



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公告本

(11) 證書號數：TW I464147 B

(45) 公告日：中華民國 103 (2014) 年 12 月 11 日

(21) 申請案號：101133927

(22) 申請日：中華民國 101 (2012) 年 09 月 15 日

(51) Int. Cl. : C07D209/18 (2006.01)

A61K31/405 (2006.01)

A61P9/04 (2006.01)

A61P9/10 (2006.01)

A61P25/00 (2006.01)

(30) 優先權：2011/09/15 美國

61/534,902

2011/09/22 美國

61/537,589

(71) 申請人：臺北醫學大學 (中華民國) TAIPEI MEDICAL UNIVERSITY (TW)

臺北市信義區吳興街 250 號

(72) 發明人：陳亦仁 CHEN, YI JEN (TW)；洪國盛 HUNG, KUO SHENG (TW)；高玉勳 KAO, YU HSUN (TW)；劉景平 LIOU, JING PING (TW)；單佩文 SHAN, PEI WEN (TW)

(74) 代理人：何美瑩

(56) 參考文獻：

Jang-Yang Chang et al, "7-Aroyl-aminoindoline-1-sulfonamides as a Novel Class of Potent Antitubulin Agents", Journal of Medicinal Chemistry, 2006, 49: 6656-6659.

審查人員：蔡明秀

申請專利範圍項數：4 項 圖式數：8 共 50 頁

(54) 名稱

吡啶氫胺酸和吡啶啞氫胺酸於治療心臟衰竭或神經損傷的用途

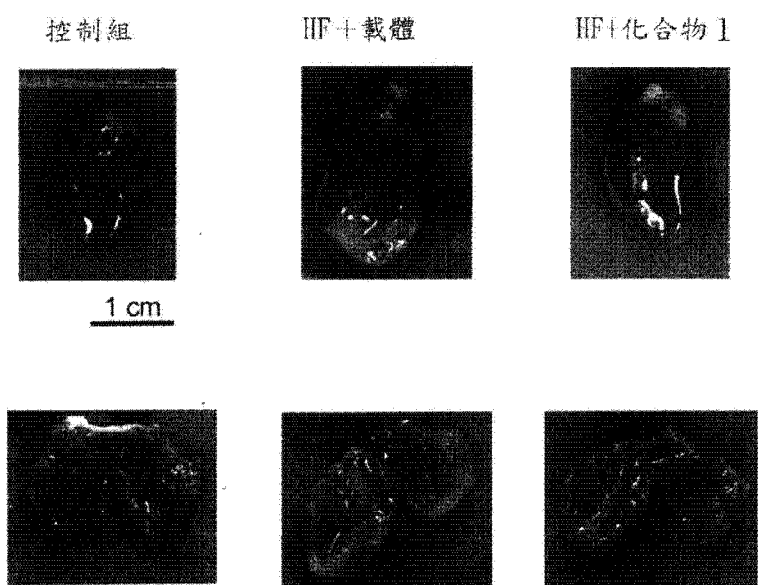
USE OF INDOLYL AND INDOLINYL HYDROXAMATES FOR TREATING HEART FAILURE OR NEURONAL INJURY

(57) 摘要

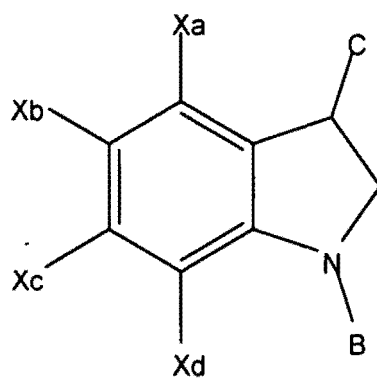
在此揭示某些小分子的新穎用途，特別是具有吡啶基或是吡啶啞基之氫胺酸化合物的新穎用途。此吡啶氫胺酸和吡啶啞氫胺酸化合物可做為先導化合物，來製備用以治療心臟衰竭或神經損傷的藥劑或藥學組合物。

Novel use of small molecules, particularly indolyl and indolinyl hydroxamates is disclosed herein. The indolyl and indolinyl hydroxamates are useful as lead compounds for manufacturing a medicament or a pharmaceutical composition for treating a patient suffering from heart failure or neuronal injury.

第 1 圖



式 (I)



六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明是有關於一種小分子的新穎用途，且特別是具有吡啶基或是吡啶基之氫胺酸化合物的新穎用途，此類化合物可做為先導化合物來製備用以治療心臟衰竭或神經損傷的藥劑或藥學組合物。

【先前技術】

心臟衰竭乃是心臟無法提供充足的血液與氧氣至體內其它組織時所引起的心血管疾病。在已開發國家中，患有心臟衰竭的人占人口總數的 2%，且其患病率隨著年齡增加而呈現上升趨勢。目前，造成年齡 65 歲以上個體住院的最主要原因是心臟衰竭，此外，此疾病亦為醫療照護成本提升的主要因素。

目前心臟衰竭的治療方法，主要是透過藥劑來恢復心臟功能，例如血管收縮素轉化酶抑制劑 (angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitors)、血管緊縮素 II 受體拮抗劑 (angiotensin II receptor blockers, ARBs)、利尿劑 (diuretics)、毛地黃糖苷 (digitalis glycosides)、 β -受體阻斷劑 (beta blocker) 以及直接作用的血管擴張劑 (direct acting vasodilators)，用以改善血管收縮能力。然而，使用藥物經常伴隨有副作用 (例如高血壓、腎功能異常以及身體活動障礙) 產生，造成使用藥物上的限制。對於藥物治療無效之嚴重心衰患者，或可採用換心手術為其治療方法。

然而，目前器官捐贈者的來源及數量仍極為有限。

中風、挫傷或缺氧所造成的腦和脊髓損傷，往往會造成人們終身癱瘓或提前死亡。因此，在大多數國家中，創傷性腦損傷 (Traumatic Brain injury, TBI) 和缺血性腦梗塞為二種嚴重的公共健康議題。在美國，與 TBI 相關事件的次數 (包含，死亡，住院和急診等)，每年估計約有 170 萬件；此外，在傷害所造成的死亡案例中，TBI 占有三成 (30.5%) (每年約 52,000 人死亡)。而在美國，缺血性腦梗塞為排名第 4 大的死亡原因，其亦為導致長期癱瘓的主因。美國每年約有 795,000 人患有腦中風 (stroke)，而依據 2008 年的死亡原因統計，其中每 18 位中就有一位是死於腦中風。此外，未來預計在 2000 至 2032 年間，缺血性腦梗塞的死亡人數將增加一倍。預測顯示在 2030 年，人的一生罹患腦中風的機率將增加至 25%，換句話說，僅在美國就有 400 萬人將罹患腦中風。

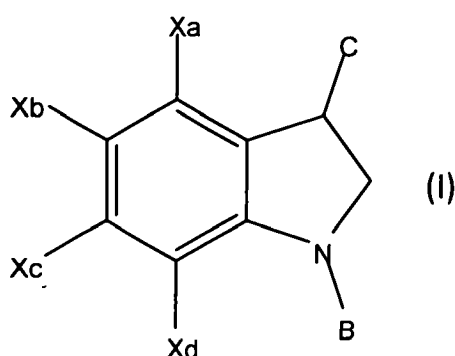
有鑑於此，相關領域需要一種可改善或恢復心臟功能的藥劑或化合物；或是一種可降低或預防因為中風、缺氧或創傷型腦損傷所造成的神經失調的藥劑或化合物。

【發明內容】

發明內容旨在提供本揭示內容的簡化摘要，以使閱讀者對本揭示內容具備基本的理解。此發明內容並非本揭示內容的完整概述，且其用意並非在指出本發明實施例的重要/關鍵元件或界定本發明的範圍。發明內容旨在提供本揭示

內容的簡化摘要，以使閱讀者對本揭示內容具備基本的理解。此發明內容並非本揭示內容的完整概述，且其用意並非在指出本發明實施例的重要/關鍵元件或界定本發明的範圍。

本發明至少部分是基於不可預期地發現到，具有以下結構之式 (I) 化合物能有效的恢復或改善受試個體(例如，人類)的心臟功能或是保護神經細胞不致受損，

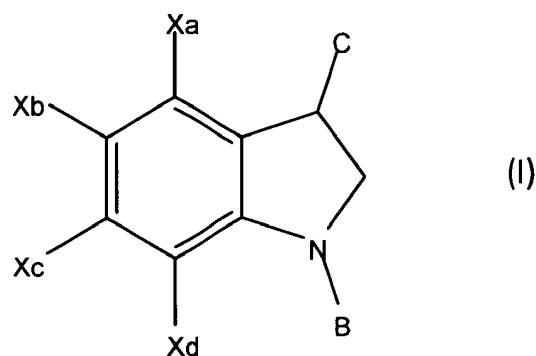


其中 B 可以是 R、C(O)R、CH₂R、SO₂R、SO₃R 或 SO₂NRR'；C 可以是 R、C(O)R、CH₂R、SO₂R 或 CH=CHC(O)NHOH；X_a、X_b、X_c 和 X_d 分別可以是 R、鹵素 (halogen)、硝基 (nitro)、亞硝基 (nitroso)、OR 或 CH=CHC(O)NHOH；以及 R 和 R' 分別可以是氫、烷基 (alkyl)、烯基 (alkenyl)、炔基 (alkynyl)、芳香基 (aryl) 或雜芳基 (heteroaryl)。於一實施例中，C、X_a、X_c 和 X_d 分別可以是氫；B 可以是 SO₂R；以及 X_b 可以是 CH=CHC(O)NHOH。因此，式 (I) 化合物具有成為治療心臟衰竭或神經損傷藥劑之先導化合物的潛力。

依據本揭示內容之實施方式，心臟衰竭係由心肌纖維化 (cardiac fibrosis)、高血壓 (hypertension)、心肌梗塞

(myocardial infarction)、心肌缺血(myocardial ischaemia)、擴大性心肌病變(dilated cardiomyopathy)、肥厚性心肌病變(hypertrophic cardiomyopathy)、限制性心肌病變、(restrictive cardiomyopathy)、壓力性心肌病變(stress cardiomyopathy)、糖尿病性心肌病變(diabetic cardiomyopathy)或特發性心肌病變(idiopathic cardiomyopathy)所引起的。而神經損傷則係由 TBI 或缺血性腦梗塞所引起。

本發明第一態樣旨在提供一種治療心臟衰竭或神經損傷的方法，此方法包含對一個體投予一治療有效量的式(I)化合物：



其中 B 可以是 R 、 $C(O)R$ 、 CH_2R 、 SO_2R 、 SO_3R 或 SO_2NRR' ；
 C 可以是 R 、 $C(O)R$ 、 CH_2R 、 SO_2R 或 $CH=CHC(O)NHOH$ ；
 X_a 、 X_b 、 X_c 和 X_d 分別可以是 R 、鹵素(halogen)、硝基(nitro)、亞硝基(nitroso)、 OR 或 $CH=CHC(O)NHOH$ ；以及
 R 和 R' 分別可以是氫、烷基(alkyl)、烯基(alkenyl)、炔基(alkynyl)、芳香基(aryl)或雜芳基(heteroaryl)。於一實施例中， C 、 X_a 、 X_c 和 X_d 分別可以是氫； B 可以是 SO_2R ；以及 X_b 可以是 $CH=CHC(O)NHOH$ 。

所述的個體可以是哺乳類動物，較佳為人。心臟衰竭係由心肌纖維化、高血壓、心肌梗塞、心肌缺血、擴大性心肌病變、肥厚性心肌病變、限制性心肌病變、壓力性心肌病變、糖尿病性心肌病變或特發性心肌病變所引起的。而神經損傷係由 TBI 或缺血性腦梗塞所引起。

在某些實施方式中，給予該個體的劑量為該個體每公斤體重 1 至 100 mg (以下表示為 mg/Kg)，給藥途徑可為注射，如靜脈注射或肌肉注射。在特定實施方式中，利用靜脈注射的方式將約 10 至 100 mg/Kg 的藥劑給予個體 (例如，將 30mg/Kg 的藥劑給予個體)。在給藥時，可利用單一試劑或分成多個試劑來給足所需劑量。

在某些實施方式中，所提出的方法更包含在對個體投予本發明化合物之前、同時和/或之後，對該個體投予一種已知可改善心臟功能的藥劑。此類改善或恢復心臟功能的藥劑的實施例包括，但不限於，血管收縮素轉化酶抑制劑、血管緊縮素 II 受體拮抗劑、利尿劑、毛地黃糖苷、 β -受體阻斷劑以及直接作用的血管擴張劑。於其他實施方式，所提出的方法更包含在對個體投予本發明的化合物之前、同時和/或之後，對該個體投予一種已知可改善神經損傷症狀的藥劑。此類藥劑的實施例包括，但不限於：活性氧清除劑 (reactive oxygen scavenger)、抗凝固劑 (anticoagulant) 及其他類似物。

有鑑於此，本發明第二態樣提供了使用上述式 (I) 化合物來製造供治療心臟衰竭或神經損傷之藥劑或藥學組合

物的用途；上述藥劑或藥學組合物包含一治療有效量之上述式 (I) 化合物；以及一藥學上可接受的賦型劑。

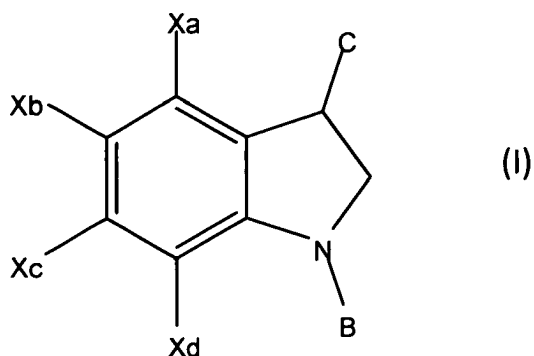
在所述藥學組合物中，本發明化合物的含量為總重量的約 0.1% 至 99% (重量%)。在某些實施方式中，本發明化合物含量至少為藥學組合物總重量的 1% (重量%)。在一些實施方式中，本發明化合物含量至少為藥學組合物總重量的 5% (重量%)。在另一些實施方式中，本發明化合物含量至少為藥學組合物總重量的 10% (重量%)。在又另一些實施方式中，本發明化合物含量至少為藥學組合物總重量的 25% (重量%)。

在某些實施方式中，本發明上述藥劑或藥學組合物更包含一種已知藥物，可用來改善或恢復心臟功能，可在對個體投予本發明的化合物之前、同時和/或之後，對該個體施用。此類改善或恢復心臟功能的藥劑的實施例包括，但不限於：血管收縮素轉化酶抑制劑、血管緊縮素 II 受體拮抗劑、利尿劑、毛地黃糖苷、 β -受體阻斷劑、直接作用的血管擴張劑以及其他類似物。在某些實施方式中，本發明的上述藥劑或藥學組合物更包含一種已知藥物，可用來改善神經損傷，可在對個體投予本發明的化合物之前、同時和/或之後施用。此類藥劑的實施例包括，但不限於：活性氧清除劑、抗凝固劑及其他類似物。

下文的實施方式說明了本發明之一或多種實施方式的細節。可由實施方式與申請專利範圍而瞭解本發明的其他特徵與優點。

【實施方式】

本發明至少部分是基於不可預期地發現具有以下結構之式 (I) 化合物，能有效的恢復受試個體心臟組織的血液循環或提供神經保護活性，



其中 B 可以是 R、C(O)R、CH₂R、SO₂R、SO₃R 或 SO₂NRR'；C 可以是 R、C(O)R、CH₂R、SO₂R 或 CH=CHC(O)NHOH；X_a、X_b、X_c 和 X_d 分別可以是 R、鹵素 (halogen)、硝基 (nitro)、亞硝基 (nitroso)、OR 或 CH=CHC(O)NHOH；以及 R 和 R' 分別可以是氫、烷基 (alkyl)、烯基 (alkenyl)、炔基 (alkynyl)、芳香基 (aryl) 或雜芳基 (heteroaryl)。於一實施例中，C、X_a、X_c 和 X_d 分別可以是氫；B 可以是 SO₂R；且 X_b 可以是 CH=CHC(O)NHOH。因此，式 (I) 化合物具有成為治療心衰竭或神經損傷藥劑之先導化合物的潛力。

心臟衰竭係由心肌纖維化、高血壓、心肌梗塞、心肌缺血、擴大性心肌病變、肥厚性心肌病變、限制性心肌病變、壓力性心肌病變、糖尿病性心肌病變或特發性心肌病變所引起的。此外，式 (I) 化合物能有效的提供個體的神經保護能力；因此，這些活性化合物具有成為治療神經損傷 (例如，挫傷性腦部外傷 (traumatic brain injury, TBI) 或缺

血性腦梗塞)藥劑之先導化合物的潛力。

有鑑於此，本發明提供一種治療神經損傷(例如，挫傷性腦部外傷(TBI)或缺血性腦梗塞)的方法，此方法包含對一個體投予治療有效量的式(I)化合物。

TBI 往往造成極高的傷亡數目以及產生永久性傷害。發生 TBI 的原因包括，但不限於，摔傷、車禍和暴力。TBI 是指因頭部碰擊、打擊、撞擊或穿透頭部而受傷，致擾亂正常腦部功能。但並非所有的打擊或撞擊皆會導致 TBI 發生。此外，TBI 會影響一個體的生理、認知、情緒和行為，其所造成的結果或嚴重程度包括完全康復、永久性傷害或死亡。再者，神經行為缺陷，特別是認知功能受損，往往是伴隨 TBI 而來之最常見的功能損害。因此，能有效的改善神經行為缺損的化合物，具有可作為 TBI 治療藥劑或組合物之潛力。

缺血性腦梗塞(ischemic stroke)肇因於供應至腦部的血液量減少，因而導致該區域的腦部組織功能喪失。主要由四種原因引起，例如，血栓(局部性形成血塊造成血管阻塞)；栓塞(由身體其他部分產生的栓塊而造成阻塞)；系統性血液灌流不足(一般的血液供應減少(例如，休克))，以及靜脈栓塞。

腦部缺血會誘發環化單磷酸腺苷酸反應元件結合蛋白(cAMP response element-binding protein, CREB)大量被磷酸化，以及神經元中由 CREB-調控基因所編碼產生之神經保護性分子被大量表現(Kitagawa K., FEBS J. 2007

274(13):3210-7)。因此，本發明化合物能有效的活化 CREB 磷酸化，成為有效的先導藥物以減緩缺血性腦梗塞。

本揭示內容亦提供一種治療心臟衰竭的方法，此方法包含對一個體投予一治療有效量的式 (I) 化合物。該心臟衰竭係由心肌纖維化、高血壓、心肌梗塞、心肌缺血、擴大性心肌病變、肥厚性心肌病變、限制性心肌病變、壓力性心肌病變、糖尿病性心肌病變或特發性心肌病變所引起的。心臟衰竭是一通用名詞，其可能發展成為多種複雜的狀況，影響心臟正常功能（例如，泵血功能）；導致心臟衰竭的原因如下所示：

(I) 心臟纖維化：心臟纖維化係由於心臟纖維母細胞不適當的增生導致心臟瓣膜異常增厚。此增厚將伴隨心臟纖維母細胞喪失彈性，最終導致心臟衰竭。

(II) 高血壓：高血壓是一種慢性心血管疾病，使全身動脈血壓上升。因動脈血管壓力增加，使得患有高血壓之個體的心臟難以輸出血液，隨著日月累積，導致心臟衰竭。

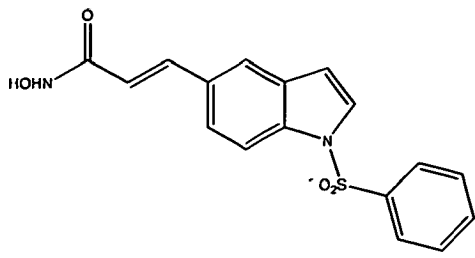
(III) 心肌梗塞：心肌梗塞 (myocardial infarction, MI) 或急性心肌梗塞 (acute myocardial infarction, AMI)，俗稱心臟病發作 (heart-attack)，是冠狀動脈突然阻塞造成心肌壞死。嚴重的心肌梗塞將造成心臟衰竭。

(IV) 心肌缺血：心肌缺血或缺血性心臟病 (ischemic heart disease, IHD) 是一種因心臟肌肉血液供應量減少所造成的疾病，通常發生於冠狀動脈狹窄的患者身上。

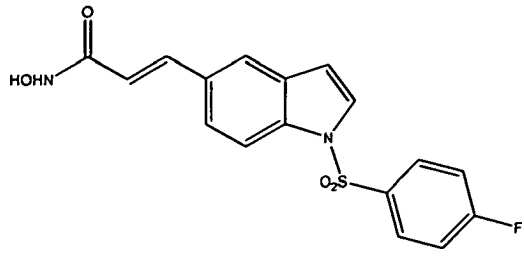
(V) 心肌病 (Cardiomyopathy)：心肌病是一種心臟肌肉

(myocardium)疾病，通常與心臟泵血不良有關。可以依據不同病因來將心肌病加以分類。心肌病包含，但不限於，擴大性心肌病變、肥厚性心肌病變、限制性心肌病變、壓力性心肌病變、糖尿病性心肌病變或特發性心肌病變。在擴大型心肌病變中，具有部分的心肌被擴張；因此，心臟變得虛弱且被擴大，而導致心臟無法有效的泵血。肥厚性心肌病變，包含心室的心臟肌肉增厚且擴大，導致心室的尺寸縮小。病理性的肥大，會導致心臟衰竭，而非病理性的(例如，心因性的肥厚)，則不會導致心臟衰竭。限制性心肌病為心肌病的一種，其臟壁不具彈性，使心臟的伸展，以及血液的填充受到限制。隨著時間演進，限制性心肌病變的患者心臟舒張功能將產生障礙，最終導致心臟衰竭。壓力性心肌病變或壓力誘導的心臟病變，是一種非缺血性心肌病，此類型的心肌病會產生一突然暫時性的心肌虛弱，此為常見導致急性心臟衰竭的原因。糖尿病心肌病為一種糖尿病患者所具有的心臟肌肉疾病，可導致心臟功能喪失，無法有效地將血液經循環系統輸送至身體各處，則此狀況為心臟衰竭。此外，其他心肌病皆可能導致心臟衰竭的發生。

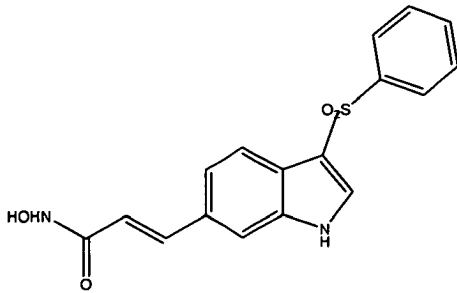
本發明化合物包括但不限於以下化合物 1-10:



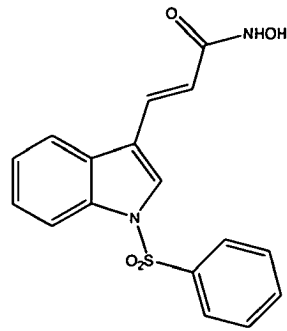
compound 1



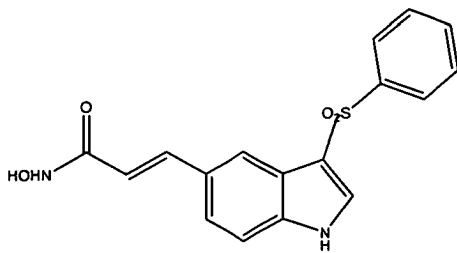
compound 2



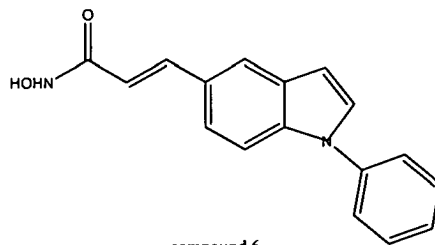
compound 3



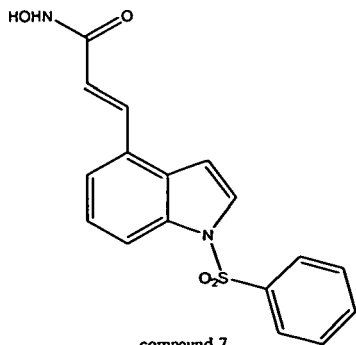
compound 4



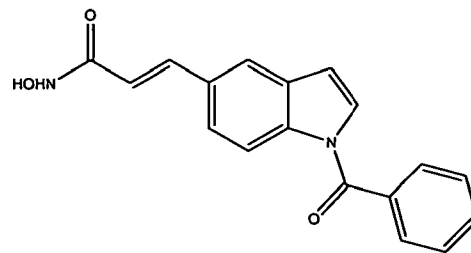
compound 5



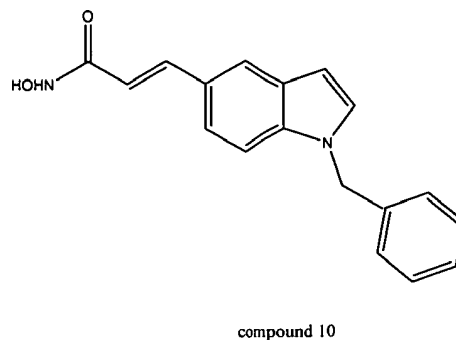
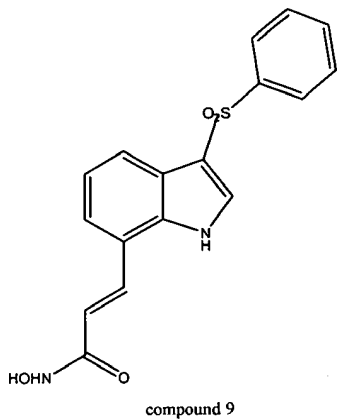
compound 6



compound 7



compound 8



本發明化合物，特別是式 (I) 化合物，可以依據美國專利申請案第 13/074,312 號 (Chen et al on March 29, 2011) 所述方法合成，此先申請案之內容，已納入為本案參考文獻。舉例而言，本發明之化合物 3-(1-苯磺醯-1H-吲哚-5-基)-N-羥基-丙烯醯胺可以依據陳發明人等人所揭示之流程 2 (Scheme 2) 的方法進行合成。

治療心臟衰竭或神經損傷的方法包含以下步驟，包含對該個體投予一治療有效量的式 (I) 化合物 (如上述)。在一較佳實施方式中，該化合物是 3-(1-苯磺醯-1H-吲哚-5-基)-N-羥基-丙烯醯胺。

該個體可以是哺乳類動物，包含但不限於，小鼠、大鼠、兔子、山羊、綿羊、馬、牛、豬、狗、貓、猴子、黑猩猩和人類。較佳是，該個體為人。

該心臟衰竭可以由以下任一心肌纖維化、高血壓、心肌梗塞、心肌缺血、擴大性心肌病變、肥厚性心肌病變、限制性心肌病變、壓力性心肌病變、糖尿病性心肌病變或特發性心肌病變所引起的。

在某些實施方式中，可利用注射（如靜脈注射或肌肉注射）將式（I）化合物投予個體，劑量為約 1 至 100 mg/Kg 間。經由靜脈注射投予個體的劑量為約 10、20、30、40、50、60、70、80、90 或 100 mg/Kg，較佳為約 30 至 70 mg/Kg 間，如 30、40、50、60 或 70 mg/Kg。在給藥時，可採用單一劑量或分成多劑量來給足所需劑量。

在某些實施方式中，所提出的方法更包含在對個體投予本發明化合物之前、同時和/或之後，對該個體投予一種已知可改善心臟功能或神經損傷症狀的藥劑。此類改善或恢復心臟功能的藥劑的實施例包括，但不限於：血管收縮素轉化酶抑制劑、血管緊縮素 II 受體拮抗劑、利尿劑、毛地黃糖苷、 β -受體阻斷劑、直接作用的血管擴張劑(direct acting vasodilators)以及本領域已知的其他類似藥物。ACE 抑制劑的實施例包含，但不限於，卡托普利(captopril)、依那普利(enalapril)、利欣諾普(lisinopril)、雷米普利(ramipril)以及其他類似藥物。血管緊縮素 II 受體拮抗劑的實施例包含，但不限於，巹沙坦(valsartan)、替米沙坦(telmisarta)、洛沙東(losartan)、艾比沙坦(irbesartan)、阿齊沙坦(azilsartan)、奧美沙坦(olmesartan)和其他類似藥物。利尿劑的實施例包含，但不限於，弗洛西邁(furosemide)、布米他奈(bumetanide)、托拉塞米(torseamide)、氫氣苯噻(hydrochlorothiazide)、美托拉脞(metolazone)、螺環固醇內酮(spironolactone)和其他類似藥物。毛地黃糖苷的實施例包含，但不限於，毛地黃毒素(digitoxin)、毛地黃(digoxin)、

拉諾辛(lanoxin)和其他類似藥物。 β -受體阻斷劑的實施例包含，但不限於，醋丁洛爾(acebutolol)、比索洛爾(bisoprolol)、博立克(esmolol)、普潘奈(propranolol)、阿替洛爾(atenolol)、拉貝洛爾(labetalol)、卡利索普若多錠(carvedilol)、美多心安(metoprolol)、奈必洛爾(nebivolol)、布新洛爾(bucindolol)和其他類似藥物。直接作用的血管擴張劑的實施例包含，但不限於，肼酞嗪(hydralazine)、二硝酸異山梨醇(isosorbide dinitrate)和其他類似藥物。可以改善神經受損症狀的藥物，包含，但不限於，(reactive oxygen scavenger, ROS)、抗凝固劑和其他類似藥物。活性氧清除劑的實施例，包含但不限於，催化酶(catalase)、超氧歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、N-第三丁基- α -苯基硝酸靈(alpha-phenyl-N-tert-butyl nitron, PBN)、維生素 E (vitamine E)、維生素 C (vitamine C)、多酚性化合物(polyphenolic compounds)、類胡蘿蔔素(carotenoids)和其他類似藥物。抗凝固劑的實施例包含，但不限於，維生素 K (vitamine K)、華法林(warfarin)、醋硝香豆醇(acenocoumarol)、肝素(heparin)、阿斯匹靈(aspirin)、氯吡格雷(clopidogrel)、二吡待摩(dipyridamole)和其他類似藥物。

本揭示內容提供一種可用來治療患有心臟衰竭或神經損傷的個體之藥學組合物；上述藥學組合物包含一種治療有效量的上述式(I)化合物；以及一藥學上可接受的賦型劑。在一實施方式中，此藥學組合物也可作為用來治療患

有心臟衰竭或神經損傷之非人類哺乳動物的獸醫用藥。

一般來說，本發明式 (I) 化合物的含量佔整體藥學組合物重量的約 0.1% 至 99% (重量%)。在某些實施方式中，本發明式 (I) 化合物的含量佔整體藥學組合物重量的至少 1% (重量%)。在一些實施方式中，本發明式 (I) 化合物的含量佔整體藥學組合物重量的至少 5% (重量%)。在另一些實施方式中，本發明式 (I) 化合物的含量佔整體藥學組合物重量的至少 10% (重量%)。在又另一些實施方式中，本發明式 (I) 化合物的含量佔整體藥學組合物重量的至少 25% (重量%)。

在某些實施方式，本發明所述之藥物組合物更包含一種已知可用於改善心臟或神經損傷症狀之藥劑。此類可改善或恢復心臟功能藥劑的實施例包括，但不限於：此類改善或恢復心臟功能的藥劑的實施例包括，但不限於：血管收縮素轉化酶抑制劑、血管緊縮素 II 受體拮抗劑、利尿劑、毛地黃糖苷、 β -受體阻斷劑、直接作用的血管擴張劑以及本領域已知的其他類似藥物。血管收縮素轉化酶抑制劑抑制劑的實施例包含，但不限於，卡托普利 (captopril)、依那普利 (enalapril)、利欣諾普 (lisinopril)、雷米普利 (ramipril) 以及其他類似藥物。血管緊縮素 II 受體拮抗劑的實施例包含，但不限於，缬沙坦 (valsartan)、替米沙坦 (telmisarta)、洛沙東 (losartan)、艾比沙坦 (irbesartan)、阿齊沙坦 (azilsartan)、奧美沙坦 (olmesartan) 和其他類似藥物。利尿劑的實施例包含，但不限於，弗洛西邁 (furosemide)、布米

他奈 (bumetanide)、托拉塞米 (torsemide)、氫氣苯噻 (hydrochlorothiazide)、美托拉脞 (metolazone)、螺環固醇內酮 (spironolactone) 和其他類似藥物。毛地黃糖苷的實施例包含，但不限於，毛地黃毒素 (digitoxin)、毛地黃 (digoxin)、拉諾辛 (lanoxin) 和其他類似藥物。 β -受體阻斷劑的實施例包含，但不限於，醋丁洛爾 (acebutolol)、比索洛爾 (bisoprolol)、博立克 (esmolol)、普潘奈 (propranolol)、阿替洛爾 (atenolol)、拉貝洛爾 (labetalol)、卡利索普若多錠 (carvedilol)、美多心安 (metoprolol)、奈必洛爾 (nebivolol)、布新洛爾 (bucindolol) 和其他類似藥物。直接作用的血管擴張劑的實施例包含，但不限於，肼酞嗪 (hydralazine)、二硝酸異山梨醇 (isosorbide dinitrate) 和其他類似藥物。可以改善神經受損症狀的藥物，包含，但不限於，活性氧清除劑 (reactive oxygen scavenger, ROS)、抗凝固劑、和其他類似藥物。活性氧清除劑的實施例，包含，但不限於，催化酶 (catalase)、超氧歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、N-第三-丁基- α -苯基硝酸靈 (alpha-phenyl-N-tert-butyl nitron, PBN)、維生素 E (vitamine E)、維生素 C (vitamine C)、多酚性化合物 (polyphenolic compounds)、類胡蘿蔔素 (carotenoids) 和其他類似藥物。抗凝固劑的實施例包含，但不限於，維生素 K (vitamine K)、華法林 (warfarin)、醋硝香豆醇 (acenocoumarol)、肝素 (heparin)、阿斯匹靈 (aspirin)、氯吡格雷 (clopidogrel)、二吡待摩 (dipyridamole) 和其他類似藥物。

可根據眾所接受的藥學製程來製備上述藥劑或上述藥學組合物，如 Remington's Pharmaceutical Sciences (17th edition, ed. Alfonso R. Gennaro, Mack Publishing Company, Easton, Pa (1985)) 中所述的製程。藥學上可接受的賦型劑係指可和製劑中其他成分相容且與生物體相容者。

本發明化合物（如，上述式 (I) 化合物）可經由口服 (orally)、腸胃外 (parenterally)、穿皮膜 (transdermally)、直腸 (rectally) 或吸入 (inhalation) 等方法給藥，給藥時可單獨給藥或併同傳統藥學上可接受之賦型劑一起給藥。在較佳實施方式中，可經由腸胃外給藥的方式將本發明化合物投予該個體。

可將本發明化合物配方成液態藥學組合物，例如成為一種無菌溶液或懸浮液，並可利用諸如靜脈注射、肌內 (intramuscular) 注射、皮下 (subcutaneous) 注射、腹腔內 (intraperitoneal) 注射方式來施用。

可用來製造無菌注射溶液或懸浮液之適當的稀釋液或溶劑包含，但不限於，1,3-丁二醇 (1,3-butanediol)、木蜜醇 (mannitol)、水 (water)、林格溶液 (Ringer's solution) 以及等滲壓氯化鈉溶液 (isotonic sodium chloride solution)。脂肪酸，例如油酸 (oleic acid) 與其甘油化物衍生物 (glyceride derivatives) 皆可用來製備注射液，如天然的、藥學上可接受的油，例如橄欖油 (olive oil) 或蓖麻油 (castor oil)。這些油溶液或懸浮液可以包含醇類稀釋液或羧甲基纖維素

(carboxymethyl cellulose)或其他類似的分散劑。其它常用的表面活性劑，如 Tweens 或 Spans 或其它相似的乳化劑或常見用以製造藥學上可接受劑型之可提高生物可利用性的藥劑(bioavailability enhancers)，皆可被用來調製配方。口服給藥可以採用固態或液態的劑型。口服給藥的固體劑型包含囊劑、錠劑、粒狀、粉狀、顆粒狀、膠狀和糊狀。在此固態劑型，可將活性成分與至少一常用的惰性稀釋溶液混合，例如纖維素(cellulose)、矽膠(silica)、蔗糖(sugars)、乳糖(lactose)、澱粉(starch)或改良澱粉(modified starch)。此劑型(例如，顆粒狀)可以包含其他惰性稀釋液以外的物質(例如，潤滑劑(硬脂酸鎂(magnesium stearate)))或一般的緩衝溶劑。此外，錠劑和粒劑還可以額外的包覆一般的腸衣。

依據本揭示內容某些實施方式，固態製劑可以製備成大丸藥(bolus)，供獸醫醫藥使用。於獸醫醫藥領域，大丸藥通常是指較大的粒劑(>5克)，或一固態之即可吞(ready-to-swallow)藥物製劑，可以口服方式給藥。在一較佳的實施方式，大丸藥包含治療有效量的一種上述式(I)化合物；以及一種藥學上可接受的鹽類。因此，大丸藥包含式(I)化合物的含量為至少100mg，較佳為至少1,000mg，更佳為至少1,500mg。從實用的觀點而言，作為獸醫醫藥用途的藥學組合物可以含有，例如，式(I)化合物，

其含量介於 1,000 至 5,000mg 間。

可將本發明上述藥劑或藥學組合物配製成多種可供局部表面給藥 (topical application) 的劑型。此時可使用多種相關領域所熟知之皮膚學上可接受的惰性賦型劑。上述局部表面給藥的組合物的形式包括液體 (liquids)、乳霜 (creams)、乳液 (lotions)、乳膏 (ointments)、凝膠 (gels)、噴劑 (sprays)、氣霧劑 (aerosols)、皮膚貼片 (skin patches) 及與上述類似者。常用的惰性賦型劑如水、乙醇 (ethyl alcohol)、聚乙烯吡咯烷酮 (polyvinyl pyrrolidone)、丙二醇 (propylene glycol)、礦物油 (mineral oil)、硬脂醇 (stearyl alcohol) 及其他可形成膠狀物的材料。所有上述劑型與賦型劑皆為藥學領域所熟知。對於此處所述的組合物之效果而言，劑型的選擇並非關鍵。

亦可將本發明上述藥劑或藥學組合物製成多種適用於黏膜給藥 (mucosal application) 的劑型，如經頰 (buccal) 和/或舌下 (sublingual) 藥物劑型單元，以遞送藥物穿過口腔黏膜。可使用多種生物可降解且藥學可接受的高分子賦型劑，此種賦型劑可使得藥學組合物具有可接受的吸附效果以及所欲的藥物釋放模式，且可和經頰和/或舌下藥物劑型單元中所含的欲施用活性成分或其他成分相容。一般來說，上述的高分子賦型劑包含親水性聚合物，其可黏附至口腔黏膜的濕潤表面。高分子賦型劑的實施例包括但不限於丙烯酸聚合物與共聚物 (acrylic acid polymers and copolymers)；水解聚乙烯醇 (hydrolyzed

polyvinylalcohol); 聚乙烯氧化物 (polyethylene oxides); 聚丙烯酸酯 (polyacrylates); 乙烯聚合物與共聚物 (vinyl polymers and copolymers); 聚乙烯吡咯啉; 葡萄糖 (dextran); 瓜膠 (guar gum); 果膠 (pectins); 澱粉; 及纖維素聚合物 (cellulosic polymers)。

本揭示內容提供數種治療患有心臟衰竭或神經外傷之哺乳類的方法，所述哺乳類，較佳為人。此方法包含投予其中包含如上述化學式所示化合物之本發明藥劑或藥學組合物。本發明化合物或藥學組合物可施用於哺乳類，較佳為人類身上。可利用任何可將一或多活性成分有運送至適當或所欲作用位置的途徑，將此類藥劑或組合物施用于一哺乳類動物（較佳為人類），上述途徑如口腔給藥、鼻腔給藥、肺部 (pulmonary) 給藥、穿皮膜給藥（如被動或離子電滲透 (iontophoretic) 給藥）或腸胃外給藥（如直腸注射、栓劑 (depot)、皮下注射、靜脈注射、肌肉內注射、鼻腔內 (intranasal) 注射、小腦內注射，或使用眼藥水 (ophthalmic solution) 或乳膏）。更有甚者，可於施用本發明之化合物的同時施用其他活性成分。

當可理解，本發明化合物的治療有效量會因患者而有所不同，這不僅是因為所選擇的特定化合物或藥學組合物、給藥途徑以及所選化合物（單獨使用或和一或更多種藥物併同使用）在患者體內引發所欲反應的能力，同時也還可能受到其他因素的影響，這些因素包括所欲減輕之疾病的狀態或情況的嚴重性、患者的年齡、性別、體重、欲

治療患者的當前狀態與病理狀況的嚴重程度、患者同時進行的醫療行為或之後所採行的特殊飲食，以及習知技藝人士可想見的其他因素，因此適當的劑量最終仍須由負責照料的醫事人員來判定。可調整給藥的劑量與模式，以提供更佳的療效。此外，治療有效量亦指該化合物或組合物的任何毒性或負面效果不會超出該化合物的正面有利效果。在較佳的情形中，可在一段適當的時間內施用適量的本發明上述化合物或組合物，以減低患者出現的症狀次數和/或嚴重性。

以下為本說明書中所用特定名詞的說明：

在此處單數型式「一」以及「該」等涵蓋複數名詞，除非本說明書另有規定者外。

在此處所述的「烷基」(alkyl)，係指含有1-20個碳原子的直鏈或支鏈狀的單價碳氫化合物(例如，C1-C10)。烷基的實施例包含，但不限於，甲基、乙基、正-丙基(n-propyl)、異丙基(i-propyl)、正-丁基(n-butyl)、異丁基(i-butyl)和第三丁基(tert-butyl)。

在此處所述的「烯基」(alkenyl)，係指含有2-20個碳原子的直鏈或支鏈狀的單價碳氫化合物(例如，C2-C10)，且具有一個或多個雙鍵。烯基的實施例包含，但不限於，乙烯(ethenyl)、丙烯基(propenyl)、烯丙基(allyl)、1,4-丁二烯基(1,4-butadienyl)。

在此處所述的「炔基」(alkynyl)，係指是指含有2-20個碳原子的直鏈或支鏈狀的單價碳氫化合物(例如，C₂-C₁₀)且具有一或大於三個鍵結。炔基的實施例包含，但不限於，乙炔基、1-丙炔基(1-propynyl)、1-丁炔基及2-丁炔基(1- and 2-butynyl)和1-甲基-2-丁炔基(1-methyl-2-butynyl)。

在此處所述的「烷氧基」(alkoxyl)，係指O-烷自由基(O-alkyl radical)。烷氧基的實施例包含，但不限於，甲氧基(methoxy)、乙氧基(ethoxy)、正-丙氧基(n-propoxy)、異丙氧基(isopropoxy)、正-丁氧基(n-butoxy)、異-丁氧基(iso-butoxy)、第二-丁氧基(sec-butoxy)以及第三-丁氧基(tert-butoxy)。

在此處所述的「芳香基」(aryl)，係指一單價的6-碳單環、10-碳單環、14-碳三環芳香環系統。芳香基的實施例包含，但不限於，苯基(phenyl)、萘基(naphthyl)、蒽基(anthracenyl)。

在此處所述的「雜芳基」(heteroaryl)，係指價5-8員單環、8-12員雙環或11-14員三環系統的芳香族，且具有一或多個雜原子(如，O、N、S或Se)。雜芳基的實施例包含，但不限於，吡啶基(pyridyl)、呋喃基(furyl)、咪唑基(imidazolyl)、苯并咪唑基(benzimidazolyl)、嘧啶基(pyrimidinyl)、噻吩基(thienyl)、喹啉基(quinolinyl)、吲哚基(indolyl)、四唑基(tetrazol)以及噻唑基(thiazolyl)。

以上所述的烷基、烯基、炔基、芳香基、雜芳基具有可取代與不可取代的部分。芳香基和雜芳基可能的取代物包含，但不限於C1-C10烷基、C2-C10烯基和 C2-C10炔基。

在此處「治療」(treatment) 做名詞用，包括所施用之預防性質（如預防性 (prophylactic)、治療性質或緩解性質 (palliative) 的處置。

此處所述的「治療有效量」(therapeutically effective amount) 一詞係指在所用藥劑中，活性成分的含量使其能夠在必需的時期內有效地達到恢復欲求的心臟功能或是改善神經損傷。

此處所述的「藥學上可接受」(pharmaceutically acceptable) 一詞係指一般認為「通常認為具安全性 (generally regarded as safe)」(亦即，生理上可耐受的) 的分子和/或組合物，當施用於人類時，通常不會產生過敏或類似的不良反應(例如，腸胃不適、頭暈、以及類似的症狀)。較佳為，如此處所述的「藥學上可接受」(pharmaceutically acceptable) 一詞，係指經過聯邦或州政府的專責機構所核准的，或是依據美國藥典所記載的，或其他一般公認藥典所載可適用於動物，特別是人類。

本說明書中「化合物」(compounds)、「組合物」(compositions)、「活性化合物」(active compounds)、「藥物」(agent) 或「藥劑」(medicament) 等詞彙可互換使用，且均係指稱一種於投予一個體（人類或動物）可透過局部

或全身性的作用，而誘發所欲的藥學和/或生理反應。

在此處，「投予」、「給藥」、「施用」等被動或主動式動詞與名詞（包含“administered”、“administering”或“administration”）可互換使用，且係指稱將本發明之化合物或藥學組合物直接投予一個體，或將可於個體體內形成與上述活性化合物相當數量的前驅藥、衍生物或類似物投予一個體。

「個體」(subject)或「患者」(patient)等詞係指可利用本發明提出之組合物和/或方法來治療、處置的動物，包含人類。除非特別指明，「個體」或「患者」涵蓋雄性與雌性動物。因此，「個體」或「患者」包含任何可經由對伴有感覺運動門控缺損的神經精神異常的治療而獲益者。

在此處「改善心臟功能」(improve cardiac function)一詞係指於一期間內對一個體施用一組合物或方法，能有效改善心臟功能，相較於沒有施用該組合物或該方法的個體而言。此外，「改善」(improve)一詞係指減緩心臟衰竭的徵狀。

「恢復」(restore)一詞係指長時間(例如，周或月測量)改善個體的心臟功能，相較於未施用藥物組合物或該方法的個體。

下文參照多個實驗例來說明本發明，這些實驗例旨在說明本發明而非提出進一步的限制。

實施例

實施例 1 化合物 1 可降低患有心臟衰竭個體心臟纖維化

為了證實本發明化合物能夠改善心臟功能，將異丙基腎上腺素 (isoproterenol) 注入實驗動物體內，以誘發產生心臟衰竭。接著，以試驗化合物 (例如，化合物 1) 或載體來治療該實驗動物。以心臟超音波觀察試驗化合物，對於心臟功能的影響。

1.1 心臟衰竭動物模式之製備

本試驗採用威士塔 (Wistar) 雄性成鼠 (每隻重量約 240-270 公克，購自 BioLASCO Taiwan Co., Ltd)。

首先，將異丙基腎上腺素以單次皮下注射入大鼠體內 (100 mg/Kg)，以誘發大鼠產生心臟衰竭。心臟衰竭鼠則進一步隨機分組為 HF+載體或 HF+化合物 1。

以上的實驗動物飼養於動物室中，飼育環境有溫度與濕度控制，光：暗循環期間分別為 12 小時：12 小時。動物可自由食用實驗室的標準鼠飼料和自來水。所有動物實驗均遵照台北醫學大學院動物實驗管理小組 (Institutional Animal Care and Utilization Committee) 規定的準則。

1.2 製備欲施用之藥劑

將化合物 1 (例如，MPT0E014) 溶解於 0.4% 甲基纖維素 (methylcellulose) 中，濃度為 100 mg/ml。

於施用異丙基腎上腺素一周之後，將心臟衰竭的大鼠 (HF 大鼠)，隨機分成二組，分別施用化合物 1 (100 mg/kg) 或載體 (0.4% 甲基纖維素)，以經口灌胃的方式，每日一

次，持續施用 7 日。接著，將戊基巴比妥鈉 (sodium pentobarbital) (100 mg/kg, Sigma) 以腹腔內注射 (i.p.) 方式注入大鼠體內以麻醉大鼠，再行中線胸廓切開術以摘除大鼠心臟，秤重並解剖，作進一步分析。

1.3 心臟超音波

於實驗動物執行安樂死之前，係利用 HP Sonos 5500 系統與 15-6L 探頭 (6 to 15 MHz, SONOS 5500, Agilent Technologies, Palo Alto, California) 或 Vivid I 超音波心血管系統 (GE Healthcare, Haifa, Israel)，執行心臟超音波照射。以 M-模式測量左心室舒張末期直徑 (LV end-diastolic diameter, LVEDD)、左心室收縮末期直徑 (LV end-systolic diameter, LVESD)、以及壁厚度。左心室心肌短縮分率 (LV fractional shortening percentage) 之計算方式為 $([LVEDD - LVESD] / LVEDD) \times 100$ 。左心室射出分率以 Techholz's 公式計算。

試驗結果如表 I 所示。以 mean±S.E.M 表示定量數值，且以非成對的 T-測試法來比較不同組之間的差異。數值以 mean±S.E.M 表示，*P<0.05 比較同一組治療前後的結果；#P<0.05 比較使用載體和化合物 1 組治療的結果。

表 I HF 大鼠有 / 或 無 施用 化合物 1 的 心臟 超音波 結果

治療 \ 組別	HF+載體 HF + vehicle (n=7)	HF+化合物 1 HF + compound 1 (n=7)
治療前		
心室中膈厚度內徑 IVSd (mm)	1.4±0.1	1.4±0.1
左心室舒張末期直徑 LVEDd (mm)	5.4±0.5	5.4±0.4
左心室收縮末期直徑 LVESd (mm)	3.5±0.4	3.4±0.3
射出分率 (Ejection fraction) (%)	69±4	68±2
短縮分率 (Fraction shortening) (%)	37±4	38±3
治療後		
心室中膈厚度內徑 IVSd (mm)	1.4±0.1	1.3±0.1
左心室舒張末期直徑 LVEDd (mm)	5.6±0.3	4.6±0.2*#
左心室收縮末期直徑 LVESd (mm)	3.9±0.3	2.4±0.2*#
射出分率 (Ejection fraction) (%)	59±3	81±3*#
短縮分率	30±3	47±3*#

(Fraction shortening) (%)		
---------------------------	--	--

於心血管生理學的定義，射出分率為每一心博血液從右與左心室泵出的分率。心臟肌肉損傷，例如持續性的心肌梗塞或心肌病變，造成心臟射出血液的功能受損，造成射出分率降低。因此，射出分率降低，常見於心臟衰竭的個體。然而，結果顯示，相較於施用載體的大鼠 (EF = 59%)，施用化合物 1 (100 mg/Kg) 的 HF 大鼠的心臟分率 (EF = 81%)，具有顯著上升。肼酞嗪 (hydralazine) 為一種臨床上用於治療心臟衰竭的藥物，亦應用於本實驗的動物模式。大鼠以皮下注射異丙基腎上腺素 (150 mg/kg) 以誘發心臟衰竭，一周後，再以肼酞嗪 (10 mg/kg) 腹腔注入大鼠體內，每日一次，持續施用 7 日。結果顯示出肼酞嗪可以增加射出分率，從原本的 $59 \pm 4\%$ 增加至 $76 \pm 10\%$ (數據未揭示於此)。

以上結果顯示，本發明化合物 1 能有效的改善心臟功能。

1.4 組織型態學分析

第 1 圖，分別繪示出控制組、施用化合物或載體組，各組 HF 大鼠的心臟型態。上排的照片為心臟的前視圖。如照片所示，其中心臟組織呈白色的部分，為產生心肌纖維化的現象。相較於施用化合物 1 的 HF 大鼠與控制組大鼠，施用載體的大鼠，具有嚴重的心臟纖維化現象。下排的照

片，為由室間隔切開所分離的心室。由此可見，施用載體的大鼠(HF+載體)，其左心室的心臟組織具有顯著的白色變化，然而，此現象於控制組大鼠和施用化合物的大鼠(HF+化合物 1)中並不存在。

將有或無施以化合物 1 進行治療的大鼠左心室心尖部組織，以福馬林固定以及石蠟包埋。再以梅生三色染色(Masson trichrome)，觀察膠原蛋白沉積的現象。第 2 圖繪示經載體或化合物 1 處理的大鼠，其膠原蛋白沉積的現象，其中呈現藍色為心肌纖維化的部分。組織型態學檢查顯示出，相較於施用載體的 HF 大鼠，施用化合物 1 的 HF 大鼠其產生心臟纖維化的現象較低。

有鑑於此，在心臟衰竭動物模式當中，本發明之化合物 1 能顯著地改善心臟功能。特別是，本發明之化合物 1 能有效增加心臟的射出分率，以及減少心臟纖維化的發生。以上數據能證明化合物 1 能有效的改善或恢復心臟衰竭個體的心臟功能。

實施例 2 化合物 1 可降低心房利鈉肽的表現量

於此實施例中，透過心房利鈉肽(atrial natriuretic peptide, ANP)之表現量，來探查並評估本發明化合物的效果。

施用藥劑的製備與施用方式如前述。以 TRIzol 試劑從組織中萃取總 RNA。依據使用手冊 (Invitrogen, Carlsbad, USA)，並以 superscript III cDNA 合成套組 (Invitrogen) 及隨機引子 (random primers) (Invitrogen, Carlsbad, USA) 進行反轉錄。利用 SYBER Green-based qPCR 及 ABI PRISM7300 系統 (Applied Biosystems, Foster City, USA) 來測定 GAPDH 與 ANP 的 RNA 表現量。所有基因的生成閾值 (Threshold cycle (Ct))，均藉由 $2^{(-\Delta\Delta Ct)}$ 法，以其相對 GAPDH RNA 的 Ct 值進行標準化。結果如第 3 圖所示。

ANP 是一多肽荷爾蒙，係由位於心房的肌肉細胞 (即，心臟肌肉細胞) 為了回應高血壓而釋放出來的多肽賀爾蒙。因此，ANP 能作為一種心臟衰竭的臨床與功能參數。

結果第 3 圖所示，顯示出相較於施用載體的大鼠，心臟衰竭的大鼠，以口服方式施用化合物 1 (100 mg/kg)，持續 7 日，能有效減少心臟 ANP mRNA 的表現量。有鑑於此，本發明化合物 1 能顯著的改善心臟衰竭動物模式的心臟功能。

實施例 3 化合物 1 可提供腦損傷個體神經保護活性

為了證實本發明化合物對神經具有保護效果，先以人工方式誘導實驗動物產生 TBI，再以試驗化合物 (例如，化合物 1 或丙戊酸 (valproic acid)) 或載體處理，接著以 TTC 染

色、以及行為試驗(即，受訓練之前肢抓取動作(skilled forelimb reaching task))來測定各組試驗化合物對腦部挫傷區域與行為功能的影響。

3.1 建立創傷性腦損傷(TBI)動物模式

本實驗採用 Sprague-Dawley 雄性成鼠(每隻重量約 250-300 公克，購自 BioLASCO Taiwan Co., Ltd)。以隨機方式將實驗動物分成 3 組：(i) TBI + 試驗化合物(例如，化合物 1 或丙戊酸(VPA))，(ii) TBI+VEH(例如，施用載體)，以及(iii) 假控制組(sham)。實驗動物飼養於動物房中，並控制飼育環境中的溫度與濕度，光：暗循環分別為 12 小時：12 小時。讓其可自由食用標準實驗室級的老鼠飼料和自來水。所有動物實驗均遵照台北醫學大學院動物實驗管理小組 (Institutional Animal Care and Utilization Committee) 規定的準則。

將氯胺酮(ketamine) (90 mg/kg 體重)與甲苯噻嗪(xylazine) (10 mg/kg 體重)以腹腔注射方式注入大鼠體內，進行手術麻醉。接著，將實驗動物固定在立體定位架(stereotaxic frame)上，同時提供機械式通風。透過一可調控的衝擊裝置 TBI-0200 TBI 模組系統(Precision Systems and Instrumentation)，在實驗動物暴露出來的皮質區域產生挫傷。將頭皮和帽狀腱膜拉開，以一鑽頭(其與中矢狀縫(mid-sagittal suture) (偏好肢體的對側)平行，並以下列座

標為中心：前窗門 AP = +1 mm、ML = ± 2.5 mm) 進行直徑 3 公厘的環形開顱手術。簡言之，延伸衝擊軸，且以衝擊尖端為中心，並往下延伸超過開顱區域直到碰觸到硬腦膜為止。接著，拉開桿子，再由衝擊尖端往下延伸使大鼠產生中度嚴重性的腦損傷。(衝擊尖端直徑 3 mm；皮質挫傷深度，2 mm；衝擊速度(impact velocity)，4 m/sec)。於執行每一衝擊後，以無菌酒精清潔衝擊尖端，且於術後以戊二醛(cidex)進行清潔/消毒。於手術期間，以加熱板維持中心溫度，介於 $37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 。於腦部損傷產生之後，立即以尼龍線縫合皮膚切口。

3.2 製備施用藥劑

以 5% 乙醇、35% 聚乙二醇和 60% 生理食鹽水溶解化合物 1 (最終濃度為 15 mg/ml)。將化合物 1 (30 mg/Kg)，丙戊酸 (30 mg/kg) 或載體 (即，5% 乙醇、35% 聚乙二醇和 60% 生理食鹽水)，以靜脈注射方式將所製備藥劑注入至實驗動物體內，其施用方式為於大鼠產生 TBI 後的第 0-7 天。

3.3 製備檢體

將實驗動物以水合氯醛 (chloral hydrate) (400 mg/kg) 進行深層麻醉，再以生理食鹽水和 4% 之三聚甲醛 (paraformaldehyde) 塗佈。接著，摘除實驗動物的腦部，進行橫跨腦的喙-尾部之活體組織切片 (每片厚度 2 mm)，以進行皮質組織損失的測定。藉由掃描器 (HP photosmart B110a, 600 dpi)，取得腦部切片的影像。

3.4 挫傷體積測量

考慮因切除和固定所可能導致的微量損耗下，可利用占總皮質體積多少部分來評估皮質損傷量。在此研究中，「挫傷率 (contrusion ratio)」定義為挫傷體積和同側大腦的相關性。為了讓每一切片呈現挫傷率，挫傷體積 (c_{area}) 和同側大腦 (b_{area}) 兩者的區域係以手工標示並以所包含的像素量表示。第4圖為一挫傷體積的圖示。簡言之，為了描述可進一步分析之整體挫傷體積，將挫傷體積的區域進行特定分析。每一切片的挫傷體積的厚度為2mm，定義為 $0.5 \times (Area_{front} + Area_{back}) \times 2$ ，因此，總挫傷體積可以公式 $0.5 \times (A_1 + A_2) \times 2 + 0.5 \times (A_2 + A_3) \times 2 + \dots + 0.5 \times (A_{N-1} + A_N) \times 2$ 表示。亦可改寫由以下公式所表示

$$\text{挫傷體積} = (2 \times \sum_{n=1}^N A_n) - (A_1 + A_N)$$

3.5 2,3,5-三苯四唑鎊氣(TTC)染色

TTC染色係藉由比較不同神經組織的存活力，來評估損害的大小。將摘除的大腦進行組織切片，每片厚度為2mm，以1%TTC溶液培養，置於37°C，30分鐘。存活的神經組織具有去氫酶酵素，會將TTC轉換成紅色甲臈(formazan)色素，使組織呈深紅色。而受損的組織，因缺發去氫酶酵素，無法與TTC反應，因此組織呈淡白色。

第5圖繪示出試驗化合物的效果，例如，化合物1或VPA，可減少因TBI所引起的挫傷區域。因此，如第5圖所示，相較於丙戊酸(其為一已知的組蛋白乙醯酶抑制劑 (histone

deacetylase (HDAC) inhibitor)，習知用來控制經學的發生)，本發明化合物1能有效的降低腦部組織受損的區域。

3.6 訓練/行為試驗

讓所有試驗動物進行前肢抓取試驗 (skilled forelimb reaching task) 的訓練以符合標準。經訓練合格後的實驗動物，先進行TBI手術，再將其分配至不同的組別 (如上所述)。每一隻動物於每周的第1天、第3天、以及第7天，執行前肢抓取試驗，共持續6周。於施用試驗化合物 (如，化合物1或VPA) 或載體的當天 (例如，第1天、第3天或第7天)，需先進行行為試驗，再進行藥物注射。前肢抓取試驗之執行方式，如先前所述之。簡而言之，實驗動物被安置在透明的樹脂玻璃箱 (30公分 x 36公分 x 30公分) 且需穿過一窗口 (1.5公分 x 3公分)，去取得小蔗糖錠片 (45毫克，Bilaney Consultants, Frenchtown, NJ)，該錠片置放於距離約1公分外的平台上。在訓練初期，實驗動物需進行肢體偏好測定，而該錠片的放置位置，會依據動物前肢偏好的使用習慣進行調整。此外，於手術進行前，需先建立基準，係為操作前最後三次試驗回合的平均值。為實驗動物第一次嘗試抓取錠片且將其置入口中 (例如，「第一次抓取成功」) 即定義為「成功」。每一試驗內容為依照實驗動物之偏好而設置之前肢抓取試驗，抓取機會為20次。若實驗動物企圖以非慣用的前肢進行抓取，則不納入後續分析計算中。手術前的標準為，於連續3天內，20次的抓取機會中，成功次數為16次。此外，時間限度為每一回合測試5分鐘。

3.7 結果

依據實施例3.2所述之步驟製備藥劑，接著將藥劑分別施用於實施例3.1所述之3組TBI實驗動物，再使該些實驗動物進行所述之前肢抓取試驗，結果如第6圖所示。再次證明，本發明化合物1與VPA，能顯著的改善因TBI所造成的行為功能喪失，且以上數據顯示，化合物1對於腦損傷的個體具有神經保護活性。

實施例 4 化合物 1 提供缺血性腦梗塞個體神經保護活性

於此實施例中，以缺血性腦梗塞動物模式證明本發明化合物的效用。與實施例3所述之步驟類似，以人工方式誘使實驗動物產生缺血性腦梗塞，接著施用試驗化合物（例如，化合物1或丙戊酸）或載體，再以TTC染色與西方墨點法測定試驗化合物對於梗塞區域的影響，以及環化單磷酸腺苷酸反應元件結合蛋白(cAMP response element-binding protein, CREB)的正調控現象。

4.1 建立中大腦動脈阻塞(Middle Cerebral Artery Occulsion, MCAO)動物模型 (或缺血性腦梗塞大鼠模式)

藉由結紮試驗大鼠的下大腦靜脈以刺激產生缺血性腦梗塞，來建立大腦中動脈阻塞(MCAO)動物模型。簡言之，製造一顛切口以找到右MCA，其中右MCA位於下大腦靜脈水平處。透過頸部切口，分離出雙側的頸總動脈，並以動脈夾進行阻塞。藉由尼龍線(10-0)將遠離下腦靜脈處的MCA結紮。於60分鐘後，再次將大鼠麻醉，移除頸動脈夾，並縫合頸部切口。待大鼠從麻醉恢復後，再將其放

回飼養箱當中。假手術(sham surgery)與MCAO手術類似，其包含手術切口開合的步驟，但不包含分離、結紮或使MCA或頸動脈凝集的動作。

4.2 製備施用藥劑

以5%乙醇、35%聚乙二醇和60%生理食鹽水溶解化合物1(最終濃度為15 mg/ml)。將化合物1(30 mg/Kg)、丙戊酸(30 mg/kg)或載體(5%乙醇、35%聚乙二醇和60%生理食鹽水)，以靜脈注射方式注入至實驗動物體內，其施用方式為於大鼠產生MCAO後的第0-7天。

4.3 CREB 西方墨點法分析

將Laemli檢體緩衝液與收集的蛋白檢體混合。以SDS-聚丙烯胺凝膠來分離檢體蛋白質，接著轉漬至硝化纖維膜上，再以5%牛奶、PBS(含0.05% Tween-20)進行遮斷，接著，加入一級抗體和緩衝液，進行隔夜培養。接著以PBS/Tween-20和PBS清洗，免疫標記蛋白帶包含組蛋白去乙醯抑制劑1(histone deacetylase inhibitor 1, HDAC1)、組蛋白去乙醯抑制劑2(histone deacetylase inhibitor 2, HDAC2)、去乙醯化組蛋白H2A(acetylated histone H2A, Ac-H2A)、去乙醯化組蛋白H2B(acetylated histone H2B, Ac-H2B)、磷酸化環化單磷酸腺苷酸反應元件結合蛋白(phosphorylation of cAMP response element-binding protein, p-CREB)、以及總環化單磷酸腺苷酸反應元件結合蛋白(total protein of cAMP response element-binding protein, t-CREB)表現於右前腦(right anterior brain, RA)、右後腦(right posterior brain, RP)、左前腦(left anterior

brain, LA)、以及左後腦(left posterior brain, LP)。分別以抗體-山葵氧化物-共軛抗-兔子、抗-小鼠或抗-山羊抗體(Santa Cruz Biotechnology, 1:5,000倍稀釋)進行,再以化學冷光系統(ECL, GE Healthcare Bioscience, Buckinghamshire, UK),以及HyperfilmTMECL放射顯影(GE Healthcare Bioscience)偵測。此外,藉由Quantity One™軟體(Bio-Rad)定量免疫墨點法。

4.4 結果

依據實施例4.2所述製備藥劑,將實施例4.1的MCAO大鼠分成三組(每組, N=5),將該些動物的梗塞區域進行染色,以和實施例3.4和3.5所述步驟類似的步驟進行評估,結果繪示於第7A及7B圖。三個治療時間點的梗塞體積,例如在中風後的30分鐘、2小時以及4小時分別進行測量;施用化合物1和/或丙戊酸的MCAO大鼠,經3天後,治療處的梗塞體積顯著的減少(第7A圖)。在另一實驗中,則是在誘發MCAO後,透過連續灌注,分別對大鼠施用本發明化合物1約30分鐘、2小時、4小時或24小時,之後再測量梗塞體積;發現灌注時間愈久,梗塞體積愈小(亦即,減少程度愈高)。

如上所述,腦部缺血引起了大量的CREB磷酸化,以及於神經元當中由CREB-調控基因所大量編碼表現的神經保護性分子(Kitagawa K., FEBS J. 2007 274(13):3210-7)。因此,化合物可有效的活化CREB的磷酸化,具有成為減緩缺血性腦梗塞之先導化合物的潛力。依據實施例4.3的步驟,以西方墨點法測定CREB磷酸化值。結果如第8圖所示。如圖所示,觀察施用接受化合物1的大鼠,於腦部區域RA、LA與

RP、LP，其 CREB（包含 p-CREB 以及 t-CREB）正調節的現象。

儘管本發明之範疇所設置之數值範圍和參數為近似值，但在此所揭示之特定實施例，盡可能精確呈現。然而，因各個試驗測量具有標準差，故任何數值存在著特定的誤差值。

當可理解，上文的說明與實施方式僅為本發明之例示，且習知技藝人士可對其進行各種修飾。以上的說明文字、實驗例資料提供了本發明例示性實施方式的結構與用法。雖然上文某種程度數了本發明的多種實施方式，或提及了一或多種具體的實施方式，本發明所屬技術領域中具有通常知識者，在不悖離本發明之原理與精神的情形下，當可對其進行各種更動與修飾，因此本發明之保護範圍當以附隨申請專利範圍所界定者為準。

【圖式簡單說明】

為讓本發明的上述與其他目的、特徵、優點與實施例能更明顯易懂，所附圖式之說明如下：

第 1 圖為依據本發明一實施方式，對正常大鼠或 HF 大鼠施用載體或本發明化合物 1 進行治療後其心臟形態的照片；

第 2 圖為依據本發明一實施方式，對 HF 大鼠施用載體或本發明化合物 1 後其心臟尖部組織經過梅生三色染色 (Masson trichrome) 後之膠原蛋白沉積的照片；

第 3 圖為依據本發明一實施方式，對 HF 大鼠施用載體或本發明化合物 1 後其心臟 ANP 表現量的柱狀圖；

第 4 圖為依據本發明一實施方式，如何評估挫傷體積的卡通圖；

第 5 圖為依據本發明一實施方式，對 TBI 個體施用化合物 1 或丙戊酸後其挫傷區域的變化；

第 6 圖為依據本發明一實施方式，對 TBI 個體施用化合物 1 或丙戊酸後其行為功能的變化；

第 7A 圖為依據本發明一實施方式，在 MCAO 後，分別在 30 分鐘、2 小時或 4 小時，對大鼠施用本發明化合物 1 或 VAP 後其缺血梗塞區域的變化；

第 7B 圖為依據本發明一實施方式，在 MCAO 後，分別對大鼠施用本發明化合物 1 約 30 分鐘、2 小時、4 小時或 24 小時後，其缺血梗塞區域的變化；以及；

第 8 圖為依據本發明一實施方式，對 MCAO 大鼠施用載體或本發明化合物 1 後其 CREB 正調節的結果。

【主要元件符號說明】

無

發明專利說明書

公告本

(本說明書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號：	101133927	Co7D 209/18	(2006.01)
※ 申請日：	101.9.15	※IPC 分類：	A61K31/405 (2006.01)
			A61P9/04 (2006.01)
			A61P9/10 (2006.01)
一、發明名稱：(中文/英文)			A61P25/00 (2006.01)

吲哚氫胺酸和吲哚啉氫胺酸於治療心臟衰竭或神經損傷的用途 / USE OF INDOLYL AND INDOLINYL HYDROXAMATES FOR TREATING HEART FAILURE OR NEURONAL INJURY

二、中文發明摘要：

在此揭示某些小分子的新穎用途，特別是具有吲哚基或是吲哚啉基之氫胺酸化合物的新穎用途。此吲哚氫胺酸和吲哚啉氫胺酸化合物可做為先導化合物，來製備用以治療心臟衰竭或神經損傷的藥劑或藥學組合物。

三、英文發明摘要：

Novel use of small molecules, particularly indolyl and indolanyl hydroxamates is disclosed herein. The indolyl and indolanyl hydroxamates are useful as lead compounds for manufacturing a medicament or a pharmaceutical composition for treating a patient suffering from heart failure or neuronal injury.

四、指定代表圖：

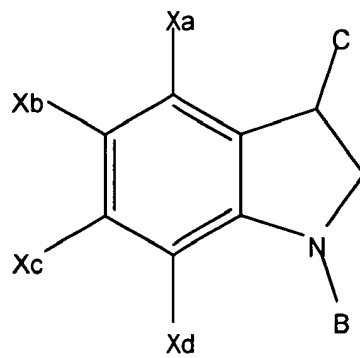
(一)本案指定代表圖為：第(1)圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

無

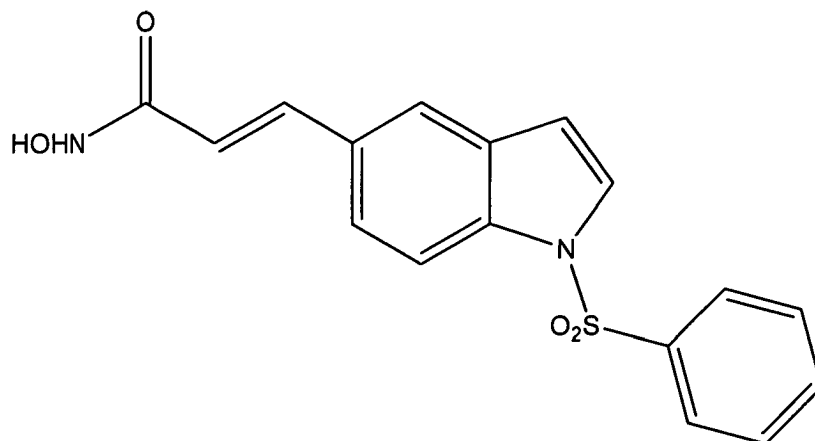
五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

式(I)



七、申請專利範圍：

1. 一種下列化合物於製造一種可供治療心臟衰竭或神經元損傷之藥劑的用途，



2. 如請求項 1 所述的用途，其中該心臟衰竭可以由以下任一心肌纖維化、高血壓、心肌梗塞、心肌缺血、擴大性心肌病變、肥厚性心肌病變、限制性心肌病變、壓力性心肌病變、糖尿病性心肌病變或特發性心肌病變所引起的。

3. 如請求項 2 所述的用途，其中該心臟衰竭係由心肌纖維化或高血壓所引起的。

4. 如請求項 1 所述的用途，其中該神經損傷可以是創傷性腦損傷或缺血性腦梗塞。