下列疾病可能對藉由式（10）及（1）之 Hsp90 抑制劑化合物及其鹽類（尤其是 L-乳酸鹽）和結晶型所進行之治療特別敏感。

ErbB2-陽性乳癌、前列腺癌、肺癌及胃癌

在約 30%之乳癌中出現 ErbB2（HER-2）過度表現且藉赫塞汀（herceptin）將 ErbB2 受體負調節可使細胞對紫杉醇敏感化。ErbB2 過度表現與不良之預後和藥物抗性有關（Tsugawa et. al., 1993. Oncology 1993; 50:418）。

肺癌中之變種 EGFR

表皮生長因子受體（EGFR）之激酶結構區中的體細胞突變（包括 L858R 及外顯子 19 缺失）突顯非小細胞肺癌（NSCLC）對吉非替尼（gefitinib）和艾洛替尼（erlotinib）之反應性。在某些病例中，對這些酪氨酸激酶抑制劑之後天抗性係由二次突變，T790M 促成。安莎黴素（Ansamycin）抗生素（諸如格爾登黴素（geldanamycin））可有效抑制熱休克蛋白質 90（Hsp90），促進經泛素傳介之致癌激酶（其需要伴隨蛋白以供正確之構造型摺疊

）的降解作用。將 EGFR-變種細胞株暴露於格爾登黴素可造成磷酸-Akt 和細胞週期素 D1 (cyclin D1) 顯著消耗以及細胞凋亡。這些數據暗示 EGFR 之突變性活化與穩定性對 Hsp90 之倚賴有關，抑制 Hsp90 可能代表治療 EGFR-變種 NSCLC 的一種新策略。

慢性骨髓性白血病

異常之 BCR-Abl 蛋白質係透過染色體轉位創造出且產生本質上活性之 Abl 激酶結構區。此轉位情況顯示出為 CML 之原因。P210BcrAbl 為一種已知之 Hsp90 的客戶蛋白質。以 Hsp90 抑制劑治療 BCR-Abl 細胞株 K562 將造成細胞凋亡。BCR-Abl 抑制劑基立克[®]亦引起 K562 細胞中之凋亡；然而，具基立克[®]抗性之 K562 細胞仍保留對 Hsp90 抑制劑之敏感性 (Gorre et. al. 2002, Blood 100: 3041-3044)。

雄激素受體倚賴性前列腺癌

雄激素受體激酶為一種 Hsp90 客戶蛋白質。當外科手術無法消除該癌症時，通常係採用激素替代療法。癌症可能透過受體突變而成為對激素治療具反拗性。突變後仍可進行受體之 Hsp90 調節。

同樣情況亦可應用在雌激素倚賴性乳癌上。

Flt3-倚賴性急性骨髓性白血病

酪胺酸激酶受體 Flt3 之內部複製造成其本質上活化及致癌性。這些內部複製可在 20%之所有報告的 AML 病例中觀察到且為預後不良之指示。非常類似於 CML 中 ABK 激酶之活化，此代表另一造成惡性腫瘤之單一遺傳病害的實例。Hsp90 抑制劑被預測對這些患者具有臨床助益，因為 Flt3 為一種 Hsp90 客戶蛋白質 (Bali et. al., 2004 Cancer Res. 64(10):3645-52)。

● 與 Braf 突變相關之黑色瘤

Braf 編碼絲胺酸/蘇胺酸激酶，其在 70%之所有黑色瘤中發生突變。這些中有 80%代表單一之 V599E 單點突變，此突變提供 Braf 提高之激酶活性。此突變亦在 NIH3T3 細胞中轉形 (Bignell et. al., 2002 Nature. 417(6892):949-54)。

● 多發性骨髓瘤

Hsp90 抑制劑 17-AAG 有效地抑制波替柔美 (Bortezomib) 難治性多發性骨髓瘤細胞株之增殖。以 17-aag 治療之 MM-1 細胞中，IGF-1R 及 IL-6R 之細胞表面水準亦降低 (Mitsiades et. al., Blood 107:1092-1100, 2006)。透過負調節 Hsp90 客戶 IKK 亦減弱以 IL-6 產生之多發性骨髓瘤細胞之自分泌 (autocrine) 刺激及骨髓基質細胞之旁分泌 (paracrine) 刺激。

萬珂 (Velcade) 難治性多發性骨髓瘤

式 (10) 及 (1) 之 Hsp90 抑制劑化合物及其鹽類 (尤其是 L-乳酸鹽) 和結晶型可用於治療萬珂難治性腫瘤類型，包括治療患有第二系套細胞淋巴瘤、無痛性何杰金氏淋巴瘤、第ⅢB及Ⅳ期支氣管肺泡癌、末期非小細胞肺癌、乳癌、前列腺癌及卵巢癌和非何杰金氏淋巴瘤之患者。

胃腸道基質腫瘤 (GIST)

GIST 病為特別倚賴生長因子活化或過度表現 (如：c-kit) 之疾病。

Hsp90 抑制劑對其具有臨床效益之其他病況或疾病包括，但不限於：

神經退化症

杭汀頓氏症 (HD) 為一種無有效治療法之進行性神經退化症。GA 抑制 Hsp90 及所造成之 Hsps 的正調節可有效預防杭汀頓蛋白質在神經元細胞中聚結 (Sittler et. al., 2001, Human Molecular Genetics, Vol. 10, No. 12 1307-1315)。正調節 HSP 亦可對其他蛋白質錯誤摺疊的疾病 (如：CJD 及阿茲海默氏症) 具有臨床效益。

發炎性疾病，包括類風濕性關節炎、氣喘、慢性梗阻性肺病及發炎性腸病

GA 顯示出可將 HSF-1 自 Hsp90 分離出而造成 HSF-1 活化及核轉位。接著，HSF-1 作為一種轉錄因子，以誘導 Hsp90 及 Hsp70。在經誘導之老鼠水腫模型中，誘出 Hsp70 與解除發炎有關 (Iannaro et al., 2004 Human Molecular Genetics, 2001, Vol. 19, No. 12 1307-1315)。另外，GA 治療可抑制由 TNF- α 或 PMA 引起之 I κ B 激酶 (IKK) 活化。I κ B α 為 Nf-kB 及 Ap-1 之調節劑 (Broemer et. al. 2004)。Ap-1 及 Nf-kB 為導致製造前發炎細胞活素的主要轉錄因子 (Yeo et. al., 2004 Biochem Biophys Res Commun. 30; 320(3):816-24)。前發炎細胞活素轉錄子之穩定性亦透過抑制 p38 MapK 來調節 (Wax et. al., 2003. Rheumatism Vol. 48, No. 2, pp 541-550)。

動脈粥狀硬化症

已知發炎性及免疫細胞在人類動脈粥狀硬化症之開始及惡化中扮演主要角色 (Riganò et al., Ann. N. Y. Acad. Sci., 2007, 1107:1-10) 且 Hsp90 被提出可作為冠狀動脈粥狀硬化症中之自體抗原。Riganò 等人在 60% 患有冠狀動脈粥狀硬化斑塊之測試患者的血清中發現對抗 Hsp90 之特殊抗體及細胞，但在健康患者之血清中並無對抗 Hsp90 之特殊抗體及 T 細胞。因此，式 (10) 及 (1) 之 Hsp90 抑制劑化合物及其鹽類 (尤其是 L-乳酸鹽) 和結晶型應可用於治療或預防動脈粥狀硬化症。

血管生成相關疾病，包括，但不限於：腫瘤血管生成、牛皮癬、類風濕性關節炎及糖尿病性腎病

血管生成之誘導作用係由內皮細胞中之 Hsp90 客戶蛋白質 eNOS 及 Akt 調節 (Sun and Liao, 2004 *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 24(12):2238-44)。老鼠模型中，遏制低氧誘導因子 (HIF) -1 α 亦可傷害胃腫瘤之生長、血管生成及血管成熟 (Stoeltzing et. al., 2004 *J Natl Cancer Inst*; 96:946-956)。

第 I 型及第 II 型糖尿病

抑制 Hsp90 對 Akt 傳訊及 e-nos 具深遠之影響。此為第 I 型糖尿病中由高葡萄糖誘導之內皮細胞凋亡 (Lin et. al., 2005 *J Cell Biochem.* 1; 94(1):194-201) 及第 II 型糖尿病中發展高血壓 (Kobayashi et. al., 2004 *Hypertension.* 44(6):956-62) 的二種關鍵調節劑。

免疫遏制及移植

抑制 Hsp90 顯示出負調節 Lck (此為 T 細胞活化所需之 T 細胞特異性酪胺酸激酶) (Yorgin et. al., 2000 *J Immunol.* 15; 164(6):2915-23)。

心臟疾病

心肌缺血為西方世界中最常見之死亡原因。Hsps (尤其是 Hsp70) (由瑞廸士可 (radicicol) 治療誘出) 在老

鼠心肌細胞中顯示出心臟保護活性 (Griffin et. al., 2004) 。抑制 Hsp90 可使 HSF-1 自伴隨蛋白複合物中釋出且其接著活化 Hsp 基因。抑制 Hsp90 亦造成 HIF-1 之負調節 (其涉入缺血性心臟疾病及中風之致病過程) 。

傳染病

C 型肝炎病毒 NS2/3 蛋白酶為一種 Hsp90 客戶蛋白質且 Hsp90 活性對病毒進程及複製為必要 (Whitney et. al., 2001. Proc Natl Acad Sci USA. 20; 98(2):13931-5) 。

寄生蟲疾病

據報導，GA 具有對抗惡性瘧原蟲之 Hsp90 種間同源基因的抗瘧疾活性。以 GA 抑制瘧原蟲生長之 IC_{50} 類似於以氯奎寧抑制所觀察到之 IC_{50} 。GA 亦可有效對抗對氯奎寧具抗性之惡性瘧原蟲品種 (Kamar et. al., 2003. Malar J. 15; 2(1):30) 。

生物活性

式 (10) 及 (1) 化合物及其鹽類 (尤其是 L-乳酸鹽) 和結晶型之生物活性 (例如：作為 Hsp90 抑制劑) 可利用下列實例 (例如：實例 6 中所描述之等溫滴定量熱法 (ITC) 實驗及實例 7 中所描述之抗增殖活性分析) 中所列舉之分析測量。ITC 分析中，指定化合物所顯示之活性水準可以 K_d 值定義，本發明化合物具有小於 1 微莫耳之 K_d

值。在抗增殖活性分析中，分析中之指定化合物所顯示之活性水準可以 IC_{50} 值定義，本發明之化合物各具有小於 0.1 微莫耳之 IC_{50} 值。

hERG

在 1990 年代後期，由美國 FDA 核准之許多藥物已在被發現涉及心臟功能不良的死亡原因時自美國賣場中回收。接著發現，這些藥物之副作用為發展出由阻斷心臟細胞之 hERG 道所引起的心律不整。hERG 道為鉀離子道家族成員之一，其為 1980 年代末期中在突變種黑腹果蠅中最先被鑑定出之成員（見 Jan, L.Y. and Jan, Y.N. (1990). A Superfamily of Ion Channels. *Nature*, 345(6277):672）。hERG 鉀離子道之生理性質描述於 Sanguinetti, M.C., Jiang, C., Curran, M.E., and Keating, M.T. (1995). A Mechanistic Link Between an Inherited and an Acquired Cardiac Arrhythmia: HERG encodes the *lkr* potassium channel. *Cell*, 81:299-307, and Trudeau, M.C., Warmke, J.W., Ganetzky, B., and Robertson, G.A. (1995). HERG, a Human Inward Rectifier in the Voltage-Gated Potassium Channel Family. *Science*, 269:92-95 中。

排除 hERG 阻斷活性仍為研發任何新藥的重要考量。

式 (1) 化合物具有低 hERG 活性且在 Hsp90 抑制活性及 hERG 活性間有良好之區隔。尤其是，式 (1) 化合物具有較細胞增殖分析中之化合物的 IC_{50} 值高出 30 倍的

對抗 hERG 之平均 IC_{50} 值。式 (1) 化合物具有高於 $15\mu M$ 之對抗 hERG 的平均 IC_{50} 值。

本發明化合物具有有利之 ADME 性質，尤其是較佳之腫瘤分佈。

疼痛、神經病變、中風及相關情況之治療

本發明化合物具有抑制或調整 Hsp90 之活性，因此，可用於治療、緩和或預防某些由 cdk5 傳介之疾病或狀況。

因此，於第一種觀點中，本發明提供如此文所定義之本發明化合物於製造用於治療疼痛之藥品上的用途。

於另一觀點中，本發明提供如此文所定義之本發明化合物於製造用於預防或治療中風之藥品上的用途。

於另一觀點中，本發明提供如此文所定義之本發明化合物於製造作為神經保護劑之藥品上的用途。

於其他觀點中，本發明提供：

- 如此文所定義之本發明化合物，其係用於治療疼痛。

- 如此文所定義之本發明化合物，其係用於減輕或排除苦於疼痛之患者（如：哺乳動物，諸如人類）的疼痛。

- 一種如此文所定義之本發明化合物於製造用於減輕或排除苦於疼痛之患者（如：哺乳動物，諸如人類）的疼痛之藥物上的用途。

- 一種如此文所定義之本發明化合物於製造用於治療下列群體中任一或多種疼痛之藥物上的用途：傷害感受、軀體性疼痛、內臟性疼痛、急性疼痛、慢性疼痛、痛覺過敏、觸覺痛、手術後疼痛、由超敏反應引起之疼痛、頭痛、發炎性疼痛（風濕性疼痛、牙痛、經痛或感染）、神經性疼痛、肌肉骨骼疼痛、與癌症相關之疼痛或血管性疼痛。

- 如此文所定義之本發明化合物，其係用於治療下列群體中任一或多種疼痛：傷害感受、軀體性疼痛、內臟性疼痛、急性疼痛、慢性疼痛、痛覺過敏、觸覺痛、手術後疼痛、由超敏反應引起之疼痛、頭痛、發炎性疼痛（風濕性疼痛、牙痛、經痛或感染）、神經性疼痛、肌肉骨骼疼痛、與癌症相關之疼痛或血管性疼痛。

- 一種用於治療患者（諸如哺乳動物，如：人類）之疼痛的方法，該方法包含給予患者治療上有效量之如此文所定義的本發明化合物。

- 一種用於減輕或排除苦於疼痛之患者（如：哺乳動物，諸如人類）的疼痛的方法，該方法包含給予患者可有效減輕疼痛或排除疼痛之量的如此文所定義的本發明化合物。

- 一種用於治療下列群體中任一或多種疼痛的方法：傷害感受、軀體性疼痛、內臟性疼痛、急性疼痛、慢性疼痛、痛覺過敏、觸覺痛、手術後疼痛、由超敏反應引起之疼痛、頭痛、發炎性疼痛（風濕性疼痛、牙痛、經痛或

感染)、神經性疼痛、肌肉骨骼疼痛、與癌症相關之疼痛或血管性疼痛，該方法包含給予患者治療上有效量之如此文所定義之本發明化合物。

- 如此文所定義之本發明化合物，其係用於預防或治療中風。

- 一種用於預防或治療患者（諸如哺乳動物，如：人類）之中風的方法，該方法包含給予患者治療上有效量之如此文所定義之本發明化合物。

- 如此文所定義之本發明化合物，其係作為神經保護劑。

- 一種用於預防或減少罹患中風之患者神經元受損的方法，該方法包含給予患者有效之神經保護量之如此文所定義之本發明化合物。

- 一種如此文所定義之本發明化合物於製造用於預防或降低處於罹患中風風險之患者的中風風險之藥物上的用途，例如：該患者顯示出選自下列之任何一或多種的風險因子：血管發炎、動脈粥狀硬化、動脈性高血壓、糖尿病、高脂血症及心房纖維顫動。

- 如此文所定義之本發明化合物，其係用於預防或減少處於罹患中風風險之患者的中風風險，例如：該患者顯示出選自下列之任何一或多種的風險因子：血管發炎、動脈粥狀硬化、動脈性高血壓、糖尿病、高脂血症及心房纖維顫動。

- 一種用於預防或減少處於罹患中風風險之患者的

中風風險之方法，例如：該患者顯示出選自下列之任何一或多種的風險因子：血管發炎、動脈粥狀硬化、動脈性高血壓、糖尿病、高脂血症及心房纖維顫動，該方法包含給予患者有效之治療量的如此文所定義之本發明化合物。

- 如此文所定義之本發明化合物，其係用於預防或治療由細胞週期素倚賴性激酶 5 傳介之疾病狀態或狀況。

- 一種如此文所定義之本發明化合物於製造用於預防或治療由細胞週期素倚賴性激酶 5 傳介之疾病狀態或狀況的藥物上的用途。

- 一種用於預防或治療由細胞週期素倚賴性激酶 5 傳介之疾病狀態或狀況的方法，該方法包含給予有此需要之患者如此文所定義之本發明化合物。

- 一種用於緩和或減輕由細胞週期素倚賴性激酶 5 傳介之疾病狀態或狀況發生的方法，該方法包含給予有此需要之患者如此文所定義之本發明化合物。

- 一種如此文所定義之本發明化合物於製造用於預防或治療由 cdk5 或 p35 傳介之疾病狀態或狀況之藥物上的用途。

- 一種如此文所定義之本發明化合物於製造用於預防或治療由 cdk5 或 p35 傳介之疾病狀態或狀況之藥物上的用途，該疾病狀態或狀況為除了阿茲海默氏症、杭汀頓氏症或庫賈氏病外之疾病狀態或狀況。

- 一種如此文所定義之本發明化合物於製造用於預防或治療由 cdk5 或 p35 傳介之疾病狀態或狀況之藥物上

的用途，該疾病狀態或狀況為除了神經退化症外之疾病狀態或狀況。

- 一種如此文所定義之本發明化合物於製造用於預防或治療其特徵為 cdk5 或 p35 水準提高之疾病狀態或狀況之藥物上的用途。

- 如此文所定義之本發明化合物，其係用於預防或治療由 cdk5 或 p35 傳介之疾病狀態或狀況，該疾病狀態或狀況為除了阿茲海默氏症、杭汀頓氏症或庫賈氏病外之疾病狀態或狀況。

- 如此文所定義之本發明化合物，其係用於預防或治療由 cdk5 或 p35 傳介之疾病狀態或狀況，該疾病狀態或狀況為除了神經退化症外之疾病狀態或狀況。

- 如此文所定義之本發明化合物，其係用於預防或治療其特徵為 cdk5 或 p35 水準提高之疾病狀態或狀況。

- 一種用於預防或治療由 cdk5 或 p35 傳介之疾病狀態或狀況的方法，該疾病狀態或狀況為除了阿茲海默氏症、杭汀頓氏症或庫賈氏病外之疾病狀態或狀況，該方法包含給予有此需要之患者治療上有效量之如此文所定義之本發明化合物。

- 一種用於預防或治療由 cdk5 或 p35 傳介之疾病狀態或狀況的方法，該疾病狀態或狀況為除了神經退化症外之疾病狀態或狀況，該方法包含給予有此需要之患者治療上有效量之如此文所定義之本發明化合物。

- 一種用於預防或治療其特徵為 cdk5 或 p35 水準提

高之疾病狀態或狀況的方法，該方法包含給予有此需要之患者治療上有效量之如此文所定義之本發明化合物。

- 如此文所定義之本發明化合物，其係用於預防或治療除了阿茲海默氏症、杭汀頓氏症或庫賈氏病外之神經病變（諸如周圍神經病變）。

- 一種如此文所定義之本發明化合物於製造用於預防或治療除了阿茲海默氏症、杭汀頓氏症或庫賈氏病外之神經病變（諸如周圍神經病變）之藥物上的用途。

- 一種用於預防或治療除了阿茲海默氏症、杭汀頓氏症或庫賈氏病外之神經病變（諸如周圍神經病變）的方法，該方法包含給予有此需要之患者治療上有效量之如此文所定義之本發明化合物。

抗真菌、抗原蟲、抗病毒及抗寄生蟲活性

本發明之化合物及其酸加成鹽和結晶型具有抗真菌活性、抗原蟲活性及抗寄生蟲活性。

尤其是，本發明化合物可用於治療由致病性真菌、原蟲及寄生蟲引起之感染，其中該由病原菌所引起之感染通常與對 Hsp90 之抗體反應有關。

於一較佳體系中，本發明提供如此文所定義之式（1）化合物及其子集合以供作為抗真菌劑。

真菌之實例包括那些在人類及其他動物中致病者，例如：

- 念珠菌種，諸如白色念珠菌及熱帶念珠菌；

- 隱球菌種，諸如新型隱球菌及腦膜炎隱球菌；
- 麴菌種，諸如薰煙麴菌、黃麴菌及黑麴菌；
- 小芽胞菌種，諸如犬小芽胞菌及石膏樣小芽胞菌

；

- 表皮癬菌種；
- 毛癬菌種，諸如馬毛癬菌、須癬菌及紅色毛癬菌

；

- 絮狀表皮癬菌；
- 威尼克外瓶黴 (*Exophiala werneckii*) ；
- 鐮孢菌種，諸如腐皮鐮孢菌；
- 申克孢子絲菌 (*Sporothrix schenckii*) ；
- 青黴菌種，諸如紅青黴菌；
- 交錯黴菌種；
- 有毛長喙殼菌；
- 腐白真菌 (*Chrysosporium pruinsum*) ；
- 長孺孢種；
- 瓦利提擬青黴菌 (*Paecilomyces variotti*) ；
- 酵母菌，例如：啤酒酵母及皮屑芽孢菌種，諸如

正圓形皮屑芽孢菌及卵形皮屑芽孢菌；

- 組織胞漿菌種，諸如莢膜組織胞漿菌；
- 球黴菌種；
- 副球黴菌種；及
- 芽生菌種。

於另一較佳體系中，本發明提供如此文所定義之式（

1) 化合物及其子集合以供作為抗原蟲劑。

原蟲之實例包括：

- 克氏錐蟲；
- 利什曼原蟲種；例如：杜氏利什曼原蟲複合體（杜氏利什曼原蟲、嬰兒利什曼原蟲及恰氏利什曼原蟲（*L.chagasi*））；墨西哥利什曼原蟲複合體（3種主要品種-墨西哥利什曼原蟲、亞馬遜利什曼原蟲及委內瑞拉利什曼原蟲）；熱帶利什曼原蟲；碩大利什曼原蟲、埃塞俄比亞利什曼原蟲；及具四種主要品種（巴西利什曼原蟲、蓋亞那利什曼原蟲、巴拿馬利什曼原蟲及祕魯利什曼原蟲）之維爾尼亞（*Viannia*）亞屬；
- 弓形蟲；及
- 陰道滴蟲。

於另一較佳體系中，本發明提供如此文所定義之式（

1) 化合物及其子集合以供作為抗寄生蟲劑。

寄生蟲之實例包括寄生之蟲類，諸如：

- 寄生性圓蟲，諸如蛔蟲；
- 寄生性扁蟲，諸如：寄生性吸蟲，如：曼氏血吸蟲。

尤其是，本發明亦提供：

- 如此文所定義之本發明化合物，其係用於預防或治療真菌、原蟲或寄生蟲疾病狀態或狀況（除了由惡性瘰原蟲引起之疾病狀態或狀況外），例如：其特徵為對Hsp90之抗體反應的疾病狀態或狀況。

- 一種如此文所定義之化合物於製造用於預防或治療真菌、原蟲或寄生蟲疾病狀態或狀況（除了由惡性瘧原蟲所引起之疾病狀態或狀況外），例如：其特徵為對 Hsp90 之抗體反應的疾病狀態或狀況之藥物上的用途。

- 一種用於預防或治療真菌、原蟲或寄生蟲疾病狀態或狀況（除了由惡性瘧原蟲所引起之疾病狀態或狀況外，例如：其特徵為對 Hsp90 之抗體反應的疾病狀態或狀況）的方法，該方法包含給予有此需要之個體如此文所定義之發明化合物。

- 如此文所定義之本發明化合物，其係用於預防或治療真菌之疾病狀態或狀況（例如：其特徵為對 Hsp90 之抗體反應的疾病狀態或狀況）。

- 一種如此文所定義之本發明化合物於製造用於預防或治療真菌之疾病狀態或狀況（例如：其特徵為對 Hsp90 之抗體反應的疾病狀態或狀況）之藥物上的用途。

- 一種用於預防或治療真菌之疾病狀態或狀況（例如：其特徵為對 Hsp90 之抗體反應的疾病狀態或狀況）的方法，該方法包含給予有此需要之個體如此文所定義之發明化合物。

- 如此文所定義之發明化合物，其係用於預防、遏止或逆轉由致病性真菌引起之動物（諸如哺乳動物，如：人類）感染。

- 一種如此文所定義之本發明化合物於製造用於預防、遏止或逆轉由致病性真菌引起之動物（諸如哺乳動物

，如：人類）感染之藥物上的用途。

- 一種用於預防、遏止或逆轉由致病性真菌引起之動物（諸如哺乳動物，如：人類）感染的方法，該方法包含給予有此需要之個體如此文所定義之發明化合物。

- 如此文所定義之本發明化合物，其係用於如上述列舉及此文中他處所描述的任何用途及方法。

- 一種如此文所定義之本發明化合物於製造用於預防或治療如此文所描述之任何疾病狀態或狀況之藥物上的用途。

- 一種如此文所定義之化合物與輔助化合物（其為抗真菌劑，如唑抗真菌劑）的組合。

- 一種藥學組成物，其包含如此文所定義之本發明化合物與輔助化合物（其為抗真菌劑，如唑抗真菌劑）。

- 如此文所定義之本發明化合物，其係用於預防、減少或逆轉發展出對與本發明化合物共同投服之抗真菌劑、抗原蟲劑或抗寄生蟲劑（宜為抗真菌劑）之抗性。

- 一種如此文所定義之本發明化合物於製造藥物上的用途，該藥物係與抗真菌劑、抗原蟲劑或抗寄生蟲劑（宜為抗真菌劑）共同投服，以預防、減少或逆轉發展出對該抗真菌劑、抗原蟲劑或抗寄生蟲劑（宜為抗真菌劑）之抗性。

- 一種用於預防或減少患者（如：人類患者）發展出對抗真菌劑之抗性的方法，該方法包含給予患者抗真菌劑、抗原蟲劑或抗寄生蟲劑（宜為抗真菌劑）與如此文所

定義之本發明化合物的組合。

- 一種用於預防或治療（或緩和或減少發生率）由 Hsp90 傳介之疾病狀態或狀況的方法，該方法包含給予有此需要之個體如此文所定義之本發明化合物與抗真菌、抗原蟲或抗寄生蟲藥物的組合，其中該由 Hsp90 傳介之疾病狀態或狀況為發展出對抗真菌、抗原蟲或抗寄生蟲藥物之抗性。

- 一種用於下列用途之方法：（i）使真菌、原蟲或寄生蟲細胞對抗真菌、抗原蟲或抗寄生蟲藥物敏感；（ii）緩和或降低對抗真菌、抗原蟲或抗寄生蟲藥物抗性之發生率；（iii）逆轉對抗真菌、抗原蟲或抗寄生蟲藥物之抗性；（iv）使抗真菌、抗原蟲或抗寄生蟲藥物之活性成為可能；（v）延遲或預防對抗真菌、抗原蟲或抗寄生蟲藥物抗性之開始，該方法包含給予有此需要之個體如此文所定義之本發明化合物與該抗真菌、抗原蟲或抗寄生蟲藥物之組合。

- 一種用於治療真菌、原蟲或寄生蟲疾病或狀況的方法，該方法包含給予有此需要之個體如此文所定義之本發明化合物與抗真菌、抗原蟲或抗寄生蟲藥物的組合，該方法之特徵為無藥物抗性。

- 一種用於接受抗真菌、抗原蟲或抗寄生蟲藥物治療之個體中預防或治療（或緩和或減少發生率）由 Hsp90 傳介之疾病狀態或狀況的方法，該方法包含給予該個體如此文所定義之本發明化合物，其中該由 Hsp90 傳介之疾病

狀態或狀況為發展出對抗真菌、抗原蟲或抗寄生蟲藥物之抗性。

- 一種用於下列用途之方法：（i）使真菌、原蟲或寄生蟲細胞對抗真菌、抗原蟲或抗寄生蟲藥物敏感；（ii）緩和或降低對抗真菌、抗原蟲或抗寄生蟲藥物抗性之發生率；（iii）逆轉對抗真菌、抗原蟲或抗寄生蟲藥物之抗性；（iv）使抗真菌、抗原蟲或抗寄生蟲藥物之活性成為可能；（v）延遲或預防對抗真菌、抗原蟲或抗寄生蟲藥物抗性之開始，該方法包含給予接受該輔助化合物治療之個體如此文所定義之本發明化合物。

- 一種用於接受抗真菌、抗原蟲或抗寄生蟲藥物治療之個體中治療真菌、原蟲或寄生蟲疾病的方法，該方法包含給予有此需要之個體如此文所定義之本發明化合物，該方法之特徵為無藥物抗性（如：對該抗真菌、抗原蟲或抗寄生蟲藥物之抗性）。

如本申請案之引言部分中所描述，具 Hsp90 抑制活性的化合物已被發現顯示出強抗真菌活性並預防發展出對抗真菌劑（尤其是 Hsp90 倚賴性之對抗真菌劑的抗性）。再者，現已發現，抑制 Hsp90 活性可減少發展出對常用之抗真菌藥物（諸如唑類）之抗性。因此，本發明化合物將可用於預防或治療在一範疇內之真菌疾病及狀況，且當與其他抗真菌藥物（諸如唑類）共同投服時亦可用於增強抗真菌藥物之活性。

本發明化合物之抗真菌活性可藉由測定最低抑真菌（

抑制) 濃度 (m.i.c) 來評估。此試驗通常係藉由製備一系列含有合適之營養介質的培養盤或管來進行，各培養盤或管亦含有不同之測試化合物的濃度，然後，在介質中接種真菌品種。培養一段時期後，目視檢查培養盤是否出現真菌生長。m.i.c.為預防真菌生長所需之最低濃度。

本化合物可用於動物醫學中（例如：治療哺乳動物，諸如人類）。

如此文所定義之本發明化合物可用於對抗之動物的真菌感染包括：

- 淺部真菌病-即，限於皮膚及毛髮最外層之真菌感染；
- 皮膚真菌病-即，延伸至較深入表皮，但通常侷限於皮膚、毛髮及指甲之角質化層的真菌感染；
- 皮下真菌病-即，涉及真皮、皮下組織、肌肉及筋膜之真菌感染；
- 由初始致病原引起之系統性真菌病（這些通常主要起源於肺部且可能散佈至其他器官系統）；及
- 由條件致病原引起之系統性真菌病（免疫缺乏（否則不會被感染）患者之感染）。

可使用如此文所定義之本發明化合物之真菌疾病狀態的特殊實例包括：

- 皮癬菌感染，諸如汗斑（皮膚之淺部真菌感染）、足癬（運動員腳）、頭癬（頭上之淺部真菌感染）、鬚癬（有鬚區域之真菌感染）、體癬（平滑皮膚區域之真菌

感染）。

- 念珠菌感染，諸如口腔念珠菌感染、食道炎及陰道念珠菌感染。

- 侵入性或深部器官念珠菌感染（如：真菌血症、心內膜炎及眼內炎）。

- 隱球菌感染，諸如隱球菌腦膜炎。

- 組織漿菌病。

- 芽生黴菌病，一種肺部及偶而出現在皮膚的真菌感染。

- 具弱化之免疫系統或接受抗癌或抗 AID 藥物治療之患者的侵入性真菌感染，例如：侵入性念珠菌感染及侵入性麴菌症。

- 麴菌症，諸如過敏性支氣管肺部麴菌症。

- 曲黴菌病。

- 間擦疹感染（發生在皮膚皺褶處（如：介於腳趾或手指間、臂下區或鼠蹊區）之真菌感染）。

- 足腫病（足部組織之真菌侵入，亦稱為馬杜拉（madura）足）。

- 球孢子菌病。

- 毛黴菌病。

- 芽生黴菌病。

- 地絲菌病。

- 產色黴菌病。

- 頂端芽孢菌病。

- 組織漿菌病。
- 鼻芽孢蟲病。
- 土壤絲菌病。
- 副放射菌病。
- 青黴菌病。
- 念珠菌病。
- 孢子絲菌病。

特別重要之真菌感染為念珠菌感染及麴菌症。

本發明化合物亦具有抗原蟲活性及抗寄生蟲活性。本發明化合物之抗原蟲活性可藉由習知方法評估，例如：藉由測定最低抑制濃度（m.i.c）或 50%抑制水準（IC₅₀）來評估。

本發明化合物證明可用之原蟲及寄生蟲病或狀況的實例包括：

- 查加斯氏病（錐蟲病）-由寄生蟲克氏錐蟲引起之感染。
- 蛔蟲病-由寄生性圓蟲蛔蟲所引起之人類疾病。
- 利什曼蟲病-由利什曼蟲屬之寄生蟲引起之疾病。
- 弓蟲病-由弓形蟲原生蟲引起之寄生性疾病。
- 血吸蟲病（Bilharzia）-由寄生性曼氏血吸蟲引起之疾病。
- 滴蟲病-由寄生性陰道滴蟲原生蟲引起之性病。

抗病毒活性

如本申請案之引言部分所討論，宿主細胞被病毒 RNA/DNA 感染將造成細胞蛋白質之合成實質上重新導向由病毒核酸編碼之關鍵病毒蛋白質，此點常將熱休克蛋白質正調節。咸信，Hsp90 誘導之一種功能可能係協助穩定及摺疊大量於準備病毒複製時所產生的“外來”蛋白質且 Hsp90 抑制劑顯示出（Nagkagawa 等人）可阻斷病毒複製。因此，本發明化合物可用於對抗病毒感染，例如：藉由阻斷或抑制病毒複製。

因此，於另一觀點中，本發明提供如此文所定義之本發明化合物來預防或治療病毒感染（或病毒疾病）。

於其他觀點中，本發明提供：

- 一種如此文所定義之本發明化合物於製造用於預防或治療病毒感染（或病毒疾病）之藥物上的用途。

- 一種用於預防或治療病毒感染（或病毒疾病）的方法，該方法包含給予有此需要之個體如此文所定義之本發明化合物。

- 一種如此文所定義之本發明化合物，其係用於阻斷或抑制宿主有機體（如：動物，諸如哺乳動物（如：人類））中之病毒複製。

- 一種如此文所定義之本發明化合物於製造用於阻斷或抑制宿主有機體（如：動物，諸如哺乳動物（如：人類））中之病毒複製之藥物上的用途。

- 一種阻斷或抑制宿主有機體（如：動物，諸如哺乳動物（如：人類））中之病毒複製的方法，該方法包含

給予宿主有機體如此文所定義之本發明化合物。

可以本發明化合物治療之病毒感染的實例包括由一或多種下列病毒所引起之感染：

- 細小核糖核酸病毒，諸如鼻病毒（普通感冒病毒）、克沙奇病毒（如：B型克沙奇病毒）；及足口病病毒；

- 肝炎病毒，諸如A型肝炎病毒（HAV）、B型肝炎病毒（HBV）、C型肝炎病毒（HCV）、D型肝炎病毒（HDV）及E型肝炎病毒（HEV）；

- 冠狀病毒（如：普通感冒病毒及嚴重急性呼吸道症候群（SARS）病毒）；

- 腺病毒，諸如人類腺病毒（引起呼吸及結膜感染）；

- 星狀病毒（引起似流感症狀）；

- 黃病毒，諸如黃熱病病毒；

- 正黏液病毒，諸如流感病毒（如：流感A型、B型及C型病毒）；

- 副流感病毒；

- 呼吸道融合病毒；

- 腸病毒，諸如小兒麻痺病毒（脊髓灰質炎病毒）；

- 副黏液病毒，諸如麻疹（rubeola）病毒、腮腺炎病毒、呼吸道融合病毒（RSV）及犬瘟熱病毒（CDV）；

- 批蓋病毒，諸如德國麻疹病毒及辛德畢斯（

Sindbis) 病毒；

- 皰疹病毒，諸如：
 - 單純皰疹病毒（HSV），例如：引起唇皰疹（cold sores）、齒齦口腔炎、皰疹型角膜炎、皰疹型濕疹及 HSV 腦炎之 HSV-1；以及引起生殖器病灶、新生兒感染、HSV 腦膜炎、HSV 直腸炎之 HSV-2；
 - 帶狀皰疹病毒（VSV），其引起水痘、先天性水痘症候群及帶狀皰疹；
 - 艾伯斯坦-巴爾病毒（EBV），其引起感染性單核細胞增多症、伯基特氏（Burkitt's）淋巴瘤及鼻咽癌；
 - 巨細胞病毒（CMV），如：人類巨細胞病毒（HCMV）；
 - 人類皰疹病毒第 6 型（HHV-6），其引起幼兒急疹或嬰兒玫瑰疹；
 - 人類皰疹病毒第 8 型（HHV-8）或與卡波西氏肉瘤相關之皰疹病毒（KSHV），其係在許多 AIDS 患者之唾液中發現且與卡波西氏肉瘤有關；
- 乳多空病毒科，諸如多瘤病毒及人類乳頭瘤病毒（HPV）；
- 細小病毒；
- 痘病毒，諸如天花病毒（人類天花病毒）；
- 彈狀病毒，諸如狂犬病病毒及水疱性口炎病毒（VSV）；及

• 逆轉錄病毒，諸如人類免疫缺乏病毒（HIV），其造成後天性免疫缺乏症候群（AIDS）；及人類嗜 T 淋巴細胞病毒（HTLV）。

可使用本發明化合物對抗之特殊病毒感染包括皰疹病毒、水痘病毒、艾伯斯坦-巴爾病毒、辛德畢斯病毒、腺病毒、HIV（用於預防受 HIV 感染之個體發展出 AIDS）、HPV、HCV 及 HCMV 病毒。

病毒感染可為除了 C 型肝炎病毒（HCV）引起之感染外的感染。

作為用於阻斷或防止宿主有機體或宿主細胞中之病毒複製的作用劑的本發明化合物之活性可根據技術熟習人士所熟知之標準程序測定。

本發明化合物可作為單獨之抗病毒劑，或者，其可與其他抗病毒劑一起使用，這些抗病毒劑係，諸如：無環鳥苷（acyclovir）、更昔洛韋（ganciclovir）、奧斯他韋（oseltamavir）（Tamiflu®）及柔納馬韋（zanamavir）（Relenza®）、金剛烷、金剛乙烷、艾的福韋（adefovir dipivoxil）、干擾素（如：干擾素 α -2b 及聚乙二醇化之干擾素 α -2a）、拉脈優啖（lamivudine）、恩替卡韋（entecavir）、利巴維林（ribavirin）、法西洛韋（famciclovir）、維西塞洛韋（valciclovir）、維拉塞洛韋（valacyclovir）疊氮胸苷（AZT-Retrovir®）、艾他納韋（atazanavir）、福森普納韋（fosamprenavir）、拉脈優啖（lamivudine）、拉脈優啖 + 艾巴卡韋（

lamivudine+abacavir)、富馬酸泰諾福韋(tenofovir disoproxil fumarate)、富馬酸泰諾福韋+恩崔西他賓(tenofovir disoproxil fumarate+emtricitabine)、替普納韋(tipranavir)、奈非納韋(nelfinavir)、印地納韋(indinavir)、瑞替葛韋(raltegravir)、利托納韋(ritonavir)、洛比納韋+利托納韋(lopinavir+ritonavir)、達路納韋(darunavir)、恩普列納韋(amprenavir)、恩夫韋地(enfuvirtide)、沙湑納韋(saquinavir)、羥基脲、VGV-1及抗病毒疫苗。

因此，本發明進一步提供：

- 一種如此文所定義之本發明化合物與為抗病毒劑之輔助化合物的組合。
- 一種藥學組成物，其包含如此文所定義之本發明化合物與為抗病毒劑之輔助化合物。

藥學調和物

雖然活性化合物可單獨投服，但較宜將其以包含至少一種本發明活性化合物與一或多種藥學上可接受之載體、佐劑、賦形劑、稀釋劑、充填劑、緩衝劑、安定劑、防腐劑、潤滑劑或其他本技藝之技術熟習人士所熟知的物質和選擇性的其他治療劑或預防性作用劑（例如：減輕或緩和與化療相關之副作用）的藥學組成物（如：調和物）呈現。這類作用劑之特殊實例包括抗嘔吐劑和預防或減少與化療相關之嗜中性白血球減少症之期間的作用劑，以及

預防因紅血球細胞或白血球細胞（例如：紅血球生成素（EPO）、顆粒細胞巨噬細胞聚落刺激因子（GM-CSF）及顆粒細胞聚落刺激因子（G-CSF））水準降低所出現之併發症的作用劑。

因此，本發明進一步提供如上述定義之藥學組成物及製造藥學組成物之方法，該方法包含將至少一種如上述定義之活性化合物與如此文所描述之一或多種藥學上可接受之載體、賦形劑、緩衝劑、佐劑、安定劑或其他物質混合。

此處所使用之“藥學上可接受”一詞係關於在宣告之醫學裁判範圍內，適合與個體（如：人類）之組織接觸，而無過量毒性、刺激性、過敏反應或其他問題或併發症，合乎合理之利益/風險比的化合物、物質、組成物及/或劑型。在與調和物之其他成分相容的意義方面，各載體、賦形劑，等亦必須為“可接受的”。

因此，於另一觀點中，本發明提供為藥學組成物形式之如此文所定義之本發明化合物，尤其是式（10）及（11）之化合物及其結晶型和鹽型。

藥學組成物可為適合經由口、腸胃道外、局部、鼻內、眼、耳、直腸、陰道內或透皮投服之任何形式。當該組成物係欲供腸胃道外途徑投服時，可將其調製成供靜脈內、肌肉內、腹膜內、皮下投服或供經由注射、注入或其他遞送裝置直接遞送至靶的器官或組織。遞送時可藉由大丸劑注射、短期注入或較長期注入進行且可經由被動式遞送

或使用合適之注入泵。

適用於腸胃道外投服之藥學調和物包括水性及非水性無菌注射溶液，其可含有抗氧化劑、緩衝劑、制菌劑、共溶劑、有機溶劑混合物、環糊精絡合劑、乳化劑（用於形成及穩定乳液調和物）、用於形成脂粒之脂粒成分、用於形成聚合體凝膠之可膠化聚合物、凍乾保護劑及用於，尤其是穩定為溶解形式之活性成分及使調和物與欲接受者之血液成等張之作用劑的組合。用於經腸胃道外投服之藥學調和物亦可為水性及非水性無菌懸浮液形式，其可包含懸浮劑及增稠劑（R. G. Strickly, Solubilizing Excipients in oral and injectable formulations, Pharmaceutical Research, Vol 21(2) 2004, p 201-230）。

經離子化之藥物分子的 pK_a 若與調和物 pH 值相差夠大，則可藉由調整 pH 而溶解成所需濃度。用於靜脈內及、肌肉內投服之可接受的範圍為 pH2-12，但用於皮下投服之範圍為 pH2.7-9.0。溶液 pH 值可藉由藥物之鹽型、強酸/鹼（諸如氫氯酸或氫氧化鈉）或緩衝劑溶液（包括，但不限於：自甘胺酸、檸檬酸鹽、醋酸鹽、馬來酸鹽、琥珀酸鹽、組胺酸、磷酸鹽、三（羥甲基）-胺基甲烷（TRIS）或碳酸鹽形成之緩衝溶液）控制。

水性溶液及水溶性有機溶劑/界面活性劑（即，共溶劑）之組合常用於注射調和物中。用於注射調和物中之水溶性有機溶劑及界面活性劑包括，但不限於：丙二醇、乙醇、聚乙二醇 300、聚乙二醇 400、甘油、二甲基乙醯胺

(DMA)、N-甲基-2-吡咯啉酮(NMP; Pharmasolve)、二甲亞碸(DMSO)、聚乙二醇硬脂酸酯 HS 15 (Solutol HS 15)、蓖麻油聚氧乙烯醚(Cremophor) EL、蓖麻油聚氧乙烯醚 RH 60 及聚山梨酯 80。這類調和物通常(但並非總是)在注射前稀釋。

丙二醇、PEG 300、乙醇、蓖麻油聚氧乙烯醚 EL、蓖麻油聚氧乙烯醚 RH 60 及聚山梨酯 80 為用於注射調和物商品中之完全有機性水-可溶混性溶劑及界面活性劑，且其可彼此組合使用。所產生之有機調和物通常在 IV 大丸劑或 IV 注入前稀釋至少 2 倍。

或者，可透過與環糊精之分子絡合來增加水溶解度。

脂粒為由外部之脂質雙層膜及內部水性核心所組成之密閉球形囊，總體直徑<100 微米。根據疏水程度，若藥物被包裹或插入脂粒時，中度疏水性藥物可藉脂粒助溶。若藥物分子成為脂質雙層膜之一構成部分時，疏水性藥物亦可藉脂粒助溶，此時，該疏水藥物係溶解在脂質雙層之脂質部分。典型之脂粒調和物含有水及 5-20 毫克/毫升磷脂質、等張劑、pH5-8 緩衝劑及選擇性地，膽固醇。

該調和物可存於單位劑量或複數劑量容器內，例如：密封之安瓶及小玻璃瓶，且可貯存在使用前僅需即時添加無菌液態載體(例如：用於注射之水)之凍乾條件下。

藥學調和物可經由將本發明化合物或其酸加成鹽凍乾來製備。凍乾作用係將組成物冷凍乾燥之程序。因此，此處所使用之冷凍乾燥及凍乾為同義字。典型過程係將化合

物溶解，使所產生之調和物澄清，滅菌過濾後，以無菌方式轉移至適合凍乾之容器（如：小玻璃瓶）中。在小玻璃瓶之情況中，可以凍乾塞將其部分塞住。調和物可冷卻至冷凍並在標準條件下進行凍乾，再密封加蓋以形成穩定、乾燥之凍乾調和物。該組成物通常帶有低度殘餘水含量，如：少於 5 重量%、少於 1 重量%（以凍乾物之重量計）。

凍乾調和物可含有其他賦形劑，例如：增稠劑、分散劑、緩衝劑、抗氧化劑、防腐劑及張力調整劑。典型之緩衝劑、包括磷酸鹽、醋酸鹽、檸檬酸鹽及甘胺酸。抗氧化劑之實例包括：抗壞血酸、二亞硫酸鈉、偏二亞硫酸鈉、單硫代甘油、硫脲、丁基化之羥基甲苯、丁基化之羥基甲苯醚及乙二胺四醋酸鹽。防腐劑可包括苯甲酸及其鹽類、山梨酸及其鹽類、對羥基苯甲酸之烷基酯、苯酚、氯丁醇、苧醇、硫柳汞、氯化苯二甲烴銨及氯化鯨蠟基吡啶。若需要時，可使用先前提及之緩衝劑以及右旋糖和氯化鈉來調整張力。

在凍乾技術中，膨鬆劑通常係用於加速過程及/或提供凍乾塊主體及/或機械完整性。膨鬆劑意指當與化合物或其鹽一起凍乾時，可無礙地溶於水之固體顆粒稀釋劑，其提供物理上穩定之凍乾塊，更理想之凍乾過程及快速而完整之重構成。膨鬆劑亦可用來將溶液等張化。

水可溶性膨鬆劑可為任何常用於凍乾作用之藥學上可接受之惰性固體物質。這類膨鬆劑包括，例如：糖類（諸

如葡萄糖、麥芽糖、蔗糖及乳糖)；多元醇類(諸如山梨醇或甘露醇)；胺基酸類(諸如甘胺酸)；聚合物類(諸如聚乙烯吡咯啶)及多醣類(諸如葡萄聚糖)。

膨鬆劑之重量對活性化合物之重量的比例通常在約 1 至約 5 之範圍內，例如：約 1 至約 3 (如：在約 1 至 2 之範圍內)。

或者，其可以溶液形式提供，其可濃縮並密封在合適之小玻璃瓶內。劑型滅菌可經由過濾或在調和物處理之合適階段將小玻璃瓶及其內容物熱壓消毒。遞送前，所供應之調和物可能需要進一步稀釋或製備，例如：稀釋入合適之無菌注入包中。

臨時製成之注射溶液及懸浮液可自無菌粉末、顆粒及錠劑製成。

於本發明之一較佳體系中，該藥學組成物為適合用於 i.v. 投服(例如：經由注射或注入)之形式。

於另一較佳體系中，該藥學組成物為適合用於皮下投服之形式。

適合用於口服之藥學劑型包括錠劑、膠囊、橢圓錠、藥丸、口含片、糖漿、溶液、粉末、顆粒、弛劑及懸浮液、舌下錠片、扁片或貼片及口腔貼片。

含有式(1)化合物之藥學組成物可根據已知技術調配，見，例如：Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA, USA。

因此，錠劑組成物可包含由活性化合物與惰性稀釋劑

或載體組成之單位劑量，該稀釋劑或載體係，諸如：糖或糖醇（如：乳糖、蔗糖、山梨醇或甘露醇）；及/或從非糖衍生之稀釋劑，諸如：碳酸鈉、磷酸鈣、碳酸鈣，或纖維素或其衍生物（諸如甲基纖維素、乙基纖維素、羥丙基甲基纖維素）及澱粉（諸如：玉米澱粉）。錠劑亦可包含標準成分，諸如：結合劑及粒化劑（諸如聚乙烯吡咯啉酮）、崩散劑（如：可膨脹之交聯聚合物，諸如交聯之羥甲基纖維素）、潤滑劑（如：硬脂酸酯）、防腐劑（如：對羥基過苯甲酸酯）、抗氧化劑（如：BHT）、緩衝劑（例如：磷酸鹽或檸檬酸鹽緩衝劑）及泡騰劑（諸如：檸檬酸鹽/重碳酸鹽混合物）。這類賦形劑早已為人熟知，不需在此詳細討論。

膠囊調和物可為硬膠囊或軟膠囊種類且可含有為固態、半固態或液態形式之活性成分。凝膠膠囊可自動物凝膠或合成凝膠或其衍生自植物之同等物形成。

固態劑型（如：錠劑、凝膠，等）可經過塗覆或未經塗覆，但通常具有塗覆層，例如：保護膜塗覆層（如：蠟或光澤面）或釋出控制塗覆層。塗覆層（如：Eudragit™型聚合物）可設計成在胃腸道內之所需位置釋出活性成分。因此，塗覆層可經過選擇以在胃腸道內之某些 pH 條件下降解，藉此可選擇性地在胃或迴腸或十二指腸內釋出化合物。或者，或另外地，塗覆層可作為味道掩蔽劑以掩蔽令人不悅之味道（諸如苦味之藥物）。塗覆層可含有糖或其他協助掩蔽令人不悅之味道的作用劑。

取代塗覆層或除了塗覆層外，藥物可存於包含釋出控制劑（例如：釋出延遲劑，其可適於在胃腸道中之不同酸性或鹼性條件下選擇性地釋出）之固態基質中。或者，基質物質或釋出阻滯塗覆層可為可食性聚合物（如：馬來酸酐聚合物）之形式，其在劑型通過胃腸道時大致上被持續腐蝕。另一選擇為該活性化合物可調配在遞送系統中，此遞送系統提供化合物滲透壓控制釋出。滲透釋出及其他延遲釋出或持續釋出之調和物可根據本技藝之技術熟習人士所熟知之方法製備。

藥學調和物可在“患者包裝”（單一包裝中含有全部之療程）中呈給患者，通常為鋁箔盒裝。患者包裝優於習知處方（其中藥師將患者之藥物供應品從大批供應品中分割出）之處在於患者總是可接觸到在患者包裝中之仿單，此仿單通常不會出現在患者之醫囑中。含有仿單顯示出可改良患者對醫師指示之順從性。

局部使用之組成物包括：油膏、乳膏、噴霧、貼布、凝膠、液滴及插入物（例如：眼內插入物）。這類組成物可根據已知方法配製。

供胃腸道外投服之組成物通常係以無菌之水性或油性溶液或細緻懸浮液之形式呈現，或可以精細分割之無菌粉末形式提供，此形式可在使用時即時以供注射用之無菌水構成。

用於直腸或陰道內投服之調和物包括陰道藥栓及栓劑，其可，例如：自含有活性化合物之成形的可塑造或蠟狀

物質形成。因此，單一劑量栓劑或藥栓可經由將活性成分與一或多種習知之固態載體（例如：可可油）混合，並將所產生之混合物塑形來製成。其他可塑造之蠟狀物質的實例包括聚合物，諸如高分子量聚烷二醇，如：高分子量聚乙二醇。

或者，在陰道投服之情況中，該調和物可以滲滿活性成分及選擇性地，一或多種賦形劑或稀釋劑之棉塞呈現。其他適合供直腸或陰道投服之調和物包括乳膏、凝膠、泡沫、貼布及噴霧。

局部組成物之其他實例包括：敷料，諸如繃帶及滲滿活性成分及隨意地，一或多種賦形劑或稀釋劑之黏性膏藥。可使用之載體包括，如：多元醇類，諸如聚乙二醇、丙二醇或甘醇。合適之賦形劑為那些本技藝中已知為適當者。

用於經由吸入投服之組成物可為可吸入之粉末組成物或液態或粉末噴霧，且可以標準形式利用粉末吸入器裝置或霧狀滴分配裝置投服。這類裝置為人所熟知。為了藉由吸入投服，粉末調和物通常包含活性化合物及惰性固態粉末狀稀釋劑，諸如乳糖。

一般而言，本發明化合物係以單位劑型呈現，因此，通常含有足夠化合物以提供所需水準之生物活性。例如：調和物可含有 1 奈克至 2 克之活性成分，如：1 奈克至 2 毫克之活性成分。此範圍內，化合物之特殊子範圍為 0.1 毫克至 2 克之活性成分（更常為 10 毫克至 1 克，如：50

毫克至 500 毫克)，或 1 微克至 20 毫克（例如：1 微克至 10 毫克，如：0.1 毫克至 2 毫克之活性成分）。

在口服組成物方面，單位劑型可含有 1 毫克至 2 克，更常為 10 毫克至 1 克（例如：50 毫克至 1 克，如：100 毫克至 1 克）之活性成分。

活性化合物將以足夠取得所需療效之量給予有此需要之患者（例如：人類或動物患者）。

治療方法

本發明化合物可用於預防或治療由 Hsp90 客戶蛋白質傳介之一範疇內的疾病狀態或狀況。這類疾病狀態及狀況之實例列舉於上。

一般而言，該化合物係給予需要此類給藥之個體（例如：人類或動物患者，宜為人類）。

該化合物通常係以治療上或預防上有用之量投服且其通常為非毒性。然而，在某些情況中（例如：在威脅生命之疾病的情況中），投服式（1）化合物之益處可能超過任何毒性作用或副作用之壞處，在該情況中，投服具某程度之毒性的化合物量被認為是有利的。

化合物可在延長之期間內投服，以維持有利之療效或可僅短期投服。或者，可以間歇或連續方式投服。

本發明化合物之典型的每日劑量可在每公斤體重 100 微微克至 100 毫克的範圍內，較常為每公斤體重 5 奈克至 25 毫克，更常為每公斤體重 10 奈克至 15 毫克（如：10

奈克至 10 毫克)，更典型為每公斤體重 1 微克至 20 毫克（如：每公斤體重 1 微克至 10 毫克），但當需要時可投服較高或較低之劑量。該化合物可每日投服或，例如：每 2、或 3、或 4、或 5、或 6、或 7、或 10、或 14、或 21、或 28 天重複投服。

於一特殊之給藥計劃中，患者將接受每日 1 小時，至多 10 天（尤其是一週至多 5 天）之化合物注入並在所需間隔期間（諸如 2 至 4 週，尤其是每 3 週）內重複治療。

於另一特殊之給藥計劃中，患者接受每日 1 小時，共 5 天之化合物注入並每 3 週重複治療。

於另一特殊之給藥計劃中，患者接受 30 分鐘至 1 小時之化合物注入，再在不同期間內（例如：1 至 5 小時，如：3 小時）進行維持注入。

於另一特殊之給藥計劃中，患者接受 12 小時至 5 天之連續注入，尤其是 24 小時至 72 小時之連續注入。

然而，最終而言，投服之化合物量及使用之組成物類型將與受治療之疾病或生理狀況之性質相稱且將由醫師判斷。

此文所定義之化合物可以單獨之治療劑形式投服或可與以一或多種用於治療特殊之疾病狀態（例如：贅生病，諸如前文定義之癌症）之其他化合物進行的療法一起給予。

可與本發明化合物一起給予（不論同時或在不同時期內）之其他治療劑或治療包括，但不限於：

- 拓模異構酶 I 抑制劑
- 抗代謝物質
- 微管素靶向劑
- DNA 結合劑及拓模異構酶 II 抑制劑
- 烷基化作用劑
- 單株抗體
- 抗激素
- 信號轉導抑制劑
- 蛋白體抑制劑
- DNA 甲基轉移酶
- 細胞活素及維 A 酸 (retinoids)
- 染色質經瞄準之療法，如：HDAC 或 HAT 調整劑
- 放射療法；及
- 其他治療或預防作用劑；例如：減輕或緩和一些與化療相關之副作用的作用劑。這類作用劑之特殊實例包括抗嘔吐劑和預防或減少與化療相關之嗜中性白血球減少症之期間的作用劑，以及預防因紅血球細胞或白血球細胞（例如：紅血球生成素（EPO）、顆粒細胞巨噬細胞聚落刺激因子（GM-CSF）及顆粒細胞聚落刺激因子（G-CSF））水準降低所出現之併發症的作用劑。亦包含下列作用劑：抑制骨質再吸收之作用劑（諸如雙膦酸鹽作用劑，如：唑來膦酸鹽（zoledronate）、帕米膦酸鹽（pamidronate）及伊班膦酸鹽（ibandronate））、遏制發炎反應之作用

劑（諸如地塞米松（dexamethazone）、潑的尼松（prednisone）及潑尼松龍（prednisolone））及用來降低肢端肥大症患者之生長激素及 IGF-I 的血液水準之作用劑（諸如合成形式之大腦激素體抑素，此包括為長效八肽之醋酸奧曲肽（octreotide），其具有模擬天然激素體抑素之藥理性質）。還包括作用劑，諸如白葉素（leucovorin），其可作為降低葉酸或四氫葉酸水準之藥物的解毒劑以及諸如醋酸甲地孕酮之類的作用劑，其可用來治療副作用（包括水腫及血栓狀況）。

在 Hsp90 抑制劑與其他療法組合之情況中，該二或多種治療可經由改變給藥計劃而單獨給予及經由不同途徑來給予。

當化合物與以一、二、三、四或多種其他治療劑（宜為一或二種，更宜為一種）進行之療法一起給予時，該化合物可同時或依序投服。當依序投服時，其可在很接近之期間內（例如：在 5-10 分鐘內）或較長之期間內（例如：相隔 1、2、3、4 或更多小時，當需要時甚至相隔更久）投服，精確之劑量攝生法為與治療劑之性質相稱。

本發明化合物亦可與非化療性治療（諸如放射療法、光動力療法、基因療法；外科手術及控制飲食）一起給予。

為了與其他化療劑進行之療法組合使用，該化合物及一、二、三、四或多種其他治療劑可，例如：一起調配在含有二、三、四或多種治療劑之劑型中。在一種替換方

式中，個別治療劑可分別調製並以套組形式（隨意地附有其用法說明）一起呈現。

本技藝之技術熟習人士可透過其一般常識而了解給藥攝生法及欲使用之組合療法。

診斷方法

在投服化合物前，患者需先經審查以決定該患者所罹患或可能罹患之疾病或病況是否對以具有抗 Hsp90 之活性的化合物進行之治療具感受性。

例如：可分析取自患者之生物樣本以決定該患者所罹患或可能罹患之病況或疾病（諸如癌症）是否為一種其特徵為導致 Hsp90 客戶蛋白質突變或過度活化的遺傳異常或異常蛋白質表現的病況或疾病。這類造成客戶蛋白質活化的異常之實例包括：Bcr-ABL 轉位、Flt-3 內部複製及 Braf 突變或 ErbB2 過度表現。

因此，患者可接受診斷試驗以偵測其特徵為正調節之標記。診斷一詞包括篩檢。標記一詞包括遺傳標記，包括，例如：測量 DNA 組成以鑑定 Braf、BCR-abl 及 Flt-3，或其他受影響之客戶蛋白質的突變。標記一詞亦包括諸如 ErbB2 之蛋白質，包括該蛋白質或某些片段或降解產物之水準或濃度，在酶方面為酶之活性。亦可評估蛋白質（如：已或未磷酸化者）及上述蛋白質之 mRNA 水準，以決定活性變化之特徵。例如：磷酸化 AKT 之水準可為對 Hsp90 抑制劑之敏感性的指示。

診斷試驗通常係在生物樣本上進行，這些生物樣本係選自，例如：腫瘤活體組織切片樣本、血液樣本（分離及富含剝落之腫瘤細胞）、糞便活體組織切片、痰、染色體分析、胸膜液、腹膜液、口腔抹片或活體組織切片或尿液。

篩檢過程通常涉及直接序列分析、寡肽或蛋白質微陣列分析、藉質譜儀進行蛋白質體分析、免疫組織化學技術或利用特殊抗體偵測。

突變及蛋白質之正調節的鑑定及分析方法為本技藝之技術熟習人士所熟知。篩檢方法可包括，但不限於標準方法，諸如逆轉錄酶聚合酶鏈反應（RT-PCR）、原位雜合或免疫點墨法。

藉由 RT-PCR 篩檢時，腫瘤中之 mRNA 水準係經由創造該 mRNA 之 cDNA 複本，再藉 PCR 將 cDNA 增數來評估。PCR 增數之方法、引物之選擇、增數之條件為本技藝之技術熟習人士所已知。

核酸之處理及 PCR 係藉由，如描述於下列參考資料中之標準方法進行：Ausubel, F.M. et al., eds. *Current Protocols in Molecular Biology*, 2004, John Wiley & Sons Inc., 或 Innis, M.A. et-al., eds. *PCR Protocols: a guide to methods and applications*, 1990, Academic Press, San Diego。涉及核酸技術之反應及操作亦描述於 Sambrook et al., 2001, 3rd Ed, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press 中。或者，

可使用 RT-PCR 之套組商品（例如：Roche Molecular Biochemicals），或如美國專利案第 4,666,828；4,683,202；4,801,531；5,192,659，5,272,057，5,882,864 及 6,218,529 號中所列出之方法學（其內容併爲此文之參考資料）。

用於評估 mRNA 之表現的原位雜合技術之實例爲螢光原位雜合（FISH）（見 Angerer, 1987 Meth. Enzymol., 152:649）。

一般而言，原位雜合包含下列主要步驟：（1）固定欲分析之組織；（2）將樣本預先雜合處理，以增加靶的核酸之易接近性並減少非特異性結合；（3）將核酸混合物與生物構造或組織中之核酸雜合；（4）雜合後清洗，以去除雜合中未結合之核酸片段，及（5）偵測雜合之核酸片段。在這類應用中所使用之探針通常經過標示，例如：以放射性同位素或螢光報告子標示。較佳之探針係足夠長（如：約 50、100、或 200 個核苷酸至約 1000 或更多個核苷酸）至可與靶的核酸在嚴格條件下特異雜合。亦有 FISH 商品以供細胞遺傳學偵測染色體重排，此可用來偵測白血病細胞群內之 Flt-3 及 Bcr-Abl 轉位。用於進行 FISH 之標準方法描述於 Ausubel, F.M. et al., eds. Current Protocols in Molecular Biology, 2004, John Wiley & Sons Inc 及 Fluorescence In Situ Hybridization: Technical Overview by John M. S. Bartlett in Molecular Diagnosis of Cancer, Methods and Protocols, 2nd ed.; ISBN: 1-

59259-760-2; March 2004, pps. 077-088; Series: Methods in Molecular Medicine 中。

用於描繪基因表現形廓之方法描述於 (Deprimo et al., BMC Cancer 2003, 3:3) 。簡單地說，該議定計劃如下：利用用於啓動第一股 cDNA 之合成的 (dT) 24 寡聚物自總 RNA 合成雙股 cDNA，再以任意之六聚體引物合成第二股 cDNA。使用雙股 cDNA 作為模板以利用生物素化之核糖核苷酸進行活體外 cRNA 轉錄作用。cRNA 係根據 Affymetrix (Santa Clara, 美國加州) 描述之議定計劃以化學方式切成片段，再在人類基因組分析 (Human Genome 分析) 上雜合一整夜。

或者，可藉下列方法分析自 mRNA 表達之蛋白質產物：腫瘤樣本之免疫組織化學、以微量滴定盤進行之固相免疫分析、西方點墨、2 次元 SDS-聚丙稀醯胺凝膠電泳法、ELISA、流式細胞計數及其他本技藝所已知之用於偵測特殊蛋白質的方法。偵測方法包括使用部位特異性抗體。本技藝之技術熟習人士可察知所有這類為人熟知之用於偵測“費城染色體” (其為 BCR-ABL 轉位之指示) 的技術。

因此，所有這些技術亦可用來鑑定特別適合以本發明化合物治療之腫瘤。

【實施方式】

本發明現將藉由參考，但不限於，下列實例中所描述之特殊較佳體系來說明。

實例中，可使用下列縮寫。

AcOH	醋酸
BOC	第三-丁氧羰基
Bn	苄基
CDI	1,1-羰基二咪唑
DMAW90	溶劑混合物：DCM：MeOH：AcOH： H ₂ O（90：18：3：2）
DMAW120	溶劑混合物：DCM：MeOH：AcOH： H ₂ O（120：18：3：2）
DMAW240	溶劑混合物：DCM：MeOH：AcOH： H ₂ O（240：20：3：2）
DCM	二氯甲烷
DMF	二甲基甲醯胺
DMSO	二甲亞砜
EDC	1-乙基-3-（3'-二甲胺丙基）-碳二亞 胺
Et ₃ N	三乙胺
EtOAc	醋酸乙酯
Et ₂ O	二乙醚
h	小時
HOAt	1-羥基氮雜苯並三唑
HOBt	1-羥基苯並三唑
MeCN	乙腈
MeOH	甲醇

min.	分鐘
Ms	甲磺醯基
MsO	甲磺酸酯
P.E.	石油醚
PG	保護基
r.t.	室溫
SiO ₂	二氧化矽
TBTU	N,N,N',N'-四甲基-O-(苯並三唑-1-基) 四氟硼酸銨
THF	四氫呋喃

除非另外指出，在 27°C 下，在 Bruker AV400 儀器上，於 400.13 MHz 處，DMSO-d₆ 或 MeOH-d₄（如所指出者）中記錄質子核磁共振（¹H NMR）譜，且依下述記錄：化學位移 δ/ppm（質子數，多重性中 s=單峰，d=雙峰，t=三峰，q=四峰，m=多峰，br=闊峰）。使用殘餘之質子性溶劑作為內在參考標準。

實例中，所製備之化合物係利用下列系統及操作條件藉由液態色層分析及質譜分析決定其特徵。當出現具不同之同位素的原子且呈報單一質量時，所呈報之化合物質量為該單同位素質量（即，³⁵Cl；⁷⁹Br，等）。使用如下述之不同系統，且這些系統之配備和設立係在非常類似之操作條件下運作。使用之操作條件亦描述於下。

系統之描述：

系統 1 (分析系統) :

HPLC 系統 : 瓦特士 (Waters) 2795

質譜偵測器 : Micromass Platform LC

PDA 偵測器 : 瓦特士 2996 PDA

系統 2 (製備及分析系統) :

HPLC 系統 : 瓦特士 Fractionlynx 系統

質譜偵測器 : 瓦特士 ZQ

PDA 偵測器 : 瓦特士 2996 PDA

系統 3 (製備及分析系統) :

HPLC 系統 : 安捷倫 (Agilent) 1100 系統

質譜偵測器 : LC/MSD

UV 偵測器 : 安捷倫 MWD

操作條件 :

酸性分析條件 :

洗提液 A : H_2O (0.1% 甲酸)

洗提液 B : CH_3CN (0.1% 甲酸)

梯度 : 5-95% 洗提液 B , 在 3.5 分鐘內 (15 分鐘內 w/管柱 2)

流速 : 0.8 毫升 / 分鐘

管柱 1 : Phenomenex Synergi 4 μ MAX-RP 80A , 2.0x50 毫米

管柱 2 : Phenomenex Synergi 4 μ MAX-RP 80A , 2.0x150 毫米

鹼性分析條件：

洗提液 A：H₂O (10mM NH₄HCO₃ 緩衝液，以
NH₄OH 調整為 pH=9.2)

洗提液 B：CH₃CN

梯度：5-95%洗提液 B，在 3.5 分鐘內

流速：0.8 毫升 / 分鐘

管柱：Phenomenex Gemini 5μ 2.0×50 毫米

MS 條件 (瓦特士系統)：

毛細管電壓：3.6 kV (ES 陰性上 3.40 kV)

錐電壓：25V

來源溫度：120℃

掃描範圍：125-800 amu

電離模式：電噴霧陽性、陰性或陽性 & 陰性

MS 條件 (安捷倫系統)：

毛細管電壓：4000V (ES 陰性上 3500V)

碰撞電壓 / 增益：150/1

乾燥氣體溫度 / 流速：350℃ / 13.0 升 / 分鐘

化霧器壓力：50 psig

掃描範圍：125-800 amu

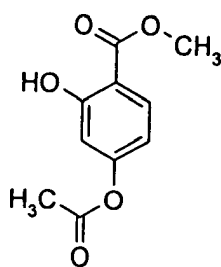
電離模式：電噴霧陽性或陰性

除非另外特別指出，用於各實例之起始物質均可購得

實例 1

步驟 1

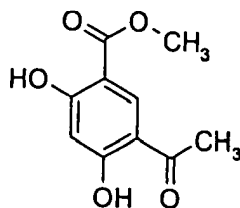
4-乙醯氧基-2-羥基-苯甲酸甲酯



將間苯二酚甲酯（50 克，0.298 莫耳）及 N,N-二甲基-4-胺基吡啶（0.27 克，0.0022 莫耳，0.74 莫耳%）加入 0.2 升甲苯中，再加入醋酸酐（30 毫升，0.318 莫耳）。將溶液在 50℃ 加熱 2 小時。藉由在 50℃ 蒸發將溶劑去除至剩餘小量體積，再將殘質與甲苯共沸一次。在仍溫時將甲苯（100 毫升）立即加入殘餘之油中，將此溶液直接用於步驟 2 中不需進一步純化。

步驟 2

5-乙醯基-2,4-二羥基-苯甲酸甲酯



將來自步驟 1 之甲苯溶液在 N₂ 下，冰浴中冷卻並在 30 分鐘內將三氟甲磺酸（26 毫升）慢慢加入其中。攪拌

時形成一種細緻之白色固體，將此固體在室溫下攪拌 16 小時後可溶解產生一種黃色溶液。將乙醯氯（2 毫升）加入溶液中並將溶液在室溫中再攪拌 1 小時。將此溶液以導管導入攪拌之溶解在水（400 毫升）中之 EtOAc（600 毫升）與 NaOAc·3H₂O（40 克）的冷卻（0℃）溶液中。以水（二次，200 毫升）、飽和鹽水清洗有機相並將其蒸發至少量體積但不使其乾燥。將殘質與庚烷（二次，100 毫升）共沸並加入庚烷（100 毫升），藉由過濾移除結晶型固體，以庚烷充分清洗並乾燥之，以取得 49.5 克（79%）。

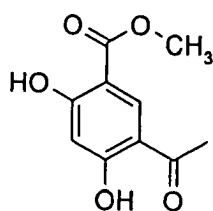
合併批次之最終純化

將合併之固體批次（96.3 克）與 10% IPA/庚烷（250 毫升）加熱至沸騰再冷卻至室溫，最終至 0℃，過濾後將殘質乾燥 72 小時（油泵）以產生（88.04 克，91.5%），再藉由 hplc、tlc 及 NMR 進行純化。

¹H NMR (DMSO-d₆) 12.58 (1H, s), 11.22 (1H, s), 8.33 (1H, s), 6.45 (1H, s), 3.90 (3H, s), 2.62 (3H, s)。

步驟 3

5-乙醯基-2,4-二羥基-苯甲酸甲酯（替換之程序）



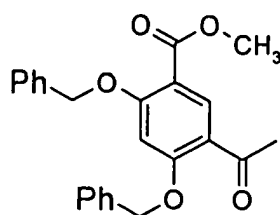
將間苯二酚甲酯（50 克，0.298 莫耳）與安伯利斯（

Amberlyst) 15 樹脂 (40 克) 懸浮在 150 毫升甲苯中 (在氮氣下)，並將溶液在 70℃ 油浴 (內部溫度 56℃) 中加熱。在 30 分鐘內，將乙醯氯 (22 毫升，308 毫莫耳) 以每份 5 毫升加入其中，以釋出氣態 HCl (此可經由將氮氣流通過液態 NaOH 來去除)。將溶液在 70℃ 攪拌 4.5 小時，然後在油浴溫度 (內部溫度 96℃) 中加熱 3.5 小時。將溶液冷卻至 50℃ 並加入 EtOAc (100 毫升)，將溶液在此溫度下進行過濾。以 EtOAc (50 毫升) 清洗剩餘之樹脂並將合併之濾液濃縮成結晶型固體之漿液 (固體加溶劑共重 128 克)。將庚烷 (100 毫升) 加入漿液中，維持在室溫中 10 分鐘後藉由過濾移出固體。先以庚烷：甲苯 (2：1，60 毫升) 再以石油醚 (沸點 40-60℃) 清洗殘質並在真空中乾燥，以產生 29 克之產物 1 (46.4%) (NMR 顯示出 3% 由甲酯皂化所產生之物質)。

將濾液蒸發成小體積並加入在庚烷 (100 毫升) 中之 20% EtOAc。在室溫中靜置 16 小時後可取得 4.75 克 (7.6%) 第二種產物 (NMR 與產物 1 一致)。

步驟 4

5-乙醯基-2,4-雙-苄氧基-苯甲酸甲酯

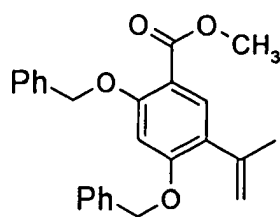


將苄基溴 (70 毫升，0.59 莫耳) 加入在乙腈 (800 毫

升) 中之 5-乙醯基-2,4-二羥基-苯甲酸甲酯 (60.7 克, 0.29 莫耳) 與無水碳酸鉀 (87.8 克, 0.64 莫耳) 的攪拌混合物中, 攪拌混合物並保持在回流下 16 小時。當冷卻至室溫時, 將混合物倒至水 (3 升) 上並劇烈攪拌 2 小時。藉由過濾收集固體, 以水 (2 升) 輕洗, 在減低之壓力下抽乾並在 60°C 真空烘箱中乾燥一整夜至固定質量, 以產生為乳狀固體之 5-乙醯基-2,4-雙-苄氧基苯甲酸甲酯 (112.1 克, 99%)。¹H NMR (DMSO-d₆) 8.21 (1H, s), 7.55 (4H, m), 7.43 (4H, m), 7.37 (2H, m), 7.04 (1H, s), 5.38 (4H, s), 3.79 (3H, s), 2.48 (3H, s)。MS: [M+H]⁺ 391。

步驟 5

2,4-雙-苄氧基-5-異丙烯基-苯甲酸甲酯



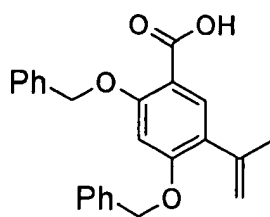
將第三-丁氧化鉀 (29.1 克, 0.26 莫耳) 加入在無水四氫呋喃 (1 升) 中之甲基三苯基溴化磷 (92.8 克, 0.26 莫耳) 的攪拌懸浮液中並將混合物在室溫攪拌 10 分鐘, 此時, 加入 5-乙醯基-2,4-雙-苄氧基苯甲酸甲酯 (78.0 克, 0.2 莫耳), 再將混合物在室溫下進一步攪拌 30 分鐘。加入甲醇 (100 毫升) 以將過量之磷偶極體 (phosphorus ylide) 淬熄並在真空中移除溶劑以產生一種橘色油, 此

橘色油在靜置時將結晶化。將殘質自甲醇（330 毫升）中再結晶化。藉由抽吸過濾來收集固體，以甲醇（50 毫升）清洗之，再在減低之壓力下抽乾，以產生為淡黃色針狀之 2,4-雙-苄氧基-5-異丙烯基-苯甲酸甲酯。靜置一整夜後母液沈澱出第二批物質（合併產量：56.55 克，73%）。
 ^1H NMR (DMSO- d_6) 7.59 (1H, s), 7.52 (2H, d), 7.64-7.32 (8H, m), 6.97 (1H, s), 5.28 (2H, s), 5.22 (2H, s), 5.09 (1H, s), 5.04 (1H, s), 3.76 (3H, s), 2.02 (3H, s)。MS: $[\text{M}+\text{H}]^+$ 389。

另一批酯可依下述取得。將結晶化殘質在真空中蒸發至乾燥並以在庚烷（250 毫升）中之 5%醋酸乙酯處理該油性固體。將醋酸乙酯一小份一小份地加入劇烈攪拌之混合物中直到殘質沈澱出大量三苯基氧化膦固體。藉由過濾去除固體並將濾液在真空中蒸發至乾燥，以產生一種橘色油。將其自甲醇中再結晶（如上述）可進一步產生為淡黃色結晶型固體之 2,4-雙-苄氧基-5-異丙烯基-苯甲酸甲酯（全部產量 85-90%）。

步驟 6

2,4-雙-苄氧基-5-異丙烯基-苯甲酸

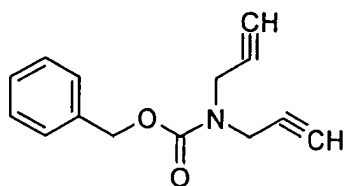


將氫氧化鉀（10.96 克，0.19 莫耳）加入在甲醇（

750 毫升) 和水 (250 毫升) 中之 2,4-雙-苄氧基-5-異丙烯基-苯甲酸甲酯 (61.0 克, 0.16 莫耳) 的攪拌懸浮液中, 攪拌混合物並其將保持在回流 16 小時。冷卻時, 在真空中去除有機溶劑並加入 2M 氫氯酸 (200 毫升), 以將混合物酸化成 pH2 或更低。以水 (2 升) 稀釋混合物並以醋酸乙酯 (2 升) 萃取之, 將有機層分開, 並在真空中去除溶劑, 以產生為無色固體之 2,4-雙-苄氧基-5-異丙烯基-苯甲酸 (58.8 克, 100%)。¹H NMR (DMSO-d₆) 7.52 (2H, d), 7.47-7.29 (9H, m), 6.82 (1H, s), 5.20 (2H, s), 5.17 (2H, s), 5.06 (1H, s), 5.04 (1H, s), 2.03 (3H, s)。MS: [M+H]⁺ 375。

步驟 7

二-丙-2-炔基-胺基甲酸苄酯

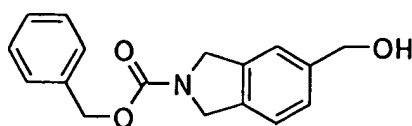


在 20 分鐘內將在 EtOAc (500 毫升) 中之 N-(苄氧基羰氧基) 琥珀鹽亞胺 (125 克, 502 毫莫耳) 慢慢加入在 EtOAc (200 毫升) 和 10% 水性 K₂CO₃ (700 毫升, 507 毫莫耳) 中之二炔丙胺 (46.7 克, 502 毫莫耳) 的冷卻 (0°C) 溶液中。將溶液在 0°C 攪拌 2 小時再在室溫攪拌 16 小時。將不同相分開, 先以 10% 水性 K₂CO₃ (700 毫升, 507 毫莫耳) 再以飽和鹽水 (500 毫升) 清洗有機相, 並

以 EtOAc 稀釋成 1000 毫升，以產生 0.5M 之溶液。

步驟 8

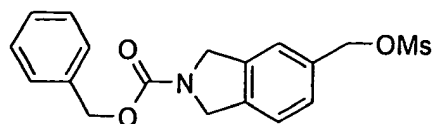
5-羥甲基-1,3-二氫-異吲哚-2-羧酸苄酯



將在甲苯（120 毫升）中之炔丙醇溶液（26.4 毫升，424 毫莫耳）脫氣。將上述之 0.5M-二炔溶液（440 毫升，220 毫莫耳）蒸發並將殘質溶解在甲苯（80 毫升）中。將此受保護之二炔溶液與威金森氏催化劑（2.26 克，2.44 毫莫耳，1.11%）分成 14 等份在 2 小時內加入其中，並持續監測內部溫度，使溫度保持在 50-100℃。當此溶液蒸發時（以去除過量之炔丙醇），讓溶液在 30 分鐘內冷卻至 50℃。將殘質與甲苯（500 毫升）和木炭（Darco 4-12 網眼，20 克）在 100℃加熱 30 分鐘，然後趁熱通過寅氏鹽墊過濾並將棕色溶液蒸發。將殘質溶解在 80℃之 EtOAc（400 毫升）中，加入矽膠（色層分析級，65 克）並持續加熱 20 分鐘。將溶液趁熱過濾再蒸發之（一邊引入晶種），以產生淡棕色固體。加入 10%EtOAc/庚烷（體積/體積，100 毫升），再藉由過濾去除固體。在燒結物上以庚烷（100 毫升）清洗固體並乾燥之（50℃，油泵，16 小時），以產生標題化合物 59.0 克（95%）。¹H NMR（400MHz，Me-d₃-OD）：7.51-7.16（m，8H），5.21（s，2H），4.74（s，2H），4.70（s，2H），4.61（s，2H）。

步驟 9

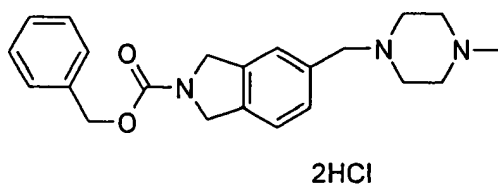
5-甲磺醯氧基甲基-1,3-二氫-異吲哚-2-羧酸苄酯



將 Et_3N (39 毫升, 0.28 莫耳) 加入在 THF (470 毫升) 和 EtOAc (770 毫升) 中之 5-羥甲基-1,3-二氫-異吲哚-2-羧酸苄酯 (65.75 克, 0.232 莫耳) 的溶液中。將溶液在冰浴中冷卻並加入溶解在 EtOAc (50 毫升) 中之甲磺醯氯溶液 (19 毫升, 0.245 莫耳) (如此, 內部溫度 $<12^\circ\text{C}$)。在冰浴中攪拌 2 小時, 再進一步加入甲磺醯氯 (1.9 毫升和 0.95 毫升) 及 Et_3N (3.9 毫升) 溶液 (如此, 藉由 tlc 可知在進一步攪拌 1 小時後並無剩餘之起始物質)。加入 NaHCO_3 (550 毫升), 將溶液攪拌 20 分鐘, 再加入飽和鹽水 (200 毫升) 並將不同相分開。將有機相乾燥 (MgSO_4), 並蒸發之 (一邊引入晶種), 以產生潮溼之固體, 此固體將不完全乾燥而直接用於下一步驟中。

步驟 10

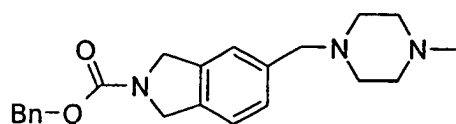
5-(4-甲基-六氫吡啶-1-基甲基)-1,3-二氫-異吲哚-2-羧酸苄酯二氫氯酸鹽



將來自步驟 9 之固體（假定為 0.232 莫耳）溶解在丙酮（700 毫升）中並將此溶液在 45 分鐘內加入在丙酮（330 毫升）中之 K_2CO_3 （48 克）與 N-甲基六氫吡啶（50 毫升，0.45 莫耳）的冷卻（內部溫度 15-17°C）懸浮液中。將懸浮液在 15°C 下攪拌 3 小時（藉由 tlc 可知起始物質已完全去除），將溶液蒸發至小體積，並將殘質分佈在 EtOAc（1000 毫升）與水（500 毫升）和飽和鹽水（50 毫升）之混合物之間。以水（500 毫升）和飽和鹽水（150 毫升）之混合物清洗有機相，最後以飽和鹽水（300 毫升）清洗之。將溶液乾燥（ $MgSO_4$ ）並過濾，將在甲醇中之 1M-HCl（430 毫升，0.43 莫耳）加入此溶液中。將此懸浮液冷卻（0°C，30 分鐘）並藉由過濾去除固體，然後在燒結物上先以 EtOAc 再以庚烷清洗之，再將固體乾燥（油泵，室溫 72 小時），以產生為無色固體之第 1 批標題化合物 66.34 克（65%）。 1H NMR（400MHz，Me-d₃-OD）：7.64-7.51（m，2H），7.51-7.29（m，6H），5.23（s，2H），4.79（dd，J=16.2，6.1Hz，4H），4.49（s，2H），3.66（s，8H），3.03（s，3H）。

替換之步驟 10A

5-（4-甲基-六氫吡啶-1-基甲基）-1,3-二氫-異吲哚-2-羧酸苄酯 二氫氨酸鹽

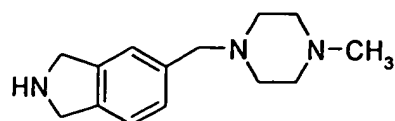


步驟 10A 可作為替換途徑來取代上述步驟 9 和 10。

將 5-羥甲基-1,3-二氫-異吡啶-2-羧酸苄酯（3.35 克，11.8 毫莫耳）加入在 DCM（100 毫升）中之二氧化錳（15.5 克，178 毫莫耳）的懸浮液中，在室溫中攪拌 6 小時後，進一步加入二氧化錳（5 克，57 毫莫耳）。在室溫再攪拌 1 小時後，加入寅氏鹽（7 克）並通過寅氏鹽™墊過濾，以產生透明之淡黃色溶液。以 DCM 清洗寅氏鹽™並藉由蒸發將合併之有機溶液的體積調整為 100 毫升。加入 N-甲基六氫吡啶（1.31 毫升，11.8 毫莫耳）和醋酸（0.68 毫升），再加入三乙醯氧基硼氫化鈉（4.98 克，23.5 毫莫耳）。將黃色溶液攪拌 16 小時，以產生無色溶液。在溶液中加入 2M-HCl（10 毫升，20 毫莫耳），以發生冒泡。30 分鐘後加入水（10 毫升）和 K₂CO₃（5.5 克，39.8 毫莫耳）並將有機相乾燥（Na₂SO₄）。過濾後加入在二噁烷（6 毫升）中之 4M-HCl 並一邊攪拌，將懸浮液蒸發至乾燥。將殘質溶解在甲醇中，一邊加溫，蒸發後，在燒結物上先以 EtOAc 再以石油醚（沸點 40-60℃）清洗固體，在 50℃，真空中乾燥，以產生標題化合物 3.61 克（70%）。¹H NMR（400MHz，Me-d₃-OD）：7.65-7.51（2H，m），7.51-7.27（6H，m），5.23（2H，s），4.83-4.69（4H，m），4.49（2H，s），3.66（8H，d），3.03（3H，s）。

步驟 11

5-（4-甲基-六氫吡啶-1-基甲基）-2,3-二氫-1H-異吡啶



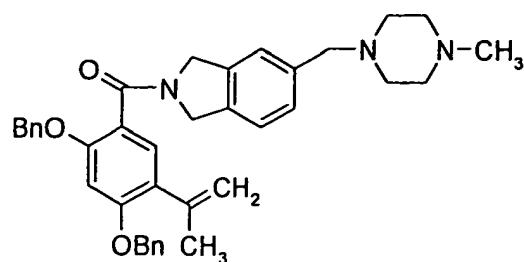
將 EtOAc (400 毫升) 和 10% 水性 K_2CO_3 (400 毫升) 加入 5- (4-甲基 - 六氫吡啶 -1-基 甲基) -1,3-二氫 - 異吲哚 -2-羧酸 苄酯 二氫氯酸鹽 中。以飽和鹽水 (200 毫升) 清洗有機相再乾燥之 ($MgSO_4$)。過濾溶液並將其蒸發成油 (其與石油醚 (沸點 $40-60^\circ C$) 一起靜置時將結晶化)。將固體在真空中乾燥，以產生無色固體：48.8 克 (133.5 毫莫耳)。

將一部分固體 (24.4 克，66.8 毫莫耳) 溶解在甲醇 (170 毫升) 中，將溶液脫氣後以氮氣滌淨，加入 10% Pd/C (1.22 克)，將混合物在 1 大氣壓下氫化 2.5 小時。過濾溶液，將溶液蒸發，並將殘質與甲苯在 $30-40^\circ C$ 共沸二次。將殘質溶解在 DMF (92 毫升) 中並將此溶液立即脫氣以氮氣滌淨。

(NB 此階段之產物對空氣敏感並在與氧氣接觸時變暗。DMF 溶液係立即使用，但可藉由脫氣貯存且係貯存在氮氣下)。

步驟 12

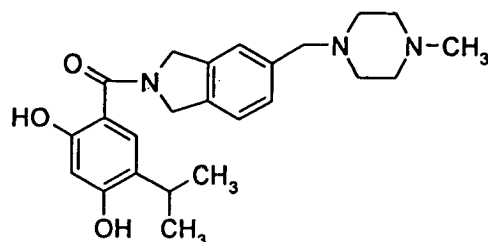
(2,4-雙 - 苄氧基 -5-異丙烯基 - 苯基) - [5- (4-甲基 - 六氫吡啶 -1-基 甲基) -1,3-二氫 - 異吲哚 -2-基] - 甲酮



將間苯二酚酸（步驟 6，23.7 克，63.4 毫莫耳）和 1-
 羥基苯並三唑（10.21 克，66.7 毫莫耳）的溶液溶解在
 DMF（92 毫升）中並將 N-乙基-N'-（3-二甲胺丙基）碳二
 亞胺氫氨酸鹽（12.8 克，66.8 毫莫耳）加入此溶液中。
 將此溶液在室溫攪拌 40 分鐘內並將其與 DMF（5 毫升）
 清洗液加入來自步驟 11 之胺溶液（66.8 毫莫耳）中。將
 溶液脫氣並將其室溫攪拌 16 小時。在溶液中加入 10%
 K_2CO_3 （500 毫升）及 EtOAc（500 毫升），並依序以
 K_2CO_3 （500 毫升）、水（4×100 毫升）及飽和鹽水（200
 毫升）清洗之。將溶液蒸發至小體積，加入在庚烷中之
 20% EtOAc（250 毫升）並貯存在 0℃。藉由過濾去除形成
 之固體，以庚烷清洗二次並在真空中乾燥，以產生標題化
 合物 35.05 克（94.4%）。 1H NMR（400MHz，Me-d₃-OD）：
 7.49-7.10（m，14H），6.86（d，J=2.5Hz，1H），
 5.17（d，J=2.5Hz，4H），5.09（d，J=11.3Hz，2H），
 4.88（s，2H），4.63（s，2H），3.54（d，J=16.0Hz，2H），
 2.50（s，7H），2.28（d，J=7.6Hz，3H），2.11（s，
 3H）。

步驟 13

(2,4-二羥基-5-異丙基-苯基)-[5-(4-甲基-六氫吡啶-1-基甲基)-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮

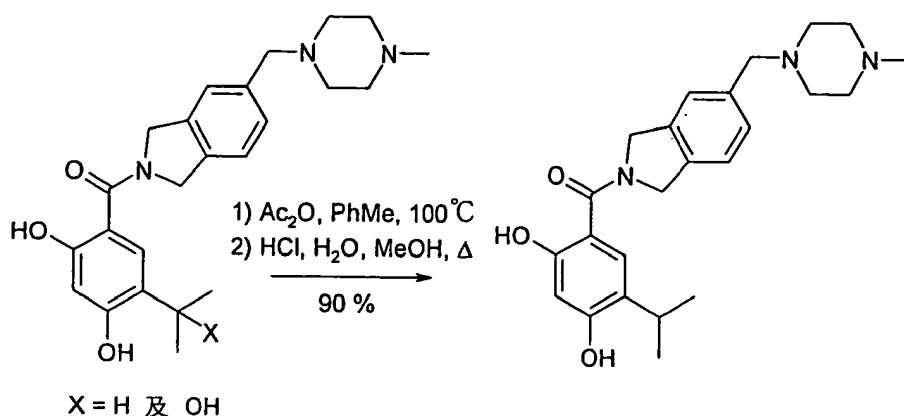


將來自步驟 12 之產物 (4.7 克) 溶解在 1 : 1 MeOH/水 (98 毫升), 以氮氣滌淨後加入 10% Pd/C 和 K_2CO_3 (2.38 克, 17.2 毫莫耳), 將懸浮液在 H_2 大氣下氫化 16 小時。將溶液過濾並將溶劑蒸發。在殘質中加入水性 2M-HCl (40 毫升) 並以 1 : 1 EtOAc/石油醚 (40 毫升 \times 2) 清洗溶液, 再加入 NaOH 將 pH 調整至 pH8.5, 加入 EtOAc (50 毫升)。將溶液加熱至 60 $^{\circ}C$ 並移除水相。以水 (30 毫升) 清洗熱有機相, 再蒸發至小體積 (約 5 毫升), 並在室溫靜置 16 小時, 一邊引入晶種。將 1 : 1 EtOAc/石油醚 (10 毫升) 加入結晶型物質, 過濾混合物並乾燥之, 以產生為游離鹼之標題化合物 1.76 克。 1H NMR (400MHz, Me- d_3 -OD) : 7.29 (s, 3H), 7.19 (s, 1H), 6.39 (s, 1H), 4.91 (s, 4H), 3.56 (s, 2H), 3.28-3.15 (m, 1H), 2.53 (s, 8H), 2.31 (s, 3H), 1.23 (d, $J=6.9Hz$, 7H)。

選擇性之步驟 14

(2,4-二羥基-5-異丙基-苯基)-[5-(4-甲基-六氫吡啶-1-基甲基)-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮之純化

在某些批之產物中，標題化合物（式中 $X=H$ ）可含有小量之雜質 2,4-二羥基-5-(2-羥丙-2-基)-苯基-[5-(4-甲基-六氫吡啶-1-基甲基)-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮（式中 $X=OH$ ）。該雜質可藉由下列方法移除。



將醋酸酐（1.04 毫升，11.0 毫莫耳）加入在甲苯（20 毫升）中之不純的 2-(2,4-二羥基-5-異丙基苯甲醯基)-5-(4-甲基-六氫吡啶-1-基甲基)-1,3-二氫異吲哚（2.05 克，5.0 毫莫耳）之攪拌懸浮液中，攪拌所產生之混合物並將其保持在 100°C 16 小時。當冷卻至室溫時，在真空中去除有機溶劑以產生可溶解在甲醇（20 毫升）中之棕色油。加入濃縮之氫氯酸（1 毫升），攪拌所產生之混合物並將其保持在回流 5 小時。當冷卻至室溫時，在真空中去除有機溶劑及揮發性物質，以水（25 毫升）稀釋水性殘質，並藉由小心加入 10% 水性碳酸鉀溶液及劇烈攪拌將 pH 鹼化成 pH8。加入在庚烷（50 毫升）中之 50% 醋酸乙酯並在室溫劇烈攪拌 16 小時。經由抽吸過濾收集固體物質，以在庚烷（50 毫升）中之 50% 醋酸乙酯輕洗之，再在減低之壓力下抽乾，在真空烘箱（ 50°C ）中乾燥一整

夜，以產生為暗白色固體之 2-(2,4-二羥基-5-異丙基苯甲醯基)-5-(4-甲基六氫吡啶-1-基甲基)-1,3-二氫異吲哚 (1.85 克，90%)。¹H NMR (DMSO-d₆) 10.07 (1H, br s), 9.60 (1H, br s), 7.24 (3H, m), 7.06 (1H, s), 6.40 (1H, s), 4.76 (4H, br s), 3.44 (2H, s), 3.10 (1H, m), 2.32 (8H, m), 2.14 (3H, s), 1.15 (6H, d)。MS: [M+H]⁺ 410。

實例 2

(2,4-二羥基-5-異丙基-苯基)-[5-(4-甲基-六氫吡啶-1-基甲基)-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮 L-乳酸鹽 (FL1 型)

將實例 1 之產物 (1.24 克，3.303 毫莫耳) 懸浮在乙醇 (3 毫升) 和 EtOAc (5 毫升) 中，並加入溶解在乙醇 (3 毫升) 中之 L-乳酸 (0.285 克，3.13 毫莫耳) 的溶液。將溶液加熱至透明再過濾之。使用 EtOAc (5 毫升) 清洗濾器，將合併之濾液在室溫攪拌 2 小時，一邊引入晶種。藉由過濾移出形成之結晶型物質，以 EtOAc 清洗之，並在 50°C 真空中乾燥之，以產生標題化合物 1.29 克。¹H NMR (400MHz, Me-d₃-OD): 7.30 (s, 3H), 7.18 (s, 1H), 6.39 (s, 1H), 4.91 (s, 4H), 4.08 (q, J=6.8Hz, 1H), 3.70-3.63 (m, 2H), 3.28-3.15 (m, 1H), 3.01 (s, 4H), 2.68 (m, 7H), 1.36 (d, J=6.8Hz, 3H), 1.23 (d, J=6.9Hz, 6H)。

實例 2A

(2,4-二羥基-5-異丙基-苯基)-[5-(4-甲基-六氫吡啶-1-基甲基)-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮 L-乳酸鹽

實例 2A 描述包含與實例 1 及 2 中所描述之途徑大致相同的方法步驟的合成途徑，但其中該方法條件更適合較大規模之反應。

步驟 1

4-乙醯氧基-2-羥基-苯甲酸甲酯

將醋酸酐（9.9 升，104.9 莫耳）慢慢（在 2 小時內）加入在甲苯（66 升）中之間苯二酚甲酯（16.5 公斤，98.1 莫耳）及 N,N-二甲基-4-胺基吡啶（89.1 克，0.73 莫耳，7.4 莫耳%）的加熱溶液（50℃）中。將溶液在 50℃ 進一步加熱 1.5 小時，再藉由在 50℃ 蒸發來去除溶劑至剩餘小量體積並將殘質與甲苯共沸一次。在仍溫時將甲苯（33 升）立即加入殘餘之油中，此溶液可直接用於步驟 2 中不需進一步純化。

步驟 2

5-乙醯基-2,4-二羥基-苯甲酸甲酯

將來自步驟 1 之甲苯溶液在 N₂ 下冰浴中冷卻並在 3 小時內將三氟甲磺酸（9.44 升）慢慢加入其中。攪拌時形成一種細緻之白色固體，將此固體在室溫加溫 20 小時使

其溶解，再將其在室溫攪拌 37 小時，以產生一種黃色溶液。將乙醯氯（726 毫升）加入溶液中並將溶液在室溫中再攪拌 1 小時。將此溶液以導管導入攪拌過之溶解在水（145 升）中之 EtOAc（217.8 升）與 NaOAc·3H₂O（14.52 公斤）的冷卻（0℃）溶液中。以飽和鹽水（二次，72.6 升）清洗有機相並將其蒸發至 5.5 公斤。加入甲苯：異丙醇（2：3）並藉由過濾去除結晶型固體，再乾燥之，以產生 12.6 公斤（二個步驟內 61%），mp 124-126℃。

步驟 3

5-乙醯基-2,4-雙-苄氧基-苯甲酸甲酯

將 5-乙醯基-2,4-二羥基苯甲酸甲酯（14 公斤，66.6 莫耳，步驟 2）在 5 小時內分成 6 部分加入在乙腈（184.5 升）中之苄基溴（16.14 升，136 莫耳）與無水碳酸鉀（20.25 公斤，147.6 莫耳）的攪拌溶液中。攪拌混合物並保持在回流下 20 小時，冷卻至室溫後，將混合物倒至水（682 升）上並劇烈攪拌 2 小時。藉由離心收集固體，在減低之壓力下，於 60℃ 真空烘箱中乾燥一整夜至固定質量，以產生為乳狀固體之 5-乙醯基-2,4-雙-苄氧基苯甲酸甲酯（23.5 公斤，97.3%），mp 114-115℃。

步驟 4

2,4-雙-苄氧基-5-異丙醯基-苯甲酸甲酯

在 3 小時內將在無水 THF（60 升）中之第三-丁氧化

鉀（6.72 公斤，60.1 莫耳）溶液加入 15℃，在無水四氫呋喃（213 升）中之甲基三苯基溴化磷（21.43 公斤，60.1 莫耳）和 5-乙醯基-2,4-雙-苄氧基苯甲酸甲酯（21.3 公斤，54.6 莫耳，步驟 3）的攪拌懸浮液中。將混合物在 15℃攪拌 70 分鐘，並在 60 分鐘內溫至 20℃。加入甲醇（27.3 升）以將過量之磷偶極體淬熄並將溶劑在真空中濃縮，再加入 EtOAc 和水。以活性炭處理有機相，過濾並蒸發成小體積。將殘質自沸騰之甲醇中再結晶並藉由抽吸過濾來收集固體，以甲醇清洗後，再在減低之壓力下乾燥，以產生為淡黃色針狀之 2,4-雙-苄氧基-5-異丙烯基-苯甲酸甲酯 18.1 公斤（85%），mp92-94℃（藉由 hplc 分析之純度為 99.6%）。

步驟 5

2,4-雙-苄氧基-5-異丙烯基-苯甲酸

將氫氧化鉀（0.527 公斤，9.4 莫耳）加入在甲醇（18.6 升）和水（12.4 升）中之 2,4-雙-苄氧基-5-異丙烯基-苯甲酸甲酯（3.1 公斤，8 莫耳，步驟 4）的攪拌懸浮液中，攪拌混合物並其將保持在回流 3 小時。在部分真空下自容器中去除甲醇並在剩餘溶液中加入甲苯（62 升）。將溶液加熱至 40℃並在混合物中加入濃氫氯酸（1.36 升）。將雙相混合物加熱至 50℃並將不同相分開。以 50℃之水（31 升）清洗有機相並在減低之壓力下蒸發有機相，以產生為無色固體之 2,4-雙-苄氧基-5-異丙烯基-苯甲

酸 2.851 公斤 (產量 95%) 。

步驟 6

二 - 丙 - 2 - 炔基 - 胺基甲酸苄酯

將二炔丙胺 (2.50 公斤 , 26.88 莫耳) 加入在水 (17.5 升) 和甲苯 (12.5 升) 中之 K_2CO_3 (4 公斤 , 29.0 莫耳) 的冷卻 ($5^{\circ}C$) 溶液中。以可使 $T < 10^{\circ}C$ 之速度加入苄氧基氯甲酸酯 (4.8 公斤 , 28.14 莫耳) 。將溶液在 $5^{\circ}C$ 攪拌 10 分鐘再回暖至室溫。將水相分開 , 以 0.2M HCl (12.5 升) 、飽和 $NaHCO_3$ (13.5 升) 及鹽水 (17 升) 清洗有機相 , 所產生之溶液係用於步驟 7 中 (根據蒸發部分之分析 , 含有 6.23 公斤 , 102%) 。

步驟 7

5 - 羥甲基 - 1,3 - 二氫 - 異吲哚 - 2 - 羧酸苄酯

將在甲苯 (32.48 升) 中之炔丙醇 (2.11 公斤 , 37.7 莫耳) 的溶液脫氣並加熱至 $55^{\circ}C$ 。將在甲苯中之二 - 丙 - 2 - 炔基 - 胺基甲酸苄酯溶液 (4.06 公斤 , 17.86 莫耳 , 步驟 6) 與威金森氏催化劑 (0.162 公斤) 分成 10 等份加入其中 , 以使溫度保持在 $< 65^{\circ}C$ (停止放熱後再加入下一部分) 。將溶液在 $55^{\circ}C$ 攪拌 1 小時再並冷卻至 $20^{\circ}C$ 。加入 DCM (8.12 升) 並將混合物濃縮成小體積。加入甲苯 (8 升) 並將溶液蒸發至固定重量 , 以產生標題化合物 5.72 公斤 (113%) 。

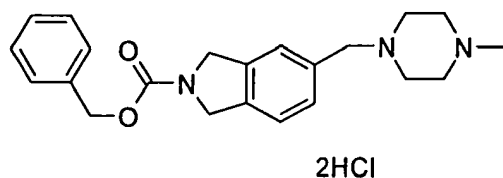
步驟 8

5-甲磺醯氧基甲基-1,3-二氫-異吲哚-2-羧酸苄酯

將甲磺醯氯（2.97 升，38.4 莫耳）加入在 DCM（55 升）中之 5-羥甲基-1,3-二氫-異吲哚-2-羧酸苄酯（11 公斤，38.8 莫耳，步驟 7）和 Et_3N （7.04 毫升，50.6 莫耳）之冷卻溶液（5℃）中，使內部溫度 <10℃。在 5℃ 攪拌 0.5 小時後，將溶液用於下列步驟 9 中。

步驟 9

5-（4-甲基-六氫吡啶-1-基甲基）-1,3-二氫-異吲哚-2-羧酸苄酯二氫氯酸鹽



將來自步驟 8 之固體（假定為 0.232 莫耳）溶解在丙酮（700 毫升）中並將此溶液在 45 分鐘內加入在丙酮（330 毫升）中之 K_2CO_3 （48 克）與 N-甲基六氫吡啶（50 毫升，0.45 莫耳）的冷卻（內部溫度 15-17℃）懸浮液中。將懸浮液在 15℃ 下攪拌 3 小時（藉由 tlc 可知起始物質已完全去除），將溶液蒸發至小體積，並將殘質分佈在 EtOAc（1000 毫升）與水（500 毫升）和飽和鹽水（50 毫升）之混合物之間。以水（500 毫升）和飽和鹽水（150 毫升）之混合物清洗有機相，最後以飽和鹽水（300 毫升

）清洗之。將溶液乾燥（ MgSO_4 ）並過濾，將在甲醇中之 1M-HCl（430 毫升，0.43 莫耳）加入此溶液中。將此懸浮液冷卻（ 0°C ，30 分鐘）並藉由過濾去除固體，然後在燒結物上先以 EtOAc 再以庚烷清洗之，將固體乾燥（油泵，室溫 72 小時），以產生為無色固體之第 1 批標題化合物 66.34 克（65%）。 ^1H NMR（400MHz， $\text{Me-d}_3\text{-OD}$ ）：7.64-7.51（m，2H），7.51-7.29（m，6H），5.23（s，2H），4.79（dd， $J=16.2$ ，6.1Hz，4H），4.49（s，2H），3.66（s，8H），3.03（s，3H）。

步驟 9

5-（4-甲基-六氫吡啶-1-基甲基）-1,3-二氫-異吲哚-2-羧酸苄酯

將 DCM（33 升）和 N-甲基六氫吡啶（21.45 升，193.4 莫耳）在 25°C 攪拌並在最少 30 分鐘內將來自步驟 8 之溶液加入其中，使溫度為 $20\text{-}30^\circ\text{C}$ 。將溶液再攪拌 30 分鐘後，加入水（55 升），並以水（ 2×55 升）清洗有機相。將產物萃取入 0.8M HCl（66 升）並將不同層分開。以 DCM（55 升）清洗水相，再以 2M NaOH 鹼化成 pH10-11，然後將產物萃取入 EtOAc（ 2×55 升）。過濾合併之有機相以移除固體，蒸發後再與甲苯共沸，並乾燥至固定重量，以產生標題化合物 6.63 公斤（47%產量，藉由 hplc 分析測定出 98%純度）。

步驟 10

5- (4-甲基 -六 氫 吡 咩 -1-基 甲 基) -2,3-二 氫 -1H-異 吲 哚

將 10%Pd/C (0.065 公 斤) 加 入 溶 解 在 EtOH (13 升) 中 之 5- (4-甲 基 -六 氫 吡 咩 -1-基 甲 基) -1,3-二 氫 -異 吲 哚 -2-羧 酸 苄 酯 (步 驟 9, 1.3 公 斤 , 3.55 莫 耳) 的 脫 氣 溶 液 中 。 在 30℃ , 將 氫 氣 通 過 混 合 物 4 小 時 或 直 至 藉 由 NMR 分 析 出 反 應 已 完 全 。 然 後 , 將 溶 液 在 氮 氣 下 攪 拌 1 小 時 , 再 經 由 通 過 GF/F 濾 器 去 除 催 化 劑 , 接 著 再 通 過 Cuno 濾 器 過 濾 。 將 濾 液 蒸 發 成 小 體 積 , 與 甲 苯 (3.9 升) 共 沸 , 再 乾 燥 至 固 定 重 量 , 以 產 生 為 紅 色 /黑 色 油 性 固 體 (0.78 公 斤) 之 標 題 化 合 物 , 將 此 化 合 物 貯 存 在 氮 氣 下 直 到 需 用 時 。

步驟 11

(2,4-雙 -苄 氧 基 -5-異 丙 烯 基 -苯 基) -[5- (4-甲 基 -六 氫 吡 咩 -1-基 甲 基) -1,3-二 氫 -異 吲 哚 -2-基]-甲 酮

在 25℃ , 將 1,1'-羰 基 二 咪 唑 (4.82 公 斤 , 29.8 莫 耳) 加 入 在 DMF (21.2 升) 中 之 2,4-雙 -苄 氧 基 -5-異 丙 烯 基 -苯 甲 酸 (10.58 公 斤 , 28.3 莫 耳 , 步 驟 5) 的 溶 液 中 。 在 25℃ 下 20 分 鐘 後 , 將 在 DMF (7.2 升) 中 之 5- (4-甲 基 -六 氫 吡 咩 -1-基 甲 基) -2,3-二 氫 -1H-異 吲 哚 (7.2 公 斤 , 31.1 莫 耳 , 步 驟 10) 的 溶 液 維 持 在 低 於 35℃ , 並 將 此 溶 液 在 25℃ 攪 拌 至 少 12 小 時 。 藉 由 過 濾 移 出 形 成 之 固 體 , 以 醋 酸 異 丙 酯 (2×21.6 升) 清 洗 之 , 並 在 35℃ 乾 燥 至

固定重量，以產生標題化合物 8.7 公斤（產量 77%，藉由 hplc 分析之純度為 97.5%）。

步驟 12

（2,4-二羥基-5-異丙基-苯基）-[5-（4-甲基-六氫吡啶-1-基甲基）-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮

將來自步驟 11 之產物（0.9 公斤，1.53 莫耳）溶解在異丙醇（6.8 升）和水（1.04 升）中，然後，以氮氣滌淨，加入 10%Pd/C（90 克）和 K_2CO_3 （0.212 公斤，1.53 莫耳），將懸浮液在 3 巴之 H_2 氣壓力下氫化 60 至 70 分鐘。以水（0.5 升）稀釋溶液並過濾之。將水性 HCl（30% 氫氯酸，0.85 公斤，以 5.42 公斤水稀釋之）加入濾液中，並將溶液在 $60^\circ C$ ，真空中濃縮（去除 10 升異丙醇）。在溶液中加入水（0.45 升）並持續濃縮（直到再另外移除 10 升異丙醇）。以 EtOAc（4.61 升）清洗水相，再以乙腈（4.06 升）稀釋並藉由加入濃氨溶液（0.35 公斤）將 pH 中和至 pH7.5-8.5。將懸浮液攪拌 2.5 小時，然後藉由過濾移出固體。以乙腈（ 2×0.8 升）清洗殘質，在 $40^\circ C$ 乾燥至固定重量，以產生標題化合物 588 克（94%產量）。

步驟 13

（2,4-二羥基-5-異丙基-苯基）-[5-（4-甲基-六氫吡啶-1-基甲基）-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮 L-乳酸鹽（FL1 型

)

將步驟 12 之產物 (646 克 , 1.58 莫耳) 溶解在乙醇 (5.17 升) 中並將溶液過濾。將溶解在乙醇 (2.59 升) 中之 L-乳酸 (142 克 , 1.58 莫耳) 的溶液過濾並加入上述過濾溶液之溶液中 , 然後再將 EtOAc (7.75 升) 加至混合物中。將懸浮液在室溫攪拌 12 小時 , 再冷卻至 5℃ 2 小時。藉由過濾移出形成之固體 , 以 EtOAc (2×2.58 升) 和庚烷 (2×1.94 升) 清洗之 , 在 35℃ 乾燥至固定重量 , 以產生標題化合物 (581 克 , 74% 產量) 。

實例 3

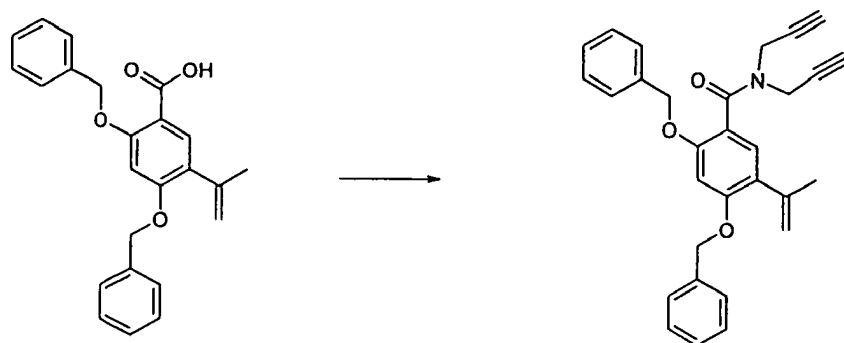
(2,4-二羥基-5-異丙基-苯基) -[5-(4-甲基-六氫吡啶-1-基甲基) -1,3-二氫-異吡啶-2-基]-甲酮 二氫氯酸鹽 (FH3 型)

藉由加溫 , 將實例 1 之產物 (0.49 克 , 1 毫莫耳) 溶解在乙醇 (10 毫升) 及在二噁烷中之 4M HCl (0.5 毫升 , 2 毫莫耳) 中 , 然後將溶液蒸發至乾燥。藉由加溫 , 將殘質溶解在乙醇 : 水 (9 : 1 ; 5 毫升) 中。將溶液攪拌 16 小時 , 引入晶種 , 再藉由過濾移出形成之固體 , 將固體在真空中乾燥 , 以產生標題化合物。 ^1H NMR (400MHz , Me-d₃-OD) : 7.63-7.52 (m , 2H) , 7.47 (s , 1H) , 7.17 (s , 1H) , 6.40 (s , 1H) , 4.96 (d , J=7.0Hz , 4H) , 4.47 (s , 2H) , 3.87-3.40 (m , 8H) , 3.30-3.16 (m , 1H) , 3.02 (s , 3H) , 1.23 (d , J=6.9Hz , 6H) 。

實例 4

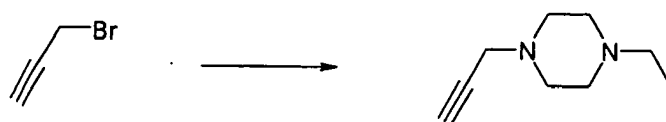
(2,4-二羥基-5-異丙基-苯基)-[5-(4-乙基-六氫吡啶-1-基甲基)-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮之合成方法

4A. 2,4-雙-苄氧基-5-異丙烯基-N,N-二-丙-2-基炔基-苄醯胺之合成方法



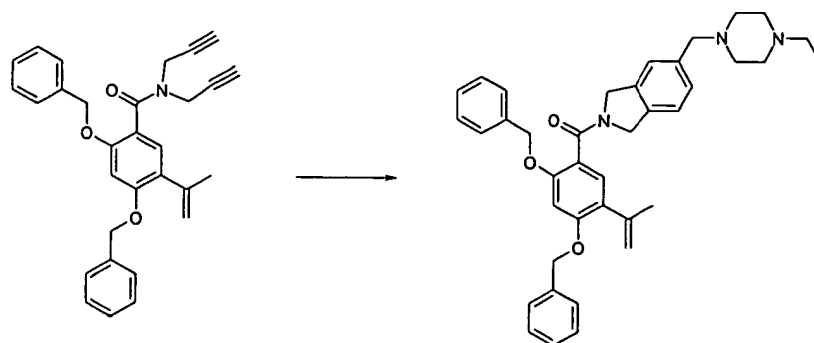
以 N-乙基-N'-(3-二甲胺丙基)碳二亞胺氫氯酸鹽 (1.2 當量)、1-羥基苯並三唑 (1.2 當量) 及二炔丙胺 (1.5 當量) 依序處理在二氯甲烷 (10 毫升) 中之 2,4-雙-苄氧基-5-異丙烯基-苯甲酸 (實例 1, 步驟 6) (1 當量), 將混合物在室溫攪拌一整夜。以 2M 氫氯酸及 2M 氫氧化鈉依序清洗混合物, 將有機層分開並在真空中去除有機溶劑, 以產生取得時已純淨或在矽石上藉由管柱色層分析純化 (依適當情況以在石油醚中之醋酸乙酯或在醋酸乙酯中之甲醇的混合物洗提) 之產物。MS: $[M+H]^+ 450$ 。

4B. 1-乙基-4-丙-2-基炔基-六氫吡啶



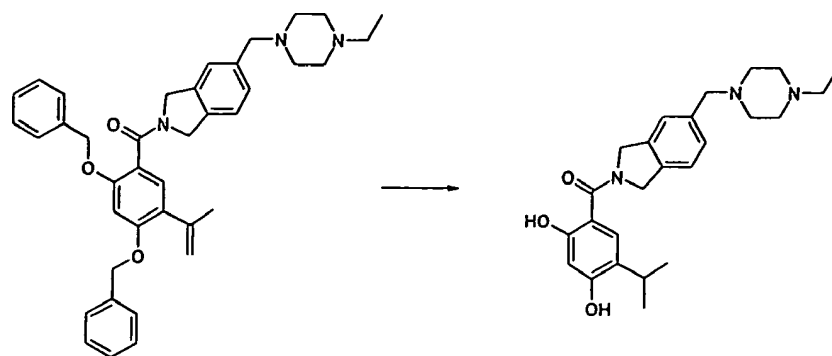
在 0℃，N₂ 下，將炔丙基溴（2.00 克，13.5 毫莫耳）一滴滴地加入在丙酮（27 毫升）中之 1-乙基六氫吡啶（2.33 克，20.2 毫莫耳）和 K₂CO₃（2.79 克，20.2 毫莫耳）中。將反應物在室溫攪拌一整夜。過濾反應物並以少量丙酮清洗該鹽。將濾液合併並和緩蒸發以濃縮之。在 EtOAc 中提取殘質，以水清洗之。以 EtOAc 再次萃取水相。以鹽水清洗合併之有機層並在 MgSO₄ 上乾燥。過濾產物並蒸發至乾燥，以剩餘淡橘色油。

4C. (2,4-雙-苄氧基-5-異丙烯基-苯基)-[5-(4-乙基-六氫吡啶-1-基甲基)-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮之合成方法



利用實例 5B 之方法製備標題化合物，但利用管柱色層分析法而非形成鹽來進行純化。MS: [M+H]⁺602。

4D. (2,4-二羥基-5-異丙基-苯基)-[5-(4-乙基-六氫吡啶-1-基甲基)-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮之合成方法



利用實例 1，步驟 13 中所描述之方法將（2,4-雙-苄氧基-5-異丙烯基-苯基）-[5-（4-乙基-六氫吡啶-1-基甲基）-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮氫化，但改變操作及純化程序。因此，氫化後，過濾催化劑並將濾液蒸發。將水和 EtOAc 加入產物中並中和水層。然後，以 EtOAc（x3）萃取產物。以鹽水清洗合併之有機層並在 MgSO_4 上乾燥。過濾所產生之溶液並蒸發至乾燥，以剩餘淡黃色油/固體。藉由管柱色層分析法純化產物（梯度洗提：100%DCM 至在 DCM 中之 10%MeOH）以產生為淡黃色固體之產物。MS：[M+H]⁺424。

實例 5

5-（4-甲基-六氫吡啶-1-基甲基）-2,3-二氫-1H-異吲哚之替換合成方法

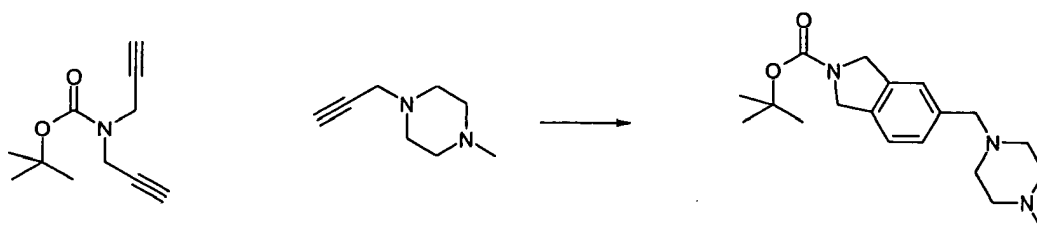
5A. 1-甲基-4-丙-2-基炔基-六氫吡啶之合成方法



在 0℃， N_2 下，將在丙酮（70 毫升）中之炔丙基溴（25 毫升，225 毫莫耳，80%在甲苯中）一滴滴地加入在

丙酮（380 毫升）中之 1-甲基六氫吡啶（37.7 毫升，337 毫莫耳）和 K_2CO_3 （46.6 克，337 毫莫耳）中。將反應物之內部溫度保持在 $<10^\circ C$ 。將反應物在室溫攪拌 3 小時。過濾反應物並以小部分丙酮（x2）清洗該鹽。將濾液合併並蒸發以濃縮之（和緩地）。在殘質中加入水並以 DCM（x3）萃取產物。以鹽水清洗合併之有機層並在 $MgSO_4$ 上乾燥。過濾產物並蒸發至乾燥，以產生為黃色油之 1-甲基-4-丙-2-基炔基-六氫吡啶。

5B. 5-（4-甲基-六氫吡啶-1-基甲基）-1,3-二氫-異吲哚-2-羧酸第三-丁酯之合成方法



製備在 EtOAc（30 毫升）中之 N-boc-二炔丙胺（36.3 毫升，226 毫莫耳，86%純度）的溶液並藉由在分開之漏斗中通過氮氣吹氣來脫氣。將三（三苯膦）氯化銦（I）（1.39 克，1.50 毫莫耳，1 莫耳%）加入在第二個分開之漏斗中之預先脫氣的 EtOAc（15 毫升）中。（註 亦可使用 $CpRu(COD)Cl$ 作為替換之催化劑）。

在主要之反應容器中，以 EtOAc（75 毫升）稀釋 1-炔丙基-4-甲基六氫吡啶（32.3 毫升，150 毫莫耳，90%純度）並藉由將氮氣通過混合物吹氣來脫氣。將混合物在冰浴中冷卻，然後加入在 EtOAc 中之三（三苯膦）氯化銦

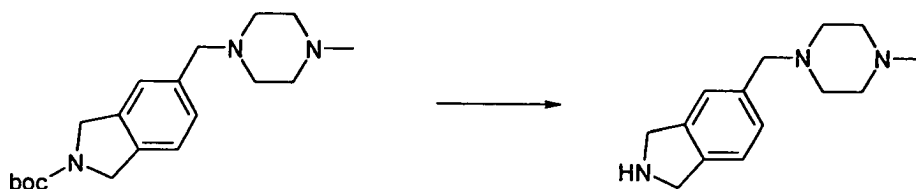
(I) (1.39 克, 1 莫耳%)。慢慢加入 N-boc-二炔丙胺 /EtOAc 以產生輕微放熱。內部溫度上升至 25°C 並保持在此溫度。約加入 1/3 後 (約 45 分鐘), 放熱減少 (儘管持續慢慢加入 N-boc-二炔丙胺 /EtOAc)。製備另一部分在 EtOAc (15 毫升, 預先脫氣) 中之三 (三苯膦) 氯化銻 (I) 催化劑 (1.39 克, 1 莫耳%) 並非常慢地加入反應物中。數分鐘後, 開始重新放熱, 溫度上升至 30°C。經由在水浴中加入小量冰來和緩地冷卻反應溫度。一旦停止放熱, 持續慢慢加入 N-boc-二炔丙胺 /EtOAc。在 2 小時內全部加完。將反應混合物留在室溫一整夜, 再以 EtOAc 稀釋, 並以 NH₄Cl (x2) (水性, 飽和) 清洗之, 以移除過量 1-炔丙基-4-甲基六氫吡啶。以少量水稀釋混合物以溶解該鹽。以水、鹽水清洗有機層並在 MgSO₄ 上乾燥。過濾產物並蒸發至乾燥, 以剩餘一種棕色油。

將正-庚烷加入所取得之油殘質。將油/庚烷靜置 (~10 分鐘) 直到形成紅色沈澱物。過濾沈澱物並以新鮮正-庚烷 (x2) 清洗之。將濾液乾燥, 以產生為紅色油之產物。

經由形成甲苯磺酸 (TsOH) 鹽來將所需產物進一步純化。因此, 在甲醇 (20 毫升) 中提取粗產物並加入 TsOH·H₂O (1 當量至藉由 NMR 估計之純度)。將溶液蒸發至乾燥, 然後溶解在甲苯 (x1) 中, 再次蒸發之。在醚中提取粗產物。數分鐘後形成沈澱物及溶液。過濾沈澱物並以更多醚 (x2) 清洗之, 直到濾液成為無色。將黃色固

體乾燥，以產生為 TsOH 鹽之產物。MS: $[M+H]^+ 332$ 。

5C. 5-(4-甲基-六氫吡啶-1-基甲基)-2,3-二氫-1H-異吲哚之合成方法



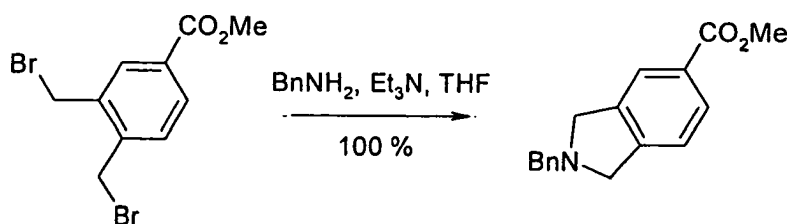
在 DCM (0.3M) 中提取異吲哚甲苯磺酸鹽並在 0℃ 慢慢加入 TFA (12 當量)。將反應物在室溫攪拌一整夜。將反應物蒸發至乾燥，再以甲苯/甲醇 (x3) 產生為酸加成鹽混合物之產物。MS: $[M+H]^+ 232$ 。

實例 5C 之化合物可用於實例 1，步驟 12 之方法中。

實例 6

5-羥甲基-1,3-二氫-異吲哚-2-羧酸苄酯之替換的合成方法

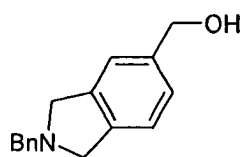
6A. 2-苄基-2,3-二氫-1H-異吲哚-5-羧酸甲酯



將在無水四氫呋喃 (25 毫升) 中之苄基胺 (3.21 克, 30.0 毫莫耳) 加入在無水四氫呋喃 (50 毫升) 中之 3,4-雙-(溴甲基)苯甲酸甲酯 (9.66 克, 30.0 毫莫耳) (自 Fluorochem 取得) 及三乙胺 (9 毫升, 64.7 毫莫耳) 的攪拌混合物中，並將所產生之混合物在室溫攪拌 3 小

時。在 40℃，真空中去除溶劑，並將殘質分佈在醋酸乙酯（100 毫升）和水（100 毫升）之間。以另一部分水（100 毫升）清洗有機層，將不同層分開並在 40℃。真空中去除溶劑，以產生為淡橘色固體之 2-苄基-2,3-二氫-1H-異吲哚-5-羧酸甲酯，其可依下述立即使用，不需進一步純化。¹H NMR (DMSO-d₆) 7.82 (2H, m), 7.40-7.25 (6H, m), 3.90 (3H, s), 3.88 (2H, s), 3.84 (4H, s)。MS: [M+H]⁺ 268。

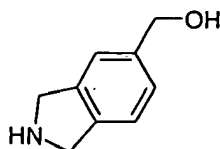
6B. (2-苄基-2,3-二氫-1H-異吲哚-5-基)-甲醇



將 2-苄基-2,3-二氫-1H-異吲哚-5-羧酸甲酯（來自上述）溶解在無水四氫呋喃（75 毫升）中，並將其於 15 分鐘內一滴滴地加入在無水四氫呋喃（75 毫升）中之氫化鋁鋰（1.71 克，45.0 毫莫耳）之快速攪拌的懸浮液中。將混合物在室溫攪拌 2 小時，此時，經由慢慢滴入 1M 硫酸鈉溶液（12 毫升）來破壞過量之氫化鋁鋰。經由過濾移出固體，以醋酸乙酯（2×50 毫升）輕洗之並抽乾。在真空中去除溶劑，以產生為棕褐色固體之（2-苄基-2,3-二氫-1H-異吲哚-5-基）-甲醇（7.15 克，99%）。¹H NMR (DMSO-d₆) 7.40-7.30 (4H, m), 7.28 (1H, m), 7.17-7.10 (3H, m), 5.10 (1H, t), 4.47 (2H, d), 3.85 (2H, s), 3.82 (2H, s), 3.80 (2H, s)。MS: [M+H]⁺

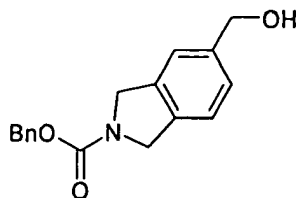
240。

6C. (2,3-二氫-1H-異吲哚-5-基)-甲醇



將在活性碳上之 10% 鈀 (200 毫克) 加入在乙醇 (60 毫升) 中之 (2-苄基-2,3-二氫-1H-異吲哚-5-基)-甲醇 (2.39 克, 10.0 毫莫耳) 之溶液中並將所產生之混合物置於帕爾氏裝置中, 加熱至 50°C, 在 60 psi 氫氣下搖動 30 小時。當冷卻至室溫時, 在重力下過濾混合物, 以乙醇 (2×10 毫升) 輕洗固體, 並在真空中去除溶劑, 以產生為暗白色固體之 (2,3-二氫-1H-異吲哚-5-基)-甲醇 (1.49 克, 100%)。¹H NMR (DMSO-d₆) 7.20 (1H, s), 7.18 (1H, d), 7.12 (1H, d), 5.10 (1H, br s), 4.46 (2H, s), 4.05 (4H, s)。MS: [M+H]⁺ 150。

6D. 5-羥甲基-1,3-二氫-異吲哚-2-羧酸苄酯



將在無水四氫呋喃 (50 毫升) 中之 (2,3-二氫-1H-異吲哚-5-基)-甲醇 (1.34 克, 9.0 毫莫耳) 的混合物和緩地加溫以協助溶解, 再令其冷卻至室溫。加入三乙胺 (

1.5 毫升，10.8 毫莫耳）並以氯甲酸苄酯（1.35 毫升，9.5 毫莫耳）一滴滴地處理攪拌之混合物，在室溫攪拌 3 小時。在真空中去除溶劑，並將殘質分佈在醋酸乙酯（30 毫升）和 2M 氫氯酸（30 毫升）之間。以水（30 毫升）清洗有機層，將不同層分開並在真空中去除溶劑，以產生一種粉紅色油，其在靜置時固化。以在庚烷中之 10%醋酸乙酯（10 毫升）碾製該固體，過濾後以庚烷（10 毫升）輕洗之並抽乾，以產生為淡粉紅色固體之標題化合物（2.5 克，98%）。¹H NMR（DMSO-d₆）7.45-7.21（8H，m），5.20（1H，t），5.17（2H，s），4.71（2H，br s），4.64（2H，br s），4.50（2H，d）。MS：[M+H]⁺ 284。

此標題化合物可用於實例 1 步驟 9。

生物學活性

實例 7

等溫滴定量熱法

利用等溫滴定量熱法測定本發明化合物結合人類 Hsp90 蛋白質之能力。

以 VP-ITC 滴定量熱器進行等溫滴定量熱（ITC）實驗（Microcal Inc., Northampton, MA, USA）。根據已發表之方法（Jez, J.M. et al, Chem Biol. 2003 Apr; 10(4): 361-8）進行人類 Hsp90α N-端結構區之選殖、表現及純化。在含有 25mM Tris、100mM NaCl、1 mM MgCl₂、1 mM TCEP、5% DMSO，pH7.4 之緩衝液中製備人類 Hsp90α N-

端結構區之溶液及化合物。所有溶液先過濾及脫氣再進行滴定。自各次注射配體所產生之焓變係透過整合熱量訊號來取得。利用 Origin 7.0 (Microcal Software Inc., Northampton, MA) 分析數據。利用各個別滴定之最後注射估計稀釋之熱量且在數據擬合前減去。使用不同 ITC 實驗格式以取得在一廣範圍之親和力內的化合物之解離常數 (K_d)。在弱結合力之化合物方面，使用低 c -值 ITC 法 (Turnbull W.B. & Daranas A.H. J. Am. Chem. Soc. 2003 Dec 3;125(48):14859-66)，其中存於量熱細胞中之蛋白質為 $10\text{-}20\mu\text{M}$ ，在注射針筒中之化合物濃度為 $1\text{-}20\text{mM}$ 。在這類實驗中，數據擬合之化學計量學參數 (N) 係鎖定為 1。對 K_d 值在 $20\text{-}0.004\mu\text{M}$ 範圍中者，設定實驗，以使結合部位濃度除以 K_d (c -值) 係介於 5 至 1000。在大部分這些實驗方面，量熱細胞中之蛋白質濃度係在 $4\text{-}100\mu\text{M}$ 之範圍內，在注射針筒中之配體濃度為 $50\text{-}1500\mu\text{M}$ 。在化合物之溶解度有限的少數情況中，將化合物溶液置於量熱細胞中，自注射針筒中以蛋白質滴定之，並將 c -值維持在 5 至 1000。根據 Sigurskjold B.W. Anal Biochem. 2000 Jan 15;277(2):260-6 中之描述，經由在較弱之結合競爭劑的存在下進行滴定，使用競爭性 ITC 實驗來評估 K_d 's $< 4\text{nM}$ 。

化合物 (1) 具有小於 0.1 微莫耳之 K_d 值。

實例 8

抗增殖活性

本發明化合物之抗增殖活性可藉由測量化合物抑制多種細胞株（諸如人類結腸癌細胞株 HCT116）中細胞生長之能力來測定。抑制細胞生長之作用係利用阿爾瑪藍（Alamar Blue）分析（Nociari, M. M, Shalev, A., Benias, P., Russo, C. *Journal of Immunological Methods* 1998, 213, 157-167）測量。此方法係根據存活細胞將刃天青（resazurin）還原成其螢光產物試鹵靈（resorufin）之能力。在各增殖分析方面，將細胞平皿接種在 96 槽盤中並使其恢復 16 小時，再加入抑制劑化合物 72 小時。在培養期結束時加入 10%（體積/體積）阿爾瑪藍，再培養 6 小時，然後在 535nm ex/590nm em 測定螢光產物。在非增殖性細胞分析之情況中，將細胞維持在細胞匯流 96 小時，再加入抑制劑化合物 72 小時。依前述，藉阿爾瑪藍分析測定存活細胞數。細胞株可自 ECACC（歐洲細胞培養集合處）取得。

化合物（1）在對抗 HCT116 細胞株方面具有小於 0.1 微莫耳之 IC₅₀ 值。

（2,4-二羥基-5-異丙基-苯基）-[5-（4-甲基-六氫吡啶-1-基甲基）-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮 L-乳酸鹽之抗增殖活性係由 Oncodesign（法國，Dijon）在分析中對抗 100 種細胞株來測試。對抗各細胞株之 IC₅₀ 值列於下表中且表中之圖形係指奈莫耳濃度。化合物之測試濃度至多為 10,000 奈莫耳。

N°	細胞株	測試化合物之濃度 (奈莫耳)
血液		
1	ARH-77	>10000
2	BV-173	73
3	CCRF-CEM	107
4	CCRF-CEM/VLB	>10000
5	Daudi	136
6	EHEB	>10000
7	HL-60	389
8	HL-60/R10	847
9	K-562	147
10	K-562/基立克	175
11	KCL-22	24
12	KG-1	>10000
13	LAMA-84	1098
14	MC90	93
15	NAMALWA	93
16	OCI-AML2	>10000
17	Raji	881
18	Ramos	46
19	RPMI 8226	10
20	RPMI 8226/Dox40	213
21	SUP-B15	37
22	U-937	104
腦		
23	CGL-1	>10000
24	CGL-3	75
25	CGL-9	161
乳房		
26	CAMA-1	22
27	Evsa-T	168
28	HCC1954	28
29	MCF-7	>10000

30	MCF-7/ras	166
31	MDA-MB-435	122
32	MDA-MB-435S	26
33	ZR-75-1	131
結腸		
34	DLD-1	56
35	HCT 116	38
36	HCT-15	>10000
37	LoVo	51
38	LS 174T	159
結締組織		
39	SW-872	>10000
頭頸		
40	BB30-HNSCC	273
41	BB49-HNSCC	146
42	FaDu	29
43	KB	48
44	KB3	48
45	LB1617-HNSCC	139
46	LB771-HNSCC	391
腎臟		
47	A-498	267
48	BB64-RCC	>10000
49	BB65-RCC	1251
50	Caki-1	>10000
51	LB1047-RCC	58
52	LB996-RCC	158
肝臟		
53	Hep 3B2.1-7	95
54	SK-HEP-1	>10000
肺		
55	A-427	130
56	Calu-1	270
57	Calu-3	>10000
58	Calu-6	32

59	LB11-SCLC/OC1	17
60	LB12-SCLC/OC2	52
61	LB13-SCLC/OC3	21
62	LB37-NSCLC	63
63	LB61-NSCLC	>10000
64	NCI-H1299	587
65	NCI-H460	118
66	NCI-H520	98
67	NCI-H596	84
68	NCI-H69	162
69	NCI-H82	>10000
70	SK-MES-1	270
卵巢		
71	Caov-3	94
72	IGROV-1	109
73	IGROV-1/CDDP	147
74	NIH : OVCAR-3	45
75	NIH : OVCAR-3/CPT20	>10000
76	PA-1	>10000
胰臟		
77	BxPC-3	196
78	Capan-2	144
79	PANC-1	327
前列腺		
80	DU 145	85
81	LNCaP-FGC	78
皮膚		
82	A-375	1481
83	A-375-SM	340
84	A-431	3799
85	BB74-MEL	162
86	CMEL-5	130
87	Hs 294T	219
88	LB1319-MEL	35
89	Malme-3M	157

90	SK-MEL-2	138
91	SK-MEL-5	185
92	UZG4-MEL	180
胃		
93	AGS	66
94	Hs 746T	34
95	KATO III	162
甲狀腺		
96	FTC-238	26
膀胱		
97	J82	20
98	LB831-BLC	83
99	LB831-BLC	149
100	T24	852

結果證明 (2,4-二羥基-5-異丙基-苯基) -[5- (4-甲基-六氫吡咩-1-基甲基) -1,3-二氫-異吡啶-2-基]-甲酮 L-乳酸鹽對廣範圍之不同細胞株具強力抗增殖活性。

藥學調和物

實例 9

(i) 錠劑調和物

將 50 毫克式 (1) 或式 (2) 化合物與 197 毫克作為稀釋劑之乳糖 (BP) 及 3 毫克作為潤滑劑之硬脂酸鎂混合，再以已知方法壓製形成錠劑以製備包含該式 (1) 或式 (2) 化合物之錠劑組成物。

(ii) 膠囊調和物

將 100 毫克式 (1) 或式 (2) 化合物與 100 毫克乳糖

混合，再將所產生之混合物填入標準之不透明硬凝膠膠囊中，以製備膠囊組成調和物。

(iii) 注射調和物 I

將式 (1) 或式 (2) 化合物 (如：為鹽型) 溶解在含有 10% 丙二醇之水中，以產生濃度為 1.5 重量 % 之活性化合物。然後，將溶液藉由過濾滅菌，填入安瓿中並密封之，以製備用於藉注射投服之非經腸胃道組成物。

(iv) 注射調和物 II

將式 (1) (如：為鹽型) 或式 (2) 化合物 (2 毫克/毫升) 及甘露醇 (50 毫克/毫升) 溶解在水中，將溶液藉由過濾滅菌並填入可密封之 1 毫升小玻璃瓶或安瓿中，以製備用於注射之非經腸胃道組成物。

(v) 注射調和物 III

將式 (1) (如：為鹽型) 或式 (2) 化合物以 20 毫克/毫升溶解在水中，以製備用於藉注射或注入來 i.v. 遞送之調和物。然後，將小玻璃瓶密封並藉熱壓消毒來滅菌。

(vi) 注射調和物 IV

將式 (1) (如：為鹽型) 或式 (2) 化合物以 20 毫克/毫升溶解在含有緩衝劑 (如：0.2M 醋酸鹽，pH4.6) 之水中，以製備用於藉注射或注入來 i.v. 遞送之調和物。然後，將小玻璃瓶密封並熱壓消毒來滅菌。

(vii) 皮下注射調和物

將式 (1) 或式 (2) 化合物與製藥級玉米油混合，使濃度為 5 毫克/毫升，以製備用於皮下投服之組成物。將

組成物滅菌並填入合適的容器中。

(viii) 經凍乾之調和物

將一份份經過調製之式(1)或式(2)化合物置入50毫升小玻璃瓶中並凍乾之。凍乾期間，利用單一步驟之冷凍議定計劃冷凍組成物(在 -45°C)。將溫度升高至 -10°C ，以進行燒鍊，再降至 -45°C 冷凍，然後在 $+25^{\circ}\text{C}$ 進行初次乾燥約3400分鐘，若溫度達 50°C 再增加步驟進行第二次乾燥。第一和二次乾燥期間之壓力係設在80毫托。

(ix) 2%局部凝膠調和物

	%重量/重量
化合物	2.00
羥丙基甲基纖維素(美多秀(Methocel) F4M)	2.50
聚氧化乙烯(Polyox WSR-205)	0.25
丙二醇	10.00
對羥基過苯甲酸甲酯	0.15
對羥基過苯甲酸丙酯	0.05
加純水至	100.00

實例 10

結晶構造之研究

式(1)化合物及其鹽類係以多種不同結晶型存在。這些已利用下述方法鑑定並決定其特徵。

一般方法

單一結晶繞射方法學

在室溫（20℃）下，利用來自配備有 φ 測角儀及 ADSC Quantum 315 CCD 偵測器之 ESRF ID23.1 光束線的同步輻射（synchrotron radiation）（ $\lambda=0.775\text{\AA}$ ）收集晶體結構數據。影像係在二次 φ 掃描（ $\varphi=0-180^\circ$ 及 $\Delta\varphi=1^\circ$ ）中收集，一次以高放射劑量，一次以低劑量。偵測器至結晶距離為 110 毫米。以 ProDC 軟體控制數據收集並藉 Dtrek 處理及繪製影像。

利用提供於 SHELXS-97 中之直接方法解析結晶構造，再藉 SHELXL-97 修飾。根據幾何觀點產生氫原子，但藉由檢查 Fo-Fc 差值圖來確認結合氫原子之雜原子的位置。建構氫原子之位置及熱力學參數以套用在對應之非氫原子上。藉異向性熱因子製作非氫原子之熱運動模型。

粉末繞射方法學

以大理石研鉢緩緩研磨用於收集 X-光粉末繞射（XRPD）數據之樣本並裝填在晶體學用毛細管（來自 Hampton 研究室，石英或玻璃第 10 型，0.4 或 0.7 毫米直徑）。利用來自 Rigaku 旋轉陽極 RU3HR 之 $\text{CuK}\alpha$ 輻射（ $\lambda=1.5418\text{\AA}$ ），Osmic blue 共焦光學器，1/4 c 測角儀及 Rigaku HTC 影像板偵測器在室溫收集繞射樣式。當旋轉 φ 軸時，以偵測器至結晶距離為 250 毫米來收集 2D 影像

。藉 CrystalClear 軟體控制數據收集並藉 Datasqueeze (在 0.02° 步驟中, 2θ 範圍在 $3-30^\circ$ 方面, 將方位角 $0 < X < 360^\circ$ 內之強度平均), 將 2D 影像轉化成 1D 繪圖 (2θ 對強度)。使用入門程式 AstexXRPD 來操作及目視檢查 1D XRPD 樣式。

藉滴定實驗進行之鹽化學計量學測定

在下列實例中, 當其係關於鹽類且給予鹽之化學計量學時, 則該化學計量學係利用下列滴定方法測定。

新鮮製備用於各批滴定實驗之 150mM KCl 與 20 mM HCl 之溶液 (KCl/HCl 溶液)。滴定一份 1 毫升之溶液, 並使用由此產生之電位學滴定曲線作為對照曲線。所有滴定係在 25°C 下, 利用 Mettler Toledo MP220 pH 計, 以 300 mM KOH 在 2 微升步驟中進行。在每日測量組之前和後記錄 4 種標準緩衝劑之電極電位讀數。將 (1-3 毫克) 之化合物 (1) 鹽類的樣本溶解在 1 毫升之 KCl/HCl 溶液中, 一邊利用小磁棒劇烈攪拌一邊滴定。利用來自 4 種標準緩衝劑之校正曲線將記錄之電極電位轉換成 pH 值。處理樣本及對照組滴定數據來產生在 pH2-12 範圍內之 Bjerrum 繪圖。Bjerrum 繪圖之計算和分析方法描述於 “Physicochemical Profiling (Solubility, Permeability and Charge State)”, A. Avdeef (Current Topics in Medicinal Chemistry 2001, p277-351) 之回顧中。

化合物 (1) 鹽類之化學計量學係從起始 nH (pH=2

之質子數）演繹出（即，游離鹼從 -2 質子開始，單鹽從 -1 質子開始（化合物（1）⁺酸⁻）），但複鹽（化合物（1）²⁺酸²⁻或化合物（1）²⁺2*酸⁻）從 nH=0 開始。

10A. 游離鹼鹽型

（A-i） 游離鹼結晶型 FB1

在室溫製備在 1-丁醇中之化合物（1）的飽和溶液。以約 4x 體積之二（異丙基）醚慢慢形成沈澱，以產生結晶型 FB1。該新鮮樣本之 XRPD 分析產生顯示於第 1 圖中之樣式，且主要之峰列於下列表 1 中。風乾 3 天後取得新 XRPD 樣式，其顯示出結晶型 FB1 已完全轉化成結晶型 FB3。

表 1. 化合物（1）FB1 型之主要 XRPD 峰

2θ/°	d/Å	I/%
5.52	15.99	100
9.44	9.36	5
11.05	8.00	6
11.99	7.38	4
15.21	5.82	16
16.11	5.50	16
16.72	5.30	11
17.09	5.18	8
18.21	4.87	19
19.23	4.61	6
19.73	4.50	9
20.29	4.37	16
21.09	4.21	5
26.72	3.33	3

(A-ii) 游離鹼結晶型 FB2

在室溫製備在 THF 中之化合物 (1) 的飽和溶液。以約 4x 體積之醋酸異丙酯慢慢形成沈澱，以產生結晶型 FB2。該 FB2 型新鮮樣本之 XRPD 樣式顯示於第 2 圖中，且 XRPD 樣式中之主要的峰列於下列表 2 中。將樣本風乾 3 天後取得新 XRPD 樣式：此證明結晶型 FB2 已改變成結晶型 FB3。

表 2. 化合物 (1) 結晶型 FB2 之主要 XRPD 峰

2 θ /°	d/Å	I/%
5.35	16.49	100
6.73	13.13	2
10.40	8.50	3
10.67	8.28	4
14.68	6.03	13
17.00	5.24	11
18.26	4.85	8
18.61	4.76	10
18.87	4.70	8
19.24	4.61	7
19.86	4.47	18
20.15	4.40	16
21.13	4.20	9
21.44	4.14	7
26.86	3.32	3

(A-iii) 游離鹼結晶型 FB3

依上述自 FB1 及 FB2 型取得 FB3 型或藉由蒸發游離

鹼之溶液來取得 FB3 型。結晶型 FB3 之 XRPD 樣式顯示於第 3 圖中，且主要的峰列於下列表 3 中。結晶型 FB3 被發現可在空氣中及 40℃和 75%RH 中保持穩定至少一個月。

表 3. 化合物 (1) 結晶型 FB3 之主要 XRPD 峰

2 θ /°	d/Å	I/%
6.05	14.59	100
7.87	11.22	9
9.15	9.66	7
10.22	8.65	3
12.15	7.28	11
13.60	6.50	14
15.77	5.62	17
16.62	5.33	4
17.16	5.16	7
17.82	4.97	11
18.89	4.69	22
19.64	4.52	12
20.20	4.39	21
20.93	4.24	10
22.19	4.00	5
23.33	3.81	6
24.53	3.63	5

(A-iv) 游離鹼結晶型 FB4

在化合物 (1) 之乙醇溶液的沈澱實驗中觀察結晶型 FB4。單晶 X-光分析顯示出該結晶型為二水合物。在室溫中製備在乙醇中之化合物 (1) 的飽和溶液。以約 4x 體積之異丙醚慢慢形成沈澱，以產生結晶型 FB4，其被發現可

在空氣中保持穩定。該 FB4 型之 XRPD 樣式顯示於第 4 圖中，且主要的峰列於下列表 4 中。晶體堆積圖（Crystal packing diagram）及原子座標在第 5 圖及表 5 中。

表 4. 化合物（1）結晶型 FB4 之主要 XRPD 峰

2 θ /°	d/Å	I/%
6.29	14.04	100
8.91	9.92	12
9.96	8.87	14
12.62	7.01	4
14.11	6.27	16
16.11	5.50	14
17.11	5.18	10
17.40	5.09	5
17.88	4.96	8
18.48	4.80	17
19.33	4.59	4
19.91	4.46	10
20.35	4.36	8
21.57	4.12	23
22.46	3.95	13
23.59	3.77	14
24.88	3.58	17
27.25	3.27	9

表 5. 化合物 (1) 結晶型 FB4 之結晶構造的單位晶格參數及 cif 格式之座標

空間群：P42/n

293K 單位晶格，a，b 及 c 具 5% s.u.：

$$a=b=28.2$$

$$c=6.0$$

$$\alpha=\beta=\gamma=90$$

cif 格式中之座標：

環_

_原子_部位_標示

_原子_部位_類型_符號

_原子_部位_部分_x

_原子_部位_部分_y

_原子_部位_部分_z

_原子_部位_U_相同_或_相等

_原子_部位_adp_類型

_原子_部位_佔據

_原子_部位_對稱_多樣性

_原子_部位_計算_旗

_原子_部位_修飾_旗

_原子_部位_亂位_組合

_原子_部位_亂位_群

C1 C 0.60531(14) 0.59657(13) 0.3978(7) 0.0816(11) Uani 1 1 d . . .
 H1A H 0.6390 0.5959 0.3641 0.098 Uiso 1 1 calc . . .
 H1B H 0.6000 0.6175 0.5237 0.098 Uiso 1 1 calc . . .
 N2 N 0.58709(11) 0.54841(11) 0.4433(6) 0.0845(10) Uani 1 1 d . . .
 C3 C 0.55080(14) 0.53422(15) 0.2788(8) 0.0924(13) Uani 1 1 d . . .
 H3A H 0.5207 0.5275 0.3505 0.111 Uiso 1 1 calc . . .
 H3B H 0.5608 0.5065 0.1955 0.111 Uiso 1 1 calc . . .
 C4 C 0.54727(14) 0.57663(14) 0.1322(7) 0.0838(11) Uani 1 1 d . . .
 C5 C 0.57724(14) 0.61201(14) 0.2011(7) 0.0801(11) Uani 1 1 d . . .
 C6 C 0.51860(15) 0.58333(16) -0.0535(8) 0.0921(13) Uani 1 1 d . . .
 H6 H 0.4985 0.5592 -0.1007 0.111 Uiso 1 1 calc . . .
 C7 C 0.52000(15) 0.62568(18) -0.1672(8) 0.0926(13) Uani 1 1 d . . .
 C8 C 0.54951(17) 0.66174(16) -0.0895(8) 0.0966(13) Uani 1 1 d . . .
 H8 H 0.5497 0.6908 -0.1625 0.116 Uiso 1 1 calc . . .
 C9 C 0.57843(16) 0.65525(16) 0.0930(8) 0.0935(13) Uani 1 1 d . . .
 H9 H 0.5983 0.6794 0.1423 0.112 Uiso 1 1 calc . . .
 C10 C 0.49149(17) 0.63467(19) -0.3746(8) 0.1025(14) Uani 1 1 d . . .
 H10A H 0.5120 0.6491 -0.4853 0.123 Uiso 1 1 calc . . .
 H10B H 0.4808 0.6045 -0.4336 0.123 Uiso 1 1 calc . . .
 N11 N 0.44995(12) 0.66545(12) -0.3408(6) 0.0847(10) Uani 1 1 d . . .
 C12 C 0.41355(16) 0.64016(16) -0.2169(7) 0.0928(12) Uani 1 1 d . . .
 H12A H 0.4257 0.6319 -0.0708 0.111 Uiso 1 1 calc . . .
 H12B H 0.4056 0.6110 -0.2941 0.111 Uiso 1 1 calc . . .
 C13 C 0.36951(16) 0.67000(18) -0.1912(8) 0.1005(14) Uani 1 1 d . . .
 H13A H 0.3458 0.6524 -0.1081 0.121 Uiso 1 1 calc . . .
 H13B H 0.3771 0.6985 -0.1080 0.121 Uiso 1 1 calc . . .
 N14 N 0.35044(13) 0.68296(14) -0.4066(6) 0.0961(11) Uani 1 1 d . . .
 C15 C 0.38701(19) 0.70846(17) -0.5299(7) 0.1001(14) Uani 1 1 d . . .
 H15A H 0.3953 0.7373 -0.4509 0.120 Uiso 1 1 calc . . .
 H15B H 0.3749 0.7173 -0.6753 0.120 Uiso 1 1 calc . . .
 C16 C 0.43006(17) 0.67828(18) -0.5565(7) 0.0987(14) Uani 1 1 d . . .
 H16A H 0.4218 0.6497 -0.6376 0.118 Uiso 1 1 calc . . .
 H16B H 0.4537 0.6954 -0.6425 0.118 Uiso 1 1 calc . . .
 C17 C 0.3076(2) 0.7126(2) -0.3808(11) 0.137(2) Uani 1 1 d . . .
 H17A H 0.2836 0.6950 -0.3029 0.206 Uiso 1 1 calc . . .
 H17B H 0.2959 0.7215 -0.5250 0.206 Uiso 1 1 calc . . .
 H17C H 0.3154 0.7407 -0.2978 0.206 Uiso 1 1 calc . . .
 C18 C 0.59855(15) 0.51789(15) 0.6047(8) 0.0896(12) Uani 1 1 d . . .
 O19 O 0.57503(11) 0.47935(11) 0.6072(6) 0.1109(11) Uani 1 1 d . . .
 C20 C 0.63596(13) 0.52545(13) 0.7750(7) 0.0818(11) Uani 1 1 d . . .
 C21 C 0.64335(16) 0.48917(15) 0.9312(8) 0.0920(13) Uani 1 1 d . . .
 C22 C 0.67703(18) 0.49413(16) 1.0959(8) 0.0986(14) Uani 1 1 d . . .
 H22 H 0.6811 0.4701 1.2002 0.118 Uiso 1 1 calc . . .
 C23 C 0.70497(16) 0.53453(15) 1.1082(8) 0.0907(12) Uani 1 1 d . . .
 C24 C 0.70021(15) 0.57066(15) 0.9542(8) 0.0877(12) Uani 1 1 d . B .
 C25 C 0.66614(15) 0.56535(14) 0.7956(8) 0.0889(12) Uani 1 1 d . . .
 H25 H 0.6624 0.5898 0.6929 0.107 Uiso 1 1 calc . . .
 O26 O 0.61807(14) 0.44835(11) 0.9277(7) 0.1192(12) Uani 1 1 d . . .
 H26 H 0.5962 0.4508 0.8383 0.179 Uiso 1 1 calc R . .
 O27 O 0.73840(13) 0.53982(12) 1.2687(6) 0.1135(11) Uani 1 1 d . . .
 H27 H 0.7403 0.5153 1.3418 0.170 Uiso 1 1 calc R . .
 C28 C 0.73311(18) 0.61386(17) 0.9614(10) 0.1084(16) Uani 1 1 d . . .
 H28 H 0.7646 0.6017 1.0009 0.130 Uiso 1 1 calc . A 1
 C29 C 0.7389(2) 0.6388(2) 0.7301(12) 0.107(3) Uani 0.775(12) 1 d P B 1
 H29A H 0.7600 0.6654 0.7448 0.160 Uiso 0.78 1 calc P B 1
 H29B H 0.7085 0.6497 0.6790 0.160 Uiso 0.78 1 calc P B 1
 H29C H 0.7518 0.6167 0.6246 0.160 Uiso 0.78 1 calc P B 1
 C30 C 0.7207(3) 0.6487(3) 1.1347(14) 0.120(3) Uani 0.775(12) 1 d P B 1
 H30A H 0.7434 0.6741 1.1332 0.180 Uiso 0.78 1 calc P B 1
 H30B H 0.7211 0.6336 1.2778 0.180 Uiso 0.78 1 calc P B 1
 H30C H 0.6896 0.6612 1.1060 0.180 Uiso 0.78 1 calc P B 1
 C29 C 0.6972(10) 0.6587(7) 0.927(11) 0.22(3) Uani 0.225(12) 1 d P B 2
 C30 C 0.7740(7) 0.6111(12) 0.913(5) 0.147(13) Uani 0.225(12) 1 d P B 2
 O1W O 0.75198(14) 0.46640(15) 1.5369(7) 0.1195(12) Uani 1 1 d D . .
 H1W1 H 0.7317(14) 0.4461(18) 1.565(11) 0.16(3) Uiso 1 1 d D . .
 H2W1 H 0.7750 0.4600 1.6200 0.220 Uiso 1 1 d D . .

O2W O 0.31342(14) 0.60501(17) 0.3540(9) 0.1423(15) Uani 1 1 d D . .
H1W2 H 0.337(2) 0.595(3) 0.285(14) 0.220 Uiso 1 1 d D . .
H2W2 H 0.324(3) 0.629(2) 0.424(13) 0.220 Uiso 1 1 d D . .

(A - v) 游 離 鹼 結 晶 型 FB5

FB5 型 為 一 種 不 穩 定 之 形 式 ， 其 僅 能 在 涉 及 化 合 物 （ 1 ） 之 異 丙 醇 溶 液 的 結 晶 化 實 驗 中 觀 察 到 。 FB5 型 在 空 氣 中 轉 形 為 FB6 型 。 不 欲 受 限 於 任 何 學 說 ， 咸 信 ， FB5 為 一 種 異 丙 醇 溶 劑 化 物 。

在 室 溫 中 製 備 在 異 丙 醇 中 之 化 合 物 （ 1 ） 的 飽 和 溶 液 ， 再 以 約 4x 體 積 之 醋 酸 異 丙 酯 慢 慢 形 成 沈 澱 ， 以 形 成 FB5 型 。 該 新 鮮 樣 本 之 XRPD 樣 式 顯 示 於 第 6 圖 中 ， 且 主 要 之 峰 列 於 下 列 表 6 中 。 將 FB5 之 樣 本 風 乾 2 天 後 ， XRPD 分 析 顯 示 出 其 轉 化 成 FB6 型 。

表 6. 化 合 物 （ 1 ） FB5 之 主 要 XRPD 峰

2θ/°	d/Å	I/%
7.12	12.41	100
9.71	9.10	14
10.14	8.72	17
11.50	7.69	4
13.73	6.45	16
14.60	6.06	5
15.34	5.77	4
16.58	5.34	21
16.94	5.23	6
18.71	4.74	32
19.46	4.56	48
20.15	4.40	13
21.97	4.04	6
22.35	3.97	14
23.43	3.79	9
26.36	3.38	8

(A-vi) 游離鹼結晶型 FB6

FB6 型被觀察到僅為 FB5 型老化之產物。FB6 型在空氣中可保持穩定。經由令 FB5 型在空氣中乾燥 2 天所製出之 FB6 型樣本的 XRPD 樣式顯示於第 7 圖中。主要之峰列於下列表 7 中。

表 7. 化合物 (1) FB6 型之主要 XRPD 峰

2 θ /°	d/Å	I/%
4.60	19.21	4
9.09	9.72	14
9.68	9.13	25
16.08	5.51	25
16.46	5.38	28
16.94	5.23	14
18.13	4.89	23
18.66	4.75	100
20.05	4.42	31
22.48	3.95	10
26.53	3.36	9

10B. 化合物 (1) 氫氨酸鹽 1 : 2 鹽結晶型

(B-i) 化合物 (1) 氫氨酸鹽 -FH1 型

將 EtOAc/HCl 加入 (2,4-二羥基-5-異丙基-苯基) -[5- (4-甲基-六氫吡啶-1-基甲基) -1,3-二氫-異吡啶-2-基]-甲酮中，再加入甲醇，直到形成溶液。將溶劑蒸發並先以甲苯、再以甲醇再蒸發之，直到乾燥，以產生為二氫氨酸鹽形式之 (2,4-二羥基-5-異丙基-苯基) -[5- (4-甲基-六氫吡啶-1-基甲基) -1,3-二氫-異吡啶-2-基]-甲酮。此型

非常吸濕，且溶解在空氣濕氣中。XRPD 樣式顯示於第 8 圖中且主要之峰列於下列表 8 中。

表 8. 化合物 (1) 氫氨酸鹽型 -FH1 之主要 XRPD 峰

$2\theta/^\circ$	$d/\text{\AA}$	I/%
5.59	15.79	16
7.34	12.04	100
7.99	11.05	19
10.33	8.56	11
11.70	7.56	3
13.95	6.34	4
14.32	6.18	10
14.72	6.01	4
15.29	5.79	11
16.37	5.41	4
16.82	5.27	8
18.59	4.77	10
19.99	4.44	3
20.40	4.35	4
20.82	4.26	2
21.26	4.18	4
22.57	3.94	3
23.01	3.86	1
24.60	3.62	6
25.32	3.51	20
25.82	3.45	6
27.10	3.29	4
28.27	3.15	7
28.78	3.10	7

(B-ii) 化合物 (1) 氫氨酸鹽 -FH2 型

以 FH1 型之 DMSO 或 DMF 溶液在沈澱實驗中觀察

FH2 型。此型在空氣中轉形成 FH3 型。在室溫中製備在 DMF 中之 FH1 型 (Bi) 的飽和溶液。以約 4x 體積之丙酮慢慢形成沈澱，以產生 FH2 型。該 FH2 型新鮮樣本之 XRPD 樣式顯示於第 9 圖中，且 XRPD 樣式中之主要的峰列於下列表 9 中。將 FH2 型樣本風乾 2 天，然後，XRPD 分析顯示出其已轉化成 FH3 型。

表 9. 化合物 (1) 氫氨酸鹽 FH2 型之主要 XRPD 峰

2 θ /°	d/Å	I/%
3.40	25.99	100
6.04	14.62	3
6.81	12.97	81
9.03	9.78	29
11.84	7.47	20
13.01	6.80	3
13.69	6.46	4
15.70	5.64	10
16.10	5.50	31
16.59	5.34	8
17.17	5.16	4
18.13	4.89	14
20.84	4.26	23
21.39	4.15	6
21.87	4.06	8
23.19	3.83	13
23.94	3.71	14
24.78	3.59	6
25.65	3.47	18
25.97	3.43	6
26.94	3.31	5
27.59	3.23	3
28.06	3.18	5
29.53	3.02	6

(B-iii) 化合物 (1) 氫氨酸鹽 -FH3 型

以 FH1 型之乙醇或異丙醇溶液在沈澱實驗中及 FH2 型之降解中觀察 FH3 型。FH3 型在空氣中及 40℃ 和 75%RH 中可保持穩定至少一個月。FH3 型之製備方法描述於上述實例 3 中。FH3 型之 XRPD 樣式顯示於第 10 圖中，且主要之峰列於下列表 10 中。

表 10. 化合物 (1) 氫氨酸鹽 FH3 型之主要 XRPD 峰

2 θ /°	d/Å	I/%
5.83	15.15	5
9.35	9.45	100
10.40	8.50	89
10.78	8.20	19
11.35	7.79	11
11.71	7.55	16
12.51	7.07	48
13.35	6.63	10
13.81	6.41	17
14.10	6.27	5
14.78	5.99	42
17.18	5.16	8
17.65	5.02	9
18.74	4.73	51
19.09	4.65	35
19.46	4.56	13
20.11	4.41	8
21.18	4.19	18
21.68	4.10	28
22.32	3.98	76
23.07	3.85	28
23.71	3.75	16
24.86	3.58	96
25.14	3.54	45
26.49	3.36	5
27.03	3.30	8
28.09	3.17	14
28.70	3.11	16
29.02	3.07	29
29.52	3.02	17

(B-iv) 化合物 (1) 氫氨酸鹽 -FH4 型

FH4 型僅在一種沈澱實驗 (DMF/二噁烷) 中觀察到。此型並不穩定且在空氣中崩散。在室溫中製備在 DMF 中之 FH1 型的飽和溶液。以約 4x 體積之 1,4-二噁烷慢慢形成沈澱，以產生 FH4 型。FH4 型新鮮樣本之 XRPD 樣式顯示於第 11 圖中，且主要之峰列於下列表 11 中。該樣本在空氣中會崩散。

表 11. 化合物 (1) 氫氨酸鹽 -FH4 型之主要 XRPD 峰

2 θ /°	d/Å	I/%
7.04	12.55	31
9.89	8.93	10
11.62	7.61	100
12.30	7.19	10
13.27	6.67	8
14.14	6.26	14
15.54	5.70	57
16.06	5.51	17
16.68	5.31	34
17.99	4.93	13
18.54	4.78	26
19.24	4.61	19
20.73	4.28	43
22.26	3.99	28
22.94	3.87	27
23.36	3.81	13
23.77	3.74	35
24.63	3.61	12
25.07	3.55	36
25.72	3.46	8
26.91	3.31	15
27.63	3.23	11

(B-v) 化合物(1) 氫氨酸鹽-FH5 型

FH5 型僅在一種沈澱實驗(甲醇/丙酮)中觀察到。此型並不穩定且在潮溼空氣中會溶解。在室溫中製備在甲醇中之 FH1 型的飽和溶液。以約 4x 體積之丙酮慢慢形成沈澱，以產生 FH5 型。FH5 型新鮮樣本之 XRPD 樣式顯示於第 12 圖中，且主要之峰列於下列表 12 中。該樣本在空氣中會崩散。

表 12. 化合物(1) 氫氨酸鹽-FH5 型之主要 XRPD 峰

2 θ /°	d/Å	I/%
2.32	38.00	100
6.15	14.35	18
11.79	7.50	6
15.79	5.61	5
20.81	4.27	8
22.76	3.90	3
23.76	3.74	5

10C. 化合物(1) L-乳酸鹽 1:1 鹽結晶型

(C-i) 化合物(1) L-乳酸鹽-FL1 型

依上述實例 2 中之描述製備 L-乳酸鹽-FL1 型。

FL1 型可在空氣中及 40℃ 和 75%RH 中保持穩定至少一個月。FL1 型之 XRPD 樣式顯示於第 13 圖中且主要之峰列於下列表 13 中。

表 13. 化合物 (1) 乳酸鹽-FL1 型之主要 XRPD 峰

2 θ /°	d/Å	I/%
6.18	14.30	15
6.53	13.52	50
8.39	10.54	19
11.08	7.98	7
13.10	6.75	85
14.13	6.26	33
14.40	6.15	23
15.21	5.82	4
16.21	5.46	6
16.81	5.27	100
17.22	5.15	45
18.65	4.75	23
19.52	4.54	33
19.82	4.48	34
20.49	4.33	7
20.76	4.27	13
21.13	4.20	17
22.02	4.03	12
22.33	3.98	44
22.84	3.89	40
23.09	3.85	25
23.94	3.71	14
25.19	3.53	7
26.41	3.37	14
26.95	3.31	5
27.81	3.21	14

(C-ii) 化合物 (1) 乳酸鹽-FL2 型

在 FL1 型之甲醇溶液沈澱實驗中觀察 FH2 型。單晶 X-光分析顯示出 FL2 型為水合物。其通常為三水合物，

因爲其中有 3 個結晶水位在該不對稱單位中，但在室溫及實驗室濕度中其並非被 100% 佔據。在室溫中製備在甲醇：水 9：1 中之 FL1 型的飽和溶液。以約 4x 體積之丙酮慢慢形成沈澱，以產生 FL2 型，其被發現可在空氣中保持穩定。FL2 型之 XRPD 樣式顯示於第 14 圖中，且主要之峰列於下列表 14 中。晶體堆積圖顯示於第 15 圖中而原子座標列於下列表 15 中。

表 14. 化合物 (1) 乳酸鹽 FL2 型之主要 XRPD 峰

2 θ /°	d/Å	I/%
8.03	11.00	29
10.71	8.26	53
11.98	7.38	90
13.13	6.74	49
15.39	5.75	29
16.09	5.50	32
16.61	5.33	42
17.26	5.13	37
18.17	4.88	20
18.82	4.71	56
20.40	4.35	40
21.01	4.22	49
21.53	4.12	27
22.34	3.98	100
22.56	3.94	73
23.71	3.75	82
24.30	3.66	8
24.65	3.61	12
26.56	3.35	13
27.70	3.22	21
28.29	3.15	16

表 15. 化合物 (1) 乳酸鹽-FL2 型之結晶構造的單位晶格
參數及 cif 格式座標

空間群：P2₁

293K 單位晶格，a，b 及 c & β 具 5% s.u.：

a=5.8

b=16.6

c=14.9

$\beta=98$

$\alpha=\gamma=90$

cif 格式中之座標：

環_

_原子_部位_標示

_原子_部位_類型_符號

_原子_部位_部分_x

_原子_部位_部分_y

_原子_部位_部分_z

_原子_部位_U_相同_或_相等

_原子_部位_adp_型

_原子_部位_佔據

_原子_部位_對稱_多樣性

_原子_部位_計算_旗

_原子_部位_修飾_旗

_原子_部位_亂位_組合

_原子_部位_亂位_群

```

C1 C -0.643(2) 1.1037(6) 0.6763(7) 0.097(3) Uani 1 1 d . . .
H1A H -0.6995 1.0577 0.6395 0.117 Uiso 1 1 calc . . .
H1B H -0.5231 1.1308 0.6484 0.117 Uiso 1 1 calc . . .
N2 N -0.5563(16) 1.0791(5) 0.7694(6) 0.096(2) Uani 1 1 d . . .
C3 C -0.692(3) 1.1148(8) 0.8352(8) 0.124(4) Uani 1 1 d . . .
H3A H -0.7713 1.0734 0.8651 0.148 Uiso 1 1 calc . . .
H3B H -0.5925 1.1454 0.8805 0.148 Uiso 1 1 calc . . .
C4 C -0.8553(19) 1.1667(7) 0.7825(7) 0.094(3) Uani 1 1 d . . .
C5 C -0.8393(19) 1.1609(6) 0.6900(7) 0.092(3) Uani 1 1 d . . .
C6 C -1.036(3) 1.2141(8) 0.8083(8) 0.110(3) Uani 1 1 d . . .
H6 H -1.0636 1.2139 0.8682 0.132 Uiso 1 1 calc . . .
C7 C -1.172(2) 1.2611(8) 0.7456(8) 0.105(3) Uani 1 1 d . . .
C8 C -1.145(2) 1.2560(8) 0.6564(9) 0.111(3) Uani 1 1 d . . .
H8 H -1.2387 1.2867 0.6138 0.133 Uiso 1 1 calc . . .
C9 C -0.979(2) 1.2053(9) 0.6287(7) 0.109(3) Uani 1 1 d . . .
H9 H -0.9640 1.2017 0.5677 0.130 Uiso 1 1 calc . . .
C10 C -1.3561(18) 1.3173(8) 0.7739(9) 0.106(3) Uani 1 1 d . . .
H10A H -1.4455 1.3402 0.7202 0.127 Uiso 1 1 calc . . .
H10B H -1.4617 1.2864 0.8055 0.127 Uiso 1 1 calc . . .
N11 N -1.2550(14) 1.3836(6) 0.8332(6) 0.096(2) Uani 1 1 d . . .
C12 C -1.1136(17) 1.4353(6) 0.7839(7) 0.091(3) Uani 1 1 d . . .
H12A H -1.2098 1.4591 0.7324 0.109 Uiso 1 1 calc . . .
H12B H -0.9935 1.4035 0.7615 0.109 Uiso 1 1 calc . . .
C13 C -1.0015(17) 1.5021(7) 0.8462(8) 0.100(3) Uani 1 1 d . . .
H13A H -0.8991 1.4783 0.8961 0.121 Uiso 1 1 calc . . .
H13B H -0.9092 1.5368 0.8128 0.121 Uiso 1 1 calc . . .
N14 N -1.1853(15) 1.5509(5) 0.8822(6) 0.094(2) Uani 1 1 d . . .

```

H14 H -1.2741 1.5755 0.8352 0.113 Uiso 1 1 calc . . .
 C15 C -1.3350(18) 1.4966(7) 0.9279(7) 0.095(3) Uani 1 1 d . . .
 H15A H -1.4599 1.5276 0.9479 0.114 Uiso 1 1 calc . . .
 H15B H -1.2441 1.4730 0.9808 0.114 Uiso 1 1 calc . . .
 C16 C -1.4358(17) 1.4308(7) 0.8658(8) 0.098(3) Uani 1 1 d . . .
 H16A H -1.5310 1.3959 0.8977 0.117 Uiso 1 1 calc . . .
 H16B H -1.5346 1.4542 0.8148 0.117 Uiso 1 1 calc . . .
 C17 C -1.068(2) 1.6140(9) 0.9439(9) 0.119(4) Uani 1 1 d . . .
 H17A H -1.1835 1.6447 0.9694 0.178 Uiso 1 1 calc . . .
 H17B H -0.9807 1.6492 0.9103 0.178 Uiso 1 1 calc . . .
 H17C H -0.9658 1.5886 0.9916 0.178 Uiso 1 1 calc . . .
 C18 C -0.382(2) 1.0287(9) 0.7999(8) 0.113(4) Uani 1 1 d . . .
 O19 O -0.345(2) 1.0216(8) 0.8837(6) 0.156(4) Uani 1 1 d . . .
 C20 C -0.228(2) 0.9847(6) 0.7418(7) 0.096(3) Uani 1 1 d . . .
 C21 C -0.069(3) 0.9286(9) 0.7863(9) 0.119(4) Uani 1 1 d . . .
 C22 C 0.064(2) 0.8867(9) 0.7367(9) 0.114(4) Uani 1 1 d . . .
 H22 H 0.1812 0.8547 0.7669 0.137 Uiso 1 1 calc . . .
 C23 C 0.038(2) 0.8879(7) 0.6447(8) 0.097(3) Uani 1 1 d . . .
 C24 C -0.1201(18) 0.9425(7) 0.5972(8) 0.096(3) Uani 1 1 d . B .
 C25 C -0.253(2) 0.9882(7) 0.6463(8) 0.100(3) Uani 1 1 d . . .
 H25 H -0.3632 1.0228 0.6160 0.120 Uiso 1 1 calc . . .
 O26 O -0.036(2) 0.9229(9) 0.8775(6) 0.169(5) Uani 1 1 d . . .
 H26 H -0.1427 0.9456 0.8980 0.253 Uiso 1 1 calc R . . .
 O27 O 0.1658(15) 0.8404(5) 0.5948(6) 0.118(3) Uani 1 1 d . . .
 H27 H 0.2091 0.7999 0.6238 0.176 Uiso 1 1 calc R . . .
 C28 C -0.141(4) 0.9478(11) 0.4948(10) 0.138(6) Uani 1 1 d . . .
 H28 H -0.0894 0.8953 0.4750 0.166 Uiso 1 1 calc . A 1
 C29 C -0.029(11) 1.004(4) 0.449(3) 0.24(3) Uani 0.58(6) 1 d P B 1
 H29A H -0.0741 0.9976 0.3847 0.363 Uiso 0.58 1 calc P B 1
 H29B H 0.1361 0.9972 0.4628 0.363 Uiso 0.58 1 calc P B 1
 H29C H -0.0703 1.0575 0.4662 0.363 Uiso 0.58 1 calc P B 1
 C30 C -0.417(7) 0.950(3) 0.4621(19) 0.159(19) Uani 0.58(6) 1 d P B 1
 H30A H -0.4911 0.9083 0.4918 0.239 Uiso 0.58 1 calc P B 1
 H30B H -0.4462 0.9424 0.3978 0.239 Uiso 0.58 1 calc P B 1
 H30C H -0.4773 1.0016 0.4772 0.239 Uiso 0.58 1 calc P B 1
 C29 C -0.156(11) 1.040(2) 0.465(2) 0.14(2) Uani 0.42(6) 1 d P B 2
 H29D H -0.0071 1.0655 0.4814 0.215 Uiso 0.42 1 calc P B 2
 H29E H -0.2703 1.0675 0.4943 0.215 Uiso 0.42 1 calc P B 2
 H29F H -0.1983 1.0438 0.4003 0.215 Uiso 0.42 1 calc P B 2
 C30 C -0.295(12) 0.897(4) 0.446(2) 0.150(19) Uani 0.42(6) 1 d P B 2
 H30D H -0.3403 0.9185 0.3870 0.224 Uiso 0.42 1 calc P B 2
 H30E H -0.4300 0.8910 0.4766 0.224 Uiso 0.42 1 calc P B 2
 H30F H -0.2234 0.8451 0.4418 0.224 Uiso 0.42 1 calc P B 2
 O1L O -1.5549(12) 1.6174(6) 0.7786(6) 0.124(3) Uani 1 1 d . . .
 O2L O -1.7419(12) 1.7087(6) 0.6890(7) 0.125(3) Uani 1 1 d . . .
 C1L C -1.5569(17) 1.6742(7) 0.7238(8) 0.098(3) Uani 1 1 d . . .
 C2L C -1.3365(17) 1.6989(8) 0.6926(9) 0.108(4) Uani 1 1 d . . .
 H2L H -1.3065 1.7549 0.7117 0.129 Uiso 1 1 calc . . .
 C3L C -1.355(2) 1.6971(12) 0.5917(11) 0.143(5) Uani 1 1 d . . .
 H3L1 H -1.2130 1.7162 0.5734 0.214 Uiso 1 1 calc . . .
 H3L2 H -1.4813 1.7312 0.5662 0.214 Uiso 1 1 calc . . .
 H3L3 H -1.3842 1.6429 0.5706 0.214 Uiso 1 1 calc . . .
 O3L O -1.1538(13) 1.6538(7) 0.7316(8) 0.150(4) Uani 1 1 d . . .
 H3L H -1.0243 1.6711 0.7191 0.224 Uiso 1 1 d . . .
 O1W O -0.448(6) 1.237(6) 1.045(2) 0.45(5) Uani 0.78(6) 1 d P . .
 O2W O 0.021(15) 0.8037(17) 0.9990(19) 0.74(7) Uani 1 1 d . . .
 O3W O -0.35(3) 0.773(9) 0.953(15) 0.77(8) Uani 0.22(6) 1 d P . .

(C-iii) 化合物 (1) L-乳酸鹽 -FL3 型

在 FL1 型之 THF 溶液沈澱實驗中觀察 FL3 型。FL3
 型在空氣中轉形成 FL1 型。在室溫中製備在 THF 中之

(S)

FL1 型的飽和溶液。以約 4x 體積之庚烷慢慢形成沈澱，以產生 FL3 型。FL3 型新鮮樣本之 XRPD 樣式顯示於第 16 圖中，且主要之峰列於下列表 16 中。將 FL3 之樣本風乾 2 天，然後，XRPD 分析顯示出已轉化成 FL1 型。

表 16. 化合物 (1) 乳酸鹽-FL3 型之主要 XRPD 峰

2 θ /°	d/Å	I/%
5.53	15.98	100
8.36	10.56	5
11.07	7.98	41
13.16	6.72	12
13.85	6.39	8
16.69	5.31	39
17.17	5.16	21
18.00	4.92	49
18.49	4.80	11
19.28	4.60	14
19.79	4.48	5
20.34	4.36	7
21.05	4.22	21
21.47	4.14	7
21.93	4.05	4
22.47	3.95	16
22.84	3.89	23
24.56	3.62	4
26.28	3.39	6
27.06	3.29	3
27.47	3.24	3
29.11	3.07	6

10D. 化合物 (1) 硫酸鹽 1 : 1 鹽結晶型

(D-i) 化合物(1) 硫酸鹽-FS1 型

在涉及以乙腈作為沈澱劑之結晶實驗中觀察 FS1 型。其在空氣中不穩定且會轉形成 FS3 型。在室溫中製備在水中之化合物(1)的 1:1 鹽飽和溶液(將化合物(1)溶解在 H_2SO_4 中並蒸發至乾燥)。以約 4x 體積之乙腈慢慢形成沈澱，以產生 FS1 型。FS1 型之 XRPD 樣式顯示於第 17 圖中，且主要的峰列於下列表 17 中。

表 17. 化合物(1) 酸鹽-FS1 型之主要 XRPD 峰

$2\theta/^\circ$	$d/\text{\AA}$	I/%
4.79	18.45	100
10.02	8.82	28
10.68	8.28	3
11.28	7.84	10
12.89	6.86	6
14.38	6.15	34
15.27	5.80	12
16.91	5.24	17
17.64	5.02	7
18.29	4.85	11
18.86	4.70	3
19.28	4.60	4
20.12	4.41	10
20.82	4.26	8
21.21	4.19	3
21.76	4.08	10
22.32	3.98	13
22.89	3.88	7
23.83	3.73	5
24.22	3.67	3
24.42	3.64	3
25.13	3.54	8
29.04	3.07	8

化合物 (1) 硫酸鹽 -FS2 型

FS2 型在空氣中不穩定且會轉形成 FS5 型。若將 FS2 型置於 40℃ 和 75%RH 中，其會轉形成 FS4 型。將化合物 (1) 溶解在 1 莫耳當量之 H_2SO_4 中並以約 4x 體積之乙腈慢慢形成沈澱，再將形成之結晶塊過濾。FS2 型之 XRPD 樣式顯示於第 18 圖中，且主要的峰列於下列表 18 中。

表 18. 化合物 (1) 硫酸鹽 -FS2 型之主要 XRPD 峰

2 θ /°	d/Å	I/%
4.17	21.20	2
7.03	12.57	24
7.43	11.89	100
8.09	10.92	11
8.67	10.19	90
9.27	9.54	17
9.65	9.16	19
10.41	8.49	7
10.98	8.05	6
11.76	7.52	31
12.53	7.06	5
13.84	6.40	26
14.55	6.08	8
15.39	5.75	16
16.24	5.45	4
16.89	5.25	7
17.50	5.06	26
18.05	4.91	17
18.93	4.68	16
19.47	4.56	16
23.20	3.83	24
24.21	3.67	19
25.21	3.53	10
25.75	3.46	14
26.62	3.35	13
27.67	3.22	13

化合物 (1) 硫酸鹽 -FS3 型

FS3 型為一種穩定之形式且為 FS1 型在空氣中老化及 FS6 型在溫暖而潮溼之環境 (40°C, 75%RH) 中轉形後所觀察到之產物。第 19 圖顯示經由令 FS1 型風乾 2 天所製備之 FS3 型樣本之 XRPD 樣式，且主要的峰列於下列表 19 中。

表 19. 化合物 (1) 硫酸鹽 -FS3 型之主要 XRPD 峰

2 θ /°	d/Å	I/%
4.81	18.36	17
5.43	16.25	100
10.30	8.58	48
11.24	7.87	24
12.94	6.84	5
13.98	6.33	7
14.26	6.21	26
14.91	5.94	33
15.62	5.67	12
16.41	5.40	56
17.53	5.05	26
18.38	4.82	28
18.61	4.76	40
19.01	4.66	22
19.38	4.58	10
19.92	4.45	30
20.27	4.38	13
20.71	4.28	6
21.19	4.19	9
21.77	4.08	31
22.67	3.92	20
23.79	3.74	19
24.23	3.67	27
25.36	3.51	21
27.38	3.25	6
28.82	3.09	9

化合物 (1) 硫酸鹽 -FS4 型

FS4 型為一種穩定之形式且僅為 FS2 型在溫暖而潮溼之環境 (40℃, 75%RH) 中轉形所觀察到之產物。第 20 圖中所示者為將 FS2 型在 40℃ 和 75%RH 中培育數週後所製備之 FS4 型樣本之 XRPD 樣式，且主要的峰列於下列表 20 中。

表 20. 化合物 (1) 硫酸鹽 -FS4 型之主要 XRPD 峰

2 θ /°	d/Å	I/%
4.64	19.03	4
7.16	12.34	39
7.48	11.80	100
7.97	11.08	29
8.42	10.49	13
8.82	10.02	34
9.09	9.73	29
9.37	9.43	35
10.45	8.46	30
11.77	7.51	53
13.25	6.68	17
13.54	6.54	16
14.36	6.16	24
15.03	5.89	13
16.21	5.46	21
16.99	5.22	33
17.28	5.13	31
17.59	5.04	30
17.96	4.93	19
18.90	4.69	24
19.43	4.57	10
19.83	4.47	8
21.36	4.16	12
23.13	3.84	31
23.68	3.75	28
23.96	3.71	32
24.77	3.59	18
25.64	3.47	17
26.19	3.40	14
26.73	3.33	13
27.20	3.28	11
27.76	3.21	17
28.64	3.11	9

化合物 (1) 硫酸鹽 -FS5 型

FS5 型為一種穩定之形式且為 FS2 型在空氣中老化及 FS4 型在乾燥環境 (20℃, 11%RH) 中轉形後所觀察到之產物。第 21 圖中所示者為將 FS2 型風乾 2 天所製備之 FS5 型樣本之 XRPD 樣式，且主要的峰列於下列表 21 中。

表 21. 化合物 (1) 硫酸鹽 -FS5 型之主要 XRPD 峰

2 θ /°	d/Å	I/%
4.70	18.80	19
7.11	12.42	56
7.99	11.05	100
9.33	9.47	42
9.57	9.23	29
10.45	8.46	54
11.64	7.60	30
13.27	6.67	62
14.28	6.20	20
14.65	6.04	13
15.12	5.86	14
15.60	5.67	24
16.98	5.22	88
17.65	5.02	22
18.01	4.92	35
18.80	4.72	48
19.32	4.59	17
19.83	4.47	13
21.08	4.21	18
23.21	3.83	39
23.51	3.78	23
23.92	3.72	36
24.30	3.66	19
25.06	3.55	22
26.24	3.39	37
27.28	3.27	13
28.67	3.11	18

化合物 (1) 硫酸鹽 -FS6 型

FS6 型可在多種不同之結晶實驗中於形式篩檢中被鑑定出。其在空氣中穩定，但在溫暖而潮溼之環境（40℃，75%RH）中轉形成 FS3 型。

在室溫中製備在 DMF 中之化合物 (1) 的 1 : 1 硫酸鹽飽和溶液（將化合物 (1) 溶解在 H₂SO₄ 中並蒸發至乾燥）。以約 4x 體積之甲苯慢慢形成沈澱，以產生 FS6 型。FS6 型之 XRPD 樣式顯示於第 22 圖中，且主要的峰列於下列表 22 中。

表 22. 化合物 (1) 硫酸鹽 -FS6 型之主要 XRPD 峰

2θ/°	d/Å	I/%
4.82	18.32	100
9.98	8.86	32
11.35	7.79	9
12.92	6.85	4
14.45	6.13	36
15.38	5.76	17
16.97	5.22	19
17.52	5.06	7
18.18	4.87	15
19.42	4.57	9
20.23	4.39	16
20.93	4.24	13
21.31	4.17	5
21.66	4.10	5
21.89	4.06	7
22.29	3.98	17
22.84	3.89	8
23.04	3.86	6
23.94	3.71	4
24.51	3.63	4
25.26	3.52	9
29.18	3.06	7

實例 11

抗真菌活性之測定方法

利用下列議定計劃測定式 (1) 化合物之抗真菌活性。

將化合物對一小組真菌 (包括近平滑念珠菌 (*Candida parapsilosis*)、熱帶念珠菌、白色念珠菌-ATCC 36082 及新型隱球菌) 進行試驗。將試驗有機體維持在 4°C，塞普洛氏 (Sabourahd) 右旋糖斜面培養上。將酵母菌在帶有胺基酸 (密西根州底特律市 Difco)，含 0.05 嗎啉丙磺酸 (MOPS) 之酵母菌氮基肉湯 (YNB)，pH7.0 中，在旋轉鼓上，於 27°C 生長一整夜，以製備各試驗有機體之單態懸浮液。然後，將懸浮液離心並以 0.85% NaCl 清洗二次，再將清洗之細胞懸浮液超音波震盪處理 4 秒 (Branson Sonifier, 350 型，康乃狄克州 Danbury)。在血球計數器上計算單態芽生孢子並在 0.85% NaCl 中調整為所需濃度。

利用修改之肉湯微量稀釋技術測定試驗化合物之活性。將試驗化合物在 DMSO 中稀釋成 1.0 毫克/毫升比，再在帶有 MOPS (使用呋康那唑 (Fluconazole) 作為對照組) 之 YNB 肉湯，pH7.0 中稀釋成 64 微克/毫升，以提供各化合物之操作溶液。利用 96 槽盤，以 YNB 肉湯製備槽 1 及槽 3-12，在槽 2-11 中製備化合物溶液之十倍稀釋液 (濃度範圍從 64 至 0.125 微克/毫升)。槽 1 係作為無菌對照及分光光度分析之空白樣本。槽 12 係作為生長對照組。

。在微量滴定盤之槽 2 至 11 中各接種 10 微升（最終接種量為 10^4 有機體/毫升）。將接種盤在 35°C 培養 48 小時。以震盪混合器（Vorte-Genie2 混合器，紐約州 Bolemia，科技工業公司）將盤攪動 2 分鐘後，藉分光光度測定法經由測量 420nm 處之吸收來測定 MIC 值（自動微量盤讀計，杜邦儀器，德拉瓦州 Wilmington）。MIC 終點之定義為與對照槽相較下，顯示出減少約 50%（或更多）生長之最低藥物濃度。藉濁度分析，此被定義為槽中濁度 $<50\%$ 對照槽之最低藥物濃度（ IC_{50} ）。自 96 槽盤中將所有槽分種至塞普洛氏右旋糖瓊脂（SAD）盤上，在 35°C 培育 1 至 2 天，再檢查存活力，以測定最小細胞溶解濃度（MCC）。

實例 12

試驗減輕疼痛或預防疼痛活性之方法

（i）發炎性痛覺過敏試驗

機械性痛覺過敏可在發炎性疼痛之老鼠模型中檢查。在未經處理過之動物中，利用痛覺測量計（Ugo Basile, Milan），藉 Randal-Sellito 技術測量對逐漸增加之壓力刺激的腳掌收回閾，再將完全弗洛德（Freund）氏佐劑經由蹠內注射入左後腳掌。24 小時後，給藥前先測量腳掌收回閾，再在投服藥物或載劑後 10 分鐘至 6 小時測量腳掌收回閾。根據下式計算同側腳掌痛覺過敏之逆轉情況：

$$\% \text{逆轉} = \frac{\text{給藥後閾} - \text{給藥前閾}}{\text{未經處理之閾} - \text{給藥前閾}} \times 100$$

(ii) 神經疼痛性痛覺過敏試驗

機械性痛覺過敏可在經由部分接合左側坐骨神經所誘導之神經疼痛性疼痛的老鼠模型中檢查。在手術後約 14 天，給藥前先測量經接合（同側）及未經接合（對側）之腳掌的機械性收回閾，再在投服藥物或載劑後 10 分鐘至 6 小時測量。根據下式計算各時間點之痛覺過敏的逆轉情況：

$$\% \text{逆轉} = \frac{\text{給藥後同側閾} - \text{給藥前同側閾}}{\text{給藥前對側閾} - \text{給藥前同側閾}} \times 100$$

所有實驗係利用每組 6 隻動物進行。將藥物之貯存濃度溶解在蒸餾水中，再在 0.9% 生理食鹽水中製作供皮下投服（投服體積 4 毫升/公斤）之系列稀釋液。在塑膠小瓶中製備所有藥物並將其保持在黑暗中。在 Tukey 氏 HSD 試驗後，藉重複測量，利用 ANOVA 對收回閾讀值（克）進行統計分析。效力係指在使用之劑量所觀察到之最大痛覺過敏逆轉。

(iii) 在骨癌疼痛之老鼠模型中測試式 (0) 化合物之效果

將 MRMZ-1 老鼠乳腺癌細胞自脛骨內注射（3 微升， 10^7 細胞/毫升）入成年雌鼠中。動物通常係在細胞注射後

12-14 天逐漸發展出機械性痛覺過敏、機械性異處疼痛（皮膚對非有害之刺激的敏感性）及後肢瘦削。自細胞注射日開始，一週投服式（0）化合物（如：投服 10 和 30 微克/公斤 s.c.之劑量）三次，與經載劑處理之對照組相比較以測定抑制後肢瘦削機及機械性異處疼痛的程度。

均等情形

前述實例係用於說明本發明，而不應對本發明之範圍設下任何限制。顯然地，上述及實例中之本發明的特殊較佳體系在不悖離本發明之原則下可有多種修改及變化。所有這類修改及變化均欲包含在本申請案中。

【圖式簡單說明】

第 1 圖顯示本發明化合物結晶型 FB1 之 XRPD 樣式。

第 2 圖顯示本發明化合物結晶型 FB2 之 XRPD 樣式。

第 3 圖顯示本發明化合物結晶型 FB3 之 XRPD 樣式。

第 4 圖顯示本發明化合物結晶型 FB4 之 XRPD 樣式。

第 5 圖顯示本發明化合物結晶型 FB4 之晶體堆積圖

。

第 6 圖顯示本發明化合物結晶型 FB5 之 XRPD 樣式。

第 7 圖顯示本發明化合物結晶型 FB6 之 XRPD 樣式。

第 8 圖顯示本發明化合物結晶型 FH1 之 XRPD 樣式

。

第 9 圖顯示本發明化合物結晶型 FH2 之 XRPD 樣式

。

第 10 圖顯示本發明化合物結晶型 FH3 之 XRPD 樣式

。

第 11 圖顯示本發明化合物結晶型 FH4 之 XRPD 樣式

。

第 12 圖顯示本發明化合物結晶型 FH5 之 XRPD 樣式

。

第 13 圖顯示本發明化合物結晶型 FL1 之 XRPD 樣式

。

第 14 圖顯示本發明化合物結晶型 FL2 之 XRPD 樣式

。

第 15 圖顯示本發明化合物結晶型 FL2 之晶體堆積圖

。

第 16 圖顯示本發明化合物結晶型 FL3 之 XRPD 樣式

。

第 17 圖顯示本發明化合物結晶型 FS1 之 XRPD 樣式

。

第 18 圖顯示本發明化合物結晶型 FS2 之 XRPD 樣式

。

第 19 圖顯示本發明化合物結晶型 FS3 之 XRPD 樣式

。

第 20 圖顯示本發明化合物結晶型 FS4 之 XRPD 樣式

。

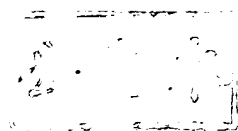
第 21 圖顯示本發明化合物結晶型 FS5 之 XRPD 樣式

。

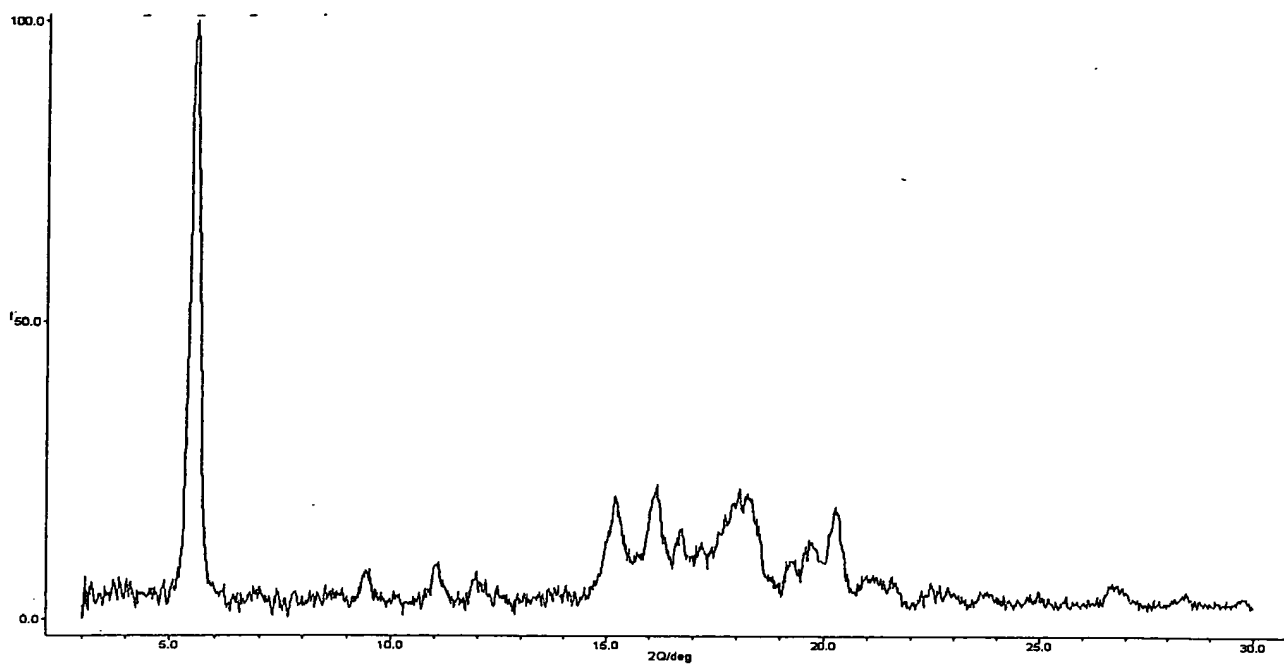
第 22 圖顯示本發明化合物結晶型 FS6 之 XRPD 樣式

。

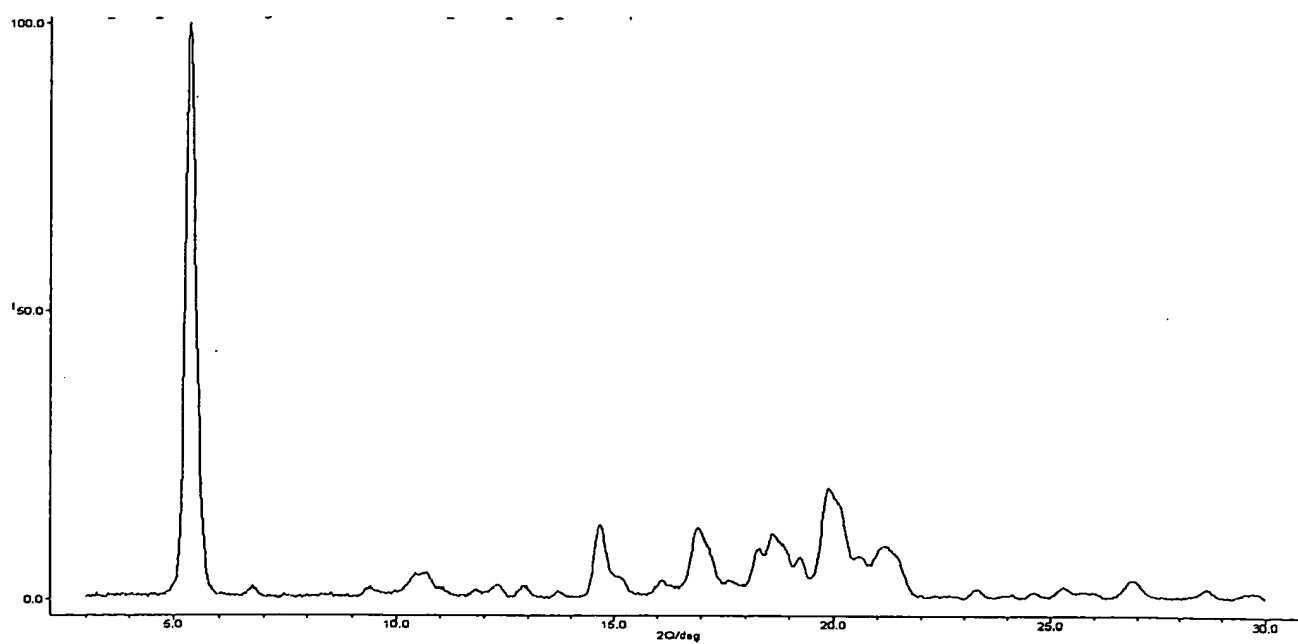
.



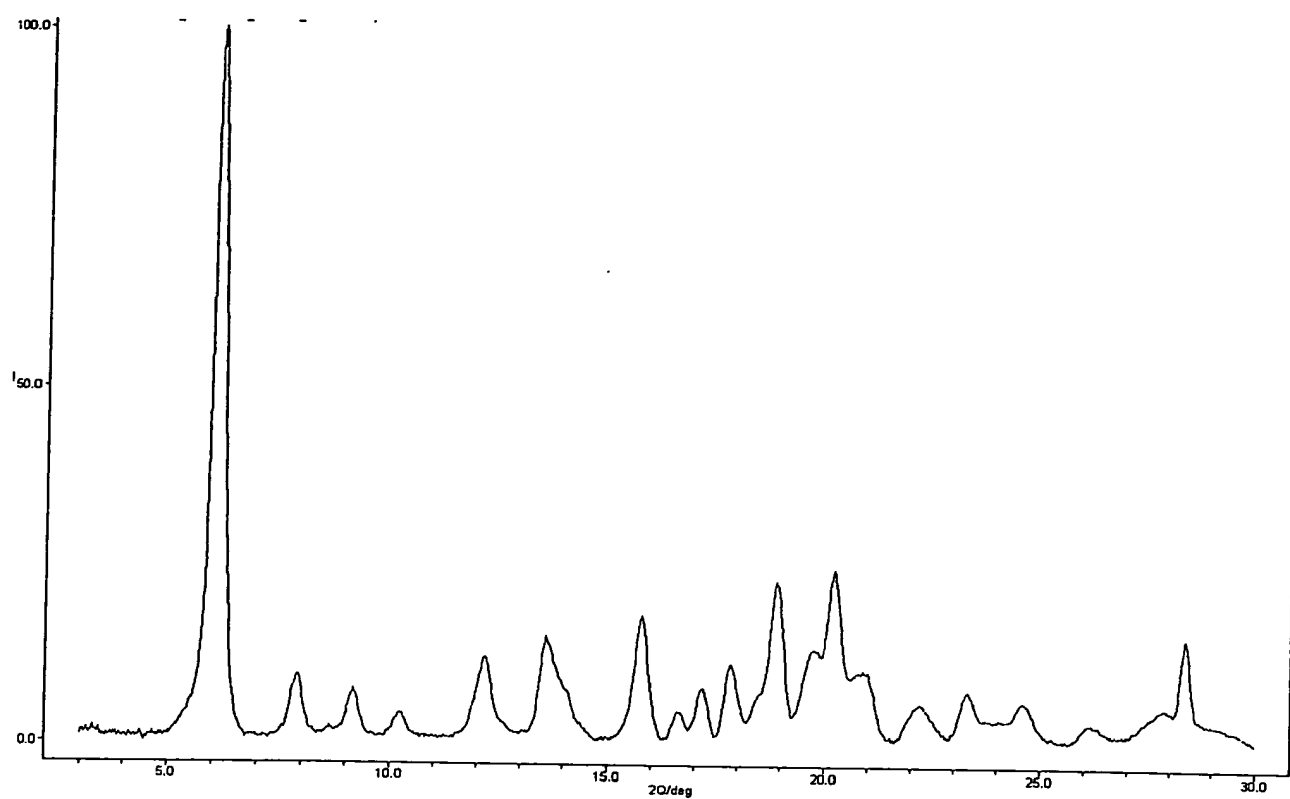
853594



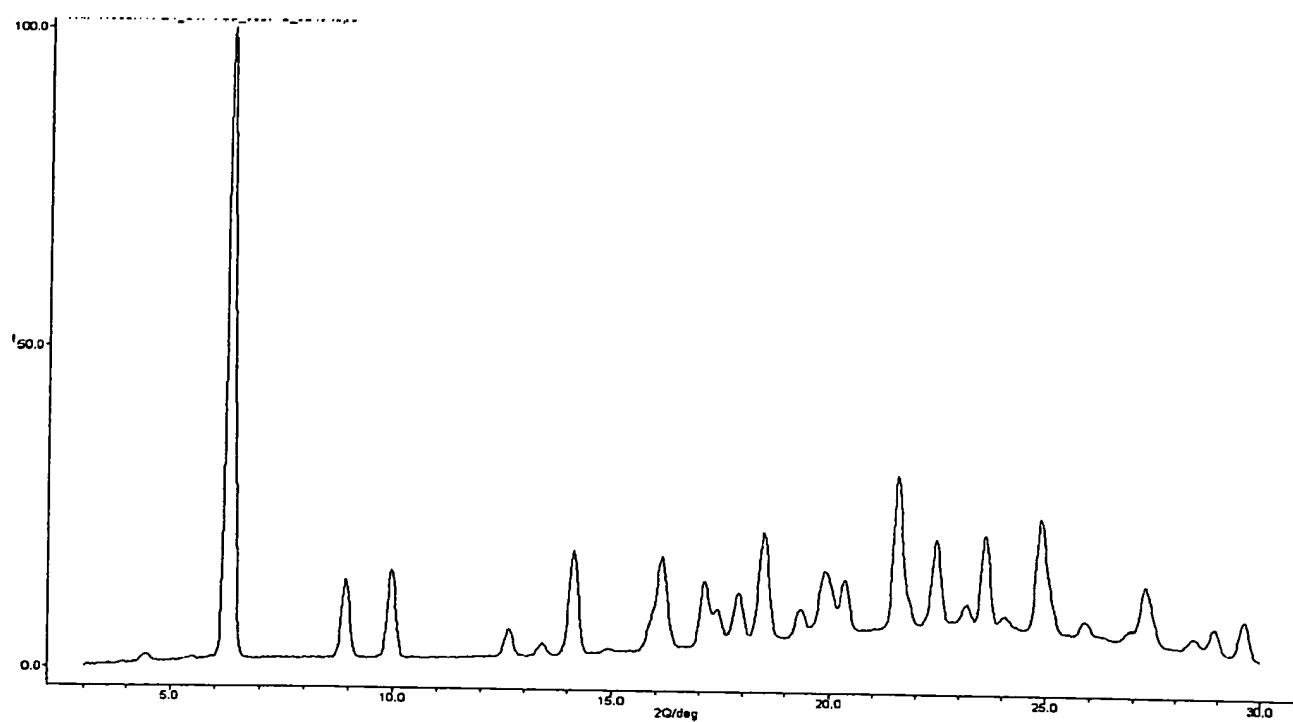
第1圖



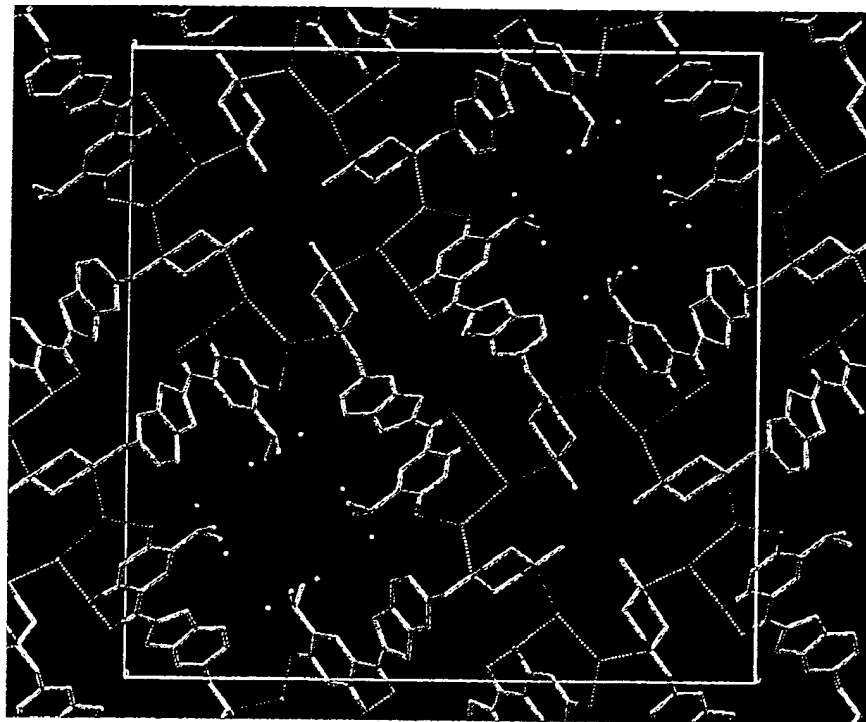
第2圖



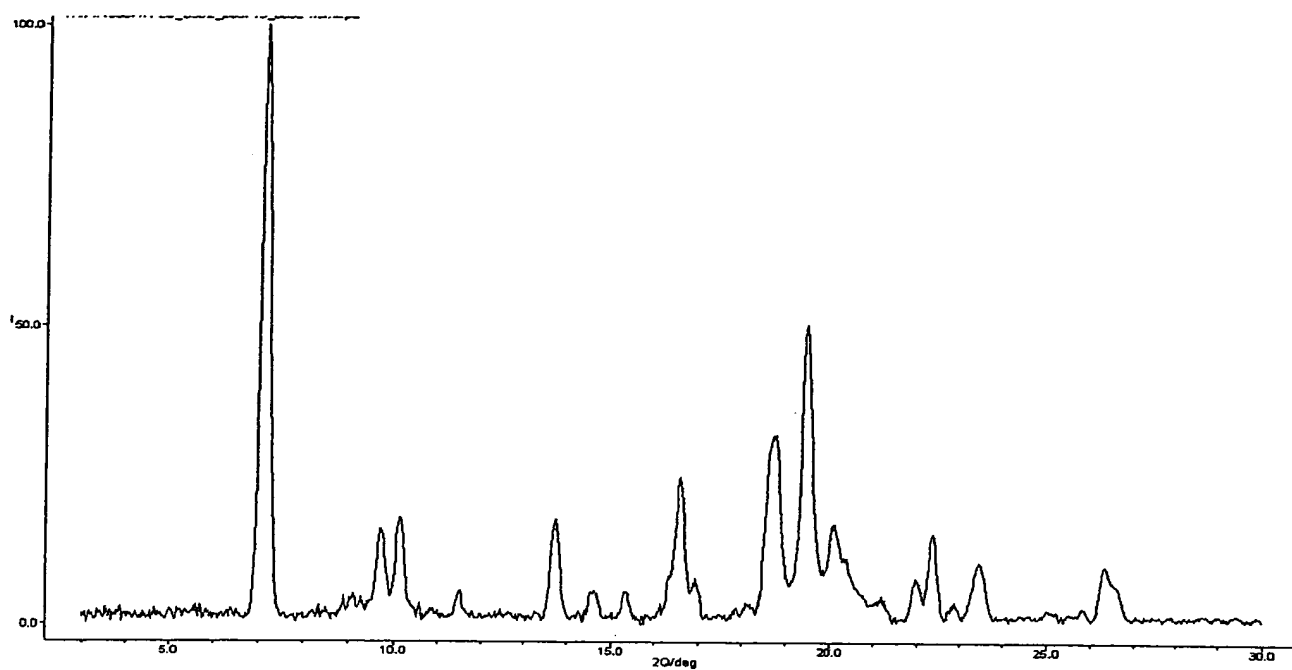
第3圖



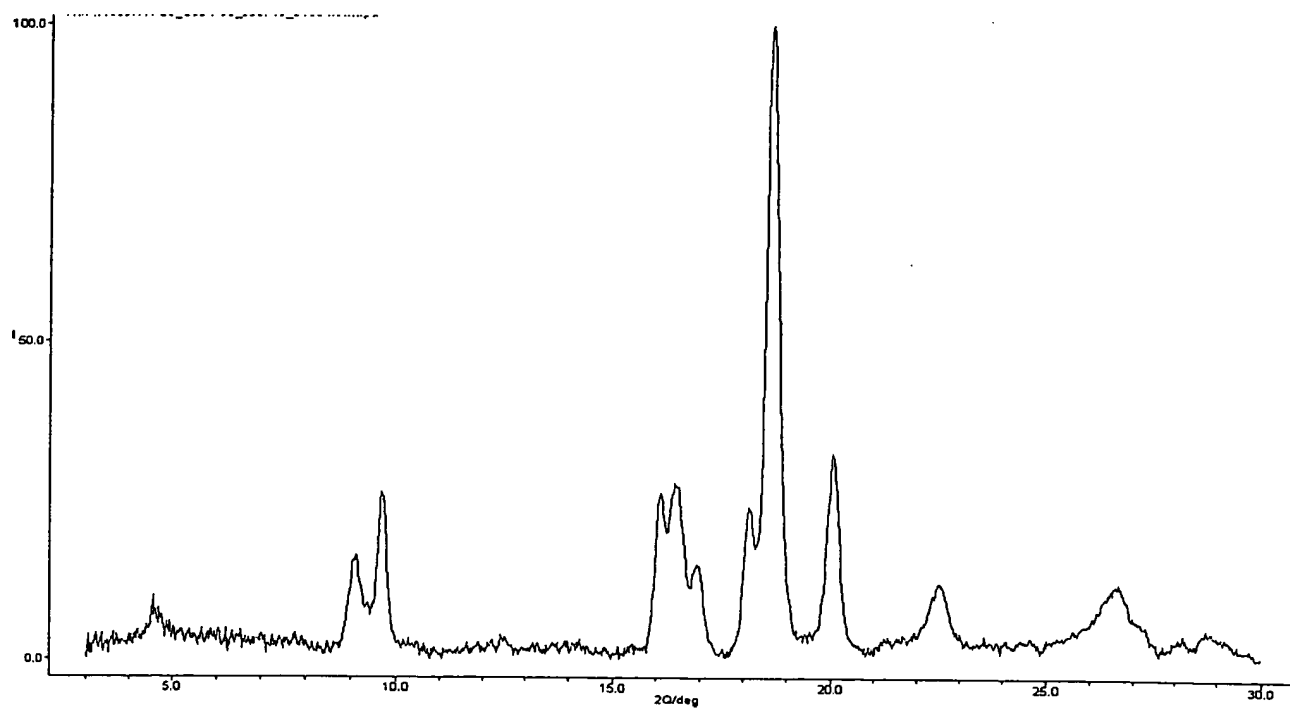
第4圖



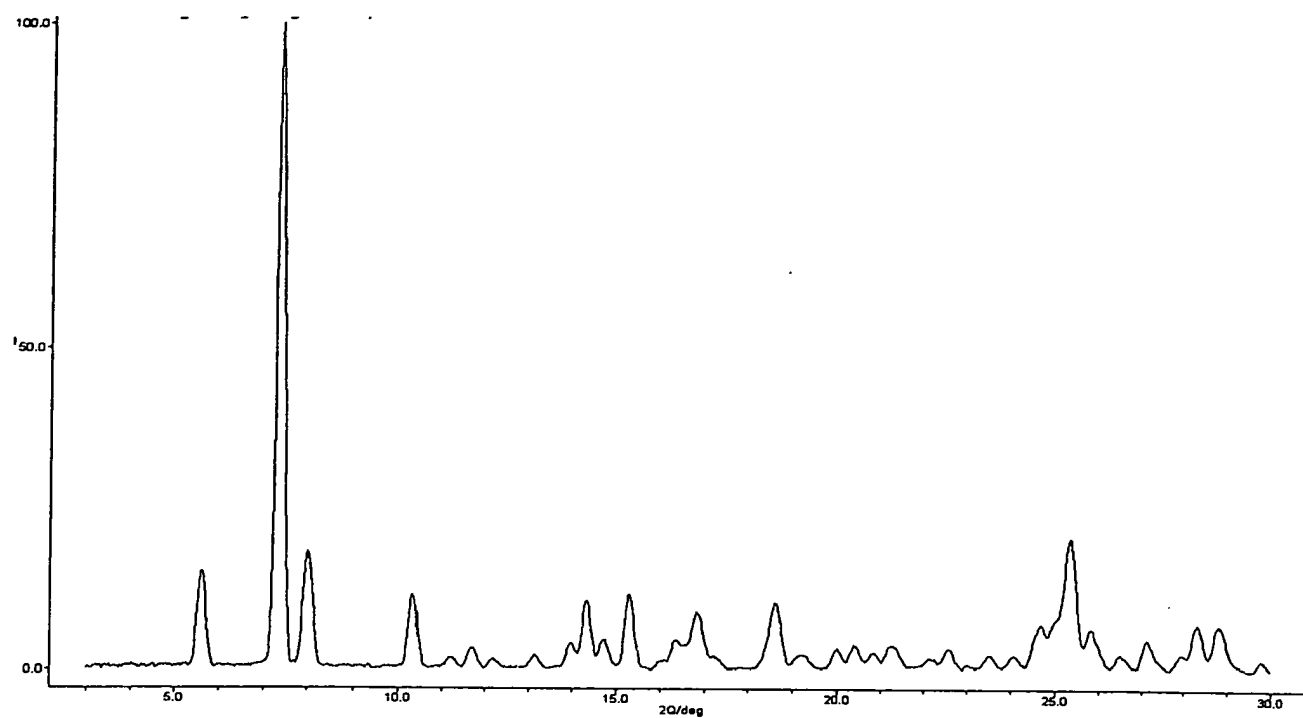
第5圖



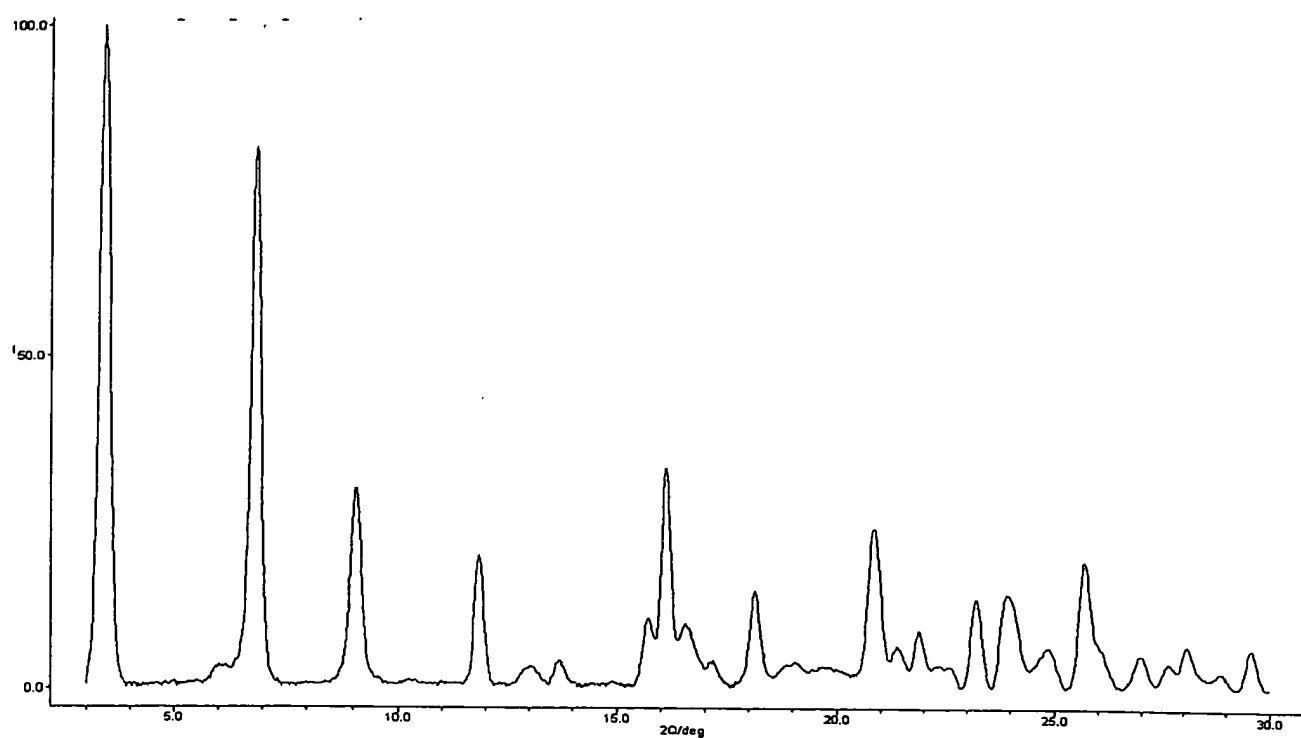
第6圖



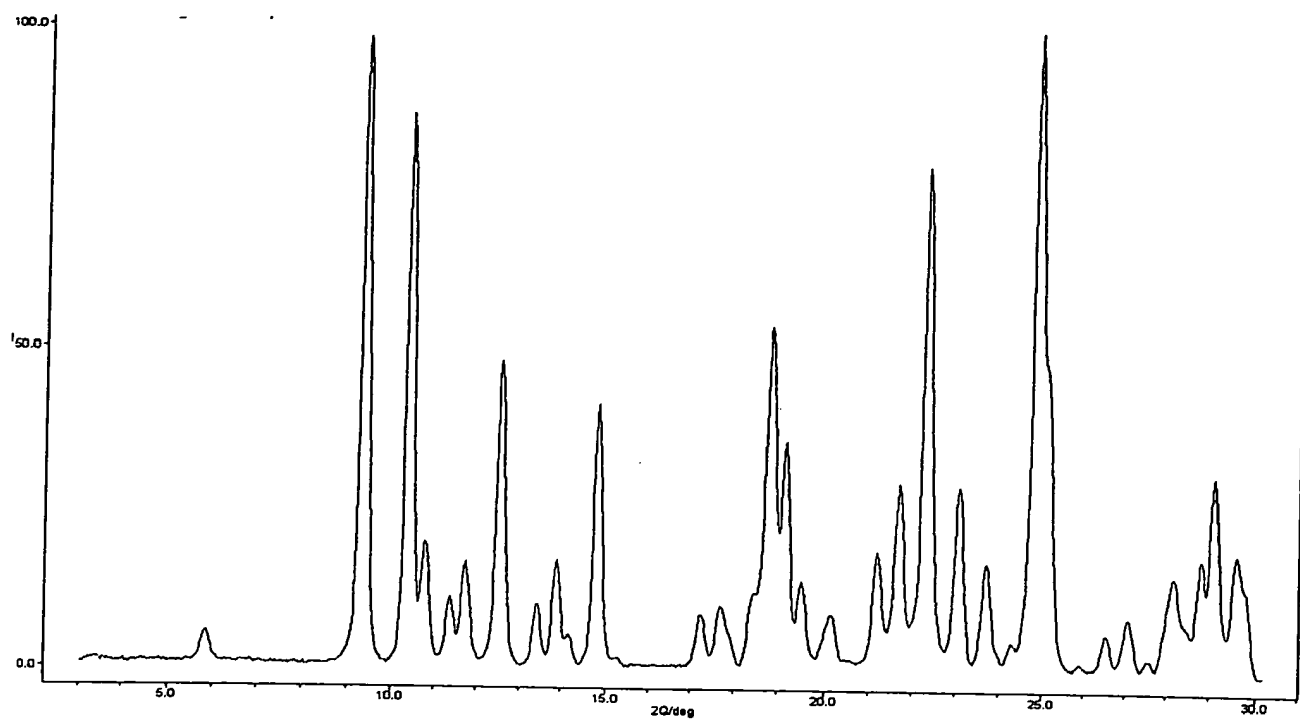
第7圖



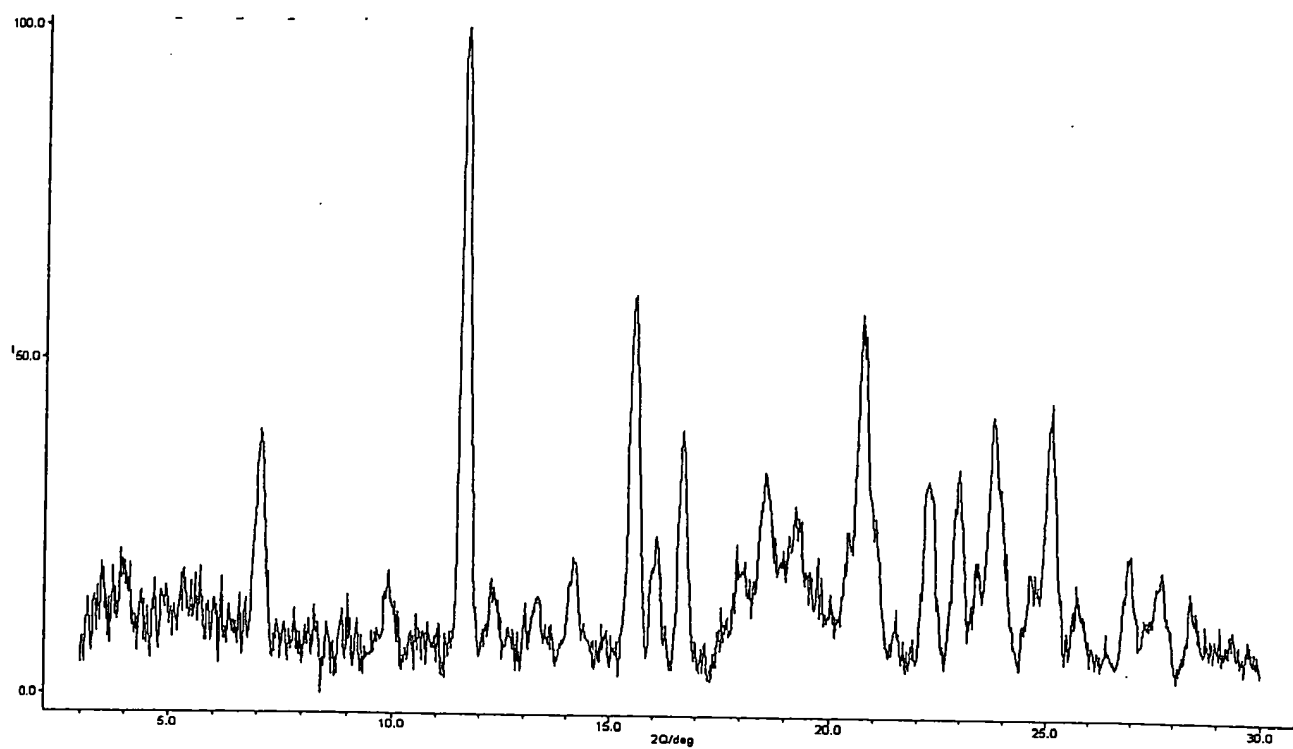
第8圖



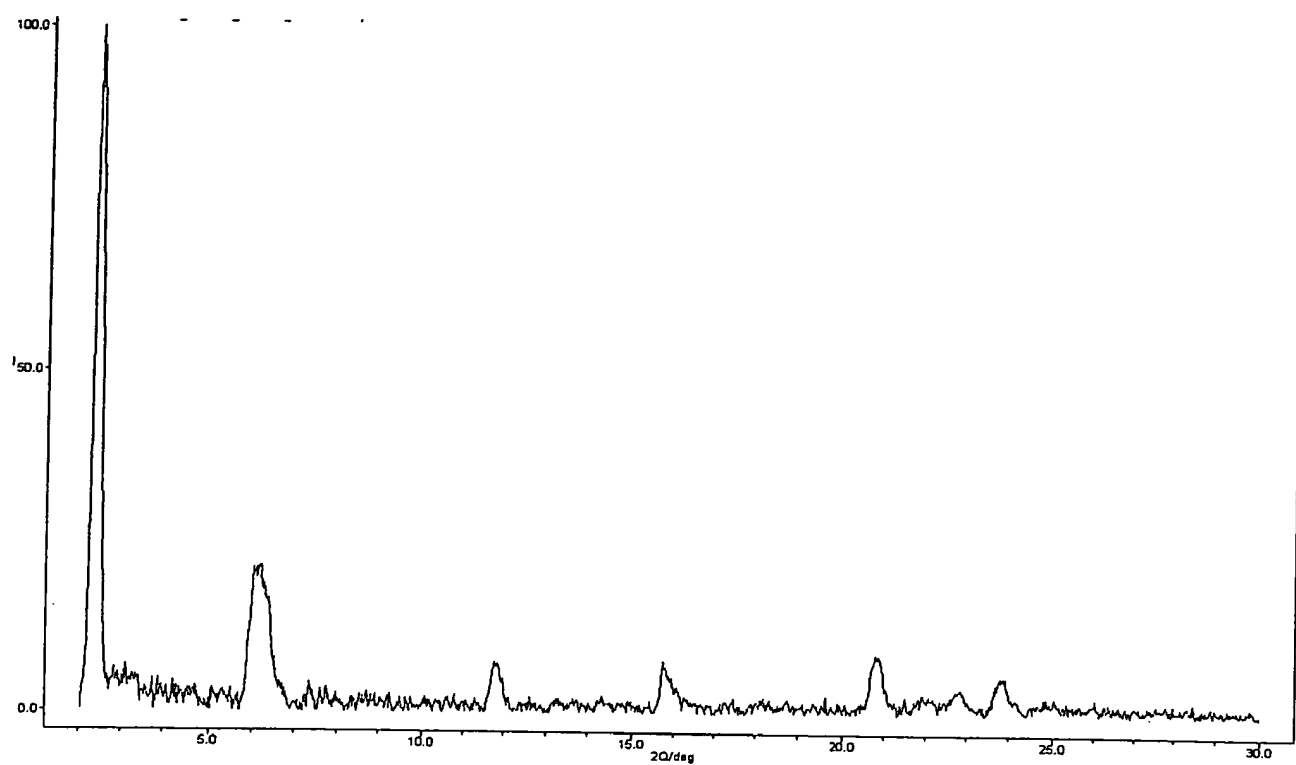
第9圖



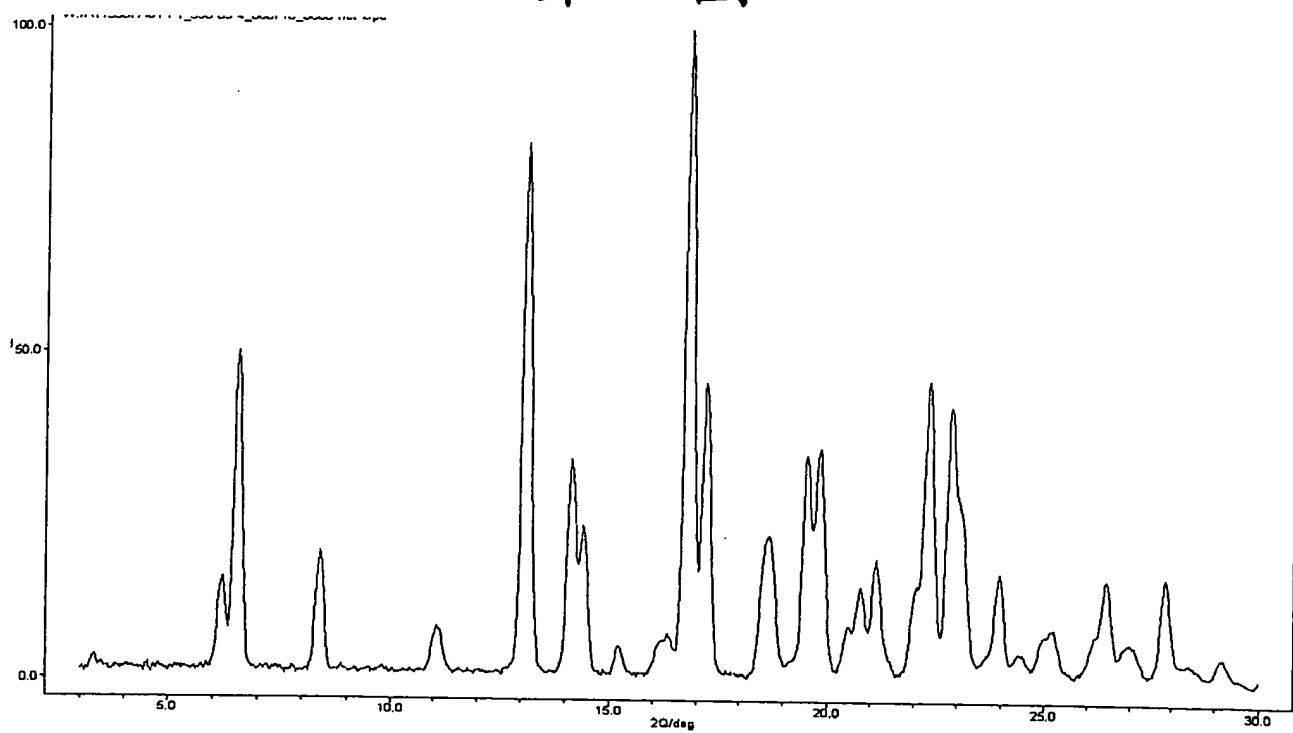
第10圖



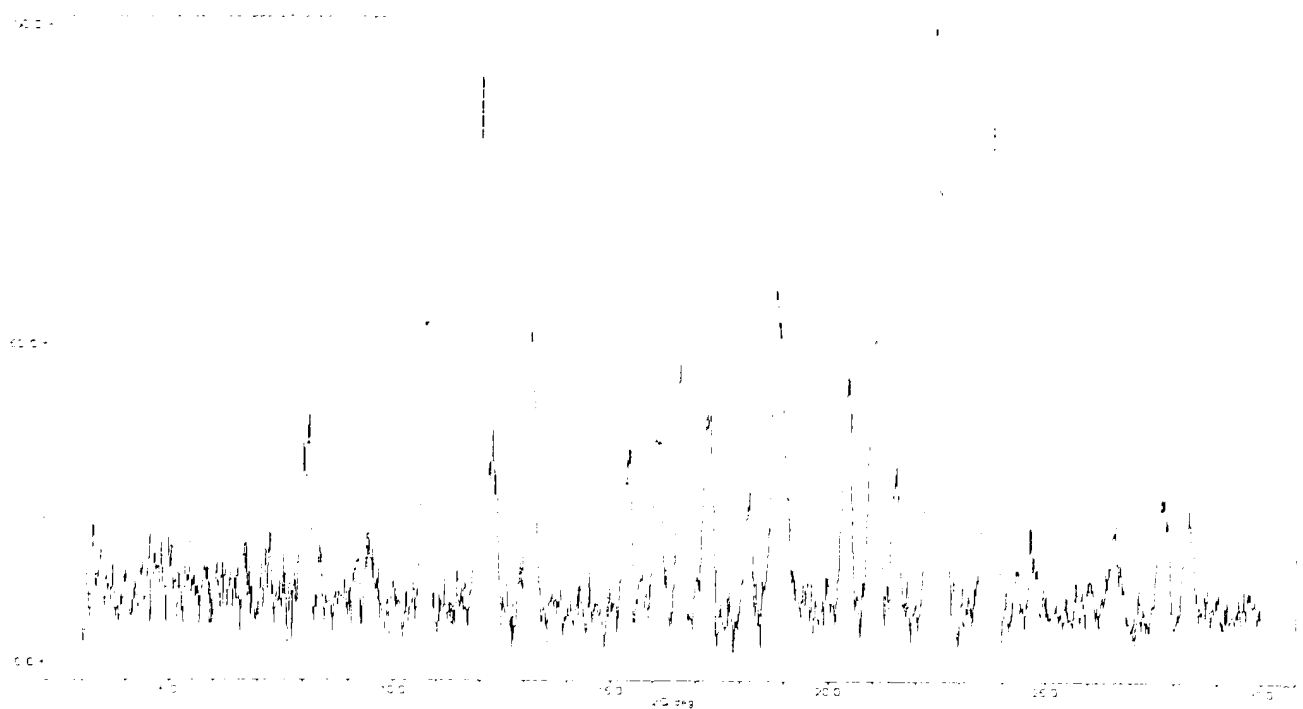
第11圖



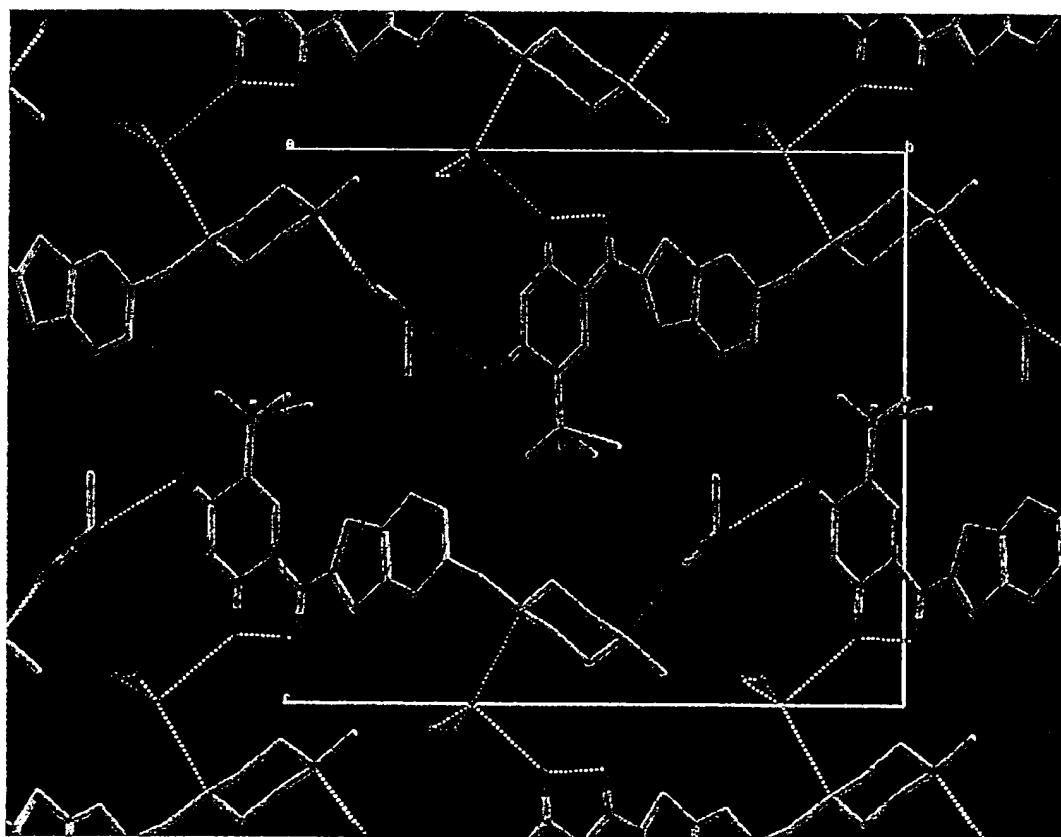
第12圖



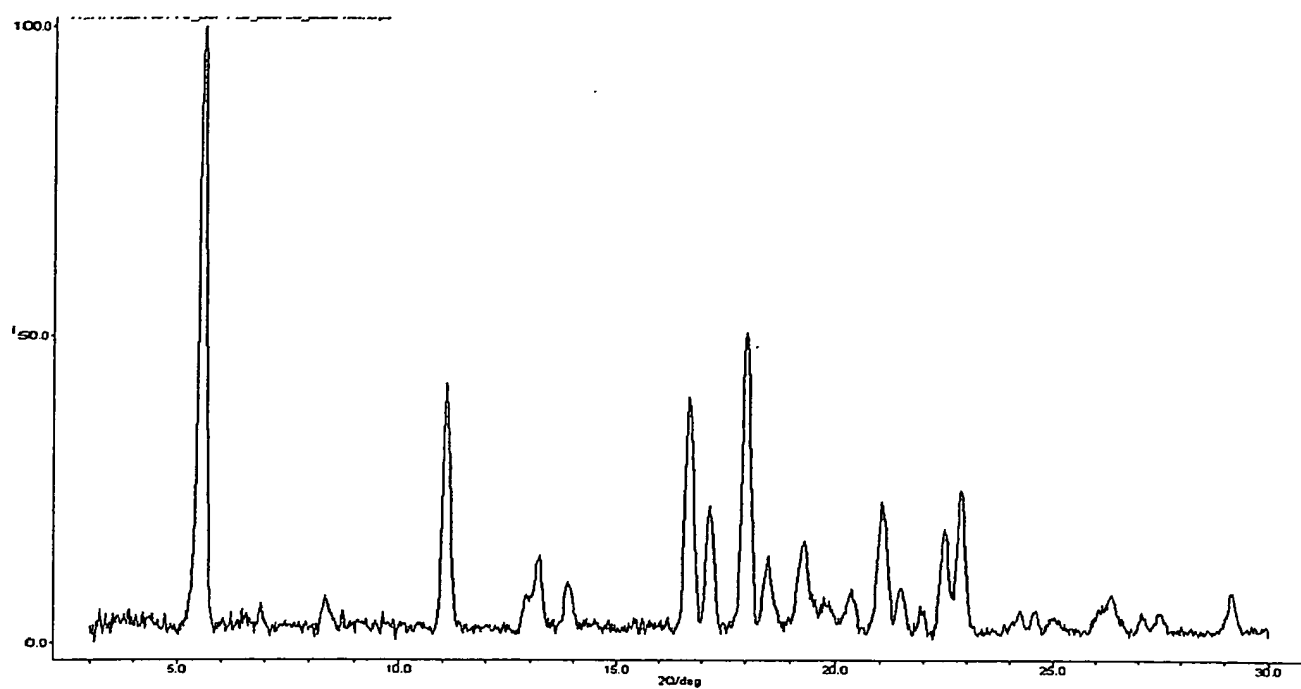
第13圖



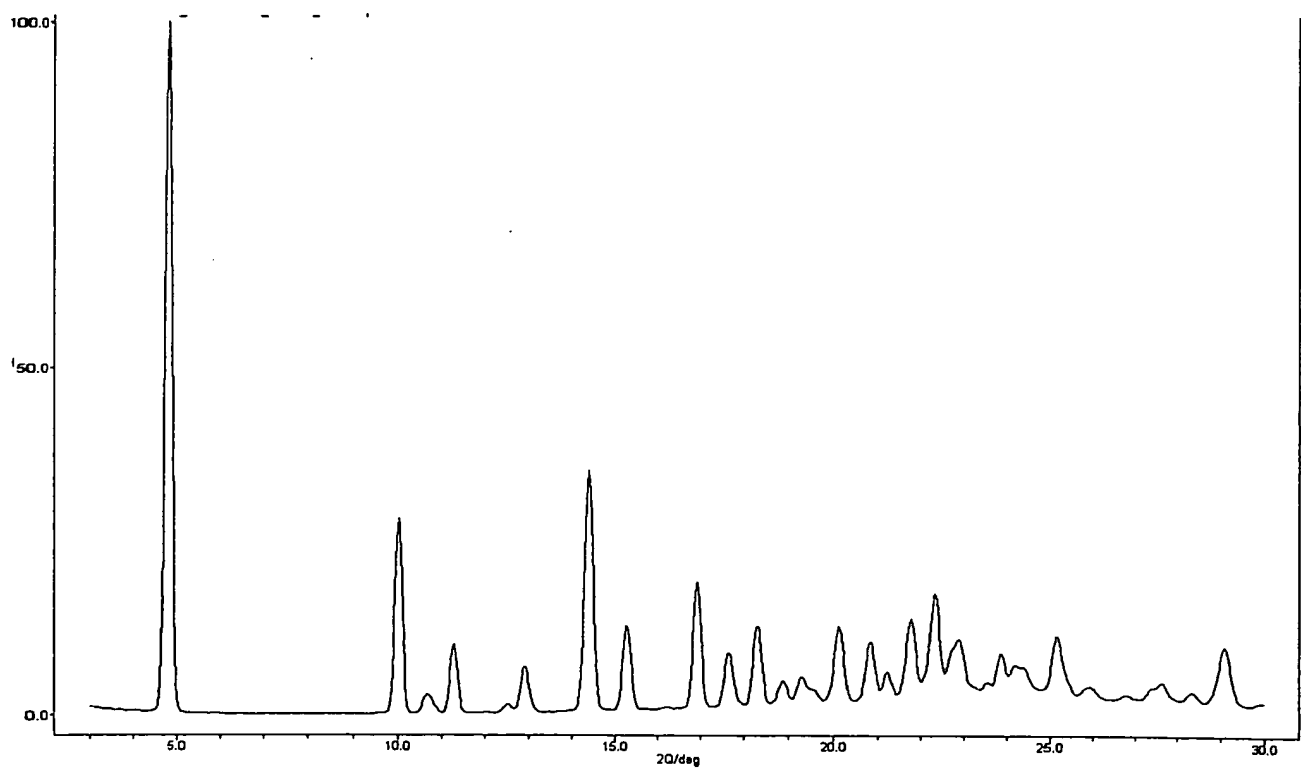
第14圖



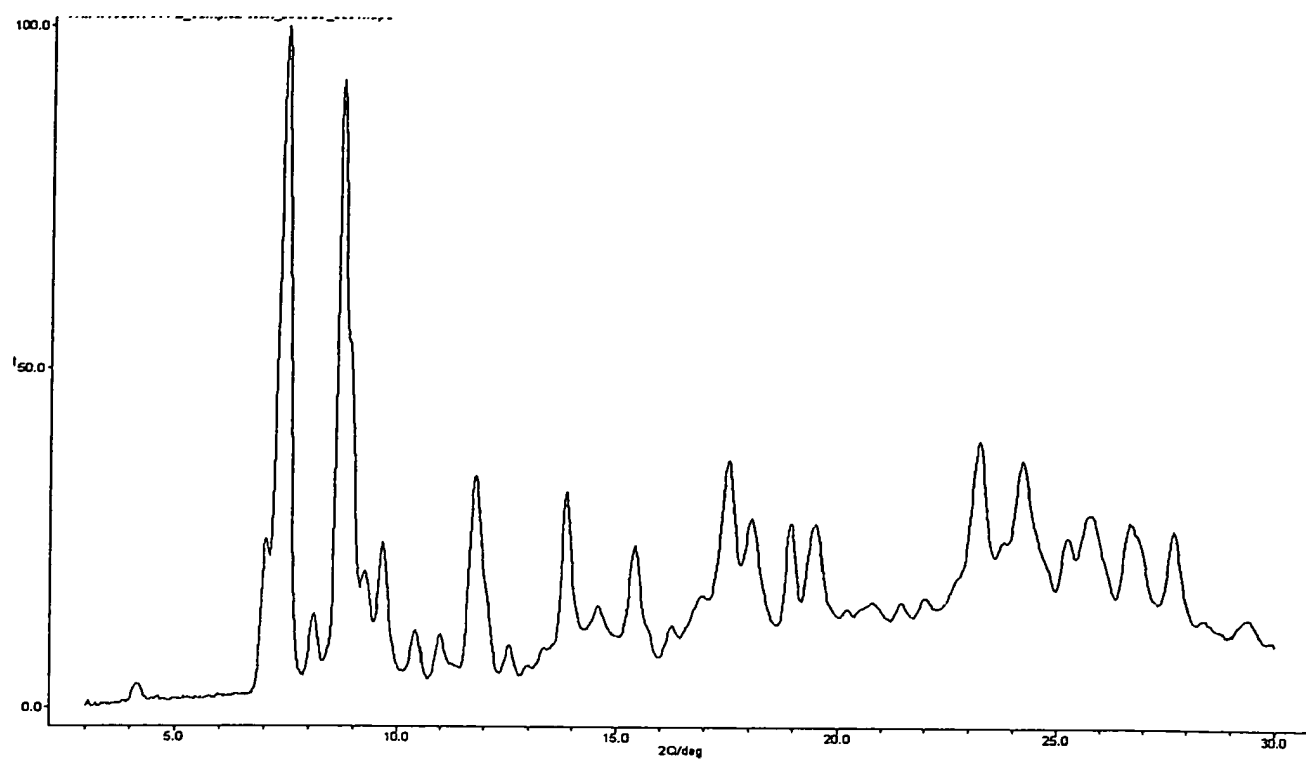
第15圖



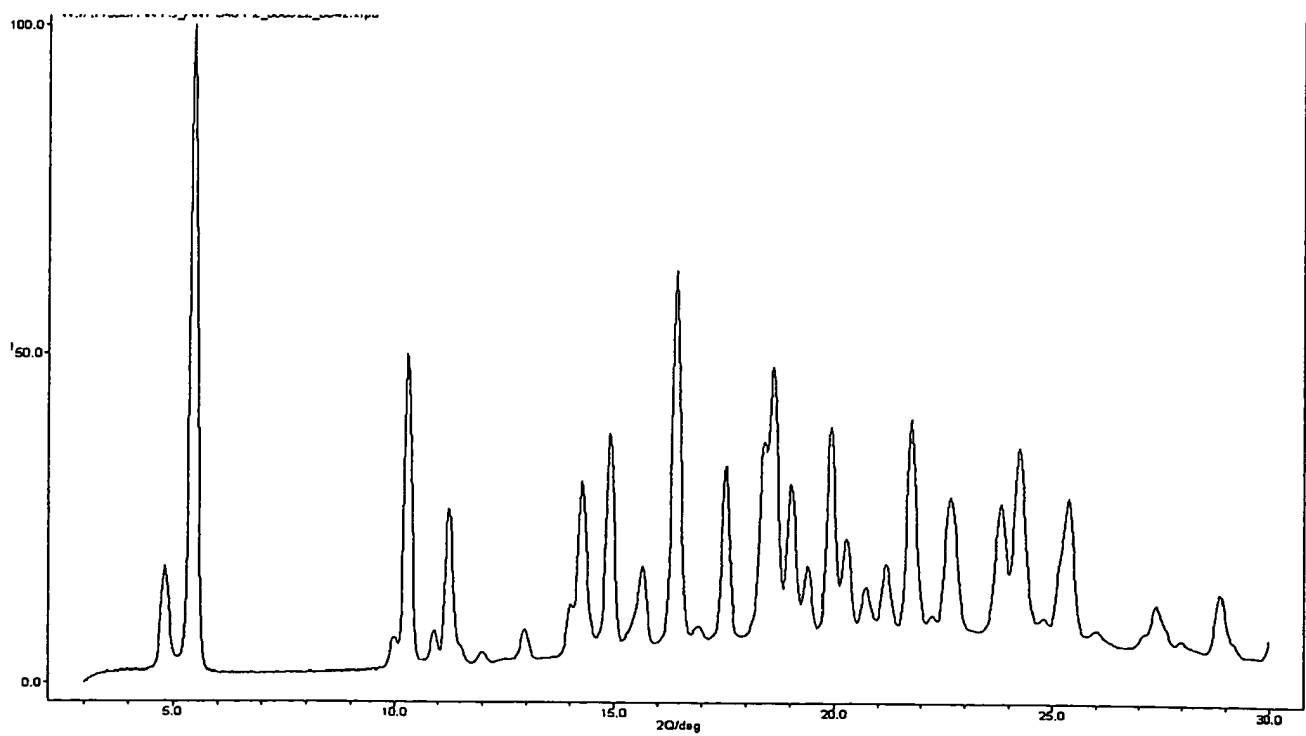
第16圖



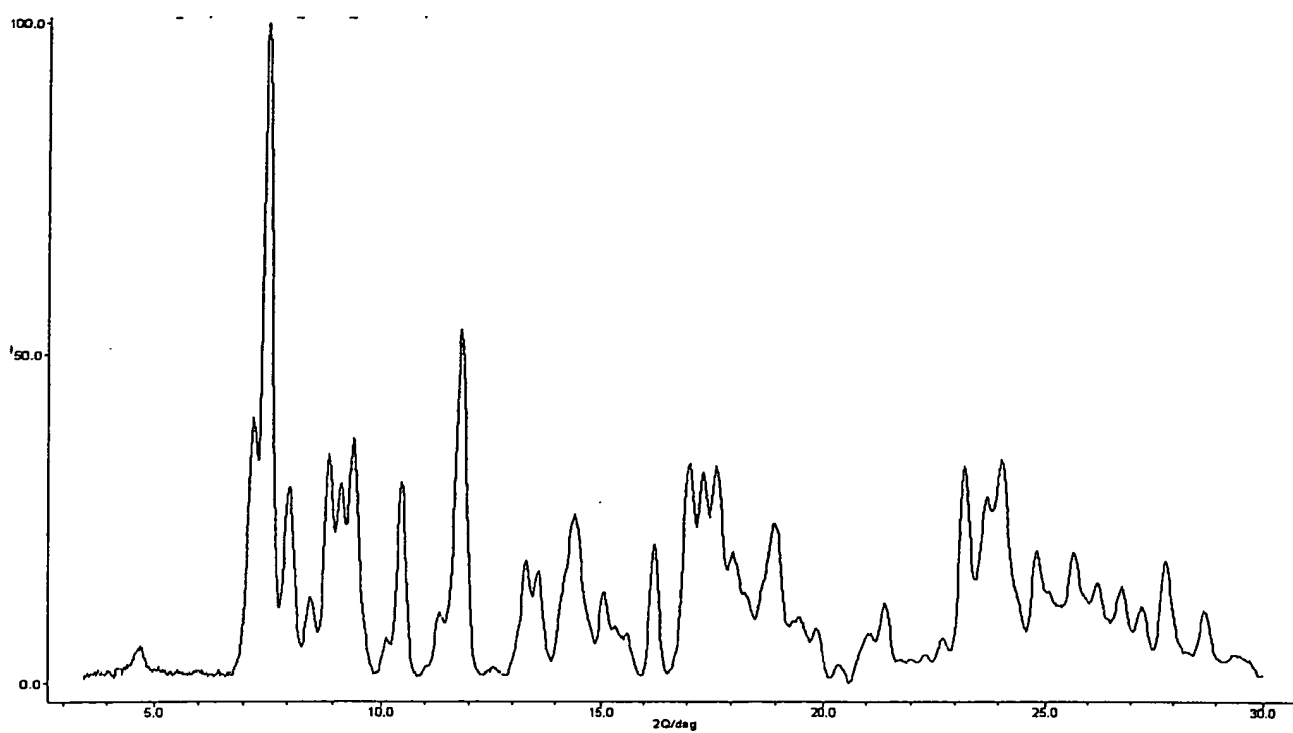
第17圖



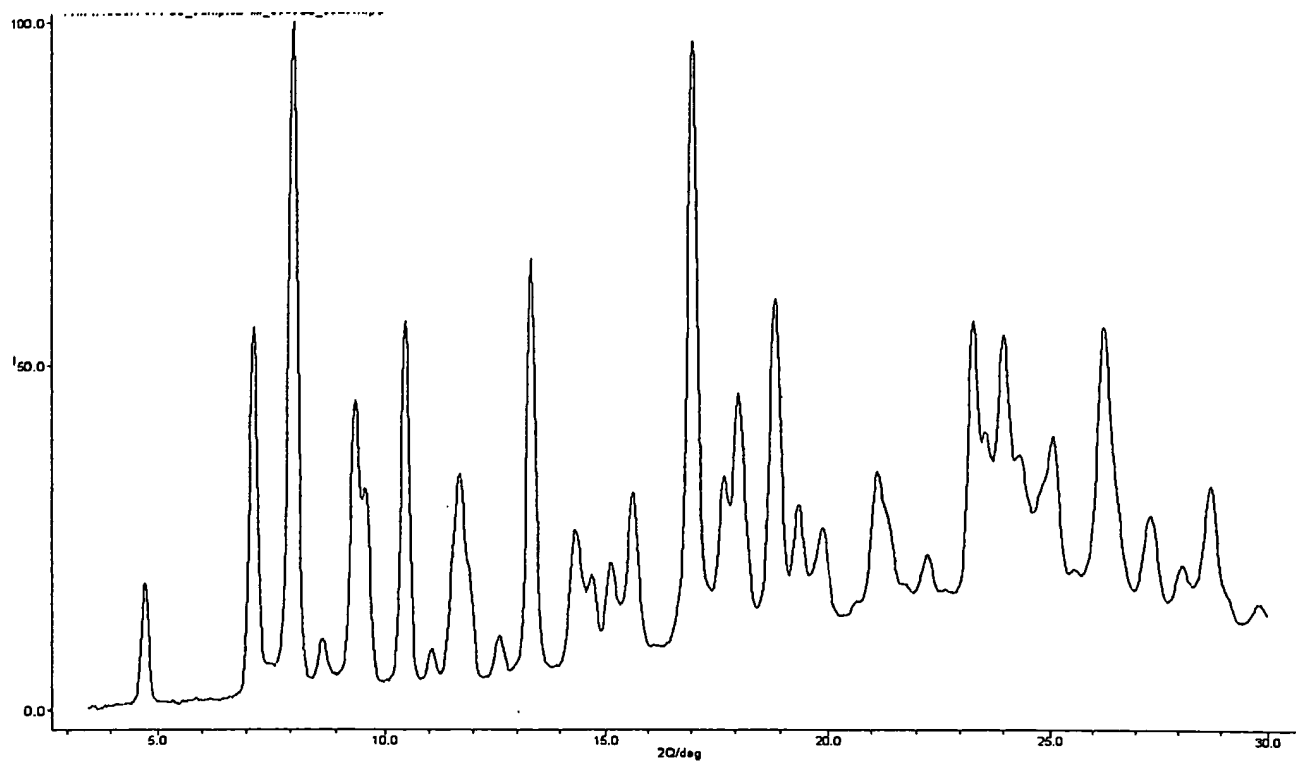
第18圖



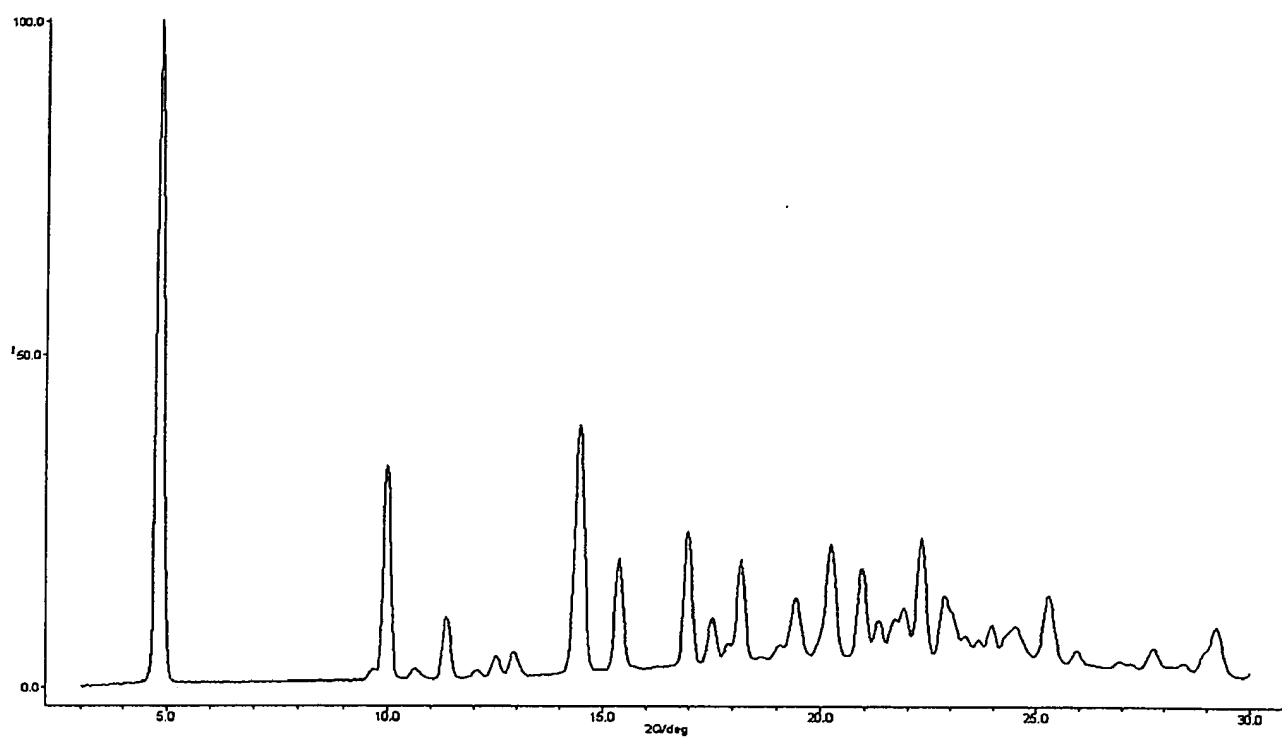
第19圖



第20圖



第21圖



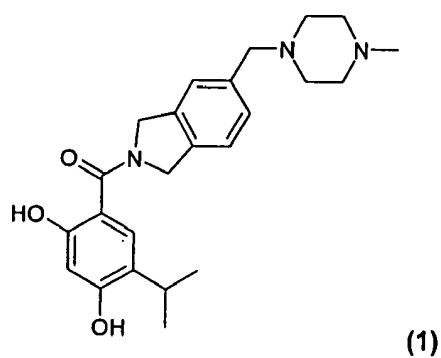
第22圖

七、指定代表圖：

(一) 本案指定代表圖為：第(1)圖

(二) 本代表圖之元件符號簡單說明：無

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：式(1)



(1)

(此處由本局於收
文時黏貼條碼)

853594

發明專利說明書

(本申請書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：096138174

※申請日期：96 年 10 月 11 日

※IPC 分類：

607D 403/02. (2006.01)

607D 209/44. (2006.01)

A61K 31/496. (2006.01)

A61P 35/00. (2006.01)

一、發明名稱：

(中) (2,4-二羥基-5-異丙基-苯基)-[5-(4-甲基-六氫吡啶-1-基甲基)-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮之鹽及結晶型，中間體及製備方法，含彼之醫藥組成物，以及彼之用途

(英) Salt, and crystalline form of (2,4-dihydroxy-5-isopropyl-phenyl)-[5-(4-methyl-piperazin-1-ylmethyl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl] methanone, intermediate and preparation process, pharmaceutical composition comprising the same and use of the same

二、申請人：(共 1 人)

1. 姓 名：(中) 亞斯泰克斯療法有限公司
(英) ASTEX THERAPEUTICS LIMITED

代表人：(中) 1. 哈倫 何提
(英) 1. JHOTI, HARREN

地 址：(中) 英國劍橋市米爾頓路劍橋科學園區 4 3 6 號
(英) 436 Cambridge Science Park, Milton Road, Cambridge CB4 0QA,
United Kingdom

國籍：(中英) 英國 UNITED KINGDOM

三、發明人：(共 7 人)

1. 姓 名：(中) 馬汀 佛瑞德瑞森
(英) FREDERICKSON, MARTYN
國 籍：(中) 英國
(英) UNITED KINGDOM

2. 姓 名：(中) 約翰 萊恩斯
(英) LYONS, JOHN FRANCIS
國 籍：(中) 愛爾蘭
(英) IRELAND

3. 姓名：(中) 奈爾 湯普森
(英) THOMPSON, NEIL THOMAS
國籍：(中) 英國
(英) UNITED KINGDOM

4. 姓名：(中) 姆拉登 溫可維克
(英) VINKOVIC, MLADEN
國籍：(中) 克羅埃西亞
(英) CROATIA

5. 姓名：(中) 布萊恩 威廉斯
(英) WILLIAMS, BRIAN
國籍：(中) 英國
(英) UNITED KINGDOM

6. 姓名：(中) 安德魯 伍海德
(英) WOODHEAD, ANDREW JAMES
國籍：(中) 英國
(英) UNITED KINGDOM

7. 姓名：(中) 艾莉森 伍爾弗
(英) WOOLFORD, ALISON JO-ANNE
國籍：(中) 英國
(英) UNITED KINGDOM

四、聲明事項：

◎本案申請前已向下列國家（地區）申請專利 ☐ 主張國際優先權：

【格式請依：受理國家（地區）；申請日；申請案號數 順序註記】

1. 英國 ; 2006/10/12 ; 0620259.2 ☒ 有主張優先權
2. 美國 ; 2006/10/12 ; 60/829,243 ☒ 有主張優先權

3. 姓名：(中) 奈爾 湯普森
(英) THOMPSON, NEIL THOMAS
國籍：(中) 英國
(英) UNITED KINGDOM

4. 姓名：(中) 姆拉登 溫可維克
(英) VINKOVIC, MLADEN
國籍：(中) 克羅埃西亞
(英) CROATIA

5. 姓名：(中) 布萊恩 威廉斯
(英) WILLIAMS, BRIAN
國籍：(中) 英國
(英) UNITED KINGDOM

6. 姓名：(中) 安德魯 伍海德
(英) WOODHEAD, ANDREW JAMES
國籍：(中) 英國
(英) UNITED KINGDOM

7. 姓名：(中) 艾莉森 伍爾弗
(英) WOOLFORD, ALISON JO-ANNE
國籍：(中) 英國
(英) UNITED KINGDOM

四、聲明事項：

◎本案申請前已向下列國家（地區）申請專利 ☐ 主張國際優先權：

【格式請依：受理國家（地區）；申請日；申請案號數 順序註記】

1. 英國 ; 2006/10/12 ; 0620259.2 ☒ 有主張優先權
2. 美國 ; 2006/10/12 ; 60/829,243 ☒ 有主張優先權

如結腸腺癌及結腸腺瘤)、腎臟癌、表皮皮膚癌、肝癌、肺癌(例如:腺癌、小細胞肺癌及非小細胞肺癌)、食管癌、膽囊癌、卵巢癌、胰臟癌(如:外分泌胰臟癌)、胃癌、子宮頸癌、甲狀腺癌、前列腺癌、胃腸道系統癌症(如:胃腸道基質瘤),或皮膚癌(例如:鱗狀細胞癌);淋巴系之造血細胞腫瘤,例如:白血病、急性淋巴性白血病、慢性淋巴性白血病、B-細胞淋巴瘤(諸如瀰漫性大B細胞淋巴瘤)、T-細胞淋巴瘤、何杰金氏淋巴瘤、非何杰金氏淋巴瘤、髮細胞淋巴瘤或伯奇特(Burkett)氏淋巴瘤;髓系造血細胞腫瘤,諸如:急慢性髓性白血病、伊美替尼(Imatinib)敏感性及難治性慢性髓性白血病、骨髓發育不良症候群、波替柔美(Bortezomib)敏感性及難治性多發性骨髓瘤、骨髓增殖病或前骨髓性白血病;甲狀腺濾泡癌;中胚層來源之腫瘤,例如:肌瘤或橫紋肌肉瘤;中樞或周圍神經系統之腫瘤,例如:星形細胞瘤、神經母細胞瘤、神經膠質瘤或神經鞘瘤;黑色素瘤;精母細胞瘤;畸胎瘤;骨母細胞瘤;著色性乾皮病;角化棘皮瘤;甲狀腺濾泡癌;或卡波西肉瘤。中胚層來源之腫瘤的另一實例為尤文氏(Ewing's)肉瘤。

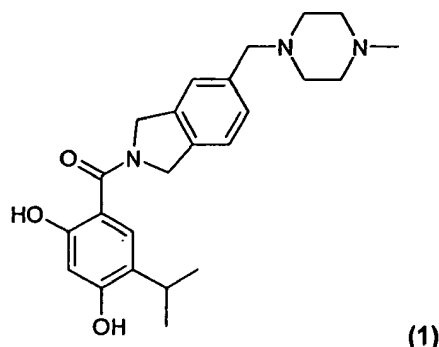
癌症可為對 Hsp90 抑制作用敏感的癌症,這類癌症可藉由標題“診斷方法”之章節中所列之方法測定。

一組癌症包括人類乳癌(如:原發性乳房腫瘤、無結節乳癌、乳房之侵入性管腺癌、非子宮內膜樣乳癌);及套細胞淋巴瘤。另外,其他癌症為結腸直腸和子宮內膜癌

五、中文發明摘要

發明之名稱：(2,4-二羥基-5-異丙基-苯基)-[5-(4-甲基-六氫吡啶-1-基甲基)-1,3-二氫-異吲哚-2-基]-甲酮之鹽及結晶型，中間體及製備方法，含彼之醫藥組成物，以及彼之用途

本發明提供一種式(1)化合物之酸加成鹽

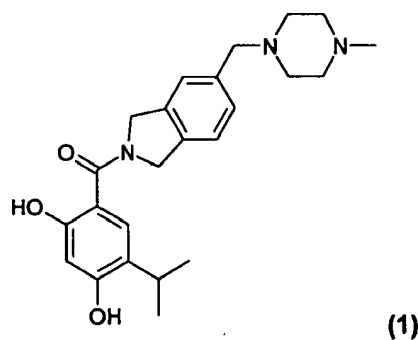


本發明亦提供用於製備式(1)化合物及其烷基類似物之方法，用於該方法中之新穎中間體及用於製備中間體之方法。本發明亦提供式(1)化合物及其乙基類似物之新醫學用途。

六、英文發明摘要

發明之名稱：Salt, and crystalline form of (2,4-dihydroxy-5-isopropylphenyl)-[5-(4-methyl-piperazin-1-ylmethyl)-1,3-dihydroisoindol-2-yl] methanone, intermediate and preparation process, pharmaceutical composition comprising the same and use of the same

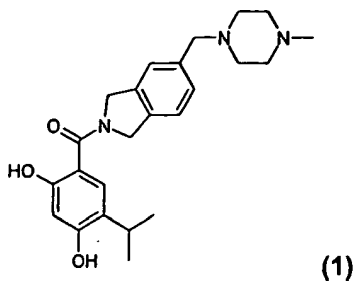
The invention provides an acid addition salt of a compound of the formula (1)



Also provided by the invention are processes for preparing the compound of formula (1) and alkyl analogues thereof, novel intermediates for use in the process and methods for preparing the intermediates. The invention also provides new medical uses of compounds of the formula (1) and its ethyl analogue.

十、申請專利範圍

1. 一種式 (1) 化合物之酸加成鹽，



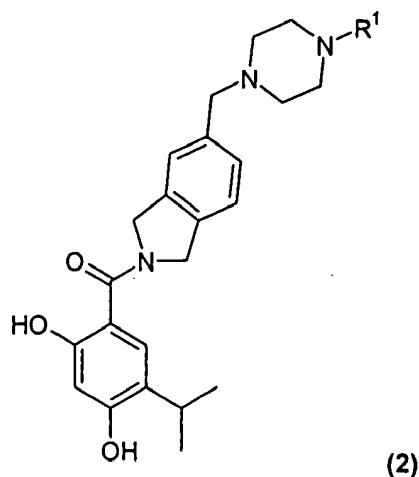
其為與 L-乳酸形成之鹽。

2. 如申請專利範圍第 1 項之酸加成鹽，實質上呈結晶型，其中該結晶型係選自如下定義之 FL1 及 FL2 形式，

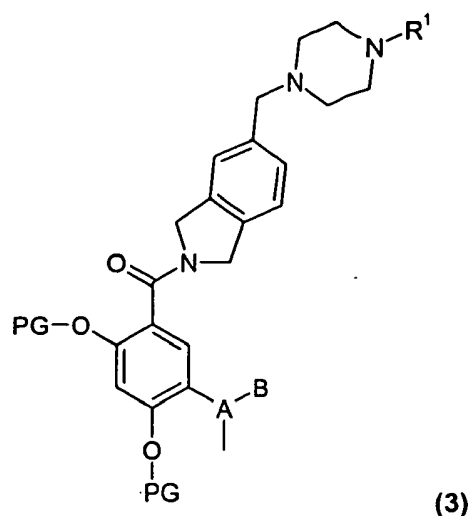
FL1 形式：其特徵在於 XRPD 樣式顯示在 6.53，13.10，14.13，14.40，17.22，18.65，19.52，19.82，22.33，22.84 及 23.09 處之繞射角 (2θ) 峰，

FL2 形式：其特徵在於 XRPD 樣式顯示在 8.03，10.71，11.98，13.13，15.39，16.09，16.61，17.26，18.17，18.82，20.40，21.01，21.53，22.34，22.56，23.71 及 27.70 處之繞射角 (2θ) 峰。

3. 一種用於製備式 (2) 化合物之方法，



其中 R^1 為 C_{1-4} 烷基；該方法包含將式 (3) 化合物進行催化性氫化作用



其中 PG 為可在氫化條件下移除之保護基團且 A-B 為 $C=CH_2$ ，然後，當式 (2) 化合物係製備成游離鹼形式時，選擇性地將該游離鹼轉化成酸加成鹽。

4.如申請專利範圍第 3 項之方法，其中 PG 為苄基團。

5.如申請專利範圍第 3 項之方法，其中該催化性氫化作用係利用鈀催化劑進行。

6.如申請專利範圍第 5 項之方法，其中該鈀催化劑為碳上鈀。

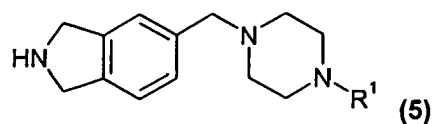
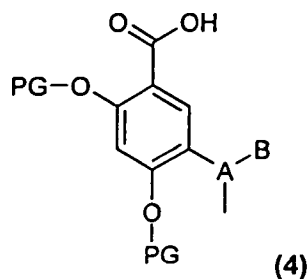
7.如申請專利範圍第 4 項之方法，其中 R^1 為甲基或乙基。

8.如申請專利範圍第 7 項之方法，其中 R^1 為甲基。

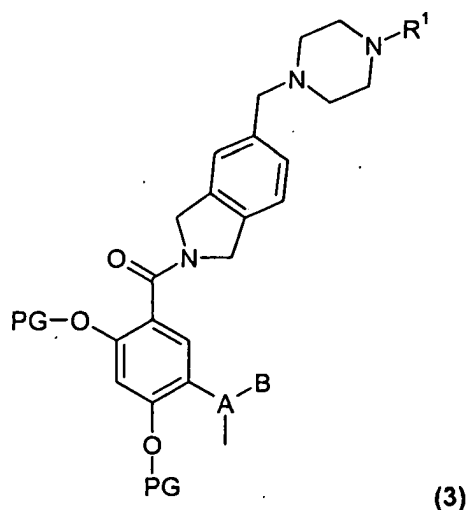
9.如申請專利範圍第 7 項之方法，其中 R^1 為乙基。

10.一種用於製備如申請專利範圍第 3 項中所定義之式 (2) 化合物之方法，該方法包含：

(a-i) 將式 (4) 化合物或其經活化之形式或衍生物與式 (5) 化合物：



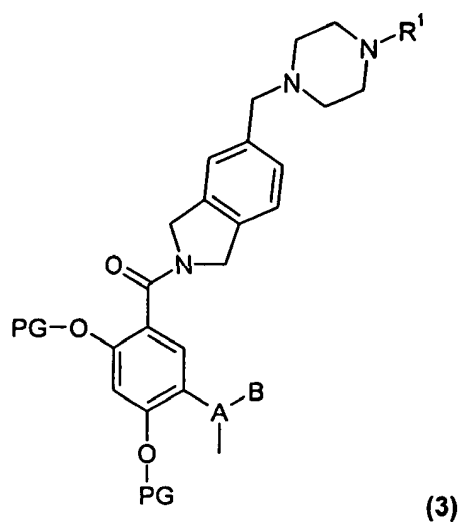
在形成醯胺之條件下進行反應，以產生式 (3) 化合物；



其中 R^1 、PG、A 及 B 為如申請專利範圍第 3 項所定義者，及

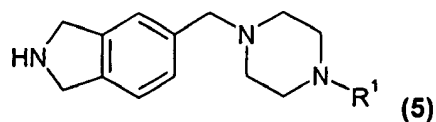
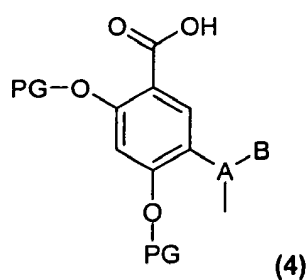
(b) 將式 (3) 化合物進行催化性氫化作用以移除保護基團 PG，然後，當式 (2) 化合物係製備成游離鹼形式時，選擇性地將該游離鹼轉化成酸加成鹽。

11. 一種用於製備式 (3) 化合物之方法，



其中 R^1 、PG、A 及 B 係如申請專利範圍第 3 項所定義者；該方法包含：

(a-i) 將式 (4) 化合物或其經活化之形式或衍生物與式 (5) 化合物：

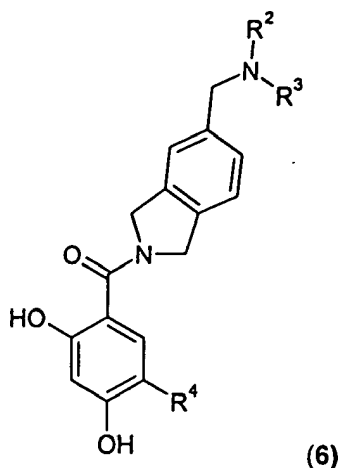


在形成醯胺之條件下進行反應。

12. 如申請專利範圍第 11 項之方法，其中係將式 (4) 化合物與式 (5) 化合物在碳二亞胺衍生物的羧酸活化劑之存在下反應。

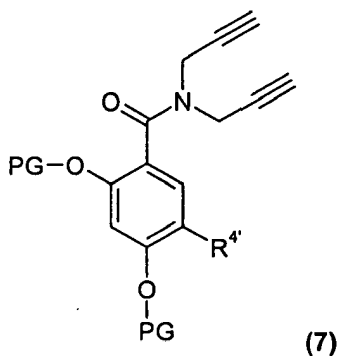
13. 如申請專利範圍第 12 項之方法，其中該反應係在催化性輔助親核劑之存在下進行。

14. 一種用於製備式 (6) 化合物之方法，



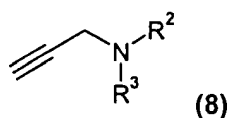
其中 R^2 及 R^3 為相同或相異且各為 C_{1-4} 烷基，或者， NR^2R^3 形成 4 至 7 員之飽和雜環，此雜環選擇性地含有另一選自 O、N 及 S 之雜原子且選擇性地被一或二個 C_{1-4} 烷基團所取代；而 R^4 係選自氫、鹵素、 C_{1-5} 烷基及 C_{3-4} 環烷基團；該方法包含：

(a-ii) 將式 (7) 化合物：



其中 PG 為可在氫化條件下移除之保護基且 $R^{4'}$ 係選自氫、鹵素、 C_{1-5} 烷基、 C_{2-5} 烯基及 C_{3-4} 環烷基團；

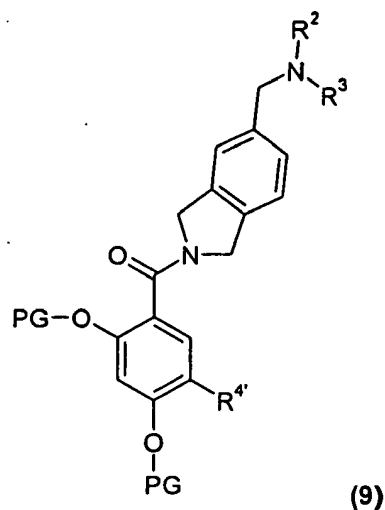
與式 (8) 化合物：



在過渡金屬催化劑之存在下進行反應，以產生式 (9) 化

S

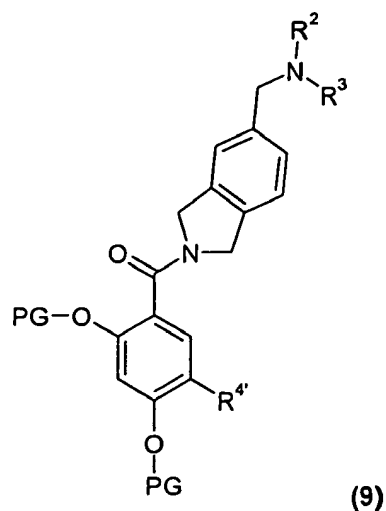
合物；



及

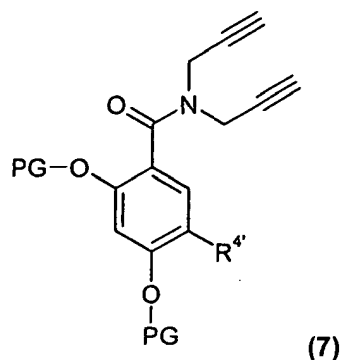
(b) 將式(9)化合物進行催化性氫化作用以移除保護基 PG 且，當 $R^{4'}$ 為 C_{2-5} 烯基時，將 $R^{4'}$ 基團還原成 C_{2-5} 烷基；然後，當式(6)化合物係製備成游離鹼形式時，選擇性地將該游離鹼轉化成酸加成鹽。

15. 一種用於製備式(9)化合物之方法，



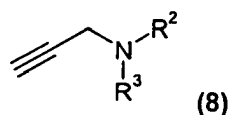
其中 R^2 、 R^3 、 $R^{4'}$ 及 PG 為如申請專利範圍第 14 項中所定義者；該方法包含：

(a-ii) 將式(7)化合物：



其中 PG 為可在氫化條件下移除之保護基且 $R^{4'}$ 係選自氫、鹵素、 C_{1-5} 烷基、 C_{2-5} 烯基及 C_{3-4} 環烷基團；

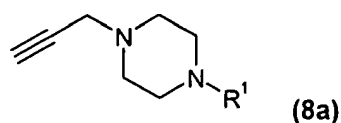
與式 (8) 化合物：



在過渡金屬催化劑之存在下進行反應。

16. 如申請專利範圍第 14 項之方法，其中該過渡金屬催化劑為威爾金森氏 (Wilkinson's) 催化劑。

17. 如申請專利範圍第 14 至 16 項中任一項之方法，其中該式 (8) 化合物為式 (8a) 化合物：

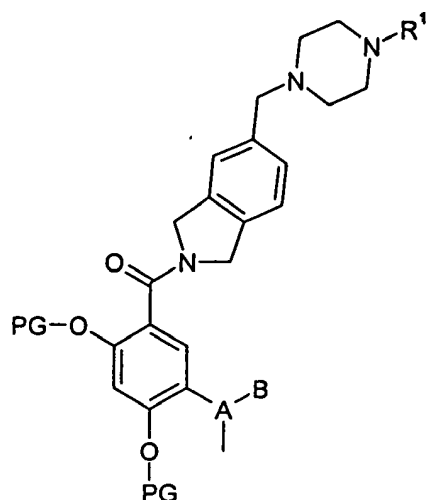


其中 R^1 為如申請專利範圍第 3 項中所定義者。

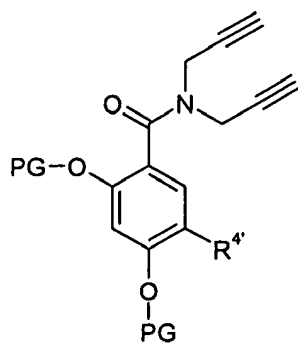
18. 如申請專利範圍第 14 項之方法，其中 $R^{4'}$ 為異丙基或異丙烯基。

19. 如申請專利範圍第 18 項之方法，其中 $R^{4'}$ 為異丙烯基。

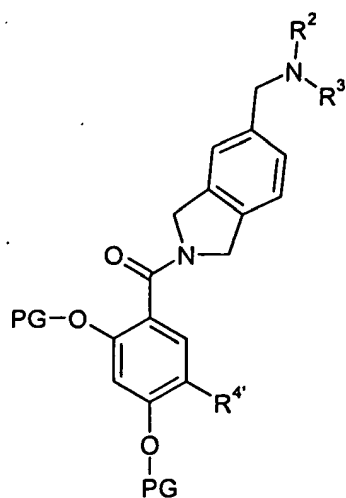
20. 一種如式 (3)、(7)、(9) 之化學中間體，



(3) , 其中 R^1 為 C_{1-4} 烷基, PG 為可在氫化條件下移除之保護基團, 且 A-B 為 $C=CH_2$;



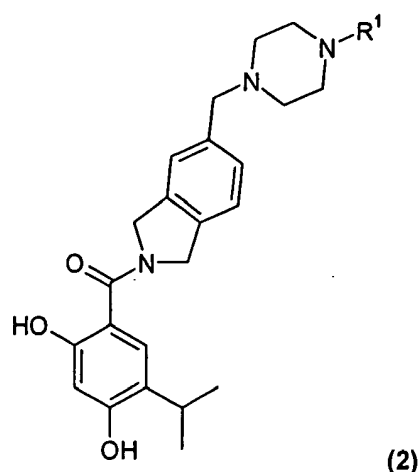
(7) , 其中 PG 為可在氫化條件下移除之保護基團, 且 $R^{4'}$ 係選自氫、鹵素、 C_{1-5} 烷基、 C_{2-5} 烯基及 C_{3-4} 環烷基團;



(9) , 其中 R^2 及 R^3 為相同或相異且各為 C_{1-4} 烷基, 或者, NR^2R^3 形成 4 至 7 員之飽和雜環, 此

雜環選擇性地含有另一選自 O、N 及 S 之雜原子且選擇性地被一或二個 C₁₋₄ 烷基團所取代；而 R⁴ 係選自氫、鹵素、C₁₋₅ 烷基及 C₃₋₄ 環烷基團，PG 為可在氫化條件下移除之保護基團。

21. 一種如式 (2) 之化合物，



或其鹽或 N-氧化物，其中 R¹ 為乙基。

22. 如申請專利範圍第 21 項之化合物或如申請專利範圍第 1 或 2 項所定義之化合物、結晶型或酸加成鹽，其係用於醫學。

23. 如申請專利範圍第 21 項之化合物或如申請專利範圍第 1 或 2 項所定義之化合物、結晶型或酸加成鹽，其係用於治療由 Hsp90 傳介之疾病狀態或狀況。

24. 如申請專利範圍第 1 或 2 項之酸加成鹽，其係用於緩和或減少由 Hsp90 傳介之疾病狀態或狀況發生。

25. 如申請專利範圍第 1 或 2 項之酸加成鹽，其係用於治療哺乳動物體內包含異常之細胞生長或由此產生之疾病狀態或狀況。

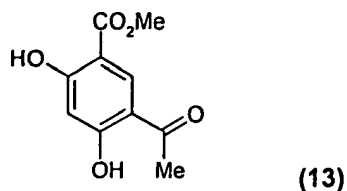
32. 一種用於製備如申請專利範圍第 3 項所定義之式 (3) 化合物的方法，該方法包含將式 (3a) 化合物：



3

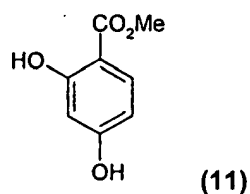
CH₃ 轉化成基團 -C(=CH₂)-CH₃ 之試劑反應。

33. 一種用於製備式 (13) 化合物之方法，



該方法包含：

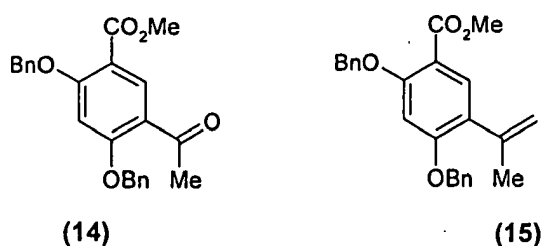
(i) 將式 (11) 化合物：



與 (a) 醋酸酐在 4-二甲胺基吡啶之存在下進行反應，再與 (b) 三氟甲磺酸及選擇性地，乙醯氯進行反應；或者

(ii) 將式 (11) 化合物與乙醯氯在陽離子交換樹脂之存在下進行反應。

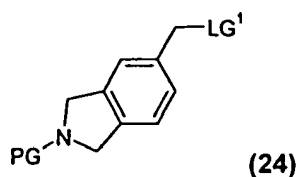
34. 一種用於製備式 (15) 化合物之方法，



其係將式 (14) 化合物與威特格試劑 (MePPh₃Br) 在 THF 中於第三-丁氧化鉀之存在下進行反應。

35. 一種用於製備如申請專利範圍第 11 項中所定義之式 (5) 化合物的方法，該方法包含：

將式 (24) 化合物：



其中 PG 為保護基且 LG^1 為脫離基，

與此文所定義之式 (22) 化合物反應。

36.一種如申請專利範圍第 1 或 2 項之酸加成鹽的用途，係用於製造治療下列疾病狀態或狀況之藥物上：真菌、原蟲或寄生蟲疾病狀態或狀況，但除了由惡性瘧原蟲所引起之疾病狀態或狀況以外。

37.一種如申請專利範圍第 1 或 2 項之酸加成鹽的用途，係用於製造與抗-真菌劑、抗-原蟲劑或抗-寄生蟲劑共同投服以防止、減少或逆轉發展出對抗-真菌劑、抗原蟲劑或抗寄生蟲劑之抗性的藥物上。

38.一種如申請專利範圍第 1 或 2 項之酸加成鹽的用途，係用於製造減輕或排除苦於疼痛之患者之疼痛的藥物上。

39.一種如申請專利範圍第 1 或 2 項之酸加成鹽的用途，係用於製造治療下列群體中之任一或多種疼痛之藥物上：傷害感受、軀體性疼痛、內臟性疼痛、急性疼痛、慢性疼痛、痛覺過敏、觸覺痛、手術後疼痛、由超敏反應引起之疼痛、頭痛、發炎性疼痛（風濕性疼痛、牙痛、經痛或感染）、神經性疼痛、肌肉骨骼疼痛、與癌症相關之疼痛或血管性疼痛。

40.如申請專利範圍第 1 或 2 項之酸加成鹽，係用於治療下列群體中任一或多種疼痛：傷害感受、軀體性疼

痛、內臟性疼痛、急性疼痛、慢性疼痛、痛覺過敏、觸覺痛、手術後疼痛、由超敏反應引起之疼痛、頭痛、發炎性疼痛、神經性疼痛、肌肉骨骼疼痛、與癌症相關之疼痛或血管性疼痛。

41.一種如申請專利範圍第 1 或 2 項之酸加成鹽的用途，係用於製造防止或降低處於中風風險中之患者的中風風險之藥物上。

42.如申請專利範圍第 1 或 2 項之酸加成鹽，其係用於防止或降低處於中風風險中之患者的中風風險。

43.如申請專利範圍第 1 或 2 項之酸加成鹽，其係用於治療病毒感染或病毒性疾病。

44.一種如申請專利範圍第 1 或 2 項之酸加成鹽於製造治療病毒感染或病毒性疾病之藥物上的用途。

45.如申請專利範圍第 1 或 2 項之酸加成鹽，其係用於阻斷或抑制宿主有機體中之病毒複製。

46.一種如申請專利範圍第 1 或 2 之酸加成鹽於製造用於阻斷或抑制宿主有機體中之病毒複製的藥物上之用途。

47.如申請專利範圍第 1 或 2 項之酸加成鹽，其係用於治療動脈粥狀硬化。

48.一種如申請專利範圍第 1 或 2 項之酸加成鹽於製造用於治療動脈粥狀硬化之藥物上之用途。

49.如申請專利範圍第 1 或 2 項之酸加成鹽，其係用於治療尤文氏肉瘤（Ewing's sarcoma）。

50.一種如申請專利範圍第 1 或 2 項之酸加成鹽於製造用於治療尤文氏肉瘤之藥物上之用途。

51.如申請專利範圍第 1 或 2 項之酸加成鹽，其係用於治療紅斑性狼瘡。

52.一種如申請專利範圍第 1 或 2 項之酸加成鹽於製造用於治療紅斑性狼瘡之藥物上的用途。

53.一種醫藥組成物，係用於治療增殖性病症，選自膀胱癌、乳癌、結腸癌、腎臟癌、表皮皮膚癌、肝癌、肺癌、食管癌、膽囊癌、卵巢癌、胰臟癌、胃癌、子宮頸癌、甲狀腺癌、前列腺癌、胃腸道系統癌症或皮膚癌；淋巴系之造血細胞腫瘤；髓系造血細胞腫瘤；甲狀腺濾泡癌；中胚層來源之腫瘤；中樞或周圍神經系統之腫瘤；黑色素瘤；精母細胞瘤；畸胎瘤；骨母細胞瘤；著色性乾皮病；角化棘皮瘤；甲狀腺濾泡癌；或卡波西肉瘤；包含如申請專利範圍第 1 或 2 項之酸加成鹽。