

# 公告本

9814493T

87.3.3

|      |                         |
|------|-------------------------|
| 申請日期 | March 3, 1998           |
| 案 號  | 87103046                |
| 類 別  | C07C 69/13, A61K 31/215 |

A4  
C4

438768

(以上各欄由本局填註)

## 發明專利說明書

|             |               |                                                                 |
|-------------|---------------|-----------------------------------------------------------------|
| 一、發明<br>名稱  | 中 文           | 環戊烯酮衍生物                                                         |
|             | 英 文           | CYCLOPENTENONE DERIVATIVES                                      |
| 二、發明<br>創作人 | 姓 名           | 1. 小山 信人<br>2. 豬飼勝重<br>3. 小林英二<br>4. 加藤郁之進                      |
|             | 國 籍           | 1.-4. 皆屬日本                                                      |
|             | 住、居所          | 1. 滋賀縣大津市瀬田3丁目4番1號<br>寶酒造株式會社 中央研究所內<br>2. 同上<br>3. 同上<br>4. 同上 |
|             |               |                                                                 |
| 三、申請人       | 姓 名<br>(名稱)   | 寶酒造股份有限公司<br>(寶酒造株式會社)                                          |
|             | 國 籍           | 日本                                                              |
|             | 住、居所<br>(事務所) | 京都府京都市伏見區竹中町609番地                                               |
|             | 代 表 人<br>姓 名  | 大宮久                                                             |

裝

訂

線

(由本局填寫)

|           |
|-----------|
| 承辦人代碼：    |
| 大 類：      |
| I P C 分類： |

A6

B6

本案已向：

國 ( 地區 ) 申請專利，申請日期： 案號： ， ☒ 有 ☐ 無主張優先權  
日 本

1997年3月11日特願平9-72855(主張優先權)

1997年3月26日特願平9-90011(主張優先權)

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

有關微生物已寄存於： ， 寄存日期： ， 寄存號碼：

裝

訂

線

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

## 五、發明說明( )

### 發明所屬之技術領域

本發明為關於在醫藥領域中，具有有用之制癌作用等生理活性之環戊烯酮衍生物，且再關於該化合物之製造方法。

### 先前之技術

先前，臨床上之治療法中所使用之藥物雖然分歧為烷基化劑、代謝阻礙劑、植物鹼等之制癌劑、抗生素、免疫促進劑、免疫調節劑等，但此些藥物療法並不能稱為已達完成。

其中，於來自天然物之前列腺素中，已報導於5員環具有 $\alpha$ 、 $\beta$ -不飽和羰基之前列腺素A及J類為經由抑制DNA之合成，而有作為安全性高之制癌劑的可能性，並且合成其各種衍生物(參照特開昭62-96438號公報)。

### 發明所欲解決之課題

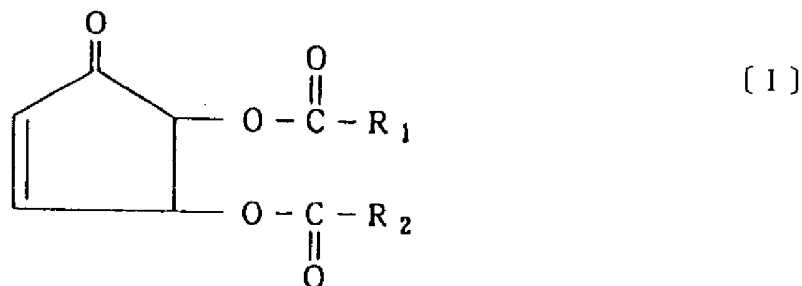
本發明之目的為開發出具有制癌作用、細胞自滅誘發作用、抗菌作用等生理作用之環戊烯酮衍生物，並且提供該化合物之製法及含有該化合物之醫藥。

### 解決課題之手段

本發明者等為了達成此類目的致力檢討，結果發現令一般式〔II〕所示之環戊烯酮衍生物，由式〔III〕所示之4,5-二羥基-2-環戊烯-1-酮(以下，單稱為環戊烯酮)與羧酸和/或其反應性衍生物之反應而生成，且此環戊烯酮衍生物為具有強力的癌細胞增殖抑制活性等生理活性，並完成本發明。

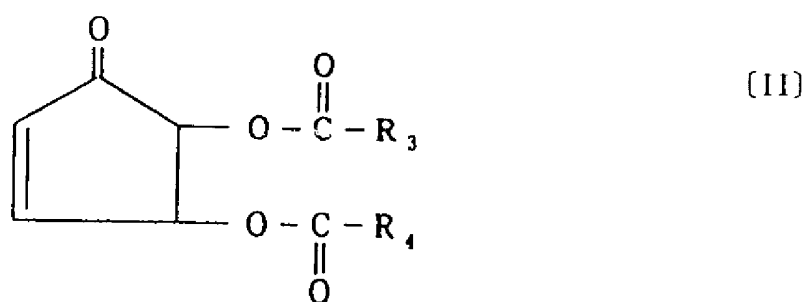
## 五、發明說明 ( > )

若概述本發明，則本發明之第一發明為關於下述一般式 [I] 所示之環戊烯酮衍生物或光學活性體或其鹽。

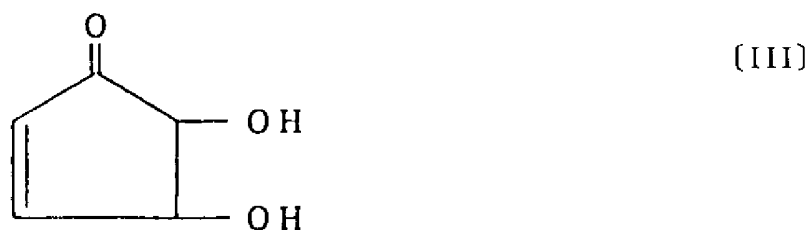


(式中， $R_1$ 、 $R_2$  為相同或相異之直鏈或分支烷基、直鏈或分支烯基、芳香族基、或芳香脂族基。但，除了  $R_1 = R_2 = -CH_3$  之情況)

本發明之第二發明為關於令下述式 [III] 所示之 4,5-二羥基-2-環戊烯-1-酮和 / 或其光學活性體與對應於下述一般式 [II] 所示之環戊烯酮衍生物之  $R_3$ 、 $R_4$  之羧酸和 / 或其反應性衍生物同時或依序反應為其特徵之一般式 [II] 所示之環戊烯酮衍生物之製造方法。



(式中， $R_3$ 、 $R_4$  為相同或相異之直鏈或分支烷基、直鏈或分支烯基、芳香族基、或芳香脂族基)



## 五、發明說明( )

本發明之第三發明為關於含有本發明第一發明之環戊烯酮衍生物或其光學活性體或其鹽所選出之化合物，作為有效成分為其特徵之醫藥。

本發明之第四發明為關於含有本發明第二發明方法所得之環戊烯酮衍生物或其光學活性體或其鹽所選出之化合物，作為有效成分為其特徵之醫藥。

本發明第三、四發明之較佳態樣為該醫藥為制癌劑、細胞自滅誘發劑、抗菌劑。

## 圖式之簡單說明

第 1 圖為示出二乙醯氧基環戊烯酮之質譜圖。

第 2 圖為示出二乙醯氧基環戊烯酮之  $^1\text{H-NMR}$  光譜圖。

第 3 圖為示出二苯甲醯氧基環戊烯酮之質譜圖。

第 4 圖為示出二苯甲醯氧基環戊烯酮之  $^1\text{H-NMR}$  光譜圖。

第 5 圖為示出二已醯氧基環戊烯酮之  $^1\text{H-NMR}$  光譜圖。

第 6 圖為示出二肉豆蔻醯氧基環戊烯酮之  $^1\text{H-NMR}$  光譜圖。

第 7 圖為示出二辛醯氧基環戊烯酮之  $^1\text{H-NMR}$  光譜圖。

第 8 圖為示出二-3-辛醯氧基環戊烯酮之  $^1\text{H-NMR}$  光譜圖。

第 9 圖為示出二丁醯氧基環戊烯酮之  $^1\text{H-NMR}$  光譜圖。

第 10 圖為示出二癸醯氧基環戊烯酮之  $^1\text{H-NMR}$  光譜圖。

第 11 圖為示出二戊醯氧基環戊烯酮之  $^1\text{H-NMR}$  光譜圖。

第 12 圖為示出二丙醯氧基環戊烯酮之  $^1\text{H-NMR}$  光譜圖。

第 13 圖為示出二-2-己醯氧基環戊烯酮之  $^1\text{H-NMR}$  光譜圖。

第 14 圖為示出(-)體環戊烯酮之對-二甲胺基苯醯衍生

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

線

## 五、發明說明 ( 4 )

物之 CD 及 (-) 體環戊烯酮之立體構造圖。

第 15 圖為示出 (+) 體環戊烯酮之對 - 二甲胺基苯甲醯衍生物之 CD 及 (+) 體環戊烯酮之立體構造圖。

發明之實施形態

以下，具體說明本發明。

本發明所使用之式 [ III ] 所示之環戊烯酮為包含 4 位與 5 位羥基之立體構型為順式異構物和反式異構物兩者。於本發明中，可使用順式環戊烯酮，且亦可使用反式環戊烯酮，並且亦可使用順式環戊烯酮與反式環戊烯酮之混合物。又，亦可使用其光學活性體。

順式環戊烯酮為依化學合成法所取得 [ Helvetica Chimica Acta )、第 55 卷、第 2838 ~ 2844 頁 ( 1972 ) ] 。反式環戊烯酮亦可依化學合成法取得 [ Carbohydrate Res., 第 247 卷、第 217 ~ 222 頁 ( 1993 ) ] 、或經由加熱糖醛酸、例如葡萄糖醛酸、糖醛酸衍生物例如葡萄糖醛酸內酯等亦可取得 ( 參照 PCT / JP97 / 03052 號說明書 ) 。於本發明亦可使用含有環戊烯酮之加熱處理物、其部分精製物及精製物。

例如，使用 D-葡萄糖醛酸作為糖醛酸，並將其 1% 溶液於 121℃ 下加熱處理 4 小時，則可在加熱處理物中生成環戊烯酮。以溶劑萃取此加熱處理物中之環戊烯酮，並濃縮萃取物。

其次，將此濃縮物以矽膠柱層析予以分離，並將溶出之環戊烯酮馏分濃縮，以氮仿由濃縮物萃取環戊烯酮，

## 五、發明說明(5)

並進行萃取濃縮物之順相柱層析，將加熱處理物中之環戊烯酮單離。

下述示出環戊烯酮之物性。尚，環戊烯酮之質量分析為使用D×302質量分析計(日本電子公司製)進行。又，使用重氯仿溶劑之NMR光譜測定為使用JNM-A500(日本電子公司製)。比旋光度為使用DIP-370型旋光計(日本分光公司製)方、UV吸收光譜為使用UV-2500分光光度計(島津製作所公司製)、紅外線吸收光譜(IR)為使用FTIR-8000紅外線分光光度計(島津製作所公司製)予以分別測定。

MS  $m/z$  115  $[M+H]^+$

$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ )

$\delta$  4.20 (1H, d,  $J=2.4$  Hz, 5-H)、4.83 (1H, m, 4-H)、6.30 (1H, dd,  $J=1.2, 6.1$  Hz, 2-H)、7.48 (1H, dd,  $J=2.1, 6.1$  Hz, 3-H)

但， $^1H$ -NMR之化學位移值為視 $CHCl_3$ 之化學位移值為7.26 ppm而表示

旋光度： $[\alpha]_D^{20}$   $0^\circ$  ( $c$  1.3、水)

UV： $\lambda_{max}$  215 nm (水)

IR (KBr法)：於3400、1715、1630、1115、1060、1025  $cm^{-1}$  具有吸收。

所單離之環戊烯酮經由光學分割，可取得(-)-4,5-二羟基-2-環戊烯-1-酮及(+)-4,5-二羟基-2-環戊烯-1-酮。當然，依合成方法所得之環戊烯酮亦可予以光學分割。

## 五、發明說明 ( b )

例如，將環戊烯酮溶於乙醇。於此乙醇溶液中再加入己烷／乙醇(94／6)，調製環戊烯酮溶液。將此試料溶液，使用例如 Chiral pak AS (Diciel化學工業)柱並以柱溫：40℃、移動相：己烷／乙醇(94／6)進行HPLC，則可將環戊烯酮予以光學分割。

所分割之(-)-反式-4,5-二羥基-2-環戊烯-1-酮(以下，稱為(-)體環戊烯酮)之旋光度為 $[\alpha]_D^{25} -105^\circ$  (c 0.30、乙醇)，(+)-反式-4,5-二羥基-2-環戊烯-1-酮(以下，稱為(+)-體環戊烯酮)之旋光度為 $[\alpha]_D^{25} +104^\circ$  (c 0.53、乙醇)。旋光度為使用前述之DIP-370型旋光計(日本分光公司製)予以測定。

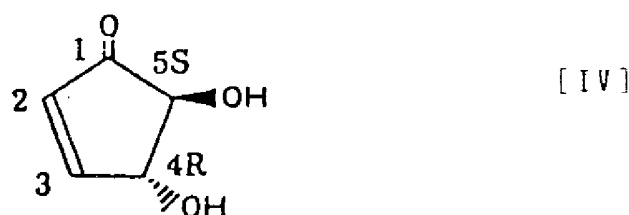
其次，依上述記載之方法，進行(-)體環戊烯酮及(+)-體環戊烯酮之各質量分析、以核磁共振法(NMR)解析構造、UV吸收光譜之測定、紅外線吸收光譜之測定。其結果，兩光學活性體顯示出與光學分割前之環戊烯酮同樣之結果。

將光學分割之(-)體環戊烯酮及(+)-體環戊烯酮分別作為對-二甲胺基苯甲醯衍生物，使用J-720型圓偏光二色性分散計(日本分光公司製)，測定圓偏光二色性光譜(CD)，其結果適用於二苯甲酸酯對掌性規則〔Journal of American Chemical Society (J. Am. Chem. Soc.)、第91卷、第3989～3991頁(1969)〕，並且決定其立體構型。

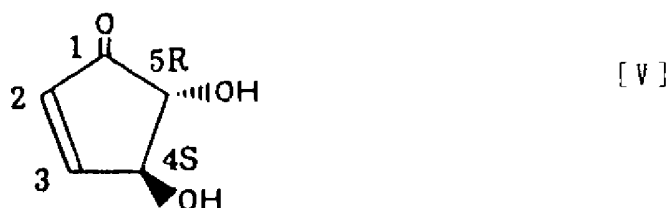
(-)-體環戊烯酮之對-二甲胺基苯甲醯衍生物之CD及

# 五、發明說明( 2 )

(-)體環戊烯酮之立體構造示於第14圖。圖中縱軸為表示莫耳圓偏光二色性、橫軸為表示波長(nm)。上述立體構造為以下[IV]示於下：



(+)體環戊烯酮之對-二甲胺基苯甲醯衍生物之CD及  
(+)體環戊烯酮之立體構造示於第15圖。圖中縱軸為表示莫耳圓偏光二色性、橫軸為表示波長(nm)。尚，上述立體構造為以下[V]示於下：



第14及15圖及式[IV]、式[V]所示之(-)體環戊烯酮為(-)-(4R,5S)-反式-4,5-二羟基-2-環戊烯-1-酮，(+ )體環戊烯酮為(+)-(4S,5R)-反式-4,5-二羟基-2-環戊烯-1-酮。

以上，本發明所使用之環戊烯酮及其光學活性體亦可依任何方法予以製造，且亦可依說明書所揭示之方法予以製造，且亦可依化學合成方法予以合成，而環戊烯酮之反式體、順式體、其混合物及其光學活性體均可使用於本發明。

## 五、發明說明(8)

經由令環戊烯酮和／或其光學活性體，與具有直鏈或分支烷基、直鏈或分支烯基、芳香族基或芳香脂族基之羧酸和／或其反應性衍生物同時或依序反應，則可在反應液中生成本發明之一般式[II]所示之環戊烯酮衍生物或其光學活性體。

可使用具有直鏈或分支烷基之羧酸作為具有烷基之羧酸，且烷基鏈之鏈長為由環戊烯酮衍生物之生物活性、溶解性等予以適當選擇。

具有直鏈烷基之羧酸可使用例如醋酸、丙酸、丁酸、戊酸、己酸、庚酸、正辛酸、壬酸、正癸酸、十一烷酸、十二烷酸、十三烷酸、肉豆蔻酸、十五烷酸、棕櫚酸、十七烷酸、硬脂酸、十九烷酸、衣康酸、山芋酸、巴西棕櫚酸、廿六烷酸、蜂花酸等。

具有分支烷基之羧酸可使用例如異丁酸、異戊酸、2-甲基丁酸、特戊酸、4-甲基戊酸、1,2-二甲基戊酸等。

可使用具有直鏈或分支烯基之羧酸作為具有烯基之羧酸，且烯基之鏈長，不飽和度、不飽和鍵之位置為由環戊烯酮衍生物之生物活性、溶解性等予以適當選擇。

具有直鏈烯基之羧酸可使用例如丙烯酸、乙烯基醋酸、丁烯酸、異丁烯酸、烯丙基醋酸、2-己烯酸、3-己烯酸、3-辛烯酸、4-癸烯酸、10-十一碳烯酸、棕櫚油酸、岩芹酸、反油酸、油酸、亞油酸、 $\alpha$ -亞麻酸、 $\gamma$ -亞麻酸、桐酸、二十碳三烯酸、花生四烯酸、二十碳戊烯酸、巴西烯酸、芥酸、西門木烯酸、21-三十碳烯酸等。

## 五、發明說明(9)

具有分支烯基之羧酸可使用例如甲基丙烯酸、順芷酸、常歸酸、 $\alpha$ -乙基丁烯酸等。

具有芳香族基之羧酸可使用例如苯甲酸、甲苯酸、氯苯酸、溴苯甲酸、硝苯甲酸、酞酸、異酞酸、對酞酸、水楊酸、乙醯基水楊酸、乙醯水楊基水楊酸、胺基水楊酸、對-經基苯甲酸、胺基苯甲酸、甲氧基苯甲酸、乙醯胺基苯甲酸、香草酸、苔色酸、茶甲酸、辛可部酸、黃尿酸、奎尼酸、犬尿烯酸等，且若由所生成之環戊烯酮衍生物之生物活性、溶解性等選擇具有所使用芳基之羧酸即可。

具有芳香脂基之羧酸可使用例如苯基醋酸、苯基丙酸、苯基乳酸、苯基丙酮酸、肉桂酸、阿托酸、茶基醋酸等，且若由所生成之環戊烯酮衍生物之生物活性、溶解性等選擇具有所使用芳烷基之羧酸即可。

本發明所使用之羧酸的反應性衍生物可例示醯基鹵、酸酐、酸酯、鹽等，若為依目的，製作所使用羧酸之反應性衍生物即可。

羧酸或其反應性衍生物與環戊烯酮之反應，可令環戊烯酮衍生物之 $R_3$ 、 $R_4$ 為相同地進行，且亦可令 $R_3$ 、 $R_4$ 為不同地進行。即，亦可令 $R_3$ 、 $R_4$ 為不同之羧酸，同時與環戊烯酮反應，且依序令 $R_3$ 、 $R_4$ 為不同之羧酸進行反應亦可。此時，經由保護環戊烯酮之單方經基，則可有效率製作 $R_3$ 、 $R_4$ 為不同之環戊烯酮衍生物。

令環戊烯酮或其光學活性體與羧酸反應、生成之環戊

## 五、發明說明(10)

補充 903

烯酮衍生物或其光學活性體為具有強力的癌細胞增殖抑制活性，並可以此活性為指標，由反應液中精製、單離環戊烯酮衍生物或其光學活性體。若使用化學性方法、物理性方法等之公知的精製手段，作為精製、單離手段即可。且可組合膠過濾法、以分子量分級膜之分級法、溶劑萃取法、分餾法、使用離子交換樹脂等之各種層析法等之先前公知之精製方法，並且將反應產物中之環戊烯酮衍生物或其光學活性體予以精製、單離。

例如將環戊烯酮或其光學活性體、4-二甲胺基吡啶、羧酸溶解於二氯甲烷，並於冰冷下加入N,N-二環己基碳化二亞胺進行反應，生成本發明之環戊烯酮衍生物。此產物經由矽膠薄層層析予以精製，則可單離目的之環戊烯酮衍生物。

又，令環戊烯酮或其光學活性體與酞酸酐，於無水吡啶中反應，則可由反應物精製、單離出二乙醯氧基環戊烯酮。

依本發明所得之環戊烯酮衍生物之光學活性體的分離可依消旋混合物之機械性分割、優先析晶法、以非對映體鹽或包含化合物型式之結晶化予以分割，以酵素-微生物予以動力學分割，以層析之分割等而予以進行。

以層析之分割可使用氣相層析、液體層析、薄層層析等，且若使用分別合適之對掌固定相即可。

以液體層析之光學分割，可為使用固定相之方法、使用對掌溶離液之方法、以非對映體型式之分離等。

## 五、發明說明(II)

對掌固定相可使用醯胺系固定相、尿素系固定相、配位基交換型固定相、多糖-多糖衍生物固定相、蛋白質固定相、聚甲基丙烯酸酯固定相、聚甲基丙烯酸醯胺固定相等。

溶離液可使用己烷系、醇系、水(緩衝液)系等，且可於與上述固定相之組合中適當使用。

本發明所得之環戊烯酮衍生物或其光學活性體之鹽為醫藥容許鹽，且可依公告之方法進行轉變。

本發明所得之環戊烯酮衍生物或其光學活性體或其鹽為例如對人類前骨髓性白血病細胞HL-60、人類急性淋巴芽胞性白血病細胞MOLT-3、肺癌細胞A-579、SV40轉形肺細胞WI-38VA、肝癌細胞Hep G2、結腸癌細胞HCT 116、人類結腸癌SW480、人類結腸癌細胞WiDr、胃癌細胞AGS、骨髓細胞瘤細胞等之癌細胞具有細胞增殖抑制作用，且含有本發明之環戊烯酮衍生物或其光學活性體或其鹽所選出之化合物作為有效成分之醫藥，若例如令本發明之環戊烯酮衍生物或其光學活性體或其鹽所選出之化合物作為有效成分並將其與公告的醫藥用載體組合予以製劑化，則可製造制癌劑。本發明所得之環戊烯酮衍生物或其光學活性體或其鹽之癌細胞增殖抑制作用機制對於本發明並無任何限定，例如對於癌細胞之細胞自滅誘發作用亦被包含於本發明。

制癌劑之製造一般為將環戊烯酮衍生物或其光學活性體或其鹽所選出之化合物，與藥學容許之液狀或固體狀

## 五、發明說明(一)

之載體摻混，且視需要加入溶劑、分散劑、乳化劑、緩衝劑、安定劑、賦形劑、黏合劑、崩散劑、潤滑劑等，並可作成錠劑、顆粒劑、散劑、粉末劑、膠囊劑等之固形劑、通常液劑、懸浮劑、乳劑等之液劑。又，可作成其於使用前經適當載體之添加而呈液狀之乾燥品。

醫藥用載體可依上述投予形態及劑型而選擇，於經口劑之情形中，可利用例如澱粉、乳糖、白糖、甘露糖醇、羧甲基纖維素、玉米澱粉、無機鹽等。又，於經口劑之調製中，亦可再配合黏合劑、崩散劑、界面活性劑、潤滑劑、流動性促進劑、矯味劑、著色劑、香料等。

另一方面，於非經口劑之情形為依據常法，將本發明有效成分之環戊烯酮或其光學活性體或其鹽所選出之化合物，溶解或懸浮於作為稀釋劑之注射用蒸餾水、生理食鹽水、葡萄糖水溶液、注射用植物油、芝麻油、花生油、大豆油、玉米油、丙二醇、聚乙二醇等中，且視需要，加入殺菌劑、安定劑、等張劑、無痛化劑等將其調製。

本發明之制癌劑，可依對應於製劑形態之適當的投予路徑進行投予。投予方法亦無特別限定，且可為內用、外用及注射。注射劑例如可於靜脈內、肌肉內、皮下、皮內等進行投與，且於外用劑中亦包含栓劑。

制癌劑之投予量為依據其製劑形態、投予方法、使用目的及其所適用之患者年齡、體重、症狀而適當設定，雖無一定，但一般為製劑中所含有之環戊烯酮衍生物或其

## 五、發明說明(13)

修正  
補充  
\* 90.3.1

光學活性體或其鹽所選出之化合物份量為成人每日  $0.1 \mu\text{g} \sim 200 \text{mg}/\text{kg}$ 。因為投予量為依各種條件而變動，故當然亦有比上述投予量更少份量而為充分之情況，或者亦有必要超過範圍之情況。本發明之藥劑除了可就其原樣經口投予以外，亦可添加至任意的飲食品中供日常性攝取。

本發明所得之環戊烯酮衍生物或其光學活性體或其鹽為具有細胞自滅誘發活性，且以由此些化合物所選出之至少一個化合物作為有效成分，則可製造細胞自滅誘發劑。細胞自滅誘發劑可依上述之制癌劑予以製劑化，並可依制癌劑之方法進行投予。

細胞自滅誘發劑之投予量為依據其製劑形態、投予方法、使用目的及其所適用之患者年齡、體重、症狀而適當設定，雖無一定，但一般為製劑中所含有之環戊烯酮衍生物和／或其光學活性體或其鹽份量為成人每日  $0.1 \mu\text{g} \sim 100 \text{mg}/\text{kg}$ 。因為投予量為依各種條件而變動，故當然亦有比上述投予量更少份量而為充分之情況，或者亦有必要超過範圍之情況。本發明之藥劑除了可就其原樣經口投予以外，亦可添加至任意的飲食品中供日常性攝取。

尚，細胞自滅為與病理性細胞死亡之壞死不同，其被認為係為細胞本身之基因中所最初編入之死亡。即，其被認為係經由某些外部性或內部性要因成為令策劃細胞自滅基因活化之導火線，並以此基基為基礎地生物合成策劃死亡基因之蛋白質，且經由生成的策劃死亡蛋白質而使細胞本身並且到達死亡。

## 五、發明說明 ( 14 )

本發明之細胞自滅誘發劑可在所欲的組織、細胞表現此類細胞自滅，且在不需之細胞或者病原細胞以自然形式由生體排除上，亦為極有用之物質。

本發明之細胞自滅誘發劑可使用於細胞自滅誘發方法。即，經由使用環戊烯酮衍生物或其光學活性體或其鹽作為有效成分，則可誘發細胞自滅，且該方法可用於細胞自滅誘發機構之闡明、細胞自滅誘發劑、細胞自滅誘發抑制劑之篩選等。

本發明所得之環戊烯酮衍生物或其光學活性體或其鹽為具有抗菌活性，且以由此些化合物所選出之至少一個化合物作為有效成分，則可製造抗菌劑。抗菌劑可依上述制癌劑予以製劑化，依對應於製劑形態之適當的投予路徑進行投予。投予方法亦無特別限定，且可為內用、外用及注射。注射劑例如可於靜脈內、肌肉內、皮下、皮內等進行投與，且於外用劑中亦包含栓劑。

抗菌劑之投予量為依據其製劑形態、投予方法、使用目的及其所適用之患者年齡、體重、症狀而適當設定，雖無一定，但一般為製劑中所含有之環戊烯酮衍生物或其光學活性體或其鹽所選出之化合物份量為成人每日  $0.1 \mu\text{g} \sim 200 \text{mg} / \text{kg}$ 。因為投予量為依各種條件而變動，故當然亦有比上述投予量更少份量而為充分之情況，或者亦有必要超過範圍之情況。本發明之藥劑除了可就其原樣經口投予以外，亦可添加至任意的飲食品中供日常性攝取。

修正

補充

本90年3月1日

## 五、發明說明( )

又，本發明之抗菌劑可用作為令食品或飲料之保存性提高之防腐劑。又，可使用於將環戊烯酮衍生物或其光學活性體或其鹽添加至食品或飲料，使食品或飲料防腐之方法。

本發明之抗菌劑為對革蘭氏陽性菌、革蘭氏陰性菌兩者具有效果。再者，本發明之抗菌劑對於蛀牙菌和牙周病菌亦顯示出抗菌活性，並可提供含有本發明抗菌劑之口腔內用劑。口腔內用劑之形狀可為液狀、糊狀等之公知形狀。口腔內用劑可例示牙膏劑。又，經由使用本發明之抗菌劑，則可提供抗菌性化粧品材料。再者，經由使用本發明之抗菌劑，則可提供沐浴用劑。

依據本發明所得之環戊烯酮衍生物或其光學活性體或其鹽可由環戊烯酮及任意之羧酸或其反應性衍生物，以良好之效率製造。

含有本發明所得環戊烯酮衍生物或其光學活性體或其鹽作為有效成分之食品或飲料之製法，並無特別限定，可列舉以調理、加工及一般所用之食品或飲料製法予以製造，且若令所製造之食品或飲料中，含有有效量之具生理作用之環戊烯酮衍生物或其光學活性體或其鹽所選出之化合物即可。

本發明所得之環戊烯酮衍生物或其光學活性體或其鹽，即使以其生理活性之有效量進行投予，亦未察見毒性。例如於經口投予之情形中，二丙醯氧基環戊烯酮、二己醯氧基環戊烯酮或二-2-己醯氧基環戊烯酮或其光學活性體或其鹽之任一者，即使以 300mg/kg 對鼠進行單回經口投予亦未察見死亡例。

## 五、發明說明 ( 16 )

以上，本發明所得之環戊烯酮衍生物或其光學活性體或其鹽可簡便地製造，且經由其各種的生理性機能，而為醫藥、食品等之廣泛領域中，極為有用之化合物。

### 實施例

以下，列舉實施例，更具體說明本發明，但本發明並非限定於此些實施例。尚，實施例中之%為意指重量%。

#### 實施例 1

(1)將 10 克之 D-葡萄糖醛酸 (Sigma 公司製 G5269) 溶解於 1 公升之水中，於 121°C 下加熱 4 小時後，於減壓下濃縮至約 10 毫升。於其中加入醋酸丁酯：醋酸：水 = 3：2：2 混合液之上層 40 毫升並混合後，將離心所得之上清液於減壓下濃縮至約 10 毫升為止。

將上述萃取液加至柱層析用矽膠 BW-300 SP (2×28 公分、富士 Silisia 化學公司製)，並以醋酸丁酯：醋酸：水 = 3：2：2 之上層作為溶離液，以壓縮器加壓至 0.2 kg/cm<sup>2</sup>，並以每分鐘 5 毫升之流速下進行分離。以每 1 分鐘 10 毫升地進行分離，且取出各分離之一部分以薄層層析進行分析時，於第 61 至 80 為止之分離中含有高純度的環戊烯酮。收集此些分離並於減壓下濃縮後，以 40 毫升之氯仿萃取，且在減壓下濃縮萃取液，取得 100 毫克之環戊烯酮。

此分離以使用 Parapak S 型柱之順相 HPLC 予以分離，以 215nm 之紫外線吸收進行檢測時，其純度為 98%。

將上述環戊烯酮 113.9 毫克溶於乙醇 2.85 毫升中。於

## 五、發明說明 (17)

此乙醇溶液中再加入己烷／乙醇(94／6)3.85毫升，調製成17毫克／毫升之環戊烯酮溶液。此液以0.5 $\mu$ m之濾紙過濾，作成光學分割HPLC試料溶液。

此試料溶液依以下條件進行光學分割HPLC，並分別收集前波峰之(-)體環戊烯酮及後波峰之(+)體環戊烯酮之縮分，減壓乾燥，且分別取得(-)體環戊烯酮43.2毫克、(+)體環戊烯酮43.0毫克。

光學分割HPLC條件

柱：Chiral pak AS (Dicel 化學工業)2.0公分×25.0公分

柱溫：40℃

移動相：己烷／乙醇(94／6)

流速：14.0毫升／分鐘

檢測：UV 210nm

試料注入量：150微升(2.55毫克)

由於所得之(-)體環戊烯酮及(+)體環戊烯酮兩者均約含有1%之對映體，故再度於上述之條件下進行光學分割。其結果，由前波峰之(-)體環戊烯酮30.0毫克取得19.7毫克不含對映體之(-)體環戊烯酮、後波峰之(+)體環戊烯酮37.4毫克取得27.7毫克不含對映體之(+)體環戊烯酮。尚，(-)體環戊烯酮及(+)體環戊烯酮之光學分割HPLC的溶出時間分別為33分鐘、40分鐘。

(2)於實施例1-(1)記載之方法所得之環戊烯酮29.6毫克中，加入無水吡啶(中瀨Tesc公司製295-26)1毫升、醋酸酐(中瀨Tesc公司製002-26)0.1毫升並於室溫下攪

## 五、發明說明 ( )

拌 3 小時。反應液以氯仿萃取，取得二乙醯氧基環戊烯酮 36 毫克。

所得之二乙醯氧基環戊烯酮的質量分析為使用 DX302 質量分析計(日本電子公司製)進行。又，溶解於  $\text{CDCl}_3$  中，並以 NMR 解析其構造。核磁共振裝置為使用 JNM-A500(日本電子公司製)。其結果示於下。 $^1\text{H}$ -NMR 之化學位移值為視氯仿之化學位移值為 7.24ppm 而表示。

MS  $m/z$  199 ( $\text{M}+\text{H}$ )<sup>+</sup>

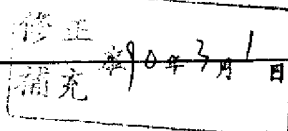
$^1\text{H}$ -NMR

$\delta$  2.12 (3H, S,  $-\text{OCOCH}_3$ ), 2.16 (3H, S,  $-\text{OCOC}$   
H<sub>3</sub>), 5.16 (1H, d,  $J=3.0\text{Hz}$ , H-5), 5.89 (1H, m,  
H-4), 6.40 (1H, d-d,  $J=1.5, 6.5\text{Hz}$ , H-2), 7.  
43 (1H, d-d,  $J=2.5, 6.5\text{Hz}$ , H-3)

第 1 圖中示出二乙醯氧基環戊烯酮之質譜，第 2 圖中示出其  $^1\text{H}$ -NMR 光譜。第 1 圖中橫軸為表示  $m/z$  值、縱軸為表示相對強度(%)。又，第 2 圖中橫軸為表示化學位移值(ppm)、縱軸為表示訊號之強度。

(3)使用實施例 1-(1)之方法所得之(-)體環戊烯酮 15.9 毫克並且進行與上述實施例 1-(2)同樣之反應，取得二乙醯氧基(-)體環戊烯酮 15.1 毫克。與上述實施例 1-(2)同樣地進行質量分析和核磁共振之構造解析，取得與上述實施例 1-(2)同樣之結果。

(4)使用實施例 1-(1)之方法所得之(+)體環戊烯酮 16.7 毫克並且進行與上述實施例 1-(2)同樣之反應，取得二乙



## 五、發明說明 ( )

醯氧基(+)體環戊烯酮 18.8 毫克。與上述實施例 1-(2)同樣地進行質量分析和核磁共振之構造解析，取得與上述實施例 1-(2)同樣之結果。

(5)於環戊烯酮 13.8 毫克中加入苯甲酸(中瀨 Tesc 公司製 041-20)44.3 毫克、二甲胺基吡啶(DMAP:東京化成工業公司製 D1450)7.5 毫克，N,N'-二環己基碳化二亞胺(DCC:Paptide 研究所公司製 1001)51.0 毫克且添加氯仿 5 毫升，且於冰冷中攪拌 4 小時。將過濾反應液所得之液體加至矽膠柱(75 毫升)，以氯仿溶出並取得含有二苯甲醯氧基環戊烯酮之餾分。將此餾分之溶劑於減壓下除去，並將殘渣以乙醇溶解後，以氯仿和甲醇之 99:1 混合液作為展開溶劑之矽膠薄層層析予以分離。將  $R_f = 0.45 \sim 0.55$  部分之矽膠由薄層上刮出，且以氯仿萃取可取得二苯甲醯氧基環戊烯酮 3.2 毫克。

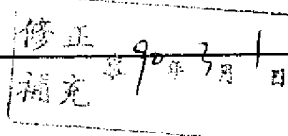
所得之二苯甲醯氧基環戊烯酮之質量分析和核磁共振之構造解析為與上述實施例 1-(2)同樣地進行。其結果示於下。

MS  $m/z$  323 ( $M+H$ )<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H-NMR

$\delta$  5.56 (1H, d,  $J = 3.0$  Hz, H-5), 6.30 (1H, m, H-4), 6.54 (1H, d-d,  $J = 1.5, 6.5$  Hz, H-2), 7.44 (4H, m, 芳香環之H), 7.58 (2H, m, 芳香環之H), 7.64 (1H, d-d,  $J = 2.0, 6.5$  Hz, H-3), 8.06 (4H, m,

芳香環之 H)



## 五、發明說明( )

第 3 圖中示出二苯甲醯氧基環戊烯酮之質譜，第 4 圖中示出其  $^1\text{H-NMR}$  光譜。第 3 圖中橫軸為表示  $m/z$  值、縱軸為表示相對強度(%)。又，第 4 圖中橫軸為表示化學位移值(ppm)、縱軸為表示訊號之強度。

(6)使用(-)體環戊烯酮 22.1 毫克、苯甲酸 71.9 毫克、DMAP 12.1 毫克、DCC 80.3 毫克，進行與上述實施例 1-(5)同樣之反應，取得二苯甲醯氧基(-)體環戊烯酮 19.2 毫克。與上述實施例 1-(5)同樣地進行質量分析和核磁共振之構造解析，取得與上述實施例 1-(5)同樣之結果。

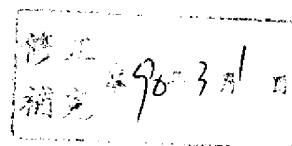
(7)使用(+)體環戊烯酮 20.4 毫克、苯甲酸 65.6 毫克、DMAP 11.0 毫克、DCC 74.3 毫克，進行與上述實施例 1-(5)同樣之反應，取得二苯甲醯氧基(+)體環戊烯酮 21.4 毫克。與上述實施例 1-(5)同樣地進行質量分析和核磁共振之構造解析，取得與上述實施例 1(5)同樣之結果。

(8)將環戊烯酮 30 毫克、DMAP 10 毫克、己酸(中瀨 Tesc 公司製 070-26)153 毫克溶解於 5.9 毫升之二氯甲烷中，並於冰冷下加入 DCC 108 毫克。反應 1 小時後，以氯仿作為展開溶劑之矽膠薄層層析，分離精製反應液。將  $R_f = 0.3 \sim 0.4$  部分之矽膠由薄層刮出，以氯仿萃取則可取得 11 毫克之二己醯氧基環戊烯酮。

將所得之二己醯氧基環戊烯酮溶解於  $\text{CDCl}_3$  並以核磁共振法(NMR)予以確認。核磁共振裝置為使用 JNM-EX270 FT NMR 系統(日本電子公司製)。又  $^1\text{H-NMR}$  化學位移值為以四甲基矽烷之化學位移值為 0ppm 而表示。

## 五、發明說明( )

其結果示於下。



### $^1\text{H-NMR}$

$\delta$  7.44 (1H, dd,  $J_{2-3} = 6.27\text{ Hz}$ ,  $J_{3-4} = 1.98\text{ Hz}$ , H-3), 6.42 (1H, dd,  $J_{2-3} = 6.27\text{ Hz}$ ,  $J_{3-4} = 1.32\text{ Hz}$ , H-2), 5.91 (1H, m, H-4), 5.16 (1H, d,  $J_{4-5} = 2.97\text{ Hz}$ , H-5), 2.42 (2H, t,  $J = 7.26\text{ Hz}$ ), 2.38 (2H, t,  $J = 7.76\text{ Hz}$ ), 1.65 (4H, m), 1.26 (8H, m), 0.88 (6H, t)

於第 5 圖中示出二己醯氧基環戊烯酮之  $^1\text{H-NMR}$  光譜。第 5 圖中橫軸為表示化學位移值 (ppm)、縱軸為表示訊號之強度。

(9) 將環戊烯酮 30 毫克、DMAP 10 毫克、肉豆己酸 (東京化成工業公司製 M0476) 301 毫克溶解於 5.9 毫升之二氯甲烷中，冰冷下加入 DCC 108 毫克。反應 1 小時後，以氯仿作為展開溶劑之矽膠薄層層析，分離反應液。將  $R_f = 0.45 \sim 0.55$  部分之矽膠由薄層刮出，以氯仿萃取則可取得 53 毫克之二肉豆冠醯氧基環戊烯酮。

所得之二肉豆冠醯氧基環戊烯酮之核磁共振的構造解析，為與實施例 1-(8) 同樣地進行。其結果示於下。

### $^1\text{H-NMR}$

$\delta$  7.45 (1H, dd,  $J_{2-3} = 5.94\text{ Hz}$ ,  $J_{3-4} = 2.31\text{ Hz}$ , H-3), 6.42 (1H, dd,  $J_{2-3} = 5.31\text{ Hz}$ ,  $J_{3-4} = 1.32\text{ Hz}$ , H-2), 5.92 (1H, m, H-4), 5.16 (1H, d,  $J_{4-5} = 2.64\text{ Hz}$ , H-5), 2.42 (2H, t,  $J = 7.26\text{ Hz}$ ), 2.38 (2H, t,  $J = 7.91\text{ Hz}$ ), 1.63 (4H, m), 1.26 (32H, m), 0.88 (6H, t)

修正  
補充 90年3月

# 五、發明說明 ( )

第 6 圖中示出二肉豆蔻醯氧基環戊烯酮之  $^1\text{H-NMR}$  光譜。  
第 6 圖中橫軸為表示化學位移值 (ppm)、縱軸為表示訊號之強度。

(10)將環戊烯酮 30 毫克、DMAP 10 毫克、辛酸 (中瀨 Tesc 公司製 071-11)190 毫克溶解於 5.9 毫升之二氯甲烷中，冰冷下加入 DCC 108 毫克。反應 1 小時後，以氯仿作為展開溶劑之矽膠薄層層析，分離反應液。將  $R_f = 0.25 \sim 0.35$  部分之矽膠由薄層刮出，以氯仿萃取則可取得 27 毫克之二辛醯氧基環戊烯酮。

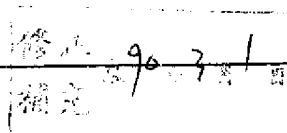
所得之二辛醯氧基環戊烯酮之核磁共振的構造解析，為與實施例 1-(8)同樣地進行。其結果示於下。

## $^1\text{H-NMR}$

$\delta$  7.44 (1H, dd,  $J_{2-3} = 6.1\text{ Hz}$ ,  $J_{3-4} = 2.16\text{ Hz}$ , H-3), 6.41 (1H, dd,  $J_{2-3} = 6.1\text{ Hz}$ ,  $J_{3-4} = 1.48\text{ Hz}$ , H-2), 5.92 (1H, m, H-4), 5.16 (1H, d,  $J_{4-5} = 2.97\text{ Hz}$ , H-5), 2.42 (2H, t,  $J = 7.59\text{ Hz}$ ), 2.38 (2H, t,  $J = 7.91\text{ Hz}$ ), 1.65 (4H, m), 1.29 (16H, m), 0.88 (6H, t)

第 7 圖中示出二辛醯氧基環戊烯酮之  $^1\text{H-NMR}$  光譜。  
第 7 圖中橫軸為表示化學位移值 (ppm)、縱軸為表示訊號之強度。

(11)將環戊烯酮 30 毫克、DMAP 10 毫克、3-辛烯酸 (東京化成工業公司製 00070)190 毫克溶解於 5.9 毫升之二氯甲烷中，冰冷下加入 DCC 108 毫克。反應 1 小時後，以氯仿



## 五、發明說明 ( )

作為展開溶劑之矽膠薄層層析，分離反應液。將  $R_f = 0.25 \sim 0.35$  部分之矽膠由薄層刮出，以氯仿萃取則可取得 25 毫克之二-3-辛烯醯氧基環戊烯酮。

所得之二-3-辛烯醯氧基環戊烯酮之核磁共振的構造解析，為與實施例 1-(8) 同樣地進行。其結果示於下。

### $^1\text{H-NMR}$

$\delta$  7.44 (1H, dd,  $J_{2-3} = 6.27\text{ Hz}$ ,  $J_{3-4} = 2.32\text{ Hz}$ , H-3), 6.42 (1H, dd,  $J_{2-3} = 6.27\text{ Hz}$ ,  $J_{3-4} = 1.49\text{ Hz}$ , H-2), 5.91 (1H, m, H-4), 5.55 (4H, m), 5.16 (1H, d,  $J_{4-5} = 2.97\text{ Hz}$ , H-5), 3.12 (4H, dd,  $J = 12.85\text{ Hz}$ ,  $J = 6.59\text{ Hz}$ ), 2.04 (4H, m), 1.33 (8H, m), 0.89 (6H, t)

第 8 圖中示出二-3-辛烯醯氧基環戊烯酮之  $^1\text{H-NMR}$  光譜。第 8 圖中橫軸為表示化學位移值 (ppm)、縱軸為表示訊號之強度。

(12) 將環戊烯酮 30 毫克、DMAP 10 毫克、正-丁酸 (東京化成工業公司製 B0754) 115 毫克溶解於 5.9 毫升之二氯甲烷中，冰冷下加入 DCC 108 毫克。反應 1 小時後，以氯仿作為展開溶劑之矽膠薄層層析，分離反應液。將  $R_f = 0.20 \sim 0.30$  部分之矽膠由薄層刮出，以氯仿萃取則可取得 16 毫克之二丁醯氧基環戊烯酮。

所得之二丁醯氧基環戊烯酮之核磁共振的構造解析，為與實施例 1-(8) 同樣地進行。其結果示於下。

### $^1\text{H-NMR}$

## 五、發明說明( )

90321

$\delta$  7.45 (1H, dd,  $J_{2-3} = 6.27 \text{ Hz}$ ,  $J_{3-4} = 2.13 \text{ Hz}$ , H-3), 6.42 (1H, dd,  $J_{2-3} = 6.27 \text{ Hz}$ ,  $J_{3-4} = 1.65 \text{ Hz}$ , H-2), 5.91 (1H, m, H-4), 5.16 (1H, d,  $J_{4-5} = 2.64 \text{ Hz}$ , H-5)

第 9 圖中示出二丁醯氧基環戊烯酮之  $^1\text{H-NMR}$  光譜。第 9 圖中橫軸為表示化學位移值 (ppm)、縱軸為表示訊號之強度。

(13) 將環戊烯酮 30 毫克、DMAP 10 毫克、正-癸酸 (東京化成工業公司製 D0017) 226 毫克溶解於 5.9 毫升之二氯甲烷中，冰冷下加入 DCC 108 毫克。反應 1 小時後，以氯仿作為展開溶劑之矽膠薄層層析，分離反應液。將  $R_f = 0.35 \sim 0.45$  部分之矽膠由薄層刮出，以氯仿萃取則可取得 35 毫克之二癸醯氧基環戊烯酮。

所得之二癸醯氧基環戊烯酮之核磁共振的構造解析，為與實施例 1-(8) 同樣地進行。其結果示於下。

 $^1\text{H-NMR}$ 

$\delta$  7.44 (1H, dd,  $J_{2-3} = 6.27 \text{ Hz}$ ,  $J_{3-4} = 1.97 \text{ Hz}$ , H-3), 6.42 (1H, dd,  $J_{2-3} = 6.27 \text{ Hz}$ ,  $J_{3-4} = 1.3 \text{ Hz}$ , H-2), 5.91 (1H, m, H-4), 5.15 (1H, d,  $J_{4-5} = 2.97 \text{ Hz}$ , H-5), 2.42 (2H, t,  $J = 7.24 \text{ Hz}$ ), 2.38 (2H, t,  $J = 7.91 \text{ Hz}$ ), 1.65 (4H, m), 1.26 (24H, m), 0.88 (6H, t)

第 10 圖中示出二癸醯氧基環戊烯酮之  $^1\text{H-NMR}$  光譜。第 10 圖中橫軸為表示化學位移值 (ppm)、縱軸為表示訊號

## 五、發明說明( )

90 3210  
22元

之強度。

(14)將環戊烯酮 30 毫克、DMAP 16 毫克、三乙胺(東京化成工業公司製 T0424)66 毫克及無水正戊酸(東京化成工業公司製 V0006)122 毫克溶解於 5.9 毫升之二氯甲烷中，於冰冷下反應 1 小時。此反應液以氯仿：甲醇 = 200：1 作為展開溶劑之矽膠薄層層析予以展開，並將  $R_f = 0.7 \sim 0.8$  部分之矽膠由薄層刮出，以氯仿萃取則可取得 39 毫克之二戊醯氧基環戊烯酮。

所得之二戊醯氧基環戊烯酮之核磁共振的構造解析，為與實施例 1-(8)同樣地進行。其結果示於下。

 $^1\text{H-NMR}$ 

$\delta$  7.45 (1H, dd,  $J_{2-3} = 6.11 \text{ Hz}$ ,  $J_{3-4} = 1.66 \text{ Hz}$ , H-3)、6.42 (1H, dd,  $J_{2-3} = 6.11 \text{ Hz}$ ,  $J_{3-4} = 1.66 \text{ Hz}$ , H-2)、5.91 (1H, m, H-4)、5.16 (1H, d,  $J_{4-5} = 2.97 \text{ Hz}$ , H-5)、2.43 (2H, dd,  $J = 7.59$ , 7.59 Hz)、2.39 (2H, dd,  $J = 7.59$ , 7.59 Hz)、1.65 (4H, m)、1.38 (4H, m)、0.93 (6H, dd,  $J = 7.26$ , 7.26 Hz)

第 11 圖中示出二戊醯氧基環戊烯酮之  $^1\text{H-NMR}$  光譜。第 11 圖中橫軸為表示化學位移值 (ppm)、縱軸為表示訊號之強度。

(15)將環戊烯酮 30 毫克、DMAP 16 毫克、三乙胺 66 毫克及無水丙酸(東京化成工業公司製 P0513)86 毫克溶解於 5.9 毫升之二氯甲烷中，於冰冷下反應 1 小時。此反

90.3.1

# 五、發明說明 ( )

應液以氯仿：甲醇 = 200：1 作為展開溶劑之矽膠薄層層析予以展開，並將  $R_f = 0.5 \sim 0.6$  部分之矽膠由薄層刮出，以氯仿萃取則可取得 31 毫克之二丙醯氧基環戊烯酮。

所得之二丙醯氧基環戊烯酮之核磁共振的構造解析，為與實施例 1-(8) 同樣地進行。其結果示於下。

## <sup>1</sup>H-NMR

$\delta$  7.45 (1H, dd,  $J_{2-3} = 6.27 \text{ Hz}$ ,  $J_{3-4} = 2.15 \text{ Hz}$ , H-3)、6.42 (1H, dd,  $J_{2-3} = 6.27 \text{ Hz}$ ,  $J_{3-4} = 1.49 \text{ Hz}$ , H-2)、5.91 (1H, m, H-4)、5.16 (1H, d,  $J_{4-5} = 2.97 \text{ Hz}$ , H-5)、2.46 (2H, dd,  $J = 15.01, 7.59 \text{ Hz}$ )、2.42 (2H, dd,  $J = 15.01, 7.59 \text{ Hz}$ )、1.18 (6H, dd,  $J = 7.59, 7.59 \text{ Hz}$ )

第 12 圖中示出二丙醯氧基環戊烯酮之 <sup>1</sup>H-NMR 光譜。第 12 圖中橫軸為表示化學位移值 (ppm)、縱軸為表示訊號之強度。

(16) 將環戊烯酮 2 毫克、DMAP 733 毫克、反式-2-己烯酸 (東京化成工業公司製、H0383) 4.1 毫升及 DCC 5.57 克溶解於 200 毫升之二氯甲烷中，並於室溫下反應 2 小時。此反應以己烷：醋酸乙酯 = 8：1 作為溶劑進行矽膠柱層析，並於矽膠薄層層析上取得顯示出單一點漬之餾分。將此餾分於減壓下濃縮，取得油狀之二-2-己醯氧基環戊烯酮約 900 毫克。

所得之二-2-己醯氧基環戊烯酮之核磁共振的構造解析，為與實施例 1-(8) 同樣地進行。其結果示於下。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

# 五、發明說明 ( )

修正  
補充  
90年3月1日

## <sup>1</sup>H-NMR

δ 0.92 (6H, m, 11-H+11'-H)、1.48 (4H, m, 10-H+10'-H)、2.18 (4H, m, 9-H, 9'-H)、5.22 (1H, d, J=3.0 Hz, 5-H)、5.85 (2H, m, 7-H+7'-H)、5.98 (1H, m, 4-H)、6.41 (1H, dd, J=1.0, 6.0 Hz, 2-H)、7.04 (2H, m, 8-H+8'-H)、7.47 (1H, dd, J=2.0, 6.0 Hz, 3-H)

尚，於環戊烯酮第5位所結合之2-己醯氧基之碳為由羰基開始之順序之第6~11位，環戊烯酮第4位所結合之2-己醯氧基之碳為由羰基開始之順序之第6'位~11'位。

於第13圖中示出二-2-己醯氧基環戊烯酮之<sup>1</sup>H-NMR光譜。第13圖中橫軸為表示化學位移值(ppm)、縱軸為表示訊號強度。

## 實施例 2

(1)將二乙醯氧基環戊烯酮、二乙醯氧基(-)體環戊烯酮、二乙醯氧基(+)體環戊烯酮、二苯甲醯氧基環戊烯酮、二苯甲醯氧基(-)體環戊烯酮、二苯甲醯氧基(+)體環戊烯酮、二乙醯氧基環戊烯酮、二肉豆蔻醯氧基環戊烯酮、二辛醯氧基環戊烯酮、二-3-辛醯氧基環戊烯酮、二丁醯氧基環戊烯酮、二癸醯氧基環戊烯酮、二戊醯氧基環戊烯酮、二丙醯氧基環戊烯酮及二-2-己醯氧基環戊烯酮之各1mM乙醇溶液，以70%乙醇水溶液稀釋。

將各稀釋液注入96孔穴微標度平板之孔穴中，於風乾

## 五、發明說明 ( 28 )

後，於各孔穴中添加含有 5000 個 HL-60 細胞 (ATCC CCL-240) 之含 10% 胎牛血清 RPMI 1640 培養基 100 微升，並於 5% 二氧化碳存在下 37℃ 下培養 48 小時。以光學顯微鏡觀察細胞形態，加入 5 毫克 / 毫升之溴化 3-(4,5-二甲基噁唑-2-基)-2,5-二苯基四唑鎗 (MTT) 磷酸緩衝食鹽水溶液 10 微升，再繼續培養 4 小時後，以顯微鏡觀察細胞之生長狀態。又，加入含有 0.04N HCl 之 2-丙醇 100 微升並且充分攪拌，測定 590nm 之吸光度視為細胞增殖度。於未見到活細胞之孔穴之培養基中所含的最小環戊烯酮衍生物濃度，視為細胞增殖抑制濃度。

其結果示於表 1。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

不

訂

## 五、發明說明 ( )

表 1

修正 890315  
補充

| 物 質 名          | 細胞增殖抑制濃度<br>( $\mu\text{m}$ ) |
|----------------|-------------------------------|
| 二乙醯氧基環戊烯酮      | 3.9                           |
| 二乙醯氧基(-)體環戊烯酮  | 3.9                           |
| 二乙醯氧基(+)體環戊烯酮  | 3.9                           |
| 二苯甲醯氧基環戊烯酮     | 7.7                           |
| 二苯甲醯氧基(-)體環戊烯酮 | 7.7                           |
| 二苯甲醯氧基(+)體環戊烯酮 | 7.7                           |
| 二己醯氧基環戊烯酮      | 3.0                           |
| 二肉豆蔻醯氧基環戊烯酮    | 187                           |
| 二辛醯氧基環戊烯酮      | 9.8                           |
| 二-3-辛醯氧基環戊烯酮   | 5.0                           |
| 二丁醯氧基環戊烯酮      | 3.4                           |
| 二癸醯氧基環戊烯酮      | 17.2                          |
| 二戊醯氧基環戊烯酮      | 6.2                           |
| 二丙醯氧基環戊烯酮      | 3.8                           |
| 二-2-己醯氧基環戊烯酮   | 6.2                           |

於各細胞增殖抑制濃度中，於細胞形成細胞自滅小體。

又，此些化合物之光學活性體亦顯示出同樣的細胞增殖抑制作用、細胞自滅誘發作用。

## 五、發明說明( )

### 實施例 3

將金黃葡萄球菌 3A(NCTC 8319、受檢菌①)、枯草桿菌 IF0 3021(受檢菌②)、及銅綠假單細菌 IF0 3081(受檢菌③)於敏感性肉汁培養(日水公司製)中培養 1 晚(種培養)。測定 600nm 之吸光度，由顯示出事先作成之各菌株的生菌數與 600nm 吸光度之關係檢量線計算生菌數。以新鮮的敏感性肉汁培養基稀釋成  $1 \times 10^6$  個/毫升之培養液，並於 96 孔穴微標度平板之各孔穴中分注 180 微升。將實施例 1-(8)所得之二己醯氧基環戊烯酮之各 2000 微克/毫升、1000 微克/毫升、500 微克/毫升、250 微克/毫升、125 微克/毫升、62.5 微克/毫升水溶液或水，於各孔穴中加入 20 微升，並於 37℃ 下靜置培養 1 晚(本培養)。尚，將部分的種培養液以無菌水稀釋，塗布於敏感性肉汁洋菜平板培養基上且於 37℃ 下培養 1 晚後，計數其菌落，測定出正確的生菌數。

本培養後之各孔穴的培養液以滅菌水稀釋並塗布於敏感性肉汁洋菜平板培養基，且於 37℃ 下培養一晚後，計數菌落，測定生菌數。

與添加水之孔穴比較，且將生菌數變少之最小濃度視為增殖抑制濃度，並以比本培養開始時更少生菌數之最小濃度視為殺菌濃度。其結果示為表 2。

表 2 中之數值為二己醯氧基環戊烯酮對於受檢菌①至③，顯示出增殖抑制作用和殺菌作用之培養液中的濃度，單位為微克/毫升。

# 五、發明說明( )

表 2

|         | 增 殖 抑 制 濃 度 | 殺 菌 濃 度 |
|---------|-------------|---------|
| 受 檢 菌 ① | 100         | 100     |
| 受 檢 菌 ② | 100         | 100     |
| 受 檢 菌 ③ | 200         | 200     |

由以上可知，二己醯氧基環戊烯酮為具有強力的抗菌活性。又，實施例 1 所調製之另外的化合物，其光學活性體，亦顯示出與二己醯氧基環戊烯酮同樣的抗菌活性。

## 實施例 4

### 注射劑

(1)於生理食鹽水(同前述)中加入 1% 濃度之二乙醯氧基環戊烯酮、或二己醯氧基環戊烯酮，製作注射劑。

(2)於生理食鹽水(同前述)中加入各 0.5% 及 0.1% 濃度之二苯甲醯氧基環戊烯酮、或二丁醯氧基環戊烯酮及甘草酸，製作注射劑。

## 實施例 5

### 錠劑

(1)調製含有二苯甲醯氧基環戊烯酮 100 毫克和微結晶性纖維素適量之錠劑，施以糖衣，製作成錠劑。

(2)調製含有二乙醯氧基(-)體環戊烯酮 0.1 毫克、甘草酸二鉀 10 毫克及微結晶纖維素適量之錠劑，施以糖衣，

## 五、發明說明(加)

製作錠劑。

發明之效果

依據本發明，提供具有制癌作用、癌細胞增殖抑制作用、細胞自滅誘發作用、抗菌作用等生理活性之環戊烯酮衍生物或其光學活性體或其鹽及其製法。以本發明所得之化合物作為有效成分之醫藥乃為特別有用於維持生體恆定性之醫藥品。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

四、中文發明摘要(發明之名稱：

環戊烯酮衍生物

5-(R<sub>1</sub>COO-)-4-(R<sub>2</sub>COO-)取代-2-環戊烯-1-酮(R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>為相同或相異之烷基、烯基或芳基)構造之環戊烯酮衍生物或其光學活性體。令4,5-二羥基-2-環戊烯-1-酮以對應之羧酸或其反應性衍生物反應，製造環戊烯酮衍生物之方法。含有該衍生物之制癌劑、細胞自滅誘發劑、抗菌劑。

英文發明摘要(發明之名稱：

CYCLOPENTENONE DERIVATIVES

Cyclopentenone derivatives having 5-(R<sub>1</sub>COO-)-4-(R<sub>2</sub>COO-) substituted-2-cyclopenten-1-one (R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> is the same or different represented alkyl, alkenyl or aryl group) or the optically active substance thereof. A process for preparing the cyclopentenone derivatives which comprises reacting 4,5-dihydroxy-2-cyclopenten-1-one with the corresponding carboxylic acid or its reactive derivatives. Carcinogenic agent, apoptosis inducing agent and antibacterial agent containing said derivatives are also disclosed.

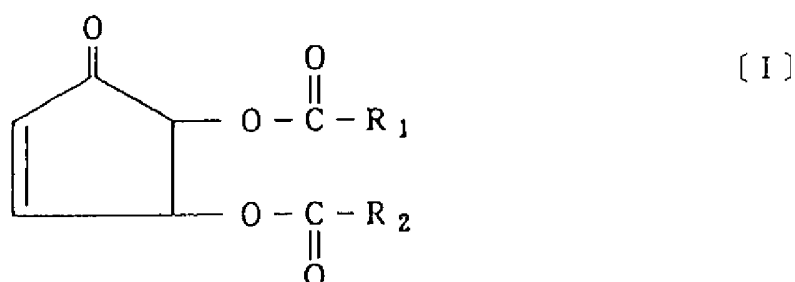
## 六、申請專利範圍

第 87103046 號「環戊烯酮衍生物」專利案

(90 年 3 月 1 日修正)

## 六 申請專利範圍：

1. 一種下述一般式〔I〕所示之環戊烯酮衍生物或其鹽，

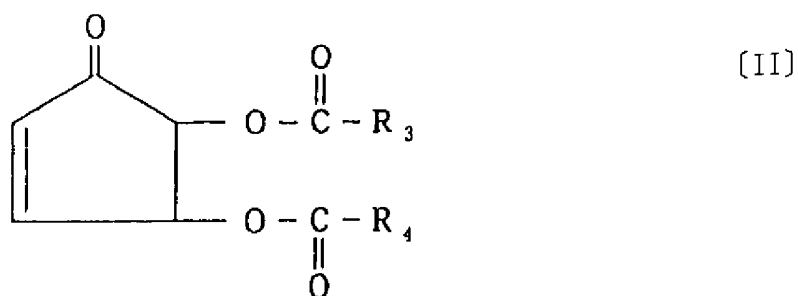


(式中， $R_1$ 、 $R_2$  為相同或相異之  $C_{1-13}$  之直鏈或分支烷基、 $C_{2-7}$  之直鏈或分支烯基、或苯基；但， $R_1 = R_2 = -CH_3$  之情況除外)。

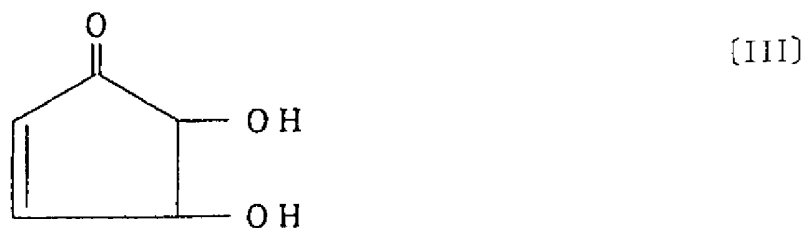
2. 一種制癌用之醫藥組成物，其特徵為含有如申請專利範圍第 1 項之環戊烯酮衍生物或其鹽所選出之化合物作為有效成分。
3. 一種誘發細胞自滅用之醫藥組成物，其特徵為含有如申請專利範圍第 1 項之環戊烯酮衍生物或其鹽所選出之化合物作為有效成分。
4. 一種抗菌用醫藥組成物，其特徵為含有如申請專利範圍第 1 項之環戊烯酮衍生物或其鹽所選出之化合物作為有效成分。
5. 一種一般式〔II〕所示環戊烯酮衍生物之製法，其特徵為令下述式〔III〕所示之 4,5-二羥基-2-環戊烯

# 六、申請專利範圍

-1-酮和／或其光學活性體與對應於下述一般式〔II〕所示之環戊烯酮衍生物之  $R_3$ 、 $R_4$  之羧酸和／或其反應性衍生物同時地或依序反應；



(式中， $R_3$ 、 $R_4$  相同或相異之  $C_{1-13}$  之直鏈或分支烷基、 $C_{2-7}$  之直鏈或分支烯基、或苯基)



(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

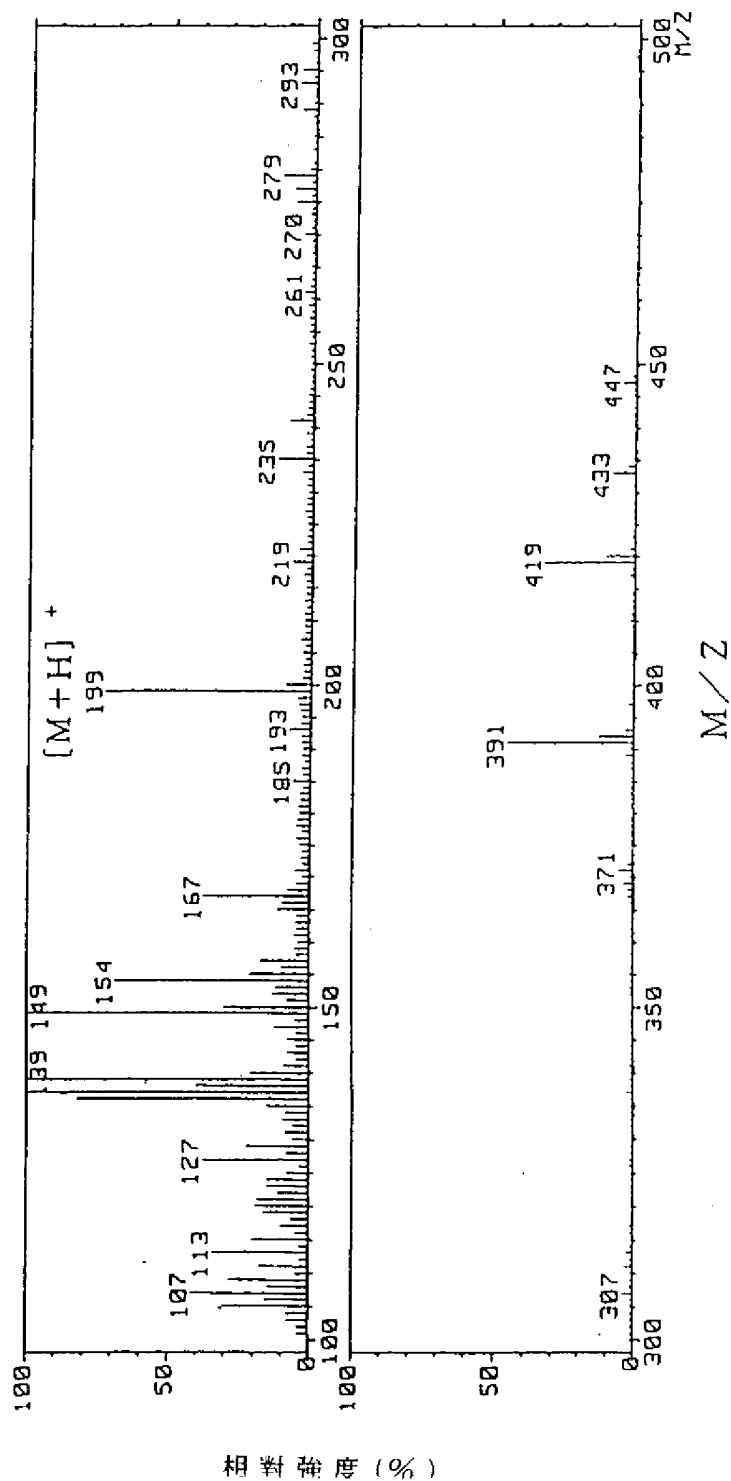
水

8486753  
 会 本

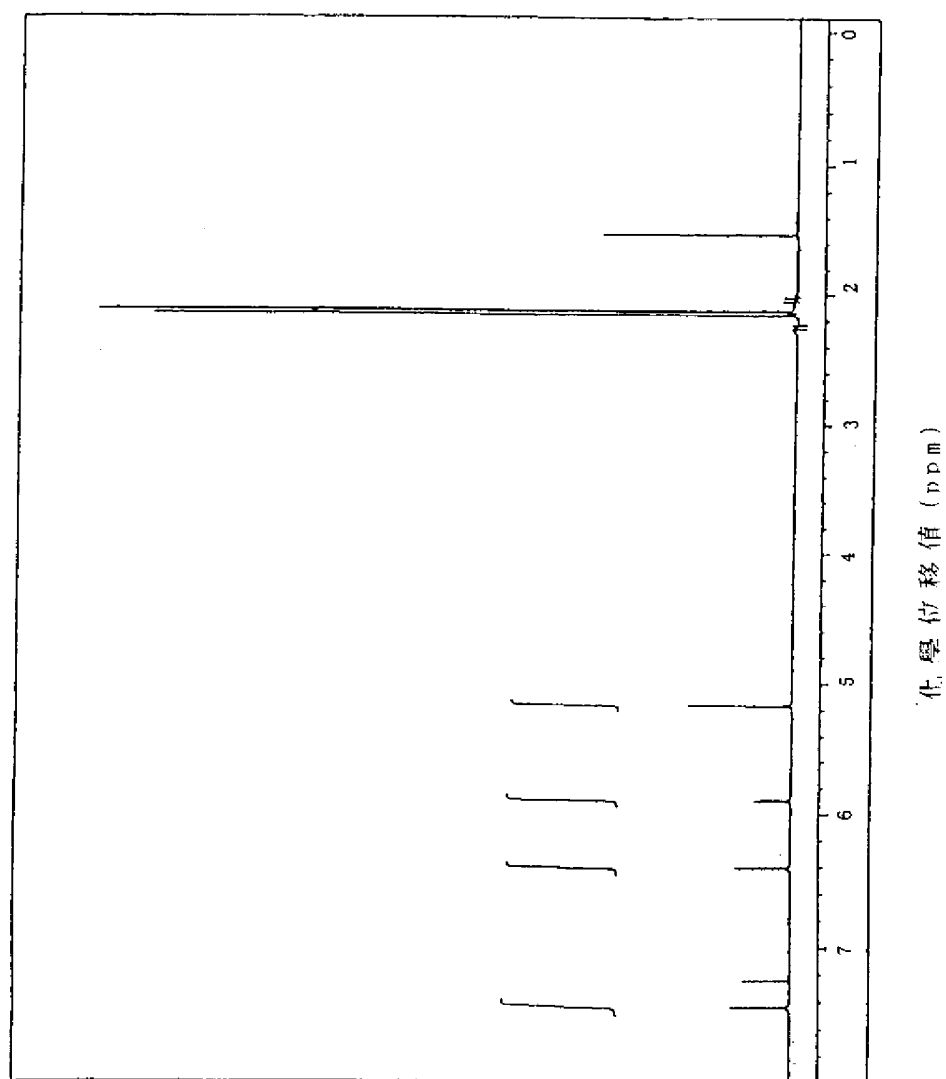
87103046

9814493T

# 第1圖

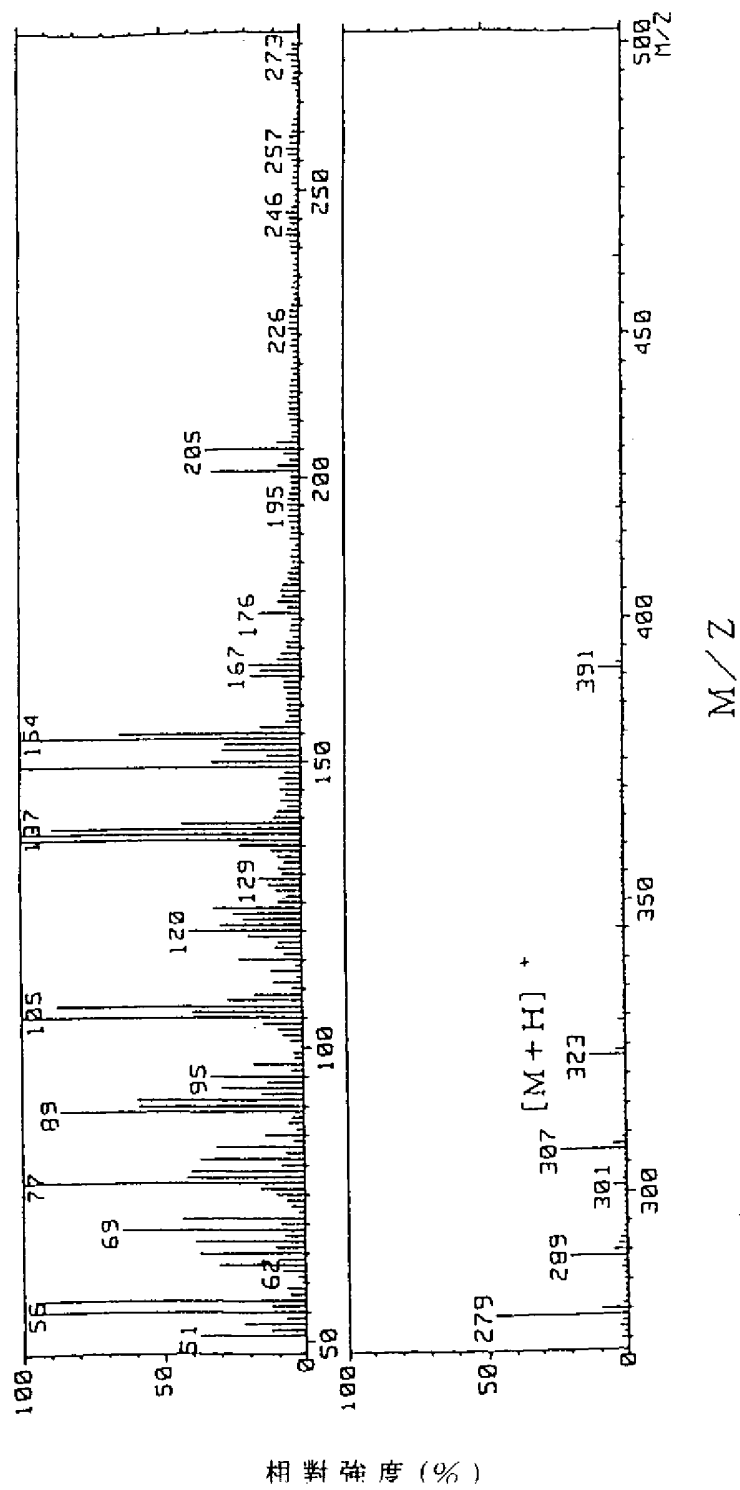


## 第2圖

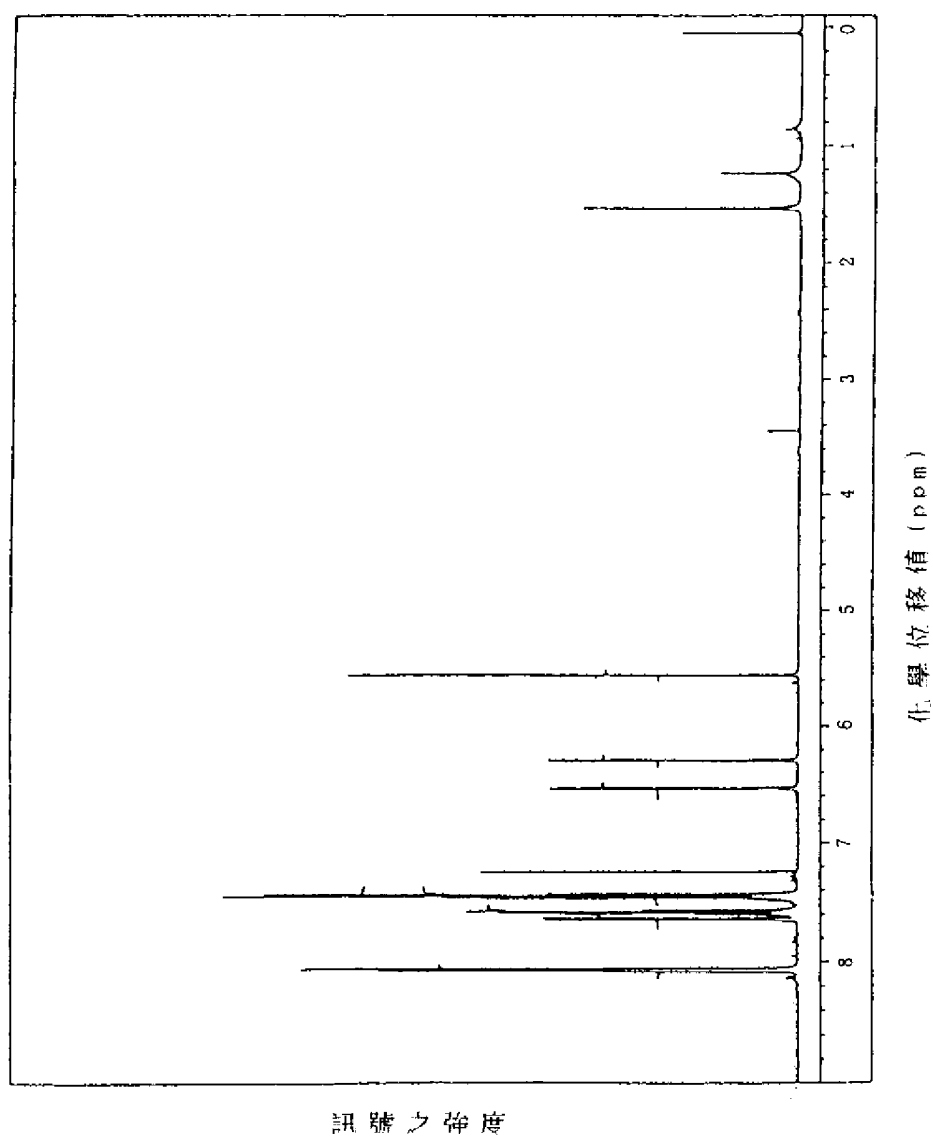


訊號之強度

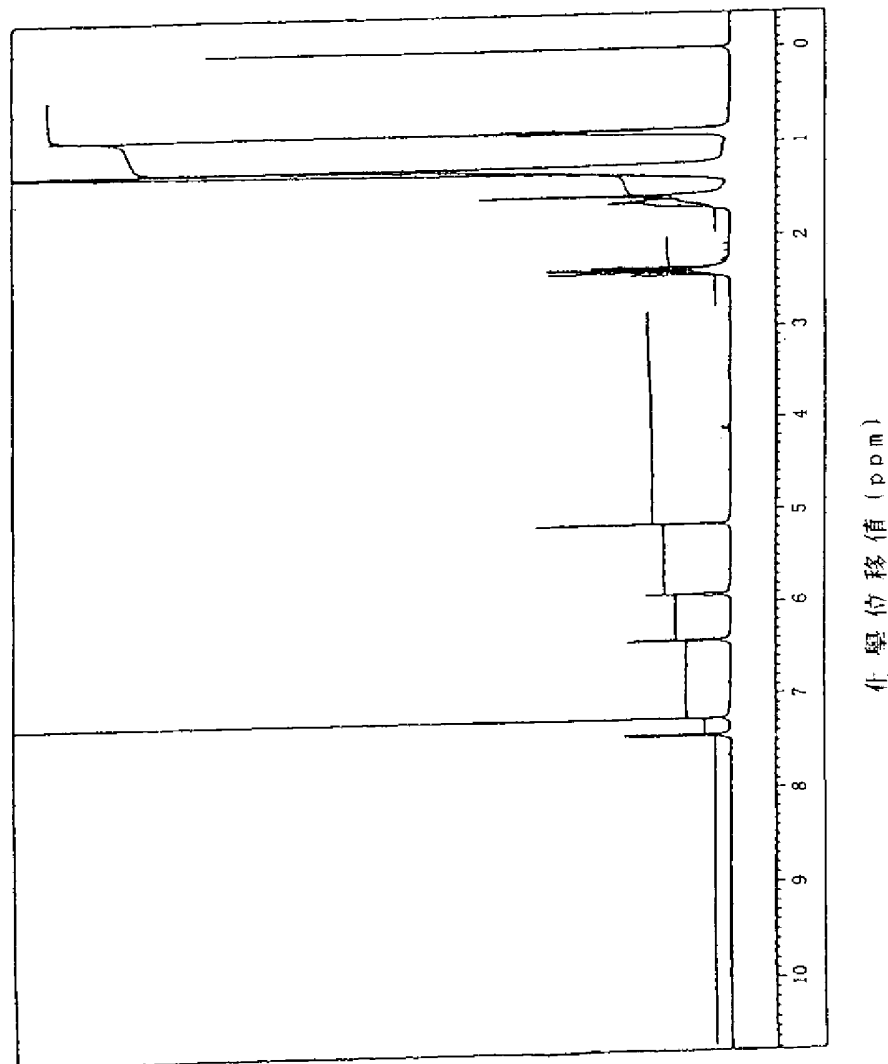
# 第3圖



# 第4圖

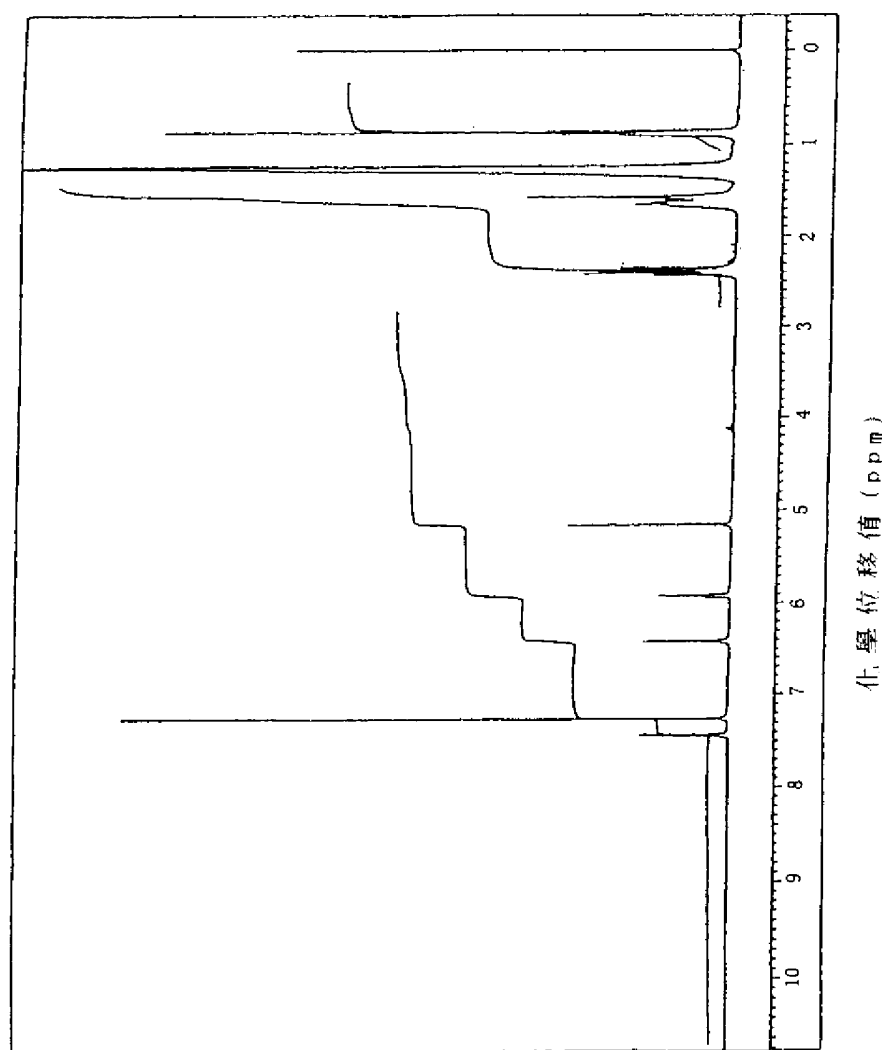


# 第5圖



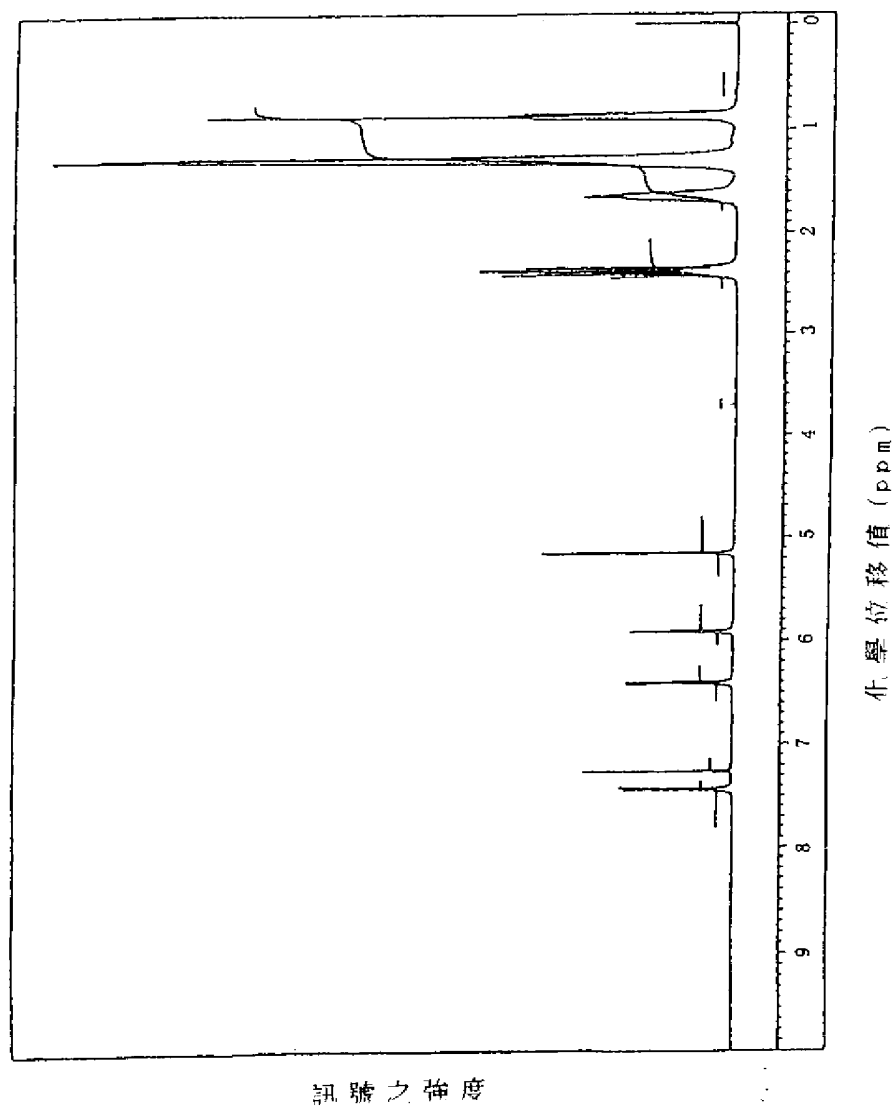
信号之強度

# 第6圖

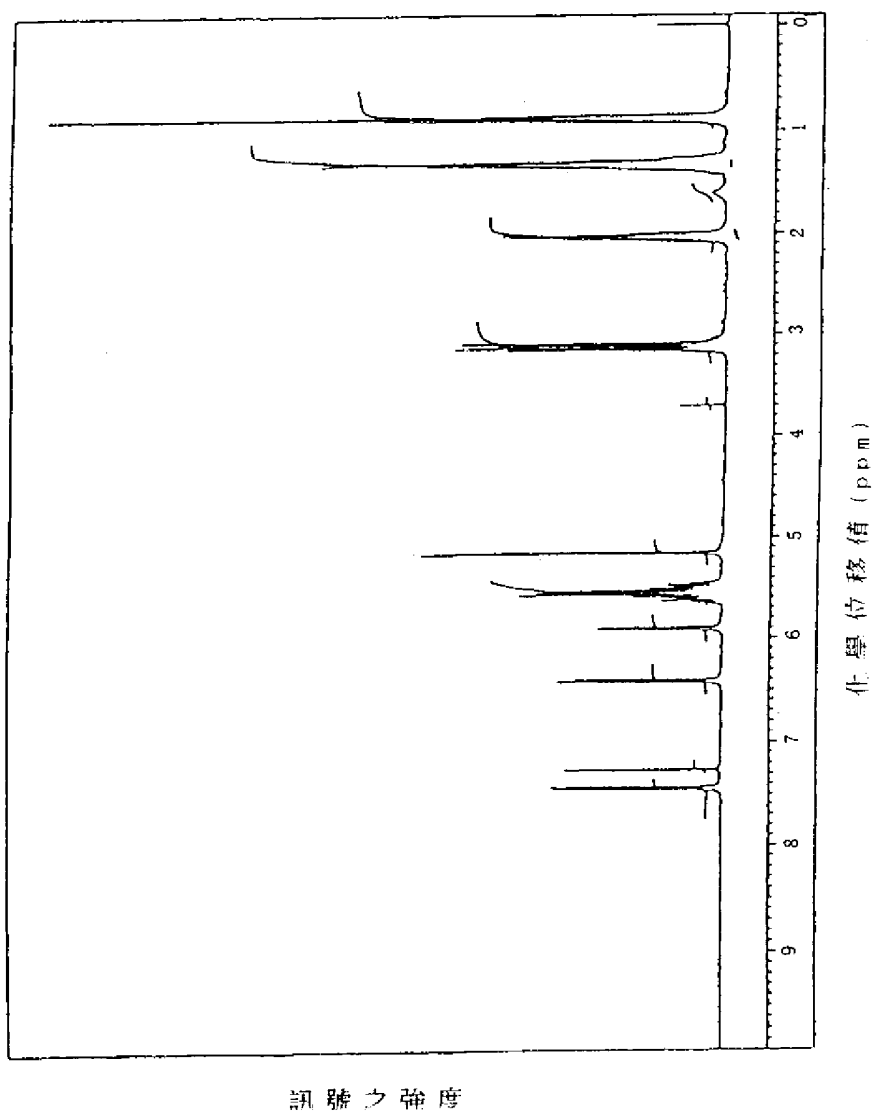


訊號之強度

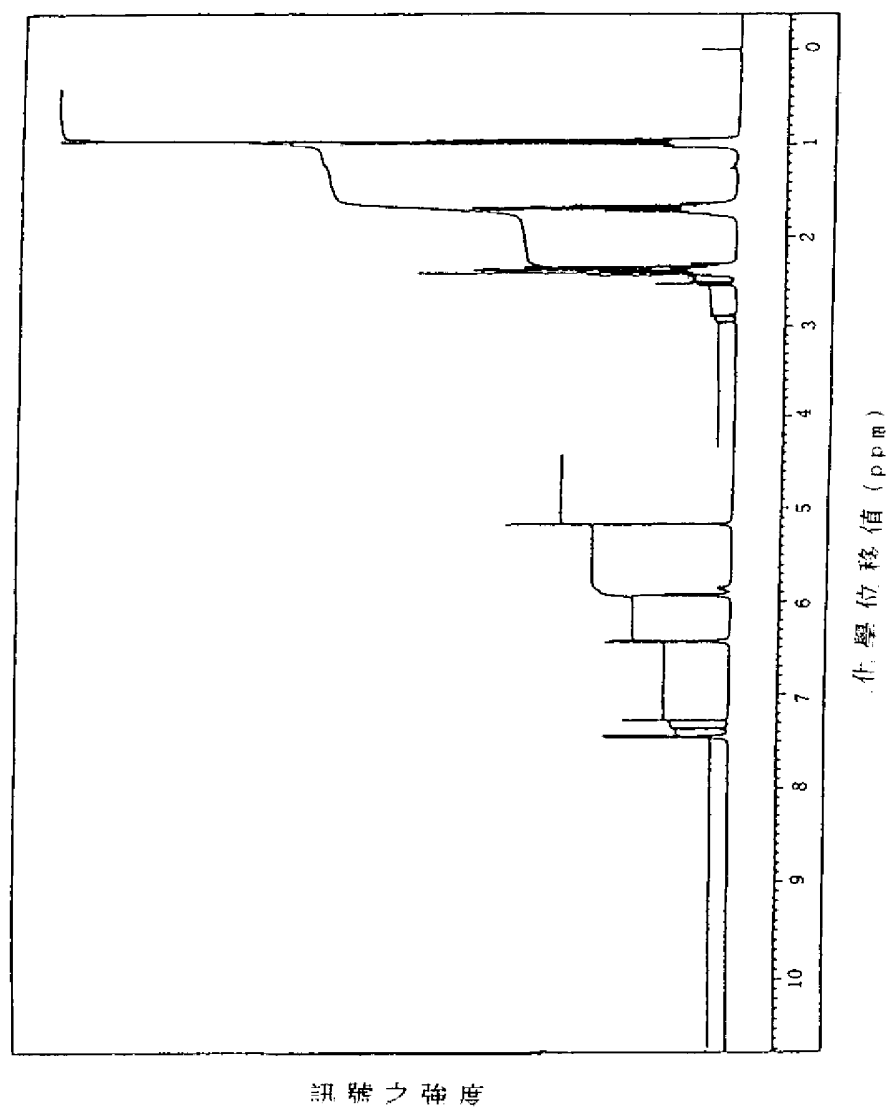
# 第7圖



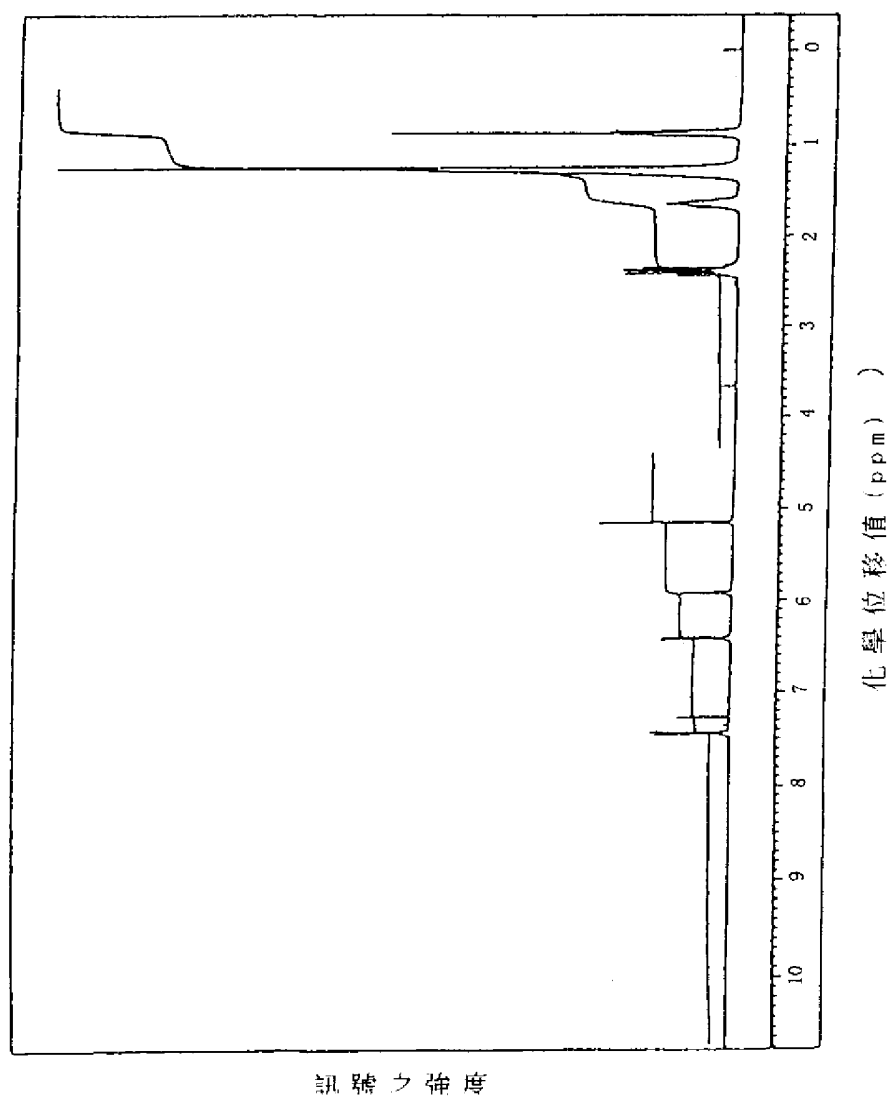
## 第8圖



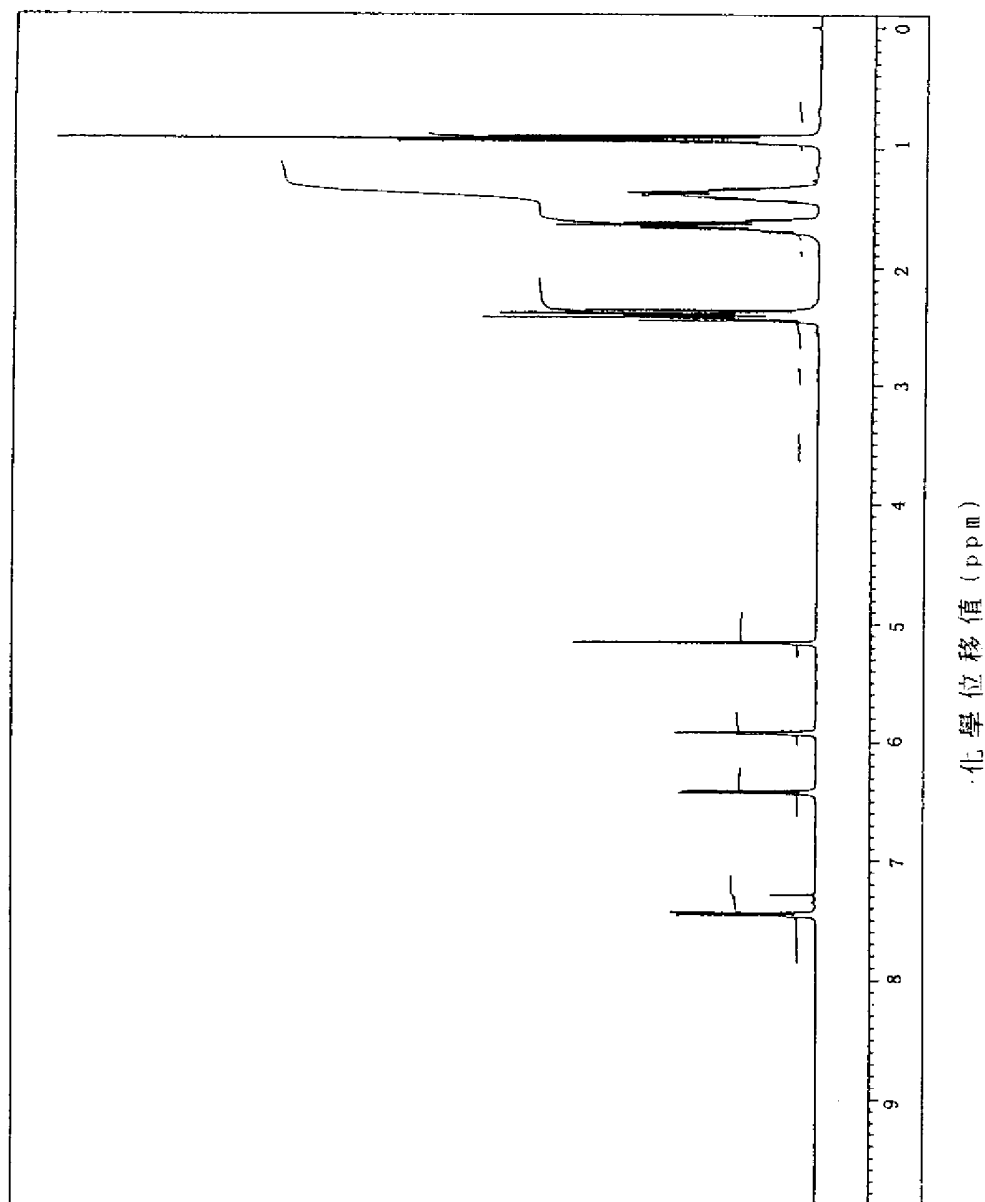
# 第9圖



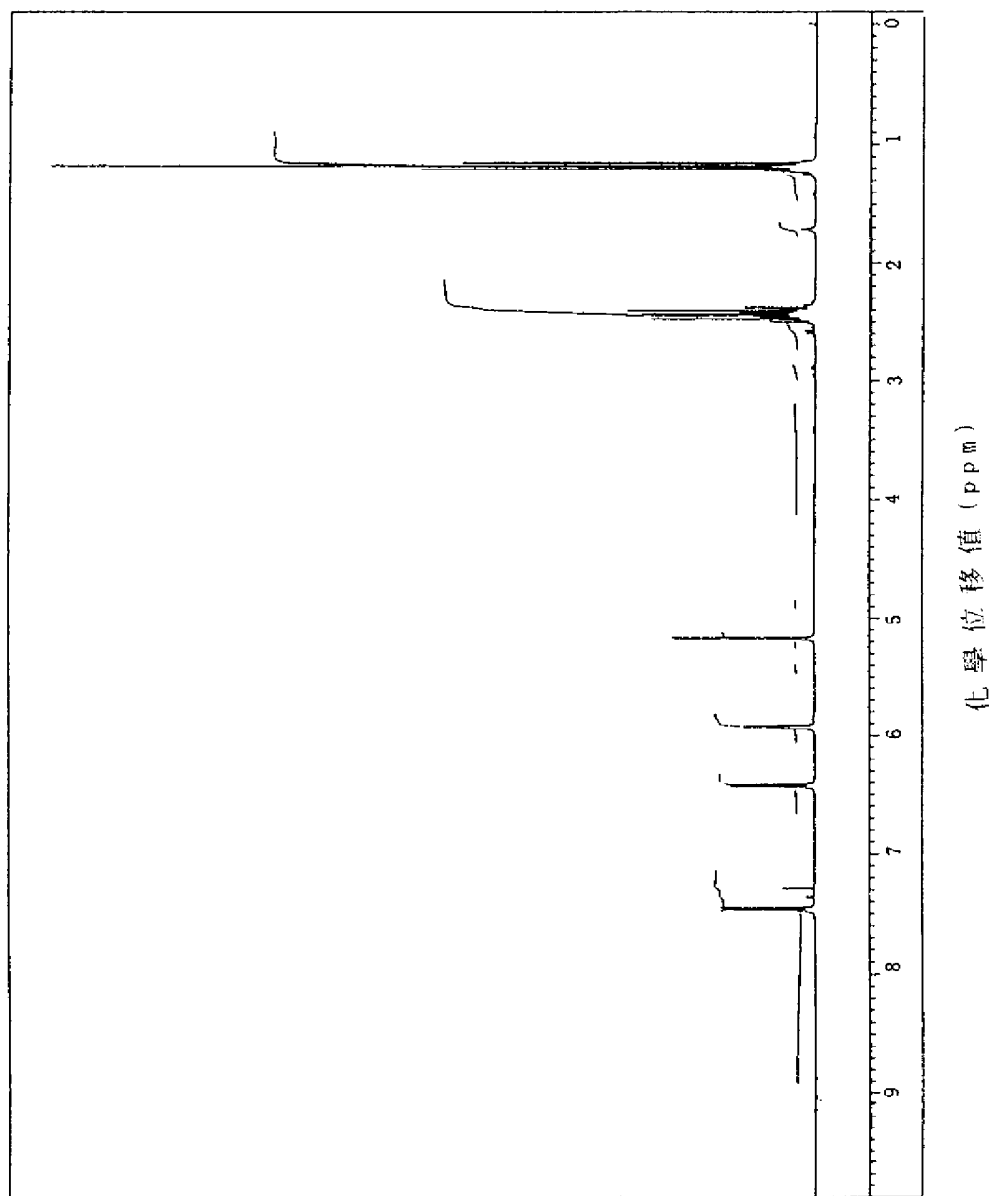
# 第10圖



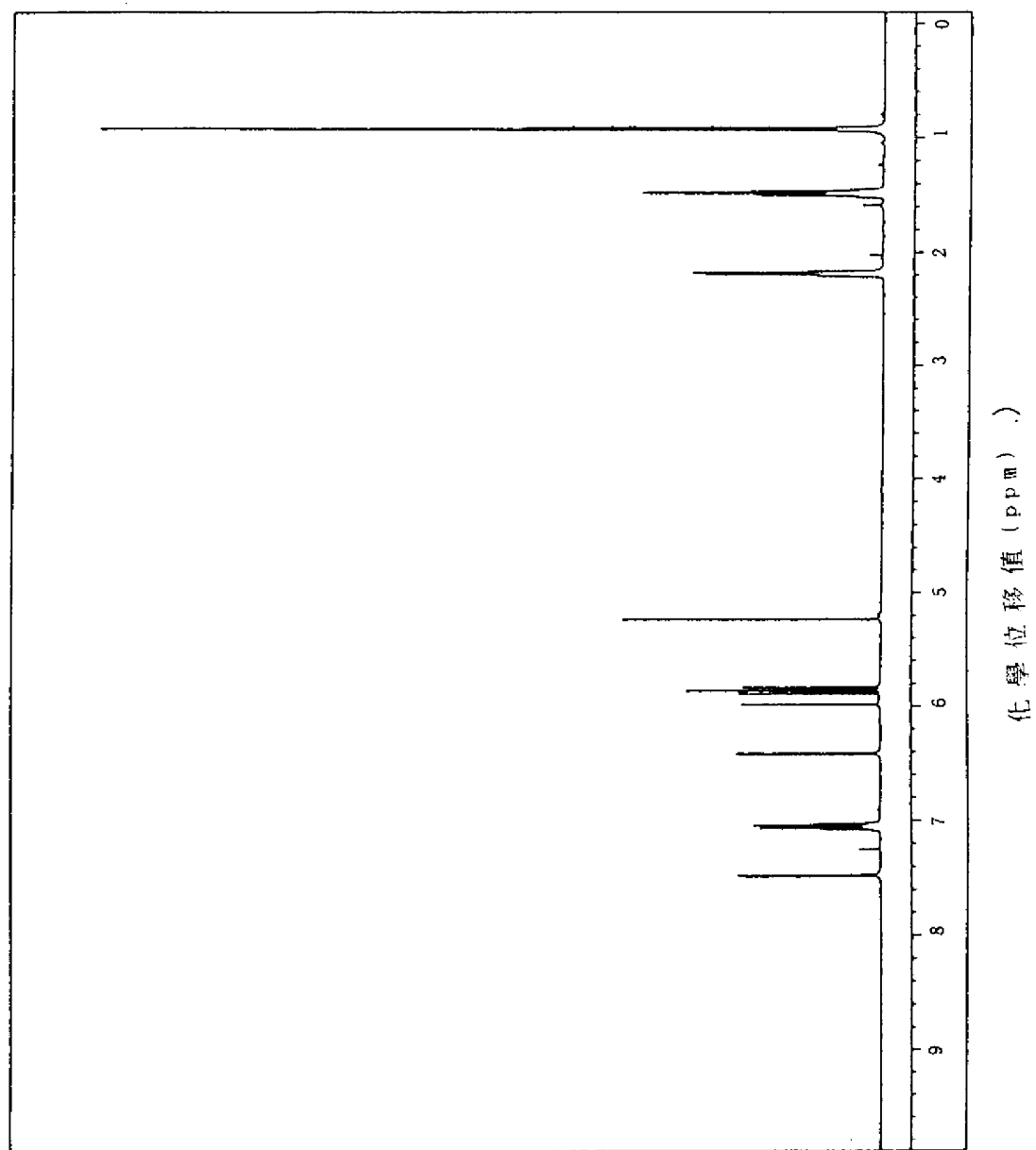
# 第11圖



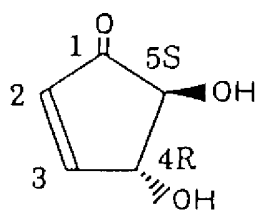
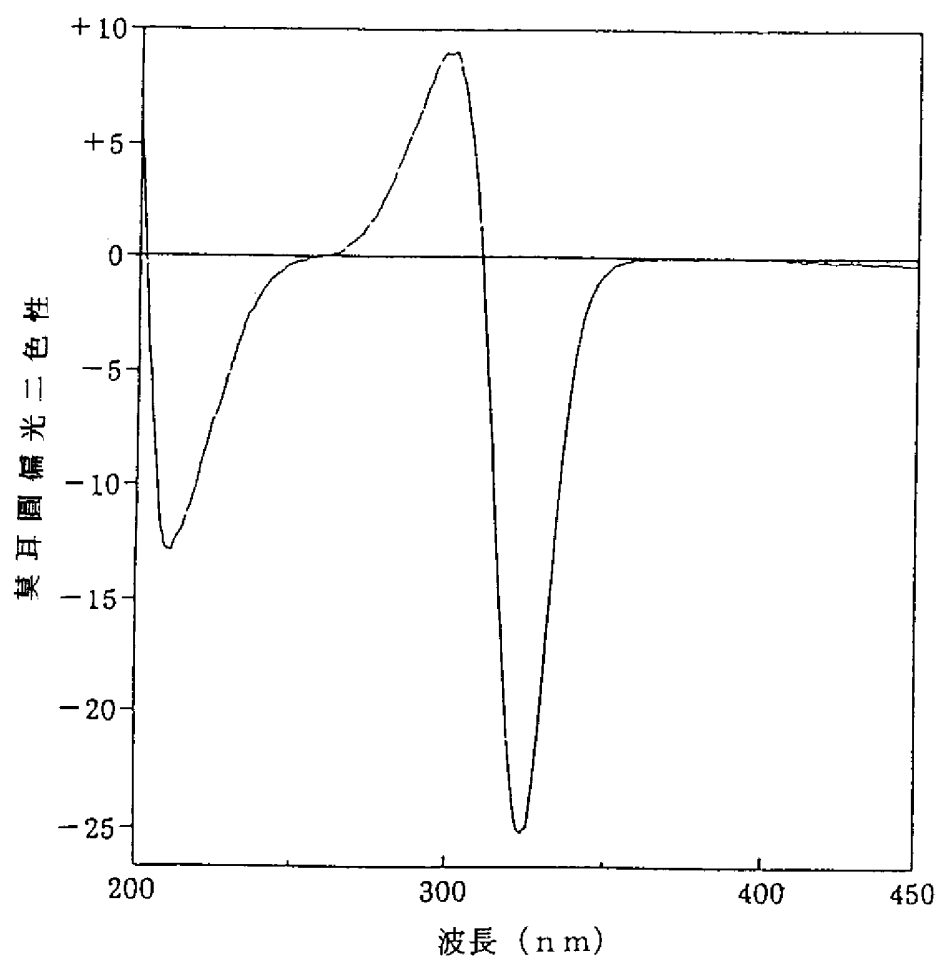
## 第12圖



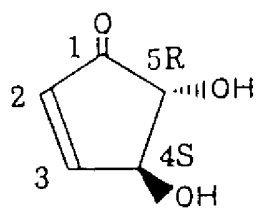
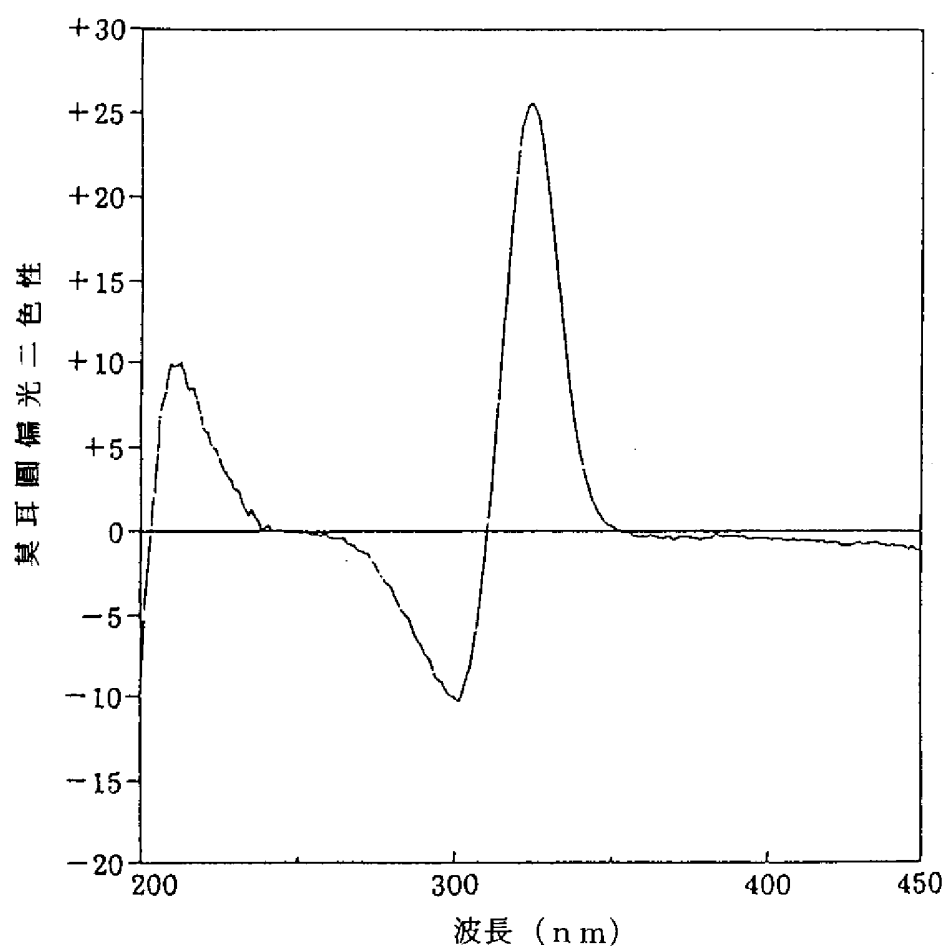
第13圖



# 第14圖



# 第15圖



## 五、發明說明( )

本發明之第三發明為關於含有本發明第一發明之環戊烯酮衍生物或其光學活性體或其鹽所選出之化合物，作為有效成分為其特徵之醫藥。

本發明之第四發明為關於含有本發明第二發明方法所得之環戊烯酮衍生物或其光學活性體或其鹽所選出之化合物，作為有效成分為其特徵之醫藥。

本發明第三、四發明之較佳態樣為該醫藥為制癌劑、細胞自滅誘發劑、抗菌劑。

## 圖式之簡單說明

第 1 圖為示出二乙醯氧基環戊烯酮之質譜圖。

第 2 圖為示出二乙醯氧基環戊烯酮之  $^1\text{H-NMR}$  光譜圖。

第 3 圖為示出二苯甲醯氧基環戊烯酮之質譜圖。

第 4 圖為示出二苯甲醯氧基環戊烯酮之  $^1\text{H-NMR}$  光譜圖。

第 5 圖為示出二已醯氧基環戊烯酮之  $^1\text{H-NMR}$  光譜圖。

第 6 圖為示出二肉豆蔻醯氧基環戊烯酮之  $^1\text{H-NMR}$  光譜圖。

第 7 圖為示出二辛醯氧基環戊烯酮之  $^1\text{H-NMR}$  光譜圖。

第 8 圖為示出二-3-辛醯氧基環戊烯酮之  $^1\text{H-NMR}$  光譜圖。

第 9 圖為示出二丁醯氧基環戊烯酮之  $^1\text{H-NMR}$  光譜圖。

第 10 圖為示出二癸醯氧基環戊烯酮之  $^1\text{H-NMR}$  光譜圖。

第 11 圖為示出二戊醯氧基環戊烯酮之  $^1\text{H-NMR}$  光譜圖。

第 12 圖為示出二丙醯氧基環戊烯酮之  $^1\text{H-NMR}$  光譜圖。

第 13 圖為示出二-2-己醯氧基環戊烯酮之  $^1\text{H-NMR}$  光譜圖。

第 14 圖為示出(-)體環戊烯酮之對-二甲胺基苯醯衍生

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

線

## 五、發明說明(10)

補充 903

烯酮衍生物或其光學活性體為具有強力的癌細胞增殖抑制活性，並可以此活性為指標，由反應液中精製、單離環戊烯酮衍生物或其光學活性體。若使用化學性方法、物理性方法等之公知的精製手段，作為精製、單離手段即可。且可組合膠過濾法、以分子量分級膜之分級法、溶劑萃取法、分餾法、使用離子交換樹脂等之各種層析法等之先前公知之精製方法，並且將反應產物中之環戊烯酮衍生物或其光學活性體予以精製、單離。

例如將環戊烯酮或其光學活性體、4-二甲胺基吡啶、羧酸溶解於二氯甲烷，並於冰冷下加入N,N-二環己基碳化二亞胺進行反應，生成本發明之環戊烯酮衍生物。此產物經由矽膠薄層層析予以精製，則可單離目的之環戊烯酮衍生物。

又，令環戊烯酮或其光學活性體與酞酸酐，於無水吡啶中反應，則可由反應物精製、單離出二乙醯氧基環戊烯酮。

依本發明所得之環戊烯酮衍生物之光學活性體的分離可依消旋混合物之機械性分割、優先析晶法、以非對映體鹽或包含化合物型式之結晶化予以分割，以酵素-微生物予以動力學分割，以層析之分割等而予以進行。

以層析之分割可使用氣相層析、液體層析、薄層層析等，且若使用分別合適之對掌固定相即可。

以液體層析之光學分割，可為使用固定相之方法、使用對掌溶離液之方法、以非對映體型式之分離等。

## 五、發明說明(13)

修正  
補充  
\* 90.3.1

光學活性體或其鹽所選出之化合物份量為成人每日  $0.1 \mu\text{g} \sim 200 \text{mg}/\text{kg}$ 。因為投予量為依各種條件而變動，故當然亦有比上述投予量更少份量而為充分之情況，或者亦有必要超過範圍之情況。本發明之藥劑除了可就其原樣經口投予以外，亦可添加至任意的飲食品中供日常性攝取。

本發明所得之環戊烯酮衍生物或其光學活性體或其鹽為具有細胞自滅誘發活性，且以由此些化合物所選出之至少一個化合物作為有效成分，則可製造細胞自滅誘發劑。細胞自滅誘發劑可依上述之制癌劑予以製劑化，並可依制癌劑之方法進行投予。

細胞自滅誘發劑之投予量為依據其製劑形態、投予方法、使用目的及其所適用之患者年齡、體重、症狀而適當設定，雖無一定，但一般為製劑中所含有之環戊烯酮衍生物和／或其光學活性體或其鹽份量為成人每日  $0.1 \mu\text{g} \sim 100 \text{mg}/\text{kg}$ 。因為投予量為依各種條件而變動，故當然亦有比上述投予量更少份量而為充分之情況，或者亦有必要超過範圍之情況。本發明之藥劑除了可就其原樣經口投予以外，亦可添加至任意的飲食品中供日常性攝取。

尚，細胞自滅為與病理性細胞死亡之壞死不同，其被認為係為細胞本身之基因中所最初編入之死亡。即，其被認為係經由某些外部性或內部性要因成為令策劃細胞自滅基因活化之導火線，並以此基基為基礎地生物合成策劃死亡基因之蛋白質，且經由生成的策劃死亡蛋白質而使細胞本身並且到達死亡。

修正

補充

本90年3月1日

## 五、發明說明( )

又，本發明之抗菌劑可用作為令食品或飲料之保存性提高之防腐劑。又，可使用於將環戊烯酮衍生物或其光學活性體或其鹽添加至食品或飲料，使食品或飲料防腐之方法。

本發明之抗菌劑為對革蘭氏陽性菌、革蘭氏陰性菌兩者具有效果。再者，本發明之抗菌劑對於蛀牙菌和牙周病菌亦顯示出抗菌活性，並可提供含有本發明抗菌劑之口腔內用劑。口腔內用劑之形狀可為液狀、糊狀等之公知形狀。口腔內用劑可例示牙膏劑。又，經由使用本發明之抗菌劑，則可提供抗菌性化粧品材料。再者，經由使用本發明之抗菌劑，則可提供沐浴用劑。

依據本發明所得之環戊烯酮衍生物或其光學活性體或其鹽可由環戊烯酮及任意之羧酸或其反應性衍生物，以良好之效率製造。

含有本發明所得環戊烯酮衍生物或其光學活性體或其鹽作為有效成分之食品或飲料之製法，並無特別限定，可列舉以調理、加工及一般所用之食品或飲料製法予以製造，且若令所製造之食品或飲料中，含有有效量之具生理作用之環戊烯酮衍生物或其光學活性體或其鹽所選出之化合物即可。

本發明所得之環戊烯酮衍生物或其光學活性體或其鹽，即使以其生理活性之有效量進行投予，亦未察見毒性。例如於經口投予之情形中，二丙醯氧基環戊烯酮、二己醯氧基環戊烯酮或二-2-己醯氧基環戊烯酮或其光學活性體或其鹽之任一者，即使以 300mg/kg 對鼠進行單回經口投予亦未察見死亡例。

## 五、發明說明 ( )

拌 3 小時。反應液以氯仿萃取，取得二乙醯氧基環戊烯酮 36 毫克。

所得之二乙醯氧基環戊烯酮的質量分析為使用 DX302 質量分析計(日本電子公司製)進行。又，溶解於  $\text{CDCl}_3$  中，並以 NMR 解析其構造。核磁共振裝置為使用 JNM-A500(日本電子公司製)。其結果示於下。 $^1\text{H}$ -NMR 之化學位移值為視氯仿之化學位移值為 7.24ppm 而表示。

MS  $m/z$  199 ( $\text{M}+\text{H}$ )<sup>+</sup>

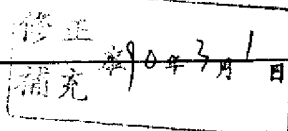
$^1\text{H}$ -NMR

$\delta$  2.12 (3H, S,  $-\text{OCOCH}_3$ ), 2.16 (3H, S,  $-\text{OCOC}$   
 $\text{H}_3$ ), 5.16 (1H, d,  $J=3.0\text{Hz}$ , H-5), 5.89 (1H, m,  
H-4), 6.40 (1H, d-d,  $J=1.5, 6.5\text{Hz}$ , H-2), 7.  
43 (1H, d-d,  $J=2.5, 6.5\text{Hz}$ , H-3)

第 1 圖中示出二乙醯氧基環戊烯酮之質譜，第 2 圖中示出其  $^1\text{H}$ -NMR 光譜。第 1 圖中橫軸為表示  $m/z$  值、縱軸為表示相對強度(%)。又，第 2 圖中橫軸為表示化學位移值(ppm)、縱軸為表示訊號之強度。

(3)使用實施例 1-(1)之方法所得之(-)體環戊烯酮 15.9 毫克並且進行與上述實施例 1-(2)同樣之反應，取得二乙醯氧基(-)體環戊烯酮 15.1 毫克。與上述實施例 1-(2)同樣地進行質量分析和核磁共振之構造解析，取得與上述實施例 1-(2)同樣之結果。

(4)使用實施例 1-(1)之方法所得之(+)體環戊烯酮 16.7 毫克並且進行與上述實施例 1-(2)同樣之反應，取得二乙



## 五、發明說明 ( )

醯氧基(+)體環戊烯酮 18.8 毫克。與上述實施例 1-(2)同樣地進行質量分析和核磁共振之構造解析，取得與上述實施例 1-(2)同樣之結果。

(5)於環戊烯酮 13.8 毫克中加入苯甲酸(中瀨 Tesc 公司製 041-20)44.3 毫克、二甲胺基吡啶(DMAP:東京化成工業公司製 D1450)7.5 毫克，N,N'-二環己基碳化二亞胺(DCC:Paptide 研究所公司製 1001)51.0 毫克且添加氯仿 5 毫升，且於冰冷中攪拌 4 小時。將過濾反應液所得之液體加至矽膠柱(75 毫升)，以氯仿溶出並取得含有二苯甲醯氧基環戊烯酮之餾分。將此餾分之溶劑於減壓下除去，並將殘渣以乙醇溶解後，以氯仿和甲醇之 99:1 混合液作為展開溶劑之矽膠薄層層析予以分離。將  $R_f = 0.45 \sim 0.55$  部分之矽膠由薄層上刮出，且以氯仿萃取可取得二苯甲醯氧基環戊烯酮 3.2 毫克。

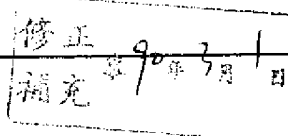
所得之二苯甲醯氧基環戊烯酮之質量分析和核磁共振之構造解析為與上述實施例 1-(2)同樣地進行。其結果示於下。

MS  $m/z$  323 ( $M+H$ )<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H-NMR

$\delta$  5.56 (1H, d,  $J = 3.0$  Hz, H-5), 6.30 (1H, m, H-4), 6.54 (1H, d-d,  $J = 1.5, 6.5$  Hz, H-2), 7.44 (4H, m, 芳香環之H), 7.58 (2H, m, 芳香環之H), 7.64 (1H, d-d,  $J = 2.0, 6.5$  Hz, H-3), 8.06 (4H, m,

芳香環之 H)



## 五、發明說明 ( )

第 3 圖中示出二苯甲醯氧基環戊烯酮之質譜，第 4 圖中示出其  $^1\text{H-NMR}$  光譜。第 3 圖中橫軸為表示  $m/z$  值、縱軸為表示相對強度 (%)。又，第 4 圖中橫軸為表示化學位移值 (ppm)、縱軸為表示訊號之強度。

(6) 使用 (-) 體環戊烯酮 22.1 毫克、苯甲酸 71.9 毫克、DMAP 12.1 毫克、DCC 80.3 毫克，進行與上述實施例 1-(5) 同樣之反應，取得二苯甲醯氧基 (-) 體環戊烯酮 19.2 毫克。與上述實施例 1-(5) 同樣地進行質量分析和核磁共振之構造解析，取得與上述實施例 1-(5) 同樣之結果。

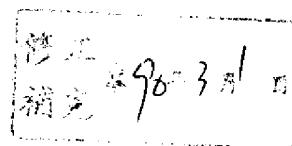
(7) 使用 (+) 體環戊烯酮 20.4 毫克、苯甲酸 65.6 毫克、DMAP 11.0 毫克、DCC 74.3 毫克，進行與上述實施例 1-(5) 同樣之反應，取得二苯甲醯氧基 (+) 體環戊烯酮 21.4 毫克。與上述實施例 1-(5) 同樣地進行質量分析和核磁共振之構造解析，取得與上述實施例 1(5) 同樣之結果。

(8) 將環戊烯酮 30 毫克、DMAP 10 毫克、己酸 (中瀨 Tesc 公司製 070-26) 153 毫克溶解於 5.9 毫升之二氯甲烷中，並於冰冷下加入 DCC 108 毫克。反應 1 小時後，以氯仿作為展開溶劑之矽膠薄層層析，分離精製反應液。將  $R_f = 0.3 \sim 0.4$  部分之矽膠由薄層刮出，以氯仿萃取則可取得 11 毫克之二己醯氧基環戊烯酮。

將所得之二己醯氧基環戊烯酮溶解於  $\text{CDCl}_3$  並以核磁共振法 (NMR) 予以確認。核磁共振裝置為使用 JNM-EX270 FT NMR 系統 (日本電子公司製)。又  $^1\text{H-NMR}$  化學位移值為以四甲基矽烷之化學位移值為 0 ppm 而表示。

## 五、發明說明( )

其結果示於下。



<sup>1</sup>H-NMR

δ 7.44 (1H, dd,  $J_{2-3} = 6.27 \text{ Hz}$ ,  $J_{3-4} = 1.98 \text{ Hz}$ , H-3), 6.42 (1H, dd,  $J_{2-3} = 6.27 \text{ Hz}$ ,  $J_{3-4} = 1.32 \text{ Hz}$ , H-2), 5.91 (1H, m, H-4), 5.16 (1H, d,  $J_{4-5} = 2.97 \text{ Hz}$ , H-5), 2.42 (2H, t,  $J = 7.26 \text{ Hz}$ ), 2.38 (2H, t,  $J = 7.76 \text{ Hz}$ ), 1.65 (4H, m), 1.26 (8H, m), 0.88 (6H, t)

於第 5 圖中示出二己醯氧基環戊烯酮之 <sup>1</sup>H-NMR 光譜。第 5 圖中橫軸為表示化學位移值 (ppm)、縱軸為表示訊號之強度。

(9)將環戊烯酮 30 毫克、DMAP 10 毫克、肉豆己酸(東京化成工業公司製 M0476)301 毫克溶解於 5.9 毫升之二氯甲烷中，冰冷下加入 DCC 108 毫克。反應 1 小時後，以氯仿作為展開溶劑之矽膠薄層層析，分離反應液。將  $R_f = 0.45 \sim 0.55$  部分之矽膠由薄層刮出，以氯仿萃取則可取得 53 毫克之二肉豆冠醯氧基環戊烯酮。

所得之二肉豆冠醯氧基環戊烯酮之核磁共振的構造解析，為與實施例 1-(8)同樣地進行。其結果示於下。

<sup>1</sup>H-NMR

δ 7.45 (1H, dd,  $J_{2-3} = 5.94 \text{ Hz}$ ,  $J_{3-4} = 2.31 \text{ Hz}$ , H-3), 6.42 (1H, dd,  $J_{2-3} = 5.31 \text{ Hz}$ ,  $J_{3-4} = 1.32 \text{ Hz}$ , H-2), 5.92 (1H, m, H-4), 5.16 (1H, d,  $J_{4-5} = 2.64 \text{ Hz}$ , H-5), 2.42 (2H, t,  $J = 7.26 \text{ Hz}$ ), 2.38 (2H, t,  $J = 7.91 \text{ Hz}$ ), 1.63 (4H, m), 1.26 (32H, m), 0.88 (6H, t)

修正  
補充 90年3月

## 五、發明說明 ( )

第 6 圖中示出二肉豆蔻醯氧基環戊烯酮之  $^1\text{H-NMR}$  光譜。  
第 6 圖中橫軸為表示化學位移值 (ppm)、縱軸為表示訊號之強度。

(10) 將環戊烯酮 30 毫克、DMAP 10 毫克、辛酸 (中瀨 Tesc 公司製 071-11) 190 毫克溶解於 5.9 毫升之二氯甲烷中，冰冷下加入 DCC 108 毫克。反應 1 小時後，以氯仿作為展開溶劑之矽膠薄層層析，分離反應液。將  $R_f = 0.25 \sim 0.35$  部分之矽膠由薄層刮出，以氯仿萃取則可取得 27 毫克之二辛醯氧基環戊烯酮。

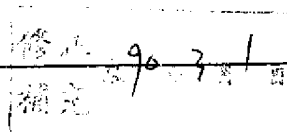
所得之二辛醯氧基環戊烯酮之核磁共振的構造解析，為與實施例 1-(8) 同樣地進行。其結果示於下。

### $^1\text{H-NMR}$

$\delta$  7.44 (1H, dd,  $J_{2-3} = 6.1 \text{ Hz}$ ,  $J_{3-4} = 2.16 \text{ Hz}$ , H-3), 6.41 (1H, dd,  $J_{2-3} = 6.1 \text{ Hz}$ ,  $J_{3-4} = 1.48 \text{ Hz}$ , H-2), 5.92 (1H, m, H-4), 5.16 (1H, d,  $J_{4-5} = 2.97 \text{ Hz}$ , H-5), 2.42 (2H, t,  $J = 7.59 \text{ Hz}$ ), 2.38 (2H, t,  $J = 7.91 \text{ Hz}$ ), 1.65 (4H, m), 1.29 (16H, m), 0.88 (6H, t)

第 7 圖中示出二辛醯氧基環戊烯酮之  $^1\text{H-NMR}$  光譜。  
第 7 圖中橫軸為表示化學位移值 (ppm)、縱軸為表示訊號之強度。

(11) 將環戊烯酮 30 毫克、DMAP 10 毫克、3-辛烯酸 (東京化成工業公司製 00070) 190 毫克溶解於 5.9 毫升之二氯甲烷中，冰冷下加入 DCC 108 毫克。反應 1 小時後，以氯仿



## 五、發明說明 ( )

作為展開溶劑之矽膠薄層層析，分離反應液。將  $R_f = 0.25 \sim 0.35$  部分之矽膠由薄層刮出，以氯仿萃取則可取得 25 毫克之二-3-辛烯醯氧基環戊烯酮。

所得之二-3-辛烯醯氧基環戊烯酮之核磁共振的構造解析，為與實施例 1-(8) 同樣地進行。其結果示於下。

### $^1\text{H-NMR}$

$\delta$  7.44 (1H, dd,  $J_{2-3} = 6.27\text{ Hz}$ ,  $J_{3-4} = 2.32\text{ Hz}$ , H-3), 6.42 (1H, dd,  $J_{2-3} = 6.27\text{ Hz}$ ,  $J_{3-4} = 1.49\text{ Hz}$ , H-2), 5.91 (1H, m, H-4), 5.55 (4H, m), 5.16 (1H, d,  $J_{4-5} = 2.97\text{ Hz}$ , H-5), 3.12 (4H, dd,  $J = 12.85\text{ Hz}$ ,  $J = 6.59\text{ Hz}$ ), 2.04 (4H, m), 1.33 (8H, m), 0.89 (6H, t)

第 8 圖中示出二-3-辛烯醯氧基環戊烯酮之  $^1\text{H-NMR}$  光譜。第 8 圖中橫軸為表示化學位移值 (ppm)、縱軸為表示訊號之強度。

(12) 將環戊烯酮 30 毫克、DMAP 10 毫克、正-丁酸 (東京化成工業公司製 B0754) 115 毫克溶解於 5.9 毫升之二氯甲烷中，冰冷下加入 DCC 108 毫克。反應 1 小時後，以氯仿作為展開溶劑之矽膠薄層層析，分離反應液。將  $R_f = 0.20 \sim 0.30$  部分之矽膠由薄層刮出，以氯仿萃取則可取得 16 毫克之二丁醯氧基環戊烯酮。

所得之二丁醯氧基環戊烯酮之核磁共振的構造解析，為與實施例 1-(8) 同樣地進行。其結果示於下。

### $^1\text{H-NMR}$

## 五、發明說明( )

90321

$\delta$  7.45 (1H, dd,  $J_{2-3} = 6.27 \text{ Hz}$ ,  $J_{3-4} = 2.13 \text{ Hz}$ , H-3), 6.42 (1H, dd,  $J_{2-3} = 6.27 \text{ Hz}$ ,  $J_{3-4} = 1.65 \text{ Hz}$ , H-2), 5.91 (1H, m, H-4), 5.16 (1H, d,  $J_{4-5} = 2.64 \text{ Hz}$ , H-5)

第 9 圖中示出二丁醯氧基環戊烯酮之  $^1\text{H-NMR}$  光譜。第 9 圖中橫軸為表示化學位移值 (ppm)、縱軸為表示訊號之強度。

(13) 將環戊烯酮 30 毫克、DMAP 10 毫克、正-癸酸 (東京化成工業公司製 D0017) 226 毫克溶解於 5.9 毫升之二氯甲烷中，冰冷下加入 DCC 108 毫克。反應 1 小時後，以氯仿作為展開溶劑之矽膠薄層層析，分離反應液。將  $R_f = 0.35 \sim 0.45$  部分之矽膠由薄層刮出，以氯仿萃取則可取得 35 毫克之二癸醯氧基環戊烯酮。

所得之二癸醯氧基環戊烯酮之核磁共振的構造解析，為與實施例 1-(8) 同樣地進行。其結果示於下。

 $^1\text{H-NMR}$ 

$\delta$  7.44 (1H, dd,  $J_{2-3} = 6.27 \text{ Hz}$ ,  $J_{3-4} = 1.97 \text{ Hz}$ , H-3), 6.42 (1H, dd,  $J_{2-3} = 6.27 \text{ Hz}$ ,  $J_{3-4} = 1.3 \text{ Hz}$ , H-2), 5.91 (1H, m, H-4), 5.15 (1H, d,  $J_{4-5} = 2.97 \text{ Hz}$ , H-5), 2.42 (2H, t,  $J = 7.24 \text{ Hz}$ ), 2.38 (2H, t,  $J = 7.91 \text{ Hz}$ ), 1.65 (4H, m), 1.26 (24H, m), 0.88 (6H, t)

第 10 圖中示出二癸醯氧基環戊烯酮之  $^1\text{H-NMR}$  光譜。第 10 圖中橫軸為表示化學位移值 (ppm)、縱軸為表示訊號

## 五、發明說明( )

90 3210  
22元

之強度。

(14)將環戊烯酮 30 毫克、DMAP 16 毫克、三乙胺(東京化成工業公司製 T0424)66 毫克及無水正戊酸(東京化成工業公司製 V0006)122 毫克溶解於 5.9 毫升之二氯甲烷中，於冰冷下反應 1 小時。此反應液以氯仿：甲醇 = 200：1 作為展開溶劑之矽膠薄層層析予以展開，並將  $R_f = 0.7 \sim 0.8$  部分之矽膠由薄層刮出，以氯仿萃取則可取得 39 毫克之二戊醯氧基環戊烯酮。

所得之二戊醯氧基環戊烯酮之核磁共振的構造解析，為與實施例 1-(8)同樣地進行。其結果示於下。

 $^1\text{H-NMR}$ 

$\delta$  7.45 (1H, dd,  $J_{2-3} = 6.11 \text{ Hz}$ ,  $J_{3-4} = 1.66 \text{ Hz}$ , H-3)、6.42 (1H, dd,  $J_{2-3} = 6.11 \text{ Hz}$ ,  $J_{3-4} = 1.66 \text{ Hz}$ , H-2)、5.91 (1H, m, H-4)、5.16 (1H, d,  $J_{4-5} = 2.97 \text{ Hz}$ , H-5)、2.43 (2H, dd,  $J = 7.59$ , 7.59 Hz)、2.39 (2H, dd,  $J = 7.59$ , 7.59 Hz)、1.65 (4H, m)、1.38 (4H, m)、0.93 (6H, dd,  $J = 7.26$ , 7.26 Hz)

第 11 圖中示出二戊醯氧基環戊烯酮之  $^1\text{H-NMR}$  光譜。第 11 圖中橫軸為表示化學位移值 (ppm)、縱軸為表示訊號之強度。

(15)將環戊烯酮 30 毫克、DMAP 16 毫克、三乙胺 66 毫克及無水丙酸(東京化成工業公司製 P0513)86 毫克溶解於 5.9 毫升之二氯甲烷中，於冰冷下反應 1 小時。此反

## 五、發明說明 ( )

應液以氯仿：甲醇 = 200：1 作為展開溶劑之矽膠薄層層析予以展開，並將  $R_f = 0.5 \sim 0.6$  部分之矽膠由薄層刮出，以氯仿萃取則可取得 31 毫克之二丙醯氧基環戊烯酮。

所得之二丙醯氧基環戊烯酮之核磁共振的構造解析，為與實施例 1-(8) 同樣地進行。其結果示於下。

### $^1\text{H-NMR}$

$\delta$  7.45 (1H, dd,  $J_{2-3} = 6.27 \text{ Hz}$ ,  $J_{3-4} = 2.15 \text{ Hz}$ , H-3)、6.42 (1H, dd,  $J_{2-3} = 6.27 \text{ Hz}$ ,  $J_{3-4} = 1.49 \text{ Hz}$ , H-2)、5.91 (1H, m, H-4)、5.16 (1H, d,  $J_{4-5} = 2.97 \text{ Hz}$ , H-5)、2.46 (2H, dd,  $J = 15.01, 7.59 \text{ Hz}$ )、2.42 (2H, dd,  $J = 15.01, 7.59 \text{ Hz}$ )、1.18 (6H, dd,  $J = 7.59, 7.59 \text{ Hz}$ )

第 12 圖中示出二丙醯氧基環戊烯酮之  $^1\text{H-NMR}$  光譜。第 12 圖中橫軸為表示化學位移值 (ppm)、縱軸為表示訊號之強度。

(16) 將環戊烯酮 2 毫克、DMAP 733 毫克、反式-2-己烯酸 (東京化成工業公司製、H0383) 4.1 毫升及 DCC 5.57 克溶解於 200 毫升之二氯甲烷中，並於室溫下反應 2 小時。此反應以己烷：醋酸乙酯 = 8：1 作為溶劑進行矽膠柱層析，並於矽膠薄層層析上取得顯示出單一點漬之餾分。將此餾分於減壓下濃縮，取得油狀之二-2-己醯氧基環戊烯酮約 900 毫克。

所得之二-2-己醯氧基環戊烯酮之核磁共振的構造解析，為與實施例 1-(8) 同樣地進行。其結果示於下。

# 五、發明說明 ( )

修正  
補充  
90年3月1日

## <sup>1</sup>H-NMR

δ 0.92 (6H, m, 11-H+11'-H)、1.48 (4H, m, 10-H+10'-H)、2.18 (4H, m, 9-H, 9'-H)、5.22 (1H, d, J=3.0 Hz, 5-H)、5.85 (2H, m, 7-H+7'-H)、5.98 (1H, m, 4-H)、6.41 (1H, dd, J=1.0, 6.0 Hz, 2-H)、7.04 (2H, m, 8-H+8'-H)、7.47 (1H, dd, J=2.0, 6.0 Hz, 3-H)

尚，於環戊烯酮第5位所結合之2-己醯氧基之碳為由羰基開始之順序之第6~11位，環戊烯酮第4位所結合之2-己醯氧基之碳為由羰基開始之順序之第6'位~11'位。

於第13圖中示出二-2-己醯氧基環戊烯酮之<sup>1</sup>H-NMR光譜。第13圖中橫軸為表示化學位移值(ppm)、縱軸為表示訊號強度。

## 實施例 2

(1)將二乙醯氧基環戊烯酮、二乙醯氧基(-)體環戊烯酮、二乙醯氧基(+)體環戊烯酮、二苯甲醯氧基環戊烯酮、二苯甲醯氧基(-)體環戊烯酮、二苯甲醯氧基(+)體環戊烯酮、二乙醯氧基環戊烯酮、二肉豆蔻醯氧基環戊烯酮、二辛醯氧基環戊烯酮、二-3-辛醯氧基環戊烯酮、二丁醯氧基環戊烯酮、二癸醯氧基環戊烯酮、二戊醯氧基環戊烯酮、二丙醯氧基環戊烯酮及二-2-己醯氧基環戊烯酮之各1mM乙醇溶液，以70%乙醇水溶液稀釋。

將各稀釋液注入96孔穴微標度平板之孔穴中，於風乾

## 五、發明說明 ( )

表 1

修正 890315  
補充

| 物 質 名          | 細胞增殖抑制濃度<br>( $\mu\text{m}$ ) |
|----------------|-------------------------------|
| 二乙醯氧基環戊烯酮      | 3.9                           |
| 二乙醯氧基(-)體環戊烯酮  | 3.9                           |
| 二乙醯氧基(+)體環戊烯酮  | 3.9                           |
| 二苯甲醯氧基環戊烯酮     | 7.7                           |
| 二苯甲醯氧基(-)體環戊烯酮 | 7.7                           |
| 二苯甲醯氧基(+)體環戊烯酮 | 7.7                           |
| 二己醯氧基環戊烯酮      | 3.0                           |
| 二肉豆蔻醯氧基環戊烯酮    | 187                           |
| 二辛醯氧基環戊烯酮      | 9.8                           |
| 二-3-辛醯氧基環戊烯酮   | 5.0                           |
| 二丁醯氧基環戊烯酮      | 3.4                           |
| 二癸醯氧基環戊烯酮      | 17.2                          |
| 二戊醯氧基環戊烯酮      | 6.2                           |
| 二丙醯氧基環戊烯酮      | 3.8                           |
| 二-2-己醯氧基環戊烯酮   | 6.2                           |

於各細胞增殖抑制濃度中，於細胞形成細胞自滅小體。

又，此些化合物之光學活性體亦顯示出同樣的細胞增殖抑制作用、細胞自滅誘發作用。

## 五、發明說明( )

### 實施例 3

將金黃葡萄球菌 3A(NCTC 8319、受檢菌①)、枯草桿菌 IF0 3021(受檢菌②)、及銅綠假單細菌 IF0 3081(受檢菌③)於敏感性肉汁培養(日水公司製)中培養 1 晚(種培養)。測定 600nm 之吸光度，由顯示出事先作成之各菌株的生菌數與 600nm 吸光度之關係檢量線計算生菌數。以新鮮的敏感性肉汁培養基稀釋成  $1 \times 10^6$  個/毫升之培養液，並於 96 孔穴微標度平板之各孔穴中分注 180 微升。將實施例 1-(8)所得之二己醯氧基環戊烯酮之各 2000 微克/毫升、1000 微克/毫升、500 微克/毫升、250 微克/毫升、125 微克/毫升、62.5 微克/毫升水溶液或水，於各孔穴中加入 20 微升，並於 37℃ 下靜置培養 1 晚(本培養)。尚，將部分的種培養液以無菌水稀釋，塗布於敏感性肉汁洋菜平板培養基上且於 37℃ 下培養 1 晚後，計數其菌落，測定出正確的生菌數。

本培養後之各孔穴的培養液以滅菌水稀釋並塗布於敏感性肉汁洋菜平板培養基，且於 37℃ 下培養一晚後，計數菌落，測定生菌數。

與添加水之孔穴比較，且將生菌數變少之最小濃度視為增殖抑制濃度，並以比本培養開始時更少生菌數之最小濃度視為殺菌濃度。其結果示為表 2。

表 2 中之數值為二己醯氧基環戊烯酮對於受檢菌①至③，顯示出增殖抑制作用和殺菌作用之培養液中的濃度，單位為微克/毫升。

# 五、發明說明( )

表 2

|         | 增 殖 抑 制 濃 度 | 殺 菌 濃 度 |
|---------|-------------|---------|
| 受 檢 菌 ① | 100         | 100     |
| 受 檢 菌 ② | 100         | 100     |
| 受 檢 菌 ③ | 200         | 200     |

由以上可知，二己醯氧基環戊烯酮為具有強力的抗菌活性。又，實施例 1 所調製之另外的化合物，其光學活性體，亦顯示出與二己醯氧基環戊烯酮同樣的抗菌活性。

## 實施例 4

### 注射劑

(1)於生理食鹽水(同前述)中加入 1% 濃度之二乙醯氧基環戊烯酮、或二己醯氧基環戊烯酮，製作注射劑。

(2)於生理食鹽水(同前述)中加入各 0.5% 及 0.1% 濃度之二苯甲醯氧基環戊烯酮、或二丁醯氧基環戊烯酮及甘草酸，製作注射劑。

## 實施例 5

### 錠劑

(1)調製含有二苯甲醯氧基環戊烯酮 100 毫克和微結晶性纖維素適量之錠劑，施以糖衣，製作成錠劑。

(2)調製含有二乙醯氧基(-)體環戊烯酮 0.1 毫克、甘草酸二鉀 10 毫克及微結晶纖維素適量之錠劑，施以糖衣，

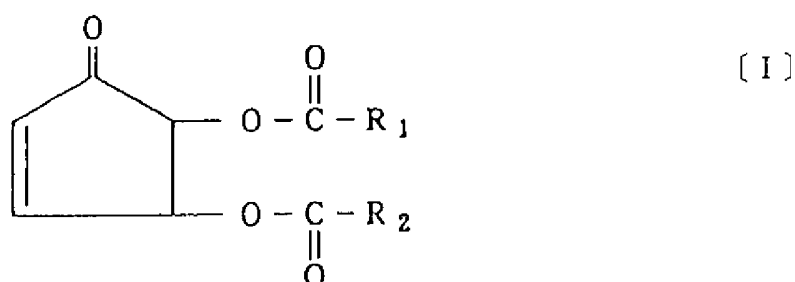
## 六、申請專利範圍

第 87103046 號「環戊烯酮衍生物」專利案

(90 年 3 月 1 日修正)

## 六 申請專利範圍：

1. 一種下述一般式〔I〕所示之環戊烯酮衍生物或其鹽，



(式中， $R_1$ 、 $R_2$  為相同或相異之  $C_{1-13}$  之直鏈或分支烷基、 $C_{2-7}$  之直鏈或分支烯基、或苯基；但， $R_1 = R_2 = -CH_3$  之情況除外)。

2. 一種制癌用之醫藥組成物，其特徵為含有如申請專利範圍第 1 項之環戊烯酮衍生物或其鹽所選出之化合物作為有效成分。
3. 一種誘發細胞自滅用之醫藥組成物，其特徵為含有如申請專利範圍第 1 項之環戊烯酮衍生物或其鹽所選出之化合物作為有效成分。
4. 一種抗菌用醫藥組成物，其特徵為含有如申請專利範圍第 1 項之環戊烯酮衍生物或其鹽所選出之化合物作為有效成分。
5. 一種一般式〔II〕所示環戊烯酮衍生物之製法，其特徵為令下述式〔III〕所示之 4,5-二羥基-2-環戊烯