



(21)申請案號：098127511

(22)申請日：中華民國 98 (2009) 年 08 月 14 日

(51)Int. Cl. : C07J63/00 (2006.01)

C07J9/00 (2006.01)

C07D313/06 (2006.01)

A61K31/56 (2006.01)

A61P29/00 (2006.01)

(71)申請人：高雄醫學大學(中華民國) KAOHSIUNG MEDICAL UNIVERSITY (TW)

高雄市三民區十全一路 100 號

(72)發明人：林忠男 LIN, CHUN NAN (TW)；馬茜 雨登 MAITRAIE, DRAVIDUM (IN)；王繼平 WANG, JIH PYANG (TW)；洪啟峰 HUNG, CHI FENG (TW)；涂皇堯 TU, HUANG YAO (TW)；劉雅婷 LIOU, YA TING (TW)；魏百祿 WEI, BAI LUH (TW)；楊世群 YANG, SHYH CHYUN (TW)

(74)代理人：蔡清福

(56)參考文獻：

JP 61148142A

審查人員：方冠岳

申請專利範圍項數：10 項 圖式數：8 共 37 頁

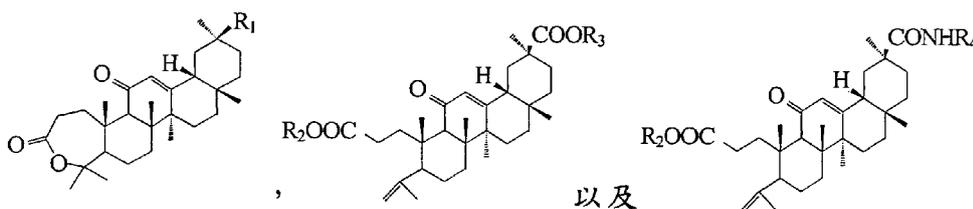
(54)名稱

18β-甘草次酸衍生物及其合成方法

18β-GLYCYRRHETINIC ACID DERIVATIVES AND SYNTHETIC METHOD THEREOF

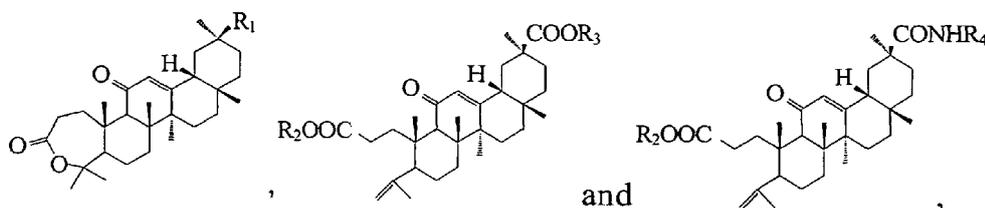
(57)摘要

本發明係提供一化合物及其合成方法，其中該化合物之結構選自

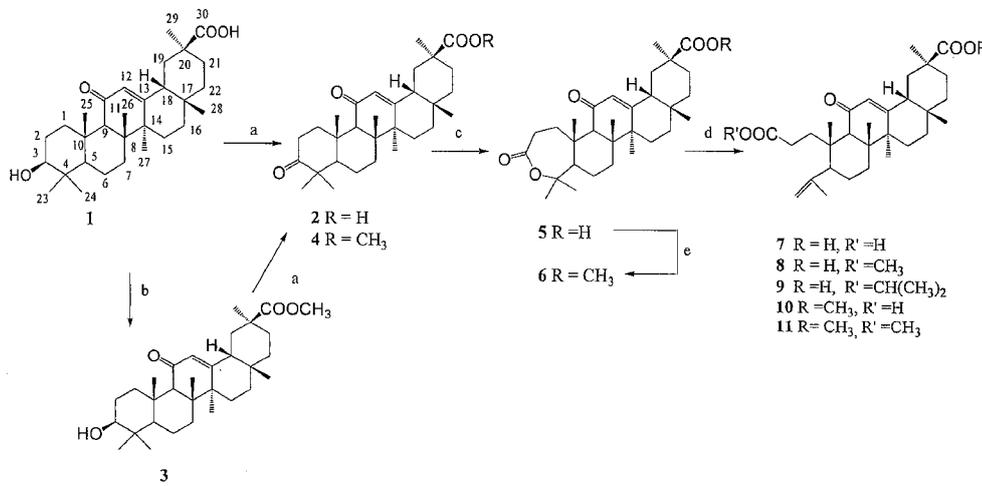


其中之一，其中 R₁ 選自 COOCH₃、COOCH₂Ph、CONHCH(CH₃)₂ 以及 CONHC₆H₅ 其中之一，R₂ 選自 H、CH₃ 及 CH(CH₃)₂ 其中之一，R₃ 選自 H、CH₃、CH(CH₃)₂ 及 CH₂Ph 其中之一，R₄ 選自 CH(CH₃)₂ 及 C₆H₅ 其中之一。

The present invention provides a compound having the structure selected from a group consisting of



wherein R_1 is one selected from a group consisting of COOCH_3 , COOCH_2Ph , $\text{CONHCH}(\text{CH}_3)_2$ and CONHC_6H_5 , R_2 is one selected from a group consisting of H , CH_3 and $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, R_3 is one selected from a group consisting of H , CH_3 , $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ and CH_2Ph , R_4 is one of $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ and C_6H_5 .



本代表圖為流程圖及化學結構，其中每個數字代表不同的化合物。

第一圖

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號： 98127511

C07J 9/00 (2006.01)

※ 申請日期： 98.8.14

※IPC 分類：

63/00 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

A61K 31/56 (2006.01)

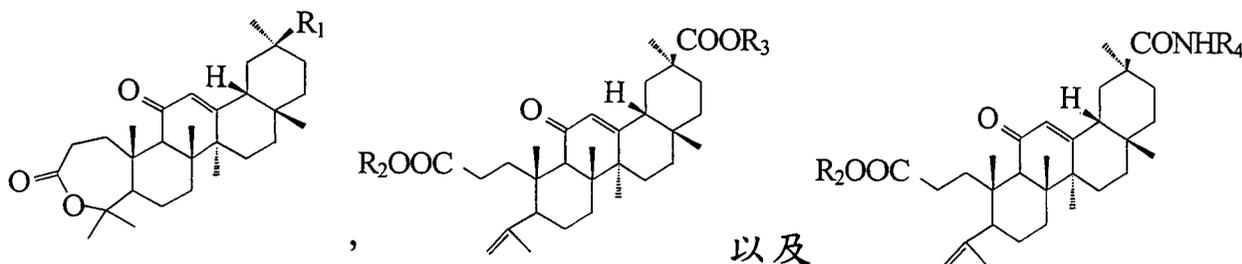
18β-甘草次酸衍生物及其合成方法/

A61P 29/00 (2006.01)

18β-Glycyrrhetic acid Derivatives And Synthetic Method Thereof

二、中文發明摘要：

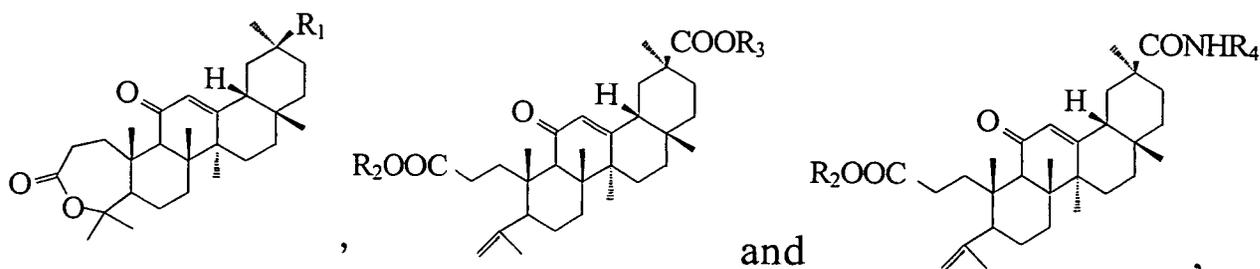
本發明係提供一化合物及其合成方法，其中該化合物之結構選自



其中之一，其中 R₁ 選自 COOCH₃、COOCH₂Ph、CONHCH(CH₃)₂ 以及 CONHC₆H₅ 其中之一，R₂ 選自 H、CH₃ 及 CH(CH₃)₂ 其中之一，R₃ 選自 H、CH₃、CH(CH₃)₂ 及 CH₂Ph 其中之一，R₄ 選自 CH(CH₃)₂ 及 C₆H₅ 其中之一。

三、英文發明摘要：

The present invention provides a compound having the structure selected from a group consisting of



wherein R_1 is one selected from a group consisting of COOCH_3 , COOCH_2Ph , $\text{CONHCH}(\text{CH}_3)_2$ and CONHC_6H_5 , R_2 is one selected from a group consisting of H , CH_3 and $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, R_3 is one selected from a group consisting of H , CH_3 , $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ and CH_2Ph , R_4 is one of $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ and C_6H_5 .

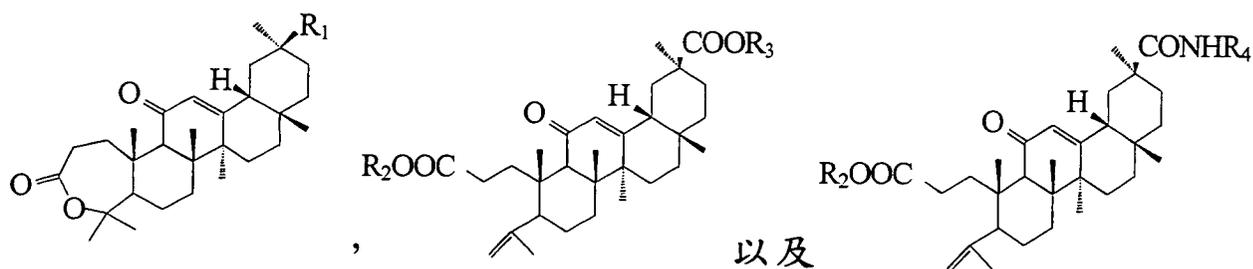
四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第(一)圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

本代表圖為流程圖及化學結構，其中每個數字代表不同的化合物。

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：



其中 R₁ 選自 COOCH₃、COOCH₂Ph、CONHCH(CH₃)₂ 以及 CONHC₆H₅ 其中之一，R₂ 選自 H 及 CH₃ 其中之一，R₃ 選自 H、CH₃、CH(CH₃)₂ 及 CH₂Ph 其中之一，R₄ 選自 CH(CH₃)₂ 及 C₆H₅ 其中之一。

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於一種具有抗發炎及抗氧化活性的化合物及其合成方法，特別是關於一種 18 β -甘草次酸(18 β -Glycyrrhetic acid)衍生物及其合成方法。

【先前技術】

慢性發炎疾病，例如：風濕性關節炎、發炎性腸炎、氣喘等，是由人體一連串的細胞發炎反應所導致，當人體的許多細胞（如：白血球、淋巴球和內皮、上皮細胞等）受到感染或傷害，而釋放過多的媒介物時，就會吸引、活化免疫與發炎細胞，使受傷或感染處引起發炎。人體一連串的發炎反應，與某些發炎媒介物之表現有關，如何控制和發炎有關的分子，如誘發型一氧化氮合成酶、活性氧化物(reactive oxygen species, ROS)等，就成為未來研發新藥的主要方向。

ROS 為具有高度氧化力的分子，與發炎、代謝疾病及細胞老化等機轉息息相關。ROS 之生成可由細胞內或細胞外物質所誘發。當細胞內的 ROS 過量時會攻擊 DNA、蛋白質和細胞膜脂質而造成無法修復的傷害，而造成癌症、老化及血管疾病。在造成 ROS 累積的機轉中，運用抑制黃嘌呤氧化酶(xanthine oxidase, XO)而發展的抗 XO 藥物可用於預防或治療這些由 ROS 過多所造成之疾病，因此抗 XO 之藥物之開發具有迫切需要。

101. 4. 06
年 月 日修正替換頁

101年4月6日修正頁

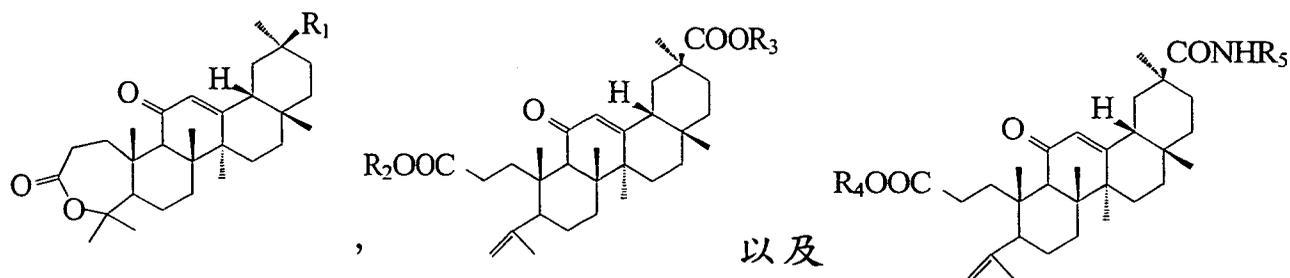
黃嘌呤氧化酶可將次黃嘌呤 (Hypoxanthine) 轉換成黃嘌呤 (xanthine)，再由黃嘌呤轉換成尿酸 (Uric Acid)。臨床上常用的藥物如安樂普利諾(allopurinol)，用以治療痛風及高尿酸血病，但副作用大，可能引起肝炎、腎疾病及過敏，極需發展副作用少之藥物。

有鑑於此，本案發明人經長期對於藥物化學合成之經驗，以 18 β -甘草次酸為起始材料，利用化學反應合成 18 β -甘草次酸的不同衍生物，經過生物活性測試後，發現其對於發炎反應與 XO 的活性均有抑制作用，具有開發成為抗炎與抗氧化藥物之價值。而經由合成方法產生的活性衍生物，不但成本低，更可大量生產，以此一方式進行化學合成，也可以針對化合物結構與活性的關係進行修飾，同時可以預測化合物產率，有利於藥物開發。

【發明內容】

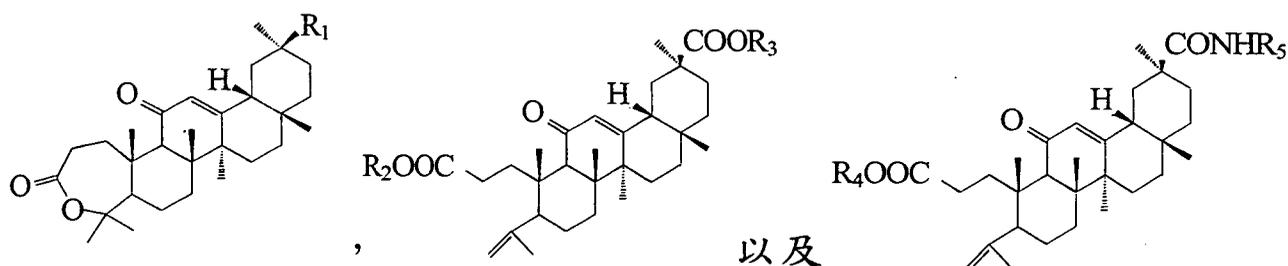
本發明之目的，係在提供一種具有抗發炎及抗氧化活性的化合物及其合成方法，以化學方法合成取得的 18 β -甘草次酸衍生物，不僅合成材料便宜，而且具有大量生產的優點，有利於藥物開發之進行。

根據本發明之構想，係提供一種用於抗發炎及抗氧化的醫藥組合物，包含一化合物及一醫藥上可接受載體，該化合物結構選自



其中之一，其中 R₁ 選自 COOCH₃、COOCH₂Ph、CONHCH(CH₃)₂ 以及 CONHC₆H₅ 其中之一，R₂ 選自 H、CH₃ 及 CH(CH₃)₂ 其中之一，當 R₂ 為 H 及 CH(CH₃)₂ 其中之一時，R₃ 選自 H、CH₃、CH(CH₃)₂ 及 CH₂Ph 其中之一，當 R₂ 為 CH₃ 時，R₃ 選自 CH₃、CH(CH₃)₂ 及 CH₂Ph 其中之一，R₄ 選自 H、CH₃ 及 CH(CH₃)₂ 其中之一，R₅ 選自 CH(CH₃)₂ 及 C₆H₅ 其中之一。

根據本發明之構想，提供另一種化合物，其結構選自



其中之一，其中 R₁ 選自 COOCH₃、COOCH₂Ph、CONHCH(CH₃)₂ 以及 CONHC₆H₅ 其中之一，R₂ 選自 H、CH₃ 及 CH(CH₃)₂ 其中之一，當 R₂ 為 H 及 CH(CH₃)₂ 其中之一時，R₃ 選自 H、CH₃、CH(CH₃)₂ 及 CH₂Ph 其中之一，當 R₂ 為 CH₃ 時，R₃ 選自 CH₃、CH(CH₃)₂ 及 CH₂Ph 其中之一，R₄ 選自 H、CH₃ 及 CH(CH₃)₂ 其中之一，R₅ 選自 CH(CH₃)₂ 及 C₆H₅ 其中之一。

根據本發明之構想，又提供一種利用具有上述結構之

化合物製備一發炎疾病或敗血性休克之藥物的方法。

根據上述構想，該發炎疾病為痛風或高尿酸血病。

另一方面，本發明提供一種合成一 18β -甘草次酸衍生物的方法，該方法包含氧化一 18β -甘草次酸以及進行一環氧化反應。

根據上述構想，該方法進一步包含將該 18β -甘草次酸甲基化，以獲得一甲基化的 18β -甘草次酸以及將該甲基化的 18β -甘草次酸氧化，俾使該環氧化反應進行。

根據上述構想，該方法進一步包含進行一酯化反應。

根據上述構想，該方法進一步包含打開一內酯環。

根據上述構想，該方法進一步包含以一醇類溶液及一胺類溶液其中之一處理開環後之化合物，其中該醇類溶液為異丙醇或苯醇，該胺類溶液為異丙胺或苯胺。

根據上述構想，該方法進一步包含在該環氧化反應後加入一醇類溶液及一胺類溶液其中之一，並打開一內酯環。

【實施方式】

本發明提供一種具有抗發炎及抗氧化活性的化合物，該化合物是一 18β -甘草次酸衍生物，所述化合物的合成方法說明如下。

實施例一：化合物 6 之製備

請參閱第一圖，其係本發明中用於合成 18β -甘草次酸衍生物之第一流程圖，其中每個數字代表不同的化合物。以 18β -甘草次酸(化合物 1)為合成起始原料，以二甲基甲醯

胺(Dimethyl Formamide, DMF)為溶媒,加入三氧化鉻(CrO_3)在室溫下氧化 12 小時成為化合物 2 (步驟 a),將化合物 2 溶於二氯甲烷(CH_2Cl_2)中,加入間氯過氧苯甲酸(*m*-CPBA)為氧化劑,在室溫下反應 12 小時形成內酯(lactone)化合物 5 (步驟 c)。若將起始原料 18 β -甘草次酸甲基化,先得到一甲基化的 18 β -甘草次酸(化合物 3) (步驟 b),再將化合物 3 以二甲基甲醯胺為溶媒加入三氧化鉻在室溫下氧化 12 小時成為化合物 4 (同步驟 a),將化合物 4 溶於二氯甲烷中,加入間氯過氧苯甲酸,經過在室溫下反應 12 小時後,可得到 3,4 內酯 30 甲脂(化合物 6)。化合物 6 除了以上述方法合成之外,還能透過將內酯化合物 5 在含有二氯甲烷及 4-二甲氨基吡啶(DMAP)的甲醇中以 1-乙基 3-二甲基氮丙基碳代二亞胺(EDCI)為活化劑進行酯化的方法合成。(步驟 e)

將化合物 4 (1 克, 2.1 毫莫耳)溶於 30 毫升二氯甲烷中,加入間氯過氧苯甲酸(3.6 克, 21.3 毫莫耳),將上述混合物在室溫下避光反應 12 小時後,將混合物溶液以氯仿(CHCl_3)稀釋,以 5% 碘化鉀及 5% 硫化鈉溶液清洗後,以無水硫酸鈉乾燥,濃縮得到呈白色固體的 3,4 內酯 30 甲脂(化合物 6) (0.82 克, 1.6 毫莫耳, 78%): mp 166-171°C; $[\alpha]_D^{25}$ 189 (c 0.1, 氯仿)。IR (溴化鉀): 1715, 1648 cm^{-1} 。 ^1H NMR (氘代氯仿, CDCl_3): d 0.67 (3 H, s, Me-28), 1.10 (3 H, s, Me-29), 1.11 (3H, s, Me-26), 1.33 (6H, s, Me-25 及 Me-27), 1.40 (3H, s, Me-23), 1.43 (3H, s, Me-24), 3.64 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 5.65 (1H, s, H-12)。 ^{13}C NMR (CDCl_3): 參見表一。EIMS (70 eV) m/z (%)

rel. Int.): 498 $[M]^+$ (3)。為 $C_{31}H_{46}O_5Na$ 計算 HRESIMS: 521.3243。發現 521.3241。

實施例二：化合物 7-11 之製備

在合適的溶劑中，例如異丙醇及二氯甲烷中，加入甲苯磺酸(*p*-toluenesulfonic acid)處理，將化合物 5 或化合物 6 的內酯環打開，獲得化合物 7-11 (步驟 d)。如將化合物 5 (0.1 克，0.2 毫莫耳)溶於 5 毫升異丙醇及 2 毫升二氯甲烷中，加入 0.3 克對甲苯磺酸，將上述混合物在室溫下攪拌 6-8 小時後，經過真空濃縮後倒入水，以氯仿($CHCl_3$)萃取。以 5% 碳酸氫鈉及食鹽水清洗氯仿層後，以無水硫酸鈉乾燥並濃縮，將剩餘物質以管柱純化得到呈淡黃色固體的化合物 9 (0.06 克，0.12 毫莫耳，60%): mp 94-99°C; $[\alpha]_D^{25}$ 154 (c 0.1, 氯仿)。IR (溴化鉀): 2976、1727、1658、1459、1382、1175 cm^{-1} 。 1H NMR (氘代氯仿): d 0.85 (3H, s, Me-28), 1.16 (3H, s, Me-29), 1.17 (3H, s, Me-25), 1.19 (6H, s, Me-26), 1.21 (6H, d, $J=6.4Hz$, $CH(CH_3)_2$), 1.39 (3H, s, Me-27), 1.76 (3H, s, Me-24), 4.69 (1H, br, s, H-23), 4.89 (1H, br, s, H-23), 4.95 (1H, m, -OCH), 5.72 (1H, s, H-12)。 ^{13}C NMR ($CDCl_3$): 參見表一。EIMS (70 eV) m/z (% rel. Int.): 526 $[M]^+$ (2)。為 $C_{33}H_{50}O_5Na$ 計算 HRESIMS: 549.3556。發現 549.3554。

將化合物 6 (0.1 克，0.2 毫莫耳)溶於 10 毫升二氯甲烷中，加入 0.3 克對甲苯磺酸，將上述混合物在室溫下攪拌 6-8 小時後，以水稀釋該混合物，以氯仿($CHCl_3$)萃取。以 5% 碳酸氫鈉清洗有機層後，以硫酸鎂乾燥並濃縮，將剩

餘物質以管柱純化得到呈白色固體的化合物 **10** (0.08 克, 0.16 毫莫耳, 78%): mp 89-94°C; $[\alpha]_D^{25}$ 171 (c 0.1, 氯仿)。IR (溴化鉀): 1729、1658 cm^{-1} 。 ^1H NMR (氘代氯仿): d 0.78 (3 H, s, Me-28), 1.12 (3 H, s, Me-29), 1.13 (6H, s, Me-25 及 Me-26), 1.35 (3H, s, Me-27), 1.72 (3H, s, Me-24), 3.66 (3H, s, -COOCH₃), 4.66 (1H, br, s, H-23), 4.86 (1H, br, s, H-23), 5.65 (1H, s, H-12)。 ^{13}C NMR (CDCl₃): 參見表一。EIMS (70 eV) m/z (% rel. Int.): 498 [M]⁺ (10)。為 C₃₁H₄₆O₅Na 計算 HRESIMS: 521.3243。發現 521.3245。

實施例三：化合物 12-15 之製備

將前述流程獲得的內酯化合物(如：化合物 **5**、**6**)及斷鍵型態(seco-)化合物 (如：化合物 **7-11**)進行酯化及胺化作用，示範流程如下：將內酯化合物及斷鍵型態(seco-)化合物(1 毫莫耳)溶於 10 毫升二氯甲烷中，加入 2 毫莫耳的 EDCI 及催化量的 DMAP 後，再依化合物不同加入 2 毫莫耳的醇類或胺類溶液。反應後的混合物在室溫下攪拌隔夜，以薄層色層分析監控反應之進行，在反應結束後以水稀釋混合物並以氯仿萃取。以 3% 鹽酸及食鹽水清洗有機層後，以硫酸鎂乾燥、過濾，然後在真空中移除溶劑，並以管柱純化反應產物。

請參閱第二圖，其係本發明中用於合成 18 β -甘草次酸衍生物之第二流程圖。根據上述製備化合物 **12-15** 的一般流程及反應劑量，在 EDCI 及 DMAP 存在下，斷鍵型態的甲酯化合物 **8** 分別與異丙醇及苯醇反應後，可獲得 30-酯類化

化合物 12 及 13 (步驟 f)。利用類似步驟，斷鍵型態的甲酯化合物 8 分別與異丙胺及苯胺反應後，可獲得 30-胺類斷鍵型態化合物 14 及 15。

化合物 12 為淡黃色固體(0.28 克，0.52 毫莫耳，52%)：mp 116-119°C； $[\alpha]_D^{25}$ 126 (c 0.1，氯仿)。IR (溴化鉀): 1724、1658 cm^{-1} 。 ^1H NMR (氘代氯仿): d 0.79 (3H, s, Me-28), 1.11 (3H, s, Me-29), 1.14 (3H, s, Me-25), 1.15 (3H, s, Me-26), 1.21 (3H, d, $J=6.4\text{Hz}$, -CHCH₃), 1.24 (3H, d, $J=6.4\text{Hz}$, -CHCH₃), 1.37 (3H, s, Me-27), 1.74 (3H, s, Me-24), 3.60 (3H, s, OCH₃), 4.67 (1H, br, s, H-23), 4.87 (1H, br, s, H-23), 5.02 (1H, septet, $J=6.4\text{Hz}$, OCH), 5.63 (1H, s, H-12)。 ^{13}C NMR (CDCl₃): 參見表一。EIMS (70 eV) m/z (% rel. Int.): 540 [M]⁺ (18)。為 C₃₄H₅₂O₅Na 計算 HRESIMS: 563.3712。發現 563.3711。

化合物 13 為淡黃色固體(0.35 克，0.6 毫莫耳，60%)：mp 32-38°C； $[\alpha]_D^{25}$ 120 (c 0.1，氯仿)。IR (溴化鉀): 1730、1657 cm^{-1} 。 ^1H NMR (氘代氯仿): d 0.72 (3H, s, Me-28), 1.12 (3H, s, Me-29), 1.14 (3H, s, Me-25), 1.15 (3H, s, Me-26), 1.35 (3H, s, Me-27), 1.74 (3H, s, Me-24), 3.59 (3H, s, -OCH₃), 4.67 (1H, br, s, H-23), 4.87 (1H, br, s, H-23), 5.07 (1H, d, $J=12\text{Hz}$, -CHH-C₆H₅), 5.19 (1H, 1.74, d, $J=12\text{Hz}$, CHH-C₆H₅), 5.55 (1H, s, H-12), 7.35 (5H, m, C₆H₅)。 ^{13}C NMR (CDCl₃): 參見表一。EIMS (70 eV) m/z (% rel. Int.): 588 [M]⁺ (3)。為 C₃₈H₅₂O₅Na 計算 HRESIMS: 611.3712。發現 611.3709。

化合物 14 為淡黃色固體(0.34 克，0.63 毫莫耳，63%)：

mp 80-85°C; $[\alpha]_D^{25}$ 116 (c 0.1, 氯仿)。IR (溴化鉀): 3379、1720、1645 cm^{-1} 。 ^1H NMR (氘代氯仿): d 0.82 (3H, s, Me-28), 1.11 (3H, s, Me-29), 1.13, 1.15 (6H, 每個 d, $J=6.4\text{Hz}$, -CH(CH₃)₂), 1.15 (3H, s, Me-26), 1.16 (3H, s, Me-25), 1.39 (3H, s, Me-27), 1.75 (3H, s, Me-24), 3.62 (3H, s, OCH₃), 4.11 (1H, m, NCH), 4.68 (1H, br, s, H-23), 4.89 (1H, br, s, H-23), 5.37 (1H, d, $J=8.4\text{Hz}$, -NH), 5.64 (1H, s, H-12)。 ^{13}C NMR (CDCl₃): 參見表一。EIMS (70 eV) m/z (% rel. Int.): 539 [M]⁺ (34)。為 C₃₄H₅₃NO₄Na 計算 HRESIMS: 562.3872。發現 562.3874。

化合物 15 為淡黃色固體(0.38 克, 0.66 毫莫耳, 66%): mp 149-154°C; $[\alpha]_D^{25}$ 192 (c 0.1, 氯仿)。IR (溴化鉀): 3375、1728、1655、1598 cm^{-1} 。 ^1H NMR (氘代氯仿): d 0.83 (3H, s, Me-28), 1.15 (3H, s, Me-25), 1.16 (3H, s, Me-26), 1.26 (3H, s, Me-29), 1.41 (3H, s, Me-27), 1.75 (3H, s, Me-24), 3.63 (3H, s, OCH₃), 4.69 (1H, br, s, H-23), 4.89 (1H, br, s, H-23), 5.72 (1H, s, H-12), 7.11 (1H, brt, $J=8.4\text{Hz}$, 芳香族 H), 7.33 (2H, br, $J=8.4\text{Hz}$, 芳香族 H), 7.37 (1H, br, s, NH), 7.51 (1H, dd, $J=8.4\text{Hz}$, 1.2Hz, 芳香族 H)。 ^{13}C NMR (CDCl₃): 參見表一。EIMS (70 eV) m/z (% rel. Int.): 573 [M]⁺ (32)。為 C₃₇H₅₁NO₄Na 計算 HRESIMS: 596.3716。發現 596.3718。

實施例四：化合物 16-21 之製備

請參閱第三圖，其係本發明中用於合成 18β-甘草次酸衍生物之第三流程圖。類似第二流程圖的一般流程及反應

劑量，在二氯甲烷中，於 EDCI 及 DMAP 存在下在室溫下反應 24 小時，利用內酯化合物 5 來合成化合物 16、18 及 19 (同步驟 f)，如第三圖所示，在合成化合物 16、18 及 19 的過程中，化合物 5 的 C-30 位置上的酸性基團改變為酯類 (化合物 16) 與胺類 (化合物 18、19)。接著，在對甲苯磺酸存在下，室溫下於二氯甲烷中反應 24 小時，將化合物 16、18 及 19 的環打開，分別獲得 C-30 取代的斷鍵型態酸化合物 17、20 及 21 (步驟 g)。

依照上述合成步驟，加入苯醇使化合物 5 進行酯化作用，可得到化合物 16。化合物 16 為白色固體 (0.36 克，0.62 毫莫耳，62%)：mp 83-89°C； $[\alpha]_D^{25}$ 254 (c 0.1, 氯仿)。IR (溴化鉀)：1726、1654 cm^{-1} 。 $^1\text{H NMR}$ (氘代氯仿)：d 0.73 (3H, s, Me-28), 1.14 (3H, s, Me-29), 1.16 (3H, s, Me-26), 1.36 (3H, s, Me-25), 1.37 (3H, s, Me-27), 1.44 (3H, s, Me-23), 1.47 (3H, s, Me-24), 5.08 (1H, d, $J=12.4\text{Hz}$, -OCHH-), 5.21 (1H, d, $J=12.4\text{Hz}$, -OCHH-), 5.58 (1H, s, H-12), 7.36 (5H, m, 芳香質子), 3.60 (3H, s, OCH_3), 4.67 (1H, br, s, H-23), 4.87 (1H, br, s, H-23)。 $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3)：參見表一。 EIMS (70 eV) m/z (% rel. Int.): $[\text{M}]^+$ 574 (15)。為 $\text{C}_{37}\text{H}_{50}\text{O}_5\text{Na}$ 計算 HRESIMS: 597.3556。發現 597.3553。

依照上述合成步驟，將化合物 16 的內酯環打開，可得到化合物 17。化合物 17 為白色固體 (0.08 克，0.14 毫莫耳，70%)：mp 87-92°C； $[\alpha]_D^{25}$ 145 (c 0.1, 氯仿)。IR (溴化鉀)：1726、1657 cm^{-1} 。 $^1\text{H NMR}$ (氘代氯仿)：d 0.73 (3H, s, Me-28),

1.15 (3H, s, Me-29), 1.16 (6H, s, Me-25 及 Me-26), 1.36 (3H, s, Me-27), 1.75 (3H, s, Me-24), 4.69 (1H, br, s, H-23), 4.89 (1H, br, s, H-23), 5.09 (1H, d, $J=12.4\text{Hz}$, -OCHH-), 5.21 (1H, d, $J=12.4\text{Hz}$, -OCHH-), 5.57 (1H, s, H-12), 7.37 (5H, m, C_6H_5)。 ^{13}C NMR (CDCl_3): 參見表一。 EIMS (70 eV) m/z (% rel. Int.): $[\text{M}]^+$ 574 (25)。 為 $\text{C}_{37}\text{H}_{50}\text{O}_5\text{Na}$ 計算 HRESIMS: 597.3556。 發現 597.3558。

依照上述合成步驟，以異丙胺進行化合物 5 的胺化作用，可得到化合物 18。 化合物 18 為淡黃色固體(0.32 克，0.6 毫莫耳，60%)：mp 94-99°C； $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ 154 (c 0.1, 氯仿)。 IR (溴化鉀): 3382、1720、1653 cm^{-1} 。 ^1H NMR (氘代氯仿): d 0.77 (3H, s, Me-28), 1.07 (3H, s, Me-29), 1.11 (3H, s, Me-26), 1.33 (3H, s, Me-27), 1.34 (3H, s, Me-25), 1.40 (3H, s, Me-23), 1.44 (3H, s, Me-24), 4.07 (1H, m, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 5.52 (1H, d, $J=8.0\text{Hz}$, NH), 5.64 (1H, s, H-12)。 ^{13}C NMR (CDCl_3): 參見表一。 EIMS (70 eV) m/z (% rel. Int.): 525 $[\text{M}]^+$ (27)。 為 $\text{C}_{33}\text{H}_{51}\text{NO}_4\text{Na}$ 計算 HRESIMS: 548.3716。 發現 548.3717。

依照上述合成步驟，以苯胺進行化合物 5 的胺化作用，可得到化合物 19。 化合物 19 為白色固體(0.37 克，0.66 毫莫耳，66%)：mp 123-128°C； $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ 268 (c 0.1, 氯仿)。 IR (溴化鉀): 3359、1717、1655 cm^{-1} 。 ^1H NMR (氘代氯仿): d 0.81 (3H, s, Me-28), 1.16 (3H, s, Me-29), 1.26 (3H, s, Me-26), 1.37 (3H, s, Me-27), 1.41 (3H, s, Me-25), 1.44 (3H, s, Me-23), 1.48 (3H, s, Me-24), 5.75 (1H, s, H-12), 7.11 (1H, m, 芳香質子),

7.34 (3H, m, NH, 以及芳香質子), 7.50 (2H, m, 芳香質子)。¹³C NMR (CDCl₃): 參見表一。EIMS (70 eV) m/z (% rel. Int.): 559 [M]⁺ (20)。為 C₃₆H₄₉NO₄Na 計算 HRESIMS: 582.3559。發現 582.3557。

依照上述合成步驟，將化合物 **18** 的內酯環打開，可得到化合物 **20**。化合物 **20** 為淡黃色固體(0.06 克，0.12 毫莫耳，62%)：mp 142-146°C；[α]_D²⁵ 126 (c 0.1, 氯仿)。IR (溴化鉀): 3348、1738、1651 cm⁻¹。¹H NMR (氘代氯仿): d 0.81 (3H, s, Me-28), 1.11 (6H, d, J=6.8Hz, -CH(CH₃)₂), 1.12 (3H, s, Me-29), 1.15 (6H, s, Me-25 及 Me-26), 1.37 (3H, s, Me-27), 1.74 (3H, s, Me-24), 4.11 (1H, m, -CH(CH₃)₂), 4.68 (1H, br, s, H-23), 4.88 (1H, br, s, H-23), 5.64 (1H, s, H-12), 5.71 (1H, d, J=8.0Hz, NH)。¹³C NMR (CDCl₃): 參見表一。EIMS (70 eV) m/z (% rel. Int.): 525 [M]⁺ (32)。為 C₃₃H₅₁NO₄Na 計算 HRESIMS: 548.3716。發現 548.3718。

依照上述合成步驟，將化合物 **19** 的內酯環打開，可得到化合物 **21**。化合物 **21** 為白色固體(0.07 克，0.13 毫莫耳，65%)：mp 162-166°C；[α]_D²⁵ 262 (c 0.1, 氯仿)。IR (溴化鉀): 3365、1652、1526 cm⁻¹。¹H NMR (氘代氯仿): d 0.84 (3H, s, Me-28), 0.97 (3H, s, Me-25), 1.00 (3H, s, Me-26), 1.31 (3H, s, Me-29), 1.40 (3H, s, Me-27), 1.69 (3H, s, Me-24), 4.62 (1H, br, s, H-23), 4.86 (1H, br, s, H-23), 5.84 (1H, s, H-12), 7.07 (1H, m, 芳香質子), 7.28 (2H, m, 芳香質子), 7.45 (2H, m, 芳香質子), 8.27 (1H, br, s, NH)。¹³C NMR (CDCl₃): 參見表

一。EIMS (70 eV) m/z (% rel. Int.): 559 [M]⁺ (64)。為 C₃₆H₄₉NO₄Na 計算 HRESIMS: 582.3559。發現 582.3558。

針對化合物 6、9、10 及 12-21，以質譜定性的結果如表一所示：

表一

位置	6	9	10	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
C-1	38.7	23.5	23.7	23.7	23.7	23.7	23.8	38.6	23.8	38.7	38.6	23.7	23.5
C-2	32.1	31.8	31.0	31.4	31.3	31.4	31.4	32.0	31.4	32.1	32.0	31.4	31.4
C-3	175.4	173.5	179.6	175.7	176.1	174.6*	173.9*	176.1	179.0	175.5	175.6	179.0	180.0
C-4	85.5	146.6	146.4	146.5	146.4	146.5	146.5	85.6	146.5	85.6	85.6	146.4	146.3
C-5	54.2	38.7	38.6	38.7	38.6	38.7	38.8	54.5	38.7	54.2	54.5	38.7	39.1
C-6	22.0	29.7	29.0	28.6	28.4	28.6	28.4	22.0	28.4	22.0	22.0	28.6	28.8
C-7	32.0	34.3	34.1	34.4	34.3	34.4	34.4	32.4	34.2	32.2	32.4	34.1	34.1
C-8	43.3	43.6	40.3	43.6	43.9	43.3	43.7	43.4	43.9	43.3	43.4	43.3	44.0
C-9	61.2	52.7	50.9	52.8	52.6	52.9	52.8	61.2	52.9	61.3	61.3	52.8	52.5
C-10	39.4	40.9	38.5	41.1	41.1	42.1	42.0	39.6	41.1	39.4	39.6	41.9	41.7
C-11	198.7	199.8	199.6	199.6	199.4	199.6	199.5	198.8	199.5	198.7	198.7	199.8	200.6
C-12	128.4	128.5	128.3	128.3	128.2	128.3	128.5	128.6	128.3	128.3	128.7	128.3	128.5
C-13	169.3	169.4	169.5	169.7	169.2	169.6	169.3	169.2	169.4	169.6	169.1	170.0	170.7
C-14	45.2	45.1	45.0	45.0	44.9	45.0	45.1	45.3	45.0	45.2	45.3	45.1	45.3
C-15	26.2	26.4	26.3	26.3	26.3	26.4	26.4	26.3	26.4	26.2	26.4	26.4	26.4
C-16	26.2	26.5	26.4	26.5	26.4	26.5	26.5	26.4	26.5	26.3	26.4	26.5	26.7
C-17	31.7	31.4	31.6	31.7	31.6	31.8	32.0	31.8	31.7	31.4	31.7	31.8	31.8

C-18	48.2	48.2	48.3	48.3	48.0	48.1	48.1	48.1	48.1	48.0	48.0	48.2	48.4
C-19	41.0	40.9	43.6	43.7	43.5	41.1	44.5	41.0	43.6	41.7	41.8	41.1	44.6
C-20	43.8	43.8	43.9	50.8	50.7	43.7	50.8	43.9	51.1	43.2	44.5	43.7	50.4
C-21	30.9	30.8	31.1	31.0	31.0	31.4	31.6	31.1	31.2	31.8	32.2	31.4	31.6
C-22	37.6	37.7	37.7	37.6	37.5	37.4	37.4	37.6	37.6	37.3	37.4	37.4	37.5
C-23	31.7	114.2	114.2	114.1	114.1	114.2	114.2	32.2	114.3	31.8	32.2	114.3	114.2
C-24	25.9	23.4	23.3	23.4	23.4	23.4	23.4	25.9	23.4	25.9	25.9	23.3	23.2
C-25	17.4	19.5	19.4	19.5	19.4	19.5	19.5	17.4	19.4	17.4	17.4	19.5	19.4
C-26	18.0	18.6	18.6	18.6	18.5	18.6	18.6	18.2	18.6	18.0	18.2	18.6	18.5
C-27	23.0	23.8	23.4	23.3	23.2	23.2	23.3	23.1	23.3	23.0	23.1	23.2	23.1
C-28	28.2	28.5	28.5	29.2	29.1	29.5	29.4	28.4	28.9	29.3	29.3	29.4	29.7
C-29	28.1	28.4	28.2	28.2	28.1	29.2	29.2	28.2	28.3	28.5	28.4	29.1	29.1
C-30	176.7	181.8	176.9	174.2	174.2	174.3*	174.3*	175.6	176.2	174.5	173.9	174.8	174.5
OCH ₃	51.6		51.7	51.5	51.4	51.5	51.5						
OCH(CH ₃) ₂		50.6		67.3									
OCH(CH ₃) ₂		21.8, 21.8		21.6, 21.8									
OCH ₂					66.1			66.2	66.2				
1'					136.0		137.8	136.0	136.1		137.8		137.9
2'					128.3		120.1	128.2	128.2		120.2		121.4
3'					128.5		129.0	128.5	128.6		128.7		128.7
4'					128.3		124.4	128.3	128.4		124.4		124.4
5'					128.5		129.0	128.5	128.6		128.7		128.7
6'					128.3		120.1	128.2	128.2		120.2		121.4

NH-CH(CH ₃) ₂	50.8	41.0	50.8
NH-CH(CH ₃) ₂	22.7	22.6	22.6
	22.9	22.7	22.9

*在相同管柱中可互換的訊號

實施例五：18β-甘草次酸衍生物的抗發炎及抗氧化活性測試

本發明藉由對於嗜中性球及巨噬細胞所釋放的化學媒介物質的抑制作用，來判斷不同化合物的抗發炎活性。

過氧化離子的抑制作用

將預測試的化合物調整為 30 mM 的濃度溶於二甲基亞砜(DMSO)中，放置-25°C下保存備用。在產生過氧化離子的實驗中，從大鼠中分離出周邊血液的嗜中性球，在細胞色素 c (cytochrome c)存在下，以 0.3 μM 甲醯-甲硫氨酸-白氨酸-苯丙氨酸(fMLP)/5μg/mL 細胞鬆弛素 B (CB)或者 3 nM PMA 活化劑刺激嗜中性球 30 分鐘，根據可被過氧化酶抑制的 cytochrome c 減少程度來判斷化合物對於產生過氧化離子的抑制作用。以氯化雙苯碘烯(DPI)刺激的細胞作為正向對照組。

請參閱第四圖，其為 DPI、化合物 2、7 及 20 對於以 fMLP/CB 刺激的大鼠嗜中性球產生過氧化離子的抑制效果。如第四圖所示，DPI 與化合物 2、7 及 20 均呈現與劑量相關的抑制效果，如表二(A)所示，IC₅₀ 值分別為 2.7 ± 2.0、10.3 ± 5.2、7.0 ± 2.0 以及 9.8 ± 5.2 μM，其中 IC₅₀ 值代表可抑制 50%過氧化離子生成之化合物濃度。

請參閱第五圖，其為 DPI、化合物 6、13 及 14 對於以 PMA 刺激的大鼠嗜中性球產生過氧化離子的抑制效果。如第五圖所示，DPI 與化合物 6、13 及 14 均呈現與劑量相關的抑制效果，如表二(A)所示，IC₅₀ 值分別為 1.8±0.4、12.9±1.8、17.0±1.5 以及 15.6±1.7 μM。相較於第四圖及第五圖中顯示的化合物，其他利用本發明方法所合成的化合物對於抑制過氧化離子產生的效果較不明顯，但仍有部分化合物具有活性。

表二

化合物	IC ₅₀ ^a (μM) (A)		IC ₅₀ ^a (μM) (B) RAW 264.7	IC ₅₀ ^a (μM) (C) RAW 264.7
	fMLP/CB	PMA		
2	10.3±5.2		>30 (45.6±9.1)	
3				1.3±0.4
5	> 3 (27.4±9.2)	> 3 (-8.2± 11.8)	> 3 (3.0± 4.2)	> 3 (-0.7± 2.7)
6		12.9±1.8		
7	7.0±2.0			
8	>10 (81.9±7.4)	>10 (7.4± 3.1)	>10 (29.6±10.0)	>10 (21.2±8.7)
9	>1 (48.8± 6.6)	>1 (-7.0± 3.0)	> 30 (39.8±5.4)	>30(38.4±14.6)
10				26.1±14.7
11			>30 (44.3±10.5)	
12	>30(-2.5±11.9)	>10(28.7±15.9)	>30 (43.0±4.3)	> 30 (47.0±1.3)
13		17.0±1.5	>30 (44.5±4.2)	13.7±4.3
14		15.6±1.7	13.1±5.0	
15				15.5±3.2
16	>30(-22.9±7.6)	>30(-10.7±10.2)	>10 (-2.3± 4.6)	>10 (25.3± 9.9)
17				2.3±5.0
18	>30(2.7±12.5)	>30 (48.2± 8.4)	>10(30.0±11.9)	>10 (9.7± 4.7)
19	>10(-1.6± 4.4)	>3 (26.9± 3.0)	>30 (20.5±2.7)	>30(45.2±14.6)
20	9.8±5.2			
21				27.7±7.2
DPI	2.7±2.0	1.8±0.4		
1400W			1.5±0.2	
Genistein				26.5±9.1

a 當最高濃度無法達到 50%抑制作用時，以括號內的數字表示抑制百分比。

由上述結果可知，在 18β -甘草次酸衍生物的 C-30 位置引入親油性烷基團，會減弱對於 fMLP/CB 誘發反應的抑制效果，然而在化合物 5 的 C-30 位置引入親油性基團、引入苯酯活性區域(如化合物 13)、或引入異丙基氨基甲醯基基團(如化合物 14)，則會明顯增強對於 PMA 誘發反應的抑制效果。另一方面，將化合物 2 的環 A 打開所得到的 3,4-斷鍵型態結構(如化合物 7)，也會增強 fMLP/CB 誘發反應的抑制效果。雖然化合物 14、15 及 21 在 C-30 或 C-3 位置引入親油性烷基團，會減弱對於 fMLP/CB 誘發反應的抑制效果，但若在 C-30 位置引入異丙基氨基甲醯基活性區域(如化合物 20)，則會增強對於同一誘發物所引起反應的抑制效果，如第一圖所示。相較於化合物 13 及 14， 18β -甘草次酸的內酯衍生物，如化合物 6，對於 PMA 誘發的反應表現出更強且與劑量相關的抑制效果(如第二圖所示)，顯示化合物 6 的環 A 被打開且在 C-30 位置引入大於甲基的側鏈，會減弱對於 PMA 誘發反應的抑制效果。由於 fMLP/CB 與 PMA 是透過不同細胞信息機制活化 NADPH 氧化酶而產生過氧化離子，這些結構不同的 18β -甘草次酸衍生物也對於 fMLP/CB 與 PMA 誘發的反應呈現出不同的抑制效果。

一氧化氮及腫瘤壞死因子- α (TNF- α) 的抑制作用

將小鼠之類-巨噬細胞細胞株 RAW 264.7 培養於 96 孔盤中，與待測試化合物在 37°C 下靜置 1 小時，之後以 $1\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 脂質多醣 (LPS) 刺激 24 小時後，以格里斯試驗 (Griess reaction) 確定細胞培養液中的一氧化氮(NO)。在進

行西方墨點分析時，以磷酸緩衝溶液(PBS)清洗細胞兩次後，將細胞收集在十二烷基磺酸鈉(SDS)樣品緩衝液中以溶解細胞，以 10% SDS-PAGE 分離細胞溶解液後以電泳轉漬到 PVDF 膜上，轉漬後的 PVDF 膜以含有 5%脫脂牛奶的 TBST 緩衝液(10mM Tris-HCl, pH 值 8.0, 150 mM 之氯化鈉及 0.1% Tween 20)阻隔，再以 TBST 緩衝液清洗轉漬膜，然後與單株抗-iNOS 抗體(1:1000 稀釋)靜置 1 小時，再以 TBST 緩衝液清洗，然後加入標定的抗-小鼠 IgG 抗體(1:10000 稀釋)在室溫下反應 1 小時，以化學冷光(ECL)西方墨點試劑呈像。另外，在細胞懸浮液中的 TNF- α 分泌含量是根據製造商的步驟以酵素免疫分析(EIA)套組決定。

請參閱第六圖，其為 1400W、化合物 2、11、12、13 及 14 對於以 LPS 刺激的 RAW 264.7 產生亞硝酸鹽氮的抑制效果。亞硝酸鹽氮是以格里斯試驗時，一氧化氮的穩定代謝物，如第六圖中所示，LPS 刺激所產生的一氧化氮被 LPS 抑制劑(N-(3-(aminomethyl)benzyl) acetamide, 1400W) 及化合物 14 明顯抑制，且與劑量成正相關。如表二所示，W1400 及化合物 14 的 IC₅₀ 值分別為 1.5 ± 0.2 及 13.1 ± 5.0 μ M。當化合物 2、11、12 及 13 的濃度為 30 μ M 左右時，約可達到 40%的抑制作用。由上述結果可知，在 18 β -甘草次酸的 3,4-斷鍵型態結構衍生物的 C-3 或 C-30 位置引入親油性基團，可能會增強對於 LPS 誘發一氧化氮累積的抑制效果。為了進一步確認這種 RAW264.7 細胞中產生一氧化氮的抑制效果是影響 iNOS 的蛋白質表現，進行西方墨點

法。在未受 LPS 刺激的細胞中，表現極少量的 iNOS 蛋白質，而 50 ng/mL 的 LPS 會引發 iNOS 蛋白質大量表現。化合物 14 可以明顯地抑制 iNOS 蛋白質的表現，可見在化合物 14 對於一氧化氮產生及 iNOS 蛋白質表現的抑制作用中，iNOS 轉錄作用的中斷扮演了重要的角色。

請參閱第七圖，其為三羥基異黃酮(genistein)、化合物 3、10、13、15、17 及 21 對於以 LPS 刺激的 RAW 264.7 產生 TNF- α 的抑制效果。如第七圖及表二所示，genistein、化合物 3、10、13、15、17 及 21 均可強烈且與劑量相關地 LPS 刺激所產生的 TNF- α ，IC₅₀ 值分別為 26.5 ± 9.1、1.3 ± 0.4、26.1 ± 14.7、13.7 ± 4.3、15.5 ± 3.2、2.3 ± 5.0 及 27.7 ± 7.2 μ M。這些化合物中，除了化合物 21 之外，其他化合物對於以 LPS 刺激的 RAW 264.7 產生 TNF- α 的抑制效果都比正向對照組更強。由上述結果推測，在 18 β -甘草次酸的 C-30 位置進行酯化，可增強對於產生 TNF- α 的抑制作用，而將 18 β -甘草次酸的 C-3-OH 位置還原或將環 A 切斷，則會中止在 LPS 刺激下產生 TNF- α 的抑制效果。以苯醇在 18 β -甘草次酸的 3,4-斷鍵型態結構衍生物的 C-30 位置進行酯化會強烈增強對於產生 TNF- α 的抑制效果，而以異丙胺進行胺化作用則會中止在 LPS 刺激下產生 TNF- α 的抑制效果。

實施例六：抑制氧化 DNA 損傷活性測試

將溶於 10 mM 磷酸鹽緩衝液(pH 7.4) 的 1 μ g/ μ L pBR322 質體 DNA 及黃嘌呤 (2mM)/黃嘌呤氧化酶 0.7

U/mL 的混合物與 500 μ M 超氧歧化酶、槲黃素(queracetin) 或化合物 2、6、7、13、14 及 20 在 37°C 下以 20 μ L 的總體積靜置 20 分鐘，20 分鐘後，取出 15 μ L 的混合液體，在乙二胺四乙酸(EDTA)緩衝液中載入含有 0.05 μ g/mL 溴化乙錠的 1%瓊膠中進行電泳。電泳在 100 伏特下進行 30 分鐘，然後將瓊膠以 UV 光照射顯影並拍照。

已知 ROS 會造成多生理上大分子的損傷，例如 DNA，就是一個明顯的標的。本發明以瓊膠電泳法顯示 18 β -甘草次酸衍生物對於超氧離子(O₂⁻，由黃嘌呤 (XA)/XO 產生)造成 DNA 損傷的抑制能力，化合物 2、6、7、13、14 及 20 對於以 fMLP/CB 或 PMA 活化之大鼠嗜中性球釋放的超氧離子表現出明顯的抑制效果，並表現對於超氧離子導致的氧化 DNA 損傷具有明顯保護效果。以上結果已清楚說明這些化合物對於 XO 具有抑制作用或自由基清除作用，而為了進一步了解這些化合物的抗氧化作用，接下來便針對自由基清除活性與 XO 抑制活性進行分析。

實施例七：黃嘌呤氧化酶活性試驗

以黃嘌呤作為受質的黃嘌呤氧化酶活性在 25°C 下測試，根據 Kong 等人於 2000 年發表於期刊 *Cell Mol. Life Sci.* 78, 500 之方法加以修改，在試驗進行之前，新鮮配製含有 50 μ L 測試溶液、60 μ L 70 mM 磷酸鹽緩衝液(pH 7.5)以及 30 μ L 酵素溶液(在 70 mM 磷酸鹽緩衝液(pH 7.5)中濃度為 0.1 U/mL)的試劑混合物。預先放置在 25 °C 下 15 分鐘後，加入 60 μ L 的受質溶液(在相同緩衝液中含有 150 μ M 黃嘌呤)

呤)啟動反應，在波長 295 nm 下監控反應進行，而黃嘌呤氧化酶的活性則以每分鐘尿酸之毫莫耳數表示。

請參閱第八圖，其為化合物 6、13、14 及別嘌呤醇 (allopurinol) 對於 XO 的抑制作用。如第八圖所示，Genistein、化合物 6、13、14、22 及 allopurinol 均呈現劑量相關地明顯抑制 XO 的活性， IC_{50} 值分別為 131.5 ± 2.7 、 170.5 ± 0.9 、 192.4 ± 2.7 、 186.1 ± 1.0 、及 $2.0 \pm 0.7 \mu\text{M}$ 。化合物 2、7 及 20 對抑制 XO 的活性弱。對於 XO 具有抑制活性的化合物 6、13 及 14 也在受到 PMA 刺激之大鼠嗜中性球中明顯抑制超氧離子的形成。上述結果顯示這些化合物在受到 PMA 刺激之大鼠嗜中性球中對於超氧離子形成的抑制作用，可能與 XA/XO 系統有關，而化合物 2、7 及 20 在受到 fMLP/CB 刺激之大鼠嗜中性球中對於超氧離子形成的抑制作用，則與 XA/XO 系統不相關。而以上結果也顯示將化合物 6 的內酯環打開會減弱對於 XO 活性之抑制作用。

綜上所述，藉由本發明合成方法產生之 18β -甘草次酸衍生物，經由生理活性試驗證實具有抗氧化及抗發炎功效，將來對於與一氧化氮製造增加相關的中樞或週邊發炎疾病的治療或預防，具有寶貴的臨床價值。另一方面，本發明之 18β -甘草次酸衍生物在巨噬細胞中對於 TNF- α 產生之抑制作用，也在與 TNF- α 產生相關的某些發炎疾病及敗血性休克的治療或預防上，具有臨床價值。

本發明得由熟習此技藝之人士任施匠思而為諸般修

飾，然皆不脫如附申請專利範圍所欲保護者。

【圖式簡單說明】

第一圖為一流程圖，其係說明本發明中用於合成 18 β -甘草次酸衍生物 2-11 之流程，其中每個數字代表不同的化合物。

第二圖為一流程圖，其係說明本發明中用於合成 18 β -甘草次酸衍生物 12-15 之流程，其中每個數字代表不同的化合物。

第三圖為一流程圖，其係說明本發明中用於合成 18 β -甘草次酸衍生物 16-21 之流程，其中每個數字代表不同的化合物。

第四圖為一曲線圖，其為 DPI、化合物 2、7 及 20 對於以 fMLP/CB 刺激的大鼠嗜中性球產生過氧化離子的抑制效果，其中 DPI 為正向對照組，各組之抑制效果以相較於對照組的抑制百分比表示，每個數據代表樣本數 3-6 的平均值 \pm 標準差。

第五圖為一曲線圖，其為 DPI、化合物 6、13 及 14 對於以 PMA 刺激的大鼠嗜中性球產生過氧化離子的抑制效果，其中 DPI 為正向對照組，各組之抑制效果以相較於對照組的抑制百分比表示，每個數據代表樣本數 3-6 的平均值 \pm 標準差。

第六圖為一曲線圖，其為 1400W、化合物 2、11、12、13 及 14 對於以 LPS 刺激的 RAW 264.7 產生亞硝酸鹽氮的

抑制效果，其中 1400W 為正向對照組，各組之抑制效果以相較於對照組的抑制百分比表示，每個數據代表樣本數 3-6 的平均值±標準差。

第七圖為一曲線圖，其為 genistein、化合物 3、10、13、15、17 及 21 對於以 LPS 刺激的 RAW 264.7 產生 TNF- α 的抑制效果，其中 genistein 為正向對照組，各組之抑制效果以相較於對照組的抑制百分比表示，每個數據代表樣本數 3-6 的平均值±標準差。

第八圖為一曲線圖，其為化合物 6、13、14 及 allopurinol 對於 XO 的抑制作用，其中 allopurinol 為正向對照組，各組之抑制效果以相較於對照組的抑制百分比表示，每個數據代表 6 個樣本數的平均值±平均標準誤。

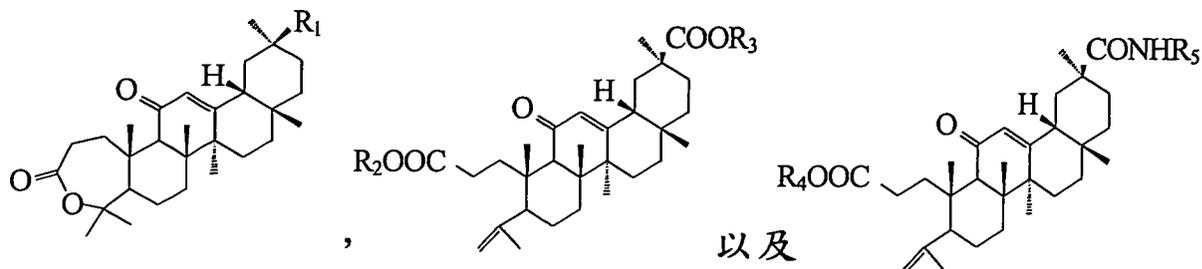
【主要元件符號說明】

無。

七、申請專利範圍：

公告本

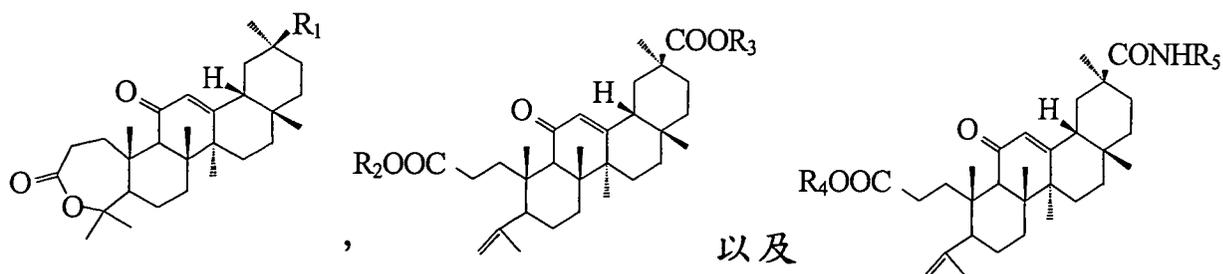
1. 一種用於抗發炎及抗氧化的醫藥組合物，包含：
一化合物，其結構選自



其中之一，其中 R₁ 選自 COOCH₃、COOCH₂Ph、CONHCH(CH₃)₂ 以及 CONHC₆H₅ 其中之一，R₂ 選自 H、CH₃ 及 CH(CH₃)₂ 其中之一，當 R₂ 為 H 及 CH(CH₃)₂ 其中之一時，R₃ 選自 H、CH₃、CH(CH₃)₂ 及 CH₂Ph 其中之一，當 R₂ 為 CH₃ 時，R₃ 選自 CH₃、CH(CH₃)₂ 及 CH₂Ph 其中之一，R₄ 選自 H、CH₃ 及 CH(CH₃)₂ 其中之一，R₅ 選自 CH(CH₃)₂ 及 C₆H₅ 其中之一；以及

一醫藥上可接受載體。

2. 一種化合物，其結構選自



其中之一，其中 R₁ 選自 COOCH₃、COOCH₂Ph、CONHCH(CH₃)₂ 以及 CONHC₆H₅ 其中之一，R₂ 選自 H、CH₃ 及 CH(CH₃)₂ 其中之一，當 R₂ 為 H 及 CH(CH₃)₂ 其中之一時，R₃ 選自 H、CH₃、CH(CH₃)₂ 及 CH₂Ph 其中之一，當 R₂ 為 CH₃

時， R_3 選自 CH_3 、 $CH(CH_3)_2$ 及 CH_2Ph 其中之一， R_4 選自 H 、 CH_3 及 $CH(CH_3)_2$ 其中之一， R_5 選自 $CH(CH_3)_2$ 及 C_6H_5 其中之一。

3. 一種利用如申請專利範圍第 2 項之化合物製備一發炎疾病或敗血性休克之藥物的方法。

4. 如申請專利範圍第 3 項的組合物，其中該發炎疾病為痛風或高尿酸血病。

5. 一種合成一 18β -甘草次酸衍生物的方法，該方法包含：

氧化一 18β -甘草次酸；以及

進行一環氧化反應。

6. 如申請專利範圍第 5 項的方法，進一步包含：

將該 18β -甘草次酸甲基化，以獲得一甲基化的 18β -甘草次酸；以及

將該甲基化的 18β -甘草次酸氧化，俾使該環氧化反應進行。

7. 如申請專利範圍第 5 項的方法，進一步包含：

進行一酯化反應。

8. 如申請專利範圍第 5 項的方法，進一步包含：

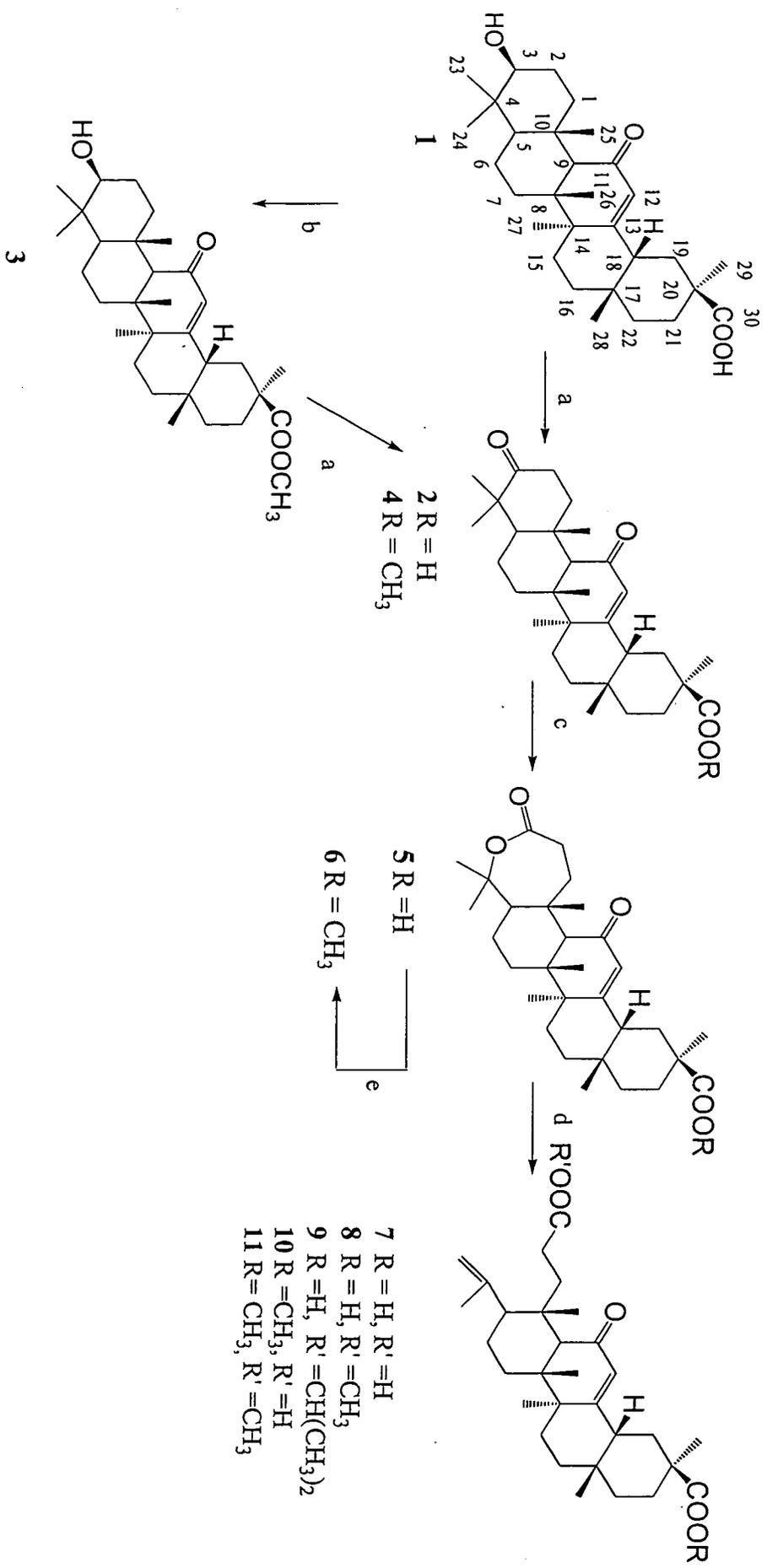
打開一內酯環。

9. 如申請專利範圍第 8 項的方法，進一步包含：

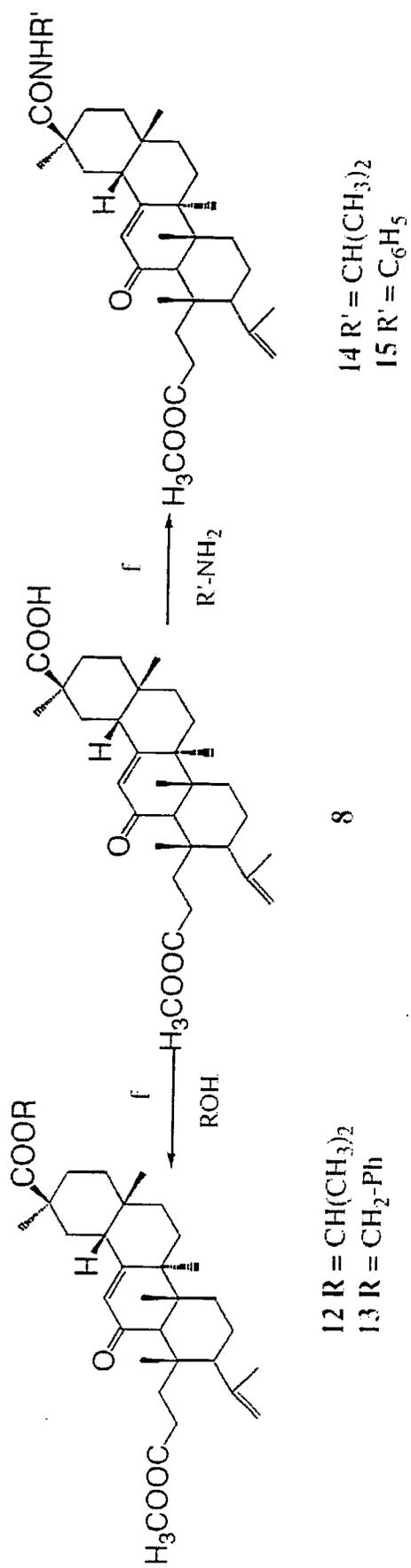
以一醇類溶液及一胺類溶液其中之一處理開環後之化合物，其中該醇類溶液為異丙醇或苯醇，該胺類溶液為異丙胺或苯胺。

10. 如申請專利範圍第 5 項的方法，進一步包含：

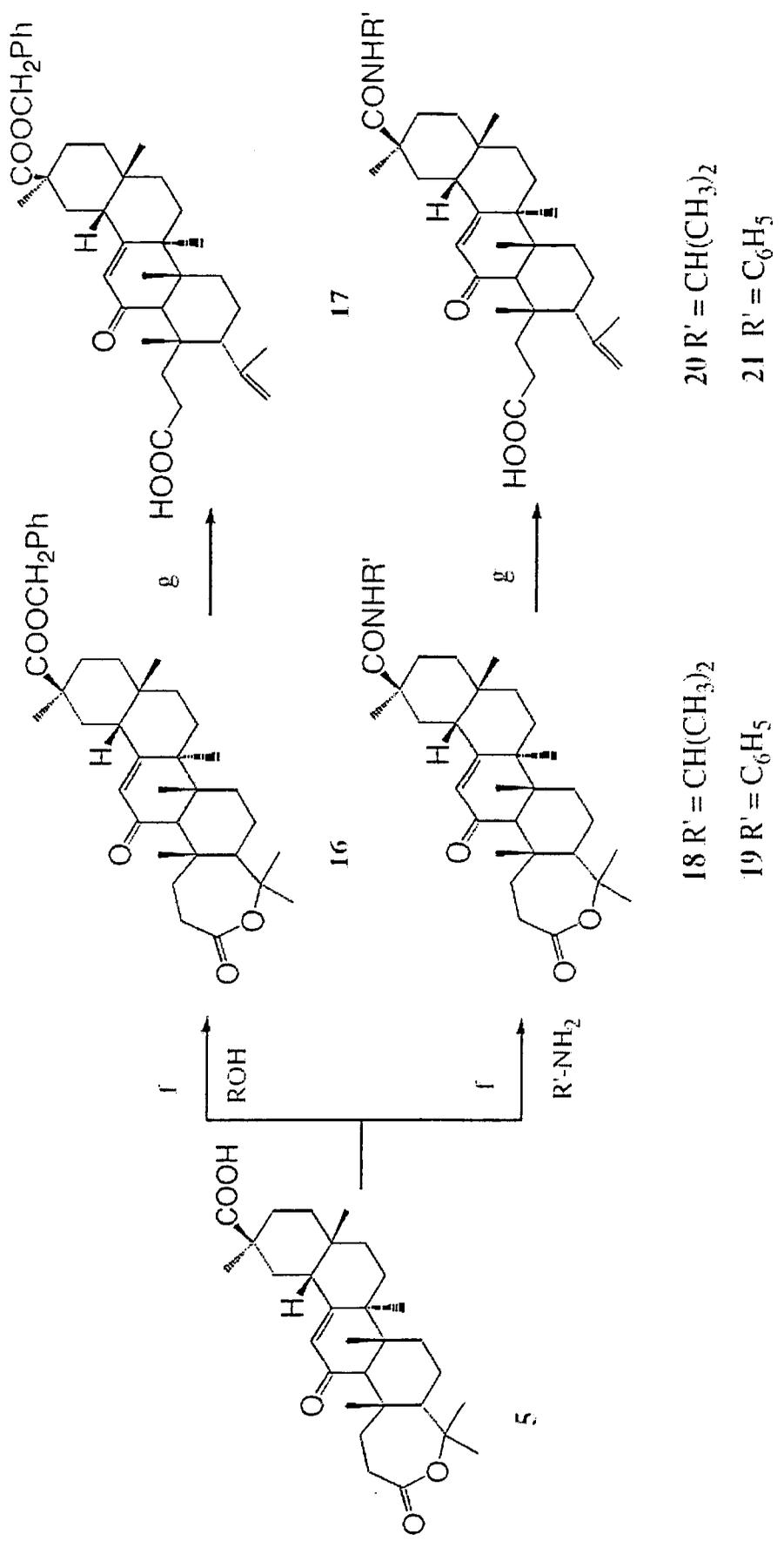
在該環氧化反應後加入一醇類溶液及一胺類溶液其中之一，並打開一內酯環。



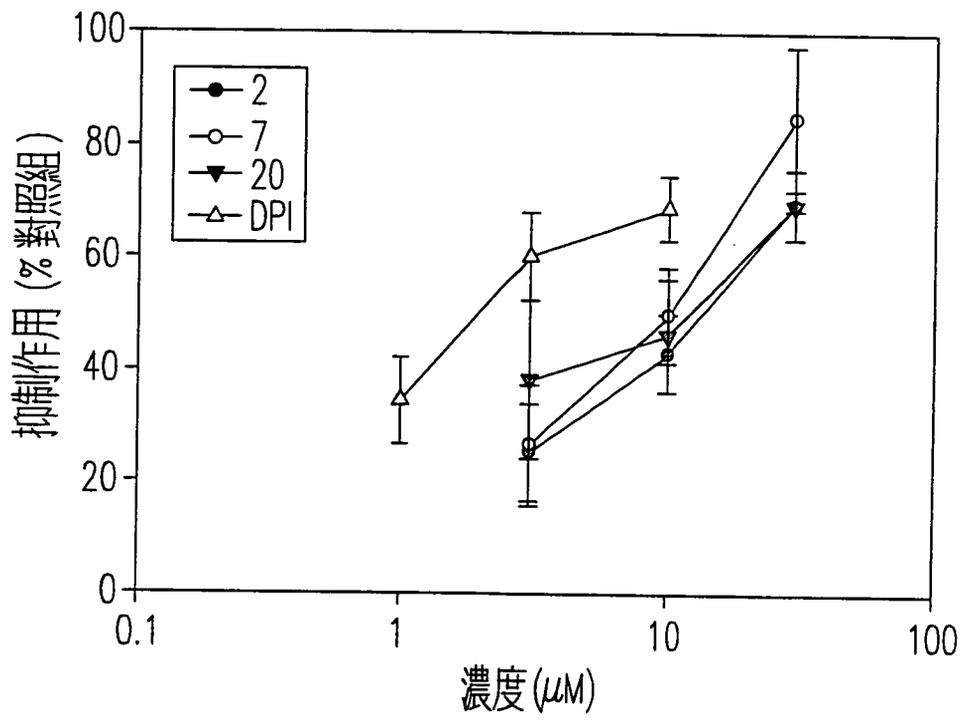
第一圖



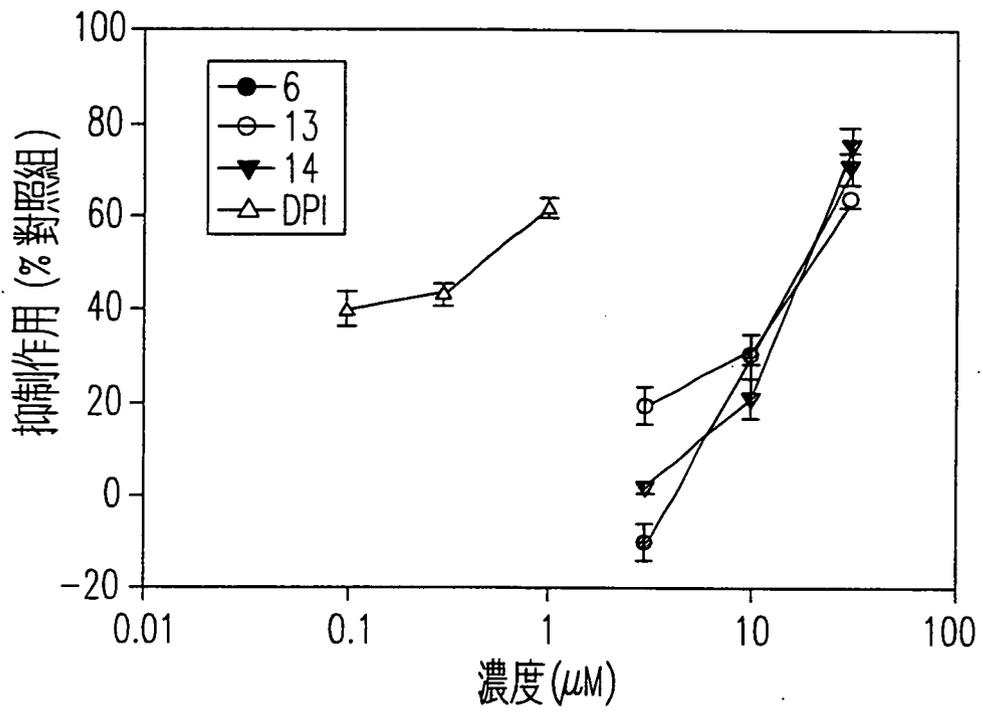
第二圖



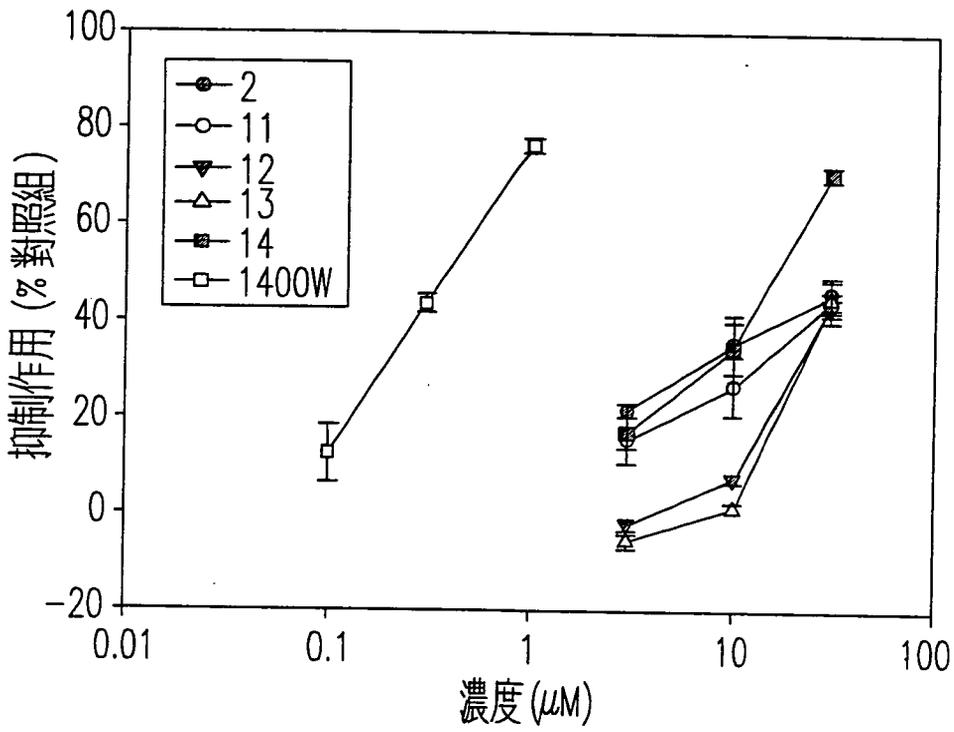
第三圖



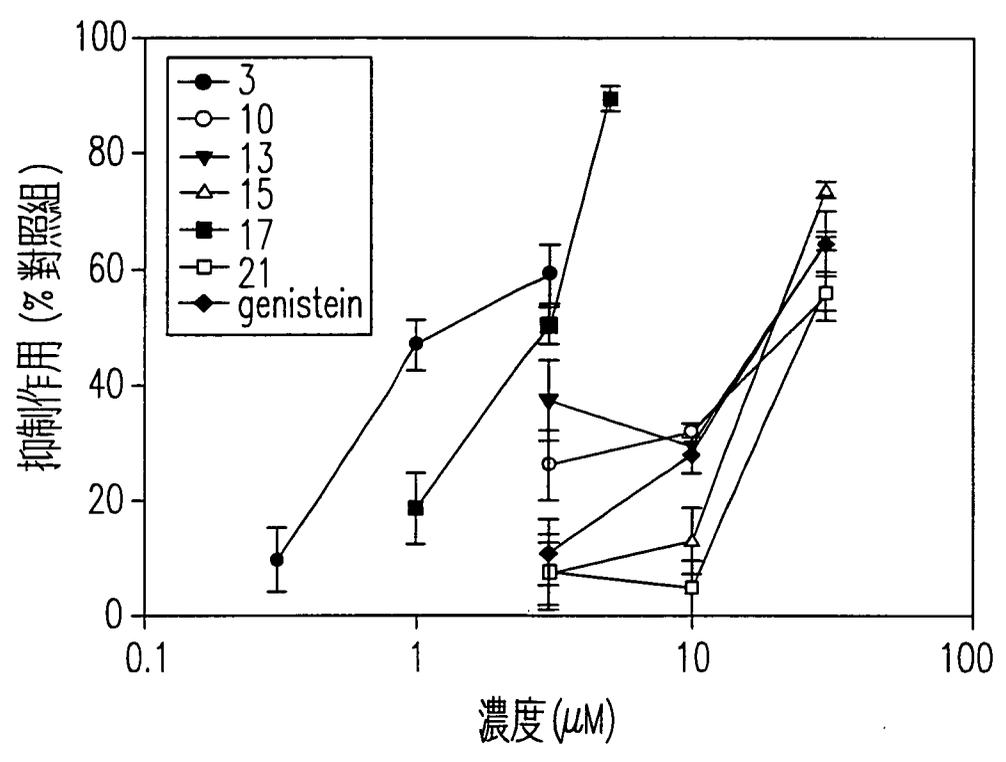
第四圖



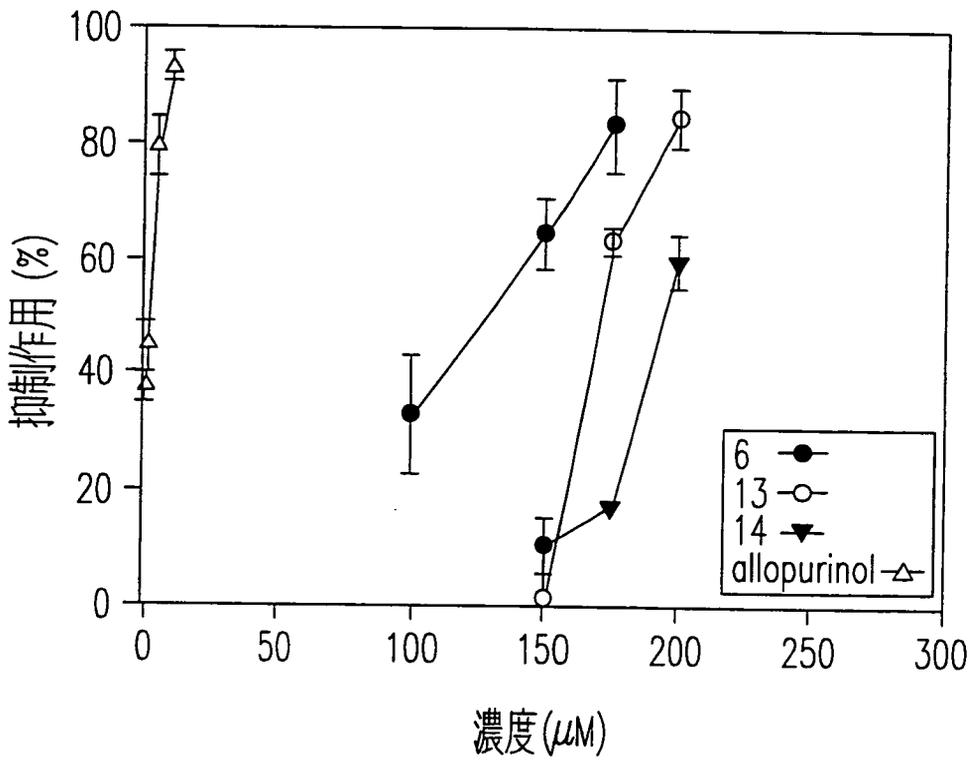
第五圖



第六圖



第七圖



第八圖