

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl<sup>7</sup>

A61K 31/40

A61K 35/78

A61K 7/48 C07D207/16

A61P 37/08

[12] 发 明 专 利 说 明 书

[21] ZL 专利号 92101145.8

[45]授权公告日 2000 年 9 月 20 日

[11]授权公告号 CN 1056511C

[22]申请日 1992.2.27 [24]颁证日 2000.7.7

[21]申请号 92101145.8

[30]优先权

[32]1991.2.28 [33]FR [31]91-02420

[73]专利权人 珀佛姆思·科利斯坦·迪尔公司

地址 法国巴黎

[72]发明人 I·雷尼玫尔 P·安德烈 V·蒂瑞

G·吉勒梅特

[56]参考文献

FR2522500 1983. 9. 9 A61K7/26

JP52051033 1977. 4. 23 A61K7/00

JP62053911 1987. 3. 9 A61K7/00

JP62234013 1987.10.14 A61K7/50

审查员 安佩东

[74]专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商标事  
务所

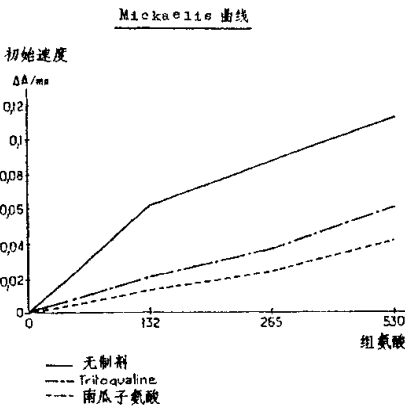
代理人 王 杰

权利要求书 3 页 说明书 20 页 附图页数 2 页

[54]发明名称 应用南瓜子氨酸制备美容或药用,特别是  
皮肤病和抗变态反应应用组合物及应用方法

[57]摘要

本发明涉及应用南瓜子氨酸或葫芦科植物籽提取物  
制备美容或药用,特别是皮 肤病用抗变态反应组合物或  
制备降低变态反应危险的美容或药用组合物。



ISSN 1008-4274

## 权 利 要 求 书

---

1. 南瓜子氨酸或其盐或酯或含有该物质的植物提取物在制造美容或药用、具有抗变态反应活性的组合物方面的用途，其中在该植物提取物为葫芦科植物果肉提取物的情况下含至少 0.5wt% 南瓜子氨酸。

2. 权利要求 1 的用途，其特征在于涉及用于预防或治疗支气管，皮肤和眼睛变态反应表现的美容或药用组合物。

3. 权利要求 1 或 2 的用途，其特征在于南瓜子氨酸以其美容或药用盐或酯的形式存在。

4. 权利要求 3 的用途，其特征在于南瓜子氨酸以其单或二氢溴酸盐或单或二盐酸盐，甲酯或乙酯的形式存在。

5. 权利要求 1 的用途，其特征在于所述植物提取物为葫芦科植物提取物。

6. 权利要求 5 的用途，其特征在于所述植物提取物为笋瓜，西葫芦或南瓜提取物。

7. 权利要求 5 的用途，其特征在于所述植物提取物为葫芦科果仁提取物。

8. 权利要求 1 的用途，其特征在于含南瓜子氨酸或其盐或酯的组合物还可含脂质体类泡囊。

9. 权利要求 8 的用途，其特征在于南瓜子氨酸或其盐或酯或所述植物提取物至少部分在所述脂质体泡囊中制成胶囊。

10. 权利要求 1 的用途，其特征在于南瓜子氨酸或其美容或药用盐或酯浓度为组合物总重量的 0.001-10wt%。

11. 权利要求 10 的用途, 其特征在于南瓜子氨酸或其美容或药用盐或酯浓度为组合物总重量的 0.01~5wt%。

12. 美容组合物, 其特征在于其中含有作为活性成分的南瓜子氨酸或其美容用盐或酯或含该物质的植物提取物, 在该植物提取物为葫芦科植物果肉提取物的情况下, 含至少 0.5wt%南瓜子氨酸, 其中还含有美容用赋形剂, 介质或载体。

13. 权利要求 12 的组合物, 其特征在于所述植物提取物为葫芦科植物提取物。

14. 权利要求 12 的组合物, 其特征在于所述植物提取物为笋瓜, 西葫芦或南瓜提取物。

15. 权利要求 12 的组合物, 其特征在于所述植物提取物为葫芦科果仁提取物。

16. 权利要求 12 的组合物, 其特征在于南瓜子氨酸或其美容用盐或酯以呈现抗变态反应活性的有效量存在。

17. 权利要求 16 的组合物, 其特征在于南瓜子氨酸或其美容用盐或酯占组合物总重量的 0.001-10wt%。

18. 权利要求 16 的组合物, 其特征在于南瓜子氨酸或其美容用盐或酯占组合物总重量的 0.01-5wt%。

19. 权利要求 12 的组合物, 其特征在于所述南瓜子氨酸或其盐或其美容用盐或酯由 1-苄基-3-吡咯烷酮经化学合成法以下列方式获得: 用氯化铵的氨溶液与氰化钾处理 1-苄基-3-吡咯烷酮制成(±)1-苄基-3-氨基-3-氰基吡咯烷, 随后经碱解或酸解被转化为(±)3-氨基-1-苄基-3-吡咯烷羧酸, 经过氢化还原形成(±)3-氨基-3-吡咯烷羧酸或(±)南瓜子氨酸。

20. 权利要求 19 的组合物, 其特征在于所述氢化还原反应以催化氢解的方式完成。

21. 权利要求 19 的组合物, 其特征在于所述 1-苄基-3-吡咯烷酮与氯化铵和氰化钾之间的反应在室温下以 1/4/4 的摩尔比进行至少 48 小时。

22. 权利要求 19 或 20 的组合物, 其特征在于 3-氨基-3-吡咯烷羧酸的左旋异构体自外消旋混合物中分离。

23. 权利要求 22 的组合物, 其特征在于所述自外消旋混合物中分离的过程通过非对映体的制备过程完成。

24. 降低美容或药用组合物变态反应趋势的方法, 其特征在于向所述组合物中加入有效量呈游离或其美容或药用盐或酯形式的南瓜子氨酸或含该物质的植物提取物, 以便降低最终组合物的变态反应可能性。

25. 权利要求 24 的方法, 其特征在于南瓜子氨酸或其盐或酯的浓度为 0.001-10wt%。

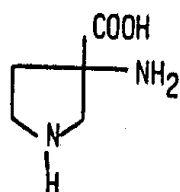
26. 权利要求 24 的方法, 其特征在于南瓜子氨酸或其盐或酯的浓度为 0.01-5wt%。

# 说明书

应用南瓜子氨酸制备美容或药用，  
特别是皮肤病和抗变态反应用  
组合物及应用方法

本发明涉及应用南瓜子氨酸制备美容或药用，特别是皮肤病和抗变态反应用组合物及应用方法。

南瓜子氨酸或式 I 3-氨基-3-吡咯烷羧酸为葫芦科植物中找到的水溶性氨基酸(见 V. H. Mihreanian et al., LLOYDIA (1968), 31 (1) 23-29)。



(I)

已知南瓜子氨酸可作为抗寄生物药，特别是作为抗 *Schistosoma japonicum* 的驱虫药 (Morimoto Y. et al., Chem. Pharm. Bull. (1987) 35(9) 3845—3849)。

南瓜子氨酸可以左旋体萃取或以消旋体合成得到。在南瓜子氨酸的各种合成法中，可特别举出 H. J. Monteiro, J. Chem. Soc., Chem. Commun. (1973) 2 的合成法，但该法中消旋体南瓜子氨酸的收率相当低。另一种合成法可分别得到南瓜子氨酸的两种旋光异物体，参见 Morimoto et al, Chem. Pharm. Bull. (1987) 35(9) 3845—3849，为应用猪肝酯酶经酶法立体

定向合成，但该法复杂，需相当多的步骤。

现已出人意料发现，南瓜子氨酸可抑制组胺形成，组胺为众所周知的变态反应介质，因此南瓜子氨酸具有宝贵的降组胺活性。这种降组胺活性来源于南瓜子氨酸对组氨酸脱羧酶的阻止作用，这种酶为促使组氨酸转化为组胺的酶。因此，服用南瓜子氨酸有助于降低血清和组织中的组胺浓度。

这构成了重大技术进步，因为变态反应表现，特别是肺和皮肤变态反应今天仍给医生带来许多问题，使其只能采用有限量的活性物质并且某些物质可能还有副作用。因此，特别需要预防和治疗变态反应的新组合物。

本发明主要目的是解决上述技术问题，其中提出一种抑制变态反应表现介质组胺的形成以预防和治疗变态反应表现的解决方案。

本发明另一主要目的是解决上述技术问题，其中提出一种可预防和治疗变态反应表现的解决方案。

本发明又一目的是解决新技术问题，其中提出一种降低美容或药用，特别是皮肤病用组合物的变态反应趋势的解决方案。

本发明再一目的是解决新技术问题，其中提出采用最少步骤即可高收率地简单合成南瓜子氨酸的解决方案。

本发明可简单地解决这些问题，方法安全可重复并可工业应用。

本发明第一方面涉及应用南瓜子氨酸或其盐或酯或含有该物质的植物提取物制备美容或药用，特别是皮肤病用抗变态反应组合物。

本发明具体实施方案涉及制备美容或药用，特别是皮肤病用组合物，用以预防或治疗变态反应表现症状，无论哪种引发源和应用地点均可，特别是支气管，皮肤和眼睛。该组合物尤其用来预防和治疗支

气管哮喘或用力剧痛，枯草热，痉挛性鼻炎和气管炎，除变态反应发疹而外的荨麻疹，湿疹，变态反应源皮肤红斑或发炎，瘙痒，昆克氏水肿，变态反应结膜炎以及医源变态反应症状。

在更具体的美容领域，该组合物可有效地用作减轻变态反应产物或用于过敏或发炎皮肤。

南瓜子氨酸可以游离态或其适宜的美容或药用，尤其是皮肤病用盐或酯应用。盐和酯可按本专业已知方法制得，盐可例举单或双氢溴酸盐和单或双氢氯酸盐，酯可例举甲酯和乙酯。

有利实施方案中上述含南瓜子氨酸植物提取物为葫芦科植物提取物，特别是 *Cucurbita maxima* Duch., *Cucurbita pepo* L. 或 *Cucurbita moschata* Duch. 提取物，优选是果仁或肉提取物，特别是葫芦籽提取物。

有利的实施方案中南瓜子氨酸或其美容或药用，特别是皮肤病用盐或酯的浓度为组合物总重量的 0.001—10 wt%，优选 0.01—5 wt%。

本发明第二方面涉及美容组合物，其特征是其中含南瓜子氨酸或其美容用盐或酯或含有该物质的植物提取物作活性成分，必要时还加美容用赋形剂，载体或介质。

有利实施方案中上述植物提取物为葫芦科植物提取物，如上述提取物。

优选实施方案中南瓜子氨酸或其盐或酯以抗变态反应有效量存在，尤其是组合物总量的 0.001—10，优选 0.01—5 wt%。

本发明第三方面涉及药用，特别是皮肤病用，优选是具有抗变

态反应活性的组合物，其特征是其中含南瓜子氨酸或其药用盐或酯，达到抗变态反应有效量，尤其是用以预防或治疗变态反应表现，特别是抗支气管，皮肤和眼的变态反应，必要时加药用赋形剂，介质或载体。

实施方案之一的上述美容和药用组合物含植物提取物，如上述提取物。

本发明第四方面涉及降低美容或药用，特别是皮肤病用组合物变态反应趋势的方法，其特征是向组合物中加有效量游离态或其美容或药用盐或酯形式的南瓜子氨酸或含有该物质的植物提取物，如上述植物提取物，使最终组合物的变态反应危险得以降低。

在上述任一方面范围内，南瓜子氨酸或其盐或酯用于局部用组合物的优选重量浓度为 0.001—10，更优选 0.01—5 wt %。

对于全身性服用（如口服，肠胃外，直肠，吸入……）组合物，南瓜子氨酸浓度并不关键，可达到组合物的例如 60%。人用剂量一般 0.1—20 mg/Kg/天，优选 1—15 mg/Kg/天。

此外，一般用左旋体天然南瓜子氨酸或其盐或酯。特别可取的左旋体南瓜子氨酸源为葫芦科植物，尤其是 *Cucurbita pepo* L., *Cucurbita maxima* Duch. 和 *Cucurbita moschata* Duch. 等品种的肉和仁，但也可用消旋体形式的南瓜子氨酸或其盐或酯。

而且，南瓜子氨酸可纯态或以提取物形式应用，可按本专业人员已知的任何提取方法提取。特别可取的提取方法见于 Velentine H. MIHRANIAN et al., *Lloydia* 1968, 31, (1) 23—29，引用于此供本文参考，特别参见 24 页。该法中可有效



地处理去壳和脱脂的葫芦科植物籽粒料，其中恒定搅拌情况下用优选加热到至少 50 °C 的水处理数小时。然后将混合物离心分离，上层清液收集起来，剩余物用多份热水再类似提取一次或多次。上层清液和洗液组合起来后加等体积 85 % 乙醇处理以在悬浮液中沉淀出蛋白质物质并将其放在冰箱中过一整夜。混合物再离心分离并收集上层清液，乙醇可例如在旋转蒸发器中蒸馏除去。水溶液可如此或经过例如尺寸为 7.5 × 2.2 Cm 的 Dowex 50 W-X-8 型色谱柱后应用。该柱用约 200 ml 水洗后用 1 % 氢氧化铵水溶液洗脱直至流出物在茚三酮试验中呈负响应。洗脱液减压蒸发至干，必要时加热。剩余浆料可如此或再用热水处理后应用，有利的是加入 95 % 至少等体积乙醇中。之后可滴加酸使溶液 PH 达到约 5，如用 60 % 高氯酸。然后再于冰箱中放数天而获得南瓜子氨酸高氯酸盐沉淀。将该沉淀溶于数 ml 水，必要时经过色谱柱，优选经过例如尺寸 20 × 1.5 Cm 的 Amberlite CG-45 型柱。洗脱液减压蒸发得基本上纯态南瓜子氨酸。本发明优选植物提取物为含至少 0.5 wt % 南瓜子氨酸的葫芦科植物果肉提取物。

同时，上述方法可得纯南瓜子氨酸或含不同量南瓜子氨酸的提取物。在应用葫芦科植物提取物形式的南瓜子氨酸时，采用南瓜子氨酸浓度优选至少 0.5 wt % 的提取物。优选南瓜子氨酸获得源南瓜种，如 *Cucurbita pepo* L., *Cucurbita maxima* Duch. 和 *Cucurbita moschata* Duch. 籽。

本发明第五方面提出预防或治疗人或动物变态反应表现的方法，其特征是给人或动物服用预防或治疗变态反应表现的有效量南瓜子氨酸或其药用盐或酯或含该物质的植物提取物，如上述提取物。

具体地讲，上述疗法用以预防或治疗变态反应支气管哮喘或肌肉用力剧痛，枯草热，痉挛性鼻炎和气管炎，除变态反应发疹而外的荨麻疹，湿疹，变态反应源皮肤红斑或发炎，瘙痒，昆克氏水肿，变态反应结膜炎以及医源变态反应症状。

实施方案之一中局部服用浓度优选为 0.01—10 wt% 的南瓜子氨酸或其药用盐或酯。

另一实施方案中人全身性服用剂量为 0.1—20，优选 1—15 mg/Kg/天南瓜子氨酸或其药用盐或酯。

本发明（第六方面）还涉及美容或药用，特别是皮肤病用组合物制备方法，其特征是在美容或药用载体或赋形剂中加南瓜子氨酸或其美容或药用盐或酯或含该物质的植物提取物，如上述提取物。

实施方案之一中南瓜子氨酸或其美容或药用盐或酯加入美容或药物全配方中，用以降低其变态反应趋势。

另一实施方案是制取抗变态反应组合物，其制备方案也如上述说明。

本发明上述任一方面的具体实施方案范围内，含南瓜子氨酸或其盐或酯或上述植物提取物的组合物还可含脂质体类泡囊。具体实施方案之一中南瓜子氨酸或其盐或酯至少部分包在脂质体类泡囊中。“脂质体类泡囊”意指由两性，离子型或非离子型脂形成的脂质泡囊类水合脂质层相。而本文及权利要求书中“将至少一部分加入脂质体类泡囊中”意指南瓜子氨酸或其盐或酯与脂质体类泡囊结合成混合物。但优选结合形式是南瓜子氨酸或其盐或酯在脂质体类泡囊中胶囊化。然而，为获得本发明抗变态反应效果，也不必全部加入或胶囊化。

已知“脂质体”类泡囊可用脂质料制成，而“脂质”包括所有带

脂肪碳链的物质，一般含5碳以上，该物质一般称为“脂类”。

本发明中形成脂质层相或脂质体泡囊的脂类可用两性脂类，由带有无区别离子型或非离子型亲水基和亲脂基的分子构成，该脂类易于在水相存在下形成脂质层相或脂质体类泡囊。

具体地讲，这些脂类中可举出磷脂，磷氨基脂，糖脂，聚氧乙烯化脂肪醇，必要时聚氧乙烯化多元醇酯。这些物质例如可由必要时氢化的蛋或大豆卵磷脂，磷脂酰胆碱，磷脂酰丝氨酸，鞘磷脂，脑苷脂或氧乙烯化聚甘油硬脂酸酯构成。

在水合脂质层相或脂质体中加本发明所用化合物的操作可按已知技术进行，已见于例如US-A-4 508 703且必要时参考US-A-4 621 023。

本发明第七方面是提出南瓜子氨酸制备方法，其特征是用1-苄基-3-吡咯烷酮作初始物料。

该合成法的具体实施方案之一是用氯化铵和氰化钾的氨液处理1-苄基-3-吡咯烷酮得(±)3-氨基-1-苄基-3-氰基吡咯烷酮。然后酸水解或碱水解将该化合物转化成(±)3-氨基-1-苄基-3-吡咯烷羧酸，之后加氢还原，优选催化氢解得(±)3-氨基-3-吡咯烷羧酸或(±)南瓜子氨酸。

优选方案中上述氨液为水醇液，醇优选为异丙醇或甲醇。

另一优选方案中上述水解可用6N氢溴酸水溶液进行。

又一方案中催化氢解在水中氢气氛下大气压并在催化剂，如分散在含水反应介质中的披钨木炭存在下进行。

该合成法的优选实施方案之一是让1-苄基-3-吡咯烷酮与氯化铵和氰化钾以1/4/4摩尔比于室温下反应至少48小时。

另一具体实施方案中从消旋体混合物中分出旋光异构体，特别是左旋异构体，其中采用本专业已知分离法，特别是通过制备非对映异构体。

本发明南瓜子氨酸合成法中消旋体南瓜子氨酸收率特别高，比已知法收率平均高2—3倍。

本发明其它目的，特点和优点详见于以下各南瓜子氨酸制备例的详细说明以及各药用试验例和美容或药用配方例。例中，除另有说明外，百分比均以重量计。

#### 例1

合成消旋体混合物态南瓜子氨酸

方式如下：

a) 合成(±)3-氨基-1-苄基-3-氰基吡咯烷0.5g  
1-苄基-3-吡咯烷酮(2.85mmol)溶于3ml 2-丙醇中，  
将该溶液加入0.741g(11.4mmol)氰化钾和0.615g  
(11.4mmol)氯化铵的7ml 28%氨溶液中。混合物室温搅  
拌放置3天。溶液用15ml 10%碳酸钾液洗涤并用二氯甲烷萃  
取(3×15ml)。硫酸镁干燥并蒸出溶剂得油  
(0.475g)。

固态沉淀硅胶柱提纯并用4:2的乙醚-石油醚混合物洗脱。

得0.402g淡灰褐色固体(收率:70%)，由3-氨基  
-1-苄基-3-氰基吡咯烷构成，RMN谱如下：

RMN<sup>1</sup>H, 300MHz, CDCl<sub>3</sub>,

1,8 (s, 宽, 2H, NH<sub>2</sub>) ; 1,97 (ddd, 1H, J<sub>4,4'</sub> = 13,4, J<sub>4,5</sub> = 8, J<sub>4,5'</sub> = 5,4) ; 2,5 (ddd, 1H, J<sub>4,4'</sub> = 8, J<sub>4,5'</sub> = 8, J<sub>4',5'</sub> = 5,4) ; 2,64 (d, 1H, J<sub>2,2'</sub> = 9,4) ; 3,04 (d, 1H, J<sub>2',2</sub> = 9,4) ; 3,67 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>) ; 7,33 (m, 5H, 芳族质子)。

b) 合成 (±) 3-氨基-1-苄基-3-吡咯烷羧酸或 (±) 1-苄基-南瓜子氨酸

酸性或碱性介质中将上述所得化合物水解。

酸性介质中水解：

a) 中所得 0.3 g (1.49 mmol) 3-氨基-1-苄基-3-氨基吡咯烷溶于 5 ml 48% 氢溴酸的溶液 4 小时内加热到 40—50 °C。酸蒸发后硅胶柱提纯。用 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / MeOH 10% 去除杂质并用 15% MeOH / H<sub>2</sub>O 分选氨基酸。

蒸除甲醇后在最少量热水中采用骨炭使该化合物脱色，然后冻干。

得深黄色固体 (收率：80%)，由 (±) 3-氨基-1-苄基-3-吡咯烷羧酸，为单或二氢溴酸盐形式，其 RMN 谱如下：

RMN<sup>1</sup>H, 300 MHz, D<sub>2</sub>O  
2,47-2,69 (m, 1H, H<sub>4</sub>) ; 2,75-2,91 (m, 1H, H<sub>4'</sub>) ; 3,69-3,94 (m, 3H, H<sub>5</sub>, H<sub>5'</sub>, H<sub>2</sub>) ; 4,12 (d, J<sub>2,2'</sub> = 14,2, 1H, H<sub>2</sub>) ; 4,58 (2d, J = 13,8, 2H, CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>) ; 7,62 (s, 5H, 芳族质子)。

碱性介质中水解：

a) 中所得 280 mg (1.39 mmol) 3-氨基-1-苄基-3-氨基吡咯烷溶于 2 ml 乙醇中。加 5 ml 10% 苏打液后回流 5 小时。冷却后用 48% 氢溴酸酸化。

硅胶柱提纯,  $M = 0.1\% \text{ H}_2\text{O} - 1.0\%$  用骨炭脱色后冻干。存在夹带溴化钠盐使所得收率高于  $100\%$ 。

去除存在的盐, 抽取  $200\text{mg}$  吡咯烷, 用  $10\%$  苏打液使其达到  $\text{pH} = 8$ 。用  $2\text{N}$  氢溴酸液加 Duolite G1<sup>-</sup>。用蒸馏水去除盐。为分离吡咯烷, 可采用  $0.1\text{N}$  氢溴酸液。

冻干后得  $120\text{mg} (\pm) 3\text{-氨基-1-苄基-3-吡咯烷羧酸}$  (收率:  $40\%$ )。

c) 合成  $(\pm) 3\text{-氨基-3-吡咯烷羧酸}$  或  $(\pm)$  南瓜子氨酸。

b) 中所得  $300\text{mg} (\pm) 3\text{-氨基-1-苄基-3-吡咯烷羧酸}$  的氢溴酸盐溶于  $10\text{ml}$  水中。分散入  $0.5\text{mg}$   $10\%$  披钼木炭后将悬浮液放入大气压氢气气氛中。搅拌  $18$  小时。纸滤并冻干后得黄色固体 ( $98\%$ )。由  $(\pm) 3\text{-氨基-3-吡咯烷羧酸}$  或  $(\pm)$  南瓜子氨酸构成, 其 RMN 谱如下:

RMN  $^1\text{H}$ ,  $300\text{MHz}$ ,  $\text{D}_2\text{O}$

$2.45 (\text{m}, 1\text{H}, \text{H}_4)$ ;  $2.69 (\text{m}, 1\text{H}, \text{H}_4)$ ;  $3.61 (\text{d}, 1\text{H}, J_{2,2'} = 13.4)$ ;  $3.67\text{--}3.78 (\text{m}, 2\text{H}, \text{H}_5, \text{H}_5')$ ;  $4 (\text{d}, 1\text{H}, J_{2',2} = 13.4)$ 。

## 例 2

优化  $(+)$  南瓜子氨酸合成收率

操作同例 1, b) 中用  $6\text{N}$  氢溴酸水解, 不过还要改变 a) 中反应物比例。

收率列于下表 I。

| 当量数     |                    |     | a) 中试验条件      | 收率  |      |
|---------|--------------------|-----|---------------|-----|------|
| mol     |                    |     |               |     |      |
| N. B. P | NH <sub>4</sub> Cl | KCN |               | C N | COOH |
| 1       | 1—1                | 1   | 6 小时室温        | ※   | <10% |
| 1       | 1—1                | 1   | 4 小时 40-50 °C | ※   | <10% |
| 1       | 4                  | 4   | 4 小时 40-50 °C | ※   | 20%  |
| 1       | 8                  | 8   | 4 小时 40-50 °C | ※   | 20%  |
| 1       | 4                  | 4   | 4 8 小时室温      | 66% | 44%  |
| 1       | 4                  | 4   | 7 2 小时室温      | 70% | 49%  |
| 1       | 4                  | 4   | 8 4 小时室温      | 70% | 56%  |

N. B. P: 1-苄基-3-吡咯烷

※: 未分离氨基—腈

C N: 3-氨基-1-苄基-3-氰基吡咯烷收率

COOH: 3-氨基-3-吡咯烷羧酸总收率

表 I 中最后一栏为 (±) 南瓜子氨酸针对初始反应物收率。

可以看出, 室温下 1-苄基-3-吡咯烷, 氯化铵和氰化钾以 1/4/4 的反应物比例反应 48 小时以上时收率最大。

另外还可看出, 相同浓度下, 用氢溴酸水解比用盐酸作水解制剂时收率高。

### 例 3

南瓜子氨酸旋光异构体分离

本身已知的分离法基于用某些旋光反应物, 经酯化保护酸官能

团并保护环胺官能团后偶合(±)南瓜子氨酸而制得非对映体衍生物。对应于南瓜子氨酸之一异构体的任何形式的这类立体异构体均可色谱,特别是高效液相色谱或硅胶柱分离。为使南瓜子氨酸两种对映体再生,将保护酯皂化后水解而游离出酸官能团和胺官能团即足够了,例如例1中氮官能团用苄基取代保护的情况下可按上述氢解进行。

该方法反应物可用左旋体S旋光化合物,如:

苄基-1S氯化物,

(S)-(-)-α-甲氧基-α-三氟甲基苄基乙酸

N-(叔丁氧羰基)-L-苯基丙氨酸

本例说明经苄基-1S氯化物偶合而使南瓜子氨酸消旋体解析的情况。

a) 保护(+)1-苄基-南瓜子氨酸的酸官能团:

合成其甲酯

例1b)中所得0.1g(±)1-苄基南瓜子氨酸(0.20 mmol)缓慢加入亚硫酰(二)氯(0.28 mmol)和甲醇(2 ml)的冰冷液中。反应温不应高于-5℃。混合物2小时内搅拌加热到0℃后两天回到室温。

蒸发后固体沉淀硅胶柱提纯(洗脱液为CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 10—50%)。

得黄色产物,收率70%,由(±)1-苄基南瓜子氨酸甲酯构成。

b) 用苄基-1S(-)氯化物偶合

在1.5 ml 二氯甲烷液中用1 ml 三乙胺将1 ml(±)1-苄基南瓜子氨酸甲酯中和,加1 ml S(-)苄基氯化物。室温搅



拌放置 16 小时。

固体沉淀硅胶柱提纯 (洗脱液:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2 / \text{MeOH } 10\%$ )。非对映体分离用多种柱, 尤其是接枝 Zorbax<sup>®</sup>  $\text{NH}_2$  经 H. P. L. C. 进行。

#### 例 4

用 Cucurbita pepo 肉获得南瓜子氨酸

切开两个 Cucurbita pepo 新鲜果, 取出果仁, 可用来制取果仁提取物。将所得果肉捣碎后冻干。收集粉后用石油醚脱脂, 比例为 1 l 对 100 g 粉。过滤收集不溶物, 即构成了需要的 Cucurbita pepo 果肉提取物。用 H. P. L. C 将该提取物计量得南瓜子氨酸比例, 在脱脂干提取物中南瓜子氨酸浓度 0.03 wt %。

该脱脂干提取物然后引入约 50 °C 热水中, 搅拌至完全溶解为止。加 95 % 等体积乙醇以使悬浮液中蛋白质物质沉淀并离心分离去除。上层清液然后酸化至 PH 5.0, 其中用 60 % 高氯酸。这样酸化的溶液在冰箱中放至少 2 天以使南瓜子氨酸的高氯酸盐沉淀并收集起来。用该南瓜子氨酸高氯酸盐经本专业人员熟知的方式, 特别是经过阳离子 ( $\text{Na}^+$  型) 交换树脂柱并减压蒸发洗脱液即可得到南瓜子氨酸。

#### 例 5

制备 Cucurbita pepo 籽提取物

将 1.5 Kg 预先去壳的 Cucurbita pepo 籽捣碎, 所得粉 3 次用己烷萃取 (3 l, 2 l 和 1.8 l), 以去除脂肪物质。所得干燥饼再用保持约 PH 4 的盐酸水溶液提取, 进行 3 次: 2 次在室温

(约22℃)下,第三次为70℃下进行。每次,饼一液与盐酸液保持接触24小时(第一次21,后二次2.51)。

脱水后去除固体残渣并收集水相,部分蒸发后离心分离。离心分离沉淀用蒸馏水洗后去除。洗涤水再与离心分离浓缩物组合。

水组分再浓缩后用乙醇进行分重处理,形成白色沉淀后离心分离去除。水一醇上层清液用例如苏打中和后构成含(-)-南瓜子氨酸的提取物,可如此应用。

蒸除醇后使所得水溶液雾化以得到粉,滴定含3—5%(-)南瓜子氨酸,以所用籽投料计。

#### 例6

制备富含(-)-南瓜子氨酸的Cucurbita pepo籽提取物并得到提纯的(-)-南瓜子氨酸

##### A-制备Cucurbita pepo籽提取物

初始物质由去壳或未去壳Cucurbita籽构成,(-)-南瓜子氨酸含量为千分之2—4(重),以投料或初始料计,或由Cucurbita籽去油后的油饼构成,(-)-南瓜子氨酸含量千分之4—8(重)以投料或初始料计。

初始物质优选粉碎至约100μm,然后常温下用约PH3.5的酸化水(千分之1(重)硫酸)浸泡处理,用粉碎饼时历时2小时,用籽料时历时16小时。所用酸化水量约5倍于初始物质重量。全部物料常压沸腾1小时。冷至80℃后过滤,之后必要时离心分离。所得水相加热80—90℃后用0.5μm过滤器微滤。得到汁,滴定含约10g干物质/l。

该汁然后在部分真空中加热预浓缩,直到浓度约250g/l的

干物质为止。该预浓缩物 4℃ 下放置 48 小时，然后减压再浓缩，直至 500 g 干物质 / l 为止，并让其 4℃ 静置 48 小时后进行压滤操作。得到提取物，含 40—50% 的干物质，滴定含 1—2% (—) - 南瓜子氨酸，收率为约 200 l 提取物 / 吨初始物质。

#### B - 得提纯 (—) - 南瓜子氨酸

含 250—300 g 干物质 / l 的上述预浓缩物用苏打中和得 PH 7.5。压滤机过滤后滤液经过阳离子交换树脂 (Na<sup>+</sup> 型)，用氨液进行洗脱。部分真空中加热浓缩洗脱液后得浆料，其中干物质含约 50 wt % (—) - 南瓜子氨酸。必要时，该浆料可冻干。为此，可有利地将其与中性粉状载体，如滑石混合。

#### 例 7

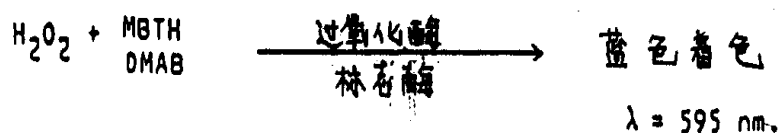
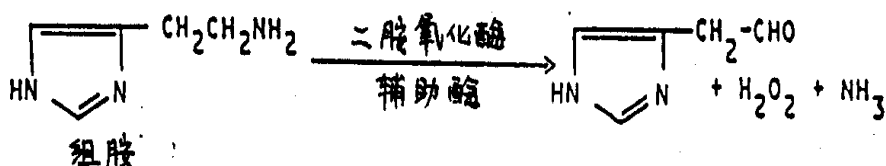
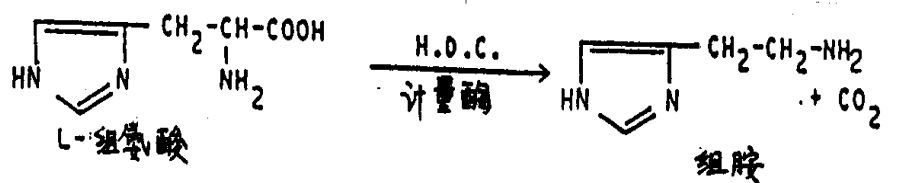
##### 证实用南瓜子氨酸抑制组胺形成的活性

##### 1—A 经酶试验

该试验基于南瓜子氨酸对将组氨酸转化成组胺的组氨酸脱羧酶 (HDC) 的抑制作用，与已知 HDC 抑制剂 tritoqualine 的抑制作用比较 (见 Carpi C., Maggi G. C. Bull. Soc. Ital. Sper. 1968, 44 (6543—4)，并以 Hypostamine<sup>®</sup> 商名用作降组胺制剂。

按以下化学反应易于经比色计量法实现对 HDC 的抑制作用：

##### 比色计量法



MBTH = 3-甲基-2-苯并噻唑啉酮脒

DMAB = 3-(二甲基氨基)苯甲酸

实际上,可以看出蓝色着色的形成与消耗组氨酸呈比例。也可定义初始反应速度并建立起称之为 Mickaelis 的曲线,如见于 Fundamentals of Enzymology, 2nd Ed., Oxford Univ. Press, 1989。

初始速度表示为吸收变化,以分钟计。

不同组氨酸浓度,即 132 nmol, 265 nmol 和 530 nmol 下分别是无制剂,已知 HDC 抑制剂 tritoqualine 和本发明消旋体南瓜子氨酸抑制剂所得结果列于表 I I 并作为 Mickaelis 曲线绘制在图 1 中。

| 组氨酸                 | 132nmol | 265nmol | 530nmol |
|---------------------|---------|---------|---------|
| Tritoqualine (现有技术) | 0.021   | 0.0374  | 0.0604  |
| 南瓜子氨酸 (本发明)         | 0.013   | 0.0242  | 0.042   |
| 无制剂                 | 0.062   | 0.089   | 0.1132  |

从表 I I 和图 1 中 Mickaelis 曲线可以清楚地看出, 南瓜子氨酸作为 HDC 抑制剂比 tritoqualine 更有效, 这对本专业人员而言是完全出人意料的结果。

#### 1-B 经 R I A 计量

还可按以下方式经放射免疫计量 (放射免疫试验或 “R I A”) 证实南瓜子氨酸的抗组胺活性。

该计量法是采用 R I A 办法计量在 HDC 酶作用下直接产生的组胺, R I A 法为本专业人员所熟知, 特别是见于 IMMUNOTECH 公司 (Marseille-France) 销售的两名为 HISTAMINE 放射免疫试验装置 (Cat.  $\neq$  1302) 的计量装置的应用说明。

在试验过程中在 PH 6.3 的磷酸盐缓冲液中对于  $1.6 \times 10^{-8}$  mol 组氨酸浓度释放的组胺量 (nmol) 分别在无制剂, 应用对照制剂 tritoqualine 和本发明合成消旋体南瓜子氨酸作为本发明抗组胺的制剂的情况下进行。Tritoqualine 和南瓜子氨酸应用浓度为  $2 \times 10^{-8}$  mol。

被释放组氨酸以 nmol 得到的结果列于下表 I I I 中并绘制在图 2 中, 其中纵坐标表示释放组胺 nmol 数, 而横坐标示为时间分钟, 无制剂曲线用连续线表示, tritoqualine 曲线用混合线表示, 而

南瓜子氨酸则用点线表示。

| 时间           | 5 min** | 10 min** | % I* (à 5 min) | % I* (à 10 min) |
|--------------|---------|----------|----------------|-----------------|
| 无制剂          | 32,66   | 140,79   | 0              | 0               |
| Tritoqualine | 16,48   | 49,27    | 49             | 65              |
| 南瓜子氨酸        | 14,85   | 38,29    | 55             | 73              |

\* I = 抑制

\*\* = 释放组胺 nmol

从表 I I I 中可以清楚地看出，在南瓜子氨酸存在下，释放组胺量大大降低了，即最低。

因此，RIA 方法所得结果证实，几分钟后南瓜子氨酸具有比 tritoqualine 更有效地抑制组胺形成的活性。

以下为本发明美容或药用，特别是皮肤病用组合物配方实施例：

例 8

压片

口服压片

(±) 南瓜子氨酸

1 0 0 mg

淀粉

3 8 mg

乳糖

7 5 mg

滑石

1 0 mg

其它压片赋形剂 ( 此为硬脂酸镁 ) q s p

2 5 0 mg

说明：预防和治疗变态反应，尤其是皮肤和呼吸道变态反应表现。

用量：成人每天1—10片，婴儿至15岁减半。

#### 例9

喷粉

气压瓶中装100mg；

|          |    |
|----------|----|
| (±)南瓜子氨酸 | 3g |
|----------|----|

|      |    |
|------|----|
| 甘露糖醇 | 1g |
|------|----|

|       |     |
|-------|-----|
| 气体压出剂 | 96g |
|-------|-----|

说明：预防和治疗所有呼吸道变态反应表现，如支气管哮喘和哮喘性支气管炎。

用量：支气管内服用，平均每天吸入4—6次。

#### 例10

敏感皮肤镇痛和减轻刺激乳液

|                     |     |
|---------------------|-----|
| 例5含3%(-)南瓜子氨酸的果仁提取物 | 10g |
|---------------------|-----|

普通敏感皮肤美容乳液(脂肪醇，矿质油聚氧

乙烯化脂肪醇，棕榈酸异丙酯，甘油，胶凝剂，

|               |      |
|---------------|------|
| 防腐剂，香料，水) qsp | 100g |
|---------------|------|

#### 例11

减轻变态反应的染色底料

例4含1%(-)-南瓜子氨酸的补充(-)-南瓜

|                         |     |
|-------------------------|-----|
| 子氨酸的Cucurbita pepo果肉提取物 | 10g |
|-------------------------|-----|

普通染色底料组合物(脂肪酸酯，角鲨烷，

大豆卵磷脂，挥发性硅酮，丙二醇，咕吨胶，

防晒滤剂, 颜料, 防腐剂, 香料, 水) qsp 100g

例 12

防刺激染眉毛油

(±)-南瓜子氨酸 1.0 g

海外蓝色染料 9.0 g

十六烷醇 7.4 g

丙二醇 9.0 g

硬脂酸 11.3 g

甘油单硬脂酸酯 4.4 g

三乙胺 3.6 g

防腐剂 0.3 g

水 qsp... 100 g



# 说明书附图

图.1

Mickaelis 曲线

初始速度

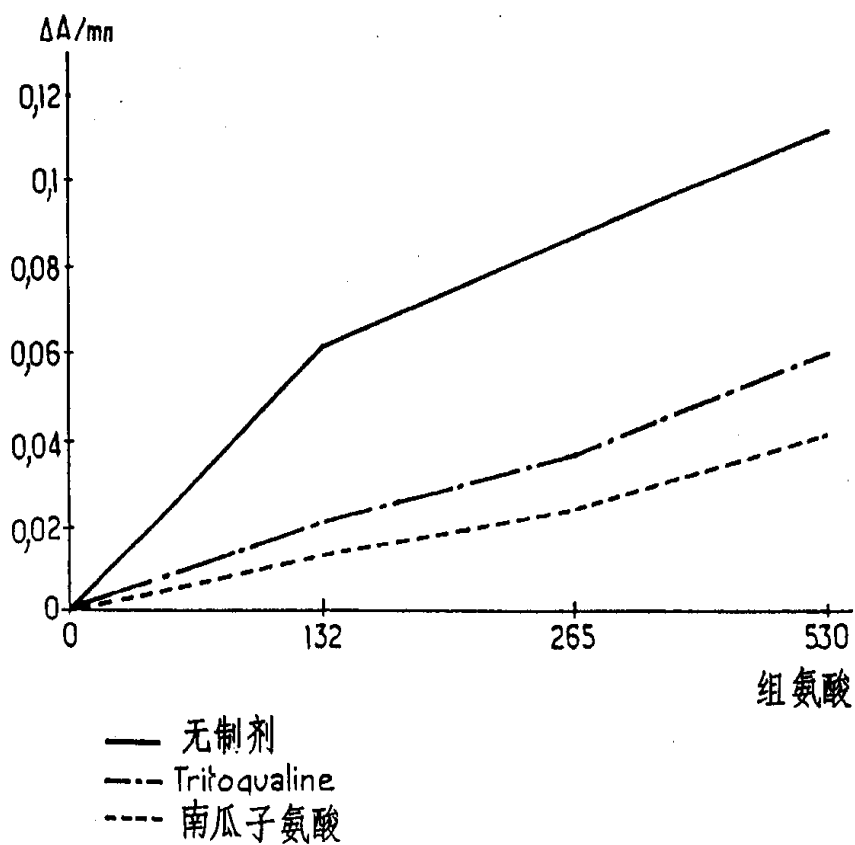


图.2

RIA 计量

释放的组胺 nmol

