

[19]中华人民共和国专利局

[51] Int.Cl.⁴



[12] 发明专利申请公开说明书

C07D 307/60
//(C07D 307/60
C07D 307/42)

[11] CN 86 1 04450 A

CN 86 1 04450 A

[43] 公开日 1986年12月31日

[21] 申请号 86 1 04450

[22] 申请日 86.6.30

[30] 优先权

[32]85.7.1 [33]美国 [31]750,801

[71] 申请人 伊莱利利公司

地址 美国印第安纳州印第安纳波利斯

[72] 发明人 罗莎纳·邦朱克利安

爱德华·戴维·朱赫利奇

迈克尔·勒鲁瓦·菲利普斯

克里斯托弗·约翰·蒙塔古·米德

[74] 专利代理机构 中国专利代理有限公司

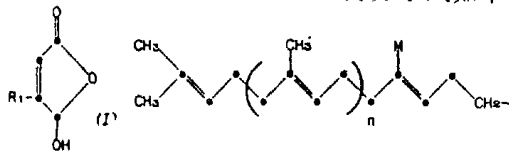
代理人 刘元金

[54] 发明名称 咪喃酮衍生物的制备方法

[57] 摘要

分子式(I)咪喃酮衍生物抑制磷脂酶A₂, 可用作
抗炎剂和抗变应剂。

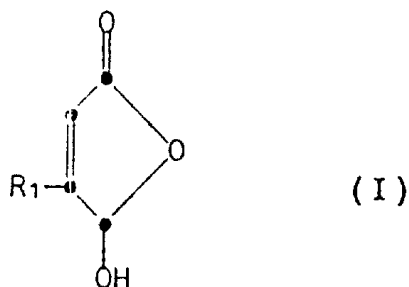
式(I)中R₁为: 含有总数0-6个双键和三键的
C₈-C₁₂直链或支链单价烃基; 或R₁为分子式如下的
基团,



式中 n 为 0 或 1, M 为 -CHO 或 -CH₂OH; 或
R₁ 为 R-alk, 其中 alk 是含有 0-2 个双键或三键的
C₈-C₁₂直链或支链单价烃基, R 为萘基氧基或苄基
氧基。

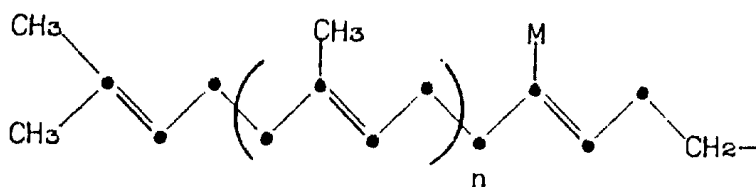
242/8606095/12

1. 制备分子式(I)化合物的方法



式中 R₁ 为

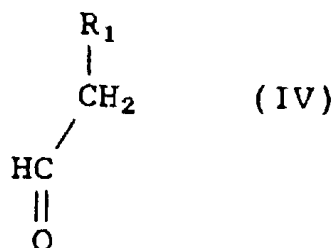
含有 0 - 6 个双键或三键的 C₈ - C₂₄ 直链或支链单价烃基, 或分子式为



的基团, 式中 n 为 0 或 1, M 为 -CHO 或 -CH₂OH;

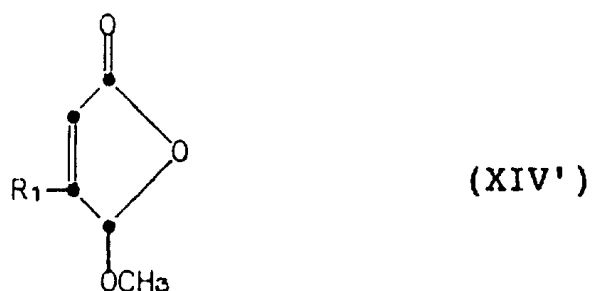
或为 R-alk-, 其中 alk 为: 含有 0 - 2 个双键或三键的 C₂ - C₁₂ 直链或支链单价烃基; R 为萘基氧基或苄基氧基, 该方法包括:

(a) 分子式(IV)中的醛与水合乙醛酸和吗啉盐酸盐的反应,



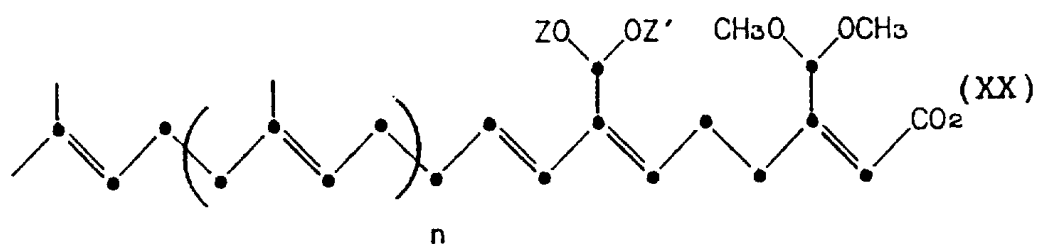
R₁ 定义同前，

或 (b) 分子式 (X I V ') 化合物的碱性水解



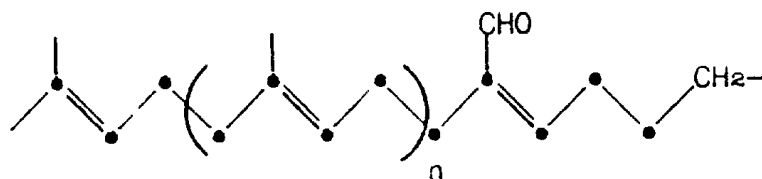
R₁ 定义同前

或 (c) 分子式 (X X) 化合物

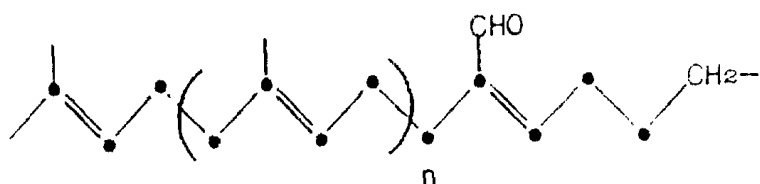


(式中: Z 和 Z' 各自为甲基或乙基或一起构成二-, 三-, 或四次甲基, n 为 1 或 2)

经酸性水解得到分子式 (I) 化合物, 式中 R₁ 为:

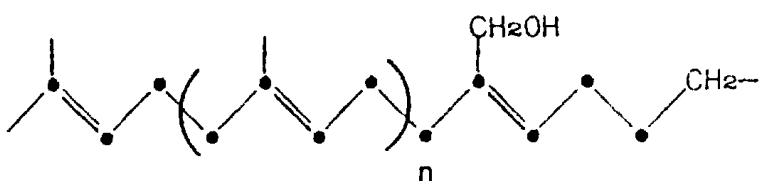


或 (d) 分子式 (I) 化合物 (式中 R₁ 为:

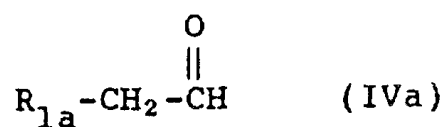


n 为 1 或 2)

经还原得到分子式 (I) 化合物 (式中 R_1 为:



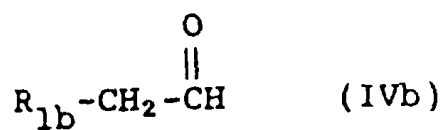
2. 权利要求 1 所述方法其中分子式 (IV a) 的醛



(式中: R_{1a} 为 $C_{12}-C_{16}$ 直链或支链单价烃基)

与水合乙醛酸和吗啉盐酸盐反应得到分子式 (I) 化合物, 式中 R_1 为 R_{1a} 。

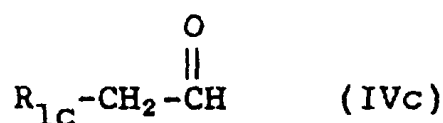
3. 权利要求 1 所述方法, 其中分子式 (IV b) 的醛



(式中: R_{1b} 为一个 C_{16} 直链或支链单价烃基)

与水合乙醛酸和吗啉盐酸盐反应得到分子式 (I) 化合物, 式中 R_1 为 R_{1b} 。

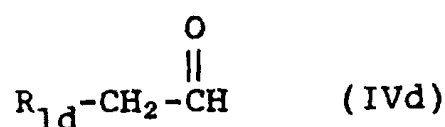
4. 权利要求 1 所述方法, 其中分子式 (IVc) 的醛



(式中, R_{1c} 为 (Z, Z) - 7, 10 - 十六碳二烯基)

与水合乙醛酸和吗啉盐酸盐反应得到 (Z, Z) - 4 - (7, 10 - 十六碳二烯基) - 5 - 羟基 - 2 (5H) - 呋喃酮。

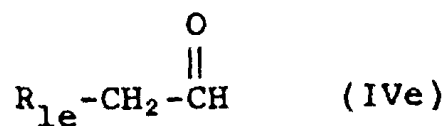
5. 权利要求 1 所述方法, 其中分子式 (IVd) 的醛



(式中, R_{1d} 为 4, 8, 10 - 三甲基 - 3, 7, 11 - 十三碳三烯基)

与水合乙醛酸和吗啉盐酸盐反应, 得到 5 - 羟基 - 4 - (4, 8, 12 - 三甲基 - 3, 7, 11 - 十三碳三烯基) - 2 (5H) 呋喃酮。

6. 权利要求 1 所述方法, 其中分子式 (IVe) 醛



〔式中：R₁e 为 4 - (2 - 萘基氧基) 丁基〕

与水合乙醛酸和吗啉盐酸盐反应，得到 5 - 羟基 - 4 - [4 - (2 - 萘基氧基) 丁基] - 2 (5 H) 呋喃酮。

7. 由权利要求 1 - 6 中任一要求所涉及的方法制备的分子式 (I) 化合物。

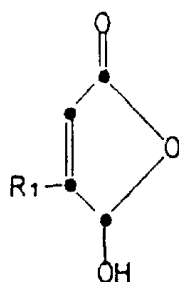
呋喃酮衍生物的制备方法

磷脂酶 A₂ (PLA₂) 是一种依赖于钙的酶, 它能够裂解磷脂中的 R-2 酰基。在哺乳动物组织中这一裂解主要得到游离的花生四烯酸, 然后由环氧化酶系将花生四烯酸转化成前列腺素和凝血噁烷。另外, 通过脂氧合酶路径, 花生四烯酸 还可以转化成白三烯 (Leukotrienes)。引自 G. Weissman Cellular Immunology 第 8 2 卷, 117 (1983), 另引自 E. Israel 和 J. M. Drazen “白三烯和气喘 基本评论” Current Concepts in Allergy and Clinical Immunology XIV 卷, No3. pp. 11-16 (1983)。

许多抗炎剂, 如阿斯匹林, 消炎痛, 布洛芬, 都是通过抑制环氧化酶途径阻止前列腺素的合成。相似地抑制脂氧合酶途径, 由此阻止白三烯的合成同样可以产生抗炎作用。具有阻止花生四烯酸释放的 PLA₂ 抑制剂能有效地阻断上述两条路径, 并由于阻断上述两条路径中的介体合成, 它应成为有效的抗炎剂。

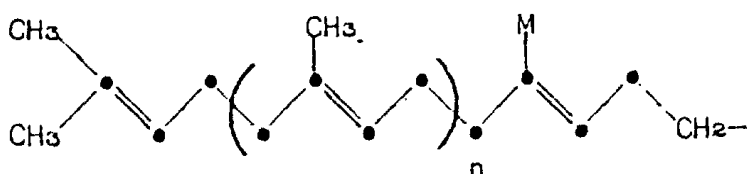
本发明的目的在于提供某些呋喃酮衍生物, 通过
这些化合物的抑制 PLA₂ 酶的能力而作为抗炎剂和抗变应剂。

本发明所提供的化合物分子式为:



I

[式中; R_1 为含有总数 0 - 6 个双键和三键的 $C_8 - C_{24}$ 直链或支链单价烃基, 或 R_1 为分子式如下的基团;

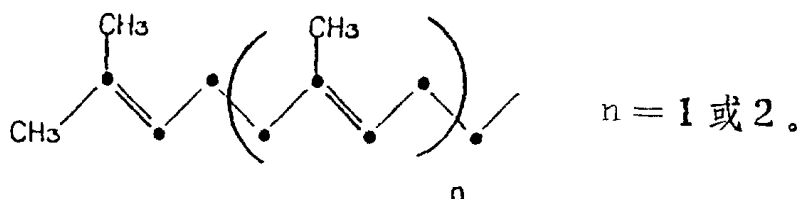


式中 n 为 0 或 1, M 为 $-CHO$ 或 $-CH_2OH$; 或者 R_1 为 $R-alk$ 其中 alk 为含有 0 - 2 个双键或三键的 $C_2 - C_{12}$ 的单价烃基, R 为萘氧基或苾苾氧基]

上述分子式所限定的化合物可用于治疗哺乳动物的炎症, 气喘, 变应性疾病及其由于前列腺素, 凝血噁烷或白三烯过量而引起的任何其他有关疾病。

本发明也提供了一些药物组方, 其中包括分子式 (I) 呋喃酮作为活性成份和药物上可以接受的载体, 稀释剂或为此而加的赋形剂配合使用。

前述分子式化合物中最好的一组是; R_1 为 10 至 20 碳, 尤其以 12 - 16 碳单价无环烃基团为最佳。单价无环烃基可以是直链的或支链的, 并且最好含有 2 - 4 个双键。最理想的 R_1 为:

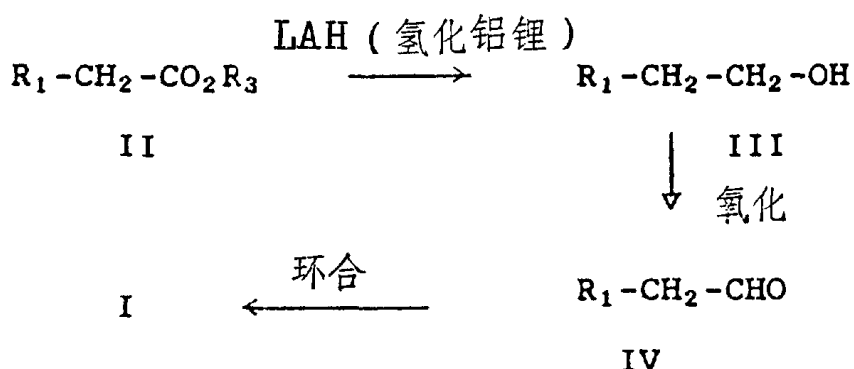


与呋喃酮环最近的乙烯碳原子相连接的甲基可以任意地用羧乙醛或羟甲基取代。

“萘氧基”应为 1 -，最好是 2 - 萘氧基。“苾苯氧基”应为 3 -, 4 -，最好是 2 - 苾苯氧基。“Alk”为由 C₂ - C₁₂ 烃而来的二价有机基团，并且最好是二，三，或四亚甲基。

本发明的化合物可以用本专业所熟知的几种方法中的任何一种方法来制备。图解 1 归纳了对于制备本发明中脂肪酸衍生物十分有用的反应程序。

图解 1



其中 R₃ 为甲基或乙基。

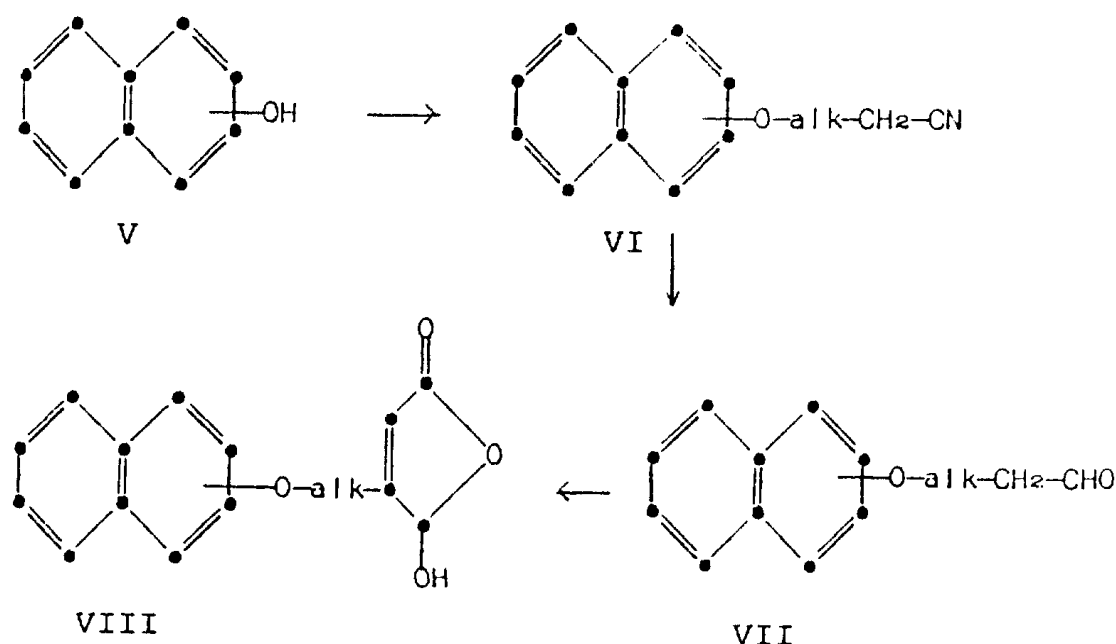
按照图解 1，用还原剂（如氢化铝锂）在非反应性溶剂（如四氢呋喃，或乙醚）中，最好的反应温度为 - 20 至 20 °C，处理甲或乙酯 II，使它转化成相应的醇 III。一般用克分子稍过量的酯 II，以防止任何不饱和键的还原。

然后用 Swern 氧化，将所得到的醇 III 氧化成相应的醛。一般在约 - 60 至 0 °C 进行这一反应，并且要使用近 1 摩尔当量的草酰氯，近 2 个摩尔当量的二甲亚砷，3 - 8 摩尔当量的三乙胺，通常是在非反应性溶剂，如二氯甲烷中进行。

按照 Bourguignon 等在 J. Org. Chem, 46 卷 4889 (1981) 所报道的方法, 可以将醛 IV 转化成所希望得到的呋喃酮 I。通常在二氧噁烷和水的混合物中, 在惰性气体存在下, 将醛与相近摩尔当量的水合乙醛酸和吗啉盐酸盐迴流。在该混合物的迴流温度加热时, 反应要在约 24 小时内完成。

图解 2 归纳了制备本发明中萘氧基化合物中特别有用的另一个方法。以适宜的苄基苯酚为初始原料用同样的方法可以制备苄基苯氧基衍生物。

图解 2



用 $x\text{-alk-CH}_2\text{-CN}$ ($x = \text{氯或溴}$) 将萘酚 V 烷基化得到相应的腈衍生物 VI。所用方法为规范烷化工艺。最好的条件为: 在非反应性溶剂中 (如二甲基甲酰胺, 用强碱 (如: 氢化钠) 与萘酚 V 反应。一

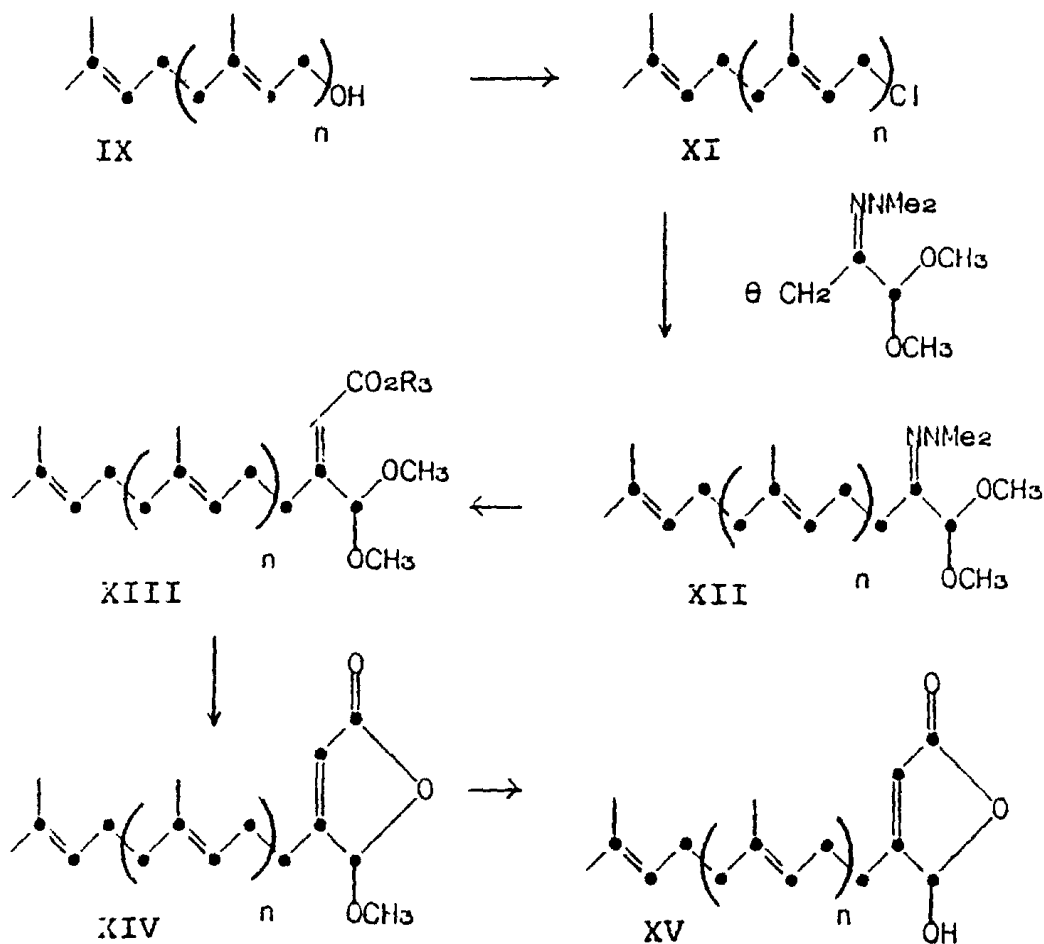
般反应温度为约 20 - 100 °C，最好是在催化量的碱性碘金属（如碘化钾或碘化钠）存在下进行。

用阻滞还原剂还原，然后酸化可直接将腈中间体 VI 转化成醛中间体 VII。最好的还原剂为二异丁基氢化铝。反应一般是在非反应性溶剂（如四氢呋喃）中，在约 -20 至 20 °C，惰性气体存在下进行。一般使用 4 摩尔当量的还原剂。简单地将酸，如无机酸（如盐酸）加到该反应混合物中便可完成酸化水解。

用与图解 1 中将中间体 IV 转化成产物 I 所述的相同方法可将所得到的醛 VII 转化成最终产物 VIII。

在以萜烯为侧链的图解 3 中描述了制备分子式 I 化合物的另一方法，该方法对制备其中 R₁ 为萜烯的衍生物尤为有用。

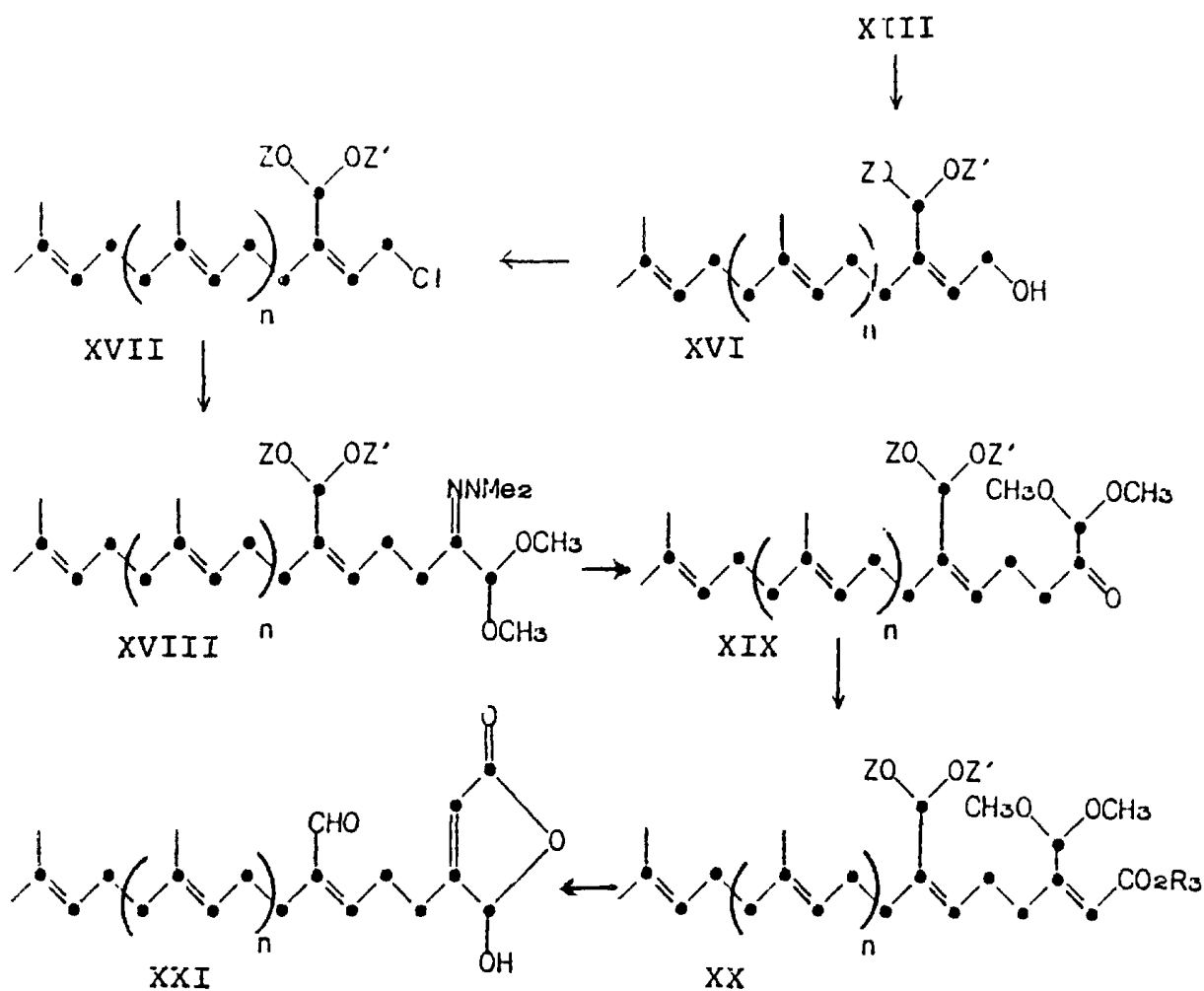
图解 3



其中 n 为 1 或 2。用本专业所熟知的方法将醇 IX 转化成相应的氯代衍生物 X 。当涉及萜烯时，2, 4, 6-可力丁，氯化锂，二甲基甲酰胺，甲磺酰氯对这一转化十分有效，方法见；Collington 等 *J. Org. Chem.* 36 卷(20)，3044 (1971)，通过与丙酮醛二甲基缩醛的二甲胺衍生物的阴离子反应，氯代中间体 X 可转化成二甲基缩醛中间体 XI ，方法是；Cuvigny 等，*Synthesis*, 198 (1977)。所需丙酮醛二甲基缩醛之二甲胺的制备方法引自；Newkome 等，*J. Org. Chem.* 31 卷，677 (1966) 和 Smith 等，*J. Org. Chem.* 22 卷，358 (1957)，以及后面的实例中的描述。所得到的胺 XI 先用酸水解得到相应的酮缩醛，然后用三甲基硅烷基乙酸烷基酯的锂衍生物处理。方法引自；Hartzell 等 *Tetrahedron Letters*, 15 卷，1403 (1974)；Rathke 等，*Syn. Comm.*, 3 卷(1)，67 (1973)。用酸性硅胶处理中间体 XIII (Larcheveque 等，*Tetrahedron Letters*, 22 卷(17)，1595 (1981)) 得到甲氧基同系物 XIV ，再用约 1 摩尔当量的 0.1 N 的氢氧化钠或类似碱处理，可将其转化成欲得产物 XV 。

图解 4 归纳了制备具有羧醛取代的萜烯衍生物可以使用的相似程序。

图解 4



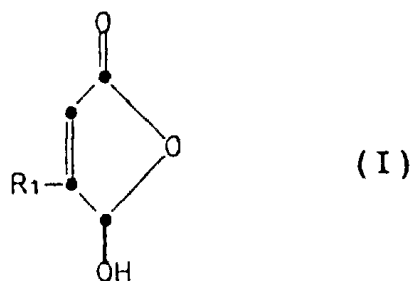
式中， Z 和 Z' 各自为甲基或乙基，或者当 Z 和 Z' 连在一起时为二，三，或四亚甲基。

按照图解 4，用像氢化铝锂这样的还原剂处理中间体 XIII，得到相应的醇 XVI。按照图解 3 所示的一般程序，将醇转化成相应的氯代衍生物 XVII，然后再将其转化成胺中间体 XVIII。将中间体 XVIII 水解成二缩醛中间体 XIX，再转化成酯 XX，再经酸性

水解便可制备所希望的最终产物 X X I，及其付产物 2 - 甲氧基同系物，后者可用来作为制备下面所讨论的本发明中羟甲基化合物的中间体。

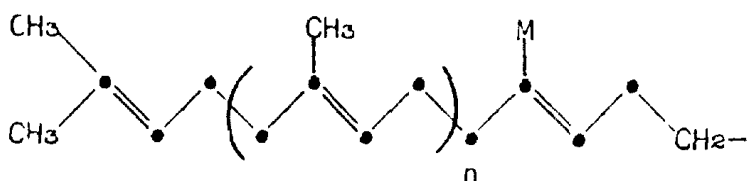
分子式 X X I 所代表的一类化合物也可用作相应的羟甲基同系物的中间体。可使用规范的还原工艺，如；在非反应性溶剂中（如甲醇）用硼氢化钠还原。另外，最好是用前述中将 X X 转化成 X X I 时作为付产物而形成的 2 - 甲氧基衍生物来进行这一反应。将醛还原之后，用前面所讲的温和的碱性水解可将甲氧基转化成所希望的羟基官能团。

相应地本发明也提供了一个制备分子式 (I) 化合物的程序。



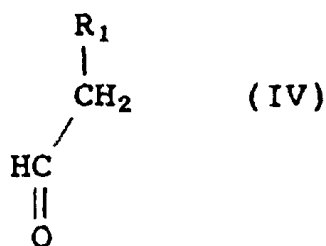
其中 R_1 为：

含有 0 - 6 个双键或三键的 $C_8 - C_{24}$ 直链或支链单价烃基，
或者分子式为：



的基团，式中 n 为 0 或 1， M 为 $-\text{CHO}$ 或 $-\text{CH}_2\text{OH}$ ；或者是 R -烷基，其中烷基为含有 0 - 2 个双键或三键的 $\text{C}_2 - \text{C}_{12}$ 直链或支链单 价烃基团， R 为萘氧基或苄基苯氧基，该程序包括：

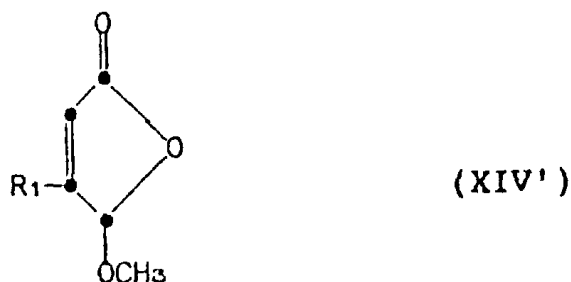
(a) 通式 (IV) 醛与水合乙醛 酸和吗啉 盐酸盐的反应；



式中： R_1 定义同前

或：

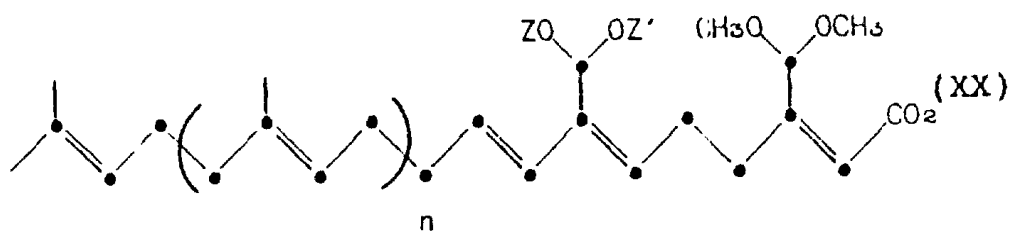
(b) 通式 (XIV') 化合物的碱性水解



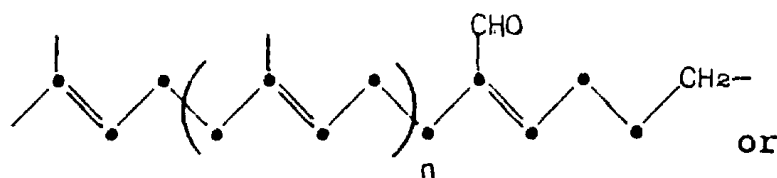
式中： R_1 的定义同前

或：

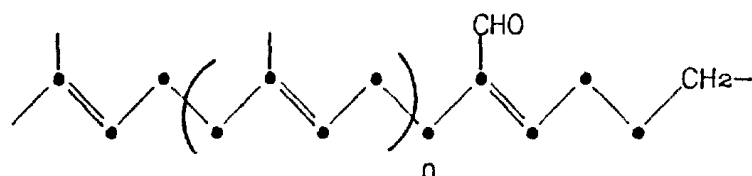
(c) 通式 (XX) 化合物的酸性水解，提供分子
式为 (I) 的化合物，



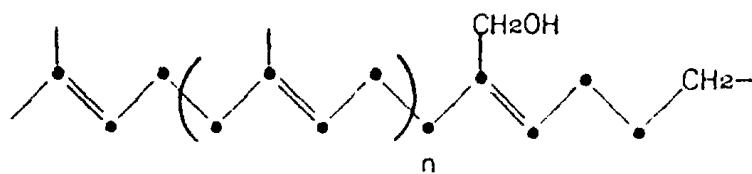
式 (XX) 中: Z 和 Z' 各自为甲基或乙基, 或当 Z 和 Z' 连在一起时为二, 三, 或四亚甲基, 以及 n 为 1 或 2, 式 (I) 中 R_1 为:



(d) 还原分子式 (I) 化合物, 式中 R_1 为:



提供分子式 (I) 化合物, 式中 R_1 为:



中间体 II, III, IV, V 和 IX, 及其他所需试剂是市场上可以买到的, 文献中已知的, 或是用文献已知方法可以制备的, 或是用在下述实例中所描述的方法可以制备的化合物。

分子式 (I) 呋喃酮环的羟基取代物可以以两种主体异构体的其中之一存在。另外, R_1 取代物所涉及的双键可以是顺式, 也可以是反式。本发明并不限于分子式 (I) 化合物的任何实际上的异构体, 而是包括该化合物可能形成的所有独特的异构体和清旋体。

下列实例进一步说明本发明中化合物的制备过程。这些实例仅仅是说明, 但决不意味着对本发明的范围有任何限制。

实例 I

(Z, Z) - 4 - (7, 10 - 十六碳二烯基) - 5 - 羟基 - 2 - (5H) - 呋喃酮

A. 9, 12 - 十八(碳)二烯醇的制备

在近 0°C , 充氩条件下, 将溶于 20 毫升乙醚中的 20 克亚油酸甲酯溶液加到含有 1.8 克氢化铝锂的 150 毫升乙醚混悬液中。 0°C 搅拌该混合物约 2 小时。缓慢地加入 1.8 毫升水, 使该反应骤停, 然后加入 1.8 毫升 15% 的氢氧化钠溶液和 5.4 毫升水。过滤该混合物, 滤液蒸干。将所得到的油溶于乙醚, 水洗, 用硫酸镁干燥, 过滤, 蒸除溶剂便得到 17.7 克 9, 12 - 十八(碳)二烯醇。

B. 9, 12 - 十八(碳)二烯醛的制备

将 20.23 毫升二甲亚砷溶于 47 毫升二氯甲烷中, 在近 -60°C , 充氩条件下, 将上述溶液滴加到搅拌着的 230 毫升溶有 12.3 毫升草酰氯的二氯甲烷溶液中。搅拌该混合物 5 分钟, 将 50 毫升含有 25 克 9, 12 - 十八(碳)二烯醇的二氯甲烷溶液加入该混合物,

同时维持反应温度在 -50°C 以下。 -50°C 搅拌反应20分钟，缓慢温热至 -20°C 。然后加入60毫升三乙胺使反应骤停。在 -20°C 搅拌5分钟后，使该混合物温热至室温，蒸干。残余物溶于乙醚，用水洗两次，再用饱和氯化钠溶液洗一次，用硫酸镁干燥，减压浓缩。得到的油用薄层色谱法 (flash chromatography)，展开剂为10:1己烷:乙醚进行纯化，得到17.1克9,12-十八(碳)二烯醛。

c. (Z, Z)-4-(7.10-十六碳二烯基)-5-羟基-2(5H)-

呋喃酮的制备

在充氮条件下，在50毫升的园底烧瓶中，将2.33克含水乙醛酸，3.44克吗啉盐酸盐和10.1毫升二氧噁烷混合快速搅拌。滴加水直到形成均一溶液。加入 $6\frac{7}{10}$ 克9.12-十八碳二烯醛。

猛烈地搅拌该混合物1小时，然后加热迴流24小时。减压下蒸馏该反应混合物。将所得到的油溶于乙醚中，水洗，硫酸镁干燥，过滤，蒸除乙醚所得到的粗油用中压色谱法在硅胶柱上纯化，洗脱剂为；

3:1己烷/乙酸乙酯。混合适宜级份，蒸除洗脱剂，便得到4.0克无色油状题目期望的产物。

元素分析: $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_3$;

计算值: C, 75.19 H, 9.78

实测值: C, 75.01 H, 10.01

^{13}C 核磁共振, ppm: 172.1, 170.4, 130.0, 129.6, 128.1, 127.7, 116.8, 99.5, 31.5, 29.5, 29.4, 29.2, 28.9, 27.7,

27.2, 27.1, 26.6, 25.7, 22.5, 14.1.

实例 2 - 11

按照实例 1 的方法从适宜的中间体制备了下列化合物。产率以相应中间体的摩尔产率表示。

2. (Z, Z, Z) - 4 - (7, 10, 13 - 十六碳三烯基) - 5 - 羟基 - 2 (5H) - 呋喃酮, 油状物, 以中间体醇计算, 收率为 34.9%。红外光谱, 质子核磁共振谱, ^{13}C 核磁共振谱与产物结构相符。

^{13}C 核磁共振谱, ppm: 172.1, 170.4, 131.6, 129.7, 128.4, 128.1, 127.7, 126.9, 116.8, 99.4, 30.3, 29.4, 29.1, 28.9, 27.6, 27.1, 26.6, 25.6, 20.5, 14.2.

3. (Z, Z, Z, Z) - 5 - 羟基 - 4 - (3, 6, 9, 12 - 十八碳四烯基) - 2 (5H) - 呋喃酮, 油状物, 以中间体甲酯计算, 收率为 22.8%。红外光谱, 质子核磁共振谱, ^{13}C 核磁共振谱与产物结构相符。

^{13}C 核磁共振谱, ppm: 171.9, 169.5, 130.2, 129.5, 128.4, 127.7, 127.5, 117.3, 99.4, 31.5, 29.3, 27.5, 27.2, 26.2, 25.9, 25.7, 24.4, 22.5, 14.0.

4. (E) - 4 - (7 - 十六碳烯基) - 5 - 羟基 - 2 - (5H) - 呋喃酮, 油状物, 以甲酯中间体计算, 收率为 32.0%, 红外光谱, 质子核磁共振谱, ^{13}C 核磁共振谱与欲得产物结构相符。

元素分析: $\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}_3$;

计算值: C, 74.49; H, 10.63

实测值: C, 73.88; H, 9.87

^{13}C 核磁共振, ppm: 171.2, 170.6, 130.3, 129.7, 116.7, 99.5, 32.5, 31.9, 29.4, 29.2, 28.7, 27.6, 26.6, 22.6, 14.1.

5. (Z, Z, Z)-4-(4, 7, 10-十六碳三烯基)-5-羟基-2(5H)-呋喃酮, 油状物, 以甲酯中间体计算, 产率为51.2%, 红外光谱, 质子核磁共振谱, ^{13}C 核磁共振谱与产物结构相符。

元素分析: $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_3$;

计算值: C, 75.43; H, 7.50

实测值: C, 75.17; H, 7.31

^{13}C 核磁共振, ppm: 172.0, 170.2, 130.2, 128.9, 128.4, 127.6, 127.4, 116.9, 99.5, 31.5, 29.3, 27.2, 26.8, 26.6, 25.7, 22.5, 14.1.

6, 4-十六烷基-5-羟基-2(5H)-呋喃酮, 油状物以中间体醛计算, 收率为18.6%。红外光谱, 质子核磁共振谱, 与产物结构相符。

元素分析, $\text{C}_{20}\text{H}_{36}\text{O}_3$;

计算值: C, 74.03, H, 11.18,

实测值: C, 73.80, H, 10.87,

质子核磁共振, [丁烯酸内酯质子 (butenoid protons)]

ppm; 5.97, 5.81.

红外光谱(羰基吸收峰); 1759.2 cm^{-1}

7,5-羟基-4-(8-壬烯基)-2(5H)-呋喃酮,油状物以中间体醛计算,产率为52.5%。红外光谱,质子核磁共振谱, ^{13}C 核磁共振谱与产物结构相符。

元素分析, $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{O}_3$;

计算值; C, 69.61; H, 8.99,

实测值; C, 69.37; H, 8.76,

^{13}C 核磁共振, ppm: 172.1, 170.5, 138.7, 116.8, 114.1, 99.4, 33.6, 29.0, 28.9, 27.6, 26.6,

8, (Z)-4-(9-十六碳烯)-5-羟基-2(5H)-呋喃酮,油状物,以醇计算,产率为74.9%。红外光谱,质子核磁共振谱, ^{13}C 核磁共振谱与产物结构相符。

元素分析; $\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}_3$;

计算值; C, 74.49; H, 10.63;

实测值; C, 74.24; H, 10.62;

^{13}C 核磁共振, ppm: 172.1, 170.4, 129.8, 129.6, 116.9, 99.5, 31.8, 29.5, 29.3, 29.0, 27.7, 27.3, 26.8, 22.7, 14.1,

9, (Z, Z, Z, Z, Z, Z,)-4-(2,5,8,11,14,17-二十碳六烯基)-5-羟基-2(5H)-呋喃酮,油状物,以甲酯中间体计算,产率为46.4%。红外光谱,质子核磁共振谱, ^{13}C 核磁共振谱与产物结构相符。

^{13}C 核磁共振, ppm: 171.7, 168.5, 131.9,

131.7, 128.6, 128.4, 128.2, 127.8,
127.6, 127.0, 126.8, 122.4, 117.4,
99.1, 25.8, 25.6, 20.5, 14.2.

10. (Z)-4-(11-二十碳烯基)-5-羟基-2
(5H)-呋喃酮, 油状物, 以甲酯中间体计算, 产率为56.1%.
红外光谱, 质子核磁共振谱, ^{13}C 核磁共振谱与产物结构相符。

元素分析: $\text{C}_{24}\text{H}_{42}\text{O}_3$;

计算值: C, 76.14; H, 11.18; O, 12.68;

实测值: C, 76.43; H, 11.12; O, 12.92;

^{13}C 核磁共振, ppm: 171.9, 170.3, 129.7,
117.0, 99.3, 31.9, 29.8, 29.6, 29.3,
27.7, 27.3, 26.7, 22.7, 14.0.

11. (Z)-4-(7-十六碳烯基)-5-羟基-2(5H)
-呋喃酮, 油状物, 以中间体醛计算, 产率为47.2%. 质子核磁
共振谱, 质谱与产物结构相符。

质谱; 分子离子峰 (M^+) = 322.

实例12

5-羟基-4-[4-(2-萘氧基)丁基]-2(5H)-呋喃酮。

A. 6-(2-萘氧基)己腈的制备

将2.91克含量为60%的溶于油的氢化钠逐渐加到溶有10
克2-萘酚的185毫升二甲基甲酰胺溶液中。放氢停止后, 加入
7.52毫升6-溴己腈, 在60℃加热反应约18小时。加入催化
量的碘化钠, 在60℃搅拌反应约24小时。在80℃再加热24小

时后，将反应混合物冷却，用2毫升水处理。减压下浓缩该溶液。残余物溶于乙醚，用水洗数遍，用硫酸镁干燥，蒸馏得到粗油。在乙醚/戊烷中结晶，得到7.5克所期望得到的付标题中间体，m. p. 55 - 56 °C

B. 6 - (2 - 萘氧基) - 己醛的制备

将4克6 - (2 - 萘氧基) 己腈溶于170毫升四氢呋喃中。将该溶液冷至近0 °C，并在充氩条件下滴加57.6毫升浓度为1.2摩尔的二异丁基铝的己烷溶液，在0 °C搅拌反应6小时，在此期间加入33.5毫升浓度为2摩尔盐酸溶液。将该反应混合物，减压浓缩，残余物溶于1 : 1的乙醚/乙酸乙酯溶液中。分离有机层，水洗三次，硫酸镁干燥，过滤，蒸除溶剂得到3.3克黄色油状的付标题中间体。该产物不经进一步纯化便可用于下一步反应。

C. 5 - 羟基 - 4 - [4 - (2 - 萘氧基) 丁基] - 2 (5 H) - 呋喃酮的制备。

按照实例1 C所述方法，3.3克的6 - (2 - 萘氧基) 己醛可转化成1.84克的标题产物，m. p. 105 - 107 °C。红外光谱，质子核磁共振谱，¹³C核磁共振谱与产物的结构相符。

元素分析：C₁₈ H₁₈ O₄

计算值： C, 72.47; H, 6.08;

实测值： C, 72.47; H, 6.08。

¹³C核磁共振，ppm: 171.1, 169.1, 156.7, 134.5, 129.4, 129.0, 127.5, 126.6, 126.3, 123.6, 118.7, 117.6, 106.9, 99.0, 67.4, 28.9, 27.5, 23.6。

实例 1 3

5-羟基-4-(4, 8, 12-三甲基-3, 7, 11-三-十三碳三烯基)-2(5H)-咪喃酮。

A. 氯代法呢基的制备

用 381 毫克的氯化锂溶解在近 5 毫升二甲基甲酰胺中，在充氩条件下，处理不断搅拌着的 2.0 克法呢醇和 1.31 毫升 2, 4, 6-可力丁的混合物。将该溶液冷却至近 0 °C，此时形成混悬液，用 0.766 毫升的甲磺酰氯处理该混悬液。搅拌 3 小时后，将此混悬液倒入冰水中，用 1 : 1 的乙醚/戊烷抽提。合并的有机提取液用硝酸铜的浓溶液洗四次，直到兰色铜溶液的颜色不再加深为止，即说明可力丁清除干净了。用硫酸镁干燥有机层，过滤，蒸除溶剂，便得到 2.0 克无色油状的付标题要求的中间体，该中间体不经进一步纯化便可使用。

B. 法呢基酮缩醛的制备

将 1.29 毫升的二异丙基胺溶在 50 毫升四氢咪喃中，并通过外冰浴将此溶液冷至 0 °C。通入氩气，随后加入 5.7 毫升浓度为 1.6 摩尔的正-丁基锂的己烷溶液。搅拌 15 分钟后，加入含有 1.31 克丙酮醛缩二甲脲缩醛 (pyruvaldehyde dimethyl hydrazone dimethyl acetal) 的 5 毫升四氢咪喃溶液。搅拌 30 分钟后，将 5 毫升含有 2 克氯代法呢烷的四氢咪喃溶液加到反应混合物中。将该反应混合物在近 -10 °C 条件下放置三天。将 3 毫升 1 : 1 水/四氢咪喃液加入该溶液，减压下浓缩该反应液。残余物溶于乙醚中，水洗，用硫酸镁干燥，过滤，蒸除溶剂得到 2.6 克黄色粗油。将该油溶于 20 毫升四氢咪喃中，用 1.3 毫升 2 N 的盐酸

处理。另外再加175毫升乙醚，然后使之分层。用水，5%的碳酸氢钠，水，依次洗涤有机层，用硫酸镁干燥，过滤，减压蒸馏。所得到的油用中压液相硅胶层析纯化，洗脱剂为6:1的己烷/乙醚，这样得到1.4克付标题所要求的中间体。质子核磁共振谱证实了所要求的中间体的结构。

C. 3-二甲氧基甲基-7, 11, 15-三甲基-2, 6, 10, 14-十六碳四烯酸特丁酯的制备。

将含有0.47毫升二异丙基胺的25毫升四氢呋喃溶液冷却至0°C。在通氩条件下，加入2.0毫升浓度为1.67摩尔的正-丁基锂的己烷溶液。将该反应混合物搅拌15分钟，然后用外部干冰/丙酮浴将其冷却至-78°C。然后滴加5毫升含0.57克三甲基硅甲乙酸特丁酯的四氢呋喃溶液，并搅拌反应13分钟，加入5毫升含1.0克法呢酮缩醛的四氢呋喃溶液，搅拌反应，同时使温度回升至室温。再次将溶液冷却至-78°C，加入2毫升饱和氯化铵溶液。减压蒸馏该混合物，残余物用乙醚稀释，水洗两次，用硫酸镁干燥，过滤，蒸除溶剂，得到1.27克付标题所要求的中间体，质子核磁共振谱和分析高压液相色谱均证实，该产物为1:3的E/Z异构体混合物。

D. 5-甲氧基-4-(4, 8, 12-三甲基-3, 7, 11-十三碳三烯基)-2(5H)呋喃酮的制备

用7.4克酸性硅胶(由50克Woelm硅胶(100-200微米)与14克15%硫酸混合成浆在40°C过夜干燥制得)处理溶于30毫升二氯甲烷中的1.28克3-二甲氧基甲基-7, 11, 15-三甲基-2, 6, 10, 14-十六碳四烯酸特丁酯溶液。

充氩条件下搅拌反应近18小时。将该反应混合物过滤，用二氯甲烷将硅胶洗几次。将合并的二氯甲烷溶液蒸至干。用乙醚溶解所得油状物，水洗，硫酸镁干燥，过滤，蒸除溶剂。将所得到的油用中压液相硅胶层析，洗脱剂为4:1己烷/乙酸乙酯，经此处理得到580毫克无色油状物标题所要求的中间体。该化合物是所有8个3位及7位双键的异构体和异构的甲氧基取代物的混合物。

E. 5-羟基-4-(4,8,12-三甲基-3,7,11-十三碳三烯基)-2(5H)-呋喃酮的制备

将310毫克由实例13D所得的中间体溶解在200毫升四氢呋喃中。用9.9毫升0.1N的氢氧化钠处理该溶液，搅拌3天。将该反应物冷至0℃，加0.1N的盐酸调至pH 4。用乙醚提取该混合物，用硫酸镁干燥该有机提取液，过滤，蒸除溶剂，得到一油状物。进行中压液相硅胶层析纯化，洗脱剂为3:1己烷/乙酸乙酯；得到180毫克油状物标题所要求的产物。该产物为3位及7位侧链双键的异构体以及异构的羟基取代物的8个异构体混合物。红外光谱，质子核磁共振谱，¹³C核磁共振谱均与所期产物的结构相符。

元素分析，C₂₀H₃₀O₃

计算值：C, 75.43; H, 9.50;

实测值：C, 74.03; H, 10.08。

¹³C核磁共振，ppm: 171.8, 169.8, 137.1, 137.0, 134.9, 124.5, 124.2, 123.8, 123.7, 122.8, 122.0, 117.2, 99.4, 39.9, 39.7, 32.3, 32.0, 28.0, 27.8, 26.8, 26.6, 26.4, 25.6, 25.2, 25.0,

23.3, 17.6, 16.1, 16.0.

实例 14

(E, E)-4-(4,8-二甲基-3,7-壬二烯基)-5-羟基-2(5H)-咪喃酮。

按照实例 13 所述程序,由牻牛儿醇为原料制备了标题产物,总收率为 17.9%。红外,质子核磁共振,¹³C 核磁共振谱,与所要求的产物结构相符。

元素分析: C₁₅ H₂₂ O₃;

计算值: C, 71.97; H, 8.86; O, 19.17;

实测值: C, 71.76; H, 8.66; O, 19.37;

¹³C 核磁共振, ppm: 171.8, 169.8, 137.0, 131.2, 123.9, 122.0, 117.2, 99.4, 39.6, 27.8, 26.6, 25.6, 25.2, 17.6, 16.1.

实例 15

2-[3-(2,5-二氢-2-羟基-5-氧-3-咪喃基)-亚丙基]-6,10-二甲基-5,9-十一碳二烯醛。

A、3-二甲氧基甲基-7,11,-二甲基-2,6,10-十一碳三烯酸特丁基酯的制备

将 1.16 毫升二异丙胺溶于 50 毫升四氢咪喃中 0℃ 搅拌 30 分钟。充氩条件下加入 5.16 毫升浓度为 1.68 克分子的正-丁基锂的己烷溶液。搅拌 15 分钟后,将反应混合物冷却至 -78℃ 并搅拌 30 分钟。将三甲基硅甲乙酸特丁酯(1.56 克)加入该反应混合物。搅拌 1 小时后,加入 5 毫升含有 2.0 克牻牛儿基酮缩醛

中间体的四氢呋喃溶液，该酮缩醛是由实例 1 4 中所得到的以牻牛儿醇为原料按照实例 1 3 A 和 1 3 B 所述一般方法制得的。将该反应混合物搅拌 1 5 分钟，并温热至室温。然后再将该溶液再冷却至 - 7 8 °C，加入 2 毫升饱和氯化铵溶液使其水解。减压下蒸发该反应混合物，残余物溶于乙醚，水洗两次，再用饱和氯化钠溶液洗一次，用硫酸镁干燥，过滤，蒸除溶剂得到一油状物，用中压液相色谱法纯化得到 2 . 4 9 克副标题所要求的中间体，由质子核磁共振证实；该化合物为 1 : 4 的 E / Z 异构体混合物。

B . 3 - 二甲氧基甲基 - 7 , 1 1 - 二甲基 - 2 , 6 , 1 0 - 十一碳三烯 - 1 - 醇的制备。

在充氩条件下，0 °C，将 1 克由实例 1 5 A 所述中间体加入 2 5 毫升乙醚溶有 8 2 . 3 毫克氢化铝锂混悬液中。1 小时后加入 0 . 0 8 毫升水，随后加入 0 . 0 8 毫升 1 5 % 氢氧化钠溶液和 0 . 2 4 毫升水。过滤该混合物，滤液用乙醚提取数次。有机提取液合并，用水及饱和氯化钠溶液洗涤，无水硫酸镁干燥，过滤，减压浓缩滤液，得到 8 8 1 毫克无色油状付标题所要求的中间体。

C . 3 - 二甲氧基甲基 - 7 , 1 1 - 二甲基 - 2 , 6 , 1 0 - 十一碳三烯氯代物的制备。

按照实例 1 3 A 所述一般程序，将由实例 1 5 B 所得到的醇 (4 3 0 毫克) 转化成 4 5 8 毫克副标题中间体，该中间体立即用于下一步反应。

D . 1 , 1 - 二甲氧基 - 6 - 二甲氧基甲基 - 1 0 , 1 4 - 二甲基 - 5 , 9 , 1 3 - 十五碳三烯 - 2 - 酮二甲基脛的制备。

按照实例 1 3 B 所述一般程序，3 . 7 7 克的丙酮醛缩二甲脛二

甲缩醛 (pyruvaldehyde dimethyl hydrazone dimethyl acetal) 与 276 毫克由实例 15 C 所得氯代物反应得到 5.18 克的粗产物, 经中压液相色谱法纯化得到 1.19 克付标题所要求的中间体。

E. 1, 1-二甲氧基-6-二甲氧基甲基-10, 14-二甲基-5, 9, 13-十五碳三烯-2-酮的制备。

充氩条件下, 将 5 克 Woelm 硅(胶)(100-200 微米, 活化)与 30 毫升二氯甲烷制成浆状物。加入 5/10 毫升水。搅拌后, 加入 1.2 克由实例 15 D 所得到的脘, 搅拌反应 2 小时。另外再加 0.1 毫升水, 再搅拌 1 小时。加入 1 克硅胶, 搅拌反应一小时, 再加一克硅胶和 0.1 毫升水, 再搅拌反应 2 小时。过滤该反应液, 用丙酮洗涤硅胶。合并有机滤液并浓缩至干, 残余物溶于乙醚, 水洗, 饱和氯化钠溶液洗涤, 硫酸镁干燥, 浓缩至干, 得到 829 毫克油状付标题中间体, 该中间体不经纯化直接使用。

F. 3, 7-二甲氧基甲基-11, 15-二甲基-2, 6, 10, 14-十六碳四烯酸特丁酯的制备

按照实例 13 C 所述一般程序, 829 毫克由实例 15 E 所得的酮与 551 毫克三甲基硅乙酸叔丁酯反应, 得到 720 毫克付标题所要求的中间体。

G. 2-[3-(2, 5-二氢-2-羟基-5-氧-3-咪喃基)亚丙基]-6, 10-二甲基-5, 9-十一碳二烯醛的制备

按照实例 13 D 所述一般程序, 用 3.9 克浓度为 10% 的硫酸/硅胶溶于 16 毫升二氯甲烷去处理由实例 15 F 所得的 720 毫克酯 6 小时。经规范操作及层析纯化后, 可得 62.0 毫克的标题所期

产物及回收 166 毫克 2-甲氧基中间体。红外光谱, 质子核磁共振谱, ^{13}C 核磁共振谱, 质谱与所期产物结构相符。

元素分析: $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_4$

计算值: C, 72.26; H, 8.49;

实测值: C, 72.14; H, 8.62;

^{13}C 核磁共振, ppm: 194.5, 170.9, 167.6, 151.1, 144.3, 136.2, 131.1, 123.9, 122.8, 117.9, 99.0, 39.7, 26.7, 25.9, 25.6, 24.4, 17.6, 16.0。

实例 16-18

按照实例 12 所述程序, 由适宜的萘酚或苄基苯酚和相应的 ω -卤代烷基腈制得了下列化合物。

16、5-羟基-4-[5-(2-萘氧基)戊基]-2(5H)-呋喃酮, m. p. 89-94°C, 以 2-萘酚计算, 收率为 11.8%。红外光谱, 质子核磁共振, ^{13}C 核磁共振谱均与所期产物结构相符。

元素分析: $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{O}_4$;

计算值: C, 73.06; H, 6.45;

实测值: C, 73.21; H, 6.48。

17、5-羟基-4-[4-(2-苄基苯氧基)丁基]-2(5H)-呋喃酮, m. p. 72-75°C, 以 2-羟基二苯甲烷计算, 收率为 24.4%。红外光谱, 质子核磁共振谱, ^{13}C 核磁共振谱与所期产物结构相符。

元素分析: $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_4$

计算值: C, 74.54; H, 6.55;

实测值： C, 74.31; H, 6.35.

18、5-羟基-4-[5-(2-苄基苯氧基)戊基]-2(5H)-呋喃酮, m. p. 98-99°C, 以2-羟基二苯甲烷计算, 收率为33.2%。红外光谱, 质子核磁共振谱, ^{13}C 核磁共振谱, 质谱均与所期产物结构相符。

实例19

5-羟基-4-[4-(羟甲基)-8,12-二甲基-3,7,11-十三碳三烯基]-2(5H)-呋喃酮

将100毫克2-[3-(2,5-二氢-2-甲氧基-5-氧-3-喃喃基)亚丙基]-6,10-二甲基-5,9-十一碳二烯醛(实例15G)和10.9毫克硼氢化钠置于30毫升无水甲醇中, 充氩条件下, 室温搅拌4小时, 然后在35°C搅拌4小时。缓缓加入水, 使反应骤停, 用乙醚提取该混合物。用水洗涤有机层, 然后再用饱和氯化钠溶液洗涤, 硫酸镁干燥, 减压蒸除溶剂。在室温和氩气下将剩余物溶于3毫升四氢呋喃, 和0.34毫升0.1N的氢氧化钠中。将该溶液迴流2小时, 冷却, 缓缓加入0.1N的盐酸调至pH 4。用乙醚提取, 并用0.01N的盐酸和饱和氯化钠溶液洗涤该提取液, 用硫酸镁干燥, 减压浓缩。得到的油状物用中压硅胶液相色谱法纯化, 洗脱剂为; 己烷/乙酸乙酯1:2, 得到56.8毫克油状的题目产物。质子核磁共振, ^{13}C 核磁共振, 质谱数据与所期产物结构相符。

实例20

4-十七烷基-5-羟基-2(5H)-呋喃酮

将相应的5-甲氧基衍生物与浓盐酸共热, 制得了题目化合物, 收

率为 54%。质子核磁共振谱，质谱与所期产物结构相符。

质谱 (FD): 339 ($M^+ + 1$), 338 (M^+), 336 ($M^+ - 1$),
321 ($M^+ - OH$)

实例 21

(Z)-4-(11-十六碳烯基)-5-羟基-2(5H)-
呋喃酮

按照实例 1 所述程序，由相应的醛中间体以 69.4% 的收率制得了题目化合物，红外光谱，质子核磁共振谱，质谱与所期产物的结构相符。

元素分析: $C_{20}H_{34}O_3$;

计算值: C, 74.49; H, 10.63;

实测值: C, 74.28; H, 10.44。

分子式 I 化合物抑制磷脂酶 A_2 ，5-脂氧合酶及脂肪酸环氧化酶。因此这些化合物可用作抗炎剂，抗变应剂和抗气喘剂。下面的试验系统说明了本发明中的化合物的这些药效作用。

5-脂氧合酶 (5-LPO) 的测定

取数只体重为 250-300 克的豚鼠，腹腔注射 10 毫升 2% 的酪蛋白溶液。16-18 小时后，在二氧化碳箱内将豚鼠窒息致死。腹腔注入 70 毫升盐水并从腹腔内抽出 40-50 毫升液体。经离心后，用无 Ca^{++} Hank 平衡盐水 (HBSS) 将细胞粒洗涤两遍。

将细胞混悬于 5 毫升 pH 为 7.1，含有 1 毫摩尔 EDTA 和 0.1% 明胶的磷酸钠缓冲液中。一只豚鼠约可得 $20-30 \times 10^7$ 个细胞。细胞组份分析表明：95% 以上的细胞为多形核白细胞 (PMNL)。

用装有微探头的 350 型 Branson 声纳器，调至 3，通过 5 次

1/2 秒脉冲声频将该 PMNL 混悬物粉碎。将声频粉碎物 (sonicates) 合并, 并在 $30,000 \times g$ 离心 10 分钟。上清液在 -70°C 冷冻保存待用。

酶活量是通过 5-HETE 的量来测定: 首先用试验化合物, 1 毫摩尔的 CaCl_2 , 2 毫摩尔的 ATP, 及 1 毫摩尔 GSH 以及 0.2 毫升从 PMNL 声频粉碎物所得到的上清液在 37°C 培养 5 分钟。然后用 5 微摩尔的 ^{14}C 标记花生四烯酸处理, 再在 37°C 培养 10 分钟。然后加入 10 微升浓度为 1 摩尔的柠檬酸及 10 微升含有消炎痛和丁基羟茴香醚 (BHA) 各为 20 mg/ml 的乙醇溶液来停止酶反应。将该反应混合物在硅胶板 (Baker 薄层层析板 S1250-PA-19C) 上点样 (50 微升), 然后在乙酸乙酯/2, 2, 4-三甲基戊烷/冰乙酸/水 (90:50:20:100) 的溶剂系统中进行薄层层析。

将 X 光片放在薄层层析板上曝光 1-2 天后显影可以具体地观察到花生四烯酸及其代谢产物 (5-HETE 和 LTB_4) 的放射活性。把与 X 光片上的点相应的硅胶板上的点切下来可以定量测定所生成 5-HETE 的量, 并以 Isocap/300 液闪计数器 (Searle Analytic 公司) 测定其放射活性。

将每一浓度的试验化合物与对照实验 (不加试验化合物) 相比较来确定对 5-HETE 的产生的抑制百分率。浓度和抑制百分率在半对数纸上做点并用插值法确定抑制 50% 5-HETE 形成 (IC_{50}) 所需浓度。结果归纳于表 1。

表 I
抑制百分率
5-LPO
IC₅₀

化合物 实例号	PLA ₂	FCO	(微克/毫升)
1	77	77	0.4-1.0
2	82	75	0.15-0.6
3	41	67	0.15-0.4
4	0	52	~1
5	77	75	0.5-1.5
7	0	23	NT*
8	36	21	NT
9	0	46	0.8-6
10	26	25	NT
11	51	61	0.4
12	72	16	5-12
13	50	47	8
14	72	<5	6
15	88	32	0.08
16	NT	27	3
17	NT	12	3
18	44	20	10
19	75	14	1.5
21	0	NT	30

* 未试验

脂肪酸环氧化酶(FCO)测定

用185个人体血小板袋(每个袋含有用差速离心程序制备的一品脱血液中的血小板)制得微粒体。同时用近60个袋制备了血小板。将含有大量血小板的血清(500克)在 $10000\times g$ 离心20分钟,将血小板颗粒混悬于100毫升0.1摩尔pH为8.0的磷酸钾缓冲液放在聚四氟乙烯匀浆器的瓣形杯里在冰水浴中用Bronson声纳器(350型)在声频粉碎5分钟。将破裂的血小板在 $10000\times g$ 离心15分钟。上清液在 $100,000\times g$ 再离心90分钟,用25毫升浓度为20%的含有1.0% Triton x-100去污剂的蔗糖均化微粒化的血小板。在 4°C ,30分钟后,将溶解了的微粒体在 $100,000\times g$ 离心60分钟。取出黄色上清液并于 -70°C 保存。

将溶解的脂肪酸环氧化酶施于一个体积为440毫升的聚焦电泳柱(electrofocusing column)(LKB-3012),该柱含有1%的Phisolytes(Brinkman Instrumenti West-burgh, NY),pHZ-11,并在柱顶装有负极。在适宜的时间,酶在柱上分层,使得其蔗糖浓度与柱梯度浓度相等。用手提蔗糖折射计定时地测定梯度浓度就可以完成这一测定。聚焦电泳经16小时完成,所用的初始电压为400伏,终止电压为900-1000伏。分段收集(20毫升)并测定 PGE_2 形成。收集活性峰部分,并用超滤(XM100A)浓缩至3-5毫升体积。

将由聚焦电泳而得的活性组份通过G-200 Sephadex柱(2cm \times 46cm),用10毫摩尔,pH为7的磷酸钾缓冲液洗脱,每5毫升收集。测定后,合并活性组份,用超滤(XM100A)浓缩至1毫升体积,并于 -70°C 冷冻保存。

酶活是通过检测 PGE_2 的形成来确定的，方法如下：将酶和总体积为 0.2 毫升的 10 毫摩尔/升的磷酸咪唑缓冲液， $\text{pH} = 8.0$ ，2 毫摩尔/升的肾上腺素，2 毫摩尔/升的正铁血红蛋白，及试验化合物（30 微克/毫升）的混合液在 37°C 预培养 1 分钟，预培养后，加入浓度为 5 毫摩尔/升的 ^{14}C -花生四烯酸，并将该混合物在 37°C 再培养 0.5 分钟。通过加入 20 微升的消炎痛乙醇溶液（2 毫克/毫升）来停止酶反应。

将该反应混合物在硅胶（LQ6D）板上点样（50 微升），然后进行薄层层析。溶剂系统为氯仿-甲醇-冰醋酸（90:5:5， v/v/v ），相对的代谢物为； $\text{PGF}_{2\alpha} = 0.235$ ，和 $\text{PGE}_2 = 0.47$ 。以 1 厘米分段刮下板上的硅胶，并混悬于 5 毫升闪烁液中，〔即：把 5.88 克 2,5-二苯基噁唑和 118 毫克 1,4-双（5-苯基噁唑-2-）苯溶解于 650 毫升甲苯和 350 毫升 Triton x-100 中制得〕，并用 Isocap/300 液闪计数器（Searle Analytic, Inc, Southfield, MI）测定其放射性。将另外 50 微升反应混合物加入 10 毫升 Triton x-100 基底闪烁液中，测定其放射性，这样就可以确定由薄层层析板回收的放射性量。与不加试验化合物的对照试验百分率相比较，确定相应于每一试验化合物的 PGE_2 生成量。表 1 的数据以浓度为 30 微克/毫升的试验化合物对形成 PGE_2 的抑制百分率。

磷脂酶 A_2 (PLA_2) 的测定

检测缓冲液含有 10 毫摩尔 Tris-HCl 缓冲液， $\text{pH} = 8.0$ ，100 毫摩尔 NaCl，1 毫摩尔的 CaCl_2 及 1 毫克/毫升的牛血清蛋白。在充氮条件下，在烧瓶中，将卵磷脂，L- α -二棕榈酰基-

(2-棕榈酰基-1- ^{14}C) (该化合物由New England Nuclear 提供) 的甲苯-乙醇(1:1 v/v) 溶液蒸干, 加入检测缓冲液使底物浓度为 9.0×10^{-5} 摩尔的溶液(放射性比度=27.7 毫居里/毫摩尔)。在Bransonic 220声纳浴中, 将该混合物声裂5分钟用检测缓冲液稀释胰磷脂酶 A_2 (放射性比度=600单位/毫克) 使其酶浓度为0.1 毫克/毫升。将30 微克/毫升的试验化合物加到0.1 毫升的这一酶溶液中, 并将该混合物在 37°C 培养15分钟。将0.1 毫升含有底物的这一混合物加到酶溶液中以诱发酶反应, 并将反应混合物在 37°C 进一步培养30分钟。加入20 微升浓度为1 摩尔的柠檬酸使反应停止。

将50 微升该混合物加到10 毫升闪烁液中〔即: 将5.88 克2, 5-二苯基噁唑和118 毫克1, 4-双〔(5-苯基噁唑-2-基)〕苯溶于650 毫升甲苯和350 毫升Triton X-100 中制得), 并在Isocap/300 液闪计数器中测定其放射性 (Searle Analytic Inc., Southfield, Michigan)。另取50 微升混合液直接点在硅胶板(LK6D, Whatman, Clifton, N.J.) 上, 然后在一溶剂系统中进行薄层层析; 该溶剂系统为乙酸乙酯: 乙酸: 2, 2, 4 三甲基戊烷: 水(90:20:50:100, v/v/v)。以1 厘米分段将板上的硅胶刮下, 并混悬于5 毫升Triton-X100 基底闪烁液中, 测定其放射性。卵磷脂停留在原点, 而脂肪酸移至溶剂前沿下2-3 厘米处。与不加试验化合物的空白实验中所形成的脂肪酸相比较从而计算出实验化合物中 ^{14}C 游离脂肪酸的形成百分率。表1 所列的数据为试验化合物浓度为30 微克/毫升时所形成 ^{14}C 游离脂肪酸的抑制百分率。

在大鼠体内辅药诱发关节炎试验

本发明试验了化合物改变大鼠后爪肿胀和骨损伤的能力，这些病灶由辅药诱发水肿形成。为了定量地说明对由辅药诱发关节炎而引起的后爪水肿的抑制作用，将炎症规定为两种：（1）原发性和继发性充血型后爪，（2）继发性非充血型后爪，这里症状一般从充血型爪中引入炎症约11天开始形成。后一类型炎症的减轻是免疫抑制活性的一种表现。参见 Chang, Arth. Rheum., 第20卷, 1135-1141 (1977)。

辅药关节炎的诱发方法是；取雄性 Lewis-Wistar 大鼠（200-210克）向右后爪内单足底下注射0.1毫升0.5%的经热杀死的冻干结核分枝杆菌 (Calbiochem-Perri gen-c) 的矿物油混悬液 (Winter 等报道的改进方法, Arth. Rheum., 第9卷, 394-397(1966))。10只大鼠为一组 (“TB 对照”) 只接受这一处理。另取5只大鼠为一组不受任何处理 (正常对照)。将每一个待试化合物混悬于1%的羧甲基纤维素中，在大鼠身上 (以5只为一组分组) 腹腔注射给药；具体方法是在注入辅药后第二天开始，每天剂量是50毫克/公斤，连续给药28天 (共29次)。用 Statham 压力转换器和数字伏特计 (digital voltmeter) 通过汞置换法测定爪体积。在第16, 18, 21, 23, 25, 28, 30天测量注射的和未注射的后爪体积。在第30天将动物击毙后照 X 光片。从第16天开始至第30天对未注射爪的爪体积测量结果对 TB 对照组，正常对照组，和给药组进行计算机绘图，并确定曲线下面积 [(TB 对照组减去正常对照组) 和 (给药组减去正常对照组)]。结果归纳于表 II。

表 II

对未注射爪体积炎症的抑制作用

从第16至第30天

化合物实例号	剂 量 毫克/公斤·I.P.×29	抑制百分率*
1	50	56.0%
7	50	37.6%
10	50	100.0%
11	50	69.0%
12	50	40.6%
17	50	28.4%

* 根据下列公式对第16, 18, 21, 23, 25, 28, 30天的平均未注射爪体积绘图而得的曲线下面积(AUC)之差即为抑制百分率;

$$\text{抑制百分率} = \left[1 - \frac{(\text{用药组的AUC}) - (\text{正常对照AUC})}{(\text{TB对照AUC}) - (\text{正常对照AUC})} \right] \times 100$$

肉眼观察未注射爪的X光片可以看到; 与TB对照相比较, 用药动物的骨损伤有十分明显的抑制作用。与注射爪相比也可见到对骨损伤的实质性抑制作用。

本发明化合物在鹿角菜(carrageenan)鼠爪水肿试验, 胶原II型关节炎试验, 及延迟性过敏试验中也显示出了活性。

本发明化合物可以通过各种途径给药, 包括: 口服, 直肠, 经皮, 皮下, 静脉, 肌注或鼻内途径。这些化合物通常是以药物组方形式使

用的。这些组方可以以本专业所熟知的方法制备，其中至少一个有效量的本发明化合物。因此，本发明涉及以活性成份，即分子式I化合物与药物上可以接受的载体共同组成的药物组方。

在本发明组方的制备中，活性组份通常与载体混合，或用载体稀释，或封闭在载体中，后者的形式可以是：胶囊，小药囊，纸片或其他容器。当载体用作稀释剂时，它可以是固体，半固体或液体材料，该载体起着赋形剂或活性组份媒介的作用。因此，组方可以是下述剂形：片剂，小丸剂，粉剂，锭剂，小药囊，扁囊剂，配剂，混悬剂，乳剂，溶液，糖浆剂，气雾剂（以固体或在液体介质中），软膏（例如含有高到10%（以重量）活性化合物），软和硬明胶胶囊，栓剂，无菌注射液或无菌包装的粉剂。

适宜做载体，赋形剂，稀释剂的一些实例有：乳糖，芍芍糖，蔗糖，山梨醇，甘露醇，淀粉，阿拉伯树胶，磷酸钙，藻酸盐，黄蓍胶，明胶，硅酸钙，微晶纤维素，聚乙烯吡咯烷酮，纤维素，水，糖浆，甲基纤维素，羧基苯甲酸甲酯和丙酯，滑石粉，硬脂酸镁，矿物油。组方另外还包括：润滑剂，湿润剂，乳化剂，混悬剂，防腐剂，甜化剂或调味剂。本发明中的组方可以用本专业熟知的方法格式化的配制，以便使患者用药后活性组份迅速，持续或延缓释放。

组方通常含有约1%到95%（重量）的本发明化合物作为活性成份，并最好以单位剂形格式化配制，每一剂形含有约0.5至约500毫克（更经常为约1至300毫克）活性成份。所谓“单位剂形”是指对人和其他哺乳动物适用的单位剂量的物理分立单位，每一单位含有预先定量的活性物质联合适当的药物载体，这些活性物质的量经计算可以产生预期的疗效。

活性化合物的有效剂量范围很广，每天的典型的剂量，正常情况下在约 0.020 至约 300 毫克/公斤体重范围之内。用于成人时，最好为 0.020 至 50 毫克/公斤，一次或分次给药。然而，应当明白实际给药量应由医生根据不同情况而定，如：治疗条件所选的给药化合物，选的给药途径，年龄，体重，各个患者的反应，患者症状的严重性，因此，上述剂量范围决不意味着对本发明的范围有任何限制。

下列组方实例可以使用本发明中任何药效化合物作为活性成份。这些实例仅仅是说明，而决不意味着对本发明的范围有任何限制。

实例 2 2

用下列组分制备硬质明胶胶囊：

	含量 (毫克/囊)
5-羟基-4-(12-(1-萘基氧基) 十二烷基)-2(5H)-咪喃酮	250
干淀粉	200
硬脂酸镁	10

上述组份混合后加满硬质明胶胶囊，每个胶囊 460 毫克。

实例 2 3

以下列组份制备片剂：

	含量 (毫克/片)
(Z, Z)-4-(7, 10-十六 碳二烯基)-5-羟基-2(5H)-咪喃酮	250

纤维素, (微晶)	400
二氧化硅〔雾状 (fumed)〕	10
硬脂酸	5

将上述成份混合, 压片, 每片重 665 毫克。

实例 2 4

含有下列组份的气雾剂溶液的制备:

	含量%
5-羟基-4-(4, 8, 12-三甲基-3, 7, 11-十三碳三烯基)-2(5H)- 呋喃酮	0.25
乙醇	29.75
气流剂 22 (氯二氟甲烷)	70.00

将活性化合物和乙醇混合再加入到部分气流剂 22 中, 冷却至 -30°C, 移至添充器内。然后将所需量的上述混合物加到一不锈钢容器内, 并用剩余气流剂稀释。最后在该容器上装上喷雾阀。

实例 2 5

按下列方法制备每片含 60 毫克活性成份的片剂:

4-(18-二十碳烯基)-5-羟基- 2(5H)-呋喃酮	60 毫克
淀粉	45 毫克
微晶纤维素	35 毫克
聚乙烯吡咯烷酮 (10% 水溶液)	4 毫克
羧甲基淀粉钠	45 毫克

硬脂酸镁	0.5 毫克
滑石粉	1.0 毫克
	- -
总量	1 5 0 毫克

将活性组份，淀粉，纤维素过 No. 45 目 u.s 筛，并充分混合。此粉与聚乙烯吡咯烷酮溶液混合，然后过 No. 14 目 u.s 筛。由此而成的颗粒在 50 - 60 °C 干燥，过 No. 18 目 u.s 筛。预先将羧甲基淀粉钠，硬脂酸镁，滑石粉过 No. 60 目 u.s 筛，然后加到上述颗粒中，混合后在压片机上压片，每片含 150 毫克。

实例 2 6

按下列方法制备每个含 80 毫克治疗成份的胶囊：

(Z , Z) - 4 - (7 , 1 0 - 十六碳二 烯基) - 5 - 羟基 - 2 (5 H) - 呋喃酮	8 0 毫克
淀粉	5 9 毫克
微晶纤维素	5 9 毫克
硬脂酸镁	2 毫克
	- -
总量	2 0 0 毫克

将活性组份，纤维素，淀粉，硬脂酸镁混合，过 No. 45 目 u.s 筛，装满硬质明胶胶囊中，每囊 200 毫克量。

实例 2 7

按下列方法制备每个含 225 毫克活性成份的栓剂：

4 - (7 . 1 4 - 十 六 碳 二 烯 基) - 5 - 羟基 - 2 (5 H) - 呋喃酮	2 2 5 毫克
---	----------

饱和脂肪酸甘油酯加至 2,000毫克

将活性组份过 No. 60 目 u.s 筛，混悬于预先以所需最低热量融化好的饱和脂肪酸甘油酯中。然后将该混合物倒入公称为 2 克容积的栓模中，冷却即得。

实例 28

每 5 毫升含有 50 毫克治疗成份的混悬液按下述方法制备：

5-羟基-4-壬基-2(5H)-呋喃酮	50 毫克
羧甲基纤维素钠	50 毫克
糖浆	1.25 毫升
苯甲酸溶液	0.1 毫升
增香剂	适量
色素	适量
纯水加至	5 毫升

将治疗组份过 No. 45 目 u.s 筛，并与羧甲基纤维素钠和糖浆混合成均匀糊状物。用一些水稀释苯甲酸溶液，香料，色素，加入上述糊浆搅拌，然后加水至所需体积。

实例 29

混合下列组份制成每克含 100 毫克活性成份的外用软膏：

	毫克/克软膏
5-羟基-4-(4,8,12-三 甲基-3,7,11-十三碳三烯基) -2(5H)-呋喃酮	100
聚乙二醇 300 (N.F)	600
聚乙二醇 4,000 (u.s.P)	300

CPCH866782

勘 误 表

文件名称	页	行	补 正 前	补 正 后
说 明 书	11	4	主体	立体
		7	消旋体	外消旋体
	19	11-12	三甲基硅甲乙酸…	三甲基硅乙酸…
		倒 2	同上	同上
	29	13	electrofocusing	electrofocusing
		14	Instrumenti	Instruments
	30	15	PHZ-11	PH2-11
		10	PGF _{2d}	PGF _{2α}
	34	12	糖	葡萄糖