



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118434282 A

(43) 申请公布日 2024. 08. 02

(21) 申请号 202280085361.3

(22) 申请日 2022.11.24

(30) 优先权数据

21383077.1 2021.11.30 EP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.06.21

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2022/083096 2022.11.24

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/099327 EN 2023.06.08

(71) 申请人 格莱克科学有限公司

地址 西班牙德里奥

(72) 发明人 P·W·萨顿 L·博什赫鲁

(74) 专利代理机构 南京苏创专利代理事务所

(普通合伙) 32273

专利代理师 王华

(51) Int.Cl.

A01N 31/06 (2006.01)

A01P 17/00 (2006.01)

C07H 15/203 (2006.01)

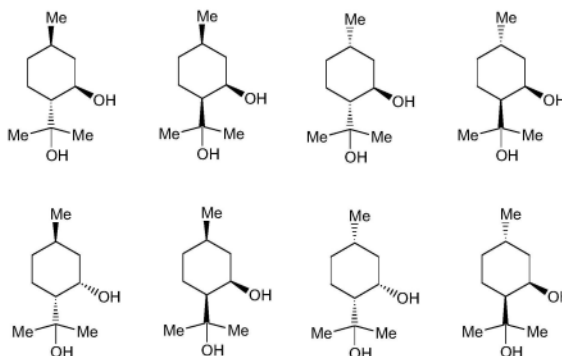
权利要求书2页 说明书37页 附图3页

(54) 发明名称

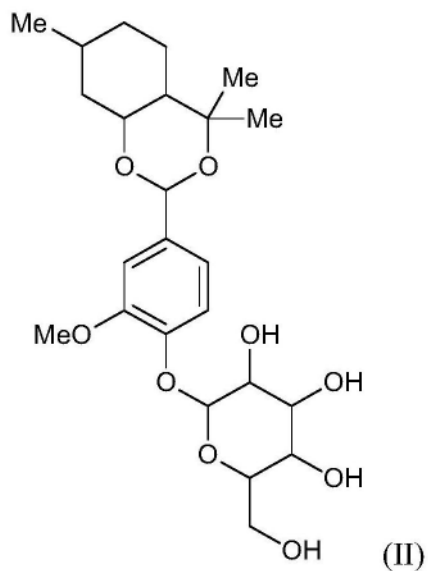
缓释制剂

(57) 摘要

本发明涉及一种缓释制剂。本发明还涉及所述驱虫制剂的用途、其使用方法以及包含所述制剂的组合物。本发明还涉及式 (II) 的PMD葡萄糖香草醛结合物、制备式 (II) 的结合物的方法,并且进一步涉及式 (II) 的结合物用于PMD受控释放的用途。本发明还涉及从含PMD的提取物中分离外消旋顺式/反式-PMD的方法。



1. 一种缓释制剂,其特征在于,其包含:
 - a) 对-薄荷烷-3,8-二醇(PMD),
 - b) 糖苷,
 - c) 有机酸,及
 - d) 二价金属卤盐。
2. 根据权利要求1所述的缓释制剂,其特征在于,PMD选自PMD的八种立体异构体、外消旋顺式-PMD、外消旋反式-PMD及它们的混合物中的任何一种。
3. 根据权利要求1或2所述的缓释制剂,其特征在于,糖苷是通过糖苷键与非碳水化合物连接的还原糖,其中糖苷键是阿尔法(α)键或贝塔(β)键,其中糖是单糖、聚合度在1.1和1.9之间的糖、二糖或三糖。
4. 根据权利要求3所述的缓释制剂,其特征在于,还原糖选自葡萄糖、半乳糖、阿洛糖、阿卓糖、甘露糖、古洛糖、艾杜糖、塔罗糖、岩藻糖、木糖和2-脱氧葡萄糖、N-乙酰葡萄糖胺及它们的混合物;优选选自D-葡萄糖、D-半乳糖、D-阿洛糖、D-阿卓糖、D-甘露糖、D-古洛糖、D-艾杜糖、D-塔罗糖及其混合物;更优选D-葡萄糖或D-半乳糖;更优选地,糖是D-葡萄糖。
5. 根据权利要求1所述的缓释制剂,其特征在于,糖苷选自甲基- α -葡萄糖苷、己基葡萄糖苷、苯基- β -葡萄糖苷、香叶基- β -葡萄糖苷、甲基- α -D-吡喃甘露糖苷、甲基- α -D-吡喃半乳糖苷和PMD葡萄糖香草醛结合物;优选选自甲基- α -葡萄糖苷和PMD葡萄糖香草醛结合物。
6. 根据权利要求1至5中任一项所述的缓释制剂,其特征在于,所述有机酸选自磺酸、一元羧酸、二元羧酸、三元羧酸、羟基羧酸和氨基酸。
7. 根据权利要求6所述的缓释制剂,其特征在于,有机酸选自柠檬酸、琥珀酸及其无水形式或水合物。
8. 根据权利要求1至7中任一项所述的缓释制剂,其特征在于,二价金属卤盐选自氯化钙、氯化镁、溴化镁、碘化锌、氯化锌、溴化锌和氯化钴;优选选自氯化钙、氯化镁和氯化锌。
9. 根据权利要求1至8中任一项所述的缓释制剂,其特征在于,其包含每摩尔PMD:
 - a) 0.01至2、优选0.02至1.5、更优选0.03至1.2、更优选0.05至1、还更优选0.07至0.75摩尔的糖苷。
 - b) 0.05至3、优选0.06至2.5、更优选0.08至2、更优选0.09至1.7、更优选0.1至1.5、还更优选0.12至1.24摩尔的有机酸,及
 - c) 0.01至5、优选0.02至2、更优选0.03至1、还更优选0.06至0.58摩尔的二价金属卤盐。
10. 根据权利要求1至9中任一项所述的缓释制剂作为驱虫剂的用途。
11. 根据权利要求1至9中任一项所述的缓释制剂用作药物;优选用作防腐、抗菌、杀真菌、杀菌、抗病毒药物。
12. 使用根据权利要求1至9中任一项所述的缓释制剂的方法,其特征在于,所述方法包括将所述缓释制剂施用到表面上。
13. 一种组合物,其包含权利要求1至9中任一项所述的缓释制剂和化妆品可接受的组分。
14. 式(II)的PMD葡萄糖香草醛结合物



用于从根据权利要求1至9中任一项所述的制剂受控释放PMD的用途。

15. 一种从含PMD的提取物中分离外消旋顺式/反式-PMD的方法, 其特征在于, 所述方法包括:

- 1) 将选自氯化钙、氯化镁及其混合物的盐加入到含PMD的提取物的溶液中,
- 2) 分离步骤1) 中得到的固体, 以及
- 3) 从步骤2) 中分离的固体中分离外消旋顺式/反式-PMD。

缓释制剂

技术领域

[0001] 本发明涉及缓释制剂,特别涉及具有长的持续效果的驱虫制剂。

背景技术

[0002] 陆地和空中传播的节肢动物是向人类传播疾病的最常见媒介。由于全球气温升高,受这些疾病影响的地区数量增加,因为这些地区适合各种媒介栖息。

[0003] 对付这些节肢动物、更特别是昆虫叮咬的一种方法是使用驱虫剂。目前在大多数市售的外用驱虫剂中使用的活性成分是空间驱虫剂。市场上有几种批准的合成外用驱虫剂,包括DEET(N,N-二乙基甲苯酰胺)、派卡瑞丁和IR3535,但它们都不是理想的。例如,DEET气味刺鼻、呈蜡状感、会溶解塑料和合成织物。此外,公众认为这些合成分子对健康有害,导致天然替代品市场迅速增长。

[0004] 据悉广泛的天然分子可提供驱虫效果,但大多数挥发性太强,只能在很短的时间内提供保护。事实上,对多种昆虫有活性的对-薄荷烷-3,8-二醇(PMD)是被世界卫生组织认可的唯一天然驱虫剂,其足够高的沸点允许在数小时内缓慢蒸发。

[0005] 商业驱虫产品每次施用后的有效持续时间通常是4至6小时。然而,由于给定环境中关注的昆虫物种被其他入侵物种取代,现有的市售驱虫剂产品可能不再能够提供适当的保护。以一个非限制性的示例为例,市售外用驱虫剂设计为适合短时间作用对付在早晨或晚上叮咬的蚊子。伊蚊(通常称为亚洲虎蚊)白天摄食且传播寨卡病毒、登革热病毒和基孔肯雅病毒,随着这种蚊子数量的空前增加,需要多次施用目前可利用的驱虫剂和制剂。由于忙碌的生活方式,人们很容易忘记定期施用驱虫剂,直到被咬后容易感染疾病。为了解决这个问题,可以施用活性成分浓度提高的传统驱虫剂产品,但接触量增加会导致多种问题,例如毒性和刺激性。

[0006] 外用和空间驱虫剂是挥发性分子,一旦挥发在皮肤上或周围区域中提供一个保护区,防止蚊子通过尚未完全了解的复杂机制降落和/或叮咬。每种活性成分都有最小有效蒸发率(MEER)。蒸发率高于此阈值会导致非生产性损耗,缩短驱虫剂的有效作用时间,在此之后,浓度不够高,无法满足MEER。

[0007] 开发允许其活性成分受控释放的驱虫剂产品应该通过延长持续作用时间同时降低所需的活性成分的浓度而克服现有产品的诸多问题。由于所需的活性成分数量减少,这将带来额外的好处,例如减小气味、降低刺激性和避免通常与此类产品相关的油腻感。

[0008] 此外,这些方法由于可能允许使用目前因其高挥发性而无法使用的其他天然驱虫剂而是有吸引力的,这非常重要,由于范围更广泛的可行的驱虫剂分子可以减少抗性事件,。

[0009] 本领域已经公开了两种主要的驱虫剂缓释技术方案:包封法和前体法。

[0010] 在包封法中,驱虫剂通过例如包封在微胶囊(例如,EP-A-0348550)、脂质球(EP-A-0502119)、聚合物(US4774082)或共聚物(US6180127)基质中而实现驱虫剂的缓慢释放,当驱虫剂产品施用到整个表面或施用到身体的某个区域(如在驱虫手镯的情况下)之后,活性

成分随时间从基质缓慢释放到感兴趣的表面。

[0011] 在前体法中,通过制备前药或与适当的载体分子结合来改变活性成分的物理化学特性,提供了一种控制释放的替代方法,其中活性成分通过环境机制释放,其可以延长维持MEER的时间,同时避免需要使用大量过量的活性成分。

[0012] 前体如前药和结合物的使用在制药领域是众所周知的。关于驱虫剂活性,已经公开了挥发性驱虫剂分子与降低水溶性的化合物(例如脂肪酸(US-A-2004/014811))的结合、水溶性酯和醚前药的制备(EP-A-2439188)、作为驱虫剂前体的五元和六元环缩醛(WO-A-99/00377)、与一种或多种糖基结合的水溶性结合物(JP-A-2000-096078、JP-A-H01-213291)、与多元羧酸或多元醇结合提高水溶性的结合物(WO-A-2016/071521)、与透明质酸结合的结合物(WO-A-2016/071521)、与结晶载体结合的结合物(WO-A-2010/144755)、与交联的聚合物凝胶组合物结合的结合物(US6846491)、与香草醛结合的结合物(WO-A-2007082306, WO-A-2017/081445)、与酮或醛(GB-A-2581375)及3'-酮糖苷(WO-A-2021/160670)结合的结合物。

[0013] 欧洲专利申请EP-A-2862442公开了一种包含至少一种单萜类化合物、至少一种酸和至少一种乳化剂的组合物。

[0014] 这些现有技术方法在驱虫剂的有效延长释放施用方面存在缺点。

[0015] 尽管现有技术中有各种可用的方案,但活性材料的缓释仍然需要采用活性物质具有足够的释放速率发挥作用,特别是驱虫作用的新制剂。

[0016] 顺式-PMD和/或反式-PMD的选择性分离对本领域技术人员来说是个挑战,并且在本领域中已经公开了几种方案。

[0017] 例如,在CA-A-108341740中公开了一种制备PMD的方法,其特征在于,使用香茅醛为原料,氧化石墨烯为催化剂,水为溶剂,并且通过将其溶解在50-80°C温度的有机溶剂(有机溶剂为乙酸乙酯、正己烷或其混合物)中来纯化所述PMD的顺式和反式构型,然后将温度降低至室温,获得顺式-PMD的晶体,并且从母液中获得反式-PMD。

[0018] 在US5959161中公开了一种生产对-薄荷烷-3,8-二醇的方法,包括采用浓度0.02至1.0重量%的硫酸水溶液处理香茅醛的步骤,然后使用醚和正己烷的混合溶剂通过柱色谱法分离顺式-PMD和反式-PMD。

[0019] 因此,必须提供分离顺式-PMD和/或反式-PMD的有效方法。

发明内容

[0020] 本发明的目的是一种缓释制剂。

[0021] 本发明的另一个方面是所述制剂的用途。

[0022] 本发明的另一个方面是缓释制剂用作药物。

[0023] 本发明的另一个方面是使用所述制剂的方法。

[0024] 本发明的另一个方面是包含所述制剂的组合物。

[0025] 本发明的另一个方面是式(II)的PMD葡萄糖香草醛缩醛化合物用于PMD的受控释放的用途。

[0026] 本发明的另一个方面是分离外消旋顺式-/反式-PMD的方法。

附图说明

[0027] 图1示出了PMD的八种立体异构体。

[0028] 图2.1和2.2示出了其他驱虫化合物的化学结构。

具体实施方式

[0029] 本发明的目的是一种缓释制剂,其包含:

[0030] a) 对-薄荷烷-3,8-二醇 (PMD),

[0031] b) 糖苷,

[0032] c) 有机酸,及

[0033] d) 二价金属卤盐

[0034] 发明人已经开发了一种包含PMD、糖苷、有机酸和二价金属卤盐的制剂,其可以在表面(例如人体皮肤)上释放PMD。令人惊讶的是,由于释放曲线更线性,本发明的制剂能够长时间在人体皮肤上释放有效浓度的PMD(一种挥发性醇)以例如作为驱虫剂,通常持续至少24小时,即大于游离驱虫醇递送所观察到的时间。

[0035] 发明人已经开发了一种包含糖苷的制剂,当与游离PMD、有机酸和二价金属卤盐组合时,与游离的PMD相比,其提供了延长的释放。

[0036] 如示例所示,不同的糖苷适合于PMD的缓释,例如甲基- α -葡萄糖苷、己基葡萄糖苷、苯基- β -葡萄糖苷、香叶基- β -葡萄糖苷、甲基- α -D-吡喃甘露糖苷、甲基- α -D-吡喃半乳糖苷和PMD葡萄糖香草醛缩醛。

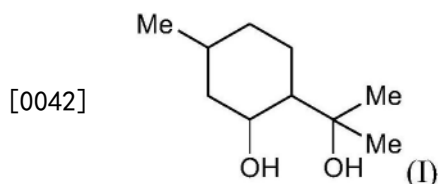
[0037] 在本说明书以及权利要求书中,单数形式“一”和“该”包括复数形式,除非上下文另外明确指出。由介词术语“在……和……之间”或由术语“从……至……”定义的范围也包括其两端。术语“大约”是指 $\pm 10\%$ 、优选 $\pm 5\%$ 的偏差。除非另外说明,否则百分数以重量百分数(重量%)表示。

[0038] 根据IUPAC,术语“部分”用于表示分子的一部分。

[0039] 本文使用的术语“驱虫剂”是指驱除任何昆虫的任何物质或物质混合物。本文定义的驱虫剂优选用于驱除会飞的昆虫(例如蚊子)。然而,预计所述杀虫剂制剂也可以有效对付螨虫、蜱虫(莱姆病)和许多其他昆虫及其卵和幼虫。

[0040] PMD

[0041] 醇2-(2-羟基丙-2-基)-5-甲基环己-1-醇也称为对-薄荷烷-3,8-二醇(PMD),其对应以下结构(I):



[0043] 在本发明中,术语“PMD”是指对-薄荷烷-3,8-二醇,并代表衍生自式(I)化合物的任何立体异构体、外消旋混合物或非对映体混合物。

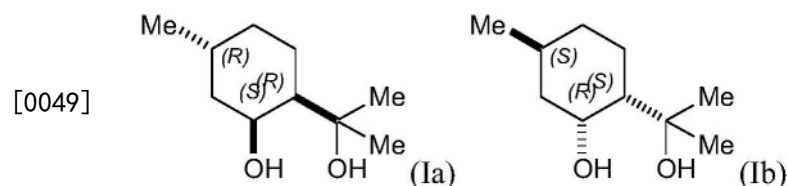
[0044] 用于本发明的PMD可以来源于天然来源、合成来源或它们的混合物。用于本发明的PMD可以是基本上纯的化合物形式,即NMR或GC纯度高于95%、97%或99%,粗提取物或化学改性的粗提取物,例如在酸性条件下处理天然来源的粗提取物。

[0045] PMD的纯度可以使用文献、例如Barasa et al., Repellent Activities of Stereoisomers of p-Menthane-3,8-diols Against Anopheles gambiae (Diptera: Culicidae), J. Med. Entomol., 2002, 39 (5), 736-741中公开的方法通过GC测定。

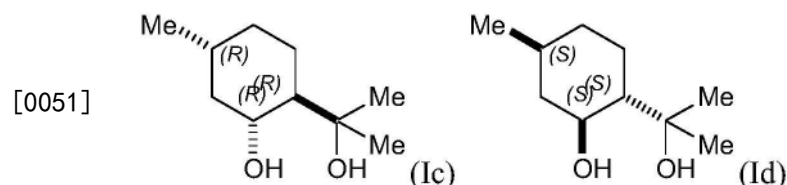
[0046] PMD的纯度可以使用文献例如Borrego et al., Effect of the Stereoselectivity of para-Menthane-3,8-diol Isomers on Repulsion toward Aedes albopictus, J. Agric. Food Chem., 2021, 69 (37), 11095-11109中公开的方法通过NMR测定。

[0047] 已知PMD以两种几何异构体形式存在, 即顺式和反式异构体。PMD共有8种异构体, 如图1所示。本发明包括任何单一的一种异构体, 也包括一种或多种异构体的任何组合。

[0048] 外消旋顺式-PMD由以下对映异构体的混合物组成:



[0050] 外消旋反式-PMD由以下对映异构体的混合物组成:



[0052] PMD的不同立体异构体单独、以外消旋混合物或非对映体混合物显示出驱虫效果, 如Barasa (同前) 所公开的。根据Borrego (同前), 不同的异构体对白纹伊蚊的驱除效果不同。PMD的驱虫特性在Carroll et al., PMD a Registered Botanical Mosquito Repellent with DEET-Like Efficacy, J. Am. Mosquito Control Assoc., 2006, 22 (3), 507-514或Barnard et al., Laboratory Evaluation of Mosquito Repellents Against Aedes albopictus, Culex nigripalpus, and Ochlerotatus triseriatus (Diptera: Culicidae), J. Med. Entomol., 2004, 41 (4), 726-730中也进行了公开。

[0053] PMD的防腐、抗菌、杀真菌、杀菌、抗病毒和毛发生长活性在例如US-A-2004/0247708、US-A-2007/0178048、EP-A-0934741、WO-A-01/05226及Smither et al., Investigative study into whether an insect repellent has virucidal activity against SARS-CoV-2, Microbiol. Soc., 2021, 102 (4) (DOI 10.1099/jgv.0.001585) 中也进行了公开。

[0054] 外消旋PMD及其对映异构体可通过例如Takasago、Sigma-Aldrich、Parchem或BOC Sciences购买, 或者可根据Barasa et al (同前) 或Zimmerman et al., J. Am. Chem. Soc., 1953, 75, 2367-2370或Yuasa et al., Org. Proc. Res. Devel., 2000, 4 (3), 159-161中公开的步骤制备。PMD也可以通过对商业种植 (例如, 在巴西和其他拉丁美洲国家商业种植) 的柠檬桉 (柠檬尤加利) 的油 (也称为柠檬桉油) 进行酸改性、水合、环化而得到。Citridiol® (Citrefine) 是一种在酸性条件下对柠檬桉树叶提取物进行简单化学改性形成的产品。它包含约70重量%的外消旋顺式-PMD和外消旋反式-PMD的混合物。该商业产品还包含少量的线性和环状萜类成分, 例如香茅醛、香茅醇和异蒲勒醇异构体。水合、环化柠檬桉油还由其

他供应商商业化,例如Chemian Technology SARL(代表Chemian Technology Limited(英国))和Fulltec GmbH。

[0055] 在一个实施方案中,PMD选自PMD的八种立体异构体、外消旋顺式-PMD、外消旋反式-PMD及它们的混合物中的任何一种。

[0056] 在一个实施方案中,PMD是外消旋顺式-PMD和外消旋反式-PMD的混合物。

[0057] 在一个实施方案中,PMD选自外消旋反式-PMD和外消旋顺式-PMD,其提供低气味无气味的控制释放制剂。

[0058] 在一个实施方案中,PMD是外消旋反式-PMD。

[0059] 在一个实施方案中,PMD是外消旋顺式-PMD。所述化合物比外消旋反式-PMD更容易生产,从本发明的制剂比纯顺式/反式-PMD混合物更慢释放,并且气味比Citriodiol®小得多。

[0060] 在一个实施方案中,PMD选自式(Ia)的对映异构体、式(Ib)的对映异构体、式(Ic)的对映异构体和式(Id)的对映异构体。

[0061] 在一个实施方案中,PMD是柠檬桉的化学改性的天然粗提取物。

[0062] 糖苷

[0063] 本发明的制剂包含糖苷。当施用于表面且与有机酸和二价金属卤盐组合存在时,包含在本发明的缓释制剂中的糖苷能够以受控的速率有效地释放PMD。所述PMD,其以游离形式存在于缓释制剂中,是一种具有长的持续效果的有效的驱虫剂,如示例所示,并且还具有如上所述的防腐、抗菌、杀真菌、杀菌、抗病毒和毛发生长活性。

[0064] 在本发明的意义上,术语“糖苷”是指衍生自环状形式还原糖化合物的混合缩醛(缩酮),其中端羟基由基团-OR替代。化合物ROH称为“糖苷配基”,碳水化合物残基本身称为“糖基”。

[0065] 在这种情况下,糖是葡萄糖,术语“葡萄糖苷”和“吡喃葡萄糖苷”模糊使用。

[0066] 在一个实施方案中,糖苷是通过糖苷键与非碳水化合物连接的还原糖,其中糖苷键可以是阿尔法(α)键或贝塔(β)键,其中糖是单糖、聚合度在1.1和1.9之间的糖、二糖或三糖。

[0067] 在一个实施方案中,还原糖选自单糖、二糖和三糖。

[0068] 在一个实施方案中,还原糖是选自L-糖和D-糖的单糖。

[0069] 在一个实施方案中,还原糖是选自例如葡萄糖、半乳糖、阿洛糖、阿卓糖、甘露糖、古洛糖、艾杜糖、塔罗糖、岩藻糖、木糖和2-脱氧葡萄糖、N-乙酰葡萄糖胺及其混合物的单糖;优选选自D-葡萄糖、D-半乳糖、D-阿洛糖、D-阿卓糖、D-甘露糖、D-古洛糖、D-艾杜糖、D-塔罗糖及其混合物;更优选D-葡萄糖或D-半乳糖;更优选地,糖是D-葡萄糖。

[0070] 在一个实施方案中,还原糖是选自例如选自乳糖、麦芽糖、纤维二糖、壳二糖、曲二糖、黑曲霉糖、异麦芽糖、槐糖、昆布二糖、龙胆二糖、松二糖、麦芽酮糖、明串珠菌二糖、异麦芽酮糖、龙胆二酮糖(gentiobiulose)、甘露二糖、蜜二糖、芦丁糖、芦丁酮糖、木二糖及其混合物的二糖;优选乳糖或麦芽糖;更优选乳糖。

[0071] 在一个实施方案中,还原糖是选自例如黑曲霉三糖、麦芽三糖、麦芽三酮糖及其混合物的三糖;优选麦芽三糖。

[0072] 在一个实施方案中,糖中存在的伯羟基可以官能化为醚、胺、酯、酰胺、硫酸酯、磷酸酯、碳酸酯或氨基甲酸酯。

[0073] 在一个实施方案中,非碳水化合物(糖苷配基)部分是醇部分(-OR)。醇(ROH)可以选自脂族醇或芳族醇。聚合度在1.1和1.9之间、优选在1.2和1.6的糖是烷基多糖苷的糖部分,当醇部分选自C₈-C₁₈烃链时其是从可再生原料获得的工业产品。优选地,糖部分是葡萄糖。

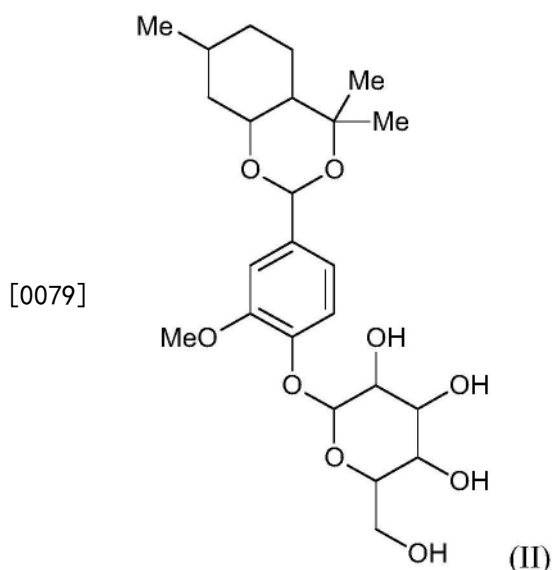
[0074] 在一个优选的实施方案中,糖苷选自甲基- α -葡萄糖苷、己基葡萄糖苷、苯基- β -葡萄糖苷、香叶基- β -葡萄糖苷、甲基- α -D-吡喃甘露糖苷、甲基- α -D-吡喃半乳糖苷和PMD葡萄糖香草醛结合物;优选选自甲基- α -葡萄糖苷和PMD葡萄糖香草醛结合物。

[0075] 在一个实施方案中,糖苷是甲基- α -葡萄糖苷。

[0076] 在一个实施方案中,糖苷是PMD葡萄糖香草醛结合物。

[0077] PMD葡萄糖香草醛结合物

[0078] 式(II)的PMD葡萄糖香草醛结合物为:



[0080] 在本说明书中,式(II)的结合物可以模糊地命名为PMD葡萄糖香草醛结合物,其中相对的立体化学是未规定的;其中结合物使用顺式-PMD形成的顺式-PMD葡萄糖香草醛结合物、顺式-PMD缩醛或顺式缩醛;其中结合物使用反式-PMD形成的反式-PMD葡萄糖香草醛结合物、反式-PMD缩醛或反式缩醛。

[0081] 在一个实施方案中,PMD选自PMD的八种立体异构体、外消旋顺式-PMD、外消旋反式-PMD及它们的混合物中的任何一种,优选地,PMD是外消旋顺式-PMD和外消旋反式-PMD的混合物,其中糖部分是D-葡萄糖。

[0082] 在一个实施方案中,PMD是外消旋反式-PMD。

[0083] 在PMD葡萄糖香草醛结合物的优选实施方案中,PMD是外消旋顺式-PMD和外消旋反式-PMD的混合物,且糖部分是葡萄糖。

[0084] 在更优选的实施方案中,式(II)的PMD葡萄糖香草醛结合物是这样的结合物,其中PMD是外消旋顺式-PMD和外消旋反式-PMD的混合物,且糖部分是葡萄糖、优选D-葡萄糖。

[0085] 葡萄糖香草醛

[0086] 葡萄糖香草醛是香草醛(4-羟基-3-甲氧基苯甲醛,CAS号121-33-5)与糖部分官能化得到的化合物。如果糖部分是D-葡萄糖,则产物称为葡萄糖香草醛(香草醛4-O- β -D-葡萄糖苷,CAS号494-08-6)。

[0087] 葡萄糖香草醛是香荚兰豆等许多植物中的主要天然产物,在天然香草醛产生过程中通过内源性和外源性酶组合进行水解。

[0088] 然而,由于供应有限,天然香草醛并且因此葡萄糖香草醛非常昂贵。因此,香草醛主要通过合成方法生产,并且越来越多地通过生物合成方法生产,例如García-Bofill et al.,Enzymatic synthesis of vanillin catalysed by a eugenol oxidase,Applied Catalysis A,2019,582,117117中所公开的方法,这两种方法都不使用葡萄糖香草醛作为前体。

[0089] 葡萄糖香草醛可以使用传统的化学方法、例如Fischer et al.,Synthesis of certain glucosides,Berichte,1909,42 (2),1465-76中所公开的方法由香草醛制备。此外,芳族醇(酚类底物)与不同糖的O-糖基化的化学方法是众所周知的,并在例如Jacobsson et al.,Aromatic O-glycosylation,Carbohydrate Research,2006,341,1266-1281中公开。

[0090] 葡萄糖香草醛也可例如从Carbosynth有限公司购买。

[0091] 包含在本发明的缓释制剂中的式(II)的葡萄糖香草醛结合物能够以受控的速率有效释放PMD,成为有效的驱虫剂。

[0092] 制备式(II)的PMD葡萄糖香草醛结合物的方法

[0093] 制备式(II)的PMD葡萄糖香草醛结合物的方法包括任选在溶剂存在下将葡萄糖香草醛与PMD在催化用量的有机或无机酸存在下反应。

[0094] 在优选的实施方案中,酸催化剂选自柠檬酸和磺酸化合物,例如Dowex酸性树脂。

[0095] 在一个实施方案中,缩醛的形成在不存在任何溶剂的情况下进行。在另一个实施方案中,反应在溶剂的存在下进行,溶剂优选选自乙腈和C₁-C₄醇,更优选选自乙腈与乙醇,更优选地,溶剂是乙醇。

[0096] 通常,反应在约30°C和约60°C之间、优选在约40°C和约55°C之间、更优选在约50°C的温度下进行。在无溶剂的实施方案中,实施初步加热以从起始产品获得熔融液体。

[0097] 令人惊讶的是,考虑到糖未进行保护,通过NMR没有观察到形成任何含量显著的与式(II)所示缩醛不同的其它缩醛。

[0098] 通过适当选择酸和溶剂,可以将顺式/反式-PMD葡萄糖香草醛结合物混合物调节至希望的比例。

[0099] 在一个实施方案中,使用过量的顺式/反式-PMD混合物,使用柠檬酸作为催化剂和乙腈作为溶剂,几乎全部形成顺式-PMD葡萄糖香草醛结合物,而在相同溶剂中使用强酸(例如,Dowex酸性树脂),则获得顺式/反式-PMD葡萄糖香草醛结合物为1:0.5的混合物。相反,使用相同的酸和以乙醇为溶剂,分别获得顺式/反式-PMD葡萄糖香草醛结合物为1:0.7和1:1的混合物。因此,通过适当选择反应条件,例如酸和溶剂,可以很容易地调节反应以得到希望的异构体产物比例。

[0100] 在一个实施方案中,使用Dowex酸性树脂由Citriodiol®和葡萄糖香草醛获得PMD葡萄糖香草醛结合物,过滤掉树脂,然后将其溶解在水中。

[0101] 在一个实施方案中,PMD葡萄糖香草醛结合物也在纯Citriodiol®或溶剂中的Citriodiol®中形成,并且可以在不分离的情况下使用。

[0102] 式(II)的PMD葡萄糖香草醛结合物的用途:

[0103] 本发明目的的另一个方面是式(II)的PMD葡萄糖香草醛结合物用于从本发明的缓释制剂受控释放PMD的用途。

[0104] 包含在本发明的缓释制剂中的PMD葡萄糖香草醛结合物可用于处理多种适应症,例如用于驱避范围广泛的蚊子、苍蝇、蜚、螨、蚋、蠓、头虱及其卵和幼虫。

[0105] 有机酸

[0106] 本发明的制剂包含有机酸。当与糖苷和二价金属卤盐组合存在时,在施用于表面时包含在本发明的缓释制剂中的有机酸能够以受控的速率有效地释放PMD。制剂中包含的游离PMD是一种具有长的持续效果的有效的驱虫剂。

[0107] 适合包含在所述制剂中的有机酸是磺酸、一元羧酸、二元羧酸、三元羧酸、羟基羧酸和氨基酸。

[0108] 在一个实施方案中,有机酸是磺酸,例如对甲苯磺酸、苯磺酸或牛磺酸。

[0109] 在一个实施方案中,有机酸是羧酸,例如草酸、丙二酸、琥珀酸、富马酸或苯甲酸。

[0110] 在一个实施方案中,有机酸是羟基羧酸,例如乳酸、酒石酸、乙醇酸、苹果酸、扁桃酸(2-羟基-2-苯乙酸)或柠檬酸。

[0111] 在一个实施方案中,有机酸是氨基酸,例如甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺、谷氨酸、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、甲硫氨酸、半胱氨酸、赖氨酸、精氨酸、组氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、酪氨酸或色氨酸。

[0112] 在优选的实施方案中,有机酸选自柠檬酸、琥珀酸及其无水形式或水合物。在一个实施方案中,使用无水形式或水合物、优选一水合物的柠檬酸。在一个实施方案中,使用琥珀酸。

[0113] 在一个实施方案中,有机酸可以与相应的共轭碱平衡,其中两者之间的比例取决于制剂的pH值。

[0114] 二价金属卤盐

[0115] 本发明的制剂包含二价金属卤盐。当与糖苷和有机酸组合存在时,在施用于表面时包含在本发明的缓释制剂中的二价金属卤盐能够以受控的速率有效地释放PMD。

[0116] 适合包含在本发明的制剂中的二价金属卤盐是例如氯化钙、氯化镁、溴化镁、碘化锌、氯化锌、溴化锌或氯化钴。

[0117] 在一个实施方案中,二价金属卤盐选自氯化锌、氯化镁和氯化钙。

[0118] 在一个实施方案中,二价金属卤盐是氯化钙。

[0119] 在一个实施方案中,二价金属卤盐是氯化镁。

[0120] 在一个实施方案中,二价金属卤盐是氯化锌。

[0121] 缓释制剂

[0122] 缓释制剂包含PMD、糖苷、有机酸和二价金属卤盐。

[0123] 在一个实施方案中,缓释制剂包含每摩尔PMD:

[0124] a) 0.01至2、优选0.02至1.5、更优选0.03至1.2、更优选0.05至1、还更优选0.07至0.75摩尔糖苷。

[0125] b) 0.05至3、优选0.06至2.5、更优选0.08至2、更优选0.09至1.7、更优选0.1至1.5、还更优选0.12至1.24摩尔有机酸,及

[0126] c) 0.01至5摩尔、优选0.02至2摩尔、更优选0.03至1摩尔、还更优选0.06至0.58摩尔二价金属卤盐。

[0127] 在一个实施方案中,缓释制剂包含PMD;糖苷,选自甲基- α -葡萄糖苷、己基葡萄糖苷、苯基- β -葡萄糖苷、香叶基- β -葡萄糖苷、甲基- α -D-吡喃甘露糖苷、甲基 α -D-吡喃半乳糖苷和PMD葡萄糖香草醛结合物,优选选自甲基- α -葡萄糖苷和PMD-葡萄糖香草醛结合物;选自柠檬酸和琥珀酸的有机酸;以及选自氯化钙、氯化镁、溴化镁、碘化锌、氯化锌、溴化锌和氯化钴的二价金属卤盐。

[0128] 在一个实施方案中,缓释制剂包含PMD、选自PMD葡萄糖香草醛结合物和甲基- α -葡萄糖苷的糖苷、选自柠檬酸和琥珀酸的有机酸以及选自氯化钙、氯化镁和氯化锌的二价金属卤盐。

[0129] 在一个实施方案中,缓释制剂包含PMD、PMD葡萄糖香草醛结合物、柠檬酸以及选自氯化钙、氯化镁和氯化锌的二价金属卤盐。

[0130] 在一个实施方案中,缓释制剂包含PMD、甲基- α -葡萄糖苷、柠檬酸以及选自氯化钙、氯化镁和氯化锌的二价金属卤盐。

[0131] 在一个实施方案中,缓释制剂包含PMD、PMD葡萄糖香草醛结合物、琥珀酸以及选自氯化钙、氯化镁和氯化锌的二价金属卤盐。

[0132] 在一个实施方案中,缓释制剂包含PMD、甲基- α -葡萄糖苷、琥珀酸以及选自氯化钙、氯化镁和氯化锌的二价金属卤盐。

[0133] 在一个实施方案中,缓释制剂中PMD的含量能够每平方厘米表面递送至少0.1、优选0.2mg的PMD。

[0134] PMD的释放通常通过本领域技术人员广泛使用和了解的各种化妆品组合物和设备实现。非限制性示例包括溶液、乳膏、粉末、糊剂、喷雾、洗剂、薄膜或浸渍到例如湿巾、口罩和棒、医疗设备或表面等材料中或材料上。

[0135] 本发明的另一个方面是缓释制剂作为驱虫剂的用途。

[0136] 缓释制剂作为药物的用途也构成本发明的一部分。特别地,用作防腐、抗菌、杀真菌、杀菌或抗病毒。

[0137] 如示例部分所示,本发明的缓释制剂令人吃惊地提供缓慢且长时间的PMD释放。缓释制剂的功效通过评估PMD的驱虫效果表示。与商业产品、例如Mosiguard[®]和DEET(参见示例11和17)相比,所述制剂能够实现显著改善的持久的驱虫效果。如示例13和示例19所示,反式-PMD和顺式-PMD分别提供受控释放的驱虫剂,与含驱虫剂的Citriodiol[®]相比,气味小得多。

[0138] 使用缓释制剂的方法也构成本发明的一部分,所述方法包括将所述制剂直接或以组合物的形式施用到表面上。

[0139] 本发明的制剂可以施用于任何表面,例如柔软的表面如皮肤、头发、衣服、植物或作物、粮食储存,或坚硬的表面如木材、合成材料或陶瓷材料。在一个实施方案中,将制剂施用于皮肤。

[0140] 包含PMD、糖苷、有机酸和二价金属卤化物的制剂的制造是技术人员的常规工作。关于溶液、乳膏、糊剂、粉末、喷雾、洗剂和薄膜形式的组合物的制备的信息可以在众所周知的手册中找到,例如Remington The Science and Practice of Pharmacy, 20th Ed,

Lippincott Williams&Wilkins,2000,Philadelphia,Part 5,Pharmaceutical Manufacturing。

[0141] 令人吃惊的是,当与糖苷、有机酸和二价金属卤盐组合时,缓释制剂能够释放其中存在的游离PMD。

[0142] 如示例所示,采用不同的吡喃葡萄糖苷(示例7)、不同的糖苷(示例16)、不同的有机酸(示例9和14)和不同的二价金属卤化物(示例15)获得了缓释效果。体外(示例17)和活体(示例11)试验均显示,与市售组合物相比,含Citriodiol®或本发明纯PMD的缓释制剂具有优势。

[0143] 组合物

[0144] 包含缓释制剂的组合物也构成本发明目的的一部分。

[0145] 在一个实施方案中,组合物包含缓释制剂和化妆品可接受的组分。

[0146] 本文所用“化妆品可接受”是指该术语描述的产品或化合物适合用于与组织(如皮肤)接触而没有不适当的毒性、不相容性、不稳定性、刺激性、过敏反应等。该术语并不限制其描述的成分/产品仅用作化妆品。

[0147] 在一个实施方案中,组合物包含:

[0148] a) 5重量%至80重量%的缓释制剂,及

[0149] b) 20重量%至95重量%的化妆品可接受的组分,

[0150] 其中调整各成分的百分数使总量为100%。

[0151] 组合物优选包含10重量%至75重量%、更优选15重量%至70重量%、更优选25重量%至65重量%、还更优选30重量%至60重量%的缓释制剂。

[0152] 组合物包含化妆品可接受的组分,在本发明中,其选自化妆品可接受的载体、化妆品成分及它们的混合物。

[0153] 化妆品可接受的载体(或媒介)是化妆品成分在其中溶解、乳化、分散或悬浮的载体。所述载体选自水、与水混溶的非水载体如乙醇或异丙醇及与水不混溶的非水载体如植物油、脂肪酯、中链甘油三酯或烷烃。优选地,组合物包含水作为载体。

[0154] 在一个实施方案中,化妆品成分优选选自:表面活性剂(乳化剂)、脂质化合物、润肤剂、稠度因子、增稠剂、稳定剂、助水溶物、防腐剂、精华、着色剂、有机硅化合物、脂肪、蜡、卵磷脂、磷脂、紫外线防晒因子、成膜剂及它们的混合物。

[0155] 用于本发明用途的组合物的物理形式并不重要。所述组合物可制成多种产品类型,包括但不限于固体和液体组合物,例如溶液、洗液、乳膏、凝胶、棒、喷雾、软膏、清洁液、洗涤液和固体棒、洗发水、糊剂、粉末、泡沫、慕斯、乳剂、乳液、分散体、悬浮液或湿巾。

[0156] 用于本发明的外用组合物可以配制成溶液。溶液可以优选包含水性溶剂(例如,约0重量%至约95重量%或约20重量%至约85重量%的化妆品可接受的水性溶剂)。更优选地,这种组合物可以含约20重量%的水性溶剂,尽管这可能随制剂而变化。这种溶剂可以包括乙醇、异丙醇、甘油(丙三醇)、丙二醇、聚乙二醇、它们的混合物等与水的组合。在一个实施方案中,用于本发明的外用组合物可配制为含有润肤剂的溶液。这种组合物优选含约2重量%至约50重量%的润肤剂。本文所用“润肤剂”是指用于预防或缓解干燥以及保护皮肤的材料。在一个实施方案中,溶液是包含非水溶剂的无水混合物,包含例如约20重量%至约85重量%的化妆品可接受的非水溶剂。

[0157] 洗液可以由溶液制成。洗液通常含约1重量%至约20重量%的润肤剂和约50重量%至约90重量%的水。

[0158] 另一种类型的产品可以是乳膏。乳膏通常含约5重量%至约50重量%的润肤剂和约45重量%至约85重量%的水。

[0159] 另一种类型的产品可以是软膏。软膏可以由植物油或半固体碳氢化合物的简单基质构成。软膏可以含约2重量%至约100重量%的润肤剂和约0.1重量%至约5重量%的增稠剂。

[0160] 用于本发明的外用组合物还可以优选配制成乳液。在一个实施方案中,组合物含水和亲脂相,并且以乳液或分散体的形式存在,例如水包油(O/W)、油包水(W/O)型、多重乳液(W/O/W)或PIT型乳液或微乳液。如果载体是乳液,则约1重量%至约10重量%的载体应由一种或多种乳化剂组成。乳化剂可以是非离子型、阴离子型、阳离子型的或两性型。

[0161] 用于本发明的外用组合物可以配制成凝胶。适用于水性凝胶的胶凝剂包括但不限于天然胶、丙烯酸和丙烯酸酯聚合物和共聚物以及纤维素衍生物(例如,羟甲基纤维素和羟丙基纤维素)。适用于油(如植物油、酯)的胶凝剂包括但不限于蜡、改性二氧化硅、纤维素衍生物、聚酰胺、聚氨酯和L-谷氨酸衍生物。所述凝胶通常包含约0.1重量%至20重量%的所述胶凝剂。

[0162] 用于本发明用途的组合物通常通过常规方法制备,例如制备外用组合物领域中已知的方法。这些方法通常可以包括采用或不采用加热、冷却、真空等在一个或多个步骤中将成分混合至相对均匀的状态。

[0163] 表面活性剂(乳化剂)

[0164] 在一个实施方案中,组合物可以包含表面活性剂(乳化剂)以促进化妆品组分的溶解、乳化、分散或悬浮。

[0165] 表面活性剂可以是阴离子型、非离子型、阳离子型和/或两性型。

[0166] 表面活性剂的含量通常是1重量%至30重量%、优选2重量%至20重量%、更优选3重量%至10重量%、还更优选4重量%至8重量%。

[0167] 阴离子表面活性剂的典型示例是例如皂、磺化烷烃、磺化烯烃、烷基硫酸盐、脂肪醇醚硫酸盐、甘油醚硫酸盐、脂肪酸醚硫酸盐、单烷基和二烷基磺基琥珀酸酯、单烷基和二烷基磺基琥珀酰胺酸盐、醚羧酸及其盐、脂肪酸羟乙基磺酸盐、脂肪酸肌氨酸盐、脂肪酸牛磺酸盐、N-酰基氨基酸。

[0168] 非离子表面活性剂的典型示例是例如聚烷氧基化脂肪醇、聚烷氧基化脂肪酸、聚烷氧基化脂肪酸酰胺、聚烷氧基化脂肪胺、烷氧基化甘油三酯、混合醚、烷基多糖苷、N-烷基脱水山梨糖醇酯、脂肪酸酯聚乙氧基化脱水山梨糖醇酯和胺的氧化物。

[0169] 阳离子表面活性剂的典型示例是例如季铵化合物以及三烷醇胺和脂肪酸的酯的季铵盐,例如酯基季铵盐。

[0170] 两性表面活性剂的典型示例是例如烷基甜菜碱、烷基酰胺基甜菜碱、氨基丙酸盐、氨基甘氨酸盐、咪唑啉甜菜碱和磺基甜菜碱。

[0171] 上述表面活性剂是专门已知的化合物,其结构和制备为本领域技术人员所熟知,并且可以在例如X.Domingo's book, A guide to the surfactants world, Proa, Barcelona, 1995中找到。

[0172] 脂质组分和润肤剂

[0173] 组合物通常含额外的脂质化合物和润肤剂以优化其感官和皮肤特性。

[0174] 脂质和润肤剂化合物的总含量通常是1重量%至50重量%、优选5重量%至25重量%、更优选5重量%至15重量%。

[0175] 合适的脂质化合物是基于具有6至18个碳原子、优选具有8至10个碳原子的脂肪醇的格尔伯特醇(例如巴斯夫公司的产品Eutanol®G),具有直链C₆₋₂₂醇的直链脂肪酸酯C₆₋₂₂,具有C₆₋₂₂直链醇的C₆₋₁₃支链羧酸酯,例如肉豆蔻酸肉豆蔻酯、棕榈酸肉豆蔻酯、硬脂酸肉豆蔻酯、硬脂酸山嵛酯、异硬脂酸山嵛酯、油酸山嵛酯、山嵛酸山嵛酯、芥酸山嵛酯或肉豆蔻酸芥酸酯。

[0176] 此外,具有支链醇的C₆₋₂₂直链脂肪酸酯是合适的,特别是2-乙基己醇(例如巴斯夫公司的产品Cetiol®868)和肉豆蔻酸异丙酯;具有直链或支链C₆₋₂₂脂肪醇的C₁₈₋₃₈烷基羧酸酯;具有多元醇和/或格尔伯特醇的直链和/或支链脂肪酸酯;基于具有6至10个碳原子的脂肪酸的甘油三酯(例如巴斯夫公司的产品Mirytol®318);基于具有6至18个碳原子的脂肪酸的甘油单酯/二酯/三酯的液体混合物;具有6至22个碳原子的脂肪醇和/或格尔伯特醇与芳香族羧酸、特别是苯甲酸的酯;具有2至12个碳原子的二羧酸与具有1至22个碳原子的直链或支链醇或具有2至10个碳原子和2至6个羟基的多元醇的酯;植物油;支链伯醇;取代的环己烷;直链和支链C₆₋₂₂脂肪醇碳酸酯,例如二辛酰基碳酸酯(例如巴斯夫公司的产品Cetiol®CC);每个烷基具有6至22个碳原子的对称或不对称的直链或支链二烷基醚,例如二辛酰基醚(例如巴斯夫公司的产品Cetiol®OE);脂肪族烷烃或环烷烃,例如角鲨烷、角鲨烯或二烷基环己烷,以及它们的混合物。

[0177] 稠度因子和增稠剂

[0178] 稠度因子和增稠剂通常在组合物中用于调节粘度和流变行为。

[0179] 考虑的稠度因子首先是具有12至22个碳原子、优选16至18个碳原子的链的脂肪醇,此外还有部分甘油酯、脂肪酸或羟基化脂肪酸。

[0180] 合适的增稠剂是例如亲水性硅酸酐(例如赢创公司的Aerosil®产品);多糖,特别是黄原胶、瓜尔胶、琼脂、褐藻酸盐和甲基纤维素(tyloses)、羧甲基纤维素和羟乙基纤维素,以及聚乙二醇单分子量和高分子量脂肪酸二酯;聚丙烯酸酯(例如路博润公司的Carbopol®和Pemulen®类型;Sigma公司的Synthalene®、CP Kelco公司的Keltrol®类型;Seppic公司的Sepigel®和Simulgel®类型;Allied Colloids公司的Salcare®类型)、聚丙烯酰胺、聚乙烯醇和聚乙烯吡咯烷酮。

[0181] 助水溶物

[0182] 为了提高组合物的流动性,还可以使用助水溶物,例如乙醇、异丙醇或多元醇。在此考虑的多元醇优选具有2至15个碳原子和至少两个羟基。多元醇也可以含有其他官能团、特别是氨基,或者用氮改性。典型示例是甘油;亚烷基二醇,例如乙二醇、二乙二醇、丙二醇、丁二醇、己二醇以及平均分子量100至1000道尔顿的聚乙二醇;自缩合度1.5至10的工业低聚甘油混合物,例如二甘油含量40重量%至50重量%的工业二甘油混合物;羟甲基化合物,例如特别是三羟甲基甲烷、三羟甲基丙烷、三羟甲基丁烷、季戊四醇和二季戊四醇;烷基部分中具有1-8个碳原子链的烷基糖苷;C₅₋₁₂糖醇,例如山梨醇或甘露醇;具有5至12个碳原子

的糖,例如葡萄糖或蔗糖;氨基糖,例如葡萄糖胺;二醇胺,例如二乙醇胺或2-氨基-1,3-丙二醇。

[0183] 在一个实施方案中,甘油、丙二醇及其混合物用作组合物中的助水溶物。

[0184] 防腐剂

[0185] 组合物中使用的合适的防腐剂包括例如苯氧基乙醇、3-(4-氯苯氧基)-1,2-丙二醇(氯苯甘油醚)、戊二醇或山梨酸以及欧洲议会和理事会第1223/2009号法规(EC)附件V中所示的其它物质类别。

[0186] 与商业产品相比,包含本发明缓释制剂和化妆品成分(例如成膜聚合物如聚乙酸乙烯酯和聚乙烯吡咯烷酮的组合以及油如肉豆蔻酸异丙酯)的组合物的驱虫效果长很多(见示例11)。

[0187] 在一个实施方案中,组合物包含另一种驱虫化合物,其选自精油、天然驱虫剂、合成驱虫剂及它们的混合物。

[0188] 另一种驱虫化合物选自例如DEET(N,N-二乙基间甲苯酰胺)、埃卡瑞丁(派卡瑞丁)、DEPA(N,N-二乙基苯乙酰胺)、IR3535、N-丁基乙酰苯胺、MGK驱虫剂264、N-甲基新癸酰胺、AI3-35765、AI3-37220(SS220)、MGK驱蚊剂326、香叶醇、百里酚、丁香酚、香芹酚、香草醛、柠檬烯、诺卡酮、桉油烯醇、邻苯二甲酸二丁酯(DBP)、邻苯二甲酸二甲酯(DMP)、碳酸二甲酯(DMC)、邻苯二甲酸二辛酯、苯甲酸苄酯、避蚊酮、荆芥内酯、邻氨基苯甲酸甲酯、邻氨基苯甲酸乙酯、环己基丙酸、壬酸、2-乙基己酸、十一烯酸、乳酸、二醇、2-丁基-2-乙基-1,3-丙二醇、Rutgers 612、拟除虫菊酯、氨基甲酸酯及它们的混合物。一些驱虫化合物的化学结构如图2.1和2.2所示。优选地,组合物包含选自香叶醇、诺卡酮、桉树油、DEET、埃卡瑞丁、IR3535及其混合物的另一种驱虫化合物。

[0189] 分离顺式/反式-PMD的方法

[0190] 本发明的另一个方面是从含PMD的提取物中分离外消旋顺式/反式-PMD的方法。

[0191] 所述方法包括:

[0192] 1) 将选自氯化钙、氯化镁及其混合物的盐加入含PMD的提取物的溶液中,

[0193] 2) 分离步骤1)中得到的固体,以及

[0194] 3) 从步骤2)分离的固体中分离外消旋顺式/反式-PMD。

[0195] 在一个优选的实施方案中,所述方法包括:

[0196] a) 将提取物溶解在溶剂、优选C₅-C₁₂烷烃和脂肪醇的混合物中;优选地,脂肪醇选自甲醇、乙醇、正丙醇、异丙醇、正丁醇、异丁醇、仲丁醇、正戊醇、异戊醇、戊醇、新戊醇、仲戊醇、3-戊醇、甲基异丙基甲醇和2-甲基-2-丁醇;更优选地,溶剂是己烷和乙醇的混合物,

[0197] b) 加入选自氯化钙、氯化镁及其混合物的盐,

[0198] c) 在室温下搅拌步骤b)中得到的混合物,

[0199] d) 分离步骤c)搅拌之后得到的固体,

[0200] e) 将步骤d)中得到的固体溶解在水与水不混溶溶剂的混合物中;优选地,水不混溶溶剂选自己烷、环己烷、二氯甲烷、1,2-二氯乙烷、氯仿、乙醚、叔2丁基甲基醚、乙酸乙酯、苯、甲苯、二甲苯、1-丁醇、2-丁醇、正戊醇、异戊醇、戊醇、新戊醇、仲戊醇、3-戊醇、甲基异丙基甲醇和2-甲基-2-丁醇;更优选地,水不混溶溶剂是己烷,

[0201] f) 分离步骤e)的己烷相,以及

[0202] g) 干燥并通过蒸馏去除己烷。

[0203] 在一个实施方案中,步骤a)中的脂肪醇以催化用量存在,例如占溶剂总体积(以(v/v)表示)的0.01至0.1%、优选0.02至0.07%、更优选约0.05%。

[0204] 所述方法可以从含PMD的提取物中分离外消旋顺式/反式-PMD,实际上定量回收提取物中所含的PMD。

[0205] 在一个实施方案中,含PMD的提取物是市售产品Citriodiol®。

[0206] 在以下示例中,示出了本发明化合物的制备以及与缓释制剂性能测试相关的实验。

[0207] 示例

[0208] ¹H-和¹³C NMR谱采用Varian Mercury 400(¹H采用400.1Mz,及¹³C采用100.6MHz)在氘代氯仿、氘代水或氘代二甲亚砜中获得。高分辨率质谱(HRMS)采用LC/MSD-TOF质谱仪(安捷伦科技公司)测定。

[0209] 反应过程和产物混合物在商业硅胶60板上通过薄层色谱(TLC)或使用上述仪器通过¹HNMR监测。对于色谱,使用柱级硅胶(0.040-0.063mm目数)。

[0210] 纯度约95%的外消旋顺式/反式-PMD购自Boc Sciences且未经进一步处理使用或顺式和反式异构体(约6:4的混合物)采用1:3的乙酸乙酯/己烷在硅胶上通过柱色谱分离。通过¹HNMR,更快流动的顺式异构体与购自Sigma-Aldrich(Merck)的可信的(1S,2R,5R)-2-(1-羟基-1-甲基乙基)-5-甲基环己醇相同。

[0211] 除非另外说明,否则示例中的术语“顺式/反式-PMD”、“顺式-PMD”和“反式-PMD”分别指“外消旋顺式/反式-PMD”、“外消旋顺式-PMD”和“外消旋反式-PMD”。

[0212] Citriodiol®,含有约70重量%的外消旋顺式-PMD和外消旋反式-PMD的混合物,外消旋顺式-PMD/外消旋反式-PMD的比例约1.9:1,是Citrefine有限公司的赠品。

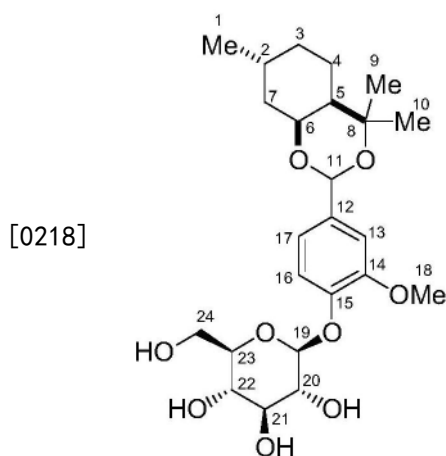
[0213] 葡萄糖香草醛购自Carbosynth有限公司,或使用标准文献步骤自己制备。

[0214] 所有其他化学品均购自Sigma-Aldrich(Merck)或通过Cymit Quimica从各种商业来源购买。

[0215] Hemotek膜,一种薄胶原膜,购自Hemotek有限公司(英国)。

[0216] 孵育于32°C在标准设备中进行。

[0217] 示例1:外消旋顺式-PMD葡萄糖香草醛结合物的制备



[0219] 将葡萄糖香草醛(1.03g, 3.2mmol)、外消旋顺式-对-薄荷烷-3,8-二醇(2.04g,

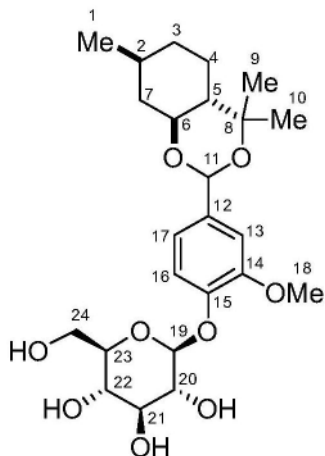
11.9mmol)和柠檬酸一水合物(0.24g,1.2mmol)的混合物悬浮在乙腈(10mL)中,并在50℃下搅拌21小时。

[0220] 将所得溶液在减压下通过蒸馏浓缩,并使用1:1EtOAc/己烷(除去残余二醇)然后1:10MeOH/二氯甲烷的梯度洗脱在硅胶上通过色谱法纯化,得到呈无味白色固体状的标题化合物(1.42g,92%)。

[0221] 化合物使用质谱、¹H-NMR和¹³C-NMR进行表征。

[0222] 示例2:外消旋反式-PMD-葡萄糖香草醛结合物的制备

[0223]



[0224] 将葡萄糖香草醛(0.5g,1.6mmol)、外消旋反式-对-薄荷烷-3,8-二醇(1.0g,5.8mmol)和柠檬酸一水合物(0.1g,0.52mmol)的混合物悬浮在乙腈(2mL)中,并在50℃下搅拌22小时。

[0225] 将所得溶液冷却至室温,并使用1:1EtOAc/己烷(除去残余二醇)然后1:10MeOH/二氯甲烷的梯度洗脱在硅胶上通过色谱法纯化,得到呈无味白色固体状的标题化合物(0.73g,74%)。发现固体(50mg)易溶于水(0.1mL)。

[0226] 化合物使用质谱、¹H-NMR和¹³C-NMR进行表征。

[0227] 示例3:由Citridiol®制备外消旋顺式/反式-PMD葡萄糖香草醛结合物的通用步骤

[0228] Citridiol®是市售产品,含约70重量%的外消旋顺式-PMD和外消旋反式-PMD的混合物的,外消旋顺式-PMD/外消旋反式-PMD的比例约1.9:1。

[0229] 将葡萄糖香草醛、Citridiol®和磺酸树脂Dowex®50WX8的混合物悬浮在乙醇中,并在50℃下搅拌23小时。将所得溶液冷却至室温,过滤得到滤液形式的PMD葡萄糖香草醛缩醛粗反应混合物。残留物用乙醇(2×1mL)洗涤,合并滤液得到浅黄色溶液。

[0230] 取等分溶液并在减压下通过蒸馏除去溶剂,得到PMD葡萄糖香草醛缩醛粗反应浓缩物。根据CDCl₃中残留物的¹³C-NMR谱的上述计数系统对C11的信号进行积分(顺式-PMD缩醛为95.6ppm处的信号vs反式-PMD缩醛为94.8ppm和94.9ppm处的信号之和),发现顺式/反式缩醛的比例为1:2.6。将该材料在减压下通过蒸馏浓缩,残留物使用1:1EtOAc/己烷(除去残余二醇)然后1:10MeOH/二氯甲烷的梯度洗脱在硅胶上通过色谱法纯化,得到玻璃状固体的标题化合物。

[0231] 按照该通用步骤,但使用不同Citridiol®/葡萄糖香草醛比例由不同批次制备后面示例5、6、9和10中使用的材料,如表I所示:

[0232] 表I

[0233]

成分/示例	3	5	6	9 和 10
葡萄糖香草醛 (mg)	200	1900	600	600
Citriodiol® (mg)	580	2000	2000	2000
Dowex® 50WX8 (mg)	40	400	316	240
乙醇 (mL)	2	15	6	6
分离收率 (%)	55	N/A	N/A	N/A

[0234] N/A:材料未分离,仅测定了PMD/缩醛比例

[0235] 示例4:通过¹H-NMR测量含外消旋顺式/反式-PMD的异构体混合物和反式-PMD葡萄糖香草醛缩醛与不同用量的柠檬酸和氯化钙从纸片的PMD损耗

[0236] 为了测量含顺式/反式-PMD的异构体混合物和反式-PMD-葡萄糖香草醛缩醛(以下简称:反式缩醛)与不同用量的柠檬酸和氯化钙从纸片的PMD损耗,如表II所示,制备下述混合物:

[0237] 表II

[0238]

实验编号:	储备溶液 1 (μL)	储备溶液 2 (μL)	储备溶液 3 (μL)	储备溶液 4 (μL)	D ₂ O (μL)	MeOH-D ₄ (μL)
4.1	80	0	80	50	0	0
4.2	80	0	80	0	50	0
4.3	0	160	0	0	50	0
4.4	0	160	0	0	0	50

[0239] 上述混合物中使用的储备溶液含有以下组成:

[0240] • 储备溶液1:200mg顺式/反式-PMD和130mg纯反式-PMD葡萄糖香草醛缩醛在0.5mL MeOH-d₄中。[0241] • 储备溶液2:200μL储备溶液1用200μL MeOH-d₄稀释。[0242] • 储备溶液3:400mg柠檬酸在1mL MeOH-d₄中。

[0243] • 储备溶液4:0.7g无水氯化钙溶于1mL重水中。

[0244] 将储备溶液按上表I中所示的顺序和用量添加到玻璃瓶中。

[0245] 充分混合后,将50μL的每种混合物滴加到平行的5cm直径纸巾片的整个表面上,随后将其在32°C下孵育。

[0246] 在2小时和18.5小时后,切下每个纸片的大约四分之一,用DMSO-d₆ (0.9mL) 冲洗,并通过¹H-NMR进行分析。90.5小时后,将实验编号2的混合物处理的另外四分之一纸片以相同的方式处理和分析。顺式-PMD/反式缩醛的比例通过比较¹H-NMR谱中分别在1.17和1.26ppm处的其甲基质子的积分确定。

[0247] 实验4.1中观察到少量的顺式/反式缩醛异构化,因此相对于1.41和1.26ppm的总

缩醛积分确定顺式-PMD和反式-PMD的比例。不同时间点的结果如下表III所示:

[0248] 表III

实验编号/ 时间	顺式-PMD/总缩醛比例			反式-PMD/总缩醛比例		
	2 小时	18.5 小时	90.5 小时	2 小时	18.5 小时	90.5 小时
[0249] 4.1	2.72	2.25	0.96	1.99	2.00	1.02
4.2	1.58	0.52	NR	1.34	0.57	NR
4.3	1.92	1.09	NR	1.68	1.11	NR
4.4	1.78	0.64	NR	1.51	0.58	NR

[0250] NR=未试验

[0251] 实验4.1 (顺式/反式-PMD、反式-PMD葡萄糖香草醛缩醛、柠檬酸和氯化钙) 的结果清楚地表明,在柠檬酸(相对于总PMD为1当量)和氯化钙(相对于总PMP为1.7当量)存在的情况下,顺式-PMD和反式-PMD从PMD异构体和反式缩醛(相对于总PMD为0.27当量)的混合物损耗的速度远低于不存在柠檬酸和氯化钙时的情况(实验4.2、4.3和4.4)。

[0252] 在使用顺式-PMD和反式-PMD混合物(例如Citriodiol®)的所有后续示例中,由于峰重叠更少导致¹H-NMR峰更容易分析,因此仅分析了顺式-PMD损耗。然而,在所有情况下,PMD异构体的比例数量上是相似的(即两种PMD异构体大致保留相似的程度,如本示例所示)。

[0253] 示例5:通过¹H-NMR测量在乙醇和水中含顺式/反式-PMD的异构体混合物和纯反式-PMD葡萄糖香草醛缩醛(反式缩醛)或PMD葡萄糖香草醛缩醛粗反应浓缩物从纸片或Hemotek膜的PMD损耗

[0254] 为了测量在柠檬酸和氯化钙存在和不存在的条件下含顺式和反式-PMD的异构体混合物以及反式-PMD葡萄糖香草醛缩醛在乙醇和水中从纸片或Hemotek膜的PMD损耗,如表IV所示制备以下混合物:

[0255] 表IV

[0256]	实验编号	储备 溶液 1 (μL)	储备 溶液 2 (μL)	储备 溶液 3 (μL)	储备 溶液 4 (μL)	D ₂ O (μL)	EtOH (μL)	表面
[0257]	5.1	80	80	50	0	0	0	纸片
	5.2	80	80	50	0	0	0	Hemotek
	5.3	0	80	50	80	0	0	纸片
	5.4	0	0	0	80	50	80	纸片

[0258] 请注意,实验编号5.1是示例4的实验编号4.1的重复,但使用乙醇而不是MeOH-D₄。

[0259] 制备下述储备溶液:

[0260] • 储备溶液1:400mg顺式/反式-PMD和260mg反式-PMD葡萄糖香草醛缩醛在无水乙

醇(1mL)中。

[0261] • 储备溶液2:400mg柠檬酸在1mL无水乙醇中。

[0262] • 储备溶液3:0.7g无水氯化钙溶解在1mL重水中。

[0263] • 储备溶液4:200mg示例3的PMD葡萄糖香草醛缩醛粗反应浓缩物溶解在200μL无水乙醇中。

[0264] 将储备溶液按上表中所示的顺序和用量加入到玻璃瓶中,充分混合后,除实验编号5.3得到浅紫色溶液外,其它得到透明无色溶液。

[0265] 如上表所示,将50μL的每种混合物滴加到平行的5cm直径纸巾片或Hemotek膜的整个表面上,然后在32°C下孵育。

[0266] 在17.5小时后,切下每个纸片的大约二分之一,用DMSO-d₆ (0.9mL) 冲洗,并通过¹H-NMR进行分析。在实验3和4中,其中起始混合物处于平衡,顺式-PMD/反式缩醛的比例通过比较¹H-NMR谱中分别在1.17和1.26ppm处的其甲基质子的积分确定。在实验1和2中,发生了一些顺式/反式缩醛异构化,因此顺式-PMD/总缩醛之比通过1.17ppm处信号的积分及1.41和1.26ppm处信号的总积分确定。

[0267] 储备溶液1通过¹H-NMR得出的顺式-PMD/缩醛比例为3.07,该值作为实验编号1和2的时间零点比例。

[0268] 储备溶液4通过¹H-NMR得出的顺式-PMD/缩醛比例为1.17,该值作为反应3和4的时间零点比例。

[0269] 表V示出了该示例得到的结果:

[0270] 表V

实验编号/ 时间	顺式-PMD/缩醛比例	
	0 小时	17.5 小时
[0271] 5.1	3.07	2.25
5.2	3.07	2.72
5.3	1.17	1.18
5.4	1.17	0.85

[0272] 可以观察到:

[0273] -实验编号5.1的顺式-PMD损耗与示例4的实验编号4.1的损耗相当,表明结果可重现。

[0274] -从纸片(实验编号5.1)和Hemotek膜(实验编号5.2)的顺式-PMD损耗非常相似,表明效果与表面类型无关。

[0275] -在柠檬酸和氯化钙存在的情况下(实验编号5.3),从 Citriodiol®/反式缩醛混合物的顺式-PMD损耗显著低于柠檬酸和氯化钙不存在的情况(实验编号5.4)。

[0276] 示例6:使用不同柠檬酸和氯化钙负载在纸上测量从PMD葡萄糖香草醛缩醛粗反应混合物的PMD损耗

[0277] 为了通过¹H-NMR测量使用如表VI所示的不同柠檬酸和氯化钙负载时含顺式-PMD和反式-PMD葡萄糖香草醛缩醛从纸片的PMD损耗,制备了以下组合物:

[0278] 表VI

[0279]

制剂	柠檬酸·H ₂ O (mg)	CaCl ₂ 水溶液 0.7:1 (w/v) (μL)	顺式-PMD/反式缩醛比例 20.5 小时	% 顺 式 -PMD 残留
6.1	24	50	1.18 ¹	11.6
6.2 (对比)	0	0	0.89 ¹	8.7
6.3	36	75	1.80 ²	17.7
6.4	48	100	3.48 ²	34.2
6.5	72	150	5.23 ²	51.4
6.6	72	50	3.60 ³	35.4
6.7	24	150	1.60 ³	15.7

[0280] ¹时间:20.5小时;²时间:19小时;³时间:21小时

[0281] 通过将1mL储备溶液1与表VI所示的一定用量的柠檬酸和氯化钙混合制备组合物,储备溶液1含有如示例3所示制备的PMD葡萄糖香草醛缩醛粗反应混合物。

[0282] 如上表所示,将50μL的每种混合物滴加到平行的5cm直径纸巾片的整个表面上,然后在32°C下孵育。

[0283] 在所示时间点,切下每个纸片的大约四分之一,用DMSO-d₆ (0.9mL) 冲洗,并通过¹H-NMR进行分析。顺式-PMD/反式缩醛的比例通过比较¹H-NMR谱中分别在1.17和1.26ppm处的其甲基质子的积分确定。

[0284] 储备溶液1通过¹H-NMR得出的顺式-PMD/反式缩醛比例为10.18,该值作为时间零点比例。%顺式-PMD残留使用20.5小时时的值计算,考虑了时间零点的所述值。

[0285] 该实验表明,柠檬酸和氯化钙组合提供了慢的PMD损耗效果。

[0286] 示例7:测量含顺式/反式-PMD异构体混合物、柠檬酸、氯化钙和不同吡喃葡萄糖苷从纸片的PMD损耗

[0287] 为了测量含顺式/反式-PMD的异构体混合物、柠檬酸、氯化钙和不同吡喃葡萄糖苷从纸片的PMD损耗,制备了表VII所示的混合物:

[0288] 表VII

[0289]

实验编号	吡喃葡萄糖苷	吡喃葡萄糖苷的含量 (mg)	储备溶液 1 (μL)	储备溶液 2 (μL)	储备溶液 3 (μL)
7.1	反式缩醛	20	110	80	50
7.2	香叶基- β -吡喃葡萄糖苷	20	110	80	50
7.3	0	0	110	80	50
7.4	苯基- β -吡喃葡萄糖苷	20	110	80	50
7.5	甲基- α -吡喃葡萄糖苷	20	110	80	50
7.6	反式缩醛	10	110	80	50

[0290] 制备下述储备溶液:

[0291] • 储备溶液1:300mg顺式/反式-PMD溶解在0.8mL MeOH- d_4 中。[0292] • 储备溶液2:400mg柠檬酸溶解在1mL MeOH- d_4 中。

[0293] • 储备溶液3:0.7g无水氯化钙溶解在1mL重水中。

[0294] 将上表中所示的吡喃葡萄糖苷(20mg)称重到平行玻璃瓶中,并加入表VII所示名称和用量的储备溶液。

[0295] 充分混合后,将50 μL 的每种混合物滴加到平行的5cm直径纸巾片的整个表面上,随后将其在32°C下孵育。[0296] 在3小时和21小时后,切下每个纸片的大约四分之一,用DMSO- d_6 (0.9mL) 冲洗,并通过 ^1H -NMR进行分析。[0297] 顺式-PMD/吡喃葡萄糖苷比例通过使用 ^1H -NMR谱的以下信号确定:[0298] -实验7.1:由于在加入到纸片之前与溶液中的顺式/反式-PMD平衡,观察到一些反式缩醛已转化为顺式缩醛。通过比较5.70ppm和6.68ppm处的信号,一旦在纸片表面上,观察到反式缩醛/顺式缩醛比例并未显著变化。因此,通过比较 ^1H -NMR谱4.15ppm处顺式-PMD的信号积分与5.70和5.68ppm处总缩醛信号的积分,确定顺式-PMD/总缩醛比例。

[0299] -实验7.2:4.15/5.08ppm处的峰

[0300] -实验7.3:4.15处的峰/1.17ppm处的溶剂峰谐波。

[0301] -实验7.4:4.15/4.84ppm处的峰

[0302] -实验7.5:4.15/4.90ppm处的峰

[0303] -实验7.6:同实验7.1

[0304] 然后使用比例的差异来确定PMD损耗程度,如表VIII所示:

[0305] 表VIII

[0306]

实验编号/ 时间	顺式-PMD/吡喃葡萄糖苷比例		超过 18 小时顺式-PMD 的损耗 (%)
	3 小时	21 小时	
7.1	1.88	1.56	17
7.2	1.30	0.73	44
7.3	5.9	0.15	97
7.4	0.68	0.71	-4
7.5	0.52	0.40	23
7.6	4.54	2.70	41

[0307] 可以清楚地看到,在柠檬酸和氯化钙存在的情况下,使用不同的吡喃葡萄糖苷顺式-PMD从纸上损耗的速度比不存在葡萄糖苷明显慢得多。此外,可以观察到,所有测试的葡萄糖苷对PMD损耗的保留都具有积极影响。

[0308] 示例8:测量从顺式-PMD、甲基- α -吡喃葡萄糖苷、柠檬酸和氯化钙的混合物相比顺式-PMD和甲基- α -吡喃葡萄糖苷的混合物以不同负载加到纸片时的PMD损耗

[0309] 为了测量在柠檬酸和氯化钙组合存在和不存在的条件下,从顺式-PMD和甲基- α -葡萄糖苷的混合物的PMD损耗,通过按表IX所示的用量混合材料,然后用热风枪温和加热,制备储备溶液:

[0310] 表IX

[0311]

储备溶液	顺式-PMD (g)	甲基- α -葡萄糖苷 (g)	柠檬酸·H ₂ O (g)	CaCl ₂ 水溶液 0.7:1 (w/v) (mL)	EtOH (mL)	H ₂ O (mL)
1	0.3	0.22	0	0	4	0.3
2	0.3	0.22	0.22	0.2	3.3	0.3

[0312] 将50 μ L的每种储备溶液滴加到平行的5cm直径纸巾片的整个表面上,然后在32°C下孵育。

[0313] 在19小时后,切下每个纸片的大约四分之一,用DMSO-d₆ (0.9mL) 冲洗。向每个样品中加入两滴重水,然后通过¹H-NMR进行分析。顺式-PMD/甲基- α -吡喃葡萄糖苷比例通过比较¹H-NMR谱中分别在4.15/4.90ppm处的其质子积分确定。储备溶液1和2获得的数据分别以实验编号8.1和8.4报告在下表X中。

[0314] 通过如上所述储备溶液的分析获得时间零点数据。

[0315] 通过以与上述相同的方式将0.25和0.5mL储备溶液1和2滴加负载到平行纸片上进行后续实验。在22.5小时和45小时采集的数据也报告在下表X中:

[0316] 表X

[0317]

实验编号		顺式-PMD/甲基- α -吡喃葡萄糖苷比例				纸片上%顺式-PMD 残留		
		0 小时	19 小时	22.5 小时	45 小时	19 小时	22.5 小时	45 小时
8.1	储备溶液 1(50 μ L)(对比)	1.54	0.28	NR	NR	18.2	ND	ND
8.2	储备溶液 1 (0.25 mL)(对比)	1.54	NR	0.66	0.12	ND	42.9	7.8
8.3	储备溶液 1 (0.5 mL)(对比)	1.54	NR	1.08	0.28	ND	70.1	18.2
8.4	储备溶液 2(50 μ L)	1.54	0.51	NR	NR	33.1	ND	ND
8.5	储备溶液 2 (0.25 mL)	1.54	NR	1.08	0.36	ND	70.1	23.4
8.6	储备溶液 2 (0.5 mL)	1.54	NR	1.22	0.54	ND	79.2	35.1

[0318] NR=未试验

[0319] ND=未测定

[0320] 数据清楚地表明,在施用不同浓度的混合物时,在甲基- α -吡喃葡萄糖苷+柠檬酸和氯化钙的存在下,与仅存在甲基- α -吡喃葡萄糖苷相比,纸片上残留的PMD明显高得多。

[0321] 示例9:替代的酸对从纸片PMD损耗的影响

[0322] 为了测量替代的酸对从纸片PMD损耗的影响,将50 μ L无水氯化钙/水溶液(0.7:1(w/v))加入到如示例3所示制备的0.5mL PMD葡萄糖香草醛缩醛粗反应混合物中。

[0323] 向0.1mL等分的上述混合物中分别加入10mg用量的对甲苯磺酸和酒石酸,得到混合物1和2。

[0324] 将所有每种混合物施用到三个平行的直径5cm的纸巾片上,然后将其在32 $^{\circ}$ C下孵育。

[0325] 在27小时后,切下每个纸片的大约四分之一,用DMSO- d_6 (0.9mL)冲洗,并通过 ^{1} H-NMR进行分析。顺式-PMD/顺式缩醛比例通过比较 ^{1} H-NMR谱中分别在1.17和1.26ppm处的其甲基质子的积分确定。

[0326] 通过PMD葡萄糖香草醛缩醛粗反应混合物的相同峰的积分,确定时间零点比例。

[0327] 结果示出在表XI中:

[0328] 表XI

[0329]

实验编号/ 时间	顺式-PMD/反式缩醛比例	
	0 小时	27 小时
9.1	11.3	9.85
9.2	11.3	3.32

[0330] 在对甲苯磺酸和酒石酸的存在下观察到低水平的顺式-PMD损耗。

[0331] 因此,pKa差异很大的二元酸和酸可以用于提供相同的缓释效果。

[0332] 示例10:测量存在和不存在聚合物的情况下从施用于皮肤上的PMD葡萄糖香草醛缩醛粗反应混合物的PMD损耗

[0333] 为了测量存在和不存在聚合物(例如Kollicoat®SR 30D)的情况下从施用于皮肤上的顺式-PMD的PMD损耗,制备了以下混合物:

[0334] • 混合物1:将柠檬酸一水合物(212mg)溶解在3mL如示例3所示制备的PMD葡萄糖香草醛缩醛粗反应混合物和150μL 0.7:1 (w/v) 无水氯化钙/水溶液中,使用热风枪温和加热。

[0335] • 混合物2:将Kollicoat®SR 30D(0.2g)和肉豆蔻酸异丙酯(30mg)用1mL混合物1稀释,用热风枪温和加热后得到粘稠的、略微不透明的溶液。

[0336] 将每种混合物(50μL)涂抹在前臂皮肤直径5cm的圆形区域上。混合物2处理的区域的粘性明显低于混合物1处理的区域。

[0337] 4小时后,通过连续施用2×2cm×5cm的Sellotape® (Miarco Gamma Azul)对每个区域进行胶带剥离。然后将剥离每个区域的两条胶带汇合,用DMSO-d₆(1mL)冲洗,并通过¹H-NMR分析所得溶液。

[0338] 顺式-PMD/顺式缩醛比例通过比较¹H-NMR谱中分别在1.17和1.41ppm处的其甲基质子的积分确定。

[0339] 结果示出在表XII中:

[0340] 表XII

[0341]

混合物编号/ 时间	顺式-PMD/顺式缩醛比例	
	0 小时	4 小时
1	11.3	14.2
2	11.3	10.0

[0342] 顺式-PMD/顺式缩醛比例相似,表明成膜聚合物和肉豆蔻酸异丙酯的加入对驱虫混合物的肤感具有积极影响,但并未明显影响PMD损耗的速度。

[0343] 示例11:活体驱虫效果一对比实验

[0344] 以下一系列实验在不同日期但类似条件下进行。因此,将下表所示的已知体积的混合物涂抹在一名中年男性志愿者的一条小腿和脚背上(计算的近似皮肤面积为

1200cm²)。同一志愿者的另一条小腿和脚不进行处理,或用已知体积的另一种混合物进行处理。志愿者在实验之间淋浴,且两条腿交替进行处理和不处理。

[0345] 在下表所示的混合物施用后的时间段,志愿者站在已知的白纹伊蚊聚居的位置(西班牙Sant Cugat del Valles)。志愿者对每条腿上每只蚊子降落的时间点进行统计,在将它们赶走后,转移到稍微不同的位置,避免同一只蚊子再次降落,并在30分钟内继续计数和移动。如果同时有超过一只蚊子降落,则对所有蚊子都计数。

[0346] 实验A:与商业Mosiguard[®]相比,Citriodiol[®]/甲基- α -吡喃葡萄糖苷/柠檬酸/氯化钙混合物的活体驱虫效果

[0347] 测试了以下混合物:

[0348] • 混合物1: Mosiguard[®]通过亚马逊在线购买,由Citrefine生产。根据标签, Mosiguard[®]含有30%的Citriodiol[®]。

[0349] • 混合物2: Citriodiol[®] (6.0g)、甲基- α -吡喃葡萄糖苷 (2.2g) 和柠檬酸一水合物 (2.2g) 用乙醇 (14mL) 和0.7:1 (w/v) 无水氯化钙/水溶液 (2.0mL) 稀释,使用热风枪温和加热。加入Kollicoat[®] SR 30D (8mL) 和肉豆蔻酸异丙酯 (1.2mL),得到粘稠、略微不透明的溶液。该混合物是一种不稳定的乳液,几小时后慢慢分成两相,

[0350] 因此在施用前需要充分摇动。

[0351] 如上所述,将混合物1 (1mL) 施用于左腿,将混合物2 (2mL) 施用于右腿,并在下表XIII中报告随时间的降落:

[0352] 表XIII

混合物/ 时间	施用混合物后的时间观察到的蚊子降落		
	9 小时	12 小时	15 小时
1 (对比)	7	10	1
2	0	0	4

[0354] 在实验期间,两条腿均未观察到皮肤刺激。9小时后,在混合物1处理的区域上观察到明显的蚊子降落,而在混合物2处理的区域上仅在15小时后观察到蚊子降落。

[0355] 在所施用的剂量下,混合物2的驱虫效果明显比混合物1至少长3小时。

[0356] 实验B:双倍规定剂量下Mosiguard[®]的活体驱虫效果

[0357] 测试了以下混合物:

[0358] • 混合物1:如上所述,将2mL Mosiguard[®] (Citrefine) 施用于右腿,左腿不进行处理。

[0359] 随时间的降落报告在下表XIV中:

[0360] 表XIV

[0361]

混合物/ 时间	施用混合物后的时间观察到的蚊子降落				
	2 小时	4 小时	7.5 小时	8.75 小时	9.5 小时
1 (对比)	0	0	0	0	3
未处理	14	8	5	4	9

[0362] 在实验期间,两条腿均未观察到皮肤刺激。与实验A相比,将Mosiguard®的剂量增加一倍仅能持续9.5小时。

[0363] 实验C:顺式-PMD、甲基- α -吡喃葡萄糖苷、柠檬酸和氯化钙混合物的活体驱虫效果测试了以下混合物:

[0364] • 混合物1:顺式-PMD (0.6g)、甲基- α -吡喃葡萄糖苷 (0.22g) 和柠檬酸一水合物 (0.22g) 用乙醇 (1.4mL) 和0.7:1 (w/v) 无水氯化钙/水溶液 (0.2mL) 稀释,使用热风枪温和加热。加入Kollicoat® SR 30D (0.8mL) 和肉豆蔻酸异丙酯 (0.12mL),得到粘稠、略微不透明的溶液。该混合物是一种不稳定的乳液,几个小时后慢慢分成两相,因此在施用前需要充分摇动。如上所述,将2mL混合物1施用于左腿,右腿不进行处理。

[0365] 随时间的降落报告在表XV中:

[0366] 表XV

[0367]

混合物/ 时间	施用混合物后的时间观察到的蚊子降落				
	2 小时	5 小时	8 小时	10 小时	14 小时
1	0	1	0	0	0
未处理	6	7	12	7	2

[0368] 在实验结束时,当没有观察到进一步的蚊子活动时,如示例10所述,将处理的左腿上直径约5cm的圆形无毛皮肤区域用胶带剥离,进行处理并通过¹H-NMR进行分析。不同的是在分析之前向NMR样品加入2滴重水。将4.14ppm处顺式-PMD多重峰的积分与4.52ppm处甲基- α -葡萄糖苷双重峰的积分进行比较,得出约25%的顺式-PMD残留在皮肤上。

[0369] 在实验期间,两条腿均未观察到皮肤刺激。该混合物在皮肤上产生的气味比实验A中使用的Citriodiol®混合物小得多。

[0370] 混合物1在至少14小时内具有驱蚊效果。剩余25%的活性物质表明,如果蚊子未失去活动,则可能持续更长的时间。

[0371] 实验D:20% (v/v) DEET的乙醇溶液的活体驱虫效果

[0372] 测试了以下混合物:

[0373] • 混合物1:将20mL的N,N-二乙基-间-甲苯酰胺 (DEET) 用乙醇稀释至100mL。

[0374] 如上所述,将1mL的混合物1施用于左腿,右腿不进行处理。

[0375] 随时间的降落报告在下表XVI中:

[0376] 表XVI

[0377]	混合物/ 时间	施用混合物后的时间观察到的蚊子降落		
		3 小时	5.5 小时	7.5 小时
	1 (对比)	0	0	7
	未处理	7	14	19

[0378] 可以观察到,与实验A和C中使用的混合物相比,20% (v/v) DEET提供的保护持续时间明显更短。

[0379] 示例12:测量在皮肤上从顺式-PMD、甲基- α -吡喃葡萄糖苷、柠檬酸和氯化钙混合物的顺式-PMD损耗

[0380] 如示例11实验C所述制备混合物。

[0381] 将混合物(50 μ L)涂抹在前臂皮肤7 $\times$ 5cm直径的圆形区域上。

[0382] 在不同的时间后,如示例10所述对每个区域进行胶带剥离,用DMSO-d₆ (1mL) 冲洗,加入2滴重水,并通过¹H-NMR分析所得溶液。

[0383] 通过将4.14ppm处顺式-PMD多重峰的积分与4.52ppm处甲基- α -葡萄糖苷双重峰的积分进行比较,确定顺式-PMD/甲基吡喃葡萄糖苷比例,并计算顺式-PMD的残留。

[0384] 表XVII示出了顺式-PMD损耗的线性关系:

[0385] 表XVII

[0386]	时间	0 小时	6 小时	9 小时	12 小时	20 小时	25 小时	46.5 小时
	皮肤上 % 顺式-PMD 的残留	100	88	85	77	(126)	54	23

[0387] 排除20小时后获得的异常结果,清楚地表明了从皮肤的顺式-PMD损耗以线性方式发生。

[0388] 示例13:测量在皮肤上从顺式或反式-PMD、甲基- α -吡喃葡萄糖苷、柠檬酸和氯化钙混合物的顺式-PMD和反式-PMD损耗

[0389] 如示例11实验C所述制备平行混合物,但混合物1含顺式-PMD,混合物2含反式-PMD。

[0390] 将每种混合物(50 μ L)涂抹在前臂皮肤2 $\times$ 5cm直径的圆形区域上。

[0391] 在时间零点和6小时后,如示例10所述对每个区域进行胶带剥离,用DMSO-d₆ (1mL) 冲洗,加入2滴重水,并通过¹H-NMR分析所得溶液。

[0392] 通过将4.14ppm处顺式-PMD多重峰的积分与4.52ppm处甲基- α -葡萄糖苷双重峰的积分进行比较,确定顺式-PMD/甲基葡萄糖苷比例,并计算顺式-PMD的残留。

[0393] 将1.05ppm处反式-PMD的甲基信号的积分(除以3)与4.52ppm处甲基- α -吡喃葡萄糖苷双峰的积分进行比较,确定反式-PMD/甲基葡萄糖苷的比值。

[0394] 表XVIII示出了结果:

[0395] 表XVIII

混合物编号	PMD/甲基葡萄糖苷比例	
	0 小时	6 小时
1	3.22	3.62
2	3.33	2.66

[0397] 由于时间短,本示例中的积分不是特别可靠,但值得注意的是,混合物1在皮肤上有PMD气味,而混合物2无气味,为开发无气味的驱虫剂提供了可能性。

[0398] 示例14: 测量在皮肤上从顺式-PMD、甲基- α -吡喃葡萄糖苷、羧酸和氯化钙混合物的顺式-PMD损耗

[0399] 如示例11实验C中所述制备平行混合物,但混合物1含柠檬酸一水合物,混合物2含琥珀酸(均为相同重量当量)。

[0400] 将每种混合物(50 μ L)涂抹在前臂皮肤3 $\times$ 5cm直径的圆形区域上。

[0401] 在不同的时间点,如示例10所述对每个区域进行胶带剥离,用DMSO-d₆(1mL)冲洗,加入2滴重水,并通过¹H-NMR分析所得溶液。

[0402] 通过将4.14ppm处顺式-PMD多重峰的积分与4.52ppm处甲基- α -吡喃葡萄糖苷双重峰的积分进行比较,确定顺式-PMD/甲基- α -吡喃葡萄糖苷比例,并计算顺式-PMD的残留。

[0403] 表XIX示出了结果:

[0404] 表XIX

混合物编号/ 时间	PMD/吡喃葡萄糖苷比例		
	8 小时	17.5 小时	32 小时
1	2.0	ND	1.47
2	2.0	1.89	1.66

[0406] 可以观察到,尽管它们的pKa差异很大,但从含柠檬酸和含琥珀酸的混合物的PMD损耗速度相当。

[0407] 示例15: 通过¹H-NMR测量含外消旋顺式/反式-PMD的异构体混合物和反式-PMD葡萄糖香草醛缩醛(反式缩醛)与柠檬酸和不同金属卤化物从平行纸片的PMD损耗

[0408] 平行混合物的制备如表XX所示:

[0409] 表XX

实验编号	储备溶液1 (μ L)	盐 (5mg)
15.1	60	氯化钙(无水)
15.2	60	无
15.3	60	氯化镁
15.4	60	溴化镁
15.5	60	碘化锌

15.6	60	氯化钴
15.7	60	氯化锌
15.8	60	溴化锌

[0411] 制备下述储备溶液:

[0412] • 储备溶液1:将0.11g顺式/反式-PMD、75mg反式-PMD葡萄糖香草醛缩醛和90mg柠檬酸一水合物溶解在0.6mL EtOH和110 μ L水中。

[0413] 将储备溶液1(60 μ L)加入到含有上表XX所示不同盐(5mg)的玻璃瓶中。

[0414] 充分混合和温和加热溶解所有固体后,将每个瓶的所含物滴加到平行的5cm直径纸巾片的整个表面上,随后将其在32°C下孵育。

[0415] 在2小时和20.5小时后,切下每个纸片的大约四分之一,用DMSO-d₆(0.9mL)冲洗,并通过¹H-NMR进行分析。

[0416] 通过比较¹H-NMR谱的4.15ppm处顺式-PMD的信号积分与5.70和5.68ppm处总缩醛信号的积分,确定顺式-PMD/总缩醛比例。请注意,在某些情况下如示例7观察到一些缩醛异构化,但这与PMD保留无关。

[0417] 两个时间点之间的比例差异如下表XXI所示:

[0418] 表XXI

[0419]

实验编号/ 时间	顺式-PMD/总缩醛比例		18.5 小时后顺式-PMD 损耗 (%)
	2 小时	20.5 小时	
15.1	1.85	1.45	22
15.2 (对比)	1.92	0.60	69
15.3	2.38	1.79	25
15.4	2.00	1.14	43
15.5	1.64	1.25	24
15.6	2.13	2.00	6
15.7	2.33	2.17	7
15.8	2.00	1.66	17

[0420] 与无盐混合物相比,测试的所有二价金属卤化物都提供了低速度的PMD损耗。锌盐和钴盐比钙盐或镁盐更有效。氯化物比溴化物或碘化物更有效。

[0421] 示例16:通过¹H-NMR测量从含有外消旋顺式/反式-PMD的异构体混合物、柠檬酸、氯化钙和替代的葡萄糖苷的平行纸片的PMD损耗

[0422] 平行混合物的制备如表XXII所示:

[0423] 表XXII

[0424]

实验编号	糖苷 (5mg)	储备溶液1 (μ L)	储备溶液2 (μ L)
16.1	甲基- β -D-吡喃葡萄糖苷	60	0
16.2	反式缩醛	60	0

16.3	甲基- α -D-吡喃甘露糖苷	60	0
16.4	反式缩醛	0	60
16.5	甲基- α -D-吡喃半乳糖苷	60	0
16.6	甲基- α -D-吡喃葡萄糖苷	60	0

[0425] 制备下述储备溶液:

[0426] • 储备溶液1:将0.12g顺式/反式-PMD、90mg柠檬酸一水合物和77mg无水氯化钙的混合物溶解在乙醇(0.6mL)和去离子水(110 μ L)中,使用热风枪温和加热。

[0427] • 储备溶液2:将0.12g顺式/反式-PMD和90mg柠檬酸一水合物的混合物溶解在乙醇(0.6mL)和蒸馏水(110 μ L)中。

[0428] 将表XXII中所示的糖苷(5mg)称重到平行玻璃瓶中,加入60 μ L储备溶液1或2。

[0429] 使用热风枪温和加热所得混合物,形成无色溶液,并将每种混合物全部滴加到平行的5cm直径纸巾片的整个表面上,随后将其在32°C下孵育。

[0430] 在2.25小时和19小时后,切下每个纸片的大约四分之一,用DMSO-d₆(1mL)冲洗,加入2滴重水,样品通过¹H-NMR进行分析。

[0431] 根据以下确定顺式-PMD/糖苷比例:

[0432] -实验16.1:4.65/4.02ppm处的峰

[0433] -实验16.2:如示例7所述,由于在加到纸之前在溶液中的一些初始缩醛异构化,通过比较¹H-NMR谱4.15ppm处顺式-PMD的信号积分与5.70和5.68ppm处总缩醛信号的积分,确定顺式-PMD/总缩醛比例。

[0434] -实验16.3:4.14/4.48ppm处的峰

[0435] -实验16.4:同实验16.2

[0436] -实验16.5:4.14/4.51ppm处的峰

[0437] -实验16.6:4.14/4.50ppm处的峰

[0438] 然后使用比例差异确定PMD损耗的程度,如表XXIII所示:

[0439] 表XXIII

实验编号/ 时间	顺式-PMD/糖苷比例		16.75 小时后顺式-PMD 损耗 (%)
	2.25 小时	19 小时	
16.1	0.62	0.44	29
16.2	2.17	1.43	34
16.3	0.71	0.62	12.7
16.4 (对比)	2.22	0.71	68
16.5	0.45	0.37	18
16.6	0.48	0.37	23

[0441] 可以清楚地看到,与对照实验16.4(其中没有加入氯化钙)相比,所有糖苷的存在

均导致PMD的保留。

[0442] 因此,可以使用在糖苷配基类型(参见示例7)、糖立体化学(糖类型)和糖苷键的立体化学方面不同的广泛糖苷来维持PMD缓释效果。

[0443] 示例17:与商业Mosiguard[®]相比,Citriodiol[®]、甲基- α -吡喃葡萄糖苷、柠檬酸和氯化钙混合物的活体驱虫效果

[0444] 将白纹伊蚊饲养并保持在温度 $26 \pm 2^\circ\text{C}$ 、相对湿度 $\geq 80\% \pm 10$ 、12小时:12小时(光照:黑暗)光周期。成年蚊子群体允许以糖溶液(10%)为食,但在测试前不喂血。

[0445] 制备了以下混合物:

[0446] • 混合物1: Mosiguard[®]通过亚马逊在线购买,由Citrefine生产,根据标签含30v/v Citriodiol[®]。

[0447] • 混合物2: Citriodiol[®] (6.0g)、甲基- α -吡喃葡萄糖苷(2.2g)和柠檬酸一水合物(2.2g)用乙醇(14mL)和0.7:1 (w/v) 无水氯化钙/水溶液(2.0mL)稀释,使用热风枪温和加热。加入Kollicoat[®] SR 30D(8mL)和肉豆蔻酸异丙酯(1.2mL),得到粘稠、略微不透明的溶液。该混合物是一种不稳定的乳液,几小时后慢慢分成两相,因此在施用前需要充分摇动。

[0448] 将60 μL 混合物1涂抹在四张平行的Hemotek膜上,每张膜延伸过直径3.7cm的含羊血的金属Hemotek储器。以同样的方式用60 μL 混合物2处理另外四张膜。另一张膜未经处理。

[0449] 在使残余溶剂干燥约5分钟后,将样品连接到 37°C 的Hemotek加热器单元,使膜盖住储器加热5分钟,随后将膜暴露于5至7天大的寻找宿主的活跃雌性蚊子,使用抽吸器进行选择 and 收集,并归到 $12 \times 20\text{cm}$ 的塑料测试容器内的批次(15只雌性)中,并记录20分钟内的降落次数。

[0450] 然后将膜覆盖的储器与Hemotek加热器单元分开,并储存在 32°C 的保温箱中,以不同的时间间隔定期将其重新连接到加热的Hemotek加热器单元,如上所述确定新批次蚊子的降落情况。

[0451] 与未处理的膜相比,混合物1处理的膜在前四小时表现出明显的驱蚊驱虫作用,但在6小时后驱虫活性明显损耗。相反,混合物2处理的膜在6小时试验期内保持了一致的驱虫活性。

[0452] 可以得出的结论是,含有Citriodiol[®]、甲基- α -吡喃葡萄糖苷、柠檬酸和氯化钙的混合物比相同体积的Mosiguard[®]保持更长的持续作用时间,尽管前者Citriodiol[®]的含量更低。

[0453] 示例18:活体驱虫效果试验

[0454] 在本示例中,通过使用白纹伊蚊进行的活体笼内臂试验,对Citriodiol[®]、甲基- α -吡喃葡萄糖苷、柠檬酸和氯化钙混合物与商业Mosiguard[®]的驱虫效果进行了比较。

[0455] 采用ECHA(欧洲化学品管理局)程序(最近一次更新于2022年3月)设计测试驱虫剂的试验。在控制的气候条件下,在约 78m^3 的室体积中进行驱虫活性的评估。所有测试都采用5-10天大的未喂血雌性亚洲虎蚊进行。将这些蚊子在实验室条件下饲养:温度 $25 \pm 2^\circ\text{C}$,相对湿度 $60 \pm 5\%$,光周期为12:12小时(光照:黑暗)。在测试之前和测试期间,给蚊子喂食糖水(5%),促进他们保持良好体型。该试验由4名参与者(2名男性和2名女性,年龄19-54岁)进行。他们都签署了一份解释研究目的和程序以及他们在研究中的作用的书面知情同意书。参与者被要求在测试前12小时避免使用香料、尼古丁、酒精和驱虫剂。在施用驱虫剂之

前,用无味肥皂洗涤、用水冲洗、用70%乙醇冲洗并且然后用毛巾擦干待暴露的皮肤。进行常规AIC(笼内臂)试验(世界卫生组织,2009年和EPA,2010年)。试验前24小时准备了8个30×30×30cm的笼子(每个参与者2个),约38只蚊子的密度。

[0456] 制备了以下混合物:

[0457] • 混合物1: Mosiguard[®]通过亚马逊在线购买,由Citrefine生产,根据标签含30v/vCitriodiol[®]。

[0458] • 混合物2: Citriodiol[®] (3.0g)、甲基- α -吡喃葡萄糖苷(0.19g)和琥珀酸(2.2g)和无水氯化镁(0.07g)用无水乙醇(3.00g)、Kollicoat[®] SR 30D(2.30g)和2M氢氧化钠水溶液(0.25mL)稀释。混合物用加热枪温和加热,得到透明的粘稠液体。

[0459] 左前臂以1ml/600cm²的施用率用混合物1处理,右前臂用混合物2进行同样的处理。根据每个参与者的手臂测量值(臂围和长度),考虑暴露的面积,计算待施用的驱虫剂的用量。将每个参与者的前臂暴露于笼中蚊子,每小时暴露3分钟,持续8小时或者直到检测到驱虫活性丧失,测量驱虫活性,计算每个暴露期的降落次数。第一次暴露(T1)是混合物施用于皮肤上1小时后。

[0460] 当一只飞蚊在没有刺入或叮咬的情况下落在皮肤上时,即发生降落。当一只蚊子用口器穿透皮肤且未吸食任何血时,即发生刺入。当发生降落时,为了防止蚊子叮咬和吸食,允许参与者慢慢摇晃手臂或轻轻吹气。

[0461] 估计了每种混合物的完全保护时间(CPT)。CPT是第一次刺入时的情况,必须在相同或随后的3分钟暴露期内通过第二次刺入确认。

[0462] 随时间的降落报告在下表XXIV中:

[0463] 表XXIV

混合物	志愿者(性别)	施用混合物后的时间观察到的蚊子降落									
		1 小时	2 小时	3 小时	4 小时	5 小时	6 小时	7 小时	8 小时	9 小时	10 小时
1	1(男)	0	0	1	5	4	5	7	12	4	10
1	2(男)	0	0	0	1	4	6	5	2	0	6
1	3(女)	0	0	0	1	2	4	9	11	2	6
1	4(女)	0	0	0	0	0	1	2	12	16	10
2	1(男)	1	1	0	2	1	2	4	2	3	9
2	2(男)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	4
2	3(女)	0	0	1	0	2	2	2	3	4	4
2	4(女)	0	0	0	0	0	0	2	2	3	4

[0465] 与混合物1 (3.25小时) 相比,混合物2明显显示出更长的平均CPT (4.75小时)。统计分析表明,在相同的Citriodiol施用剂量下,混合物2的持续时间比商业Mosiguard® (混合物1) 长约50%。

[0466] 两种混合物均未观察到皮肤刺激。

[0467] 制备200g规模的不同批次的相同混合物2,并以1.4ml/600cm²的施用对其进行测试。在对10名志愿者进行的为期12小时的测试中,使用100cm²的皮肤暴露面积,每盒80只蚊子。完全保护时间为9、11、12、12、12、12、12、12、12和9小时,即平均保护时间为11小时,但如果测试时间更长,其可能会更长。

[0468] 示例19:活体驱虫效果试验

[0469] 在本示例中,通过使用白纹伊蚊进行的活体笼内臂试验,对顺式-PMD、甲基- α -吡喃葡萄糖苷、柠檬酸和氯化钙混合物与反式-PMD、甲基- α -吡喃葡萄糖苷、柠檬酸和氯化钙混合物的驱虫效果进行了比较。

[0470] 使用与示例18中所示基本上相同的程序进行笼内臂蚊子试验,不同之处在于将1.5ml的每种混合物施用到四名志愿者每个前臂的600cm²区域。

[0471] 制备了以下混合物:

[0472] • 混合物1:将顺式-PMD (3.0g)、甲基- α -吡喃葡萄糖苷 (0.64g)、琥珀酸 (0.64g) 和无水氯化镁 (0.24g) 的混合物用无水乙醇 (2.92g)、2M氢氧化钠水溶液 (0.42g)、去离子水 (1.30g) 和Kollicoat®SR 30D (0.3g) 稀释。混合物用加热枪温和加热,得到无色不透明液体。

[0473] • 混合物2:将反式-PMD (3.0g)、甲基- α -吡喃葡萄糖苷 (0.64g)、琥珀酸 (0.64g) 和无水氯化镁 (0.24g) 的混合物用无水乙醇 (2.92g)、2M氢氧化钠水溶液 (0.42g)、去离子水 (1.30g) 和Kollicoat®SR 30D (0.3g) 稀释。混合物用加热枪温和加热,得到无色不透明液体。

[0474] 随时间的降落报告在表XXV中:

[0475] 表XXV

混合物	志愿者(性别)	施用混合物后的时间观察到的蚊子降落							
		1 小时	2 小时	3 小时	4 小时	5 小时	6 小时	7 小时	8 小时
[0476]	1 (男)	1	0	0	1	0	0	0	1
	2 (男)	1	0	0	0	0	0	1	1
	3 (女)	1	0	1	1	1	1	2	1
	4 (女)	0	1	0	0	0	2	1	2
	1 (男)	0	1	0	2	1	2	4	2
	2 (男)	0	0	2	0	1	0	0	1
	3 (女)	1	1	2	0	1	3	2	9
	4 (女)	1	1	2	4	2	4	6	4

[0477] 与混合物2(1.75小时)相比,混合物1显示出更长的平均完全保护时间(4小时)。两种混合物对男性志愿者表现相似,混合物1对女性志愿者表现略好于混合物2。

[0478] 两种混合物均未观察到皮肤刺激。

[0479] 示例20:活体驱虫效果试验

[0480] 在本示例中,通过使用白纹伊蚊进行活体笼内臂试验,对含有浓度降低的顺式-PMD、顺式/反式-PMD和Citriodiol®的混合物进行模拟长期测试,与Mosiguard®的稀释溶液以及顺式-PMD和反式-PMD在无水乙醇中的对比溶液进行比较。

[0481] 本实验的目的是通过将含有降低的顺式-PMD、Citriodiol®和顺式/反式-PMD浓度但未降低的甲基- α -吡喃葡萄糖苷、琥珀酸、氯化镁或Kollicoat®SR 30D浓度的混合物与其中活性成分浓度已用乙醇稀释到类似程度的Mosiguard®、顺式-PMD和反式-PMD进行比较,模拟更长时间的驱虫效果。

[0482] 使用与示例18中所示基本上相同的程序进行笼内臂蚊子试验,不同之处在于将1.5ml的每种混合物施用到四名志愿者每个前臂的600cm²区域。

[0483] 制备了以下混合物:

[0484] • 混合物1(对比):将4ml Mosiguard®用无水乙醇(6ml)稀释。Mosiguard®通过亚马逊在线购买,由Citrefine生产,根据标签含30v/vCitriodiol®。

[0485] • 混合物2:将顺式-PMD(1.44g)、甲基- α -吡喃葡萄糖苷(1.32g)、琥珀酸(1.30g)和无水氯化镁(0.50g)的混合物用无水乙醇(9.5ml)、去离子水(5.5ml)和Kollicoat®SR 30D(1.2ml)稀释。混合物用加热枪温和加热,得到无色不透明液体。

[0486] • 混合物3:将商业顺式/反式-PMD(1.44g)、甲基- α -吡喃葡萄糖苷(1.32g)、琥珀酸(1.30g)和无水氯化镁(0.48g)的混合物用无水乙醇(8.3ml)、去离子水(1.8ml)和Kollicoat®SR 30D(4.8ml)和甘油(1.2ml)稀释。混合物用加热枪温和加热,得到粘稠液体。

[0487] • 混合物4:将Citriodiol® (1.44g)、甲基- α -吡喃葡萄糖苷 (1.32g)、琥珀酸 (1.30g) 和无水氯化镁 (0.48g) 的混合物用无水乙醇 (8.3ml)、去离子水 (1.8ml) 和Kollicoat®SR 30D (4.8ml) 和甘油 (1.2ml) 稀释。混合物用加热枪温和加热,得到粘稠液体。

[0488] • 混合物5 (对比):将顺式-PMD (0.72g) 溶解在无水乙醇 (9.6ml) 中,得到透明液体。

[0489] • 混合物6 (对比):将商业顺式/反式-PMD (0.72g) 溶解在无水乙醇 (9.6ml) 中,得到透明液体。

[0490] 随时间的降落报告在下表XXVI中:

[0491] 表XXVI

[0492]

混合物	志愿者 (性别)	施用混合物后的时间观察到的蚊子降落							
		1 小时	2 小时	3 小时	4 小时	5 小时	6 小时	7 小时	8 小时
1	1 (男)	2	8	3	5	12	15	17	28
1	2 (男)	6	3	8	5	6	20	18	19
1	3 (女)	0	0	7	10	15	16	19	38
1	4 (女)	0	0	0	0	15	23	30	26
2	1 (男)	3	0	0	0	6	7	3	4
2	2 (男)	0	1	0	0	0	0	4	2
2	3 (女)	0	3	3	4	6	7	3	4
2	4 (女)	1	0	2	0	0	0	0	0
3	1 (男)	0	1	2	1	4	2	1	5

[0493]

3	2 (男)	0	0	0	0	0	0	5	6
3	3 (女)	1	3	3	4	7	2	2	6
3	4 (女)	7	1	2	0	1	2	3	2
4	1 (男)	2	3	1	3	8	21	25	12
4	2 (男)	1	1	2	1	0	4	10	0
4	3 (女)	0	0	0	2	5	2	9	8
4	4 (女)	6	1	0	0	0	0	0	0
5	1 (男)	0	0	1	2	2	3	0	2
5	2 (男)	1	0	7	6	9	16	22	21
5	3 (女)	0	0	0	3	3	10	13	10
5	4 (女)	0	0	4	14	12	27	57	58
6	1 (男)	0	0	1	15	1	2	6	7
6	2 (男)	0	1	1	4	3	9	12	10
6	3 (女)	0	5	4	9	1	11	10	21
6	4 (女)	0	2	1	5	6	6	29	47

[0494] (对比混合物以斜体显示,本发明的混合物以粗体显示)

[0495] 与混合物5相比,混合物2的驱虫活性下降明显更慢,表明与以传统方式(在醇中)配制的相同浓度的顺式-PMD相比,根据本发明当顺式-PMD与甲基- α -吡喃葡萄糖苷、琥珀酸和氯化镁一起配制时,对顺式-PMD的活体驱虫性能产生了显著的积极影响。与混合物6相比,混合物3的驱虫活性下降明显更慢,表明与以传统方式(在醇中)配制的相同浓度的顺式/反式-PMD相比,根据本发明当顺式/反式-PMD与甲基- α -吡喃葡萄糖苷、琥珀酸和氯化镁一起配制时,对顺式/反式-PMD的活体驱虫性能产生了显著的积极影响。通常,与混合物1相比,混合物4的驱虫活性下降明显更慢,表明与以传统方式配制的相同浓度的Citriodiol®(稀释的Mosiguard®)相比,根据本发明当Citriodiol®与甲基- α -吡喃葡萄糖苷、琥珀酸和氯化镁一起配制时,对Citriodiol®的活体驱虫性能产生了显著的积极影响。

[0496] 示例21:活体驱虫效果试验

[0497] 在本示例中,通过使用白纹伊蚊进行的活体笼内臂试验,对顺式-PMD、甲基- α -吡喃葡萄糖苷、柠檬酸和氯化钙混合物在采用和不采用pH调节时的驱虫效果进行了比较。

[0498] 使用与示例18中所示基本上相同的程序进行笼内臂蚊子试验,不同之处在于将1ml的每种混合物施用到四名志愿者每个前臂的600cm²区域。

[0499] 制备了以下混合物：

[0500] • 混合物1：将顺式-PMD (1.2g)、甲基- α -吡喃葡萄糖苷 (0.64g)、琥珀酸 (0.64g) 和无水氯化镁 (0.24g) 的混合物用无水乙醇 (3.24g)、2M氢氧化钠水溶液 (0.42g)、去离子水 (2.50g) 和Kollicoat®SR 30D (0.30g) 稀释。混合物用加热枪温和加热，得到无色不透明液体。

[0501] • 混合物2：将顺式-PMD (1.2g)、甲基- α -吡喃葡萄糖苷 (0.64g)、琥珀酸 (0.64g) 和无水氯化镁 (0.24g) 的混合物用无水乙醇 (3.56g)、去离子水 (2.50g) 和Kollicoat®SR 30D (0.30g) 稀释。混合物用加热枪温和加热，得到无色不透明液体。

[0502] 随时间的降落报告在下表XXVII中：

[0503] 表XXVII

混合物	志愿者（性别）	施用混合物后的时间观察到的蚊子降落					
		1 小时	2 小时	3 小时	4 小时	5 小时	6 小时
1	1（男）	1	1	1	2	3	6
1	2（男）	8	4	6	2	5	5
1	3（女）	0	0	1	3	6	3
1	4（女）	0	3	0	2	3	2
2	1（男）	3	1	5	9	6	12
2	2（男）	4	1	6	12	10	6
2	3（女）	2	2	2	3	3	7
2	4（女）	2	7	6	13	16	12

[0505] 混合物1随时间显示出比混合物2略微降低的驱虫活性的损耗速度。

[0506] 两种混合物均未观察到皮肤刺激。

[0507] 示例22：从Citriodiol®中提取纯外消旋顺式/反式-PMD，随后外消旋顺式-PMD选择性结晶

[0508] 将Citriodiol® (30.0g) 溶解在己烷 (200ml) 中。加入乙醇 (0.10ml)，然后加入无水氯化钙 (19.3g，相对于Citriodiol®中的总PMD约1.4当量)，并在室温下剧烈搅拌混合物4小时。将混合物过滤，并用己烷 (20ml) 洗涤白色固体残留物。然后将残留物溶解在水 (100ml) 和己烷 (100ml) 的混合物中，通过分离除去水相，有机相用无水硫酸钠干燥，并在减压下通过蒸馏除去溶剂，得到外消旋顺式/反式-PMD (20.8g，基于Citriodiol®中的总PMD，回收率约99%)。通过¹H-NMR，该产品与可信的顺式/反式-PMD相同，并且含有与起始Citriodiol®基本相同的顺式/反式-比例 (约6:4顺式/反式-PMD)。也可以使用无水氯化镁代替无水氯化钙，得到基本相同的结果。

[0509] 在加热至70°C时将外消旋顺式/反式-PMD (100.0g) 溶解在乙酸乙酯 (15ml) 中。逐

滴加入己烷(30ml),将溶液冷却至室温,然后进一步冷却至15°C。继续搅拌3小时,过滤混合物,得到白色固体状的外消旋顺式-PMD(33.0g,基于起始材料中存在的顺式-PMD为约53%)。通过¹H-NMR,该材料与可信的顺式-PMD相同。

[0510] 通过使用相对于起始材料10体积的庚烷进行再结晶,获得了类似的结果。

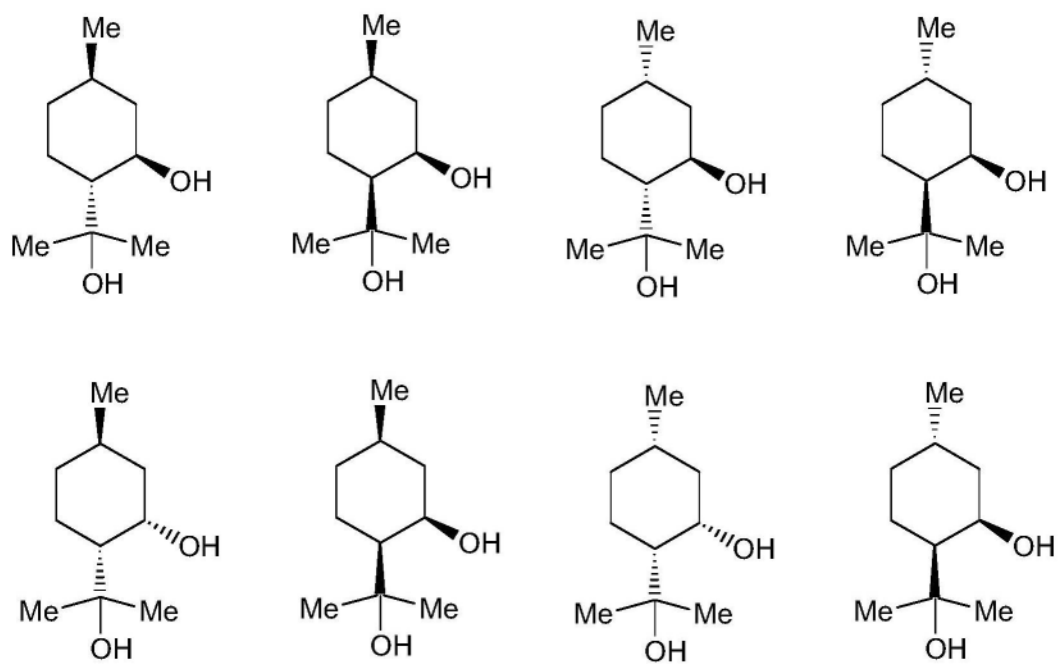


图1

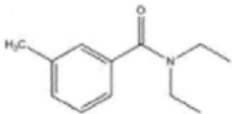
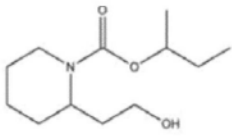
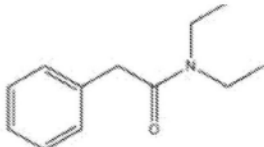
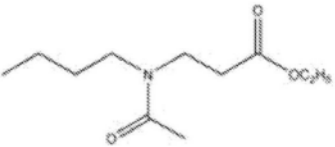
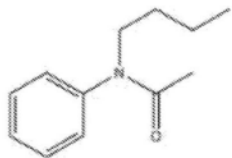
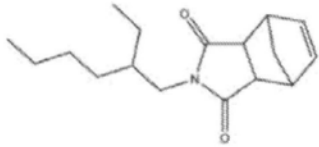
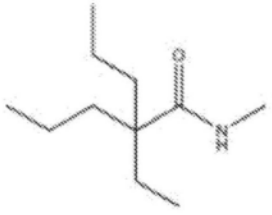
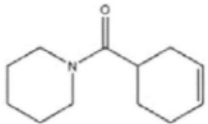
驱虫化合物	化学结构
DEET	
埃卡瑞丁（派卡瑞丁）	
DEPA	
IR3535	
N-丁基乙酰苯胺	
MGK 驱蚊剂 264	
N-甲基新癸酰胺	
AI3-35765	

图2.1

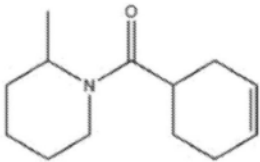
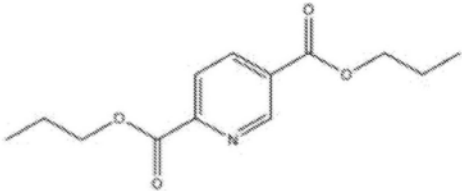
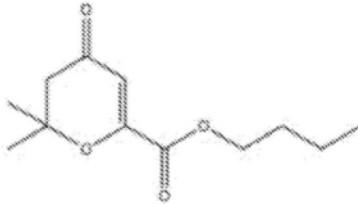
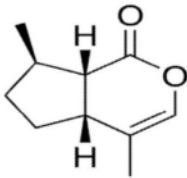
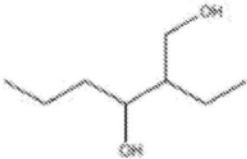
AI3-37220 (SS220)	
MGK 驱蚊剂 326	
避蚊酮	
荆芥内酯	
Rutgers 612	

图2.2