

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
A01N 43/16 (2006.01)



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 03806553.3

[45] 授权公告日 2009 年 8 月 5 日

[11] 授权公告号 CN 100521939C

[22] 申请日 2003.3.20 [21] 申请号 03806553.3
[30] 优先权

[32] 2002.3.20 [33] US [31] 60/366,147

[86] 国际申请 PCT/US2003/008516 2003.3.20

[87] 国际公布 WO2003/079786 英 2003.10.2

[85] 进入国家阶段日期 2004.9.20

[73] 专利权人 纳幕尔杜邦公司

地址 美国特拉华州威尔明顿

[72] 发明人 D·L·哈拉汗

[56] 参考文献

EP0167265A 1986.1.8

Chemical Defense of a Rove Beetle (Creophilus maxillosus). Martin Jefson, Jerrold Meinwald et al. Journal of Chemical Ecology, Vol. 9 No. 1. 1983

Defensive and other Secretions of the Australian Cocktail Ant, Iridomyrmex Nitidiceps. G. W. K. Cavill, P. L. Robertson, et al. Tetrahedron, Vol. 38 No. 13. 1982

Insect Venoms, Attractants, and Repellents, III. Isodihydronepetalactone. G. W. K. Cavill, D. V. Clark. J. Insect Physiol., Vol. 13. 1967

审查员 张春艳

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 邹雪梅 段晓玲

权利要求书 1 页 说明书 28 页 附图 6 页

[54] 发明名称

作为驱虫剂的二氢荆芥内酯

[57] 摘要

已经证实猫薄荷(荆芥属)例如土荆芥的香精油的微量天然成分-二氢荆芥内酯可作为有效的驱虫化合物。通过氢化猫薄荷香精油的主要成分-荆芥内酯可以合成得到二氢荆芥内酯。同时还具有芳香性的这种化合物由于其驱虫性能因而可在商业上使用。

1. 从寄主驱除扁虱、恙螨、跳蚤、蚊子和白虱的方法，其中所述寄主是人或家禽，该方法包括在所述寄主表面施加下述二氢荆芥内酯化合物：1S, 9S, 5R, 6R-5, 9-二甲基-3-氧杂二环

[4.3.0]壬烷-2-酮。

2. 权利要求1的方法，其包括在寄主的皮肤、皮毛或羽毛上施加所述二氢荆芥内酯化合物。

3. 权利要求1或2的方法，其包括在所述寄主上施加含有所述二氢荆芥内酯化合物的组合物，所述二氢荆芥内酯化合物占组合物总重量0.01%至50%。

4. 权利要求3的方法，其中所述组合物含有载体。

5. 权利要求4的方法，其中所述载体包含乙醇或丙醇。

6. 权利要求3的方法，其中所述组合物还包含芳香剂、软化剂、遮光剂、防晒剂或芦荟液。

7. 权利要求3的方法，其中所述组合物是洗液、喷剂、凝胶或起泡制品的形式。

作为驱虫剂的二氢荆芥内酯

本申请要求享受 2002 年 3 月 20 日提交的美国临时申请 60/366,147 的权益,在此将其全部内容引入作为本发明的一部分以满足各种需要。

发明领域

本发明涉及驱虫领域,以及二氢荆芥内酯立体异构体作为驱虫材料的广泛应用。

发明背景

驱虫物质往往使得昆虫远离或者拒绝那些原本可以接受的食物源或者生活环境。大多数已知驱虫剂仅仅是略微有些毒性。实际上,少数已知驱虫剂根本就不是活性毒剂,而只是用于通过使昆虫食物源或生活环境失去吸引力或者令其望而生厌从而防止植物/动物或各种制品受损害。目前大多数的驱虫剂商品中含有合成化学品 N,N-二乙基-间甲苯酰胺(DEET)作为其主要的活性成分。比如说,销售商品名为诸如 Off!®、Deep Woods Off!®以及 Cutter®的驱虫剂都是含 DEET 的产品并且它们占驱虫产品销售额的 85% (消费者报告购买指南,1994 年岁末特刊)。另外,消费者报告测试还表明含有 DEET 浓度最高的产品驱蚊效果持续最久。尽管 DEET 是有效的驱虫剂,但是这种化合物仍然存在某些缺点。具体地说,它具有令人不快的气味并且给皮肤的感觉比较油腻。尽管该化合物最近再次被环保署(EPA)登记在美国使用,但是对其安全性特别是当应用于儿童时的关注程度越来越高(Briassoulis, G.; Narlioglou, M.; Hatzis, T. (2001) 人类和实验毒理学(Human & Experimental Toxicology) 20 (1), 8-14)。研究表明,高浓度的 DEET 在某些个体体内可能引起急性或毒性反应。其它与 DEET 相关的缺点包括: 1) 这种合成化学品活性谱比较窄; 2) DEET 是强有力的塑化剂,可以溶解或者破坏多种塑料制品和涂漆表层; 以及 3) DEET 可以塑化通常应用于局部用制剂中以延长有效时间的惰性成分。这导致使用 DEET 制剂的接受程度降低。

由于上述的各种限制因素,具有驱虫活性但不含 DEET 的产品开

始受到消费者的青睐，同时对要求含有天然产物(相对于合成化学品例如 DEET 而言)的组合物的呼声越来越高。这样的不含 DEET 的驱虫化合物要求同时具有优秀的驱虫活性、高的残留活性以及对人体(或宠物)和环境的毒性相对较低或者没有。为了满足消费者的上述要求，目前正需要开发可由天然植物原料得到或者合成得到的并且使用起来使人愉快的新驱虫化合物。

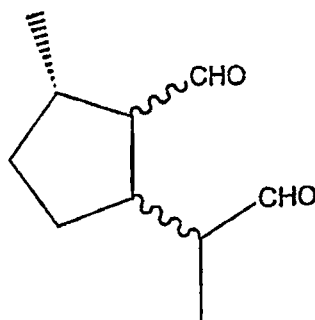
很多草本植物物种可以产生用作驱虫和芳香化学品天然来源的香精油(芳香油) [Hay, R. K. M., Svoboda, K. P., Botany 的 'Volatile Oil Crops: their biology, chemistry and production'. Hay, R. K. M., Waterman, P. G. (著); Longman Group UK Limited (1993)]。因其广泛的驱虫活性而闻名的香茅油可以由冬香茅 (*Cymbopogon winterianus*) 和亚香茅 (*C. nardus*) 植物得到。用作芳香化学品来源的植物实例包括香蜂花 (*Melissa officinalis* (*Melissa*))、白苏 (*Perilla frutescens* (*Perilla*))、*Posostemon cablin* (*Patchouli*) 以及各种薰衣草属植物 (*Lavandula* spp. (*Lavender*))。所有的这些实例均是唇形科 (*Lamiaceae*) 的成员。荆芥 (*Nepeta*) 属植物 (猫薄荷 (*catmints*)) 也是该科的成员，它们产生作为商业上少量产品的香精油。这种油富含于一类被称作环烯醚萜类的单萜化合物中 [Inouye, H. Iridoids. *Methods in Plant Biochemistry* 7:99-143 (1991)]，更具体地说，就是甲基环戊烷样 (*methylcyclopentanoid*) 荆芥内酯化合物 (Clark, L.J. 等人. *The Plant Journal*, 11:1387-1393 (1997)) 及其衍生物中。

长期以来一直认为环烯醚萜类单萜类可以有效地驱逐各类昆虫物种 (Eisner, T. *Science* 146:1318-1320 (1964); Eisner, T. *Science* 148:966-968 (1965); Peterson, C. 和 J. Coats, *Pesticide Outlook* 12:154-158 (2001); 以及 Peterson, C. 等人. *Abstracts of Papers American Chemical Society*, (2001) 222 (1-2): AGR073)。美国专利 4,663,346 公开了混有含双环环烯醚萜内酯(例如蚁素)组合物的驱虫剂。另外，美国专利 4,869,896 公开了上述双环环烯醚萜内酯组合物在混合有 DEET 的增效驱虫混合物中的应用。

对于由荆芥内酯(如图 1 所示)衍生而来的一类环烯醚萜类单萜类——二氢荆芥内酯的驱虫活性的正式研究一直不是很明确，也没有教

导或者暗示这些化合物对于人类社会所常见的虫害具有驱逐效果。例如, 对 *Iridomyrmex nitidus* 蚂蚁的肛腺分泌物的组成进行研究, 发现其含有可观含量的二氢异荆芥内酯和异蚁素 (Cavill, G. W. K. 和 D. V. Clark. *J. Insect Physiol.* 13:131-135 (1967))。尽管当时认为异蚁素具有良好的“致命性”杀虫活性, 但是并不能提供出证据以支持异二氢荆芥内酯也具有相似的活性, 也没有对该化合物的驱虫效果 (明显不同于杀虫活性) 进行过研究。

随后在 Cavill, G. W. K. 等人的文献 (*Tetrahedron* 38: 1931-1938 (1982)) 中, 再次报道了蚂蚁的防御性分泌物中存在二氢荆芥内酯, 但是作者推断认为化合物琉蚁二醛 (而不是二氢荆芥内酯) 是基本的驱虫成分。



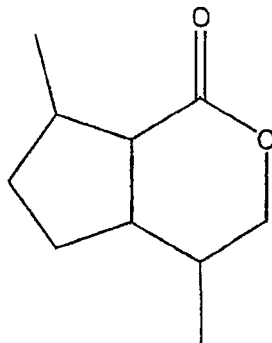
琉蚁二醛

最近, Jefson, M. 等人 (*J. Chemical Ecology* 9: 159-180 (1983)) 描述了二氢荆芥内酯的驱虫效果。针对正在进食的 *Monomorium destructor* 蚂蚁对由未稀释的化合物所具有的原始驱虫效果进行了测试。曝露于纯的二氢荆芥内酯下 25 秒钟之后, 大约有 50-60% 的蚂蚁停止进食。然而, 作者对于经历更长时间过程的驱虫效果缺乏进一步的分析, 并且也没有分析除上述未稀释的纯化合物之外的其它情况。对于浓缩化学品在如此短时间 (几秒钟) 内所观察到的驱虫效果并不足以使人预料到其在实际应用 (例如局部用驱虫剂) 中的效果。

因此, 仍然需要一种驱虫性能提高了的 (相对于 DEET 而言) 同时对人体基本上无毒或者仅仅略微有些毒性的生物学化合物。优选的驱虫剂具有驱逐各种昆虫的活性, 包括咬啮型昆虫、钻木类昆虫、有毒昆虫、家居害虫等。申请人发现, 二氢荆芥内酯类在作为新的一类不具有现有组合物的不良特性的有效驱虫化合物方面表现尤其出色。

发明概述

本发明一实施方案为一种驱虫组合物或制品，它含有如下面通式所示的二氢荆芥内酯或者二氢荆芥内酯立体异构体混合物：



本发明另一实施方案为制造驱虫组合物或驱虫制品的方法，所述方法通过如下方式进行：提供上述的二氢荆芥内酯或者二氢荆芥内酯立体异构体混合物作为该组合物或制品，或者将上述的二氢荆芥内酯或者二氢荆芥内酯立体异构体混合物合并入该组合物或者制品中。本发明另一实施方案为赋予、增加或增强制品驱虫效果的方法，它通过将上述的二氢荆芥内酯或者二氢荆芥内酯立体异构体混合物合并入该制品中进行。

本发明再一实施方案为上述的二氢荆芥内酯或者二氢荆芥内酯立体异构体混合物作为驱虫剂的应用，因此在一种驱虫方法中，昆虫被曝露于上述的二氢荆芥内酯或者二氢荆芥内酯立体异构体混合物中。

附图简述

图 1 示出了天然存在的环烯醚萜 (甲基环戊烷样) 荆芥内酯的化学结构。

图 2 示出了对可购得的猫薄荷油蒸馏后的富含荆芥内酯的馏分 (A) 以及由该馏分通过氢化反应得到的物质 (B) 进行气相色谱/质谱 (GC-MS) 联用分析得到的总离子色谱图。

图 3 示出了通过 GC-MS 分析鉴定的富含荆芥内酯的馏分 (A) 以及氢化物质 (B) 的主要成分的质谱。

图 4 示出了对可购得的猫薄荷油蒸馏后的富含荆芥内酯的馏分进行的 ^{13}C NMR 分析。

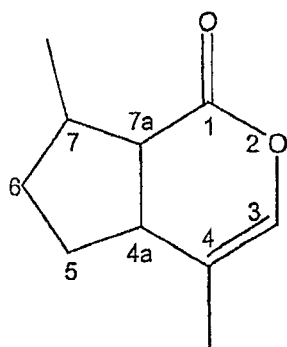
图 5 示出了对二氢荆芥内酯进行分析所获得的 ^{13}C NMR 谱，其中所述二氢荆芥内酯通过氢化可购得的猫薄荷油蒸馏后的富含荆芥内酯

的馏分得到。

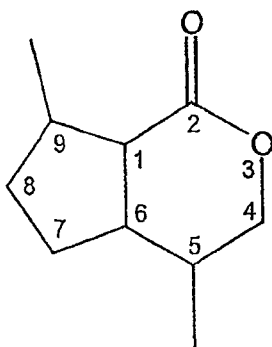
图 6 示出了体外驱虫活性试验中雌性 *Aedes aegyptii* 蚊子在经二氢荆芥内酯处理过的薄膜上的降落密度对时间的分布图。

发明详述

本文所用的术语"荆芥内酯"是指具有下述通式结构的化合物：

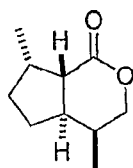


如上所示，在荆芥内酯的甲基环戊烷样骨架上的碳 4、4a、7 以及 7a 位有四个手性中心；(7S)-荆芥内酯可以由很多植物和昆虫得到。二氢荆芥内酯如通式 1 定义：

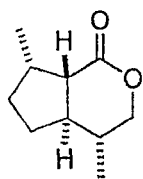


通式 1

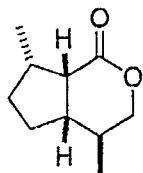
其中，1、5、6 以及 9 表明该分子的四个手性中心，同时该结构包括了二氢荆芥内酯所有可能的立体异构体。可由 (7S)-荆芥内酯衍生而来的二氢荆芥内酯立体异构体的结构如下所示。



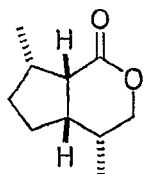
(1S, 5S, 9S, 6R)-5, 9-二甲基-3-氧杂二环[4.3.0]壬烷-2-酮



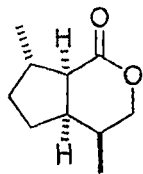
(1S, 9S, 5R, 6R)-5, 9-二甲基-3-氧杂二环[4.3.0]壬烷-2-酮



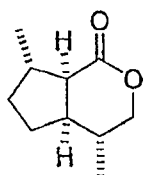
(1S, 5S, 9S, 6S)-5, 9-二甲基-3-氧杂二环[4.3.0]壬烷-2-酮



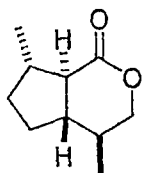
(1S, 9S, 6S, 5R)-5, 9-二甲基-3-氧杂二环[4.3.0]壬烷-2-酮



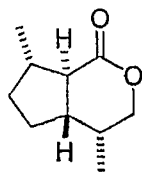
(9S, 5S, 1R, 6R)-5, 9-二甲基-3-氧杂二环[4.3.0]壬烷-2-酮



(9S, 1R, 5R, 6R)-5, 9-二甲基-3-氧杂二环[4.3.0]壬烷-2-酮



(9S, 6S, 1R, 5S)-5, 9-二甲基-3-氧杂二环[4.3.0]壬烷-2-酮



(9S, 6S, 1R, 5R)-5, 9-二甲基-3-氧杂二环[4.3.0]壬烷-2-酮

本文所用的术语“二氢荊芥内酯”或者“二氢荊芥内酯混合物”是指二氢荊芥内酯立体异构体的任意混合物。相对于整个二氢荊芥内酯组成而言，每种异构体的摩尔数或质量组成是可以改变的。二氢荊芥内酯缩写为“DHN”。

本文所用的术语“昆虫”是指任意的一种无脊椎动物，其特征在于在成年期(非成虫期包括幼虫和蛹)躯体被划分为头部、胸腔和腹

部、三对脚以及通常是(但也不尽是)两对膜翼。因此该定义包括各种咬啮型昆虫(例如蚂蚁、蜜蜂、黑蝇、恙螨、跳蚤、绿头蝇、蚊子、厩蝇(stable flies)、扁虱、黄蜂)、钻木类昆虫(例如白蚁)、有毒昆虫(例如家蝇、蟑螂、虱子、木虱)以及家居害虫(例如面粉和大豆甲虫、尘螨、蛀虫、蠹虫、象鼻虫)。

本文所用的术语“寄主”是指任意的易受昆虫影响的植物或者动物。一般认为寄主就是可为昆虫接受的食物源或者生活环境。

本文所用的术语“昆虫敏感制品”是指任意的易受昆虫影响的人造商品。它可能包括建筑物、家具等。一般认为这种制品就是可为昆虫接受的食物源或者生活环境。

本文所用的术语“驱虫剂”或者“驱虫组合物”或者“驱逐组合物”是指可以阻止昆虫靠近其优选寄主或者所适合制品的化合物或者组合物。多数已知驱虫剂根本就不是活性毒剂,而只是用于通过使昆虫食物源或生活环境失去吸引力或者令其望而生厌从而防止植物/动物或者各种制品受损害。一般情况下,驱虫剂或者局部应用于寄主;或者被合并入昆虫敏感制品中从而得到驱虫制品的化合物或者组合物,该驱虫制品可以阻止昆虫靠近该寄主或制品所处的三维空间。在另一种情形下,驱虫剂的效果就是驱使昆虫离开或者拒绝:1.) 寄主,从而使昆虫“叮咬”该寄主的频率降至最低;或者2.) 昆虫敏感制品,从而保护该制品防止被昆虫损坏。驱虫剂可以是气体(作用于嗅觉)、液体、或者固体(作用于味觉)。

一些众所周知的驱虫剂实例包括:二苯乙二酮;苯甲酸苄酯;2,3,4,5-双(丁-2-烯基)四氢糠醛(MGK 驱虫剂 11);丁氧基聚丙二醇;N-丁基乙酰苯胺;6,6-二甲基-5,6-二氢-1,4-吡喃酮-2-羧酸正丁酯(Indalone);己二酸二丁酯;邻苯二甲酸二丁酯;琥珀酸二正丁酯(Tabatrex);N,N-二乙基-间-甲苯酰胺(DEET);卡百酸二甲酯(dimethyl carbate)((内,内)-双环[2.2.1]庚-5-烯-2,3-二羧酸二甲酯);邻苯二甲酸二甲酯;2-乙基-2-丁基-1,3-丙二醇;2-乙基-1,3-己二醇(Rutgers 612);异辛可部酸二正丙酯(MGK 驱虫剂 326);2-苯基环己醇;对苴烷-3,8-二醇以及N,N-二乙基琥珀酰胺酸正丙酯。用于蚊子、扁虱等的常用驱虫剂有香茅油(将在下文讨论)、邻苯二甲酸二甲酯、正丁基异亚丙基丙酮草酸酯(n-butyl mesityl oxide oxalate)

以及 2-乙基-1,3-己二醇(参见 Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, 第二版, Vol. 11:724-728; 以及 The Condensed Chemical Dictionary, 第八版, 第 756 页)。

除了上述化学组合物外,还有很多有效驱虫剂由香精油和/或香精油活性成分组成。“香精油”是指任何一类由具有气味或者其它植物特性的植物得到的挥发油。香精油驱虫剂化合物的实例包括:苦杏仁油、茴香油、罗勒油、月桂油、香菜油、豆蔻油、雪松油、芹菜油、春黄菊油、肉桂油、香茅油、丁香油、胡荽油、枯茗油、蒔萝油、桉树油、小茴香油、生姜油、柚子油、柠檬油、酸橙油、薄荷油、欧芹油、胡椒薄荷油、胡椒油、玫瑰油、荷兰薄荷油(薄荷醇)、甜橙油、百里香油、姜黄油以及鹿蹄草油。香精油活性成分的实例有:香茅醛、水杨酸甲酯、水杨酸乙酯、水杨酸丙酯、香茅醇、黄樟油素以及柠檬油精。

相对于“驱虫剂”,“杀虫剂”是指通过口食、接触昆虫表皮或者通过空气烟薰作用能够将昆虫毒死的化合物或者混合物。因此,杀虫剂是一类用来控制昆虫生命并且对人也有害的农药(即,作为疾病媒介物产生直接的害处,或者经由破坏农作物、食品或者纺织品产生间接的害处)。一些众所周知的杀虫剂包括:无机化合物(例如砷、铅和铜);天然存在的有机化合物(例如鱼藤酮、除虫菊酯、烟碱、环烷酸铜和石油衍生物);以及合成有机化合物(例如 DDT、狄氏剂、异狄氏剂、氯丹、林丹、对-二氯苯以及对硫磷)。

本文所用的术语“增效驱虫组合物”是指其产生的效果实质上超过由单独或联合这些成分的已知效果所能期望或者预料得到的效果的驱虫组合物。在本发明中,增效驱虫组合物包括二氢荆芥内酯及其混合物,以及至少一种不是二氢荆芥内酯的其它驱虫化合物(有时也称为非二氢荆芥内酯驱虫化合物)。

“驱虫组合物”可用作“驱虫制品”的成分,其中术语“驱虫制品”是指具有被该驱虫组合物增强、改变或者增加的驱虫性能的制品。关于本文所描述的驱虫性能,各种形式的术语“改变”和“调节”意思是指给组合物补充或者赋予驱虫性能,或者是指在某方面天然驱虫性能欠缺的情况下增加已有的驱虫特性,或者是指补充已有的驱虫性能从而调节其性质或者特性。术语“增强”意思是指加强(不影响驱

虫性能的类型和性质)驱虫组合物或驱虫制品的一种或多种驱虫特性。

在一优选实施方案中,本发明的驱虫组合物还具有芳香组合物的功能,因为它能够赋予该驱虫组合物或驱虫制品令人愉快的芳香或香气。二氢荆芥内酯可用于驱虫组合物或制品中以增强、改变或者增加该组合物的整体香气或芳香。关于芳香,各种形式的术语“改变”和“调节”意思是给没有气味的物质补充或者赋予芳香、香气特性或香韵,或者是指在某方面自然香气不足的情况下增加已有的香气特性,或者是指补充已有的香气效果从而调节其性质、特性或者香气。术语“增强”意思是指加深(不影响香气的类型和性质)芳香、香料组合物、或者一种或多种加香制品的一种或多种香气的细微差别以及它们的器官感觉效果。

本文所用的术语“芳香组合物”是指一种有机化合物的混合物,所述有机化合物包括例如醇、醛、酮、腈、酯、内酯、天然香精油、合成香精油以及硫醇在内,这些有机化合物被混合在一起,使得单独成分的气味混合后产生让人愉悦的或者合意的芳香。这类组合物通常包含:(1)组合物的主香或“香簇(bouquet)”或者根基;(2)调节剂,它对主香进行修整并与主香相伴;(3)定香剂,它包括有气味的物质和延缓蒸发的物质,其中所述有气味物质在整个蒸发的全部步骤中可以给香料带来一种独特的香韵;以及(4)顶香,它们通常是低沸点、闻起来清新的物质。

在芳香或者香气组合物中,单个成分都会发挥其特定的嗅觉特性,但是组合物的整体效果是每种成分的每种效果的总和。因此,本发明的二氢荆芥内酯或其混合物可用于改变这类组合物的芳香特性,例如通过突出或缓和由组合物中另一成分提供的嗅觉反应。

从文献资料已知二氢荆芥内酯是荆芥属中的多种唇形科植物的香精油中的微量成分(Regnier, F.E., 等人. *Phytochemistry* 6:1281-1289 (1967); DePooter, H.L., 等人. *Flavour and Fragrance Journal* 3:155-159 (1988); Handjieva, N.V. 和 S.S. Popov *J. Essential Oil Res.* 8:639-643 (1996))。另外,它们也被鉴定出是某些昆虫的防御性分泌物中的成分,这类昆虫包括隐翅虫(Jefson, M. 等人. *J. Chem. Ecol.* 9:159-180 (1983))和蚂蚁,特别是虹蚁属(*Iridomyrmex*)蚂蚁

(Cavill, G.W.K. 和 D.V.Clark. *J. Insect Physiol.* 13:131-135 (1967)). 在这些含有二氢荆芥内酯的物种中, 有人曾经提出它们可以由环烯醚萜类单萜类琥珀二醛通过生物合成途径衍生得到。

已经描述和介绍过以各种方式进行的二氢荆芥内酯及其相关环烯醚萜类单萜化合物的化学合成。下面是涉及合成的有用参考文献:

1) Abelman, M.M. 等人. *J. Am. Chem. Soc.* 104 (14): 4030-2 (1982)。

2) Fleming, I. 和 N.K. Terrett. *Tetrahedron Lett.* 25 (44): 5103-5104 (1984); *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*: 2645-2650 (1998)。

3) Lee, E. 和 C.H. Yoon. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 4: 479-81 (1994)。

4) Nagata, H. 和 K. Ogasawara. *Tetrahedron Lett.* 40 (36): 6617-6620 (1999)。

5) Nangia, A. 等人. *Tetrahedron Lett.* 35 (22): 3755-8 (1994)。

6) Tanimori, S. 和 M. Nakayama. *Agric. Biol. Chem.* 55 (4): 1181-1184 (1991)。

7) Uyehara, T. 等人. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 2: 113-14 (1989); *Tennen Yuki Kagobutsu Toronkai Koen Yoshishu* 32: 441-6 (1990); *J. Org. Chem.* 57 (11): 3139-3145 (1992)。

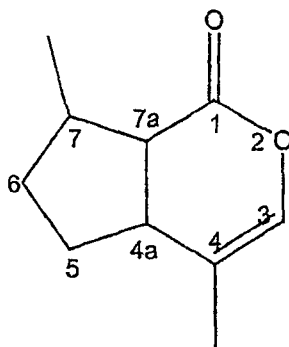
8) Wolinsky, J. 和 E.J. Eustace. *J. Org. Chem.* 37 (21): 3376-8 (1972)。

9) Wolinsky, J. 和 D.L. Nelson. *Tetrahedron* 25 (17): 3767-74 (1969)。

一种用于合成本发明的二氢荆芥内酯混合物的优选和简便方法是通过氢化荆芥内酯。诸如氧化铂和钨(负载于碳酸铈上)的催化剂可以提供产率为 24-90% 的二氢荆芥内酯 (Regnier, F.E. 等人. *Phytochemistry* 6:1281-1289 (1967))。荆芥内酯是一种已知物质, 其相对纯的形式可以由通过各种手段从荆芥属植物(猫薄荷)中分离得到的香精油中方便地得到。分离这类香精油的方法是本领域所熟知的, 用于提取所述油的方法实例包括(但不仅仅限制于此)蒸汽蒸馏

法、有机溶剂提取法、微波辅助的有机溶剂提取法、超临界流体提取法、机械提取法以及花香吸取法(先冷提到油脂中,接着再用有机溶剂提取)。

众所周知,从不同荆芥属物种分离出来的香精油具有不同组成比例的天然存在的各个荆芥内酯立体异构体(Regnier, F.E. 等人. *Phytochemistry* 6:1281-1289 (1967); DePooter, H.L. 等人. *Flavour and Fragrance Journal* 3:155-159 (1988); Handjieva, N.V. 和 S.S. Popov. *J. Essential Oil Res.* 8:639-643 (1996))。因此,从由含有荆芥内酯混合物的任意荆芥属物种得到的香精油经氢化可以得到二氢荆芥内酯立体异构体混合物。如下所示,在荆芥内酯的甲基环戊烷样骨架上的碳 4、4a、7 以及 7a 位有四个手性中心:



因此,很明显氢化后可能有总共 8 对二氢荆芥内酯对映体。在这些对映体中,迄今为止记载过的天然存在的立体异构体是 (9S)-二氢荆芥内酯。根据本发明优选的芳香物质包括任一或者所有可能的二氢荆芥内酯立体异构体混合物。更优选的芳香物质包括 (9S)-二氢荆芥内酯的混合物。最优选的是由 (7S)-荆芥内酯衍生而来的 (9S)-二氢荆芥内酯立体异构体。如图 1 所示,它包括通常称作顺式,反式-荆芥内酯、顺式,顺式-荆芥内酯、反式,顺式-荆芥内酯、以及反式,反式-荆芥内酯。

氢化反应结束后,所得到的异构体产物的混合物可以通过常规方法,例如制备性液相色谱法进行分离,从而得到每对经高度纯化的二氢荆芥内酯非对映体。

除了在不同的荆芥属物种之间存在着荆芥内酯立体异构体的含量差异之外,还已知在同一物种内也存在差异。指定植物物种可以产生具有不同组成的香精油,这取决于它们生长的条件或者在收获时所处

生长阶段。另外，已经证实，在单一物种 *Nepeta racemosa* 内，存在着与生长条件或者收获时所处生长阶段无关的油组成差异 (Clark, L. J. 等人, *The Plant Journal*, 11:1387-1393 (1997))。表现出不同油组成的单一植物物种被称作化学型 (chemotypes)，已经表明，在 *Nepeta racemosa* 中，化学型在所含各种荆芥内酯立体异构体的比例方面存在明显差异 (Clark, L. J. 等人, 同上)。因此，制备特定二氢荆芥内酯对映体的优选方法应该是氢化由已知含有特定荆芥内酯立体异构体的荆芥属化学型提取出来的油。

因此，制备本发明如通式 1 所示的二氢荆芥内酯的优选方法是通过氢化由具有规定荆芥内酯立体异构体含量的油的植物得到的荆芥内酯，这种方法就生产成本和其生物基础而言是一种具有工业优点的制备方法。其它的方法公开在 2002 年 4 月 3 日提交的美国临时申请 60/369,470 中。

本发明的二氢荆芥内酯具有独特的驱虫特性，尤其是可有效对抗较宽范围的常见虫害，包括咬啮型昆虫、钻木类昆虫、有毒昆虫、以及家居害虫。

含有二氢荆芥内酯或其混合物的本发明驱虫组合物可有效对抗各种干扰人类社会的昆虫。这类昆虫包括各种咬啮型昆虫 (例如蚂蚁、蜜蜂、黑蝇、恙螨、跳蚤、绿头蝇、蚊子、厩蝇、扁虱、黄蜂)、钻木类昆虫 (例如白蚁)、有毒昆虫 (例如家蝇、蟑螂、虱子、蜚蠊、木虱) 以及家居害虫 (例如面粉和大豆甲虫、尘螨、蛀虫、蠹虫、象鼻虫)。对于传播致病菌的蚊子，这种驱虫特性还可以有效地预防传染上这类疾病。

很多化合物具有驱虫和/或驱蚊活性，其证据如下：1.) 美国农业部 (USDA) 报道的各种具有驱虫活性的化学结构 (Chemicals Evaluated as Insecticides and Repellent at Orlando, Fla., W. V. King 编辑，美国农业部，农业研究服务机构，农业手册第 69 期)；以及 2.) 驱虫制剂中的各种具有不同驱虫活性的原料 (参见例如欧洲专利申请 97,812 和 97,813、和美国专利 4,127,672、美国专利 4,756,905、美国专利 5,465,685、美国专利 5,489,433、美国专利 5,565,208、美国专利 5,672,337 以及美国专利 5,716,602)。总的来说，已在醇类、酰胺类、酯类、酮类、酸类、内酯类以及内酰胺类中

发现该活性；并且驱虫活性在某种程度上似乎依赖于这些化合物的物理性质。

对于总体驱虫活性而言，比较重要的一个性质是表面活性，因为大多数（并非全部）驱虫化合物在其结构中既含有极性又含有非极性区域。第二个性质是挥发性。驱虫剂是这样一类与众不同的化合物，为了保证其有效性，活性成分必须从寄主的皮肤表面或者驱虫制品挥发开去，有效性就是通过看其是否保护寄主免于被昆虫叮咬或者看其是否保护制品免于被昆虫损坏来评价的。至于局部用驱虫剂，为了驱逐昆虫，在直接位于寄主皮肤表面上的空间需要适宜的最低浓度的驱虫剂，该浓度就是驱虫剂效力的一个评价标准。当然，挥发速率还受皮肤的吸收能力影响——在多数情况下，渗入皮肤和透过皮肤并不是适用于从皮肤表面释出化合物的理想模式。对于驱虫制品也必须考虑这些因素，即考虑在制品周围的三维空间里所需驱虫剂的最低浓度。

有各种手段可供试图在这些挥发特性（和任选渗透特性）之间寻求平衡的研究人员采用。第一，可以寻找一种具有平衡的物理特性的单一活性成分。作为其替代方式，为了改善活性成分在寄主皮肤表面上或驱虫制品中的存留能力，该活性成分可以与加入其中的聚合物和惰性成分制成制剂。然而，向活性成分中加入惰性成分使得活性成分在驱虫薄膜或制品表面上的分子数目受到限制。由于为了挥发，分子必须附在表面上，因此使得挥发速率降低。这导致一个消极的结果，那就是使得施用到寄主皮肤表面上或者存在于驱虫制品表面上的活性化合物的浓度被稀释。这进而降低了含惰性成分的制剂的整体效力。在第三种替代方式中，可以制得活性成分的微囊从而控制从寄主皮肤表面或者驱虫制品释出的速率。最后，限制活性成分挥发速率的另一种方法是合成其前体分子，它可以在皮肤表面上或者驱虫制品中慢慢分解从而释出活性成分。

例如，活性成分可以通过例如亚微米封装技术释出，其中使活性成分被包封（环绕）于皮肤营养蛋白质内，这就好比空气填充在气球里。这种蛋白质可以以例如 20% 的浓度使用。含有很多上述蛋白质胶囊的驱虫剂其应用之一就是将它悬浮在含水洗液或者水中供喷雾用。与皮肤接触后，该蛋白质胶囊开始崩解释放出被包封的二氢荆芥内酯。上述步骤连续进行，各微囊耗尽之后接着替代以新胶囊，该新胶

囊与皮肤接触从而释出其活性成分。该方法使用一次可以持续 24 小时。由于蛋白质对皮肤的粘附性很强，所以这种制剂很耐排汗(出汗)以及水分。使用的时候，它们很干燥并且舒适无油腻感。这种方法可以很有效地保护，但其仅仅是在用于皮肤时有效，因为衣服并不具备释放蛋白质的能力。替代方法使用聚合物包裹该驱虫剂，这样减慢了早期的挥发而余下更多的二氢荆芥内酯供后期挥发。与没有封装的产品相比，这种方法通常可以使驱虫剂的效力时间延长 25%-50%，但是由于存在聚合物所以通常会感觉油腻。在另一替代方式中，使用增效剂以不断刺激组合物中的二氢荆芥内酯挥发。

不管施用何种特殊手段来控制驱虫剂的挥发性，每种驱虫剂必须具有一个从皮肤表面或者驱虫制品挥发开去的最低有效挥发速率(MEER)以维持在直接位于该皮肤表面/制品上的空间内必需的最低浓度的驱虫剂，以便有效地驱逐昆虫。如果挥发速率高于最低有效挥发速率(MEER)，会导致不希望的显著损失。然而，由于 MEER 可以随该领域的条件而改变，因此这个问题被进一步复杂化。既要考虑到昆虫的饥渴性或叮咬能力，还要考虑到寄主环境下的昆虫密集程度。例如，随着蚊子的饥渴性增加，也要求 MEER 增大。在蚊子密集程度较低的环境下并且那些蚊子并不饥饿，MEER 可以低至为 2，或者更通常为 5 或 6。相反，在蚊子又饥饿其密集程度又高的环境下，MEER 可高达 12-15。在本发明中优选这样的驱虫组合物，其中在一段时间内皮肤表面挥发速率至少等于最低有效挥发速率，所述时间段优选为 5 小时左右。

在本发明中，可以使用各种各样的适合上述二氢荆芥内酯的载体或稀释剂。该载体可以将制剂调节至含有有效浓度的驱虫剂分子。如果制备成局部用驱虫剂的话，优选将驱虫剂分子混合在皮肤学上可接受的载体中。载体还可以提供拒水性、防止刺激皮肤和/或缓和和调理皮肤。选择一种或多种载体用于任何驱虫制剂中时需要考虑的因素包括商业实用性、成本、驱虫能力、挥发速率、气味以及稳定性。有些载体本身就具有驱虫特性。

对于本发明来说，如果使用载体，则用于实现与终产品的理想紧密混合效果的载体可具体选择通常用于驱虫制剂中的任意载体。此外，载体应该优选那种不会对环境产生危害的载体。因此，载体可以

是任意一种可用于制备驱虫产品的可商购得到的各种有机和无机液态、固态或半固态载体或者载体制剂。例如，载体可以包括硅酮、凡士林、羊毛脂或者其它已知载体成分中的多种成分。

有机液态载体的实例包括液态脂肪族烃类(例如戊烷、己烷、庚烷、壬烷、癸烷及其类似物)以及液态芳香族烃类。其它液态烃类的实例包括由煤和由各种类别的石化原料蒸馏得到的油，包括由石油分馏得到的煤油。其它的石油类包括那些通常称作农业喷淋油的油类(例如所谓的既有轻油性质又显中油性质的喷淋油(light and medium spray oil)，它由石油蒸馏物的中间馏分组成，仅具有轻微的挥发性)。这类油通常是高度精制的，并且可能仅仅含有微量不饱和化合物。此外，这类油通常是石蜡油，因此可以用水和乳化剂乳化，稀释至低浓度，从而用作喷淋油。使用硫酸浸提木浆所得到的松浆油和石蜡油一样，也可以按照类似方法使用。其它有机液态载体可以包括液态萜烯烃类和萜烯醇类例如 α -蒎烯、二戊烯、萜品醇等。

其它的载体包括硅酮，凡士林，羊毛脂，液态烃类，农业喷淋油，石蜡油，松浆油，液态萜烯烃类以及萜烯醇类，脂肪族和芳香族醇类、酯类、醛类、酮类，矿物油，高级醇，粉碎的有机和无机固态材料。

除了上述液态烃类外，载体还可以含有传统的乳化剂，乳化剂可用来使二氢荆芥内酯在水中分散从而被水稀释以供终端应用。

其余的液态载体还可以包括有机溶剂例如脂肪族和芳香族醇类、酯类、醛类、酮类。脂肪族单羟基醇包括甲醇、乙醇、正丙醇、异丙醇、正丁醇、仲丁醇以及叔丁醇。适宜的醇类包括二元醇(例如乙二醇和丙二醇)以及频哪醇。适宜的多羟基醇包括丙三醇、阿拉伯糖醇、赤藻糖醇、山梨醇等。最后，适宜的环状醇包括环戊醇和环己醇。

普通的芳香族和脂肪族酯类、醛类以及酮类也可用作载体，有时它们也可以与上述醇类联合使用。其余的液态载体包括相对较高沸点的石油产品，例如矿物油和高级醇(例如十六醇)。另外，普通的或者所谓的“稳定剂”(例如叔丁基亚硫酸基二甲基二硫代碳酸酯)可以与含有本发明组合物的一种或多种载体联合使用或作为其成分之一。

可用于本发明组合物中的固态载体包括粉碎的有机和无机固态材料。适宜的粉碎的固态无机载体包括硅质矿石例如合成和天然的粘土、蒙脱石、硅镁土、漂白土、硅藻土、高岭土、云母、滑石、粉碎

的石英等，以及合成得到的硅质材料例如白炭黑以及沉淀硅和煅制二氧化硅。粉碎的固态有机材料的实例包括纤维素、锯屑、合成有机聚合物等。半固态或者胶质载体的实例包括蜡状固体、凝胶(例如凡士林油)、羊毛脂等，以及可以提供半固态载体产品的已知液态和固态物质的混合物，它可以提供本发明所述的有效的驱虫性能。

含有二氢荆芥内酯的本发明驱虫组合物还可以含有个人护理产品制剂领域所公知的各种辅剂，例如增稠剂、缓冲剂、螯合剂、防腐剂、芳香剂、抗氧化剂、胶凝剂、稳定剂、表面活性剂、软化剂、着色剂、芦荟液、蜡、其它的助渗透剂及其混合物、以及治疗活性剂或化妆用活性剂。

此外，本发明组合物还可以含有其它的辅剂例如一种或多种治疗活性成分或化妆用活性成分。可用于本发明组合物中的治疗活性成分或化妆用活性成分包括杀真菌剂、遮光剂、防晒剂、维他命、鞣剂、植物提取物、抗炎剂、抗氧化剂、自由基清除剂、类维生素 A、 α -羟基酸、软化剂、消毒剂、抗生素、抗菌剂或者抗组胺剂，它们可以以达到所需治疗或化妆效果的有效含量存在。

二氢荆芥内酯在本发明中可以单独或者以任何比例联合使用。按照本领域常规，加入至特定昆虫敏感制品中使其具有驱虫性能所需的驱虫组合物用量取决于产品性质以及其它的因素。这些因素既包括对成本的考虑，又要考虑到驱虫组合物或者驱虫制品中其它成分的性质、它们的用量以及所希望达到的驱虫效果。总的来说，该驱虫组合物的组成应该含有足够量的活性驱虫物质以有效地使昆虫在较长的时间(优选至少几个小时)内远离寄主。

每种通式 I 的二氢荆芥内酯或其混合物在本发明驱虫组合物或驱虫制品中的用量通常不超过最终产品重量的大约 80 重量%，然而在某些应用中可能会用到更大的用量，因此对该用量并无限制。更优选的是，二氢荆芥内酯的适宜用量应该是组合物或制品重量的至少大约 0.001 重量%，优选为大约 0.01 重量%至大约 50 重量%；更优选为大约 0.01 重量%至大约 20 重量%。具体的组成将取决于目标用途。

本发明的二氢荆芥内酯组合物可以不用载体而制成制剂并且有效。然而，更普遍的情形是，驱虫组合物包括载体同时含有大约 0.001-50 重量%的所述化合物，这类化合物通常是以与载体紧密混合

的形式使得活性物质可以驱逐常见的昆虫害虫，例如咬啮型昆虫、钻木类昆虫、有毒昆虫、家居害虫等。

本发明组合物可以制成制剂并被包装起来从而使得可以将产品以各种形式递送，包括溶液剂、混悬剂、乳膏、软膏、凝胶、膜剂或者喷剂，这取决于所使用的优选方法。载体可以是适合于通过压缩气体使二氢荆芥内酯分散于空气中的气雾剂组合物。

在某些情形下，本发明的二氢荆芥内酯驱虫组合物可以与至少一种另外的非二氢荆芥内酯的驱虫剂制成制剂从而得到增效驱虫组合物（参见例如美国专利 4,869,896）。在这种情况下，由二氢荆芥内酯和至少一种另外的驱虫剂产生的效果实质上超过由单独或联合这些成分的已知效果所能期望或者预料得到的效果。可与二氢荆芥内酯用于增效驱虫组合物中的其它驱虫剂的实例包括但不限于：二苯乙二酮；苯甲酸苄酯；2,3,4,5-双(丁-2-烯基)四氢糠醛(MGK 驱虫剂 11)；丁氧基聚丙二醇；N-丁基乙酰苯胺；6,6-二甲基-5,6-二氢-1,4-吡喃酮-2-羧酸正丁酯(Indalone)；己二酸二丁酯；邻苯二甲酸二丁酯；琥珀酸二正丁酯(Tabatrex)；N,N-二乙基-间-甲苯酰胺(DEET)；卡百酸二甲酯((内,内)-双环[2.2.1]庚-5-烯-2,3-二羧酸二甲酯)；邻苯二甲酸二甲酯；2-乙基-2-丁基-1,3-丙二醇；2-乙基-1,3-己二醇(Rutgers 612)；异辛可部酸二正丙酯(MGK 驱虫剂 326)；2-苯基环己醇；N,N-二乙基琥珀酰胺酸正丙酯；1-吡啶羧酸 2-(2-羟甲基)-1-甲基丙基酯(Bayrepel)以及对苧烷-3,8-二醇。优选含有二氢荆芥内酯(或其混合物)和 DEET、Bayrepel 或者对苧烷-3,8-二醇的增效驱虫组合物。最优选含有二氢荆芥内酯(或其混合物)以及另外的天然驱虫分子例如对苧烷-3,8-二醇的增效驱虫组合物。

局部用驱虫制品具有的令人满意的特性包括低毒性、抵抗因水浸或出汗而损失、味淡或者无味或者至少是具有令人愉悦的气味、易于施用以及可以在寄主皮肤上迅速形成干燥不粘的表面薄膜。为了获得这些特性，用于局部驱虫制品的配方应当满足下面的要求：通过用有效量的驱虫制品接触动物的皮肤、皮毛或者羽毛的方式将滋生有大量昆虫的动物(例如长有跳蚤的狗、长有白虱的家禽、长有扁虱的母牛、以及人)用本发明的驱虫组合物处理之后，可以将这些昆虫从动物寄主赶走。因此，将制品分散于空气中或者将组合物以液态薄雾或者细

粉尘的形式分散于空气可以使得驱虫组合物落在所需寄主表面上。同样地，直接向寄主喷洒液态/半固态/固态驱虫制品也是一种用有效量的驱虫组合物接触寄主表面的有效方法。

可用作局部用驱虫制品的本发明实施方案包括(但不限于): 古龙香水、洗液、喷剂、乳膏、凝胶、软膏、沐浴和淋浴凝胶、起泡制品(例如刮胡泡沫体)、化妆品、除臭剂、香波、头发光洁剂/润发剂以及个人肥皂组合物(例如洗手皂和沐浴/淋浴肥皂)。

本发明还涉及二氢荆芥内酯混合物在各种容易遭受昆虫攻击的制品中用作驱虫剂的应用。室外消费品通常可以含有但不必一定含有本发明的驱虫组合物，但是将含有有效量的二氢荆芥内酯。通过使用二氢荆芥内酯或其混合物而得到改良的典型制品包括但不限于: 空气清新剂、蜡烛、其它的加香制品、纤维、被单、布料[例如衣服、网织品(蚊帐)以及其它织物]、纸张、油漆、墨水、粘土、木材、家具(例如家用和装饰用)、地毯、卫生用品、塑料、聚合物等。

本发明的二氢荆芥内酯组合物可以与具有控释系统的聚合物混合。相容的聚合物可以是或者不是生物可降解的。聚合物实例有高密度聚乙烯或者低密度聚乙烯、可生物降解的热塑性聚氨酯、可生物降解的乙烯聚合物、聚(ϵ -己内酯)均聚物以及含有所述聚合物的组合物,如美国专利 4,496,467、美国专利 4,469,613 和美国专利 4,548,764 中所公开。

二氢荆芥内酯因为下述各种理由而特别适合用作本发明制备方法中的驱虫原料。

首先,该化合物制造成本低,这是消费者在选择有效驱虫剂时所要考虑的重要方面。很多可商购得到的驱虫产品仅仅是相对较浓时才有效,这样的浓度包括以总重量计在载体中含有多达 5-30%(或者更多)的驱虫剂。例如,McGovern 等人的美国专利 4,416,881 公开了载体中驱虫剂浓度为 6.25-25%的驱虫剂。

其次,该化合物作为已知的天然化合物,因此不用担心有关反对合成化学品(例如 DEET)作为驱虫组合物主要活性成分的顾虑。

最后,除了这样制备得到的二氢荆芥内酯混合物具有天然的驱虫特性之外,该组合物还具有独特的令人愉悦的芳香。主题化合物具有的这种芳香香韵由此使得其可用于赋予、调节、增加或者增强驱虫组

合物的总体嗅觉要素，例如通过利用或者缓和由组合物中一种或多种其它成分提供的嗅觉反应。具体地说，本发明的二氢荆芥内酯或其混合物可用于掩盖或调节由最终驱虫组合物或制品配方中的其它成分所发出来的气味，和/或用于通过赋予其香味(perfume)或香气而提升产品对消费者的吸引力。可以预料得到的是，二氢荆芥内酯的这种令人愉悦的芳香将比其它驱虫化合物特别是 DEET 更能吸引消费者。

美国专利 SN 10/349,865 (2003 年 1 月 23 日申请)中也描述了二氢荆芥内酯及其应用，在此将其全部内容引入作为本发明的一部分以满足各种需要。

实施例

在下面的实施例中进一步描述本发明。应该理解，这些实施例在描述本发明优选实施方案的同时，仅仅是以示例说明的方式给出的。根据上面的讨论以及这些实施例，本领域技术人员可以理解本发明的实质特征，并且可以对本发明作出各种各样的变化和修饰以使其适合于各种各样的用法和条件，而不偏离本发明的精神和范围。下面的符号 w/v 是指活性成分(单位是克)在 100 mL 溶液中的重量。

各缩略语的意思如下："h"表示小时，"min"表示分钟，"sec"表示秒，"d"表示天，"mL"表示毫升，"L"表示升，"m/z"表示质量(m)与电荷(z)之比，"ppm"表示每百万分之一，"mol %"表示以摩尔计的百分比，"Hz"表示赫兹(1/秒)，以及"psig"表示磅/平方英寸表压。

实施例 1 通过蒸汽蒸馏土荆芥(*Nepeta cataria*)油制备荆芥内酯

获得通过将来源于猫薄荷土荆芥的草本材料蒸汽蒸馏制备的商购猫薄荷油试样(Berjé, Bloomfield, New Jersey, USA)。所述油经联用气相色谱-质谱分析仪(GC-MS)分析，表明其主要成分是荆芥内酯立体异构体(数据没有给出)。

通过分馏这种油将荆芥内酯馏分进一步纯化。图 2A 表示通过分馏土荆芥香精油商品试样得到的富含荆芥内酯的馏分的 GC-MS 总离子色谱图。操作条件是：HP5-MS 柱，25 m x 0.2 mm；120℃烤箱，2 min，15℃/min，210℃，5 min.；He @ 1 ml/min。m/z 为 166 的峰是荆芥内酯。未标记峰对应于微量的倍半萜杂质。在图 3A 中示出了图 2A 中主峰(6.03 min, 荆芥内酯)的质谱。对油和纯化物质还进行了 ^1H 和 ^{13}C

NMR 分析，列出了 ¹³C 数据 (图 4)。将文献报道的四种可能立体异构体的 ¹³C 化学位移与试样得到的光谱进行对比。测出三种立体异构体，以位于 170 ppm 附近的羰基区域为基础进行定量。原始油和经富集物质的化学位移均记录在表 1 中。对荆芥内酯的每个碳原子进行了鉴别，如图 4 所示。

表 1
猫薄荷 (土荆芥) 香精油商品试样和经蒸汽蒸馏纯化后的馏分中存在的荆芥内酯立体异构体的 ¹³C 化学位移和摩尔 % 值

原子	香精油			纯化馏分		
	顺式, 反式-	反式, 顺式-	顺式, 顺式-	顺式, 反式-	反式, 顺式-	顺式, 顺式-
	δ (ppm)	δ (ppm)	δ (ppm)	δ (ppm)	δ (ppm)	δ (ppm)
a	170.9	170.1		170.8	170.1	
b	133.7	135.9	134.2	133.7	135.9	134.2
c	115.3	120.4		115.3	120.4	
d	40.8	37.3	39.6	40.8	37.4	39.5
e	49.4	49.1	46.4	49.5	49.1	46.3
f	39.7	32.1	38.4	39.8	32.1	38.4
g	33.0	30.0	32.7	33.1	30.0	32.7
h	30.9	26.1	30.4	31.0	26.1	30.5
j	20.2	17.5	17.1	20.3	17.6	17.2
i	15.4	14.2	14.7	15.5	14.2	14.8
摩尔 %	80.20%	17.70%	2.10%	84.50%	14.30%	1.20%

该分析表明，荆芥内酯以下述的比例存在于所述油中：80.2 摩尔 % 顺式, 反式-荆芥内酯，17.7 摩尔 % 反式, 顺式-荆芥内酯和 2.1 摩尔 % 顺式, 顺式-荆芥内酯。这些数据表明，在纯化物质中的荆芥内酯比例为：84.5mol % 顺式, 反式-荆芥内酯，14.3 摩尔 % 反式, 顺式-荆芥内酯和 1.2 摩尔 % 顺式, 顺式-荆芥内酯。对该纯化馏分的 GC-MS 分析表明其主要由这些荆芥内酯 (m/z 为 166) 组成，伴有微量倍半萜类石竹烯和葑草烯 (数据没有给出)。

实施例 2

二氢荆芥内酯的制备

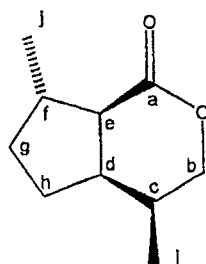
将如实施例 1 所述由猫薄荷油经蒸馏得到的 107 g 荆芥内酯馏分溶解于乙醇 (200 ml)，并置于装有 12.7 g 2% Pd/SrCO₃ (Aldrich 41,461-1) 的 Fisher-Porter 瓶中。试管排空和用 H₂ 充气两次，然后

充入 30 psig 的 H_2 。在室温下搅拌 48 h 之后, 将试管放气, 混合物用硅藻土过滤除去催化剂。真空除去溶剂, 得到透明油状物。

对该物质进行 GC-MS 分析 (HP5-MS 柱, 25 m x 0.2 mm; 120℃ 烤箱, 2 min, 15℃/min, 210℃, 5 min.; He @ 1 ml/min)。总离子色谱图如图 2B 所示。该分析显示, m/z 为 168 的主要成分 (65.43% 面积; Rt 7.08 min) 代表二氢荆芥内酯异构体; 该成分的质谱如图 3B 所示。该质谱含有一个 m/z 为 113 的离子, 被确认为二氢荆芥内酯 (Jefson, M. 等人. *J. Chemical Ecology* 9:159-180 (1983))。代表剩余二氢荆芥内酯非对映体的五个附加峰也出现在色谱中, 它们可能是由存在于原料中的三种荆芥内酯衍生而来的。它们出现在 Rt 5.41 min, 6.8% 面积, m/z 168; Rt 5.93 min, 1.2% 面积, m/z 168; Rt 6.52 min, 4.88% 面积, m/z 168; Rt 6.76 min, 13.8% 面积, m/z 168 和 Rt 7.13 min, 1.25% 面积, m/z 168。该分析中没有检测到残留的荆芥内酯。

对该物质进行 1H , ^{13}C 和一系列的 2D NMR 方法分析。 ^{13}C NMR 光谱 (图 5) 中的羰基区域表明该试样中至少存在 5 个自旋体系, 其中一个自旋体系的数量比其余四个大 (大约 75%)。检测到极少的残留荆芥内酯。

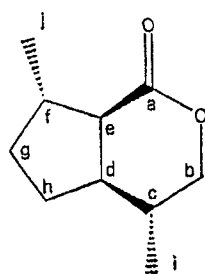
根据对偶合常数的分析以及所观察到的不同 NOE 交叉峰的强度, 认为该物质主要成分的立体化学结构为通式 2 的二氢荆芥内酯: (9S, 5S, 1R, 6R)-5, 9-二甲基-3-氧杂二环 [4. 3. 0] 壬烷-2-酮)。



通式 2

甲基基团 (i) 和质子 (d) 之间的距离大于甲基基团 (j) 和质子 (e) 之间的距离, 该观察结果与其顺-反立体化学构型是一致的。

类似地, 利用 ^{13}C 化学位移鉴别出立体异构体异二氢荆芥内酯 (9S, 5R, 1R, 6R)-5, 9-二甲基-3-氧杂二环 [4. 3. 0] 壬烷-2-酮; (通式 3), 它是以 3.6% 存在。



通式 3

因此, 这些 GC-MS 和 NMR 数据表明, 正如所预料到的那样, 将荆芥内酯立体异构体混合物氢化后得到了相应的二氢荆芥内酯非对映体。由顺式, 反式-荆芥内酯(起始原料的 84.5 Mol%) 衍生而来的非对映体对是主要的二氢荆芥内酯, 占氢化后混合物的 78.6%。

实施例 3

二氢荆芥内酯混合物的驱虫活性试验

评价由实施例 2 制备得到的二氢荆芥内酯混合物对于雌性 *Aedes aegypti* 蚊子的驱虫效果。根据 Insect Control & Research, Inc. (Baltimore, MD) 协议完成这些试验。

将大约 250 只雌性 *Aedes aegypti* 蚊子引入至含有 5 个井孔的容器中, 每个井孔用 Baudruche 薄膜罩盖住。井孔中均充满含有柠檬酸钠(用于防止凝结)和 ATP (每 26 ml 血使用 72 mg ATP 二钠盐) 的牛血, 加热至 37°C。给各薄膜涂覆 25 μ l 含有既定量驱虫化学品的异丙醇(表 2)。

表 2

用于测量驱虫活性的试验设计

目的	化合物	浓度
空白对照	异丙醇	100%
阳性对照	异丙醇和 DEET	1.0% (w/v)
试验样本	异丙醇和二氢荆芥内酯	1.0% (w/v)
		2.5% (w/v)
		5.0% (w/v)

5 分钟后, 将出生了 4 天的蚊子放入容器中。在 20 分钟内, 每隔 2 分钟记录一次那些试探经处理后薄膜的蚊子数目。重复三次, 得到全部数据。

表 3 显示了二氢荆芥内酯浓度对于雌性 *Aedes aegypti* 蚊子首

次试探各薄膜之前所经历时间的影响。

表 3

二氢荆芥内酯浓度对于“首次试探”之前平均时间的影响

驱虫剂浓度	平均时间(分钟)
异丙醇(空白对照)	4.6
1% DEET (阳性对照)	12
1% DHN	8
2.5% DHN	9.3
5% DHN	18

蚊子在 4.6 分钟后开始降落在空白对照井孔上。发现 5%浓度的二氢荆芥内酯阻止蚊子“首次试探”的时间为大约 18 分钟,而 DEET (1% w/v) 为 12 分钟。发现浓度更低的二氢荆芥内酯(1%和 2.5% w/v)阻止首次试探的时间分别平均为 8 和 9.3 分钟。

分析了雌性 *Aedes aegypti* 蚊子在经二氢荆芥内酯处理过的薄膜上降落密度对时间的分布情况,如图 6 的图表所示。发现 5%浓度的二氢荆芥内酯几乎可在 20 分钟之内避免蚊子降落,而在该试验中 DEET (1% w/v) 允许 2 只蚊子降落。另外,发现低浓度的二氢荆芥内酯(1%和 2.5% w/v)也具有驱虫活性(与空白对照相对比),但是驱虫水平低于阳性对照(1% w/v 的 DEET)。

测量了试验过程中每张薄膜允许降落蚊子的总数目,其结果汇总在表 4 中。

表 4

根据驱虫剂浓度允许降落数目

驱虫剂浓度	平均降落数
异丙醇(空白对照)	58.99
1% DEET (阳性对照)	4.66
1% DHN	14
2.5% DHN	6.33
5% DHN	0.33

上述数据再次表明所有浓度的试验二氢荆芥内酯均具有驱虫活性,尽管观察到只有在 5% (w/v) 时才具有比 1% DEET 显著高的驱虫活性。

最后,这些数据表明以所试验的三种浓度用二氢荆芥内酯处理后,相对于用异丙醇处理后,在试验过程中(20 分钟)显著抑制了对薄膜的试探。在 2.5%和 5.0%浓度下,二氢荆芥内酯在整个观察期间均

具有驱虫活性。在二氢荆芥内酯浓度和第一只蚊子降落并开始试探薄膜所经历的时间之间还存在直接关系。总的来说，上述数据表明这些试验中所使用的二氢荆芥内酯混合物是有效的驱虫剂，尽管只有在高浓度时才观察到与 DEET 相当的驱虫活性。

实施例 4

由反式, 顺式-荆芥内酯制备二氢荆芥内酯

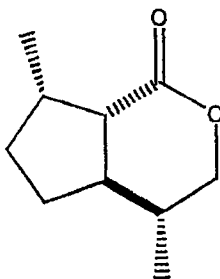
已经表明在驱逐 german 蟑螂中，反式, 顺式-荆芥内酯 (4aS, 7S, 7aS 或者 E, Z-荆芥内酯) 比顺式, 反式-(Z, E-) 荆芥内酯或者未经分馏的猫薄荷香精油均更有效 (Peterson, C. J. 等人. (2002) Household and Structural Insects, 95(2), 377-380)。因此，我们决定将反式, 顺式-荆芥内酯进行纯化以氢化成相应的二氢荆芥内酯并对这些衍生物进行驱虫活性试验。许多植物是由猫薄荷 *Nepeta racemosa* 的种子 (奇尔特恩种, 坎布里亚郡, UK) 长成而来的。将由不同植物采摘而来的树叶浸渍于乙酸乙酯中，2 小时后除去溶剂，提取物用气相色谱分析。其油中主要生成反式, 顺式-荆芥内酯的植物由此鉴别出来 (Clark, L. J. 等人. (1997) The Plant Journal, 11:1387-1393) 然后培育成熟。采摘这些植物的叶原料，冷冻干燥，在乙酸乙酯中提取，浓缩提取物。由浓缩提取物中先后经硅胶色谱 (己烷/乙酸乙酯 (9:1)) 和使用相同溶剂混合物的制备性薄层色谱将荆芥内酯进行纯化。除去溶剂后，重新溶解于己烷，在干冰上使反式, 顺式-荆芥内酯结晶。GC-MS 和 NMR (^1H 和 ^{13}C) 分析证实该结晶物质为反式, 顺式-荆芥内酯。对比于表 1 中的化学位移，该 ^{13}C 化学位移如表 5 所示。

表 5

与反式, 顺式-荆芥内酯(表 1)的化学位移相对比, 实施例 4 所制备的荆芥内酯样本的 ^{13}C 化学位移

原子	反式, 顺式-荆芥内酯	样本
	δ (ppm)	δ (ppm)
a	170.1	170.3
b	135.9	136.0
c	120.4	120.5
d	37.3	37.5
e	49.1	49.3
f	32.1	32.2
g	30.0	30.1
h	26.1	26.3
j	17.5	17.7
i	14.2	14.4

在乙醇中使用 ESCAT # 142 催化剂(Englehart)于 50°C 下将上述制备得到的反式, 顺式-荆芥内酯氢化 4 小时。GC-MS 和 NMR(^1H 和 ^{13}C)证实反式, 顺式-荆芥内酯已经定量转化成相应的二氢荆芥内酯立体异构体, 其中一个明显过量。对该主要非对映体进行 NMR 分析: ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): d 0.97 (d, 3H, $J = 6.28$ Hz), 0.98 (d, 3H, $J = 6.94$ Hz) d 1.24 (m, 2H), 1.74 (m, 1 H), 1.77 (m, 2H), 1.99 (m, 2H), 2.12 (dd, 1H, $J = 6.86$ 和 13.2 Hz), 2.51 (m, 1 H), 3.78 (tr, 1H, $J = 11.1$ Hz), 4.33 (dd, 1 H, $J = 5.73$ 和 11.32 Hz); ^{13}C (500 MHz, CDCl_3): d 15.43, 18.09, 27.95, 30.81, 31.58, 35.70, 42.51, 51.40, 76.18, 172.03。 ^{13}C NMR 谱表明该主要非对映体占产物的大约 93.7%。根据所观察到的亚甲基与内酯氧、携带有甲基的立体异构次甲基、甲基本身以及桥头甲基的耦合, 推定该非对映体最可能是通式 4 的 (1S, 9S, 5R, 6R)-5, 9-二甲基-3-氧杂二环[4.3.0]壬烷-2-酮)。



通式 4

所观察到耦合值与根据 Karplus 方程(参见 Spectrophotometric Identification of Organic Compounds, 第四版, Robert M. Silverstein, G. Clayton Bassler 和 Terence C. Morill, 1981, 第 208-210 页)计算得到的上述结构中相邻碳原子上质子之间的二面角是相一致的。

实施例 5

通过氢化反式, 顺式-荆芥内酯制得的二氢荆芥内酯的驱虫活性试验

基本上按照实施例 3 所述的那样, 测试根据实施例 4 制备得到二氢荆芥内酯(主要由 1S, 9S, 5R, 6R-5, 9-二甲基-3-氧杂二环[4.3.0]壬烷-2-酮; 通式 4)对于 *Aedes aegypti* 蚊子的驱虫活性。试验设计汇总在表 6 中, 所列出的数据来源于五次重复试验。

表 6

用于测量驱虫活性的试验设计

目的	化合物	浓度
空白对照	异丙醇	100%
阳性对照	异丙醇和 DEET	1.0% (w/v)
试验样本	异丙醇和二氢荆芥内酯	1.0% (w/v)
		0.5% (w/v)
		0.2% (w/v)

表 7 显示了二氢荆芥内酯浓度对于雌性 *Aedes aegyptii* 蚊子首次试探各薄膜之前所经历时间的影响。

表 7

二氢荆芥内酯浓度对于“首次试探”之前平均时间的影响

驱虫剂浓度	平均时间(分钟)
异丙醇(空白对照)	8.0
1% DEET (阳性对照)	14.8
1% DHN	16.0
0.5% DHN	10.4
0.2% DHN	8.4

发现 1%浓度的二氢荆芥内酯阻止蚊子“首次试探”的时间为大约 16 分钟，比相同浓度的 DEET 略好(但在统计学上不存在差别)，后者首次试探的平均时间是 14.8 分钟。发现浓度更低的二氢荆芥内酯(0.5%和 0.2% w/v)阻止首次试探的时间分别平均为 10.4 和 8.4 分钟。

分析了雌性 *Aedes aegypti* 蚊子在经二氢荆芥内酯处理过的薄膜上降落密度对时间的分布情况，如图 7 的图表所示。发现 1.0%浓度的二氢荆芥内酯完全可以在 10 分钟之内避免蚊子降落，而 DEET (1% w/v)允许蚊子降落的时间为 8 分钟。另外，发现低浓度的二氢荆芥内酯(0.5%和 0.2% w/v)也具有驱虫活性(与空白对照相对比)，但是驱虫水平低于阳性对照(1% w/v 的 DEET)。

测量了试验过程中每张薄膜允许降落蚊子的总数目，其结果汇总在表 8 中。

表 8

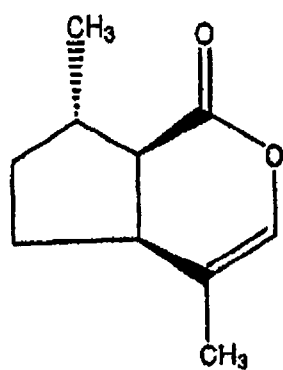
根据驱虫剂和浓度在 2 秒的观察期间内允许降落的数目

驱虫剂浓度	平均降落数
异丙醇(空白对照)	18.17
1% DEET (阳性对照)	4.8
1% DHN	4.0
0.5% DHN	16.2
0.2% DHN	23.2

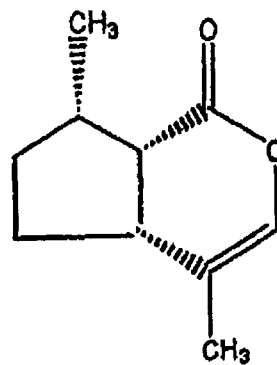
这些数据再次表明 1%浓度的二氢荆芥内酯具有与 1% DEET 相当的驱虫活性。

最后，这些数据表明以所试验的三种浓度用二氢荆芥内酯处理后，相对于用异丙醇处理后，在试验过程中(20 分钟)显著抑制了对薄膜的试探。在所有测试浓度下，二氢荆芥内酯在整个观察期间均具有驱虫活性。在二氢荆芥内酯浓度和第一只蚊子降落并开始试探薄膜之

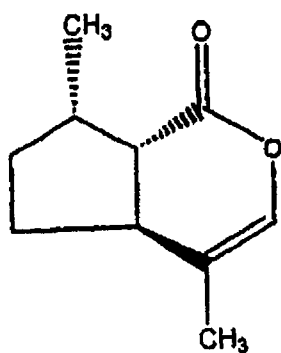
前所经历的时间之间还存在直接关系。总的来说，上述数据表明由氢化反式,顺式-荆芥内酯衍生而来的二氢荆芥内酯是有效的驱虫剂，并且在这些试验中与 DEET 效力相当。



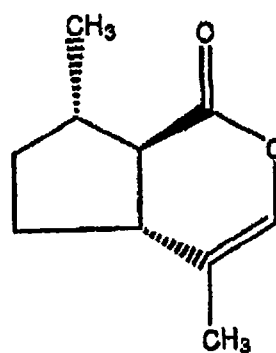
(4aS,7S,7aR) 荆芥内酯
(顺式, 反式-荆芥内酯)



(4aR,7S,7aS) 荆芥内酯
(顺式, 顺式-荆芥内酯)



(4aS,7S,7aS) 荆芥内酯
(反式, 顺式-荆芥内酯)



(4aR,7S,7aR) 荆芥内酯
(反式, 反式-荆芥内酯)

图 1

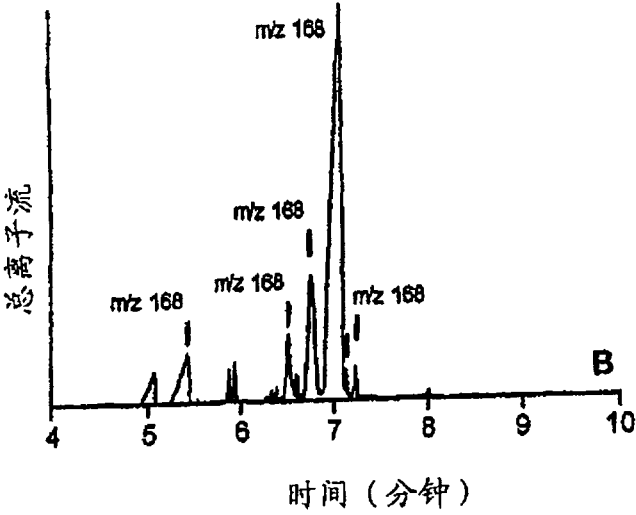
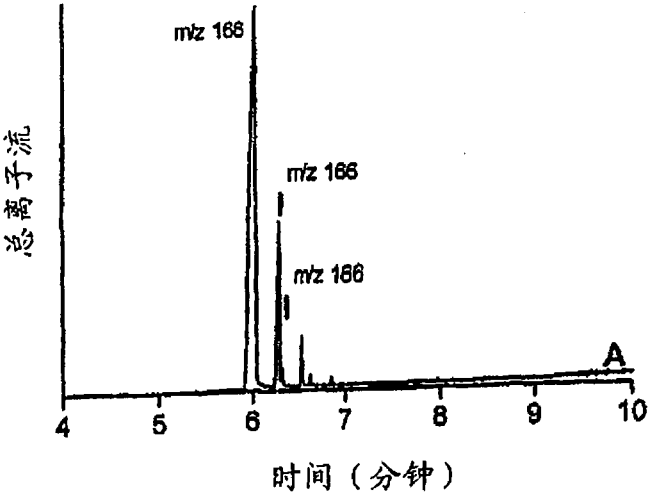


图 2

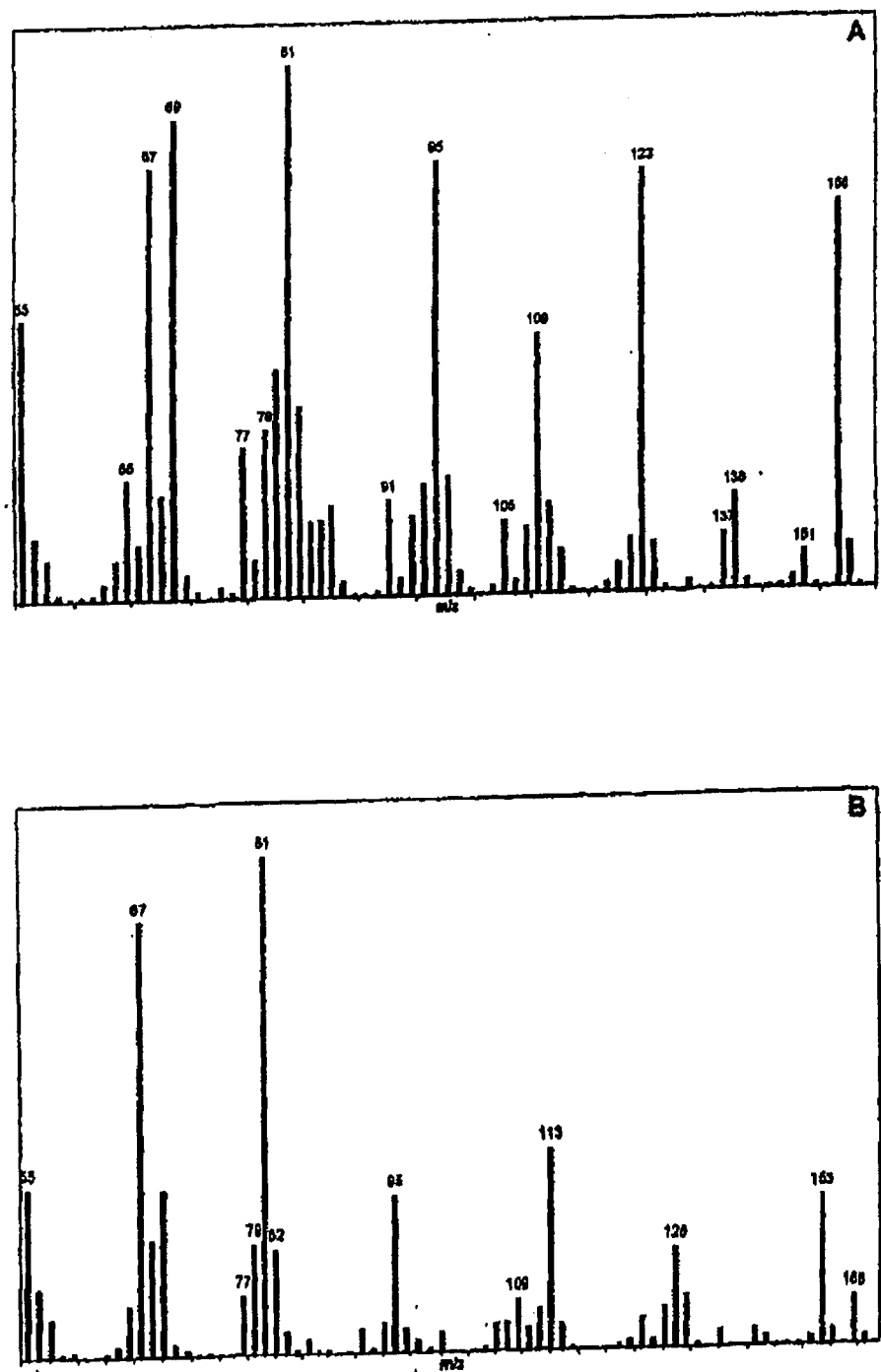


图 3

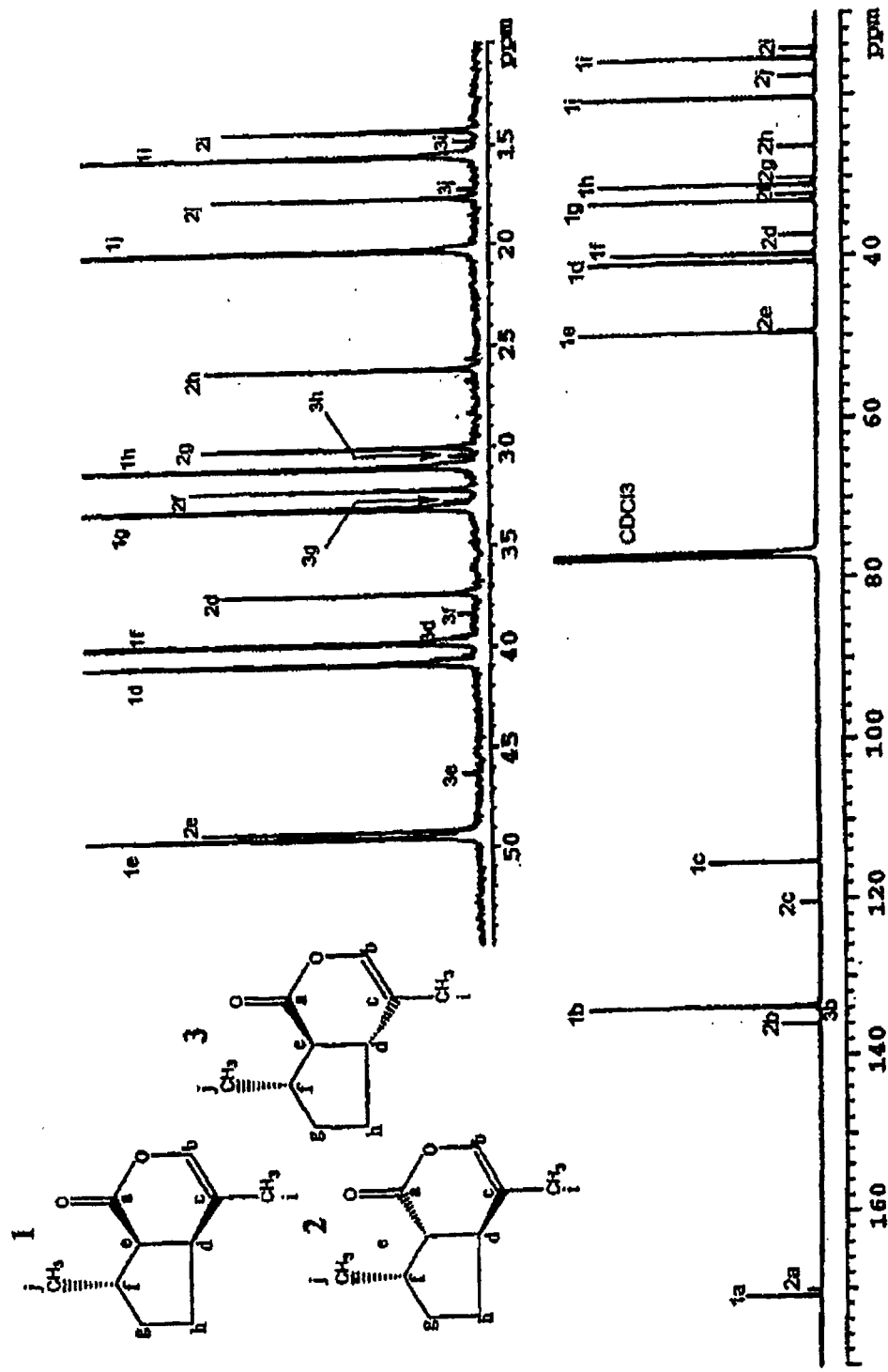


图 4

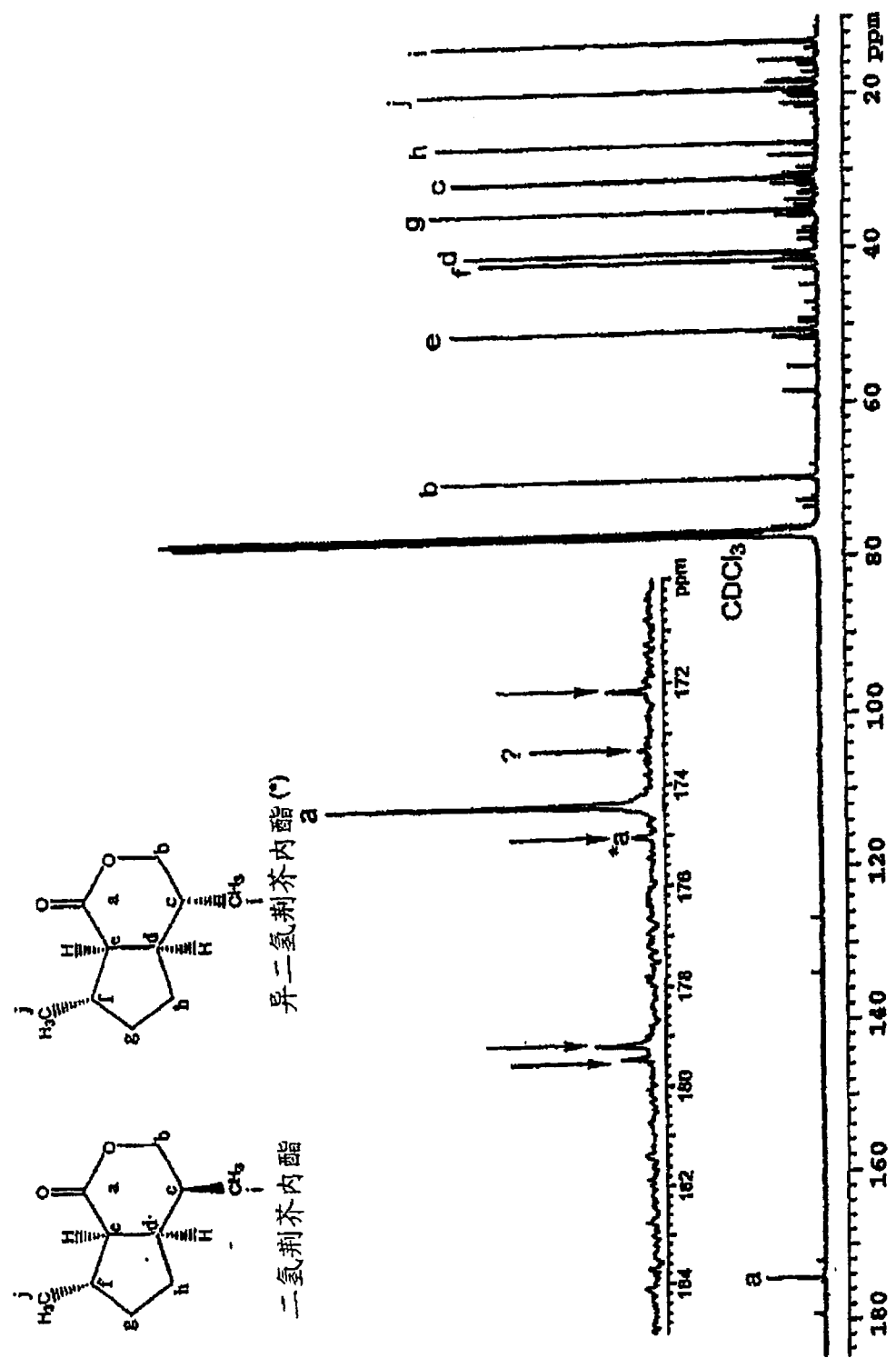


图 5

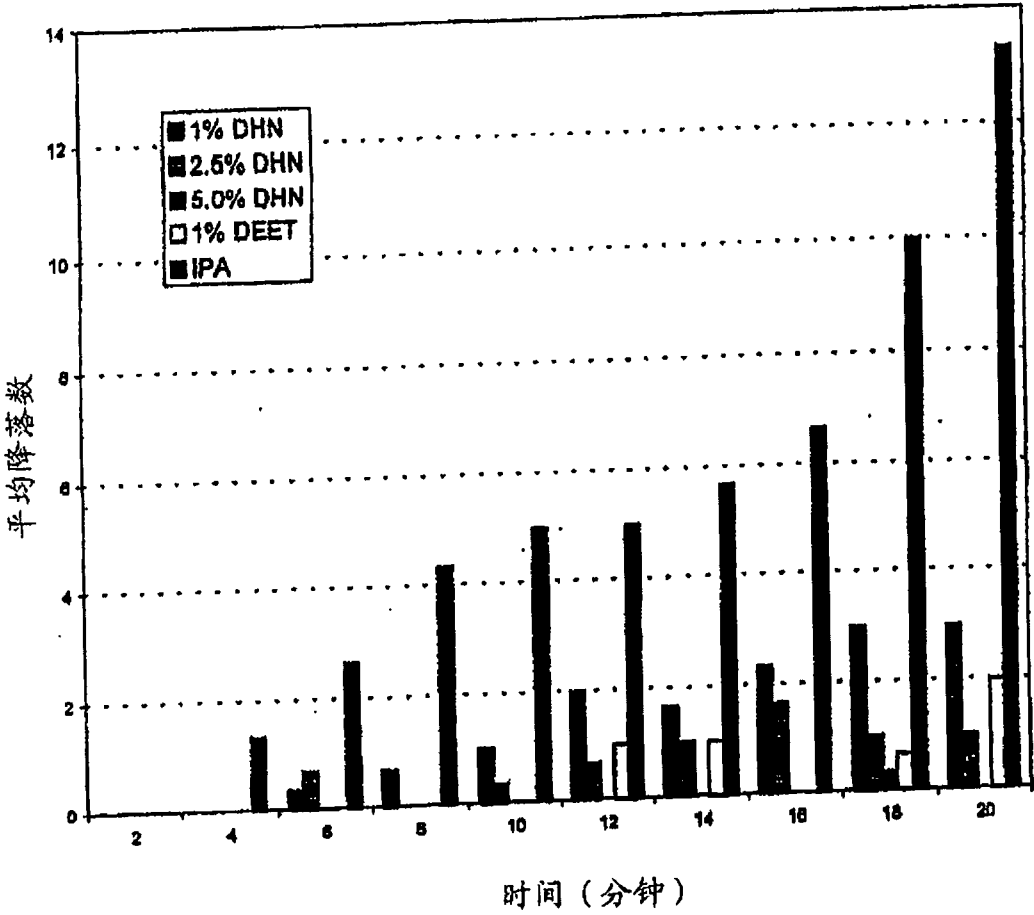


图 6