

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2015 年 11 月 5 日 (05.11.2015)



(10) 国际公布号
WO 2015/165352 A1

(51) 国际专利分类号:

C07C 271/28 (2006.01) C07C 235/74 (2006.01)
C07C 269/04 (2006.01) C07D 307/24 (2006.01)
C07C 269/06 (2006.01) A61K 31/27 (2006.01)
C07C 333/08 (2006.01) A61K 31/277 (2006.01)
C07C 275/64 (2006.01) A61K 31/17 (2006.01)
C07C 273/18 (2006.01) A61K 31/167 (2006.01)
C07C 231/02 (2006.01) A61K 31/341 (2006.01)
C07C 235/16 (2006.01) A61P 25/00 (2006.01)
C07C 237/04 (2006.01) A61P 25/08 (2006.01)
C07C 237/22 (2006.01) A61P 25/28 (2006.01)
C07C 233/62 (2006.01) A61P 9/10 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2015/077216

(22) 国际申请日: 2015 年 4 月 22 日 (22.04.2015)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
201410175315.X 2014 年 4 月 28 日 (28.04.2014) CN

(71) 申请人: 中国科学院上海药物研究所 (SHANGHAI
INSTITUTE OF MATERIA MEDICA, CHINESE

ACADEMY OF SCIENCES) [CN/CN]; 中国上海市浦东张江祖冲之路 555 号, Shanghai 201203 (CN)。

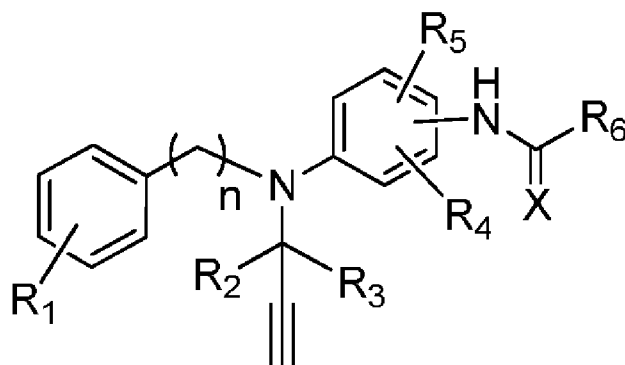
(72) 发明人: 南发俊 (NAN, Fajun); 中国上海市浦东张江祖冲之路 555 号, Shanghai 201203 (CN)。 利民 (LI, Min); 中国上海市浦东张江祖冲之路 555 号, Shanghai 201203 (CN)。 高召兵 (GAO, Zhaobing); 中国上海市浦东张江祖冲之路 555 号, Shanghai 201203 (CN)。 张仰明 (ZHANG, Yangming); 中国上海市浦东张江祖冲之路 555 号, Shanghai 201203 (CN)。 胡海宁 (HU, Haining); 中国上海市浦东张江祖冲之路 555 号, Shanghai 201203 (CN)。 许海燕 (XU, Haiyan); 中国上海市浦东张江祖冲之路 555 号, Shanghai 201203 (CN)。 刘桦楠 (LIU, Huanan); 中国上海市浦东张江祖冲之路 555 号, Shanghai 201203 (CN)。 皮晓平 (PI, Xiaoping); 中国上海市浦东张江祖冲之路 555 号, Shanghai 201203 (CN)。

(74) 代理人: 北京金信知识产权代理有限公司 (KING-SOUND & PARTNERS); 中国北京市海淀区紫竹院路 116 号嘉豪国际中心 B 座 11 层, Beijing 100097 (CN)。

[见续页]

(54) Title: NOVEL KCNQ POTASSIUM CHANNEL AGONIST, AND PREPARATION METHOD THEREFOR AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 一类新型的 KCNQ 钾通道激动剂、其制备方法和用途



I

(57) Abstract: The present invention provides a compound with a structure represented by general formula I or a pharmaceutically acceptable salt thereof, a preparation method for the compound or the salt, and a use of the compound or the pharmaceutically acceptable salt thereof in the preparation of medicaments for treating nervous system diseases, such as epilepsy, convulsion, neuropathic pain, acute ischemic stroke or neurodegenerative diseases. Compared with Retigabine, the compound of the present invention has better brain tissue absorption. Moreover, the compound provided by the present invention not only has greatly improved efficacy, but also has far fewer neurological side effects than Retigabine, and therefore has a wider safe window.

(57) 摘要: 本发明提供了一种具有通式 I 的结构化合物或其药学上可接受的盐, 其制备方法以及所述化合物或其药学上可接受的盐在制备治疗神经性类疾病如癫痫、惊厥、神经性疼痛、急性局部缺血性中风以及神经退行性疾病的药物中的用途。与瑞替加滨相比, 本发明所述的化合物具有更好的脑组织吸收。并且, 本发明所提供化合物不仅药效大大提高, 而且神经毒副作用远低于瑞替加滨, 因此具有更宽的安全窗口。



WO 2015/165352 A1



(81) **指定国** (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) **指定国** (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ,

NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

一类新型的 KCNQ 钾通道激动剂、其制备方法和用途

技术领域

本发明属于药学领域，具体而言，涉及一类新型的 **KCNQ** 钾离子通道激动剂，其制备方法以及该类钾通道激动剂或其药学上可接受的盐或含有它们中任何一种的药物组合物在制备治疗神经性类疾病如癫痫、惊厥、神经性疼痛、急性局部缺血性中风以及神经退行性疾病的药物中的用途。

背景技术

离子通道是细胞膜上的一类重要的膜蛋白家族，在神经和肌肉的兴奋、激素分泌、细胞分化、感觉传导、学习和记忆、血压控制、盐和水的平衡等过程中发挥着重要作用，研究发现超过 60 种离子通道的突变与疾病密切相关。目前，离子通道已成为继 GPCR(G 蛋白偶联受体)与蛋白激酶之后第三大药物靶点(Yu 等, *Science's STKE*, **2004**, 253, 15-21)。人类基因组中有 400 种以上的基因编码离子通道，其中钾离子通道超家族成员最多。按其功能及结构特点，钾离子通道主要可以分为四大类：内向整流钾通道(K_{ir})、双孔钾通道(K_{2p})、钙激活钾通道(K_{Ca})和电压门控钾通道(K_V)(H. Wulff 等, *Nature Reviews Drug Discovery*, **2009**, 8 (12), 982-1001)。钾离子通道在调节神经元的兴奋性方面发挥着重要的作用，其离子基础是胞内钾离子浓度高于胞外，膜电位去极化激活通道后，带正电荷的钾离子外流，膜电位因而变负(负极化甚或超极化)，细胞兴奋性降低。近年来对癫痫遗传学的研究表明，钾离子通道异常可直接导致癫痫(H. Wulff 等, *Chemical Review*, **2008**, 108 (5), 1744-1773)，如良性新生儿家族性惊厥(BFNC)。

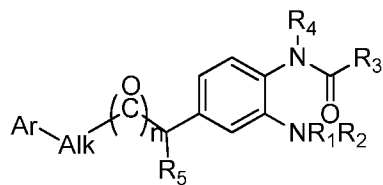
电压门控钾通道(K_V)是钾通道超家族中的重要成员，共有 12 个成员($K_{V1.X}$ - $K_{V12.X}$)。其中 **KCNQ** 通道是电压门控钾通道的第 7 个成员(K_V7)，它包括五个亚型，分别命名为 **KCNQ1-KCNQ5**。**KCNQ** 不同亚型的分布和功能有所不同，如 **KCNQ1** 主要存在于心脏和耳蜗，其突变与先天性心脏 QT 间期延长综合征以及先天性耳聋密切相关；**KCNQ2**、**3** 和 **5** 主要存在于大脑和神经中枢，与神经兴奋密切相关；**KCNQ4** 主要存在于耳蜗和前庭，与听觉紧密相关(D. A. Brown 等, *British Journal of Pharmacology*, **2009**, 156, 1185-1195)。与其它电压门控钾通道成员相比，**KCNQ** 通道的激活阈值较低，在动作电位-60mV 即可打开，并且其激活缓慢，在持续去极化时也不失活，这些特点使 **KCNQ** 通道在调节细胞兴

奋性方面处于基础水平,其开放可降低神经兴奋性,而功能抑制则可引起神经细胞膜电位去极化,兴奋性增强,诱发更多的神经冲动。因此 KCNQ 通道是预防和治疗多种神经兴奋性失调疾病的重要的药用靶点。

基于 KCNQ 靶点的上述特点, KCNQ 钾通道激动剂通过激活钾通道,降低神经细胞兴奋性,不仅可用于治疗癫痫,也可用于其它神经兴奋性过高引起的疾病如惊厥、神经性疼痛、急性局部缺血性中风以及神经退行性疾病(Dalby-Brown 等, *Current Topics in Medicinal Chemistry*, **2006**, 6, 999-1023)。

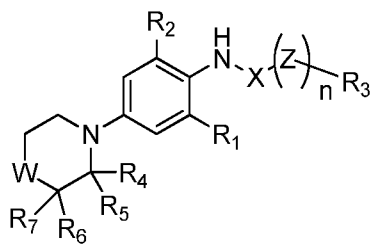
已报道的 KCNQ 钾通道激动剂主要有如下几种:

1)专利 US5384330 中公开的具有如下结构的一些化合物。



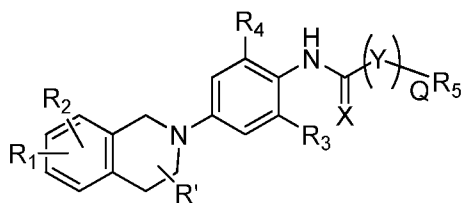
其结构特点是含有一个被邻二胺基取代的苯环。

2)专利 WO2005/087754 中描述的如下结构的 KCNQ 钾通道激动剂。



其结构特点是含有对二胺基取代的苯环,且其中一个氮又在一个饱和环(也可能是杂环,此时 W=O)中。而另外一个氮相邻位置有 R₁, R₂ 取代。

3) 专利 WO2008024398 中描述了如下结构。



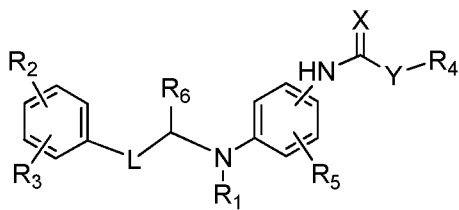
此类化合物的结构与专利 WO2005/087754 结构相似,只是在氮杂环烃上又引入一个并苯环结构单元。

目前临床上最有代表性的 KCNQ 钾通道激动剂是 GSK(葛兰素史克)公司开发的 2011

年上市的抗癫痫药物瑞替加滨 (Retigabine, 简称为 RTG), 其结构如下。瑞替加滨是第一个系统研究的 KCNQ 钾通道激动剂, 其能够激活 KCNQ2-5, 主要用于部分发作型癫痫成人患者的治疗。

瑞替加滨的结构中含有一个被三个胺基所取代的富电子苯环, 该结构特点导致瑞替加滨在合成及储存时特别容易氧化变质。与此同时, 在临床应用中瑞替加滨的不良反应较多, 包括眩晕、嗜睡、疲劳乏力、意识错乱、震颤、协调性差、复视、视力模糊、注意力障碍、记忆力减退、运动失调、失语症、发音困难、平衡失调、食欲增加、幻觉、肌阵挛、外周性水肿、运动机能减退、口干、吞咽困难等。排尿异常也是瑞替加滨常见的毒副反应, 包括膀胱肿胀、膀胱壁增厚以及尿潴留等。2013 年 4 月 26 日, FDA 药物安全委员会披露了瑞替加滨在临床应用时还会出现一些色素反应, 包括皮肤呈蓝色, 视网膜色素改变等, 但尚不清楚其具体的作用机制, 并建议所有服用此药的患者定期参加眼科检查(S. Jankovic 等, Expert Opinion on Drug Discovery, **2013**, 8(11), 1-9; F. Rode 等, European Journal of Pharmacology, **2010**, 638, 121-127)。

发明人在前期工作中 (WO2013060097, 其公开的内容以整体引用的方式并入本申请中) 公开了如下结构的 KCNQ 钾通道激动剂:



其中当 R_1 为烯丙基或炔丙基时, 化合物不仅保持了 KCNQ 钾通道激动活性与瑞替加滨相当或者更优秀, 而且体内抗癫痫效应显著, 保护效果与瑞替加滨相当; 小鼠上的初步药代动力学研究显示该类化合物与瑞替加滨相比具有更优异的脑暴露量。但进一步的安全评价研究发现, WO2013060097 所公开化合物的神经毒性较大, 如 SD 大鼠单次口服给予化合物 K21, 当剂量 $\geq 30\text{mg/kg}$ 时, 可观察到大鼠死亡, 毒性致死剂量明显高于瑞替加滨的已报道大鼠致死剂量 (100mg/kg , 数据来源于 FDA Pharmacology Review(s), Potiga tablets)。

发明内容

本发明的发明人在研究瑞替加滨的组织分布时发现, 瑞替加滨给药后在小鼠的脑组织分布浓度不高, 具体来说, 静脉注射或口服给药后, 瑞替加滨在小鼠大脑中的暴露量仅为其血浆暴露量的 14-16%(WO2013060097)。本发明的发明人认为瑞替加滨的低大脑暴露量

不仅影响了其药效在大脑中最大程度的发挥,而且也可能是诱发瑞替加滨诸多不良反应的重要因素之一;与此同时,瑞替加滨药物本身的稳定性不理想,本发明的发明人发现瑞替加滨的盐酸盐水溶液当暴露在空气中时很快变为蓝色,并有不溶性沉淀生成,发明人认为这种药物本身的不稳定性或许与其在临床应用中所观察到的色素反应有关。基于以上所述的现有 KCNQ 钾通道激动剂的缺点,有必要开发物理性质更加稳定、有利于脑组织分布、活性更高且毒性更低、具有较宽安全窗口的新型钾通道激动剂,用于制备治疗神经性类疾病如癫痫、惊厥、神经性疼痛、急性局部缺血性中风等神经性疾病以及阿尔兹海默症等神经退行性疾病的新颖药物。

本发明的发明人在前期工作中发现炔丙基的引入不仅可以保持瑞替加滨衍生物的 KCNQ 钾通道激动活性,而且在药代动力学研究时还意外的发现炔丙基的引入能大大改善化合物在鼠脑组织中的分布和暴露量(WO2013060097),如化合物 K21 口服给药后,其在鼠脑组织中的暴露量为相应的血浆中暴露量的 2.4 倍。在本发明中,发明人进一步研究发现在保留中间氮原子为炔丙基取代的基础上,进一步去除化合物 K21 右侧苯环上的游离氨基并在右侧苯环上引入不同的取代基,特别是当所引入的取代基为甲基所代表的烷基时,发现所得到的化合物不仅物理性质稳定,脑组织吸收良好,而且还意外发现所得化合物的 KCNQ 激动活性大大提高,如化合物 K43 的对 KCNQ2 同源四聚体通道的激动活性为瑞替加滨的 800 倍以上,其对 KCNQ2/3 异源四聚体通道的激动活性也明显优于 WO2013060097 所公开化合物 K21 和瑞替加滨。此外,发明人在进一步研究中发现与瑞替加滨相比较,本发明所述的化合物不但体内外活性大大提高,而且神经毒性作用明显降低,因此具有更宽的治疗窗口。综上所述,本发明所提供的该类新型 KCNQ 钾通道激动剂克服了现有钾通道激动剂的诸多缺点,物理性质稳定,脑组织吸收优秀,活性显著提高,毒性明显降低,口服吸收良好,药代参数优异,因此有着更好的发展前景。

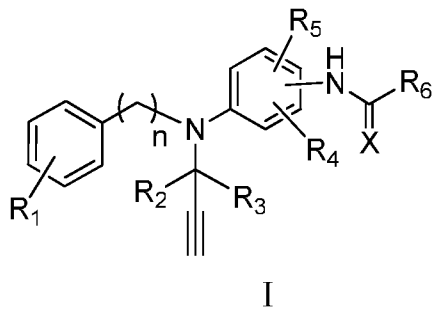
本发明的一个目的在于提供一类新型化合物,其可以作为 KCNQ 钾通道激动剂。

本发明的另一目的在于提供上述化合物的制备方法。

本发明的另一目的在于提供一类药物组合物,所述药物组合物包含作为有效成分的所述化合物或其药学上可接受的盐以及药学上可接受的辅料。

本发明的又一目的是提供上述化合物及其药学上可接受的盐或包含其的组合在制备治疗神经性疾病等的药物中的用途。

在一个方面,本发明所述的化合物具有以下通式 I 的结构:



其中：

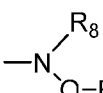
X 选自：氧或硫；n 为 1, 2 或 3，优选为 1；

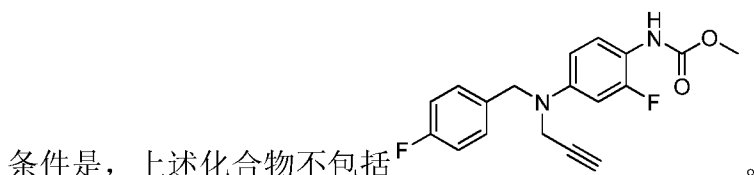
R₁ 为 H 或卤素原子，优选为 H 或氟原子；

R₂ 和 R₃ 各自独立地选自 H、D 和 C₁-C₃ 烷基，或 R₂ 和 R₃ 与它们所连接的碳原子一起形成 C₃-C₆ 的饱和环，优选 R₂ 和 R₃ 各自独立地选自 H 和 D，或者 R₂ 和 R₃ 与它们所连接的碳原子一起形成环丙烷基；

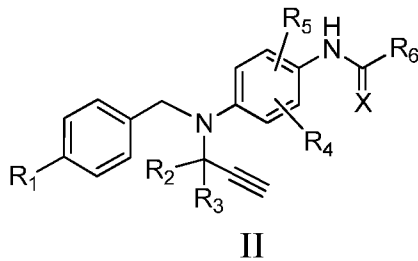
R₄ 和 R₅ 各自独立地选自：H；卤素原子；C₁-C₆ 烷基；C₃-C₆ 环烷基；氰基；C₁-C₄ 烷氧基；任选被羟基、氨基、C₁-C₄ 烷氧基、C₁-C₄ 烷基羰基、卤素原子取代的 C₁-C₆ 烷基；任选被卤素原子取代的 C₁-C₄ 烷氧基；C₁-C₆ 烷基羰基；C₁-C₆ 烷氧基羰基；C₁-C₆ 烷基氨基羰基；C₂-C₆ 链烯基；和 C₂-C₆ 链炔基；R₄ 和 R₅ 优选各自独立地为 H、卤素原子、氰基、C₁-C₄ 烷基、C₁-C₄ 烷氧基或氟代的 C₁-C₄ 烷氧基；R₄ 和 R₅ 更优选各自独立地为 H、卤素原子、C₁-C₄ 烷基或 C₁-C₄ 烷氧基；最优选地，R₄ 和 R₅ 之一为 C₁-C₄ 烷基，另一个为 H 或 C₁-C₄ 烷基；

R₆ 选自：C₁-C₆ 烷氧基；C₁-C₆ 烷基氨基；C₁-C₆ 烷基；C₃-C₆ 环烷基；C₂-C₆ 链烯基；C₂-C₆ 链炔基；C₆-C₁₀ 芳基；任选被卤素原子、氰基、羟基、C₁-C₆ 烷氧基、二（C₁-C₄ 烷基）氨基、C₁-C₆ 烷基羰基、C₁-C₆ 烷基羰基氨基、C₁-C₆ 烷氧基羰基取代的 C₁-C₆ 烷基；任选被卤素原子取代的 C₃-C₆ 环烷基；任选被卤素原子取代的 C₂-C₆ 链烯基；任选被卤素

原子取代的 C₂-C₆ 链炔基；四氢呋喃基；和 ，其中 R₇ 和 R₈ 各自独立地选自 C₁-C₄ 烷基，



进一步地，本发明所述的化合物为通式 II 所示的化合物：



其中，

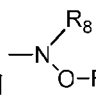
X 选自：氧或硫；

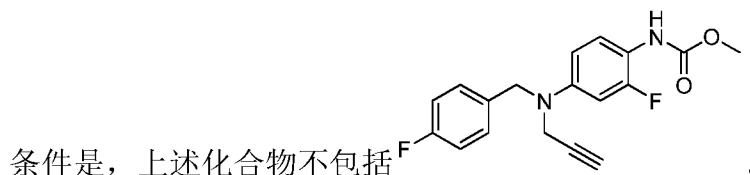
R₁ 为 H 或卤素原子，优选为 H 或 F；

R₂ 和 R₃ 各自独立地选自 H、D 和 C₁-C₃ 烷基，或 R₂ 和 R₃ 与它们所连接的碳原子一起形成 C₃-C₆ 饱和环，优选 R₂ 和 R₃ 各自独立地选自 H 和 D，或者 R₂ 和 R₃ 与它们所连接的碳原子一起形成环丙烷基；

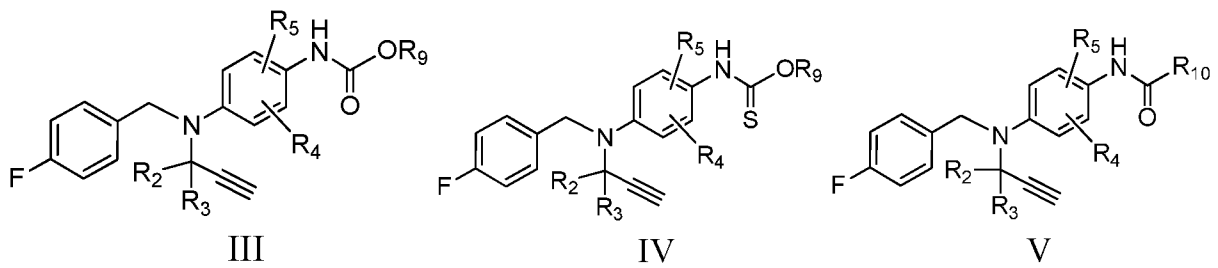
R₄ 和 R₅ 各自独立地选自：H；卤素原子；C₁-C₆ 烷基；C₃-C₆ 环烷基；氰基；C₁-C₄ 烷氧基；任选被羟基、氨基、C₁-C₄ 烷氧基、C₁-C₄ 烷基羰基、卤素原子取代的 C₁-C₆ 烷基；任选被卤素原子取代的 C₁-C₄ 烷氧基；C₁-C₆ 烷基羰基；C₁-C₆ 烷氧基羰基；C₁-C₆ 烷基氨基羰基；C₂-C₆ 链烯基；和 C₂-C₆ 链炔基；R₄ 和 R₅ 优选各自独立地为 H、卤素原子、氰基、C₁-C₄ 烷基或 C₁-C₄ 烷氧基；R₄ 和 R₅ 更优选各自独立地为 H、卤素原子、C₁-C₄ 烷基或 C₁-C₄ 烷氧基；最优选地，R₄ 和 R₅ 之一为 C₁-C₄ 烷基，另一个为 H 或 C₁-C₄ 烷基；

R₆ 选自：C₁-C₆ 烷氧基；C₁-C₆ 烷基氨基；C₁-C₆ 烷基；C₃-C₆ 环烷基；C₂-C₆ 链烯基；C₂-C₆ 链炔基；C₆-C₁₀ 芳基；任选被卤素原子、氰基、羟基、C₁-C₆ 烷氧基、二(C₁-C₄ 烷基)氨基、C₁-C₆ 烷基羰基、C₁-C₆ 烷基羰基氨基、C₁-C₆ 烷氧基羰基取代的 C₁-C₆ 烷基；任选被卤素原子取代的 C₃-C₆ 环烷基；任选被卤素原子取代的 C₂-C₆ 链烯基；任选被卤素原子

取代的 C₂-C₆ 链炔基；四氢呋喃基；和 , 其中 R₇ 和 R₈ 各自独立地选自 C₁-C₄ 烷基；



更进一步地，本发明所述的化合物选自如下通式 III 至 V 所示的化合物：



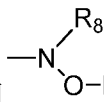
其中：

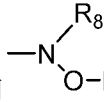
R_2 和 R_3 各自独立地选自 H、D 和 C_1 - C_3 烷基，或 R_2 和 R_3 与它们所连接的碳原子一起形成 C_3 - C_6 饱和环，优选 R_2 和 R_3 各自独立地选自 H 和 D，或 R_2 和 R_3 与它们所连接的碳原子一起形成环丙烷基；

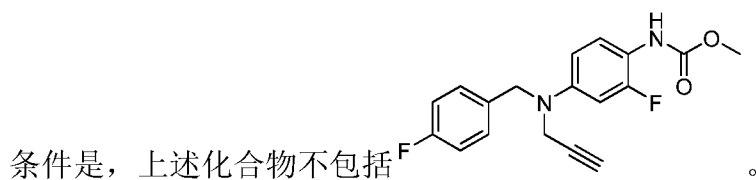
R_4 和 R_5 分别独立地选自：H，卤素原子， C_1 - C_6 烷基， C_3 - C_6 环烷基，氰基， C_1 - C_4 烷氧基，任选被羟基、氨基、 C_1 - C_4 烷氧基、 C_1 - C_4 烷基羰基、卤素原子取代的 C_1 - C_6 烷基，任选被卤素原子取代的 C_1 - C_4 烷氧基， C_1 - C_6 烷基羰基， C_1 - C_6 烷氧基羰基， C_1 - C_6 烷胺基羰基， C_2 - C_6 链烯基，和 C_2 - C_6 链炔基； R_4 和 R_5 可进一步优选地各自独立地选自：H， C_1 - C_6 烷基，和 C_1 - C_4 烷氧基； R_4 和 R_5 优选各自独立地为 H、卤素原子、氰基、 C_1 - C_4 烷基或 C_1 - C_4 烷氧基； R_4 和 R_5 更优选各自独立地为 H、卤素原子、 C_1 - C_4 烷基或 C_1 - C_4 烷氧基；最优选地， R_4 和 R_5 之一为 C_1 - C_4 烷基，另一个为 H 或 C_1 - C_4 烷基；

R_9 选自： C_1 - C_6 烷基和 C_3 - C_6 环烷基；优选地， R_9 选自甲基、乙基和丙基；

R_{10} 选自 C_1 - C_6 烷基；任选被卤素原子、氰基、羟基、 C_1 - C_6 烷氧基、二(C_1 - C_4 烷基)氨基、 C_1 - C_6 烷羰基、 C_1 - C_6 烷基酰胺基、 C_1 - C_6 烷氧基羰基取代的 C_1 - C_6 烷基；任选被卤

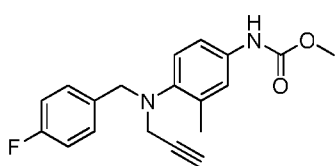
素原子取代的 C_3 - C_6 环烷基；四氢呋喃基；和 ，其中 R_7 和 R_8 各自独立地选自 C_1 - C_4 烷基；优选地， R_{10} 选自任选被卤素原子、氰基、羟基、 C_1 - C_3 烷氧基、二 C_1 - C_3 烷胺基、 C_1 - C_3 烷羰基、 C_1 - C_3 烷基酰胺基、 C_1 - C_3 烷氧基羰基取代的 C_1 - C_3 烷基；任选被卤

素原子取代的 C_3 - C_6 环烷基；四氢呋喃基；和 ，其中 R_7 和 R_8 各自独立地选自 C_1 - C_3 烷基；

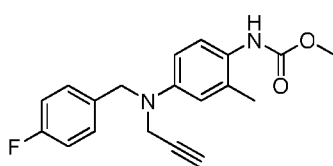


在上述通式 I 至 V 的化合物中，优选地， R_4 和 R_5 之一为甲基，另一个为 H 或甲基。

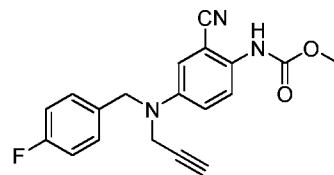
根据本发明最优选方案，部分代表性化合物如下：



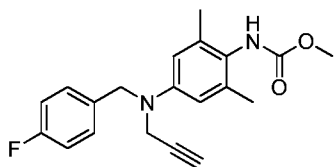
K40



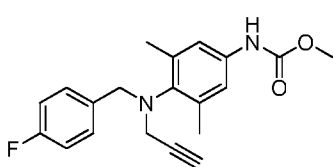
K41



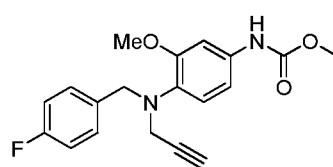
K42



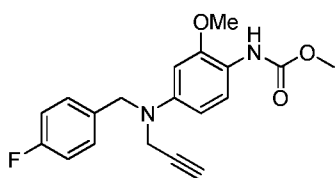
K43



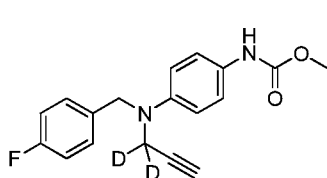
K44



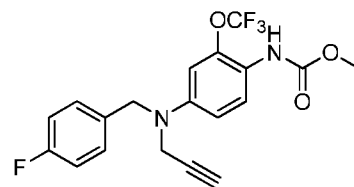
K45



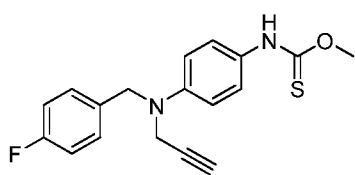
K46



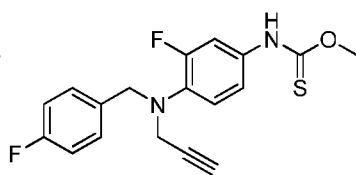
K47



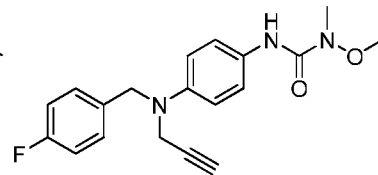
K48



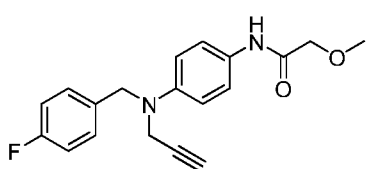
K49



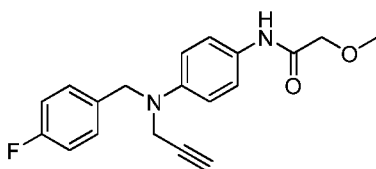
K50



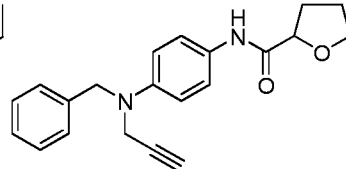
K51



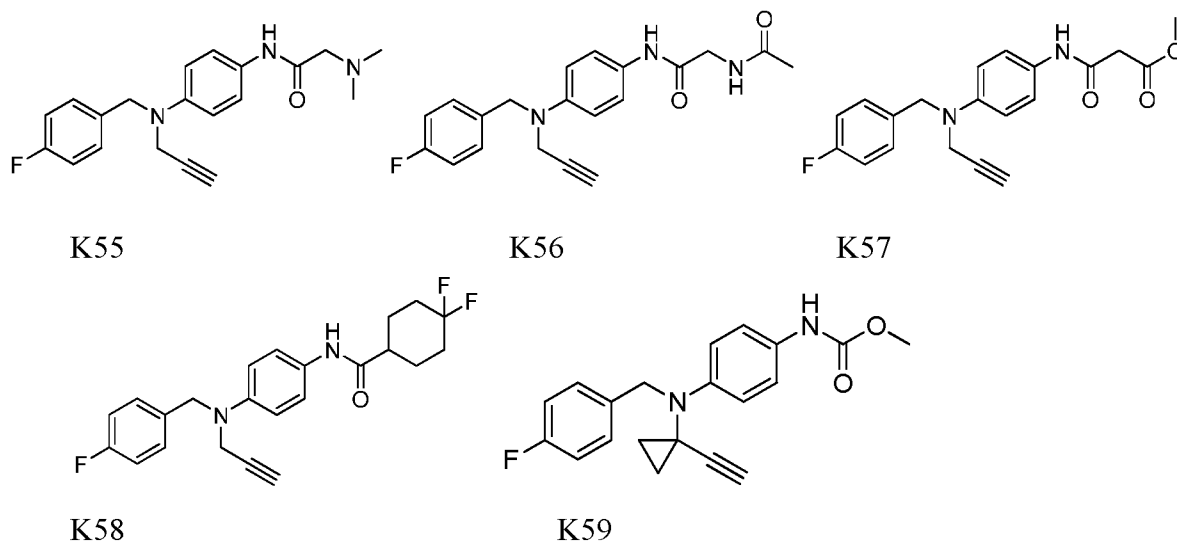
K52



K53



K54

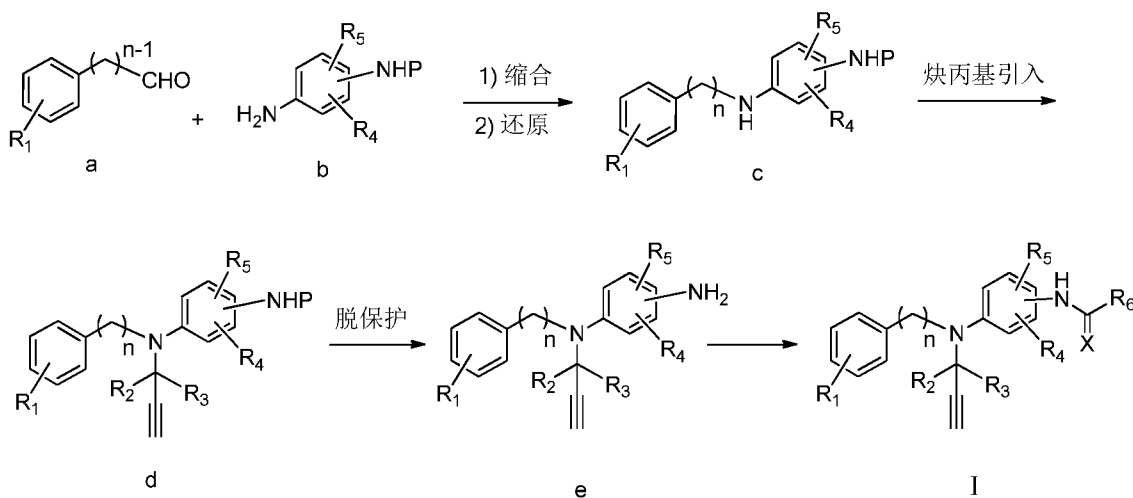


本发明中所述化合物的药学上可接受的盐可以为上述化合物与酸形成的盐,所述酸选自马来酸、琥珀酸、柠檬酸、酒石酸、富马酸、甲酸、乙酸、丙酸、丙二酸、草酸、苯甲酸、邻苯二甲酸、甲磺酸、苯磺酸、甲苯磺酸、萘磺酸、1,5-萘二磺酸、樟脑酸、樟脑磺酸、水杨酸、乙酰水杨酸、天门冬氨酸、谷氨酸、乳酸、葡萄糖酸、维 C 酸、没食子酸、杏仁酸、苹果酸、山梨酸、三氟乙酸、牛磺酸、高牛磺酸、2-羟基乙磺酸、肉桂酸、盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硫酸、硝酸、磷酸和高氯酸。

本发明的另一方面提供了本发明所述的化合物或其药学上可接受的盐的制备方法,可以为以下几种制备方法之一。

方法一:

醛 a 与取代苯胺 b 还原胺化后得到仲胺 c, 仲胺 c 通过与炔丙基溴代物的取代反应得到中间体 d, 脱去中间体 d 中的胺基保护基 P 后得到中间体胺 e, 胺 e 再经进一步反应得到如通式 I 所示化合物;

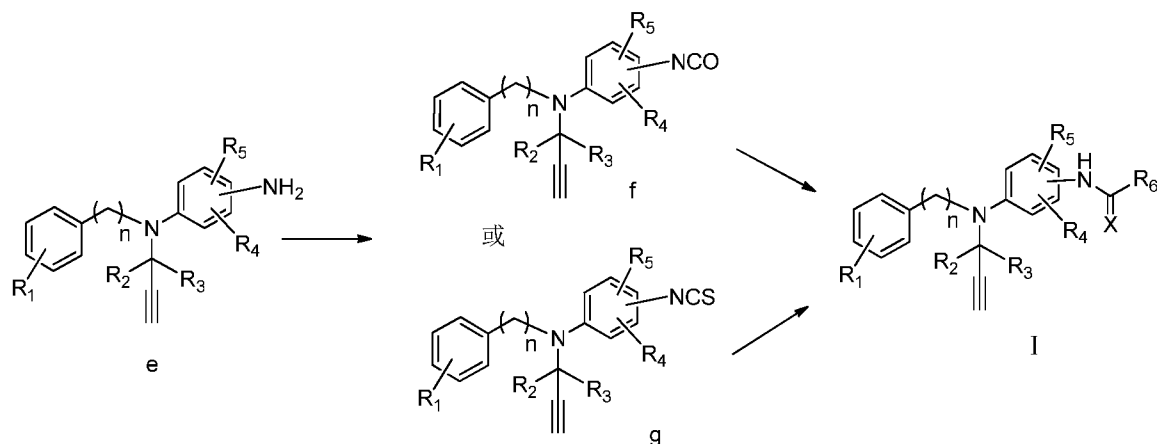


其中 P 为氨基保护基, 具体选择范围可参考《有机合成中的保护基》(华东理工大学

有机化学教研组，华东理工大学出版社，2004)。

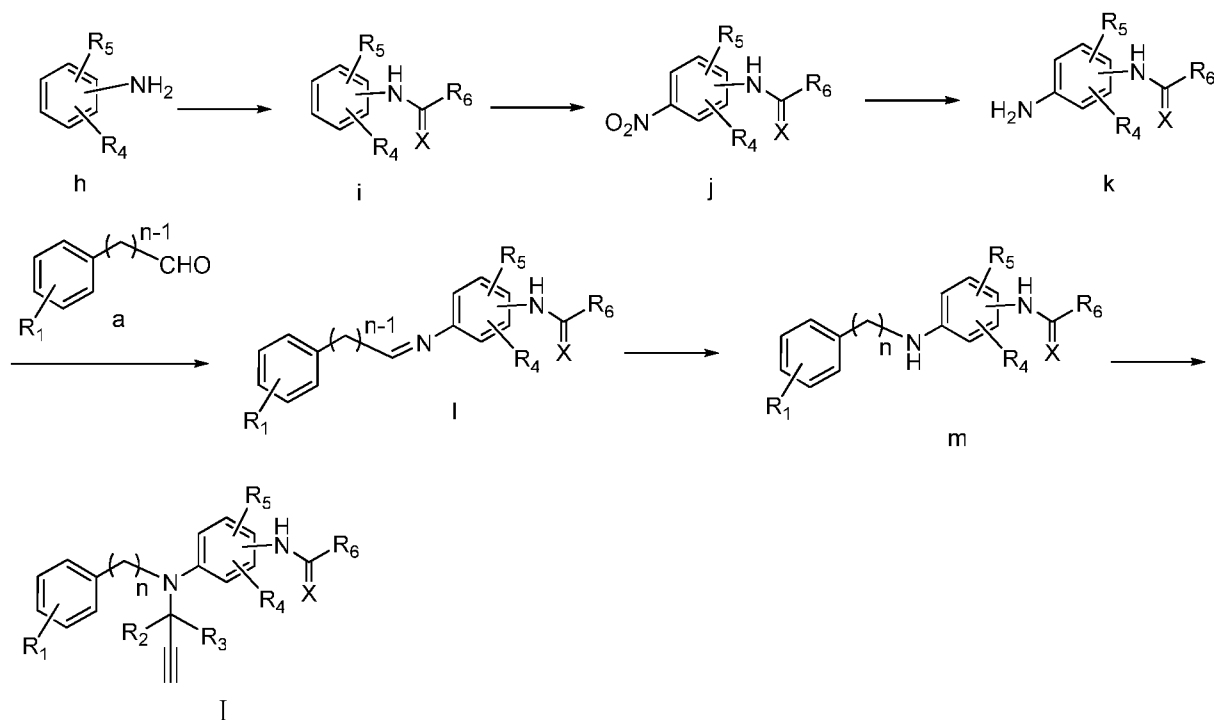
方法二：

或者通过中间体 e 与光气或硫光气作用后转化为异氰酸酯 f 或异硫氰酸酯 g 后，经进一步与醇或胺发生加成反应得到通式 I 所示化合物：



方法三：

或者芳胺 h 直接衍生化后所得中间体 i 经过硝化反应引入硝基，所得硝基物 j 后者还原后得到胺 k，胺 k 与醛 a 经还原胺化后得到中间体仲胺 m，仲胺 m 与炔丙基溴代物通过取代反应生成如通式 I 所示化合物：



方法四：化合物盐的合成

本发明所述的如通式 I 所示化合物还可转化为其药学上可接受的盐如盐酸盐等。一般方法是将相应的酸的溶液加入到上述化合物的溶液中，成盐完全后减压除去溶剂或者过滤

即可得本发明所述化合物的相应的盐。

在本发明的制备方法中，P 为保护基团，X、n、R₁、R₂、R₃、R₄、R₅ 和 R₆ 与前面的定义相同。

本发明的另一方面提供了一类药物组合物，所述药物组合物包含作为有效成分的本发明所述的化合物或其药学上可接受的盐以及药学上可接受的辅料。

本发明的另一方面提供根据本发明所述的化合物或其药学上可接受的盐或者根据本发明的药物组合物用作 KCNQ 钾通道激动剂的用途。

本发明的又一方面提供本发明所述的化合物及其药学上可接受的盐或含有它们中任何一种的药物组合物在制备治疗神经性疾病的药物中的用途。

本发明的另一方面提供一种治疗神经性疾病的方法，其中向患有神经性疾病的受试者给药根据本发明所述的化合物或其药学上可接受的盐或者根据本发明的药物组合物。

所述神经性疾病包括癫痫、惊厥、神经性疼痛、急性局部缺血性中风等，以及阿尔兹海默症等神经退行性疾病。

有益效果

本发明所提供的的化合物与现有药物瑞替加滨相比，由于其结构中没有游离胺基，因此物理性质更加稳定，不易氧化变质，表现在该类化合物的溶液即使暴露在空气中也不容易氧化变色。

与瑞替加滨相比，本发明所提供的化合物具有更好的脑组织吸收。如小鼠按剂量 5mg/kg 口服给予化合物 K43 后，其在小鼠脑组织中的暴露量为相应的血浆中暴露量的 7 倍以上。在大鼠上，按剂量 5mg/kg 口服给予化合物 K43 后，大鼠脑组织中的暴露量为相应的血浆中暴露量的 3.9 倍。

与现有 KCNQ 激动剂相比，本发明所提供化合物的药效大大提高。如在体外电生理实验中，化合物 K43 对 KCNO2 同源四聚体通道的激动活性瑞替加滨的 800 倍以上，化合物 K43 对 KCNQ2/3 四聚体通道的激动效应也显著高于 WO2013060097 所公开化合物 K21 和瑞替加滨。进一步地，在体内药效模型上，化合物 K43 和 K41 的抗 MES（最大电休克）效能也远远优于瑞替加滨。

更重要的是，本发明所提供化合物不仅药效大大提高，但神经毒副作用远低于瑞替加滨，因此具有更宽的安全窗口。

综上所述，本发明所提供的化合物克服了现有激动剂的诸多缺点，不仅物理性质稳定，活性高，脑组织吸收优异，而且毒性大大降低，因此具有更大的治疗窗口和更佳的治疗效果，显示了良好的应用前景。

附图说明

图1为本发明的化合物K43和瑞替加滨对KCNQ2同源四聚体通道的量效曲线；
图2为本发明的化合物K43和K21对KCNQ2/3异源四聚体通道的量效曲线；
图3为本发明的化合物K43、K41和瑞替加滨小鼠体内抗MES的量效曲线；
图4为本发明的化合物K43、K41和瑞替加滨影响小鼠运动能力的量效曲线。

具体实施方式

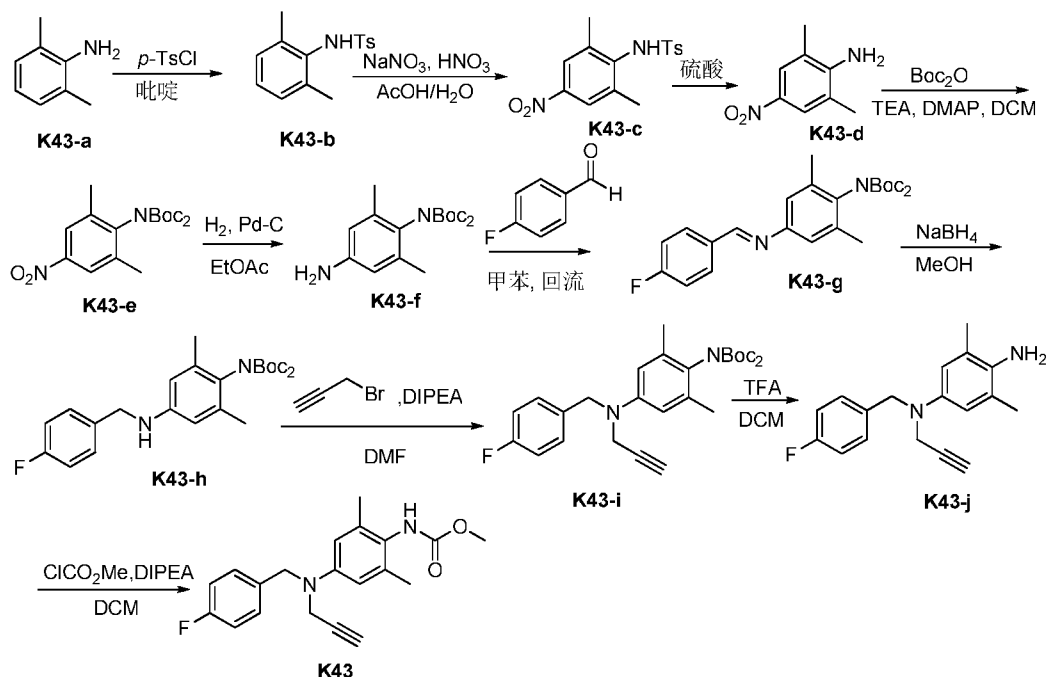
下面结合具体实施例对本发明做进一步阐述，但本发明不局限于这些实施例。

一、化合物的制备实施例

下述制备实施例中，核磁共振(NMR)用瓦里安(Varian)生产的Mercury-Vx 300M仪器测定，NMR定标： δ H 7.26 ppm(CDCl_3)，2.50 ppm($\text{DMSO}-d_6$)，3.15 ppm(CD_3OD)；试剂主要由上海化学试剂公司提供；薄层层析(TLC)硅胶板由山东烟台会友硅胶开发有限公司生产，型号HSGF 254；化合物纯化使用的正相柱层析硅胶为山东青岛海洋化工厂分厂生产，型号zcx-11，200-300目。

制备实施例1：

制备实施例 1.1、4-(N-对氟苄基-N-炔丙基-胺基)-2,6-二甲基苯基胺基甲酸甲酯(K43)的合成



化合物 2,6-二甲基苯胺 **K43-a**(1.2g, 10mmol)溶于二氯甲烷(4mL)以及吡啶(25mL),

加入对甲苯磺酰氯(*p*-TsCl)(2.29g, 12mmol), 回流 6h。冷却至室温, 反应体系倾入到 3M 盐酸溶液(20mL)中, 再加入二氯甲烷(20mL), 分液, 所得有机相用水洗涤两次(20mL), 浓缩, 残余物于乙醇中重结晶, 得产物 **K43-b** 为一白色固体(2.1g, 收率 76%)。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7.58(d, *J*=8.4Hz, 2H), 7.25(d, *J*=8.4Hz, 2H), 7.00-7.11(m, 3H), 5.96(s, 1H), 2.42(s, 3H), 2.04(s, 6H)。

所得化合物 **K43-b** (2.10g, 7.6mmol)溶于冰醋酸(AcOH) (40mL)中, 加入水(40mL)以及硝酸钠(1.3g, 15.2mmol), 冰浴降至 0℃, 加入浓硝酸(9mL), 加毕后反应体系加热回流 4h, TLC 监测反应完毕, 补加水(20mL), 冷却至 0℃, 大量淡黄色固体析出, 抽滤得产物 **K43-c**(1.9g, 收率 78%), 直接用于下步反应。

化合物 **K43-c**(1.9g, 5.9mmol)以及水(0.75mL)置于圆底烧瓶中, 加入浓硫酸(10mL), 40℃下保温反应过夜。冷却至室温, 倾入到碎冰以及 2M 氢氧化钠水溶液(15mL)中, 乙酸乙酯(50mL)萃取, 所得有机相用水洗两次(20mL), 饱和食盐水洗一次(20mL), 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 得产物 **K43-d** 为一黄色固体(980mg, 收率 100%), 直接用于下步反应。

于烧瓶中加入化合物 **K43-d**(1.52g, 5.9mmol)和二氯甲烷(DCM)(40mL), 搅拌溶解, 冰水浴降至 0℃, 加入二碳酸二叔丁酯(Boc₂O)(2.58g, 11.8mmol)。搅动下缓慢加入三乙胺(TEA)(1.77mL, 12.9mmol)和对二甲胺基吡啶(DMAP)(722mg, 5.9mmol)。半小时后升至室温并继续反应过夜。反应体系用 1M 盐酸(30mL)洗一次, 水洗两次(50mL), 饱和食盐水洗一次(40mL), 无水硫酸钠干燥, 浓缩后粗品硅胶柱层析纯化(洗脱剂为石油醚/乙酸乙酯 = 6:1)得产物 **K43-e** 为淡黄色固体(1.84g, 收率 85%), 直接用于下步反应。

上步反应得到的化合物 **K43-e**(1.84g, 5.0mmol)溶于乙酸乙酯(EtOAc)(20mL)中, 氮气保护下, 加入 10%的 Pd/C (55mg, 0.5mmol), 氢气置换三次后, 室温搅拌反应 4h。移去氢气, 氮气置换三次, 反应体系过滤, 滤液浓缩后得产物 **K43-f** (定量收率)。¹H NMR(300 MHz, CDCl₃): δ 6.38(s, 1H), 3.52(s, 2H), 2.05(s, 6H), 1.39(s, 18H)。

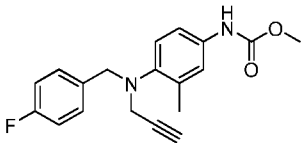
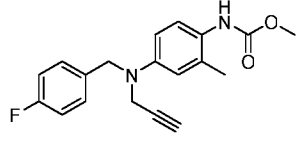
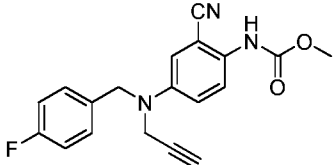
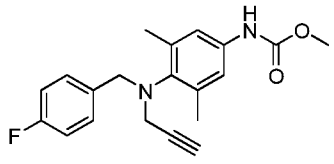
上步所得产物 **K43-f**(366mg, 1.0mmol)与对氟苯甲醛(108μL, 1.0mmol)于三颈烧瓶中, 加入甲苯(10mL), 套上分水器后加热回流 3h, 冷却至室温, 减压浓缩除去甲苯, 所得粗产物 **K43-g** 重新溶于甲醇(20mL), 剧烈搅拌下分批加入硼氢化钠 (NaBH₄) (76mg, 2.0mmol)。加毕后继续在室温下反应 2h。加入碎冰淬灭反应, 体系减压浓缩除去大部分甲醇, 残余物溶于乙酸乙酯(20mL), 水洗两次(15mL), 饱和食盐水洗一次(10mL), 无水硫酸钠干燥, 浓缩后粗产物硅胶柱层析(洗脱剂为石油醚/乙酸乙酯=10:1)纯化得苄基取代产物 **K43-h**(320mg, 收率 72%, 黄色固体)。

将上述所得化合物 **K43-h**(320mg, 0.72mmol)溶于 DMF(*N,N*-二甲基甲酰胺)(5mL)中,

加入 DIPEA(N,N-二异丙基乙基胺)(257 μ L, 1.44mmol)和炔丙基溴(84 μ L, 1.08mmol)。反应体系于 65 $^{\circ}$ C 下反应 4h, 向体系中滴加乙酸乙酯(50mL), 所得体系用水洗两次(25mL), 饱和食盐水洗一次(20mL)。无水硫酸钠干燥, 残余物硅胶柱层析(洗脱剂为石油醚/乙酸乙酯=15:1)纯化得炔丙基取代中间体 **K43-i**(312mg, 收率 90%)。

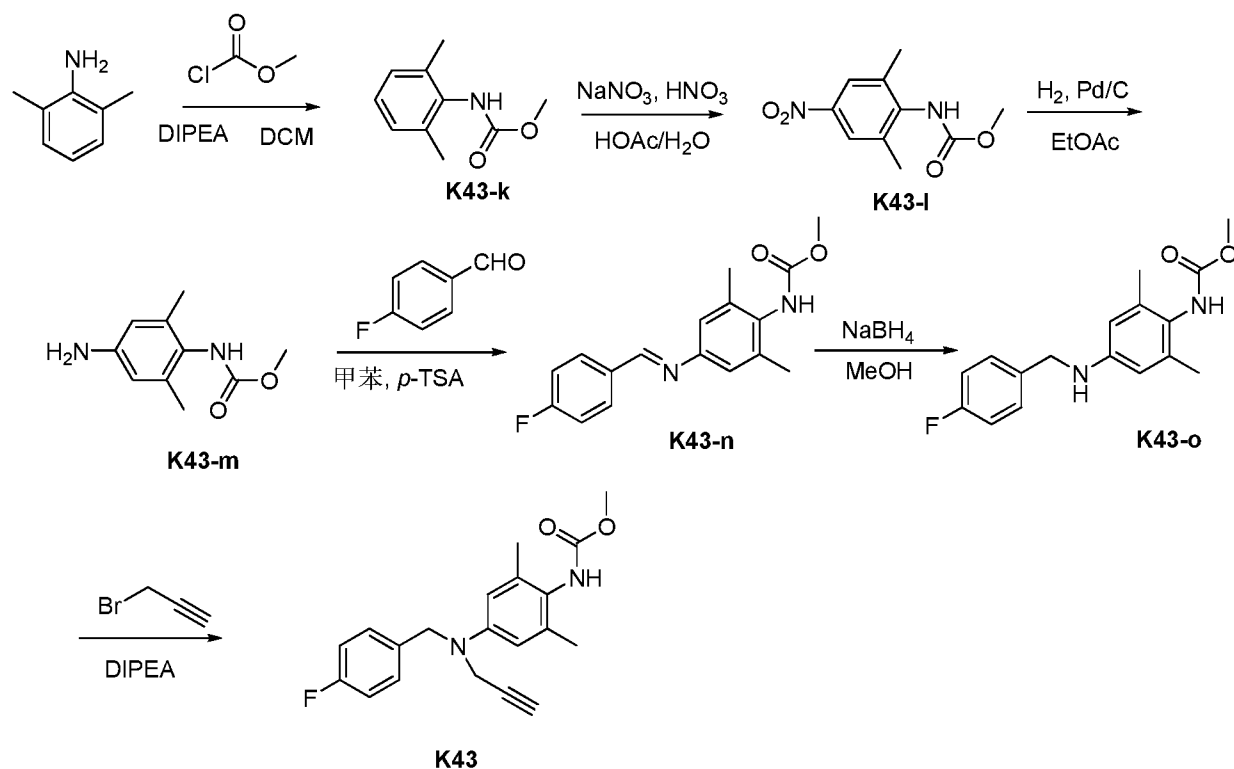
中间体 **K43-i**(48mg, 0.1mmol)溶于二氯甲烷(1mL), 冰浴下加入 TFA(三氟乙酸)(0.1mL), 保温反应 2h, 减压浓缩后所得粗产物 **K43-j** 重新溶于二氯甲烷(1mL), 冰水浴冷却下加入 DIPEA(35.0 μ L, 0.2mmol)和氯甲酸甲酯(11.7 μ L, 0.15mmol), 移去冰水浴后室温反应 1h, 浓缩后残余物硅胶柱层析(洗脱剂为石油醚/乙酸乙酯=8:1)得产物 **K43**(31mg, 收率 92%)。 ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3): δ 7.27(dd, $J=8.4, 5.4\text{Hz}$, 2H), 7.02(t, $J=9.0\text{Hz}$, 2H), 6.59(s, 2H), 5.87(brs, 1H), 4.48(s, 2H), 3.96(d, $J=2.1\text{Hz}$, 2H), 3.73(brs, 3H), 2.13(s, 6H), 2.26(t, $J=2.1\text{Hz}$, 1H)。 ^{13}C NMR(75 MHz, CDCl_3): δ 163.6($J=248.4\text{Hz}$), 155.2, 138.3, 137.5, 135.2, 133.7($J=9.2\text{Hz}$), 125.2, 122.0, 116.1($J=22.4\text{Hz}$), 80.4, 73.0, 58.7, 53.0, 47.0, 21.0。 HR-ESIMS (m/z): $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{FN}_2\text{O}_2$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ 计算值 341.1665, 实测值 341.1656。

制备实施例 1.2、采用与制备实施例 1 相似的操作, 制得下列化合物:

化合物	结构式	^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz)数据, δ
K40		7.35(dd, $J_1=8.4\text{Hz}$, $J_2=5.7\text{Hz}$, 2H), 7.17-7.26(m, 3H), 6.97-7.03(m, 2H), 6.75(s, 1H), 4.15(s, 2H), 3.76(s, 3H), 3.56(d, $J=2.1\text{Hz}$, 2H), 2.33(s, 3H), 2.25(t, $J=2.1\text{Hz}$, 1H)
K41		7.41(brs, 1H), 7.26-7.31(m, 2H), 6.99-7.05(m, 2H), 6.73-6.76(m, 2H), 6.23(s, 1H), 4.46(s, 2H), 3.96(d, $J=2.1\text{Hz}$, 2H), 3.75(s, 3H), 2.22-2.24(m, 4H)
K42		7.88(d, $J=8.7\text{Hz}$, 1H), 7.27-7.34(m, 2H), 6.98-7.17(m, 4H), 6.93(s, 1H), 4.46(s, 2H), 3.97(d, $J=2.1\text{Hz}$, 2H), 3.78(s, 3H), 2.27(t, $J=2.1\text{Hz}$, 1H)
K44		8.10(d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 7.86(s, 1H), 7.35(dd, $J_1=1.2\text{Hz}$, $J_2=8.4\text{Hz}$, 1H), 7.28(ddd, $J_1=3.0\text{Hz}$, $J_2=4.8\text{Hz}$, $J=8.1\text{Hz}$, 2H), 7.18(dd, $J_1=1.2\text{Hz}$, $J_2=7.8\text{Hz}$, 1H), 7.00(ddd, $J_1=2.7\text{Hz}$, $J_2=3.9\text{Hz}$, $J_3=11.4\text{Hz}$, 2H), 4.11(s, 2H), 3.79(s, 3H), 3.56(d, $J=2.7\text{Hz}$, 2H), 2.27(t, $J=2.4\text{Hz}$, 1H)

K45		7.37(dd, $J_1=6.0\text{Hz}$, $J_2=8.7\text{Hz}$, 2H), 7.24(brs, 1H), 7.04(d, $J=8.7\text{Hz}$, 1H), 6.98(t, $J=8.7\text{Hz}$, 2H), 6.69(dd, $J_1=2.4\text{Hz}$, $J_2=8.4\text{Hz}$, 1H), 6.63(brs, 1H), 4.22(s, 2H), 3.88(s, 2H), 3.76(s, 3H), 2.24(t, $J=2.1\text{Hz}$, 1H)
K46		7.89(brs, 1H), 7.31(dd, $J_1=6.0\text{Hz}$, $J_2=8.1\text{Hz}$, 2H), 6.94-7.05(m, 3H), 6.53(dd, $J_1=2.4\text{Hz}$, $J_2=9.0\text{Hz}$, 1H), 6.47(s, 1H), 4.45(s, 2H), 3.95(d, $J=2.1\text{Hz}$, 2H), 3.79(s, 3H), 3.72(s, 3H), 2.58(t, $J=2.1\text{Hz}$, 1H)
K48		δ 7.92(brs, 1H), 7.25-7.30(m, 2H), 7.03(d, $J=8.7\text{Hz}$, 2H), 6.81(dd, $J=8.7$, 2.7Hz, 1H), 6.77(s, 1H), 6.63(s, 1H), 4.46(s, 2H), 3.96(d, $J=2.1\text{Hz}$, 2H), 3.78(s, 3H), 2.26(t, $J=2.1\text{Hz}$, 1H)
K49		8.40(brs, 1H), 7.24(dd, $J=8.4$, 5.4Hz, 2H), 7.11(d, $J=9.3\text{Hz}$, 2H), 7.02(d, $J=9.3\text{Hz}$, 2H), 6.82-6.85(m, 2H), 4.50(s, 2H), 4.10(s, 3H), 3.93(d, $J=2.1\text{Hz}$, 2H), 2.24(t, $J=2.1\text{Hz}$, 1H)

制备实施例 2: 4-(N-对氟苄基-N-炔丙基-胺基)-2,6-二甲基苯基胺基甲酸甲酯(K43)的合成



2,6-二甲基苯胺(40g, 0.33mol)溶于二氯甲烷(250mL), 向此溶液中加入 DIPEA(115mL,

0.66mol)。然后冰水浴下缓慢滴加氯甲酸甲酯(38.35ml, 0.5mol), 滴加完毕后, 反应体系自然升温到室温, 搅拌过夜, TLC 显示原料反应完全。向反应体系中缓慢加入 1% HCl (60mL), 搅拌分层, 水层再用二氯甲烷萃取。合并有机相后用饱和氯化钠洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩。粗产物溶于少量二氯甲烷中, 滴加石油醚, 固体析出, 得中间体 **K43-k**(59g, 收率 88%)。¹HNMR(300 MHz, CDCl₃): δ 7.08(s, 3H), 6.03(s, 1H), 3.76(s, 3H), 2.27(s, 6H)。

化合物中间体 **K43-k**(20g)溶于醋酸(90mL), 加水(80mL)和亚硝酸钠(19.0, 0.223mol)。冰水浴冷却下滴加加 65%浓硝酸(55mL), 滴加过程中控制体系内温不高于 5℃。滴加完全后, 反应体系缓慢升至室温并搅拌 30min, 然后加热到 140℃回流 4h。反应体系降到室温后倾入入冰水中淬灭, 有固体析出, 过滤后干燥, 得中间体 **K43-l**(17.8g, 收率 71%)。¹HNMR(300MHz, CDCl₃): δ 7.964 (s, 1H) , 7.082 (s, 1H) , 3.786 (s, 3H) , 2.364 (s, 3H) , 2.265(s, 3H)。

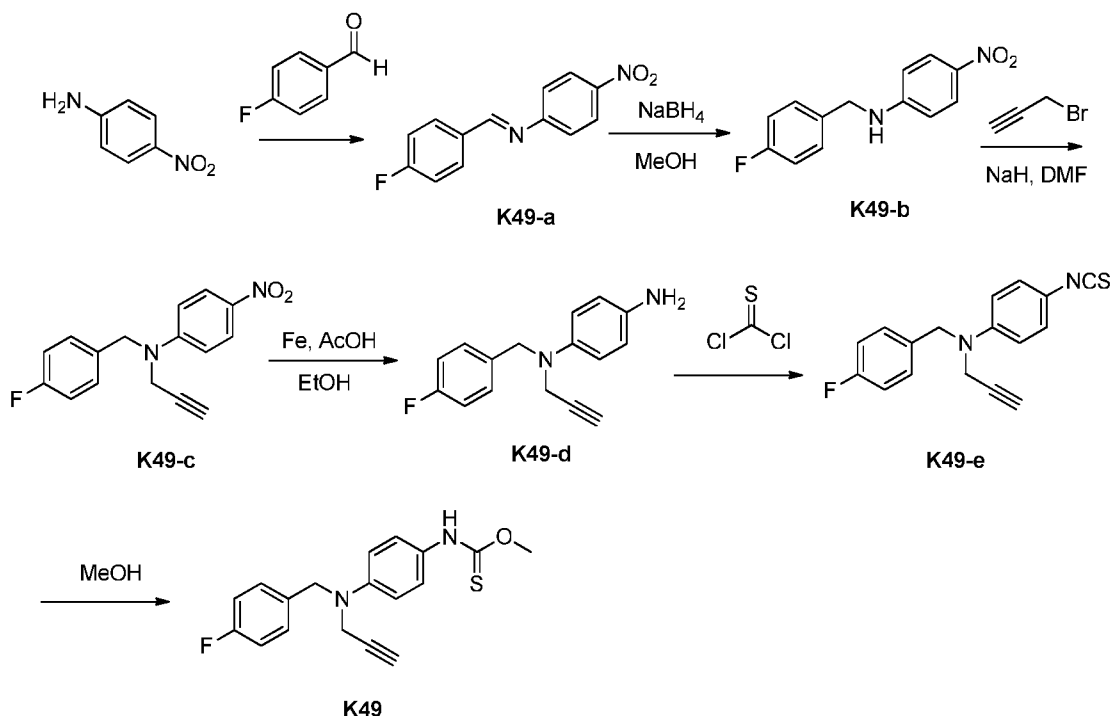
中间体 **K43-l**(15g, 0.067mol)溶于乙酸乙酯(200mL), 氮气保护下加入 10%钯/碳(1.5g), 氢气置换三次后, 室温反应过夜。反应体系过滤, 滤液浓缩, 定量收率得到中间体 **K43-m**, 直接进行下一步反应。

中间体 **K43-m**(13g, 0.067mol)溶于甲苯(100mL), 加入对甲苯磺酸(0.38g, 0.002mol)和对氟苯甲醛(12.45g, 10.8ml), 装上分水器后加热回流分水 4-5h。TLC 检测原料反应完全。反应体系减压浓缩, 得中间体 **K43-n** 粗产物, 直接用于下步反应。所得粗产物 **K43-n** 溶于甲醇(150mL), 冰水浴冷却下分批加入硼氢化钠(5.07g, 0.13mol)。然后移去冰水浴, 室温下反应 1-2h, TLC 检测反应完全。反应体系倒入冰水浴中, 搅拌, 有固体析出, 过滤干燥, 得化中间体 **K43-o** 粗品。所得中间体 **K43-o** 粗品溶于少量二氯甲烷中, 搅拌下滴加石油醚, 有近白色固体析出, 过滤, 干燥后得中间体 **K43-o**(11.1g, 两步反应收率 55%)。¹HNMR(300MHz, CDCl₃): δ 7.335-7.306 (dd, *J*=8.7Hz, 1H), 7.306-7.287(dd, *J*=5.7Hz, 1H), 7.049-7.027(dd, *J*=6.6Hz, 1H) , 7.027-6.991(dd, *J*=10.8 Hz, 1H), 6.331(s, 2H), 5.892(s, 1H), 4.257(s, 2H), 3.933(s, 1H), 3.744(s, 3H), 2.164 (s, 6H)。

中间体 **K43-o**(10g, 0.033mol)溶于 DMF (80mL), 加入 DIPEA (8.54g, 0.066mol)和炔丙基溴(2.74mL, 0.036mol), 然后反应体系在 60℃下反应 5h, TLC 检测原料反应完全。反应体系倾入水中, 搅拌, 有固体析出。过滤, 干燥, 所得 **K43** 粗产物溶于少量二氯甲烷中, 滴加石油醚, 有固体析出。过滤。得化合物 **K43**(9.8g, 收率 87%), 核磁氢谱与制备实施例 1 所得到 **K43** 一致。

制备实施例 3:

制备实施例 3.1、4-(N-对氟苄基-N-炔丙基-胺基)-苯基氨基硫代甲酸甲酯(K49)的合成



化合物对硝基苯胺(2.76g, 20.0mmol)与对氟苯甲醛(2.1mL, 20.0mmol)于 150mL 三颈烧瓶中, 加入甲苯(60mL), 回流分水器分水 3h, 冷却至室温, 减压浓缩, 除去甲苯, 所得中间体 **K49-a** 重新溶于甲醇(40mL), 剧烈搅拌下分批加入 NaBH_4 (1.52g, 40.0mmol), 加毕后室温反应 3h。加入碎冰淬灭反应, 剧烈搅拌下逐滴加水(30mL), 有大量固体析出, 抽滤, 滤饼无水乙醚(10mL)洗两次, 得到产物 **K49-b**(3.4g, 收率 70%, 黄色固体)。 ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3): δ 8.08(d, $J=9.3\text{Hz}$, 2H), 7.31(dd, $J_1=5.4\text{Hz}$, $J_2=8.4\text{Hz}$, 2H), 7.06(t, $J=8.7\text{Hz}$, 2H), 6.57(d, $J=9.3\text{Hz}$, 2H), 4.86(s, 1H), 4.41(d, $J=2.7\text{Hz}$, 2H)。

化合物 **K49-b**(3.4g, 14.0mmol)溶于 DMF(40mL)中, 冰浴冷却下快速加入 NaH(616mg, 15.4mmol), 加毕后室温反应 0.5h。加入炔丙基溴(1.22mL, 15.4mmol), 65°C 反应 4h, 向体系中滴加乙酸乙酯(80mL), 转移至分液漏斗, 水洗两次(40mL)。合并有机相, 饱和食盐水洗一次(30mL)。无水硫酸钠干燥, 浓缩过柱(PE/EA=8:1)得产物 **K49-c**(3.4g, 收率 86%)。 ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3): δ 8.14(d, $J=9.0\text{Hz}$, 2H), 7.26(dd, $J=5.4$, 8.4Hz, 2H), 7.04(t, $J=8.7\text{Hz}$, 2H), 6.79(d, $J=9.3\text{Hz}$, 2H), 4.68(s, 2H), 4.17(d, $J=2.1\text{Hz}$, 2H), 2.32(t, $J=2.1\text{Hz}$, 1H)。

将所得的化合物 **K49-c**(3.4g, 12.0mmol)溶于无水乙醇(50mL), 加入冰醋酸(3.0mL), Fe 粉(1.3g), 回流 4h, 过滤除去未反应铁粉, 将滤液浓缩至近干, 重新溶于乙酸乙酯(70mL), 转移至分液漏斗, 饱和碳酸氢钠水溶液洗一次(20mL), 水洗两次(40mL)。合并有机相, 饱和食盐水洗一次(30mL)。无水硫酸钠干燥, 浓缩除去溶剂后所得残余物硅胶柱层析纯

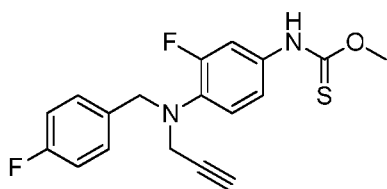
化(洗脱剂为石油醚/乙酸乙酯=4:1, 3:1)得产物 **K49-d**(1.95g, 收率 64%, 棕色固体)。

^{13}C NMR(75 MHz, CDCl_3): δ 162.3(J =243.3Hz), 142.4, 140.2, 134.6, 129.8(J =8.0Hz), 118.9, 116.5, 115.5(J =21.1Hz), 80.0, 73.0, 55.6, 41.4。

化合物 **K49-d** (508mg, 2.0mmol)溶于二氯甲烷(10mL), 加入三乙胺(750 μ L, 5.2mmol), 冰浴下滴加硫光气(300 μ L, 2.6mmol), 加毕室温反应 3h。浓缩除去溶剂后所得残余物硅胶柱层析纯化(洗脱剂为石油醚/乙酸乙酯=10:1)得产物 **K49-e**(576mg, 收率 96.0%, 黄色油状物)。 ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3): δ 7.24(dd, J =8.4, 5.4Hz, 2H), 7.12(d, J =9.3Hz, 2H), 7.03(t, J =8.7Hz, 2H), 6.78(d, J =9.3Hz, 2H), 4.53(s, 2H), 4.03(d, J =2.1Hz, 2H), 2.25(t, J =2.1Hz, 1H)。

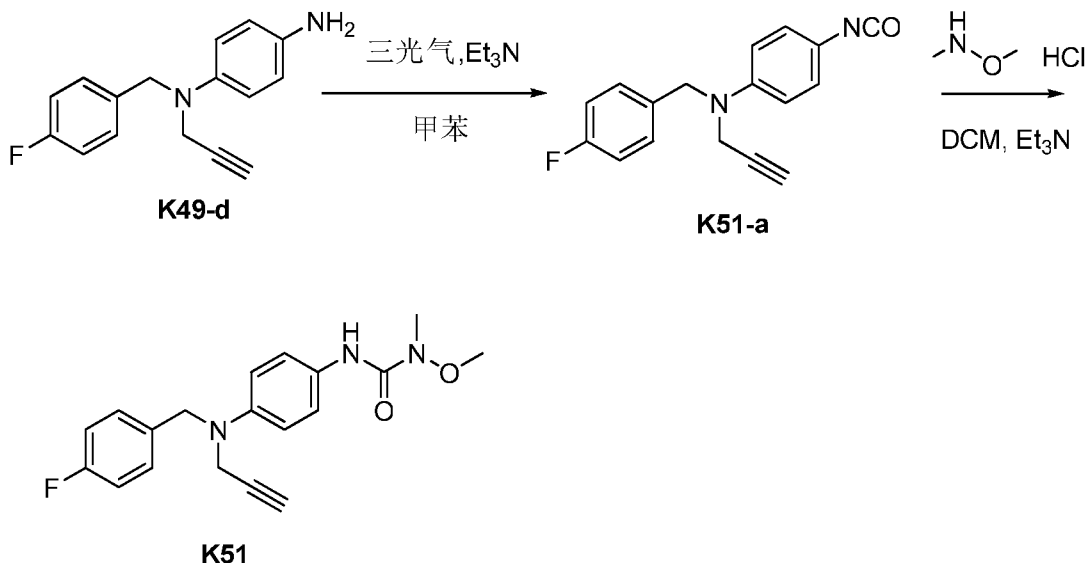
化合物 **K49-e** (150mg, 0.5mmol)溶于甲醇(5mL), 回流反应过夜。浓缩除去溶剂后粗产物硅胶柱层析纯化(洗脱剂为石油醚/乙酸乙酯=8:1)得产物 **K49**(142mg, 收率 87.0%, 黄色油状物)。 ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3): δ 8.40(brs, 1H), 7.24(dd, J =8.4, 5.4Hz, 2H), 7.11(d, J =9.3Hz, 2H), 7.02(d, J =9.3Hz, 2H), 6.82-6.85(m, 2H), 4.50(s, 2H), 4.10(s, 3H), 3.93(d, J =2.1Hz, 2H), 2.24(t, J =2.1Hz, 1H)。

制备实施例 3.2、4-(*N*-对氟苄基-*N*-炔丙基-胺基)-3-氟苯基胺基硫代甲酸甲酯(**K50**)的合成



K50

采用与制备实施例 3.2 相似的操作, 制得化合物 **K50**。 ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz): δ 8.25(brs, 1H), 7.38(dd, J =5.4, 8.4Hz, 2H), 7.09-7.15(m, 2H), 7.02(t, J =9.3Hz, 2H), 4.28(s, 2H), 4.12(brs, 3H), 3.93(d, J =2.1Hz, 2H), 2.27(t, J =2.1Hz, 1H)。

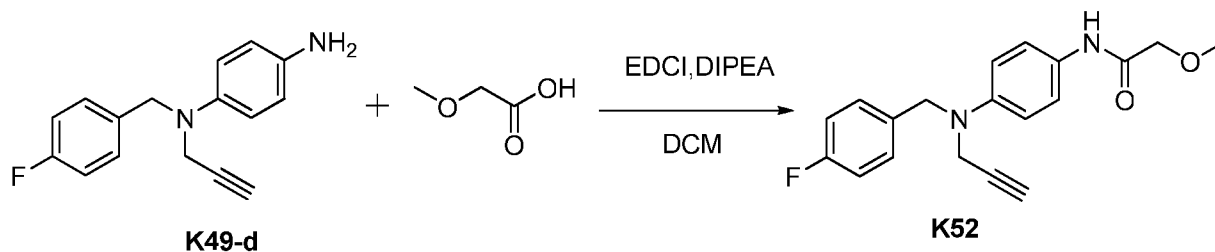


化合物 **K49-d**(508mg, 2.0mmol)溶于无水甲苯(10mL), 加入三乙胺(1.07mL, 6.0mmol)和三光气(356mg, 1.2mmol), 加毕回流反应 3h。浓缩除去溶剂后所得残余物硅胶柱层析纯化(洗脱剂为石油醚/乙酸乙酯=10:1)得产物 **K51-a**(536mg, 收率 96%, 黄色固体)。

化合物 **K51-a** (84mg, 0.3mmol)以及 N,O-二甲基羟胺盐酸盐(35mg, 0.36mmol)溶于无水甲苯(5mL), 再加入三乙胺(82μL, 0.6mmol), 室温反应过夜。浓缩除去溶剂后所得残余物硅胶柱层析纯化(洗脱剂为石油醚/乙酸乙酯=8:1)得产物 **K51** (90mg, 收率 88%, 黄色油状物)。¹HNMR(300 MHz, CDCl₃): δ 7.54(brs, 1H), 7.32(dd, *J*=8.4, 5.4Hz, 2H), 7.24(d, *J*=9.3Hz, 2H), 7.01(t, *J*=8.4Hz, 2H), 6.89(d, *J*=9.3Hz, 2H), 4.45(s, 2H), 3.94(d, *J*=2.1Hz, 2H), 3.75(s, 3H), 3.17(s, 3H), 2.21(t, *J*=2.1Hz, 1H)。

制备实施例 4:

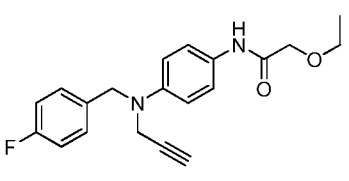
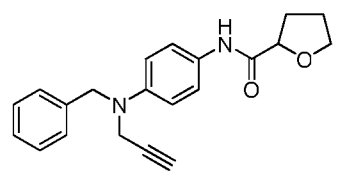
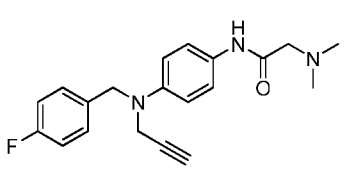
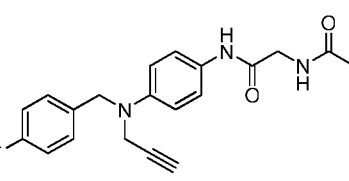
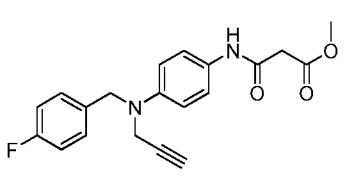
制备实施例 4.1、N-[4-(N-对氟苄基-N-炔丙基-胺基)-苯基]-2-甲氧基乙酰胺(K52)的合成

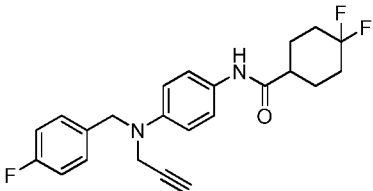


化合物 **K49-d**(100mg, 0.4mmol)以及甲氧基乙酸(34μL, 0.44mmol)、EDCI(1-乙基-3-(3-二甲胺丙基)碳二亚胺盐酸盐)(92mg, 0.48mmol)溶于无水二氯甲烷(5mL)中, 再加入 DIPEA (107μL, 0.6mmol), 室温反应 4h。向体系中加入 20ml 乙酸乙酯, 转移至分液漏斗, 水洗两次(10mL)。合并有机相, 饱和食盐水洗一次(10mL)。无水硫酸钠干燥, 浓缩除去溶剂

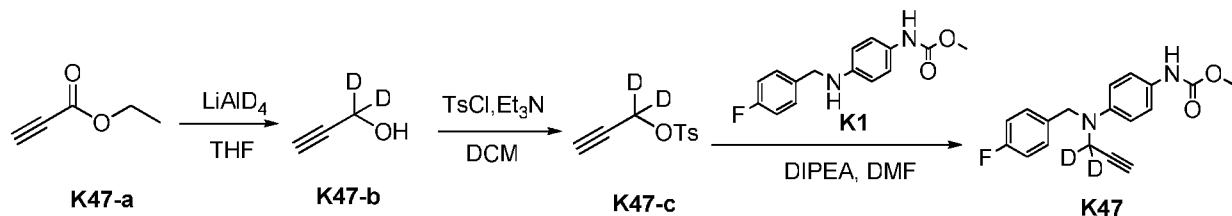
后所得残余物硅胶柱层析纯化(洗脱剂为石油醚/乙酸乙酯=8:1)得产物 **K52**(104mg, 收率 80%)。¹H NMR(300 MHz, CDCl₃): δ 8.10(s, 1H), 7.43(d, *J*=9.0Hz, 2H), 7.27(dd, *J*=5.4, 8.4Hz, 2H), 7.02(t, *J*=8.7Hz, 2H), 6.86(d, *J*=9.0Hz, 2H), 4.47(s, 2H), 4.00(s, 3H), 3.96(d, *J*=2.1Hz, 2H), 3.49(s, 3H), 2.22(t, *J*=2.1Hz, 1H)。¹³C NMR(75 MHz, CDCl₃): δ 167.4, 162.3(*J*=243.6Hz), 146.1, 134.1, 134.0, 129.2(*J*=8.0Hz), 121.7, 115.8(*J*=21.6Hz), 115.6, 79.6, 72.7, 72.3, 59.5, 54.9, 40.5。HR-ESIMS (*m/z*): C₁₉H₂₀FN₂O₂ [M+H]⁺ 计算值 327.1509, 实测值 327.1501。

制备实施例 4.2、采用与制备实施例 1 相似的操作, 从中间体 K49-d 出发, 与相应的酸缩合, 制得下列化合物:

K53		8.15(s, 1H), 7.43(d, <i>J</i> =9.3Hz, 2H), 7.28(dd, <i>J</i> =8.4, 5.4Hz, 2H), 7.02(t, <i>J</i> =8.7Hz, 2H), 6.87(d, <i>J</i> =9.0Hz, 2H), 4.47(s, 2H), 4.04(s, 2H), 3.96(d, <i>J</i> =2.1Hz, 2H), 3.64(q, <i>J</i> =6.9Hz, 2H), 2.22(t, <i>J</i> =2.1Hz, 1H), 1.30(t, <i>J</i> =6.9Hz, 3H)
K54		8.32(s, 1H), 7.45(d, <i>J</i> =9.0Hz, 2H), 7.29(dd, <i>J</i> =8.4, 5.4Hz, 2H), 7.01(t, <i>J</i> =8.7Hz, 2H), 6.86(d, <i>J</i> =9.0Hz, 2H), 4.46(s, 2H), 3.96-4.03(m, 5H), 2.32-2.38(m, 1H), 2.14-2.23(m, 2H), 1.90-1.95(m, 2H)
K55		8.92(s, 1H), 7.46(d, <i>J</i> =9.0Hz, 2H), 7.28(dd, <i>J</i> =8.7, 5.4Hz, 2H), 7.01(t, <i>J</i> =8.7Hz, 2H), 6.87(d, <i>J</i> =9.0Hz, 2H), 4.46(s, 2H), 3.96(d, <i>J</i> =2.1Hz, 2H), 3.05(s, 2H), 2.36(s, 6H), 2.22(t, <i>J</i> =2.1Hz, 1H)
K56		8.51(s, 1H), 7.38(d, <i>J</i> =9.0Hz, 2H), 7.26(dd, <i>J</i> =8.7, 5.4Hz, 2H), 7.01(t, <i>J</i> =8.7Hz, 2H), 6.84(d, <i>J</i> =9.0Hz, 2H), 6.71(s, 1H), 4.45(s, 2H), 4.08(d, <i>J</i> =5.1Hz, 2H), 3.95(d, <i>J</i> =2.1Hz, 2H), 2.21(t, <i>J</i> =2.1Hz, 1H), 2.01(s, 3H)
K57		8.95(s, 1H), 7.42(d, <i>J</i> =9.0Hz, 2H), 7.29(dd, <i>J</i> =8.4, 5.4Hz, 2H), 7.01(t, <i>J</i> =8.7Hz, 2H), 6.84(d, <i>J</i> =9.0Hz, 2H), 4.47(s, 2H), 3.97(d, <i>J</i> =2.1Hz, 2H), 3.79(s, 3H), 3.46(s, 2H), 2.22(t, <i>J</i> =2.1Hz, 1H)

K58		7.37(d, $J=9.3\text{Hz}$, 2H), 7.27(dd, $J=8.4, 5.4\text{Hz}$, 2H), 7.01(t, $J=8.7\text{Hz}$, 2H), 6.84(d, $J=9.0\text{Hz}$, 2H), 4.46(s, 2H), 3.96(d, $J=2.1\text{Hz}$, 2H), 2.18-2.36(m, 4H), 1.68-2.06(m, 6H)
------------	---	---

制备实施例 5: 4-(N-对氟苄基-N-3,3-二氘代炔丙基-胺基)-苯胺甲酸甲酯 (K47) 的合成

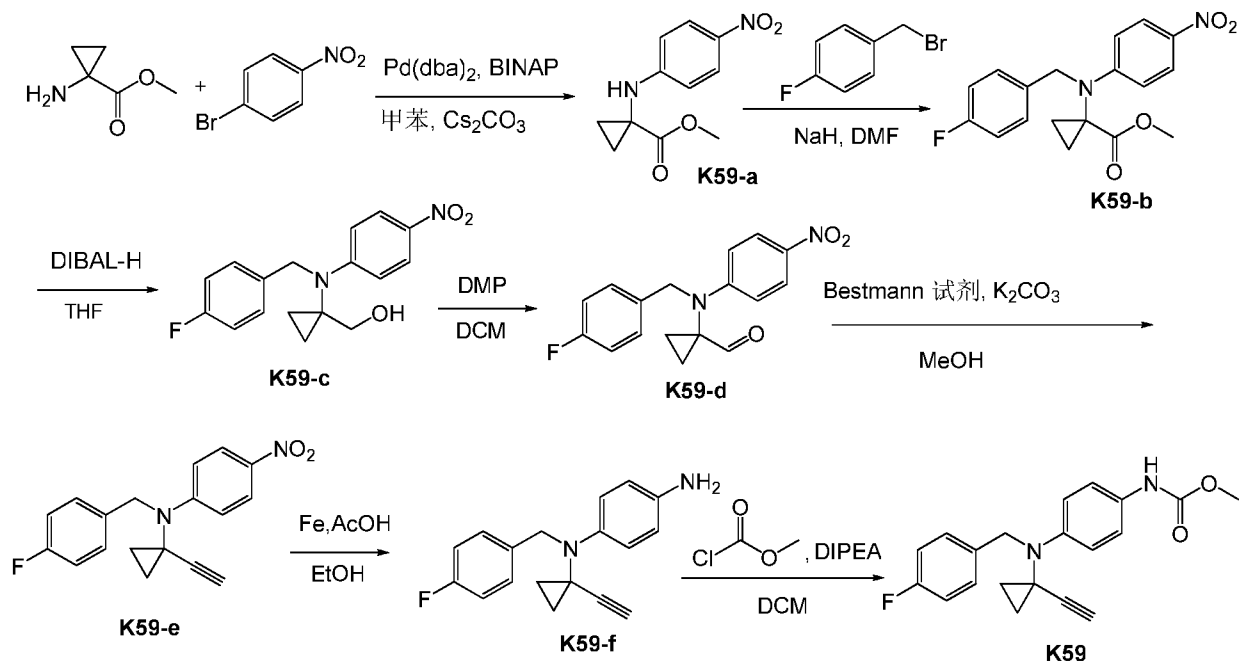


化合物炔丙酸乙酯 **K47-a** (0.51mL, 5.0mmol) 溶于无水四氢呋喃 (THF) (10mL), 干冰-丙酮浴冷却下, 向上述溶液缓慢加入铝锂氘 (157.5mg, 3.75mmol), 然后升温至 -40°C , 保温反应 5h。反应体系用 0.5mL 甲醇淬灭, 并升至室温, 再用饱和氯化铵水溶液淬灭。反应体系中用 20mL 乙醚萃取, 所得有机相水洗两次 (15mL), 饱和食盐水洗一次 (10mL), 无水硫酸钠干燥, 小心浓缩至约 1mL 溶剂, 所得中间体 **K47-b** 直接用于下步反应。

上步所得中间体 **K47-b** 溶于二氯甲烷 (10mL), 冰浴冷却下加入对甲苯磺酰氯 (1.15g, 6mmol), 三乙胺 (0.82mL, 6mmol), 保温反应 2h。反应体系倾入碎冰中, 乙醚萃取, 所得有机相水洗两次 (20mL) 后浓缩, 粗产物硅胶柱层析纯化 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=8:1) 得中间体对甲苯磺酸酯 **K47-c**, (80mg, 收率 13%, 黄色固体)。 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7.82(d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 7.35(d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 2.45(s, 3H), 2.04(s, 1H)。

K1 按照专利 WO2013060097 制备实施例 1 的方法制备。对甲苯磺酸酯 **K47-c** (40mg, 0.19mmol) 和化合物 **K1** (52mg, 0.19mmol) 溶于 DMF (3mL) 中, 加入 DIPEA (0.175mL, 1.0mmol)。 65°C 反应 4h 后, 向体系中滴加乙酸乙酯 (20ml), 转移至分液漏斗, 水洗两次 (15mL)。所得有机相再用饱和食盐水洗一次 (10mL)。无水硫酸钠干燥, 浓缩后所得 **K47** 粗品硅胶柱层析纯化 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=8:1) 得化合物 **K47** (55mg, 收率 92%, 黄色油状物)。 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7.25-7.31(m, 4H), 7.02(t, $J=8.7\text{Hz}$, 2H), 6.85(d, $J=8.7\text{Hz}$, 2H), 6.68(s, 1H), 4.44(s, 2H), 3.75(s, 3H), 2.23(s, 1H)。

制备实施例 6: 4-(N-对氟苄基-N-3-环丙基炔丙基-胺基)-苯胺甲酸甲酯 (K59) 的合成



化合物氨基环丙基甲酸甲酯 (690mg, 6mmol), 碳酸铯 (3.90g, 12mmol), BINAP (联萘二苯磷, 124mg, 0.2mmol) 以及对溴硝基苯 (1.2g, 6mmol) 溶于无水甲苯 (50mL) 中, 氩气充分置换后, 快速加入催化剂 Pd(dba)_2 (双二亚苄基丙酮钯, 182mg, 0.2mmol), 加毕后加热回流反应 6h。冷却至室温后向体系中滴加 60ml 乙酸乙酯, 所得有机相用水洗两次 (30mL), 饱和食盐水洗一次 (10mL), 无水硫酸钠干燥, 浓缩除去溶剂后粗产物硅胶柱层析纯化 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=10:1) 得中间体 **K59-a** (1.06g, 收率 75%, 棕色固体)。 $^1\text{H NMR}$ (300MHz, CDCl_3): δ 8.10(d, $J=8.7\text{Hz}$, 2H), 6.67(d, $J=8.7\text{Hz}$, 2H), 5.11(brs, 1H), 3.74(s, 3H), 1.68-1.72(m, 2H), 1.20-1.24(m, 2H)。

中间体 **K59-a** (1.06g, 4.5mmol) 溶于 DMF (20mL) 中, 冰浴下快速加入氢化钠 (NaH) (216mg, 5.4mmol), 加毕后移去冰浴并室温下继续反应 1h。然后加入对氟苄溴 (0.622mL, 5.0mmol), 65°C 下反应 3h。然后向体系中加入 40ml 乙酸乙酯, 所得有机相用水洗两次 (30mL), 饱和食盐水洗一次 (30mL), 无水硫酸钠干燥, 浓缩除去溶剂后粗产物硅胶柱层析纯化 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=12:1) 得中间体 **K59-b** (1.20g, 收率 83%)。

中间体 **K59-b** (340mg, 1.0mmol) 溶于无水四氢呋喃 (10mL), 干冰丙酮浴冷却下, 逐滴滴加的 DIBAL-H (二异丁基氢化铝, 1M THF 溶液, 1.6mL, 1.6mmol), 加毕后保温继续反应 5h, 然后加入 0.5ml 甲醇淬灭反应, 并升温至室温。向体系中滴加 20mL 乙酸乙酯, 所得混合物分布用 1M 盐酸水溶液 (10mL) 洗一次, 水洗两次 (15mL), 饱和食盐水洗一次 (10mL)。有机相无水硫酸钠干燥, 浓缩除去溶剂后, 粗产物硅胶柱层析纯化 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=6:1) 得中间体 **K59-c** (177mg, 收率 56%, 油状物)。 $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 7.99(d, $J=9.3\text{Hz}$, 2H), 6.96-7.02(m, 4H), 6.74(d, $J=9.7\text{Hz}$, 2H),

4.73-4.94(m, 2H), 4.21(brs, 1H), 3.48(brs, 1H), 1.23-1.27(m, 4H)。

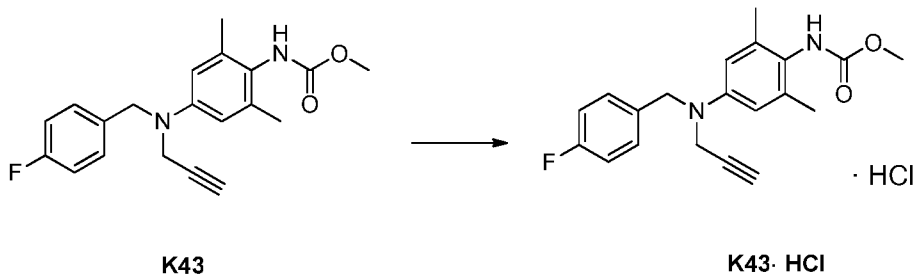
中间体 **K59-c** (177mg, 0.56mmol) 溶于二氯甲烷 (5ml) 中, 加入 DMP (戴斯-马丁氧化剂, 367mg, 0.84mmol)。室温反应 4h, 反应体系浓缩后硅胶柱层析纯化 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=10:1) 得中间体 **K59-d** (150mg, 收率 85%, 黄色固体)。¹HNMR(300MHz, CDCl₃): δ 9.11(s, 1H), 8.05(d, *J*=10.5Hz, 2H), 6.99-7.11(m, 4H), 6.68(d, *J*=10.5Hz, 2H), 4.87(d, *J*=17.4Hz, 1H), 4.65(d, *J*=17.4Hz, 1H), 1.95-2.00(m, 1H), 1.51-1.63(m, 3H)。

中间体 **K59-d** (150mg, 0.48mmol) 以及无水碳酸钾 (K₂CO₃) (132mg, 0.96mmol) 溶于甲醇 (5mL) 中, 滴加 Bestmann 试剂 (重氮甲基膦酸二甲酯, 110mg, 0.58mmol)。室温反应过夜后, 浓缩, 所得残余物重新溶于 20mL 乙酸乙酯, 分布用水洗两次 (15mL), 饱和食盐水洗一次 (10mL), 无水硫酸钠干燥, 浓缩除去溶剂后所得粗产物硅胶柱层析纯化 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=8:1) 得中间体 **K59-e** (106mg, 收率 71%, 棕色固体)。¹HNMR(300 MHz, CDCl₃): δ 8.10(d, *J*=9.3Hz, 2H), 7.09-7.12(m, 2H), 6.98-7.04(m, 2H), 6.92(d, *J*=9.3Hz, 2H), 4.75(s, 2H), 2.19(s, 1H), 1.21-1.25(m, 4H)。

将所得中间体 **K59-e** (106mg, 0.34mmol) 溶于无水乙醇 (5mL), 加入冰醋酸 (0.2mL), 铁粉 (60mg), 反应体系回流 3h, 过滤除去未反应铁粉, 滤液充分浓缩后所得残余物重新溶于 20ml 乙酸乙酯, 分别用饱和碳酸氢钠水溶液洗一次 (10mL), 水洗两次 (15mL), 饱和食盐水洗一次 (10mL), 无水硫酸钠干燥, 浓缩除去溶剂后所得粗产物硅胶柱层析纯化 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=6:1, 4:1) 得中间体 **K59-f** (82mg, 收率 86%, 黄色固体)。¹HNMR(300 MHz, CDCl₃): δ 7.20(dd, *J*=8.4, 5.4Hz, 2H), 6.98(t, *J*=8.4Hz, 2H), 6.84(d, *J*=9.3Hz, 2H), 6.60(d, *J*=9.3Hz, 2H), 4.50(s, 2H), 3.36(brs, 2H), 2.14(s, 1H), 1.18-1.20(m, 2H), 1.04-1.07(m, 2H)。

中间体 **K59-f** (82mg, 0.28mmol) 溶于二氯甲烷 (5mL), 加入 DIPEA (0.10mL, 0.56mmol), 冰浴下滴加氯甲酸甲酯 (34μL, 0.44mmol), 加毕后体系于室温下反应半小时, 然后向体系中滴加 10ml 乙酸乙酯, 所得有机相分别用水洗两次 (10mL), 饱和食盐水洗一次 (10mL), 无水硫酸钠干燥, 浓缩除去溶剂后粗产物硅胶柱层析纯化 (洗脱剂: 石油醚/乙酸乙酯=6:1) 得产物 **K59** (86mg, 收率 91%, 黄色油状物)。¹HNMR(300 MHz, CDCl₃): δ 7.15-7.21(m, 4H), 6.98(t, *J*=8.4Hz, 2H), 6.88(d, *J*=9.0Hz, 2H), 6.38(s, 1H), 4.59(s, 2H), 3.74(s, 3H), 2.13(s, 1H), 1.26-1.29(m, 2H), 1.10-1.14(m, 2H)。¹³CNMR(75 MHz, CD₃OD): δ 162.1(*J*=147.8Hz), 155.2, 144.6, 135.9, 131.3, 128.3(*J*=6.0Hz), 120.2, 115.8, 114.9(*J*=21.0Hz), 84.8, 68.4, 55.9, 51.3, 42.6, 18.8。HR-ESIMS (*m/z*): 计算值 C₂₀H₂₀FN₂O₂ [M+H]⁺ 339.1509, 实测值 339.1505。

制备实施例 7：4-(N-对氟苄基-N-炔丙基-胺基)-2,6-二甲基苯基胺基甲酸甲酯盐酸盐的制备(K43 · HCl)



取化合物 4-(N-对氟苄基-N-炔丙基-胺基)-2,6-二甲基苯基胺基甲酸甲酯(K43)(510mg, 1.5mmol)溶于二氯甲烷(5mL), 加入氯化氢的乙酸乙酯溶液(5N, 1mL), 搅拌 10 分钟后减压浓缩除去溶剂, 即得到 4-(N-对氟苄基-N-炔丙基-胺基)-2,6-二甲基苯基胺基甲酸甲酯-盐酸盐(K43 · HCl)(565mg)。

采用与制备实施例 7 相似的方法, 可分别得到其它化合物的盐酸盐。

二、电生理实验实施例

电生理实验实施例 1：电生理实验所用细胞系为中华仓鼠卵巢细胞系(CHO-K1)；KCNQ cDNA 通过转化大肠杆菌，在大肠杆菌中表达后，通过质粒抽提及测序确认

1、细胞培养与转染

中华仓鼠卵巢细胞 (CHO-K1)(中国科学院细胞库) 培养液配方：50/50 DMEM/F-12(Cellgro, Mamassas, VA), 加入 10%小牛血清(FBS)(Gibco, 澳大利亚), 2mM L-谷氨酸(Invitrogen)。KCNQ 通道的表达：转染前 24 小时铺 CHO-K1 细胞与 60mm 皿中；转染使用 Lipofectamine2000TM 试剂(Invitrogen), 根据其 protocol 进行操作；与 GFP(绿色荧光蛋白)共转染以作为细胞可能成功转入 KCNQ 质粒的指示。

2、CHO 细胞上的电生理记录：

在室温下, 采用 Axopatch-200B 放大器(Molecular Devices, Sunnyvale, CA)进行全细胞式电压钳记录。电极由硼硅酸盐玻璃毛细管(World Precision Instruments, Sarasota, FL)拉制而成, 电极内填充细胞内液后的电阻为 3-5MΩ。细胞内液配方(1L): 145mM KCl(Sigma), 1 mM MgCl₂(Sigma), 5 mM EGTA (Sigma), 10 mM HEPES(Sigma), 5mM MgATP (Sigma)(KOH 调至 pH=7.3)。记录期间, 通过 BPS 灌流系统(ALA Scientific Instruments, Westburg, NY)持续灌流。细胞外液组分(1L): 140 mM NaCl(Sigma), 5mM KCl(Sigma), 2 mM CaCl₂(Sigma), 1.5 mM MgCl₂(Sigma), 10 mM HEPES(Sigma), 10 mM Glucose(Sigma)(NaOH 调至 pH=7.4)。电信号 1kHz 滤波后用 DigiData 1322A 在 pClamp 9.2 软件(Molecular Devices, Sunnyvale, CA)中转换为数字信号。串联电阻补偿 60-80%。目

前的研究中采用多电压方案。方案中钳制电压在-80mV，刺激电压为-90 mV 到 60 mV、间隔为 10 mV 的梯度电压，每种电压刺激时长 2000ms。

3. 实验结果：

$V_{1/2}$ 为半数激活电压， $\Delta V_{1/2}$ 为半数激活电压移动值，负号(-)表示激活曲线左移。 I/I_0 为电流增强倍数，其中 I_0 为细胞给与空白外液后在-10mV 测试电压刺激下产生的电流峰值的最大值， I 是给药(化合物浓度为 10 μ M)后在-10mV 测试电压刺激下产生的电流峰值的最大值， $I/I_0 > 1$ 表示激动活性， $I/I_0 < 1$ 代表抑制活性。N 为所测细胞数，NT 表示未测。

化合物	$\Delta V_{1/2}$ (mV)	I/I_0	N
K40·HCl	-3.42 $\pm$ 1.54	1.40 $\pm$ 0.04	3
K41·HCl	-23.28 $\pm$ 1.37	4.8 $\pm$ 0.73	3
K42·HCl	-5.2 $\pm$ 0.7	0.52 $\pm$ 0.01	3
K43·HCl	-38.52 $\pm$ 1.67	4.75 $\pm$ 1.29	3
K44·HCl	13.47 $\pm$ 2.13	0.72 $\pm$ 0.05	3
K45·HCl	-5.1 $\pm$ 0.9	0.57 $\pm$ 0.01	3
K46·HCl	-6.5 $\pm$ 2.1	1.52 $\pm$ 0.55	3
K47·HCl	-18.10 $\pm$ 0.03	2.10 $\pm$ 0.08	3
K48·HCl	-13.2 $\pm$ 1.5	1.24 $\pm$ 0.16	3
K49·HCl	-22 $\pm$ 2.5	4.4 $\pm$ 1.6	3
K50·HCl	-9.06 $\pm$ 0.15	1.39 $\pm$ 0.12	3
K51·HCl	-8.89 $\pm$ 1.12	1.61 $\pm$ 0.08	5
K52·HCl	-10.93 $\pm$ 1.86	5.80 $\pm$ 0.52	5
K53·HCl	-14.81 $\pm$ 0.92	7.31 $\pm$ 1.09	5
K54·HCl	-30.9 $\pm$ 4.1	7.55 $\pm$ 1.92	5
K55·HCl	-10.76 $\pm$ 4.51	1.72 $\pm$ 0.14	3
K56·HCl	-2.0 $\pm$ 1.3	1.10 $\pm$ 0.10	3
K57·HCl	-31.55 $\pm$ 0.86	8.13 $\pm$ 2.57	3

K58·HCl	-33.68±1.05	1.78±0.19	3
K59·HCl	-0.14±2.33	1.01±0.13	3

结果与讨论：由上述电生理测试结果可以看出，本发明所公开化合物不仅很好地保持了 KCNQ 钾通道的激动活性，而且部分化合物的 I/I_0 电流增强倍数显著高于 WO2013060097 所公开的化合物 **K21** 的 I/I_0 电流增强倍数($I/I_0=1.53\pm0.15$)。

电生理实验实施例 2：化合物 **K43** 和瑞替加滨(缩写为 RTG)对 KCNQ2 同源四聚体通道的激动活性比较

实验操作步骤与电生理实施例 1 相同，KCNQ2 通道剂量效应依赖曲线(DRC)检测采用转染有 KCNQ2 质粒的 CHO-K1 细胞；KCNQ2/3 异源四聚体通道 DRC 检测过程采用 KCNQ2、KCNQ3 质粒共转染的 CHO-K1 细胞。DRC 曲线采用玻尔兹曼方程(Boltzmann sigmoidal)拟合，实验结果图 1 所示。

结果与讨论：在图 1 中， $EC_{50}=1.53\text{ nM}$ (**K43**)， $EC_{50}=1.32\mu\text{M}$ (RTG)。由图 1 中的 DRC 比较结果可以看出，化合物 **K43** 对 KCNQ2 同源四聚体通道的激动活性为瑞替加滨的 800 倍以上，**K43** 的激动活性远高于瑞替加滨。

电生理实验实施例 2：化合物 **K43** 和 CF341(即 **K21**，WO2013060097)及瑞替加滨(缩写为 RTG)对 KCNQ2/3 异源四聚体通道的激动活性比较

实验操作步骤与电生理实施例 1 相同，KCNQ2/3 异源四聚体通道根据 10 μL Lipo2000 对应 4 ng 质粒，KCNQ2 和 KCNQ3 质粒按照质量比 1: 1 进行共转染。转染后 24 小时，用胰蛋白酶(Sigma，中国)消化后重新铺于铺有聚左旋赖氨酸 (poly-L-lysine) (Sigma)浸泡过的玻片的 60 mm 皿中。KCNQ2/3 异源四聚体通道 DRC 检测过程采用 KCNQ2、KCNQ3 质粒共转染的 CHO-K1 细胞，DRC 曲线采用玻尔兹曼方程(Boltzmann sigmoidal)拟合，实验结果图 2 所示。

结果与讨论：在图 2 中， $EC_{50}=49\text{ nM}$ (**K43**)， $EC_{50}=1.9\mu\text{M}$ (**K21**)。由图 2 中的 DRC 比较结果可以看出，化合物 **K43** 对 KCNQ2/3 异源四聚体通道(在体 M 电流的主要介导通道)的激动活性分别为 **K21** ($EC_{50}=990\text{ nM}$) 和瑞替加滨(文献报道 $EC_{50}=1.6\mu\text{M}$ ，Sanker R 等，Epilepsia, 2012, 53, 412-424)激动活性的 20 倍和 30 倍以上，**K43** 对 KCNQ2/3 异源四聚体通道的激动效应也远高于化合物 **K21** 和瑞替加滨。

三、化合物的体内药效评价实施例

体内药效实施例 1：经口灌胃给予化合物 **K41**·HCl 和 **K43**·HCl 对 MES(最大电休克)诱导的动物模型的预防治疗作用

本实验利用 YLS-9A 型生理药理电子刺激仪诱导小鼠发生电惊厥，具体参数设置为：选择配置 8，设置刺激电压 160 V、刺激时间 5.4 sec。实验时，选择 SPF 级健康雄性 KM 种小鼠，体重 18-22g，用生理盐水充分润湿小鼠耳尖位置，耳夹电极给予动物电刺激 1 次，以后肢强直性伸直为惊厥指标，实验前一天进行动物筛选，淘汰死亡及不发生全身强直动物，将符合要求的动物随机装笼，自由饮水，正式试验前动物禁食 8h。

试验当天，新鲜配制各待测化合物。瑞替加滨盐酸盐用超纯水直接溶解成所需浓度的溶剂，K41·HCl 和 K43·HCl 的配制比例为 5% 二甲亚砜 (DMSO) + 95% (1% 吐温 80, 1% Tween80)，即分别称取适量待测化合物，先用终体积 5% 的 DMSO 充分溶解，再加入所需体积的 1% Tween80 充分混悬，配制成一定药物浓度的混悬液。将前一天的动物随机分组（每组动物数 10 只）、标记、称重后，分别经口灌胃给予各待测药物和溶媒（5%DMSO+95% (1% Tween80)），给药体积为 0.2ml/10g，各化合物的给药剂量范围分别为：瑞替加滨（1 ~ 56 mg/kg）、K41·HCl（1 ~ 40 mg/kg）和 K43·HCl（0.5 ~ 4 mg/kg），给药 30 min 后进行 MES 检测，检测参数同上。记录各组发生全身强直-阵挛惊厥的动物数量，计算各待测化合物对 MES 诱导的惊厥小鼠的保护率，并绘制各化合物的剂量-效应曲线。根据 Graphpad Prism 5 软件分析作图，得出各化合物的剂量-效应曲线，如图 3 所示。

结果与讨论：MES 检测结果显示，口服预防给予瑞替加滨盐酸盐、化合物 K41·HCl 和 K43·HCl，对 MES 诱导的惊厥小鼠均显示剂量依赖性的保护作用。各化合物的 ED₅₀（50% 有效剂量）分别为：瑞替加滨盐酸盐为 21.80 mg/kg，95% CI（95%可信限）为 19.03~24.97 mg/kg；K41·HCl 为 4.80 mg/kg，95% CI 为 3.42~6.74 mg/kg；K43·HCl 为 1.60 mg/kg，95% CI 为 1.35~1.88 mg/kg。化合物 K43 和 K41 的抗 MES 效能均强于瑞替加滨。

四、化合物的 TD₅₀ 测试实施例

小鼠转棒实施例 1：经口灌胃给予化合物 K41·HCl 和 K43·HCl 对小鼠运动平衡能力的影响

本实验利用 YLS-4C 型小鼠转棒式疲劳仪，转棒直径 3cm，设置转速 6rpm。实验时，选择 SPF 级健康 KM 种小鼠，雌雄各半，体重 18-22g。实验前一天，将小鼠放置转棒上进行训练和筛选。训练时捏住小鼠尾尖，使其在转棒上爬行，爬行一段时间逐渐放松鼠尾，使其不依靠鼠尾平衡身体时完全放手，对于跳跃和团身抱轴的小鼠弃之不用。另外，设置 3 个时段，每个时段 1min，若小鼠连续 3 个时段均不从转棒上跌落，即认为符合实验要求。将符合要求的动物按照性别差异随机装笼，自由摄食和饮水。

试验当天，新鲜配制各待测化合物，配制方法同 MES 检测试验，若药物混悬不够，可超声 20 min 使其充分混悬。将前一天筛选出合格的动物随机分组（每组动物数 10 只，

雌雄各半)、标记、称重后,分别经口灌胃给予各待测药物和溶媒(5%DMSO+95%(1% Tween80)),给药体积为0.2ml/10g,各化合物的给药剂量范围分别为:瑞替加滨(30~150 mg/kg)、K41·HCl(30~180 mg/kg)、K43·HCl(90~210 mg/kg),给药30 min后进行转棒试验,所用实验参数同上,记录各组从转棒上跌落的动物数量,分析各化合物对小鼠平衡运动功能的影响。根据Graphpad Prism 5软件分析作图,得出各化合物不同剂量给药对小鼠的运动能力损伤百分数曲线,如图4所示。

结果与讨论:转棒试验结果得到各化合物的 TD_{50} (50%急性神经毒性剂量)分别为:瑞替加滨为74.21 mg/kg,95%CI为69.65~79.07 mg/kg,K41·HCl为103.40 mg/kg,95%CI为72.62~147.20 mg/kg,K43·HCl为152.40 mg/kg,95%CI为104.30~222.60 mg/kg。根据药物保护指数P.I.(Protective index)= TD_{50} / ED_{50} ,计算化合物瑞替加滨、K41·HCl和K43·HCl在MES试验中的P.I值,分别为3.40、21.54和95.25,表明化合物K43和K41的神经毒副作用均弱于瑞替加滨,因此具有更宽的安全窗口。

六、药代动力学研究实施例

药代动力学研究实施例1:化合物K41·HCl和K43·HCl在小鼠脑组织的分布研究

化合物配置:K41·HCl灌胃以16%DMSO/20%吐温80/64%生理盐水配制为0.5 mg/ml溶液,静脉给药再以含1%吐温的生理盐水稀释至0.2 mg/ml溶液;K43·HCl灌胃以5%DMSO/5%吐温80/80%生理盐水配制为0.5 mg/ml溶液,静脉给药再以含1%吐温的生理盐水稀释至0.2 mg/ml溶液。

实验设计:

健康ICR小鼠84只,雄性,体重18-20 g,试验前禁食12 h,自由饮水。给药后2 h统一进食。具体安排见下表:

组别	动物数	化合物	给药方式	给药剂量(mg/kg)	给药体积(ml/kg)	采样时间点(h)
1	27	K41·HCl	灌胃	5	10	0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8 和 24 h
2	15	K41·HCl	静脉	2	10	5 min, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8 和 24 h
3	27	K43·HCl	灌胃	5	10	0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8 和 24 h
4	15	K43·HCl	静脉	2	10	5 min, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8 和 24 h

样品采集:

小鼠灌胃给药后在以上设定时间点,腹主动脉放血处死,每个时间点3只小鼠。每只动物收集0.5 ml全血,置肝素化试管中,11000 rpm离心5 min,分离血浆,于-20℃冰箱中冷冻保存。动物处死后,解剖摘取全脑,用冰生理盐水冲洗残留血液,吸干后,贴好标签, -20℃冰箱中冷冻保存。小鼠静脉给药后以上设定时间点经小鼠眼球后静脉丛取静脉血0.2 ml,置肝素化试管中,11000 rpm离心5 min,分离血浆,于-20℃冰箱中冷冻。

采用液相色谱串联质谱法测定血浆和脑组织中的各化合物浓度。

实验结果:

根据所得血药浓度数据, 采用 Phoenix 1.3 软件(美国 Pharsight 公司)的非房室模型计算给药后的药代动力学参数。

小鼠灌胃 5 mg/kg 和静脉注射 2 mg/kg **K41 • HCl** 后的药动力学参数

参数	单位	灌胃 5 mg/kg		静脉 2mg/kg
		血浆	脑	血浆
$T_{1/2}$	(h)	0.64	0.63	0.49
T_{max}	(h)	0.25	0.25	/
C_{max}	(ng/ml 或 ng/g)	606	1467	/
AUC_{0-t}	(ng·h/ml 或 ng·h/g)	646	1680	281
$AUC_{0-\infty}$	(ng·h/ml 或 ng·h/g)	654	1684	294
$MRT_{0-\infty}$	(h)	1.04	1.10	0.45
CL	(L/h/kg)	/	/	6.81
Vss	(L/kg)	/	/	3.04
F	(%)	91.9	/	/
AUC_{0-t} 比值(脑/血浆)		2.6		

小鼠灌胃 5 mg/kg 和静脉注射 2 mg/kg **K43 • HCl** 后的药动力学参数

参数	单位	灌胃 5 mg/kg		静脉 2mg/kg
		血浆	脑	血浆
$T_{1/2}$	(h)	0.62	1.06	0.40
T_{max}	(h)	0.25	0.25	/
C_{max}	(ng/ml 或 ng/g)	350	1429	/
AUC_{0-t}	(ng·h/ml 或 ng·h/g)	184	1329	326
$AUC_{0-\infty}$	(ng·h/ml 或 ng·h/g)	189	1346	334
$MRT_{0-\infty}$	(h)	0.94	1.29	0.43
CL	(L/h/kg)	/	/	6.00
Vss	(L/kg)	/	/	2.61
F	(%)	22.5	/	/
AUC_{0-t} 比值(脑/血浆)		7.2		

实验结论:

小鼠灌胃给予 5 mg/kg 化合物 **K41 • HCl** 后, 血浆和脑组织中药物 **K41 • HCl** 的浓度

达峰时间 $T_{\max}$ 为 0.25 h；药物 K41 · HCl 在脑组织中的浓度为血浆浓度的 2.6 倍。化合物 K41 · HCl 在 ICR 鼠体内的口服生物利用度为 91.9%。

小鼠灌胃给予 5 mg/kg 化合物 K43 · HCl 后，血浆和脑组织中药物 K43 · HCl 的浓度达峰时间 $T_{\max}$ 为 0.25 h；化合物 K43 · HCl 在脑组织中的浓度为血浆浓度的 7.2 倍。化合物 K43 · HCl 在 ICR 鼠体内的口服生物利用度为 22.5%

根据 WO2013060097 报道，在同样实验条件下瑞替加滨按剂量 20 mg/kg 灌胃给药，其在小鼠脑中的暴露量为仅血浆的 16%；瑞替加滨按剂量 20 mg/kg 静脉给药，在小鼠脑中的暴露量为仅血浆的 14%。因此从上述小鼠体内药代试验结果可以看出，化合物 K41 · HCl 和 K43 · HCl 相较于瑞替加滨，具有更好的脑组织浓度分布，且它们在小鼠体内的脑组织分配系数与 WO2013060097 报道中的化合物 K21 相当或更优。

药代动力学研究实施例 2：K43 静脉口服给药后在大鼠脑组织分布研究

实验目的：

化合物 K43 静脉和口服给药 Sprague Dawley 大鼠后，于不同时间点采集血样和脑组织，LC-MS/MS 测定给予受试物后大鼠血浆和脑中 K43 的浓度并计算相关药代参数，考察化合物 K43 在大鼠体内的口服生物利用度情况及脑组织分布情况。

实验设计：

SD 大鼠 24 只，由上海 SLAC 实验动物有限责任公司提供，按下表实验。

组别	动物数量	给药信息					
	雄性	受试物	给药剂量 (mg/kg)	给药浓度* (mg/mL)	给药体积 (mL/kg)	采集样本	给药方式
1	3	K43	0.500	0.500	1.00	血浆	IV
2**	3	K43	5.00	0.500	10.0	血浆	PO
3**	3	K43	5.00	0.500	10.0	脑	PO
4**	3	K43	5.00	0.500	10.0	脑	PO
5**	3	K43	5.00	0.500	10.0	脑	PO
6**	3	K43	5.00	0.500	10.0	脑	PO
7**	3	K43	5.00	0.500	10.0	脑	PO
8**	3	K43	5.00	0.500	10.0	脑	PO

*药物浓度根据游离基计算。

**第二组为 24h 采集脑组织样品组，第三组到第八组为采集脑组织样品组：0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6hr。

样品采集：

每只动物每次通过眼眶取血约 0.15 mL 血液，EDTAK2 抗凝，IV 组采集时间点为：给予受试物前(0hr)和给予受试物后 5 min, 15 min, 30 min, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8h 和 24

h; PO 组采集时间点为: 给予受试物前(0hr)和给予受试物后 15 min, 30 min, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8h 和 24 h。脑组织采集样本时间为 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6 和 24h。血液样本采集后置于冰上, 并于 1 小时之内离心分离血浆(离心条件: 12000 转/分钟, 2 分钟, 4°C)。收集的血浆分析前存放于 -20°C。

实验结果:

根据所得血药浓度数据, 使用 WinNonlin V6.3 非房室模型计算给药后的药代参数。

SD 大鼠静脉给药后 **K43**(静脉 (IV), 0.500 mg/kg)的主要药动学参数

PK 参数		IV-1	IV-2	IV-3	Mean	SD	RSD (%)
剂量	mg·kg ⁻¹	0.500					
K _{el}	h ⁻¹	0.552	0.427	0.516	0.498	0.0641	13
t _{1/2}	h	1.26	1.62	1.34	1.41	0.191	14
AUC _{0-t}	h·ng·mL ⁻¹	219	232	239	230	10.4	4.5
AUC _{0-inf}	h·ng·mL ⁻¹	221	236	242	233	10.9	4.7
AUMC _{0-t}	h·h·ng·mL ⁻¹	287	258	270	271	14.6	5.4
AUMC _{0-inf}	h·h·ng·mL ⁻¹	304	295	293	297	6.17	2.1
CL	mL·kg ⁻¹ ·min ⁻¹	37.8	35.3	34.5	35.8	1.70	4.8
MRT _{IV}	h	1.38	1.25	1.21	1.28	0.0879	6.9
Vd _{ss}	L·kg ⁻¹	3.13	2.65	2.51	2.76	0.324	12

SD 大鼠给药后 **K43**(口服, PO, 5.00 mg/kg)的主要药动学参数

PK 参数		PO-4	PO-5	PO-6	Mean	SD	RSD (%)
剂量	mg·kg ⁻¹	5.00					
K _{el}	h ⁻¹	0.186	0.0857	0.371	0.214	0.145	68
t _{1/2}	h	3.74	8.09	1.87	4.56	3.19	70
t _{max}	h	2.00	4.00	1.00	2.33	1.53	65
C _{max}	ng·mL ⁻¹	62.7	138	107	103	37.8	37
AUC _{0-t}	h·ng·mL ⁻¹	467	1379	379	742	554	75
AUC _{0-inf}	h·ng·mL ⁻¹	471	1605	407	828	674	81
AUMC _{0-t}	h·h·ng·mL ⁻¹	2360	10030	957	4449	4884	110
AUMC _{0-inf}	h·h·ng·mL ⁻¹	2497	18103	1256	7285	9389	129
MRT _{PO}	h	5.30	11.3	3.09	6.55	4.236	65
F	%	20.3	59.9	16.5	32.2	24.1	75

SD 大鼠给药后 **K43**(口服, PO, 5.00 mg/kg)在脑组织中的主要药动学参数

PK 参数		脑
剂量	$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	5.00
K_{el}	h^{-1}	0.0542
$t_{1/2}$	h	12.8
t_{max}	h	2.00
C_{max}	$\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$	366
AUC_{0-t}	$\text{h} \cdot \text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$	2895
AUC_{0-inf}	$\text{h} \cdot \text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$	4314
$AUMC_{0-t}$	$\text{h} \cdot \text{h} \cdot \text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$	25306
$AUMC_{0-inf}$	$\text{h} \cdot \text{h} \cdot \text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$	85535
MRT_{PO}	h	19.8

实验结论:

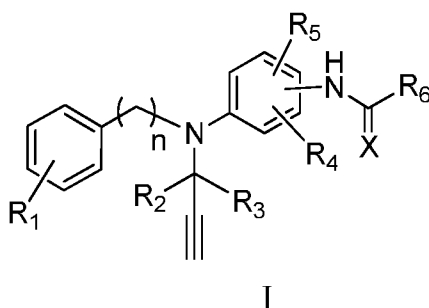
K43 在 SD 大鼠体内药代动力学研究及脑组织分布研究结果表明, 静脉 (IV) 给药后 (剂量为 0.5 mg/kg) 大鼠体内的半衰期为 $1.41 \pm 0.191 \text{ hr}$, 清除率 CL 为 $35.8 \pm 1.70 \text{ mL/kg/min}$, V_{ss} 为 $2.76 \pm 0.324 \text{ L/kg}$ 。

口服 (PO) 给药 (剂量为 5.00 mg/kg) 后 **K43** 在大鼠体内血药浓度平均达峰时间为 $2.33 \pm 1.53 \text{ hr}$, 达峰浓度为 $103 \pm 37.8 \text{ ng/mL}$, AUC_{0-24hr} 为 $742 \pm 554 \text{ hr} \cdot \text{ng/mL}$, 化合物 **K43** 在 SD 大鼠体内的口服生物利用度为 $32.2 \pm 24.1\%$ 。

口服 (PO) 给药 (剂量为 5.00 mg/kg) 后 **K43** 在大鼠体内脑组织平均达峰时间为 2.00 hr, 达峰平均浓度为 366 ng/g, AUC_{0-24hr} 为 $2895 \text{ hr} \cdot \text{ng/g}$, 化合物 **K43** 在 SD 大鼠体内脑组织与血浆中药物 AUC_{0-24hr} 为 3.90 倍。

权利要求

1、一种具有以下通式 I 的结构的化合物或其药学上可接受的盐，



其中：

X 选自：氧和硫；n 为 1, 2 或 3，优选为 1；

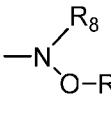
R₁ 为 H 或卤素原子，优选为 H 或氟原子；

R₂ 和 R₃ 各自独立地选自 H、D 和 C₁-C₃ 烷基，或 R₂ 和 R₃ 与它们所连接的碳原子一起形成 C₃-C₆ 饱和环；优选 R₂ 和 R₃ 各自独立地选自 H 和 D，或者 R₂ 和 R₃ 与它们所连接的碳原子一起形成环丙烷基；

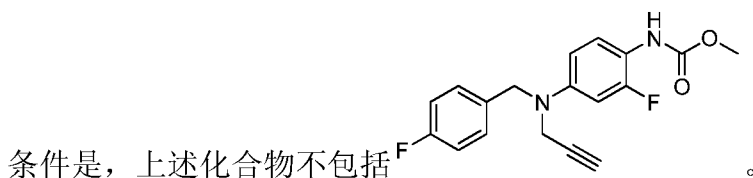
R₄ 和 R₅ 各自独立地选自：H；卤素原子；C₁-C₆ 烷基；C₃-C₆ 环烷基；氰基；C₁-C₄ 烷氧基；任选被羟基、氨基、C₁-C₄ 烷氧基、C₁-C₄ 烷基羰基、卤素原子取代的 C₁-C₆ 烷基；任选被卤素原子取代的 C₁-C₄ 烷氧基；C₁-C₆ 烷基羰基；C₁-C₆ 烷氧基羰基；C₁-C₆ 烷基氨基羰基；C₂-C₆ 链烯基；和 C₂-C₆ 链炔基；R₄ 和 R₅ 优选各自独立地为 H、卤素原子、氰基、C₁-C₄ 烷基、C₁-C₄ 烷氧基或氟代的 C₁-C₄ 烷氧基；R₄ 和 R₅ 更优选各自独立地为 H、卤素原子、C₁-C₄ 烷基或 C₁-C₄ 烷氧基；最优选地，R₄ 和 R₅ 之一为 C₁-C₄ 烷基，另一个为 H 或 C₁-C₄ 烷基；

R₆ 选自：C₁-C₆ 烷氧基；C₁-C₆ 烷基氨基；C₁-C₆ 烷基；C₃-C₆ 环烷基；C₂-C₆ 链烯基；C₂-C₆ 链炔基；C₆-C₁₀ 芳基；任选被卤素原子、氰基、羟基、C₁-C₆ 烷氧基、二（C₁-C₄ 烷基）氨基、C₁-C₆ 烷基羰基、C₁-C₆ 烷基羰基氨基、C₁-C₆ 烷氧基羰基取代的 C₁-C₆ 烷基；任选被卤素原子取代的 C₃-C₆ 环烷基；任选被卤素原子取代的 C₂-C₆ 链烯基；任选被卤素

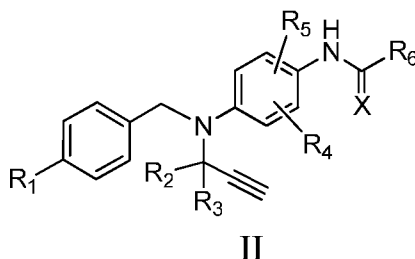
原子取代的 C₂-C₆ 链炔基；四氢呋喃基；和



，其中 R₇ 和 R₈ 各自独立地选自 C₁-C₄ 烷基，



2、根据权利要求 1 所述的化合物或其药学上可接受的盐，其中，所述的化合物具有通式 II 所示的结构：



其中，

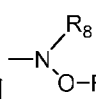
X 选自：氧和硫；

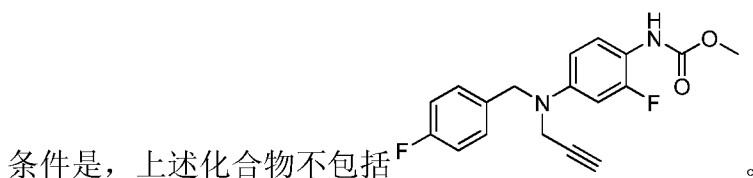
R₁ 为 H 或卤素原子，优选为 H 或 F；

R₂ 和 R₃ 各自独立地选自 H、D 和 C₁-C₃ 烷基，或 R₂ 和 R₃ 与它们所连接的碳原子一起形成 C₃-C₆ 饱和环，优选 R₂ 和 R₃ 各自独立地选自 H 和 D，或者 R₂ 和 R₃ 与它们所连接的碳原子一起形成环丙烷基；

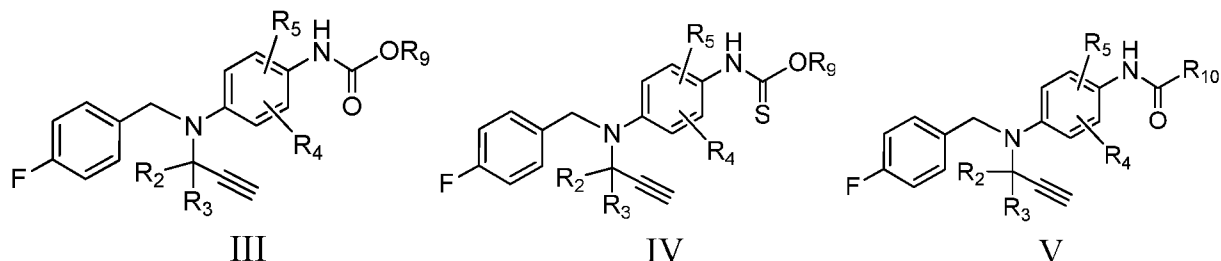
R₄ 和 R₅ 各自独立地选自：H；卤素原子；C₁-C₆ 烷基；C₃-C₆ 环烷基；氰基；C₁-C₄ 烷氧基；任选被羟基、氨基、C₁-C₄ 烷氧基、C₁-C₄ 烷基羰基、卤素原子取代的 C₁-C₆ 烷基；任选被卤素原子取代的 C₁-C₄ 烷氧基；C₁-C₆ 烷基羰基；C₁-C₆ 烷氧基羰基；C₁-C₆ 烷基氨基羰基；C₂-C₆ 链烯基；和 C₂-C₆ 链炔基；R₄ 和 R₅ 优选各自独立地为 H、卤素原子、氰基、C₁-C₄ 烷基或 C₁-C₄ 烷氧基；R₄ 和 R₅ 更优选各自独立地为 H、卤素原子、C₁-C₄ 烷基或 C₁-C₄ 烷氧基；最优选地，R₄ 和 R₅ 之一为 C₁-C₄ 烷基，另一个为 H 或 C₁-C₄ 烷基；

R₆ 选自：C₁-C₆ 烷氧基；C₁-C₆ 烷基氨基；C₁-C₆ 烷基；C₃-C₆ 环烷基；C₂-C₆ 链烯基；C₂-C₆ 链炔基；C₆-C₁₀ 芳基；任选被卤素原子、氰基、羟基、C₁-C₆ 烷氧基、二(C₁-C₄ 烷基)氨基、C₁-C₆ 烷基羰基、C₁-C₆ 烷基羰基氨基、C₁-C₆ 烷氧基羰基取代的 C₁-C₆ 烷基；任选被卤素原子取代的 C₃-C₆ 环烷基；任选被卤素原子取代的 C₂-C₆ 链烯基；任选被卤素原子

取代的 C₂-C₆ 链炔基；四氢呋喃基；和 ，其中 R₇ 和 R₈ 各自独立地选自 C₁-C₄ 烷基；



3、根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐，其中，所述化合物具有选自如下通式III至V所示的结构：



其中：

R_2 和 R_3 各自独立地选自 H、D 和 C_1 - C_3 烷基，或 R_2 和 R_3 与它们所连接的碳原子一起形成 C_3 - C_6 饱和环；优选 R_2 和 R_3 各自独立地选自 H 和 D，或 R_2 和 R_3 与它们所连接的碳原子一起形成环丙烷基；

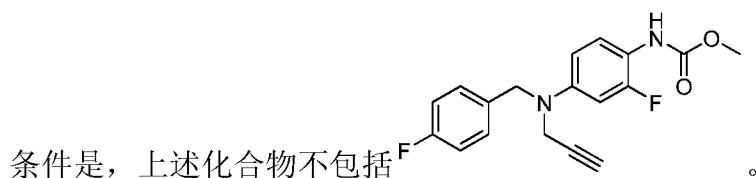
R_4 和 R_5 分别独立地选自：H，卤素原子， C_1 - C_6 烷基， C_3 - C_6 环烷基，氰基， C_1 - C_4 烷氧基，任选被羟基、氨基、 C_1 - C_4 烷氧基、 C_1 - C_4 烷基羰基、卤素原子取代的 C_1 - C_6 烷基，任选被卤素原子取代的 C_1 - C_4 烷氧基， C_1 - C_6 烷基羰基， C_1 - C_6 烷氧基羰基， C_1 - C_6 烷基胺基羰基， C_2 - C_6 链烯基，和 C_2 - C_6 链炔基； R_4 和 R_5 可进一步优选地各自独立地选自：H， C_1 - C_6 烷基，和 C_1 - C_4 烷氧基； R_4 和 R_5 优选各自独立地为 H、卤素原子、氰基、 C_1 - C_4 烷基或 C_1 - C_4 烷氧基； R_4 和 R_5 更优选各自独立地为 H、卤素原子、 C_1 - C_4 烷基或 C_1 - C_4 烷氧基；最优选地， R_4 和 R_5 之一为 C_1 - C_4 烷基，另一个为 H 或 C_1 - C_4 烷基；

R_9 选自： C_1 - C_6 烷基和 C_3 - C_6 环烷基；优选地， R_9 选自甲基、乙基和丙基；

R_{10} 选自 C_1 - C_6 烷基；任选被卤素原子、氰基、羟基、 C_1 - C_6 烷氧基、二(C_1 - C_4 烷基)氨基、 C_1 - C_6 烷基羰基、 C_1 - C_6 烷基酰胺基、 C_1 - C_6 烷氧基羰基取代的 C_1 - C_6 烷基；任选被卤

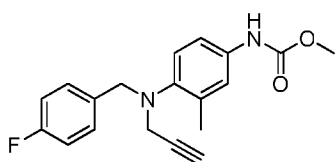
素原子取代的 C_3 - C_6 环烷基；四氢呋喃基；和 ，其中 R_7 和 R_8 各自独立地选自 C_1 - C_4 烷基；优选地， R_{10} 选自任选被卤素原子、氰基、羟基、 C_1 - C_3 烷氧基、二(C_1 - C_3 烷基)氨基、 C_1 - C_3 烷基羰基、 C_1 - C_3 烷基酰胺基、 C_1 - C_3 烷氧基羰基取代的 C_1 - C_3 烷基；任选被

卤素原子取代的 C₃-C₆ 环烷基；四氢呋喃基；和 $\text{—N}(\text{R}_8)\text{O—R}_7$ ，其中 R₇ 和 R₈ 各自独立地选自 C₁-C₃ 烷基；

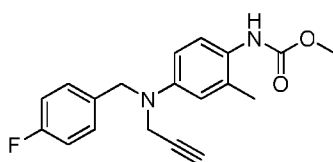


4、根据权利要求 1 至 3 中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐，其中，R₄ 和 R₅ 之一为甲基，另一个为 H 或甲基。

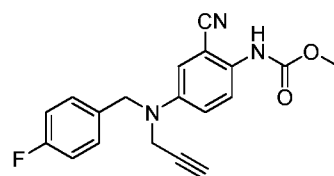
5、根据权利要求 1 至 3 中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐，其中，所述化合物选自下列化合物：



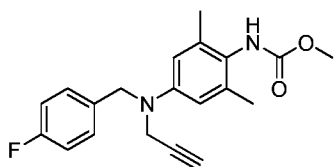
K40



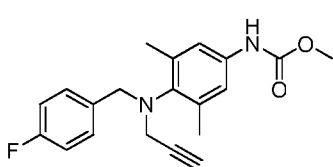
K41



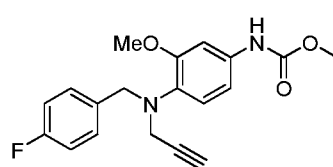
K42



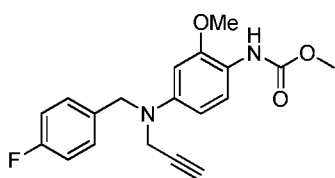
K43



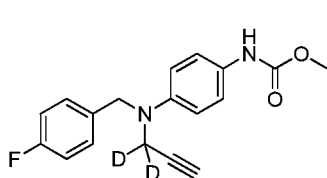
K44



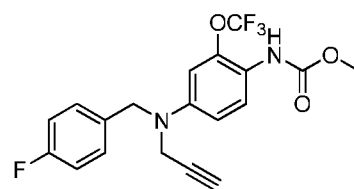
K45



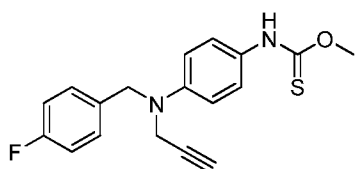
K46



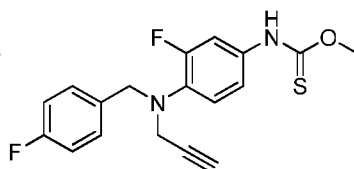
K47



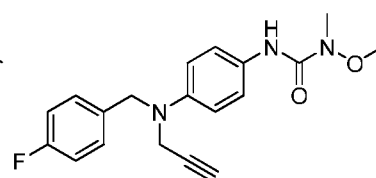
K48



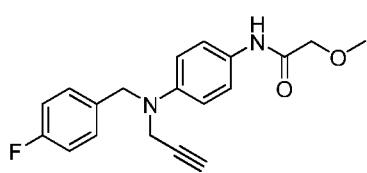
K49



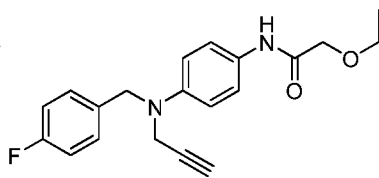
K50



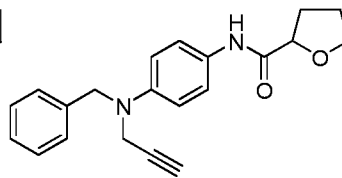
K51



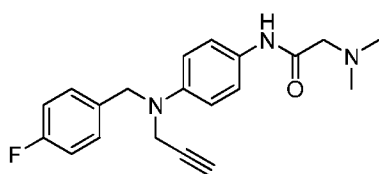
K52



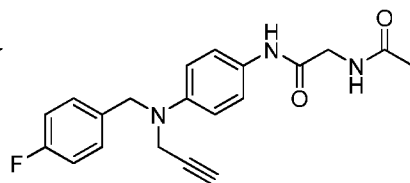
K53



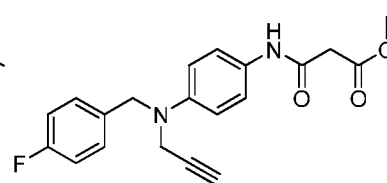
K54



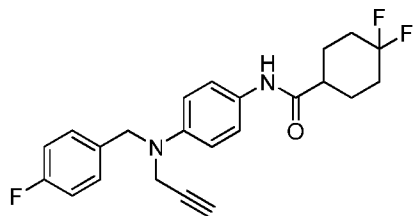
K55



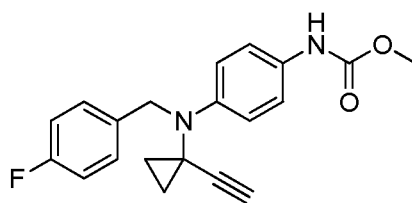
K56



K57



K58



K59

6、根据权利要求 1 至 3 中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐，其中，所述化合物的药学上可接受的盐为所述化合物与酸形成的盐，例如，所述酸选自马来酸、琥珀酸、柠檬酸、酒石酸、富马酸、甲酸、乙酸、丙酸、丙二酸、草酸、苯甲酸、邻苯二甲酸、甲磺酸、苯磺酸、甲苯磺酸、萘磺酸、1,5-萘二磺酸、樟脑酸、樟脑磺酸、水杨酸、乙酰水杨酸、天门冬氨酸、谷氨酸、乳酸、葡萄糖酸、维 C 酸、没食子酸、杏仁酸、苹果酸、山梨酸、三氟乙酸、牛磺酸、高牛磺酸、2-羟基乙磺酸、肉桂酸、盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硫酸、硝酸、磷酸和高氯酸。

7、一种药物组合物，其包含作为有效成分的根据权利要求 1 至 6 中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐和药学上可接受的辅料。

8、根据权利要求 1 至 6 中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐或者根据权利要求 8 所述的药物组合物用作 KCNQ 钾通道激动剂的用途。

9、根据权利要求 1 至 6 中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐在制备治疗神经性疾病的药物中的用途。

10、根据权利要求 9 所述的用途，其中，所述神经性疾病选自癫痫、惊厥、神经性疼痛、急性局部缺血性中风和阿尔兹海默症。

附图

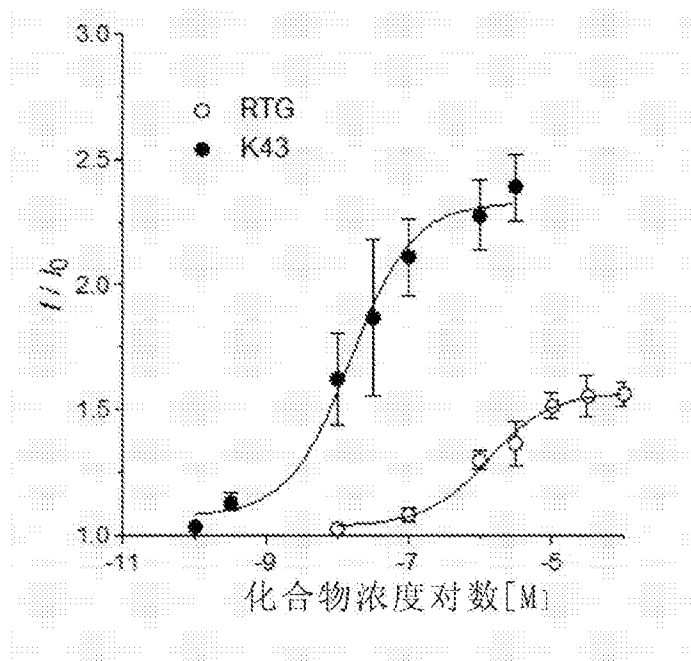


图 1

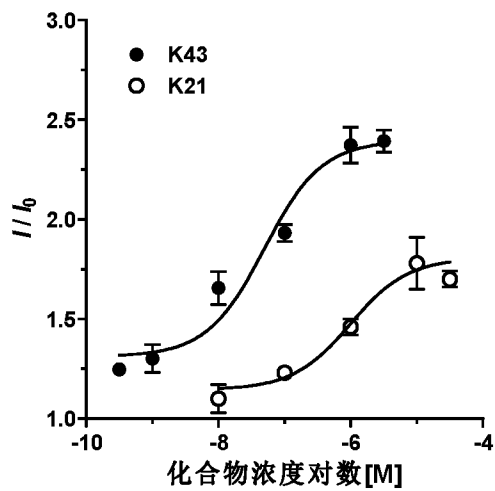


图 2

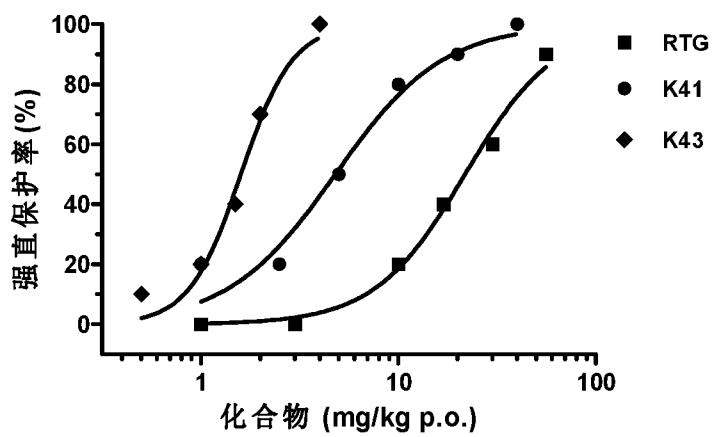


图 3

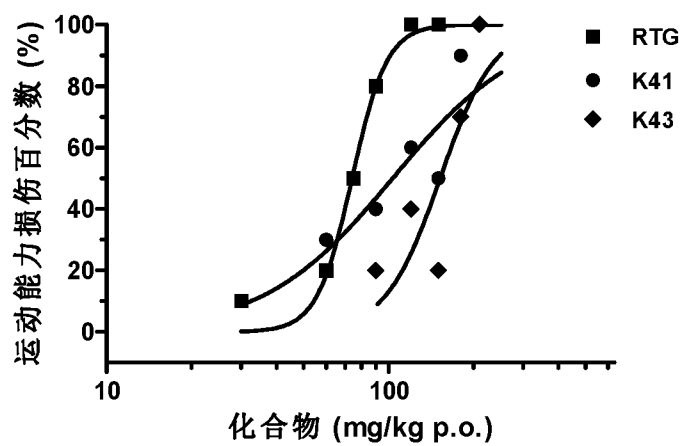


图 4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2015/077216

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07C 271/28 (2006.01) i; C07C 269/04 (2006.01) i; C07C 269/06 (2006.01) i; C07C 333/08 (2006.01) i; C07C 275/64 (2006.01) i; C07C 273/18 (2006.01) i; C07C 231/02 (2006.01) i; C07C 235/16 (2006.01) i; C07C 237/04 (2006.01) i; C07C 237/22 (2006.01) i; C07C 233/62 (2006.01) i; C07C 235/74 (2006.01) i; C07D 307/24 (2006.01) i; A61K 31/27 (2006.01) i; A61K 31/277 (2006.01) i; A61K 31/17 (2006.01) i; A61K 31/167 (2006.01) i; A61K 31/341 (2006.01) i; A61P 25/00 (2006.01) i; A61P 25/08 (2006.01) i; A61P 25/28 (2006.01) i; A61P 9/10 (2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC: C07C; C07D; A61K; A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNABS; CNTXT; CJFD; DWPI; VEN; CAPLUS; REGISTRY: KCNQ, potassium, channel, retigabine, RTG, agonist, nervous, epilepsy, diamino, amino, benzene

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2013060097 A1 (SHANGHAI INST MATERIA MEDICA) 02 May 2013 (02.05.2013), claims 1-5, and 7-9	1-10
A	CN 1761464 A (LUNDBECK & CO. AS H.) 19 April 2006 (19.04.2006), the whole document	1-10
A	WO 2011012659 A2 (MEDICHEM S.A. et al.) 03 February 2011 (03.02.2011), the whole document	1-10

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 20 July 2015	Date of mailing of the international search report 31 July 2015
Name and mailing address of the ISA State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No. (86-10) 62019451	Authorized officer MENG, Chao Telephone No. (86-10) 62084582

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2015/077216

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2009083526 A1 (SMITHKLINE BEECHAM CORP. et al.) 09 July 2009 (09.07.2009), the whole document	1-10
A	US 5852053 A (ASTA MEDICA A.G.) 22 December 1998 (22.12.1998), the whole document	1-10
A	US 5384330 A (ASTA MEDICA A.G.) 24 January 1995 (24.01.1995), the whole document	1-10
A	CN 101056845 A (LUNDBECK & CO. AS H.) 17 October 2007 (17.10.2007), the whole document	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2015/077216

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
WO 2013060097 A1	02 May 2013	US 2014336252 A1	13 November 2014
		JP 2014532629 A	08 December 2014
		EP 2772481 A8	26 November 2014
		EP 2772481 A1	03 September 2014
		CN 103073455 A	01 May 2013
		KR 20140090643 A	17 July 2014
		EP 2772481 A4	27 May 2015
CN 1761464 A	19 April 2006	CL 2004000575 A1	21 January 2005
		IS 7991 A	18 August 2005
		AR 043652 A1	03 August 2005
		UA 81019 C2	26 November 2007
		ZA 200507183 A	28 March 2007
		KR 20050115919 A	08 December 2005
		NZ 541945 A	28 February 2009
WO 2011012659 A2	03 February 2011	WO 2011012659 A3	31 March 2011
WO 2009083526 A1	09 July 2009	GB 0800035 D0	13 February 2008
US 5852053 A	22 December 1998	AT 178487 T	15 April 1999
		PL 325956 A1	17 August 1998
		CZ 9801225 A3	16 September 1998
		CA 2188841 A1	27 April 1997
		GR 3030336 T3	30 September 1999
		JP 2009007366 A	15 January 2009
		HU 228014 B1	28 August 2012
		HU 9900508 A2	28 June 1999
		JPH 11515007 A	21 December 1999
		ES 2131973 T3	01 August 1999
		WO 9715300 A3	03 July 1997
		HU9900508A3	29 November 1999

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2015/077216

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
		WO 9715300 A2	01 May 1997
		AR 004108 A1	30 September 1998
		SK 283222 B6	04 March 2003
		PL 185714 B1	31 July 2003
		NO 981503 D0	02 April 1998
		IL 123523 D0	30 October 1998
		ID 16489 A	02 October 1997
		AU 706735 B2	24 June 1999
		TW 457084 B	01 October 2001
		BR 9610899 A	13 July 1999
		US 5849789 A	15 December 1998
		EP 0857065 B1	07 April 1999
		JP 4567101 B2	20 October 2010
		NO 981503 A	02 April 1998
		DK 0857065 T3	18 October 1999
		CA 2188841 C	23 May 2006
		SK 52098 A3	09 September 1998
		ZA 9608991 A	10 June 1997
		DE 19539861 A1	30 April 1997
		DE 59601624 D1	12 May 1999
		KR 100423823 B1	25 August 2004
		CZ 291456 B6	12 March 2003
		IL 123523 A	23 December 2001
		MX 9803172 A	30 September 1998
		RU 2201227 C2	27 March 2003
		NZ 326754 A	27 March 2000
		EP 0857065 A2	12 August 1998
		AU1540097A	15 May 1997

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2015/077216

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
US 5384330 A	24 January 1995	CA 2086654 C	23 September 2003
		DE 59205496 D1	04 April 1996
		JP 3145220 B2	12 March 2001
		ES 2084914 T3	16 May 1996
		ZA 9300011 A	05 August 1993
		CA 2086654 A1	09 July 1993
		GR 3019653 T3	31 July 1996
		DE 4200259 A1	15 July 1993
		EP 0554543 B1	28 February 1996
		AT 134611 T	15 March 1996
		LU 91869 I2	14 November 2011
		DK 554543 T3	18 March 1996
		MX 9300014 A	01 July 1993
		DK 0554543 T3	18 March 1996
		DE 122011100044 I1	19 January 2012
		EP 0554543 A2	11 August 1993
		JPH 05345752 A	27 December 1993
		SG 48046 A1	17 April 1998
		EP 0554543 A3	27 October 1993
CN 101056845 A	17 October 2007	EA 200700633 A1	26 October 2007
		CA 2580131 A1	23 March 2006
		MX 2007002911 A	27 April 2007
		AR 050644 A1	08 November 2006
		EP 1791809 A1	06 June 2007
		KR 20070058502 A	08 June 2007
		JP 2008512402 A	24 April 2008
		US 7601870 B2	13 October 2009
		BRPI 0515174 A	08 July 2008

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2015/077216

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
		UA 89503 C2	10 February 2010
		WO 2006029623 A1	23 March 2006
		IL 181679 D0	04 July 2007
		US 2006155121 A1	13 July 2006
		AU 2005284501 A1	23 March 2006
		NO 20071843 A	11 April 2007
		NO 20071843 B	11 April 2007
		US 2010063044 A1	11 March 2010
		ZA 200702125 A	25 September 2008

A. 主题的分类

C07C 271/28(2006.01)i; C07C 269/04(2006.01)i; C07C 269/06(2006.01)i; C07C 333/08(2006.01)i;
 C07C 275/64(2006.01)i; C07C 273/18(2006.01)i; C07C 231/02(2006.01)i; C07C 235/16(2006.01)i;
 C07C 237/04(2006.01)i; C07C 237/22(2006.01)i; C07C 233/62(2006.01)i; C07C 235/74(2006.01)i;
 C07D 307/24(2006.01)i; A61K 31/27(2006.01)i; A61K 31/277(2006.01)i; A61K 31/17(2006.01)i;
 A61K 31/167(2006.01)i; A61K 31/341(2006.01)i; A61P 25/00(2006.01)i; A61P 25/08(2006.01)i; A61P
 25/28(2006.01)i; A61P 9/10(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

C07C; C07D; A61K; A61P

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

CNABS;CNTXT;CJFD;DWPI;VEN;CAPLUS;REGISTRY:钾通道, 激动剂, 瑞替加宾, 对二氨基苯, 神经, 癫痫, KCNQ,
 potassium, channel, agonist, nervous, epilepsy, amino, benzene

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	WO 2013060097 A1 (SHANGHAI INST MATERIA MEDICA) 2013年 5月 2日 (2013 - 05 - 02) 权利要求1-5, 7-9	1-10
A	CN 1761464 A (H.隆德贝克有限公司) 2006年 4月 19日 (2006 - 04 - 19) 全文	1-10
A	WO 2011012659 A2 (MEDICHEM S. A. 等) 2011年 2月 3日 (2011 - 02 - 03) 全文	1-10
A	WO 2009083526 A1 (SMITHKLINE BEECHAM CORP. 等) 2009年 7月 9日 (2009 - 07 - 09) 全文	1-10
A	US 5852053 A (ASTA MEDICA A. G.) 1998年 12月 22日 (1998 - 12 - 22) 全文	1-10

☒ 其余文件在C栏的续页中列出。

☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件 (如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

2015年 7月 20日

国际检索报告邮寄日期

2015年 7月 31日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN)
 北京市海淀区蓟门桥西土城路6号
 100088 中国

传真号 (86-10)62019451

受权官员

孟超

电话号码 (86-10)62084582

C. 相关文件

类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
A	US 5384330 A (ASTA MEDICA A.G.) 1995年 1月 24日 (1995 - 01 - 24) 全文	1-10
A	CN 101056845 A (H. 隆德贝克有限公司) 2007年 10月 17日 (2007 - 10 - 17) 全文	1-10

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2015/077216

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
WO	2013060097	A1	2013年 5月 2日	US	2014336252	A1	2014年 11月 13日
				JP	2014532629	A	2014年 12月 8日
				EP	2772481	A8	2014年 11月 26日
				EP	2772481	A1	2014年 9月 3日
				CN	103073455	A	2013年 5月 1日
				KR	20140090643	A	2014年 7月 17日
				EP	2772481	A4	2015年 5月 27日
CN	1761464	A	2006年 4月 19日	CL	2004000575	A1	2005年 1月 21日
				IS	7991	A	2005年 8月 18日
				AR	043652	A1	2005年 8月 3日
				UA	81019	C2	2007年 11月 26日
				ZA	200507183	A	2007年 3月 28日
				KR	20050115919	A	2005年 12月 8日
				NZ	541945	A	2009年 2月 28日
WO	2011012659	A2	2011年 2月 3日	WO	2011012659	A3	2011年 3月 31日
WO	2009083526	A1	2009年 7月 9日	GB	0800035	D0	2008年 2月 13日
US	5852053	A	1998年 12月 22日	AT	178487	T	1999年 4月 15日
				PL	325956	A1	1998年 8月 17日
				CZ	9801225	A3	1998年 9月 16日
				CA	2188841	A1	1997年 4月 27日
				GR	3030336	T3	1999年 9月 30日
				JP	2009007366	A	2009年 1月 15日
				HU	228014	B1	2012年 8月 28日
				HU	9900508	A2	1999年 6月 28日
				JP	H11515007	A	1999年 12月 21日
				ES	2131973	T3	1999年 8月 1日
				WO	9715300	A3	1997年 7月 3日
				HU	9900508	A3	1999年 11月 29日
				WO	9715300	A2	1997年 5月 1日
				AR	004108	A1	1998年 9月 30日
				SK	283222	B6	2003年 3月 4日
				PL	185714	B1	2003年 7月 31日
				NO	981503	D0	1998年 4月 2日
				IL	123523	D0	1998年 10月 30日
				ID	16489	A	1997年 10月 2日
				AU	706735	B2	1999年 6月 24日
				TW	457084	B	2001年 10月 1日
				BR	9610899	A	1999年 7月 13日
				US	5849789	A	1998年 12月 15日
				EP	0857065	B1	1999年 4月 7日
				JP	4567101	B2	2010年 10月 20日
				NO	981503	A	1998年 4月 2日
				DK	0857065	T3	1999年 10月 18日
				CA	2188841	C	2006年 5月 23日
				SK	52098	A3	1998年 9月 9日
				ZA	9608991	A	1997年 6月 10日
				DE	19539861	A1	1997年 4月 30日
				DE	59601624	D1	1999年 5月 12日
				KR	100423823	B1	2004年 8月 25日
				CZ	291456	B6	2003年 3月 12日

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2009年7月)

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2015/077216

检索报告引用的专利文件				公布日 (年/月/日)			同族专利	公布日 (年/月/日)		
US	5384330	A	1995年 1月 24日	IL	123523	A		2001年 12月 23日		
				MX	9803172	A		1998年 9月 30日		
				RU	2201227	C2		2003年 3月 27日		
				NZ	326754	A		2000年 3月 27日		
				EP	0857065	A2		1998年 8月 12日		
				AU	1540097	A		1997年 5月 15日		
				CA	2086654	C		2003年 9月 23日		
				DE	59205496	D1		1996年 4月 4日		
				JP	3145220	B2		2001年 3月 12日		
				ES	2084914	T3		1996年 5月 16日		
				ZA	9300011	A		1993年 8月 5日		
				CA	2086654	A1		1993年 7月 9日		
				GR	3019653	T3		1996年 7月 31日		
				DE	4200259	A1		1993年 7月 15日		
				EP	0554543	B1		1996年 2月 28日		
				AT	134611	T		1996年 3月 15日		
				LU	91869	I2		2011年 11月 14日		
				DK	554543	T3		1996年 3月 18日		
CN	101056845	A	2007年 10月 17日	MX	9300014	A		1993年 7月 1日		
				DK	0554543	T3		1996年 3月 18日		
				DE	122011100044	I1		2012年 1月 19日		
				EP	0554543	A2		1993年 8月 11日		
				JP	H05345752	A		1993年 12月 27日		
				SG	48046	A1		1998年 4月 17日		
				EP	0554543	A3		1993年 10月 27日		
				EA	200700633	A1		2007年 10月 26日		
				CA	2580131	A1		2006年 3月 23日		
				MX	2007002911	A		2007年 4月 27日		
				AR	050644	A1		2006年 11月 8日		
				EP	1791809	A1		2007年 6月 6日		
				KR	20070058502	A		2007年 6月 8日		
				JP	2008512402	A		2008年 4月 24日		
				US	7601870	B2		2009年 10月 13日		
				BR	PI0515174	A		2008年 7月 8日		
				UA	89503	C2		2010年 2月 10日		
				WO	2006029623	A1		2006年 3月 23日		
ZA	200702125	A	2008年 9月 25日	IL	181679	D0		2007年 7月 4日		
				US	2006155121	A1		2006年 7月 13日		
				AU	2005284501	A1		2006年 3月 23日		
				NO	20071843	A		2007年 4月 11日		
				NO	20071843	B		2007年 4月 11日		
				US	2010063044	A1		2010年 3月 11日		
				ZA	200702125	A		2008年 9月 25日		

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2009年7月)