

# 科技部補助專題研究計畫成果報告 期末報告

探討新開發之 AM- mesitylglycinamide 化合物對於KCNQ蛋白之  
作用機轉與其可能的應用

計畫類別：個別型計畫  
計畫編號：MOST 103-2320-B-040-016-  
執行期間：103年08月01日至104年07月31日  
執行單位：中山醫學大學生物醫學科學學系（所）

計畫主持人：林明忠

計畫參與人員：大專生-兼任助理人員：余亭萱

處理方式：

1. 公開資訊：本計畫涉及專利或其他智慧財產權，2年後可公開查詢
2. 「本研究」是否已有嚴重損及公共利益之發現：否
3. 「本報告」是否建議提供政府單位施政參考：否

中華民國 104 年 10 月 31 日

中文摘要：Kv7蛋白開啟劑是近年來新發展的一群很有潛力的神經疾病治療用藥物。本實驗中我們開發出一群Kv7蛋白開啟劑的衍生物(21種)來探討他們在小鼠中運動神經的作用，其中我們發現大部分的衍生物並無Kv7蛋白活化的作用。意外的我們發現其中有兩種衍生物具有強效的運動神經傳導抑制作用，也就是N-2,2-adamantyl-N-1-mesitylglycinamide hydrochloride (AMMG) 與 1-butyl-N-mesityl-2-piperidinecarboxamide hydrochloride (BMPC)。AMMG與BMPC對於小鼠運動神經所引發的肌張力有明顯的抑制作用，且在高頻率刺激(50 Hz)比低頻率(0.1 Hz)所產生的抑制作用更加明顯。此意味著AMMG與BMPC有 lidocaine-like effect (frequency-dependent effect)。而在終板電位的實驗也證實AMMG與BMPC會產生刺激失敗的效應 (stimulated failure)。神經終端波峰記錄實驗的中AMMG與BMPC對於鈉波峰亦有顯著的抑制作用。神經終端的高頻刺激(50 Hz)中發現AMMG與BMPC對於鈉波峰會產生抑制作用並且也會產生刺激失敗的效應，此一結果與lidocaine的作用相似。總之此實驗結果顯示AMMG與BMPC具有lidocaine-like的作用，且比lidocaine還要強效。AMMG與BMPC未來在臨床上具有開發成新的局部麻醉劑之可能。

中文關鍵詞：關鍵詞：Kv7蛋白，Kv7 開啟劑，鈉波峰阻斷劑，類lidocaine效應，局部麻醉劑。

英文摘要：The Kv7 protein openers are a new group of potential clinical neurological disease therapy in recent years. In this study, we develop a group of Kv7 protein opener derivatives (21 compounds) to investigate their effect at mouse motor nerve. We found that most of Kv 7 derivatives without the effect on the activation of Kv7 channels. Surprisingly we found that two derivatives, N-2,2-adamantyl-N-1-mesitylglycinamide hydrochloride (AMMG) and 1-butyl-N-mesityl-2-piperidinecarboxamide hydrochloride (BMPC) have the potent effect of inhibiting motor nerve conduction. The nerve-evoked muscle contractions were significantly inhibited by AMMG and BMPC. Furthermore the inhibitory action is more significant in 50 Hz stimulation than the 0.1 Hz. The frequency-dependent inhibitory effect is similar to that of lidocaine at motor nerve. In the end-plate potential experiment also confirmed AMMG and BMPC have the stimulation-failure effect at the motor nerve. The motor nerve terminal waveform recordings showed that AMMG and BMPC also has the remarkable inhibitory action regarding the sodium spike. The motor nerve terminal high frequency stimulation at 50 Hz found that AMMG and BMPC have the inhibitory action regarding the sodium spike also to be able to produce the stimulation-failure effect, these result are similar that of the effect of lidocaine. In summary this experimental result showed AMMG and BMPC have the lidocaine-like effect and more potent effect compared

to lidocaine at motor nerve terminals. In clinically AMMG and BMPC may have the possibility to develop the new local anesthetic drugs in the future.

英文關鍵詞：Key Words: Kv7 protein, Kv7 openers, sodium spike inhibitor, lidocaine-like effect, local anesthetic agents.

行政院國家科學委員會補助專題研究計畫

期中進度報告

期末報告

計畫名稱：探討新開發之 AM- mesitylglycinamide 化合物對於 KCNQ  
蛋白之作用機轉與其可能的應用

計畫類別： 個別型計畫  整合型計畫

計畫編號：MOST 103-2320-B-040-016

執行期間：103 年 8 月 01 日至 104 年 07 月 31 日

執行機構及系所：中山醫學大學生物醫學科學學系(所)

計畫主持人：林明忠

共同主持人：

計畫參與人員：余亭萱，蘇玫瑄

本計畫除繳交成果報告外，另含下列出國報告，共 \_\_\_\_ 份：

移地研究心得報告

出席國際學術會議心得報告

國際合作研究計畫國外研究報告

處理方式：除列管計畫及下列情形者外，得立即公開查詢

涉及專利或其他智慧財產權， 一年  二年後可公開查詢

中 華 民 國 104 年 10 月 30 日

## Abstract

The Kv7 protein openers are a new group of potential clinical neurological disease therapy in recent years. In this study, we develop a group of Kv7 protein opener derivatives (21 compounds) to investigate their effect at mouse motor nerve. We found that most of Kv 7 derivatives without the effect on the activation of Kv7 channels. Surprisingly we found that two derivatives, N~2~-2-adamantyl-N~1~-mesitylglycinamide hydrochloride (AMMG) and 1-butyl-N-mesityl-2-piperidinecarboxamide hydrochloride (BMPC) have the potent effect of inhibiting motor nerve conduction. The nerve-evoked muscle contractions were significantly inhibited by AMMG and BMPC. Furthermore the inhibitory action is more significant in 50 Hz stimulation than the 0.1 Hz. The frequency-dependent inhibitory effect is similar to that of lidocaine at motor nerve. In the end-plate potential experiment also confirmed AMMG and BMPC have the stimulation-failure effect at the motor nerve. The motor nerve terminal waveform recordings showed that AMMG and BMPC also has the remarkable inhibitory action regarding the sodium spike. The motor nerve terminal high frequency stimulation at 50 Hz found that AMMG and BMPC have the inhibitory action regarding the sodium spike also to be able to produce the stimulation-failure effect, these result are similar that of the effect of lidocaine. In summary this experimental result showed AMMG and BMPC have the lidocaine-like effect and more potent effect compared to lidocaine at motor nerve terminals. In clinically AMMG and BMPC may have the possibility to develop the new local anesthetic drugs in the future.

Key Words: Kv7 protein, Kv7 openers, sodium spike inhibitor, lidocaine-like effect, local anesthetic agents.

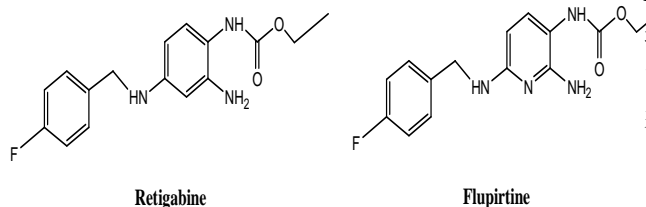
## 中文摘要:

Kv7 蛋白開啟劑是近年來新發展的一群很有潛力的神經疾病治療用藥物。本實驗中我們開發出一群 Kv7 蛋白開啟劑的衍生物(21 種)來探討他們在小鼠中運動神經的作用，其中我們發現大部分的衍生物並無 Kv7 蛋白活化的作用。意外的我們發現其中有兩種衍生物具有強效的運動神經傳導抑制作用，也就是 N~2~-2-adamantyl-N~1~-mesitylglycinamide hydrochloride (AMMG) 與 1-butyl-N-mesityl-2-piperidinecarboxamide hydrochloride (BMPC)。AMMG 與 BMPC 對於小鼠運動神經所引發的肌張力有明顯的抑制作用，且在高頻率刺激(50 Hz)比低頻率(0.1 Hz)所產生的抑制作用更加明顯。此意味著 AMMG 與 BMPC 有 lidocaine-like effect (frequency-dependent effect)。而在終板電位的實驗也證實 AMMG 與 BMPC 會產生刺激失敗的效應 (stimulated failure)。神經終端波峰記錄實驗的中 AMMG 與 BMPC 對於鈉波峰亦有顯著的抑制作用。神經終端的高頻刺激(50 Hz)中發現 AMMG 與 BMPC 對於鈉波峰會產生抑制作用並且也會產生刺激失敗的效應，此一結果與 lidocaine 的作用相似。總之此實驗結果顯示 AMMG 與 BMPC 具有 lidocaine-like 的作用，且比 lidocaine 還要強效。AMMG 與 BMPC 未來在臨床上具有開發成新的局部麻醉劑之可能。

關鍵詞：Kv7 蛋白，Kv7 開啟劑，鈉波峰阻斷劑，類 lidocaine 效應，局部麻醉劑。

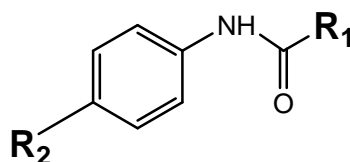
## 二、背景介紹

Kv7開啟劑開發最早flupirtine (1981年時)在歐洲首先被用來作為鎮痛劑。為了了解它更好的臨床應用，flupirtine被送到美國國家衛生研究院抗癲癇藥物開發計畫，它顯示了在數種抗癲癇模式的廣泛功效(Seaman et al., 1986)。透過flupirtine與相似化合物的分子模型，抗癲癇劑的藥效基團部份被確定。藥效基團與幾個已經上市並與抗癲癇作用無關的臨床用藥如diazepam, phenacemide和phenobarbital有顯著重疊(Seydel et al., 1994)。基於相關資料顯示，人類對於flupirtine具有良好的藥物耐受性，因此有必要去努力開發具有更好抗癲癇作用或止痛劑的相似物。在這過程中一個flupirtine的類似物被找到，稱為D-21329 (既retigabine)。除去鹼基的pyridyl氮可以形成更具有抗癲癇性能的化合物，但會降低其鎮痛作用(Rostock et al., 1996)。基於此性質，retigabine在臨床上開發為為抗癲癇藥。Flupirtine與retigabine的結構如下圖：



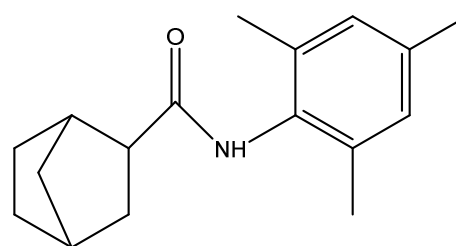
在動物實驗中發現retigabine是有效的抗癲癇藥物，與其它典型的抗癲癇藥物 pentylenetetrazol, picrotoxin 和電性激發引起的癲癇比較，retigabine有較低的ED50值。目前retigabine已通過人體試驗，已在臨床上使用。近年來有不少的各式的Kv7開啟劑合成化合物被開發(Xiong et al., 2008)出來，我們可將這些化合物分為6種類：(I) acrylamides、(II) 4,40-diisothiocyanatostilbene-2,20-disulfonic acid (DIDS)、(III) Maxipost (BMS-204352)、(IV) N-phenylanthranilic

acid derivatives、(V) retigabine 和 (VI) [(3-R)-1, 3-dihydro-5-(2-fluorophenyl)-3-(1H-indol-3-ylmethyl)-1-methyl-2H-1,4-benzodiazepin-2-one (R-L3)等。Acrylamides與maxipost它們在Kv7的受體結合位與retigabine相似，DIDS與N-phenylanthranilic acid derivatives則它們的受體結合位與retigabine不同。目前為止發展較成功的是retigabine，已應用在部份類型的癲癇患者。Retigabine (ethyl-N-[2-amino-4-[(4-fluorophenyl)methylamino]phenyl]carbamate)的主要基團是phenyl-carbamate (如下圖)：



Phenyl-carbamate

新開發的選擇性Kv7.4與7.2開啟劑ML 213 (N-(2,4,6-Trimethylphenyl)-bicyclo [2.2.1] heptane-2-carboxamide)是從美國國家衛生研究院Molecular Libraries Small Molecule Repository (MLSMR)中使用高通量螢光篩選法找到的一個開啟劑，並且使用結構與活性分析與電生理學研究去決定ML213的效價與選擇性。ML213的結構如下：



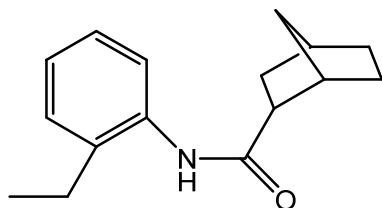
The structure of ML213

ML213是個強效的KCNQ2與KCNQ4的開啟劑，其EC50分別為230 nM與510 nM。ML213是個很重要的工具去了解Kv7通道調節神經興奮的角色。由於這些化合物是被設計來作用於中樞神經系統因此log P值(partition coefficient)也很重要，retigabine、flupirtine與ML213之log P值分

別為2.7、1.46和4.38。因此在化合物的篩選除結構相似性外，logP值亦為必須考慮的參數之一。此計畫我們以retigabine與ML213為藍圖並已篩選找出21種化合物做進一步的探討。

KCNQ開啟劑在藥理學上可以說是一個新穎的類別，主要是用來治療中樞神經相關之疾病。Retigabine (ezogabine)是作為一種抗癲癇藥物用來治療部分性癲癇。此藥是由Valeant和葛蘭素史克公司製藥公司共同開發。在2011年已分別被歐洲藥品管理局和美國食品和藥物管理局(FDA)批准。Retigabine用來治療癲癇的作用機制是過去從未發現的，且可能有用於治療其它神經系統疾病，包括偏頭痛和神經性疼痛。由於至今所發表新的KCNQ開啟劑並不多且才剛起步，因此瞭解選擇性的KCNQ開啟劑的分子決定位與開發新的KCNQ開啟劑有其重要的價值。

首先我們從100萬個化合物資料庫中以結構模擬的方式找出21種可能的KCNQ作用劑，從這21種化合物當中以運動神經-骨骼肌的標本再篩出種過去從未發表的Kv7開啟劑化合物（如AMMG、BMPC、EPBHC、IMPBHC、DMBHC、CHMP、CMBHC與APMB等），發現其中BMPC與EPBHC具有活化Kv7的作用，EPBHC其結構如下：



### 三、方法與材料

#### 小鼠橫膈肌製備

使用約18-24g雄性小白鼠(ICR)，二氧化碳安樂死後，用大剪在約耳下連線處斷頸，將血跡用水沖掉。將小鼠放入鐵盤中，剪開胸部及腹部上的皮和肉，將橫膈膜分離

出，並且放入一塊浸泡過經95%氧氣飽和的Kreb's solution (muscle tension recording buffer) : NaCl 131, NaHCO<sub>3</sub> 12.5, Glucose 11, KCl 4.8, MgSO<sub>4</sub> 1.2, CaCl<sub>2</sub> 2.5 (mM) 的綿球來保持橫膈膜肌的活性。處理好的橫膈膜肌，將其分別綁到電極上，神經穿過電極環，橫膈肌尖端則用棉線綁住，掛到張力測量得儀器上，使其形成一個三角形。

#### 橫膈膜收縮力記錄

刺激方式分為間接刺激（刺激個神經引發橫膈膜收縮）和直接刺激（直接刺激橫膈膜收縮）兩種。刺激頻率則有低頻刺激(0.1 Hz, 0.05 ms和0.5 ms的期間進行刺激)和高頻刺激(50 Hz, 持續3秒, 每次0.05 ms和0.5 ms的期間進行刺激)兩種。我們會將製備好的組織，放在由水浴槽灌流，使Kreb's solution維持在37°C的容器中，並且給予混合氣(95% O<sub>2</sub> 和5% CO<sub>2</sub>)，記錄時使用電刺激器 (GRASS S88 STIMULATOR) 刺激已經製備好的橫膈肌的神經(間接)或骨骼肌(直接)，使橫膈肌收縮，再將其收縮的張力經由等長轉能器 (Isometric transducer, Grass AT 307)放大，並且用生理記錄器 (GOULD TA 240)記錄放大後的收縮張力訊號。直接刺激的實驗中，我們會事前加入 20 μM 的 (+)-Tubocurarine chloride pentahydrate 來阻斷神經的傳導，避免藉由神經來刺激骨骼肌的可能性，排除神經對肌肉的影響。而在間接刺激的實驗中，我們則會在實驗結束後再加入 20 μM 的 (+)-Tubocurarine chloride pentahydrate來觀察收縮力是否有完全消失，用來確定整個實驗中是經由神經刺激來使肌肉收縮，並非直接刺激到肌肉。

#### 橫膈膜動作電位記錄

將製備好的橫膈肌固定在底部塗有sylgard的容器中，同樣放在由水浴槽灌流，使Kreb's solution維持在37°C的容器中，並且給予混合氣 (95% O<sub>2</sub> 和5% CO<sub>2</sub>)充氣飽和，加入 20 μM 的 (+)-tubocurarine



chloride pentahydrate排除神經傳導造成的影響，架設地線消除背景值。使用填充3 M $\Omega$  KCl的微小玻璃電極(電阻約6~10M $\Omega$ )插進骨骼肌細胞內記錄，利用刺激器(A-M SYSTEMM isolated pulse stimulator MODEL 2100)給予20 nA的電流，使細胞產生動作電位，經由高阻抗放大器(AxonClamp 2A)將訊號放大，再通過類比數位訊號轉換器(Axon instruments digidata 1322A)轉換，最後搭配pClamp 9.2 軟體記錄及儲存製電腦中，用Clampfit 9.2軟體記錄。

#### 小鼠腳趾肌神經突觸後電位實驗

##### 小鼠腳趾肌製備

用二氧化碳安樂死後，取下小白鼠後腳，通常我們會和橫膈肌實驗或是肋間三角肌實驗一起使用同一隻小白鼠，這樣可以減少小鼠犧牲的數量，取下兩隻後腳後，把外面的皮剪開後，取出腳掌肌肉以及連結神經的部位。

##### 腳趾肌突觸後電位記錄

將製備好的腳趾肌固定在底部塗有sylgard的容器中，放在Kreb's solution中，並且給予混合氣(95% O<sub>2</sub> 和5% CO<sub>2</sub>)充氧，架設地線消除背值，使用刺激器(A-M SYSTEMM isolated pulse stimulator MODEL 2100)刺激神經，觀察腳趾肌是否有收縮，確認收縮部位後，再加入u-conotoxin，來抑制掉動作電位，但是不會影響終板電位。然後使用填充3 M $\Omega$  KCl的微小玻璃電極(電阻約6~10M $\Omega$ )插進之前觀察到有收縮的骨骼肌細胞內記錄，尋找有產生終板電位的位置，經由高阻抗放大器(Axon instruments axoClamp 2B)將訊號放大，再通過類比數位訊號轉換器(Axon instruments digidata 1322A)轉換，最後搭配pClamp 9.2 軟體記錄及儲存製電腦中，並用Clampfit 9.2軟體記錄。

#### 小鼠肋間三角肌神經末梢電流實驗

三角肌製備：小白鼠用二氧化碳犧牲後，將小鼠放入鐵盤中，剪開胸部及腹部上的皮和肉，將胸腔從靠近右側處剪開，並且沿著脊椎骨左側剪開，取下左半邊胸骨，將多餘的肌肉去除掉，移至解剖顯微鏡下動作尋找三根肋骨之間的範圍，胸骨朝上，取下中間以及右側的肋骨的軟骨部分。把這三根肋骨範圍內的肌肉，分離到剩下最底層的肌肉層以及神經。沿著最右側肋骨的硬骨部分將神經分出來。

#### 神經末梢電流記錄

將製備好的橫膈肌固定在底部塗有sylgard的容器中，放在Kreb's solution中，並且給予混合氣(95% O<sub>2</sub> 和5% CO<sub>2</sub>)充飽和，利用刺激器(A-M SYSTEMM isolated pulse stimulator MODEL 2100)刺激使三角肌跳動後，加入20 $\mu$ M的(+)-Tubocurarine chloride pentahydrate阻斷運動神經突觸後的傳遞，使骨骼肌不會跳動，以免影響下針位置，架設地線消除背景值。

使用填充3 M $\Omega$  KCl的微小玻璃電極(電阻約6~10M $\Omega$ )插進神經細胞內記錄，經由高阻抗放大器(Axon instruments MultiClamp 700B)將訊號放大，再通過類比數位訊號轉換器(Axon instruments digidata 1322A)轉換，最後搭配pClamp 9.2 軟體記錄及儲存製電腦中，用Clampfit 10.0軟體記錄。

## 四、結果

我們從retigabine與ML-213的結構相似物中找出21種化合物 (Table 1)，phenyl-carboxamide以ML213為藍圖(15種)其餘以retigabine為藍圖(6種)。發現除BMPC與 EPBHC具有活化Kv7的作用其它無Kv7 開啟劑的作用。在運動神經骨骼肌的實驗中Kv7開啟劑的衍生物對於以低頻刺激所產生的張力影響較小(Fig. 1)。在高頻刺激(50 Hz) 的實驗發現 0.01 mM的AMMG 與 BMPC具有明顯的強直衰退

現象 (tetanic failure) (Fig. 2 and 3)。在終板電位的記錄也顯示出 stimulated fade 的現象。本實驗使用神經終端的波形記錄方法來測量鈉波峰 (鈉離子電流)，如 Fig. 4 顯示由於鉀離子通道位於較遠端，所以會有時間差，造成鈉離子電流先出現，鉀離子電流後出現的現象，並且由於鉀離子通道的開啟是在遠方，所以偵測到的是一相對電流，故才會有鈉離電流和鉀離子電流的波峰正負極為同一方向的現象出現。處理 3,4-diaminopyridine (50  $\mu$ M) 及 Tetraethylammonium chloride (2 mM)，這兩種藥物為鉀離子通道阻斷劑，可以將鉀電流抑制，單純觀察鈉離子通道的作用。因為鉀離子被抑制，所以原本被鉀離子電流遮住的鈉離子電流的波峰就會出現 (Fig. 4 圖左)。AMMG (0.03 mM) 處理後對低頻刺激的鈉波峰影響較小，高頻時對於鈉離子的影響較顯著 (Fig. 5)。BMPC (0.03 mM) 處理後對低頻刺激的鈉波峰有顯著的影響，而 0.01 mM 對高頻刺激的鈉波峰有顯著 stimulated-fade 現象此作用與 lidocaine 相似 (Fig. 6)。其餘衍生物如 APMB 等並無顯著影響 (Fig. 7)。

## 五、圖表

Table 1. retigabine與ML-213的結構相似物中找出21種化合物的簡稱與全名

代號 (後四碼)	全名
CMBHC	N-(3-chloro-4-methylphenyl)bicyclo[2.2.1]heptane-2-carboxamide
#3878 DMBHC	N-(3,5-dimethylphenyl)bicyclo[2.2.1]heptane-2-carboxamide
#3070 EPBHC	N-(2-ethylphenyl)bicyclo[2.2.1]heptane-2-carboxamide
#0298 BCHDB	N-bicyclo[2.2.1]hept-2-yl-2,5-dimethylbenzamide
#0847 IMPBHC	N-(4-iodo-2-methylphenyl)bicyclo[2.2.1]heptane-2-carboxamide
#1848 BHDB	N-bicyclo[2.2.1]hept-2-yl-3,4-dimethylbenzamide
#8723 IPBHC	N-(4-isopropylphenyl)bicyclo[2.2.1]heptane-2-carboxamide
#0335 CHMP	1-cyclohexyl-N-mesitylprolinamide hydrochloride
#0337 AMP	1-amino-N-mesitylprolinamide
#4864 MBPC	N-mesityl-4-biphenylcarboxamide
#4873 MMAOB	methyl 4-(mesitylamino)-4-oxobutanoate
#0340 DMG	N~2~,N~2~-dicyclohexyl-N~1~-mesitylglycinamide
#0321 BMPC	1-butyl-N-mesityl-2-piperidinecarboxamide hydrochloride
#0331 APMB	2-(1-azepanyl)-N-mesitylbutanamide
#0342 AMMG	N~2~-2-adamantyl-N~1~-mesitylglycinamide hydrochloride

phenyl-carbamate以retigabine為藍圖(6種)

代號 (後四碼)	全名
#5540 DPBC	diethyl 1,4-phenylenebiscarbamate
#8692 MACAPC	methyl {4-[(1-adamantylcarbonyl)amino]phenyl}carbamate
#5584 EMNPC	ethyl (2-methoxy-4-nitrophenyl)carbamate
#6696 ECBAPC	ethyl {4-[(3-chlorobenzoyl)amino]phenyl}carbamate
#4919 MBPPC	3-methylbenzyl [4-(1-piperidiny)phenyl]carbamate
#1574 DFPAMPA	N-(4-[[3,4-difluorophenyl)amino]methyl}phenyl)acetamide

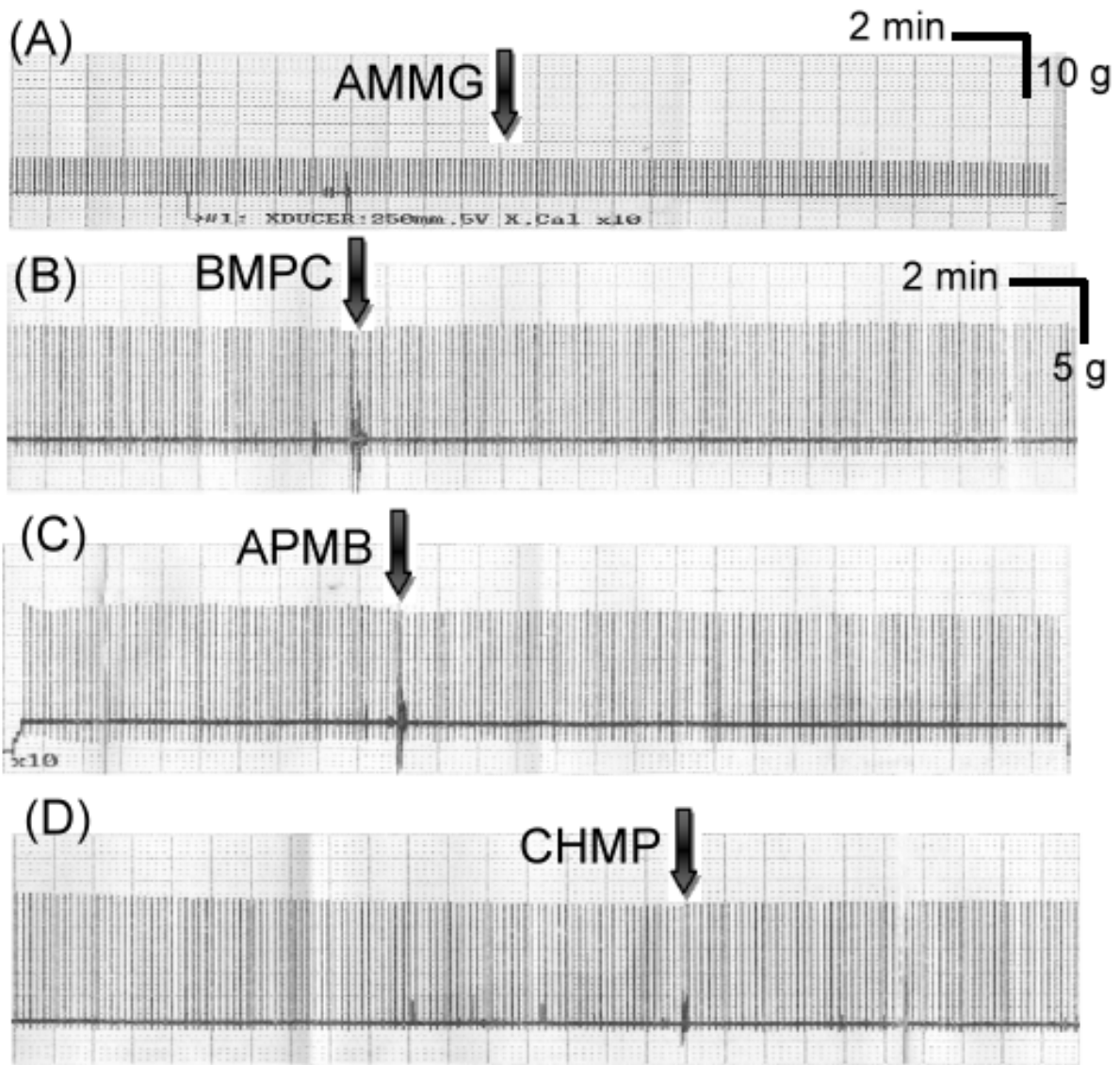


Fig.1 小鼠運動神經低頻刺激引發的橫膈肌收縮。以上(A)-(D)四種結構相似物皆無較顯著的影響。

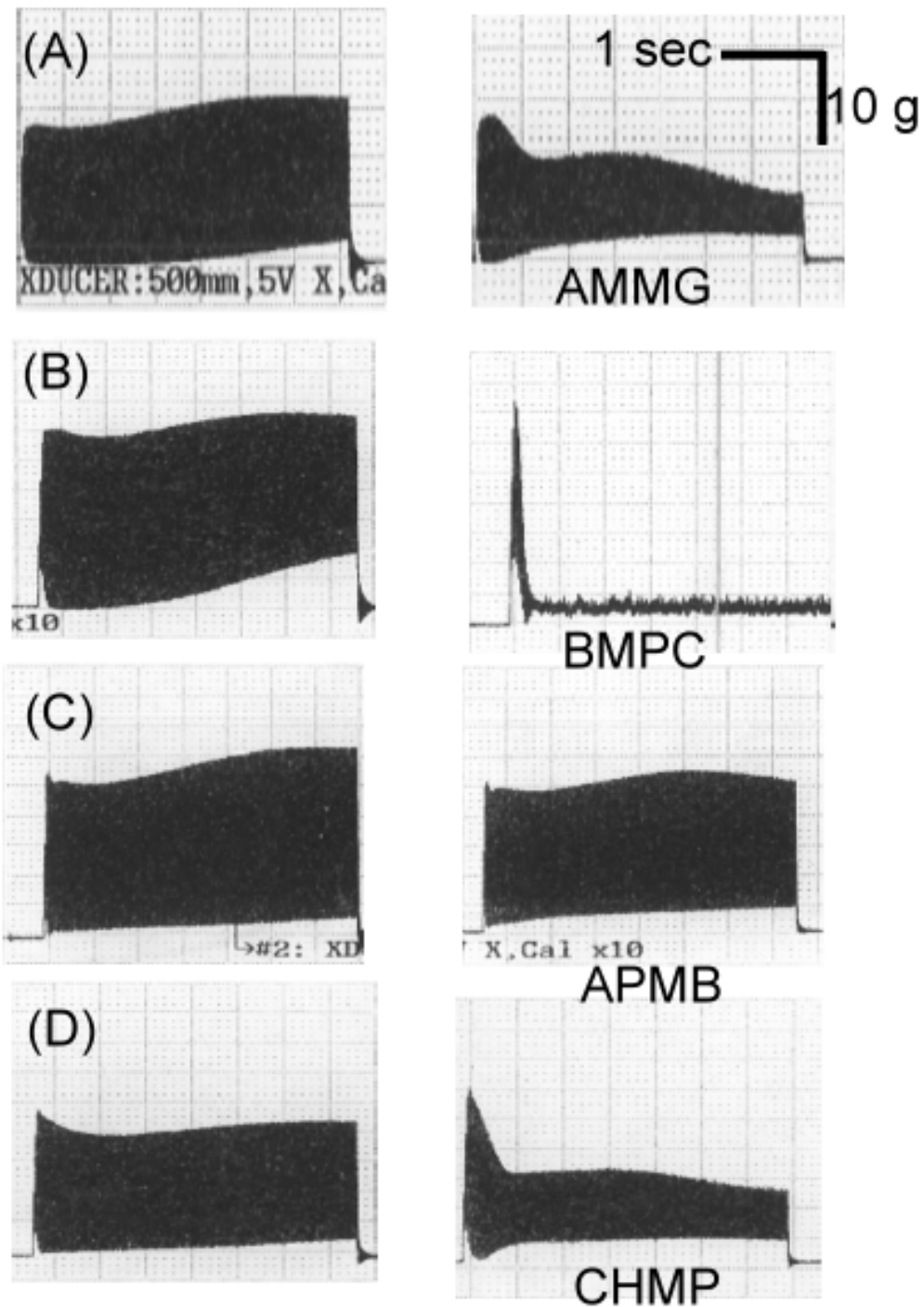


Fig.2 小鼠運動神經高頻刺激引發的橫膈肌強直收縮。其中AMMG與 BMPC具有顯著的 tetanic-fade 作用。以上(A)-(D)四種結構相似物之濃度為 0.01 mM。

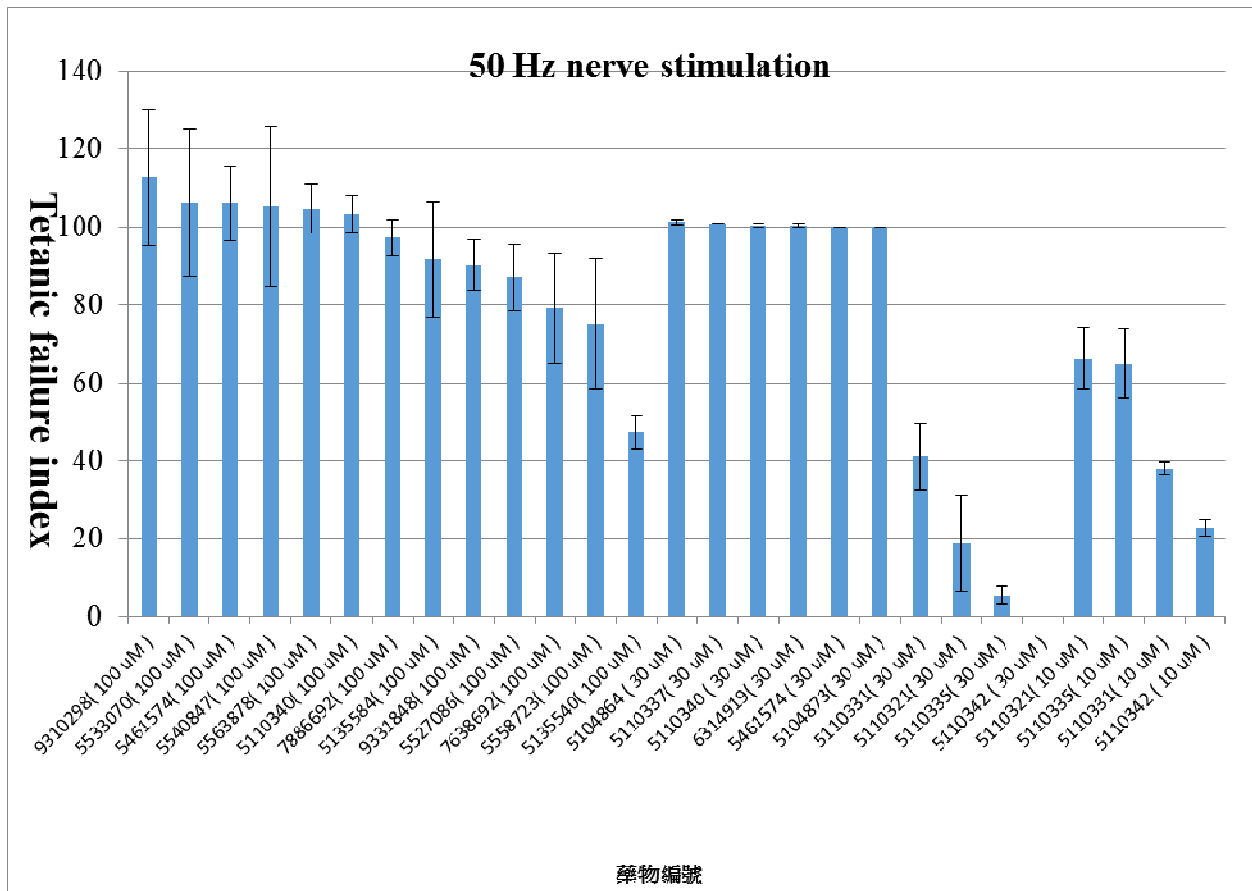


Fig.3小鼠運動神經高頻刺激引發的橫膈肌強直收縮衰減之統計結果。

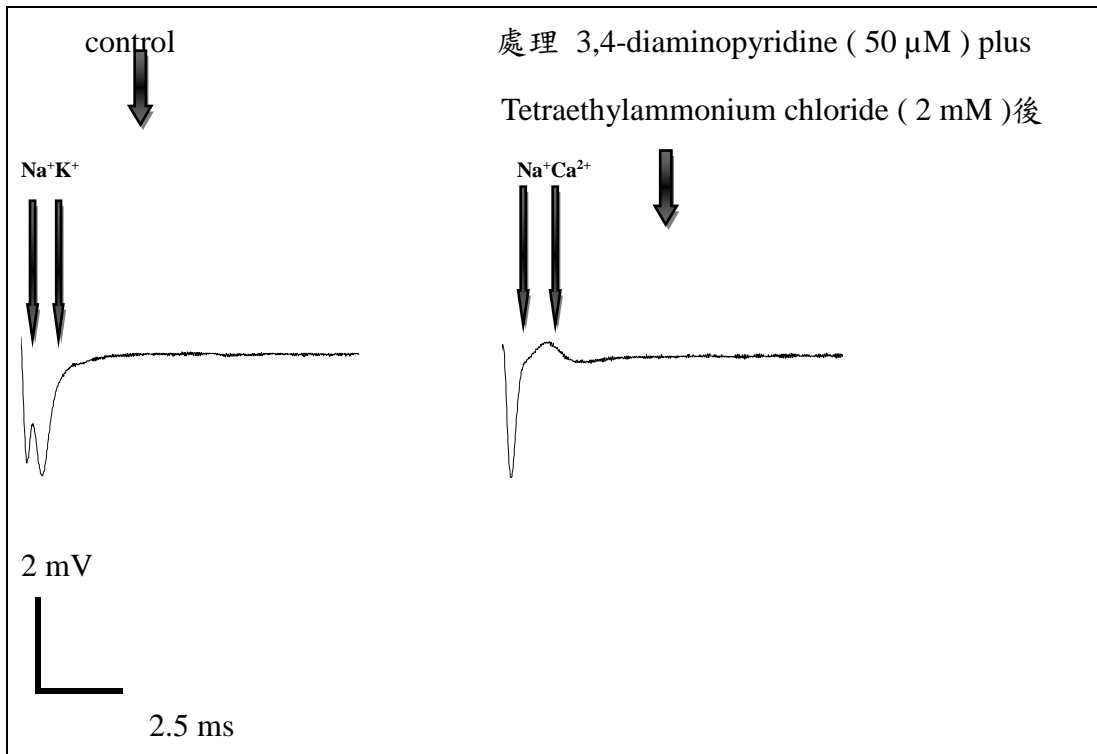


Fig.4 神經終端的波形記錄方法。右圖呈現出鈉波峰。



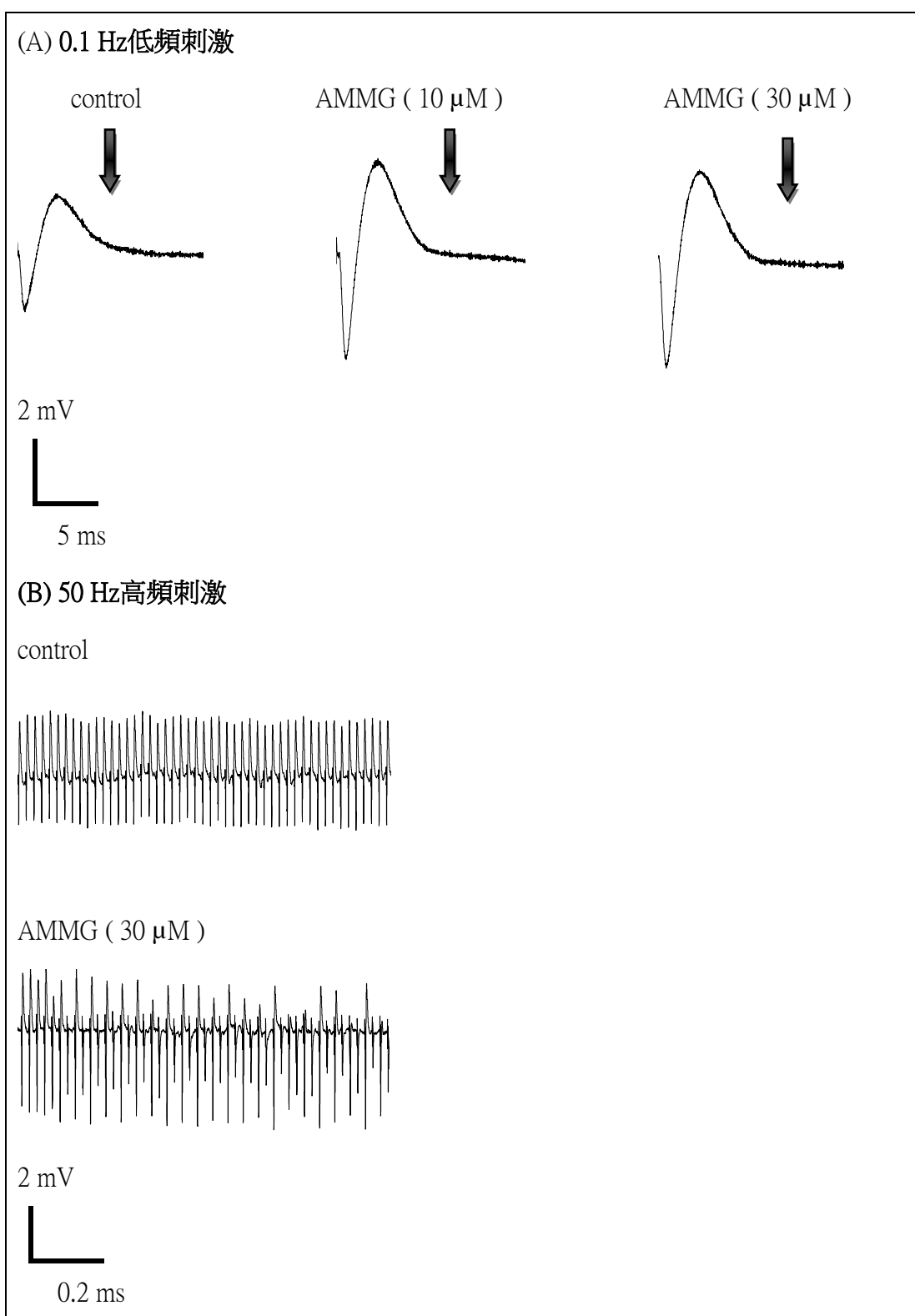


Fig. 5 AMMG對於神經終端鈉波峰低頻(A)與高頻(B) 刺激之影響。

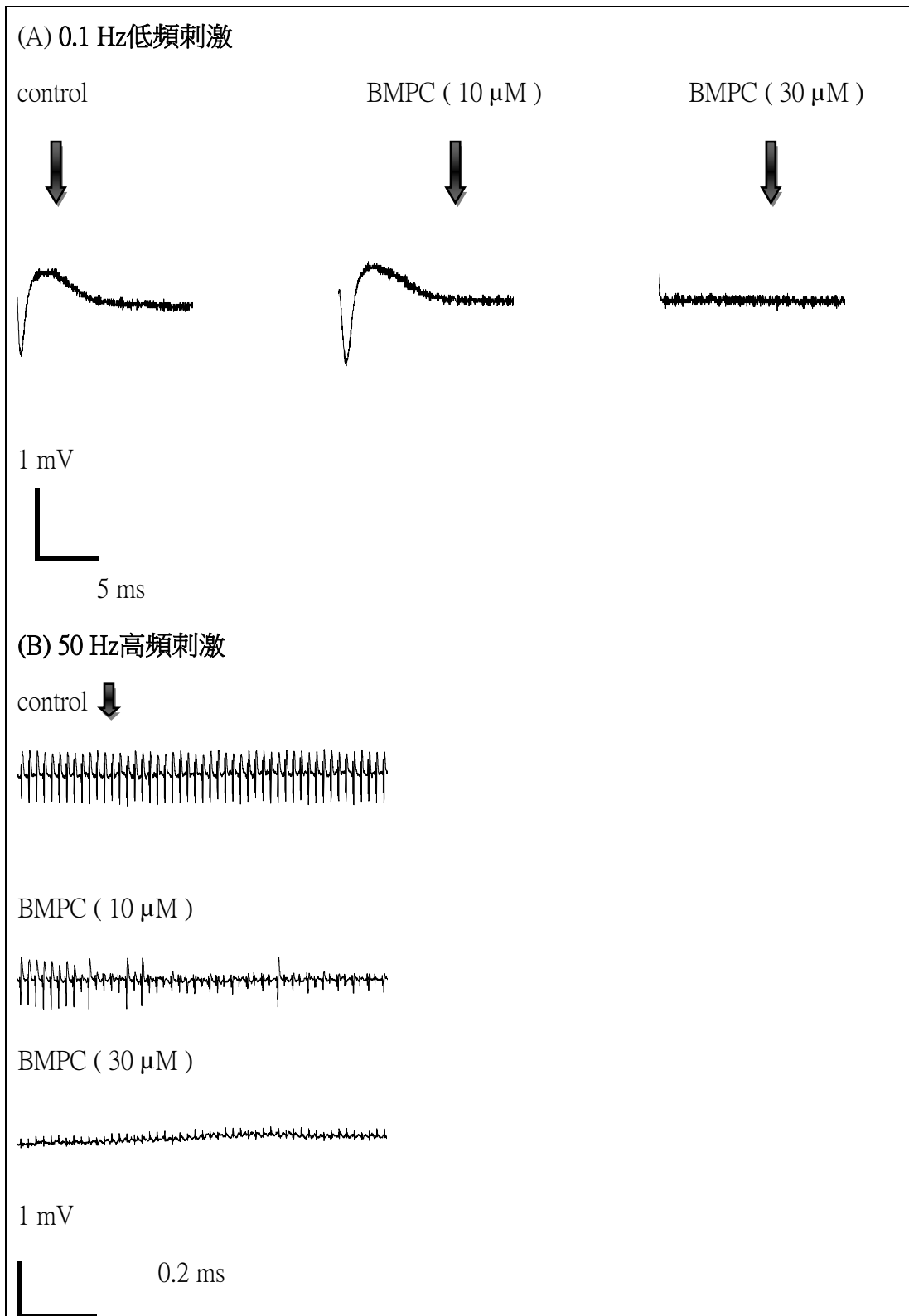


Fig. 6 BMPC 對於神經終端鈉波峰低頻(A)與高頻(B)刺激之影響。

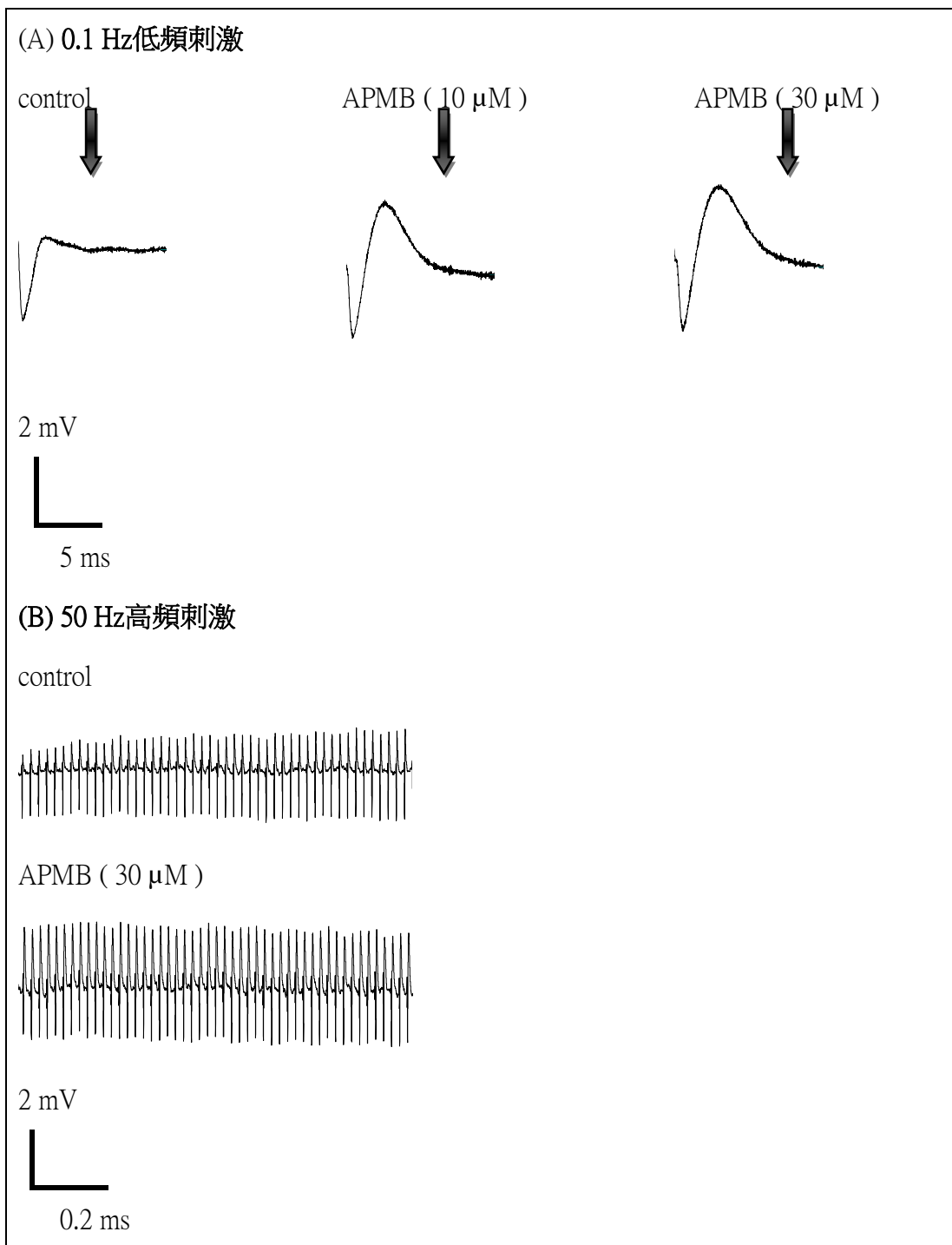


Fig. 7 BMPC 對於神經終端鈉波峰低頻(A)與高頻(B)刺激之影響。

## 六、參考文獻

Iannotti FA, Panza E, Barrese V, Viggiano D, Soldovieri MV, Tagliatela M (2010) Expression, localization, and pharmacological role of Kv7 potassium channels in skeletal muscle proliferation, differentiation, and survival after myotoxic insults. *J Pharmacol Exp Ther* 332:811-820.

Lange W, Geisendorfer J, Schenzer A, Grotzinger J, Seebohm G, Friedrich T, and Schwake M (2009) Refinement of the Binding Site and Mode of Action of the Anticonvulsant Retigabine on KCNQ K + Channels. *Mol Pharmacol*. 75:272-80.

Redrobe JP, Nielsen AN (2009) Effects of neuronal Kv7 potassium channel activators on hyperactivity in a rodent model of mania. *Behav Brain Res* 198:481-485.

Roeloffs R, Wickenden AD, Crean C, Werness S, McNaughton-Smith G, Stables J, McNamara JO, Ghodadra N, Rigdon GC (2008) In vivo profile of ICA-27243 [N-(6-chloro-pyridin-3-yl)-3,4-difluoro-benzamide], a potent and selective KCNQ2/Q3 (Kv7.2/Kv7.3) activator in rodent anticonvulsant models. *J Pharmacol Exp Ther* 326:818-828.

Rostock, A.; Tober, C.; Rundfeldt, C.; Bartsch, R.; Engel, J.; Polymeropoulos, E.E.; Kutscher, B.; Loscher, W.; Honack, D.; White, H.S.; Wolf, H.H. (1996) D-23129: A new anticonvulsant with a broad spectrum activity in animal models of epileptic seizures. *Epilepsy Res*. 23: 211-223.

Roura-Ferrer M, Sole L, Martinez-Marmol R, Villalonga N, Felipe A (2008) Skeletal muscle Kv7 (KCNQ) channels in myoblast differentiation and proliferation. *Biochem Biophys Res Commun* 369:1094-1097.

Seaman, C.A.; Sheridan, P.H.; Engel J.; Molliere M.; Narang P.K.; Nice F.J. (1986) Flupirtine In New anticonvulsant drugs; Meldrum, B.S., Porter, R.J., Eds. Libbey: London, UK, pp. 135-146.

Seydel, J.K.; Schaper, K.J.; Coats, E.A.; Cordes, H.P.; Emig, P.; Engel, J.; Kutscher, B.; Polymeropoulos, E.E. (1994) Synthesis and quantitative structure-activity relationships of anticonvulsant 2,3,6-triaminopyridines. *J. Med. Chem.* 37: 3016-3022.

Shieh CC, Coghlan M, Sullivan JP, Gopalakrishnan M (2000) Potassium channels: molecular defects, diseases, and therapeutic opportunities. *Pharmacol Rev* 52:557-594.

Su TR, Zei WS, Su CC, Hsiao G, Lin MJ. (2012) The Effects of the KCNQ Openers Retigabine and Flupirtine on Myotonia in Mammalian Skeletal Muscle Induced by a Chloride Channel Blocker. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2012:803082.

Surti, T.S. and Jan, L.Y. (2005) A potassium channel, the M-channel, as a therapeutic target. *Curr. Opin. Investig. Drugs* 6: 704-711.

Xiong Q, Gao Z, Wang W, Li M. (2008) Activation of Kv7 (KCNQ) voltage-gated potassium channels by synthetic compounds. *Trends Pharmacol Sci*. 29: 99-107.

Yu H, Wu M, Townsend SD, Zou B, Long S, Daniels JS, McManus OB, Li M, Lindsley CW, Hopkins CR. (2011) Discovery, Synthesis, and Structure Activity Relationship of a Series of N-Aryl- bicyclo[2.2.1]heptane-2-carboxamides: Characterization of ML213 as a Novel KCNQ2 and KCNQ4 Potassium Channel Opener. *ACS Chem Neurosci*. 2: 572-577.

計畫成果自評部分：計畫之研究成果已完成此計畫之主題既retigabine相似物ML-213衍生物其產生的作用與臨床可能的應用。此與lidocaine的作用相似。總之此實驗結果顯示AMMG與BMPC具有lidocaine-like 的作用，且比lidocaine 還要強效。AMMG與BMPC未來在臨床上具有開發成新的局部麻醉劑之可能。此成果已寫成論文投稿中。

# 科技部補助計畫衍生研發成果推廣資料表

日期:2015/10/31

科技部補助計畫	計畫名稱: 探討新開發之 AM- mesitylglycinamide化合物對於KCNQ蛋白之作用機轉與其可能的應用
	計畫主持人: 林明忠
	計畫編號: 103-2320-B-040-016- 學門領域: 藥理及毒理
無研發成果推廣資料	

103年度專題研究計畫研究成果彙整表

計畫主持人：林明忠		計畫編號：103-2320-B-040-016-				計畫名稱：探討新開發之 AM- mesitylglycinamide 化合物對於 KCNQ 蛋白之作用機轉與其可能的應用	
成果項目		量化			單位	備註（質化說明： 如數個計畫共同成果、成果列為該期刊之封面故事...等）	
		實際已達成數（被接受或已發表）	預期總達成數（含實際已達成數）	本計畫實際貢獻百分比			
國內	論文著作	期刊論文	0	0	100%	篇	
		研究報告/技術報告	0	0	100%		
		研討會論文	0	1	30%		
		專書	0	0	100%	章/本	
	專利	申請中件數	0	1	50%	件	
		已獲得件數	0	0	100%		
	技術移轉	件數	0	0	100%	件	
		權利金	0	0	100%	千元	
	參與計畫人力（本國籍）	碩士生	0	0	100%	人次	
		博士生	0	0	100%		
		博士後研究員	0	0	100%		
		專任助理	0	0	100%		
國外	論文著作	期刊論文	0	1	80%	篇	
		研究報告/技術報告	0	0	100%		
		研討會論文	0	0	100%		
		專書	0	0	100%	章/本	
	專利	申請中件數	0	0	100%	件	
		已獲得件數	0	0	100%		
	技術移轉	件數	0	0	100%	件	
		權利金	0	0	100%	千元	
	參與計畫人力（外國籍）	碩士生	1	1	100%	人次	說明：大專生（兼任）參與
		博士生	0	0	100%		
		博士後研究員	0	0	100%		
		專任助理	0	0	100%		
其他成果 （無法以量化表達之 成果如辦理學術活動、 獲得獎項、重要國際 合作、研究成果國際 影響力及其他協助 產業技術發展之具體 效益事項等，請以文	目前暫無，產業技術發展之具體效益事項在規劃中						

字敘述填列。)			
	成果項目	量化	名稱或內容性質簡述
科 教 處 計 畫 加 填 項 目	測驗工具(含質性與量性)	0	
	課程/模組	0	
	電腦及網路系統或工具	0	
	教材	0	
	舉辦之活動/競賽	0	
	研討會/工作坊	0	
	電子報、網站	0	
	計畫成果推廣之參與(閱聽)人數	0	



# 科技部補助專題研究計畫成果報告自評表

請就研究內容與原計畫相符程度、達成預期目標情況、研究成果之學術或應用價值（簡要敘述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性）、是否適合在學術期刊發表或申請專利、主要發現或其他有關價值等，作一綜合評估。

1. 請就研究內容與原計畫相符程度、達成預期目標情況作一綜合評估

達成目標

未達成目標（請說明，以100字為限）

實驗失敗

因故實驗中斷

其他原因

說明：

2. 研究成果在學術期刊發表或申請專利等情形：

論文： 已發表  未發表之文稿  撰寫中  無

專利： 已獲得  申請中  無

技轉： 已技轉  洽談中  無

其他：（以100字為限）

預估於今年12月前投出，未來有申請專利的潛能。

3. 請依學術成就、技術創新、社會影響等方面，評估研究成果之學術或應用價值（簡要敘述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性）（以500字為限）

Kv7蛋白開啟劑是近年來新發展的一群很有潛力的神經疾病治療用藥物。本實驗中我們開發出一群Kv7蛋白開啟劑的衍生物(21種)來探討他們在小鼠中運動神經的作用，計畫之研究成果已完成此計畫之主題既retigabine相似物ML-213衍生物其產生的作用與臨床可能的應用。此與lidocaine的作用相似。總之此實驗結果顯示AMMG與BMPC具有lidocaine-like 的作用，且比lidocaine 還要強效。AMMG與BMPC未來在臨床上具有開發成新的局部麻醉劑之可能。此成果已寫成論文投稿中。