



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 (11)證書號數：TW I537246 B

(45)公告日：中華民國 105 (2016) 年 06 月 11 日

(21)申請案號：101126409

(22)申請日：中華民國 101 (2012) 年 07 月 20 日

(51)Int. Cl. : C07C65/19 (2006.01) A61K31/192 (2006.01)
A61P1/00 (2006.01)

(30)優先權：2011/07/22 美國 61/510,628

(71)申請人：維南提亞有限公司(愛爾蘭) VENANTIUS LIMITED (IE)
愛爾蘭

(72)發明人：法藍基 尼爾 FRANKISH, NEIL (GB)；雪瑞登 海倫 SHERIDAN, HELEN (IE)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

US 6300376B1

Helen Sheridan et al., "Diastereoisomers of 2-benzyl-2, 3-dihydro-2-(1H-inden-2-yl)-1H-inden-1-ol: Potential anti-inflammatory agents", Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2009, Vol.19, No.20, pages 5927-5930.

審查人員：方冠岳

申請專利範圍項數：6 項 圖式數：18 共 66 頁

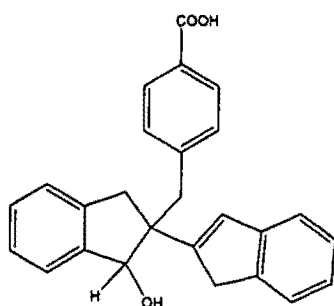
(54)名稱

用於治療發炎性腸病之化合物

COMPOUNDS FOR USE IN THE TREATMENT OF INFLAMMATORY BOWEL DISEASE

(57)摘要

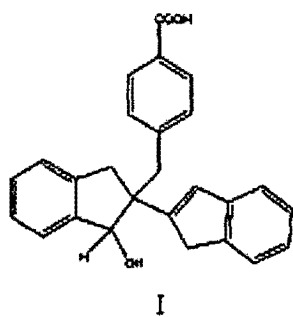
本發明描述結構式(I)化合物：



I

本發明亦提供式(I)化合物之醫藥上可接受之異構物及鹽。該等化合物可用於治療發炎性腸病。

Described are compounds of the structural formula I:



Also provided are pharmacologically acceptable isomers and salts of the compound of formula (I). The compounds are useful in the treatment of inflammatory bowel disease.

指定代表圖：

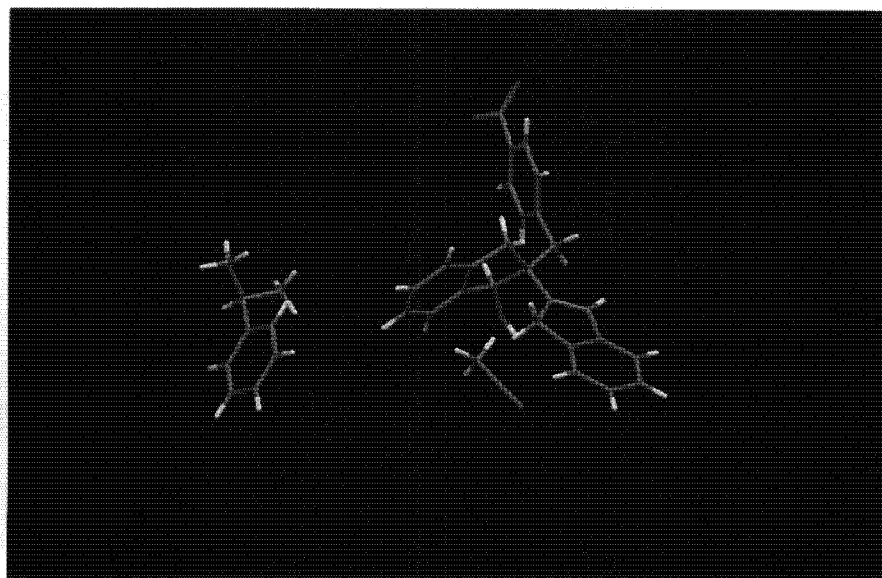
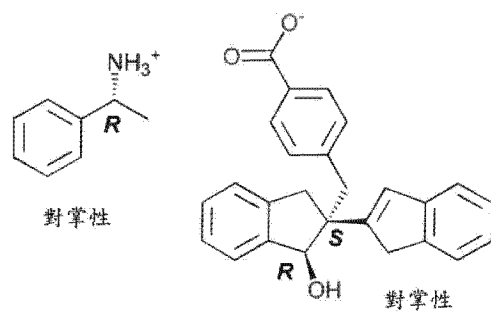
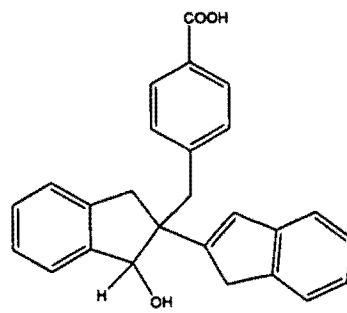


圖 1

特徵化學式：

I537246

TW I537246 B



I

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於用於治療發炎性腸病之新穎性化合物。

【先前技術】

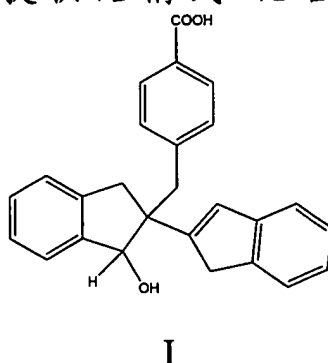
發炎性腸病(inflammatory bowel disease; IBD)包括兩種自發性的發炎性疾病：潰瘍性結腸炎(ulcerative colitis; UC)及克隆氏病(Crohn's disease; CD)。UC與CD間最大的區別在於發炎腸組織的範圍。在CD的炎症係不連續分段的，稱為局部性腸炎，而UC是從直腸近端及連續性延伸的表淺性炎症。目前，IBD之確切原因未明。該疾病似乎是與黏膜對腸上皮細胞感染之過度免疫反應有關，因為促炎分子與免疫調節分子呈現不均衡狀態。從IBD之遺傳模式推測，發病的複雜遺傳性要件可能係由若干組合性基因突變所構成。目前沒有針對IBD用之特定診斷測試，但從對發病的理解是有改善的，吾人測試方法亦一樣。IBD之治療包括誘導緩解及保持緩解。IBD患者可藉由使用5-胺基水楊酸酯而保持病情緩解。但是，雖然UC患者使用水楊酸酯可以提供顯著益處，不但可誘導輕度至中度疾病之緩解，而且防止疾病復發，但該等藥物要維持CD緩解之有效性尚未確定，因此不再建議使用。治療活動性疾病主要的依靠是皮質類固醇，通常是用於使UC及CD患者在有限時間內恢復緩解狀態，雖然設計用於局部投與之布地奈德(budesonide)之全身性吸收受限制，但在保持緩解方面並無益處。替代物(諸如免疫抑制藥物硫唑嘌呤

(azathioprine)及巯基嘌呤(mercaptopurine))併與甲胺喋呤(methotrexate)及環孢菌素(cyclosporine)具有限的功效，且會引發嚴重副作用。抗-TNF α 抗體(諸如，英利昔單抗(infliximab)及阿達姆單抗(adalimumab))可用於彼等對標準免疫抑制療法無反應之患者。然而，由於患者的特定表現型或產生自身抗體，因此許多患者對於抗-TNF α 療法沒有反應。

【發明內容】

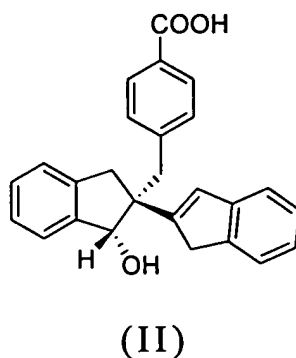
根據本發明係提供用於治療包括克隆氏病及潰瘍性結腸炎之發炎性腸病之化合物。

特定言之，本發明提供結構式I化合物：



本發明亦提供式(I)化合物之醫藥上可接受之異構物及鹽—化合物1。

特定言之，本發明提供如結構式II所示之相對立體結構之化合物：

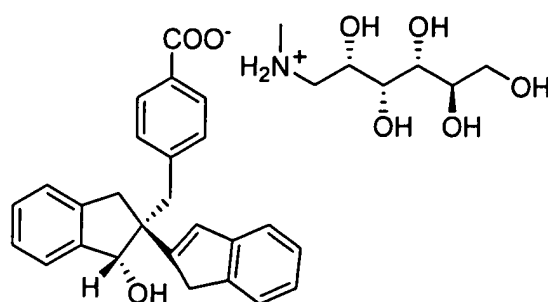


本發明亦提供式(II)化合物之醫藥上可接受之鹽—化合物2。

藉由活性對映異構體的物理及化學特性及藉由標準及對掌性HPLC滯留數據，定出其光譜學上的特徵。

一種特定的對映異構體形式已被發現對於治療IBD尤其有效。

本發明亦提供式III化合物之N-甲基-(D)-葡糖胺鹽：



(III, 化合物6)

本發明化合物具有一種以上形式的結晶型態，此特徵稱為多型性，而此等多型性形式(「多形體」)係屬本發明範圍內。多型性通常係隨著對溫度、壓力或兩者之變化所做出的反應而發生的，多型性也會起因於結晶方法的差異。藉由各種此項技藝中已知之物理特徵可以區分出多形體，諸如，x-射線繞射型態、溶解度及熔點。

本文所述若干化合物能夠以立體異構體而存在。本發明發範圍包括立體異構體化合物及經純化或經強化的混合物。本發明範圍亦包括本發明化合物之個別異構物及其任何經完全或部分經平衡之混合物。本發明若干化合物包含一或多個對掌性中心。因此，本發明包括消旋物、經純化之對映異構體及本發明化合物在對映體光學上經強化的混

合物。本發明化合物包括消旋性及對掌性1,2-二氫化茛雙聚物。

術語醫藥上可接受之鹽所涵蓋的鹽係指本發明化合物之無毒性鹽。本發明化合物之鹽包括酸加成鹽。

本發明包括任何本發明化合物之溶劑化物。術語溶劑化物係指由溶質(在本發明中，係指本發明化合物或其鹽或其在生理學上具有功能性的衍生物)及溶劑所形成的可變性化學計量學之複合物。以本發明目的而言，此等溶劑不應干擾溶質之生物活性。合適溶劑之非限定性實例包括(但不限於)水、甲醇、乙醇及乙酸。較佳地，所用溶劑為醫藥上可接受之溶劑。合適的醫藥上可接受之溶劑之非限定性實例包括水、乙醇及乙酸。最佳地，所用溶劑為水。

本發明包括任何本發明化合物之前藥。術語前藥係指當投與至哺乳動物時，能夠(直接或間接地)提供本發明化合物或其活性代謝產物之本發明化合物之任何醫藥上可接受之衍生物。此等衍生物(例如，酯及醯胺)對於熟習此項技藝者而言是易懂的。

本發明進一步提供一種包括任何上述化合物之醫藥組合物。

為達所要的效果，該活性化合物可以合適劑量存在於用於人類之藥物中，例如，最終劑量可介於0.1與10 mg/kg之間。

投與原料活性化學藥品形式之本發明化合物是有可能的，然而較佳地係以醫藥調配物或組合物形式投與該等化

合物。此等調配物可包括一或多種醫藥上可接受之賦形劑、載劑或稀釋劑。

本發明化合物可以多種不同方式投與，可以經口方式投與該等化合物。經口投藥之較佳醫藥調配物包括錠劑、膠囊、糖衣錠、溶液、懸浮液或糖漿。

該醫藥調配物可以控制釋放速度的形式提供，諸如，定時釋放膠囊或錠劑。

該藥物可以經口、非經腸、鼻內、經皮方式或藉由吸入方式投與。

醫藥調配物可針對任何適當投藥途徑加以修改，例如，經口(包括頰或舌下)、經直腸、經鼻、局部(包括頰、舌下或經皮)、陰道或非經腸(包括皮下、肌肉內、靜脈內或皮內)途徑。此等調配物可藉由一同引入活性成分與載劑或賦形劑而製備。

適於經口投與之醫藥調配物可以個別單位呈現，諸如，膠囊或錠劑；粉劑或顆粒；溶液或懸浮液，各具有水性或非水性液體；可食用泡沫或奶泡；或水包油液體乳液或油包水液體乳液。對於以錠劑或膠囊形式之經口投與而言，活性藥物組分可與一經口、無毒性醫藥上可接受之情性載劑(諸如，乙醇、甘油、水及類似物)組合。藉由將化合物研磨成合適精細的大小，並與合適的醫藥上可接受之載劑(諸如，可食用碳水化合物(諸如，澱粉或甘露醇))混合而製備出粉劑。調味劑、防腐劑、分散劑及著色劑及類似物亦可包含其中。

藉由製備出粉末、液體，或懸浮液混合物，並將其密封在明膠或其他合適殼體材料之內而製成膠囊，潤滑劑(諸如，膠態二氧化矽、滑石粉、硬脂酸鎂、硬脂酸鈣或固體聚乙二醇)可加至該混合物中。當以膠囊攝入時，亦可添加崩解劑或增溶劑(諸如，碳酸鈣或碳酸鈉)，以改良藥物之利用性。亦可將其他製劑併入至混合物，諸如，結合劑、潤滑劑、崩解劑及著色劑。合適結合劑之實例包括澱粉、明膠、天然糖、玉米甜味劑、天然或合成橡膠、黃耆膠或海藻酸鈉、羧甲基纖維素、聚乙二醇及類似物。適於該等劑型之潤滑劑包括(例如)油酸鈉、硬脂酸鈉、硬脂酸鎂、苯甲酸鈉、乙酸鈉、氯化鈉及類似物。合適崩解劑包括(不限於)澱粉、甲基纖維素、瓊脂、膨潤土、黃原膠及類似物。

藉由製備粉末混合物、粒化該混合物、添加潤滑劑及崩解劑並壓錠可調配出錠劑。藉由將化合物與如上所述稀釋劑或基料進行適當地研磨而製備出粉末混合物。選擇性成分包括結合劑(諸如，羧甲基纖維素、海藻酸鹽、明膠或聚乙烯吡咯啉酮)、阻溶劑(諸如，石蠟)、再吸收促進劑(諸如，季鹽)，及/或吸收劑(諸如，膨潤土、高嶺土或類似物)。粉末混合物可與結合劑(諸如，糖漿、澱粉糊狀物或纖維素或聚合材料之溶液)進行濕式粒化作用，並擠壓通過篩網。

本發明化合物亦可與自由流動的惰性載劑組合，並直接壓錠而不需經過其他諸如粒化之步驟。本發明提供由合適

材料(諸如，蟲膠、糖或聚合物)之密封層組成之透明或不透明的保護性塗層及拋光塗層(例如，蠟)。若合適，著色劑可以加至該等塗層中，以區分出不同的單位劑量。

口服液(諸如，溶液、糖漿及酒劑)可製成單位劑型，以便所給的量包含預定量之化合物。(例如)藉由將化合物溶解於合適口味的水性溶液中而製備出糖漿，而酒劑則是藉由使用無毒性醇類媒劑而製備。藉由將化合物分散於無毒性媒劑中而調配出懸浮液。亦可加入增溶劑及乳化劑(諸如，乙氧基化之異十八醇及聚氧乙烯山梨糖醇酯)、防腐劑；香味添加劑(諸如，薄荷油)或天然甜味劑、糖精，或其他人工甜味劑及類似物。

在適當情況下，用於經口投與之單位劑型調配物可經微囊封裝。為了延長或持續性釋出藥物，調配物亦可(例如)藉由將微粒物質塗佈或包埋於合適聚合物、蠟或其類似物中而製備。

本文所述之化合物及其鹽、溶劑化物及生理功能性的衍生物亦可以脂質體傳遞系統(諸如，小型單層微脂粒、大型單層微脂粒及多薄片層微脂粒)之形式投與。脂質體可從各種磷脂(諸如，膽固醇、硬脂胺或磷酸鹽膽鹼)而製得。

本發明化合物及其鹽、溶劑化物及生理功能性的衍生物亦可以使用作為個別載劑的單株抗體加以傳遞，該抗體上係經偶合本發明化合物分子。

該化合物亦可與作為標靶性藥物載劑之可溶性聚合物偶合。

此等聚合物包括(例如)聚乙炔吡咯啉酮(polyvinylpyrrolidone ; PVP)。該化合物亦可偶聯至一種生物可降解聚合物，以便達到藥物之控釋。此等聚合物包括聚乳酸、聚氰基丙烯酸酯及水凝膠之嵌段共聚物。

適於經皮投與之醫藥調配物可以意欲與患者皮膚/表皮能夠保持一段長時期緊密接觸的個別貼片呈現。例如，活性成分可藉由離子滲透法從貼片傳遞。

適於局部投與之醫藥調配物可調配成軟膏、乳霜、懸浮液、洗劑、粉劑、溶液、糊膏、凝膠、噴霧劑、氣霧劑或油脂。為治療外部組織，該調配物可以局部軟膏或乳霜施用。

對於局部投與於口腔而言，該調配物可包括口含錠、片劑及漱口水。

對於經鼻投與而言，可使用具有(例如)介於20至500微米之粒徑之粉劑，從手持近鼻之粉劑容器中經鼻道迅速吸入投與粉劑。當其中載劑為液體時，以噴鼻劑或滴鼻劑投與之合適調配物包括活性成分之水性或油性溶液。

適於藉由吸入投藥之醫藥組合物包括細粒粉末或水氣，該等細粒粉末或水氣可利用加壓定量氣溶膠、噴霧器或吹藥器及類似物而產生。

對於直腸投與而言，該調配物可以栓劑或以灌腸劑呈現。

對於陰道投與而言，該調配物可以是陰道栓劑、衛生止血棉塞、乳霜、凝膠、噴霧劑或類似物之形式。

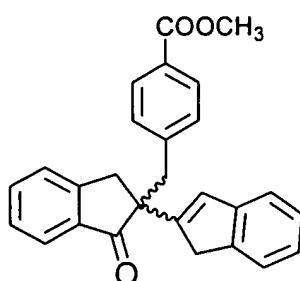
對於非經腸投與而言，該調配物可為水性及非水性無菌注射液，該等注射液可包含各種添加劑，諸如，抗氧化劑、緩衝液、抑菌劑，及可以提供調配物與預定接受者血液等滲之溶質；及水性或非水性無菌懸浮液，該等懸浮液可包括懸浮劑及增稠劑。該調配物可以單一劑量或多劑量容器呈現，例如，封裝安瓿及小瓶，且該調配物可以冷凍乾燥(凍乾)狀態保存，只要在使用之前添加無菌液體載劑(例如，注射用水)即可。即時注射液及懸浮液可從無菌粉末、顆粒及類似物加以製備。

本發明化合物及其鹽、溶劑化物及生理功能性的衍生物可以單獨施用，或與其他治療劑組合使用。本發明化合物及其他醫藥活性劑可一起投與或分開投與。若分開投與，可同時或依次(以任何順序)進行投與。本發明化合物及其他醫藥活性劑之量以及投與之相對時序係經選擇的，以達到所要的組合療效。本發明化合物及其鹽、溶劑化物及生理功能性的衍生物與其他治療劑之組合投與可藉由以包括二者化合物之單一醫藥組合物，或以分別包括該等化合物其中一者之個別醫藥組合物合併投與而組合。在一些情況中，藥物之組合物可以連續方式分別地投與，其中第一次投與一製劑，而第二次投與第二製劑，或者相反。此種投藥方式係在類似的時間範圍內或在較長時間內施行。

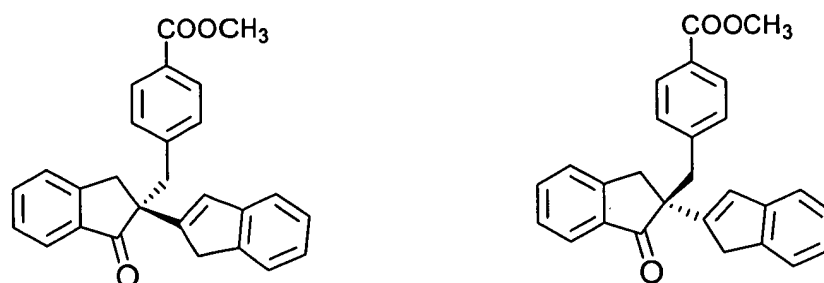
【實施方式】

由以下說明將更充分地理解本發明，其僅以舉例而給定。

化合物1代表一對起因於C-2位置處具有對掌性中心的酮
化合物A之還原作用及脫甲基作用之非對映異構體，且因
此酮化合物A是一對對映異構體。

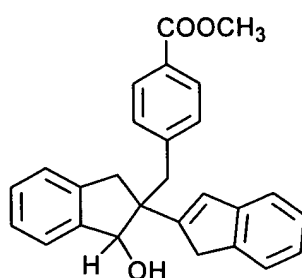


化合物A

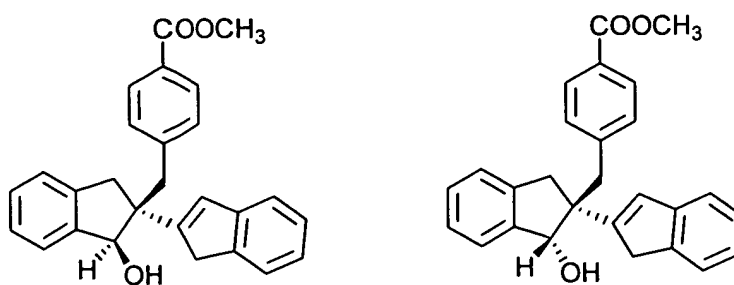


化合物A之對映異構體

此化合物使用 LiAlH_4 還原，會產生下式化合物



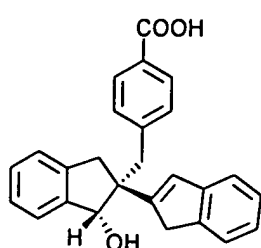
此化合物包括兩種非對映異構體：



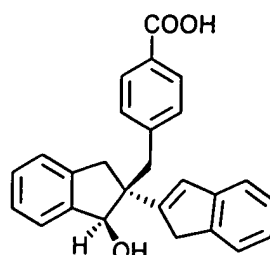
非對映異構體B

非對映異構體C

非對映異構體B經過水解作用會產生化合物2及3

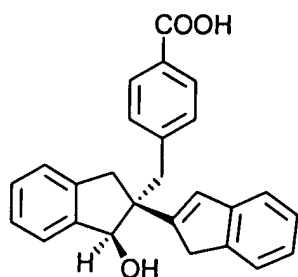


化合物 2

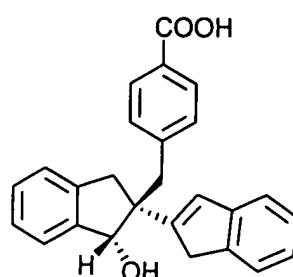


化合物 3

非對映異構體C經過水解作用會產生化合物4及5。



化合物 4



化合物 5

該等非對映異構體可以化學或色層分析方法解析成其組成的對映異構體。

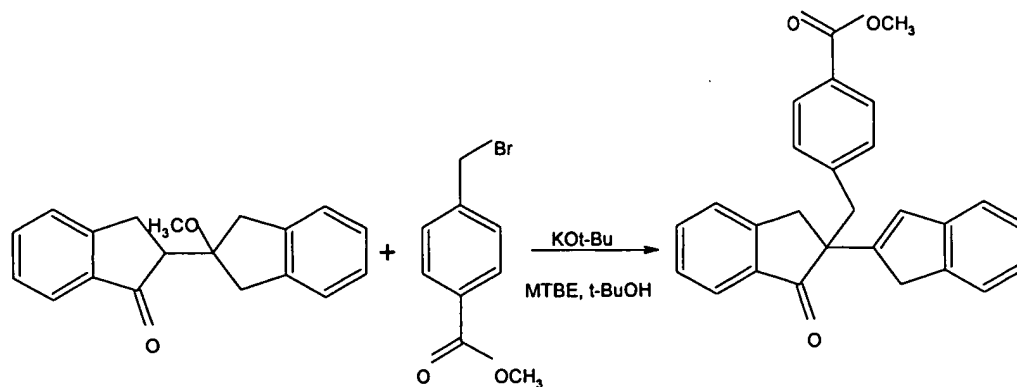
根據化合物4之(R)-(+)-甲基苄基胺鹽(化合物9)的單晶X-射線結果業已建構出化合物4之絕對立體化學結構(圖1)。

根據化合物2之(S)-(-)-甲基苄基胺鹽(化合物8)的單晶X-射線結果建構出化合物2之絕對立體化學結構(圖2及2A)。

一般反應過程

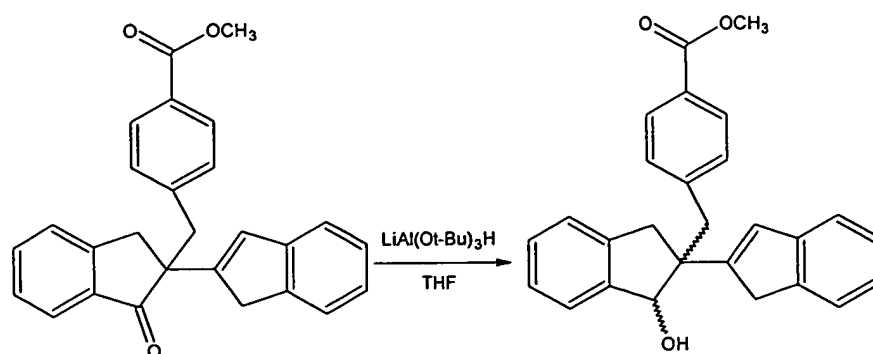
如下例示的用於偶聯對映異構性混合物之一般合成程序描述於WO 9720806A中，其全部內容以引用方式併入本文中。

酸衍生物化合物A之一般製備



氮氣下，將(4-溴甲基)苯甲酸甲酯(6 mmol, 1.41 g)添加至含於第三丁醇(5 mL)及二乙醚(30 mL)之經偶聯產物(4 mmol, 1.00 g)攪拌液中。緩慢地向混合液逐滴添加含於第三丁醇(30 mL)及二乙醚(5 mL)之第三丁氧基鉀溶液。每添加一滴，該混合物會轉變成黃色，然後其恢復成其原來的灰色。再攪拌該混合物3小時，直至TLC(80:20, 己烷:乙酸乙酯)顯示不再有起始物質。藉由添加飽和 NH_4Cl 使反應中止。分離層，並使用二乙醚(2×120 mL)萃取水性層。使用水、鹽水清洗經合併的有機層，在 MgSO_4 上乾燥並蒸發。移除大部分溶劑時，固體產物會從粗產物沈澱出來。濾出固體並使用冷二乙醚清洗，以產生0.98 g(62%)固體乳狀物。

苯甲酸甲酯化合物之還原



緩慢地將三叔丁氧基氫化鋰鋁(1.9 mmol, 0.48 g)逐滴地添加至含於THF(15 mL)之苯甲酸甲酯化合物(1.27 mmol, 0.50 g)攪拌液中。藉由TLC(80:20, 己烷:乙酸乙酯)監控反應, 3小時後, 所有起始物質皆被消耗掉。

藉由傾倒於冰上使反應中止, 並使用乙酸乙酯, 攪拌水性混合物10-15分鐘將粗產物萃取至乙酸乙酯中, 接著傾倒於分液漏斗中, 然後使其分層。使用水、鹽水清洗經合併的有機層, 在MgSO₄上乾燥並蒸發, 以產生0.34 g(68%)棕黃色固體乳狀物。該產物係以比例約為2:1之兩種非對映異構體混合物分離出來的。

兩種非對映異構體混合物之分析結果

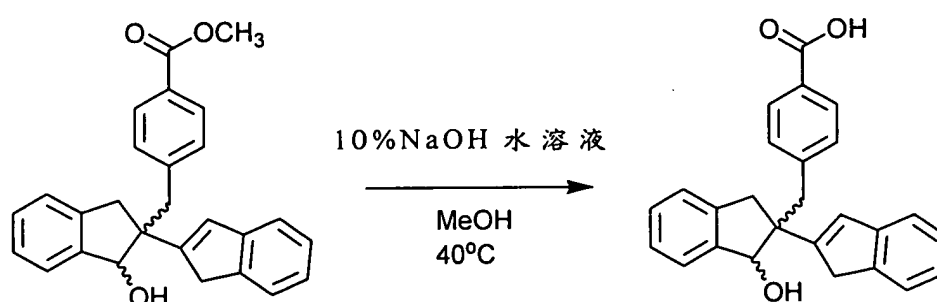
純度 (HPLC): 94.9% (2:1比例之非對映異構體)
 δ_{H} (300 MHz, CDCl₃): 2.77-3.60 (6H, *m*, 3×CH₂), 3.85 (3H, *s*, CH₃), [5.02 (1H, *s*, CH-OH)] 5.18 (1H, *s*, CH-OH), [6.23 (1H, *s*, CH=C)] 6.43 (1H, *s*, CH=C), 6.90-6.98 (2H, *m*, Ar-H), 7.11-7.21 (1H, *m*, Ar-H), 7.22-7.31 (5H, *m*, Ar-H), 7.36-7.42 (2H, *m*, Ar-H), 7.78-7.84 (2H, *m*, Ar-H)。

當可能時, 少量非對映異構體之數值是顯示於方括號內。

δ_{C} (75.5 MHz, CDCl₃): 38.3 (CH₂), 38.4 (CH₂), 38.6 (CH₂), 39.9 (CH₂), 40.3 (CH₂), 43.4 (CH₂), 51.9 (COOCH₃), 52.0 (COOCH₃), 55.9 (第四C), 56.3 (第四C), 82.0 (CH-OH), 82.8 (CH-OH), 120.5 (第三C), 120.7 (第三C), 123.5 (第三C), 123.6 (第三C), 124.0 (第三C), 124.2 (第三C), 124.5 (第三C), 124.6 (第三C), 124.8 (第三C), 124.9 (第三C), 125.1 (第三C), 125.2 (第三C), 126.1 (第三C), 126.4 (第三C), 127.0 (第四C), 127.1 (第四C), 128.0 (第三C), 128.2 (第三C), 128.5 (第三C), 128.8 (第三C), 129.0 (第三C), 129.2 (第三C), 129.5 (第三C), 2×130.0 (2×第三C), 2×130.2 (2×第三C), 130.7

(第三C), 140.4 (第四C), 141.5 (第四C), 142.8 (第四C), 143.2 (第四C), 143.5 (第四C), 143.6 (第四C), 143.7 (第四C), 144.2 (第四C), 144.3 (第四C), 144.5 (第四C), 150.4 (第四C), 152.6 (第四C), 167.0 (C=O), 167.2 (C=O)。

苯甲酸甲酯部分之水解作用



將酯置於圓底燒瓶中，並將10%水性NaOH(1 mL)加至其中，接著添加足量甲醇以形成溶液(6 mL)。將該溶液在40°C下加熱，並藉由TLC(80:20，己烷：乙酸乙酯)監控。約4小時後，沒有另外的酯被發現。

使該混合物冷卻，並添加飽和NH₄Cl (溶液pH 12)。添加稀釋的HCl以酸化pH(pH 2)。從混濁溶液中將產物萃取至乙酸乙酯(3×10 mL)中。經合併的萃取液在MgSO₄上乾燥及在真空中蒸發，以產生0.15 g(定量的)固體乳狀物。該產物係以比例約2:1之兩種非對映異構體混合物分離出來的。

兩種非對映異構體混合物之分析結果

純度(HPLC): 95.2% (2:1比例之非對映異構體)

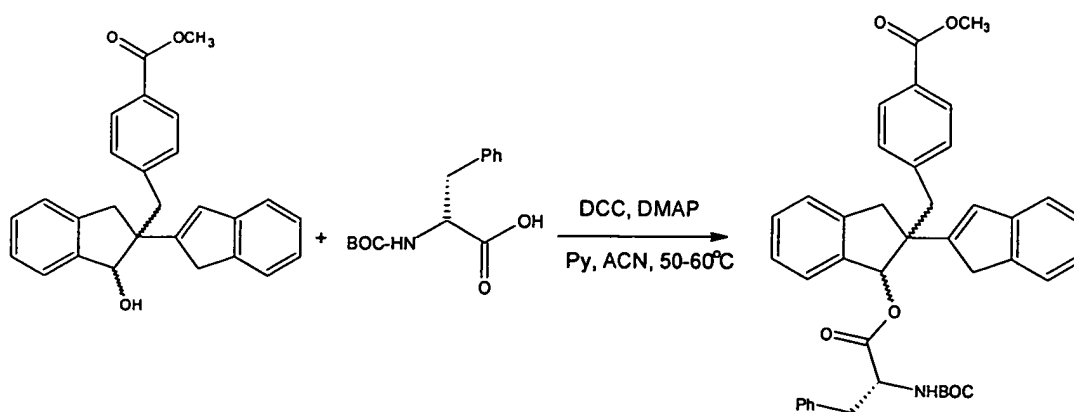
δ_{H} (400 MHz, CDCl₃): 2.81-3.59 (6H, *m*, 3×CH₂), [5.05 (1H, *s*, CH-OH), 5.23 (1H, *s*, CH-OH), 6.46 (1H, *s*, CH=C), [6.66 (1H, *s*, CH=C)], 6.95-7.03 (2H, *m*, Ar-H), 7.12-7.17 (1H, *m*, Ar-H), 7.21-7.29 (5H, *m*, Ar-H), 7.37-7.43 (2H, *m*, Ar-H), 7.85-7.91 (2H, *m*, Ar-H)。

當可能時，少量非對映異構體之數值是顯示於方括號內。

$\delta_c(100 \text{ MHz, CDCl}_3)$: 37.9 ($\underline{\text{CH}_2}$), 38.1 ($\underline{\text{CH}_2}$), 38.2 ($\underline{\text{CH}_2}$), 39.5 ($\underline{\text{CH}_2}$), 39.9 ($\underline{\text{CH}_2}$), 43.1 ($\underline{\text{CH}_2}$), 55.5 (第四 $\underline{\text{C}}$), 55.9 (第四 $\underline{\text{C}}$), 81.6 ($\underline{\text{CH-OH}}$), 82.4 ($\underline{\text{CH-OH}}$), 120.2 (第三 $\underline{\text{C}}$), 120.3 (第三 $\underline{\text{C}}$), 123.1 (第三 $\underline{\text{C}}$), 123.2 (第三 $\underline{\text{C}}$), 123.5 (第三 $\underline{\text{C}}$), 123.9 (第三 $\underline{\text{C}}$), 124.1 (第三 $\underline{\text{C}}$), 124.4 (第三 $\underline{\text{C}}$), 124.5 (第三 $\underline{\text{C}}$), 124.7 (第三 $\underline{\text{C}}$), 125.9 (第三 $\underline{\text{C}}$), 126.0 (第三 $\underline{\text{C}}$), 126.5 (第三 $\underline{\text{C}}$), 2×126.7 (第四 $\underline{\text{C}}$ & 第三 $\underline{\text{C}}$), 126.9 (第四 $\underline{\text{C}}$), 128.1 (第三 $\underline{\text{C}}$), 128.2 (第三 $\underline{\text{C}}$), 128.4 (第三 $\underline{\text{C}}$), 2×129.2 (2×第三 $\underline{\text{C}}$), 2×129.4 (2×第三 $\underline{\text{C}}$), 2×129.8 (2×第三 $\underline{\text{C}}$), 2×129.9 (2×第三 $\underline{\text{C}}$), 130.4 (第三 $\underline{\text{C}}$), 140.0 (第四 $\underline{\text{C}}$), 141.0 (第四 $\underline{\text{C}}$), 142.3 (第四 $\underline{\text{C}}$), 142.7 (第四 $\underline{\text{C}}$), 143.0 (第四 $\underline{\text{C}}$), 143.2 (第四 $\underline{\text{C}}$), 143.8 (第四 $\underline{\text{C}}$), 144.0 (第四 $\underline{\text{C}}$), 144.1 (第四 $\underline{\text{C}}$), 144.7 (第四 $\underline{\text{C}}$), 150.0 (第四 $\underline{\text{C}}$), 152.0 (第四 $\underline{\text{C}}$), 170.8 ($\underline{\text{C=O}}$), 171.1 ($\underline{\text{C=O}}$)。

對映異構體之化學分離

製備苯甲酸甲酯非對映異構體之 N-BOC D-苯丙胺酸衍生物及/或分離後續非對映異構體 $\alpha 1$ 及 $\alpha 2$ (或 $\beta 1$ 及 $\beta 2$)。



注意：製程可應用於兩種非對映異構體，但所給定實例是針對第一非對映異構體。

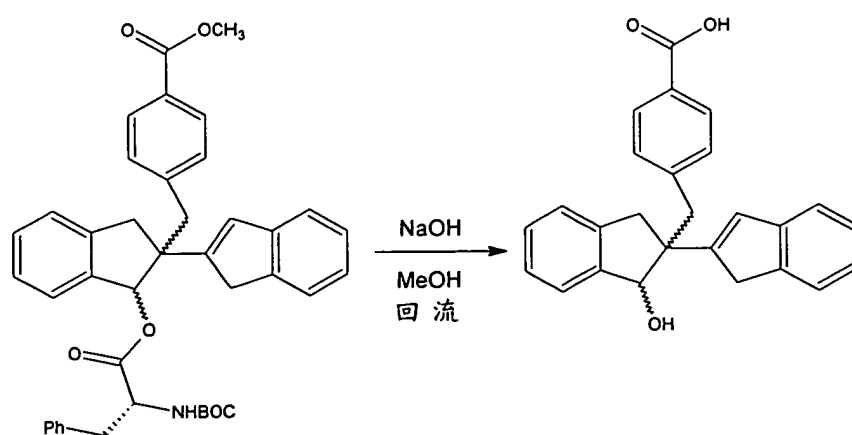
將非對映異構體 A (2.5 mmol, 1.0 g) 及 N-BOC D-苯丙胺酸 (3.1 mmol, 0.8 g) 置於配備有冷凝器之圓底燒瓶中，並

在氮氣下懸浮於CH₃CN(25 mL)中。將吡啶(3.1 mmol, 0.3 mL)添加至該懸浮液中，接著添加含於CH₃CN(2 mL)之DCC(3.1 mmol, 0.7 g)及DMAP (10% mol, 0.25 mmol, 0.05 g)溶液。在50℃下攪拌該混合物20小時，然後至室溫。

濾去白色固體，並在真空中移除該溶劑。添加乙酸乙酯並使用10% H₂SO₄、飽和NaHCO₃清洗所得溶液，在MgSO₄上乾燥並蒸發，以產生2.1 g黃色油脂(經以HPLC檢測純度為83%，產量：定量的)。

藉由閃火層析法(每公克產物使用90公克二氧化矽)，使用使用己烷/MTBE(90:10)分離出非對映異構體α1及α2。從4.17 g混合物中可以得到1.3 g α2衍生物(及1.71 g α1衍生物，及0.3 g含有兩者之混合物)。

苯甲酸甲酯化合物(α1、α2、β1或β2)之N-BOC D-苯丙胺酸衍生物之水解作用



將非對映異構體α2(2.3 mmol, 1.45 g)溶解於甲醇(25 mL)中，並添加NaOH(11.5 mmol, 0.45 g)，在回流溫度下

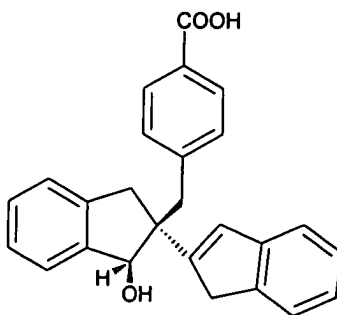
攪拌該混合物，並藉由TLC監控。20小時後，起始物質被消耗掉。

使反應冷卻至室溫，並藉由添加飽和 NH_4Cl 中止反應。在真空下移除甲醇，並使用濃 HCl 將水性溶液酸化至pH 1。用乙酸乙酯萃取產物，在 MgSO_4 上乾燥並蒸發，以得到1.6 g黃色膠狀物，藉由短矽膠管柱進行純化，使用己烷：MTBE 80:20作為洗脫液。得到0.44 g酸性衍生化合物5 (產率50%)，經以HPLC檢測之純度為97.2%。

注意：亦可在40-50°C下使用含於甲醇之10% NaOH 水溶液進行替代水解作用。該程序花費約5天完成。

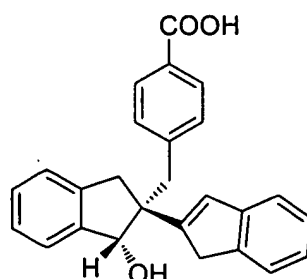
對映異構體 $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 、 $\beta 1$ 、 $\beta 2$ 之分析結果

出自非對映異構體B之對映異構體 $\beta 1$ -化合物3



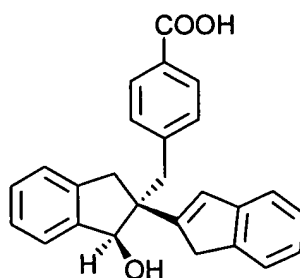
描述：	非晶固體乳狀物
熔點	195-196°C
$[\alpha]_D$ ：	+98.51 (1.07%, MeOH)
純度：	99.0%
δ_H (400 MHz, CDCl_3)：	2.87 (1H, <i>d</i> , $J=13.28$ Hz, CH_2), 3.00-3.09 (2H, <i>m</i> , CH_2), 3.29 (1H, <i>d</i> , $J=13.36$ Hz, CH_2), 3.43-3.61 (2H, <i>m</i> , CH_2), 5.27 (1H, <i>s</i> , CH-OH), 6.49 (1H, <i>s</i> , CH=C), 7.00 (2H, <i>d</i> , $J=7.88$ Hz, Ar-H), 7.16-7.32 (6H, <i>m</i> , Ar-H), 7.44 (2H, <i>d</i> , $J=7.24$ Hz, Ar-H), 7.90 (2H, <i>d</i> , $J=7.92$ Hz, Ar-H)。

出自非對映異構體 B 之對映異構體 β 2-化合物 2



描述：	非晶固體乳狀物
熔點	184-185°C
$[\alpha]_D$	-114.44 (0.18%, MeOH)
純度：	99.8%
δ_H (400 MHz, $CDCl_3$)：	2.87 (1H, <i>d</i> , $J=13.32$ Hz, CH_2), 3.00-3.09 (2H, <i>m</i> , CH_2), 3.29 (1H, <i>d</i> , $J=13.28$ Hz, CH_2), 3.46 (1H, <i>d</i> , $J=22.64$ Hz, CH_2), 3.58 (1H, <i>d</i> , $J=22.56$ Hz, CH_2), 5.27 (1H, <i>s</i> , $CH-OH$), 6.49 (1H, <i>s</i> , $CH=C$), 7.00 (2H, <i>d</i> , $J=8.04$ Hz, Ar-H), 7.15-7.34 (6H, <i>m</i> , Ar-H), 7.44 (2H, <i>d</i> , $J=7.20$ Hz, Ar-H), 7.90 (2H, <i>d</i> , $J=8.04$ Hz, Ar-H)。

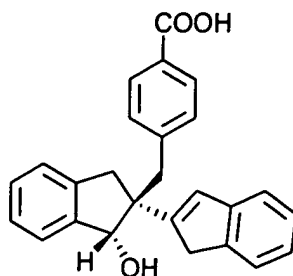
出自非對映異構體 C 之對映異構體 α 1-化合物 4



描述：	固體乳狀物
熔點	136 -140°C
$[\alpha]_D$	-39.3 (0.66%, MeOH)
純度：	94.0%
δ_H (400 MHz, $CDCl_3$)：	2.90-3.59 (6H, <i>m</i> , $3 \times CH_2$), 5.08 (1H, <i>s</i> , $CH-OH$), 6.70 (1H, <i>s</i> , $CH=C$), 7.05 (2H, <i>d</i> , $J=8.08$ Hz, Ar-

H), 7.19 (1H, *t*, *J*=7.34 Hz, Ar-H), 7.26-7.47 (7H, 2×*m*, Ar-H), 7.93 (2H, *d*, *J*=8.08 Hz, Ar-H)。

出自非對映異構體 C 之對映異構體 α2-化合物 5



描述：	非晶固體乳狀物
熔點	195-196°C
[α] _D	+32.1 (1.18%, MeOH)
純度：	97.2%
δ _H (400 MHz, CDCl ₃)：	2.94-3.59 (6H, <i>m</i> , 3×CH ₂), 5.08 (1H, <i>s</i> , CH-OH), 6.70 (1H, <i>s</i> , CH=C), 7.05 (2H, <i>d</i> , <i>J</i> =8.12 Hz, Ar- <u>H</u>), 7.19 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> =7.34 Hz, Ar- <u>H</u>), 7.26-7.47 (7H, 2× <i>m</i> , Ar- <u>H</u>), 7.93 (2H, <i>d</i> , <i>J</i> =8.12 Hz, Ar- <u>H</u>)。

HPLC 方法

已建立用於定性及定量分離對映異構體化合物 2、3、4、5 之非對掌性及對掌性 HPLC 方法。

對映異構體之 HPLC 解析

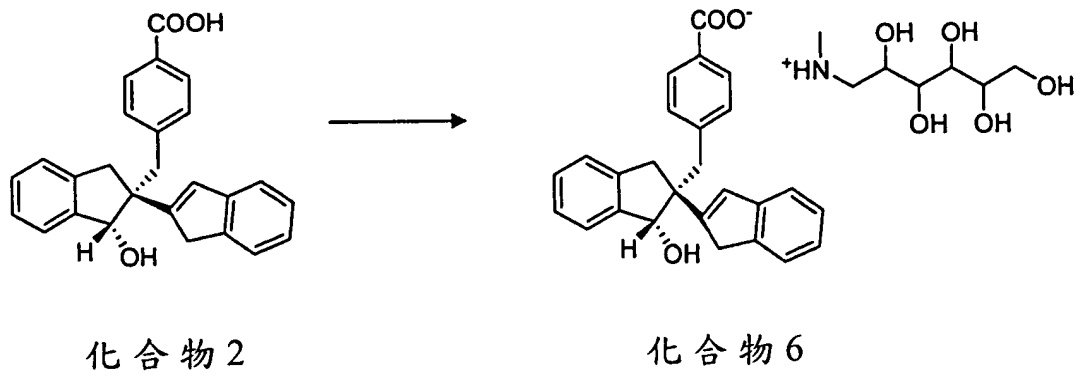
逆相方法	
管柱	Hypersil BDS C18, 5 μ, 250×4.6 mm Phenomenex Luna C18, 5 μ, 250×4.6 mm, N:32
波長	210 nm
流動速率	1 mL/分鐘 (用於酮及酯) 0.6 mL/分鐘(用於酸及鹽)
移動相	70:30 CH ₃ CN:0.1%乙酸水溶液
樣品	1 mg/mL，於移動相中製成(或 CH ₃ CN: dIW=50:50用於酸/鹽)

滯留時間	化合物1-20分鐘
	非對映異構體C (化合物4/5) 9分鐘
	非對映異構體B (化合物2/3) 10分鐘
對掌性方法	
管柱	ChiralPack IC, 5 μ , 250×4.6 mm
波長	210 nm
溫度	25°C
流動速率	0.35 mL/分鐘
移動相	正庚烷/IPA/HOAc (或TFA)=90/10/0.1
樣品	1 mg/mL，於移動相中製成(或正庚烷/IPA/MeOH= 81/9/10用於鹽)
滯留時間	化合物A 54分鐘及>60分鐘
	化合物4-30分鐘
	化合物5-37分鐘
	化合物3-18分鐘
	化合物2-19分鐘

形成鹽

在存在合適鹼下，藉由將化合物2、3、4及5之游離酸溶解於水性或水性有機溶劑中，並藉由蒸發溶劑分離出鹽而製備鹽。

化合物6：化合物2之N-甲基-(D)-葡糖胺鹽(NMDG)



化合物6之生理化學特性：

外觀：	灰白色固體
分子量：	577 (游離酸：382)
分子式：	$C_{33}H_{39}O_8N$ (游離酸： $C_{26}H_{22}O_3$)
熔點：	165-167°C
化合物6：	$[\alpha]_D$ ：-76.5(樣品濃度：200 mg/10 ml含於水中)
質量(Da)：	ES+僅[NMDG + Na]可見
元素分析：	計算值：C (68.61)，H (6.80)，N (2.42)，O (22.16)。實驗值：C (68.44)，H (6.80)，N (2.50)，O (21.98)
δ_H (400 MHz, DMSO)：	2.48 (3H, 視s, NCH_3), 2.65 (1H, d, $J=13.56$ Hz, HCH), 2.84-3.02 (4H, m), 3.16 (1H, d, $J=13.60$ Hz, HCH), 3.40-3.70 (7H, m), 3.85-3.92 (1H, m), 5.06 (1H, s, $CH-OH$), 5.93 (1H, broad s, $CH-OH$), 6.41 (1H, s, $CH=C$), 6.80 (2H, d, $J=7.92$ Hz, $Ar-H$), 7.06-7.41 (8H, m, $Ar-H$), 7.64 (2H, d, $J=7.80$ Hz, $Ar-H$)。
δ_C (100 MHz, DMSO)：	33.8 ($\underline{CH_3}$), 37.9 ($\underline{CH_2}$), 38.2 ($\underline{CH_2}$), 39.5 ($\underline{CH_2}$), 51.6 ($\underline{CH_2-N}$), 55.8 (第四 $\underline{C}$), 63.5 ($\underline{CH_2-O}$), 69.0 ($\underline{CH-O}$), 70.3 ($\underline{CH-O}$), 70.6 ($\underline{CH-O}$), 71.3 ($\underline{CH-O}$), 81.1 ($\underline{CH-OH}$), 120.1 (第三 $\underline{C}$), 123.4 (第三 $\underline{C}$), 123.7 (第三 $\underline{C}$), 124.3 (第三 $\underline{C}$), 124.4 (第三 $\underline{C}$), 126.1 (第三 $\underline{C}$), 126.3 (第三 $\underline{C}$), 127.0 (第三 $\underline{C}$), 127.5 (第三 $\underline{C}$), 2×128.5 ($2 \times$ 第三 $\underline{C}$), 2×129.1 ($2 \times$ 第三 $\underline{C}$), 140.4 (第四 $\underline{C}$), 141.1 (第四 $\underline{C}$), 142.9 (第四 $\underline{C}$), 144.5 (第四 $\underline{C}$), 145.2 (第四 $\underline{C}$), 154.3 (第四 $\underline{C}$), 170.4 ($\underline{C=O}$)。

X-射線研究

根據化合物2之(S)-(-)-甲基苄基胺鹽(化合物8)之單晶X-射線分析結果建構出化合物2之絕對立體化學結構。結果示於附錄2。結果與圖2中所示之立體結構一致。根據將醇(化合物2-5)轉化為其烯酮並藉由建立其等旋光度而構建出

化合物4及5之絕對立體化學結構。

發炎性腸病(IBD)

發炎性腸病(IBD)包括兩種自發性的發炎性疾病：潰瘍性結腸炎(UC)及克隆氏病(Crohn's Disease；CD)。UC與CD間最大的區別在於發炎腸組織之範圍。在CD的炎症係不連續分段的，稱為局部性腸炎，而UC是從直腸近端及連續性延伸的表淺性炎症。目前，IBD之確切原因未明。該疾病似乎是與黏膜對腸上皮細胞感染之過度免疫反應有關，因為促炎分子與免疫調節分子呈現不均衡狀態。從IBD之遺傳模式推測，發病的複雜遺傳性要件可能係由若干組合性基因突變所構成。目前沒有針對IBD之特定診斷測試，但由於對發病的理解已有改善，因此測試方法亦有改善。IBD之治療包括誘導緩解及保持緩解。IBD患者可藉由使用5-胺基水楊酸酯而保持緩解。但是，雖然UC患者使用水楊酸酯可以提供顯著益處，也就是誘導輕度至中度疾病之緩解，並防止疾病復發，但該等藥物要維持CD緩解之有效性尚未確定，因此不再建議使用。治療活動性疾病主要依靠皮質類固醇，通常是用於使UC及CD患者在有限時間內恢復緩解狀態，雖然設計用於局部投與之布地奈德之全身性吸收受限制，但在保持緩解方面並無益處。替代物(諸如免疫抑制藥物硫唑嘌呤及巯基嘌呤)併與甲胺喋呤及環孢菌素具有有限的功效，且會引發嚴重副作用。抗-TNF α 抗體(諸如，英利昔單抗及阿達姆單抗)可用於彼等對標準免疫抑制療法無反應之患者。然而，由於患者的特定

表現型或產生自身抗體，因此許多患者對於抗-TNF α 療法沒有反應。

急性鼠科DSS結腸炎模型

葡聚糖硫酸鈉(dextran sodium sulphate; DSS)結腸炎模型是一種實驗性小鼠模型，其可以顯示人類UC中所觀察到之許多症狀，諸如，腹瀉、便血、黏膜潰瘍、結腸縮短、體重減輕及若干結腸細胞激素的變化。該研究廣泛作為研究UC病理亦及篩選治療UC之新穎治療性干預之模型。

在這些研究中係使用急性結腸炎模型，在BALB/c小鼠的飲用水中投與5% DSS。該劑量方案會誘發嚴重急性結腸炎，在第7-8天，小鼠直腸會明顯出血，且體重明顯減輕，除非需要預先犧牲該動物，否則所有小鼠會在10-12天內死亡。

小鼠

從商業供應商(Harlan UK)取得6-8週齡之無特異病原體BALB/c小鼠。餵食小鼠經輻射照射的食物，並在正壓下圈養於個別換氣籠(Tecniplast UK)中。

DSS處理

將DSS(5%)溶解於飲用水中。第0-7天，經口投與10 mg/kg或30 mg/kg之化合物，並在第8天或第9天根據疾病嚴重性挑選小鼠。每天檢查小鼠之發病率，並記錄個別小鼠之體重。依據屍體解剖、結腸長度及組織學確定結腸炎之誘導情況。回收結腸並在-20℃下保存，以備免疫分析

之用。隨機地按字母順序標記所有化合物及實驗組。以盲檢方式記錄整個實驗的所有數據。直到數據分析才揭開箱/組之編碼，即屆時才確定未經處理、經DSS處理或經DSS+化合物處理之標有A、B、C等等之箱子。

以體重減輕、便血及糞便硬度為基礎，確定疾病活動指數(disease activity index; DAI)，以量化結腸炎嚴重程度。針對每一參數給一個分數，分數總和作為DAI。每個處理組n=8。

DAI說明			
評分	體重減輕%	糞便硬度	便血
0	無	正常	無
1	1-3		
2	3-6	軟便 ¹	糞便中可見
3	6-9		
4	>9	腹瀉 ²	明顯出血 ³

定義：

¹軟便-糞便不成形，但觸摸時成糊狀。

²腹瀉-沒有糞便形成，肛門周圍積垢。

³明顯出血-糞便中血超量，鮮血遍佈肛門周圍。

投與化合物

所有化合物製備成含於0.5%羧甲基纖維素/2%吐溫80之3-30 mg/Kg劑量的經口灌食懸浮液(每10公克體重經口投與0.1 mL(p.o.))。開始時，將游離酸形式的化合物溶解於無水酒精中，並以0.5%羧甲基纖維素/2%吐溫80以14+1方式稀釋，此導致於懸浮液會產生微小沉澱物，但N-甲

基-(D)-葡糖胺鹽在只有此媒劑時是可溶的。

個別對映異構體化合物2、3、4及5在5% DSS鼠科結腸炎之效果

將化合物2、3、4及5以含於0.5%羧甲基纖維素/2%吐溫80之懸浮液以經口方式投與經餵食5% DSS飲用水之BALB/c小鼠，每日投與劑量30 mg/kg，計7天。DAI測量此模型中疾病之嚴重程度。化合物4在此變量中沒有活性，DAI在任何時間點上皆沒有顯著差異($P>0.05$)(圖3)。在第7天時，化合物2及化合物5兩者皆使DAI明顯地大幅降低($P<0.05$)，從媒劑控制組之 9.0 ± 0.53 至化合物5之 3.2 ± 0.73 及化合物2之 2.5 ± 0.71 ，該兩者化合物間沒有明顯差異(圖4)。與之比較，化合物3使DAI僅降低至 5.3 ± 0.6 ，此明顯比化合物2或化合物5之效果小($P>0.05$)。另外，雖然統計學上經化合物3處理之小鼠在第7天時的DAI低於媒劑控制組者($P<0.05$)(圖4)，但化合物3與媒劑在第6天時沒有統計學上的差異($P>0.05$)(圖3)。總之，化合物2、3、4及5之四種對映異構體中，化合物2及5兩者為30 mg/kg時，在此模型中皆具有高度活性。化合物3具有極低活性，明顯低於化合物2及化合物5($P<0.05$)。化合物4在該5% DSS鼠科結腸炎模型中幾乎無活性。

選擇化合物2及5之鹽

由於對映異構體化合物2及化合物5之水溶性有限，故吾人嘗試合成化合物5之五種鹽，合成鈉鹽、鉀鹽、鈣鹽、 α -甲基苄基胺鹽及N-甲基-(D)-葡糖胺鹽。鈉鹽及鈣鹽並未

化合物	中性 Log10 POW	鹼性 Log10 POW	酸性 Log10 POW
化合物5	3.7	3.7	3.9
化合物5之鉀鹽	3.7	3.7	3.9
化合物5之甲基苄基胺鹽	3.6	3.6	3.9
化合物5之N-甲基-(D)- 葡糖胺鹽	3.5	3.5	3.8

發現化合物5之每種鹽的分配係數相似。咸推測，發生此現象係因為當鹽在溶液中時，化合物會電離成母化合物5及相關鹽離子。因此，所測量之分配係數係來自母化合物離子而非鹽分子。

成功測得化合物2之N-甲基-(D)-葡糖胺鹽(化合物6)在中性、鹼性及酸性條件下之分配係數(Log10 POW)，分別為3.5、4.3及2.6。

N-甲基-(D)-葡糖胺被選為化合物2及化合物5兩者之候選鹽。

10 mg/kg之對映異構體化合物2及化合物5及其N-甲基-(D)-葡糖胺鹽(化合物6及7)對5% DSS鼠科結腸炎之效果

鑒於30 mg/kg之化合物2及5在5% DSS模型中呈現出相當大的活性，因此吾人再次以含於0.5%羧甲基纖維素/2%吐溫之懸浮劑或溶液之10 mg/kg較低劑量測試該等化合物及其N-甲基-(D)-葡糖胺鹽之活性，每日給藥，持續7天。並沒有為了補償鹽所增加的分子量而調整鹽的劑量。相較於媒劑控制組，化合物5及7兩者為10 mg/kg時，對5% DSS鼠科結腸炎模型之DAI皆沒有明顯效果($P>0.05$)(參見圖5)。相反地，在第7天，化合物2及6、N-甲基-(D)-葡糖胺鹽為

10 mg/kg時，明顯地且可有效地使DAI自 9.3 ± 0.51 (媒劑)分別降低至 2.1 ± 0.7 及 3.3 ± 0.52 ($P < 0.05$) (圖6)。

總之，化合物2(及其N-甲基-(D)-葡糖胺鹽，化合物6)是四種對映異構體中相當大幅度及最有效的對映異構體，且為唯一在10 mg/kg較低劑量下仍保持活性之對映異構體。化合物6之範圍劑量相較去氫皮質醇在5% DSS鼠科結腸炎之效果

化合物6被選為最佳的對映異構體。以5% DSS鼠科模型結腸炎測定不同劑量水平之化合物6的活性，以確定是否存在劑量/反應關係，並與一有效口服類固醇(去氫皮質醇)比較，去氫皮質醇常用於使身受IBD急性發作之患者恢復緩解。

將劑量3、10及30 mg/Kg之化合物6(相當於6.6-20 mg/Kg化合物2)投與小鼠。亦以去氫皮質醇(5 mg/Kg)處理一組經DSS處理之小鼠。去氫皮質醇為一種臨床應用中用於治療人類IBD之皮質類固醇，而此研究中所用量為用於該模型之去氫皮質醇的最佳劑量。使用含於飲用水之5% DSS處理BALB/c小鼠3天後，結腸炎之病徵很明顯。所表現的是體重減輕(圖7)及DAI增加(圖8)。然而，每日經口投與達7天後，三種劑量(3、10及30 mg/Kg)之化合物6對小鼠沒有產生明顯反應。經檢查急性DSS處理後之多個疾病參數，化合物6會減輕結腸炎之嚴重性。化合物6減輕DSS模型的疾病之能力是具有劑量依賴性的。化合物6為30 mg/Kg時

在DSS模型係具有療效的，療效不亞於5 mg/Kg之去氫皮質醇，或者說更佳。

該等症狀之嚴重性是逐步漸進的，到第7天時，經DSS處理之小鼠已減輕體重15%，且所有小鼠均充滿直腸出血現象。屍體解剖之日的DAI值顯示，經以3-30 mg/kg化合物6處理之小鼠在每一劑量水平之DAI均明顯低於媒劑控制組者($P<0.05$ - $P<0.01$)。去氫皮質醇(5 mg/kg)亦明顯降低DAI分數($P<0.01$; ANOVA; Dunnett氏多重比較檢測)(圖9)。

第7天屍體解剖時，相較於未經DSS處理之小鼠的結腸，所有經DSS處理組之結腸長度明顯縮短($P<0.05$ - $P<0.01$; ANOVA; Dunnett氏多重比較檢測)(圖10)。當與媒劑控制組比較時，化合物6為3 mg/kg最低劑量時，對抑制結腸縮短方面沒有明顯效果，但10及30 mg/kg的組別與去氫皮質醇的組別確實有明顯效果。化合物6為30 mg/kg時，明顯優於去氫皮質醇($P<0.05$; ANOVA; Dunnett氏多重比較檢測)(圖10)。

DSS處理後，末端結腸之組織學切片顯示小囊全面受損及細胞受到浸潤(圖11)。

使用任意評分系統量化結腸損傷之程度。相對於媒劑的組別，化合物6為10及30 mg/Kg時，皆會導致結腸病理學上的劑量依賴性及高度統計學地顯著減輕($P<0.01$; Kruksal-Wallis ANOVA; Dunnett氏多重比較檢測)。相反地，相對於經媒劑處理的組別，以去氫皮質醇(5 mg/Kg)

處理的組別在組織學上的評分並沒有明顯的改善(圖12)。

小鼠結腸之炎症與組織學結果具有一致性，僅投與媒劑之經DSS處理的小鼠中結腸骨髓過氧化酶(myeloperoxidase；MPO)活性明顯提升($P<0.001$ ；Kruksal-Wallis ANOVA；Dunnett氏多重比較檢測)。到第7天時，代表嗜中性白血球細胞滲入腸道壁之含量的結腸骨髓過氧化酶活性(MPO)會因為DSS處理而增加了約8倍，但經投與30 mg/kg之化合物6與去氫皮質醇會分別明顯降低63%及54% ($P<0.05$)(圖13)。

結腸細胞激素之定量濃度顯示，經DSS處理會誘使IL1 β (圖14(a))、TNF α (圖14(b))及IL6(圖14(c))分別升高至 0.744 ± 0.076 ng/mg、 1.478 ± 0.378 ng/mg及 1.057 ± 0.1784 ng/mg。在每種情況中，化合物6會造成該等細胞激素濃度明顯降低($P<0.05$ ，30 mg/kg)及劑量依賴性降低。去氫皮質醇(5 mg/kg)亦會降低細胞激素濃度之升高($p<0.05$)；在第7天時，對於每種細胞激素，去氫皮質醇(5 mg/kg)與化合物6(30 mg/kg較高劑量水平)之間的效果沒有明顯差異。

總而言之，每日經口投與7天後，三種劑量之化合物6(3、10及30 mg/Kg)不會造成小鼠明顯的反應。檢查急性5% DSS處理後之疾病多種參數，化合物6會減輕結腸炎之嚴重性，且減輕疾病之能力係具有劑量依賴性的。另外，化合物6為30 mg/Kg時在DSS模型中具有療效的，療效不亞於去氫皮質醇(5 mg/Kg)，或者說更佳。

慢性IL10^{-/-}模型

刪除 IL10^{-/-} 基因之小鼠會自然地發展出慢性結腸炎，發病年齡及疾病嚴重性取決於鼠品種的背景及圈養動物之條件。在此項研究中所用之圈養條件下，IL10^{-/-} 小鼠結腸炎之發病亦取決於品種，就死亡率而言，BALB/c 系小鼠比 C57BL/6 系動物發病更早且更嚴重。在此實驗中，動物在九週內接受 MWF 方案之經口處理。起初，兩組小鼠會逐步增加體重(圖 15)，經媒劑處理之小鼠會在處理後第 5 週停止體重增加，而化合物 6 處理小鼠則直至第 8 週仍保持體重增加。到第 9 週時，動物明顯體重減輕，在每一組第 60 天時以人道方式處死一隻瀕死的動物。隨著其他小鼠體重不斷減輕，並顯現出疾病之臨床症狀，在第 9 週(第 63 天)精選出兩組，並作分析。雖然 Kaplan-Meier 分析顯示，經媒劑處理組別的死亡率高於(25%)經化合物 6 處理小鼠(9.2%)死亡率，但在 9 週內 IL10^{-/-} 小鼠存活率沒有統計學上的差異。自小鼠回收血清，並分析作為結腸炎嚴重性的標記血清樣蛋白 A(Serum Amyloid A; SAA)。經化合物 6 處理小鼠相對經媒劑處理之 IL10^{-/-} 小鼠的 SAA 含量明顯降低($P < 0.05$; 司徒頓氏 t-試驗法(Student's t-test))。

經媒劑或化合物 6 處理之 IL10^{-/-} 小鼠之結腸的組織學切片示於圖 17 中。

為經媒劑或化合物 6 處理之 IL10^{-/-} 小鼠之結腸的組織學切片評分。接受化合物 6 之 IL10^{-/-} 小鼠相對經媒劑處理者之結腸病理之程度明顯降低($P < 0.05$; 司徒頓氏 t-試驗法

(Student's t-test))(圖 18)。

總而言之，9週內使用MWF方案投與，相對於經媒劑處理小鼠，在IL10^{-/-} BALB/c系小鼠中使用化合物6經口治療(300 mg/kg/週)更能延緩體重減輕且降低死亡率。在此慢性結腸炎模型中，就結腸發炎之血清標記及發炎程度及對結腸之損傷而言，化合物6明顯降低疾病指數。此特別值得注意的是大鼠中化合物之血漿半衰期($t_{1/2}$)為3小時之事實。由於標準MWF投與方案，故小鼠在實驗期間有大體上期間未暴露於化合物6。

本發明不限於上文中所述之細節上有差異之實施例。

附錄 1

所用縮略語列表

aq	水溶液
b.p.	沸點
CDCl_3	氘化三氯甲烷
$\text{CH}(\text{OCH}_3)_3$	原甲酸三甲基甲矽烷基酯
CO_2	二氧化碳
DCM	二氯甲烷
dIW	去離子水
DMSO	二甲基亞砷
Et_2O	乙醚
EtOH	乙醇
H_2O	水
HCl	鹽酸
IR	紅外線
IPA	異丙醇
KCl	氯化鉀
M	摩爾
min	分鐘
μl	微升
mM	毫摩爾
m.p.	熔點
N_2	氮氣
NaBH_4	硼氫化鈉
NaOH	氫氧化鈉
Na_2SO_4	硫酸鈉
NMR	核磁共振
O_2	氧氣
RT	室溫

^t BuOH	第三丁醇
^t BuOK	第三-丁醇鉀
S.E.M.	平均標準誤差
THF	四氫呋喃
TLC	薄層層析法
μl	微升
Triflic Acid	三氟甲烷磺酸
TMS Triflate	三氟甲烷磺酸三甲基甲矽烷酯
v/v	體積/體積
w/v	重量/體積
λ_{em}	發射波長
λ_{exc}	激發波長

附錄 2

X-射線研究

使用 SuperNova，雙光源，零度 Cu，Atlas 繞射儀對化合物 **2** 之 (*S*)-(-)-甲基苄基胺鹽 (化合物 **8**) 進行單晶 X-射線分析並將參數列於表 1 中。

表 1. 化合物 8(化合物 2 之 (S)-(-)- 甲基苄基胺鹽) 之數據收集及結構精修

繞射儀	SuperNova, 雙光源, 零度 Cu, Atlas
輻射源	SuperNova (Cu) X-射線源, Cu K α
數據收集方法	掃描 Ω
數據收集之 θ 角範圍	3.74 至 76.22°
指標範圍	$-13 \leq h \leq 13, -11 \leq k \leq 12, -14 \leq l \leq 14$
反射點收集	12753
獨立反射	5263 [R(int)=0.0196]
獨立反射覆蓋率	99.4%
校對反射變體	N/A
吸收校正	當量之半經驗系數
最大及最小透光率	1.00000 及 0.90238
結構解析技術	直接法
結構解析程式	Bruker SHELXTL
精算技術	基於 F^2 之全矩陣最小平方
精修程式	Bruker SHELXTL
函數最小化	$\sum w(F_o^2 - F_c^2)^2$
數據/限制/參數	5263/1/363
基於 F^2 之擬合優度	1.007
$\Delta/\sigma_{\text{最大}}$	0.001
最終折射率	
5161 數據; $I > 2\sigma(I)$	R1=0.0321, wR2=0.0857
所有數據	R1=0.0327, wR2=0.0865
加權方案	$w = 1/[\sigma^2(F_o^2) + (0.0600P)^2 + 0.2200P]$ 其中 $P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$
絕對結構參數	0.04(14)
消光係數	0.0035(5)
最大繞射峰及谷	0.214 及 -0.154 eÅ ⁻³

精修概述:

有序非-H 原子, XYZ	自由精修	
有序非-H 原子, U	各向異性	
H 原子(在碳上), XYZ	依靠附屬原子之理想位置	
H 原子(在碳上), U	鍵合原子之合適多個	U(eq)
	H 原子(在雜原子上), XYZ	自由精修

H原子(在雜原子上), U	各向同性
無序原子, OCC	使用兩個部分首先模型精修為一
無序原子, XYZ	自由精修
無序原子, U	自由精修

- 單晶X-射線數據確認化合物6結構為單斜晶系，空間群 $P2_1$ ，其中一個化合物6分子在不對稱單元中(表2)。

表 2. 化合物 8 之 樣 品 及 晶 體 數 據

結晶溶劑	二乙醚, MeOH, THF	
結晶法	緩慢蒸發	
實驗式	$C_{34}H_{33}N_1O_3$	
式量	503.61	
溫度	100(1) K	
波長	1.54178 Å	
晶體粒度	0.50×0.50×0.50 mm	
晶體慣態	無色塊	
晶系	單斜晶系	
空間群	$P2_1$	
單位晶格大小	$a=11.0344(2)$ Å	$\alpha=90^\circ$
	$b=10.1727(2)$ Å	$\beta=93.682(2)^\circ$
	$c=11.8532(2)$ Å	$\gamma=90^\circ$
體積	1327.77(4) Å ³	
Z	2	
密度(計算值)	1.260 Mg/m ³	
吸收係數	0.627 mm ⁻¹	
F(000)	536	

- 化合物 2 在 C9 及 C10 處的絕對立體化學結構確定為 *S*，*S*，而甲基苄基胺陽離子在 C33 處則為 *S*。此分配係考慮到經測定為 0.04(14) 之弗萊克參數 (Fleck parameter) 及成鹽物立體構型之先驗知識而做出的。
- 利用貝氏統計學進行 Bijvoet 配對的差異亦可測定絕對立體化學結構，其在對掌性中心 C9、C10 及 C33 處得到立體構型為 *S*、*S* 及 *S* 之機率分別為 1.000，而為 *R*、*R* 及 *R* 之機率為 0.000。此結果支持弗萊克參數在 C9、C10 及 C33 所得到分別為 *S*、*S* 及 *S* 之分配。
- 從單晶 X-射線結構所計算的 X-射線粉末繞射型態與圖 2(或以下圖)中所示之立體構型一致。

表 3. 化合物 8 之原子座標及等效各向異性、原子位移參數 ($\text{\AA}^2$)。U(eq) 定義為正交化 U_{ij} 張量跡之 1/3。

	x/a	y/b	z/c	U(eq)
O1	0.02763(10)	0.17316(11)	1.16556(8)	0.0228(2)
O2	0.07430(9)	-0.03465(10)	1.12294(7)	0.0194(2)
O3	0.10561(8)	0.01057(10)	1.90142(8)	0.0184(2)
C1	0.08315(12)	-0.12167(14)	1.47373(12)	0.0198(3)
C2	0.07248(13)	-0.09752(14)	1.35802(12)	0.0192(3)
C3	0.08014(11)	0.02912(13)	1.31666(11)	0.0158(3)
C4	0.05975(11)	0.05851(14)	1.19195(11)	0.0164(3)
C5	0.10196(12)	0.13219(14)	1.39262(11)	0.0184(3)
C6	0.11261(13)	0.10790(14)	1.50817(11)	0.0197(3)
C7	0.10101(11)	-0.01884(14)	1.55106(10)	0.0164(3)
C8	0.09988(12)	-0.04205(14)	1.67717(10)	0.0177(3)
C9	0.22568(11)	-0.05199(14)	1.74191(10)	0.0160(3)
C10	0.20981(12)	-0.06390(14)	1.87231(10)	0.0173(3)
C11	0.32285(12)	-0.00001(14)	1.92450(11)	0.0183(3)
C12	0.36695(13)	-0.00323(15)	2.03747(11)	0.0217(3)

C13	0.46523(13)	0.07703(16)	2.07062(12)	0.0263(3)
C14	0.51796(13)	0.15733(16)	1.99312(13)	0.0271(3)
C15	0.47368(13)	0.16061(15)	1.87974(13)	0.0237(3)
C16	0.37476(12)	0.08173(14)	1.84684(11)	0.0188(3)
C17	0.30303(12)	0.07486(14)	1.73362(11)	0.0189(3)
C18	0.29536(12)	-0.17122(14)	1.70380(10)	0.0170(3)
C19	0.24493(13)	-0.29849(15)	1.68674(11)	0.0224(3)
C20	0.34284(13)	-0.38466(15)	1.64945(10)	0.0202(3)
C21	0.34340(15)	-0.51740(16)	1.62093(12)	0.0279(3)
C22	0.45250(18)	-0.57426(17)	1.59308(13)	0.0363(8)
C23	0.55837(16)	-0.50075(18)	1.59165(13)	0.0317(4)
C24	0.55735(14)	-0.36697(17)	1.61785(12)	0.0269(3)
C25	0.44911(13)	-0.31016(15)	1.64729(11)	0.0212(3)
C26	0.42215(14)	-0.17370(16)	1.68241(12)	0.0238(3)
C18A	0.29536(12)	-0.17122(14)	1.70380(10)	0.0170(3)
C19A	0.24493(13)	-0.29849(15)	1.68674(11)	0.0224(3)
C20A	0.34284(13)	-0.38466(15)	1.64945(10)	0.0202(3)
C21A	0.34340(15)	-0.51740(16)	1.62093(12)	0.0279(3)
C22A	0.45250(18)	-0.57426(17)	1.59308(13)	0.0279(3)
C23A	0.55837(16)	-0.50075(18)	1.59165(13)	0.0317(4)
C24A	0.55735(14)	-0.36697(17)	1.61785(12)	0.0269(3)
C25A	0.44911(13)	-0.31016(15)	1.64729(11)	0.0212(3)
C26A	0.42215(14)	-0.17370(16)	1.68241(12)	0.0238(3)
N1	-0.09024(11)	-0.21952(13)	1.02800(10)	0.0194(2)
C27	-0.18541(12)	0.06679(15)	0.92258(12)	0.0220(3)
C28	-0.19466(13)	0.15069(16)	0.82981(13)	0.0256(3)
C29	-0.23606(14)	0.10317(17)	0.72421(13)	0.0273(3)
C30	-0.26855(15)	-0.02757(18)	0.71195(13)	0.0301(3)
C31	-0.26063(14)	-0.11089(16)	0.80481(13)	0.0255(3)
C32	-0.21928(12)	-0.06417(15)	0.91135(11)	0.0200(3)
C33	-0.21444(12)	-0.15827(15)	1.01084(12)	0.0205(3)
C34	-0.24587(14)	-0.09613(16)	1.12172(13)	0.0256(3)

表 4. 針對化合物 8 中部分所挑選的鍵長 (Å)

O1-C4	1.2528(18)	O2-C4	1.2688(17)
O3-C10	1.4373(16)	O3-H3A	0.88(2)
C1-C2	1.3909(19)	C1-C7	1.3964(19)
C2-C3	1.383(2)	C3-C5	1.3929(19)
C3-C4	1.5108(17)	C5-C6	1.3893(18)
C6-C7	1.395(2)	C7-C8	1.5141(16)
C8-C9	1.5457(17)	C9-C18	1.5203(19)
C9-C17	1.5537(19)	C9-C10	1.5713(16)
C10-C11	1.5040(18)	C11-C16	1.391(2)
C11-C12	1.3953(17)	C12-C13	1.394(2)
C13-C14	1.385(2)	C14-C15	1.401(2)
C15-C16	1.390(2)	C16-C17	1.5152(18)
C18-C19	1.418(2)	C18-C26	1.4380(19)
C19-C20	1.481(2)	C20-C21	1.392(2)
C20-C25	1.398(2)	C21-C22	1.394(2)
C22-C23	1.388(3)	C23-C24	1.396(2)
C24-C25	1.391(2)	C25-C26	1.485(2)
N1-C33	1.5073(18)	N1-H1B	0.91(2)
N1-H1C	0.93(2)	N1-H1D	0.90(2)
C27-C32	1.388(2)	C27-C28	1.390(2)
C28-C29	1.391(2)	C29-C30	1.383(3)
C30-C31	1.387(2)	C31-C32	1.398(2)
C32-C33	1.5172(19)	C33-C34	1.518(2)

表 5. 針對化合物 8 中部分所挑選之鍵角 (°)

C10-O3-H3A	107.0(15)	C2-C1-C7	120.96(13)
C3-C2-C1	120.72(13)	C2-C3-C5	118.95(12)
C2-C3-C4	121.50(12)	C5-C3-C4	119.48(12)
O1-C4-O2	125.44(12)	O1-C4-C3	116.78(12)
O2-C4-C3	117.77(12)	C6-C5-C3	120.23(13)
C5-C6-C7	121.32(13)	C6-C7-C1	117.75(12)
C6-C7-C8	120.71(12)	C1-C7-C8	121.43(13)
C7-C8-C9	115.87(10)	C18-C9-C8	111.09(11)
C18-C9-C17	110.70(11)	C8-C9-C17	113.19(11)
C18-C9-C10	108.74(10)	C8-C9-C10	109.89(10)
C17-C9-C10	102.86(10)	O3-C10-C11	109.18(11)
O3-C10-C9	109.69(10)	C11-C10-C9	103.26(10)
C16-C11-C12	121.07(13)	C16-C11-C10	110.61(11)
C12-C11-C10	127.84(13)	C13-C12-C11	118.29(14)
C14-C13-C12	120.72(13)	C13-C14-C15	120.99(14)
C16-C15-C14	118.34(14)	C15-C16-C11	120.58(13)
C15-C16-C17	129.14(13)	C11-C16-C17	110.16(12)
C16-C17-C9	103.90(11)	C19-C18-C26	109.64(13)
C19-C18-C9	124.70(12)	C26-C18-C9	125.65(13)
C18-C19-C20	107.21(12)	C21-C20-C25	120.31(14)
C21-C20-C19	131.41(14)	C25-C20-C19	108.27(13)
C20-C21-C22	118.51(15)	C23-C22-C21	121.31(15)
C22-C23-C24	120.24(15)	C25-C24-C23	118.68(15)
C24-C25-C20	120.94(14)	C24-C25-C26	130.48(14)
C20-C25-C26	108.57(13)	C18-C26-C25	106.29(13)
C33-N1-H1B	108.3(13)	C33-N1-H1C	112.0(13)
H1B-N1-H1C	107.4(18)	C33-N1-H1D	111.6(13)
H1B-N1-H1D	112.5(18)	H1C-N1-H1D	105.0(17)
C32-C27-C28	120.51(14)	C27-C28-C29	120.09(15)
C30-C29-C28	119.78(14)	C29-C30-C31	120.10(14)
C30-C31-C32	120.61(15)	C27-C32-C31	118.89(14)
C27-C32-C33	122.36(13)	C31-C32-C33	118.74(13)
N1-C33-C32	110.61(11)	N1-C33-C34	108.16(11)
C32-C33-C34	114.30(12)		

表 6. 針對化合物 8 中部分所挑選之扭轉角 (°)

C7-C1-C2-C3	0.4(2)	C1-C2-C3-C5	1.7(2)
C1-C2-C3-C4	-175.50(12)	C2-C3-C4-O1	156.41(13)
C5-C3-C4-O1	-20.75(18)	C2-C3-C4-O2	-22.38(18)
C5-C3-C4-O2	160.46(12)	C2-C3-C5-C6	-1.7(2)
C4-C3-C5-C6	175.57(12)	C3-C5-C6-C7	-0.5(2)
C5-C6-C7-C1	2.5(2)	C5-C6-C7-C8	-173.65(12)
C2-C1-C7-C6	-2.52(19)	C2-C1-C7-C8	173.64(12)
C6-C7-C8-C9	-83.92(16)	C1-C7-C8-C9	100.03(15)
C7-C8-C9-C18	-64.43(16)	C7-C8-C9-C17	60.83(15)
C7-C8-C9-C10	175.19(12)	C18-C9-C10-O3	-155.49(11)
C8-C9-C10-O3	-33.70(15)	C17-C9-C10-O3	87.10(12)
C18-C9-C10-C11	88.22(13)	C8-C9-C10-C11	-149.99(11)
C17-C9-C10-C11	-29.19(13)	O3-C10-C11-C16	-96.36(13)
C9-C10-C11-C16	20.29(15)	O3-C10-C11-C12	75.67(18)
C9-C10-C11-C12	-167.68(14)	C16-C11-C12-C13	-0.5(2)
C10-C11-C12-C13	-171.75(13)	C11-C12-C13-C14	-0.3(2)
C12-C13-C14-C15	0.3(2)	C13-C14-C15-C16	0.4(2)
C14-C15-C16-C11	-1.2(2)	C14-C15-C16-C17	174.32(14)
C12-C11-C16-C15	1.2(2)	C10-C11-C16-C15	173.88(13)
C12-C11-C16-C17	-175.05(12)	C10-C11-C16-C17	-2.40(16)
C15-C16-C17-C9	167.34(14)	C11-C16-C17-C9	-16.79(15)
C18-C9-C17-C16	-88.09(12)	C8-C9-C17-C16	146.44(11)
C10-C9-C17-C16	27.92(13)	C8-C9-C18-C19	-44.46(16)
C17-C9-C18-C19	-171.10(11)	C10-C9-C18-C19	76.60(15)
C8-C9-C18-C26	137.25(13)	C17-C9-C18-C26	10.60(17)
C10-C9-C18-C26	-101.70(15)	C26-C18-C19-C20	-1.81(14)
C9-C18-C19-C20	179.67(11)	C18-C19-C20-C21	-179.77(14)
C18-C19-C20-C25	1.34(15)	C25-C20-C21-C22	1.5(2)
C19-C20-C21-C22	-177.24(14)	C20-C21-C22-C23	-1.1(2)
C21-C22-C23-C24	-0.3(2)	C22-C23-C24-C25	1.2(2)
C23-C24-C25-C20	-0.7(2)	C23-C24-C25-C26	177.73(14)
C21-C20-C25-C24	-0.6(2)	C19-C20-C25-C24	178.39(12)
C21-C20-C25-C26	-179.41(12)	C19-C20-C25-C26	-0.38(15)
C19-C18-C26-C25	1.57(15)	C9-C18-C26-C25	-179.92(11)
C24-C25-C26-C18	-179.32(14)	C20-C25-C26-C18	-0.71(15)

C32-C27-C28-C29	-1.2(2)	C27-C28-C29-C30	0.3(2)
C28-C29-C30-C31	0.4(2)	C29-C30-C31-C32	-0.3(2)
C28-C27-C32-C31	1.2(2)	C28-C27-C32-C33	-178.07(13)
C30-C31-C32-C27	-0.5(2)	C30-C31-C32-C33	178.85(14)
C27-C32-C33-N1	-86.99(16)	C31-C32-C33-N1	93.72(15)
C27-C32-C33-C34	35.36(18)	C31-C32-C33-C34	-143.93(14)

表 7. 化合物 8 之各向異性原子位移參數 ($\text{\AA}^2$)，各向異性原子
位移因數指數採用以下形式： $-2\pi^2[h^2a^{*2}U_{11}+...+2hka^*b^*U_{12}$

	U ₁₁	U ₂₂	U ₃₃	U ₂₃	U ₁₃	U ₁₂
O1	0.0325(5)	0.0206(5)	0.0153(4)	0.0025(4)	0.0015(4)	0.0044(4)
O2	0.0255(5)	0.0206(5)	0.0123(4)	-0.0017(4)	0.0024(3)	-0.0014(4)
O3	0.0205(4)	0.0232(5)	0.0116(4)	-0.0002(4)	0.0027(3)	0.0016(4)
C1	0.0257(7)	0.0179(7)	0.0159(6)	0.0017(5)	0.0018(5)	-0.0028(5)
C2	0.0267(7)	0.0171(7)	0.0139(6)	-0.0035(5)	0.0024(5)	-0.0019(5)
C3	0.0160(6)	0.0187(7)	0.0128(6)	-0.0004(5)	0.0017(4)	0.0011(5)
C4	0.0166(5)	0.0193(7)	0.0134(6)	0.0000(5)	0.0014(4)	-0.0018(5)
C5	0.0234(6)	0.0155(7)	0.0159(6)	-0.0001(5)	-0.0011(5)	0.0020(5)
C6	0.0251(6)	0.0175(7)	0.0158(6)	-0.0030(5)	-0.0024(5)	0.0028(5)
C7	0.0150(5)	0.0213(7)	0.0129(6)	0.0000(5)	0.0009(4)	0.0028(5)
C8	0.0188(6)	0.0217(7)	0.0124(6)	-0.0007(5)	0.0000(4)	0.0018(5)
C9	0.0186(6)	0.0177(7)	0.0117(5)	0.0004(5)	0.0007(4)	-0.0002(5)
C10	0.0206(6)	0.0190(7)	0.0121(6)	0.0000(5)	0.0005(4)	0.0022(5)
C11	0.0201(6)	0.0185(7)	0.0163(6)	-0.0030(5)	0.0004(5)	0.0033(5)
C12	0.0234(6)	0.0249(8)	0.0166(6)	-0.0018(5)	-0.0015(5)	0.0056(5)
C13	0.0237(7)	0.0322(9)	0.0216(7)	-0.0074(6)	-0.0074(5)	0.0074(6)
C14	0.0196(7)	0.0284(8)	0.0324(8)	-0.0099(6)	-0.0049(6)	0.0015(6)
C15	0.0199(6)	0.0229(7)	0.0282(7)	-0.0035(6)	0.0008(5)	0.0012(6)
C16	0.0186(6)	0.0198(7)	0.0178(6)	-0.0023(5)	0.0007(5)	0.0028(5)
C17	0.0213(6)	0.0203(7)	0.0151(6)	0.0004(5)	0.0018(5)	-0.0008(5)
C18	0.0200(6)	0.0206(7)	0.0101(5)	0.0011(5)	-0.0009(4)	0.0004(5)
C19	0.0245(7)	0.0249(8)	0.0176(6)	-0.0024(5)	0.0008(5)	0.0029(5)
C20	0.0256(7)	0.0227(7)	0.0124(6)	0.0001(5)	0.0015(5)	0.0027(5)
C21	0.0392(8)	0.0237(8)	0.0215(6)	-0.0032(6)	0.0059(6)	-0.0017(7)

C22	0.063(2)	0.0236(16)	0.0226(13)	-0.0024(11)	0.0090(13)	0.0165(15)
C23	0.0359(8)	0.0356(9)	0.0240(7)	-0.0034(6)	0.0049(6)	0.0140(7)
C24	0.0253(7)	0.0331(9)	0.0225(7)	-0.0050(6)	0.0034(5)	0.0047(6)
C25	0.0253(7)	0.0253(8)	0.0129(5)	0.0003(5)	0.0016(5)	0.0035(5)
C26	0.0277(7)	0.0248(8)	0.0197(6)	-0.0005(6)	0.0069(5)	0.0012(6)
C18A	0.0200(6)	0.0206(7)	0.0101(5)	0.0011(5)	-0.0009(4)	0.0004(5)
C19A	0.0245(7)	0.0249(8)	0.0176(6)	-0.0024(5)	0.0008(5)	0.0029(5)
C20A	0.0256(7)	0.0227(7)	0.0124(6)	0.0001(5)	0.0015(5)	0.0027(5)
C21A	0.0392(8)	0.0237(8)	0.0215(6)	-0.0032(6)	0.0059(6)	-0.0017(7)
C22A	0.0392(8)	0.0237(8)	0.0215(6)	-0.0032(6)	0.0059(6)	-0.0017(7)
C23A	0.0359(8)	0.0356(9)	0.0240(7)	-0.0034(6)	0.0049(6)	0.0140(7)
C24A	0.0253(7)	0.0331(9)	0.0225(7)	-0.0050(6)	0.0034(5)	0.0047(6)
C25A	0.0253(7)	0.0253(8)	0.0129(5)	0.0003(5)	0.0016(5)	0.0035(5)
C26A	0.0277(7)	0.0248(8)	0.0197(6)	-0.0005(6)	0.0069(5)	0.0012(6)
N1	0.0248(6)	0.0191(6)	0.0143(5)	-0.0013(5)	0.0005(4)	-0.0007(5)
C27	0.0216(6)	0.0233(7)	0.0213(7)	-0.0001(5)	0.0017(5)	-0.0030(5)
C28	0.0250(7)	0.0228(8)	0.0293(7)	0.0035(6)	0.0038(6)	-0.0021(6)
C29	0.0265(7)	0.0298(9)	0.0254(7)	0.0087(6)	-0.0001(5)	-0.0017(6)
C30	0.0326(8)	0.0357(9)	0.0214(7)	0.0019(6)	-0.0041(6)	-0.0050(7)
C31	0.0286(7)	0.0238(8)	0.0234(7)	0.0001(6)	-0.0034(6)	-0.0053(6)
C32	0.0169(6)	0.0233(7)	0.0198(6)	0.0024(5)	0.0007(5)	-0.0024(5)
C33	0.0196(6)	0.0205(7)	0.0212(6)	0.0023(5)	0.0001(5)	-0.0031(5)
C34	0.0280(7)	0.0264(8)	0.0232(7)	0.0029(6)	0.0065(6)	0.0024(6)

附錄3

化合物1	4-((1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-2,2'-二節-2-基)甲基)苯甲酸
化合物2	4-(((1S,2S)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-2,2'-二節-2-基)甲基)苯甲酸
化合物3	4-(((1R,2R)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-2,2'-二節-2-基)甲基)苯甲酸
化合物4	4-(((1R,2S)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-2,2'-二節-2-基)甲基)苯甲酸
化合物5	4-(((1S,2R)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-2,2'-二節-2-基)甲基)苯甲酸
化合物6	6-(甲胺基)己烷-1,2,3,4,5-戊醇4-(((1S,2S)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-2,2'-二節-2-基)甲基)苯甲酸鹽
化合物7	6-(甲胺基)己烷-1,2,3,4,5-戊醇4-(((1S,2R)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-2,2'-二節-2-基)甲基)苯甲酸鹽
化合物8	(S)-1-苯乙基銨4-(((1S,2S)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-2,2'-二節-2-基)甲基)苯甲酸鹽
化合物9	(R)-1-苯乙基銨4-(((1R,2S)-1-羥基-2,3-二氫-1H,1'H-2,2'-二節-2-基)甲基)苯甲酸鹽

【圖式簡單說明】

圖1為X-射線晶體結構，顯示對映異構體化合物4之(R)-(+)-甲基苄基胺鹽(化合物9)之絕對立體化學結構；

圖2為X-射線晶體結構，顯示對映異構體化合物2之(S)-(-)-甲基苄基胺鹽(化合物8)之絕對立體化學結構；

圖2A為使用顯示編號系統之化合物8分子之晶體結構視圖。非氫原子之各向異性原子位移橢球體係以50%機率水平顯示。氫原子係以任意的小半徑球顯示。只有主要的無秩序原子才顯示；

圖3是當投與7天化合物2、3、4及5為30 mg/kg時，對5% DSS結腸炎疾病活動指數(DAI)之效果的圖示；

圖4是當投與7天化合物2、3、4及5為30 mg/kg時，對5% DSS結腸炎疾病活動指數(DAI)之效果的條形圖；

圖5是當投與7天化合物5、7、2及6為10 mg/kg時，對5% DSS結腸炎疾病活動指數(DAI)之效果之圖示；

圖6是當投與7天化合物5、7、2及6為10 mg/kg時，對5% DSS結腸炎疾病活動指數(DAI)之效果之條形圖。星號表示與媒劑控制組明顯不同($P<0.05$) (單因數變異數分析)；

圖7為顯示化合物6對經5% DSS處理的小鼠體重減輕之效果之圖示。數據是每組6-7隻小鼠之平均值 $\pm$ SEM；

圖8為顯示化合物6對經5% DSS處理的小鼠DAI之效果之圖示。數據是每組6-7隻小鼠之平均值 $\pm$ SEM；

圖9是化合物6對經5% DSS處理的小鼠在第7天的DAI之效果之條形圖；數據是平均值 $\pm$ SEM。星號表示與媒劑控制組明顯不同($P<0.05$) (單因數變異數分析)；

圖10是化合物6對經5% DSS處理的小鼠在第7天之結腸長度之效果之條形圖。星號表示與媒劑控制組明顯不同($P<0.05$) (單因數變異數分析)；

圖11顯示小鼠末端結腸之典型蘇木素(haematoxylin)及曙紅(eosin)染色切片。出示較高放大倍數(X10)；

圖12為顯示化合物6對經DSS處理的小鼠結腸之組織學評分之效果之條形圖。數據是5-6隻小鼠之平均值 $\pm$ SEM。星號表示與媒劑控制組明顯不同($P<0.05$) (單因數變異數

分析)。注意，最大分數為10；

圖 13 是顯示未經處理或經媒劑、去氫皮質醇及化合物 6 處理且曝露至 5% DSS 之小鼠結腸中骨髓過氧化酶(MPO)活性之條形圖。數據是 5-6 隻小鼠之平均值 $\pm$ SEM。星號表示與媒劑控制組明顯不同($P<0.05$) (單因數變異數分析)；

圖 14(A)至(C)是顯示化合物 6 對經 DSS 處理小鼠中細胞激素(IL1 β 、TNF α 及 IL6)濃度之效果之條形圖。數據是 5-6 隻小鼠之平均值 $\pm$ SEM。星號表示與媒劑控制組明顯不同($P<0.05$) (單因數變異數分析)；

圖 15 是顯示 IL10^{+/+} 小鼠經媒劑或化合物 6 處理後體重減輕之圖示。小鼠係以週一/週三/週五(MWF)給藥方案經口投與化合物 6(300 mg/kg/週)或媒劑。實驗開始時小鼠為~4 週齡，並處理 9 週。小鼠每週量體重，且每個組別有 9-12 隻小鼠，數據以平均值 $\pm$ SEM呈現。監控小鼠明顯的疾病、直腸脫垂，而瀕死動物係以人道方式處死；

圖 16 是描繪第 9 週存活動物之個別小鼠的血清澱粉樣蛋白 A(SAA)濃度及平均值(橫線)(經化合物 6 或媒劑處理的組別分別為 11 及 9 隻小鼠)之散點圖。使用司徒頓氏 t-試驗法(Student's test)來檢測組別間的統計學差異；

圖 17 為 IL10^{+/+} 小鼠經媒劑或化合物 6 處理 9 週後末端結腸之典型的蘇木素及曙紅染色切片；及

圖 18 是顯示經媒劑或化合物 6 處理之 IL10^{+/+} 小鼠末端結腸之組織學評分的散點圖。散點圖描繪出第 9 週存活動物之個別小鼠組織學評分及平均值(橫線)(經化合物 6 或媒劑

處理的組別分別為11及9隻小鼠)。使用司徒頓氏t-試驗法來檢測組別間的統計學差異。

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號： 101126409

※ 申請日： 101.7.20

※IPC 分類：C07C 65/19 (2006.01)

A61K31/192 (2006.01)

A61P1/00 (2006.01)

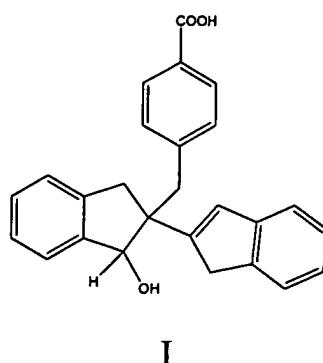
一、發明名稱：(中文/英文)

用於治療發炎性腸病之化合物

COMPOUNDS FOR USE IN THE TREATMENT OF INFLAMMATORY
BOWEL DISEASE

二、中文發明摘要：

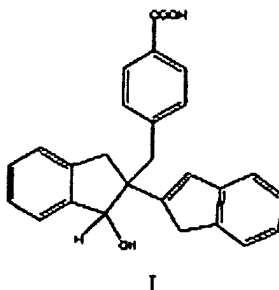
本發明描述結構式(I)化合物：



本發明亦提供式(I)化合物之醫藥上可接受之異構物及鹽。該等化合物可用於治療發炎性腸病。

三、英文發明摘要：

Described are compounds of the structural formula I:



Also provided are pharmacologically acceptable isomers and salts of the compound of formula (I). The compounds are useful in the treatment of inflammatory bowel disease.

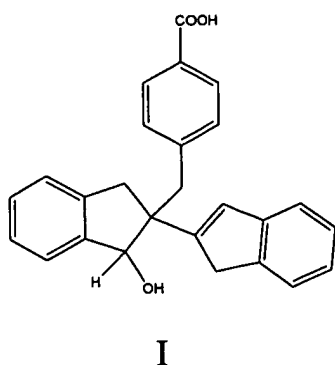
四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 (1) 圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：



成功。將化合物 5 之三種鹽，即鉀鹽、 α -甲基苄基胺鹽及 N-甲基-(D)-葡糖胺鹽用於溶解度及分配係數(logP)之研究。

測定四種化合物之溶解度：

化合物	Milli-RO H ₂ O $\mu\text{g/mL}$	pH 4.0緩衝液 $\mu\text{g/mL}$	pH 7.0緩衝液 $\mu\text{g/mL}$	pH 9.0緩衝液 $\mu\text{g/mL}$
化合物5	1.38	0.33	320.1	369.6
化合物5之鉀鹽	217.0	0.15	54.71	340.3
化合物5之甲基 苄基胺鹽	413.9	0.20	227.4	311.0
化合物5之N-甲 基-(D)-葡糖胺鹽	>60,000 *	0.14	>60,000*	>3,000*

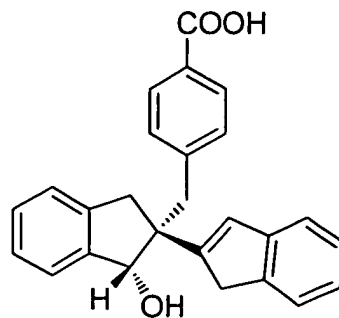
*估計值

出乎意料地，發現化合物 5 之 N-甲基-(D)-葡糖胺鹽(化合物 7)溶解度最大，分別溶解度 >60,000 $\mu\text{g/mL}$ (在 Milli-RO 水中)、0.14 $\mu\text{g/mL}$ (在 pH 4 緩衝液中)、>60,000 $\mu\text{g/mL}$ (在 pH 7.0 緩衝液中)及 >3,000 $\mu\text{g/mL}$ (pH 9.0 緩衝液中)，係以相當大的幅度高於該組類似化合物。化合物 2 之 N-甲基-(D)-葡糖胺鹽(化合物 6)得到幾乎相同的數值，分別溶解度 >60,000 $\mu\text{g/mL}$ (在 Milli-RO 水中)、0.5 $\mu\text{g/mL}$ (在 pH 4 緩衝液中)、>60,000 $\mu\text{g/mL}$ (在 pH 7.0 緩衝液中)及 >3,000 $\mu\text{g/mL}$ (pH 9.0 緩衝液中)。

使用 HPLC 方法(逆相 C18 HPLC 管柱)研究在中性、酸性及鹼性 pH 下化合物 5 及相關類似物之分配係數。

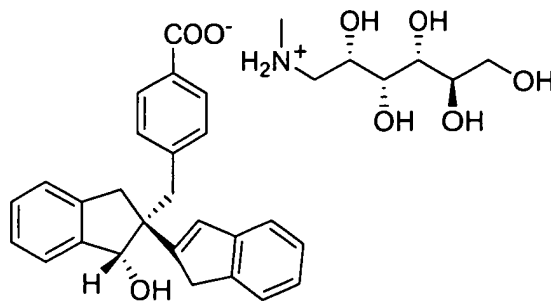
七、申請專利範圍：

1. 一種下式化合物



或其醫藥上可接受之鹽。

2. 一種下式 N-甲基-(D)-葡糖胺鹽化合物：



3. 一種醫藥組合物，其包括有效量之如請求項1或2之化合物或其醫藥上可接受之鹽，及醫藥上可接受之載劑。
4. 一種如請求項1或2之化合物或其醫藥上可接受之鹽之用途，其係用於製造預防或治療發炎性腸病之藥物。
5. 一種如請求項1或2之化合物或其醫藥上可接受之鹽之用途，其係用於製造預防或治療潰瘍性結腸炎之藥物。
6. 一種如請求項1或2之化合物或其醫藥上可接受之鹽之用途，其係用於製造預防或治療克隆氏病之藥物。