



(21) 申请号 202210321539.1

(22) 申请日 2015.12.16

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 114702406 A

(43) 申请公布日 2022.07.05

(30) 优先权数据
62/092743 2014.12.16 US
62/133276 2015.03.13 US

(62) 分案原申请数据
201580076205.0 2015.12.16

(73) 专利权人 PTC医疗公司
地址 美国新泽西州

(72) 发明人 P·莫拉德 C·R·康内尔
K·E·维斯森 P·吉安脑斯斯
S·苏奇特 M·米梅拉比

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公
司 72001
专利代理师 彭昶

(51) Int.Cl.

C07C 235/78 (2006.01)
A61K 31/16 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)
A61P 9/00 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)
A61P 25/08 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)
A61P 3/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 25/14 (2006.01)
A61P 25/18 (2006.01)
A61P 27/06 (2006.01)
A61P 27/16 (2006.01)
A61P 13/12 (2006.01)
A61P 21/00 (2006.01)

(56) 对比文件

US 2009118257 A1, 2009.05.07

审查员 王一婷

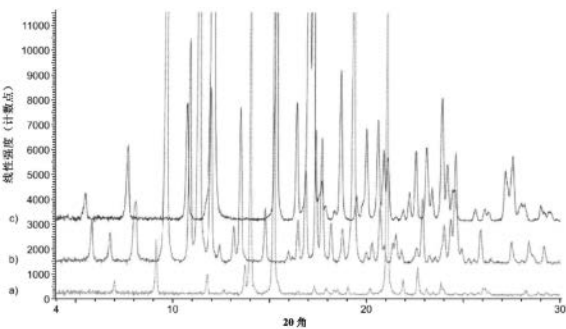
权利要求书5页 说明书56页 附图45页

(54) 发明名称

化合物的多晶型和无定形形式

(57) 摘要

本发明公开了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的无水物、水合物、和溶剂化物的多晶型和无定形形式,和使用此类组合物治疗或或抑制氧化应激障碍,包括线粒体疾病、受损的能量处理障碍、神经退行性疾病和衰老疾病的方法。本发明进一步公开了制备此类多晶型和无定形形式的方法。



1. (R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的无水物或水合物的多晶型物,其中所述多晶型物是选自由II型和III型组成的组,

其中II型多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:9.63、10.85、11.33、13.47、17.37和19.33;和

其中III型多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:9.16、11.81、13.74、14.02、15.23、21.10和22.69。

2. 根据权利要求1所述的多晶型物,其中所述多晶型物是III型。

3. 根据权利要求1所述的多晶型物,其中所述多晶型物是III型,和其中所述角位置可以有 ± 0.1 的变化。

4. 组合物,所述组合物包含权利要求2-3任一项所述的多晶型物,其中所述组合物含有少于5%的I、II、IV、V、和VI型多晶型物,

其中所述I型多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:12.06、15.33、17.03、17.26、和18.72;

其中所述IV型多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:4.31、8.76、12.97、13.20、和16.66;

其中所述V型多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:9.61、11.49、12.93、15.45、和26.05;和

其中所述VI型多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:6.27、9.41、9.91、12.94、和15.71。

5. 组合物,所述组合物包含权利要求2-3任一项所述的多晶型物,其中所述组合物的至少95摩尔%是所述III型多晶型物,任何溶剂、载体或辅料不计算在内。

6. 根据权利要求1所述的多晶型物,其中所述多晶型物是II型。

7. 根据权利要求1所述的多晶型物,其中所述多晶型物是II型,并且其中所述角位置可以有 ± 0.1 的变化。

8. 组合物,所述组合物包含权利要求6-7任一项所述的多晶型物,其中所述组合物含有少于5%的I和III-VI型多晶型物,

其中所述I型多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:12.06、15.33、17.03、17.26、和18.72;

其中所述IV型多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:4.31、8.76、12.97、13.20、和16.66;

其中所述V型多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:9.61、11.49、12.93、15.45、和26.05;和

其中所述VI型多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:6.27、9.41、9.91、12.94、和15.71。

9. 组合物,所述组合物包含权利要求6-7任一项所述的多晶型物,其中所述组合物的至少95摩尔%是所述II型多晶型物,任何溶剂、载体或辅料不计算在内。

10. 药物组合物,所述药物组合物包含权利要求1-3、6和7任一项所述的多晶型物或权利要求4、5、8和9任一项所述的组合物,和药学上可接受的载体。

11. 根据权利要求10所述的药物组合物,其中所述药物组合物具有HPLC纯度大于95%

的(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的所述无水物或水合物,任何溶剂、载体或辅料不计算在内。

12.根据权利要求10所述的药物组合物,其中所述药物组合物具有HPLC纯度大于99%的(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的所述无水物或水合物,任何溶剂、载体或辅料不计算在内。

13.根据权利要求10所述的药物组合物,其中所述药物组合物具有HPLC纯度大于99.9%的(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的所述无水物或水合物,任何溶剂、载体或辅料不计算在内。

14.治疗有效量或有效量的权利要求1-3、6和7任一项所述的多晶型物、权利要求4、5、8和9任一项所述的组合物、或权利要求10-13任一项所述的药物组合物在制备用于治疗或抑制氧化应激障碍,调节一种或多种能量生物标记,使一种或多种能量生物标记正常化,或增强一种或多种能量生物标记的药物中的用途。

15.根据权利要求14所述的用途,其中所述药物用于治疗或抑制氧化应激障碍,其中所述氧化应激障碍是选自由阿尔珀斯(Alpers)病;巴氏(Barth)综合征; β 氧化缺陷;肉碱-酰基-肉碱缺乏症;肉碱缺乏症;肌酸虚证;辅酶Q10缺乏症;复合物I缺乏症;复合物II缺乏症;复合物III缺乏症;复合物IV缺乏症;复合物V缺乏症;COX缺乏症;慢性进行性眼外肌麻痹(CPEO);CPT I缺乏症;CPT II缺乏症;弗里德里希(Friedreich)共济失调(FA);戊二酸尿症II型;卡恩斯-塞尔(Kearns-Sayre)综合征(KSS);乳酸酸中毒;长链酰基辅酶A脱氢酶缺乏症(LCAD);LCHAD;Leigh综合征(亚急性坏死性脑病,Leigh Syndrome);Leigh样综合征;莱伯氏(Leber's)遗传性视神经病变(LHON);致命性小儿心肌病(LIC);勒夫特病(Luft Disease);多种酰基辅酶A脱氢酶缺乏症(MAD);中链酰基辅酶A脱氢酶缺乏症(MCAD);肌阵挛性癫痫发作伴破碎红纤维(MERRF);线粒体隐性遗传性共济失调综合征(MIRAS);线粒体细胞病,线粒体DNA耗竭;线粒体脑病;线粒体肌病;线粒体神经消化道脑肌病(MNGIE);神经病,共济失调,和视网膜色素变性(NARP);皮尔森综合征;丙酮酸羧化酶缺乏症;丙酮酸脱氢酶缺乏症;呼吸链紊乱;短链酰基辅酶A脱氢酶缺乏症(SCAD);SCHAD;极长链酰基辅酶A脱氢酶缺乏症(VLCAD);心肌病;脑肌病;帕金森病;阿尔茨海默症;肌萎缩性侧索硬化症(ALS);癫痫;黄斑变性;糖尿病;代谢综合征;脑癌;亨廷顿病;精神分裂症;双相情感障碍;自闭症;亚斯伯格症候群(Asperger's syndrome);儿童崩解症(CDD);雷特障碍(Rett's disorder);未具体归类的PDD(PDD-NOS);中风;视神经病变;显性遗传性青少年视神经萎缩;毒性药物引起的视神经病变;青光眼;斯特格氏黄斑营养不良(Stargardt's macular dystrophy);糖尿病视网膜病变;糖尿病性黄斑病变;早产儿视网膜病变;缺血再灌注相关的视网膜损伤;氧中毒;地中海贫血;镰状细胞性贫血;癫痫发作;局部缺血;肾小管酸中毒;注意力缺陷/多动障碍(ADHD);导致听力或平衡障碍的神经退行性疾病;显性视神经萎缩(DOA);母系遗传性糖尿病和耳聋(MIDD);慢性疲劳;造影剂引起的肾脏损伤;造影剂引起的视网膜病变损伤;无 β 脂蛋白血症;视网膜萎缩;Wolfram疾病;杜尔雷斯综合征(Tourette syndrome);钴胺素C缺陷;甲基丙二酸尿症;胶质母细胞瘤;唐氏综合征;急性肾小管坏死;脑白质营养不良症;进行性核上性麻痹;脊髓性肌萎缩症;噪声性听力损失;创伤性脑损伤;多发性硬化症;NGLY1;多系统萎缩症;肾上腺脑白质营养不良;和肾上腺脊髓神经病组成的组。

16. 根据权利要求15所述的用途,其中所述氧化应激障碍是多系统萎缩症。
17. 根据权利要求14所述的用途,其中所述氧化应激障碍是癌症;线粒体肌病,脑病,乳酸性酸中毒(Lactacidosis),卒中样发作(MELAS);或少年亨廷顿病。
18. 根据权利要求15所述的用途,其中所述氧化应激障碍是双相情感障碍。
19. 根据权利要求15所述的用途,其中所述氧化应激障碍是精神分裂症。
20. 根据权利要求15所述的用途,其中所述氧化应激障碍是年龄相关的疾病。
21. 根据权利要求15所述的用途,其中所述氧化应激障碍是亨廷顿病。
22. 根据权利要求15所述的用途,其中所述氧化应激障碍是阿尔茨海默症。
23. 根据权利要求15所述的用途,其中所述氧化应激障碍是肌萎缩性侧索硬化症(ALS)。
24. 根据权利要求15所述的用途,其中所述氧化应激障碍是癫痫。
25. 根据权利要求15所述的用途,其中所述氧化应激障碍是帕金森病。
26. 根据权利要求15所述的用途,其中所述氧化应激障碍是癫痫发作。
27. 根据权利要求15所述的用途,其中所述氧化应激障碍是中风。
28. 无水(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的多晶型物的制备方法,其中所述多晶型物是II型,
- 其中所述方法包含步骤:(a)将(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺溶解在EtOAc中,(b)快速冷却步骤(a)所得混合物,和(c)分离所述(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺;和
- 其中II型多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:9.63、10.85、11.33、13.47、17.37和19.33。
29. 根据权利要求28所述的方法,其中步骤(a)中的起始(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺是I型多晶型物;和
- 其中所述I型多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:12.06、15.33、17.03、17.26、和18.72。
30. (R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺水合物的多晶型物的制备方法,其中所述多晶型物是III型,
- 其中所述方法包含步骤:(a)将(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺与0.5%MC/2%吐温80的水溶液进行混合,以产生浆体;(b)将步骤(a)所得混合物进行制浆,和(c)除去所述0.5%MC/2%吐温80的水溶液;和
- 其中III型多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:9.16、11.81、13.74、14.02、15.23、21.10和22.69。
31. 根据权利要求30所述的方法,其中步骤(a)中的起始(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺是I型多晶型物;和
- 其中所述I型多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:12.06、15.33、17.03、17.26、和18.72。
32. 根据权利要求30或31所述的方法,其中步骤(b)进行至少24小时。
33. (R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺水合物的多晶型物的制备方法,其中所述多晶型物是III型,

其中所述方法包含步骤：(a) 将(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺与0.5%MC的水溶液进行混合,以产生浆体；(b) 将步骤(a)所得混合物制浆至少7天；和(c) 除去所述0.5%MC的水溶液；和

其中III型多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:9.16、11.81、13.74、14.02、15.23、21.10和22.69。

34. 根据权利要求33所述的方法,其中步骤(a)中的起始(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺分别是I、II、IV、V或VI型多晶型物；

其中所述I型多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:12.06、15.33、17.03、17.26、和18.72；

其中所述II型多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:9.63、10.85、11.33、13.47、和19.33；

其中所述IV型多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:4.31、8.76、12.97、13.20、和16.66；

其中所述V型多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:9.61、11.49、12.93、15.45、和26.05；和

其中所述VI型多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:6.27、9.41、9.91、12.94、和15.71。

35. 根据权利要求1所述的多晶型物,其中所述多晶型物是III型,其具有包含如图22所示的吸热峰的差示扫描量热法(DSC)热分析图。

36. 组合物,所述组合物包含权利要求35所述的多晶型物,其中所述组合物含有少于5%的I-II和IV-VI型多晶型物；

其中所述I型多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:12.06、15.33、17.03、17.26、和18.72；

其中所述IV型多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:4.31、8.76、12.97、13.20、和16.66；

其中所述V型多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:9.61、11.49、12.93、15.45、和26.05；和

其中所述VI型多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:6.27、9.41、9.91、12.94、和15.71。

37. 组合物,所述组合物包含权利要求35所述的多晶型物,其中所述组合物的至少95摩尔%是所述III型多晶型物,任何溶剂、载体或辅料不计算在内。

38. 根据权利要求1所述的多晶型物,其中所述多晶型物是II型,其具有包含如图17所示的两个吸热峰的差示扫描量热法(DSC)热分析图。

39. 组合物,所述组合物包含权利要求38所述的多晶型物,其中所述组合物含有少于5%的I和III-VI型多晶型物；

其中所述I型多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:12.06、15.33、17.03、17.26、和18.72；

其中所述IV型多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:4.31、8.76、12.97、13.20、和16.66；

其中所述V型多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:9.61、11.49、12.93、15.45、和26.05;和

其中所述VI型多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:6.27、9.41、9.91、12.94、和15.71。

40.组合物,所述组合物包含权利要求38所述的多晶型物,其中所述组合物的至少95摩尔%是所述II型多晶型物,任何溶剂、载体或辅料不计算在内。

41.组合物,所述组合物包含权利要求1所述的多晶型物,其中所述组合物包含II型和III型。

化合物的多晶型和无定形式

[0001] 本发明要求于2014年12月16日提交的、题为“POLYMORPHIC AND AMORPHOUS FORMS OF (R) -2-HYDROXY-2-METHYL-4-(2,4,5-TRIMETHYL-3,6-DIOXOCYCLOHEXA-1,4-DIENYL) BUTANAMIDE”的美国临时专利申请号为62/092,743,和于2015年3月13日提交的、题为“POLYMORPHIC AND AMORPHOUS FORMS OF (R) -2-HYDROXY-2-METHYL-4-(2,4,5-TRIMETHYL-3,6-DIOXOCYCLOHEXA-1,4-DIENYL) BUTANAMID E”的美国临时专利申请号为62/133,276的优先权,两者通过引用其全部内容并入本文用于所有目的。

技术领域

[0002] 本申请公开了用于治疗或抑制与氧化应激障碍有关的疾病、发育迟缓和病症的组合物和方法。此类疾病或病症的实例包括线粒体疾病、受损的能量处理障碍、神经退行性疾病和衰老疾病。本申请进一步公开了制备此类组合物的方法。

技术背景

[0003] 氧化应激是通过干扰细胞内正常氧化还原状态引起的。活性氧如过氧化物和自由基的常规产生和解毒之间的不平衡可导致细胞结构和机构的氧化损伤。在需氧生物体内,正常条件下活性氧的最重要来源可能是正常氧化呼吸期间线粒体中活性氧的泄漏。怀疑与此过程有关的损伤会导致线粒体疾病、神经退行性疾病和衰老疾病。

[0004] 线粒体是真核细胞中的细胞器,通常被称为细胞的“动力”。其主要功能之一是氧化磷酸化。三磷酸腺苷(ATP)分子的作用是作为细胞中的能量“货币”或能量载体,并且真核细胞从由线粒体进行的生化过程中获得大部分其ATP。所述这些生化过程包括使氧化型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD⁺)产生还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH+H⁺)的柠檬酸循环(三羧酸循环,或克雷伯斯(Krebs)循环)和氧化磷酸化,在此期间NADH+H⁺被氧化回NAD⁺。所述柠檬酸循环还将黄素腺嘌呤二核苷酸或FAD还原为FADH₂;FADH₂也参与氧化磷酸化。

[0005] 由NADH+H⁺氧化释放的电子穿梭于被称为线粒体呼吸链的一系列蛋白复合物(复合物I、复合物II、复合物III和复合物IV)中。所述这些复合物被嵌入所述线粒体的内膜中。复合物IV,在所述链的末端,将所述电子转移至氧原子上,所述氧被还原成水。所述这些电子穿过所述复合物释放的能量用于产生穿过所述线粒体内膜的质子梯度,其产生穿过所述内膜的电化学势。另一蛋白复合物,复合物V(其与复合物I、II、III、和IV不直接相关)使用电化学梯度储存的能量将ADP转化为ATP。

[0006] 当生物体中的细胞暂时脱氧时,使用厌氧呼吸,直至氧气再次可用或细胞死亡。糖酵解过程中产生的丙酮酸/根在厌氧呼吸期间转化为乳酸/根。当氧气不能供应给肌肉细胞时,认为乳酸的积聚将导致在强烈活动期间肌肉的疲劳。当氧气再次变得可用时,所述乳酸/根转化回丙酮酸/根用于氧化磷酸化。

[0007] 氧中毒或氧毒性是由高浓度的氧引起的,所述高浓度的氧可能对身体有害,并增加自由基和其他结构如一氧化氮、过氧亚硝基和过三氧化氢的形成。一般而言,身体有许多防御系统可抵御此类损害,但在较高的游离氧浓度下,所述这些系统最终会随着时间的流

逝而不堪重负,并且细胞膜损伤的速率超过控制或修复细胞膜系统的能力。然后导致细胞损伤和细胞死亡。

[0008] 将氧输送至组织中的定性和/或定量破坏导致红细胞功能的能量破坏,并导致各种疾病如血红蛋白病。血红蛋白病是一种遗传缺陷,其导致血红蛋白分子的球蛋白链中的一个的异常结构。常见的血红蛋白病包括地中海贫血和镰状细胞病。地中海贫血是遗传性常染色体隐性血液病。在地中海贫血中,遗传缺陷导致构成血红蛋白的球蛋白链中的一个的合成速率降低。尽管地中海贫血是合成的珠蛋白太少的定量问题,但镰状细胞病是合成功能不正确的球蛋白的定性问题。镰状细胞病是以红细胞呈现异常、僵硬、和镰刀状为特征的血液病。镰刀状会降低细胞的灵活性,并导致其通过血管的限制性运动,剥夺下游组织的氧。

[0009] 线粒体功能障碍导致各种疾病状态。一些线粒体疾病是缘于线粒体基因组中的突变或缺失。如果细胞中线粒体的阈值比例有缺陷,并且如果组织内的这种细胞的阈值比例具有缺陷的线粒体,则可能导致组织或器官功能障碍的症状。实际上,任何组织均可受到影响,并且可出现各种各样的症状,这取决于涉及不同组织的程度。一些线粒体疾病的实例包括弗里德里希(Friedreich's)共济失调(FRDA),莱伯氏(Leber's)遗传性视神经病变(LHON),线粒体肌病、脑病、乳酸性酸中毒(Lactacidosis)、和卒中样发作(MELAS),肌阵挛性癫痫发作伴破碎红纤维综合征(MERRF),Leigh综合征(亚急性坏死性脑病,Leigh Syndrome)和呼吸链障碍。大多数线粒体疾病涉及显示加速老化症状和体征,包括神经退行性疾病、中风、失明、听力障碍、视力障碍、糖尿病、和心力衰竭的儿童。

[0010] 弗里德里希(Friedreich's)共济失调是由共济蛋白(Frataxin)水平降低引起的常染色体隐性神经退行性和心脏代谢障碍。所述疾病导致自愿运动协调(共济失调)逐渐丧失和心脏并发症。症状通常在儿童期开始,并随着患者年龄的增长,疾病逐渐恶化;由于运动障碍,患者最终变得需要坐轮椅。

[0011] 莱伯氏(Leber's)遗传性视神经病变(LHON)是以失明为特征的疾病,平均发病年龄在27至34岁之间。也可能发生其他症状,如心脏异常和神经系统并发症。

[0012] 线粒体肌病、脑病、乳酸性酸中毒(Lactacidosis)、和卒中样发作(MELAS)可在婴儿、儿童或年轻成年人身上体现。伴有呕吐和癫痫发作的中风是最严重的症状之一;假定大脑某些区域的线粒体代谢损伤是造成细胞死亡和神经损伤的原因,而不是缺血性卒中引起的血液流失的损伤。

[0013] 肌阵挛性癫痫发作伴破碎红纤维综合征(MERRF)是一类称为线粒体脑病的罕见肌肉疾病中的一种。线粒体脑病是遗传物质中的缺陷产生可释放能量(线粒体)的一部分细胞结构的疾病。这可能导致脑和肌肉(脑肌病)的功能障碍。线粒体缺陷以及“破碎红色纤维”(在显微镜下观察时,组织的异常)总是存在的。MERRF综合症最典型的症状是肌阵挛性癫痫发作,其通常是突发性的、短暂的、可能影响四肢或全身痉挛的痉挛性的、言语困难(构音障碍)、视神经萎缩、身材矮小、听力损失、痴呆,且还可能发生眼睛的不自觉抽搐(眼球震颤)。

[0014] Leigh综合征(亚急性坏死性脑病,Leigh Syndrome)是以中枢神经系统变性为特征的罕见的遗传性神经系统代谢紊乱,其中所述症状通常在年龄为3个月至2岁之间开始,且迅速发展。在大多数儿童中,第一个迹象可能是吸吮能力差,以及丧失头部控制和运动技能。所述这些症状可能伴有食欲不振、呕吐、烦躁不安、连续哭泣、和癫痫发作。随着疾病的

进展,症状还可能包括全身性虚弱、肌肉紧张不足、和乳酸性酸中毒发作,其可导致呼吸和肾功能损伤。还可能发生心脏问题。

[0015] 辅酶Q10缺乏症是一种呼吸系统障碍,伴有综合征如运动不耐受和表现为共济失调的尿失禁的复发性肌红蛋白的肌病、癫痫发作或精神发育迟滞、和导致肾衰竭等 (Di Mauro et al., (2005) *Neuromusc.Disord.*, 15:311-315, “Childhood-onset cerebellar ataxia and cerebellar atrophy,” (Masumeci et al., (2001)

[0016] *Neurology* 56:849-855和Lamperti et al., (2003) 60:1206:1208)); 和与肾病相关的小儿脑肌病。辅酶Q10缺乏症患者的肌肉匀浆的生物化学测定显示呼吸链复合物I和II+III的活性严重降低,而复合IV (COX) 中度降低 (Gempel et al., (2007) *Brain*, 130 (8) : 2037-2044)。

[0017] 复合物I缺乏症或NADH脱氢酶NADH-CoQ还原酶缺乏症是一种呼吸链障碍,伴随症状分为三种主要形式: (1) 以发育迟缓、肌无力、心脏病、先天性乳酸性酸中毒、和呼吸衰竭为特征的致命性小儿多系统疾病; (2) 从幼年或成人生活开始的肌病,表现为运动不耐受或虚弱;和 (3) 线粒体性脑肌病 (包括MELAS), 其可能在幼年或成人中开始,包括症状和体征的可变组合,所述症状和体征包括眼肌麻痹、癫痫发作、痴呆、共济失调、听力损失、色素性视网膜病变、感觉神经病变、和不可控制的运动。

[0018] 复合物II缺乏症或琥珀酸脱氢酶缺乏症是伴有包括脑肌病和各种表现形式包括发育停滞、发育迟缓、张力减退、嗜睡、呼吸衰竭、共济失调、肌阵挛和乳酸性酸中毒症状的呼吸链障碍。

[0019] 复合体III缺乏症或泛醌-细胞色素C氧化还原酶缺乏症是一种呼吸链障碍,其伴有症状分为四种主要形式: (1) 致命性小儿脑肌病、先天性乳酸性酸中毒、张力减退、营养不良的姿态、癫痫发作、和昏迷; (2) 后期发病的脑肌病 (幼年至成人): 身体虚弱、身材矮小、共济失调、痴呆、听力损失、感觉神经病变、色素性视网膜病变、和锥体束征的各种组合; (3) 肌病,伴有运动不耐症受变为定点无力;和 (4) 小儿组织细胞样心肌病。

[0020] 复合物IV缺乏症或细胞色素C氧化酶缺乏症是一种呼吸链障碍,其伴有症状分为两种主要形式: (1) 脑肌病,其中患者通常在生命的头6至12个月正常,然后显示发育退化、共济失调、乳酸性酸中毒、视神经萎缩、眼肌麻痹、眼球震颤、肌张力障碍、锥体束征、呼吸问题和频繁癫痫发作;和 (2) 具有两种主要变体的肌病: (a) 可能在出生后不久便会出现的致命性小儿肌病,且伴有张力减退、无力、乳酸性酸中毒、破碎红色纤维、呼吸衰竭和肾脏问题;和 (b) 可能在出生后不久便会出现的良性小儿肌病,且伴有张力减退、无力、乳酸性酸中毒、破碎红色纤维,呼吸系统问题,但 (如果小孩存活) 随后自发改善。

[0021] 复合物V缺乏症或ATP合酶缺乏症是包括诸如缓慢进行性肌病等症状的呼吸链障碍。

[0022] CPEO或慢性进行性眼外肌麻痹综合征是包括诸如视觉肌病、色素性视网膜炎、或中枢神经系统功能障碍等症状的呼吸链障碍。

[0023] 卡恩斯-塞尔 (Kearns-Sayre) 综合征 (KSS) 是特征为三联征的线粒体疾病,所述三联征包括: (1) 典型发病人群年龄在20岁以下; (2) 慢性、进行性、眼外肌麻痹;和 (3) 视网膜色素变性。此外, KSS可能包括心脏传导缺陷、小脑共济失调、和升高的脑脊液 (CSF) 蛋白水平 (例如, >100mg/dL)。与KSS相关的其他特征可能包括肌病、肌张力障碍、内分泌功能紊乱

(例如,糖尿病、生长迟缓或身材矮小、甲状旁腺功能减退)、双侧感觉神经性耳聋、痴呆、白内障、和近端肾小管性酸中毒。

[0024] 母体遗传性糖尿病和耳聋(MIDD)是以母方传播的糖尿病和感觉神经性耳聋为特征的线粒体疾病。在大多情况下,MIDD是由线粒体基因MT-TL1中的点突变引起,编码亮氨酸的线粒体tRNA,并且在极少数情况下,在MT-TE和MT-TK基因中分别编码谷氨酸和赖氨酸的线粒体tRNA。

[0025] 除了涉及遗传性缺陷线粒体的先天性疾病之外,获得性线粒体功能障碍导致疾病,特别是与老年化相关的神经退行性疾病,如帕金森病、阿尔茨海默病和亨廷顿病。线粒体DNA中体细胞突变的发生率随年龄增长呈指数级上升;呼吸链活动的减少普遍存在于老龄化人群中。线粒体功能障碍还涉及兴奋性、神经元损伤,如与脑血管意外、癫痫发作和局部缺血有关的损伤。

[0026] 一些上述疾病似乎是由呼吸链复合物I中的缺陷引起的。从复合物I转移至所述呼吸链其余部分的电子由化合物辅酶Q(也称为泛醌)介导。氧化型辅酶Q($\text{CoQ}_{\text{氧化}}$ 或泛醌)被复合物I还原为还原型辅酶Q($\text{CoQ}_{\text{还原}}$ 或泛醇)。然后,还原型辅酶Q将其电子转移至所述呼吸链的复合物III上,其中所述还原型辅酶Q再次氧化成 $\text{CoQ}_{\text{氧化}}$ (泛醌)。然后 $\text{CoQ}_{\text{氧化}}$ 可以参与电子转移的进一步迭代。

[0027] 极少数治疗可用于患所述这些线粒体疾病的患者。最近,化合物艾地苯醌已被提出用于治疗弗里德里希(Friedreich's)共济失调。虽然艾地苯醌的临床效果一直相对较小,但线粒体疾病的并发症可能非常严重,以至于即使是轻微有用的治疗方法比未经治疗的疾病更可取。已经提出另一种化合物MitoQ用于治疗线粒体疾病(参见,美国专利号7,179,928);MitoQ的临床结果尚未报道。辅酶Q10(CoQ_{10})和维生素补充剂的施用仅在KSS的个别情况下显示出短暂的有益效果。 CoQ_{10} 补充剂也用于治疗 CoQ_{10} 缺乏症,结果不一致。

[0028] 怀疑氧化应激在神经退行性疾病如运动神经元疾病、肌萎缩性侧索硬化症(ALS)、克雅氏(Creutzfeldt-Jakob)病、马查多-约瑟夫(Machado-Joseph)病、脊髓小脑性共济失调、多发性硬化症(MS)、帕金森病、阿尔茨海默症、和亨廷顿氏病中非常重要。氧化应激被认为与某些心血管疾病有关,并且由于缺氧后的氧再灌注损伤也在缺血性级联中起作用。所述级联包括中风和心脏病发作两种。

[0029] 损伤累积理论,也称为衰老的自由基理论,引发了在需氧代谢过程中产生的自由基的随机作用,所述需氧代谢导致DNA、脂质和蛋白的损伤并随时间累积。自由基在衰老过程中发挥作用的概念首次介绍在Himan D(1956),“Aging-A theory based on free-radical and radiation chemistry,”J.Gerontol.11,298-300中。

[0030] 根据衰老的自由基理论,衰老过程开始于氧代谢(Valko et al, (2004),“Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence,”Mol.Cell.Biochem.,266,37-56)。即使在理想条件下,一些电子可从电子传输链“泄漏”。所述这些泄漏的电子与氧相互作用,从而产生超氧自由基,使得在生理条件下,线粒体中约1-3%的氧分子转化为超氧化物。来自超氧化物自由基的自由基氧损伤的主要部位是线粒体DNA(mtDNA)(Cadenas et al., (2000) Mitochondrial free radical generation, oxidative stress and aging, FreeRadic. Res, 28, 601-609)。细胞修复核DNA(nDNA)的大量损伤,但mtDNA修复似乎效率较低。因此,广泛的mtDNA损伤随着时间的推移而累积,并且关闭线粒体,导致细胞死亡和使生

物体衰老。

[0031] 一些与年龄增长相关的疾病是癌症,糖尿病,高血压,动脉粥样硬化,局部缺血/再灌注损伤,类风湿性关节炎,神经退行性疾病如痴呆、阿尔茨海默症和帕金森病。由衰老的生理衰退过程引起的疾病或症状包括肌力下降、心肺功能、视力和听力下降以及起皱纹的皮肤和变灰的头发。

[0032] 调节能量的生物生产的能力具有超越上述疾病的应用。各种其他疾病可导致次优水平的能量生物标记(有时也称为能量功能指标),如ATP水平。还需治疗所述这些疾病,以便调节一种或多种能量生物标记,从而改善患者健康。在其他应用中,可能需要在未患疾病的个体中调节某些远离其正常值的能量生物标记。譬如,如果个体正在经历非常艰巨的任务,那么提高所述个体的ATP水平是可取的。

[0033] 药物的某些多晶型或无定形形式相对其它形式可具有更有利的特征;譬如,提高的稳定性,增加的溶解度,更好的操作性能,缺乏相关的有毒溶剂、和提高的纯度。

[0034] PCT申请号为PCT/US2008/082374,于2009年5月14日公开出版为W0 2009/061744中的实施例16,描述了外消旋2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的合成;但此实施例没有具体描述2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺或其任何特定的立体异构体的任何特定的多晶型或无定形形式的合成。

发明摘要

[0035] 本发明的其中一个方面涉及(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的无水物、水合物、或溶剂化物的多晶型物,其中所述多晶型物是选自由本发明所述I型、II型、III型、IV型、V型、和VI型组成的组。

[0036] 本发明的另一方面涉及(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的无水物的多晶型物,其中所述多晶型物是本发明所述的I型。在一些实施方案,所述多晶型物具有基本上如图10所示的X射线粉末衍射图。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:12.06、17.03、和17.26。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:12.06、17.03、和17.26。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:12.06、15.33、17.03、和17.26。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:12.06、15.33、17.03、17.26、和18.72。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:12.06、15.33、17.03、17.26、和18.72。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:7.67、10.75、12.06、15.33、16.41、17.03、17.26、18.72、20.04、和23.92。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:7.67、10.75、12.06、15.33、16.41、17.03、17.26、18.72、20.04、20.64、20.91、21.14、22.58、23.13、23.92、24.19、24.53、27.21、和27.56。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含在

以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:5.48、7.67、10.75、12.06、15.33、16.41、17.03、17.26、17.71、17.94、18.40、18.72、19.51、20.04、20.64、20.91、21.14、21.55、21.91、22.25、22.58、23.13、23.41、23.92、24.19、24.53、25.64、26.13、26.34、27.21、27.56、28.01、29.04、和29.46。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述角位置可以有 ± 0.1 的变化。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述角位置可以有 ± 0.05 的变化。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述角位置可以有 ± 0.02 的变化。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述多晶型物是分离的。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述多晶型物存在于组合物中,其中所述组合物基本上不含II-VI型,其中II-VI型分别描述于表A或表3-7中。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述多晶型物存在于组合物中,其中所述组合物的至少约95摩尔%是所述多晶型物,任何溶剂、载体或辅料不计算在内。

[0037] 本发明的另一方面涉及(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的溶剂合物的多晶型物,其中所述多晶型物是本发明所述的V型。在一些实施方案,所述多晶型物具有基本上如图30的a)或b)所示的X射线粉末衍射图。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:9.61、11.49、和15.45。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:9.61、11.49、和15.45。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:9.61、11.49、15.45、和23.96。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:9.61、11.49、14.80、15.45、和23.96。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:9.61、11.49、12.93、15.45、和26.05。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:9.61、11.49、12.93、14.80、15.45、16.53、23.96、24.54、和26.05。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:9.61、11.49、12.93、14.80、15.45、16.10、16.34、16.53、20.18、22.52、22.86、23.96、24.54、和26.05。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:6.91、7.72、9.61、11.49、11.86、12.93、13.19、13.87、14.80、15.45、16.10、16.34、16.53、17.14、17.85、19.12、19.85、20.18、21.00、22.06、22.52、22.86、23.09、23.96、24.54、25.26、26.05、和26.90。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述角位置可以有 ± 0.1 的变化。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述角位置可以有 ± 0.05 的变化。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述角位置可以有 ± 0.02 的变化。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述多晶型物是分离的。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述多晶型物存在于组合物中,其中所述组合物基本上不含I-IV和VI型,其中I-IV和VI型分别描述于表A或表2或表4-7中。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述多晶型物存在于组合物中,其中所述组合物的至少约95摩尔%是所述多晶型物,任何溶剂、载体或辅料不计算在内。

[0038] 本发明的另一方面涉及(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,

4-二烯基)丁酰胺的水合物的多晶型物,其中所述多晶型物是本发明所述的III型。在一些实施方案,所述多晶型物具有基本上如图20的a)或b)所示的X射线粉末衍射图。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:14.02、15.23、和21.10。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:14.02、15.23、和21.10。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:9.16、14.02、15.23、和21.10。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:9.16、13.74、14.02、15.23、和21.10。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:9.16、14.02、15.23、21.10、和22.69。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:9.16、11.81、13.74、14.02、15.23、21.10、22.69、和23.90。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:9.16、11.81、13.74、14.02、15.23、17.35、21.10、22.69、23.15、23.90、和26.10。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:9.16、11.53、11.81、12.68、12.93、13.74、14.02、15.23、16.53、17.35、17.98、18.54、19.09、20.23、21.10、21.93、22.69、23.15、23.50、23.90、24.65、25.09、25.46、25.79、26.10、27.79、28.22、28.93、和29.33。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述角位置可以有 ± 0.1 的变化。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述角位置可以有 ± 0.05 的变化。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述角位置可以有 ± 0.02 的变化。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述多晶型物是分离的。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述多晶型物存在于组合物中,其中所述组合物基本上不含I、II、IV、V、和VI型,其中I、II、IV、V、和VI型分别描述于表A或表2-3和表5-7中。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述多晶型物存在于组合物中,其中所述组合物的至少约95摩尔%是所述多晶型物,任何溶剂、载体或辅料不计算在内。

[0039] 本发明的另一方面涉及(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的无水物的多晶型物,其中所述多晶型物是本发明所述的II型。在一些实施方案,所述多晶型物具有基本上如图15的a)、或b)所示的X射线粉末衍射图。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:9.63、11.33、和19.33。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:9.63、11.33、和19.33。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:9.63、11.33、10.85、和19.33。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:9.63、11.33、10.85、19.33、和17.3。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:9.63、10.85、11.33、13.47、和19.33。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:5.76、8.04、9.63、

10.85、11.33、11.97、13.47、14.75、17.37、17.71、和19.33。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化: 5.76、8.04、9.63、10.85、11.33、11.97、13.47、14.75、16.42、16.89、17.37、17.71、19.33、22.89、和24.59。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化: 5.76、6.72、7.57、8.04、9.63、10.85、11.33、11.97、12.38、13.13、13.47、14.75、15.28、16.42、16.89、17.37、17.71、18.17、18.66、19.33、20.01、20.29、20.67、20.90、21.36、21.54、21.80、22.55、22.89、23.27、23.54、23.87、24.35、24.59、24.87、25.29、25.55、25.89、26.44、27.49、28.01、28.39、和29.17。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述角位置可以有 ± 0.1 的变化。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述角位置可以有 ± 0.05 的变化。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述角位置可以有 ± 0.02 的变化。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述多晶型物是分离的。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述多晶型物存在于组合物中,其中所述组合物基本上不含I、和III-VI型,其中I、和III-VI型分别描述于表A或表2-4和表6-7中。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述多晶型物存在于组合物中,其中所述组合物的至少约95摩尔%是所述多晶型物,任何溶剂、载体或辅料不计算在内。

[0040] 本发明的另一方面涉及(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的溶剂化物的多晶型物,其中所述多晶型物是本发明所述的IV型。在一些实施方案,所述多晶型物具有基本上如图25的a)、b)或c)所示的X射线粉末衍射图。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化: 4.31、12.97、和13.20。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化: 4.31、12.97、和13.20。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化: 4.31、8.76、12.97、和13.20。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化: 4.31、8.76、12.97、13.20、和16.66。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化: 4.31、8.76、12.97、13.20、和16.66。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化: 4.31、7.94、8.76、12.97、13.20、16.66、17.33、和20.57。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化: 4.31、7.94、8.76、12.97、13.20、15.08、16.66、17.33、19.09、20.57、和21.58。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化: 4.31、5.77、6.28、7.53、7.94、8.76、9.39、9.87、10.54、11.07、11.68、12.02、12.28、12.97、13.20、13.52、14.40、15.08、15.90、16.66、16.96、17.33、17.59、18.77、19.09、19.74、20.27、20.57、21.09、21.58、22.81、23.23、24.01、24.65、和25.60。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述角位置可以有 ± 0.1 的变化。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述角位置可以有 ± 0.05 的变化。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述角位置可以有 ± 0.02 的变化。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述多晶型物是分离

的。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述多晶型物存在于组合物中,其中所述组合物基本上不含I-III和V-VI型,其中I-III和V-VI型分别描述于表A或表2-5和表7中。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述多晶型物存在于组合物中,其中所述组合物的至少约95摩尔%是所述多晶型物,任何溶剂、载体或辅料不计算在内。

[0041] 本发明的另一方面涉及(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的溶剂化物的多晶型物,其中所述多晶型物是本发明所述的VI型。在一些实施方案,所述多晶型物具有基本上如图33的a)所示的X射线粉末衍射图。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:6.27、9.91、和12.94。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:6.27、9.91、和12.94。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:6.27、9.91、12.94、和15.71。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含至少在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:6.27、9.91、12.94、15.71、和19.13。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:6.27、9.41、9.91、12.94、和13.29。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:6.27、8.85、9.41、9.91、12.94、13.29、16.67、和19.13。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:4.39、6.27、8.85、9.41、9.91、11.32、12.94、13.29、14.03、16.67、19.13、20.76、和22.06。在一些实施方案,所述多晶型物的X射线粉末衍射图包含在以下角位置处的特征峰,其中所述角位置可以有 ± 0.2 的变化:4.39、6.27、7.00、8.62、8.85、9.41、9.91、11.32、11.50、12.25、12.56、12.94、13.29、14.03、14.82、15.10、15.44、15.71、16.01、16.67、16.91、17.33、17.59、18.33、18.75、19.13、20.25、20.76、21.68、22.06、22.27、22.61、22.94、24.01、24.33、24.65、25.48、26.05、28.63、和29.18。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述角位置可以有 ± 0.1 的变化。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述角位置可以有 ± 0.05 的变化。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述角位置可以有 ± 0.02 的变化。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述多晶型物是分离的。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述多晶型物存在于组合物中,其中所述组合物基本上不含I-V型,其中I-V型分别描述于表A或表2-6中。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述多晶型物存在于组合物中,其中所述组合物的至少约95摩尔%是所述多晶型物,任何溶剂、载体或辅料不计算在内。

[0042] 本发明的另一方面涉及包含无定形(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的组合物。在一些实施方案,所述无定形式是分离的。在一些实施方案,所述组合物基本上不含I-VI型,其中I-VI型分别描述于表A或表2-7中。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,至少约95%的所述组合物的是无定形(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺,任何溶剂、载体或辅料不计算在内。

[0043] 本发明的另一方面涉及药物组合物,所述药物组合物包含(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的无水物、水合物、或溶剂化物的多晶

型或无定形形式,或包含本发明所述、包括任何前述或后述实施方案所述的此形式的组合物,和药学上可接受的载体。在一些实施方案,所述形式是I型多晶型物。在一些实施方案,所述形式是II型多晶型物。在一些实施方案,所述形式是III型多晶型物。在一些实施方案,所述形式是IV型多晶型物。在一些实施方案,所述形式是V型多晶型物。在一些实施方案,所述形式是VI型多晶型物。在一些实施方案,所述形式是无定形。在一些实施方案,所述药物组合物具有HPLC纯度大于约95%的(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的无水物、水合物、或溶剂化物,任何溶剂、载体或辅料不计算在内。在一些实施方案,所述药物组合物具有HPLC纯度大于约99%的(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的无水物、水合物、或溶剂化物,任何溶剂、载体或辅料不计算在内。在一些实施方案,所述药物组合物具有HPLC纯度大于约99.9%的(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的无水物、水合物、或溶剂化物,任何溶剂、载体或辅料不计算在内。HPLC纯度%是指给定化合物的HPLC峰面积相对于给定HPLC光谱中所有峰面积的比例。HPLC%是通过将化合物峰面积除以在HPLC光谱中所有峰面积,并将所得商乘以一百进行计算的。

[0044] 本发明的另一方面涉及药物组合物,所述药物组合物包含活性药物和药学上可接受的载体,其中所述活性药物包含,或基本上包含本发明所述(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的无水物、水合物、或溶剂化物的多晶型或无定形形式。在一些实施方案,所述形式是I型多晶型物。在一些实施方案,所述形式是II型多晶型物。在一些实施方案,所述形式是III型多晶型物。在一些实施方案,所述形式是IV型多晶型物。在一些实施方案,所述形式是V型多晶型物。在一些实施方案,所述形式是VI型多晶型物。在一些实施方案,所述形式是无定形。

[0045] 本发明的另一方面涉及治疗或抑制氧化应激障碍,调节一种或多种能量生物标记、使一种或多种能量生物标记正常化,或增强一种或多种能量生物标记的方法,所述方法包含对有需要的个体施用治疗有效量或有效量的(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的无水物、水合物、或溶剂化物的多晶型或无定形形式,或包含本发明所述、包括任何前述或后述实施方案所述的此形式的组合物。所述方法可使用本发明所述的任何单个多晶型或无定形形式,或其组合。在一些实施方案,所述形式是I型多晶型物。在一些实施方案,所述形式是II型多晶型物。在一些实施方案,所述形式是III型多晶型物。在一些实施方案,所述形式是IV型多晶型物。在一些实施方案,所述形式是V型多晶型物。在一些实施方案,所述形式是VI型多晶型物。在一些实施方案,所述形式是无定形。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的所述无水物、水合物、或溶剂化物施用在药物组合物中,所述药物组合物包含所述多晶型或无定形形式和药学上可接受的载体。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述药物组合物包含基本上为(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的所述无水物、水合物、或溶剂化物的多晶型或无定形形式的活性成分。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述方法是治疗或抑制氧化应激障碍的方法。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述方法是治疗氧化应激障碍的方法。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述方法是抑制氧化应激障碍的方法。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述氧化应激障碍是选自由以下组成的组:线粒体疾

病;遗传性线粒体疾病;阿尔珀斯(Alpers)病;巴氏(Barth)综合征; β 氧化缺陷;肉碱-酰基-肉碱缺乏症;肉碱缺乏症;肌酸虚证;辅酶Q10缺乏症;复合物I缺乏症;复合物II缺乏症;复合物III缺乏症;复合物IV缺乏症;复合物V缺乏症;COX缺乏症;慢性进行性眼外肌麻痹(CPEO);CPT I缺乏症;CPT II缺乏症;弗里德里希(Friedreich)共济失调(FA);戊二酸尿症II型;卡恩斯-塞尔(Kearns-Sayre)综合征(KSS);乳酸酸中毒;长链酰基辅酶A脱氢酶缺乏症(LCAD);LCHAD;Leigh综合征(亚急性坏死性脑病,Leigh Syndrome);Leigh样综合征;莱伯氏(Leber's)遗传性视神经病变(LHON);致命性小儿心肌病(LIC);勒夫特病(LuftDisease);多种酰基辅酶A脱氢酶缺乏症(MAD);中链酰基辅酶A脱氢酶缺乏症(MCAD);线粒体肌病,脑病,乳酸性酸中毒(Lactacidosis),卒中样发作(MELAS);肌阵挛性癫痫发作伴破碎红纤维(MERRF);线粒体隐性遗传性共济失调综合征(MIRAS);线粒体细胞病,线粒体DNA耗竭;线粒体脑病;线粒体肌病;线粒体神经消化道脑肌病(MNGIE);神经病,共济失调,和视网膜色素变性(NARP);皮尔森综合征;丙酮酸羧化酶缺乏症;丙酮酸脱氢酶缺乏症;POLG突变;呼吸链紊乱;短链酰基辅酶A脱氢酶缺乏症(SCAD);SCHAD;极长链酰基辅酶A脱氢酶缺乏症(VLCAD);肌病;心肌病;脑肌病;神经退行性疾病;帕金森病;阿尔茨海默症;肌萎缩性侧索硬化症(ALS);运动神经元病;神经系统疾病;癫痫;年龄相关的疾病;黄斑变性;糖尿病;代谢综合征;癌症;脑癌;遗传性疾病;亨廷顿病;情绪障碍;精神分裂症;双相情感障碍;广泛性发育障碍;自闭症;亚斯伯格症候群(Asperger's syndrome);儿童崩解症(CDD);雷特障碍(Rett's disorder);未具体归类的PDD(PDD-NOS);脑血管意外;中风;视觉障碍;视神经病变;显性遗传性青少年视神经萎缩;毒性药物引起的视神经病变;青光眼;斯特格氏黄斑营养不良(Stargardt's macular dystrophy);糖尿病视网膜病变;糖尿病性黄斑病变;早产儿视网膜病变;缺血再灌注相关的视网膜损伤;氧中毒;血红蛋白病;地中海贫血;镰状细胞性贫血;癫痫发作;局部缺血;肾小管酸中毒;注意力缺陷/多动障碍(ADHD);导致听力或平衡障碍的神经退行性疾病;显性视神经萎缩(DOA);母系遗传的糖尿病和耳聋(MIDD);慢性疲劳;造影剂引起的肾脏损伤;造影剂引起的视网膜病变损伤;无 β 脂蛋白血症;视网膜萎缩;Wolfram疾病;杜尔雷斯综合征(Tourette syndrome);钴胺素C缺陷;甲基丙二酸尿症;胶质母细胞瘤;唐氏综合征;急性肾小管坏死;肌营养不良症;脑白质营养不良症;进行性核上性麻痹;脊髓性肌萎缩症;听力损失;噪声性听力损失;创伤性脑损伤;少年亨廷顿病;多发性硬化症;NGLY1;多系统萎缩症;肾上腺脑白质营养不良;和肾上腺脊髓神经病。在一些实施方案,所述氧化应激障碍是多系统萎缩症。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述氧化应激障碍是癌症。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述氧化应激障碍是双相情感障碍。在一些实施方案,所述氧化应激障碍是精神分裂症。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述氧化应激障碍是年龄相关的疾病。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述氧化应激障碍是亨廷顿病。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述氧化应激障碍是阿尔茨海默症。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述氧化应激障碍是肌萎缩性侧索硬化症(ALS)。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述氧化应激障碍是癫痫。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述氧化应激障碍是帕金森病。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述氧化应激障碍是癫痫发作。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述氧化应激障碍是中风。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述氧化应激障碍是线粒体肌病。在一些实施方案,包括任何前述实施方

案,所述氧化应激障碍是遗传性线粒体疾病。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述氧化应激障碍是弗里德里希 (Friedreich) 共济失调 (FA)。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述氧化应激障碍是卡恩斯-塞尔 (Kearns-Sayre) 综合征 (KSS)。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述氧化应激障碍是Leigh综合征 (亚急性坏死性脑病, Leigh Syndrome) 或Leigh样综合征。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述氧化应激障碍是莱伯氏 (Leber's) 遗传性视神经病变 (LHON)。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述氧化应激障碍是线粒体肌病,脑病,乳酸性酸中毒 (Lactacidosis),卒中样发作 (MELAS)。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述氧化应激障碍是肌阵挛性癫痫发作伴破碎红纤维 (MERRF)。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述氧化应激障碍是黄斑变性。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述氧化应激障碍是脑癌。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述氧化应激障碍是自闭症。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述氧化应激障碍是雷特障碍 (Rett's disorder)。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述氧化应激障碍是母系遗传性糖尿病和耳聋 (MIDD)。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述氧化应激障碍是慢性疲劳。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述氧化应激障碍是造影剂引起的肾脏损伤。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述氧化应激障碍是造影剂引起的视网膜病变损伤。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述氧化应激障碍是钴胺素C缺陷。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述方法是调节一种或多种能量生物标记、使一种或多种能量生物标记正常化,或增强一种或多种能量生物标记的方法,其中所述一种或多种能量生物标记是选自以下组成的组:在全血、血浆、脑脊液,或在脑室液中,乳酸(乳酸根)水平;在全血、血浆、脑脊液或在脑室液中,丙酮酸(丙酮酸根)水平;在全血、血浆、脑脊液或在脑室液中,乳酸/根/丙酮酸/根比率;在全血、血浆、脑脊液或在脑室液中,总的、还原或氧化的谷胱甘肽水平或还原/氧化的谷胱甘肽比率;在全血、血浆、脑脊液或在脑室液中,总的、还原或氧化的半胱氨酸水平或还原/氧化的半胱氨酸比率;磷酸肌酸水平,NADH (NADH+H⁺) 水平;NADPH (NADPH+H⁺) 水平;NAD水平;NADP水平;ATP水平;还原型辅酶Q (CoQ_{还原}) 水平;氧化型辅酶Q (CoQ_{氧化}) 水平;总辅酶Q (CoQ_总) 水平;氧化细胞色素C水平;还原细胞色素C水平;氧化细胞色素C/还原细胞色素C的比率;乙酰乙酸/根水平, β -羟基丙酮酸/根水平,乙酰乙酸/根/ β -羟基丙酮酸/根的比率,8-羟基-2'-脱氧鸟苷 (8-OHdG) 水平;活性氧类物质的水平;耗氧量水平 (VO₂);二氧化碳排放量水平 (VC0₂);呼吸商 (VC0₂/VO₂);运动耐量;和无氧阈值。能量生物标记可在全血、血浆、脑脊液、脑室液、动脉血、静脉血、或任何其他体液、体气、或用于此类测定的其他生物样本中进行测定。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述水平被调节至健康受试者的值的约2个标准偏差内的值。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述水平被调节至健康受试者的值的约1个标准偏差内的值。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,在调节之前,所述水平有至少约10%高于或低于所述受试者水平的变化。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,在调节之前,所述水平有至少约20%高于或低于所述受试者水平的变化。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,在调节之前,所述水平有至少约30%高于或低于所述受试者水平的变化。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,在调节之前,所述水平有至少约40%高于或低于所述受试者水平的变化。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,在调节之前,所述水平有至少约50%高于或低于所述受试者水平的变化。在一些实施方

案,包括任何前述实施方案,在调节之前,所述水平有至少约75%高于或低于所述受试者水平的变化。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,在调节之前,所述水平有至少约100%高于或至少约90%低于所述受试者水平的变化。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,进行治疗或抑制氧化应激障碍,调节一种或多种能量生物标记、使一种或多种能量生物标记正常化,或增强一种或多种能量生物标记的方法的所述受试者或对象是选自以下组成的组的受试者/对象:经历剧烈或长时间身体活动的受试者;患有慢性能量问题的受试者;患有慢性呼吸问题的受试者;孕妇;临产孕妇;新生儿;早产新生儿;暴露在极端环境下的受试者;暴露于热环境下的受试者;暴露在冷环境下的受试者;暴露在低于平均氧含量环境下的受试者;暴露在高于二氧化碳平均含量环境下的受试者;暴露在受空气污染程度高于平均水平环境下的受试者;航空旅客;飞行人员;高海拔地区的受试者;城市空气质量低于平均水平的城市人群;在空气质量下降的封闭环境中工作的人员;肺部疾病患者;肺容量低于平均值的受试者;结核患者;肺癌患者;肺气肿患者;囊性纤维化患者;从手术中恢复的患者;从病中康复的人员;老年人;经历能量减少的老年人;遭受慢性疲劳的受试者;遭受慢性疲劳综合征的受试者;急性创伤受试者;休克中的受试者;需要急性氧疗的受试者;需要慢性氧疗的受试者;造影溶液要求器官可视化的受试者;或其他具有急性、慢性或持续性能量需求的受试者,他们可以从增强能量生物标记中获益。

[0046] 本发明的另一方面涉及本发明、包括任何前述或后述实施方案所述的, (R) -2羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的所述无水物、水合物、或溶剂化物的多晶型或无定形式用于治疗或预防氧化应激障碍的用途。在一些实施方案,所述形式是I型多晶型物。在一些实施方案,所述形式是II型多晶型物。在一些实施方案,所述形式是III型多晶型物。在一些实施方案,所述形式是IV型多晶型物。在一些实施方案,所述形式是V型多晶型物。在一些实施方案,所述形式是VI型多晶型物。在一些实施方案,所述形式是无定形。本发明的另一方面涉及使用本发明、包括任何前述或后述实施方案所述的, (R) -2羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的无水物、水合物、或溶剂化物的多晶型或无定形式在生产用于治疗或预防氧化应激障碍中的用途。在一些实施方案,所述形式是I型多晶型物。在一些实施方案,所述形式是II型多晶型物。在一些实施方案,所述形式是III型多晶型物。在一些实施方案,所述形式是IV型多晶型物。在一些实施方案,所述形式是V型多晶型物。在一些实施方案,所述形式是VI型多晶型物。在一些实施方案,所述形式是无定形。

[0047] 对于本发明所有组合物,和使用本发明所述组合物的所有方法,所述组合物可以包含所列组分或步骤,或者可以“基本上包含”所列组分或步骤。当组合物被描述为“基本上包含”所列出的组分时,所述组合物包含所列组分,并且可以含有基本上不影响被治疗的病症的其他组分,但除了明确列出的那些组分之外,不包含基本上影响所述被治疗的病症的任何其他组分;或者,如果所述组合物的确含有除了所列出的基本上影响被治疗的病症的那些组分之外的附加组分,则所述组合物不含基本上影响所述被治疗的病症的足够浓度或量的所述附加组分。当方法被描述为“基本上包含”所列出的步骤时,所述方法包含所列步骤,并且可含有基本上不影响被治疗的病症的其他步骤,但除了明确列出的那些步骤之外,所述方法不包含基本上影响所述被治疗的病症的任何其他步骤。作为非限制性具体实例,当组合物被描述为“基本上包含”组分时,所述组合物可以额外包含任何量的药学上可接受

的载体、媒介物、或稀释剂,和基本上不影响被治疗的病症的任何此类组分。

[0048] 本发明的另一方面涉及(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的无水物的I型多晶型物的制备方法,其中所述方法包含步骤:(a)使(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺与含有IPA的液体接触;和(b)除去所述液体。在一些实施方案,步骤(a)包含将所述(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺溶解在所述液体中。在一些实施方案,步骤(a)包含将所述(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺在所述液体中制浆。在一些实施方案,步骤(a)中所述制浆进行至少约24小时。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述液体是100%IPA。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述液体是98%IPA/2%水(v/v)。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,所述方法进一步包含步骤(a)(i):向所述液体中加入庚烷。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,步骤(b)包含将所述(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺过滤。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,步骤(a)或步骤(a)(i)中的混合物可用I型晶体接种。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,步骤(a)中的所述(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的纯度是至少约95%。在各种实施方案中,包括任何前述实施方案,步骤(a)中的所述(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的纯度是至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%、至少约99.5%、或至少约99.9%。本发明的另一方面涉及由上述方法制备得到的(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的无水物。

[0049] 本发明的另一方面涉及(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的无水物的II型多晶型物的制备方法,其中所述方法包含步骤:(a)将(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺溶解在EtOAc中,(b)快速冷却由步骤(a)所得混合物,和(c)分离所述(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺。在一些实施方案,所述起始(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺是I型。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,步骤(a)是在约60℃下进行。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,步骤(b)包含在冰浴中快速冷却所述混合物。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,步骤(b)中的所述混合物可用II型晶体接种。本发明的另一方面涉及由上述方法制备得到的(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的无水物。

[0050] 本发明的另一方面涉及(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的水合物的III型多晶型物的制备方法,其中所述方法包含步骤:(a)将(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺和0.5%MC/2%吐温80的水溶液进行混合,以产生浆体;(b)将步骤(a)所得混合物制浆,和(c)除去所述0.5%MC/2%吐温80的水溶液。本发明使用的“MC”是指甲基纤维素,和“吐温80”是指商业途径可获得的聚山梨醇酯非离子型表面活性剂。在一些实施方案,所述起始(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺是I型。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,步骤(b)进行至少约24小时。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,步骤(b)是在室温下进行。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,步骤(b)中的所述混合物可用III型晶体接种。本发明的另一方面涉及由上述方法制备得到的(R)-2-羟基-2-甲基-4-

(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的溶剂化物。

[0051] 本发明的另一方面涉及(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的水合物的III型多晶型物的制备方法,其中所述方法包含步骤:(a)将(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺和0.5%MC的水溶液进行混合,以产生浆体;(b)将步骤(a)所得混合物制浆,和(c)除去所述0.5%MC的水溶液。在一些实施方案,所述起始(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺是I、II、IV、V或VI型。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,步骤(b)是在室温下进行。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,步骤(b)进行至少约7天。在一些实施方案,包括任何前述实施方案,步骤(b)中的所述混合物可用III型晶体接种。本发明的另一方面涉及由上述工艺方法制备得到的(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的溶剂化物。

附图简要说明

[0052] 图1示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺短期制浆实验的XRPD堆叠图,a)模式C,来自在0.5%甲基纤维素/2%吐温80中制浆,b)模式B,来自在四氢呋喃(THF)中制浆,和c)模式A,起始物料。

[0053] 图2示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺放大批样品的XRPD覆盖图,a)起始物料,模式A,和b)随后从2-甲基四氢呋喃(2-MeTHF)蒸发结晶后的模式D。

[0054] 图3示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺结晶实验的XRPD覆盖图,a)起始物料,模式A,b)随后从2-MeTHF(实施例4)蒸发结晶后的模式D,c)在2-MeTHF(实施例5,快速冷却)中蒸发结晶,和d)在2-MeTHF(实施例5,缓慢冷却)中蒸发结晶。

[0055] 图4示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺所有形式的XRPD堆叠图,a)起始物料,模式A,b)模式B,c)模式C,d)模式D,e)从乙酸乙酯(EtOAc)中快速冷却结晶的模式E,和f)模式F,从2-MeTHF中快速冷却结晶。

[0056] 图5示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺形式的XRPD堆叠图,a)从EtOAc(实施例5)中快速冷却结晶的模式E,和b)从EtOAc(实施例6)放大批快速冷却结晶。

[0057] 图6示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺形式的XRPD堆叠图,a)模式B,来自在THF中制浆(实施例3),和b)来自在THF中的放大批制浆(实施例6)。

[0058] 图7示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺形式的XRPD堆叠图,a)模式C,来自在0.5%甲基纤维素/2%吐温80(实施例3)中制浆,和b)来自在0.5%甲基纤维素/2%吐温80中放大批制浆(实施例6)。

[0059] 图8示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺样品的XRPD堆叠图,a)随后在0.5%甲基纤维素水溶液中竞争性制浆24小时,b)起始物料,模式A,c)模式C,和d)随后在0.5%甲基纤维素水溶液中竞争性制浆7天。

[0060] 图9示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁

酰胺样品的XRPD堆叠图,a)随后在IPA中竞争性制浆24小时,b)随后在IPA中竞争性制浆7天,c)起始物料,模式A,d)随后在异丙醇(IPA)/2%水中竞争性制浆24小时,e)在IPA/2%水中竞争性制浆7天。

[0061] 图10示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺起始物料模式A的XRPD图。

[0062] 图11示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺起始物料模式A的光学显微镜图像。

[0063] 图12示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺起始物料模式A的DSC热分析图。

[0064] 图13示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺起始物料模式A的TGA热分析图。

[0065] 图14示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺起始物料模式A的吸湿-解吸图。

[0066] 图15示出了从单溶剂快速冷却实验分离得到的(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺模式E的XRPD堆叠图,a)从50mg批次,和b)从300mg放大批。

[0067] 图16示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺模式E的光学显微镜图像。

[0068] 图17示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺模式E的DSC热分析图。

[0069] 图18示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺模式E的TGA热分析图。

[0070] 图19示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺模式E的吸湿-解吸图。

[0071] 图20示出了在0.5%甲基纤维素/2%吐温80中制浆得到的(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺模式C的XRPD堆叠图,a)从50mg批次,和b)从300mg放大批。

[0072] 图21示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺模式C的光学显微镜图像。

[0073] 图22示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺模式C的DSC热分析图。

[0074] 图23示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺模式C的TGA热分析图。

[0075] 图24示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺模式C的吸湿-解吸图。

[0076] 图25示出了在THF中制浆得到的(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺模式B的XRPD堆叠图,a)从50mg批次,和b)从300mg放大批。

[0077] 图26示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺模式B的光学显微镜图像。

[0078] 图27示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺模式B的DSC热分析图。

[0079] 图28示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺模式B的TGA热分析图。

[0080] 图29示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺模式B的吸湿-解吸图。

[0081] 图30示出在2-MeTHF中蒸发结晶得到的(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺模式D的XRPD堆叠图,a)从实施例4,b)实施例5(快速冷却),c)实施例5(缓慢冷却),和d)起始物料模式A。

[0082] 图31示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺模式D的DSC热分析图。

[0083] 图32示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺模式D的TGA热分析图。

[0084] 图33示出了在2-MeTHF中单溶剂结晶得到的(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺模式F的XRPD堆叠图,a)从实施例6,b)随后吸湿分析(从实施例6得到的模式F开始),和c)模式E。

[0085] 图34示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺模式F的光学显微镜图像。

[0086] 图35示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺模式F的DSC热分析图。

[0087] 图36示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺模式F的TGA热分析图。

[0088] 图37示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺模式F的吸湿-解吸图。

[0089] 图38示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的多晶型形式-相互作用图。

[0090] 图39示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺多晶型形式的XRPD堆叠图。

[0091] 图40示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺起始物料模式A的¹H NMR波谱。

[0092] 图41示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺模式B的¹H NMR波谱。

[0093] 图42示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺模式C的¹H NMR波谱。

[0094] 图43示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺模式D的¹H NMR波谱。

[0095] 图44示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺模式E的¹H NMR波谱。

[0096] 图45示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁

酰胺模式F的¹H NMR波谱。

[0097] 本发明的详细说明

[0098] 本发明包含用于治疗或抑制与氧化应激如线粒体疾病、受损的能量处理障碍、神经退行性疾病和衰老疾病等有关的疾病、发育迟缓和病症的(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的无水物、水合物、和溶剂化物的多晶型和无定形形式,和使用此类组合物用于治疗或抑制氧化应激障碍、或用于调节、使正常化或增强一种或多种(譬如,1、2、3、或更多种)能量生物标记的方法。本发明进一步包含生产制备此类多晶型和无定形形式的方法。

[0099] 本发明使用的简写词在化学和生物领域具有其常规含义,除非另有说明。

[0100] 本发明提及的“约”值或参数包括(和描述)针对所述值或参数本身的变化。譬如,涉及“约X”的描述包括“X”的描述。

[0101] 本发明使用的术语“不定冠词一种/个(a或an)”是指一个/种或多个/种,除非上下文中另有明确规定。

[0102] “受试者/对象”、“个体”、或“患者”是指个体生物体,优选脊椎动物,更优选哺乳动物,最优选人。

[0103] (R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺可以无水物、水合物、和溶剂化物形式存在。除非另有说明或上下文中另有明确指示,本发明使用的术语“(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺”包含所述化合物的无水物、水合物、和溶剂化物形式。

[0104] 当提及例如XRPD图、DSC热分析图或TGA图时,术语“基本上如……所示”包括不一定与本发明所描述那些图一致,但其均落入本领域普通技术人员考虑的实验误差或偏差的范围内。譬如,在XRPD图中,衍射图中的峰的相对强度可以变化,例如,由于样品制备条件。此外,温度的改变(当生成所述XRPD数据)可影响峰位置和形状。本发明给定的XRPD图是在室温(~25°C)下生成的。在一些实施方案,所述XRPD图是在约15°C至约30°C下生成。在一些实施方案,所述XRPD图是在约20°C至约30°C下生成。在一些实施方案,所述XRPD图是在约23°C至约27°C下生成。在一些实施方案,所述XRPD图是在约24°C至约26°C下生成。在一些实施方案,所述XRPD图是在约25°C下生成。

[0105] 同理,当通过特征峰(例如,峰的角位置)描述多晶型时,应当理解,峰的位置可以根据样品制备、温度等而变化。本发明给定的所述XRPD特征峰是在室温(~25°C)下生成的。在一些实施方案,所述XRPD数据是在约15°C至约30°C下生成。在一些实施方案,所述XRPD数据是在约20°C至约30°C下生成。在一些实施方案,所述XRPD数据是在约23°C至约27°C下生成。在一些实施方案,所述XRPD数据是在约24°C至约26°C下生成。在一些实施方案,所述XRPD数据是在约25°C下生成。

[0106] 本发明使用的“分离的”多晶型物或无定形形式是指所述特定形式的至少约90%的形式(即,少于10%的所述物料包含其他形式或其他化合物,包括但不限于(S)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺)。

[0107] “基本上不含”特定组分的多晶型物组合物表示所述组合物含有少于约5%的所述特定组分。作为非限制性实例,基本上不含II型多晶型物的多晶型物组合物是指含有至少约5%II型的组合物。在一些实施方案,“基本上不含”是指所述组合物含有至少约4%、至少

约3%、至少约2%、或至少约1%的特定组分,或其中所述特定组分不在检测限内。

[0108] “角位置”表示20角。

[0109] 使用本发明所述化合物、组合物、和方法“治疗”疾病/病症被定义为施用一种或多种本发明所述化合物或组合物,采用或不采用额外治疗剂,以便减少或消除所述疾病/病症或所述疾病/病症的一个或多个症状,或延缓所述疾病/病症或所述疾病/病症的一个或多个症状的进展,或减轻所述疾病/病症或所述疾病/病症的一个或多个症状的严重程度。使用本发明所述化合物、组合物、和方法“抑制”疾病/病症被定义为施用一种或多种本发明所述化合物或组合物,采用或不采用额外治疗剂,以便抑制所述疾病/病症的临床表现,或抑制所述疾病/病症的不良症状的表现。治疗和抑制之间的区别是在受试者的所述疾病/病症的不良症状显现之后发生治疗,而在受试者的所述疾病/病症的不良症状显现之前发生抑制。抑制可以是部分的、基本上全部、或全部。由于一些疾病/病症是遗传性的,因此可使用基因筛选来鉴定患有所述疾病/病症风险的患者。然后本发明所述化合物、组合物和方法可施用于患有发展所述疾病/病症的临床症状风险的无症状患者,从而抑制任何不良症状的出现。

[0110] 本发明所述的化合物和组合物的“治疗用途”被定义为使用一种或多种本发明所述化合物或组合物用于治疗或抑制疾病/病症,如上所述。“治疗有效量”的化合物或组合物是所述化合物或组合物的量足够调节、使正常化、或增强一种或多种能量生物标记(其中调节、使正常化、和增强定义如下)。“治疗有效量”的化合物或组合物是所述化合物或组合物的量,当其施用于受试者,可足够减少或消除疾病/病症或疾病/病症的一个或多个症状,或延缓疾病/病症或疾病/病症的一个或多个症状的进展,或减轻疾病/病症或疾病/病症的一个或多个症状的严重程度,或抑制疾病/病症的临床表现,或抑制疾病/病症的不良症状表现。治疗有效量可在一次或多次给药中给予。“有效量”的化合物或组合物包含调节、使正常化或增强受试者的一种或多种能量生物标记的治疗有效量以及有效量。

[0111] “调节”能量生物标记是指将能量生物标记的水平改变为期望值,或将能量生物标记改变至期望方向(譬如,增加或减少)的水平。调节可以包括,但不限于,如下定义的使正常化和增强。

[0112] “常化”或“使正常化”能量生物标记被定义为将能量生物标记的水平从病理值转变为正常值,其中所述能量生物标记的正常值可以是1)健康人或受试者的能量生物标记水平,或2)减轻个体或受试者中的一种或多种不良症状的能量生物标记水平。即,使在疾病状态下抑郁的能量生物标记正常化是指将能量生物标记的水平朝向正常(健康)值或朝向减轻不良症状的值进行提高;使在疾病状态下升高的能量生物标记正常化是指将能量生物标记的水平朝向正常(健康)值或朝向减轻不良症状的值进行降低。

[0113] “增强”能量生物标记是指有意使远离正常值或增强前的值的一种或多种能量生物标记的水平改变,以获得有益或所需的效果。譬如,在对受试者施加显著的能量需求的情况下,将所述受试者中的ATP水平提高至高于所述受试者正常ATP水平的水平是可取的。在患有疾病或病理学例如线粒体疾病的受试者中,增强也可以是有益的作用,因为使能量生物标记正常化可能无法达到所述受试者的最佳结果;此种情况下,增强一种或多种能量生物标记是有益的,例如,高于正常水平的ATP或低于正常水平的乳酸(乳酸根)对此类受试者而言是有益的。

[0114] 通过调节,使正常化或增强能量生物标记辅酶Q是指调节、使正常化或增强在目的物种中占主导地位的辅酶Q的变体。譬如,在人类中占主导地位的辅酶Q的所述变体是辅酶Q10。如果物种或受试者具有多于一种辅酶Q的变体,且所述变体大量存在(即,当调整、使正常化或增强,以其可对物种或受试者产生有益影响的量存在),则调节、使正常化或增强辅酶Q可以是指调节、使正常化或增强物种或受试者中存在的辅酶Q的任何或所有变体。

[0115] “呼吸链障碍”是指由于包含在线粒体呼吸链中的蛋白或其他成分中的缺陷或紊乱导致线粒体、细胞、组织、或个体对氧的利用减少的疾病/病症。“包含在线粒体呼吸链中的蛋白或其他组分”是指包含线粒体复合物I、II、III、IV和/或V的组分(包括但不限于蛋白、四吡咯、和细胞色素)。“呼吸链蛋白”是指那些复合物的蛋白组分,和“呼吸链蛋白紊乱”是指由于包含在线粒体呼吸链中的蛋白的缺陷或障碍导致线粒体、细胞、组织、或个体对氧的利用减少的疾病/病症。

[0116] 术语“帕金森病”(也称为“帕金森症”和“帕金森综合征”)(“PD”)旨在不仅包括帕金森病,还包括药物诱导的帕金森综合征和脑炎后帕金森综合征。帕金森病也被称为麻痹性麻痹或震颤性麻痹。其特征在于震颤,肌肉僵硬和姿势反射丧失。所述疾病通常在症状导致无能力之前经过10至20年的区间缓慢进展。由于他们模仿帕金森病的作用,采用甲基苯丙胺或MPTP治疗动物已被用于产生帕金森病模型。所述这些动物模型已被用于评价帕金森病各种疗法的功效。

[0117] 术语“弗里德里希(Friedreich)共济失调”旨在包括其他有关的共济失调,有时也称为遗传性共济失调、家族性共济失调、或弗里德里希癆症。

[0118] 术语“共济失调”是一种特异性临床表现,意味着协调运动的神经系统部分,例如小脑的功能障碍。患有共济失调的患者有协调的问题,因为控制运动和平衡的神经系统的部分受到影响。共济失调可能会影响手指、手、手臂、腿部、身体、言语、和眼部运动。共济失调这个词通常用于描述不协调的症状,其可能与中枢神经系统的感染、损伤、其他疾病、或退行性变化相关。共济失调还用于表示一组称为遗传性和零星共济失调的神经系统的特异性退行性疾病。共济失调也通常与听力障碍有关。

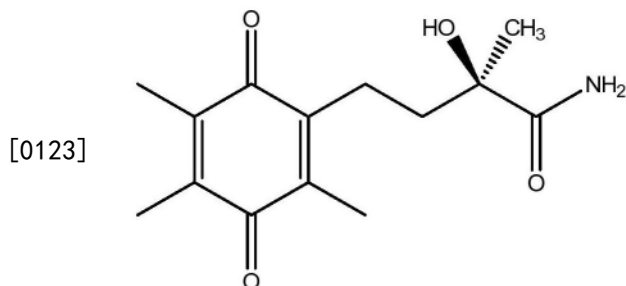
[0119] 有三种类型的共济失调,小脑共济失调,包括前庭小脑功能障碍、脊髓小脑功能障碍和大脑小脑功能障碍;感觉性共济失调;和前庭共济失调。分为脊髓小脑共济失调和多系统萎缩症的疾病的实例有遗传性橄榄体脑桥小脑萎缩,遗传性小脑皮质萎缩,弗里德里希共济失调,马萨多-约瑟夫(Machado-Joseph)疾病,拉姆齐亨特(Ramsay Hunt)综合征,遗传性牙周膜-苍白球症萎缩(hereditary dentatorubral-pallidolusian atrophy),遗传性痉挛性截瘫,夏-德综合征(Shy-Drager syndrome),皮质小脑萎缩,纹状体黑质变性,马里内斯科-舍格伦综合征(Marinesco-Sjogren syndrome),酒精性皮质小脑萎缩,与恶性肿瘤相关的副肿瘤性小脑萎缩,有毒物质引起的中毒性小脑小萎缩,由于生育酚运蛋白(α TTP)突变或脂质吸收障碍如无 β 脂蛋白血症引起的维生素E缺乏症,与内分泌失调相关的小脑萎缩等。

[0120] 共济失调症状的实例有运动性共济失调,躯干共济失调,肢体共济失调等,自主神经障碍如直立性低血压,排尿困难,少汗,睡眠呼吸暂停,直立性晕厥等,下肢僵硬,眼球震颤,动眼神经病症,锥体束功能障碍,锥体束外症状(姿势调整功能障碍、肌肉强直、运动不能、震颤),吞咽困难,舌肌萎缩,后索症状,肌肉萎缩,肌无力,深反射亢进,感觉障碍,脊柱

侧凸,脊柱后侧凸,足畸形,构音障碍,痴呆,躁狂状态,康复动机减少等。

[0121] (R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的多晶型和无定形式

[0122] 本发明提供了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的各种结晶和无定形式:



[0124] (R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯-1-基)丁酰胺

[0125] 和生产此类形式的方法,和使用此类形式的方法。

[0126] 下表1提供了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的本发明所述的某些多晶型形式的总结

[0127] 表1: (R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺多晶型形式表征的总结

[0128]

XRPD [模式] (条件)	晶型 名称	DSC [°C]	TGA [% 失重]	¹ H NMR [残留溶剂]	KF [重 量% 水]	光学显微术
结晶 [模式 A] (起始物料)	I 型 (无水物)	152.9	0.0	与结构一致 [0.28 重量% IPA]	0.1	双折射
结晶 [模式 B] (RT, THF 中制浆)	IV 型 (THF 溶剂化 物)	70.5、 89.1、 149.7	4.7	与结构一致 [6.9 重量% THF]	0.3	双折射
结晶 [模式 C] (RT, 0.5%MC/ 2%吐	III 型 (水合物)	72.0、 150.7	2.5、 2.3	与结构一致	4.3	双折射

[0129]

温 80 中制浆)						
结晶 [模式 D] (在 2-MeTHF 中蒸发 结晶)	V 型 (2-MeTHF 溶剂化物)	67.2、 92.2、 150.6	2.7、 5.3	与结构一致 [6.1 重量% 2-MeTHF]	-	双折射
结晶 [模式 E] (EtOAc 中单溶剂快速 冷却结晶)	II 型 (无水物)	133.9、 151.3	0.4	与结构一致 [0.4 重量% EtOAc]	0.1	双折射
结晶 [模式 F] (放大批, 2-MeTHF 中 单溶剂快速冷却结 晶)	VI 型 (2-MeTHF 溶剂化物)	93.2、 135.2、 151.0	1.1、 0.2	与结构一致 [3.9 重量% 2-MeTHF]	0.1	双折射

[0130] 图38提供了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的各种多晶型形式之间的相互作用图。图39示出了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺多晶型形式的XRPD堆叠图。

[0131] 表A提供了本发明所述多晶型形式的X射线粉末衍射某些特征峰的角位置的各种实施方案。在一些实施方案,所述角位置可以有 ± 0.2 的变化。在一些实施方案,所述角位置可以有 ± 0.1 的变化。在一些实施方案,所述角位置可以有 ± 0.05 的变化。在一些实施方案,所述角位置可以有 ± 0.02 的变化。表A.I-VI型的X射线粉末衍射某些特征峰的角位置

[0132]

晶型	某些特征峰的角位置 (2θ 角) (所有 ± 0.2)
I	实施方案 1: 12.06、17.03、17.26
	实施方案 2: 12.06、15.33、17.03、17.26、18.72
	实施方案 3: 7.67、10.75、12.06、15.33、16.41、17.03、17.26、18.72、20.04、23.92
	实施方案 4: 7.67、10.75、12.06、15.33、16.41、17.03、17.26、18.72、20.04、20.64、20.91、21.14、22.58、23.13、23.92、24.19、24.53、27.21、27.56
	实施方案 5: 5.48、7.67、10.75、12.06、15.33、16.41、17.03、17.26、17.71、17.94、18.40、18.72、19.51、20.04、20.64、20.91、21.14、21.55、21.91、22.25、22.58、23.13、23.41、23.92、24.19、24.53、25.64、26.13、26.34、27.21、27.56、28.01、29.04、29.46

[0133]

	<p>实施方案 6: 12.06、15.33、17.03、17.26.</p> <p>实施方案 7: 12.06、15.33、17.03、17.26、18.72、23.92</p> <p>实施方案 8: 12.06、15.33、17.03、17.26、18.72、23.92、16.41</p> <p>实施方案 9: 12.06、15.33、17.03、17.26、18.72、23.92、16.41、10.75</p> <p>实施方案 10: 12.06、15.33、17.03、17.26、18.72、23.92、16.41、10.75、20.64</p>
V	<p>实施方案 1: 9.61、11.49、15.45</p> <p>实施方案 2: 9.61、11.49、12.93、15.45、23.96、26.05</p> <p>实施方案 3: 9.61、11.49、12.93、14.80、15.45、16.53、23.96、24.54、26.05</p> <p>实施方案 4: 9.61、11.49、12.93、14.80、15.45、16.10、16.34、16.53、20.18、22.52、22.86、23.96、24.54、26.05</p> <p>实施方案 5: 6.91、7.72、9.61、11.49、11.86、12.93、13.19、13.87、14.80、15.45、16.10、16.34、16.53、17.14、17.85、19.12、19.85、20.18、21.00、22.06、22.52、22.86、23.09、23.96、24.54、25.26、26.05、26.90</p> <p>实施方案 6: 9.61、11.49、12.93、15.45</p> <p>实施方案 7: 9.61、11.49、12.93、15.45、23.96</p> <p>实施方案 8: 9.61、11.49、12.93、15.45、14.80</p> <p>实施方案 9: 9.61、11.49、12.93、15.45、7.72</p> <p>实施方案 10: 9.61、11.49、12.93、15.45、7.72、16.53</p>
III	<p>实施方案 1: 14.02、15.23、21.10</p> <p>实施方案 2: 9.16、14.02、15.23、21.10、22.69</p> <p>实施方案 3: 9.16、11.81、13.74、14.02、15.23、21.10、22.69、23.90</p> <p>实施方案 4: 9.16、11.81、13.74、14.02、15.23、17.35、21.10、22.69、23.15、23.90、26.10</p> <p>实施方案 5: 9.16、11.53、11.81、12.68、12.93、13.74、14.02、15.23、16.53、17.35、17.98、18.54、19.09、20.23、21.10、21.93、22.69、23.15、23.50、23.90、24.65、25.09、25.46、25.79、26.10、27.79、28.22、28.93、29.33</p> <p>实施方案 6: 9.16、14.02、15.23、21.10</p> <p>实施方案 7: 9.16、13.74、14.02、15.23、21.10</p> <p>实施方案 8: 9.16、11.81、13.74、14.02、15.23、21.10</p>

[0134]

	<p>实施方案 9: 9.16、11.81、13.74、14.02、15.23、21.10、23.90</p> <p>实施方案 10: 9.16、11.81、13.74、14.02、15.23、21.10、22.69、23.90</p>
II	<p>实施方案 1: 9.63、11.33、19.33</p> <p>实施方案 2: 9.63、10.85、11.33、13.47、19.33</p> <p>实施方案 3: 5.76、8.04、9.63、10.85、11.33、11.97、13.47、14.75、17.37、17.71、19.33</p> <p>实施方案 4: 5.76、8.04、9.63、10.85、11.33、11.97、13.47、14.75、16.42、16.89、17.37、17.71、19.33、22.89、24.59</p> <p>实施方案 5: 5.76、6.72、7.57、8.04、9.63、10.85、11.33、11.97、12.38、13.13、13.47、14.75、15.28、16.42、16.89、17.37、17.71、18.17、18.66、19.33、20.01、20.29、20.67、20.90、21.36、21.54、21.80、22.55、22.89、23.27、23.54、23.87、24.35、24.59、24.87、25.29、25.55、25.89、26.44、27.49、28.01、28.39、29.17</p> <p>实施方案 6: 9.63、11.33、10.85</p> <p>实施方案 7: 9.63、11.33、10.85、19.33</p> <p>实施方案 8: 9.63、11.33、10.85、19.33、17.37</p> <p>实施方案 9: 9.63、11.33、10.85、19.33、17.37、13.47</p> <p>实施方案 10: 9.63、11.33、10.85、19.33、17.37、13.47、11.97</p>
IV	<p>实施方案 1: 4.31、12.97、13.20</p> <p>实施方案 2: 4.31、8.76、12.97、13.20、16.66</p> <p>实施方案 3: 4.31、7.94、8.76、12.97、13.20、16.66、17.33、20.57</p> <p>实施方案 4: 4.31、7.94、8.76、12.97、13.20、15.08、16.66、17.33、19.09、20.57、21.58</p> <p>实施方案 5: 4.31、5.77、6.28、7.53、7.94、8.76、9.39、9.87、10.54、11.07、11.68、12.02、12.28、12.97、13.20、13.52、14.40、15.08、15.90、16.66、16.96、17.33、17.59、18.77、19.09、19.74、20.27、20.57、21.09、21.58、22.81、23.23、24.01、24.65、25.60</p> <p>实施方案 6: 12.97、13.20、8.76</p> <p>实施方案 7: 12.97、13.20、8.76、16.66</p> <p>实施方案 8: 12.97、13.20、8.76、16.66、4.31</p> <p>实施方案 9: 12.97、13.20、8.76、16.66、4.31、17.33</p> <p>实施方案 10: 12.97、13.20、8.76、16.66、4.31、17.33、20.57</p>

[0135]	VI	实施方案 1: 6.27、9.91、12.94
		实施方案 2: 6.27、9.41、9.91、12.94、13.29
		实施方案 3: 6.27、8.85、9.41、9.91、12.94、13.29、16.67、19.13
		实施方案 4: 4.39、6.27、8.85、9.41、9.91、11.32、12.94、13.29、14.03、16.67、19.13、20.76、22.06
		实施方案 5: 4.39、6.27、7.00、8.62、8.85、9.41、9.91、11.32、11.50、12.25、12.56、12.94、13.29、14.03、14.82、15.10、15.44、15.71、16.01、16.67、16.91、17.33、17.59、18.33、18.75、19.13、20.25、20.76、21.68、22.06、22.27、22.61、22.94、24.01、24.33、24.65、25.48、26.05、28.63、29.18
		实施方案 6: 6.27、9.91、12.94、15.71
		实施方案 7: 6.27、9.91、12.94 、15.71、19.13
		实施方案 8: 6.27、9.91、12.94 、15.71、16.91、19.13
		实施方案 9: 6.27、9.41、9.91、12.94 、15.71、 、16.91、19.13
		实施方案 10: 6.27、8.85、9.41、9.91、12.94 、15.71、16.91、19.13

[0136] 表2-7提供了本发明所述多晶型形式的X射线粉末衍射特征峰的角位置的附加实施方案。在一些实施方案,多晶型形式的特征在于表A所示特征峰的角位置。在一些实施方案,多晶型形式的特征在于下述表2-7所示X射线粉末衍射特征峰的3个或更多个(譬如,4、5、6、7、8、9、10个、或多于10个)角位置。在一些实施方案,所述角位置可以有 ± 0.2 的变化。在一些实施方案,所述角位置可以有 ± 0.1 的变化。在一些实施方案,所述角位置可以有 ± 0.05 的变化。在一些实施方案,所述角位置可以有 ± 0.02 的变化。

[0137] 作为非限制性实例,I型多晶型物的特征可在于表2所示的3、4、5、6、7、8、9、10个、或更多个角位置。

[0138] 表2. 模式A(无水物,I型)的X射线粉末衍射特征峰的角位置

[0139] I型多晶型物的特征可在于如下所示的3、4、5、6、7、8、9、10个、或更多个角位置:

[0140]	2 θ 角	间距 d , Å	2 θ 角	间距 d, Å
	5.48	16.1	21.55	4.1
	7.67	11.5	21.91	4.1
	10.75	8.2	22.25	4.0

[0141]

12.06	7.3	22.58	3.9
15.33	5.8	23.13	3.8
16.41	5.4	23.41	3.8
17.03	5.2	23.92	3.7
17.26	5.1	24.19	3.7
17.71	5.0	24.53	3.6
17.94	4.9	25.64	3.5
18.40	4.8	26.13	3.4
18.72	4.7	26.34	3.4
19.51	4.5	27.21	3.3
20.04	4.4	27.56	3.2
20.64	4.3	28.01	3.2
20.91	4.2	29.04	3.1
21.14	4.2	29.46	3.0

[0142] 在一些实施例,I型多晶型物的特征在于至少3个或更多个角位置。在一些实施例,所述这些角位置包括12.06、17.03、和 17.26 ± 0.2 。在一些实施例,I型多晶型物的特征在于至少4个或更多个角位置。在一些实施例,所述这些至少4个角位置包括12.1、17.0、17.3、和 15.33 ± 0.2 。在一些实施例,所述这些至少4个角位置包括12.1、17.0、17.3、15.33、和 18.72 ± 0.2 。

[0143] 表3. 模式D (2-MeTHF溶剂化物,V型) 的X射线粉末衍射特征峰的角位置

[0144] V型多晶型物的特征可在于如下所示的3、4、5、6、7、8、9、10个、或更多个角位置:

[0145]

2 θ 角	间距 d , Å	2 θ 角	间距 d , Å
6.91	12.8	17.85	5.0
7.72	11.4	19.12	4.6
9.61	9.2	19.85	4.5
11.49	7.7	20.18	4.4
11.86	7.5	21.00	4.2
12.93	6.8	22.06	4.0
13.19	6.7	22.52	3.9
13.87	6.4	22.86	3.9
14.80	6.0	23.09	3.8
15.45	5.7	23.96	3.7
16.10	5.5	24.54	3.6
16.34	5.4	25.26	3.5
16.53	5.4	26.05	3.4

[0146]

17.14	5.2	26.90	3.3
-------	-----	-------	-----

[0147] 表4. 模式C (水合物, III型) 的X射线粉末衍射特征峰的角位置

[0148] III型多晶型物的特征可在于如下所示的3、4、5、6、7、8、9、10个、或更多个角位置:

[0149]

2 θ 角	间距 d , Å	2 θ 角	间距 d , Å
9.16	9.6	21.93	4.0
11.53	7.7	22.69	3.9
11.81	7.5	23.15	3.8
12.68	7.0	23.50	3.8
12.93	6.8	23.90	3.7
13.74	6.4	24.65	3.6
14.02	6.3	25.09	3.5
15.23	5.8	25.46	3.5
16.53	5.4	25.79	3.5
17.35	5.1	26.10	3.4
17.98	4.9	27.79	3.2
18.54	4.8	28.22	3.2
19.09	4.6	28.93	3.1
20.23	4.4	29.33	3.0
21.10	4.2		

[0150] 表5. 模式E (无水物, II型) 的X射线粉末衍射特征峰的角位置

[0151] II型多晶型物的特征可在于如下所示的3、4、5、6、7、8、9、10个、或更多个角位置:

[0152]

2 θ 角	间距 d , Å	2 θ 角	间距 d , Å
5.76	15.3	20.67	4.3
6.72	13.2	20.90	4.2
7.57	11.7	21.36	4.2
8.04	11.0	21.54	4.1
9.63	9.2	21.80	4.1
10.85	8.1	22.55	3.9
11.33	7.8	22.89	3.9
11.97	7.4	23.27	3.8
12.38	7.1	23.54	3.8
13.13	6.7	23.87	3.7
13.47	6.6	24.35	3.7

[0153]

14.75	6.0	24.59	3.6
15.28	5.8	24.87	3.6
16.42	5.4	25.29	3.5
16.89	5.2	25.55	3.5
17.37	5.1	25.89	3.4
17.71	5.0	26.44	3.4
18.17	4.9	27.49	3.2
18.66	4.8	28.01	3.2
19.33	4.6	28.39	3.1
20.01	4.4	29.17	3.1
20.29	4.4		

[0154] 表6. 模式B (THF溶剂化物, IV型) 的X射线粉末衍射特征峰的角位置

[0155] IV型多晶型物的特征可在于如下所示的3、4、5、6、7、8、9、10个、或更多个角位置:

[0156]

2 θ 角	间距 d , A	2 θ 角	间距 d , A
4.31	20.5	15.90	5.6
5.77	15.3	16.66	5.3
6.28	14.1	16.96	5.2
7.53	11.7	17.33	5.1
7.94	11.1	17.59	5.0
8.76	10.1	18.77	4.7
9.39	9.4	19.09	4.6
9.87	9.0	19.74	4.5
10.54	8.4	20.27	4.4
11.07	8.0	20.57	4.3
11.68	7.6	21.09	4.2
12.02	7.4	21.58	4.1
12.28	7.2	22.81	3.9
12.97	6.8	23.23	3.8
13.20	6.7	24.01	3.7
13.52	6.5	24.65	3.6
14.40	6.1	25.60	3.5
15.08	5.9		

[0157] 表7. 模式F (2-MeTHF溶剂化物, VI型) 的X射线粉末衍射特征峰的角位置

[0158] VI型多晶型物的特征可在于如下所示的3、4、5、6、7、8、9、10个、或更多个角位置:

[0159]

2 θ 角	间距d, A	2 θ 角	间距d, A
4.39	20.1	16.91	5.2

6.27	14.1	17.33	5.1
7.00	12.6	17.59	5.0
8.62	10.3	18.33	4.8
8.85	10.0	18.75	4.7
9.41	9.4	19.13	4.6
9.91	8.9	20.25	4.4
11.32	7.8	20.76	4.3
11.50	7.7	21.68	4.1
12.25	7.2	22.06	4.0
12.56	7.0	22.27	4.0
12.94	6.8	22.61	3.9
13.29	6.7	22.94	3.9
14.03	6.3	24.01	3.7
14.82	6.0	24.33	3.7
15.10	5.9	24.65	3.6
15.44	5.7	25.48	3.5
15.71	5.6	26.05	3.4
16.01	5.5	28.63	3.1
16.67	5.3	29.18	3.1

[0160] 药物的一些多晶型或无定形形式相较其他形式可具有从制药和/或生产的角度影响药物可取性的优越特征,譬如:提高的稳定性、增加的溶解度、更好的操作性能、缺乏相关的有毒溶剂(譬如,有毒溶剂的溶剂化物)、提高的纯度、更好的粒度和/或粒度分布、提高的体积密度、和易制性。

[0161] 晶型I、II、III和所述无定形形式是无水物或水合物,有利地是,其不是有毒溶剂的溶剂化物(譬如,THF和2-MeTHF)。

[0162] 晶型I-IV和VI显示出良好的水溶性(每种晶型>1.3mg/ml),I型具有最高水溶性,为1.74mg/ml(实施例10)。此外,晶型I显示在各种极性和非极性溶剂(实施例2)中可溶,表明可使用各种溶剂进行给药的能力。在一些实施方案,具有生理学log D接近于零的药物是有利的;因此在极性和非极性溶剂中的溶解度表明更有利的生理学log D。I型进一步显示出在简单清洁剂(0.5%MC/2%吐温80)(实施例2)中具有增加的溶解度;在简单清洁剂中的此溶解度可能是有利的,因这些条件可以模拟用于药物口服给药的肠道条件。在简单清洁剂条件下形成的III型(水合物),由此III型可以是将在肠中产生的药物的形式。

[0163] 晶型I、II和III有利地证明了对升高的湿度的稳定性(实施例8)。I型还可以通过研磨进行测试,并显示出对研磨的稳定性(实施例9)。如实施例所示,进行的实验表明I型是高度稳定的。

[0164] 不吸湿的形式从生产的角度来看更容易处理;如实施例11所示,I、II、IV和VI型是不吸湿的。

[0165] 某些颗粒形状和尺寸可能是有利的:更接近球形的颗粒可能是优选的,其中片状和针状较不优选。如实施例11所示,I、II、和III型具有更有利的形状,而VI型为片状,和IV

型为针状。关于粒度,可以优选更小、更均匀的尺寸。较小颗粒可具有增加的生物利用度,可更容易溶解,并且由于干燥时间的减少可更易于处理。此外,较小颗粒可无需较大颗粒可能需要的微粉化步骤。如图所示,I-III型比IV和VI型具有更有利的粒度。

[0166] 更高的熔点可表明具有改进的处理特性(例如,更容易干燥和加工)和更高的热稳定性的形式。I型具有I-VI型中的最高熔点。此外,在一些实施方案,可优选单峰,因为多个峰可表明转化为不同形式。I型具有单个DSC峰,所有其他形式具有2或3个峰。

[0167] (R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的各种形式(多晶型物和无定形)还可用作制备所需形式的中间体。作为非限制性实例,如果用于制备(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺优选的合成方法导致非优选形式的产生,则所述非优选形式可用作制备所需形式的中间体。

[0168] 适用于本发明所述组合物和方法进行治疗或抑制的疾病

[0169] 多种疾病/病症被认为是由影响细胞中正常电子流的氧化应激,如线粒体疾病、受损的能量处理障碍、神经退行性疾病和衰老疾病,以及可使用本发明所述(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的多晶型和无定形形式和方法进行治疗和抑制的疾病引起或加重的。

[0170] 氧化应激障碍的非限制性实例包括,譬如,线粒体疾病(包括遗传性线粒体疾病)如阿尔珀斯病(Alpers Disease),巴氏综合征(Barth syndrome), β -氧化缺陷,肉碱-酰基-肉碱缺乏症,肉碱缺乏症,肌酸虚证,辅酶Q10缺乏症,复合物I缺乏症,复合物II缺乏症,复合物III缺乏症,复合物IV缺乏症,复合物V缺乏症,COX缺乏症,慢性进行性眼外肌麻痹(CPEO),CPT I缺乏症;CPT II缺乏症,弗里德里希(Friedreich)共济失调(FA),戊二酸尿症II型,卡恩斯-塞尔(Kearns-Sayre)综合征(KSS),乳酸酸中毒,长链酰基辅酶A脱氢酶缺乏症(LCAD),LCHAD,Leigh疾病或综合征(亚急性坏死性脑病,Leigh Disease or Syndrome),Leigh样综合征,莱伯氏(Leber's)遗传性视神经病变(LHON,也被称为莱伯氏病、莱伯氏视神经萎缩(LOA)、或莱伯氏视神经病(LON)),致命性小儿心肌病(LIC),勒夫特病(LuftDisease),多种酰基辅酶A脱氢酶缺乏症(MAD),中链酰基辅酶A脱氢酶缺乏症(MCAD),线粒体肌病、脑病、乳酸性酸中毒(Lactacidosis)、卒中样发作(MELAS),肌阵挛性癫痫发作伴破碎红纤维(MERRF),线粒体隐性遗传性共济失调综合征(MIRAS),线粒体细胞病,线粒体DNA耗竭,线粒体脑病,线粒体肌病,线粒体神经消化道脑肌病(MNGIE),神经病、共济失调、和视网膜色素变性(NARP),皮尔森综合征,丙酮酸羧化酶缺乏症,丙酮酸脱氢酶缺乏症,POLG突变,呼吸链紊乱,短链酰基辅酶A脱氢酶缺乏症(SCAD),SCHAD,极长链酰基辅酶A脱氢酶缺乏症(VLCAD);肌病如心肌病和脑肌病;神经退行性疾病如帕金森病,阿尔茨海默症,肌萎缩性侧索硬化症(ALS,也被称为葛雷克氏症(Lou Gehrig's disease));运动神经元病;神经系统疾病如癫痫;年龄相关的疾病,尤其是已经提出辅酶Q10治疗的疾病如黄斑变性,糖尿病(譬如,2型糖尿病),代谢综合征,和癌症(如脑癌);遗传性疾病如亨廷顿病(其也是神经系统疾病);情绪障碍如精神分裂症和双相情感障碍;广泛性发育障碍如自闭症,亚斯伯格症候群(Asperger's syndrome),儿童崩解症(CDD),雷特障碍(Rett's disorder),和未具体归类的PDD(PDD-NOS);脑血管意外如中风;视力障碍如眼部视神经病变的神经退行性疾病引起的那些,莱伯氏(Leber's)遗传性视神经病变,显性遗传性青少年视神经萎缩,毒性药物引起的视神经病变,青光眼,年龄相关性黄斑变性(“干”或非渗出性黄斑变性和

“湿”或渗出性黄斑变性),斯特格氏黄斑营养不良(Stargardt's macular dystrophy),糖尿病视网膜病变,糖尿病性黄斑病变,早产儿视网膜病变,或缺血再灌注相关的视网膜损伤;能量损伤引起的疾病包括由于剥夺氧、氧中毒或毒性氧引起的疾病,和氧气运输中的定性或定量破坏如血红蛋白病,譬如,地中海贫血或镰状细胞性贫血;由线粒体功能障碍引起其他疾病,如兴奋剂的神经元损伤,如与癫痫、中风和局部缺血有关的疾病;和其他疾病包括肾小管酸中毒;注意力缺陷/多动障碍(ADHD);导致听力或平衡障碍的神经退行性疾病;显性视神经萎缩(DOA);母系遗传性糖尿病和耳聋(MIDD);慢性疲劳;造影剂引起的肾脏损伤;造影剂引起的视网膜病变损伤;无 β 脂蛋白血症;视网膜萎缩;Wolfram疾病;杜尔雷斯综合征(Tourette syndrome);钴胺素C缺陷;甲基丙二酸尿症;胶质母细胞瘤;唐氏综合征;急性肾小管坏死;肌营养不良症;脑白质营养不良症;进行性核上性麻痹;脊髓性肌萎缩症;听力损失(譬如,噪声性听力损失);创伤性脑损伤;少年亨廷顿病;多发性硬化症;NGLY1;多系统萎缩症;肾上腺脑白质营养不良;和肾上腺脊髓神经病。应当理解,某些特定疾病或病症可能属于不止一类;譬如,亨廷顿病是遗传性疾病以及神经系统疾病。此外,某些氧化应激疾病和病症还可被认为是线粒体疾病。

[0171] 对于适于用本发明化合物和方法进行治疗的一些疾病,所述疾病的主要原因是由于呼吸链中的缺陷或防止线粒体、细胞或组织中能量的正常利用的另一缺陷。落入此类疾病的非限制性实例包括遗传性线粒体疾病,如肌阵挛性癫痫发作伴破碎红纤维(MERRF),线粒体肌病、脑病、乳酸性酸中毒、和卒中样发作(MELAS),莱伯氏(Leber's)遗传性视神经病变(LHON,也被称为莱伯氏病、莱伯氏视神经萎缩(LOA)、或莱伯氏视神经病(LON)),Leigh病或Leigh综合征,卡恩斯-塞尔(Kearns-Sayre)综合征(KSS),和弗里德里希(Friedreich)共济失调(FA)。对于适合采用本发明化合物和方法进行治疗的一些疾病,所述疾病的主要原因不是由于呼吸链缺陷或防止线粒体、细胞或组织中能量正常利用的其它缺陷引起;落入此类的疾病的非限制性实例包括中风,癌症,和糖尿病。然而,这些后一种疾病尤其被能量损伤加重,并且特别适合采用本发明化合物进行治疗,从而改善病症。此类疾病的相关实例包括缺血性卒中和出血性卒中,其中所述疾病的主要原因是由于脑部血液供应受损。虽然由血栓形成或栓塞引起的缺血发作,或由破裂的血管引起的出血性发作不是主要由呼吸链中的缺陷或防止能量的正常利用的另一代谢缺陷引起的,但氧化应激在由缺氧引起的氧再灌注损伤引起的缺血性级联(所述这种级联发生在心脏病发作以及中风中)中起作用。因此,采用本发明化合物和方法的治疗将减轻疾病、病症或状况的影响。调节一种或多种能量生物标记,使一种或多种能量生物标记正常化,或增强一种或多种能量生物标记还可证明在此类疾病中作为治疗措施和预防措施是有益的。譬如,对于计划进行动脉瘤非紧急修复的患者,如果在成功修复之前动脉瘤破裂,则应在术前和手术期间增强能量生物标记从而可改善患者的预后。

[0172] 术语“氧化应激障碍”或“氧化应激疾病”包含由氧化应激引起的疾病和由氧化应激加重的疾病。术语“氧化应激障碍”或“氧化应激疾病”包含主要原因是由于呼吸链中的缺陷或防止线粒体、细胞或组织中的能量的正常利用的另一缺陷引起的疾病和病症,和主要原因不是由于呼吸链中的缺陷或防止线粒体、细胞或组织中的能量的正常利用的另一缺陷引起的疾病和病症。前一组疾病可称为“原发性氧化应激障碍”,后者可称为“继发性氧化应激障碍”。应指出的是,“由氧化应激引起的疾病”和“氧化应激加重的疾病”之间的区别不是

绝对的;疾病既可能是由氧化应激引起的疾病,也可能是由氧化应激加重的疾病。“原发性氧化应激障碍”与“继发性氧化应激障碍”之间的界限更为明显,只要仅有引起疾病或病症的一个主要原因,并且主要原因是已知的。

[0173] 考虑到由氧化应激引起的疾病和由氧化应激加重的疾病、线粒体疾病或病症和受损的能量处理疾病和病症之间的稍微流动的边界倾向属于由氧化应激引起的疾病类别,而神经退行性疾病和衰老疾病往往属于氧化应激加重的疾病类别。线粒体疾病或病症和受损的能量处理疾病和病症通常是原发性氧化应激障碍,而神经退行性疾病和衰老疾病可能是原发性或继发性氧化应激障碍。

[0174] 氧化应激临床评估及治疗效果

[0175] 使用几种容易测定的临床标记来评估患有氧化应激障碍患者的代谢状态。这些标记也可用作给定治疗的效果的指标,像标记的水平从病理值转化为健康值。所述这些临床标记包括但不限于在全血、血浆、脑脊液或脑室液中的能量生物标记如乳酸(乳酸根)水平;全血、血浆、脑脊液或脑室液中的丙酮酸(丙酮酸根)水平;在全血、血浆、脑脊液或脑室液中的乳酸(根)/丙酮酸(根)比率;在全血、血浆、淋巴细胞、脑脊液或脑室液中,总的、还原或氧化的谷胱甘肽水平,或还原/氧化的谷胱甘肽比率;全血、血浆、淋巴细胞、脑脊液或脑室液中总的、还原或氧化的半胱氨酸水平,或还原/氧化的半胱氨酸比率;磷酸肌酸水平,NADH(NADH+H⁺)或NADPH(NADPH+H⁺)水平;NAD或NADP水平;ATP水平;无氧阈值;还原型辅酶Q(CoQ_{还原})水平;氧化型辅酶Q(CoQ_{氧化})水平;总的辅酶Q(CoQ_总)水平;氧化的细胞色素C水平;还原的细胞色素C水平;氧化的细胞色素C/还原的细胞色素C的比率;乙酰乙酸/根水平, β -羟基丁酸/根水平,乙酰乙酸/ β -羟基丁酸比率,8-羟基-2'-脱氧鸟苷(8-OHdG)水平;活性氧类物质的水平;和耗氧量(VO₂)的水平,二氧化碳排放量(VCO₂)的水平,和呼吸商(VCO₂/VO₂)。所述这些临床指标中的几个在运动生理实验室中进行常规测定,并提供对受试者代谢状态的便利评估。在本发明的其中一个实施方案,患有氧化应激障碍例如弗里德里希(Friedreich)共济失调(FA)、莱伯氏(Leber's)遗传性视神经病变、MELAS、KSS或CoQ10(辅酶Q10)缺发症的患者中的一种或多种能量生物标记的水平被改善至健康受试者的平均水平的两个标准偏差之内。在本发明的另一实施方案,患有氧化应激障碍例如弗里德里希(Friedreich)共济失调(FA)、莱伯氏(Leber's)遗传性视神经病变、MELAS、KSS或CoQ10缺发症的患者中的一种或多种能量生物标记的水平被改善至健康受试者的平均水平的一个标准偏差之内。运动不耐受也可用作给定治疗的疗效的指标,其中运动耐量的改善(即,降低运动不耐受)指示给定治疗的疗效。

[0176] 已经使用几种代谢生物标记来评估CoQ10的功效,并且这些代谢生物标记可作为用于本发明方法的能量生物标记进行监测。乳酸/根是葡萄糖的无氧代谢产物,通过在需氧环境或通过氧化代谢还原为丙酮酸/根而除去,所述氧化代谢依赖于功能性线粒体呼吸链。呼吸链的功能障碍可导致乳酸/根和丙酮酸/根从循环中的去除不足,并且在线粒体细胞病变中观察到升高的乳酸(根)/丙酮酸(根)比率(参见Scriver CR, The metabolic and molecular bases of inherited disease, 7th ed., New York: McGraw-Hill, Health Professions Division, 1995; 和 Munnich et al., J. Inherit. Metab. Dis. 15(4): 448-55 (1992))。因此,血乳酸(根)/丙酮酸(根)比率(Chariot et al., Arch. Pathol. Lab. Med. 118(7): 695-7 (1994))被广泛用作线粒体细胞病变(再次参见Scriver CR, The metabolic

and molecular bases of inherited disease, 7th ed., New York: McGraw-Hill, Health Professions Division, 1995; 和 Munnich et al., J. Inherit. Metab. Dis. 15(4):448-55 (1992)) 和有毒的线粒体肌病 (Chariot et al., Arthritis Rheum. 37(4):583-6 (1994)) 检测的无创检测。可以通过测量动脉酮体比率 (乙酰乙酸(根)/3-羟基丁酸(根):AKBR) 来研究肝线粒体氧化还原状态的变化 (Ueda et al., J. Cardiol. 29(2):95-102 (1997))。8-羟基-2'-脱氧鸟苷 (8-OHdG) 的尿排泄通常用作生物标记来评估临床和职业环境中 ROS-诱导的 DNA 损伤的修复程度 (Erhola et al., FEBS Lett. 409(2):287-91 (1997); Honda et al., Leuk. Res. 24(6):461-8 (2000); Pilger et al., Free Radic. Res. 35(3):273-80 (2001); Kim et al. Environ Health Perspect 112(6):666-71 (2004))。

[0177] 磁共振波谱 (MRS) 通过使用质子 MRS (^1H -MRS) 来显示脑脊液 (CSF) 和皮质白质乳酸/根的升高, 已可用于诊断线粒体细胞病变 (Kaufmann et al., Neurology 62(8):1297-302 (2004))。已使用磷 MRS (^{31}P -MRS) 来显示低水平的皮质磷酸肌酸 (PCr) (Matthews et al., Ann. Neurol. 29(4):435-8 (1991)), 和在骨骼肌中运动后 PCr 恢复动力学的延迟 (Matthews et al., Ann. Neurol. 29(4):435-8 (1991); Barbiroli et al., J. Neurol. 242(7):472-7 (1995); Fabrizi et al., J. Neurol. Sci. 137(1):20-7 (1996))。低骨骼肌 PCr 已在线粒体细胞病变患者中通过直接生物化学测定进行证实。

[0178] 作为线粒体肌病的评估和筛选工具, 运动测试尤其有用。线粒体肌病的标志特征之一是最大全身耗氧量 ($\text{VO}_{2\text{最大}}$) 的减少 (Taivassalo et al., Brain 126(Pt2):413-23 (2003))。鉴于 $\text{VO}_{2\text{最大}}$ 由心输出量 (Qc) 和外周氧提取 (动脉-静脉总氧含量) 差异决定, 一些线粒体细胞病变影响心脏功能, 其中可改变输送; 然而, 大多数线粒体肌病显示出外周氧提取 (A-V O_2 差异) 和增强氧输送 (高动力循环) 的特征缺陷 (Taivassalo et al., Brain 126(Pt2):413-23 (2003))。这可以通过缺乏运动诱导的静脉血脱氧, 采用直接 AV 平衡测定 (Taivassalo et al., Ann. Neurol. 51(1):38-44 (2002)) 和非侵入性近红外光谱 (Lynch et al., Muscle Nerve 25(5):664-73 (2002); van Beekvelt et al., Ann. Neurol. 46(4):667-70 (1999)) 来证明。

[0179] 所述这些能量生物标记中的几个在下述进行更多详细讨论。应当强调的是, 尽管在本发明中讨论和列举了某些能量生物标记, 但是本发明不限于仅列举的这些能量生物标记的调节、使正常化或增强。

[0180] 乳酸 (乳酸根) 水平: 线粒体功能障碍通常导致乳酸水平异常, 丙酮酸/根水平升高, 和丙酮酸/根转化为乳酸/根, 以维持糖酵解的能力。线粒体功能障碍还可导致 $\text{NAD}^+ + \text{H}^+$ 、 $\text{NADPH} + \text{H}^+$ 、 NAD^+ 、或 NADP^+ 水平异常, 因为还原的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸不能被呼吸链有效地处理。乳酸/根水平可通过采集适当的体液如全血、血浆或脑脊液的样品来测定。使用磁共振, 乳酸/根水平可以体内所需例如脑所需的几乎任何体积进行测定。

[0181] 在 MELAS 患者中使用磁共振测定脑部乳酸性酸中毒是记载在 Kaufmann et al., Neurology 62(8):1297 (2004) 中。脑部中脑室内的乳酸水平值存在导致 MELAS、A3243G 和 A8344G 的两个突变。全血、血浆和脑脊液乳酸/根水平可通过市售设备例如 YSI 2300 STAT Plus 葡萄糖&乳酸分析仪 (YSI 生命科学 (YSI Life Sciences), 俄亥俄州 (Ohio)) 进行测定。

[0182] NAD^+ 、 NADP^+ 、 NADH 和 NADPH 水平: NAD^+ 、 NADP^+ 、 NADH ($\text{NADH} + \text{H}^+$) 或 NADPH ($\text{NADPH} + \text{H}^+$) 的测定可通过各种荧光、酶促或电化学技术例如记载在 US 2005/0067303 中的电化学分析进行测

定。

[0183] GSH、GSSG、Cys、和CySS水平:简言之,GSH、GSSG、Cys、和CySS的血浆水平用于计算体内 E_h 值。样品采用Jones等报道的程序进行收集(2009Free Radical Biology&Medicine 47 (10) pp1329-1338),和溴乙烷用于使游离硫醇烷基化,和HPLC以及电化学或MSMS用以分离、检测和定量所述分子。更多细节如PCT申请号为PCT/US2013/058568中所述,开发用于不同实验参数的方法,从而分析人血浆中存在的最常见的单硫醇类和二硫化物(胱氨酸、半胱氨酸、还原型(GSH)和氧化型谷胱甘肽(GSSG)),并使用红菲绕啉二磺酸作为内标(Is)。所有目标分析物和IS在35℃、C18 RP柱(250mm×4.6mm,3微米)使用0.2%TFA:乙腈作为流动相、泵输送速率为0.6ml/min,并在1475mV的检测电位下,在直流(DC)模式下使用电化学检测器实现完全分离。

[0184] 耗氧量(vO_2 或 V_{O_2})、二氧化碳排放量(vCO_2 或 V_{CO_2})、和呼吸商(V_{CO_2}/V_{O_2}): vO_2 通常在静息(静息 vO_2)或最大运动强度($vO_{2\text{最大}}$)时进行测定。最佳地,这两个值均将被测定。然而,对于严重残疾患者, $vO_{2\text{最大}}$ 的测定可能是不切实际的。使用来自各种供应商,譬如柯尔医疗科技有限公司(Korr Medical Technologies, Inc., 盐湖城,犹他州)的标准设备容易实现这两种形式的 vO_2 的测定。 V_{CO_2} 也可很容易地测定,并且在相同条件(V_{CO_2}/V_{O_2} ,静息或最大运动强度)下的 V_{CO_2} 与 V_{O_2} 的比值提供所述呼吸商(RQ)。

[0185] 氧化细胞色素C、还原细胞色素C、和氧化细胞色素C与还原细胞色素C的比值:细胞色素C参数,例如氧化细胞色素C水平(Cyt C_{氧化})、还原细胞色素C水平(Cyt C_{还原})、和氧化细胞色素C/还原细胞色素C比率(Cyt C_{氧化})/(Cyt C_{还原})的比值可通过体内近红外光谱进行测定。参见,譬如Rolfé, P., "In vivo near-infrared spectroscopy," Annu. Rev. Biomed. Eng. 2:715-54 (2000)和Strangman et al., "Non-invasive neuroimaging using near-infrared light" Biol. Psychiatry 52:679-93 (2002)。

[0186] 运动耐量/运动不耐受:运动不耐受被定义为“由于呼吸困难或疲劳症状而涉及大骨骼肌动态运动的活动能力下降”(Piña et al., Circulation 107:1210 (2003))。由于肌肉组织的破坏和随后尿液中肌红蛋白的排泄,运动不耐受通常伴有肌红蛋白尿。可使用运动不耐受的各种措施,例如在精疲力竭之前在跑步机上行走或跑步的时间,在精疲力竭之前花在自行车锻炼(固定式自行车)上的时间等。采用本发明化合物、组合物或方法进行治疗可使运动耐量提高约10%或更大(譬如,在精疲力竭时间上增加约10%或更大,例如,从10分钟增至11分钟),运动耐量提高约20%或更大,运动耐量提高约30%或更大,运动耐量提高约40%或更大,运动耐量提高约50%或更大,运动耐量提高约75%或更大,或运动耐量提高约100%或更大。然而严格来说,运动耐量不是能量生物标记,用于本发明目的,调节、使正常化或增强能量生物标记包括调节、使正常化或增强运动耐量。

[0187] 同理,用于丙酮酸(丙酮酸根)水平、乳酸(根)/丙酮酸(根)比率、APT水平、无氧阈值、还原型辅酶Q(CoQ_{还原})水平、氧化型辅酶Q(CoQ_{氧化})水平、总辅酶Q(CoQ_总)水平、氧化细胞色素C水平、还原细胞色素C水平、氧化细胞色素C/还原细胞色素C比率、GSH和半胱氨酸还原、氧化、总的水平和比率、乙酰乙酸/根水平、 β -羟基丁酸/根水平、乙酰乙酸(根)/ β -羟基丁酸(根)比率、8-羟基-2'-脱氧鸟苷(8-OHdG)水平、和活性氧类物质水平的正常值和异常值的测试是本领域已知的,并可用于评估本发明化合物、组合物、和方法的功效。(用于本发明目的,调节、使正常化、或增强能量生物标记包括调节、常化、或增强无氧阈值。)

[0188] 下表8说明了各种功能障碍对生物化学和能量生物标记的影响。其还表明通常与给定功能障碍相关的物理作用(如所述功能障碍的疾病症状或其他影响)。应当注意,除了在本发明其他地方列举的能量生物标记之外,所述表中列出的任何能量生物标记还可通过本发明化合物、组合物和方法进行调节,增强或正常化。RQ=呼吸商;BMR=基础代谢率;HR(CO)=心率(心输出量);T=体温(优选作为核心温度测定);AT=无氧阈值;pH=血液pH值(静脉和/或动脉)。

[0189] 表8

[0190]

功能障碍位点	生物化学结果	可测定的能量生物标记	物理效应
呼吸链	↑ NADH	Δ 乳酸/根, Δ 乳酸/根: 丙酮酸/根比值; 和 Δ 乙酰乙酸/根: β-羟基丁酸/根比值	代谢失调&疲劳
呼吸链	↓ H ⁺ 梯度	Δ ATP	器官依赖功能障碍
呼吸链	↓ 电子通量	Δ VO ₂ 、RQ、BMR、ΔT、AT、pH 值	代谢失调&疲劳
线粒体 & 胞液	↓ ATP, ↓ VO ₂	Δ 功 (Work)、ΔHR (CO)	运动不耐受
线粒体 & 胞液	↓ ATP	Δ PCr	运动不耐受
呼吸链	↓ 细胞色素 C 氧化/还原	Δ λ ~700 – 900 nm (近红外光谱)	运动不耐受
中间代谢	↓ 分解代谢	Δ C14-标记的基质	代谢失调&疲劳
呼吸链	↓ 电子通量	Δ 混合静脉 VO ₂	代谢失调&疲劳
线粒体 & 胞液	↑ 氧化应激	Δ 生育酚 & 生育三烯酚类, CoQ10, 二十二碳六烯酸	不明确
线粒体 & 胞液	↑ 氧化应激	Δ 还原型谷胱甘肽 (Glutathionered)	不明确
线粒体 & 胞液	核酸氧化	Δ 8-羟基 2-脱氧鸟苷	不明确
线粒体 & 胞液	脂质氧化	Δ 异前列腺素类, 类花生酸类	不明确
细胞膜	脂质氧化	Δ 乙烷 (呼吸)	不明确
细胞膜	脂质氧化	Δ 丙二醛	不明确

[0191] 根据本发明方法对受氧化应激障碍折磨的受试者进行治疗可产生诱导受试者症状减轻或缓解的结果,譬如,停止所述疾病的进一步进展。

[0192] 部分或完全抑制氧化应激障碍可导致受试者以其他方式经历的一种或多种症状的严重程度的减轻。譬如,部分抑制MELAS可导致卒中发作或癫痫发作次数减少。

[0193] 本发明所述能量生物标记的任何一种或任何组合提供方便的可测定的基准,通过所述基准来测定治疗或抑制疗法的有效性。此外,其他能量生物标记是本领域技术人员已知的,并且可被监测以评估治疗或抑制疗法的功效。

[0194] 化合物或组合物调节能量生物标记的用途

[0195] 除了监测能量生物标记以评估治疗或抑制氧化应激疾病的状态之外,本发明化合物或组合物可用于受试者或患者以调节一种或多种能量生物标记。可完成调节能量生物标记来使受试者的能量生物标记正常化,或增强受试者的能量生物标记。

[0196] 使一种或多种能量生物标记正常化被定义为将一种或多种此类能量生物标记的水平恢复至受试者的正常或接近正常水平,所述受试者的一种或多种能量生物标记的水平显示出与正常水平(即,健康受试者的水平)的病理学差异,或改变一种或多种能量生物标记的水平以减轻受试者的病理症状。根据能量生物标记的性质,这些水平可显示出高于或低于正常值的测定值。譬如,病理乳酸水平通常高于正常(即健康)人的乳酸水平,并且所述水平的降低可能是所期望的。病理ATP水平通常低于正常(即健康)人中的ATP水平,并且ATP水平的增加可能是所期望的。因此,使能量生物标记正常化可涉及将能量生物标记的水平恢复至受试者正常值的约至少两个标准偏差内,更优选恢复至受试者正常值的约至少一个标准偏差内,恢复至受试者正常值的约至少二分之一标准偏差内,或恢复至正常值的约至少四分之一标准偏差内。

[0197] 增强一种或多种能量生物标记水平被定义为将受试者中一种或多种能量生物标记的存在水平改变为对受试者提供有益或所需效果的水平。譬如,经历艰苦努力或长时间身体活动的人,例如登山,可以从增加的ATP水平或降低的乳酸水平中受益。如上所述,使能量生物标记正常化可未达到患有氧化应激疾病的受试者的最佳状态,并且所述这些受试者也可从增强能量生物标记中受益。可以从增强的一种或多种能量生物标记水平中受益的受试者的实例包括,但不限于,经历剧烈或长期身体活动的受试者,具有慢性能量问题的受试者,或具有慢性呼吸问题的受试者。此类受试者包括,但不限于,孕妇,尤其是临产孕妇;新生儿,特别是早产新生儿;暴露于极端环境的受试者,如热环境(常温超过约85-86华氏度或约30摄氏度,每天约4小时或更长时间),冷环境(通常温度低于约32华氏度或约0摄氏度,每天约4小时或更长时间),或低于平均含氧量,高于平均二氧化碳含量,或高于平均水平的大气污染(航空旅行者、飞行人员、高海拔地区的受试者、生活在低于平均空气质量水平的城市人群、空气质量恶化的封闭环境中工作的受试者);患有肺部疾病或低于平均肺容量的受试者,如结核病患者、肺癌患者、肺气肿患者和囊性纤维化患者;从手术或疾病中恢复的受试者;老年受试者,包括经历能量下降的老年受试者;患有慢性疲劳,包括慢性疲劳综合征的受试者;经历急性创伤的受试者;休克中的受试者;需急性氧疗的受试者;需慢性氧疗的受试者;或其他受益于能量生物标记增强的急性、慢性或持续能量需求的受试者。

[0198] 因此,当一种或多种能量生物标记水平的增加对受试者有益时,所述一种或多种能量生物标记的增强可涉及将相应的能量生物标记或能量生物标记水平增加至正常值的约至少四分之一标准偏差以上,至正常值的约至少二分之一标准偏差以上,至正常值的约至少一个标准偏差以上,或至正常值的约至少两个标准偏差以上。或者,所述一种或多种能量生物标记的水平可在增强之前比相应的一种或多种能量生物标记的受试者水平提高约至少10%,在增强之前比相应的一种或多种能量生物标记的受试者水平提高约至少20%,在增强之前比相应的一种或多种能量生物标记的受试者水平提高约至少30%,在增强之前比相应的一种或多种能量生物标记的受试者水平提高约至少40%,在增强之前比相应的一种或多种能量生物标记的受试者水平提高约至少50%,在增强之前比相应的一种或多种能量生物标记的受试者水平提高约至少75%,或在增强之前比相应的一种或多种能量生物标

记的受试者水平提高约至少100%。

[0199] 当需要降低一种或多种能量生物标记的水平以增强一种或多种能量生物标记时,所述一种或多种能量生物标记的水平可在受试者中减少正常值的约至少四分之一标准偏差的量,在受试者中减少正常值的约至少二分之一标准偏差的量,在受试者中减少正常值的约至少一个标准偏差的量,或在受试者中减少正常值的约两个标准偏差的量。或者,一种或多种能量生物标记的水平可在增强之前比相应的一种或多种能量生物标记的受试者水平降低约至少10%,在增强之前比相应的一种或多种能量生物标记的受试者水平降低约至少20%,在增强之前比相应的一种或多种能量生物标记的受试者水平降低约至少30%,在增强之前比相应的一种或多种能量生物标记的受试者水平降低约至少40%,在增强之前比相应的一种或多种能量生物标记的受试者水平降低约至少50%,在增强之前比相应的一种或多种能量生物标记的受试者水平降低约至少75%,或在增强之前比相应的一种或多种能量生物标记的受试者水平降低约至少90%。

[0200] 化合物或组合物在研究应用、实验系统、和分析检测中的用途

[0201] 本发明化合物或组合物还可用于研究应用。它们可用于体外、体内或离体实验以调节实验系统中的一种或多种能量生物标记。此类实验系统可以是细胞样品、组织样品、细胞组分或细胞组分的混合物、部分器官、整个器官、或生物体。任何一种或多种所述化合物或组合物可用于实验系统或研究应用。此类研究应用可包括,但不限于,存在/不存在一种或多种本发明化合物或组合物的情况下用作测定试剂,阐明生物化学路径,或评估其它药物对实验系统代谢状态的影响。

[0202] 此外,本发明化合物或组合物可用于生物化学试验或检测。此类试验可包括将本发明的一种或多种化合物或组合物与来自受试者的组织或细胞样品一起孵育,以评价受试者的潜在应答(或受试者的特定亚型的应答)以施用所述一种或多种化合物或组合物,或确定本发明的哪种化合物或组合物在受试者的特定类别或子集中产生最佳效果。一个此类试验或检测将涉及1)从受试者获得细胞样品或组织样品,在所述受试者中,一种或多种能量生物标记的调节可进行测定;2)对所述细胞样品或组织样品施用一种或多种本发明化合物或组合物;和3)与施用所述一种或多种化合物或组合物之前的所述能量生物标记的状态相比,测定施用所述一种或多种化合物或组合物后,所述一种或多种能量生物标记的调节的量。另一此类试验或检测将涉及1)从受试者获得细胞样品或组织样品,在所述受试者中,一种或多种能量生物标记的调节可进行测定;2)对所述细胞样品或组织样品施用至少两种本发明化合物或组合物;3)与施用所述至少两种化合物或组合物之前的所述能量生物标记的状态相比,测定施用所述至少两种化合物或组合物后,所述一种或多种能量生物标记的调节的量;和4)基于步骤3中测定的调节的量,选定化合物或组合物用于治疗、抑制、或调节。

[0203] 在一些实施方案,本发明提供了使用I-VI型多晶型物治疗或防止由辐射暴露引起的伤害或损伤的用途方法,以及使用此类化合物用于治疗或防止由辐射暴露引起的伤害或损伤的方法。在一些实施方案,用于治疗或用于防止由辐射暴露引起的伤害或损伤的方法,所述方法包含对细胞或细胞类、组织或组织类、或有需要的受试者施用治疗有效量或预防有效量的本发明所述I-VI型多晶型物或组合物。在其中一个实施方案,在辐射暴露期间、或之后或在辐射暴露期间和之后,使用I-VI型多晶型物进行治疗。在另一实施方案,在辐射暴露之前,使用I-VI型多晶型物进行治疗。在另一实施方案,在辐射暴露时,同时施用I-VI型

多晶型物。在另一实施方案,在辐射暴露之后,施用所述一种或多种化合物。

[0204] 在一些实施方案,本发明提供了使用I-VI型多晶型物治疗由辐射暴露引起的伤害或损伤的用途方法,以及使用此类化合物治疗或防止由辐射暴露引起的伤害或损伤的方法。在一些实施方案,用于治疗由辐射暴露引起的伤害或损伤的方法,所述方法包含对细胞或细胞类、组织或组织类、或有需要的受试者施用治疗有效量或预防有效量的本发明所述I-VI型多晶型物或组合物。在其中一个实施方案,在辐射暴露期间、或之后或在辐射暴露期间和之后,使用I-VI型多晶型物进行治疗。在另一实施方案,在辐射暴露之前,使用I-VI型多晶型物进行预防。在另一实施方案,在辐射暴露时,同时施用I-VI型多晶型物。在另一实施方案,在辐射暴露之后,施用所述一种或多种化合物。

[0205] 药物制剂

[0206] 本发明所述化合物或组合物通过配制添加剂,如药学上可接受的辅料、药学上可接受的载体、和药学上可接受的媒介物,可配制成药物组合物。合适的药学上可接受的辅料、载体和媒介物包括加工助剂和药物递送调节剂以及增强剂,例如,磷酸钙、硬脂酸镁、滑石粉、单糖类、二糖类、淀粉、明胶、纤维素、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、葡萄糖、羟丙基- β -环糊精、聚乙烯基吡咯烷酮、低熔点蜡类、离子交换树脂类等,以及其任何两个或多个的组合。其他合适的药学上可接受的辅料记载在“Remington's Pharmaceutical Sciences,” MackPub.Co., New Jersey (1991), 和“Remington: The Science and Practice of Pharmacy,” Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 20th edition (2003) and 21st edition (2005) 中,在此通过引用并入本文。

[0207] 药物组合物可包含单位剂量制剂,其中所述单位剂量是足以具有治疗或抑制作用的剂量,或有效调节、使正常化、或增强能量生物标记的量。所述单位剂量可足以作为单一剂量而具有治疗或抑制作用或有效调节、使正常化、或增强能量生物标记的量。或者,所述单位剂量可以是在治疗或抑制病症的过程中周期性施用的剂量,或用于调节、使正常化、或增强能量生物标记周期性施用的剂量。

[0208] 含有本发明化合物或组合物的药物组合物可以是适合于预期施用方法的任何形式,包括例如溶液、悬浮液或乳剂。液体载体通常用于制备溶液、悬浮液或乳剂。可考虑用于本发明实践的液体载体包括,譬如,水、生理盐水、药学上可接受的有机溶剂类、药学上可接受的油类或脂肪类等,以及其两个或多个的混合物。所述液体载体可包含其他合适的药学上可接受的添加剂,如增溶剂类、乳化剂类、营养素类、缓冲剂类、防腐剂类、悬浮剂类、增稠剂类、黏性调节剂类、稳定剂等。合适的有机溶剂包括,譬如,一元醇,如乙醇,和多元醇,如二醇类。合适的油类包括,譬如,大豆油、椰子油、橄榄油、红花油、棉籽油等。对于肠胃外给药,所述载体还可以是油脂,例如油酸乙酯、肉豆蔻酸异丙酯等。本发明组合物还可以是微粒、微胶囊、脂质体包封物等的形式,以及其任何两个或多个的组合。

[0209] 可使用时间释放或控制释放递送系统,如扩散控制基质系统或可侵蚀系统,譬如,如下述文献中所述: Lee, “Diffusion-Controlled Matrix Systems”, pp. 155-198 和 Ron and Langer, “Erodible Systems”, pp. 199-224, 和 “Treatise on Controlled Drug Delivery”, A. Kydonieus Ed., Marcel Dekker, Inc., New York 1992。所述基质可以是,例如,可原位和体内自发降解的可生物降解材料,例如,通过水解或酶裂解,例如,通过蛋白酶。所述递送系统可以是,例如,自然存在或合成的聚合物或共聚物,例如以水凝胶的形式。

具有可分裂连接键的示例性聚合物包括聚酯类、聚正酯类、聚酐类、多糖类、聚(磷酸酯类)、聚酰胺类、聚氨酯类、聚(酰亚胺基碳酸酯类)和聚(磷腈类)。

[0210] 本发明化合物或组合物可根据需要通过肠内、口服、胃肠外、舌下、吸入(例如,作为雾或喷雾)、直肠、或局部进行施用含有常规无毒的药理学上可接受的载体、佐剂和媒介物的剂量单位制剂。譬如,合适的给药方式包括口服、皮下、透皮、粘膜、离子导入、静脉、动脉、肌内、腹腔内、鼻内(如经鼻粘膜)、硬膜下、直肠、胃肠道等,并直接向特定的或受影响的器官或组织进行给药。为了递送至中枢神经系统,可使用脊髓和硬膜外给药或对脑室进行给药。局部给药还可涉及使用透皮给药如透皮贴剂或离子渗透装置。本发明使用的术语肠胃外包括皮下注射、静脉内、肌内、胸骨内注射或输注技术。所述化合物或组合物是与药理学上可接受的、适于所需给药途径的载体、佐剂、和媒介物进行混合。口服给药是优选的给药途径,和适于口服给药的制剂是优选制剂。本发明使用的化合物可以固体形式,液体形式,气溶胶形式或以片剂、丸剂、粉体混合物、胶囊、颗粒剂、注射剂、霜剂、溶液剂、栓剂、灌肠剂、结肠灌洗剂、乳剂、分散体、食品预混物和其它合适形式进行给药。所述化合物或组合物还可以脂质体制剂进行给药。所述化合物还可作为前药进行给药,其中所述前药在经治疗的受试者中经历转化为治疗有效的形式。其他给药方法是本领域已知的。

[0211] 在本发明的一些实施方案,尤其在那些实施方案,其中制剂用于注射或其它肠胃外给药,包括本发明列出的途径,但也包括用于口服、胃部、胃肠道、或肠道给药的途径,本发明方法中使用的制剂和配方是无菌的。无菌药物制剂是根据本领域技术人员已知的药用级灭菌标准(美国药典第797、1072、和1211章;加州商业与职业守则4127.7;16加利福尼亚州法规1751,21联邦法规211)进行化合或制成的。

[0212] 可根据已知技术使用合适的分散剂或润湿剂以及悬浮剂来配制可注射制剂,例如无菌可注射水性或油性悬浮液。所述无菌可注射制剂还可以是在无毒的肠胃外可接受的稀释剂或溶剂中的无菌注射溶液或悬浮液,譬如,作为丙二醇溶液。可使用的所述可接受的媒介物和溶剂是水、林格氏溶液、和等渗氯化钠溶液。此外,无菌的不挥发油通常用作溶剂或悬浮介质。为此,可使用任何温和的不挥发油,包括合成的甘油单酯或甘油二酯。此外,脂肪酸如油酸可用于制备注射剂。

[0213] 用于口服给药的固体剂型形式可包括胶囊、片剂、丸剂、粉剂、和颗粒剂。在此类固体剂型中,所述活性化合物可与至少一种惰性稀释剂如蔗糖、乳糖、或淀粉进行混合。此类剂型还可包含除了惰性稀释剂之外的其他物质,譬如,润滑剂如硬脂酸镁。在胶囊、片剂、和丸剂情况下,所述剂型还可包含缓冲剂。片剂和丸剂还可用肠衣进行制备。

[0214] 用于口服给药的液体剂型可包括药理学上可接受的乳剂、溶液剂、悬浮剂、糖浆剂、和含有本领域通常使用的惰性稀释剂例如水的酞剂。此类组合物还可包含佐剂,如润湿剂、乳化和悬浮剂、环糊精、和甜味剂、调味剂、以及香化剂。

[0215] 本发明化合物或组合物还可以脂质体形式进行给药。正如现有技术中周知的,脂质体通常衍生自磷脂类或其他脂质类物质。脂质体是由分散在水性介质中的单层或多层水合液晶形成。可使用能够形成脂质体的任何无毒的、生理上可接受的和可代谢的脂质。以脂质体形式的本发明组合物可含有除了本发明化合物以外的稳定剂、防腐剂、辅料等。优选的脂质类是天然和合成的磷脂类和磷脂酰胆碱类(卵磷脂类)。形成脂质体的方法是本领域周知的,参见,譬如,Prescott,Ed.,Methods in Cell Biology,Volume XIV,Academic

Press, New York, N.W., p.33 et seq (1976)。

[0216] 本发明还提供了含有用于治疗或抑制氧化应激障碍的物料的制品和试剂盒。本发明还提供了包含任何一种或多种本发明所述化合物或组合物的试剂盒。在一些实施方案, 本发明所述试剂盒包含合适的容器。

[0217] 在其他方面, 所述试剂盒可用于任何本发明所述方法, 包括譬如治疗患有线粒体疾病的个体, 或抑制个体中的线粒体疾病。

[0218] 可以与载体物料组合以产生单一剂型的活性成分的量将根据施用活性成分的宿主和特定给药方式而变化。然而, 应当理解, 任何特定患者的具体剂量水平将取决于多种因素, 包括所用具体化合物的活性、患者年龄、体重、体面积、体质指数 (BMI)、一般健康状况、性别、饮食、给药时间、给药途径、排泄速率、药物组合以及进行治疗的特定疾病的类型、进展和严重程度。选择的药物单位剂量通常被配制并给药, 以提供在身体的血液、组织、器官或其他目标区域中的确定的药物终浓度。既定情景中的所述治疗有效量或有效量可通过常规实验容易地确定, 并且在普通临床医生的技能和判断之内。

[0219] 可使用的剂量的实例是在剂量范围为约0.1mg/kg至约300mg/kg体重内, 或在约1.0mg/kg至约100mg/kg体重内, 或在约1.0mg/kg至约50mg/kg体重内, 或在约1.0mg/kg至约30mg/kg体重内, 或在约1.0mg/kg至约10mg/kg体重内, 或在约10mg/kg至约100mg/kg体重内, 或在约50mg/kg至约150mg/kg体重内, 或在约100mg/kg至约200mg/kg体重内, 或在约150mg/kg至约250mg/kg体重内, 或在约200mg/kg至约300mg/kg体重内, 或在约250mg/kg至约300mg/kg体重内的治疗有效量或有效量。本发明化合物或组合物可以单个日剂量进行给药, 或总日剂量可以每日两次, 三次或四次的分剂量进行给药。

[0220] 虽然本发明化合物或组合物可作为唯一的活性药物进行给药, 但是他们也可以与用于治疗或抑制病症的一种或多种其它药物组合使用。与本发明化合物或组合物组合使用用于治疗或抑制线粒体疾病的代表性药物包括, 但不限于, 辅酶Q、维生素E、艾地苯醌、MitoQ、维生素类、NAC、和抗氧化剂类化合物。

[0221] 当附加活性药物与本发明化合物或组合物组合使用时, 所述附加活性药物通常可以按照医师桌上手册 (Physicians' Desk Reference, PDR) 第53版 (1999) 中所述的治疗量, 或本领域普通技术人员将知晓的治疗有用量进行使用。

[0222] 本发明化合物或组合物和其他治疗活性药物可以推荐的最大临床剂量或以较低剂量进行给药。本发明组合物中所述活性化合物的剂量水平可以改变, 以便根据给药途径、疾病的严重程度和患者的反应获得所需的治疗反应。当与其它治疗剂进行组合给药时, 所述治疗剂可配制成在同一时间或不同时间进行给药的分开的组合物, 或所述治疗剂可以单一组合物进行给药。

[0223] 本发明将通过以下非限制性实施例从而进一步理解本发明。

[0224] 本发明组合物的制备

[0225] 本发明组合物可从容易获得的起始物料采用下述一般方法和程序制备得到。应当理解, 在给出典型或优选的工艺条件 (即, 反应温度、时间、反应物的摩尔比、溶剂、压力等) 的情况下, 除非另有说明, 否则也可使用其它工艺条件。最佳反应条件可随所用的特定反应物或溶剂而变化, 但是本领域技术人员可通过常规优化程序确定这些条件。

[0226] 合成反应参数

[0227] 用于合成本发明化合物和组合物的溶剂包括,譬如,甲醇(“MeOH”)、丙酮、水、乙腈、1,4-二氧六环、二甲基甲酰胺(“DMF”)、苯、甲苯、二甲苯、四氢呋喃(“THF”)、氯仿、亚甲基氯(二氯甲烷, (“DCM”))、乙醚、吡啶、2-甲基四氢呋喃(“2-MeTHF”)、二甲基乙酰胺(“DMA”)、乙酸乙酯(“EtOAc”)、乙醇(“EtOH”)、异丙醇(“IPA”)、乙酸异丙酯(“IPAc”)、甲基纤维素(“MC”)、乙腈(“MeCN”)、甲醇(MeOH)、甲基叔丁基醚(“MTBE”)、磷酸盐缓冲盐水(“PBS”)、四氢呋喃(“THF”)等,以及其混合溶剂。

[0228] 术语“q. s.”是指加入足以实现所述功能的量,例如使溶液达到所需体积(即100%)。

[0229] 本发明化合物和组合物是通过适当的一般周知的合成方法的组合合成得到。用于合成本发明化合物和组合物的技术是根据本发明所述教导,对于相关领域的技术人员是显而易见的并且可很容易得到。提供下述讨论以说明可用于制备本发明化合物和组合物的某些不同的方法。然而,所述讨论并不旨在限定可用于制备本发明化合物和组合物的反应或反应顺序的范围。

[0230] 用于生产本发明化合物和组合物的其他方法根据本发明的教导,对于本领域技术人员而言是显而易见的。

实施例

[0231] 实施例1. (R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺(I型)的合成

[0232] 实施例1A. (1S,2S)-(+) -伪麻黄碱游离碱的提取

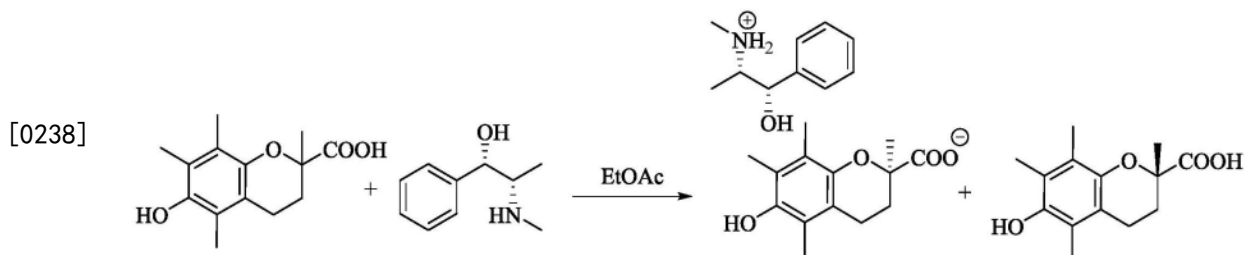
[0233] 向(1S,2S)-(+) -伪麻黄碱盐酸盐(300g,光谱纯)的2-MeTHF(1.5L,5体积)混悬液中加入20%NaOH水溶液(750mL,2.5体积),所得混合物搅拌反应30分钟(一些仍未溶解的固体),然后转移至分液漏斗中。所得下层水层与残留在中间相的固体一起排出,然后用2-MeTHF(750mL,2.5体积)萃取,使未溶解的固体完全溶解以形成两个澄清层。合并的有机层在旋转蒸发仪上蒸发至干,所得固体在50℃、真空烘箱中干燥过夜得到240.3g游离碱为白色固体(97.7%回收)。

[0234] 实施例1B. (1S,2S)-伪麻黄碱由2-MeTHF/庚烷沉淀

[0235] 将(1S,2S)-伪麻黄碱(Sigma-Aldrich,sku#212464,8.2g)溶解在50℃的2-MeTHF(41mL,5体积)中。所得溶液用庚烷(82mL,10体积)稀释,和所得悬浮液在室温下搅拌反应过夜。将结晶的(1S,2S)-伪麻黄碱过滤,然后在40℃下真空干燥过夜,得到6.4g(78%)的白色结晶物质。将滤液丢弃至一般废物中。

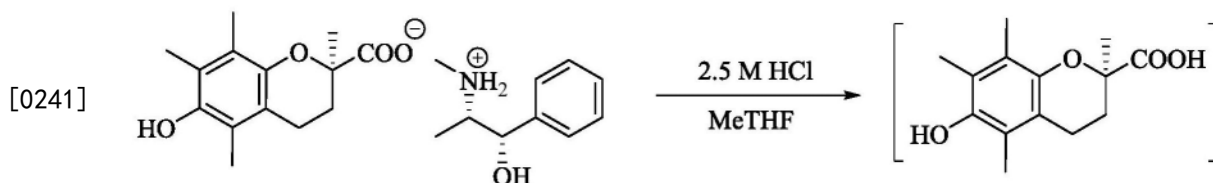
[0236] 相对较低(78%)的结晶产率促进采用庚烷与2-MeTHF的较高比例进行另外的结晶实验。将上述实验中所得的结晶(1S,2S)-伪麻黄碱溶解在50℃的2-MeTHF(32mL,5体积)中。所得溶液用庚烷(32mL,5体积)稀释,在旋转蒸发仪上向所得混悬液追加庚烷(3×50mL),直至2-MeTHF与庚烷的摩尔比通过NMR分析低于6%。将所得悬浮液过滤,所得产品在40℃下真空干燥过夜,得到6.3g(98%)的白色结晶物质。

[0237] 实施例1C. 使用(1S,2S)-(+) -伪麻黄碱手性拆分水溶性维生素E(Trolox)



[0239] 将水溶性维生素E (Trolox, 316.6g, 1.27mol) 和实施例1A中所述 (1S, 2S) - (+) - 伪麻黄碱游离碱 (240.0g, 1.46mol) 装入配置有顶置式搅拌器、温度探针和氮气排气的4L夹套反应器中。然后装入乙酸乙酯 (EtOAc, 1585mL, 5体积), 将所得浆体加热至50℃, 得到澄清溶液。(在40℃下, 有时观察到 (R) - 水溶性维生素E-伪麻黄碱盐过早 (水溶性维生素E外消旋体完全溶解之前) 沉淀。如果发生过早沉淀, 则将反应混合物加热 (通常达到回流温度) 以实现完全溶解)。将反应混合物冷却过夜至室温, 此时可观察到大量沉淀。将混合物在30分钟内冷却至10℃, 且保持在此温度1h。过滤, 收集所形成的固体, 湿的滤饼用EtOAc (1.9L, 6体积) 洗, 然后将滤饼在25-30℃的真空烘箱中恒重干燥, 得到188.1g (71.3%, 基于 (R) - 水溶性维生素E (Trolox)) 白色固体。手性HPLC数据表明接近100%对映体纯度。

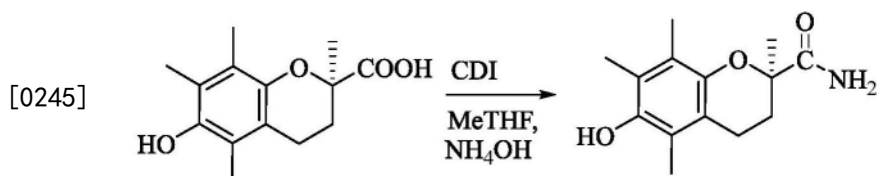
[0240] 实施例1D. 采用 (1S, 2S) - (+) - 伪麻黄碱从其盐回收 (R) - 水溶性维生素E



[0242] R-水溶性维生素E PE盐

[0243] 将所得 (R) - 水溶性维生素E PE盐 (187.3g, 0.45mol) 装入2L圆底烧瓶中, 随后加入 2-MeTHF (570ml, 3体积) 以形成浆体。分批加入盐酸 (2.5M, 325ml, 0.81mol, 1.75当量), 而保持温度低于25℃。将水溶性维生素E-PE盐溶解, (R) - 水溶性维生素E被萃取进入有机相。在界面处观察到小黑色碎片, 并与水层保持在一起。所得水相另外用2-MeTHF (2×200ml) 萃取。然后, 合并的有机层用15% NaCl (200ml) 洗, 随后用水 (200ml) 洗。有机层用无水硫酸钠 (150g) 干燥, 过滤, 蒸干得到白色固体, 所得白色固体在30℃、真空烘箱中恒重干燥得到128.3g, 其是超化学计量的量。

[0244] 实施例1E. (R) - 6-羟基-2,5,7,8-四甲基色烷-2-甲酰胺的制备



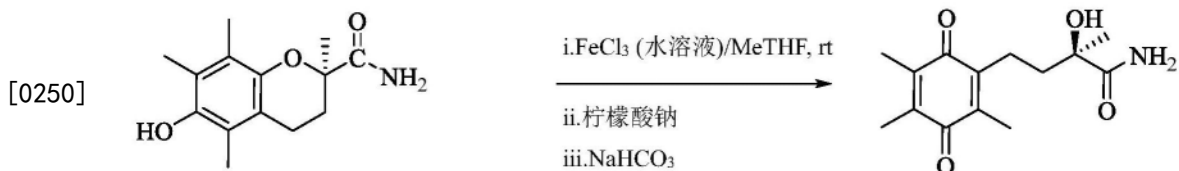
[0246] 将CDI (Sigma-Aldrich) (188g, 1.16mol) 装入配置有顶置式搅拌器、氮气入口、和温度探针的3-颈的2L RBF (圆底烧瓶) 中。加入2-MeTHF (290mL) 以形成可搅拌的浆体, 随后在30℃下, 缓慢加入 (R) - 水溶性维生素E (126.0g, 504mmol) 的2-MeTHF (500ml) 溶液。观察到伴随CO₂放出的轻微放热反应。在加入约三分之一的 (R) - 水溶性维生素E后开始脱气。大约15分钟内观察到起始物料完全溶解。

[0247] 将所述烧瓶的内容物缓慢加入预冷却至5℃的28-30%氨水 (380ml) 中, 保持温度

低于30℃。将所得双相悬浮液在室温下搅拌并通过HPLC监测。反应在36h后反应完毕,然后在48h后进一步处理。

[0248] 用硫酸(1:4v/v)(850ml)将反应混合物酸化至pH值为1-2,保持温度 $\leq 28^{\circ}\text{C}$,反应放出大量热。除去水层(pH=1),所得有机层用NaCl(15%水溶液w/v,250mL)、 NaHCO_3 (1M,250mL)、NaCl(15%水溶液w/v,250mL)和水(250ml)洗。有机层的大部分用于随后步骤。

[0249] 实施例1F. (R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的制备



[0251] 将含有 ~ 0.39 摩尔的酰胺中间体和水(126ml)的(R)-6-羟基-2,5,7,8-四甲基色烷-2-甲酰胺(708ml)溶液装入配置有顶置式搅拌器和热电偶的2L 3N RBF(圆底烧瓶)中。

[0252] 将 $\text{FeCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$ (480g, 1.78mol)的水(336ml)的储备溶液分成4个相等部分(每部分204g),向反应烧瓶中加入四分之一的氯化铁(III)溶液。观察到弱的($\sim 3^{\circ}\text{C}$)放热,有机层的颜色变成近黑色,然后变浅至深棕色。将双相反应混合物在室温下剧烈搅拌40分钟。除去轻微变色的水相后,加入另一部分氯化铁(III)溶液,搅拌反应40分钟。重复所述操作一次或多次,所得有机相在室温下存储过夜。第二天早上用 $\text{FeCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$ 进行第四次处理。观察到(R)-6-羟基-2,5,7,8-四甲基色烷-2-甲酰胺接近完全(99.44%)转化为(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺。起始铁提取用1M柠檬酸三钠溶液($2 \times 350\text{ml}$)完成;(R)-6-羟基-2,5,7,8-四甲基色烷-2-甲酰胺的所述AUC%提高至0.84%。有机相的pH值保持在强酸性(pH=1)。1ml等分的有机相用1M NaHCO_3 处理,得到大量红色 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 沉淀。基于此观察,进行又一次柠檬酸三钠(175ml)冲洗(0.74%的(R)-6-羟基-2,5,7,8-四甲基色烷-2-甲酰胺)。用1M NaHCO_3 重复1ml等分的试验,在水层没有得到沉淀,所述水层的颜色为黄色,而非红色,表明铁已完全去除或接近完全去除。

[0253] 将有机层加热至 40°C 以防止(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺过早沉淀,然后用1M碳酸氢钠溶液(175ml)洗。相分离不是立即发生的,但在15分钟内完成两个透明黄色层的形成。有机层(0.30%的(R)-6-羟基-2,5,7,8-四甲基色烷-2-甲酰胺)进一步用水(350ml)洗,得到0.22%的(R)-6-羟基-2,5,7,8-四甲基色烷-2-甲酰胺。蒸发所述有机层得到96g的(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺。

[0254] 将合并的碳酸氢盐/水层用 $2 \times 250\text{ml}$ 的2-MeTHF重新萃取。蒸发这些萃取物分别得到4.0和0.9g的(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺。

[0255] 70°C 下,将合并的固体(100.9g的(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺粗品,84%收率,基于(R)-水溶性维生素E-伪麻黄碱盐)溶解在异丙醇(600ml)中,将所得黄色溶液装入配置有顶置式搅拌器、加热套和热电偶的2L 3N RBF(三颈圆底烧瓶)中。

[0256] 加入庚烷(600ml),未观察到沉淀。将反应混合物重新加热至 55°C ,缓慢冷却至室

温。加入所需多晶型物的晶种(0.2g),反应混合物在室温下搅拌过夜。过夜观察到大量沉淀。然后将反应混合物冷却至7℃,继续搅拌8小时。所得产品过滤,用异丙醇-庚烷1:1v/v(2×75ml)洗,在40℃下干燥一周。产量为69.4g的(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺(58%基于(R)-水溶性维生素E-伪麻黄碱盐)。所述产品的XRPD数据对应所需的I型多晶型物。

[0257] 实施例2. 模式A的溶解度测定

[0258] (R)-水溶性维生素E由外消旋水溶性维生素E通过甲基苄基胺两次拆分生产制备得到,其方式类似于美国专利号为4,026,907的实施例29中所述。所述(R)-水溶性维生素E用于合成所述(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺起始物料。所述起始物料称为模式A,用于所述溶解度测定。

[0259] 过量固体在具有不同性质的17种溶剂体系中制浆至少3天。将所述浆体进行离心分离,所得澄清溶液用于重量分析法。所述化合物在环境温度下在MeOH、EtOH中,和在50℃下在IPA、丙酮、MeOH、EtOH和2-MeTHF中显示出提高的溶解度。在环境条件和50℃下在EtOAc、THF、IPA、丙酮、2-MeTHF、MeCN、0.5%甲基纤维素/2%吐温80、IPAc和4%DMA的PBS中观察到为中等溶解度。在环境条件和升高的温度下在庚烷、甲苯、MTBE、水和0.5%甲基纤维素的水溶液中观察到有限的溶解度。表9显示所述测定的溶解度数据。预计A±10%误差。

[0260] 表9: (R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺在各种溶剂体系中的溶解度(起始物料,使用模式A)

	溶剂	mg/mL ,	mg/mL,
		25 °C	50 °C
[0261]	庚烷	6	6
	甲苯	3	<18
	MTBE	10	16
	EtOAc	22	38
	THF	28.	33
	IPA	20	53
	丙酮	39	90
	EtOH	40	>121
	MeOH	>101	>112
	2-MeTHF	35	59
	MeCN	20	38
	水	3	3
	¹ 水	2	6
	0.5% MC/2%吐温 80*	26	30
	IPAc	13	16
	0.5% MC 的水溶液*	7	4
	4% DMA 的 PBS 溶液*	10	13

[0262] *部分浓度涉及溶剂成分

[0263] 如表9所示,模式A在各种极性和非极性溶剂中是可溶的,并且在简单清洁剂(0.5%MC/2%吐温80)中具有增加的溶解度。

[0264] 实施例3.短期制浆实验

[0265] 所述起始物料模式A的短期制浆实验在具有不同性质的17种不同溶剂体系中,在两种不同温度(25℃和50℃)下,进行至少3天。使用48位平行合成仪(Chemglass)反应块来加热和搅拌在2mL HPLC小瓶中的浆体。适当的时间之后,将小瓶离心并将湿的固体用于X射线衍射。表10示出了所述制浆实验的结果。所述这些结果表明,若在大部分这些溶剂中短时间内制浆,模式A固体是相对稳定的。然而,在THF和0.5%甲基纤维素/2%吐温80中使模式A制浆,得到两个新的X射线图,分别称为模式B和C(图1)。

[0266] 表10: (R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的至少3天制浆的总结(起始物料,使用模式A)

	溶剂	起始形式	25 °C		50 °C
			得到形式, 湿的	得到形式, 干的	得到形式, 湿的
[0267]	庚烷	A	A		A
	甲苯	A	A		A
	MTBE	A	A		A
	EtOAc	A	A		A
	THF	A	B	B	-
	IPA	A	A		A
	丙酮	A	A		A
	EtOH	A	A		-
	MeOH	A	-		-
	2-MeTHF	A	A		A
	MeCN	A	A		A
	水	A	A		A
	¹ 水	A	A		A
	0.5% MC/2% 吐温 80	A	C	C	A
	IPAc	A	A		A
	0.5% MC 的水溶液	A	A		A
	4% DMA 的 PBS 溶液	A	A		A

[0268] 实施例4.蒸发结晶实验

[0269] 使用重量溶解度测定(实施例2)生成的样品进行(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的蒸发结晶实验。由模式A得到的大多样品的XRPD分析。然而,发现在25℃下从2-MeTHF分离得到的固体的XRPD分析提供了唯一的结晶模式,称为模式D,如图2所示。从IPAc、0.5%MC的水溶液和4%DMA的PBS溶液得到样品的XRPD分析

主要产生无定形模式,除了从50℃下IPAc中得到与模式A一致的结晶形式之外。所有结果总结在表11中。

[0270] 表11: (R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的蒸发结晶实验总结(起始物料,使用模式A)

[0271]	溶剂	起始形式	25 °C		50 °C
			得到形式, 湿的	得到形式, 干的	得到形式, 湿的
	庚烷	A	-	-	-
	甲苯	A	A	A	A
	MTBE	A	油状物		无定形
	EtOAc	A	A		A
	THF	A	无定形		A
	IPA	A	无定形		无定形
	丙酮	A	A		A
	EtOH	A	A		A
[0272]	MeOH	A	A		A
	2-MeTHF	A	D	NA	A
	MeCN	A	A		A
	水	A	A		A
	¹ 水	A	A		A
	0.5% MC/2%吐温 80	A	油状物		油状物
	IPAc	A	无定形		A
	0.5% MC 的水溶液	A	无定形		-
	4% DMA 的 PBS 溶液	A	无定形		无定形

[0273] NA-由于样品干燥过夜而无法进行干燥

[0274] 实施例5. 结晶实验

[0275] 快速和缓慢冷却单溶剂结晶实验是在甲苯、EtOAc、IPA、丙酮、EtOH、2-MeTHF、和含2%水的IPA(表12)中进行的。使用48位平行合成仪(Chemglass)反应块在4mL小瓶中进行加热和搅拌。每个小瓶装入50-80mg的起始物料(模式A),并配有磁力搅拌棒。加入主溶剂并搅拌加热直至溶解。一旦完全溶解,所述样品通过辐射冷却进行缓慢冷却或使用冰浴快速冷却,随后搅拌平衡过夜。对于二元溶剂结晶方法,以两种方法(表13)加入反溶剂(庚烷)。方法一,将所述反溶剂滴加至所述样品溶液中,直至观察到轻微沉淀。方法二将所述样品溶液逆向加入到加热的反溶剂中,其中所述样品溶液与加热的反溶剂的比例为2:1,然后冷却。过夜平衡之后得到的固体样品经过滤分离,未沉淀的样品在温和氮气流下蒸发得到。所有样品在环境条件下、真空烘箱中干燥过夜,并采用XRPD进行分析以检查产品形式变化。所有实验详情和结果总结在表12-13中。

[0276] 所有分离的固体的XRPD分析表明所得到结晶形式几乎与起始物料模式A一致。然而,采用快速和缓慢冷却方法在2-MeTHF中进行的单溶剂结晶方法,没有观察到在冷却时得到固体,并在氮气下蒸发至干。所述这些蒸发得到的固体的XRPD图与先前观察到的模式D(图3)一致。在EtOAc中进行的快速冷却结晶,通过XRPD说明产生唯一的结晶固体,将其与所有已知形式进行比较,并称为模式E(图4)。在EtOH/庚烷和丙酮/庚烷中采用快速和缓慢冷却方法进行的二元溶剂结晶得到与模式A一致的XRPD图。表12: (R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的单溶剂结晶实验总结(起始物料,使用模式A)

[0277]

起始物料 (模式 A) (mg)	主溶剂		温度 (°C)	冷却速率	分离	XRPD [模式]
	溶剂	体积 (mL)				
49.7	甲苯	2.75	60	快速	NA	-
52.3	EtOAc	1	60	快速	过滤	结晶 [模式 E]
55.9	IPA	1	60	快速	过滤	结晶 [模式 A]
50.9	丙酮	0.5	60	快速	过滤	结晶 [模式 A]
82.0	EtOH	0.5	60	快速	过滤	结晶 [模式 A]
51.1	2-MeTHF	1	60	快速	蒸发	结晶 [模式 D]
48.9	含 2%水的 IPA	0.5	60	快速	过滤	结晶 [模式 A]
50.2	甲苯	2.75	60	缓慢	NA	-
49.2	EtOAc	1	60	缓慢	过滤	结晶 [模式 A]
54.9	IPA	1	60	缓慢	过滤	结晶 [模式 A]
51.9	丙酮	0.5	60	缓慢	过滤	结晶 [模式 A]
82.7	EtOH	0.5	60	缓慢	过滤	结晶 [模式 A]
54.6	2-MeTHF	1	60	缓慢	蒸发	结晶 [模式 D]
54	含 2%水的 IPA	0.5	60	缓慢	过滤	结晶 [模式 A]

[0278] 表13: (R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的二元溶剂结晶实验总结(起始物料,使用模式A)

[0279]

起始物料 (模式 A) (mg)	主溶剂		温 度 (°C)	反溶剂		反溶剂添 加速率	分离	XRPD [模式]
	溶剂	体积 (mL)		溶剂	体积 (mL)			
84.5	EtOH	0.5	60	庚烷	2.5	缓慢	过滤	结晶 [模式 A]
53.7	丙酮	0.5	60	庚烷	1.5	缓慢	过滤	结晶

[0280]								[模式 A]
	82.2	EtOH	0.5	60	庚烷	1.0	快速	结晶 [模式 A]
	56.1	丙酮	0.5	60	庚烷	1.0	快速	结晶 [模式 A]

[0281] 实施例6. 放大实验

[0282] 放大实验是以300mg的批次通过在2-MeTHF、EtOAc中进行单溶剂快速冷却结晶、和在THF和0.5%甲基纤维素/2%吐温80中制浆, 试图分离先前分别观察到的模式D、E、B和C用于进一步表征。实验详情和结果总结在表14-15中。

[0283] 快速冷却单溶剂结晶实验是在2-MeTHF和EtOAc中进行(表14)。使用48位平行合成仪 (Chemglass) 反应块在4mL小瓶中进行加热和搅拌。每个小瓶装入300mg的起始物料, 并配有磁力搅拌棒。加入6mL主溶剂并搅拌加热至60℃直至溶解。一旦完全溶解, 将所述样品转移至冰浴(快速冷却)中, 并加入一铲尖的模式D或E进行接种, 随后在室温下搅拌平衡过夜。过夜平衡之后得到的固体样品经过滤分离, 和未沉淀的样品在温和氮气流下蒸发得到。所有样品在环境条件下、真空干燥过夜, 并进行XRPD分析以检查产品形式变化。

[0284] 制浆实验是在THF和0.5%甲基纤维素/2%吐温80中进行(表15)。使用48位平行合成仪 (Chemglass) 反应块在4mL小瓶中进行加热和搅拌。每个小瓶装入300mg的起始物料, 并配有磁力搅拌棒。在环境条件下加入多达2mL制浆溶剂, 在加入一铲尖的模式B或C之前, 使其平衡30分钟。

[0285] 在2-MeTHF中采用快速冷却方法进行的单溶剂结晶分离得到的固体的XRPD分析, 表明其为唯一的XRPD图, 称为模式F(图4)。在EtOAc中进行快速冷却结晶得到的结晶固体通过XRPD分析表明与模式E一致(图5)。在THF和0.5%甲基纤维素/2%吐温80中进行的制浆实验, 经24小时平衡后分别得到模式B和C(图6-7)。

[0286] 表14: (R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的单溶剂结晶放大实验总结

起始物料 (模式 A) (mg)	主溶剂		温度 (°C)	冷却速率	冷却时接种 [mg]	分离	XRPD [模式]
	溶剂	体积 (mL)					
312.0	2-MeTHF	6.0	60	快速	[~10]	蒸发	结晶 [模式 F]
300.7	EtOAc	6.0	60	快速	[~10]	过滤	结晶
							[模式 E]

[0289] 表15: (R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的制浆放大实验总结

	起始物料 (模式 A) (mg)	主溶剂		制浆温度 (°C)	浆体形成	制浆时接种 [mg]	XRPD [模式]
		溶剂	体积 (mL)				24 小时
[0290]	305.7	THF	2	环境温度	是	[~10]	结晶 [模式 B]
	308.3	0.5% MC/2% 吐温 80 的 水溶液	2	环境温度	是	[~10]	结晶 [模式 C]

[0291] 实施例7. 竞争性制浆

[0292] 模式A、B、C、D、E和F的竞争性制浆是实验在环境条件下在IPA、IPA/2%水和0.5%甲基纤维素的水溶液中开始,如表16所示。将约100mg的起始材料模式A加至装有磁力搅拌棒的玻璃小瓶中。将溶剂加至小瓶中,并使其与模式A制浆15分钟,然后将约10-20mg的每个相对模式(B、C、D、E和F)加至每个小瓶中。使得样品在搅拌下平衡并经24小时或平衡后,XRPD分析显示从0.5%甲基纤维素的水溶液中制浆分离的固体是模式A/C的混合物(图8)。从IPA和IPA/2%水中分离的所有其他固体与起始物料模式A一致(图9)。然而,经过7天的平衡,从0.5%甲基纤维素的水溶液中制浆观察到完全转化为模式C(图8),其中从IPA和IPA/2%水中进行竞争性制浆分离的固体与模式A一致(图9)。表16: (R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺在2mL溶剂中的竞争性制浆实验总结

	溶剂	模式 (mg)						XRPD	
		模式 A	模式 B	模式 C	模式 D	模式 E	模式 F	24 h	7 天
	IPA	101.9*	~ 10	~ 10	~ 10	~ 10	~ 10	A	A
[0293]	IPA:水 (98:2)	107.3*	~10	~10	~10	~10	~10	A	A
	0.5% MC/水	103.9*	~10	~10	~10	~10	~10	A/C	C

[0294] *-用于使溶剂饱和并制成模式A的稀浆

[0295] 实施例8. 高湿度研究

[0296] 将所有模式A、B、C、D、E和F在环境条件、>95%RH(相对湿度)下进行7天高水分湿度实验(表17)。将约30mg的每种模式称重装入4ml玻璃小瓶。然后将未封盖的4ml小瓶插入装满水的20毫升闪烁管中并加盖。经过24小时的平衡,进行目视检测以检查物理外观的变化,但没有观察到变化。在高湿度下经过7天的平衡,样品未显示物理变化,并通过XRPD分析以检查样品形式。7天平衡后,模式A、C和E显示未有形式的变化;然而,模式B转化为模式A/B的混合物。在>95%RH下,发现模式D转化为模式D/B的混合物,和模式F转化为模式E。所有实验详情和结果总结在表17中。

[0297] 表17: (R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的7天高水分湿度实验总结

[mg]	储存条件	起始模式	目测		XRPD [模式]
			1 天	7 天	7 天
~ 30	> 95 %RH, 环境条件	A	黄色固体	黄色固体	结晶 [模式 A]
~ 30	> 95 %RH, 环境条件	B	黄色固体	黄色固体	结晶 [模式 A/B 的混合物]
[0298] ~ 30	> 95 %RH, 环境条件	C	黄色固体	黄色固体	结晶 [模式 C]
~ 30	> 95 %RH, 环境条件	D	黄色固体	黄色固体	结晶 [模式 D/B 的混合物]
~ 30	> 95 %RH, 环境条件	E	黄色固体	黄色固体	结晶 [模式 E]
~ 30	> 95 %RH, 环境条件	F	黄色固体	黄色固体	结晶 [模式 E]

[0299] 实施例9. 研磨实验

[0300] 丙酮酸脱氢酶缺乏症; 验是使用研钵和研杵在IPA和水中干研磨和溶剂滴研磨进行的(表18)。在轻微研磨模式A之后, 通过XRPD分析观察不到晶体形式的变化。

[0301] 表18: (R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的研磨实验总结

[0302]	样品重量 (mg)	溶剂	研磨	条件	XRPD
	30-50	-	是	RT	模式 A
[0303]	30-50	IPA (2 滴)	是	RT	模式 A
	30-50	H ₂ O (2 滴)	是	RT	模式 A

[0304] 实施例10. 水溶性

[0305] 模式A、B、C、E和F的水溶解度使用安捷伦 (Agilent) HPLC系统进行检测。将约10-20mg的每种形式装入配有磁力搅拌棒的2mL玻璃小瓶中并加入2mL水。将样品在环境条件下搅拌过夜。24小时平衡后, 将样品离心并倒入HPLC样品瓶中。基于模式A在0.05、0.1、0.5和1.0mg/mL的MeOH中生成校准曲线。注射标准曲线后, 所述样品按原样运行。所有实验详情和结果总结在表19中。

[0306] 表19: (R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺

的水溶性实验总结

[0307]	(mg)	水 (mL)	模式	指定形式	% AUC	溶解度 (mg/mL)
	15.0	2	F	2-MeTHF 溶剂化物, VI 型	6813	1.36
	12.1	2	E	无水物, II 型	6602	1.32
	12.3	2	B	THF 溶剂化物, IV 型	6514	1.30
	13.5	2	C	水合物, III 型	6646	1.32
	21.5	2	A	无水物, I 型	8729	1.74

[0308] 实施例11.形式的表征

[0309] (R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的固体形式表征,多晶型形式是通过XRPD、DSC、¹H NMR、TGA、卡尔费歇尔法(Karl Fischer)、光学显微术和吸湿法完成。结果总结在表1中。

[0310] 模式A(无水物, I型)

[0311] 使用如实施例2中所述的起始物料,发现黄色起始物料的XRPD分析得到称为模式A的结晶形式(图10)。通过光学显微镜观察到的双折射现象证实了XRPD观察到的结晶度。如图11所示,晶体的形态被确定为具有一定聚集性的不规则形状。

[0312] 通过DSC的热分析显示在152.9℃处有单一吸热峰,然后在200℃后退化(图12)。

[0313] TGA分析显示在45-160℃之间没有失重,然而,从160-300℃观察到分解造成的失重(图13)。通过卡尔费歇尔法(Karl Fischer)分析证实了最小含水量,其显示所述物料含有约0.12重量%水。

[0314] ¹HNMR进一步分析显示所述起始物料与(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的结构一致,并含有0.28重量%的残留IPA。参见图40。

[0315] 所述起始物料的吸湿分析是通过在25℃和50%RH下以模拟环境实验室条件平衡所述样品来完成的。然后,湿度降至0%RH,从0增至95%RH,从95降至0%RH,从0增至95%RH,然后从95降至50%RH。每个点表示每个湿度或重量的估计渐近重量。发现起始物料不吸湿,在90%RH下吸附0.1%的水。在解吸时未观察到迟滞现象(图14)。发现吸湿分析后样品的XRPD分析与所述起始物料模式A一致。

[0316] 模式E(无水物, II型)

[0317] 在使用50mg批次、快速冷却方法进行单溶剂结晶过程中观察到模式E(无水物,形式II),并且再次在300mg放大批中观察到(实施例5和6)。从所述固体的XRPD分析发现得到了唯一的结晶形式,称为模式E(图15)。通过光学显微镜观察到的双折射现象证实了XRPD观察到的结晶度。如图16所示,晶体的形态被确定为具有一定聚集性的不规则形状。

[0318] 通过DSC对50mg放大批的热分析显示在133.9℃和151.3℃处有两个吸热峰,随后在200℃后退化(图17)。

[0319] 50mg放大批的TGA分析显示在120-140℃之间有0.4%失重,可能归因于EtOAc的损失,随后分解(图18)。通过卡尔费歇尔法(Karl Fischer)分析证实了最小含水量,其显示所述物料含有约0.1重量%水。

[0320] 模式E(来自所述300mg放大批)的¹H NMR进一步分析显示所述物料与(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的结构一致,并含有0.4重量%的残留EtOAc。参见图44。

[0321] 模式E(来自所述300mg放大批)的吸湿分析是通过在25℃和50%RH下以模拟环境实验室条件平衡所述样品来完成的。然后,湿度降至0%RH,从0增至95%RH,从95降至0%RH,从0增至95%RH,然后从95降至50%RH。每个点表示每个湿度或重量的估计渐近重量。发现模式E不吸湿,在95%RH下吸附0.2%的水。在解吸时没有观察到迟滞现象(图19)。发现吸湿分析后样品的XRPD分析与所述模式E一致。

[0322] 模式C(水合物,III型)

[0323] 50mg批次、在0.5%甲基纤维素/2%吐温80中短期制浆过程中观察到模式C(水合物,III型),并再次在300mg放大批中观察到(分别为实施例3和6)。从所述固体的XRPD分析发现得到了唯一的结晶形式,称为模式C(图20)。通过光学显微镜观察到的双折射现象证实了XRPD观察到的结晶度。如图21所示,晶体的形态被确定为具有一定聚集性的不规则形状。

[0324] 通过DSC对50mg放大批的热分析显示在72℃和150.7℃处有两个吸热峰,随后在200℃后退化(图22)。

[0325] 50mg放大批的TGA分析显示在20-60℃之间有2.5%失重,随后在60-125℃之间有2.3%失重,可能归因于脱水,随后分解(图23)。通过卡尔费歇尔法(Karl Fischer)分析证实了含水量,其显示所述物料含有约4.3重量%水,略低于一水合物。

[0326] 模式C(300mg放大批)的¹H NMR进一步分析显示所述物料与(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的结构一致。参见图42。

[0327] 模式C(300mg放大批)的吸湿分析是通过在25℃和50%RH下以模拟环境实验室条件平衡所述样品来完成的。然后,湿度降至0%RH,从0增至95%RH,从95降至0%RH,从0增至95%RH,然后从95降至50%RH。每个点表示每个湿度或重量的估计渐近重量。发现模式C略有吸湿,在95%RH下吸附2%的水。这使得总含水量增至约6%,其是一水合物的含水量。然而,减少相对湿度后,固体便会失去水分。因此,这可能是通道水合物。在解吸时未观察到迟滞现象(图24)。发现吸湿分析后样品的XRPD分析与所述模式C一致。

[0328] 模式B(THF溶剂化物,IV型)

[0329] 50mg批次、在THF中短期制浆过程中观察到模式B(THF溶剂化物,IV型),并再次在300mg放大批中观察到(分别为实施例3和6)。从所述固体的XRPD分析发现得到了唯一的结晶形式,称为模式B(图25)。通过光学显微镜观察到的双折射现象证实了XRPD观察到的结晶度。如图26所示,晶体的形态被确定为具有一定聚集性的针状。

[0330] 通过DSC对50mg放大批的热分析显示在70.5℃、89.1℃和149.7℃处有三个吸热峰,随后在200℃后退化(图27)。

[0331] 300mg放大批的TGA分析显示在25-115℃之间有4.7%失重,可能归因于THF的损失,随后分解(图28)。通过卡尔费歇尔法(Karl Fischer)分析证实了含水量,其显示所述物料含有约0.3重量%水。

[0332] 模式B(300mg放大批)的¹H NMR进一步分析显示所述物料与(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的结构一致,并含有6.9重量%的残留THF。参见图41。

[0333] 模式B(300mg放大批)的吸湿分析是通过在25℃和50%RH下以模拟环境实验室条件平衡所述样品来完成的。然后,湿度降至0%RH,从0增至95%RH,从95降至0%RH,从0增至95%RH,然后从95降至50%RH。每个点表示每个湿度或重量的估计渐近重量。发现模式B是非吸湿性的,显示失重可能是由于残留THF释放引起(图29)。在起始的主要失重是由于溶剂的损失。发现吸湿分析后样品的XRPD分析与所述模式A一致。

[0334] 模式D(2-MeTHF溶剂化物,V型)

[0335] 在2-MeTHF中蒸发结晶过程中观察到模式D(2-MeTHF溶剂化物,V型)(实施例4和5)。由所述固体的XRPD分析发现得到唯一结晶形式,称为模式D(图30)。

[0336] 通过DSC对实施例5(缓慢冷却)得到的模式D进行的热分析显示在67.2℃、92.2℃、132.6℃和150.6℃处有四个吸热峰,随后在220℃后退化(图31)。

[0337] 实施例5中缓慢冷却放大批的TGA分析显示在40-60℃之间有2.7%失重,随后在60-115℃之间有5.3%失重,可能归因于2-MeTHF的损失,随后分解(图32)。

[0338] 模式D(实施例5中缓慢冷却放大批)的¹H NMR进一步分析显示所述物料与(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的结构一致,并含有6.1重量%的残留2-MeTHF,参见图43。

[0339] 模式F(2-MeTHF溶剂化物,VI型)

[0340] 300mg放大批(实施例6)在2-MeTHF单溶剂结晶放大批实验过程中观察到模式F(2-MeTHF溶剂化物,VI型)。从所述固体的XRPD分析发现得到了唯一的结晶形式,称为模式F(图33)。通过光学显微镜观察到的双折射现象证实了XRPD观察到的结晶度。如图34所示,晶体的形态被确定为具有一定聚集性的片状。

[0341] 通过DSC对模式F(由实施例6得到)进行的热分析显示在93.2℃、135.2℃和151.0℃处有三个吸热峰,随后在220℃后退化(图35)。

[0342] 模式F(由实施例6得到)的TGA分析显示在30-110℃之间有1.1%失重,随后在从110-160℃有0.2%失重,可能归因于2-MeTHF的损失,随后分解(图36)。通过卡尔费歇尔法(Karl Fischer)分析证实了含水量,其显示所述物料含有约0.1重量%水。

[0343] 模式F(由实施例6得到)的¹H NMR进一步分析显示所述物料与(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的结构一致,并含有3.9重量%的残留2-MeTHF,参见图45。

[0344] 模式F(由实施例6得到)的吸湿分析是通过在25℃和50%RH下以模拟环境实验室条件平衡所述样品来完成的。然后,湿度降至0%RH,从0增至95%RH,从95降至0%RH,从0增至95%RH,然后从95降至50%RH。每个点表示每个湿度或重量的估计渐近重量。发现模式F不吸湿,显示失重可能是由于残留2-MeTHF的释放(图37)。起始的主要失重是由于溶剂的损失。发现吸湿分析后所述样品的XRPD分析与所述模式E一致(图15)。

[0345] 实施例12.从弗里德里希共济失调(Friedreich's Ataxia)患者的人皮肤成纤维细胞对本发明化合物进行筛选

[0346] 进行初始筛选以识别有效改善氧化还原障碍的化合物。通过加入L-丁硫氨酸-(S,R)-亚砷酰亚胺(BSO)来测试试验样品拯救FRDA成纤维细胞的能力,如在Jauslin et al., Hum.Mol.Genet.11(24):3055(2002),Jauslin et al.,FASEB J.17:1972-4(2003),和国际专利申请W0 2004/003565中所述。已经显示来自弗里德里希共济失调患者的人真皮成纤维

细胞对抑制具有L-丁硫氨酸-(S,R)-亚砷酰亚胺(BSO)的谷胱甘肽(GSH)的从头合成高度敏感,其中L-丁硫氨酸-(S,R)-亚砷酰亚胺(BSO)是GSH合成酶的特异性抑制剂(Jauslin et al., Hum. Mol. Genet. 11(24):3055(2002))。

[0347] 具有厄尔平衡盐(Earle's Balanced Salts),而没有酚红的MEM(富含氨基酸和维生素的培养基,目录号为1-31F24-I)和培养基199(M199,目录号为1-21F22-I)购自Bioconcept(百康特)。胎牛血清是从PAA实验室获得。碱性成纤维细胞生长因子和表皮生长因子购自PeproTech(派普泰克)。青霉素-链霉素-谷氨酰胺混合物、L-丁硫氨酸-(S,R)-亚砷酰亚胺和牛胰岛素购自Sigma(西格马)。钙黄绿素AM购自Anaspec。细胞培养基是由125ml M199 EBS、50ml胎牛血清、100U/ml青霉素、100微克/ml链霉素、2mM谷氨酰胺、10微克/ml胰岛素、10ng/ml EGF、和10ng/mlbFGF组合制成;加入MEM EBS以使体积达到500ml。在所述实验过程中,此溶液在+4℃下储存。细胞从卡瑞尔细胞库(Coriell Cell Repositories)获得(Camden,NJ;库编号GM04078),并在10cm组织培养板中生长。每隔两天,他们便以1:3的比例分裂。

[0348] 测试样品提供在1.5ml玻璃小瓶中。化合物用DMSO、乙醇或PBS稀释,以产生5mM储备溶液。一旦溶解,则使他们在-20℃下储存。

[0349] 测试样品根据下述方案进行筛选:

[0350] 具有FRDA成纤维细胞的培养物是从具有约500,000个细胞储存在液氮中的1ml小瓶开始。细胞在10cm细胞培养皿中以1:3的比例每隔两天分裂进行繁殖直至9个板可用。一旦融合,收获成纤维细胞。对于54个微量滴定板(96孔-MTP),将总数为14.3百万个细胞(第8代)再次悬浮于480ml培养基中,相当于具有3,000个细胞/孔的100微升培养基。剩余的细胞分布在10cm细胞培养板(500,000个细胞/板)中用于繁殖。将所述板在37℃、95%湿度和5% CO₂的气氛中孵育过夜,以使细胞附着在培养板上。

[0351] 将10%DMSO(242.5微升)加至所述微量滴定板的孔中。将所述测试化合物解冻,并将7.5微升的5mM储备溶液溶解在含有242.5微升10%DMSO的孔中,得到150微摩尔主溶液。制备所述主溶液的系列稀释液。单个稀释步骤之间的时间保持尽可能短(通常少于30秒)。在附着至MTP后至少4小时,然后细胞用各种化合物稀释液进行处理。

[0352] 将孔板在细胞培养孵育器中保持过夜。次日,向所述孔中加入含有BSO的溶液,方法类似于Jauslin et al., Hum. Mol. Genet. 11(24):3055(2002), Jauslin et al., FASEB J. 17:1972-4(2003), 和国际专利申请W0 2004/003565中所述。48小时后,在相差显微镜下检查三个孔板,以验证阴性对照(孔E1-H1)中的细胞明显死亡。弃去所有板的培养基,通过轻轻地将板反转至纸巾上,除去剩余的液体。所述板用含有钙和镁的100uL的PBS洗两次。

[0353] 然后将含有1.2微摩尔钙黄绿素AM的100微升的PBS+Ca+Mg加至每个孔中。将所述板在37℃下孵育30分钟。之后,在Gemini荧光酶标仪上读取时间荧光(分别为485nm和525nm的激发/发射波长)。将数据导入微软Excel(EXCEL是微软公司的电子表格程序的注册商标),采用ExcelFit计算每个化合物的EC50浓度。

[0354] 将所述化合物测试3次,即,实验进行3次,每重复一次,细胞的传代次数增加1个。

[0355] 即使在最高测试浓度(1%)下,溶剂(DMSO、乙醇、PBS)对于非BSO处理的细胞的活力既没有不利影响,也不会对BSO处理的成纤维细胞有有益的影响。没有任何化合物显示自动荧光。将非BSO处理的成纤维细胞的活力设定为100%,相对于这个值,分别计算BSO和化

合物处理的细胞的活力。

[0356] 下表总结了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺的EC50。

[0357]	疾病	EC50
	弗里德里希 (Friedreich) 共济失调	+++

[0358] +++表示小于100nM

[0359] 实施例13.从患有各种氧化应激障碍患者的成纤维细胞对(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺进行筛选

[0360] (R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺使用类似于实施例12中所述方法进行试验,并用患有其他氧化应激障碍的患者的细胞代替FRDA细胞。

[0361] 下表总结了(R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁酰胺对于各种疾病的EC50。

	疾病	测试细胞株	EC50
[0362]	Leigh 综合征	卡瑞尔细胞库 (Coriell Cell Repositories, Camden, NJ; 库	+++

		编号 GMOI503A)	
	莱伯氏 (Leber's) 遗传性视神经病变 (LHON)	卡瑞尔细胞库 (Coriell Cell Repositories, Camden, NJ; 库编号 GM03858)	+++
	帕金森病	卡瑞尔细胞库 (Coriell Cell Repositories, Camden, NJ; 库编号 AG20439)	++
[0363]	亨廷顿病	卡瑞尔细胞库 (Coriell Cell Repositories, Camden, NJ; 库编号 GM 04281)	+++
	雷特障碍 (Rett's disorder)	卡瑞尔细胞库 (Coriell Cell Repositories, Camden, NJ; 库编号 GM-17567)	+++
	辅酶 Q10 (CoQ10) 缺乏症	来自 CoQ2 突变的患者	+++
	肌萎缩性侧索硬化症 (ALS)	卡瑞尔细胞库 (Coriell Cell Repositories, Camden, NJ; 库编号 ND29523)	+++

[0364] +++表示小于100nM; ++表示100-500nM

[0365] 实施例14. (R)-2-羟基-2-甲基-4-(2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基)丁

酰胺保护顺铂引起耳毒性的筛选

[0366] 来自转基因小鼠 ImmortomouseTM耳蜗 (如 Kalinec, G. et al., Audiol.Nerootol.2003;8,177-189/中所述) 的长期培养物的有条件地永生化听觉HEI-OC1 细胞,在允许条件33℃、10%CO₂下,保持在含有10%FBS的高葡萄糖杜尔贝科 (Dulbecco's) 改良的伊格尔 (Eagle) 培养基 (DMEM) 中。细胞用 (R) -2羟基-2-甲基-4- (2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基) 丁酰胺预处理过夜,细胞凋亡通过半胱天冬酶3/7活性进行检测,24h后,用50uM顺铂孵育。在单独的稀释液中孵育的细胞是所述对照。

[0367] 下表总结了 (R) -2羟基-2-甲基-4- (2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基) 丁酰胺的EC25。

[0368]	疾病	EC25
	顺铂引起的听觉细胞耳毒性	+++

[0369] +++表示小于100微摩尔

[0370] 实施例15.从患者的成纤维细胞对本发明多晶型和无定形组合物进行筛选

[0371] 本发明多晶型和无定形组合物使用类似于实施例12-14中的一种筛选方法进行测试,并用所述多晶型或无定形形式代替 (R) -2羟基-2-甲基-4- (2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基) 丁酰胺。本发明多晶型和无定形组合物还可使用类似于实施例12-14中的一种筛选方法进行测试,并且适当地采用从患有本发明所述氧化应激障碍 (譬如,MERRF、MELAS、KSS、阿尔茨海默症、广泛性发展障碍 (如自闭症) 等) 的患者获得的细胞替代所述FRDA细胞或其它细胞系。测试这些组合物从氧化应激患者中拯救人真皮成纤维细胞或保护细胞免受顺铂诱导毒性的能力。

[0372] 实施例16.本发明组合物的给药

[0373] 本发明组合物是含有300mg (R) -2羟基-2-甲基-4- (2,4,5-三甲基-3,6-二氧环己-1,4-二烯基) 丁酰胺和药学上可接受载体的胶囊。胶囊进行口服,每日一次。

[0374] 在本发明中通过标识引用的所有出版物、专利、专利申请和公布的专利申请的公开内容通过引用其全部内容并入本文。

[0375] 尽管为了便于清楚理解,通过实例说明和示例的方式对前述发明进行了详细描述,但对于本领域技术人员而言,对本发明进行某些微小的改变和修饰是显而易见的。因此,所述描述和实施例不应被解释为限制本发明的范围。

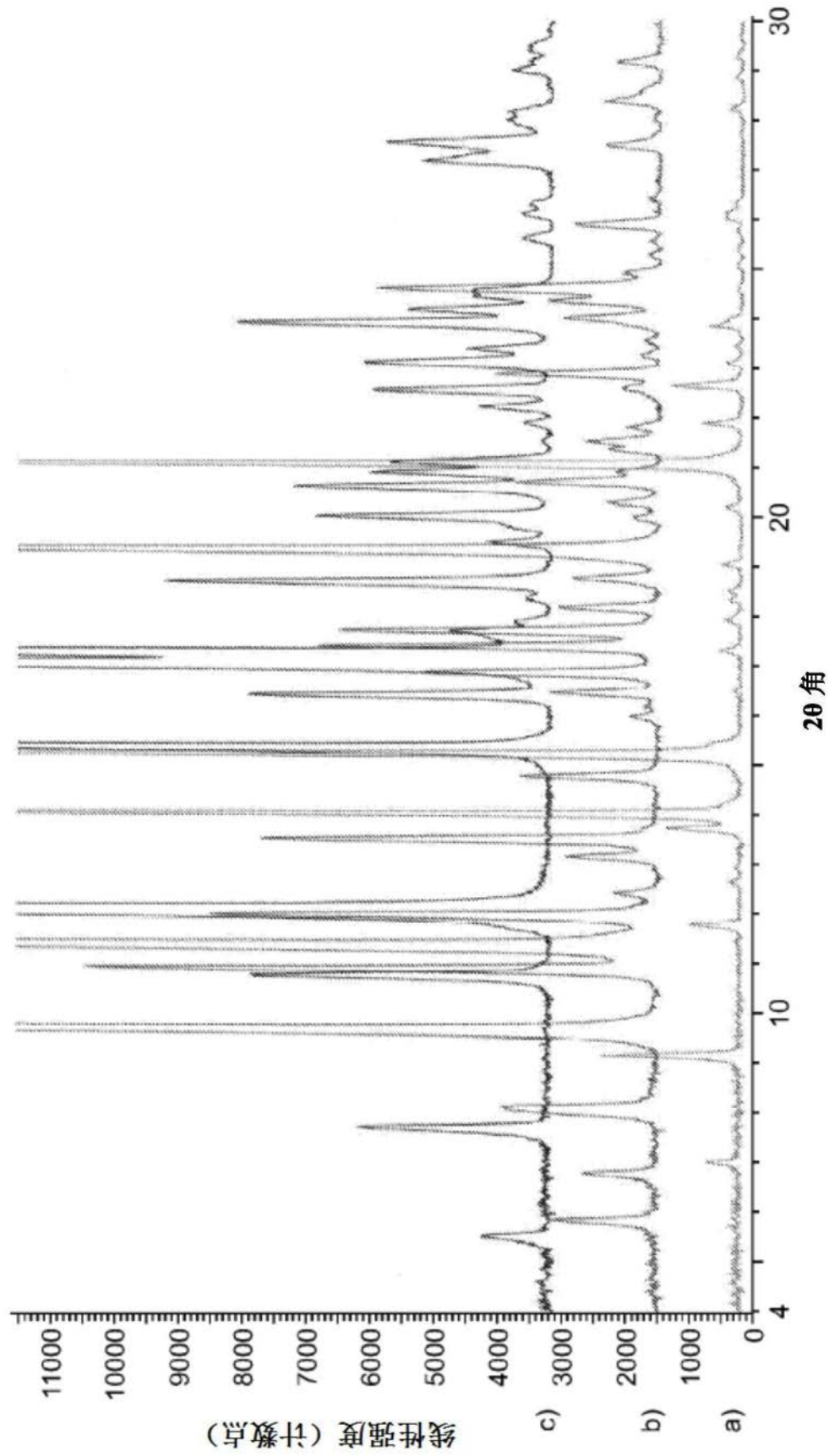


图1

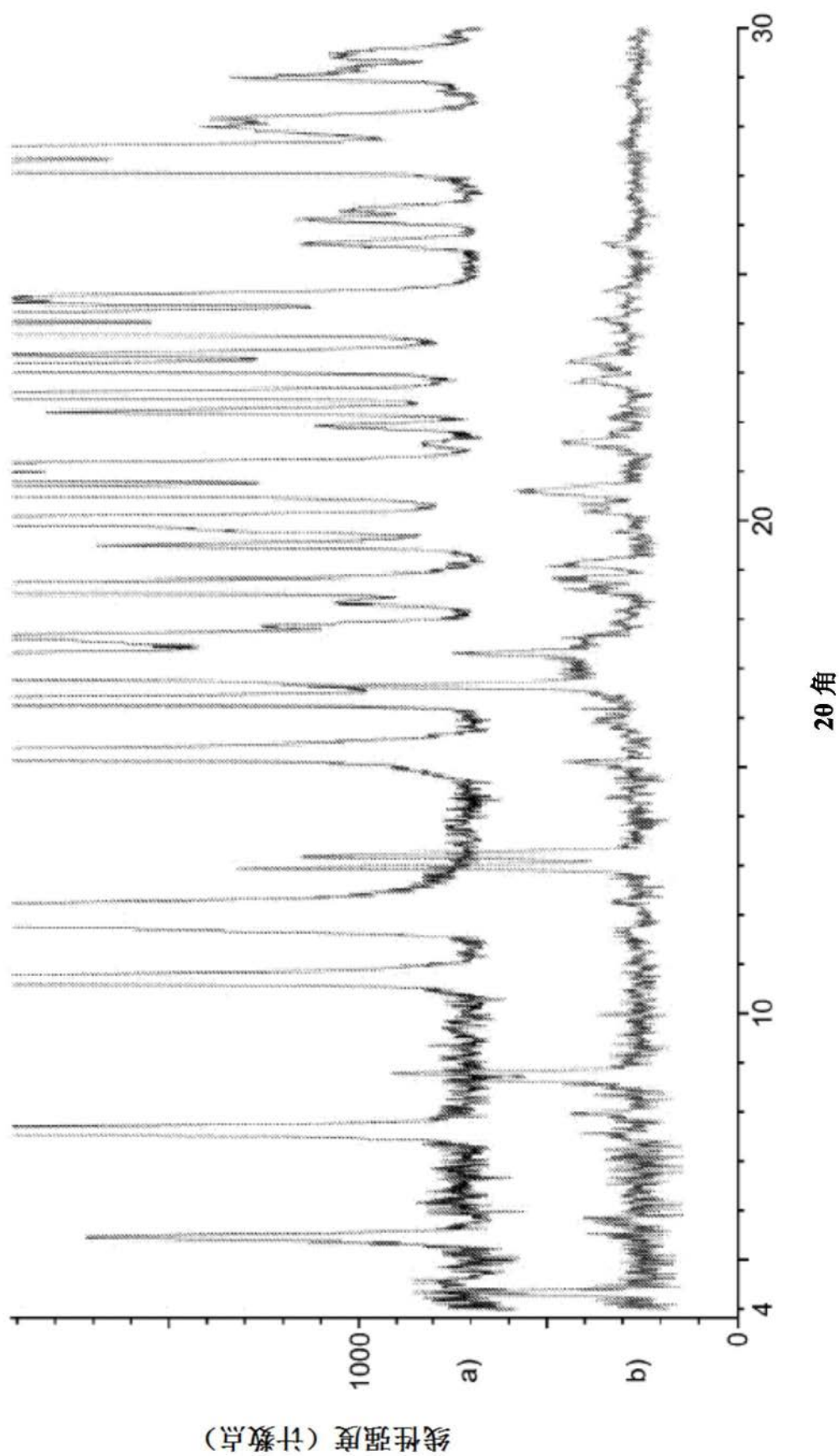


图2

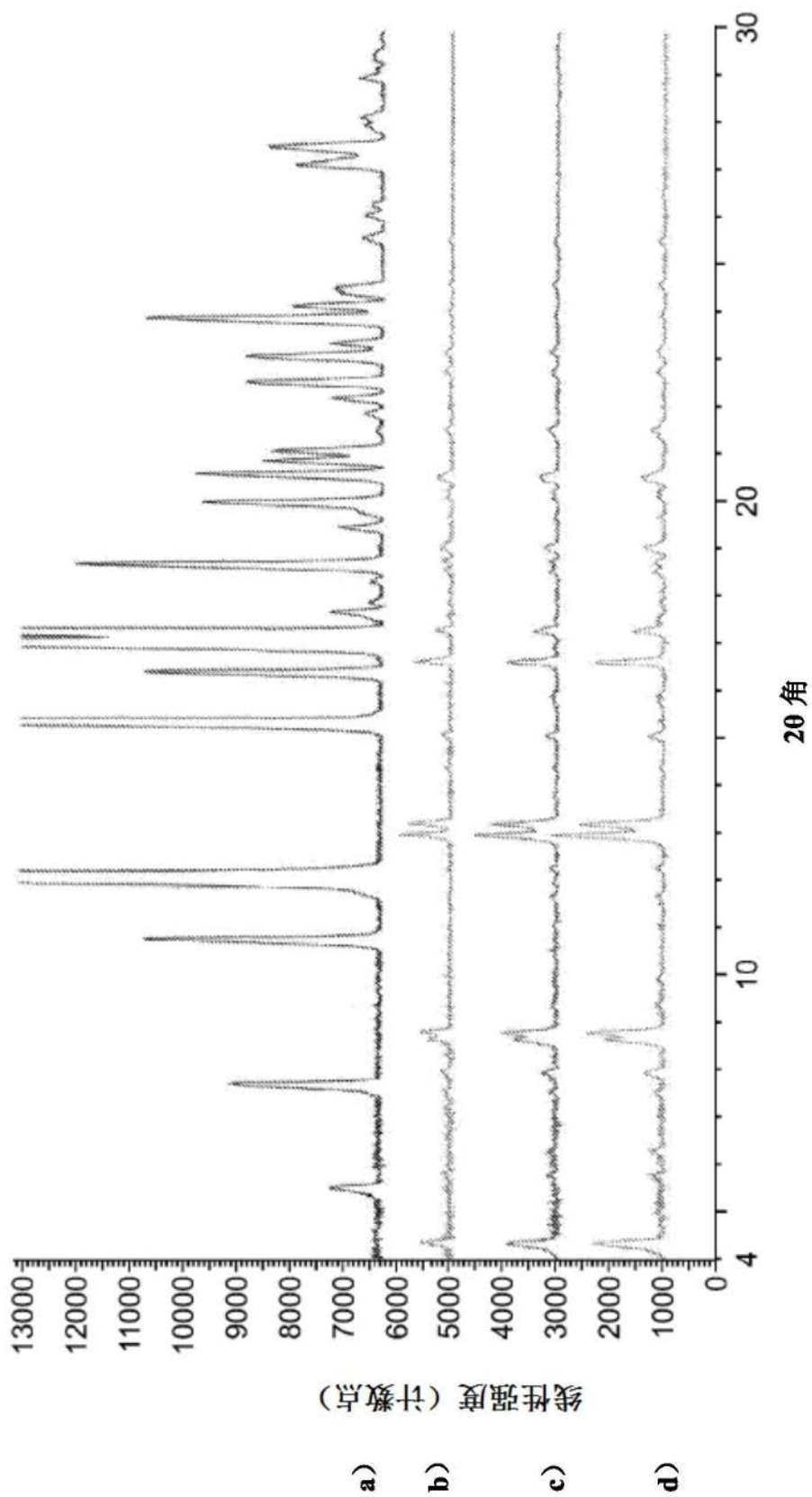


图3

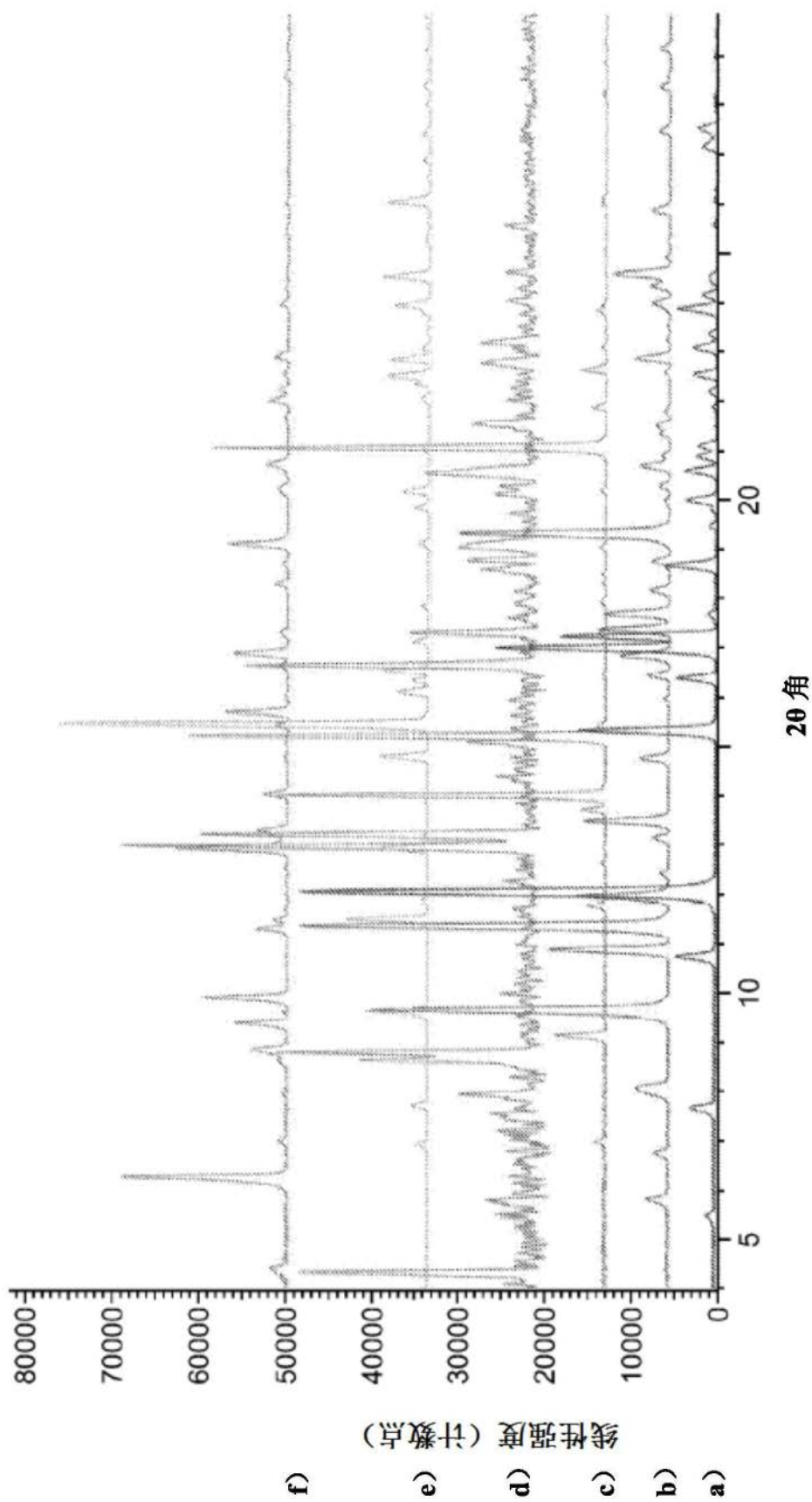


图4

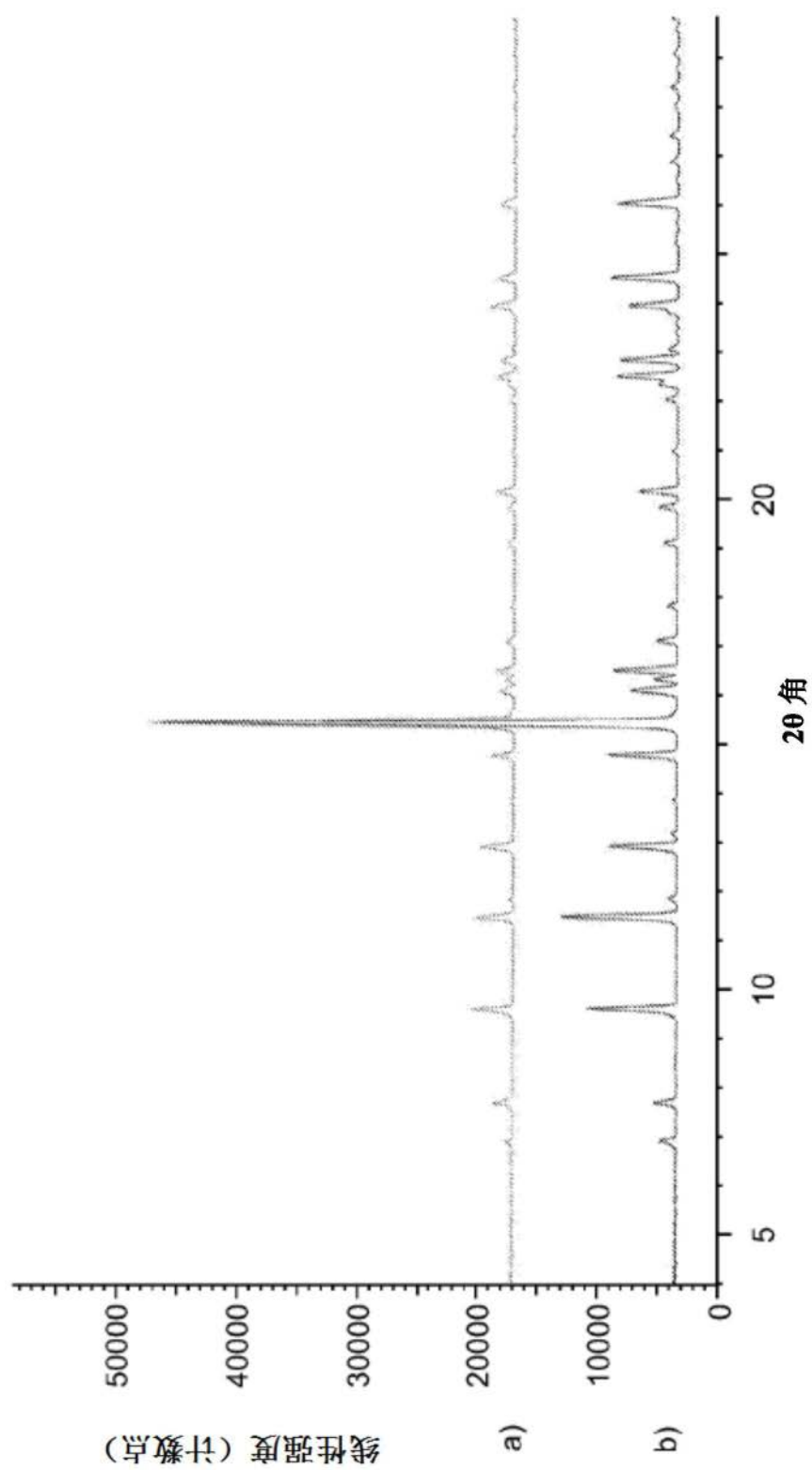


图5

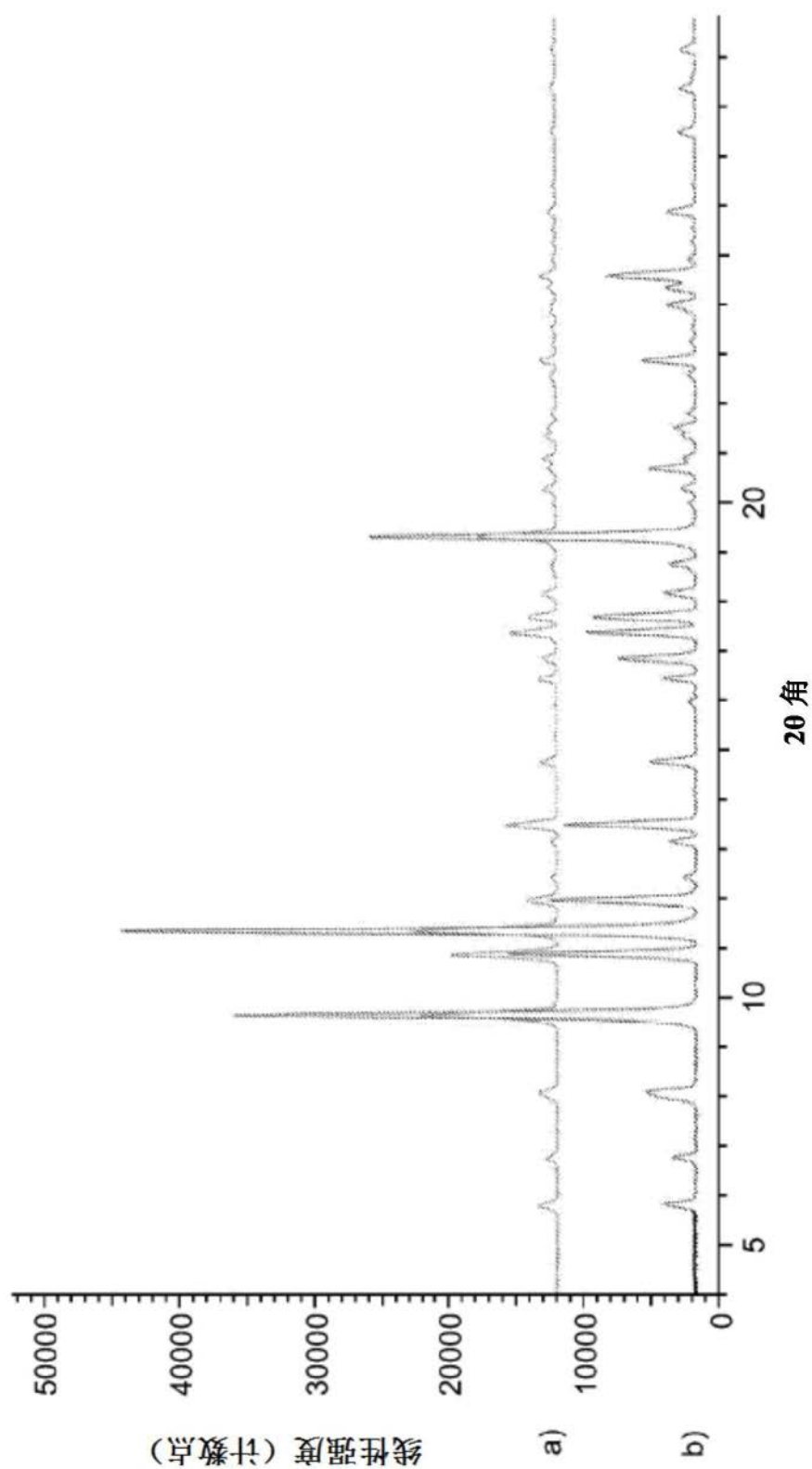


图6

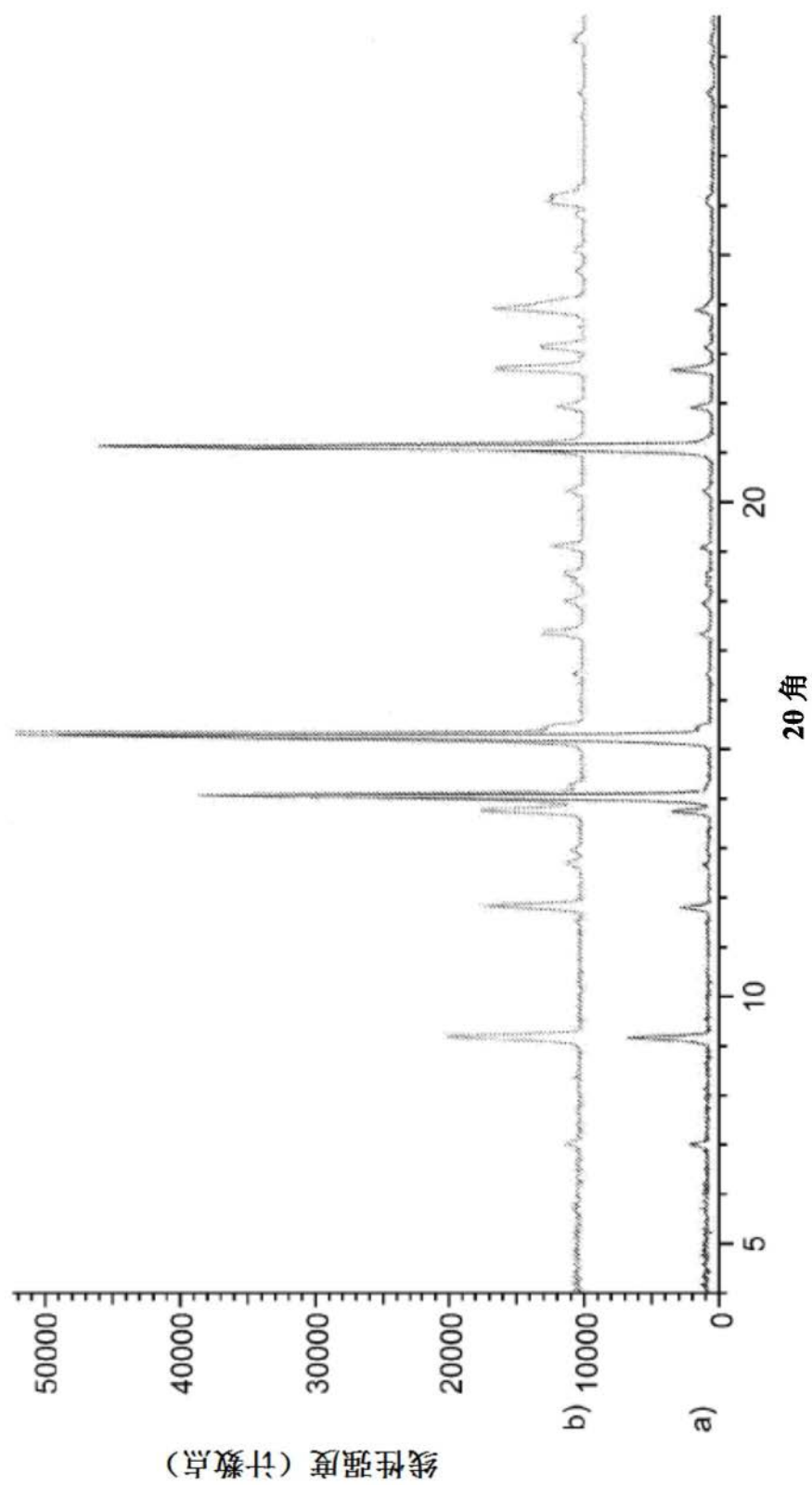


图7

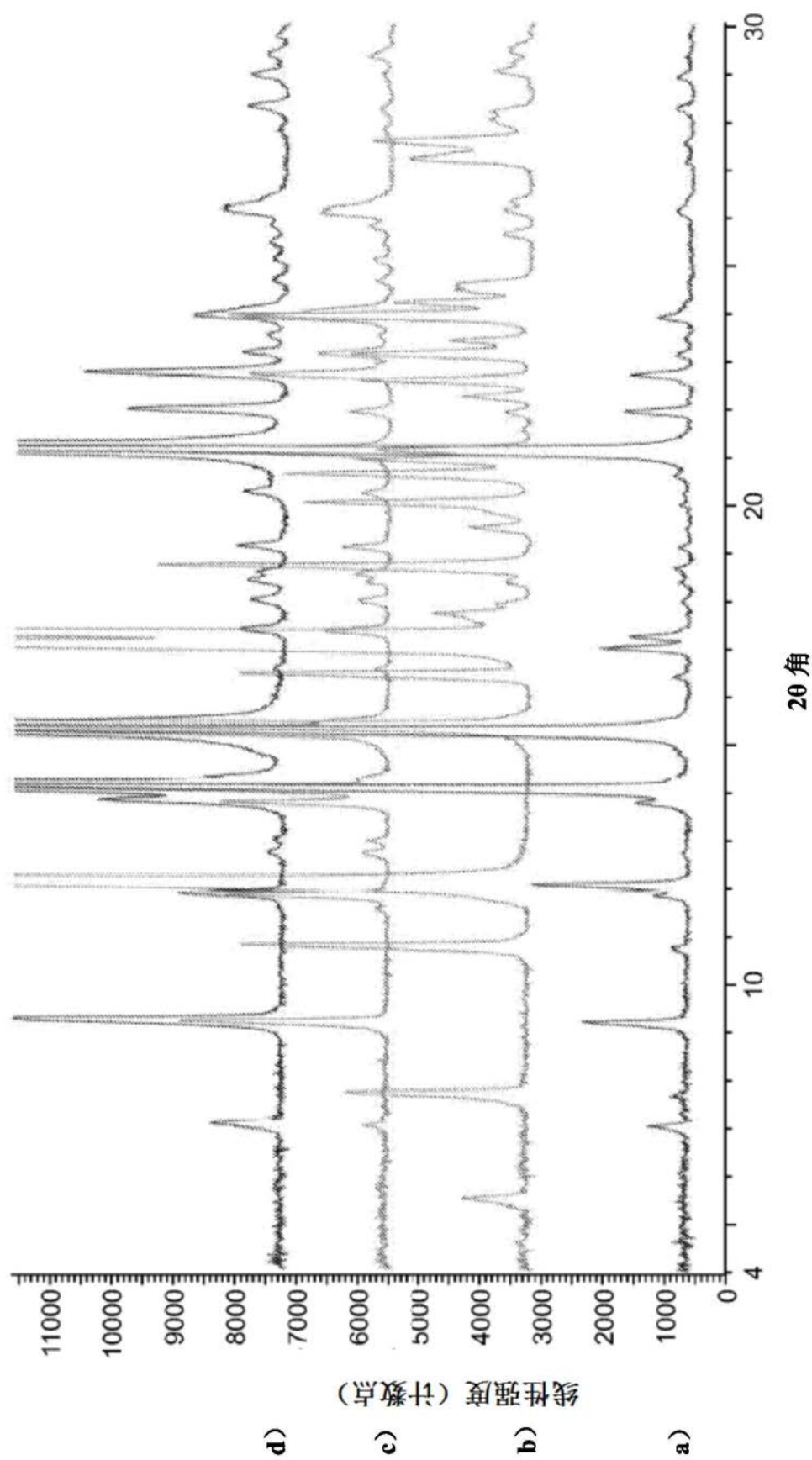


图8

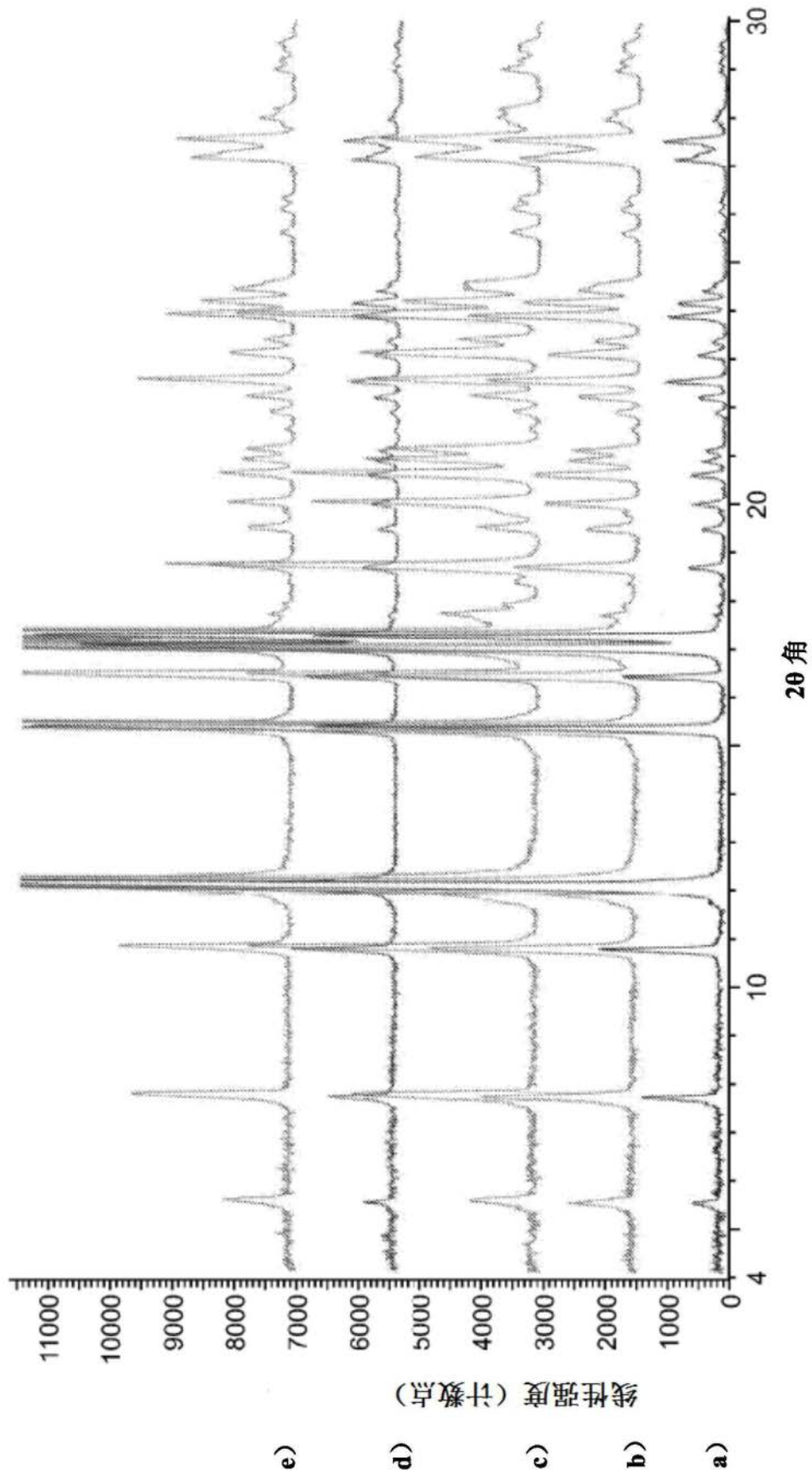


图9

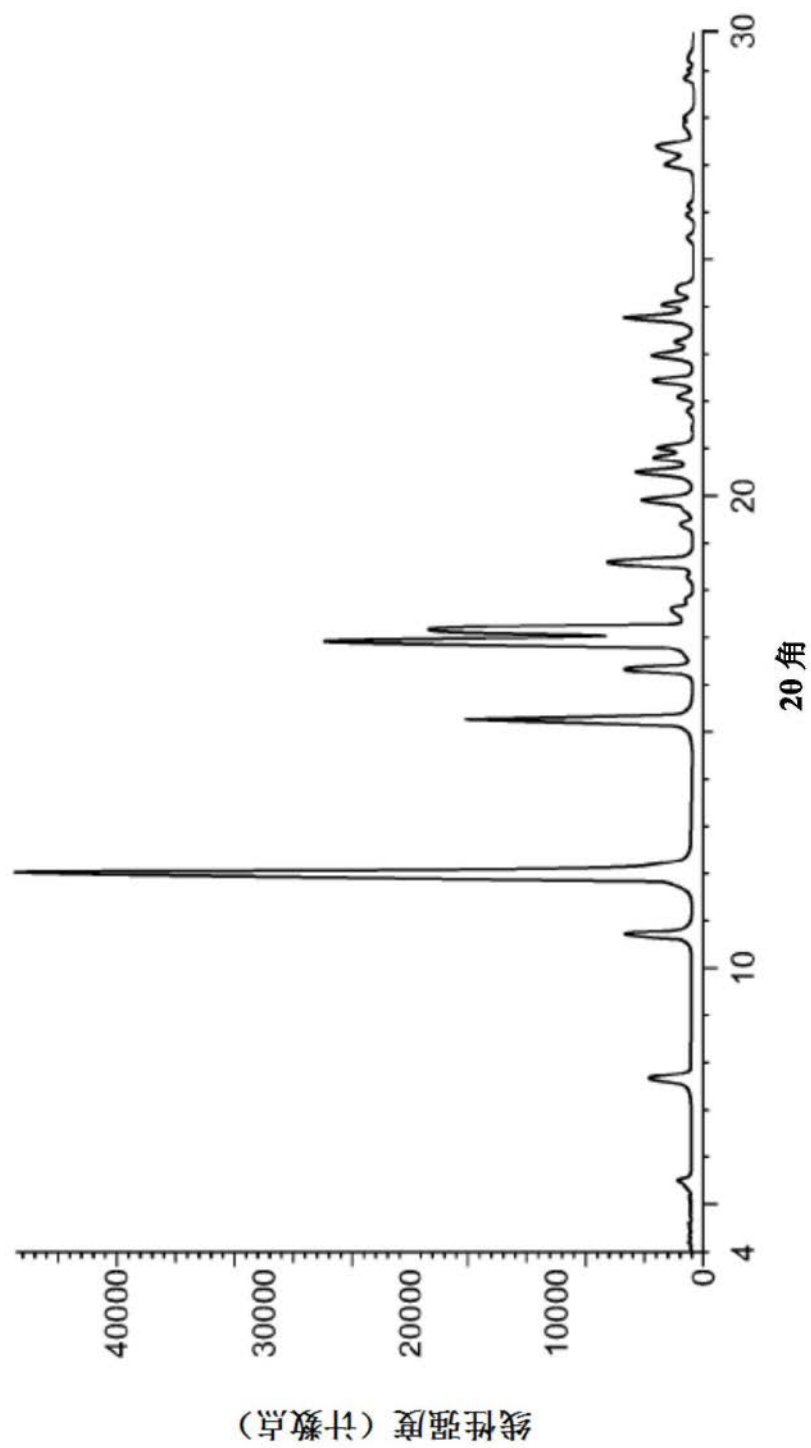


图10

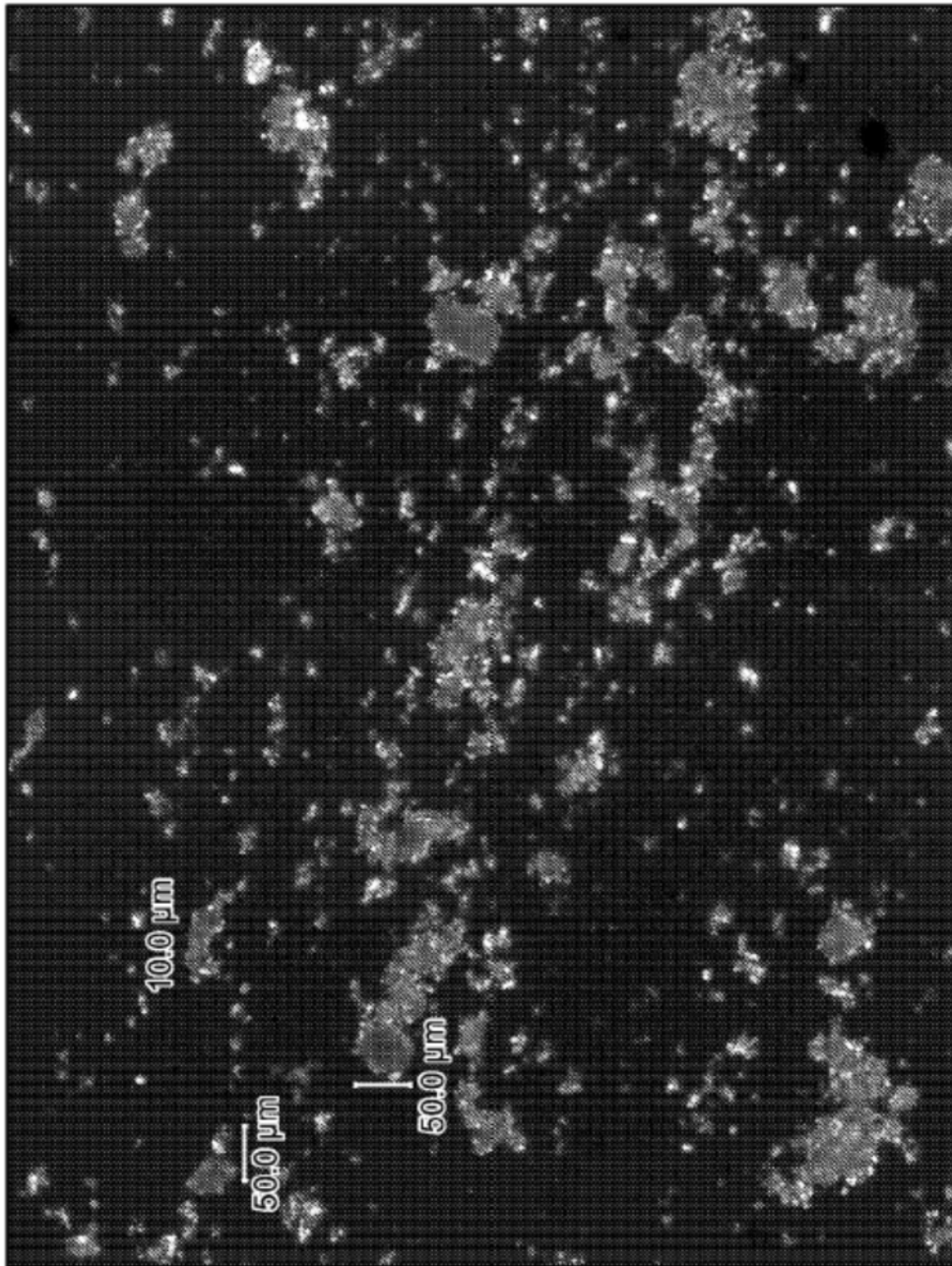


图11

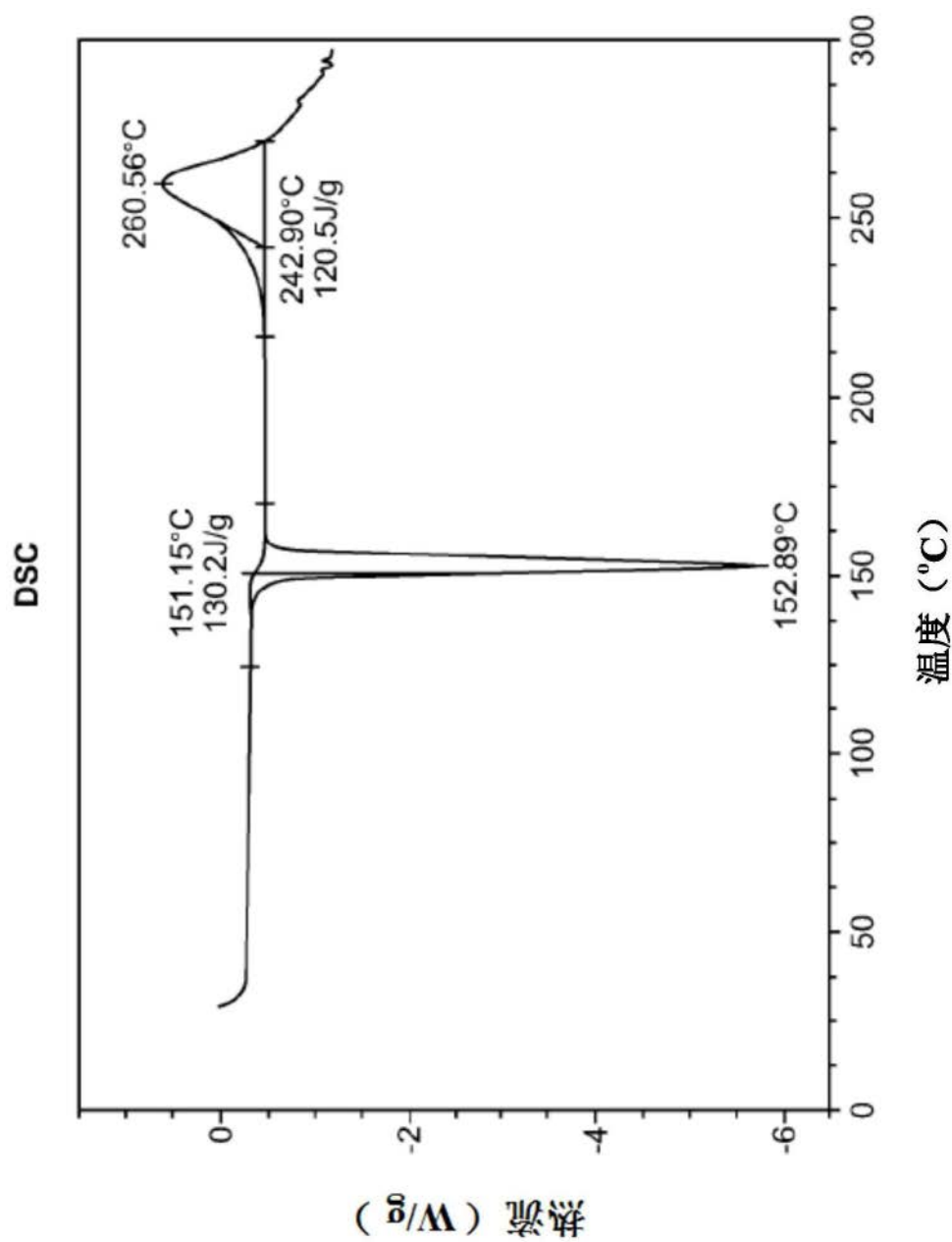


图12

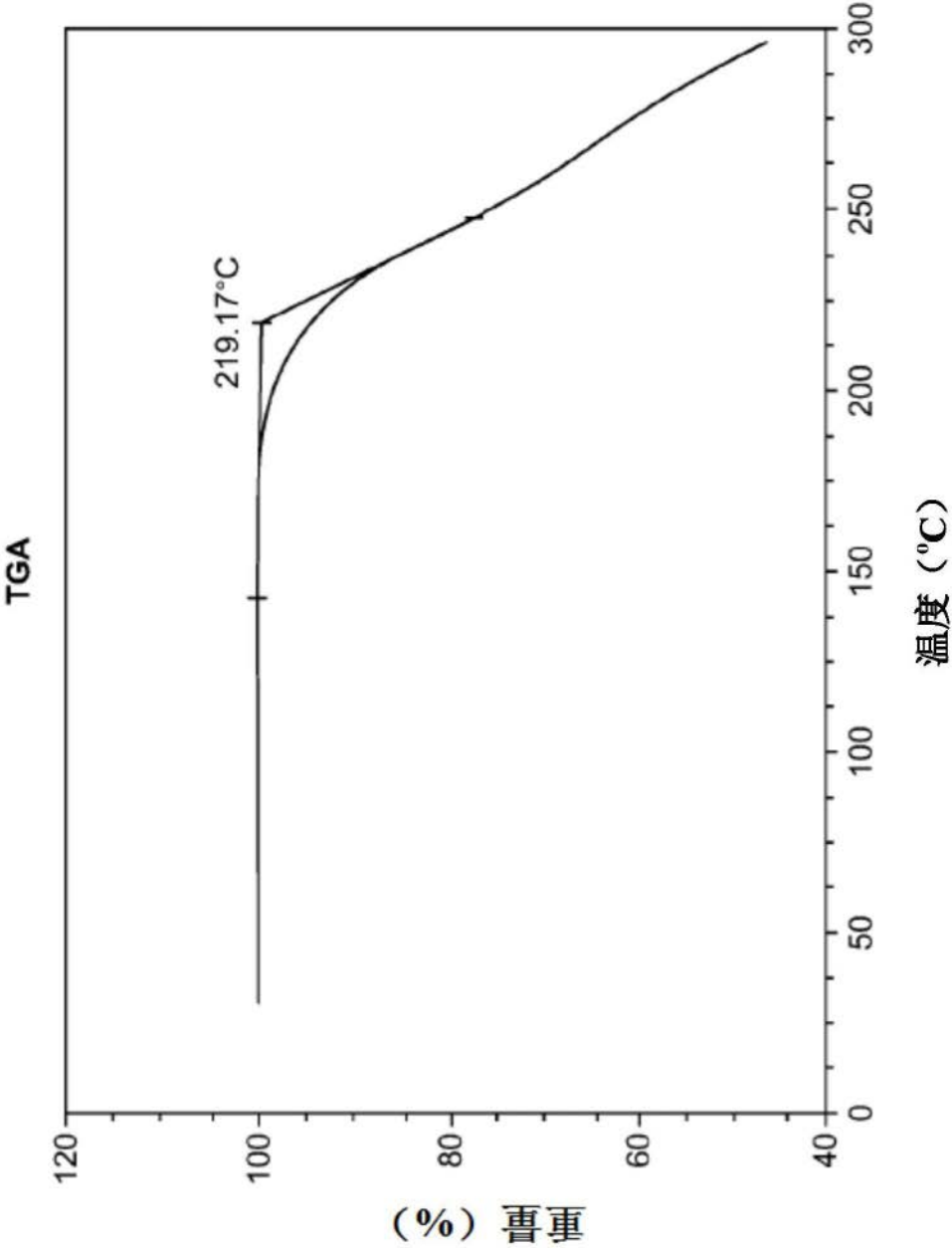


图13

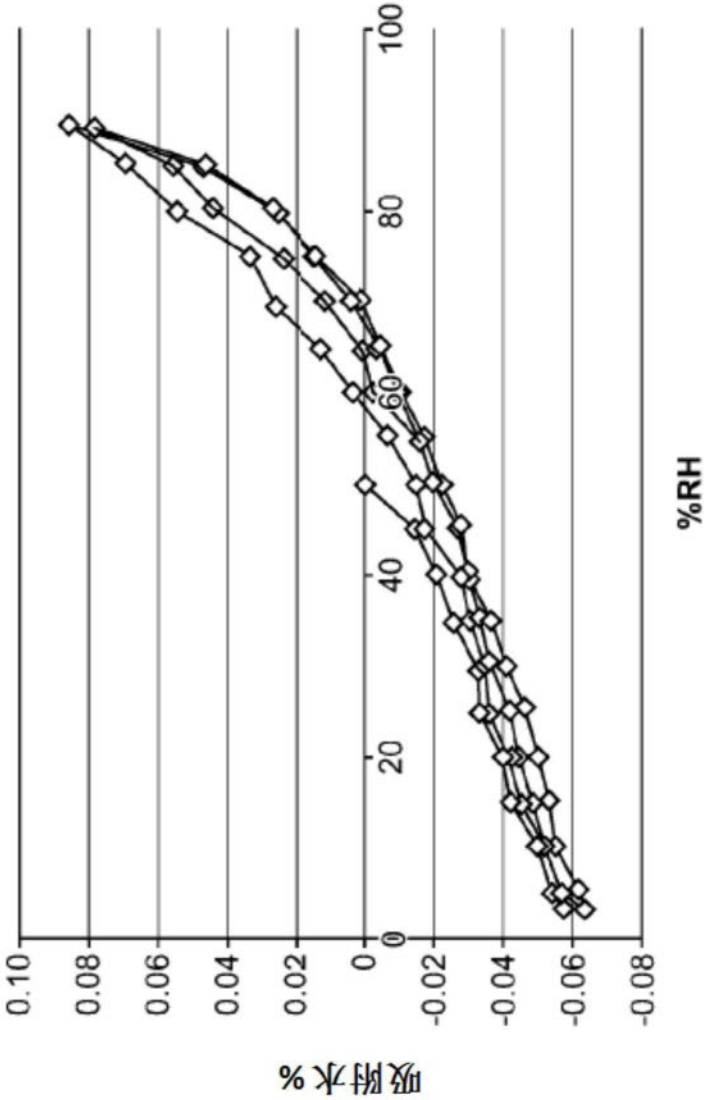


图14

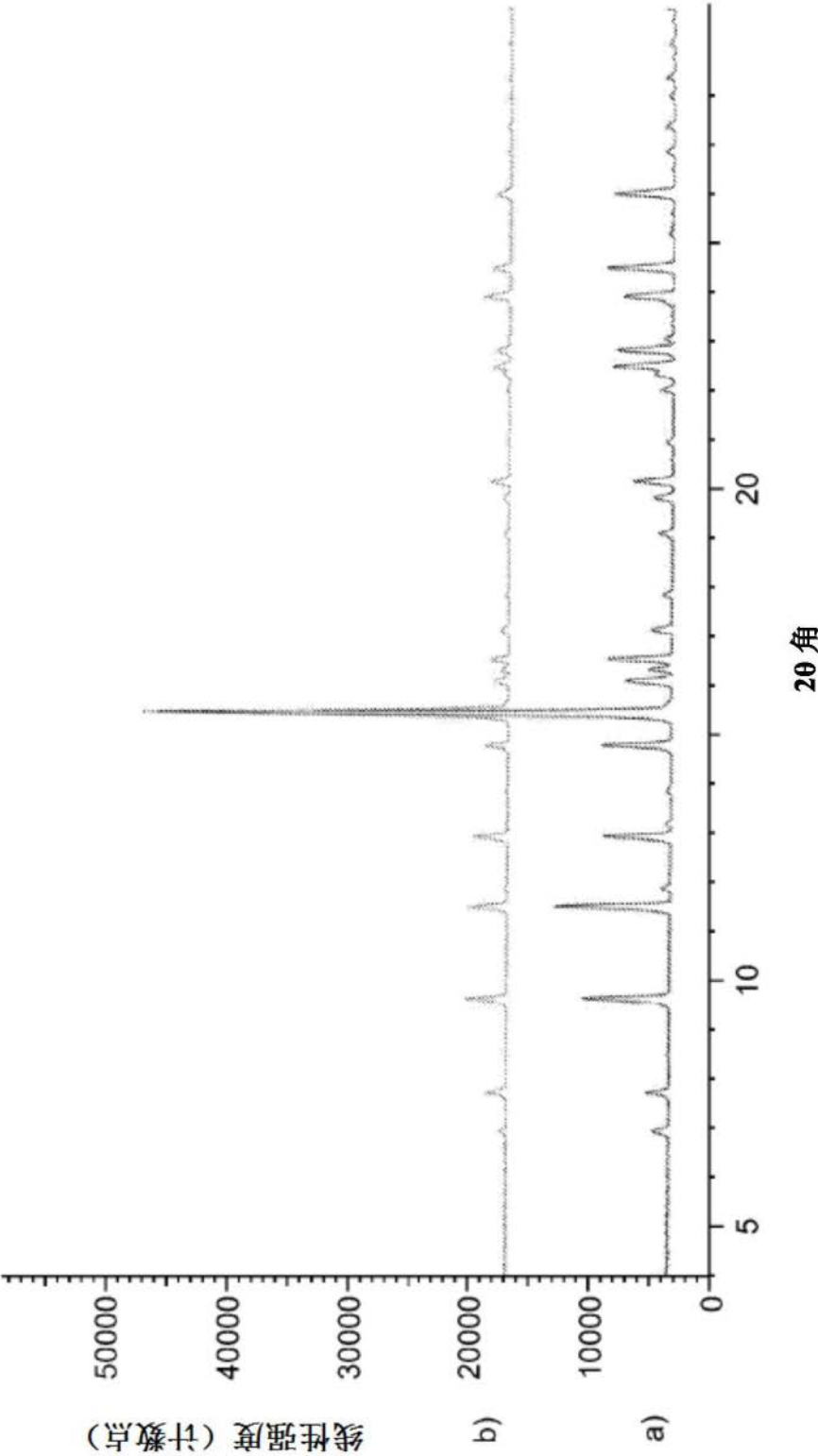


图15

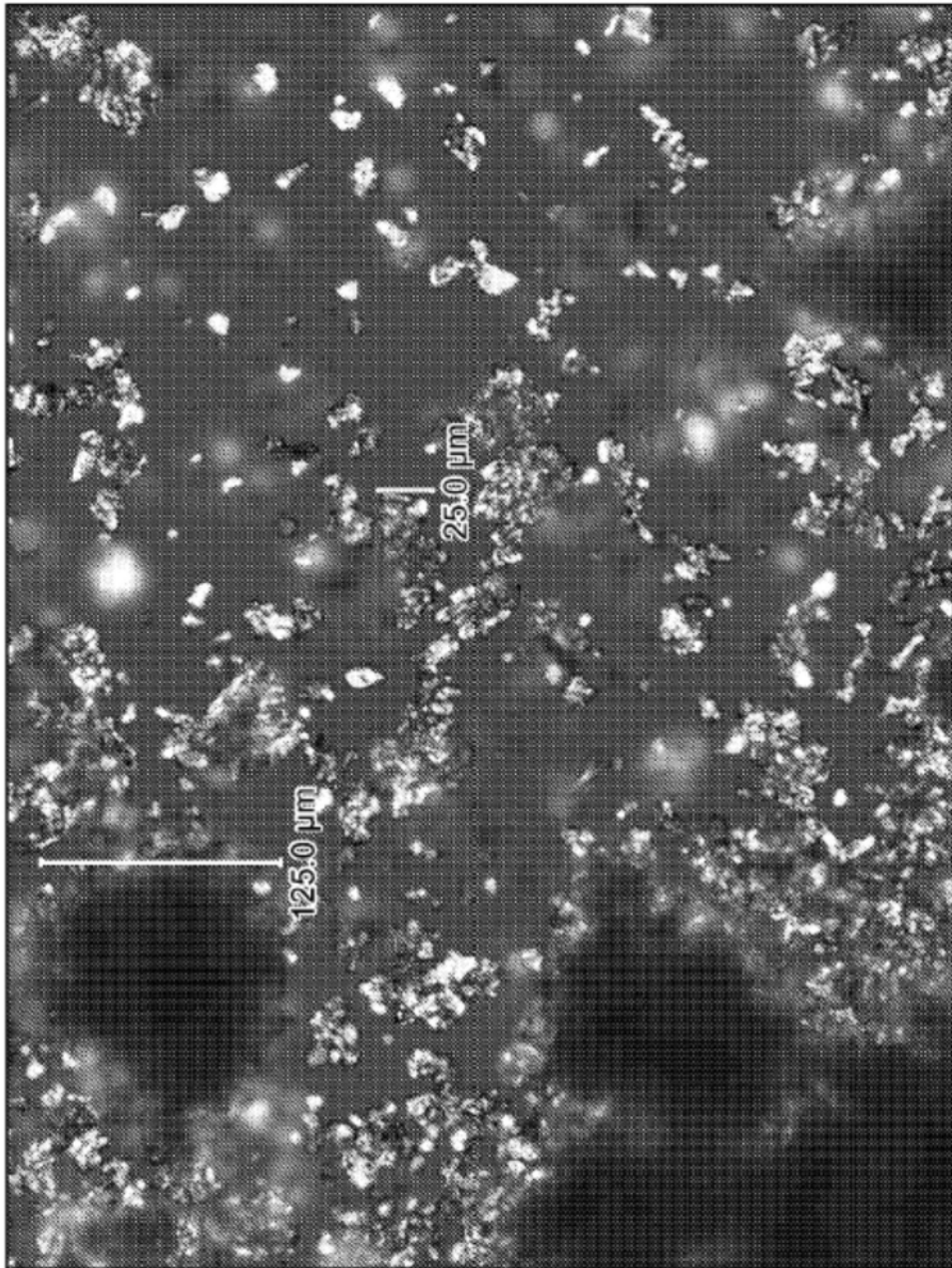


图16

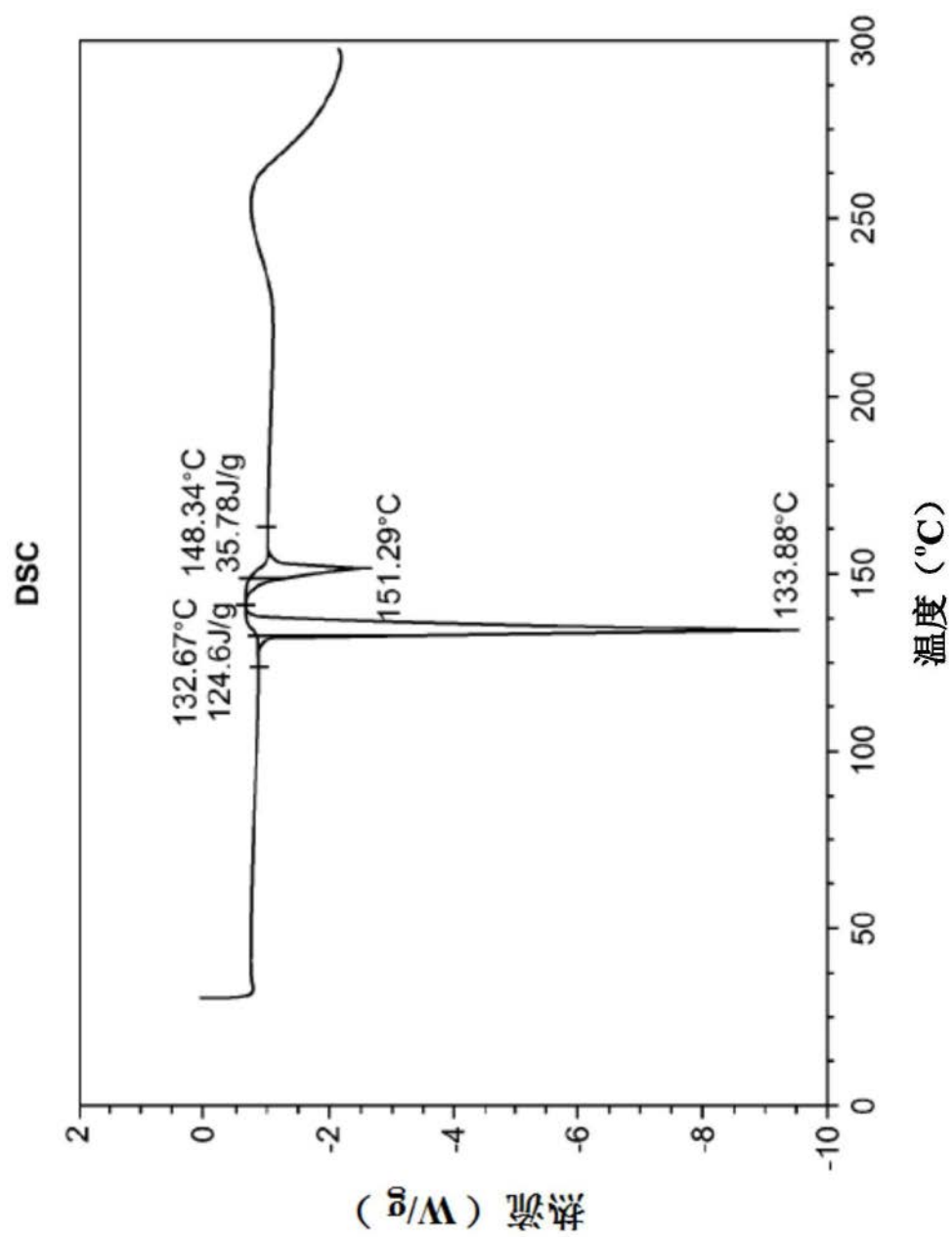


图17

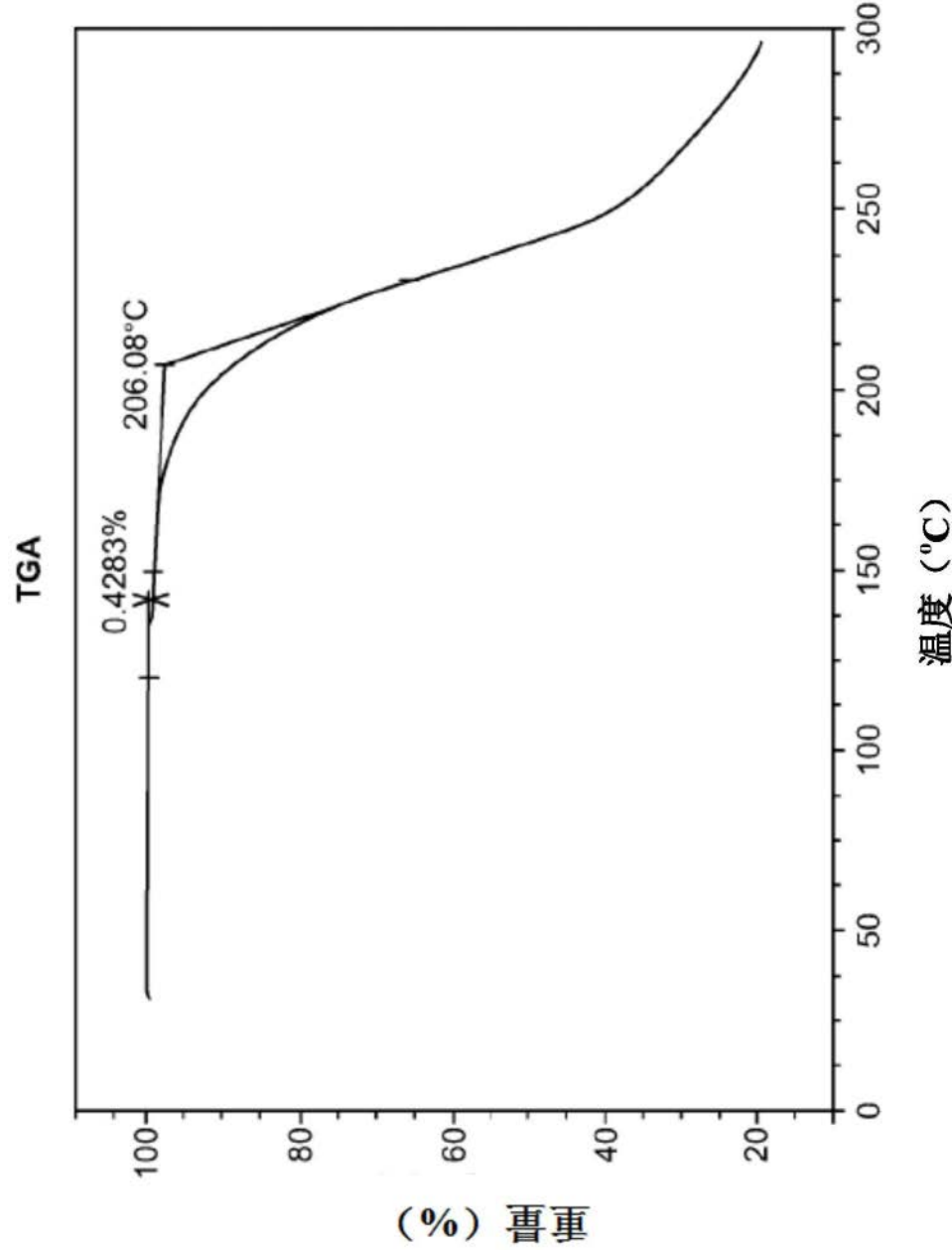


图18

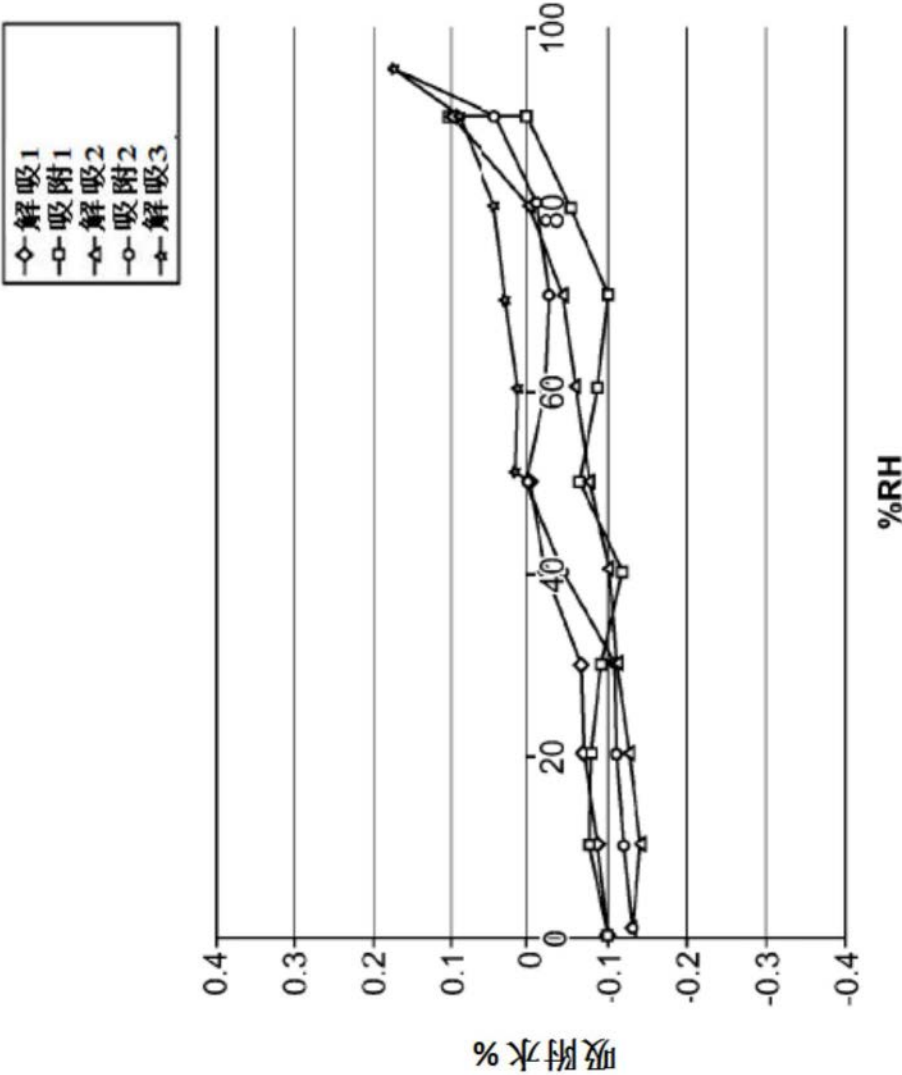


图19

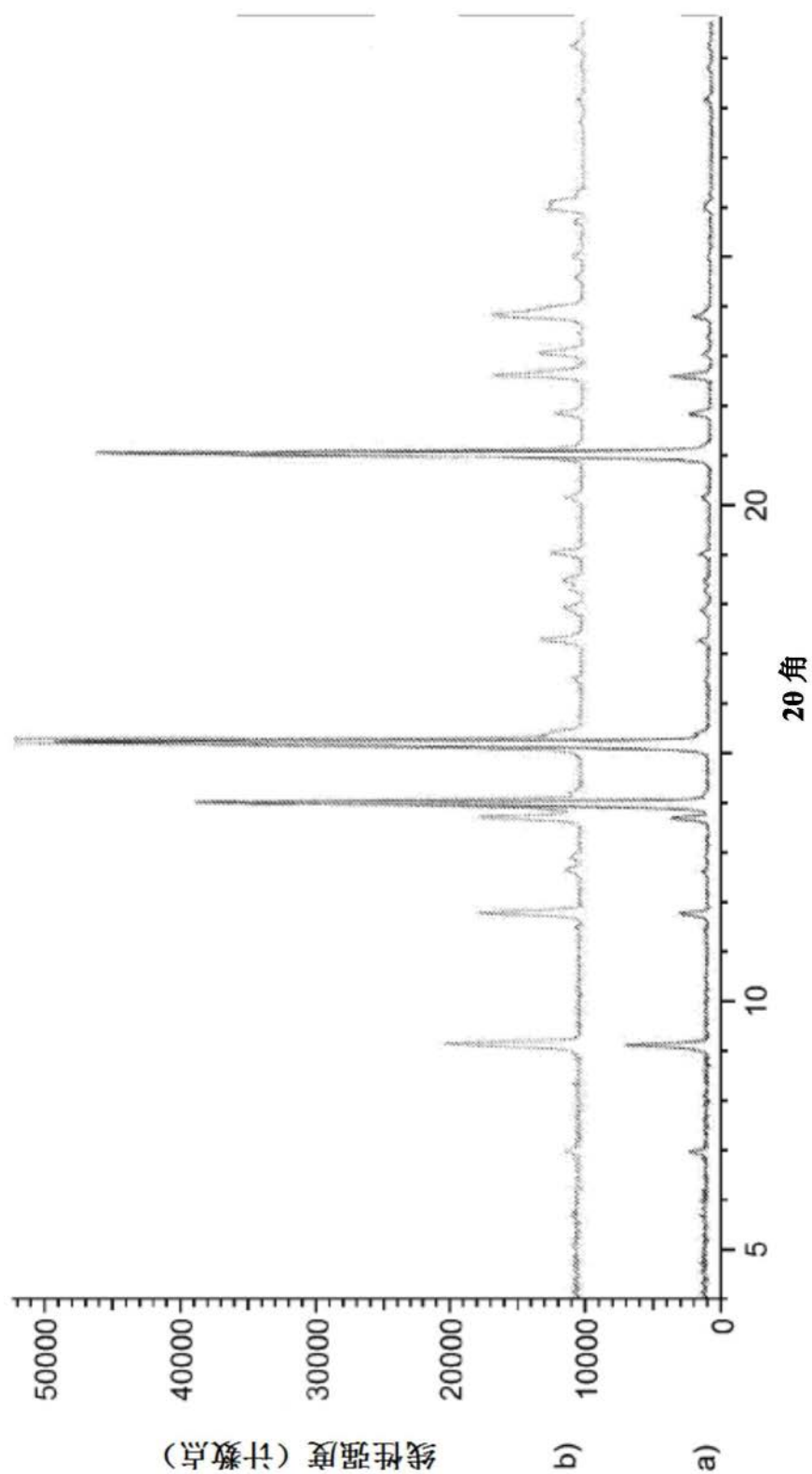


图20

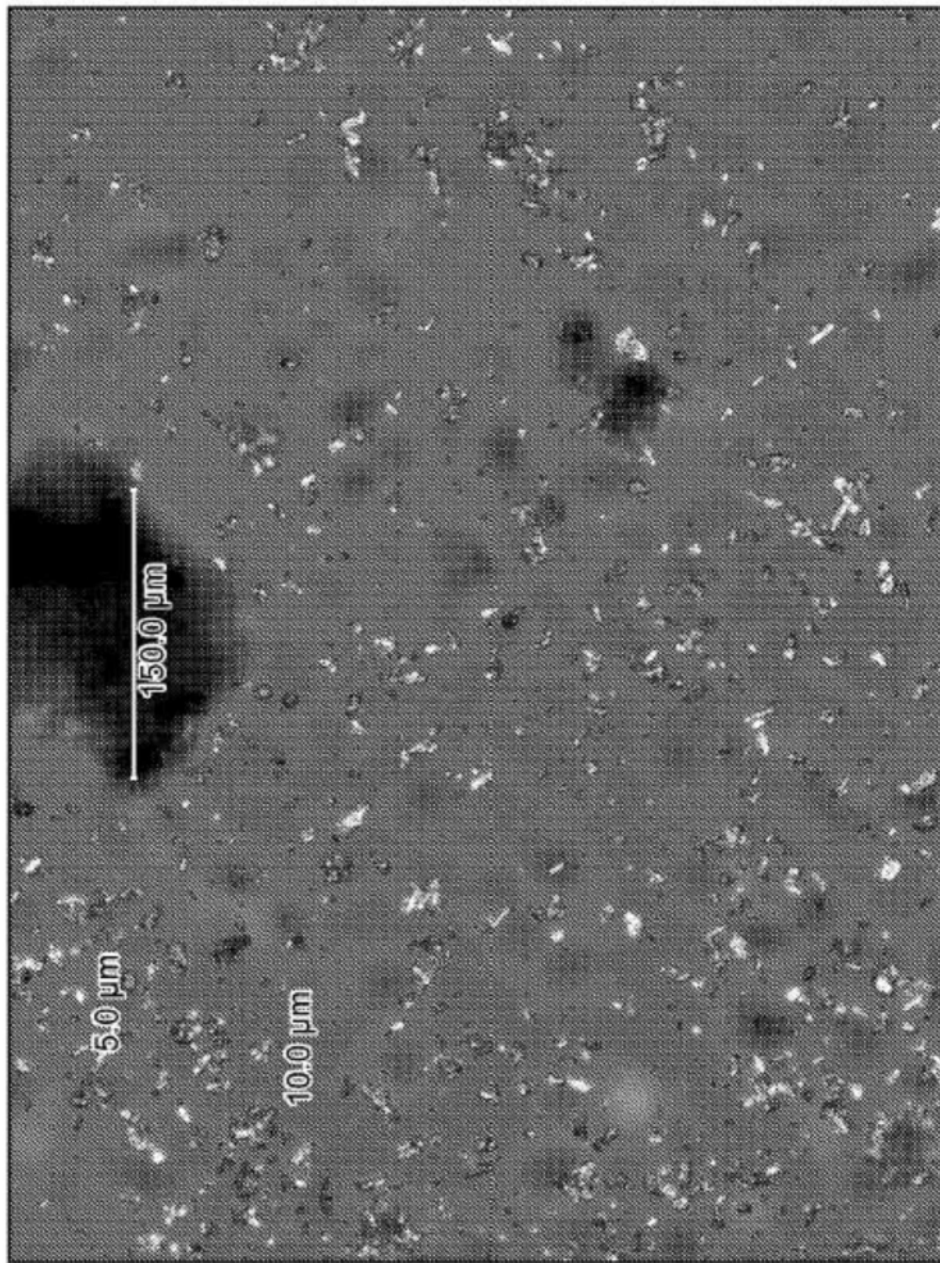


图21

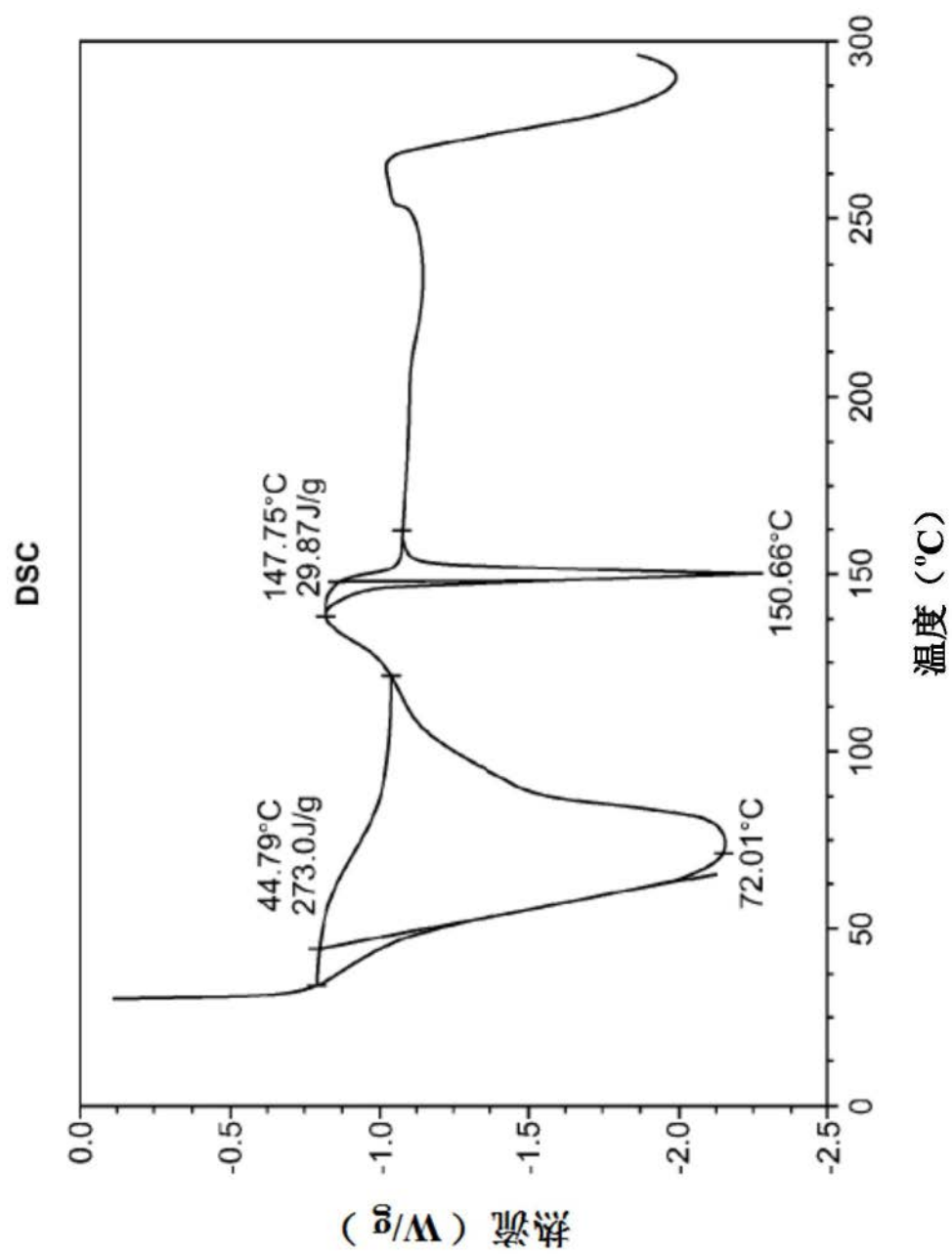


图22

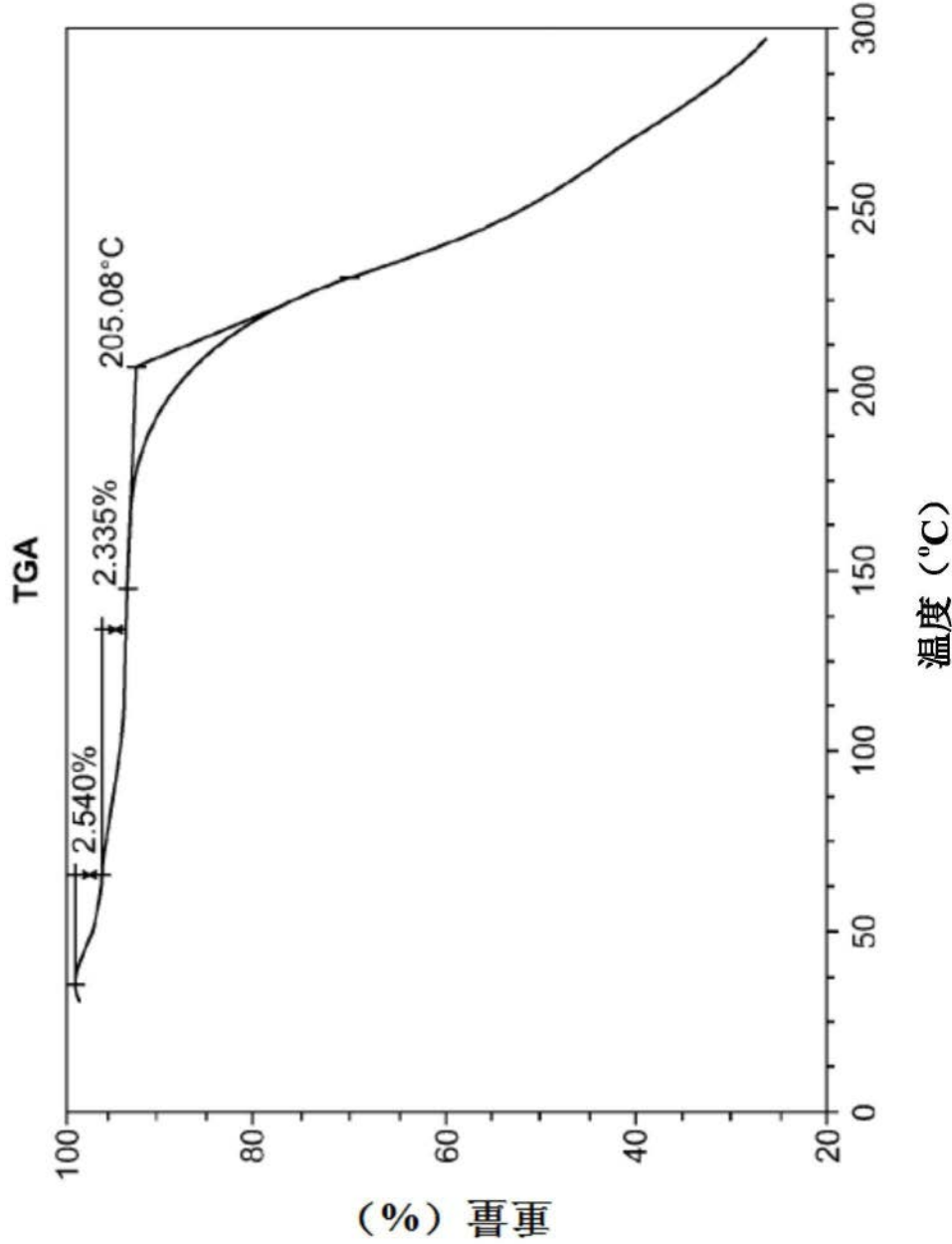


图23

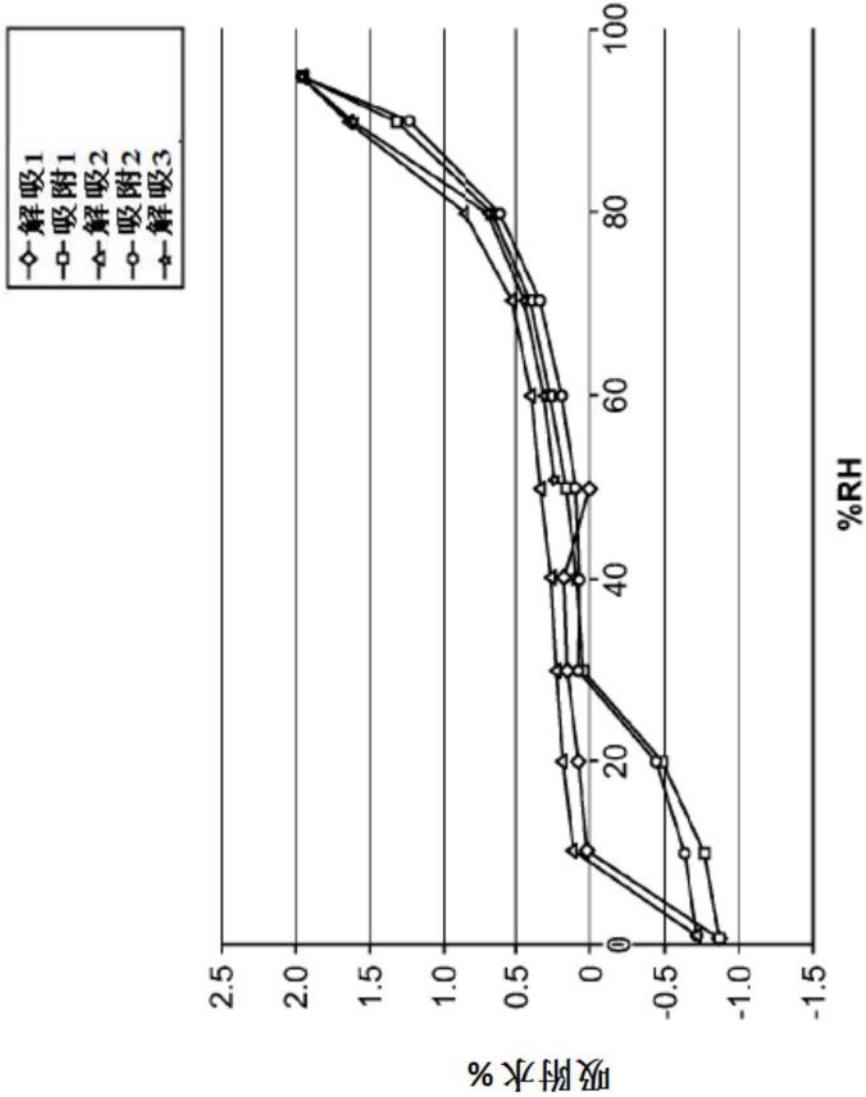


图24

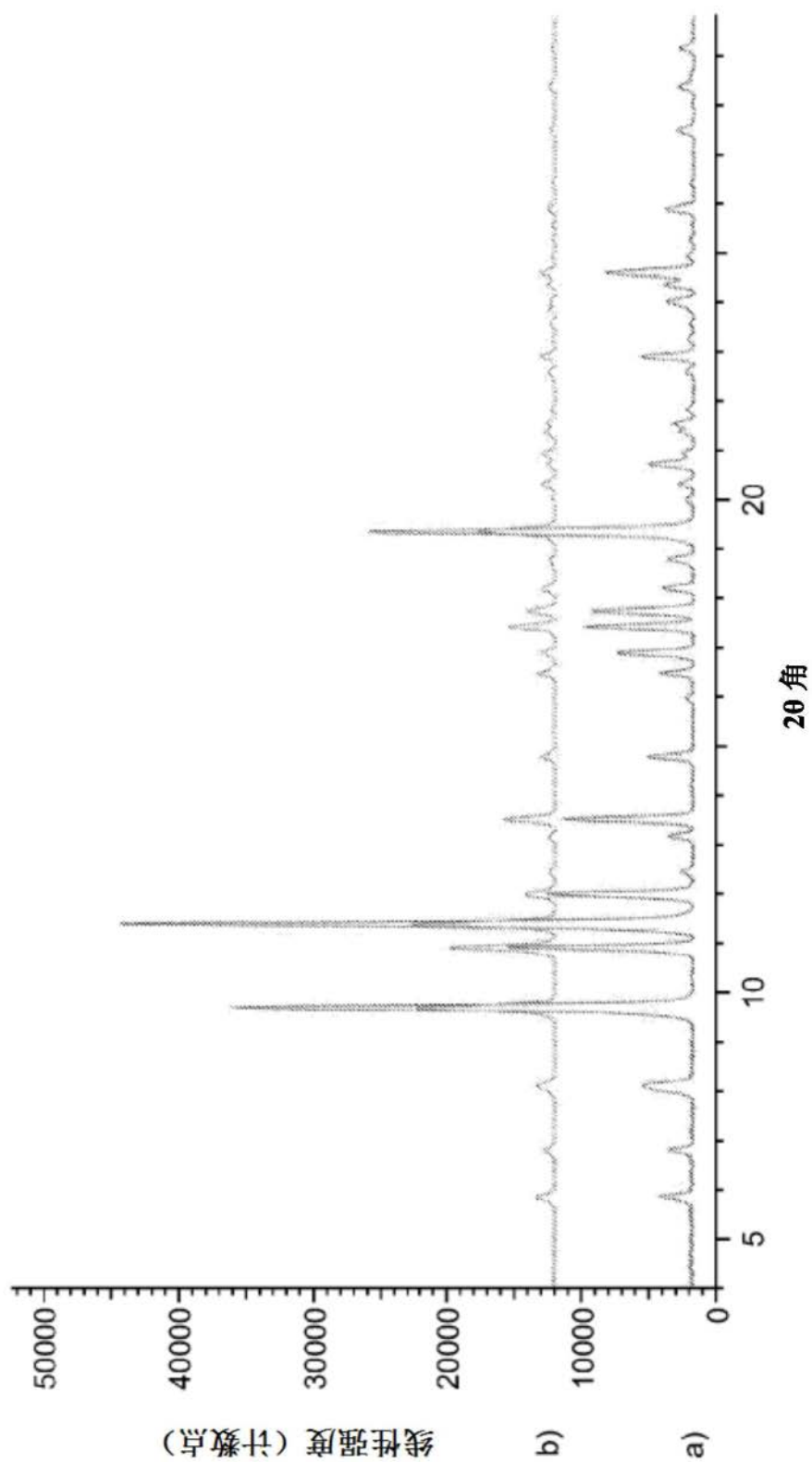


图25

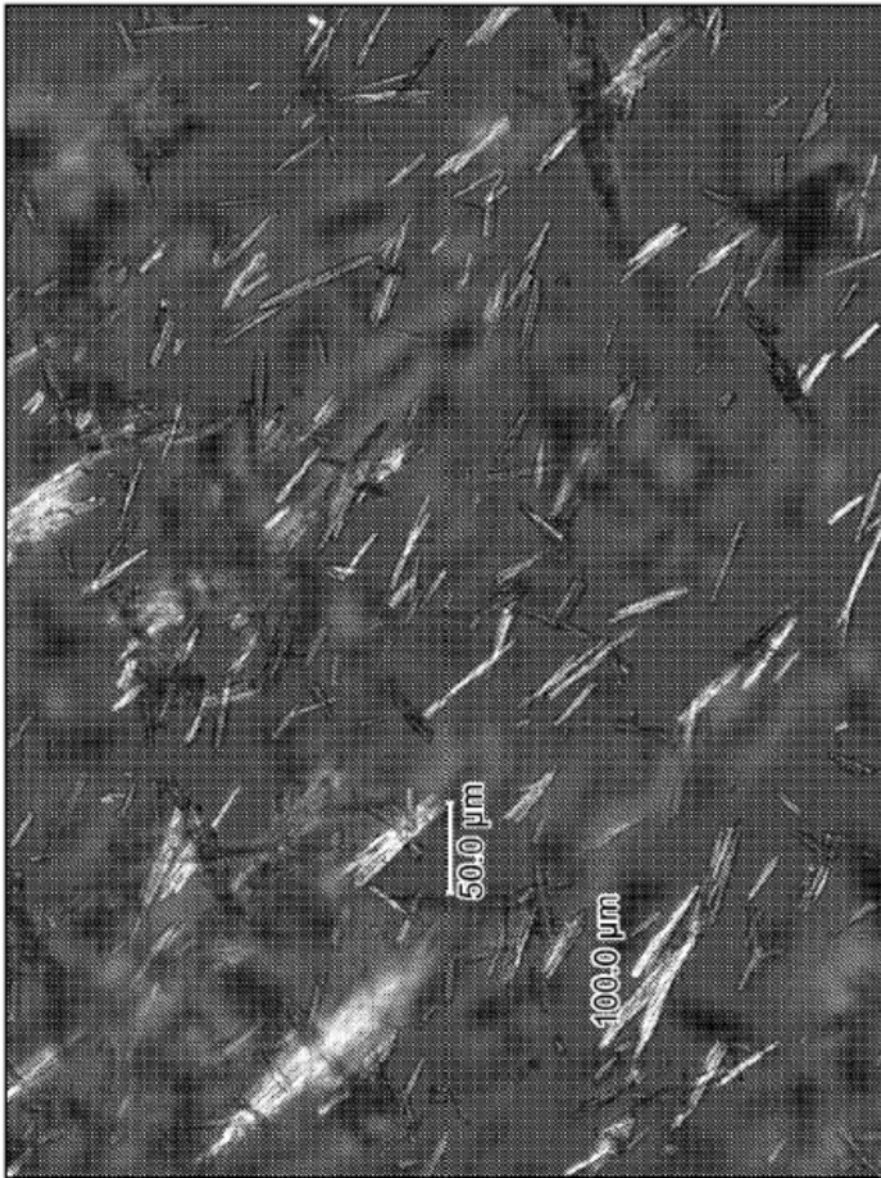


图26

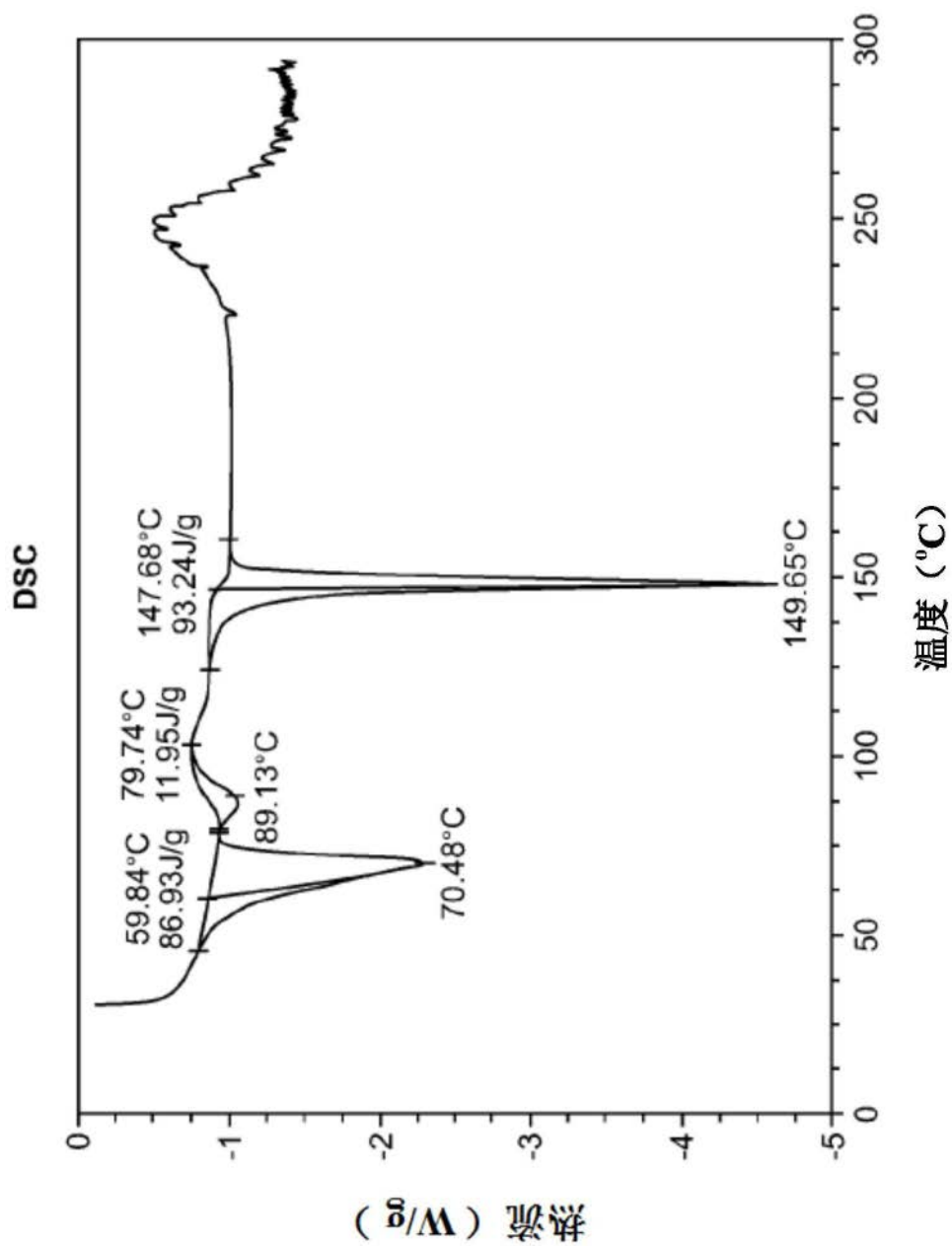


图27

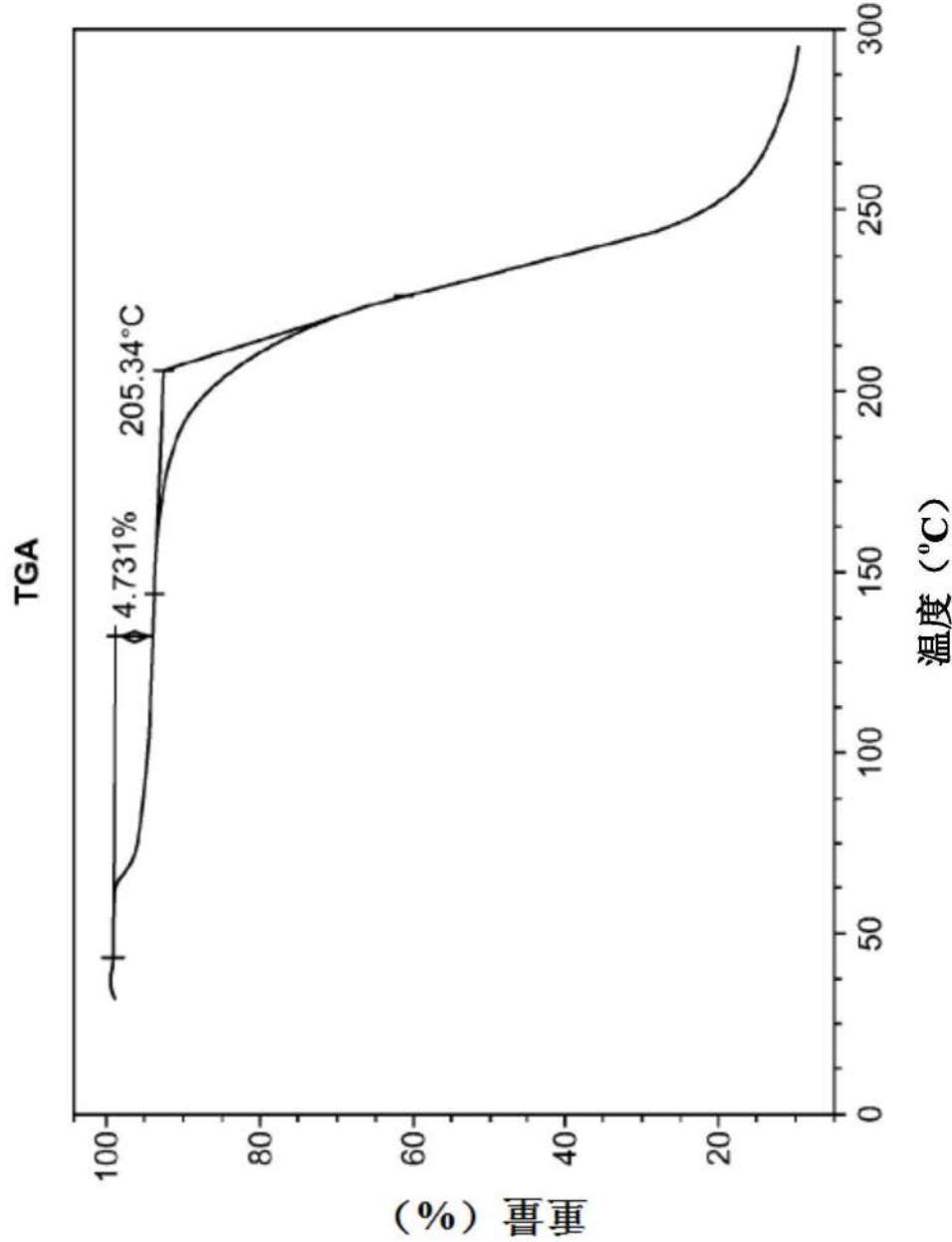


图28

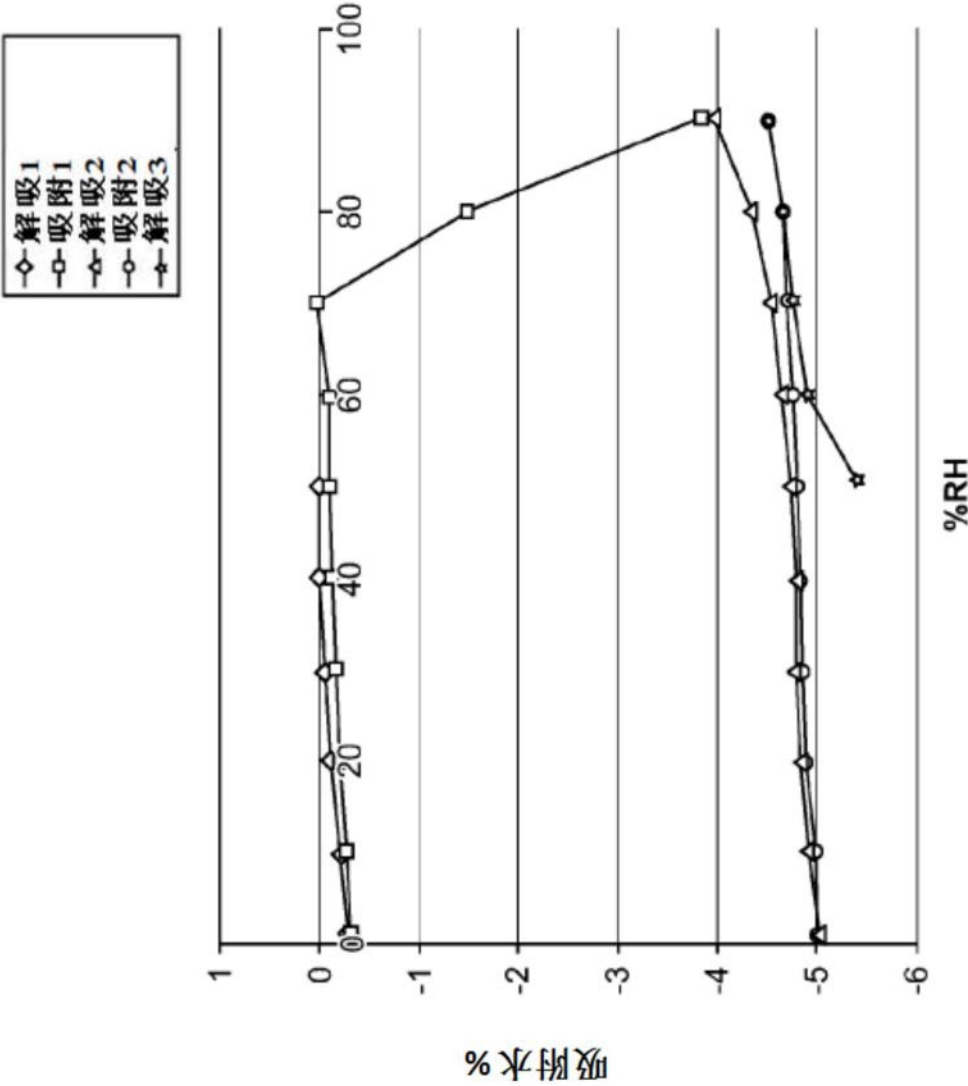


图29

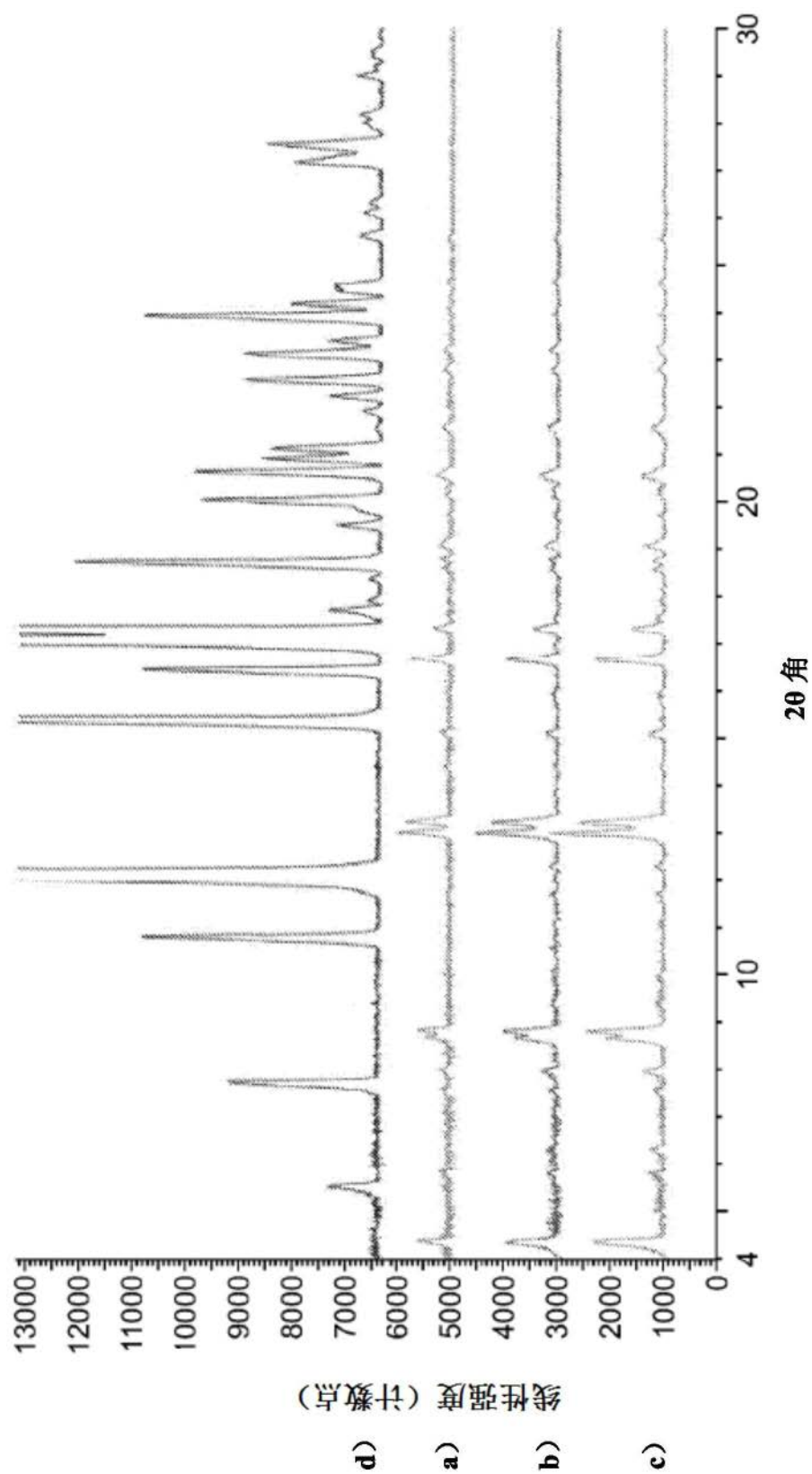


图30

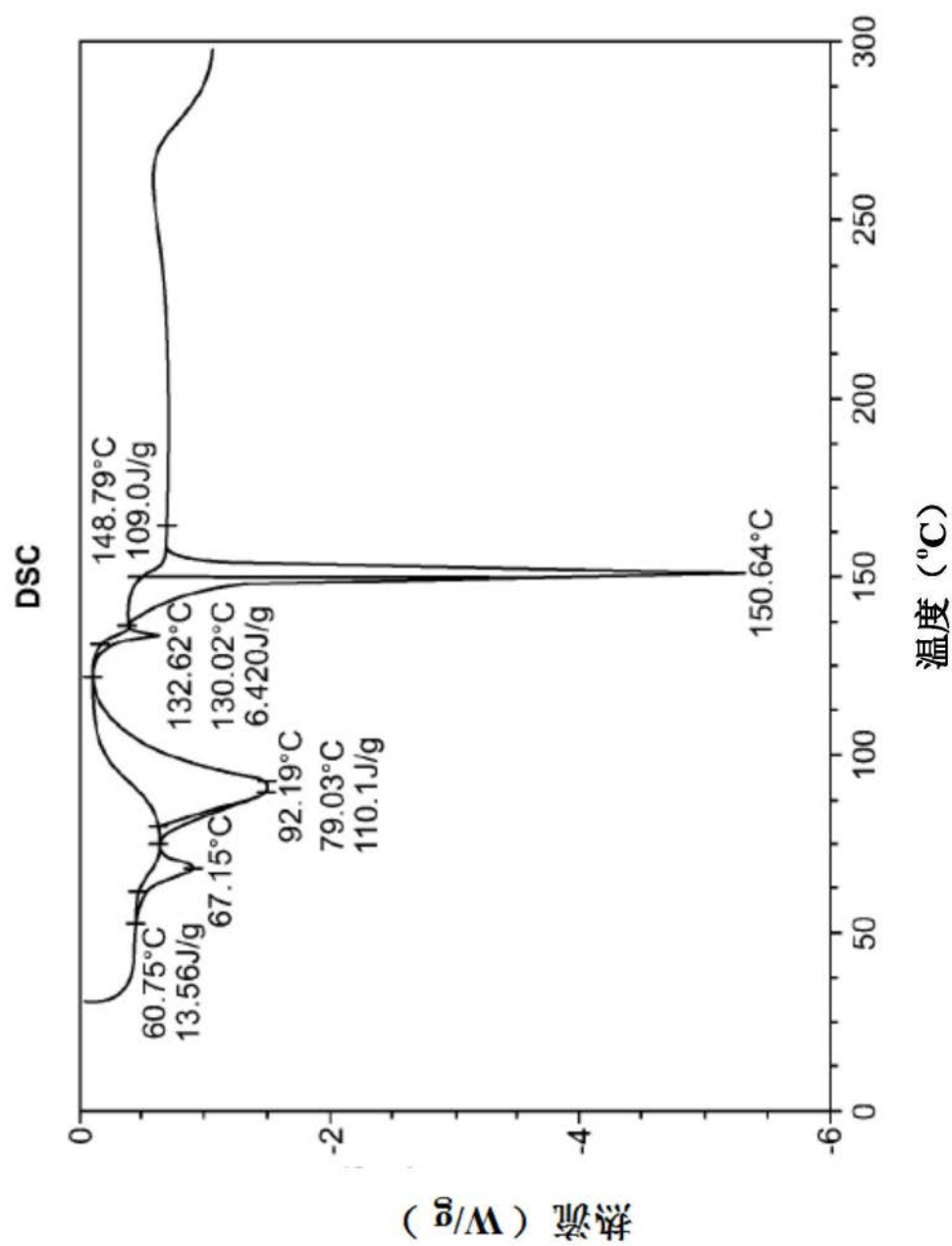


图31

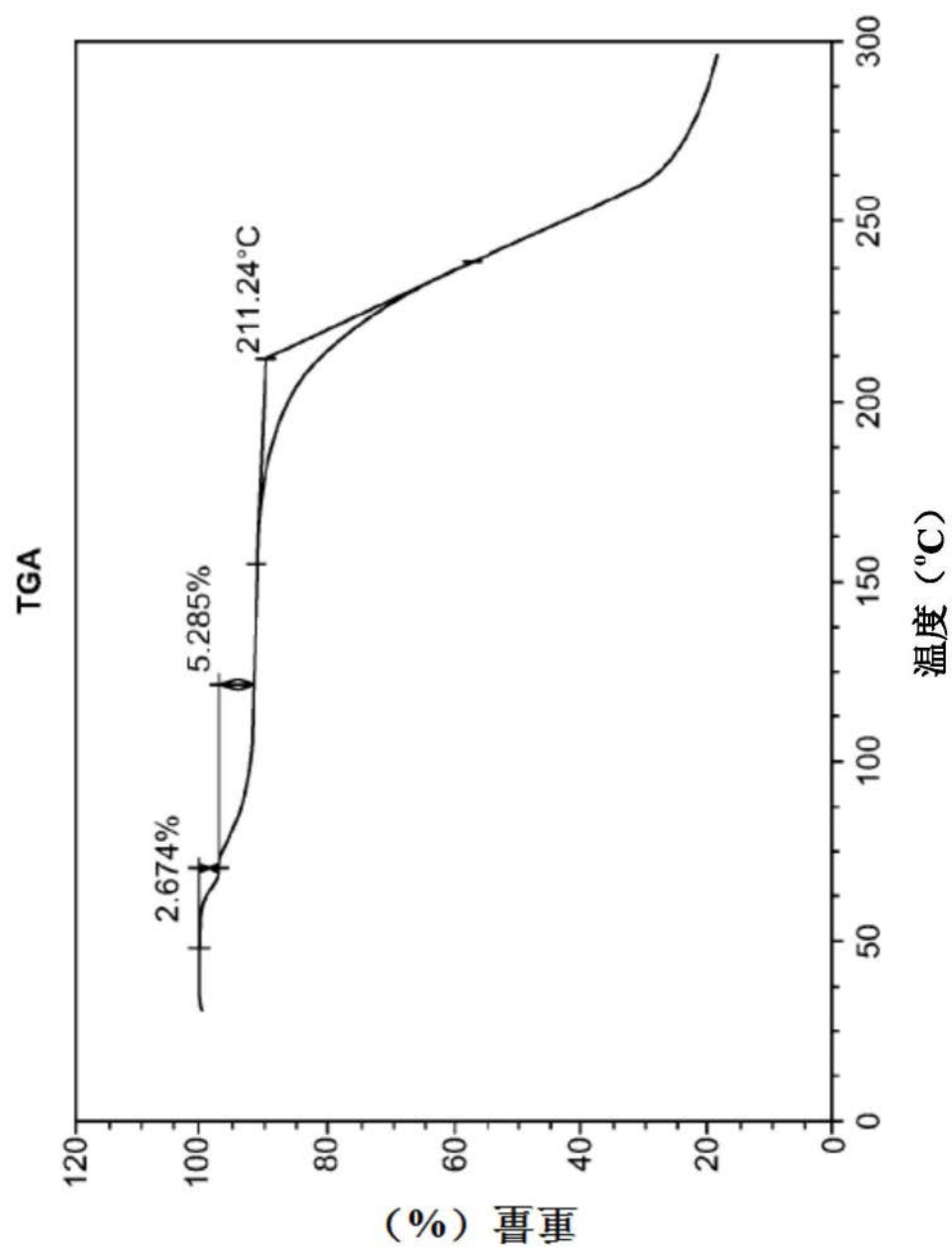


图32

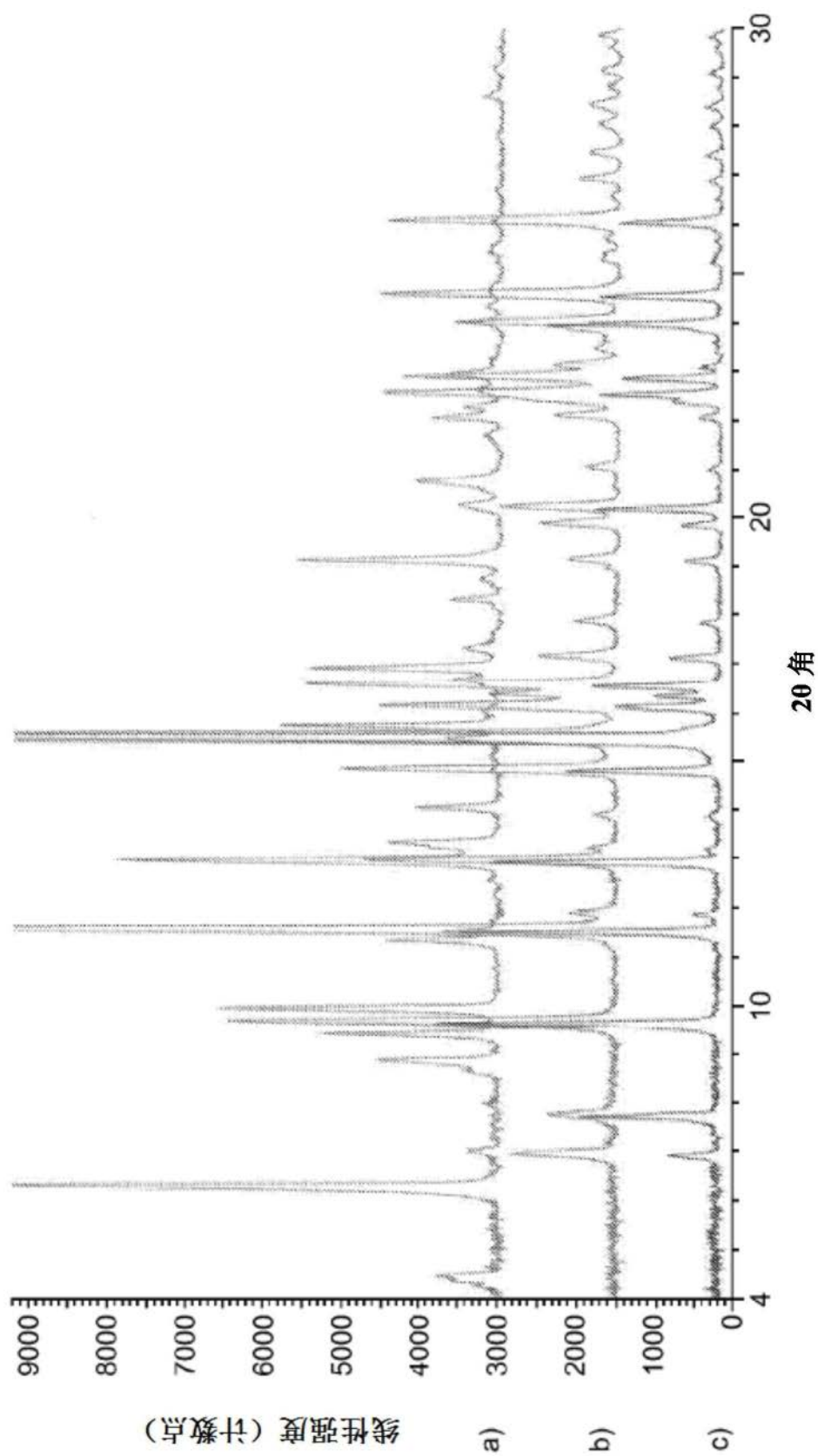


图33

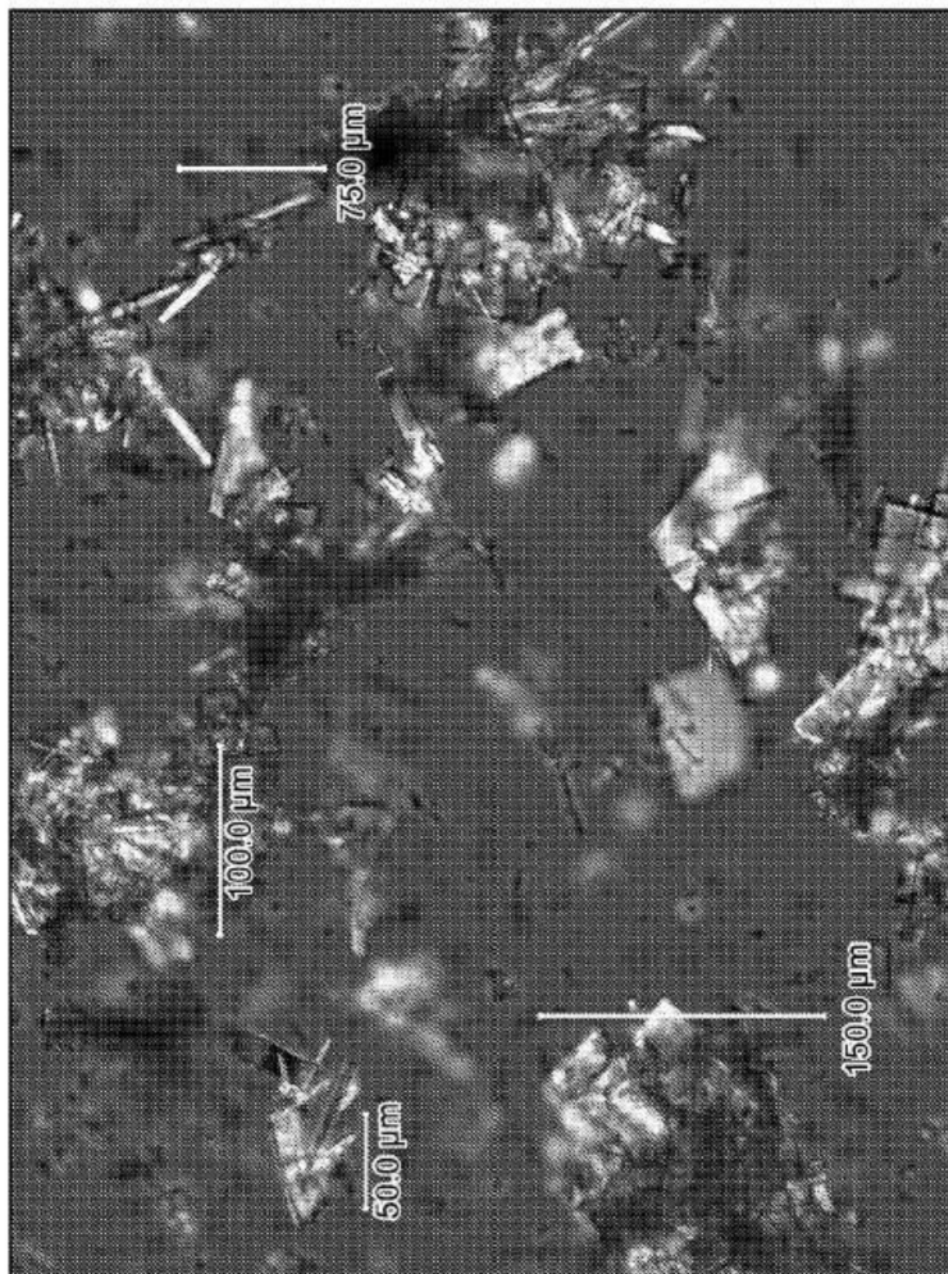


图34

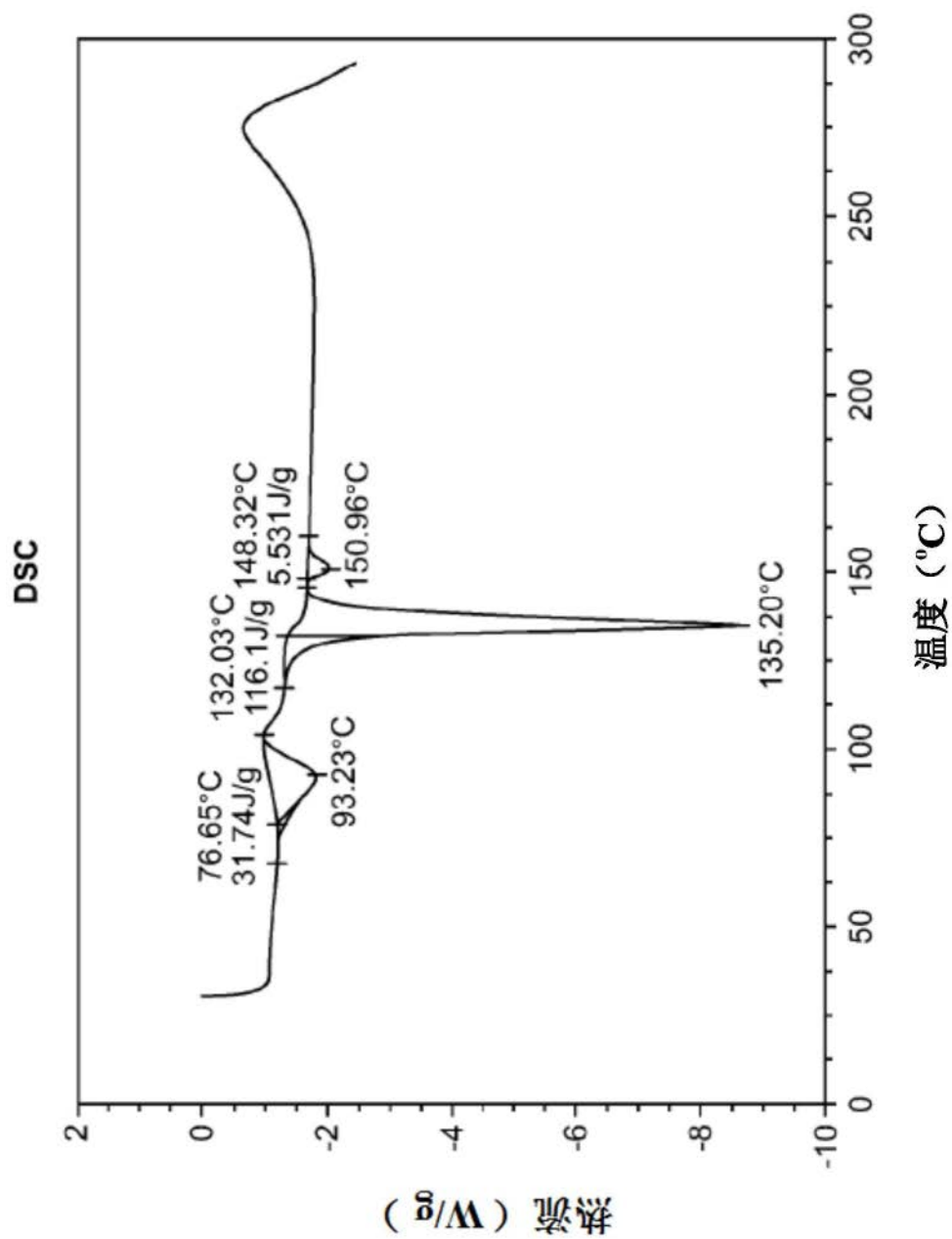


图35

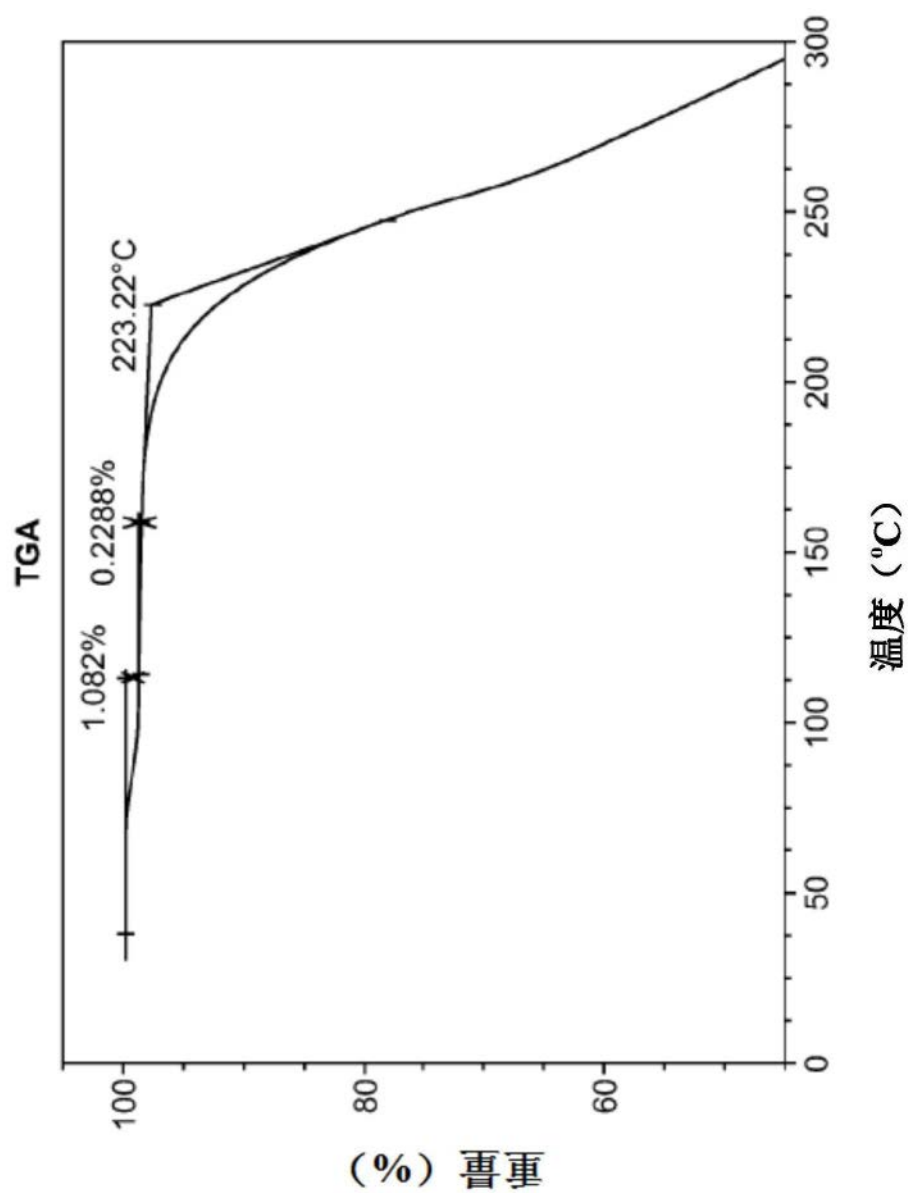


图36

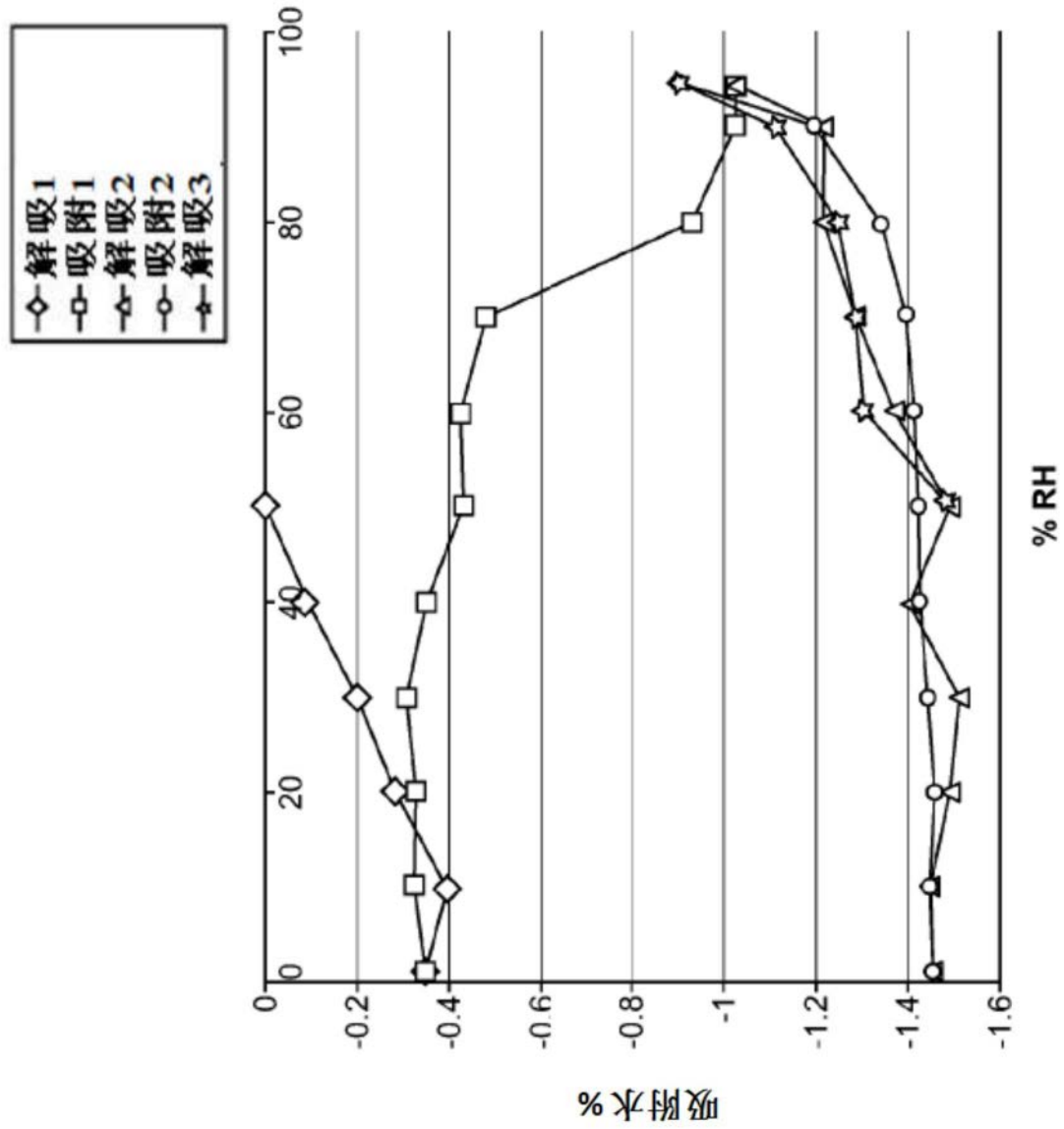


图37

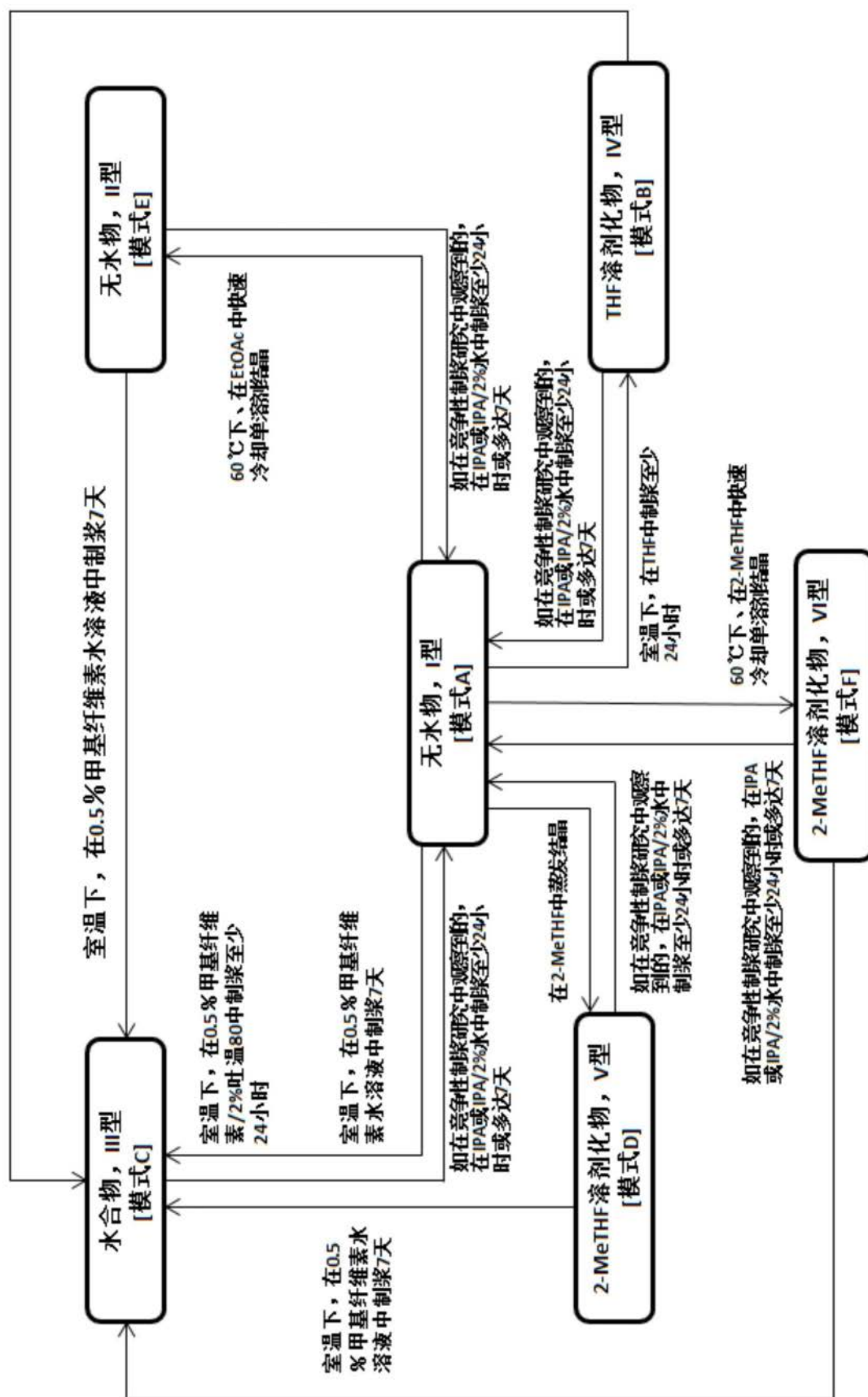


图38

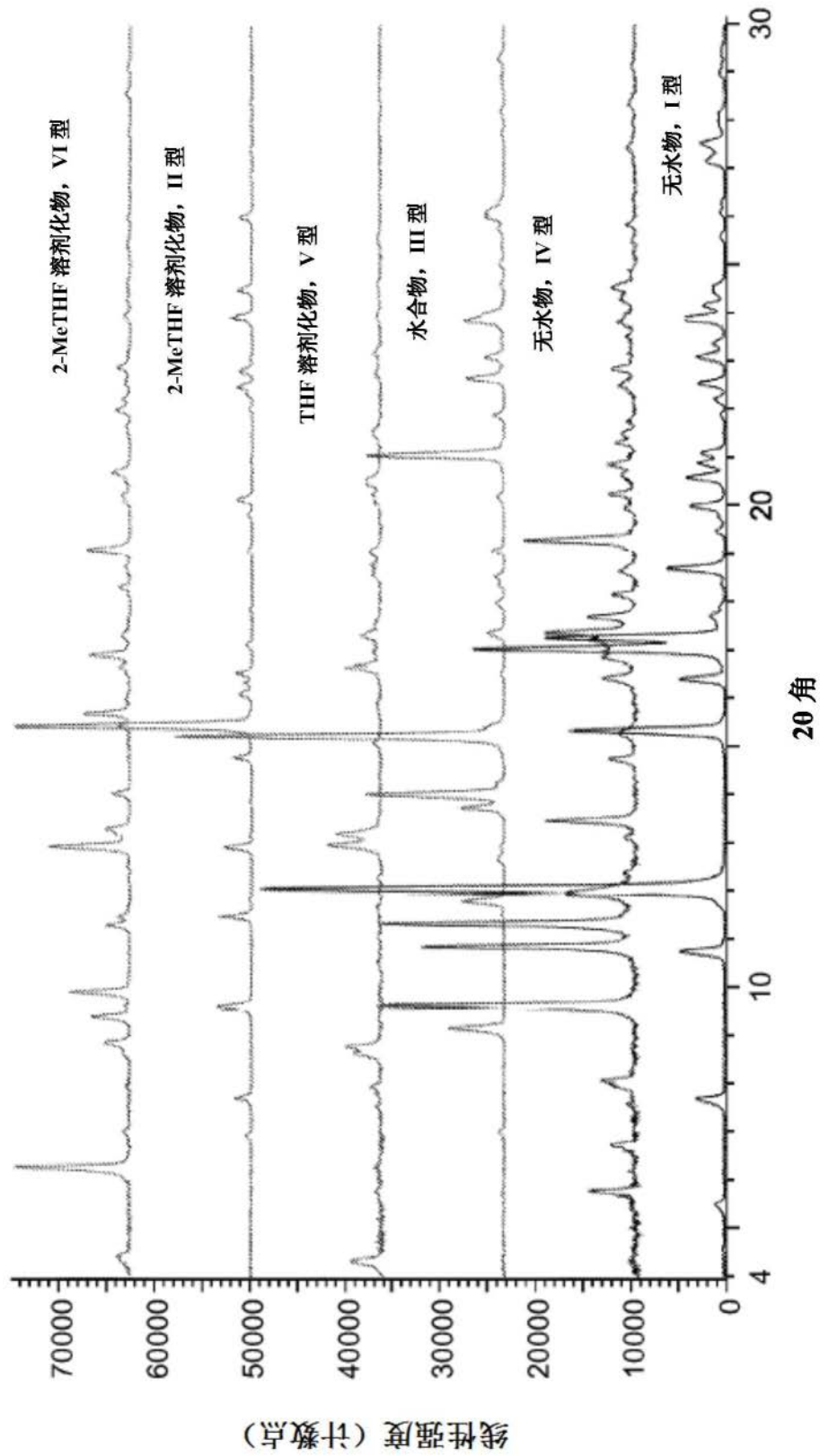


图39

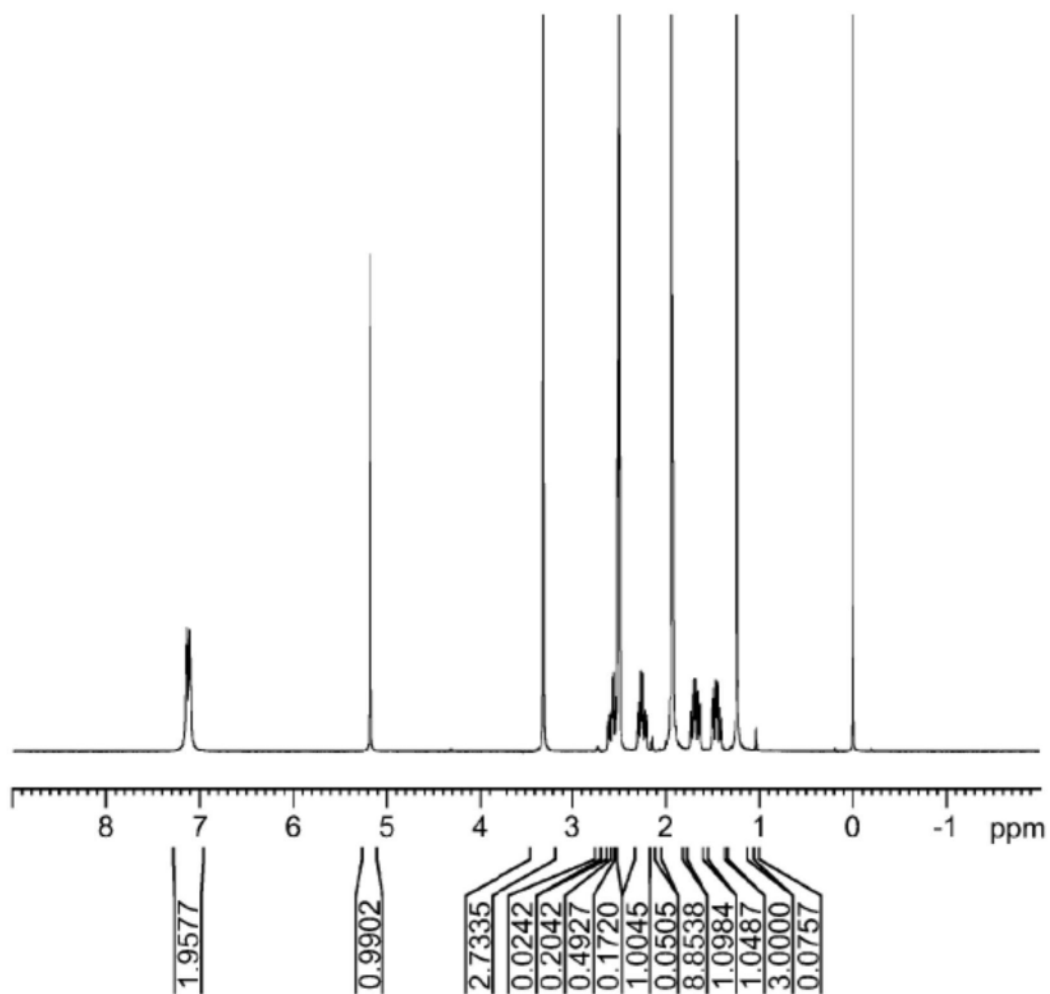


图40

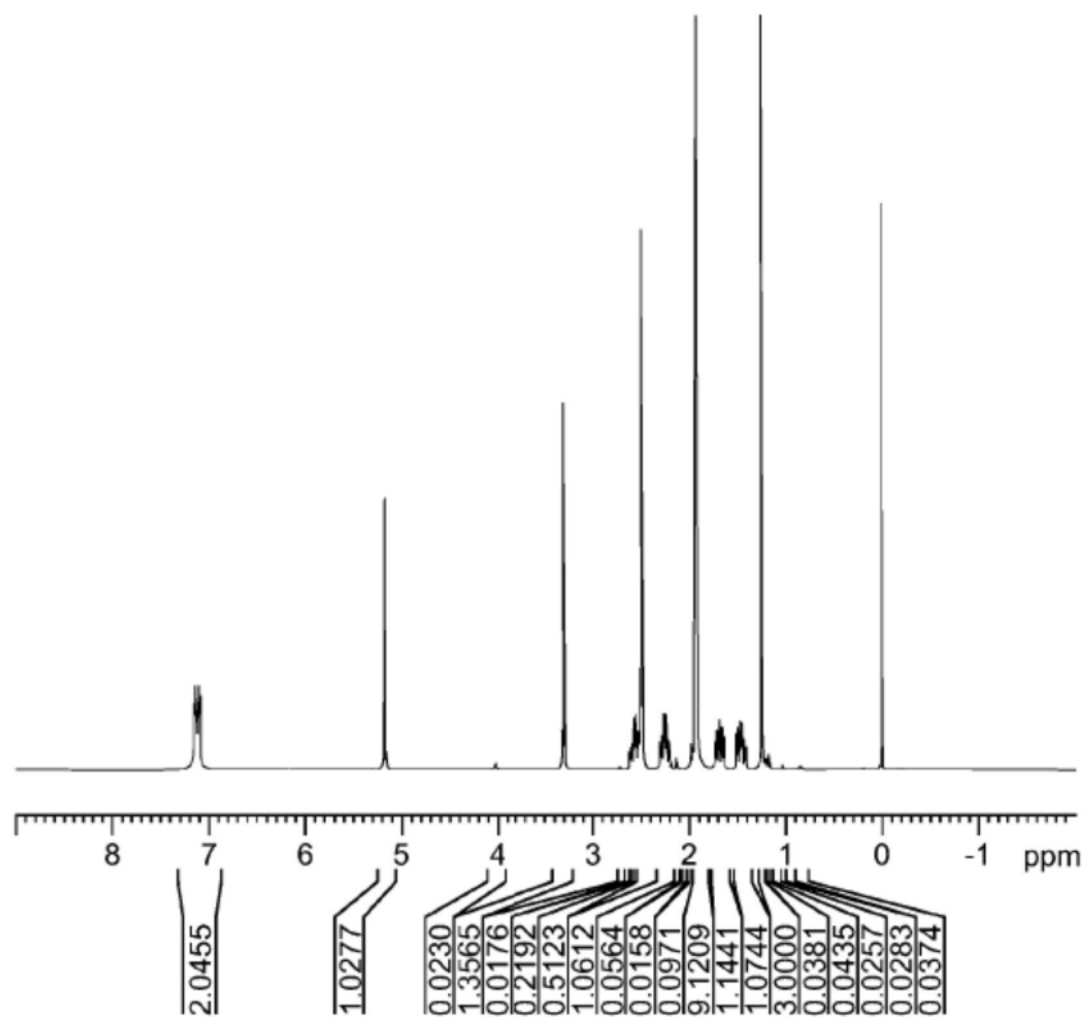


图41

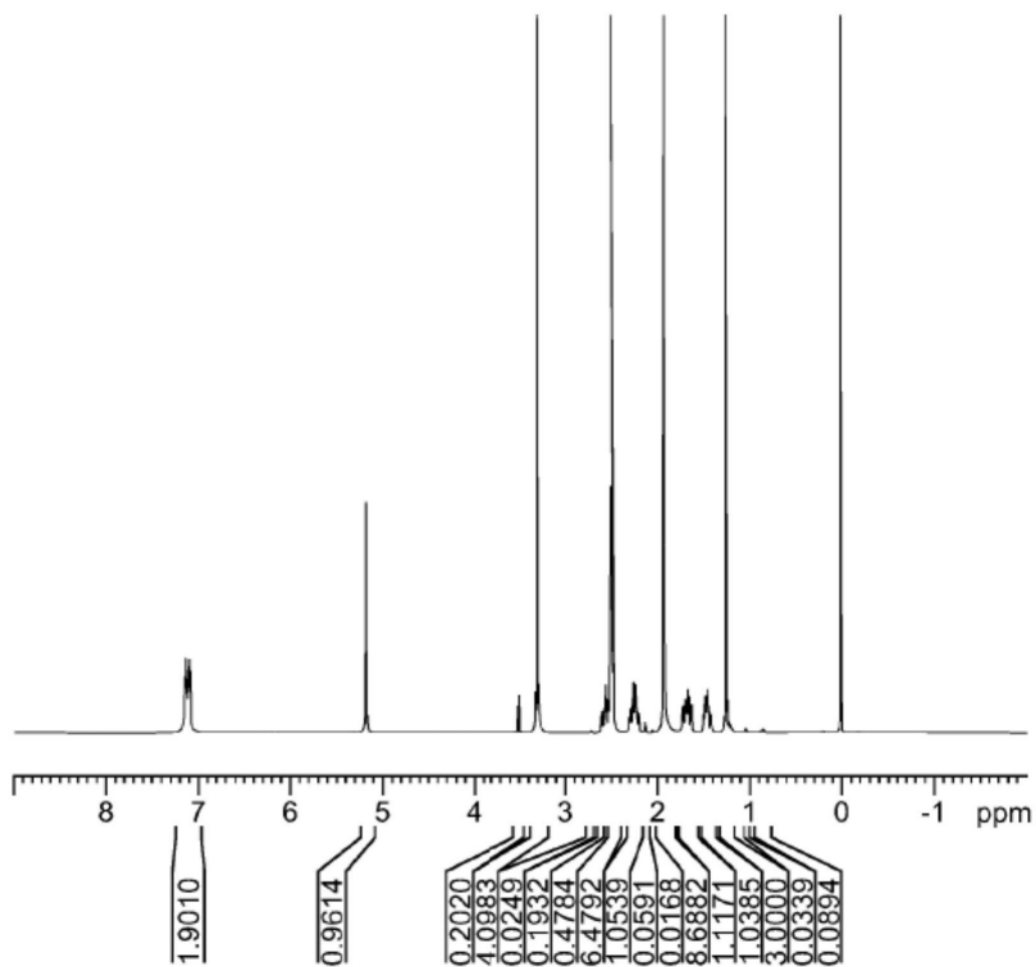


图42

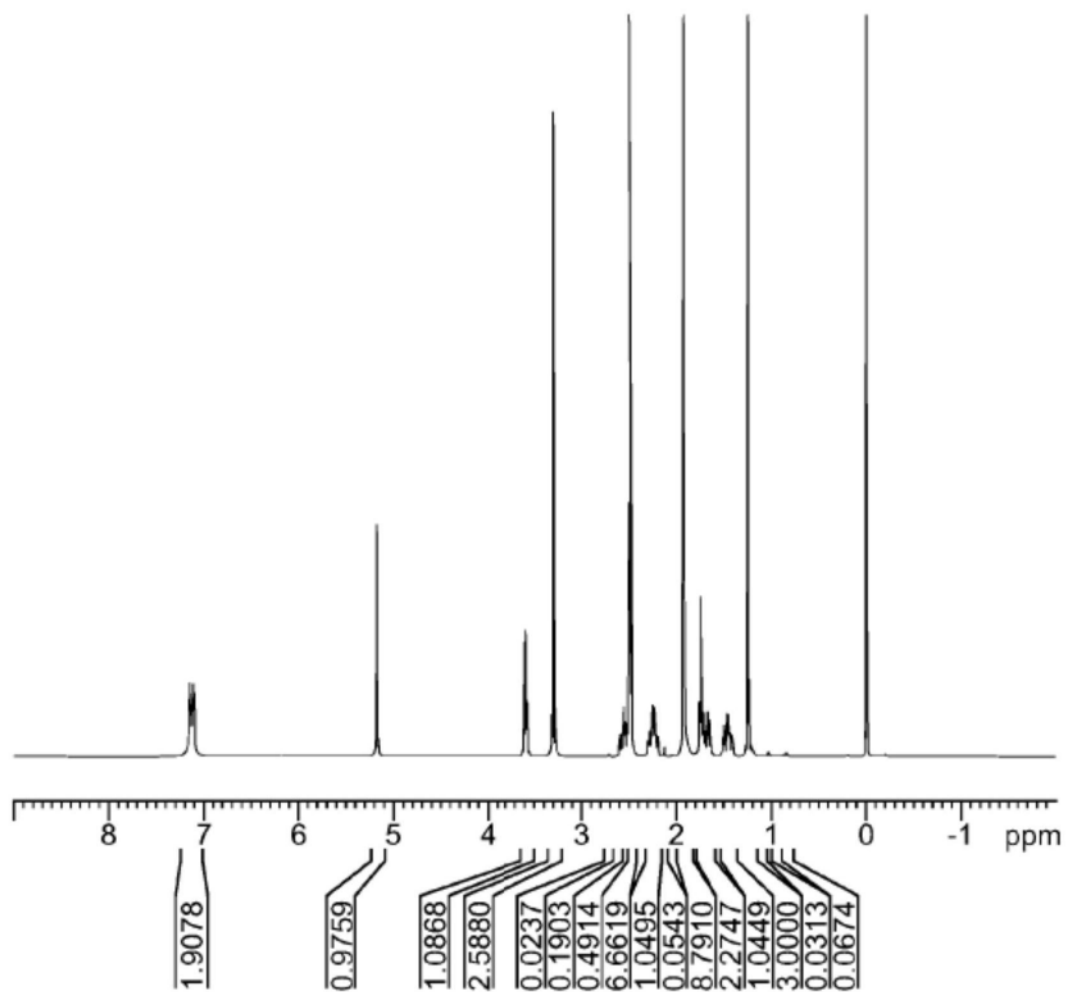


图43

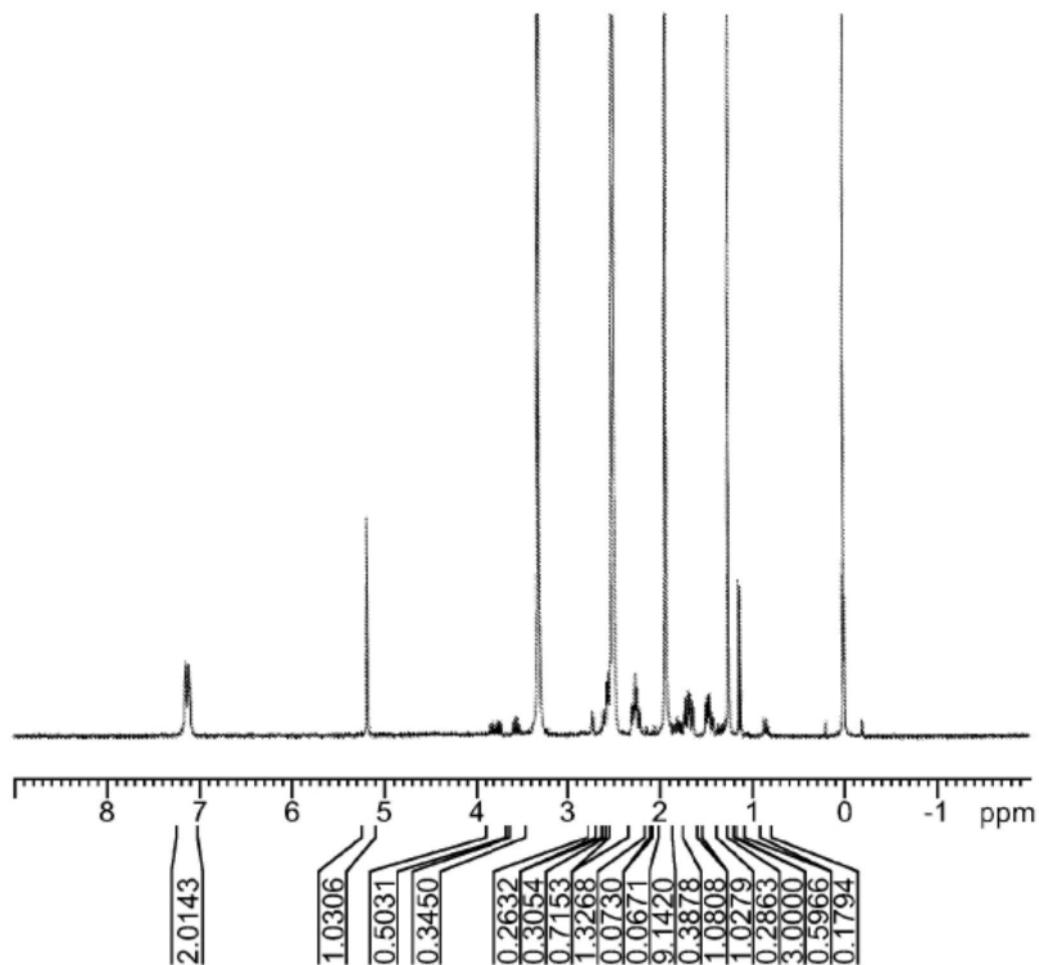


图44

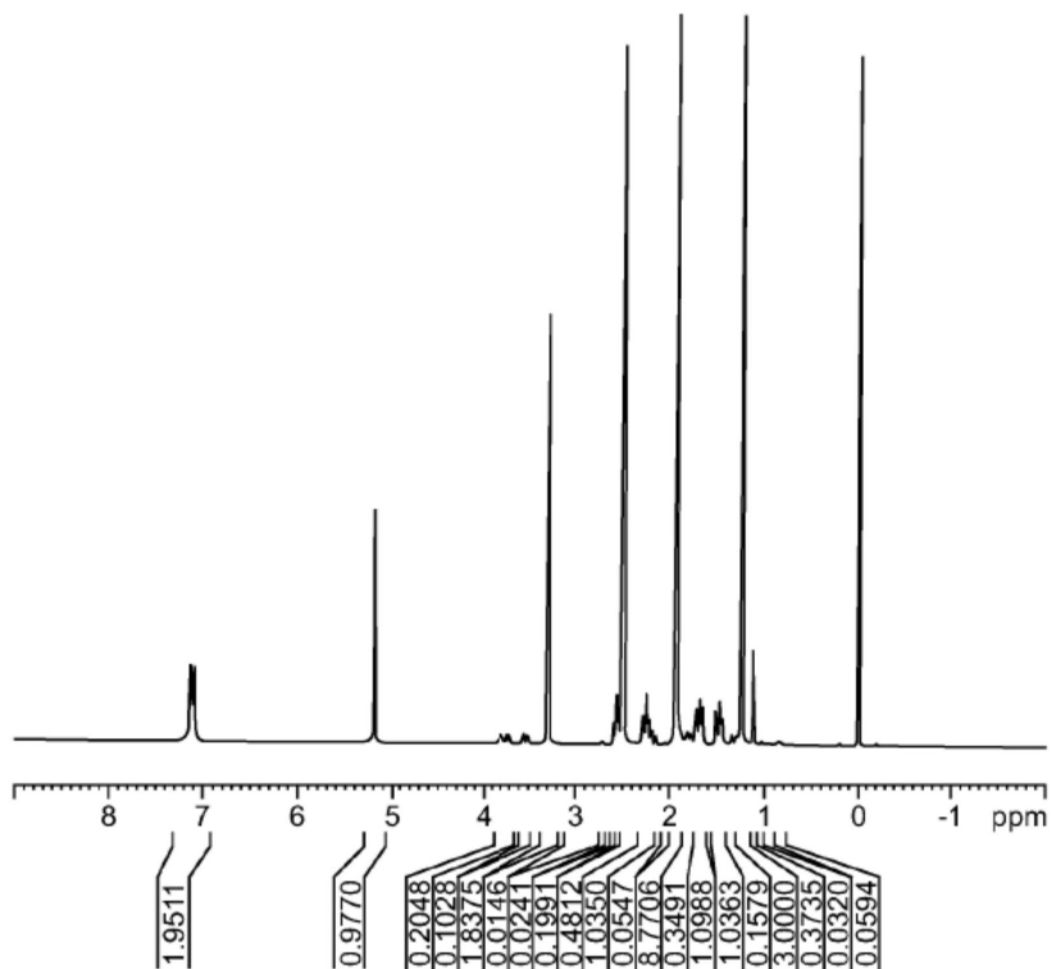


图45