

發明專利說明書 200529807

(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：9313756²

※申請日期：93.12.3

※IPC 分類：A61K^{31/12}

A23L^{1/29}

一、發明名稱：(中文/英文)

治療劑

二、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

日商寶生物股份有限公司

TAKARA BIO INC.

代表人：(中文/英文)

加藤 郁之進

KATO, IKUNOSHIN

住居所或營業所地址：(中文/英文)

日本國滋賀縣大津市瀬田三丁目 4 番 1 號

4-1, SETA 3-CHOME, OTSU-SHI, SHIGA-KEN, JAPAN

國籍：(中文/英文)

日本 JAPAN

三、發明人：(共 6 人)

姓 名：(中文/英文)

1. 大野木 宏
OHNOGI, HIROMU
2. 杉山 勝美
SUGIYAMA, KATSUMI
3. 榎 龍嗣
ENOKI, TATSUJI
4. 小林 英二
KOBAYASHI, EIJI
5. 佐川 裕章
SAGAWA, HIROAKI
6. 加藤 郁之進
KATO, IKUNOSHIN

國 籍：(中文/英文)

- 1.-6.均日本 JAPAN

四、聲明事項：

主張專利法第二十二條第二項第一款或第二款規定之事實，其事實發生日期為： 年 月 日。

申請前已向下列國家(地區)申請專利：

【格式請依：受理國家(地區)、申請日、申請案號 順序註記】

有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1. 日本；2003年12月05日；特願2003-408215

2.

無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1.

2.

主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

主張專利法第三十條生物材料：

須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

九、發明說明：

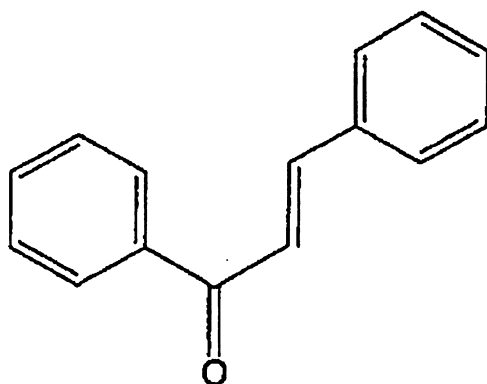
【發明所屬之技術領域】

本發明係關於一種新穎苯基苯乙炔酮類化合物以及利用該化合物生理作用之醫藥品及飲食品。

【先前技術】

苯基苯乙炔酮類化合物係下式[化1]所示，具有苯基苯乙炔酮骨架之化合物之總稱。該等化合物已知有由天然萃取或人工合成之各種化合物。

[化1]



又，該等化合物有多種各自不同之生理活性，例如，細胞毒性，抗癌性，化學防禦，抗過敏原性，抗菌活性，抗病毒性，抗原蟲性，殺蟲作用等已廣為人知(例如，非專利文獻1)。此外，本發明者發現該等苯基苯乙炔酮類化合物有神經生長因子(NGF)產生增強作用(例如：專利文獻1)。

專利文獻1：國際公開第01/54682號公報

非專利文獻1：J. R. Dimmock, 另外3名, Current Medicinal Chemistry(荷蘭), 1999年, Vol.6, p.1125~1149。

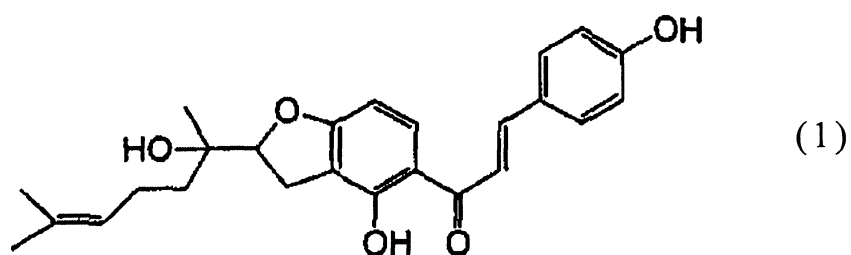
【發明內容】

發明所欲解決之課題

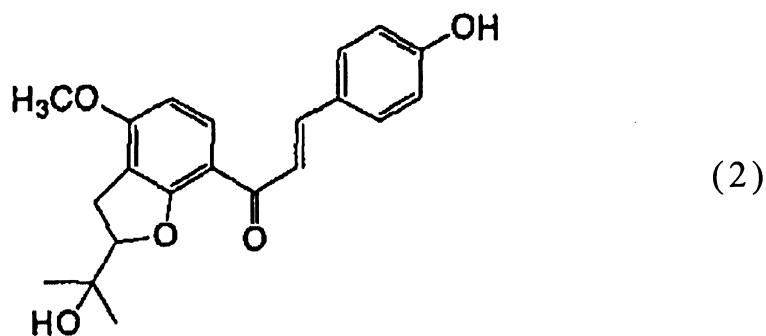
本發明之目的係提供一種新穎苯基苯乙炔酮化合物及利用其生理作用之醫藥品及飲食品。

概說本發明，本發明之第1發明係一種苯基苯乙炔酮類化合物，其衍生物及其鹽，其包含下式(1)~(9)中任一式所表示。

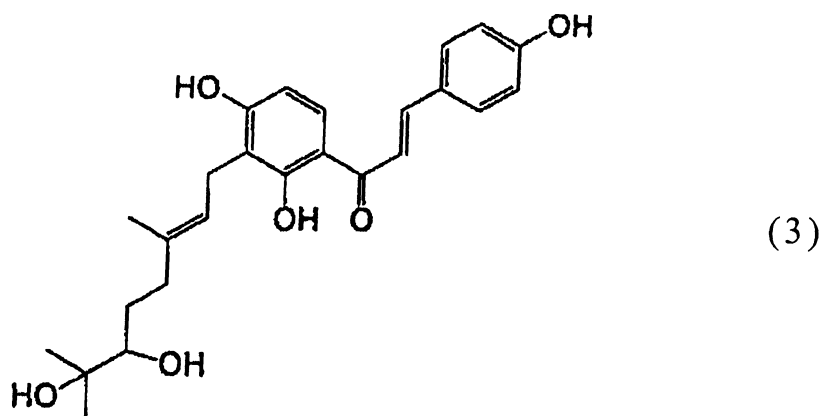
[化2]



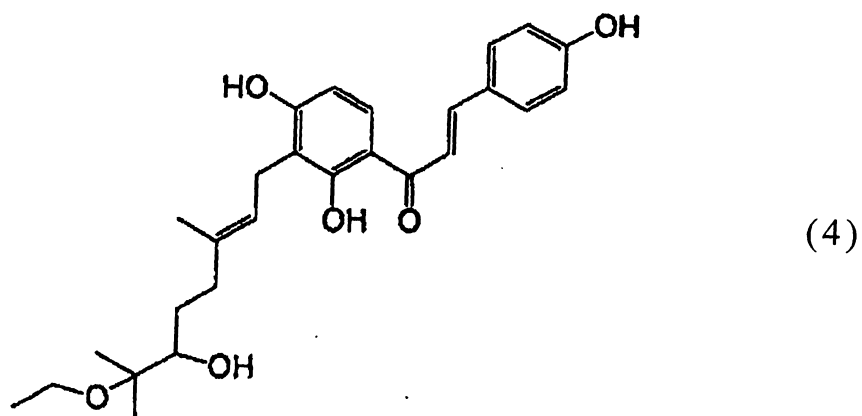
[化3]



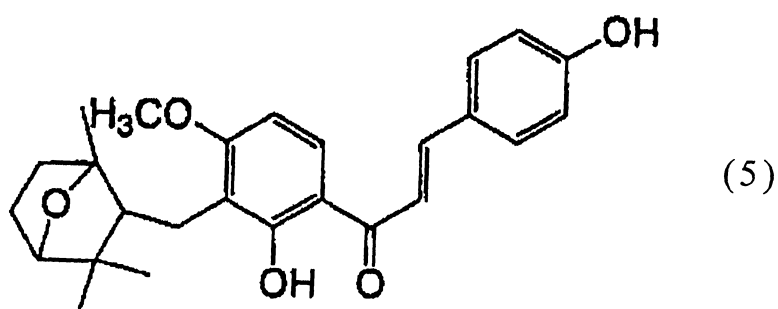
[化 4]



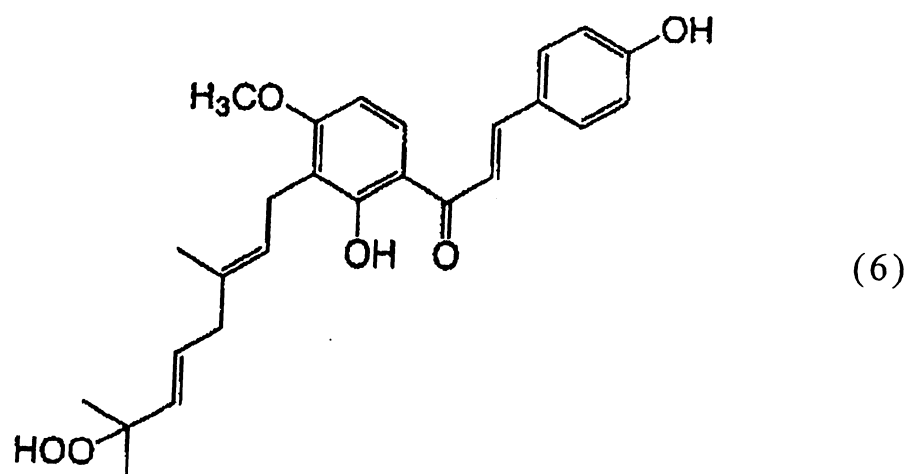
[化 5]



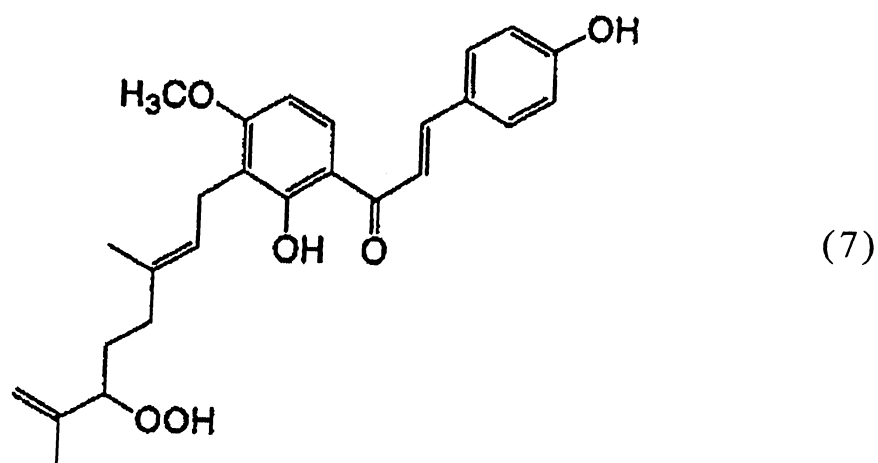
[化 6]



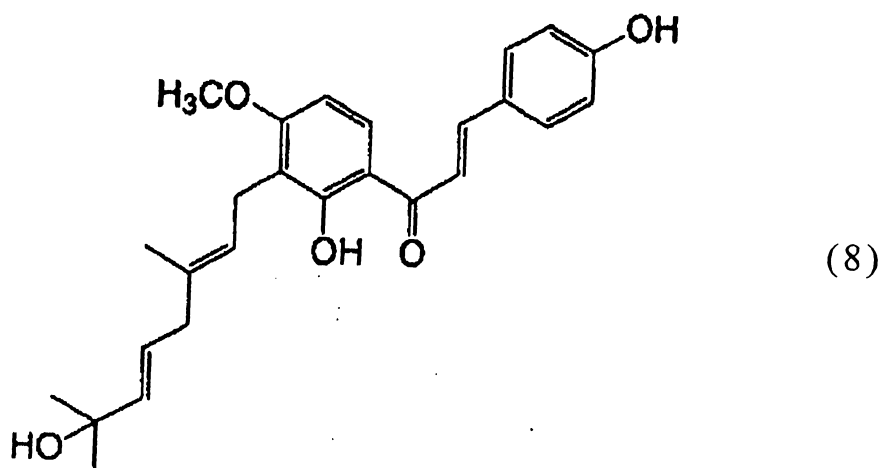
[化 7]



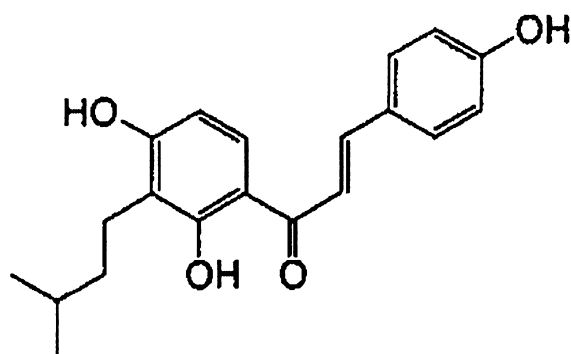
[化 8]



[化 9]



[化 10]



(9)

本發明之第2發明係一種治療劑或預防劑，其特徵在於包含以第1發明之化合物，其衍生物或其鹽作為其有效成份，其係治療或預防對該化合物顯示感受性疾病者。於本發明第2發明中，作為對該化合物顯示有感受性之疾病，可例舉如在於治療及預防需要抑制產生一氧化氮(NO)或者阻礙醛糖還原酶之疾病。

本發明之第3發明係一種NO產生抑制劑或者醛糖還原酶阻礙劑，其特徵在於包含以第1發明之化合物、其衍生物或該等之鹽作為其有效成份。

本發明之第4發明係一種食品、飲料或者飼料，其特徵在於包含第1發明之化合物、其衍生物或該等之鹽。本發明之第4發明之食品、飲料或者飼料能有效地治療或預防對該化合物顯示感受性之疾病。並且該等對該化合物顯示有感受性之疾病係指如需要抑制產生NO或阻礙醛糖還原酶之疾病。

發明之效果

本發明提供一種新穎苯基苯乙烯酮類化合物、其衍生物

或其鹽。由於該化合物具有抑制產生NO作用以及阻礙醛糖還原酶作用，故可利用該化合物、其衍生物或者其鹽之生理活性，將其作為醫藥、食品、飲料或飼料之有效成份。並且，由本發明提供之醫藥等，對於例如需要抑制NO產生或阻礙醛糖還原酶之疾病以及顯示對該化合物有感受性之疾病有治療或預防效果。

【實施方式】

本發明者們發現於上述式(1)~(9)中任一式所表示之新穎苯基苯乙烯酮類化合物、其衍生物或其鹽(於本說明書中有時稱之為本發明之化合物)，該化合物所具有之NO產生抑制作用及醛糖還原酶阻礙作用，可提供以該化合物作為有效成份之醫藥、飲食品以及飼料。再者，本發明之化合物，與其衍生物及其鹽可得同等之作用。上述化學式(1)~(7)係由食用植物芹科之明日葉萃取之新穎苯基苯乙烯酮類化合物。

本發明之化合物，可由天然物、合成品、半合成品而來。作為天然物以食用植物由來為佳，作為食用植物可例示芹科之明日葉。又，於本發明之化合物有各種異構物之情形，其任意一種均可在本發明中使用。本發明之化合物，可以單獨或混合2種以上使用。

如由天然物製造本發明之化合物可以組合習知之製造方法。例如，關於由天然物調製本發明之化合物，可由本發明化合物之含有物，例如明日葉等的植物精製。作為精製手段可用化學方法、物理方法等各種習知之精製手段即可

，可組合如凝膠過濾法、用分子量分離膜之分離法、溶劑萃取法、離子交換樹脂、矽膠、逆相系樹脂等各種層析法等先前習知之精製方法精製本發明之化合物即可。例如，本發明之化合物如上述式(1)~(7)之製造，可參照下述實施例1~7之方法進行。

此外，藉由合成而來之本發明之化合物可由組合習知之製造方法進形。例如，合成方法只要參考Alessandra Lattanzi et al, Synlett. 2002, No. 6, p942-946; L. Claisen A. et al, Ber. 1881, No. 14, p2460等即可。例如，本發明之化合物以上述化學式(9)所表示之化合物之製造可參考下述實施例(9)之化學合成而得。

另外，半合成由來的本發明之化合物之製造，可以例如天然物由來之苯基苯乙烯酮類化合物作為原料進行有機合成。例如，本發明之化合物以上述化學式(8)表示之化合物可參考下述實施例8，由上述化學式(6)所表示之化合物還原而得。還原以外之有機合成方法，並無特別之限定。只要參照如Alessandra Lattanzi et al., Synlett. 2002, No. 6, p942-946; L. Claisen A. et al., Ber. 1881, No. 14, p2460等即可。

於本說明書之上述化學式(1)-(9)所表示之化合物的衍生物係以該化合物作為原料化合物所合成之化合物，具有上述化學式(1)-(9)所表示之化合物同等之作用。即，有NO產生抑制作用或醛糖還原酶阻礙作用之化合物。作為相關衍生物，例如以上述化學式(1)-(9)所表示之化合物之酯體、

醚體及配糖體等可在體內簡單地水解而得到可發揮所期望效果之化合物(劑物前體)。所關劑物前體可依據習知之方法調製。並且，相關衍生物亦可為其鹽。

並且，在本發明之化合物，作為其鹽以藥理學上可准許之鹽為佳。本發明使用之鹽，可例示鹼金屬鹽、鹼土金屬鹽及有機鹼之鹽等。該等鹽以藥理學上可准許之鹽為佳。並且，在本發明中使用之所謂藥理學上可准許之鹽係指對生物實際上無毒害之鹽。做為該當鹽，可舉例如有鈉、鉀、鈣、鎂、銨及質子化之苜星青(N,N'-二苜基乙二胺)、瞻鹼、乙醇胺、二乙醇胺、乙烯二胺、葡甲胺、N-苜苯乙胺、對二氮己環或者2-胺基-2-羥基甲基-1,3丙二醇之鹽等。

本發明提供含有本發明之化合物作為有效成份並對該化合物顯示感受性疾病之治療劑或預防劑(於本說明書中也稱為本發明之治療劑或預防劑)。在此，對該化合物顯示感受性之疾病係指可由該化合物得到治療或者預防效果之疾病。該疾病係指需要NO產生抑制或者醛糖還原酶阻礙之疾病。

實心癌之增大必定伴隨血管新生。血管內皮細胞生長因子/血管通透性亢進因子(VEGF)在此過程中扮演著重要之角色。在各種癌細胞中，VEGF均可由NO誘導產生。即，抑制癌細胞NO之產生可抑制VEGF之產生。其結果抑制了癌周圍組織之血管新生，並使癌脫落。

此外，在PH呈中性之生理條件下NO與胺反應產生亞硝酸。已知此亞硝酸可使DNA受損而致癌。並且，在流行病學

上與癌有很大程度關聯之肝吸血蟲感染患者及肝硬化患者，NO產生亢進。因此，藉由抑制NO產生可預防高危險群之癌發病。

NO誘發於炎症性病可特徵地確認之浮腫，即血管通透性亢進作用[Japanese Journal of Cancer Research, 第85卷, P331-334(1994)]。或會使炎症性媒介之前列腺素類之生合成亢進[Proceedings of the National Academy of sciences of the USA, 第90卷, P7240-7244(1993)]。此外，NO很快與超氧自由基反應生成過氧亞硝酸離子，此過氧亞硝酸離子可引起炎症性細胞及組織之障害。

再者，慢性風濕性關節炎、變形性風濕性關節炎、痛風性關節炎、白塞病等關節炎患者病變部之關節液與同患者之正常關節以及正常人之關節之關節液相比，前者含有高濃度之NO。

本發明之化合物如實施例11所記載，由於具有抑制產生NO之作用可知其對於上述之癌性病變及炎症性病變為有用之化合物。需要本發明之化合物來有效地抑制產生NO之疾病，例如有癌性病、炎症性病變、慢性風濕性關節炎、變形性風濕性關節炎、痛風性關節炎、白塞病等。

醛糖還原酶(Aldose reductase:以下亦稱為AR。)係與體內葡萄糖代謝途徑之一之多元醇代謝途徑有關之酵素。該途徑係由與AR有關，由葡萄糖至山梨醇之還原途徑及與山梨醇脫氫酶(以下稱為SDH)有關，由山梨醇脫氫而成D-果糖之途徑所組成。流入細胞內之葡萄糖量增大以致於糖分解系

不能分解之葡萄糖增多，使多元醇代謝途徑亢進。然而，由於SDH之活性較AR之活性低，致使葡萄糖持續地向細胞內流入，導致產生了大量的中間代謝產物山梨醇。起因於這種山梨醇聚積之各種疾病，即為糖尿病合併症之疾病，例如已知有白內障、末梢神經疾病、腎臟疾病、白細胞食菌功能低下所引起之感染、糖尿病性昏迷、大血管之粥樣病變導致的動脈硬化等疾病。

由於本發明之化合物如實施例10所記載，具有AR抑制作用，所以對於上述糖尿病合併症來說為有效之化合物。作為需要本發明之化合物有效地抑制AR活性之疾病，如起因於糖尿病合併症之疾病，例如有白內障、末梢神經疾病、腎臟疾病、白細胞食菌功能低下引起之感染、糖尿病性昏迷、大血管之粥樣病變導致之動脈硬化等疾病。此外，本發明之化合物亦能與其他糖尿病治療劑並用。

上述本發明之治療劑或預防劑可將本發明之化合物作為其有效成份，組合習知之醫藥用担體進行製劑化來製造。一般地，該化合物與藥理學上可准許的液狀或固狀之担體組合，並根據需要添加溶劑、分散劑、乳化劑、緩衝劑、安定劑、賦形劑、組合劑、崩壞劑及潤滑劑而製成錠劑，顆粒劑、散劑、粉末劑及膠囊劑等固形劑、普通液劑、懸浮劑及乳劑。此外，還有一種乾燥，可在其使用前添加適當担體而成液狀。

醫藥用担體可根據治療劑或預防劑之投劑形態及劑型來選擇。固形組合物製成之經口劑可利用如澱粉、乳糖、白

糖、甘露糖醇、羧甲基纖維素鈉、玉米粉、無機鹽而製成錠劑、丸劑、膠囊劑、散劑、細粒劑、顆粒劑等等。並且經口劑之調製時尚可調合組合劑、崩壞劑、界面活性劑、潤滑劑、流動促進劑、矯味劑、著色劑、香料等等。例如，錠劑及丸劑可根據需要被覆砂糖、骨膠、羥丙基纖維素等糖衣或者胃溶性或腸溶性之薄膜。液體組合物製成之經口劑可使用藥理學上可准許之乳濁劑、溶液劑、懸浮劑、糖漿劑等等，可利用例如精製水、乙醇等担體。還可根據需要添加濕潤劑、懸浮劑等輔助劑、甘味劑、風味劑、防腐劑等。

此外，非經口劑可遵照常用方法將本發明之上述有效成份作為稀釋劑溶解或懸浮於注射用蒸餾水、生理食鹽水、葡萄糖液、注射用植物油、芝麻油、花生油、大豆油、玉米油、丙二醇及聚乙二醇等，必要時可在調製時加入殺菌劑、安定劑、等張化劑及無痛化劑等等。並且，尚可預先製造固形組合物，在使用前用滅菌水或無菌之注射用溶劑溶解。

本發明之預防劑或治療劑也可製成外用劑。外用劑包含經皮投與或經黏膜(口腔內、鼻腔內)投與用之固形、半固形或液狀之製劑。而且還包含坐劑。如該等外用劑，例如有乳劑及洗劑等之乳濁劑、外用酞劑、經黏膜投與用液劑等之液狀製劑、油性軟膏及親水性軟膏等之軟膏劑、薄膜劑、膠帶劑、噴劑等之經皮投與用或經黏膜投與用的貼劑等等。

上述之各種治療劑或預防劑之製劑形態，利用其各自習知的醫藥用担體可用適宜的通常的方法來製造。並且該等治療劑或預防劑中有效成份之含有量應綜合考慮投與形態及投與方法等，以該有效成份在後敘之投與量範圍內為佳並且如投與可能的話，並無特別之限定。

本發明之治療劑或預防劑中上述有效成份之含有量雖無特別之限定，通常以0.001~80重量%為最適濃度，0.01~50重量%更佳，特別以0.1~20重量%為最佳。

本發明之治療劑或預防劑之投與量應根據製劑形態，投與方法，使用目的及患者之年齡、體重及症狀等設定。並非一定，但是一般的，製劑中有效成份之含有量，以人(如成人)每日10 μg ~1 g/kg體重為佳，以50 μg ~500 mg/kg體重為更佳，以100 μg ~100 mg/kg體重為最佳。當然，投與量可隨各種條件而變動，既可能有少於上述投與量亦足夠之情況也可能有需要超出上述範圍之情況。此外，本發明之治療劑或預防劑之投與方法無特別之限定，可根據使用目的及患者之年齡、症狀等合理設定。例如可以經口投與、靜脈內投與及經皮投與等。經口投與時，本發明之治療劑或預防劑既可原樣經口投與，亦可添加在任意飲食品中日常攝取。

此外，在本說明書中，醫藥並非只指本發明之治療劑或預防劑，尚包含以下記載的本發明之NO產生抑制劑或醛糖還原酶阻礙劑之情形。

再者，本發明還提供將本發明之化合物作為其有效成份

之NO產生抑制劑或醛糖還原酶阻礙劑。本發明之NO產生抑制劑或醛糖還原酶阻礙劑既指上述有效成份之化合物，亦指含有上述有效成份之組合物。就本發明之樣態來說，作為有效成份之鹽為藥理學上可准許使用之鹽。製造本發明之NO產生抑制劑或醛糖還原酶阻礙劑可將上述有效成份及與上述有效成份包含同等用途且可能使用之其他成份調合，遵照上述治療劑或預防劑之製造方法並按照通常使用劑物之形態來製造即可。本發明之NO產生抑制劑或醛糖還原酶阻礙劑中上述有效成份之含有量應綜合考慮投與方法及使用目的，可得本發明所期望之效果即可。其含有量並無特別之限定，通常以0.001~100重量%為適宜濃度，0.01~80重量%更佳，特別以0.1~80重量%為最佳。使用量亦無特別之限定，可得本發明所期望之效果即可。尤其，投與到生體內之時，使用可能投與之量並以在上述治療劑或預防劑中有效成份之投與量範圍內為佳。投與方法亦無特別之限定，與上述治療劑或預防劑同樣地合理設定即可。本發明之NO產生抑制劑或醛糖還原酶阻礙劑對於需要抑制NO之產生或者需要阻礙醛糖還原酶之疾病有效。甚至，本發明之NO產生抑制劑或醛糖還原酶阻礙劑對於該等疾病之劑物篩選亦有用，並對於該等疾病之有關物理變化之機能研究也有用。

再者，本發明還提供含有本發明化合物之食品、飲料或飼料(在本說明書中既稱為本發明之食品、飲料或飼料，亦稱為本發明之飲食品)。本發明之食品，飲料或飼料係對於

顯示對該化合物有感受性之疾病的治療或預防有效用之食品，飲料或飼料。另外，本發明之食品，飲料或飼料尚包含以治療或預防該類疾病為目的之功能性食品(特定保健食品)。對該化合物有感受性之疾病係指例如上述適用於本發明之治療劑或預防劑之疾病。例如含有、添加及/或稀釋本發明之化合物而製成之食品、飲料或飼料可因為其NO產生抑製作用或醛糖還原酶抑製作用而對需要抑制一氧化氮(NO)之產生或者需要阻礙醛糖還原酶之疾病有效。因此本發明之食品或飲料適用於耽心自己血糖值之人；手足關節有疼痛不適感之人；視力低下、水腫或有麻木感之人。

再者，本說明書中，上述「含有」係指食品、飲料或飼料中含有本發明中使用之有效成份之樣態。上述「添加」係指食品、飲料或飼料中添加本發明中使用之有效成份之樣態。上述「稀釋」係指在本發明中使用之有效成份中添加加入食品、飲料或飼料之原料之樣態。

本發明之食品、飲料或飼料之製造方法並無特別之限定，可採用一般使用的食品、飲料或飼料之製造方法。製造出來之食品，飲料或飼料含有以本發明之化合物為有效成份固然為佳，亦包含適當高含有本發明之有效成份之食品、飲料或飼料。另外，在本說明書中，高含有係指本發明之化合物之重量在本發明之食品、飲料或飼料的每單位重量中之含量高於原料例如明日葉之每單位重量之含量。

本發明之食品或飲料並無特別之限定。例如穀物加工品、油脂加工品、大豆加工品、食肉加工品、水產品、乳製

品、蔬菜、水果加工品、糕點類、酒類、嗜好飲料、調味料、罐裝、瓶裝、袋裝食品、半乾燥或濃縮食品、乾燥食品、冷凍食品、固形食品、液體食品、香辛料類等之農業、林業加工品、畜產加工品、水產加工品等等。

本發明之食品或飲料中含有、添加及/或稀釋上述有效成份並無形狀上特別之限定，包含經口攝取較為容易之形狀如片狀、顆粒狀、膠囊狀等之形狀。

本發明之食品或飲料中對於上述有效成份的含有量並無特別之限定，可由官能及活性發現之觀點適宜選擇。例如食品100重量%中0.00001重量%以上，以0.0001~10重量%為佳，以0.0006~6重量%為更佳。例如飲料100重量%中0.00001重量%以上，以0.0001~10重量%為佳，以0.0006~6重量%為更佳。此外，高含有本發明之有效成份之食品或飲料的情況係指例如食品100重量%中0.0001重量%以上，以0.0005~10重量%為佳，以0.001~10重量%為更佳，例如飲料100重量%中0.0001重量%以上，以0.0005~10重量%為佳，以0.001~10重量%為更佳。本發明之食品或飲料中含有之有效成份的每日攝取以人(如成人)10 μg ~1 g/kg體重為佳，以50 μg ~500 mg/kg體重為更佳，以100 μg ~100 mg/kg體重為最佳。

又，本發明係提供含有上述有效成份之生物用飼料者，再者，作為其他樣態，提供上述有效成份投與生物為特徵之生物飼育方法。另外，作為本發明之其他樣態提供含有上述有效成份為特徵之生物飼育用劑。在此，「含有」有含

有、添加及/或稀釋之意思，而含有、添加及/或稀釋有如前所述之意思。

在本說明書中，作為生物並無限定，例如可舉養殖動物及寵物等。作為養殖動物可舉馬、牛、豬、綿羊、山羊、駱駝及騾馬等家畜；小鼠、大鼠、豚鼠及兔子等試驗動物；雞、鴨、火雞及鴿鳥等家禽；魚類、甲殼類或貝類等等。寵物係指狗以及貓等動物。並且，為飼料可舉例如有維持及/或改善身體狀態之飼料。生物飼育用劑可例示浸漬用劑、料添加劑、料用添加劑等。

根據該發明，適用該等之上述例示生物中，用於本發明之上述有效成份之NO產生阻礙作用或醛糖還原酶阻礙作用，期待有與本發明之上述治療劑或預防劑同樣之效果。即，本發明之飼料及生物飼育用劑在應用之生物中有治療及預防需要抑制NO之產生或者需要阻礙醛糖還原酶之疾病的作用。

使用於本發明之上述有效成份通常以每日投與對象生物10 μg ~1 g/kg體重為佳，以50 μg ~500 mg/kg體重為更佳，以100 μg ~100 mg/kg體重為最佳。投與係指把該有效成份添加混合於給對象生物之人工調合飼料之原料中，亦可在人工調合飼料之粉末原料混合後，再混合添加其他之原料。並且，上述有效成份在飼料中之含量並無特別限定，根據目的來合理設定即可。例如飼料100重量%中0.00001重量%以上，以0.0001~30重量%為佳，以0.001~15重量%之比例為更佳。並且，高含有本發明之有效成份之飼料之情況係指例

如飼料100重量%中0.0001重量%以上，以0.0005~30重量%為佳，以0.001~30重量%為更佳。

本發明之飼料之製造法並無特別之限定，調合亦可遵照一般飼料之方法。製造之飼料中含有本發明之上述有效成份即可。生物飼育用劑之製造及使用可遵照上述飼料之製造及使用。

讓對象生物攝取含有在使用於本發明之有NO產生阻礙作用或醛糖還原酶阻礙作用之上述有效成份之飼料，或者讓對象生物浸泡在使用於本發明之含有NO產生阻礙作用或醛糖還原酶阻礙作用之上述有效成份之含有液中，能維持家畜，實驗動物，家禽，寵物等良好的狀態或能使其身體狀態得到改善。在此例舉之態樣係由本發明提供之生物飼育方法之一種態樣。

於本發明，醫藥、飲食品及飼料中，本發明之化合物之含有量可根據其投與、攝取及在體內能達到所期望效果之濃度即可，當然以比對應之習知的食品的含有量高為佳。

使用於本發明之上述有效成份，其有效量之投與並未發現有毒性。例如經口投與時，無論上述化學式(1)~(9)所示化合物，或其光學活性體或其鹽之哪一種，每一種按1 g/kg體重之劑量單次投與小鼠，均未發現死亡例。又或者把上述有效成份以1 g/kg體重之劑量單次投與大鼠，也未發現死亡例。

實施例

以下，藉由實施例具體說明本發明，惟並非將本發明局

限於此說明。並且，如無特別記載實施例之%的話，全部表示容量%。另外，於本說明書中，上述化學式(1)表示之化合物又稱為TB3，上述化學式(2)表示之化合物又稱為TB4，上述化學式(3)表示之化合物又稱為TB5，上述化學式(4)表示之化合物又稱為TB6，上述化學式(5)表示之化合物又稱為TB7，上述化學式(6)表示之化合物又稱為TB8，上述化學式(7)表示之化合物又稱為TB9，上述化學式(8)表示之化合物又稱為化合物(C081)，上述化學式(9)表示之化合物又稱為化合物(C042)。

實施例1 TB3之調製

(1)將明日葉根部之乾燥粉末5 kg加入15 L乙醇、在室溫條件下30分鐘以內萃取，吸引過濾後乙醇萃取液及殘渣得到分離。將殘渣再進行2次同樣之萃取後，將所有乙醇萃取液減壓濃縮後，即可得乙醇萃取濃縮液。

(2)將實施例1-(1)中所得乙醇萃取濃縮液溶解於2 L 25%的乙醇水溶液中，用逆相層析法層析。樹脂用Cosmoseal 140 C18-OPN(納克來特思可(Nakalai Tesque)公司製：400 mL)、分別用1 L 30%的乙醇水溶液、5 L 40%的乙醇水溶液、4 L 75%的乙醇水溶液及3 L 100%的乙醇水溶液以順序相繼沖提。

(3)將實施例1-(2)中所得之75%乙醇水溶液沖提物進行減壓濃縮後用矽膠(BW-300SP：富士矽里西亞化學(Fuji Silycia)公司製：350 ml)吸附。分別以氯仿：己烷之溶劑比為2：1(800 ml)、10：4(1800 ml)及乙酸乙酯(1400 ml)之順

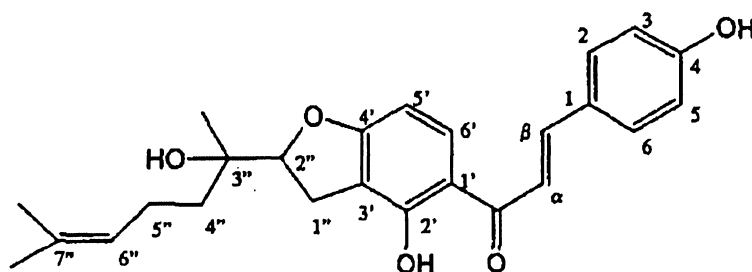
序相繼沖提。分別將沖提液以第1-5分餾物為200 ml、第6分餾物為150 ml、第7-10分餾物為100 ml、第11-16分餾物為200 ml及第17分餾物為1000 ml之順序分離。

(4)將實施例1-(3)中所得之第17分餾物進行減壓濃縮後用矽膠(350 ml)吸附。分別以氯仿：己烷之溶劑比為10：3(1000 ml)、10：1(2100 ml)、20：1(1000 ml)及乙酸乙酯(500 ml)之順序相繼沖提。沖提最初之2300 ml後，沖提物以每100 ml的量進行分離。

(5)將實施例1-(4)中所得之第23、24分餾物減壓濃縮後溶解於氯仿，用己烷再結晶，可得一種黃色物。

(6)將實施例1-(5)中所得黃色物用核磁共振(NMR)光譜裝置(AVANCE600型：Blucker·Biog公司製)測定各種NMR光譜來解析其構造。以下顯示了屬於NMR之信號。波峰之編號如下式(化11)所示。

[化11]



$^1\text{H-NMR}$ (氘代氯仿): δ 1.34(3H, s, CH_3 -3"), 1.57(2H, m, H-4"), 1.65 (3H, s, CH_3 -7"), 1.71(3H, s, CH_3 -7"), 1.79(1H, s, OH-3"), 2.11(1H, m, H-5"), 2.19(1H, m, H-5"), 3.19(2H, d, $J=8.7$ Hz, H-1"), 4.82(1H, t, $J=8.7$ Hz, H-2"), 5.15(1H, t, $J=6.7$ Hz, H-6"), 5.21 (1H, s, OH-4), 6.44(1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5'), 6.89(2H,

d, $J=7.2\text{Hz}$, H-3及H-5), 7.46(1H, d, $J=15.0\text{Hz}$, H- α), 7.58(2H, d, $J=7.2\text{Hz}$, H-2及H-6), 7.80(1H, d, $J=8.4\text{Hz}$, H-6'), 7.84(1H, d, $J=15.0\text{Hz}$, H- β), 13.51(1H, s, OH-2')

圖 1 顯示 $^1\text{H-NMR}$ 光譜。

$^{13}\text{C-NMR}$ (氘代氯仿) : δ 18.1 (CH_3 -7"), 22.4(C-5"), 23.2(CH_3 -3"), 26.1(CH_3 -7"), 27.3(C-1"), 37.1(C-4"), 74.2(C-3"), 91.6(C-2"), 102.1(C-5"), 114.2(C-3"), 115.4(C-1"), 116.4(C-3及C-5), 118.6(C- α), 124.4(C-6"), 128.2(C-1), 130.9(C-2及C-6), 132.1(C-6"), 132.7(C-7"), 144.3(C- β), 158.3(C-4), 161.9(C-2'), 167.0(C-4'), 192.5(C=O)

圖 2 顯示 $^{13}\text{C-NMR}$ 光譜。

接著，將實施例 1-(5) 中所得黃色物以質譜儀(DX302：日本電子公司製)用 FAB-MS 來進行質譜分析(MS)。

FAB-MS : m/z 407(M-H) $^-$ 以硝基苯乙醇作為基質。

以上 NMR 波譜、質譜解析之結果，實施例 1-(5) 中所得黃色物被確認為 1- [2,3-雙氫-4-羥-2-(1-羥-1,5 雙甲基-4-己烯基)-苯並呋喃-5-基] -3-(4-羥苯基)-2-丙烯-1-酮(分子量 408, TB3)

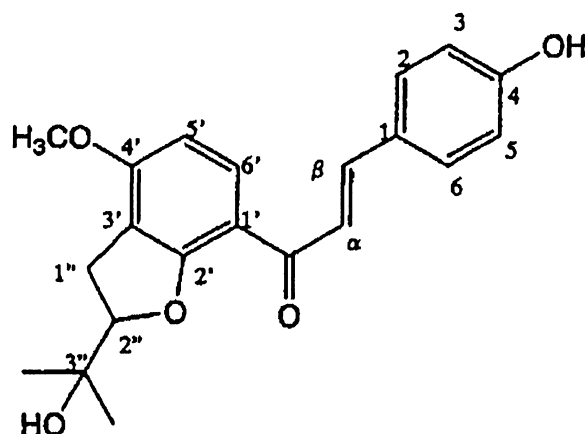
實施例 2 TB4 之調製

(1) 將實施例 1-(2) 中所得 40% 乙醇水溶液沖提物進行減壓濃縮後用矽膠(350 ml) 吸附。分別以氯仿：甲醇之溶劑比為 50：1(960 ml)、40：1(520 ml)、20：1(1000 ml)、10：1(840 ml) 及 5：1(520 ml) 之順序相繼沖提。沖提液以每次 8 ml 的量分離。

(2)將實施例2-(1)中所得之矽分餾物第118-132合併，進行濃縮乾燥後得到一種黃色物。

(3)將實施例2中所得之黃色物用與例1-(6)同樣的方法進行測定NMR光譜及質譜。以下顯示NMR之歸屬信號。波峰之歸屬編號如下式(化12)。

[化12]



$^1\text{H-NMR}$ (氘代二甲亞砜) : δ 1.18(3H, s, CH_3 -3''), 1.285 (3H, s, CH_3 -3''), 3.07(2H, m, H-1''), 3.87(3H, s, OCH_3 -4'), 4.72(1H, s, OH-3''), 4.78(1H, t, $J=8.7\text{Hz}$, H-2''), 6.65(1H, d, 9.0Hz , H-5'), 6.82(2H, d, $J=8.4\text{Hz}$, H-3及H-5), 7.57(2H, d, $J=8.4\text{Hz}$, H-2及H-6), 7.59(1H, d, $J=15.6\text{Hz}$, H- β), 7.69(1H, d, $J=9.0\text{Hz}$, H-6'), 7.81(1H, d, $J=15.6\text{Hz}$, H- α), 10.02 (1H, s, OH-4)

圖3顯示 $^1\text{H-NMR}$ 光譜。

$^{13}\text{C-NMR}$ (氘代二甲亞砜) : δ 26.2(CH_3 -3''), 26.8 (CH_3 -3''), 27.6(C-1''), 56.6(OCH_3 -4'), 70.9(C-3''), 91.5(C-2''), 105.2(C-5'), 115.7(C-3'), 116.0(C-1'), 116.7(C-3及C-5), 123.8(C- α), 127.0(C-1), 131.0(C-2及C-6), 131.3(C-6'), 142.7(C- β), 160.5(C-4'), 160.6(C-4), 161.8(C-2'), 186.5(C=O)

圖 4 顯示 ^{13}C -NMR 光譜。

FAB-MS : m/z 353(M-H) $^-$ 以硝基苯乙醇作為基質。

以上 NMR 波譜、質譜解析之結果，實施例 2-(2) 中所得黃色物被確認為 1-[2,3-雙氫-2-(1-羥-1-甲基乙烷)-4-甲氧苯並呋喃-7-基]-3-(4-羥苯基)-2-丙烯-1-酮(分子量 354, TB4)。

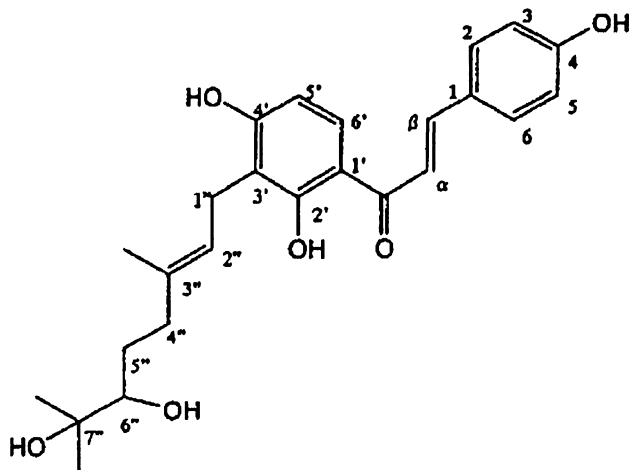
實施例 3 TB5 之調製

(1) 將實施例 2-(1) 中所得之矽分餾物第 335-349 合併，進行減壓濃縮後用逆相層析法分離。樹脂用柯斯摩膠 (Cosmo seal) 140 C18-OPN(30 ml)。分別用 200 ml 10% 乙醇水溶液、15% 乙醇水溶液、20% 乙醇水溶液、25% 乙醇水溶液、30% 乙醇水溶液、500 ml 35% 乙醇水溶液及 200 ml 75% 乙醇水溶液以順序相繼沖提，將每 100 ml 沖提液進行分離。

(2) 將實施例 3-(1) 中所得之分餾物第 6、7 合併，進行濃縮乾燥後得到一種黃色物。

將實施例 3-(2) 中所得之黃色物用與例 1-(6) 同樣的方法進行測定 NMR 光譜及質譜。以下顯示 NMR 之歸屬信號。波峰之歸屬編號如下式(化 13)。

[化 13]



$^1\text{H-NMR}$ (氘代二甲亞砜) : δ 0.96(3H, s, CH_3 -7"), 1.02(3H, s, CH_3 -7"), 1.16(1H, m, H-5"), 1.61 (1H, m, H-5"), 1.73(3H, s, CH_3 -3"), 1.85(1H, m, H-4"), 2.15(1H, m, H-4"), 3.01 (1H, m, H-6"), 3.24(1H, m, H-1"), 3.31(1H, m, H-1"), 4.00(1H, s, OH-7"), 4.23(1H, d, $J=6.0\text{Hz}$, OH-6"), 5.19(1H, t, $J=7.2\text{Hz}$, H-2"), 6.47(1H, d, $J=8.4\text{Hz}$, H-5'), 6.84(2H, d, $J=8.4\text{Hz}$, H-3及H-5), 7.75(1H, d, $J=5.4\text{Hz}$, H- α), 7.75(1H, d, $J=5.4\text{Hz}$, H- β), 7.75(2H, d, $J=8.4\text{Hz}$, H-2及H-6), 8.03 (1H, d, $J=8.4\text{Hz}$, H-6'), 10.11 (1H, s, OH-4), 10.55 (1H, s, OH-4'), 14.00(1H, s, OH-2')

圖5顯示 $^1\text{H-NMR}$ 光譜。

$^{13}\text{C-NMR}$ (氘代二甲亞砜) : δ 17.0(CH_3 -3"), 22.1(C-1"), 25.4(CH_3 -7"), 27.2(CH_3 -7"), 30.3(C-5"), 37.5(C-4"), 72.4(C-7"), 78.0(C-6"), 108.2(C-5'), 113.6(C-1'), 115.4(C-3'), 116.7(C-3及C-5), 118.3(C- α), 122.4(C-2"), 126.7(C-1), 130.7(C-6'), 132.0(C-2及C-6), 135.7(C-3"), 145.0(C- β), 161.1(C-4), 163.2(C-4'), 164.4(C-2'), 192.6(C=O)

圖6顯示 $^{13}\text{C-NMR}$ 光譜。

FAB-MS : m/z 425(M-H) $^-$ 以硝基苯乙醇作為基質。

以上NMR波譜、質譜解析之結果，實施例3-(2)中所得黃色物被確認為1-[2,4-雙羥-3-(6,7-雙羥-3,7-雙甲基-2-辛烯基)苯]-3-(4-羥苯基)-2-丙烯-1-酮(分子量426, TB5)。

實施例4 TB6之調製

(1)將實施例2-(1)中所得之矽分餾物第142-164合併進行濃縮乾燥後，溶解於乙酸乙酯。接著用己烷再結晶，將生

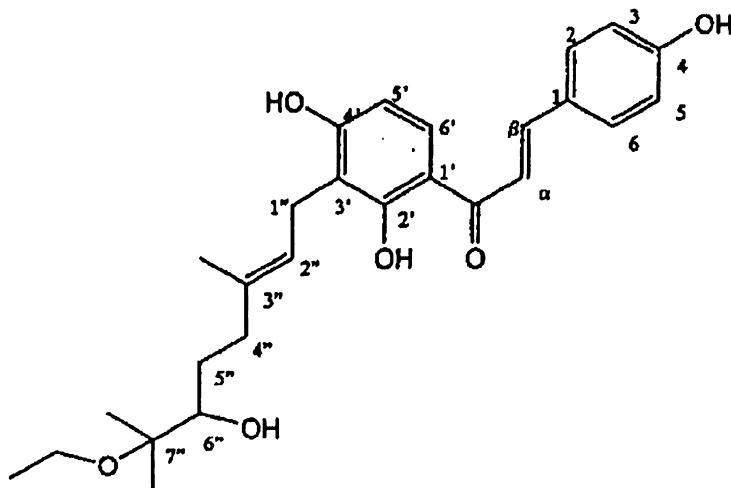
成之沉澱及上清分離。

(2)將實施例4-(1)中所得之上清濃縮物用矽膠(100 ml)吸附。以己烷：乙酸乙酯=7：5之溶劑沖提。沖提液以每次8 ml來分離。

(3)將實施例4-(2)中所得之矽分餾物第41-51合併，進行濃縮乾燥後得到一種黃色物。

(4)將實施例4-(3)中所得之黃色物用與例1-(6)同樣的方法進行測定NMR光譜及質譜。以下顯示NMR之歸屬信號。波峰之歸屬編號如下式(化14)。

[化14]



$^1\text{H-NMR}$ (氘代二甲亞砜)： δ 0.96(3H, s, CH_3 -7''), 0.99(3H, t, $J=6.9\text{Hz}$, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$), 1.04(3H, s, CH_3 -7''), 1.15(1H, m, H-5''), 1.60(1H, m, H-5''), 1.72(3H, s, CH_3 -3''), 1.89(1H, m, H-4''), 2.13(1H, m, H-4''), 3.18 (1H, m, H-6''), 3.24(2H, m, H-1''), 3.29(2H, m, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$), 4.27(1H, d, $J=6.0\text{Hz}$, OH-6''), 5.20(1H, t, $J=6.9\text{Hz}$, H-2''), 6.47(1H, d, $J=9.0\text{Hz}$, H-5'), 6.84(2H, d, $J=8.4\text{Hz}$, H-3及H-5), 7.75(1H, d, $J=4.8\text{Hz}$, H- α), 7.75(1H, d, $J=4.8\text{Hz}$, H- β), 7.75(2H, d,

$J=8.4\text{Hz}$, H-2及H-6), 8.31 (1H, d, $J=9.0\text{Hz}$, H-6'), 10.11 (1H, s, OH-4), 10.55 (1H, s, OH-4'), 14.00(1H, s, OH-2')

圖 7 顯示 $^1\text{H-NMR}$ 光譜。

$^{13}\text{C-NMR}$ (氘代二甲亞砜) : δ 17.0(CH₃-3"), 17.0(-O-CH₂-CH₃), 21.2(CH₃-7"), 22.1(C-1"), 23.3(CH₃-7"), 29.9(C-5"), 37.2(C-4"), 56.6(-O-CH₂-CH₃), 75.1(C-6"), 77.5(C-7"), 108.2(C-5'), 113.6(C-1'), 115.4(C-3'), 116.7(C-3及C-5), 118.3(C- α), 122.7(C-2"), 126.7(C-1), 130.6(C-6'), 132.0(C-2及C-6), 135.5(C-3"), 145.0(C- β), 161.1(C-4), 163.1(C-4'), 164.4(C-2'), 192.6(C=O)

圖 8 顯示 $^{13}\text{C-NMR}$ 光譜。

FAB-MS : m/z 453(M-H)⁻以硝基苯乙醇作為基質。

以上NMR波譜、質譜解析之結果，實施例4-(3)中所得黃色物被確認為1-[3-(7-乙氧基-6羥基-3,7-雙甲基-2-辛烯基)-2,4-二羥苯]-3-(4-羥苯基)-2-丙烯-1-酮(分子量454, TB6)。

實施例5 TB7之調製

將實施例1-(4)中所得之分餾物第4-22減壓濃縮後溶解於氯仿。接著用乙烷再結晶，將生成之沉澱及上清分離。

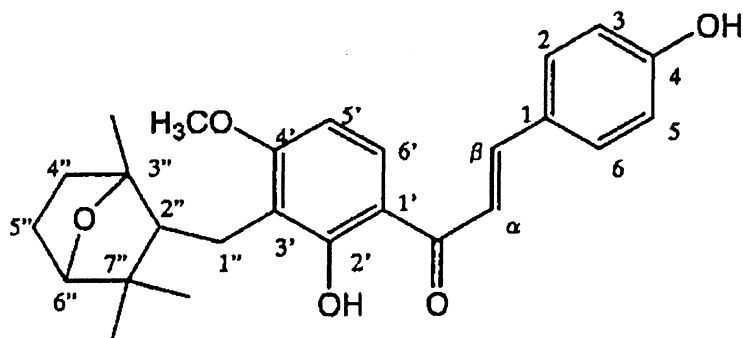
將實施例5-(1)中所得上清濃縮物用矽膠(350 ml)吸附。分別以氯仿：己烷之溶劑比為100：1(1500 ml)、50：1(2600 ml)、20：1(2600 ml)，乙酸乙酯(300 ml)之順序相繼沖提。沖提液以每次8 ml來分離。

將實施例5-(2)中所得之分餾物第21-30合併，進行濃縮乾燥後得到一種黃色物。

將實施例5-(3)中所得之黃色物用與例1-(6)同樣的方法進

行測定NMR光譜及質譜。以下顯示NMR之歸屬信號。波峰之歸屬編號如下式(化15)。

[化15]



$^1\text{H-NMR}$ (氘代二甲亞砜) : δ 0.91(3H, s, CH_3 -7''), 0.96(3H, s, CH_3 -7''), 1.21(3H, s, CH_3 -3''), 1.26(1H, m, H-4''), 1.43(1H, m, H-4''), 1.53 (1H, m, H-5''), 1.85 (1H, m, H-5''), 2.12 (1H, t, $J=7.2\text{Hz}$, H-2''), 2.52(1H, m, H-1''), 2.56(1H, m, H-1''), 3.62 (1H, d, $J=5.4\text{Hz}$, H-6''), 3.91(3H, s, OCH_3 -4'), 6.67(1H, d, $J=9.0\text{Hz}$, H-5'), 6.85(2H, d, $J=8.4\text{Hz}$, H-3 及 H-5), 7.78(1H, d, $J=15.6\text{Hz}$, H- β), 7.78(2H, d, $J=8.4\text{Hz}$, H-2 及 H-6), 7.83(1H, d, $J=15.6\text{Hz}$, H- α), 8.23 (1H, d, $J=9.0\text{Hz}$, H-6'), 10.15 (1H, s, OH-4), 13.99 (1H, s, OH-2')

圖9顯示 $^1\text{H-NMR}$ 光譜。

$^{13}\text{C-NMR}$ (氘代二甲亞砜) : δ 19.0 (CH_3 -3''), 21.3(C-1''), 24.5(CH_3 -7''), 26.0(CH_3 -7''), 26.4(C-5''), 39.9(C-4''), 46.3 (C-7''), 53.5(C-2''), 56.8(OCH_3 -4'), 85.8(C-6''), 86.9(C-3''), 103.7(C-5'), 114.8(C-1'), 116.7(C-3 及 C-5), 117.4(C-3'), 118.2(C- α), 126.6(C-1), 131.3(C-6'), 132.2(C-2 及 C-6), 145.7(C- β), 161.3(C-4), 163.5(C-2'), 164.1(C-4'), 193.4(C=O)

圖10顯示 $^{13}\text{C-NMR}$ 光譜。

FAB-MS: m/z 421(M-H)⁻以硝基苯乙醇作為基質。

以上NMR波譜、質譜解析之結果，實施例5-(3)中所得黃色物被確認為1-[3-(2,5-環氧-2,6,6-三甲基-環己基甲基)-2-羥-4-甲氧苯]-3-(4-羥苯基)-2-丙烯-1-酮(分子量422，TB7)。

實施例6 TB8之調製

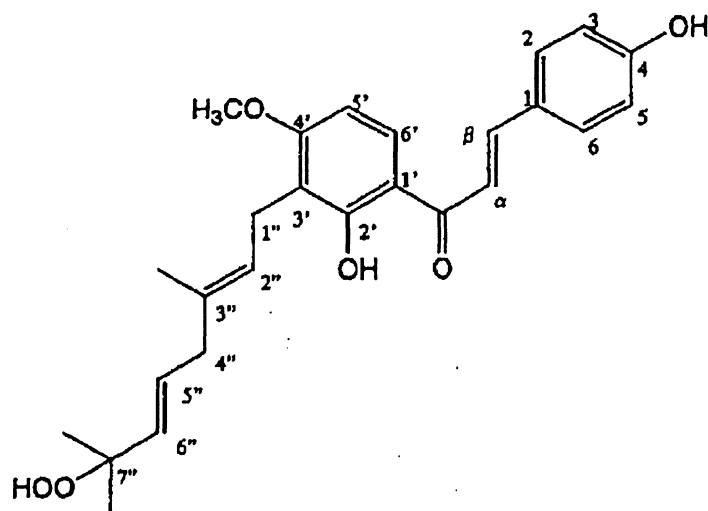
(1)將實施例1-(3)中所得之矽分餾物第10-15減壓濃縮後溶解於氯仿。接著用己烷再結晶，將生成之沉澱及上清分離。

(2)將實施例6-(1)中所得上清濃縮物減壓濃縮後用逆相層析法分離。分離柱使用TSK膠ODS-80Ts(21.5 mm×30 cm:東梭公司製)。溶劑為蒸餾水：乙腈=15：85，沖提速度為5 ml/分，在215 nm處測定。將沖提液之紫外線吸收作為指標來分離沖提液。

(3)將實施例6-(2)中所得之逆相層析分餾物2(含有保持時間57.6分測定峰之分餾物)進行濃縮乾燥後得到一種黃色物。

(4)將實施例6-(3)中所得之黃色物與例1-(6)同樣的方法進行測定NMR光譜及質譜。以下顯示NMR之歸屬信號。波峰之歸屬編號如下式(化16)。

[化 16]



$^1\text{H-NMR}$ (氙代二甲亞砷) : δ 1.19(3H, s, CH_3 -7''), 1.19(3H, s, CH_3 -7''), 1.70(3H, s, CH_3 -3''), 2.62(2H, d, $J=6.6\text{Hz}$, H-4''), 3.29(1H, m, H-1''), 3.31(1H, m, H-1''), 3.91(3H, s, OCH_3 -4'), 5.19 (1H, t, $J=6.9\text{Hz}$, H-2''), 5.47(1H, m, H-5''), 5.55(1H, d, $J=15.6\text{Hz}$, H-6''), 6.68(1H, d, $J=9.0\text{Hz}$, H-5'), 6.85(2H, d, $J=8.4\text{Hz}$, H-3及 H-5), 7.78(2H, d, $J=8.4\text{Hz}$, H-2及 H-6), 7.79(1H, d, $J=13.2\text{Hz}$, H- β), 7.83(1H, d, $J=13.2\text{Hz}$, H- α), 8.23(1H, d, $J=9.0\text{Hz}$, H-6'), 10.14 (1H, s, OH-4), 10.81(1H, s, OOH-7''), 13.81(1H, s, OH-2')

圖 11 顯示 $^1\text{H-NMR}$ 光譜。

$^{13}\text{C-NMR}$ (氙代二甲亞砷) : δ 16.8(CH_3 -3''), 22.1 (C-1''), 25.5(CH_3 -7''), 25.5(CH_3 -7''), 43.0(C-4''), 56.9(OCH_3 -4''), 81.1 (C-7''), 103.7(C-5'), 114.9(C-1'), 116.6 (C-3'), 116.7(C-3及C-5), 118.1(C- α), 123.5(C-2''), 126.5(C-1), 127.9 (C-5''), 131.4(C-6'), 132.3(C-2及C-6), 134.3(C-3''), 137.0(C-6''), 145.7(C- β), 161.3(C-4), 163.0(C-2'), 163.9(C-4'), 193.3(C=O)

圖 12 顯示 $^{13}\text{C-NMR}$ 光譜。

FAB-MS: m/z 437(M-H)⁻以硝基苯乙醇作為基質。

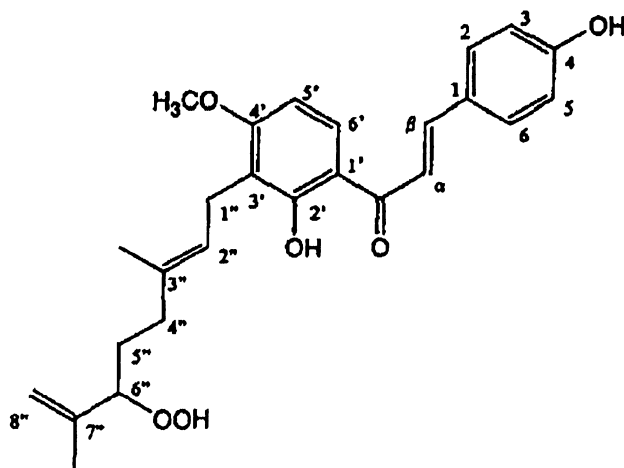
以上NMR波譜、質譜解析之結果，實施例6-(3)中所得黃色物被確認為1-[2-羥-3-(7-過氧化氫-3,7-二甲基-2,5-辛二烯基-4-甲氧苯]-3-(4-羥苯基)-2-丙烯-1-酮(分子量438, TB8)。

實施例7 TB9之調製

將實施例6-(2)中所得之逆相層析分餾物3(含有保持時間61.2分測定峰之分餾物)進行濃縮乾燥後得到一種黃色物。

將實施例7-(1)中所得之黃色物與例1-(6)同樣的方法進行測定NMR光譜及質譜。以下顯示NMR之歸屬信號。波峰之歸屬編號如下式(化17)。

[化17]



¹H-NMR(氘代二甲亞砜): δ 1.40(1H, m, H-5''), 1.56(1H, m, H-5''), 1.62(3H, s, CH₃-7''), 1.72(3H, s, CH₃-3''), 1.89(2H, m, H-4''), 3.27(1H, m, H-1''), 3.31(1H, m, H-1''), 3.91(3H, s, OCH-4'), 4.07(1H, t, J=6.9Hz, H-6''), 4.79(1H, s, H-8''), 4.84(1H, s, H-8''), 5.14(1H, t, J=6.6Hz, H-2''), 6.68(1H, d, J=9.0Hz, H-5'), 6.85(2H, d, J=8.4Hz, H-3及H-5), 7.78(2H, d, J=8.4Hz, H-2及H-6), 7.78(1H, d,

$J=15.0\text{Hz}$, H- β), 7.83(1H, d, $J=15.0\text{Hz}$, H- α), 8.24(1H, d, $J=9.0\text{Hz}$, H-6'), 10.15(1H, s, OH-4), 11.25(1H, s, OOH-6''), 13.81(1H, s, OH-2')

圖 13 顯示 ^1H -NMR 光譜。

^{13}C -NMR (氘代二甲亞砜) : δ 16.7(CH₃-3''), 17.7(CH₃-7''), 22.0(C-1''), 29.5 (C-5''), 36.0(C-4''), 56.9(OCH₃-4''), 88.2(C-6''), 103.6(C-5'), 114.0(C-8''), 114.9(C-1'), 116.7(C-3'), 116.7(C-3及C-5), 118.1(C- α), 122.9(C-2''), 126.5(C-1), 131.3(C-6'), 132.3(C-2及C-6), 134.9(C-3''), 145.3 (C-7''), 145.7(C- β), 161.3 (C-4), 163.0(C-2'), 163.8(C-4'), 193.3(C=O)

圖 14 顯示 ^{13}C -NMR 光譜。

FAB-MS : m/z 437(M-H)⁻以硝基苯乙醇作為基質。

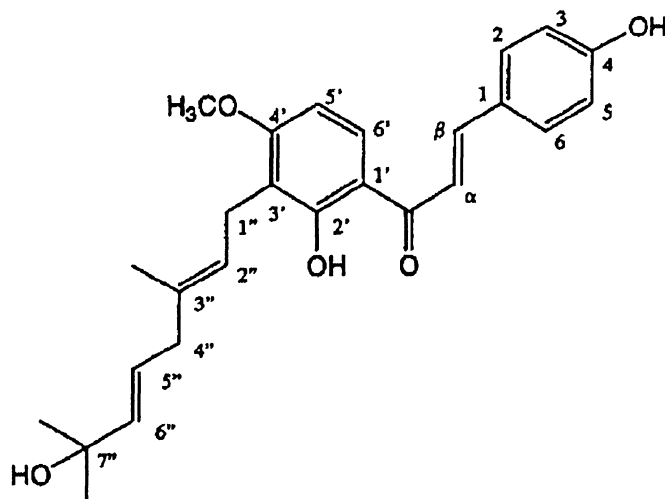
以上 NMR 波譜、質譜解析之結果，實施例 7-(1) 中所得黃色物被確認為 1-[2-羥-3-(6-過氧化氫-3,7-二甲基-2,7-辛二烯基)-4-甲氧苯]-3-(4-羥苯基)-2-丙烯-1-酮(分子量 438, TB9)。

實施例 8 化合物(C081)之調製

將實施例 6-(3) 中所得之 TB8 100 mg 溶解於甲醇 50 ml。並加入三苯磷化氫(東京化成工業公司製：60 mg)在室溫條件下反應 1 小時。將反應物減壓濃縮後，將氯仿：甲醇=10：1 作為展開溶劑提供薄層層析。接著分離取得紫外線吸收部份，用展開溶劑萃取後進行濃縮乾燥得到 57.2 mg 的黃色物。

將實施例 8-(1) 中所得之黃色物與例 1-(6) 同樣的方法進行測定 NMR 光譜及質譜。以下顯示 NMR 之歸屬信號。波峰之歸屬編號如下式(化 18)。

[化 18]



$^1\text{H-NMR}$ (氘代二甲亞砜): δ 1.13(3H, s, CH_3 -7''), 1.13(3H, s, CH_3 -7''), 1.70(3H, s, CH_3 -3''), 2.59(2H, d, $J=7.2\text{Hz}$, H-4''), 3.28(2H, d, $J=7.2\text{Hz}$, H-1''), 3.91(3H, s, OCH_3 -4'), 4.42(1H, s, OH-7''), 5.17(1H, t, $J=7.2\text{Hz}$, H-2''), 5.42(1H, m, H-5''), 5.52(1H, d, $J=15.0\text{Hz}$, H-6''), 6.68(1H, d, $J=9.0\text{Hz}$, H-5'), 6.85(2H, d, $J=9.0\text{Hz}$, H-3及H-5), 7.77(1H, d, $J=15.0\text{Hz}$, H- β), 7.78(2H, d, $J=9.0\text{Hz}$, H-2及H-6), 7.83(1H, d, $J=15.0\text{Hz}$, H- α), 8.24(1H, d, $J=9.0\text{Hz}$, H-6'), 10.17(1H, s, OH-4), 13.80(1H, s, OH-2')

圖 15 顯示 $^1\text{H-NMR}$ 光譜。

$^{13}\text{C-NMR}$ (氘代二甲亞砜): δ 16.8(CH_3 -3''), 22.1(C-1''), 31.0(CH_3 -7''), 31.0(CH_3 -7''), 42.70(C-4''), 56.9(OCH_3 -4'), 69.7(C-7''), 103.6(C-5'), 114.9(C-1'), 116.7(C-3'), 116.7(C-3及C-5), 118.1(C- α), 123.2(C-2''), 123.9(C-5''), 126.6(C-1), 131.3(C-6'), 132.3(C-2及C-6), 134.6(C-3''), 141.5(C-6''), 145.7(C- β), 161.3(C-4), 163.0(C-2'), 163.8(C-4'), 193.3(C=O)

圖 16 顯示 $^{13}\text{C-NMR}$ 光譜。

FAB-MS : m/z 421(M-H)⁻以硝基苯乙醇作為基質。

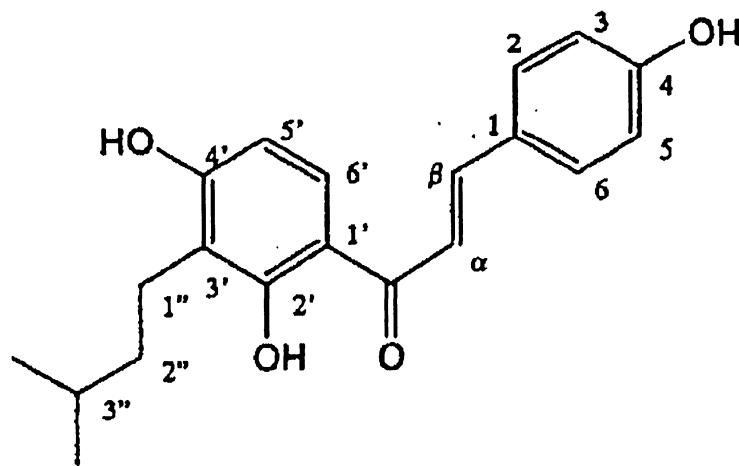
以上NMR波譜、質譜解析之結果，實施例8-(1)中所得黃色物被確認為1-[2-羥-3-(7-羥)-3,7-二甲基-2,5-辛二烯基]-4-甲氧苯]-3-(4-羥苯基)-2-丙烯-1-酮(分子量422，化合物(C081))。

實施例9 化合物(C042)之調製

(1)將2',4'-二羥基苯乙酮(和光純劑公司製)在2M氫氧化鉀甲醇溶液中冰冷條件下用1-溴-2-甲基-2-丁烯(雅德利其(Aldrich)公司製)處理後，在鈀黑(納克來特思可(Nakalai Tesque)公司製)存在之條件下用甲醇將氫離子還原，得到2',4'-二羥-3'-(3-甲基丁基)苯乙酮。接著，將2',4'-二羥-3'-(3-甲基丁基)苯乙酮及4-羥苯甲醛(雅德利其(Aldrich)公司製)進行克萊森(claisen)縮合後得到一種黃色物。

(2)將實施例9-(1)中所得之黃色物與例1-(6)同樣的方法進行測定NMR光譜及質譜。以下顯示NMR之歸屬信號。波峰之歸屬編號如下式(化19)。

[化19]



¹H-NMR(氘代二甲亞砜) : δ 0.91(3H, s, CH₃-3''), 0.92(3H, s,

CH₃-3"), 1.34(2H, m, H-2"), 1.54(1H, m, H-3"), 2.55(2H, m, H-1"), 6.47(1H, d, J=9.0Hz, H-5'), 6.84(2H, d, J=9.0Hz, H-3及 H-5), 7.74(2H, d, J=9.0Hz, H-2及H-6), 7.74 (2H, s, H-α, H-β), 8.02(1H, d, J=9.0Hz, H-6'), 10.10(1H, s, OH-4), 10.46(1H, s, OH-4'), 13.98(1H, s, OH-2')

圖 17 顯示 ¹H-NMR 光譜。

FAB-MS: m/z327(M+H)⁺以硝基苯乙醇作為基質。

以上 NMR 波譜、質譜解析之結果，實施例 9-(1) 中所得之黃色物被確認為 1-[2,4-二羥-3-(3-甲基丁基)-4-苯基]-3-(4-羥苯基)-2-丙烯-1-酮(分子量 326，化合物(C042))。

實施例 10 醛糖還原酶阻礙

實施例 1-9 中調製之化合物(TB3、TB4、TB5、TB6、TB7、TB8、TB9、化合物(C081)及化合物(C042)之醛糖還原酶阻礙作用由以下之方法測定。將試料(各化合物溶解於 50% 二甲亞砷水溶液)10 μL、0.2 M 磷酸緩沖液(PH6.2)100 μL、1 mM NADPH(磷酸緩沖液)20 μL 及人肌肉細胞由來之醛糖還原酶溶液(0.1 U/ml、和光純劑工業公司製，磷酸緩沖液)10 μl 中加入 100 mM 丙酮醛 20 μL，經過 30 秒後，於 180 秒內，測定在 340 nm 處 NADPH 之吸光度之變化。陰性對照用 50% 二甲亞砷水溶液來代替試料。並且，各試料之空白對照以測定蒸餾水之吸光度來代替二甲亞砷水溶液之吸光度。測定值由 2 次實驗值之平均值來表示。醛糖還原酶之阻礙率由以下公式來計算。

$$\text{阻礙率 (\%)} = [1 - (\Delta A_s - \Delta s_b) / (\Delta A_c - \Delta A_{cb})] \times 100$$

在此， ΔA_s 以及 ΔA_c 係指各試料溶液，陰性對照溶液之1分鐘內之吸光度變化， ΔA_{sb} 以及 ΔA_{cb} 係指各試料溶液，陰性對照溶液之空白對照溶液之1分鐘內吸光度之變化。

試料之添加量如表示各化合物之最終濃度如表1所示。其結果，揭示了醛糖還原酶之抑制與TB3、TB4、TB5、TB6、TB7、TB8、TB9，化合物(C081)及化合物(C042)之濃度有依存性關係。其結果如表1所示。

表 1

化合物	醛糖還原酶阻礙率		
	濃度		
	10 μ M	20 μ M	40 μ M
TB3	14.2	30.1	53.8
TB4	57.4	57.9	N.T.
TB5	35.1	49.7	66.7
TB6	41.9	56.5	66.8
TB7	20.1	33.8	54.3
TB8	17.9	32.7	44.2
TB9	31.6	44.7	57.3
化合物(C081)	11.9	16.2	26.7
化合物(C042)	47.8	68.7	N.T.

N.T.：未試驗

實施例11 NO產生抑制活性

實施例1~9中調製之化合物(TB3、TB4、TB5、TB6、TB7、TB8、TB9、化合物(C081)及化合物(C042))之NO產生抑制活性由以下方法來測定。於10%胎牛血清(巴依爾維塔卡公司製，14-506F)含有之Dulbecco's modified Eagle's (DMEM)培養液(Sigma公司製，D5796)中，使RAW264.7細胞(ATCC TIB 71)呈 4×10^5 個/mL的方式懸浮，於48孔微培養盤中每孔各加入500 μ L細胞懸浮液，在5% CO₂存在的條件

下，以37°C培養。24小時後，交換含有10%胎牛血清(巴依爾維塔卡公司製)，不含酚紅，含有2 mL-穀氨基醯胺(萊福坦克奧裡嚴塔露公司製，25030-149)之DMEM培養液(巴依爾維塔卡公司製，12-917F)，並在各孔中分別加入1 μ L之10 mM、5 mM、2.5 mM之TB3、TB4、TB5、TB6、TB7、TB8、TB9、化合物(C081)及化合物(C042)(均為二甲亞砷水溶液)。再培養1小時後，於各孔中加入5 μ L之100 μ g/mL之脂多糖(LPS, Sigma公司製，L-2010)水溶液。經16小時培養後，測定NO在培養液中氧化生成NO₂⁻之濃度。並且，以二甲亞砷水溶液取代各化合物作為對照。經上述培養後，100 μ L之培養上清中加入100 μ L之4%動物脂肪(Sigma公司製，G4410)，在室溫條件下放置15分鐘後，於540 nm處測定吸光度。由已知濃度之NaNO₂(Sigma公司製，S2252)製成之檢量線處計算培養液中NO₂⁻之濃度。測定全部進行2次。各化合物之NO產生抑制能有以下公式計算而得。

X：各化合物存在下之NO₂⁻之量

Y：對照之NO₂⁻之量

$$\text{NO產生抑制能(\%)} = [1 - X/Y] \times 100$$

其結果：抑制由LPS誘導之NO產生與TB3、TB4、TB5、TB6、TB7、TB8、TB9、化合物(C081)及化合物(C042)有濃度依存性關係。其結果如表2所示。

表 2

化合物	LPS誘導NO產生抑制能		
	濃度		
	5 μ M	10 μ M	20 μ M
TB3	8.9	9.5	43.8
TB4	32.6	56.4	63.7
TB5	17.9	35.2	76.0
TB6	17.3	29.4	62.2
TB7	12.2	23.9	42.9
TB8	12.2	18.7	36.9
TB9	11.2	29.2	49.6
化合物(C081)	N.T.	31.6	53.7
化合物(C042)	N.T.	19.3	50.2

N.T.: 未試驗

產業上之利用可能性

本發明提供一種新穎苯基苯乙烯酮類化合物。該化合物有一氧化氮(NO)抑制作用以及醛糖還原酶阻礙作用。可利用該化合物之生理活性，將其作為醫藥、食品、飲料或飼料之有效成份。

【圖式簡單說明】

圖 1 係表示 TB3 之 ^1H -NMR 光譜圖。

圖 2 係表示 TB3 之 ^{13}C -NMR 光譜圖。

圖 3 係表示 TB4 之 ^1H -NMR 光譜圖。

圖 4 係表示 TB4 之 ^{13}C -NMR 光譜圖。

圖 5 係表示 TB5 之 ^1H -NMR 光譜圖。

圖 6 係表示 TB5 之 ^{13}C -NMR 光譜圖。

圖 7 係表示 TB6 之 ^1H -NMR 光譜圖。

圖 8 係表示 TB6 之 ^{13}C -NMR 光譜圖。

圖 9 係表示 TB7 之 ^1H -NMR 光譜圖。

圖 10 係表示 TB7 之 ^{13}C -NMR R 光譜圖。

圖 11 係表示 TB8 之 ^1H -NMR 光譜圖。

圖 12 係表示 TB8 之 ^{13}C -NMR 光譜圖。

圖 13 係表示 TB9 之 ^1H -NMR 光譜圖。

圖 14 係表示 TB9 之 ^{13}C -NMR 光譜圖。

圖 15 係表示化合物 (C081) 之 ^1H -NMR 光譜圖。

圖 16 係表示化合物 (C081) 之 ^{13}C -NMR 光譜圖。

圖 17 係表示化合物 (C042) 之 ^1H -NMR 光譜圖。

【主要元件符號說明】

NO 一氧化氮

LPS 脂多糖

RA 醛糖還原酶

NMR 核磁共振

DMEM 杜貝可培養液 (Dulbecco's modified Eagle's)

五、中文發明摘要：

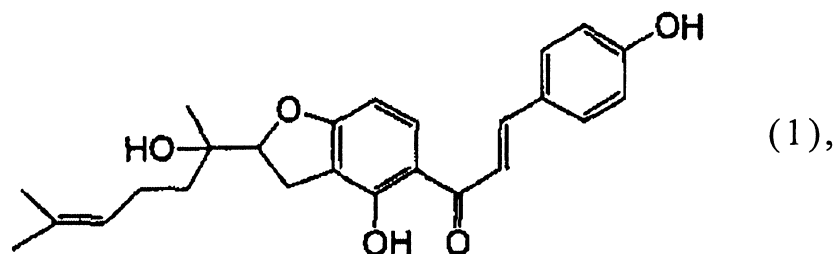
本發明係提供一種新穎苯基苯乙烯酮類化合物、其衍生物或其鹽，其係有一氧化氮抑制作用或醛糖還原酶阻礙作用。並且，本發明提供一種醫藥、食品、飲料或飼料，其係利用該化合物之生理作用，對該化合物顯示感受性之疾病有治療或預防作用。

六、英文發明摘要：

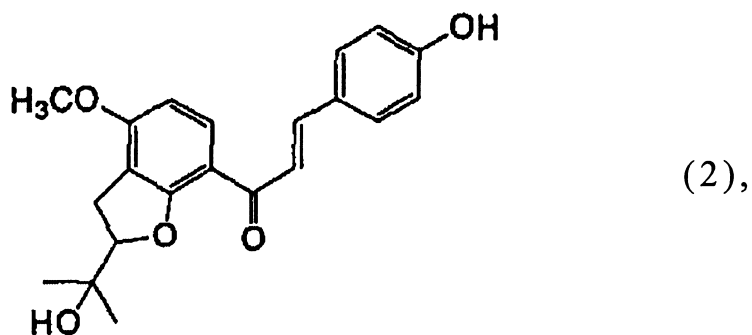
十、申請專利範圍：

1. 一種苯基苯乙烯酮類化合物、其衍生物及其鹽，其係以下式(1)~(9)任一式所表示：

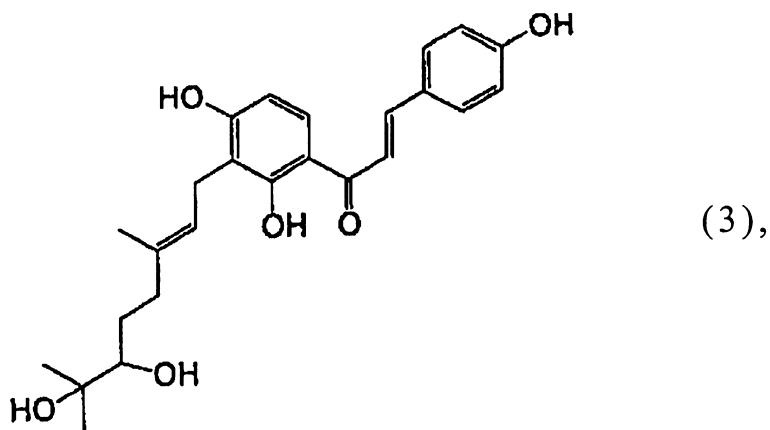
[化 1]



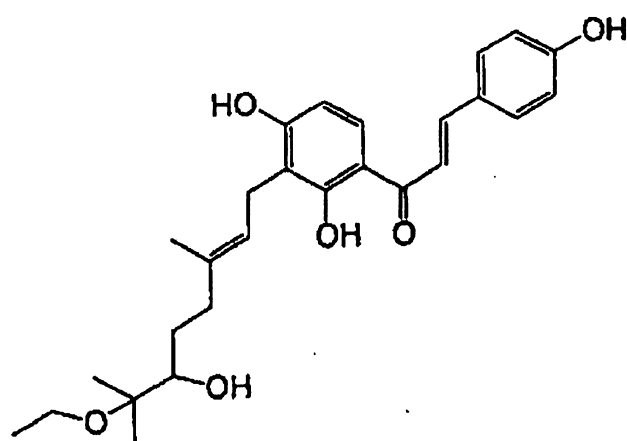
[化 2]



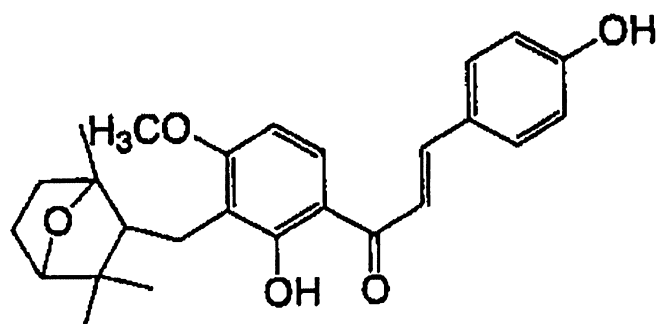
[化 3]



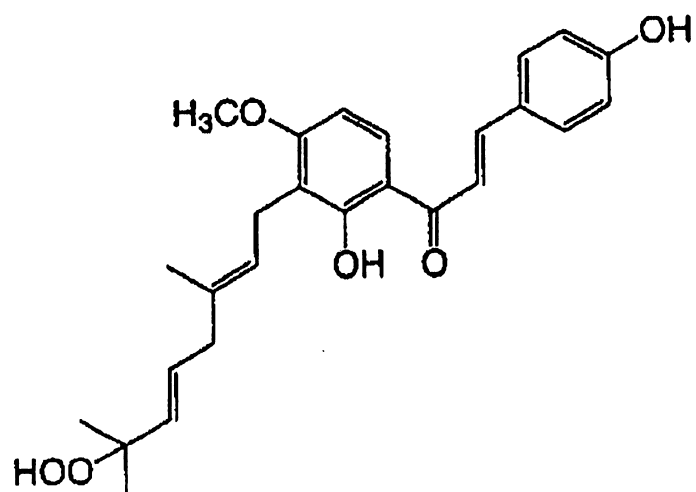
[化 4]



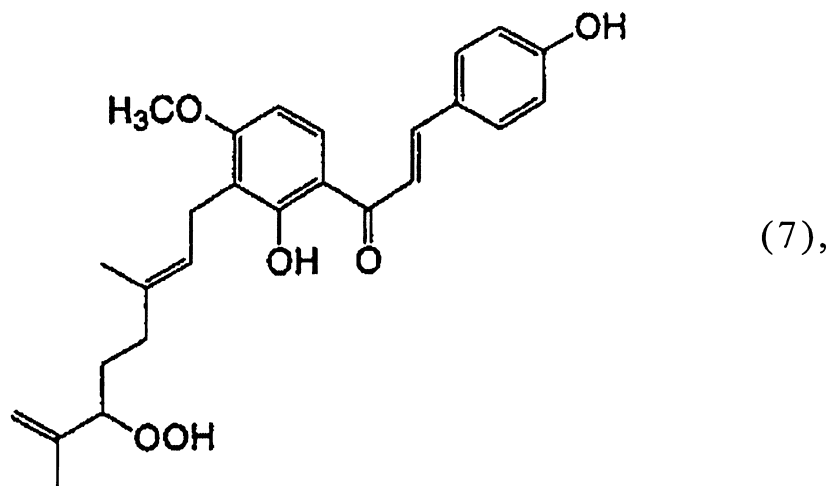
[化 5]



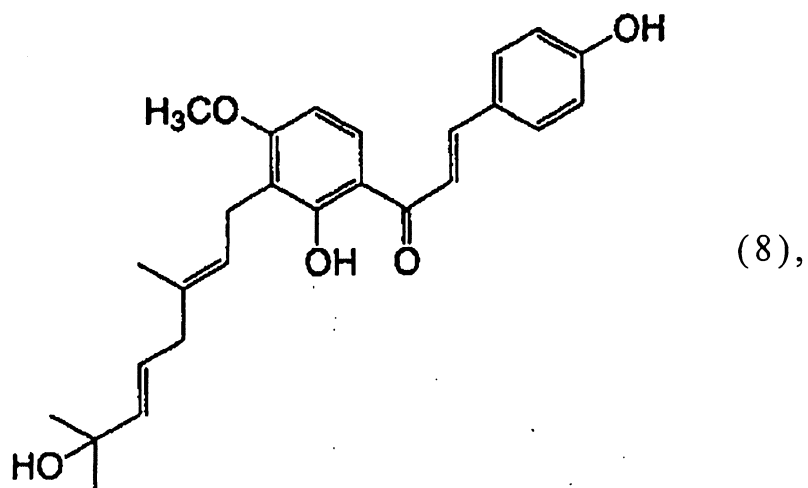
[化 6]



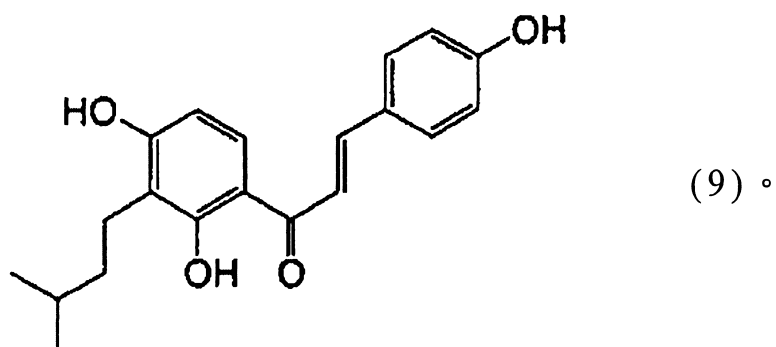
[化 7]



[化 8]



[化 9]



2. 一種治療劑或預防劑，其特徵在於包含請求項1之化合物、其衍生物及該等之鹽作為有效成分，其係治療或預防

對該當化合物顯示感受性之疾病者。

3. 如請求項2之治療劑或預防劑，其中對該當化合物顯示感受性之疾病係，於治療或預防需要抑制一氧化氮之產生或阻礙醛糖還原酶之疾病。
4. 一種一氧化氮產生抑制劑或醛糖還原酶阻礙劑，其特徵在於包含請求項1之化合物、其衍生物及該等之鹽作為有效成分。
5. 一種食品、飲料或飼料，其特徵在於包含請求項1之化合物、其衍生物及該等之鹽。
6. 如請求項5之食品、飲料或飼料，其係對該化合物顯示感受性之疾病之治療用或預防用。
7. 如請求項6之食品、飲料或飼料，其中對該化合物顯示感受性之疾病係於治療或預防需要抑制一氧化氮之產生或阻礙醛糖還原酶之疾病。

十一、圖式：

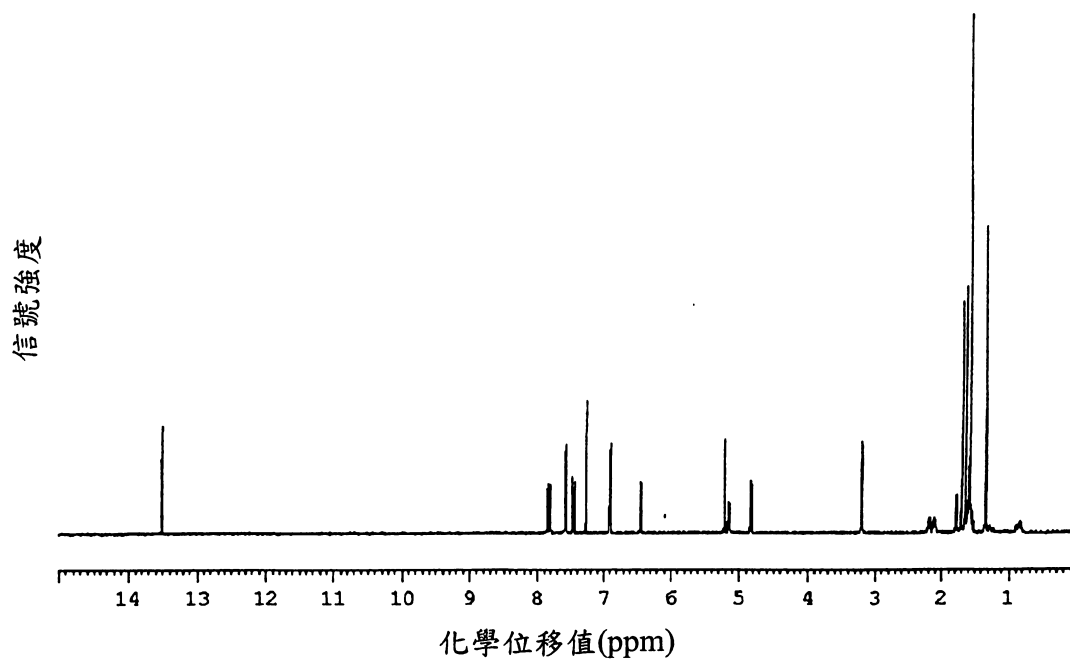


圖 1

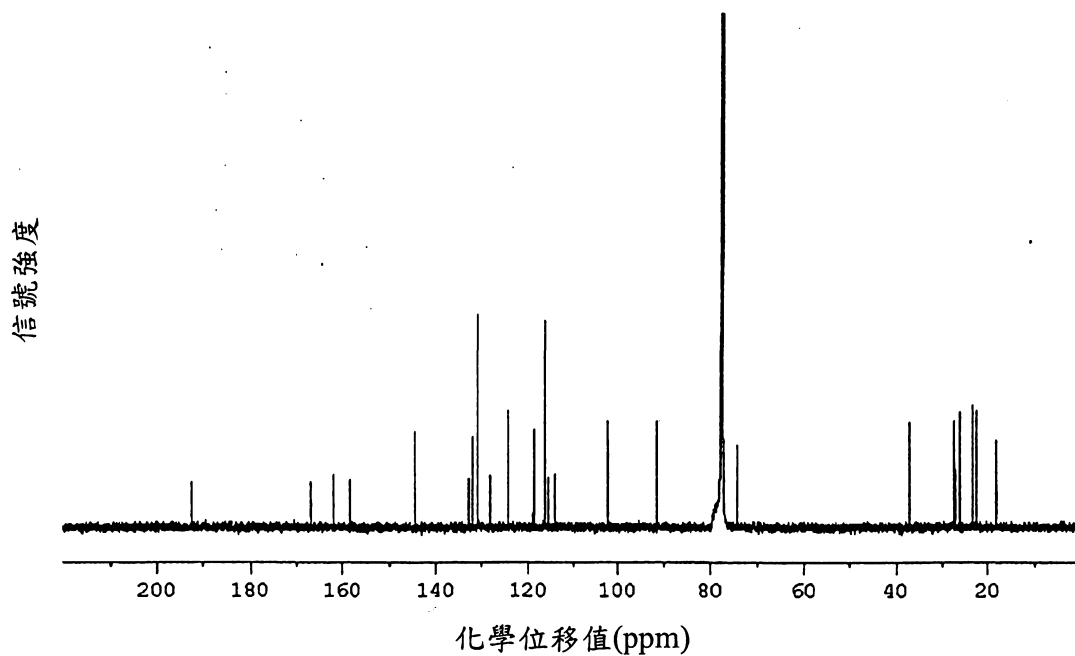


圖 2

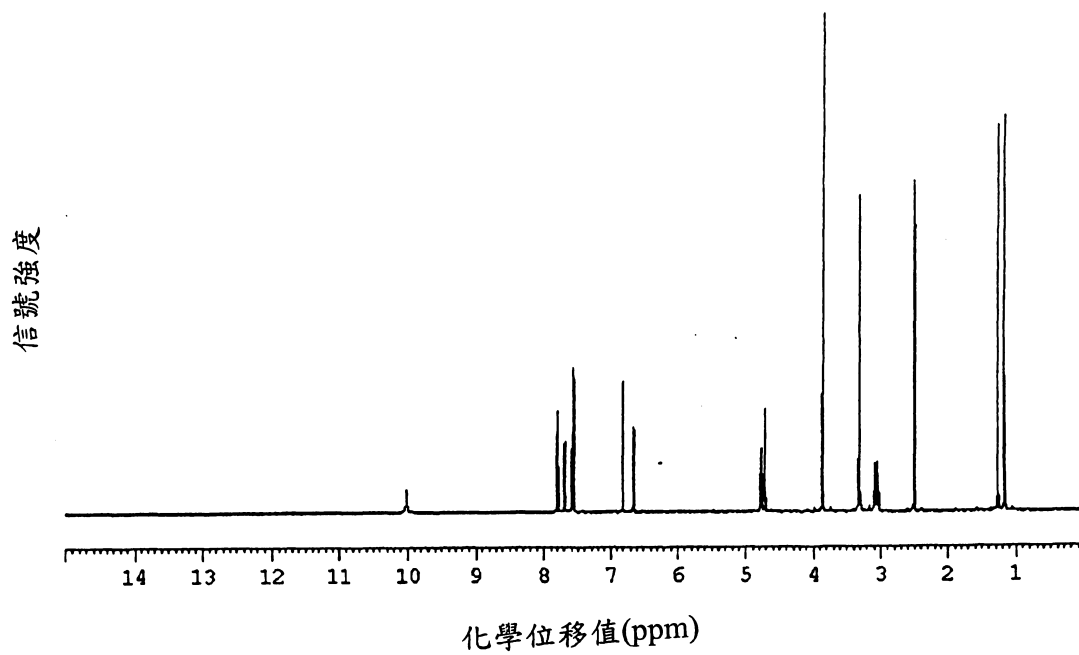


圖 3

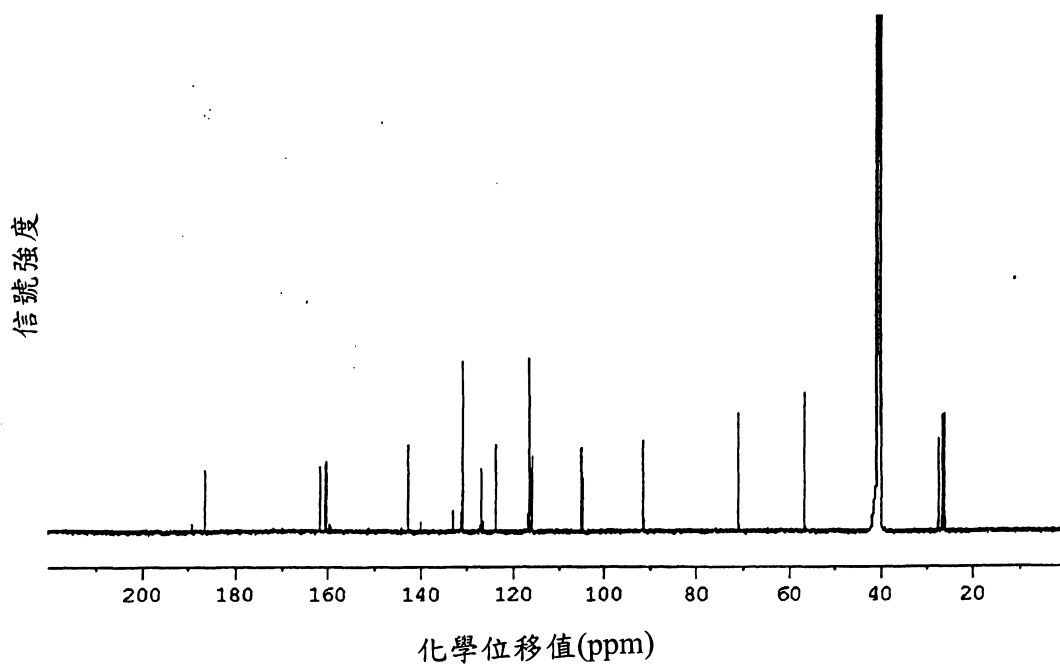


圖 4

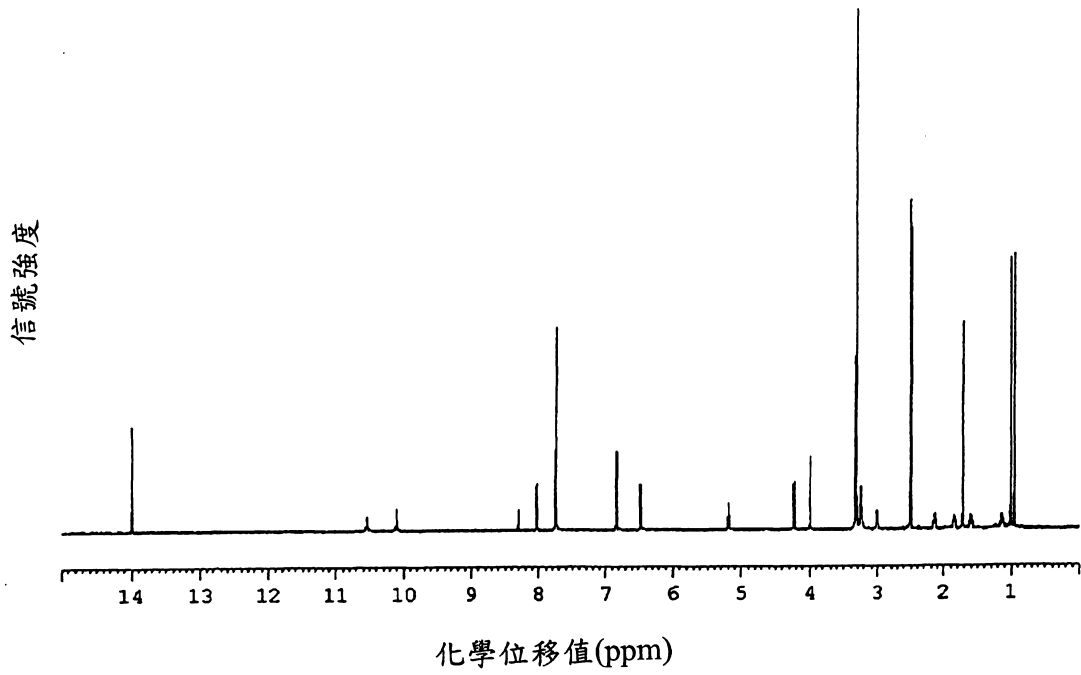


圖 5

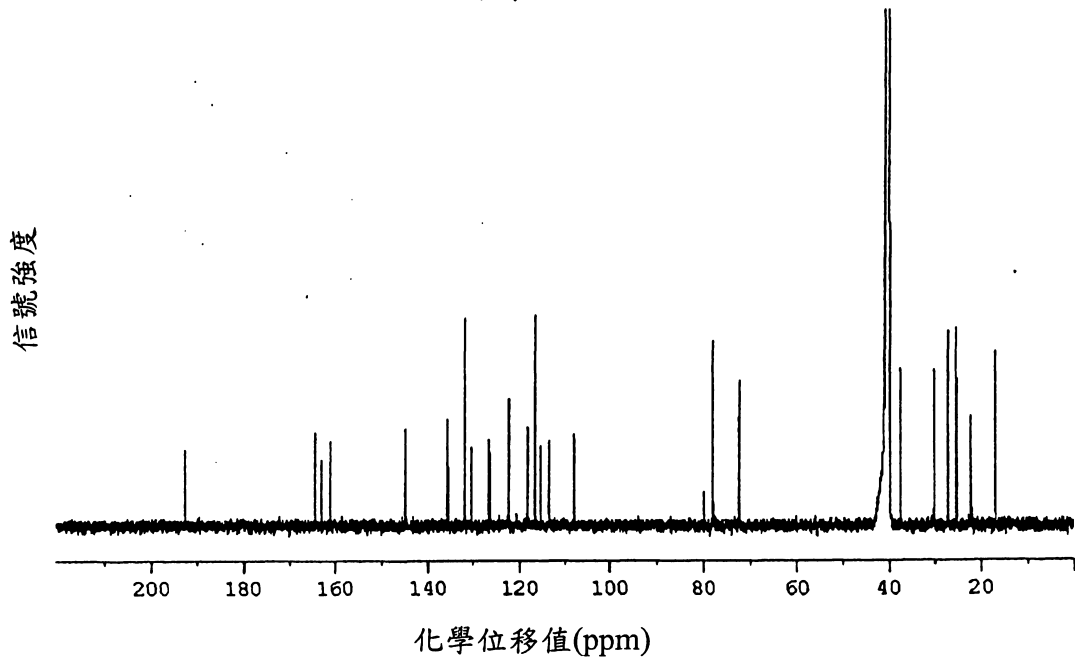


圖 6

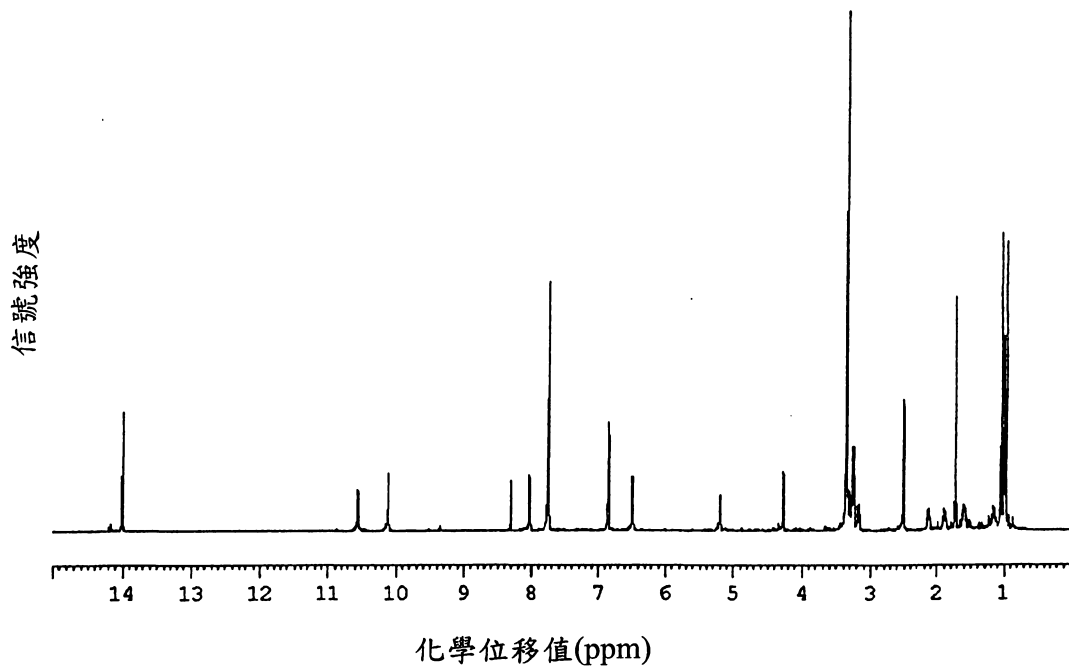


圖 7

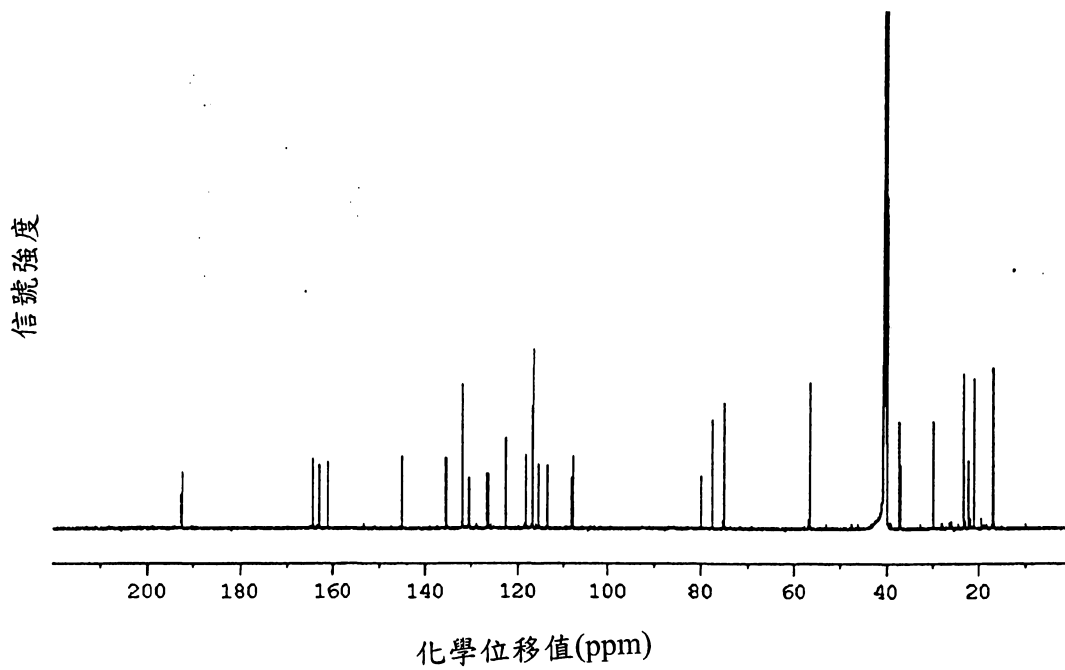


圖 8

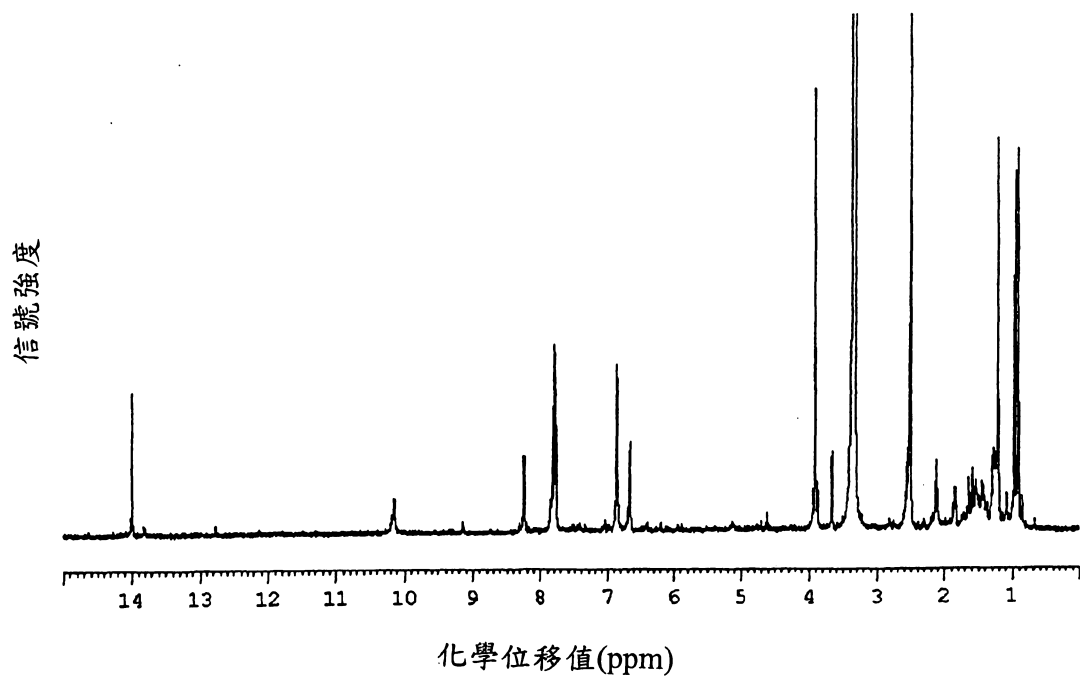


圖 9

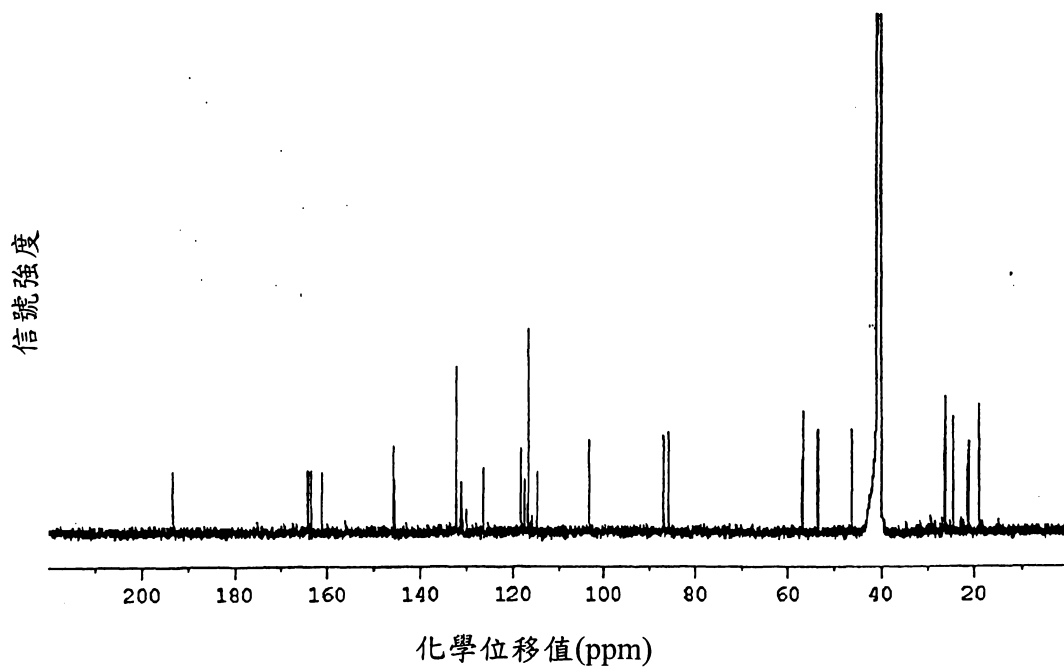


圖 10

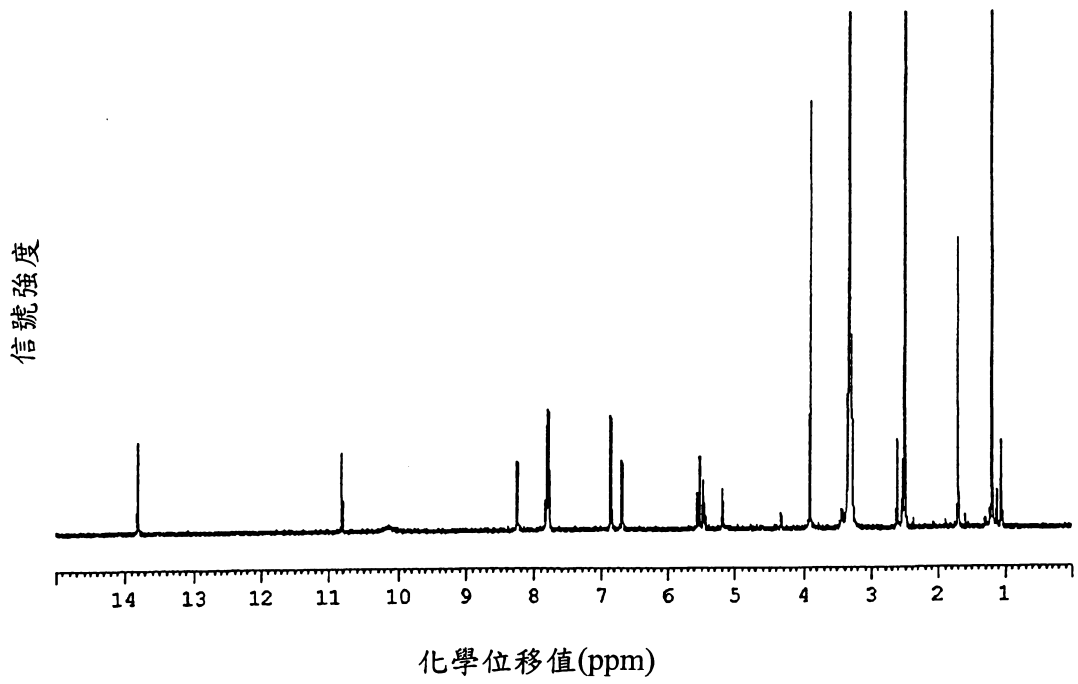


圖 11

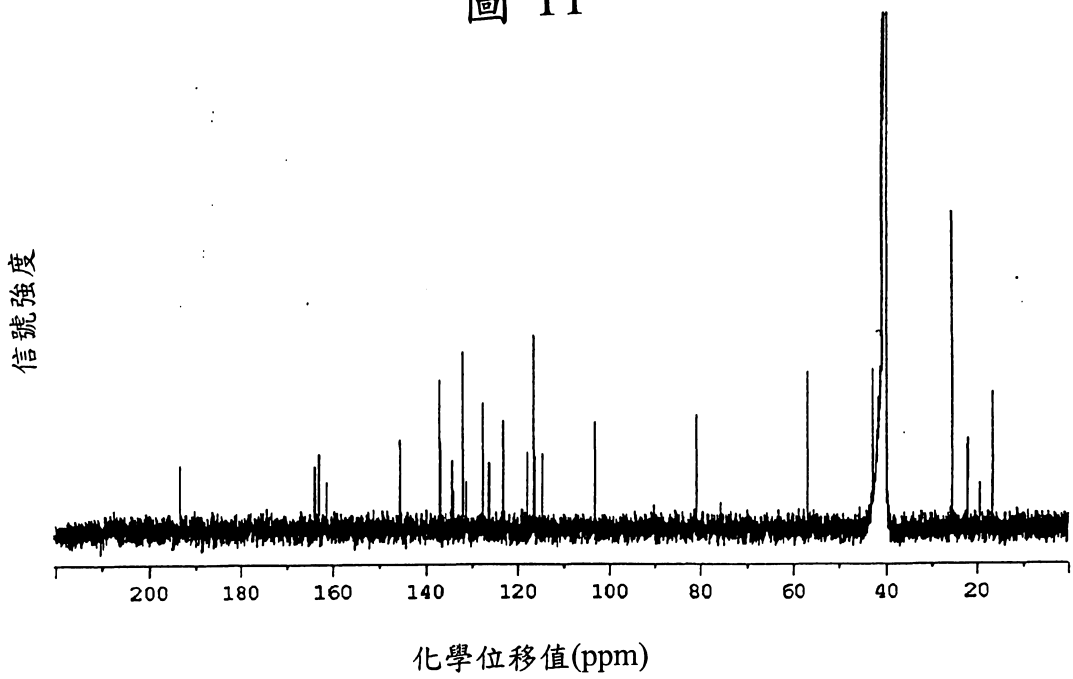


圖 12

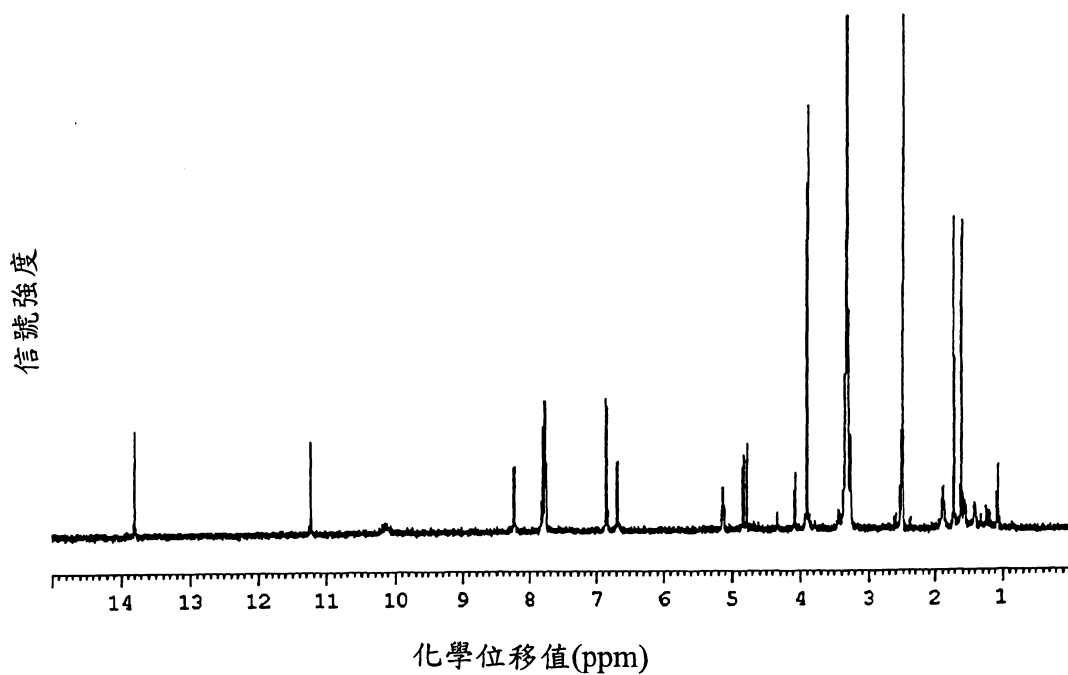


圖 13

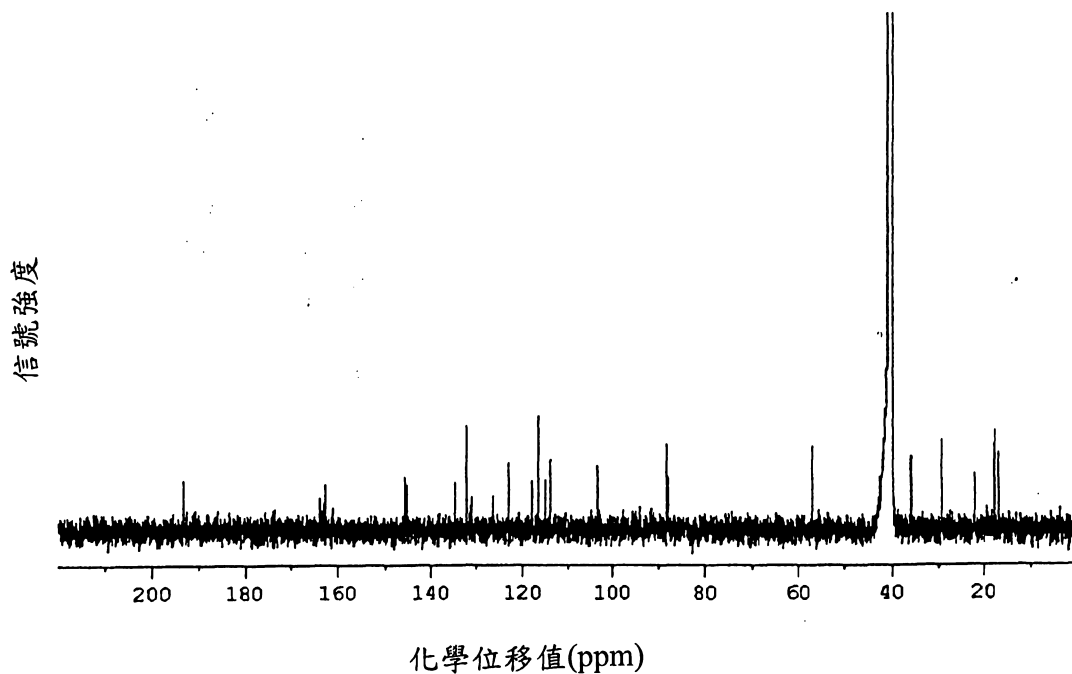


圖 14

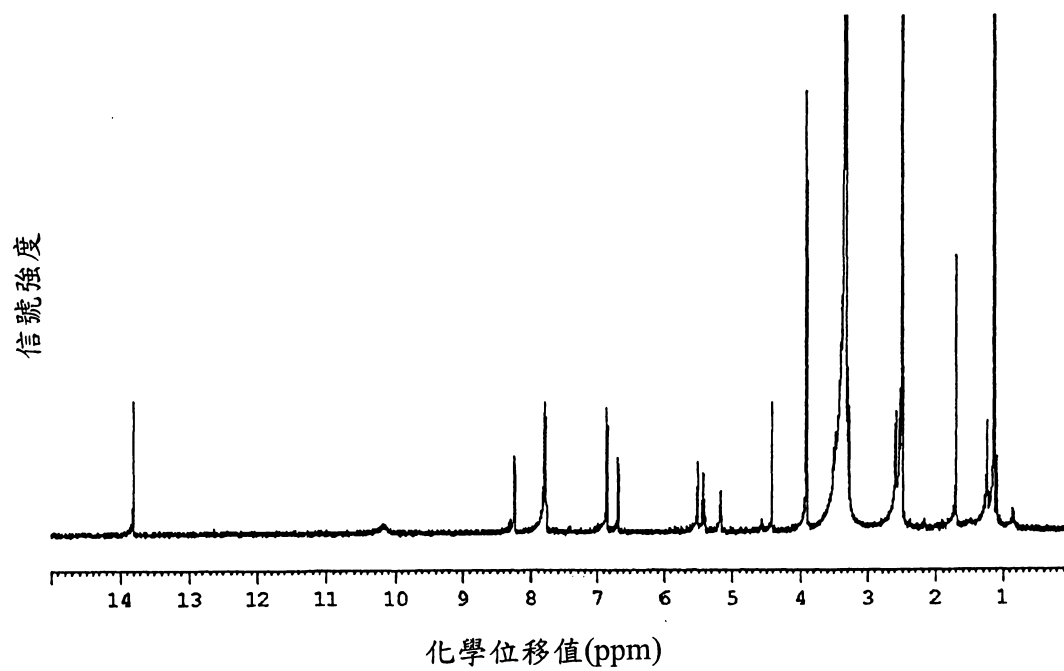


圖 15

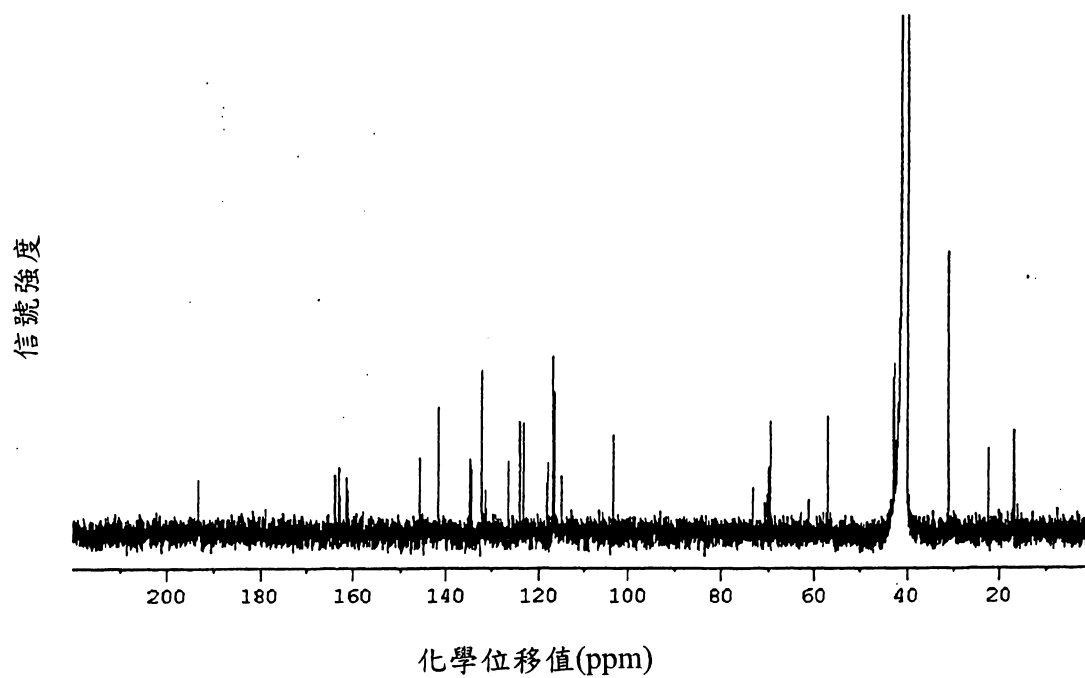


圖 16

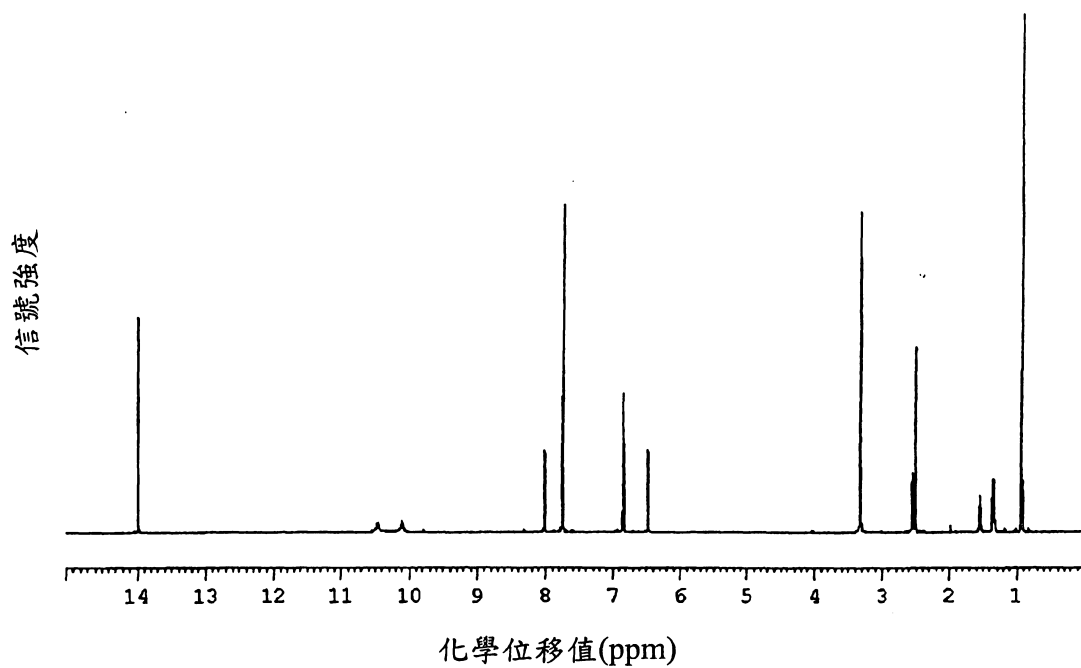


圖 17

七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：(無)。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

