



(21) 申請案號：111117727 (22) 申請日：中華民國 111 (2022) 年 05 月 11 日
(51) Int. Cl. : C07C39/42 (2006.01) C07C69/157 (2006.01)
A61P25/08 (2006.01)
(30) 優先權：2021/05/12 英國 2106786.3
(71) 申請人：英商吉偉研究有限公司 (英國) GW RESEARCH LIMITED (GB)
英國
(72) 發明人：席爾寇克 艾倫 詹姆士 SILCOCK, ALAN JAMES (GB)；謝 嘉茵 TSE, KAREN
KA-YEN (GB)；歐斯伯恩 詹姆士 丹尼爾 OSBORNE, JAMES DANIEL (GB)；
辛奇利夫 保羅 史都華 HINCHLIFFE, PAUL STUART (GB)；夏普 安德魯
SHARPE, ANDREW (GB)
(74) 代理人：陳長文
申請實體審查：無 申請專利範圍項數：15 項 圖式數：9 共 49 頁

(54) 名稱

作為醫藥活性化合物之間苯二酚衍生物及其製備方法

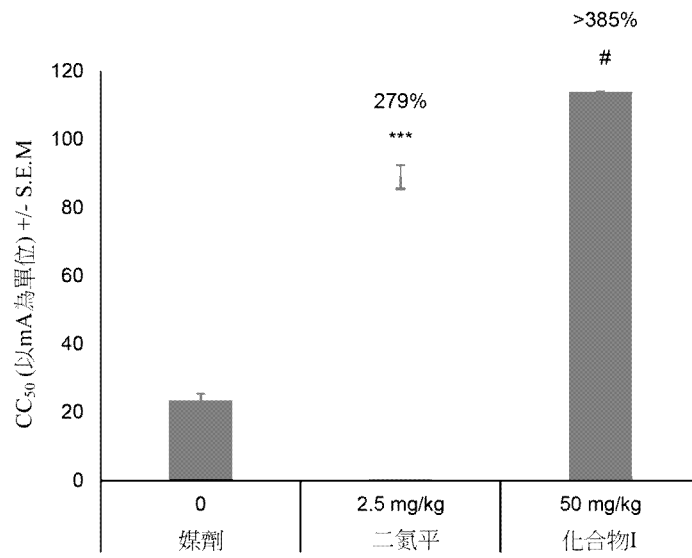
(57) 摘要

本發明係關於一種作為醫藥活性化合物之間苯二酚衍生物及其製備方法。間苯二酚衍生物已用於治療各種疾病及病症。儘管此類治療具有前景，但在此項技術中仍需要更有效之治療且此已藉由本發明之間苯二酚衍生物實現。

The present invention relates to a resorcinol derivative as a pharmaceutically active compound and method of preparation thereof. Resorcinol derivatives have been used to treat various diseases and disorders. While such treatments hold promise, there remains a need in the art for more effective treatments and this has been brought about by way of the resorcinol derivative of the invention.

指定代表圖：

式I化合物對小鼠中電擊誘導之全身性癲癇發作臨限值(微型MEST)的影響

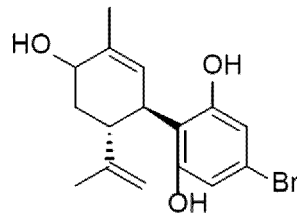


*** P<0.001 在與自身媒劑相比時臨限值之顯著變化

由於未達到CC₅₀，因此未測定統計顯著性

【圖1】

特徵化學式：



【發明摘要】

【中文發明名稱】

作為醫藥活性化合物之間苯二酚衍生物及其製備方法

【英文發明名稱】

RESORCINOL DERIVATIVE AS A PHARMACEUTICALLY ACTIVE COMPOUND AND METHOD OF PREPARATION THEREOF

【中文】

本發明係關於一種作為醫藥活性化合物之間苯二酚衍生物及其製備方法。間苯二酚衍生物已用於治療各種疾病及病症。儘管此類治療具有前景，但在此項技術中仍需要更有效之治療且此已藉由本發明之間苯二酚衍生物實現。

【英文】

The present invention relates to a resorcinol derivative as a pharmaceutically active compound and method of preparation thereof. Resorcinol derivatives have been used to treat various diseases and disorders. While such treatments hold promise, there remains a need in the art for more effective treatments and this has been brought about by way of the resorcinol derivative of the invention.

【指定代表圖】

圖1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】

【發明說明書】

【中文發明名稱】

作為醫藥活性化合物之間苯二酚衍生物及其製備方法

【英文發明名稱】

RESORCINOL DERIVATIVE AS A PHARMACEUTICALLY ACTIVE COMPOUND AND METHOD OF PREPARATION THEREOF

【技術領域】

【0001】 本發明係關於一種作為醫藥活性化合物之間苯二酚衍生物、研究工具及其製備方法。

【先前技術】

【0002】 間苯二酚已廣泛已知為廣泛用於高級化學物質及技術 (Durairaj, 2005) 之研發中的通用化合物。其已用於自醫療至化學之廣泛範圍的應用，包括樹脂、塑膠、染料、醫藥及多種其他有機化合物之製造中。

【0003】 間苯二酚呈現為白色晶體或粉末且具有微弱的特徵性芳香氣味，味微甜苦澀，且易溶於水及醇中。化合物之其他名稱包括間苯二酚、間二羥基苯、1,3-二羥基苯、1,3-苯二酚及3-羥基苯酚，且其實驗式為 $C_6H_6O_2$ 。在結構上，化合物在芳環結構中具有兩個羥基，其位於相對於各羥基之間位。間苯二酚之高反應性主要與苯環中之此等兩個羥基之位置相關，其中鄰近於羥基之氫原子具有特定反應性。

【0004】 間苯二酚之產生可經由若干途徑，藉由使用天然樹脂(諸如巴西木(brazilwood)之餾出物)，使許多樹脂(諸如古蓬香脂(galbanum)及阿魏膠(asafoetida))中之任一者熔融且使其與氫氧化鉀組合，或藉由若干

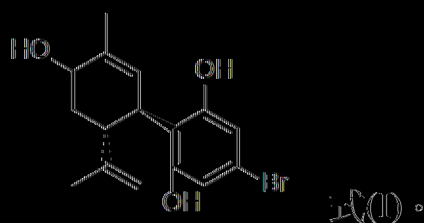
合成方法。一種合成製造方法為用硫酸磺化苯且用氫氧化鈉使所得苯二磺酸融合，且隨後萃取間苯二酚。

〔0005〕 間苯二酚之用途中之一者為其作為用於合成醫藥品及其他有機化合物之化學中間物的作用。舉例而言，其用於產生重氮染料及塑化劑且用作樹脂中之UV吸收劑。作為醫藥，間苯二酚在用於治療皮膚病症及感染(諸如瘡疥、脂溢皮膚炎、濕疹、牛皮癬、雞眼、胼胝及疣)之局部醫藥產品中用作防腐劑及消毒劑。間苯二酚藉由幫助在皮膚發揮角質溶解活性時移除硬的鱗片狀或粗糙皮膚來起作用。然而，間苯二酚之主要用途係用於產生樹脂。與甲醛反應產生用於使人造絲及耐綸能夠用橡膠浸漬且用作黏著劑之樹脂。

〔發明內容〕

〔0006〕 最一般而言，本發明係關於一種具有生物活性且因此適用於治療疾病之新穎間苯二酚衍生物。此類新穎化合物可藉由廣泛多種途徑投與，包括(但不限於)經口、經皮、經頰、經鼻、經肺、經直腸或經眼。此等化合物可用於治療或預防醫學病狀，包括(但不限於)癩癩。

〔0007〕 在本發明之第一態樣中，提供一種式(I)化合物，或其鹽或立體異構物：



〔0008〕 在一個實施例中，該式(I)化合物為(1[']R,2[']R,4[']R)-4-溴-5[']-甲基-2[']-(丙-1-烯-2-基)-1',2',3',4'-四氫-[1,1'-聯苯]-2,4',6-三醇或其鹽。

〔0009〕 在一個實施例中，該式(I)化合物為(1[']R,2[']R,4[']S)-4-溴-5[']-甲基-2[']-(丙-1-烯-2-基)-1',2',3',4'-四氫-[1,1'-聯苯]-2,4',6-三醇或其鹽。

第2頁(發明說明書)

【0010】 在本發明之第二態樣中，提供一種醫藥組合物，其包含第一態樣之化合物以及一或多種選自以下之另外成分：載劑、稀釋劑、賦形劑、佐劑、填充劑、緩衝劑、黏合劑、崩解劑、防腐劑、抗氧化劑、潤滑劑、穩定劑、增溶劑、界面活性劑(例如潤濕劑)、掩蔽劑、著色劑、調味劑及甜味劑。

【0011】 較佳地，第二態樣之醫藥組合物呈選自以下之形式：液體、溶液、懸浮液、乳液、糖漿、舐劑、漱口水、滴劑、錠劑、顆粒、散劑、口含錠(lozenge)、丸粒(pastille)、膠囊、扁囊劑(cachet)、丸劑、安瓿、彈丸注射劑(bolus)、栓劑、子宮托(pessary)、酞劑、凝膠、糊劑、軟膏、乳膏、洗劑、油、發泡體、噴霧劑及氣霧劑。

【0012】 在本發明之第三態樣中，提供第一態樣之化合物或第二態樣之醫藥組合物，其用於治療方法。

【0013】 較佳地，第三態樣之治療方法為一種治療癲癇、全身性癲癇發作(generalised seizure)、局灶性發生癲癇發作(focal onset seizure)或強直陣攣性癲癇發作(tonic-clonic seizure)之方法。

【0014】 在本發明之第四態樣中，提供一種第一態樣之化合物或第二態樣之醫藥組合物，其用作藥劑。

【0015】 較佳地，第四態樣之藥劑為用於治療癲癇、全身性癲癇發作、局灶性發生癲癇發作或強直陣攣性癲癇發作之藥劑。

【0016】 在本發明之第五態樣中，提供一種治療方法，其包含向需要治療之個體投與治療有效量的第一態樣之化合物或第二態樣之醫藥組合物。

【0017】 根據本發明之第六態樣，提供一種用於產生式(I)化合物之

方法，其包含以下步驟：

- i) 使5-溴苯-1,3-二醇與4-異丙烯基-1-甲基-環己-2-烯-1-醇反應；
- ii) 用乙酸酐處理所得化合物5-溴-2-[6-異丙烯基-3-甲基-環己-2-烯-1-基]苯-1,3-二醇；
- iii) 用乙酸錳二水合物處理另一所得化合物乙酸[3-乙醯氧基-5-溴-2-[6-異丙烯基-3-甲基-環己-2-烯-1-基]苯酯]；
- iv) 將硼氫化鈉添加至後續另一所得化合物乙酸[3-乙醯氧基-5-溴-2-[(1R,6R)-6-異丙烯基-3-甲基-4-側氧基-環己-2-烯-1-基]苯酯]中，隨後進行後續步驟以產生該式(I)化合物。

【0018】 下文進一步詳細描述此等及其他態樣以及本發明之實施例。

【圖式簡單說明】

【0019】 參考下文所列出之圖式描述本發明：

圖1展示如實例2中所描述的測試化合物在小鼠中之微型MEST測試中的評估。

圖2展示如實例3中所描述的測試化合物在小鼠中之MEST測試中的評估。

圖3展示如實例4中所描述，當在小鼠中之聽覺性癲癇發作測試中投與化合物I (陽性對照：丙戊酸鹽；陰性對照：媒劑)時瘋狂奔跑(wild running)之小鼠的百分比(%)。

圖4展示如實例4中所描述，當在小鼠中之聽覺性癲癇發作測試中投與化合物I (陽性對照：丙戊酸鹽；陰性對照：媒劑)時陣攣性痙攣之小鼠的百分比(%)。

圖5展示如實例4中所描述，當在小鼠中之聽覺性癲癇發作測試中投與化合物I (陽性對照：丙戊酸鹽；陰性對照：媒劑)時陣攣性痙攣的潛伏期。

圖6展示如實例4中所描述，當在小鼠中之聽覺性癲癇發作測試中投與化合物I (陽性對照：丙戊酸鹽；陰性對照：媒劑)時強直伸展之小鼠的百分比(%)。

圖7展示如實例4中所描述，當在小鼠中之聽覺性癲癇發作測試中投與化合物I (陽性對照：丙戊酸鹽；陰性對照：媒劑)時強直伸展的潛伏期。

圖8展示如實例4中所描述，當在小鼠中之聽覺性癲癇發作測試中投與化合物I (陽性對照：丙戊酸鹽；陰性對照：媒劑)時死亡的百分比(%)。

圖9展示如實例5中所描述的測試化合物在小鼠中之6Hz精神運動測試中的評估。

【實施方式】

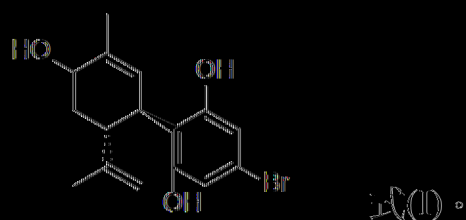
相關申請案

【0020】本申請案係關於2021年5月12日(12.05.2021)申請之GB 2106786.3且主張其權益，該申請案之內容以全文引用之方式併入本文中。

【0021】本發明提供一種具有生物活性且因此適用於治療疾病之新穎間苯二酚衍生物。

新穎間苯二酚

【0022】本發明提供一種式(I)化合物：



〔0023〕 式(1)化合物以異構物(差向異構物)形式存在。本發明之新穎間苯二酚之兩種異構物為(1'R,2'R,4'R)-4-溴-5'-甲基-2'-(丙-1-烯-2-基)-1',2',3',4'-四氫-[1,1'-聯苯]-2,4,6-三醇(其將稱為異構物1)，及(1'R,2'R,4'S)-4-溴-5'-甲基-2'-(丙-1-烯-2-基)-1',2',3',4'-四氫-[1,1'-聯苯]-2,4,6-三醇(其將稱為異構物2)。異構物1及2將統稱為式(1)化合物或化合物I。

〔0024〕 在一個實施例中，式(1)化合物為(1'R,2'R,4'R)-4-溴-5'-甲基-2'-(丙-1-烯-2-基)-1',2',3',4'-四氫-[1,1'-聯苯]-2,4,6-三醇(異構物1)。

〔0025〕 在一個實施例中，式(1)化合物為(1'R,2'R,4'S)-4-溴-5'-甲基-2'-(丙-1-烯-2-基)-1',2',3',4'-四氫-[1,1'-聯苯]-2,4,6-三醇(異構物2)。

鹽

〔0026〕 在一些實施例中，式(1)化合物係以游離鹼形式提供。

〔0027〕 替代地，可適宜地或合乎需要地製備、純化及/或處置化合物之對應鹽，例如醫藥學上可接受之鹽。醫藥學上可接受之鹽的實例論述於「Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use」，第2版，2002，Stahl及Wermuth (編)，Wiley-VCH, Weinheim, Germany中。

〔0028〕 因此，在一些實施例中，式(1)化合物係以鹽形式，例如以質子化形式與適合的抗衡陰離子一起提供。

〔0029〕 適合的抗衡陰離子包括有機陰離子及無機陰離子兩者。適合的無機陰離子之實例包括來源於無機酸之無機陰離子，包括氯離子(Cl⁻)、溴離子(Br⁻)、碘離子(I⁻)、硫酸根(SO₄²⁻)、亞硫酸根(SO₃²⁻)、硝酸

根(NO_3^-)、亞硝酸根(NO_2^-)、磷酸根(PO_4^{3-})及亞磷酸根(PO_3^{3-})。適合的有機陰離子之實例包括2-乙醯氧基苯甲酸根、乙酸根、抗壞血酸根、天冬胺酸根、苯甲酸根、樟腦磺酸根、肉桂酸根、檸檬酸根、依地酸根(edetate)、乙二磺酸根、乙磺酸根、甲酸根、反丁烯二酸根、葡糖酸根、麩胺酸根、乙醇酸根、羥基蘋果酸根、羧酸根、乳酸根、月桂酸根、順丁烯二酸根、蘋果酸根、甲磺酸根、油酸根、草酸根、棕櫚酸根、苯基乙酸根、苯基磺酸根、丙酸根、丙酮酸根、水楊酸根、硬脂酸根、丁二酸根、對胺基苯磺酸根、酒石酸根、甲苯磺酸根及戊酸根。適合的聚合有機陰離子之實例包括來源於鞣酸及羧甲基纖維素之聚合有機陰離子。

【0030】 替代地，在一些實施例中，式(I)化合物係以鹽形式，例如以去質子化形式與適合的抗衡陽離子一起提供。

【0031】 適合之抗衡陽離子包括有機陽離子及無機陽離子兩者。適合的無機陽離子之實例包括鹼金屬離子，諸如 Na^+ 及 K^+ ；鹼土金屬陽離子，諸如 Ca^{2+} 及 Mg^{2+} ；及其他陽離子，諸如 Al^{3+} 。適合的有機陽離子之實例包括銨離子(亦即 NH_4^+)及經取代之銨離子(例如， NH_3R^+ 、 NH_2R_2^+ 、 NHR_3^+ 、 NR_4^+)。經取代之銨離子之實例包括來源於以下之銨離子：乙胺、二乙胺、二環己胺、三乙胺、丁胺、乙二胺、乙醇胺、二乙醇胺、哌啶、苯甲胺、苯基苯甲胺、膽鹼、葡甲胺及緩血酸胺，以及胺基酸(諸如離胺酸及精胺酸)。常見四級銨離子之一實例為 $\text{N}(\text{CH}_3)_4^+$ 。

溶劑合物

【0032】 在一些實施例中，式(I)化合物係以去溶劑化形式，例如以脫水形式提供。

【0033】 替代地，可適宜地或合乎需要地製備、純化及/或處置化合

物、製劑或藥劑)。

【0038】 因此，本發明提供一種醫藥組合物，其包含式(I)之化合物或其鹽以及一或多種醫藥學上可接受之成分。

【0039】 適合的醫藥學上可接受之成分(例如載劑、稀釋劑、賦形劑等)可見於標準醫藥文本，例如Remington: The Science and Practice of Pharmacy,第20版, 2000, 出版公司Lippincott, Williams & Wilkins ; 及Handbook of Pharmaceutical Excipients, 第2版, 1994中。

【0040】 適合的醫藥學上可接受之成分之實例包括醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑(例如油)、賦形劑、佐劑、填充劑、緩衝劑、黏合劑、崩解劑、防腐劑、抗氧化劑、潤滑劑、穩定劑、增溶劑、界面活性劑(例如潤濕劑)、掩蔽劑、著色劑、調味劑及甜味劑。

【0041】 在一較佳實施例中，醫藥組合物包含以下中之一或多者：選自載劑、油、崩解劑、潤滑劑、穩定劑、調味劑、抗氧化劑、稀釋劑之賦形劑，及另一醫藥學上有效之化合物。

【0042】 醫藥組合物可呈任何適合的形式。適合形式之實例包括液體、溶液(例如水性、非水性)、懸浮液(例如水性、非水性)、乳液(例如，水包油、油包水)、糖漿、舐劑、漱口水、滴劑、錠劑(包括例如包衣錠劑)、顆粒、散劑、口含錠、丸粒、膠囊(包括例如硬及軟明膠膠囊)、扁囊劑、丸劑、安瓿、彈丸注射劑、栓劑、子宮托、酞劑、凝膠、糊劑、軟膏、乳膏、洗劑、油、發泡體、噴霧劑及氣霧劑。

【0043】 在一較佳實施例中，醫藥組合物之形式係選自錠劑、膠囊、顆粒、吸入用粉末、噴灑劑、口服溶液及懸浮液。

醫學治療

【0044】本發明人已發現，式(I)化合物具有生物活性。工作實例證實，式(I)化合物在小鼠模型中顯示抗痙攣活性。因此，式(I)化合物及其鹽以及包含式(I)化合物或其鹽的醫藥組合物將適用於醫學治療。

【0045】因此，本發明提供一種式(I)化合物或其鹽，其用於治療方法，例如用於藉由療法治療人體或動物體之方法(亦即療法方法)。

【0046】本發明亦提供一種式(I)化合物或其鹽，其用作藥劑。

【0047】本發明亦提供一種治療方法，其包含向需要治療之個體投與治療有效量之化合物(I)或其鹽。

【0048】本發明亦提供一種化合物(I)或其鹽之用途，其用於製造藥劑。

所治療之病狀

【0049】本發明人已發現，式(I)化合物在具有全身性癲癇發作之小鼠模型中顯示抗痙攣活性。因此，式(I)化合物、其鹽以及包含式(I)化合物或其鹽的醫藥組合物將適用於治療與癲癇發作相關之某些病狀。

【0050】類似地，式(I)化合物、其鹽以及包含式(I)化合物或其鹽的醫藥組合物將適用作用於治療與癲癇發作相關之某些病狀的藥劑(且適用於製造用於治療該等病狀之藥劑)。

【0051】在一較佳實施例中，與癲癇發作相關之病狀為癲癇。

【0052】在一個實施例中，與癲癇發作相關之病狀為全身性癲癇發作，諸如與癲癇相關之全身性癲癇發作。

【0053】在一個實施例中，與癲癇發作相關之病狀為強直陣攣性癲癇發作，諸如與癲癇相關之強直陣攣性癲癇發作。

個體/患者

【0054】 治療方法通常包含向個體或患者投與式(I)化合物或其鹽。

【0055】 個體/患者可為脊索動物、脊椎動物、哺乳動物、胎盤哺乳動物、有袋動物(例如袋鼠、袋熊)、嚙齒動物(例如天竺鼠、倉鼠、大鼠、小鼠)、鼠類(例如小鼠)、兔類(例如兔)、禽類(例如鳥)、犬類(例如犬)、貓類(例如貓)、馬類(例如馬)、豬類(例如豬)、綿羊類(例如綿羊)、牛類(例如牛)、靈長類動物、猿猴(例如猴或猿)、猴(例如狨猴、狒狒)、猿(例如大猩猩、黑猩猩、紅毛猩猩(orang-utan)、長臂猿)或人類。此外，個體/患者可為其發育形式中之任一種，例如嬰兒或兒童。

【0056】 在一較佳實施例中，個體/患者為人類，更佳為成人。

【0057】 個體/患者亦可為用於實驗室研究之非人類哺乳動物，諸如嚙齒動物。嚙齒動物包括大鼠、小鼠、天竺鼠及絨鼠。

投與途徑

【0058】 治療方法可包含藉由任何適宜的投與途徑向個體投與式(I)化合物或其鹽，無論為全身/周邊抑或局部(亦即，在所需作用部位處)。

【0059】 投與途徑可為經口(例如，藉由攝取)；經頰；舌下；經皮(包括例如藉由貼片、膏藥等)；經黏膜(包括例如藉由貼片、膏藥等)；鼻內(例如，藉由鼻用噴霧)；經眼(例如，藉由滴眼劑)；經肺(例如，藉由使用例如經由氣霧劑，例如經由口腔或鼻之吸入或吹入療法)；經直腸(例如，藉由栓劑或灌腸)；經陰道(例如，藉由子宮托)；非經腸，例如藉由注射或輸注，包括皮下、皮內、肌肉內、靜脈內、動脈內、心內、鞘內、脊柱內、囊內、囊下、眶內、腹膜內、氣管內、表皮下、關節內、蛛膜下及胸骨內；或藉由例如皮下或肌肉內植入儲槽或儲集器。

劑量

【0060】 治療方法通常包含向個體投與治療有效量之式(I)化合物或其鹽。

【0061】 式(I)化合物、其鹽以及包含式(I)化合物或其鹽之醫藥組合物的適當劑量可在患者間變化。確定最佳劑量一般將涉及平衡治療有益之量與任何風險或不利副作用。所選劑量將視多種因素而定，包括(但不限於)特定式(I)化合物之活性；投與途徑；投與時間；化合物之排泄速率；治療之持續時間；組合使用之其他活性劑、化合物及/或物質；病狀之嚴重程度；以及患者之物種、性別、年齡、體重、病狀、一般健康及先前病史。劑量及投與途徑最終將由臨床醫師裁量，儘管通常選擇劑量以在作用部位達成局部濃度，其達成所需作用而不會引起實質上有害或不利副作用。

【0062】 可在整個治療時程中以一個劑量連續地或間歇地(例如以適當間隔分劑)進行投與。可進行單次或多次投與，且由治療臨床醫師選擇劑量及模式。

其他態樣及實施例

【0063】 上文所描述之實施例之每一個及每一相容組合明確揭示於本文中，如同個別且明確地敘述每一個及每一組合那般。

【0064】 鑒於本發明，本發明之各種其他態樣及實施例將對熟習此項技術者顯而易見。

【0065】 在使用時，「及/或」應被視為相關組分或特徵中之每一者的特定揭示以及組分或特徵之組合的特定揭示。舉例而言，「A及/或B」應被視為以下中之每一者的特定揭示：i) A，ii) B及ii) A及B，正如同各自個別闡述。

合物、劑型等，其在合理醫學判斷之範疇內，適用於與所討論之個體(例如人類)的組織接觸而無過度毒性、刺激、過敏反應或其他問題或併發症，與合理的益處/風險比相稱。各成分(例如載劑、稀釋劑、賦形劑等)亦必須在與組合物之其他成分相容之意義上為「可接受的」。

【0073】 術語「治療有效量」係關於當根據所需治療方案投與時，有效用於產生一些所需治療作用的化合物或包含化合物之材料、組合物或劑型之量，與合理的益處/風險比相稱。

工作實例

【0074】 本發明之某些態樣及實施例將不藉助於實例及參考上文所描述之圖式來說明。

實例1：間苯二酚衍生物之合成製造方法

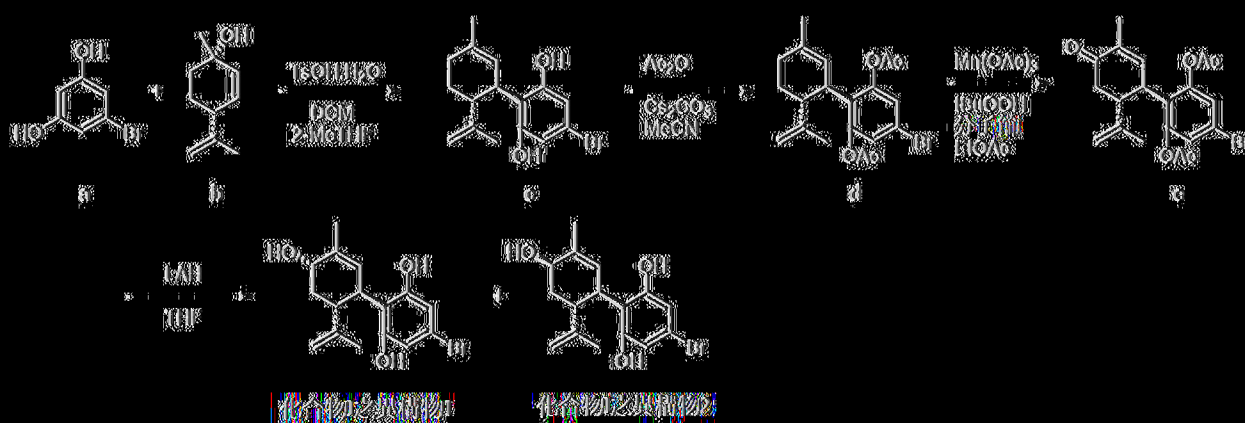
【0075】 此實例描述一種新穎合成方法，其用於產生證實藥理學活性之新穎間苯二酚。以下流程1描述用於產生新穎間苯二酚之反應之四個階段，該等間苯二酚經由多種中間物形成。

【0076】 本發明之新穎間苯二酚之兩種異構物為(1'*R*,2'*R*,4'*R*)-4-溴-5'-甲基-2'-(丙-1-烯-2-基)-1',2',3',4'-四氫-[1,1'-聯苯]-2,4',6-三醇(其將稱為化合物I之異構物1)及(1'*R*,2'*R*,4'*S*)-4-溴-5'-甲基-2'-(丙-1-烯-2-基)-1',2',3',4'-四氫-[1,1'-聯苯]-2,4',6-三醇(其將稱為化合物I之異構物2)，且異構物1及2將通篇統稱為式(I)化合物或化合物I。

【0077】 化合物I之異構物1之分析資料係如下：¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.37 (s, 2H), 6.39 (s, 2H), 5.17 (s, 1H), 4.63 - 4.58 (m, 1H), 4.51 (s, 1H), 4.47 - 4.46 (m, 1H), 4.08 - 4.01 (m, 1H), 3.87 (s, 1H), 3.74 - 3.72 (m, 1H), 2.01 (d, J=5.0 Hz, 1H), 1.70 - 1.53 (m, 7H)。

[(0078)] 化合物I之異構物2之分析資料係如下：¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.53 (s, 1H), 9.32 (s, 1H), 6.43 ~ 6.36 (m, 2H), 5.07 ~ 5.05 (m, 1H), 4.62 (d, J: 6.7 Hz, 1H), 4.49 ~ 4.44 (m, 2H), 4.12 ~ 4.06 (m, 1H), 3.88 ~ 3.84 (m, 1H), 3.20 ~ 3.12 (m, 1H), 1.90 (ddd, J: 2.4, 5.7, 12.0 Hz, 1H), 1.66 ~ 1.63 (m, 3H), 1.63 ~ 1.55 (m, 4H)。

流程1：新穎間苯二酚之合成



化合物	名稱
a	5-溴苯-1,3-二醇
b	4-異丙烯基-1-甲基環己-2-烯-1-醇
c	5-溴-2-[6-異丙烯基-3-甲基環己-2-烯-1-基]苯-1,3-二醇
d	乙酸[3-乙酰氧基-5-溴-2-[6-異丙烯基-3-甲基環己-2-烯-1-基]苯基]三酯
e	乙酸[3-乙酰氧基-5-溴-2-[6-異丙烯基-3-甲基-4-側氧基環己-2-烯-1-基]苯基]三酯

步驟1：化合物c之形成

[(0079)] 將5-溴苯-1,3-二醇(20.88 g, 0.110 mol, 1.00當量)及單水合對甲苯磺酸(10.51 g, 55.2 mmol, 0.500當量)於2-甲基四氫呋喃(132 mL)及二氯甲烷(465 mL)之混合物中之溶液在氮氣下用冰/鹽水浴冷卻至0°C。添加(4R)-4-異丙烯基-1-甲基環己-2-烯-1-醇(13 mL, 77.5 mmol, 0.701當量)且將所得溶液攪拌5分鐘。移除冷卻浴且將無色溶液攪拌2小時，升溫至20°C。將混合物用二氯甲烷(200 mL)稀釋且藉由小心添加300 mL飽和NaHCO₃水溶液鹼化至pH 8。將有機層分離且用水(50 mL)、飽和

鹽水(50 mL)洗滌，接著乾燥(MgSO₄)，過濾且在真空中濃縮，得到無色膠狀物。將此藉由矽膠管柱層析(800 g，Interchim濾筒)，用0-50%乙醚於環己烷中溶離來純化，得到呈無色膠狀物/玻璃之2-[(1*R*,6*R*)-6-異丙烯基-3-甲基-環己-2-烯-1-基]苯-1,3-二醇(2.53 g，約6%產率)。將此藉由矽膠管柱層析(40 g，15微米Interchim管柱)，用5-20%乙醚於環己烷中真空溶離來再純化，得到5-溴-2-[(1*R*,6*R*)-6-異丙烯基-3-甲基-環己-2-烯-1-基]苯-1,3-二醇(0.92 g)以及一些不純物質。

【0080】 初始管柱亦產生呈在靜置時凝固之無色膠狀物的經回收5-溴苯-1,3-二醇(8.17 g，約39%回收率)。將此溶解於2-甲基四氫呋喃(55 mL)及二氯甲烷(185 mL)之混合物中，用(4*R*)-4-異丙烯基-1-甲基-環己-2-烯-1-醇(4.9 mL，30.3 mmol，0.701當量)處理，在氮氣下用冰/鹽水浴冷卻至0°C。添加單水合對甲苯磺酸(4.11 g，21.6 mmol，0.500當量)且將所得溶液攪拌5分鐘。移除冷卻浴且將無色溶液攪拌2小時，升溫至20°C。將混合物用二氯甲烷(100 mL)稀釋且藉由小心添加300 mL飽和碳酸氫鈉水溶液鹼化至pH 8。將有機層分離且用水(50 mL)、飽和鹽水(50 mL)洗滌，接著乾燥(MgSO₄)，過濾且在真空中濃縮，得到無色膠狀物。殘餘物藉由矽膠管柱層析(40 g Interchim濾筒)，用0-50%乙醚於環己烷中溶離來純化，得到呈無色膠狀物之標題化合物(1.33 g，7%產率，81% LCMS純度)。將此與來自第一反應之不純物質合併且藉由矽膠管柱層析(40 g Interchim濾筒)，用5-20%乙醚於環己烷中溶離來純化，得到呈無色膠狀物之5-溴-2-[(1*R*,6*R*)-6-異丙烯基-3-甲基-環己-2-烯-1-基]苯-1,3-二醇(2.10 g，91% LCMS純度)。

【0081】 所獲得之5-溴-2-[(1*R*,6*R*)-6-異丙烯基-3-甲基-環己-2-烯-

1-基]苯-1,3-二醇的總產量為3.02 g (9.34 mmol, 8.5%)。

【0082】 化合物c分析資料：¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.37 (s, 2H), 6.38 (s, 2H), 5.08 (s, 1H), 4.49 (d, J=2.8 Hz, 1H), 4.44 (dd, J=1.6, 2.8 Hz, 1H), 3.86 - 3.83 (m, 1H), 3.06 - 2.98 (m, 1H), 2.12 - 2.07 (m, 1H), 1.96 - 1.92 (m, 1H), 1.63 - 1.59 (m, 8H)。

步驟2：化合物d之形成

【0083】 將含5-溴-2-[(1R,6R)-6-異丙烯基-3-甲基-環己-2-烯-1-基]苯-1,3-二醇(1305 mg, 4.04 mmol, 1.00當量)之乙腈(30 mL)用碳酸鈉(3289 mg, 10.1 mmol, 2.50當量)處理，隨後用乙酸酐(0.95 mL, 10.1 mmol, 2.50當量)處理。將反應混合物攪拌1小時，接著分配於乙酸乙酯(100 mL)與水(100 mL)之間。分離各層，用乙酸乙酯(100 mL)萃取水層且合併之有機相經由疏水性濾紙過濾且在真空中濃縮，得到呈橙色膠狀物之標題化合物(1.60 g, 93.4%)。此不經進一步純化即用於下一反應中。

【0084】 化合物d分析資料：¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ , 7.07 (s, 2H), 5.15 (s, 1H), 4.56 (s, 1H), 4.44 - 4.44 (m, 1H), 3.55 - 3.50 (m, 1H), 2.67 - 2.60 (m, 1H), 2.24 - 2.16 (m, 7H), 2.07 - 2.00 (m, 1H), 1.84 - 1.64 (m, 5H), 1.58 - 1.57 (m, 3H)。

步驟3：化合物e之形成

【0085】 將含乙酸[3-乙醯氧基-5-溴-2-[(1R,6R)-6-異丙烯基-3-甲基-環己-2-烯-1-基]苯酯](1560 mg, 3.83 mmol, 1.00當量)及分子篩(3Å, 5000 mg)之乙酸乙酯(31.92 mL)用乙酸錳(III)二水合物(103 mg, 0.383 mmol, 0.100當量)處理，隨後用含5.5 M三級丁基過氧化氫溶液之王烷(3.5 mL, 19.2 mmol, 5.00當量)處理。將反應混合物在20°C攪拌過夜，

接著用乙酸乙酯(50 mL)稀釋且經由矽藻土墊過濾。將濾液用飽和硫代硫酸鈉水溶液(30 mL)及水(30 mL)洗滌，分離，乾燥(MgSO₄)，過濾且在真空中濃縮。殘餘物藉由矽膠管柱層析，用0-100%乙醚於環己烷中溶離來純化，得到呈灰白色固體之標題化合物(561 mg, 34.8%)。

【0086】 化合物e分析資料：¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.39 (s, 2H), 6.38 (t, J=1.8 Hz, 1H), 4.56 (s, 1H), 4.50 (s, 1H), 4.04 (td, J=2.3, 10.6 Hz, 1H), 3.20 - 3.11 (m, 1H), 2.85 - 2.76 (m, 1H), 2.35 - 2.19 (m, 7H), 1.71 (dd, J=1.5, 2.5 Hz, 3H), 1.62 (s, 3H)。

步驟4：化合物I之異構物1及化合物I之異構物2的形成

【0087】 經30分鐘之時段，在0°C下向乙酸[3-乙醯氧基-5-溴-2-[(1*R*,6*R*)-6-異丙烯基-3-甲基-4-側氧基-環己-2-烯-1-基]苯酯](1.10 g, 2.61 mmol, 1.00當量)於甲醇(25.0 mL)中之溶液中分四等份添加硼氫化鈉(0.22 g, 5.74 mmol, 2.20當量)，且使混合物升溫至室溫過夜。在真空中濃縮反應混合物且將殘餘物分配於乙酸乙酯(75 mL)與水(75 mL)之間。分離各層且將有機相用鹽水(50 mL)洗滌，乾燥(MgSO₄)且在真空中濃縮。殘餘物藉由矽膠管柱層析用0-80%乙酸乙酯於環己烷中溶離來純化，得到呈白色固體之(1'*R*,2'*R*,4'*R*)-4-溴-5'-甲基-2'-(丙-1-烯-2-基)-1',2',3',4'-四氫-[1,1'-聯苯]-2,4',6-三醇(200 mg, 22.5%)及呈白色固體之(1'*R*,2'*R*,4'*S*)-4-溴-5'-甲基-2'-(丙-1-烯-2-基)-1',2',3',4'-四氫-[1,1'-聯苯]-2,4',6-三醇(508 mg, 57.4%)。

實例2：在使用最小樣本大小(微型MEST)之小鼠中使用最大電擊癲癇發作臨限值(Maximal Electroshock Seizure Threshold；MEST)測試評估新穎間苯二酚之抗痙攣活性

【0088】 在全身性癲癇發作之新穎小鼠模型，亦即微型MEST (最大電擊癲癇發作臨限值)測試中測試根據式(I)化合物之新穎間苯二酚的功效，該微型MEST測試使用比通常所使用更低的n數。

【0089】 最大電擊癲癇發作臨限值(MEST)測試在臨床前廣泛地用於評估測試化合物之促痙攣或抗痙攣特性(Loscher等人, 1991)。

【0090】 在MEST測試中，根據電擊滴定之「向上及向下」方法量測藥物改變誘導後肢強直伸肌痙攣所需之癲癇發作臨限值電流的能力(Kimball等人, 1957)。癲癇發作臨限值之增加指示抗痙攣作用。包括臨床上證明對全身性強直陣攣性癲癇發作有效之鈉通道阻斷劑(例如拉莫三嗪(lamotrigine))的抗癲癇藥物在小鼠中之此測試中均展現抗痙攣特性。

【0091】 相反，癲癇發作臨限值之減小指示如使用已知痙攣藥劑(諸如苦味毒(picotoxin))觀測到的促痙攣作用。

【0092】 在MEST中評定測試化合物改變誘導呈現強直後肢伸肌痙攣所需之刺激強度(表述為電流(mA))的能力。在治療組中之50%的動物(CC₅₀)中自產生強直後肢拉伸之電流中觀測到的強直後肢伸肌痙攣之存在(+)或不存在(0)之結果決定治療組之癲癇發作臨限值且接著將作用與媒劑對照組之CC₅₀進行比較。

方法

研究細節：

【0093】 使未經治療之小鼠在其飼養籠中適應操作間至多7天，其中可任意獲取食物及水。

【0094】 在研究開始時對所有動物稱重，且基於組中之體重之平均分佈而隨機分配至治療組。使用媒劑、50 mg/kg之測試化合物或2.5

mg/kg之二氮平(diazepam)經由腹膜內(i.p)注射以10 mL/kg對所有動物給藥。

【0095】 在媒劑、測試化合物及二氮平給藥後30 min時，自單次電擊個別評定動物的強直後肢伸肌痙攣之產生。

【0096】 治療組內之第一隻動物在預期或所估計CC₅₀電流下受到電擊。對於後續動物，視來自前一隻動物之痙攣結果而定以對數級間隔降低或升高電流。

【0097】 由各治療組產生之資料用於計算治療組之CC₅₀ ± SEM值。

測試化合物：

【0098】 媒劑：(含5%乙醇、10% solutol之85%鹽水)係如下製備：使1 mL乙醇、2 mL solutol在17 mL鹽水(1:2:17)中升溫至60°C。

【0099】 陽性對照：以2.5 mg/kg使用二氮平。

【0100】 本文描述為化合物I之測試化合物如式(I)所示。以50 mg/kg (i.p.)以1:2:17乙醇:solutol:0.9%鹽水調配物投與測試化合物。

樣本收集：

【0101】 各動物在產生痙攣之後立即藉由敲擊顱骨損壞腦而人道地殺死，隨後根據1986年動物(科學程序)法案附表1人道殺死動物(The Humane Killing of Animals under Schedule 1 to the Animals (Scientific Procedures) Act 1986)確認由斷頭術導致循環永久停止。在斷頭術後執行最終血液及腦收集。

【0102】 將血液收集於肝素鋰管中且在4°C以1500 × g離心10分鐘。將所得血漿移出(>100 μL)且分成含有10 μL抗壞血酸(100 mg/mL)用於穩定之0.5 mL埃彭道夫管(Eppendorf tube)之2個等分試樣。將大腦移出，在

鹽水中洗且對半分。將每一半置放於各別2 mL螺旋帽冷凍小瓶中，稱重且在乾冰上冷凍。

統計分析：

【0103】 各治療組之資料記錄為在所採用之各電流量下之+及0的數目，且此資訊接著用於計算CC₅₀值(50%之動物顯示癲癇發作行為所需之電流) ±標準誤差。

【0104】 測試化合物作用亦以相對於媒劑對照組之CC₅₀變化百分比計算。

【0105】 根據Litchfield及Wilcoxon (1949)評估經藥物治療之動物與對照之間的顯著差異。

結果

【0106】 圖1及表1描述此實驗中產生之資料。

【0107】 在媒劑組中，CC₅₀值經計算為23.5 mA。

【0108】 在測試之前30分鐘i.p.投與的二氦平(2.5 mg/kg)治療組中，CC₅₀值為89.0 mA。與媒劑對照相比，此結果為統計學上顯著的(p<0.001)。

【0109】 在測試之前30分鐘i.p.投與的測試化合物相較於媒劑產生癲癇發作臨限值明顯增加，其中對於50 mg/kg，CC₅₀ > 114 mA；由於在所測試之6隻動物內未看到「+」強直後肢痙攣，因此未計算精確值。雖然未測定CC₅₀，但化合物I在微型MEST中顯示癲癇發作臨限值明顯增加。化合物I之明顯活性由於此治療組中之動物不具有任何痙攣而得到證實。

【0110】 此類資料指示此化合物將具有治療益處。

表1：評估化合物I在微型MEST測試中之作用

治療	劑量 (mg/kg)	給藥後之 測試時間 (min)	N	CC ₅₀ +/- SEM	顯著性	相對於媒劑 之變化%
媒劑	-	30	6	23.5+/-1.9	-	-
二氫平	2.5	30	6	89.0+/-3.4	P<0.001	279%
化合物I	50	30	6	>114	#	>385 %

由於未達到CC₅₀，因此未測定統計顯著性

結論

【0111】 使用微型MEST模型產生之此資料證實化合物I之強治療作用，其中CC₅₀與媒劑對照相比增加超過385%，變化%甚至高於由陽性對照產生之變化%。

【0112】 此資料為重要的，因為其提供此新穎間苯二酚可具有治療價值之迄今為止未知的證據。

實例3：在小鼠中使用最大電擊癲癇發作臨限值(MEST)測試評估新穎間苯二酚之抗痙攣活性

【0113】 在全身性癲癇發作之小鼠模型，亦即最大電擊癲癇發作臨限值(MEST)測試中測試根據式(I)化合物之新穎間苯二酚的功效。

【0114】 最大電擊癲癇發作臨限值(MEST)測試在臨床前廣泛地用於評估測試化合物之促痙攣或抗痙攣特性(Loscher等人, 1991)。

【0115】 在MEST測試中，根據電擊滴定之「向上及向下」方法量測藥物改變誘導後肢強直伸肌痙攣所需之癲癇發作臨限值電流的能力(Kimball等人, 1957)。癲癇發作臨限值之增加指示抗痙攣作用。包括臨床上證明對全身性強直陣攣性癲癇發作有效之鈉通道阻斷劑(例如拉莫三嗪)的抗癲癇藥物在小鼠中之此測試中均展現抗痙攣特性。

【0116】 相反，癲癇發作臨限值之減小指示如使用已知痙攣藥劑(諸

如苦味毒)觀測到的促痙攣作用。

【0117】 在MEST中評定測試化合物改變誘導呈現強直後肢伸肌痙攣所需之刺激強度(表述為電流(mA))的能力。在治療組中之50%的動物(CC₅₀)中自產生強直後肢拉伸之電流中觀測到的強直後肢伸肌痙攣之存在(+)或不存在(0)之結果決定治療組之癲癇發作臨限值且接著將作用與媒劑對照組之CC₅₀進行比較。

方法

研究細節：

【0118】 使未經治療之小鼠在其飼養籠中適應操作間至多7天，其中可任意獲取食物及水。

【0119】 在研究開始時對所有動物稱重，且基於組中之體重之平均分佈而隨機分配至治療組。使用媒劑、1、5、20、50、100及200 mg/kg之測試化合物或2.5 mg/kg之二氫平經由腹膜內(i.p)注射以10 mL/kg對所有動物給藥。

【0120】 在媒劑給藥後60 min、測試化合物給藥後15-60 min及二氫平給藥後30 min時，自單次電擊個別評定動物的強直後肢伸肌痙攣之產生。

【0121】 治療組內之第一隻動物在預期或所估計CC₅₀電流下受到電擊。對於後續動物，視來自前一隻動物之痙攣結果而定以5 mA之間隔降低或升高電流。

【0122】 由各治療組產生之資料用於計算治療組之CC₅₀ ± SEM值。

測試化合物：

【0123】 媒劑：(5%乙醇、5% Kolliphor® EL、90%鹽水)係如下製

備：使2 mL乙醇、2 mL之Kolliphor® EL在36 mL鹽水(1:1:18)中升溫至60°C。

【0124】 陽性對照：以2.5 mg/kg使用二氮平。

【0125】 本文描述為化合物I之測試化合物如式(I)所示。以1、5、20、50、100及200 mg/kg (i.p.)以1:2:17乙醇:solutol:0.9%鹽水調配物投與測試化合物。

樣本收集：

【0126】 各動物在產生痙攣之後立即藉由敲擊顱骨損壞腦而人道地殺死，隨後根據1986年動物(科學程序)法案附表1人道殺死動物確認由斷頭術導致循環永久停止。在斷頭術後執行最終血液及腦收集。

【0127】 將血液收集於肝素鋰管中且在4°C以1500 × g離心10分鐘。將所得血漿移出(>100 μL)且分成含有100 μL抗壞血酸(100 mg/mL)用於穩定之0.5 mL埃彭道夫管之2個等分試樣。將大腦移出，在鹽水中洗且對半分。將每一半置放於各別2 mL螺旋帽冷凍小瓶中，稱重且在乾冰上冷凍。

統計分析

【0128】 各治療組之資料記錄為在所採用之各電流量下之+及0的數目，且此資訊接著用於計算CC₅₀值(50%之動物顯示癲癇發作行為所需之電流) ±標準誤差。

【0129】 測試化合物作用亦以相對於媒劑對照組之CC₅₀變化百分比計算。

【0130】 根據Litchfield及Wilcoxon (1949)評估經藥物治療之動物與對照之間的顯著差異。

結果

【0131】 圖2及表2描述此實驗中產生之資料。

【0132】 在媒劑組中，CC₅₀值經計算為23.7 mA。

【0133】 在測試之前30分鐘i.p.投與二氮平(2.5 mg/kg)治療組中，CC₅₀值為130.0 mA。與媒劑對照相比，此結果為統計學上顯著的(p<0.001)。

【0134】 在測試之前15-60分鐘i.p.投與測試化合物1、5、20、50及100 mg/kg與媒劑相比產生統計學上顯著之CC₅₀值，此表明此化合物展現抗痙攣特性。

【0135】 在200 mg/kg，化合物I相較於媒劑產生癲癇發作臨限值明顯增加，CC₅₀ > 300 mA；由於在所測試之12隻動物內未看到「+」強直後肢痙攣，因此未計算精確值。雖然未測定CC₅₀，但200 mg/kg在MEST中顯示癲癇發作臨限值明顯增加。

【0136】 此類資料指示此化合物將具有治療益處。

表2：評估化合物I在MEST測試中之作用

治療	劑量 (mg/kg)	給藥後之 測試時間 (min)	N	CC ₅₀ +/- SEM	顯著性	相對於媒劑之 變化%
媒劑	-	60	12	23.7 ± 0.4	-	-
二氮平	2.5	30	12	130.0 ± 1.1	P<0.001	449%
化合物I	1	15	12	31.3 ± 1.5	P<0.001	32%
化合物I	5	15	12	34.2 ± 1.5	P<0.001	45%
化合物I	20	30	12	71.5 ± 1.0	P<0.001	202%
化合物I	50	30	12	177.5 ± 0.7	P<0.001	650%
化合物I	100	60	12	297.5 ± 0.7	P<0.001	1157%
化合物I	200	60	12	>300.0	#	>1168%

由於未達到CC₅₀，因此未測定顯著性

結論

【0137】 使用MEST模型產生之此等資料證實式(I)化合物之治療作用，其中CC₅₀在所有劑量下與媒劑對照相比增加。

【0138】 此等資料為重要的，因為其提供此新穎間苯二酚可具有治療價值之迄今為止未知的證據。

【0139】 顯然，化合物產生MEST之劑量相關增加，表明此化合物展現抗痙攣特性。當與媒劑相比時，觀測到顯著效應。

實例4：使用DBA/2小鼠聽覺性癲癇發作測試評估新穎間苯二酚之抗痙攣活性

【0140】 偵測抗痙攣活性之DBA/2聽覺性癲癇發作測試遵循由Dürmüller等人(NeuroReport, 第4卷, 第6期, 第683-686頁, 1993)所描述之測試。

方法

研究細節：

【0141】 在實驗中包括60隻雄性DBA/2小鼠(3-4週齡) (在實驗開始時重量範圍為8-11 g)。使動物在遞送之後適應測試設施1天且以5隻一組隨機圈養於木材墊料上之大體積籠(macrolon cages)中，自由獲取食物及水。

【0142】 使動物房在7:00與19:00之間的人工照明(12小時)下維持22 ± 2°C之受控環境溫度及30%至70%之間的相對濕度。

【0143】 將小鼠自準備間個別轉移(以3至5分鐘時間間隔)至相鄰實驗室中且使用直腸溫度計量測體溫。之後立即將其置放於與電鈴一起安裝之塑膠玻璃缸(直徑=40 cm；高度=35 cm)中。在啟動電鈴後，量測瘋狂奔

跑配合、陣攣性及強直癲癇發作的出現率及潛伏期。亦記錄死亡。啟動電鈴直至出現強直癲癇發作或最多60秒。

【0144】 實驗包括6組(每組研究10隻小鼠)。實驗者對治療組不知情。

【0145】 將測試物質在4種劑量下評估，在測試之前30或60分鐘i.p.投與(10 mL/kg)，且與媒劑對照組相比較。劑量及治療前時間係基於前述藥物動力學資料。

表3：治療排程

群組	動物數目	治療	治療前時間	劑量 (mg/kg)	濃度 (mg/mL)	投與體積 (mL/kg)
1	10	丙戊酸鹽	30 min	180	18	10
2	10	媒劑	30 min	0	0	10
3	10	化合物I	30 min	20	2	10
4	10	化合物I	30 min	50	5	10
5	10	化合物I	60 min	100	10	10
6	10	化合物I	60 min	200	20	10

測試化合物：

【0146】 測試化合物：溶解於5%乙醇、10% Kolliphor HS15、85%生理鹽水中之化合物I。

【0147】 媒劑對照：5%乙醇、10% Kolliphor HS15、85%生理鹽水。

【0148】 參考物：溶解於5%乙醇、10% Kolliphor HS15、85%生理鹽水中之丙戊酸鹽(180 mg/kg)。

統計分析

【0149】 使用d'Agostino-Pearson測試資料之正態性且發現不遵循正態分佈。由於未鑑別出行為離群值，因此不鑑別或移除統計離群值。

【0150】 藉由使用克拉斯卡-瓦立斯檢驗(Kruskal-Wallis test)，隨

後使用鄧恩多重比較檢驗(Dunn's multiple comparisons test)比較治療組與媒劑對照來分析測試物質之定量資料(潛伏期)。使用曼-惠特尼U檢驗(Mann-Whitney U test)分析參考物質之定量資料。

【0151】藉由使用費希爾精確機率檢驗(Fisher's Exact Probability tests)比較治療組與媒劑對照來分析量子資料(頻率)。

結果

【0152】圖3至圖8及表4至表7描述此實驗中產生之資料。

【0153】對於實驗之陰性對照，在測試之前30分鐘i.p.投與的媒劑對照中，所有小鼠均顯示瘋狂奔跑(參見圖3，最左行為100%)、陣攣性痙攣(圖4顯示100%)及強直痙攣(圖6)。所測試之10隻小鼠中之4隻小鼠死亡(圖8)。瘋狂奔跑之中值潛伏期為3.3 s (IQR 2.7-4.0) (表4)，陣攣性痙攣之中值潛伏期為6.6 s (IQR 6.1-7.7) (表5)，且強直痙攣之中值潛伏期為10.7 s (IQR 9.6-12.1) (表6)。

【0154】對於實驗之陽性對照，在測試之前30分鐘i.p.投與的丙戊酸鹽(180 mg/kg)與媒劑對照相比(-100%，對於各參數， $p < 0.001$)抑制瘋狂奔跑(參見圖3，左側第二行為0%)、陣攣性痙攣(圖4顯示0%)及強直痙攣(圖6)。相較於媒劑對照，丙戊酸鹽顯著增加對應潛伏期(分別為+1718%、+809%及+461%，對於各參數， $p < 0.001$) (表4至表6)。在給藥丙戊酸鹽之動物中未觀測到死亡(圖8及表9)。在給藥丙戊酸鹽之動物中未指出不利跡象。

【0155】給藥100及200 mg/kg之化合物I之群組中之每一者中的四隻小鼠具有低於35.0°C之直腸溫度。自所有分析中移除此等小鼠。注意到以100 mg/kg治療之5隻小鼠及以200 mg/kg治療之3隻小鼠的震顫。

【0156】 50、100及200 mg/kg之化合物I顯著減少展示瘋狂奔跑之小鼠之數目(分別為 -50% , $p < 0.05$; -100% , $p < 0.001$; 及 -80% , $p < 0.01$) , 參見圖3。

【0157】 相較於媒劑, 化合物I劑量對瘋狂奔跑之潛伏期存在統計學上顯著之主要作用($p < 0.001$, 參見表4) 。 鄧恩多重比較檢驗展示相較於媒劑, 50、100及200 mg/kg之化合物I顯著增加瘋狂奔跑之潛伏期(平均秩分別為-19.10 , $p < 0.01$; -26.55 , $p < 0.001$; 及-23.22 , $p < 0.001$) 。

【0158】 50、100及200 mg/kg之化合物I顯著減少展示陣攣性痙攣之小鼠之數目(分別為 -60% , $p < 0.05$; -100% , $p < 0.001$; 及 -80% , $p < 0.01$) , 參見圖4。

【0159】 相較於媒劑, 化合物I劑量對陣攣性痙攣之潛伏期存在統計學上顯著之主要作用($p < 0.001$, 圖5) 。 鄧恩多重比較檢驗展示相較於媒劑, 20、50、100及200 mg/kg之化合物I顯著增加陣攣性痙攣之潛伏期(平均秩分別為-13.10 , $p < 0.05$; -21.20 , $p < 0.001$; -26.70 , $p < 0.001$; 及 -22.53 , $p < 0.001$) 。

【0160】 如圖6所示, 在所有劑量下, 化合物I顯著減少展示強直痙攣之小鼠之數目(在20 mg/kg下為 -60% , $p < 0.05$; 在其他劑量下為 -100% , $p < 0.001$) 。

【0161】 相較於媒劑, 化合物I劑量對強直痙攣之潛伏期(圖7)存在統計學上顯著之主要作用($p < 0.001$) 。 鄧恩多重比較檢驗展示相較於媒劑, 20、50、100及200 mg/kg之化合物I顯著增加強直痙攣之潛伏期(平均秩在20 mg/kg下為-16.20 , $p < 0.01$; 對於最後三個劑量為-22.80 , $p < 0.001$) 。

【0162】經圖8及表7所證明，化合物I在任何劑量下均不影響死亡數目。

表4：瘋狂奔跑之潛伏期

治療	瘋狂奔跑									
	存在				潛伏期(s)					
	總計	%	與媒劑(i.p.)相比		中值	IQR		與媒劑(i.p.)相比		
			(1)	%		Q1	Q3	(2)	(3)	%
媒劑(i.p.)	10 / 10	100			3.3	2.7	4.0			
丙戊酸鹽 (180 mg/kg i.p.)	0 / 10	0	***	-100%	60.0	60.0	60.0	***		+1718%
化合物I (20 mg/kg i.p.)	8 / 10	80	NS	-20%	5.1	3.7	44.0		NS	+55%
化合物I (50 mg/kg i.p.)	5 / 10	50	*	-50%	33.8	5.6	60.0	***	**	+924%
化合物I (100 mg/kg i.p.)	0 / 6	0	***	-100%	60.0	60.0	60.0		***	+1718%
化合物I (200 mg/kg i.p.)	2 / 6	33	**	-80%	60.0	35.0	60.0		***	+1718%

NS = 不顯著；* = $p < 0.05$ ；** = $p < 0.01$ ；*** = $p < 0.001$ 。

表5：陣攣性痙攣之潛伏期

治療	陣攣性痙攣									
	存在				潛伏期(s)					
	總計	%	與媒劑(i.p.)相比		中值	IQR		與媒劑(i.p.)相比		
			(1)	%		Q1	Q3	(2)	(3)	%
媒劑(i.p.)	10 / 10	100			6.6	6.1	7.7			
丙戊酸鹽 (180 mg/kg i.p.)	0 / 10	0	***	-100%	60.0	60.0	60.0	***		+809%
化合物I (20 mg/kg i.p.)	7 / 10	70	NS	-30%	9.5	8.7	60.0		*	+44%
化合物I (50 mg/kg i.p.)	4 / 10	40	*	-60%	60.0	37.7	60.0	***	***	+809%
化合物I (100 mg/kg i.p.)	0 / 6	0	***	-100%	60.0	60.0	60.0		***	+809%
化合物I (200 mg/kg i.p.)	2 / 6	33	**	-80%	60.0	41.0	60.0		***	+809%

NS = 不顯著；* = $p < 0.05$ ；** = $p < 0.01$ ；*** = $p < 0.001$ 。

表6：強直伸展之潛伏期

治療	強直伸展								
	存在		潛伏期(s)						
	總計	%	與媒劑(i.p.)相比		中值	IQR		與媒劑(i.p.)相比	
			(1)	%		Q1	Q3	(2)	(3)
媒劑(i.p.)	10 / 10	100			10.7	9.6	12.1		
丙戊酸鹽 (180 mg/kg i.p.)	0 / 10	0	***	-100%	60.0	60.0	60.0	***	+461%
化合物I (20 mg/kg i.p.)	4 / 10	40	*	-60%	60.0	15.2	60.0	**	+461%
化合物I (50 mg/kg i.p.)	0 / 10	0	***	-100%	60.0	60.0	60.0	***	+461%
化合物I (100 mg/kg i.p.)	0 / 6	0	***	-100%	60.0	60.0	60.0	***	+461%
化合物I (200 mg/kg i.p.)	0 / 6	0	***	-100%	60.0	60.0	60.0	***	+461%

NS = 不顯著；* = $p < 0.05$ ；** = $p < 0.01$ ；*** = $p < 0.001$ 。

表7：死亡百分比(%)

治療	死亡			
	存在		與媒劑(i.p.)相比	
	總計	%	與媒劑(i.p.)相比	
			(1)	%
媒劑(i.p.)	4 / 10	40		
丙戊酸鹽(180 mg/kg i.p.)	0 / 10	0	NS	-100%
化合物I (20 mg/kg i.p.)	2 / 10	20	NS	-50%
化合物I (50 mg/kg i.p.)	0 / 10	0	NS	-100%
化合物I (100 mg/kg i.p.)	0 / 6	0	NS	-100%
化合物I (200 mg/kg i.p.)	0 / 6	0	NS	-100%

NS = 不顯著；* = $p < 0.05$ ；** = $p < 0.01$ ；*** = $p < 0.001$ 。

結論

【0163】 丙戊酸鹽在此模型中顯示抗痙攣活性，因此實驗視為有效的。結果展示在DBA/2小鼠中之聽覺性癲癇發作測試中，化合物I在劑量範圍20-200 mg/kg，i.p.內之抗痙攣活性的存在。

【0164】 丙戊酸鹽及化合物I均不引起任何顯著的死亡數目變化，從

而為化合物I之安全性提供證據。

實例5：使用小鼠6 Hz精神運動測試評估新穎間苯二酚之抗痙攣活性

【0165】 偵測抗痙攣活性之6Hz精神運動測試遵循由Brown等人(J. Pharmacol. Exp. Ther. 107, 273-283, 1953)所描述之測試。

方法

研究細節：

【0166】 雄性RjOrl：將瑞士小鼠(5週齡)在實驗開始時稱重28-38 g。使動物在遞送之後適應測試設施至少5天且以3-4隻一組隨機圈養於木材墊料上之大體積籠中，自由獲取食物及水。

【0167】 使動物房在7:00與19:00之間的人工照明(12小時)下維持 $22 \pm 2^\circ\text{C}$ 之受控環境溫度及30%至70%之間的相對濕度。

【0168】 在透角膜刺激之前，將一滴四卡因溶液(2%)施加於小鼠之各眼睛上用於局部麻醉。在1至10分鐘後，在測試化合物指定之治療前時間內，經由連接至恆定電流電擊產生器之角膜電極向小鼠投與矩形電流(44 mA，矩形脈衝：0.2 ms脈衝寬度，3 s持續時間，6 Hz)。

【0169】 在電流投與之後立即記錄如由前肢陣攣反映之癲癇發作之次數。前肢陣攣評分為不存在(0 =無前肢陣攣)、輕度(1 =一個前肢之陣攣)及強(2 =兩個前肢之陣攣)。

【0170】 每組研究15隻小鼠。實驗者對治療不知情。將籠子隨機分配至治療代碼，各自表示一個治療組。

【0171】 將化合物I在測試之前30分鐘以20及50 mg/kg以及在測試之前60分鐘以100及200 mg/kg腹膜內投與，且與媒劑對照(5%乙醇、10% Kolliphor EL、85%生理鹽水)相比較。

【0172】 在測試之前30分鐘投與的丙戊酸鹽(300 mg/kg i.p.)用作參考物質且與媒劑對照(5%乙醇、10% Kolliphor HS15、85%生理鹽水)相比較。

表8：治療排程

群組	動物數目	治療(投與途徑、治療前時間)	劑量 (mg/kg)	濃度 (mg/mL)	投與體積 (mL/kg)
1	15隻雄性	媒劑(i.p., -30 min)	0	0	10
2	15隻雄性	丙戊酸鹽(i.p., -30 min)	300	30	10
13	15隻雄性	化合物I (i.p., -30 min)	20	2	10
14	15隻雄性	化合物I (i.p., -30 min)	50	5	10
15	15隻雄性	化合物I (i.p., -60 min)	100	10	10
16	15隻雄性	化合物I (i.p., -60 min)	200	20	10

測試化合物：

【0173】 測試化合物：溶解於5%乙醇、10% Kolliphor HS15、85%生理鹽水中之化合物I。

【0174】 媒劑對照：5%乙醇、10% Kolliphor HS15、85%生理鹽水。

【0175】 參考物：溶解於5%乙醇、10% Kolliphor HS15、85%生理鹽水中之丙戊酸鹽(300 mg/kg)。

統計分析：

【0176】 基於驗證資料假定資料為非正態分佈的，因此採用非參數測試。藉由使用克拉斯卡-瓦立斯檢驗及在克拉斯卡-瓦立斯檢驗為顯著時的鄧恩多重比較檢驗比較治療組與對應媒劑對照來分析測試物質之定量資料(評分)。使用曼-惠特尼U檢驗分析參考物質之定量資料。

結果

【0177】 圖9及表9描述此實驗中產生之資料。

【0178】 對於陰性對照，在測試之前30分鐘i.p.投與的媒劑對照

中，5隻小鼠之前肢癲癇發作評分為0，8隻小鼠之前肢癲癇發作評分為1且2隻小鼠之前肢癲癇發作評分為2 (參見圖9，最左側)。

【0179】 對於陽性對照，在測試之前30分鐘i.p.投與的丙戊酸鹽(300 mg/kg)與媒劑對照相比顯著降低平均前肢癲癇發作評分(-88%， $p < 0.001$) (圖9，左側第二個)。所測試之15隻中之一隻小鼠展示輕微鎮靜。

【0180】 因此排除錯給藥(mis-dosed)化合物I 100 mg/kg組中之兩隻小鼠及200 mg/kg組中之1隻小鼠。所測試之化合物I 200 mg/kg組中14隻中之兩隻小鼠展示震顫且所有小鼠展示輕微(12隻小鼠)至中度(2隻小鼠)鎮靜。所測試之化合物I 100 mg/kg劑量組中13隻中之兩隻小鼠展示輕微鎮靜。

【0181】 相較於媒劑，在所有化合物I劑量組之間的前肢癲癇發作評分之克拉斯卡-瓦立斯檢驗中存在統計學上顯著的差異($p < 0.01$) (參見表9)。

【0182】 在測試之前60分鐘i.p.投與的化合物I (100 mg/kg)與媒劑對照相比顯著降低前肢癲癇發作評分(-88%， $p < 0.01$) (圖9)。

表9：化合物I對前肢陣攣之影響

治療	每組之小鼠數目	前肢陣攣					
		(平均值± s.e.m.)			與媒劑 B (i.p.)相比		
					(1)	(2)	%
媒劑B (i.p.)	15	0.8	±	0.2			
化合物I (20 mg/kg i.p.)	15	0.8	±	0.1		NS	0%
化合物I (50 mg/kg i.p.)	15	0.5	±	0.1	**	NS	-38%
化合物I (100 mg/kg i.p.)	13	0.1	±	0.1		**	-88%
化合物I (200 mg/kg i.p.)	14	0.3	±	0.1		NS	-63%
丙戊酸鹽(300 mg/kg i.p.)	15	0.1	±	0.1	***		-88%

NS = 不顯著；* = $p < 0.05$ ；** = $p < 0.01$ ；*** = $p < 0.001$ 。

(1)：對於測試物質治療組：克拉斯卡-瓦立斯檢驗。

對於參考治療組：曼-惠特尼U檢驗。

(2)：在克拉斯卡-瓦立斯檢驗為顯著時之鄧恩多重比較檢驗。

結論

【0183】 結果表明在小鼠中之6 Hz (44mA)精神運動癲癇發作測試中，化合物I在100 mg/kg i.p.下之抗痙攣作用的存在，其在200 mg/kg下具有類似趨勢。

參考文獻

【0184】 上文引用許多公開案以便更充分地描述及揭示本發明及本發明所涉及之目前先進技術。下文提供此等參考文獻之完整引用。此等參考文獻中之每一者的內容併入本文中。

【0185】 Durairaj 2005. 「Resorcinol Structure and Physical Properties.」 Resorcinol. Springer, Berlin, Heidelberg.
https://doi.org/10.1007/3-540-28090-1_1

如請求項5使用之化合物，其中該藥劑為用於治療癲癇之藥劑。

【請求項7】

如請求項5或請求項6使用之化合物，其中該藥劑為用於治療全身性癲癇發作(*generalised seizure*)、局灶性發生癲癇發作(*focal onset seizure*)或強直陣攣性癲癇發作(*tonic-clonic seizure*)之藥劑。

【請求項8】

如請求項1或請求項2之化合物，其用於治療方法。

【請求項9】

如請求項8使用之化合物，其中該治療方法為一種治療癲癇之方法。

【請求項10】

如請求項8或請求項9使用之化合物，其中該治療方法為一種用於治療全身性癲癇發作、局灶性發生癲癇發作或強直陣攣性癲癇發作之方法。

【請求項11】

一種治療方法，其包含向有需要之個體投與治療有效量的如請求項1或請求項2之化合物。

【請求項12】

如請求項11之治療方法，其中該治療方法為一種治療癲癇之方法。

【請求項13】

如請求項11或請求項12之治療方法，其中該治療方法為一種用於治療全身性癲癇發作、局灶性發生癲癇發作或強直陣攣性癲癇發作之方法。

【請求項14】

一種用於產生式(I)化合物之方法，其包含以下步驟：

- i) 使5-溴苯-1,3-二醇與4-異丙烯基-1-甲基-環己-2-烯-1-醇反應；

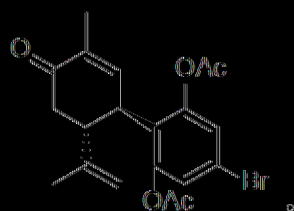
ii) 用乙酸酐處理所得化合物5-溴-2-[6-異丙烯基-3-甲基-環己-2-烯-1-基]苯-1,3-二醇；

iii) 用乙酸錳三水合物處理另一所得化合物乙酸[3-乙酰氧基-5-溴-2-[6-異丙烯基-3-甲基-環己-2-烯-1-基]苯基]；

iv) 將硼氫化鈉添加至後續另一所得化合物乙酸[3-乙酰氧基-5-溴-2-[(1*R*,6*R*)-6-異丙烯基-3-甲基-4-側氧基-環己-2-烯-1-基]苯基]中，隨後進行後續步驟以產生該式(II)化合物。

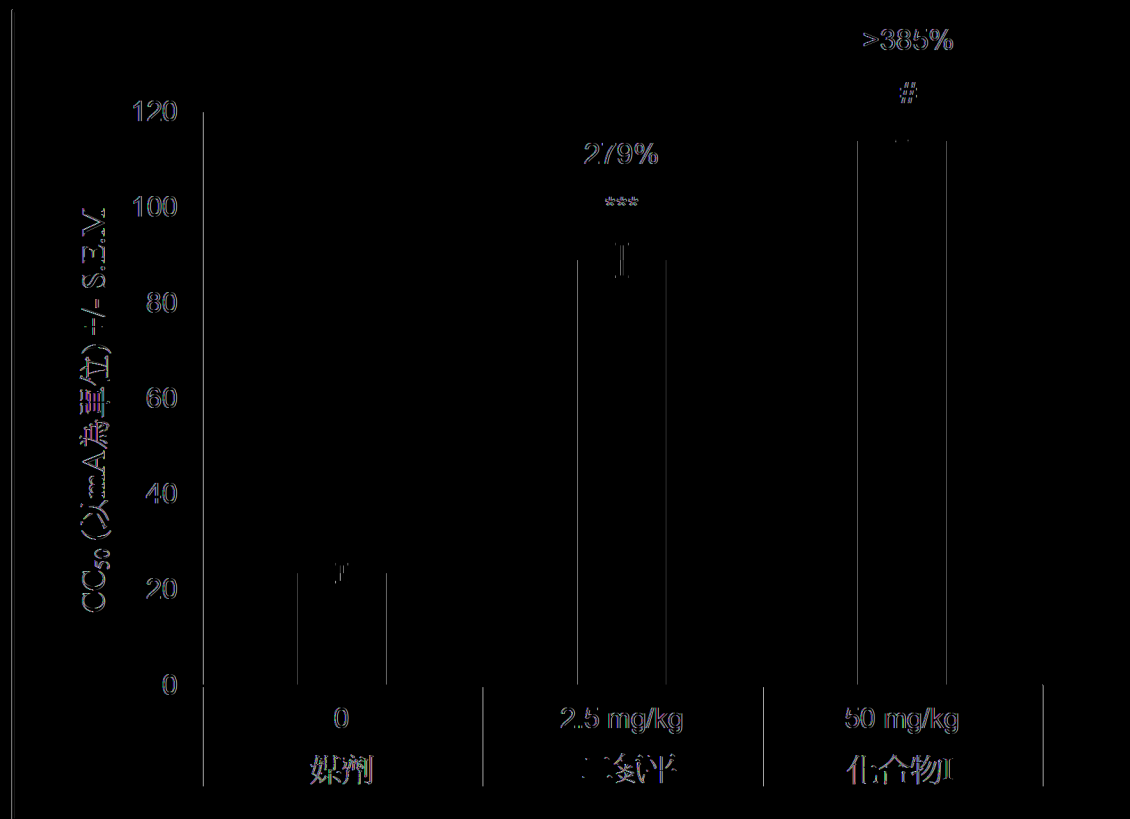
(請求項15)

一種中間物，其在產生式(II)化合物之方法中形成，其中該中間物為：



|(發明圖式)|

式I化合物對小鼠中電擊誘導之全身性癲癇發作臨限值(微型MBSI)的影響

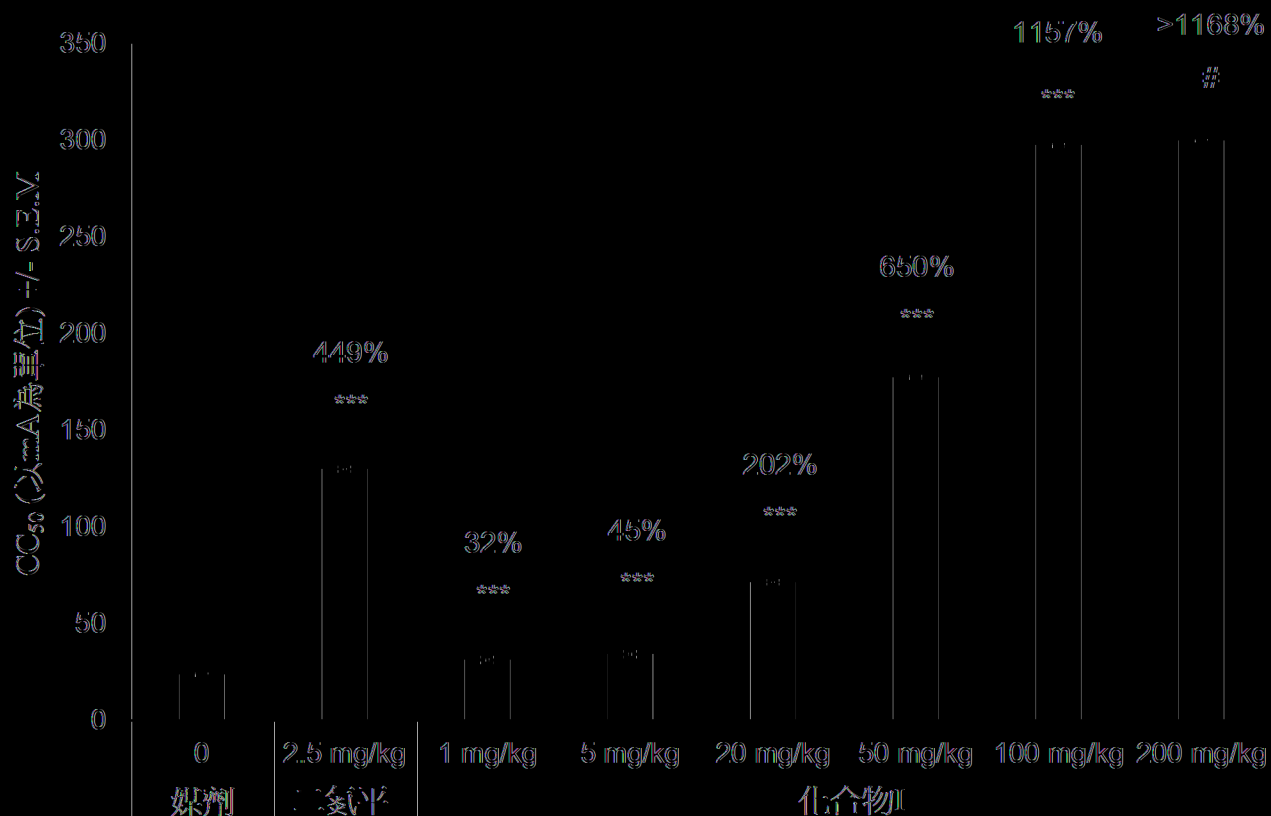


*** P<0.001 在與自身媒劑相比時臨限值之顯著變化;

由於未達到CC₅₀，因此未測定統計顯著性

|(圖1)|

圖2. 式II化合物對小鼠中電擊誘導之全身性癲癇發作臨限值(MOESIT)的影響

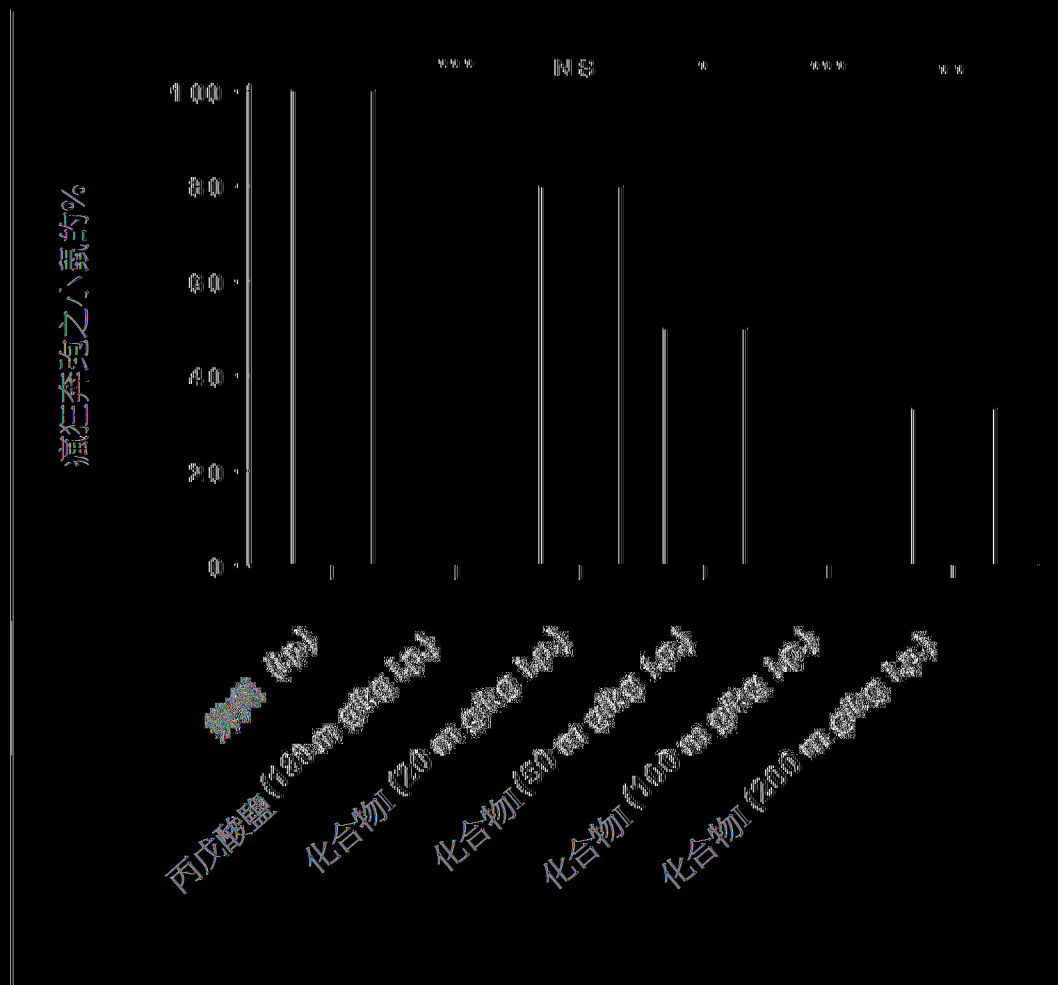


*** p<0.001 在與自身媒劑相同時臨限值之顯著變化

由於未達到CC₅₀，因此未測定統計顯著性

(圖2)

瘋狂奔跑之小鼠的百分比(%)

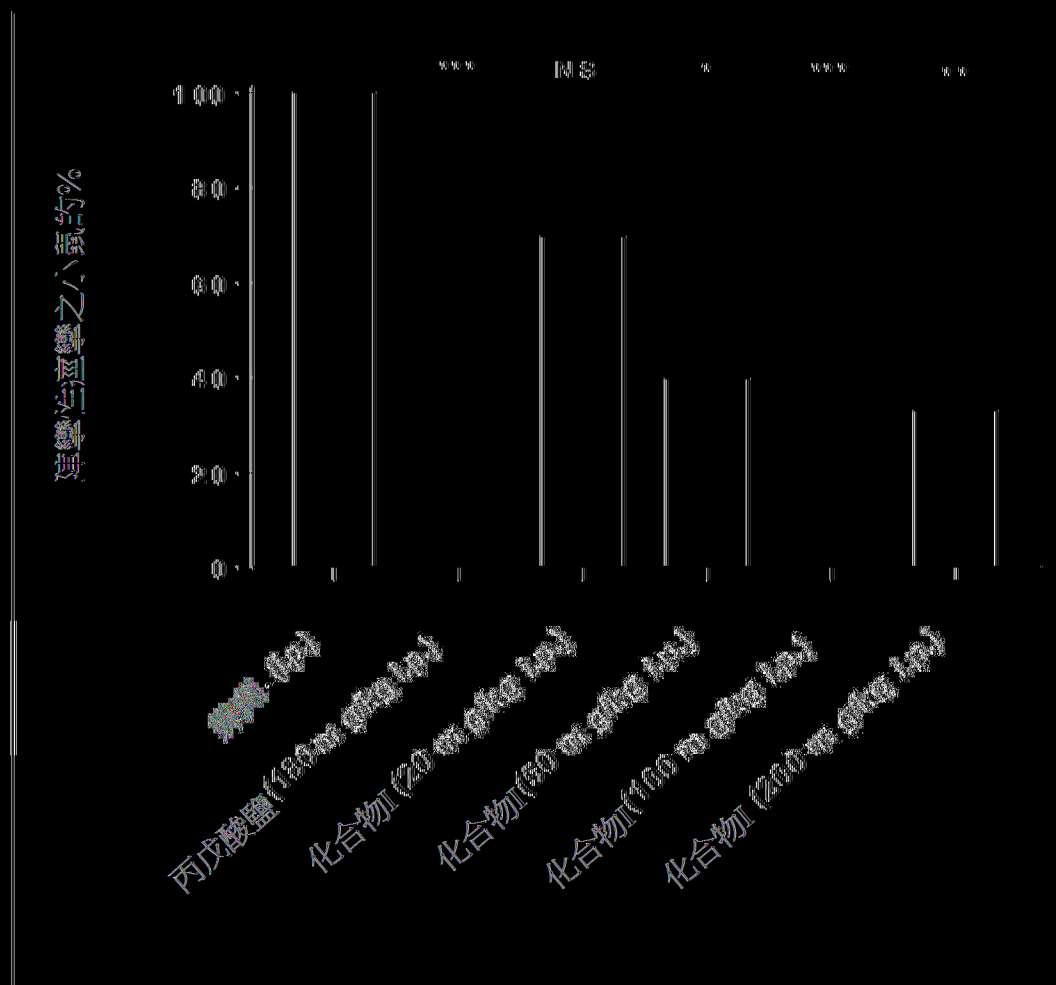


資料表述為瘋狂奔跑之小鼠的%。藉由費希爾精確檢驗將丙戊酸鹽與媒劑進行比較。藉由費希爾精確檢驗將化合物與媒劑進行比較。

組間比較：NS：不顯著；*： $p < 0.05$ ；**： $p < 0.01$ ；***： $p < 0.001$ 。

[(圖3)]

陣挛性痙攣之小鼠的百分比(%)

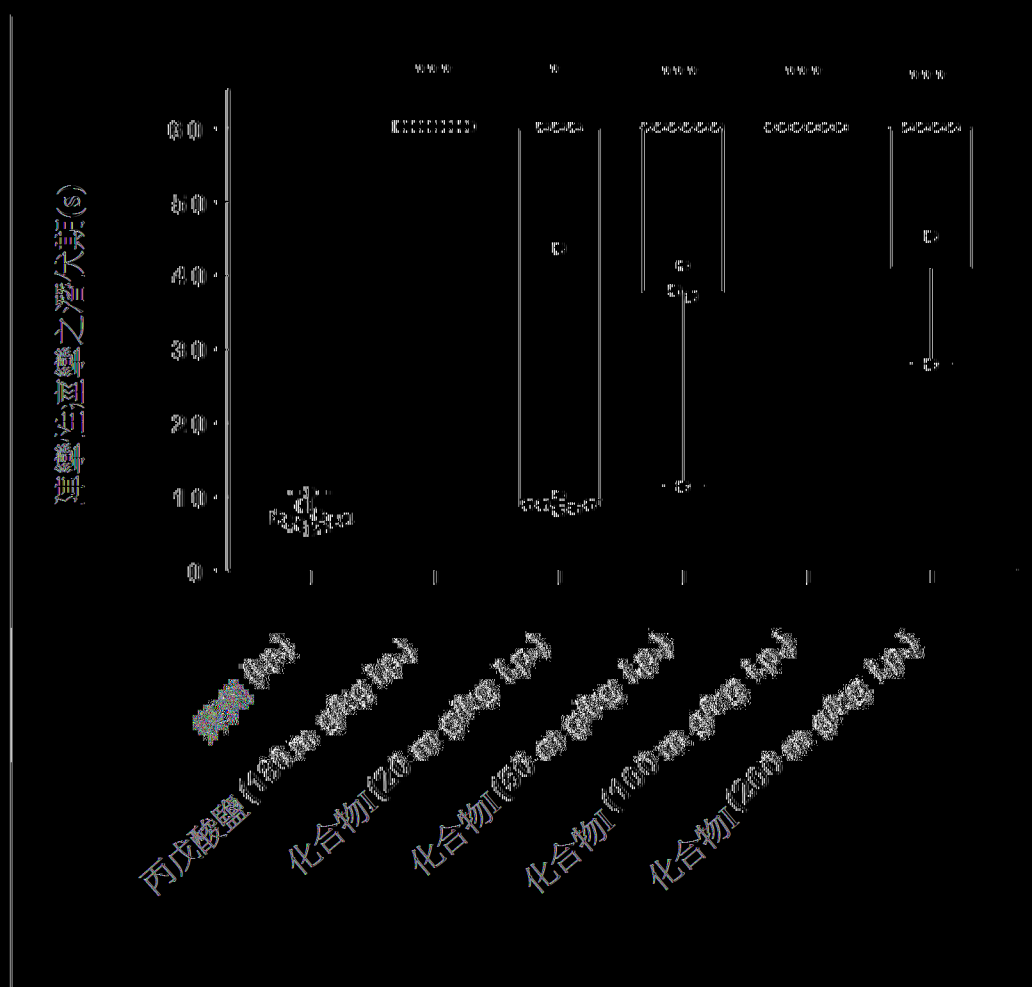


資料表述為陣挛性痙攣之小鼠的%。藉由費希爾精確檢驗將丙戊酸鹽與劑劑進行比較。藉由費希爾精確檢驗將化合物與劑劑進行比較。

組間比較：NS：不顯著；*： $p < 0.05$ ；**： $p < 0.01$ ；***： $p < 0.001$ 。

(圖4)

陣挛性疼痛之潛伏期(s)

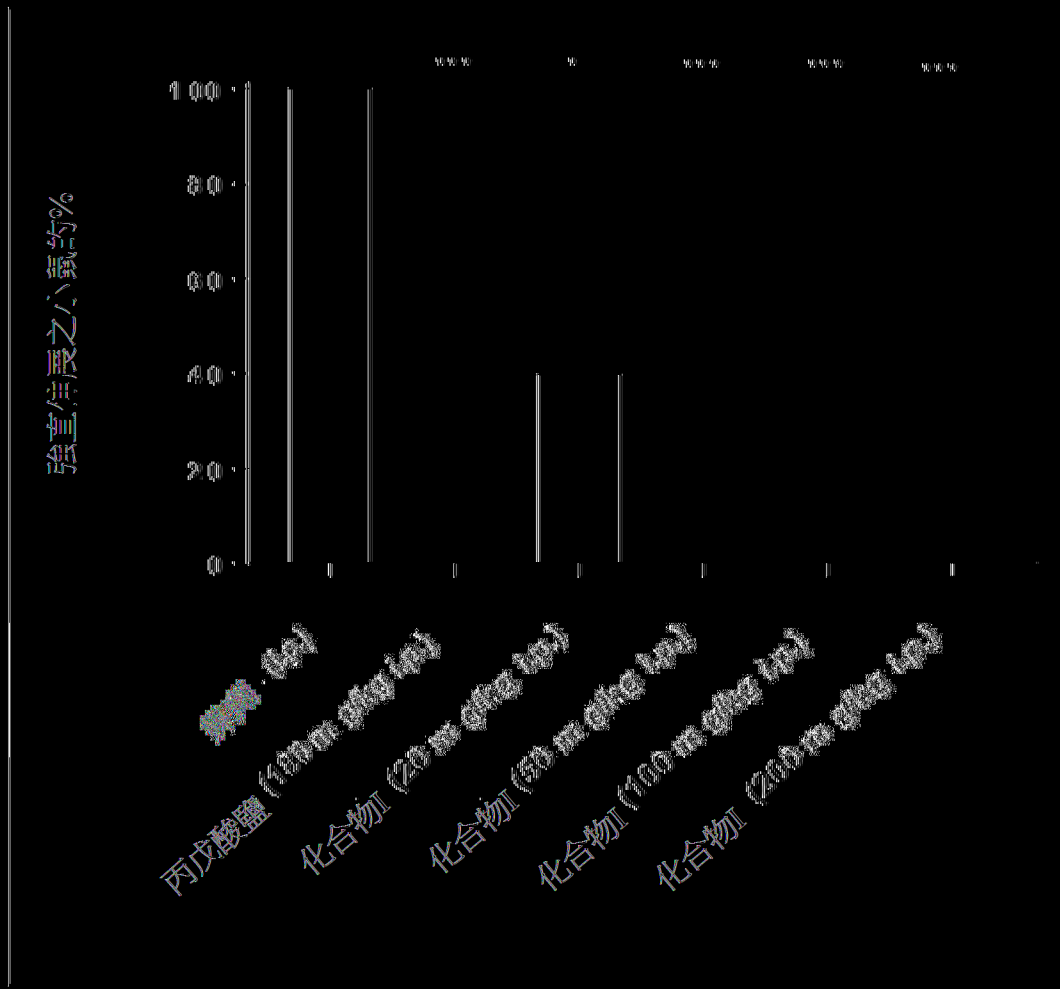


資料表述為中值及IQR。藉由曼-惠特尼檢驗將丙戊酸鹽與媒劑進行比較。藉由克拉斯卡-瓦立斯檢驗及鄧恩事後檢驗(Dunn's post-hoc test)將化合物與媒劑進行比較。

組間比較：NS：不顯著；*：p < 0.05；**：p < 0.01；***：p < 0.001。
Latency was measured up to a limit of 60 s. 量測潛伏期直至60 s之限度。

【圖5】

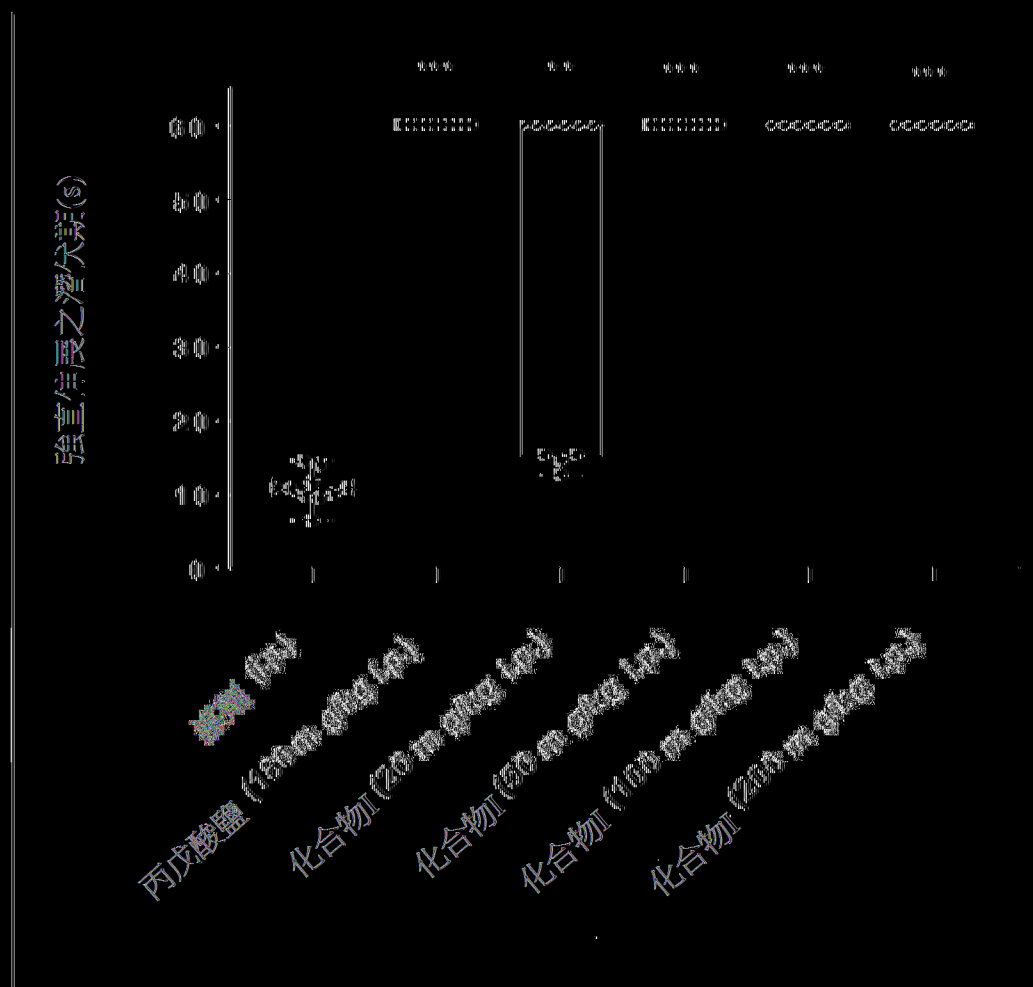
強直伸展之小鼠的百分比(%)



資料表述為強直伸展之小鼠的%。藉由費希爾精確檢驗將丙戊酸鹽與媒劑進行比較。藉由費希爾精確檢驗將化合物與媒劑進行比較。
 組間比較：NS：不顯著；*：p < 0.05；**：p < 0.01；***：p < 0.001。

(圖6)

強直伸展之潛伏期(s)

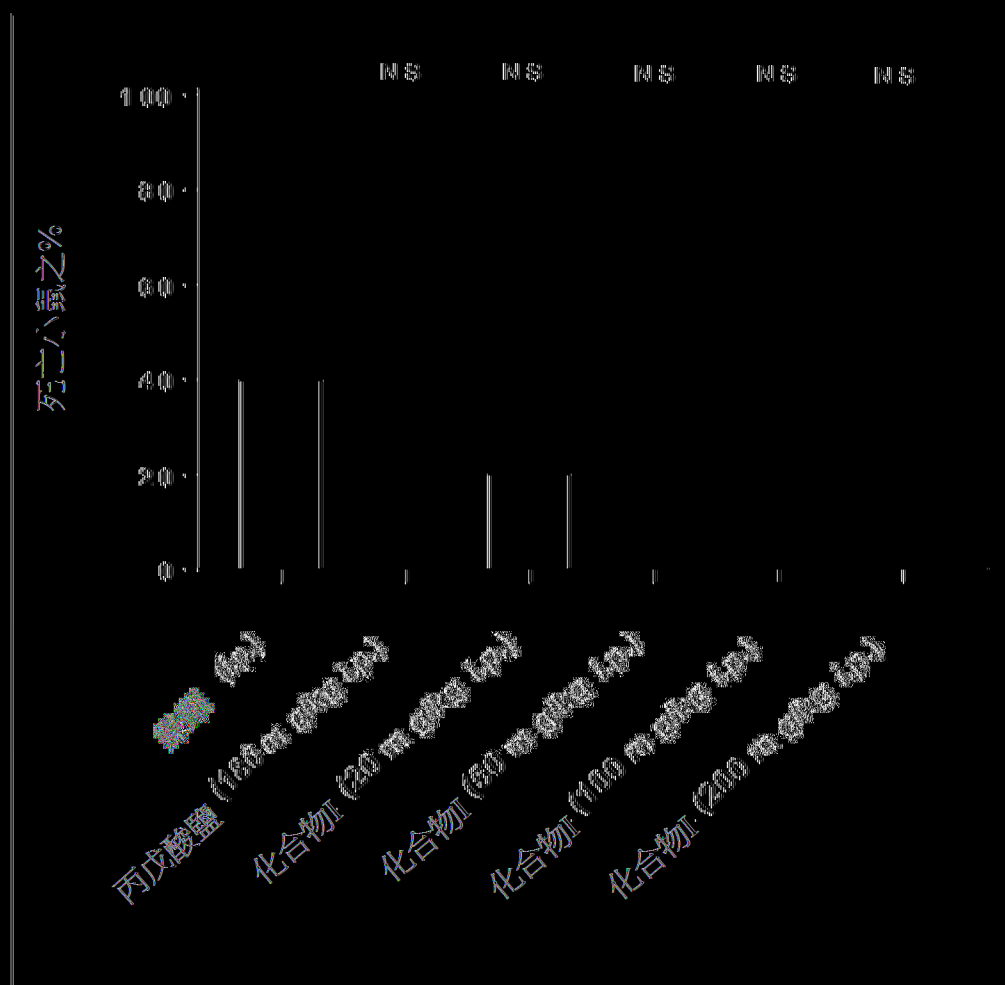


資料表述為中值及IQR。藉由曼-惠特尼U檢驗將丙戊酸鹽與媒劑進行比較。藉由克拉斯卡-瓦立斯檢驗及鄧恩事後檢驗將化合物與媒劑進行比較。

組間比較：NS：不顯著；*：p < 0.05；**：p < 0.01；***：p < 0.001。量測潛伏期在至60 s之限度。

(圖7)

死亡小鼠之百分比(%)



資料表述為死亡小鼠之%。藉由費希爾精確檢驗將丙戊酸鹽與媒劑進行比較。藉由費希爾精確檢驗將化合物與媒劑進行比較。

組間比較：NS：不顯著；*： $p < 0.05$ ；**： $p < 0.01$ ；***： $p < 0.001$ 。

(圖8)

化合物對前肢陣攣之影響



資料表述為個別評分(n = 15，除了用化合物I (100 mg/kg i.p.)治療之組：n = 13及用 GWP04205144 (100 mg/kg i.p.)治療之組：n = 14以外)。

藉由曼-惠特尼檢驗將丙戊酸鹽與煤劑B進行比較。

藉由克列斯卡-瓦立斯檢驗及鄧恩事後檢驗將化合物與煤劑B進行比較。組間比較：NS：不顯著；*：p < 0.05；**：p < 0.01；***：p < 0.001。

(圖9)