

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2015 年 5 月 21 日 (21.05.2015)



(10) 国际公布号
WO 2015/070713 A1

- (51) 国际专利分类号:
C07J 73/00 (2006.01) *A61P 29/00* (2006.01)
A61K 31/585 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2014/090148
- (22) 国际申请日: 2014 年 11 月 3 日 (03.11.2014)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
201310567630.2 2013 年 11 月 14 日 (14.11.2013) CN
- (71) 申请人: 中国药科大学 (CHINA PHARMACEUTICAL UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国江苏省南京市童家巷 24 号, Jiangsu 230601 (CN)。 合肥医工医药有限公司 (HEFEI INDUSTRIAL PHARMACEUTICAL INSTITUTE CO., LTD.) [CN/CN]; 中国安徽省合肥市桃花工业园文山路 10 号, Anhui 230601 (CN)。
- (72) 发明人: 徐云根 (XU, Yungen); 中国江苏省南京市童家巷 24 号, Jiangsu 230601 (CN)。 何广卫 (HE, Guangwei); 中国江苏省南京市童家巷 24 号, Jiangsu 230601 (CN)。 朱启华 (ZHU, Qihua); 中国江苏省南京市童家巷 24 号, Jiangsu 230601 (CN)。 杨芸 (YANG, Yun); 中国江苏省南京市童家巷 24 号, Jiangsu 230601 (CN)。 龚国清 (GONG, Guoqing); 中国江苏省南京市童家巷 24 号, Jiangsu 230601 (CN)。 储昭兴 (CHU, Zhaoxing); 中国江苏省南京市童家巷 24 号, Jiangsu 230601 (CN)。

(74) 代理人: 北京德崇智捷知识产权代理有限公司 (JW IP LAW FIRM); 中国北京市朝阳区万红西街 2 号 A 座 1010 室, Beijing 100015 (CN)。

(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

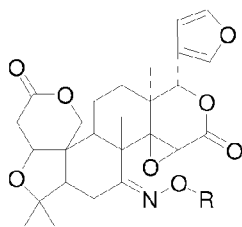
(84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

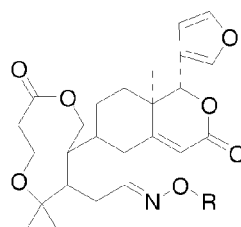
— 包括国际检索报告 (条约第 21 条(3))。

(54) Title: LIMONIN OXIME ETHER DERIVATIVES, PREPARATION METHOD AND MEDICINAL USE THEREOF

(54) 发明名称: 柠檬苦素肟醚衍生物、其制法以及医药用途



I



II

(57) Abstract: The present invention relates to the field of medicinal chemistry, and in particular relates to limonin oxime ether derivatives (I) and (II), and the preparation method and the medicinal thereof. The pharmacological experiments show that the compounds of the present invention have analgesic and anti-inflammatory effects, and can be clinically used for alleviating pain and inflammatory diseases.

(57) 摘要: 本发明涉及药物化学领域, 具体涉及柠檬苦素肟醚衍生物 (I) 和 (II)、其制法以及医药用途。药理实验证明, 本发明化合物具有镇痛和抗炎作用, 可用于临床缓解疼痛和炎症疾病。

柠檬苦素酐醚衍生物、其制法以及医药用途

技术领域

本发明涉及药物化学领域，具体涉及一类水溶性柠檬苦素及脱氧柠檬苦素酐醚衍生物，它们的制备方法、以及镇痛、抗炎、治疗类风湿性关节炎的作用。

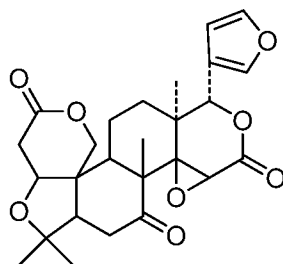
背景技术

类风湿性关节炎（RA）属于自身免疫性疾病，表现为外周关节的非特异性炎症，患病关节及其周围组织呈现进行性破坏，滑膜炎持久反复发作，可导致关节内软骨和骨的破坏，关节功能障碍，甚至残废。其患病率随着年龄的增长而逐渐增加，多数群体研究显示老年人（65岁以上）中的患病率最高，全球的发病率约为 1.0%，其中美国为 3.0%，日本为 0.3%，中国为 0.29%。女性易患本病，女性与男性罹患本病之比约 2~3:1。

现有类风湿性关节炎的治疗药物中，非甾体抗炎药较为常用，可缓解症状，但药效较弱，胃肠道副作用大；免疫抑制剂如甲氨蝶呤药效明确，作用持久，是目前治疗类风湿性关节炎的金标准，但其起效缓慢，毒性大，不良反应多且难以耐受，需长期进行血药浓度监测；生物制剂如阿达木单抗疗效明确，但价格昂贵，难以普及；小分子靶向药如托法替尼 2012 年批准上市，上市初被认为是开启类风湿性关节炎治疗药物中疗效、成本 and 安全性均符合临床要求的新型作用机制药物，但随着临床应用的深入和范围扩大，众多安全性问题逐渐显现，产品标签亦有安全黑框警告，主要为增加肿瘤、感染风险。

由于现有药物难以满足临床需求，临床上对于新型类风湿性关节炎治疗药物的需求极大，进行相关新药研究开发具有重大意义。

柠檬苦素类似物是高度氧化的四环三萜类化合物芸香科和楝科植物家族，广泛存在于柑橘类植物中。迄今已分离得到大约 300 多种柠檬苦素类似物，柠檬苦素是这类化合物中的代表。柠檬苦素易溶于脂溶性有机溶剂，在甲醇、乙醇中溶解度较大，但其几乎不溶于水，口服生物利用度极低，限制了其临床应用。

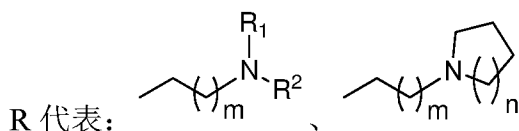
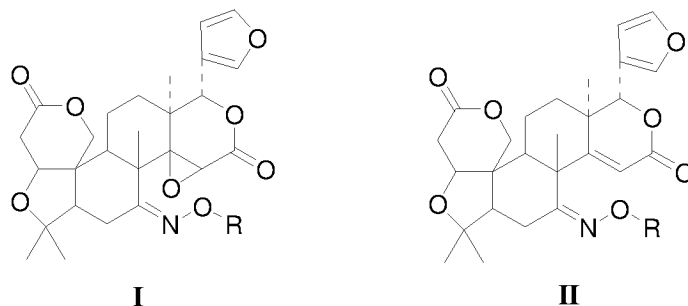


柠檬苦素

早期的研究主要是为了探寻引起柑桔果实和果汁苦味的化学物质。近年来人们主要集中在生物活性的研究上。目前，柠檬苦素类化合物已被证明具有广泛的生物活性。Matsuda 等 (Planta Medica, 1998, 64:339-342) 从疏毛吴茱萸中分离的柠檬苦素具有明显的镇痛和抗炎作用。施英等 (食品科学, 2007, 28: 515-518) 的研究证实了橘核中柠檬苦素类物质有显著的局部镇痛消炎作用。本发明的柠檬苦素类物质不仅被证明有显著的抗炎、镇痛活性，而且有明显的类风湿性关节炎的疗效。

发明内容

本发明公开了一类 I、II 通式的化合物，经药理实验显示，本发明的化合物具有较好的镇痛、抗炎活性和明显的类风湿性关节炎的疗效。因此，本发明的式 I、II 化合物临床可用于缓解疼痛并且具有消炎的作用，特别是治疗类风湿性关节炎的作用。

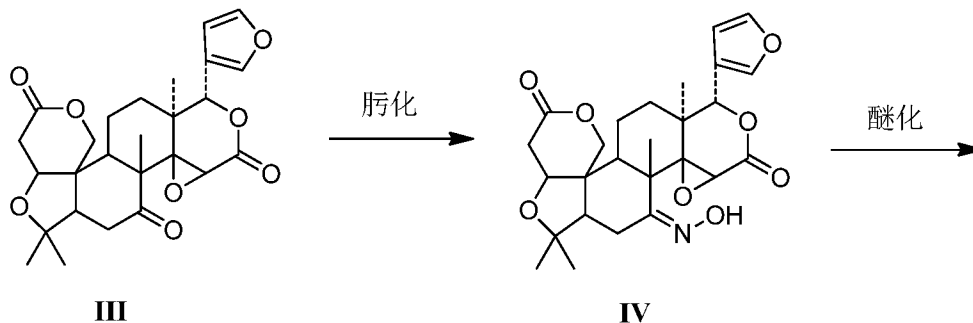


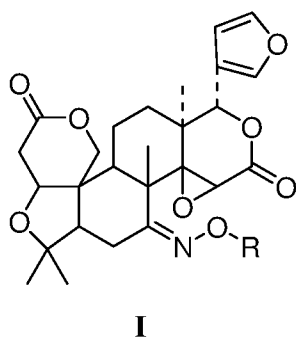
R^1, R^2 代表: $CH_3, C_2H_5, C_3H_7, CH(CH_3)_2$ 或 C_4H_9

$m = 1$ 或 2 ;

$n = 1$ 或 2 。

本发明通式化合物 I 可用下列方法制备:

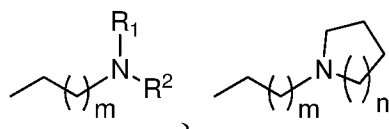




其中：

由化合物 III 经肟化制备化合物 IV 的过程，反应物为盐酸羟胺；催化剂为吡啶，三乙胺或碳酸钾；溶剂为乙醇或异丙醇。

由化合物 IV 经醚化制备化合物 I 的过程，反应物为 RX，R 代表：

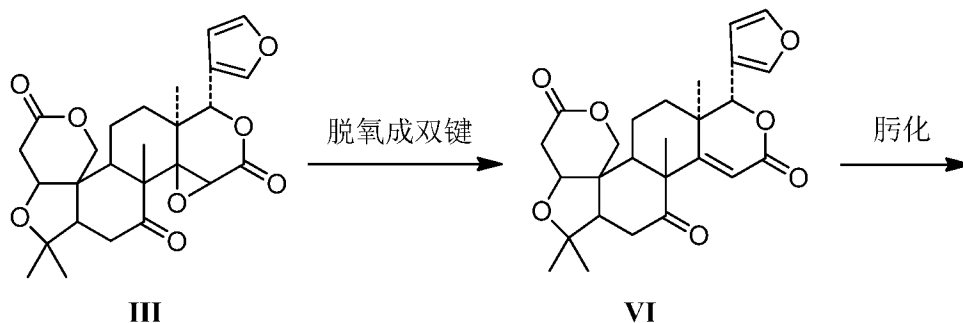


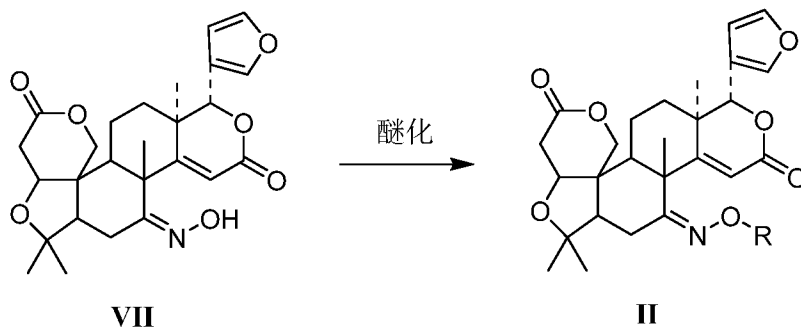
其中： R^1, R^2 代表： $CH_3, C_2H_5, C_3H_7, CH(CH_3)_2$ 或 C_4H_9 ； $m = 1$ 或 2 ； $n = 1$ 或 2

由化合物 IV 制备化合物 I 的过程，所用的碱为氢化钠，叔丁醇钾，甲醇钠，乙醇钠，氢氧化钠或氢氧化钾；催化剂为四丁基溴化铵（TBAB）或苄基三乙基氯化铵（TEBA）；活化剂为碘化钠或碘化钾；溶剂为 N,N-二甲基甲酰胺，四氢呋喃或两者的混合溶剂。

由化合物 I 经成盐制备化合物 I·HCl 的过程，反应物为饱和氯化氢的乙醚溶液、饱和氯化氢的乙醇溶液、饱和氯化氢的甲醇溶液或饱和氯化氢的乙酸乙酯溶液；溶剂为甲醇、乙醇、二氯甲烷或乙酸乙酯。

本发明通式化合物 II 可用下列方法制备：



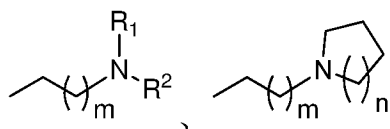


其中：

由化合物 III 经脱氧成双键制备化合物 VI 的过程，反应试剂为氢碘酸；反应溶剂为乙酸。

由化合物 VI 经肟化制备化合物 VII 的过程，反应物为盐酸羟胺；催化剂为吡啶，三乙胺或碳酸钾；溶剂为乙醇、乙腈或两者的混合溶剂。

由化合物 VII 经醚化制备化合物 II 的过程，反应物为 RX，R 代表：



其中：R¹, R² 代表：CH₃, C₂H₅, C₃H₇, CH(CH₃)₂ 或 C₄H₉；m = 1 或 2；n = 1 或 2

由化合物 VII 制备化合物 II 的过程，所用的碱为氢化钠，叔丁醇钾，甲醇钠，乙醇钠，氢氧化钠或氢氧化钾；催化剂为四丁基溴化铵或苄基三乙基氯化铵；活化剂为碘化钠或碘化钾；溶剂为 N,N-二甲基甲酰胺、四氢呋喃或两者的混合溶剂。

由化合物 II 经成盐制备化合物 II·HCl 的过程，反应物为饱和氯化氢的乙醚溶液、饱和氯化氢的乙醇溶液、饱和氯化氢的甲醇溶液或饱和氯化氢的乙酸乙酯溶液；溶剂为甲醇、乙醇、二氯甲烷或乙酸乙酯。

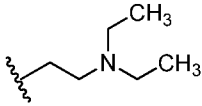
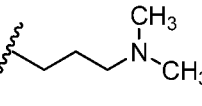
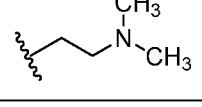
本发明化合物药学上可接受的盐具有与化合物同样的活性，其中药学上可接受的盐为通式 (I) 或 (II) 化合物与下列酸形成的酸加成盐：盐酸、氢溴酸、硫酸、碳酸、柠檬酸、琥珀酸、酒石酸、磷酸、乳酸、丙酮酸、乙酸、马来酸、甲磺酸、苯磺酸、对甲苯磺酸或阿魏酸。

以下是本发明部分化合物的药理试验及结果。其中化合物代号 I 系列（如 I-1）表示通式 I 化合物的衍生物，II 系列（如 II-1）表示通式 II 化合物的衍生物。

一、化合物的小鼠的醋酸扭体测试试验：

试验方法：

ICR 小鼠，雌雄各半，18~22g，随机分成对照组、阿司匹林组、柠檬苦素组、本发明化合物组，每组 8 只。各组灌胃给药 1h 后，给小鼠腹腔注射 0.7% 醋酸 0.1ml / 10g，立即观察并记录各组动物在 15min 内的扭体次数，然后根据下列公式计算小鼠扭体的抑制率，结果见

II-3		70	29.4±5.7	33.2
II-4		70	17.3±17.5*	60.7
II-5		70	30.8±4.8	30.0

注：*P<0.05，** P<0.01 vs.模型组。

小鼠醋酸扭体实验结果表明，腹腔注射 0.7%醋酸 0.1ml/10g 后可引起小鼠的腹腔疼痛，出现扭体反应，本发明的化合物对小鼠扭体反应均具有明显的抑制作用。

二、化合物的小鼠缩尾实验测试试验：

实验方法：

ICR 雄性小鼠，18~22g，随机分成对照组、阿司匹林组、柠檬苦素组、本发明化合物组，每组 8 只。将小鼠尾尖端 3 cm 浸入 48 °C 恒温水浴锅中，将小鼠尾尖端 3 cm 浸入 48 °C 的恒温水浴锅中，给药前测两次（间隔 5 分钟），取其平均值。各给药组分别灌胃后，测定各组灌胃后 30 分钟，60 分钟，90 分钟，120 分钟小鼠的缩尾潜伏期的变化，超过 25 秒无反应者，痛阈按 25 秒计。然后根据下列公式计算 MPE (%)。结果见图 1 和图 2。

$MPE \text{ (最大可能效应的百分比)} = 100 \times |(\text{给药后痛阈} - \text{基础痛阈}) / (\text{强制停止时间} - \text{基础痛阈})|$ 。此处的 cut-off time 定义为 25 秒，来保护小鼠尾部皮肤不受损伤。

小鼠缩尾实验结果显示本发明的化合物均能够大幅度的提升小鼠缩尾反应中的痛阈，表现出较强的镇痛活性。

三、化合物的小鼠耳肿胀实验：

实验方法：

ICR 雄性小鼠，18~22g，随机分成对照组、布洛芬组、柠檬苦素组、本发明化合物组，每组 8 只。各组灌胃给药 90 分钟后，随机分为模型组和各受试药组，每组 8 只。各组灌胃给药 90 分钟后在小鼠右耳涂二甲苯 25ul 致炎，30 分钟后拉颈处死，用 8mm 打孔器对双耳打孔，取耳称重，计算肿胀率(%)和肿胀抑制率(%)。结果见表 2。

表 2 柠檬苦素衍生物对小鼠耳肿胀的作用 ($\bar{x} \pm \text{SEM}$, n=8)

化合物	剂量 (mg/kg)	肿胀率(%)	肿胀抑制率(%)
模型	—	132.8 ± 16.3	—
布洛芬	152	79.01 ± 9.8***	40.4

柠檬苦素	100	89.3 ± 14.1**	32.7
I-1	100	60.1 ± 16.0***, #	54.8
I-2	100	62.4 ± 9.4***	53.0
I-3	100	32.6 ± 8.2***, ###	75.5
I-4	100	71.6 ± 11.2***	46.1
I-5	100	72.4 ± 13.1***	45.5
II-1	100	99.1 ± 6.1*	25.4
II-2	100	96.1 ± 3.2*	27.6
II-3	100	108.2 ± 6.3	18.4
II-4	100	97.8 ± 5.1*	36.4
II-5	100	100.2 ± 7.4*	24.6

注：*P<0.05，**P<0.01，***P<0.005 vs.模型组；#P<0.05，##P<0.01，###P<0.005 vs.柠檬苦素组。

小鼠扭体实验结果显示本发明的化合物对小耳肿胀具有明显的抑制作用。其中化合物 I-3 表现出最强活性。

四、化合物的理化性质：

理化性质包括 pKa (电离常数)，log $D_{7.4}$ (pH 7.4 时的油水分配系数) 和固体溶解度是使用 Gemini Profiler instrument (pION) 进行测定的。该仪器是根据 Avdeef 和 Tsinman 的 ‘goldstandard’ Av-deef- Bucher 电位滴定法，该测量方法符合美国食品药品监督管理局(FDA)对溶解度和 pKa 的测试要求。

对化合物 I-1~5 和 II-1~5（以盐酸盐形式测定）进行了理化性质的评价，结果见表 3。由于柠檬苦素和脱氧柠檬苦素不在仪器的测量范围内，因此采用了经典的摇瓶法进行溶解度的测定。

表 3 化合物 I-1~5 和 II-1~5 的理化性质数据

化合物	pKa	log $D_{7.4}$	固有溶解度(mg/ml)
柠檬苦素	— ^a	—	< 0.005
脱氧柠檬苦素	—	—	< 0.005
I-1	8.87	0.44	25.3
I-2	6.11	2.45	4.5

I-3	9.17	0.26	14.5
I-4	9.28	0.37	9.6
I-5	8.78	0.59	17.8
II-1	8.52	0.81	19.8
II-2	6.84	2.52	2.1
II-3	9.49	0.57	1.9
II-4	9.39	0.19	9.4
II-5	8.88	0.32	28.9

^a—: 未测定

五、化合物 I-3 盐酸盐的佐剂性关节炎模型实验:

实验方法: SD 雄性大鼠 70 只, 160~180g, 适应性饲养 3 天后, 随机分空白组、模型组、I-3 盐酸盐 10mg/kg 组、I-3 盐酸盐 20mg/kg 组、I-3 盐酸盐 40mg/kg 组、柠檬苦素 40mg/kg 组, 每组 10 只。造模前各组灌胃给药, 空白组给予生理盐水, 1 小时后除空白组外其余组大鼠右后足足垫注射 0.1ml 完全弗氏佐剂 (Complete freund adjuvant, CFA) 致炎, 以后每天给药 1 次, 给药 30 天, 造模期间于不同时间点 (造模前、6h、12h、24h、48h、72h、7 天、10 天、15 天、20 天、25 天、30 天) 检测大鼠急性炎症引起的足肿胀及继发性足肿胀、体重变化并进行关节炎评分, 结果见表 4~6。

表 4 I-3 盐酸盐对佐剂性关节炎大鼠模型关节肿胀度的影响 ($\bar{x} \pm SE$, $n=10$)

组别	剂量 (mg/kg)	肿胀度 (mL)				
		造模前	6h	12h	24h	72h
空白	-	1.52±0.12	1.54±0.09	1.53±0.06	1.53±0.05	1.52±0.04
模型	-	1.57±0.10	3.41±0.28 ^{△△}	3.39±0.32 ^{△△}	3.27±0.29 ^{△△}	3.28±0.26 ^{△△}
柠檬苦素	40	1.53±0.05	3.28±0.12	3.16±0.17	3.05±0.11	2.86±0.12 [*]
I-3 盐酸盐	10	1.56±0.07	3.21±0.15	2.97±0.23 [*]	2.90±0.17 [*]	2.86±0.09 [*]
	20	1.55±0.09	2.73±0.18 ^{**##}	2.70±0.13 ^{**##}	2.69±0.11 ^{**##}	2.64±0.10 ^{**##}
	40	1.55±0.04	2.50±0.08 ^{**##}	2.54±0.07 ^{**##}	2.46±0.04 ^{**##}	2.39±0.04 ^{**##}

(续) I-3 盐酸盐对佐剂性关节炎大鼠模型关节肿胀度的影响 ($\bar{x} \pm SE$, $n=10$)

组别	剂量 (mg/kg)	肿胀度 (mL)					
		7 天	10 天	15 天	20 天	25 天	30 天
空白	-	1.52±0.03	1.51±0.04	1.56±0.04	1.73±0.08	1.90±0.09	2.01±0.03
模型	-	3.24±0.28 ^{△△}	3.15±0.28 ^{△△}	3.24±0.24 ^{△△}	3.96±0.11 ^{△△}	4.12±0.20 ^{△△}	3.95±0.23 ^{△△}
柠檬苦素	40	2.85±0.17 ^{**}	2.80±0.09 [*]	2.98±0.13 [*]	3.14±0.10 ^{**}	3.31±0.09 ^{**}	3.15±0.19 ^{**}
	10	2.83±0.14 ^{**}	2.77±0.18 [*]	2.89±0.23 [*]	3.01±0.12 ^{**#}	3.16±0.14 ^{**#}	3.10±0.20 ^{**}
I-3 盐酸盐	20	2.59±0.12 ^{**##}	2.53±0.13 ^{**#}	2.62±0.07 ^{**##}	2.81±0.14 ^{**##}	3.07±0.10 ^{**##}	2.98±0.18 ^{**}
	40	2.32±0.06 ^{**##}	2.35±0.05 ^{**#}	2.40±0.15 ^{**##}	2.59±0.21 ^{**##}	2.71±0.17 ^{**##}	2.63±0.15 ^{**#}

注: ^{*} $P<0.05$, ^{**} $P<0.01$ vs. 模型组; ^{△△} $P<0.05$, [△] $P<0.01$ vs. 空白组; [#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$ vs. 柠檬苦素

表 5 I-3 盐酸盐对佐剂性关节炎大鼠继发性肿胀（左侧足爪）的影响（ $\bar{x} \pm SE$, n=10）

组别	剂量 (mg/kg)	肿胀度 (mL)			
		造模前	15 天	21 天	28 天
空白	-	1.52±0.04	1.54±0.07	1.75±0.04	1.97±0.05
模型	-	1.55±0.09	2.60±0.28 ^{△△}	3.04±0.14 ^{△△}	3.02±0.22 ^{△△}
柠檬苦素	40	1.51±0.05	2.36±0.18 [*]	2.75±0.16 [*]	2.60±0.14 [*]
I-3 盐酸盐	10	1.53±0.07	2.24±0.047 ^{**}	2.53±0.13 ^{**#}	2.43±0.17 ^{**#}
	20	1.55±0.09	1.97±0.14 ^{**#}	2.42±0.10 ^{**#}	2.37±0.13 ^{**#}
	40	1.55±0.05	1.76±0.07 ^{**#}	2.20±0.09 ^{**#}	2.26±0.05 ^{**#}

注: ^{*} P<0.05, ^{**} P<0.01 vs.模型组; [#] P<0.05 vs. 柠檬苦素

表 6 I-3 盐酸盐对佐剂性关节炎大鼠模型动物体重影响表（ $\bar{x} \pm SE$, n=10）

组别	剂量 (mg/kg)	体重 (g)			
		给药前	10 天	20 天	30 天
空白	-	163.5±6.3	200.5±11.3	267.6±10.2	315.3±15.2
模型	-	165.2±13.0	141.0±4.0 ^{△△}	177.5±6.8 ^{△△}	204.7±5.5 ^{△△}
柠檬苦素	40	167.2±10.2	150.6±7.0 [*]	180.4±8.8 [*]	243.7±7.5 ^{**}
I-3 盐酸盐	10	167.9±6.8	158.9±6.4 ^{##}	195.5±6.5 ^{##}	257.8±5.8 ^{**#}
	20	168.5±5.0	160.2±5.8 ^{##}	220.3±10.6 ^{**##}	270.5±12.0 ^{**##}
	40	168.2±6.8	170.3±7.7 ^{##}	240.7±13.4 ^{**##}	281.3±10.0 ^{**##}

注: ^{*} P<0.05, ^{**} P<0.01 vs. 模型组; [#] P<0.05 , ^{**} P<0.01vs. 柠檬苦素。

根据关节炎指数评分表，每只动物最高分数 16 分，结果见表 7。

表 7 I-3 盐酸盐对佐剂性关节炎大鼠模型关节指数评分 ($\bar{x} \pm SE$, $n=10$)

组别	剂量 (mg/kg)	15 天	21 天	28 天
空白	-	0	0	0
模型	-	8.98 $\pm$ 0.62	9.86 $\pm$ 0.69	9.50 $\pm$ 0.27
柠檬苦素	40	7.75 $\pm$ 0.67 [*]	8.93 $\pm$ 0.66 [*]	8.86 $\pm$ 0.57 [*]
I-3 盐酸盐	10	7.06 $\pm$ 0.37 ^{*#}	8.22 $\pm$ 0.42 ^{**#}	8.02 $\pm$ 0.48 ^{**#}
	20	6.55 $\pm$ 0.96 ^{**##}	7.26 $\pm$ 0.52 ^{**##}	7.00 $\pm$ 0.41 ^{**##}
	40	6.22 $\pm$ 0.51 ^{**##}	6.98 $\pm$ 0.42 ^{**##}	6.40 $\pm$ 0.56 ^{**##}

注: ^{*}P<0.05, ^{**}P<0.01 vs. 模型组; [#]P<0.05, ^{##}P<0.01 vs. 柠檬苦素。

佐剂性关节炎模型实验结果显示本发明的化合物 I-3 盐酸盐对 CFA 诱导的佐剂性关节炎具有显著抑制作用，各剂量组均能降低造模关节肿胀度以及继发性关节肿胀，改善关节炎指数评分，抑制关节炎引起的体重下降。I-3 盐酸盐 40mg/kg、20 mg/kg 剂量组肿胀度、体重指标和关节炎指数指标均显著优于柠檬苦素 40mg/kg 组，10mg/kg 低剂量组较柠檬苦素 40mg/kg 组的优效性主要出现在给药 15 天后。

附图说明

图 1 是柠檬苦素衍生物 I-1~5 盐酸盐对小鼠缩尾的作用

图 2 是柠檬苦素衍生物 II-1~5 盐酸盐对小鼠缩尾的作用

具体实施方式

实施例 1

化合物 IV 的制备

在 100ml 茄形瓶中加入柠檬苦素 (III) 1.0g(0.002mol)，盐酸羟胺 1.1g(0.016mol)，无水乙醇 45ml，吡啶 15ml，加热回流 2.5h。薄层层析(TLC)检测，反应完全后将待反应液冷至室温，将其倒入事先配置好的 5% 稀盐酸 125ml 中，调其 pH 为酸性，冰水冷却。水层用 50ml 二氯甲烷萃取三次，合并萃取液，饱和食盐水洗三次，无水硫酸钠干燥。过滤，减压蒸除溶剂。粗品用二氯甲烷：甲醇 (125:1) 柱层析，得白色固体 0.98g，收率 95%。mp > 250 °C; ¹HNMR (CDCl₃, 500 MHz), δ (ppm): 7.70 (1H, brs), 7.39 (2H, d, J = 1.7 Hz), 6.34

(1H, s), 5.46 (1H, s), 4.68(1H, d, $J = 13.0$ Hz), 4.36 (1H, d, $J = 13.0$ Hz), 3.99 (1H, brs), 3.81 (1H, s), 3.57 (1H, d, $J = 11.8$ Hz), 2.96 (1H, dd, $J_1 = 3.8$ Hz, $J_2 = 16.7$ Hz), 2.69 (1H, dd, $J_1 = 1.5$ Hz, $J_2 = 16.7$ Hz), 2.42 (1H, d, $J = 10.2$ Hz), 1.92 - 2.02 (2H, m), 1.74 - 1.88 (3H, m), 1.49 - 1.51 (1H, m), 1.32 (3H, s), 1.23 (3H, s), 1.19 (3H, s), 0.97 (3H, s).

实施例2

化合物I-1的制备

在50ml的茄形瓶中将0.50g (0.001 mol) IV完全溶解在25ml无水四氢呋喃中。此时加入60%氢化钠0.2g (0.005 mol)，室温搅拌30min后加入1-(2-氯乙基)哌啶盐酸盐0.55g (0.003 mol)、碘化钾0.17 (0.001 mol)及催化量的TBAB，继续室温搅拌1h后，升温至80℃反应12h。TLC检测至反应完全，冷却，减压蒸除溶剂。残留物加入100ml水，用5%稀盐酸调pH至酸性，水层用70ml二氯甲烷萃取三次，合并萃取液，饱和食盐水洗三次，无水硫酸钠干燥。过滤，减压蒸除溶剂。粗品用二氯甲烷：甲醇（75:1）柱层析，得I-1白色固体0.32g，收率54%。mp 195~198 °C; IR (KBr, ν cm⁻¹): 2932, 1746, 1561, 1414, 1021, 810; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz), δ (ppm): 7.40 (2H, d, $J = 1.6$ Hz), 6.36 (1H, s), 5.47 (1H, s), 4.67 (1H, d, $J = 13.0$ Hz), 4.33 (1H, d, $J = 13.0$ Hz), 4.24 (2H, brs), 3.96 (1H, s), 3.79 (1H, s), 3.47 (1H, dd, $J_1 = 2.6$ Hz, $J_2 = 13.1$ Hz), 2.95 (1H, dd, $J_1 = 3.8$ Hz, $J_2 = 16.8$ Hz), 2.66 (1H, d, $J = 16.6$ Hz), 2.52 (4H, brs), 2.39 (1H, d, $J = 11.3$ Hz), 1.72 - 2.02 (6H, m), 1.47 - 1.57 (8H, m), 1.30 (3H, s), 1.25 (3H, s), 1.17 (3H, s), 0.95 (3H, s); ¹³C NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 205.83, 169.38, 166.87, 158.21, 143.18, 141.01, 120.23, 109.74, 80.39, 79.29, 78.28, 72.33, 65.81, 64.78, 60.68, 57.67, 54.99, 54.29, 49.97, 46.18, 46.03, 37.99, 35.86, 33.14, 30.28, 25.92, 24.15, 21.60, 21.36, 19.78, 19.61, 18.01; HR-ESIMS m/z 597.3172 [M+H]⁺ (calcd for C₃₃H₄₅N₂O₈, 597.3170).

在25ml的茄形瓶中将0.2g I-1完全溶解在4ml二氯甲烷中，室温搅拌下缓慢滴入HCl饱和的乙醚溶液10ml，有白色固体析出，搅拌5min后，过滤，用乙醚溶液洗涤，干燥得I-1·HCl白色固体0.13g，收率65%，110℃（分解）。

实施例3

化合物I-2的制备

以化合物IV和1-(2-氯乙基)吗啉盐酸盐为原料，操作同I-1的方法，粗品用二氯甲烷：

甲醇(75:1)柱层析,得I-2白色固体0.29g,收率48%。mp 138~141 °C; IR (KBr, ν cm⁻¹): 2963, 1750, 1025, 807; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz), δ (ppm): 7.41 (2H, d, J = 4.6 Hz), 6.36 (1H, s), 5.49 (1H, s), 4.66 (1H, d, J = 13.0 Hz), 4.33 (1H, d, J = 13.0 Hz), 3.96 (1H, brs), 3.86 (4H, brs), 3.80 (1H, s), 3.45 (1H, dd, J_1 = 2.9 Hz, J_2 = 14.0 Hz), 2.95 (1H, dd, J_1 = 3.8 Hz, J_2 = 16.8 Hz), 2.67 – 2.93 (4H, brs), 2.66 (1H, dd, J_1 = 1.9 Hz, J_2 = 16.7 Hz), 2.39 (1H, d, J = 11.6 Hz), 1.73 – 2.06 (9H, m), 1.49 – 1.53 (2H, m), 1.30 (3H, s), 1.25 (3H, s), 1.17 (3H, s), 0.97 (3H, s); ¹³C NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 169.37, 166.96, 158.44, 143.20, 140.98, 120.14, 109.69, 80.35, 79.27, 78.28, 71.86, 66.88, 65.76, 64.73, 60.65, 57.38, 54.27, 54.04, 49.95, 46.14, 46.03, 37.99, 35.84, 33.09, 30.27, 21.59, 21.34, 19.78, 19.57, 17.99; HR-ESIMS m/z 599.2958 [M+H]⁺ (calcd for C₃₂H₄₃N₂O₉, 599.2963).

以化合物 I-2 为起始原料,操作同 I-1·HCl 的制备方法,得 I-2·HCl 白色固体 0.15g,收率 71%, 200°C (分解)。

实施例4

化合物I-3的制备

以化合物IV和N, N-二乙基氯乙胺盐酸盐为原料,操作同I-1的方法,粗品用二氯甲烷:甲醇(60:1)柱层析,得I-3白色固体0.25g,收率43%。mp 134~136 °C; IR (KBr, ν cm⁻¹): 2979, 2623, 1744, 1036, 809; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz), δ (ppm): 7.40 (2H, d, J = 1.6 Hz), 6.36 (1H, s), 5.47 (1H, s), 4.67 (1H, d, J = 13.0 Hz), 4.33 (1H, d, J = 13.0 Hz), 4.18 (2H, m), 3.96 (1H, brs), 3.80 (1H, s), 3.48 (1H, dd, J_1 = 2.3 Hz, J_2 = 13.8 Hz), 2.95 (1H, dd, J_1 = 3.8 Hz, J_2 = 16.7 Hz), 2.79 (2H, brs), 2.68 (4H, s), 2.65 (1H, s), 2.39 (1H, d, J = 11.6 Hz), 1.72 – 2.50 (4H, m), 1.49 – 1.53 (2H, m), 1.30 (3H, s), 1.25 (3H, s), 1.17 (3H, s), 1.08 (6H, brs), 0.95 (3H, s); ¹³C NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 169.43, 143.29, 140.98, 119.99, 109.64, 80.43, 79.18, 78.55, 65.85, 64.71, 60.52, 54.34, 50.12, 49.81, 47.22, 46.28, 46.15, 45.84, 38.13, 35.84, 32.99, 30.30, 29.71, 21.57, 21.46, 20.35, 19.62, 17.87, 8.96, 8.67; HR-ESIMS m/z 585.3165 [M+H]⁺ (calcd for C₃₂H₄₅N₂O₈, 585.3170).

以化合物 I-3 为起始原料,操作同 I-1·HCl 的制备方法,得 I-3·HCl 白色固体 0.11g,收率 52%, 78°C (收缩), 210°C (分解)。

实施例5

化合物I-4的制备

以化合物IV和N,N-二甲基-3-氯丙胺盐酸盐为原料, 操作同I-1的方法, 粗品用二氯甲烷: 甲醇(50:1)柱层析, 得I-4白色固体0.20g, 收率34%。 mp 178~180 °C; IR (KBr, ν cm⁻¹): 2961, 1743, 1025, 810; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz), δ (ppm): 7.41 (1H, s), 7.40 (1H, s), 6.36 (1H, s), 5.47 (1H, s), 4.68 (1H, d, J = 13.1 Hz), 4.34 (1H, d, J = 13.1 Hz), 4.08 – 4.11 (2H, m), 3.99 (1H, brs), 3.79 (1H, s), 3.40 – 3.48 (2H, m), 3.37 – 3.41 (7H, m), 2.93 (1H, dd, J_1 = 3.6 Hz, J_2 = 16.9 Hz), 2.67 (1H, d, J = 16.9 Hz), 2.64 – 2.66 (2H, m), 2.42 (1H, d, J = 11.3 Hz), 1.98 - 2.04 (2H, m), 1.79 – 1.90 (2H, m), 1.63 – 1.74 (1H, m), 1.43 – 1.55 (1H, m), 1.32 (3H, s), 1.26 (6H, s), 1.18 (3H, s); ¹³C NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 169.54, 167.71, 159.98, 143.27, 140.98, 120.00, 109.68, 80.29, 79.08, 78.57, 70.49, 65.88, 64.80, 60.18, 54.94, 54.31, 49.59, 46.23, 46.13, 42.88, 38.08, 35.83, 32.93, 30.21, 24.66, 21.61, 21.42, 19.89, 19.58, 17.84, 13.70; HR-ESIMS m/z 571.3012 [M+H]⁺ (calcd for C₃₁H₄₃N₂O₈, 571.3014).

以化合物 I-4 为起始原料, 操作同 I-1·HCl 的制备方法, 得 I-4·HCl 白色固体 0.16g, 收率 75%, 218°C (分解)。

实施例6

化合物I-5的制备

以化合物IV和2-氯乙基二甲胺盐酸盐为原料, 操作同I-1的方法, 粗品用二氯甲烷: 甲醇(40:1)柱层析, 得I-5白色固体0.18g, 收率31%。 mp 137~140 °C; IR (KBr, ν cm⁻¹): 2962, 1748, 1030, 810; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz), δ (ppm): 7.42 (1H, s), 7.40 (1H, t, J = 2.8 Hz), 6.36 (1H, d, J = 1.5 Hz), 5.47 (1H, s), 4.67 (1H, d, J = 21.7 Hz), 4.33 (1H, d, J = 21.8 Hz), 4.17 (2H, t, J = 9.5 Hz), 3.96 (1H, brs), 3.80 (1H, s), 3.44 - 3.51 (1H, m), 2.95 (1H, dd, J_1 = 6.3 Hz, J_2 = 27.9 Hz), 2.73 – 2.60 (3H, m), 2.40 (1H, d, J_1 = 18.4 Hz), 2.32 (6H, s), 2.15 – 2.02 (2H, m), 1.97 – 1.82 (1H, m), 1.80 – 1.69 (2H, m), 1.42 – 1.56 (1H, m), 1.29 (3H, s), 1.25 (6H, s), 1.17 (3H, s); ¹³C NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 169.62, 168.21, 162.21, 143.30, 141.02, 119.98, 109.66, 80.47, 79.18, 78.68, 67.06, 65.96, 64.79, 60.42, 55.46, 54.34, 49.76, 46.37, 46.11, 44.29, 42.83, 38.17, 35.87, 32.91, 30.29, 24.46, 21.59, 21.47, 20.67, 19.57, 17.83, 13.92; HR-ESIMS m/z 557.2845 [M+H]⁺ (calcd for C₃₀H₄₁N₂O₈, 557.2857).

以化合物 I-5 为起始原料, 操作同 I-1·HCl 的制备方法, 得 I-5·HCl 白色固体 0.18g, 收率 84%, 98°C (收缩)。

实施例7

化合物VI的制备

在 250ml 的茄形瓶中将依次加入柠檬苦素 4g (0.009 mol), 70ml 氢碘酸和 70ml 醋酸, 在 60°C 反应。TLC 跟踪至反应完全, 待反应液冷却后缓慢倒入 400ml 饱和亚硫酸钠溶液中, 用 150ml 二氯甲烷萃取三次, 合并萃取液, 分别用饱和碳酸氢钠溶液, 饱和食盐水各洗二次, 无水硫酸钠干燥。过滤, 减压蒸除溶剂。粗品用乙腈和水重结晶, 得白色或淡黄色晶体 2.7g, 收率 70%。mp > 250 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz), δ (ppm): 7.50 (1H, s), 7.45 (1H, s), 6.85 (1H, s), 6.42 (1H, d, *J* = 0.95 Hz), 5.01 (1H, s), 4.63 (2H, dd, *J*₁ = 13.1 Hz, *J*₂ = 56.0 Hz), 4.11 (1H, brs), 2.98 (1H, dd, *J*₁ = 3.6 Hz, *J*₂ = 16.9 Hz), 2.82 (1H, t, *J* = 16.0 Hz), 2.65 (1H, dd, *J*₁ = 1.95 Hz, *J*₂ = 16.9 Hz), 2.61 (1H, dd, *J*₁ = 3.8 Hz, *J*₂ = 16.1 Hz), 2.54 (1H, q, *J* = 7.4 Hz), 2.31 (1H, dd, *J*₁ = 3.7 Hz, *J*₂ = 15.8 Hz), 2.03 - 2.13 (1H, m), 1.81 - 1.91 (1H, m), 1.54 - 1.65 (1H, m), 1.42 (3H, s), 1.31 (3H, s), 1.26 (3H, s), 1.20 (3H, s); MS(ESI(-)70V, m/z): 455.2 ([M+H]⁺)

实施例8

化合物 VII 的制备

在 100ml 茄形瓶中加入化合物 VI 1.0g (0.002mol), 盐酸羟胺 1.1g (0.016mol), 无水乙醇 20ml, 乙腈 20ml, 吡啶 15ml, 加热回流 24h。TLC 跟踪至反应完全, 待反应液冷至室温, 将其倒入事先配置好的 5% 稀盐酸 125ml 中, 调 pH 为酸性, 冰水冷却。水层用 50ml 二氯甲烷萃取三次, 合并萃取液, 并用饱和食盐水洗三次, 无水硫酸钠干燥。过滤, 减压蒸除溶剂。粗品用二氯甲烷: 甲醇 (125:1) 柱层析, 得白色固体 0.60g, 收率 58%。248 °C (碳化)。¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz), δ (ppm): 7.75 (1H, brs), 7.50 (1H, s), 7.43 (1H, s), 6.72 (1H, s), 6.41 (1H, d, *J* = 1.05 Hz), 5.10 (1H, s), 4.47 (2H, dd, *J*₁ = 13.0 Hz, *J*₂ = 46.3 Hz), 4.06 (1H, brs), 3.33 (1H, dd, *J*₁ = 4.8 Hz, *J*₂ = 22.0 Hz), 2.93 (1H, dd, *J*₁ = 3.6 Hz, *J*₂ = 10.5 Hz), 2.63 (1H, dd, *J*₁ = 2.3 Hz, *J*₂ = 16.8 Hz), 2.41 (1H, q, *J* = 5.7 Hz), 2.31 (1H, dd, *J*₁ = 14.9 Hz, *J*₂ = 17.1 Hz), 1.96 - 2.13 (1H, m), 1.78 - 1.86 (1H, m), 1.51 - 1.68 (1H, m), 1.47 (3H, s), 1.33 (3H, s), 1.28 (3H, s), 1.20 (3H, s); MS(ESI(-)70V, m/z): 470.2 ([M+H]⁺)

实施例 9

化合物 II-1 的制备

以化合物 VII 和 1-(2-氯乙基)哌啶盐酸盐为原料, 操作同 I-1 的方法, 粗品用二氯甲烷: 甲醇 (100:1) 柱层析, 得 II-1 白色固体 0.38g, 收率 62%。230 °C (碳化)。IR (KBr, ν cm⁻¹): 2937, 1754, 1721, 1039, 874; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz), δ (ppm): 7.51 (1H, s), 7.44 (1H, d, J = 1.5 Hz), 6.77 (1H, s), 6.42 (1H, s), 5.02 (1H, s), 4.45 (2H, dd, J_1 = 12.9 Hz, J_2 = 41.2 Hz), 4.33 (2H, t, J = 5.9 Hz), 4.07 (1H, s), 3.20 (1H, dd, J_1 = 5.0 Hz, J_2 = 17.6 Hz), 2.93 (1H, dd, J_1 = 3.5 Hz, J_2 = 16.8), 2.72 (2H, brs), 2.63 (1H, dd, J_1 = 2.3 Hz, J_2 = 16.8 Hz), 2.52 (4H, brs), 2.43 (1H, dd, J_1 = 6.5 Hz, J_2 = 13.1 Hz), 2.35 (1H, dd, J_1 = 14.9 Hz, J_2 = 17.5 Hz), 1.94 – 2.10 (2H, m), 1.82 (1H, m), 1.57 – 1.73 (5H, m), 1.43 - 1.56 (3H, m), 1.49 (3H, s), 1.31 (3H, s), 1.30 (3H, s), 1.20 (3H, s); ¹³C NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 169.68, 168.92, 165.21, 158.74, 143.14, 141.47, 119.98, 116.89, 109.98, 93.97, 82.31, 81.17, 78.17, 72.32, 64.73, 57.84, 57.67, 55.06, 46.14, 45.81, 45.56, 38.79, 35.68, 30.73, 29.02, 26.57, 25.86, 24.12, 22.13, 21.99, 21.85, 21.53, 19.01, 18.19; HR-ESIMS m/z 581.3210 [M+H]⁺ (calcd for C₃₃H₄₅N₂O₇, 581.3221).

以化合物 II-1 为起始原料, 操作同 I-1·HCl 的方法, 得 II-1·HCl 白色固体 0.19g, 收率 90%, 108 °C (分解)。

实施例 10

化合物 II-2 的制备

以化合物 VII 和 1-(2-氯乙基)吗啉盐酸盐为原料, 操作同 I-1 的方法, 粗品用二氯甲烷: 甲醇 (70:1) 柱层析, 得 II-2 白色固体 0.28g, 收率 45%。210 °C (碳化)。IR (KBr, ν cm⁻¹): 2961, 1751, 1719, 1036, 871; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz), δ (ppm): 7.52 (1H, s), 7.45 (1H, t, J = 1.6 Hz), 6.75 (1H, s), 6.43 (1H, d, J = 1.0 Hz), 5.03 (1H, s), 4.46 (2H, dd, J_1 = 12.9 Hz, J_2 = 42.2 Hz), 4.34 (2H, brs), 4.07 (1H, t, J = 2.7 Hz), 3.77 (4H, brs), 3.22 (1H, dd, J_1 = 4.4 Hz, J_2 = 17.3 Hz), 2.94 (1H, dd, J_1 = 3.5 Hz, J_2 = 16.9 Hz), 2.76 (2H, brs), 2.63 (2H, dd, J_1 = 2.4 Hz, J_2 = 16.9 Hz), 2.59 (2H, brs), 2.44 (1H, dd, J_1 = 6.6 Hz, J_2 = 13.0 Hz), 2.34 (1H, dd, J_1 = 14.9 Hz, J_2 = 17.4 Hz), 1.95 – 2.10 (2H, m), 1.77 – 1.88 (1H, m), 1.63 – 1.74 (2H, m), 1.51 – 1.61 (1H, m), 1.50 (3H, s), 1.31 (3H, s), 1.3 (3H, s), 1.20 (3H, s); ¹³C NMR (CDCl₃, 300 MHz),

δ (ppm): 169.56, 168.75, 165.16, 143.12, 141.43, 119.90, 117.02, 109.93, 82.29, 81.07, 78.17, 71.75, 66.74, 65.85, 64.70, 57.70, 57.55, 53.96, 46.09, 45.81, 45.62, 38.75, 35.62, 30.69, 28.89, 26.55, 22.07, 21.86, 21.40, 18.15, 15.28; HR-ESIMS m/z 583.3001 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{32}H_{43}N_2O_8$, 583.3014).

以化合物 II-2 为起始原料, 操作同 I-1·HCl 的方法, 得 II-2·HCl 白色固体 0.14g, 收率 66%, 82°C (收缩), 158°C (分解)。

实施例 11

化合物 II-3 的制备

以化合物 VII 和 N, N-二乙基氯乙胺盐酸盐为原料, 操作同 I-1 的方法, 粗品用二氯甲烷: 甲醇 (50:1) 柱层析, 得 II-3 白色固体 0.32g, 收率 53%。mp 176~178 °C; IR (KBr, ν cm^{-1}): 2969, 1758, 1721, 1041, 877; 1H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz), δ (ppm): 7.51 (1H, s), 7.44 (1H, s), 6.80 (1H, s), 6.42 (1H, s), 5.03 (1H, s), 4.44 (2H, dd, $J_1 = 12.9$ Hz, $J_2 = 39.2$ Hz), 4.26 (2H, t, $J = 6.0$ Hz), 4.07 (1H, s), 3.21 (1H, dd, $J_1 = 4.9$ Hz, $J_2 = 17.7$ Hz), 2.93 (1H, dd, $J_1 = 3.3$ Hz, $J_2 = 16.8$ Hz), 2.75 – 2.86 (2H, m), 2.57 – 2.71 (5H, m), 2.44 (1H, dd, $J_1 = 6.5$ Hz, $J_2 = 13.0$ Hz), 2.30 – 2.40 (1H, m), 1.94 – 2.08 (2H, m), 1.75 – 1.87 (2H, m), 1.65 – 1.72 (1H, m), 1.49 (3H, s), 1.30 (3H, s), 1.30 (3H, s), 1.19 (3H, s), 1.08 (6H, t, $J = 7.1$ Hz); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 300 MHz), δ (ppm): 169.61, 168.92, 165.14, 158.48, 143.05, 141.39, 119.90, 116.72, 109.90, 82.22, 81.11, 78.09, 73.06, 64.62, 57.50, 51.45, 47.91, 46.06, 45.68, 45.41, 38.72, 35.60, 30.65, 29.05, 26.46, 22.06, 21.94, 21.49, 18.11, 11.85; HR-ESIMS m/z 569.3217 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{32}H_{45}N_2O_7$, 569.3221).

以化合物 II-3 为起始原料, 操作同 I-1·HCl 的方法, 得 II-3·HCl 白色固体 0.15g, 收率 71%, 182°C (分解)。

实施例 12

化合物 II-4 的制备

以化合物 VII 和 N,N-二甲基-3-氯丙胺盐酸盐为原料, 操作同 I-1 的方法, 粗品用二氯甲烷: 甲醇 40:1 柱层析, 得 II-4 白色固体 0.25g, 收率 42%。220 °C (碳化)。IR (KBr, ν cm^{-1}): 2927, 1751, 1718, 1040, 874; 1H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz), δ (ppm): 7.50 (1H, s), 7.43 (1H, s), 6.79 (1H, s), 6.41 (1H, s), 5.01 (1H, s), 4.44 (2H, dd, $J_1 = 12.8$ Hz, $J_2 = 39.1$ Hz), 4.29 – 4.14

(2H, m), 4.06 (1H, brs), 3.18 (1H, dd, $J_1 = 5.0$ Hz, $J_2 = 17.7$ Hz), 2.92 (1H, dd, $J_1 = 3.4$ Hz, $J_2 = 16.8$ Hz), 2.62 (1H, dd, $J_1 = 2.0$ Hz, $J_2 = 16.8$ Hz), 2.30 – 2.52 (4H, m), 2.27 (6H, s), 1.99 – 2.02 (2H, m), 1.85 – 1.93 (2H, m), 1.75 – 1.84 (1H, m), 1.63 – 1.73 (2H, m), 1.48 (3H, s), 1.30 (3H, s), 1.28 (3H, s), 1.19 (3H, s); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 300 MHz), δ (ppm): 169.65, 169.07, 165.23, 158.37, 143.10, 141.43, 119.94, 116.68, 109.94, 82.29, 81.15, 78.14, 72.79, 64.65, 59.11, 57.55, 56.28, 46.11, 45.72, 45.42, 45.30, 38.77, 35.65, 30.71, 29.14, 27.42, 26.47, 24.19, 22.11, 21.84, 21.52, 19.80, 18.14, 15.28, 13.69; HR-ESIMS m/z 555.3056 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{43}\text{N}_2\text{O}_7$, 555.3065).

以化合物 II-4 为起始原料, 操作同 I-1·HCl 的方法, 得 II-4·HCl 白色固体 0.12g, 收率 56%, 200°C (分解)。

实施例 13

化合物 II-5 的制备

以化合物 VII 和 2-氯乙基二甲胺盐酸盐为原料, 操作同 I-1 的方法, 粗品用二氯甲烷: 甲醇 (25:1) 柱层析, 得 II-5 白色固体 0.15g, 收率 26%。210 °C (碳化)。IR (KBr, ν cm^{-1}): 2966, 1758, 1720, 1039, 871; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz), δ (ppm): 7.52 (1H, s), 7.44 (1H, t, $J = 1.6$ Hz), 6.80 (1H, s), 6.42 (1H, s), 5.03 (1H, s), 4.45 (2H, dd, $J_1 = 12.9$ Hz, $J_2 = 41.8$ Hz), 4.29 (2H, t, $J = 5.7$ Hz), 4.07 (1H, s), 3.23 (1H, dd, $J_1 = 5.0$ Hz, $J_2 = 17.7$ Hz), 2.93 (1H, dd, $J_1 = 3.5$ Hz, $J_2 = 16.8$ Hz), 2.70 (2H, t, $J = 5.3$ Hz), 2.63 (1H, dd, $J_1 = 2.4$ Hz, $J_2 = 16.8$ Hz), 2.40 – 2.47 (1H, m), 2.37 (1H, m), 2.36 (6H, s), 1.95 – 2.07 (2H, m), 1.77 – 1.87 (1H, m), 1.70 (2H, m), 1.50 (3H, s), 1.30 (3H, s), 1.30 (3H, s), 1.19 (3H, s); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 300 MHz), δ (ppm): 169.64, 168.95, 165.17, 158.73, 143.06, 141.39, 119.91, 116.74, 109.91, 82.24, 81.13, 78.08, 72.29, 64.65, 59.26, 58.33, 57.51, 46.06, 45.85, 45.69, 45.47, 38.72, 35.62, 30.65, 29.02, 26.47, 24.30, 22.10, 21.99, 21.48, 19.78, 18.11, 13.69; HR-ESIMS m/z 541.2897 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{41}\text{N}_2\text{O}_7$, 541.2908).

以化合物 II-5 为起始原料, 操作同 I-1·HCl 的方法, 得 II-5·HCl 白色固体 0.14g, 收率 66%, 152°C (收缩), 201°C (分解)。

实施例 14

化合物 I-3·对甲苯磺酸的制备

在 25ml 的茄形瓶中将化合物 I-3(200mg, 0.34 mmol)完全溶解在 5ml 乙酸乙酯中, 室温搅拌下缓慢滴入对甲苯磺酸(65.6 mg, 0.38 mmol)与 2ml 乙酸乙酯组成的溶液, 有白色固体析出, 5℃左右搅拌 2 小时, 过滤, 固体用乙醚洗涤, 干燥得 I-3·对甲苯磺酸白色固体 0.22g, 收率 84.9%, m.p.142~144℃, HPLC: 99.09%。

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 10.75 (s, 1H), 7.75 (d, $J=7.9$ Hz, 2H), 7.41 (s, 2H), 7.18 (d, $J=7.8$ Hz, 2H), 6.35 (s, 1H), 5.51 (s, 1H), 4.57 (d, $J=13.0$ Hz, 1H), 4.54–4.48 (m, 1H), 4.28 (dd, $J_1=3.0$ Hz, $J_2=7.5$ Hz, 2H), 3.94 (s, 1H), 3.77 (s, 1H), 3.72–3.57 (m, 1H), 3.40 (d, $J=12.0$ Hz, 2H), 3.33 (dd, $J_1=6.7$ Hz, $J_2=4.9$ Hz, 2H), 3.27–3.18 (m, 2H), 2.93 (dd, $J_1=16.8$ Hz, $J_2=3.5$ Hz, 1H), 2.65 (d, $J=16.6$ Hz, 1H), 2.36 (s, 3H), 1.99 (d, $J=14.4$ Hz, 1H), 1.95–1.69 (m, 6H), 1.44 (t, $J=7.2$ Hz, 3H), 1.38 (t, $J=7.2$ Hz, 3H), 1.29 (s, 3H), 1.23 (s, 3H), 1.14 (s, 3H), 0.90 (s, 3H).

实施例 15

化合物 I-3·D-樟脑磺酸的制备

在 25ml 的茄形瓶中将化合物 I-3(200mg, 0.34 mmol)完全溶解在 5ml 乙酸乙酯中, 室温搅拌下缓慢滴入 D-樟脑磺酸(83.5 mg, 0.36 mmol) 与 2ml 乙酸乙酯组成的溶液, 室温搅拌 20 分钟后, 缓慢滴加 10ml 无水乙醚, 搅拌过夜后, 有固体析出, 抽滤, 固体用乙醚洗涤, 干燥得 I-3·D-樟脑磺酸白色固体 0.25g, 收率 89.5%, m.p. >240℃, HPLC: 99.34%。

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 10.87 (s, 1H), 7.42 (s, 2H), 6.36 (s, 1H), 5.51 (s, 1H), 4.73 (d, $J=13.0$ Hz, 1H), 4.65–4.55 (m, 1H), 4.34 (d, $J=18.5$ Hz, 2H), 3.97 (s, 1H), 3.73 (s, 1H), 3.59–3.49 (m, 1H), 3.46 (d, $J=14.8$ Hz, 1H), 3.37–3.26 (m, 5H), 2.95 (dd, $J_1=16.8$ Hz, $J_2=3.4$ Hz, 1H), 2.84 (d, $J=14.6$ Hz, 1H), 2.68 (t, $J=13.3$ Hz, 2H), 2.40 (d, $J=11.4$ Hz, 1H), 2.32 (d, $J=18.2$ Hz, 1H), 2.12 (t, $J=14.7$ Hz, 1H), 2.04 (d, $J=16.6$ Hz, 2H), 1.98 (s, 2H), 1.94–1.70 (m, 6H), 1.40 (dd, $J_1=11.9$ Hz, $J_2=6.9$ Hz, 6H), 1.31 (s, 3H), 1.24 (s, 3H), 1.18 (s, 3H), 1.10 (s, 3H), 0.99 (s, 3H), 0.84 (s, 3H).

实施例 16

化合物 I-3·L-(+)-酒石酸的制备

在 25 mL 的茄形瓶中将化合物 I-3 (200mg, 0.34 mmol)完全溶解在 5ml 乙酸乙酯中,

室温搅拌下缓慢滴入 L-(+)-酒石酸(54mg, 0.36mmol)溶于 1ml 乙醇所得的溶液, 有固体析出, 室温搅拌 20 分钟后, 抽滤, 固体用乙酸乙酯洗涤, 干燥得 I-3·酒石酸白色固体 0.24g, 收率 95.5%, m.p.124~126°C, HPLC: 99.32%。

^1H NMR (500 MHz, MeOD) δ 7.52 (d, $J=14.9$ Hz, 2H), 6.45 (s, 1H), 5.56 (s, 1H), 4.89 (d, $J=13.2$ Hz, 1H), 4.46 (d, $J=13.1$ Hz, 1H), 4.39 (s, 2H), 4.33 (d, $J=8.6$ Hz, 1H), 4.16–4.06 (m, 2H), 3.82 (s, 1H), 3.55 (d, $J=11.3$ Hz, 1H), 3.52–3.46 (m, 1H), 3.42 (d, $J=19.8$ Hz, 2H), 2.90 (d, $J=16.5$ Hz, 1H), 2.80 (d, $J=16.6$ Hz, 1H), 2.50 (d, $J=10.3$ Hz, 1H), 2.33 (t, $J=14.6$ Hz, 1H), 2.05 (d, $J=14.9$ Hz, 1H), 2.01 (s, 1H), 1.96–1.77 (m, 3H), 1.52 (dd, $J_1=22.9$ Hz, $J_2=9.4$ Hz, 1H), 1.34 (t, $J=7.2$ Hz, 6H), 1.26 (s, 6H), 1.23 (d, $J=7.1$ Hz, 1H), 1.18 (d, $J=7.0$ Hz, 1H), 1.16 (s, 3H), 1.00 (s, 3H).

实施例 17

化合物 I-3·马来酸的制备

在 25ml 的茄形瓶中将化合物 I-3(200mg, 0.34mmol)完全溶解在 5ml 乙酸乙酯中, 室温搅拌下缓慢滴入马来酸(42mg, 0.36mmol)与 2ml 乙酸乙酯组成的溶液, 室温搅拌 2h 后, 无固体析出, 缓慢滴加 20ml 无水乙醚, 有固体析出, 继续搅拌 30 分钟, 抽滤, 固体用乙醚洗涤, 干燥得 I-3·马来酸白色固体 0.22g, 收率 91.7%, m.p.66-68°C, HPLC: 99.1%。

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 10.75 (s, 1H), 7.75 (d, $J=7.9$ Hz, 2H), 7.41 (s, 2H), 7.18 (d, $J=7.8$ Hz, 2H), 6.35 (s, 1H), 5.51 (s, 1H), 4.57 (d, $J=13.0$ Hz, 1H), 4.54–4.48 (m, 1H), 4.28 (dd, $J_1=13.0$ Hz, $J_2=7.5$ Hz, 2H), 3.94 (s, 1H), 3.77 (s, 1H), 3.72–3.57 (m, 1H), 3.40 (d, $J=12.0$ Hz, 2H), 3.33 (dd, $J_1=6.7$ Hz, $J_2=4.9$ Hz, 2H), 3.28–3.23 (m, 2H), 2.93 (dd, $J_1=16.8$ Hz, $J_2=3.5$ Hz, 1H), 2.65 (d, $J=16.6$ Hz, 1H), 2.36 (s, 3H), 1.99 (d, $J=14.4$ Hz, 1H), 1.95–1.69 (m, 6H), 1.44 (t, $J=7.2$ Hz, 3H), 1.38 (t, $J=7.2$ Hz, 3H), 1.29 (s, 3H), 1.23 (s, 3H), 1.14 (s, 3H), 0.90 (s, 3H).

实施例 18

化合物 I-3·柠檬酸的制备

在 25ml 的茄形瓶中将化合物 I-3(300mg, 0.51mmol)完全溶解在 5ml 乙酸乙酯中, 室温搅拌下缓慢滴入柠檬酸(113mg, 0.59mmol)与 2ml 乙酸乙酯组成的溶液, 有固体析出,

搅拌 30 分钟, 抽滤, 固体用乙酸乙酯洗涤, 干燥得 I-3·柠檬酸白色固体 0.36g, 收率 90.3%, HPLC: 99.49%。

^1H NMR (500 MHz, MeOD) δ 7.52 (d, $J=14.1$ Hz, 2H), 6.44 (s, 1H), 5.57 (s, 1H), 5.48 (s, 2H), 4.49–4.25 (m, 3H), 4.13 (s, 1H), 3.81 (s, 1H), 3.57 (s, 1H), 3.43 (d, $J=11.2$ Hz, 2H), 2.90 (d, $J=16.5$ Hz, 1H), 2.82 (d, $J=15.2$ Hz, 3H), 2.74 (d, $J=15.5$ Hz, 2H), 2.62 (s, 1H), 2.50 (d, $J=10.6$ Hz, 1H), 2.33 (t, $J=14.5$ Hz, 1H), 2.18 (s, 1H), 2.05 (d, $J=13.9$ Hz, 1H), 1.89 (dd, $J_1=26.1$ Hz, $J_2=12.1$ Hz, 4H), 1.52 (d, $J=13.6$ Hz, 2H), 1.35 (t, $J=6.7$ Hz, 6H), 1.26 (d, $J=8.7$ Hz, 9H), 1.16 (s, 3H), 1.00 (s, 3H).

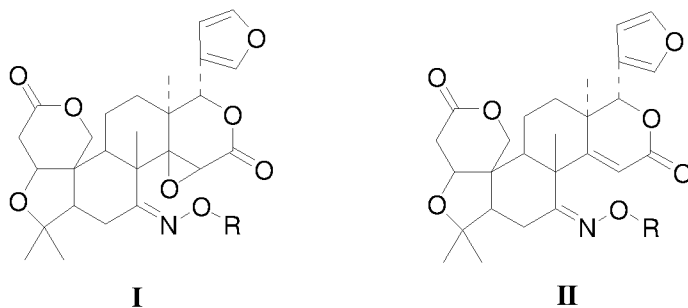
实施例 19

片剂

取实施例 2 中所得化合物 0.5g, 淀粉 2g, 糊精 1g 混合, 用适量 30%乙醇作湿润剂, 制粒, 压片。

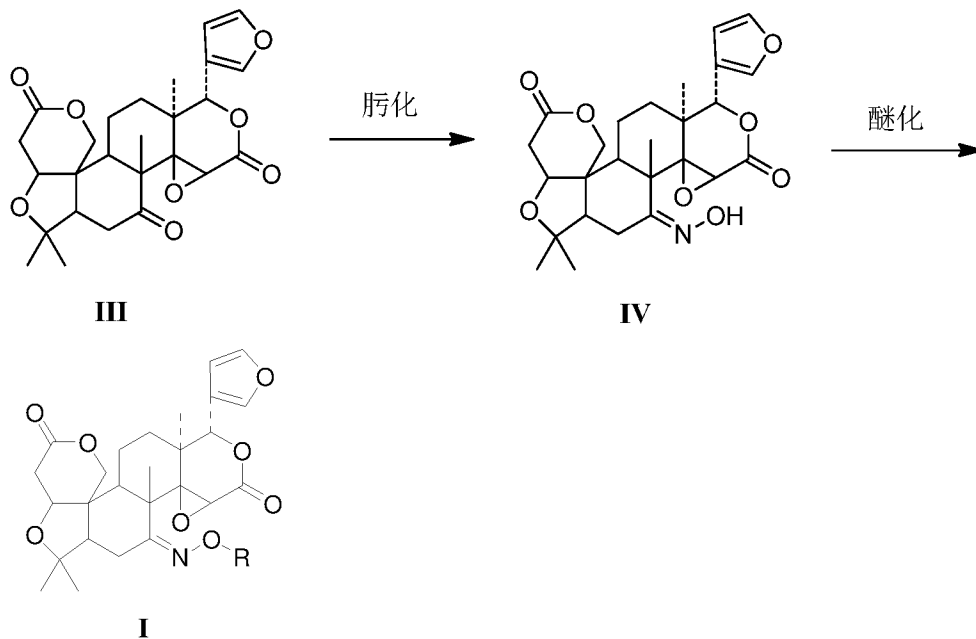
权 利 要 求 书

1、通式 (I) 或 (II) 的化合物或其药学上可接受的盐:



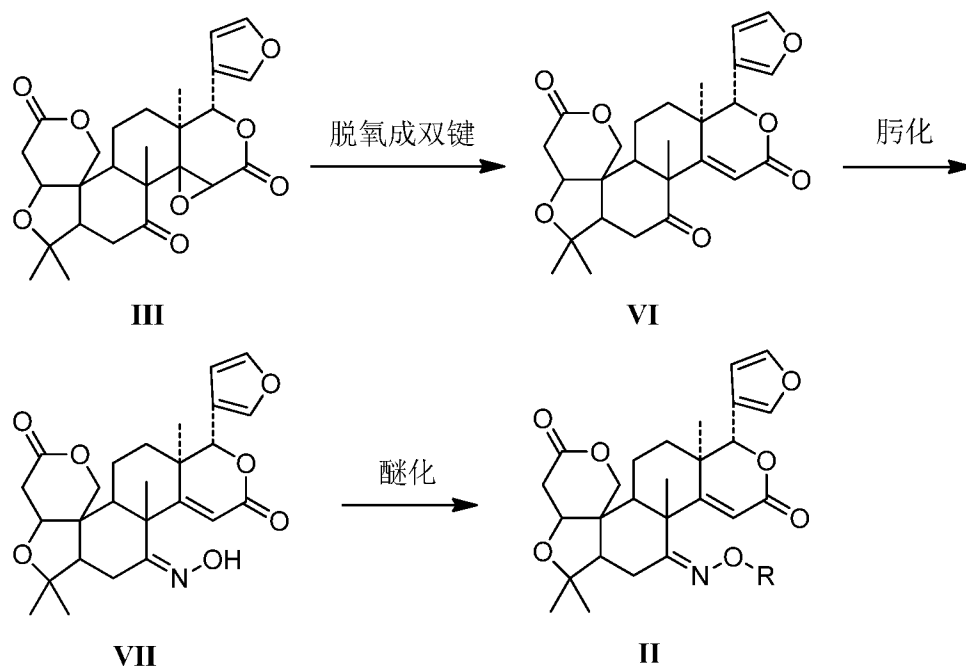
其中: R 代表: 或
 R^1 、 R^2 代表: CH_3 、 C_2H_5 、 C_3H_7 、 $CH(CH_3)_2$ 或 C_4H_9 ;
 $m = 1$ 或 2 ;
 $n = 1$ 或 2 。

2、权利要求 1 中通式 (I) 化合物的制备方法, 包括:



其中 R 的定义同权利要求 1。

3、权利要求 1 中通式 (II) 化合物的制备方法, 包括:



其中 R 的定义同权利要求 1。

4、权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐，其中药学上可接受的盐为权利要求 1 的通式 (I) 或 (II) 化合物与下列酸形成的酸加成盐：盐酸、氢溴酸、硫酸、碳酸、柠檬酸、琥珀酸、酒石酸、磷酸、乳酸、丙酮酸、乙酸、马来酸、甲磺酸、苯磺酸、对甲苯磺酸或阿魏酸。

5、一种药物组合物，其中含有权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐及药学上可接受的载体。

6、权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐在制备镇痛药物中的用途。

7、权利要求 1 的化合物或其药学上可接受的盐在制备抗炎药物中的用途。

附图

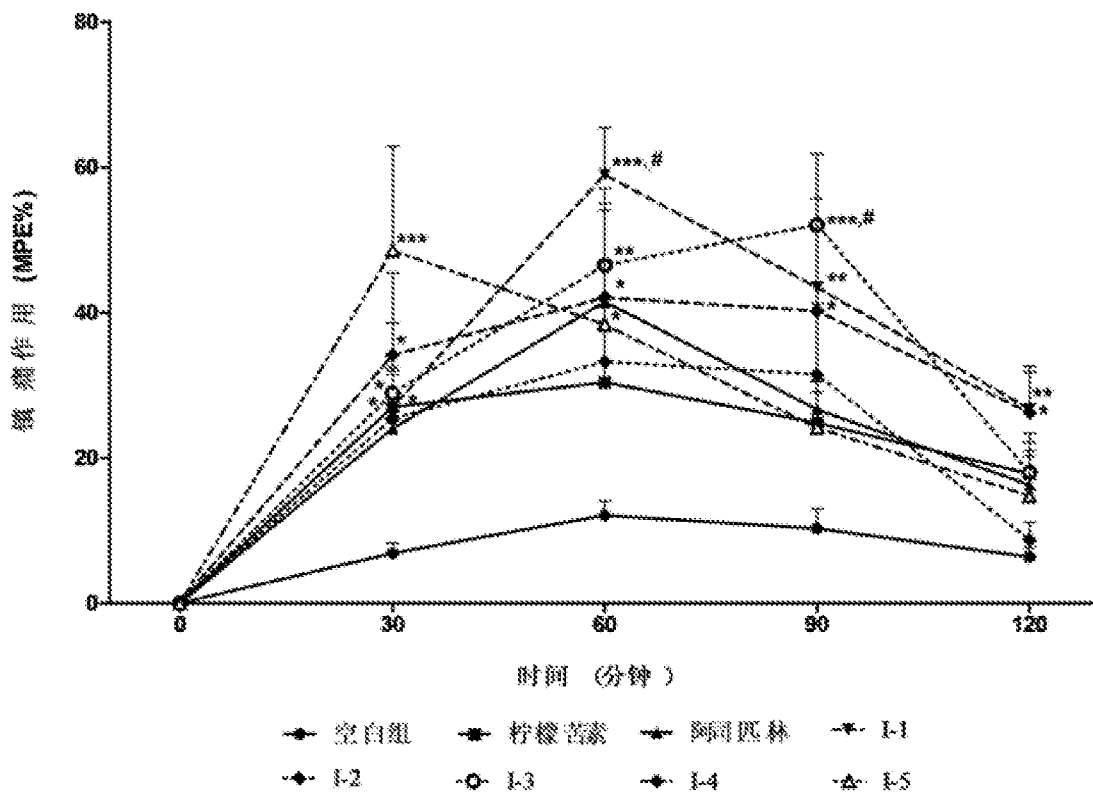


图 1

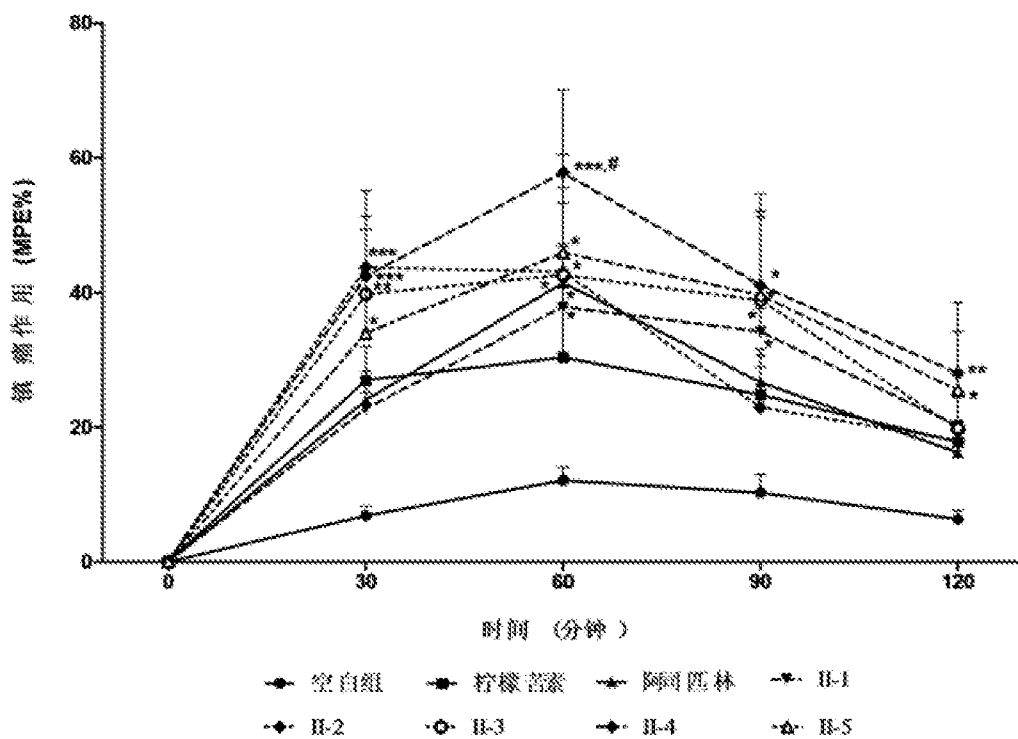


图 2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2014/090148

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07J 73/00 (2006.01) i; A61K 31/585 (2006.01) i; A61P 29/00 (2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07J; A61K; A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNABS, CNKI, DWPI, EPODOC, REGISTRY, CAPLUS: Limonin oxime ether, methoxime, pain, inflammation, analgesic, limonin, oxime ether, substructure search according to formula (I) or (II)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 103588854 A (CHINA PHARMACEUTICAL UNIVERSITY), 19 February 2014 (19.02.2014), the whole document	1-7
A	RUBERTO, G. et al., "Citrus Limonoids and their Semisynthetic Derivatives as Antifeedant Agents against Spodopterafrugiperda Larvae. A Structure-activity Relationship Study", JOURNAL OF AGRICULTURE AND FOOD CHEMISTRY, volume 50, number 23, 09 October 2002 (09.10.2002), pages 6766-6774	1-7

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 18 December 2014 (18.12.2014)	Date of mailing of the international search report 21 January 2015 (21.01.2015)
Name and mailing address of the ISA/CN: State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No.: (86-10) 62019451	Authorized officer WANG, Shaohua Telephone No.: (86-10) 62086353

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2014/090148

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 103588854 A	19 February 2014	None	

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2014/090148

A. 主题的分类

C07J 73/00(2006.01)i; A61K 31/585(2006.01)i; A61P 29/00(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

C07J; A61K; A61P

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

CNABS, CNKI, DWPI, EPODOC, REGISTRY, CAPLUS: Limonin oxime ether, methoxime, pain, inflammation, analgesic, 柠檬苦素, 脐醚, 疼痛, 炎症, 根据式(I)或(II)进行的子结构检索

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
PX	CN 103588854 A (中国药科大学) 2014年 2月 19日 (2014 - 02 - 19) 全文	1-7
A	Ruberto, Giuseppe等. "Citrus limonoids and their semisynthetic derivatives as antifeedant agents against Spodopterafrugiperda larvae. A structure-activity relationship study" Journal of Agriculture and Food Chemistry, 第50卷卷, 第23期期, 2002年 10月 09日 (2002 - 10 - 09), 第6766-6774页	1-7

☐ 其余文件在C栏的续页中列出。☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

2014年 12月 18日

国际检索报告邮寄日期

2015年 1月 21日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN)
北京市海淀区蓟门桥西土城路6号
100088 中国

传真号 (86-10)62019451

授权官员

王少华

电话号码 (86-10)62086353

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2014/090148

检索报告引用的专利文件	公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
CN 103588854 A	2014年 2月 19日	无	