

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C07J 71/00

A61K 31/58

A61P 39/02



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200510025888.5

[43] 公开日 2005年11月23日

[11] 公开号 CN 1699400A

[22] 申请日 2005.5.18

[21] 申请号 200510025888.5

[71] 申请人 中国科学院上海生命科学研究院

地址 200031 上海市岳阳路320号

[72] 发明人 张斌 舒国欣 董瑞武 凌泽江
施玉梁 王文萍

[74] 专利代理机构 上海智信专利代理有限公司

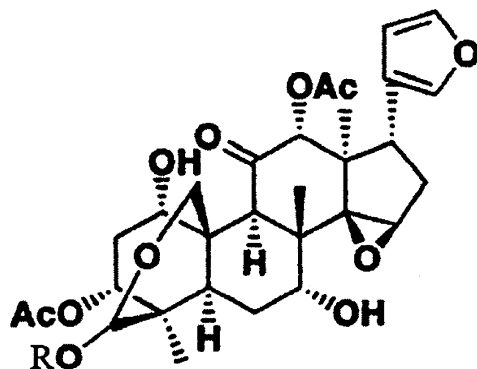
代理人 薛琦

权利要求书2页 说明书6页

[54] 发明名称 川楝素衍生物及其制备方法和用途

[57] 摘要

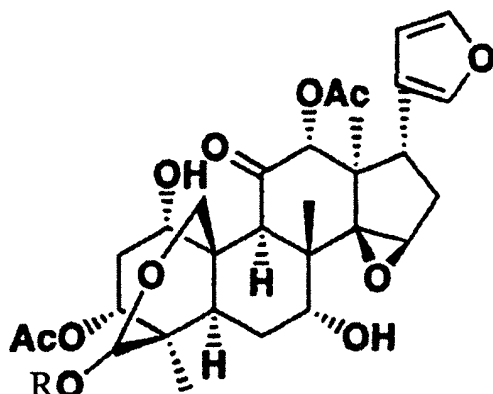
本发明公开了一种式(II)所示的川楝素衍生物或其药学上可接受的盐,其中,R为 $\text{CO}(\text{CH}_2)_m\text{CH}_3$ 或 $\text{CO}(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$;m为0-3,n为1-3。本发明还公开了川楝素衍生物或其药学上可接受的盐的制备方法和用途。本发明的川楝素衍生物或其药学上可接受的盐在对肉毒中毒动物保持良好的治疗效果的同时,比川楝素具有更小的毒性。



(II)

ISSN 1008-4274

1、式（II）所示的川楝素衍生物或其药学上可接受的盐：



(II)

其中，R 为 $\text{CO}(\text{CH}_2)_m\text{CH}_3$ 或 $\text{CO}(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$ ；m 为 0-3，n 为 1-3。

2、如权利要求 1 所述的川楝素衍生物或其药学上可接受的盐，其特征在于 m 为 1；n 为 2。

3、如权利要求 1 所述的川楝素衍生物或其药学上可接受的盐，其特征在于其在药学上可接受的盐为钠盐或钾盐。

4、如权利要求 1~3 所述的川楝素衍生物或其药学上可接受的盐的制备方法，其特征在于其包括：

1) 将川楝素与 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_m\text{COOH}$ 或 $\text{HOOC}(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$ 进行酯化反应，或与 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_m\text{COOH}$ 的酸酐或 $\text{HOOC}(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$ 的酸酐进行酰化反应制得该川楝素衍生物；其中，m、n 的定义如上；

2) 可选择地将该川楝素衍生物进行成盐反应制得川楝素衍生物药学上可接受的盐。

5、如权利要求 4 所述的制备方法，其特征在于步骤 1) 反应以无水吡啶或无水乙酸钠作缩合剂。

6、如权利要求 4 所述的制备方法，其特征在于还包括将步骤 1) 制得的

产物进一步纯化的步骤。

7、如权利要求 6 所述的制备方法，其特征在于所述的纯化步骤为：用乙酸乙酯溶解步骤 1) 制得的产物，用 3 %的碳酸氢钠溶液提取三次，再分别用乙酸乙酯和乙醚洗涤提取液，水层用稀盐酸酸化后用乙醚提取，无水硫酸钠干燥，冷却结晶。

8、如权利要求 6 所述的制备方法，其特征在于所述的纯化步骤为：将步骤 1) 制得的产物在无水乙醇中进行结晶或重结晶。

9、权利要求 1~3 所述的川楝素的衍生物或其药学上可接受的盐在制备抗肉毒毒素药物中的用途。

川楝素衍生物及其制备方法和用途

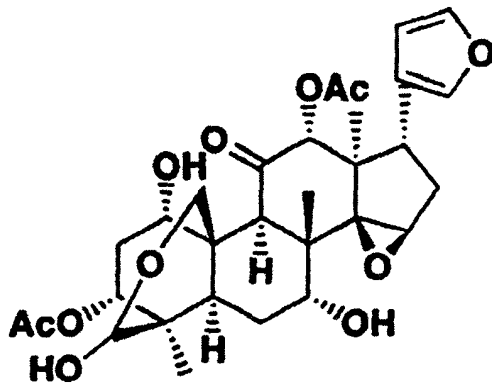
技术领域

本发明属于药物化学领域，具体涉及一种川楝素衍生物及其制备方法和在制备抗肉毒毒素药物中的用途。

背景技术

肉毒毒素是由肉毒梭状芽孢杆菌 *Clostridium Botulinum* 产生的毒素，有 A-E 七种亚型。其中 A 型、B 型和 E 型对人体有害，是目前已知毒性最强的毒素。肉毒中毒在临床上虽非常见多发病，但死亡率高，每年在国内外均有病例报道。目前除了抗肉毒血清对相应型别的肉毒中毒有治疗作用外，在国内外尚无有效的治愈肉毒中毒的药物。

川楝素 (toosendanin, chuanliansu) 是从植物川楝 (*Melia toosendan* Sieb et Zucc) 的韧皮分离、纯化的三萜化合物。化学学报论文 (舒国欣、梁晓天. 关于川楝素的化学结构的修正. 1980, 38: 196-198) 对川楝素的化学结构和理化性质进行了详细的描述。川楝素的分子式为 $C_{30}H_{38}O_{11}$ ，结构式如式 (I) 所示。

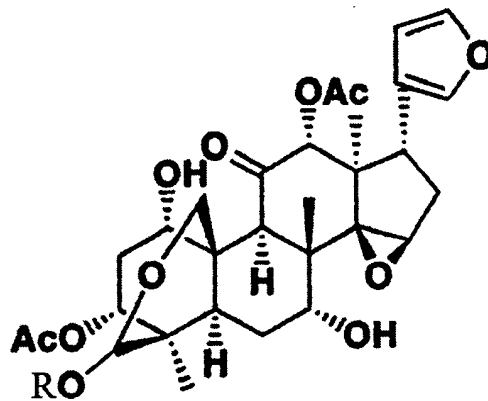


(I)

川楝素对肉毒中毒的动物有很好的治疗效果,能够治愈 A 型肉毒中毒的小鼠和猴,但该化合物毒性较大,其小鼠皮下注射半数致死剂量(LD₅₀)为 15.2 mg/kg(李培忠等.川楝素对肉毒中毒动物的治疗效果.中草药 1982,13(6):28-30)。因此,迫切需要开发出新的毒性小的抗肉毒毒素的药物。

发明内容

本发明的目的是提供一种毒性小的抗肉毒毒素的化合物,该化合物为川楝素衍生物或其药学上可接受的盐,其结构式如式(II)所示:



(II)

其中, R 为 $\text{CO}(\text{CH}_2)_m\text{CH}_3$ 或 $\text{CO}(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$; m 为 0-3, n 为 1-3。

本发明式 II 化合物中 m 较佳的为 1,即为川楝素丙酸酯; n 较佳的为 2,即川楝素琥珀酸酯。

所述的药学上可接受的盐可为各种金属盐和非金属盐,如碱金属盐:钠盐或钾盐等,碱土金属盐:钙盐等,非金属盐有铵盐等。

本发明的另一目的是提供上述川楝素衍生物或其药学上可接受的盐的制备方法,其中包括:

1) 将川楝素与 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_m\text{COOH}$ 或 $\text{HOOC}(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$ 进行酯化反应,或与 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_m\text{COOH}$ 的酸酐或 $\text{HOOC}(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$ 的酸酐进行酰化反应制

得该川楝素衍生物；其中，m、n的定义如上：

2) 可选择地将该川楝素衍生物进行成盐反应制得川楝素衍生物药学上可接受的盐。

上述式 I 川楝素可以用化学合成方法合成的川楝素，也可以是从植物川楝的韧皮中提取出来的川楝素，如将川楝的韧皮通过氯仿萃取，再经乙醇重结晶得到的川楝素（四川中药研究所：川楝素生产过程安全技术资料，1971）。

本发明川楝素衍生物制备方法中的步骤 1) 采用常规的酯化或酰化反应，比如较佳地以无水吡啶或无水乙酸钠作缩合剂。

上述的制备方法还可以对步骤 1) 制得的本发明川楝素衍生物进行进一步纯化，可采用常规的方法：

例如：用乙酸乙酯溶解上述制备方法制得的产物（R 为 $\text{CO}(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$ 时），用 3% 的碳酸氢钠溶液提取三次，再分别用乙酸乙酯和乙醚洗涤提取液，水层用稀盐酸酸化后用乙醚提取，无水硫酸钠干燥，冷却结晶；或也可以是将上述的产物（R 为 $\text{CO}(\text{CH}_2)_m\text{CH}_3$ 时）在无水乙醇中进行结晶或重结晶，较佳地为 1-3 次。

上述步骤 2) 中的成盐反应可为任何常规的成盐反应，以制成式 II 化合物药学上可接受的盐，如下列式 III 化合物与金属钠、钾的无机盐，优选其碳酸盐反应制成式 III 化合物的钠盐和钾盐等。

本发明又一目的是提供上述川楝素的衍生物或其药学上可接受的盐在制备抗肉毒毒素药物中的用途。

本发明的积极进步效果在于：川楝素衍生物在对肉毒中毒动物保持良好的治疗效果的同时，比川楝素具有更小的毒性。

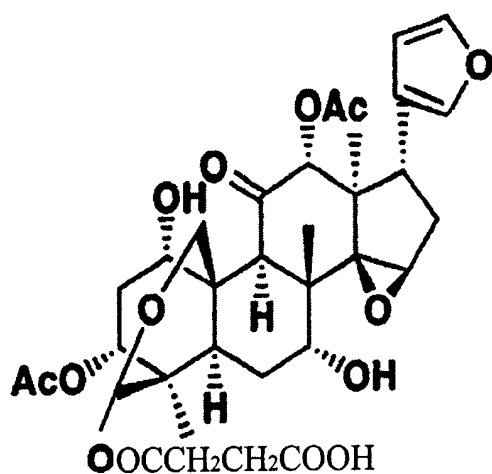
具体实施方式

下面用具体实施例进一步阐述本发明的技术方案，但本发明并不仅限于

此。其中，实施例中的式 I 化合物川楝素是根据发明内容中所述文献提取制备，其余试剂均为常规市售化学纯。

实施例 1

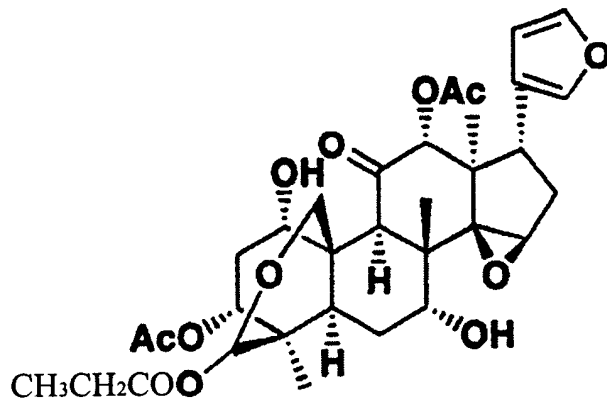
式 I 化合物川楝素 2.87g、琥珀酸酐 0.5g、无水乙酸钠 1.5g 和无水丙酮 20mL 置于反应瓶中，回流反应 10 小时。滤过固体，蒸发除去丙酮后加乙酸乙酯溶解，用 3% 的碳酸氢钠溶液提取三次，再分别用乙酸乙酯和乙醚洗涤提取液，水层用稀盐酸酸化后用乙醚提取，无水硫酸钠干燥，蒸发除去乙醚，冷却结晶，滤集固体，干燥，得到 1.25g 川楝素琥珀酸酯（产率：37%）。其分子式为： $C_{34}H_{42}O_{14}$ ；熔点：169-171℃；质谱 m/z ：674 $[M]^+$ ；核磁共振谱（溶剂： $(CD_3)_2CO$ ，内标：TMS） δ ：0.81 (3H, 单峰), 1.16 (3H, 单峰), 1.38 (3H, 单峰, CH_3), 1.95 (3H, 单峰), 2.02 (3H, 单峰, $COCH_3$), 2.71 (4H, 单峰, $COCH_2CH_2CO$)；结构式如式 (III) 所示：



(III)

实施例 2

式 I 化合物川楝素 800mg、8mL 无水吡啶及 8mL 丙酸酐，在反应瓶中回流反应 8 小时。粗品用无水乙醇结晶数次，制得 675mg 川楝素丙酸酯（产率：76%）。其分子式： $C_{33}H_{42}O_{12}$ ；熔点 235-237℃；质谱 m/z ：630 $[M]^+$ ；结构式如式 (IV) 所示：



(IV)

实施例 3

式III化合物川楝素琥珀酸酯 1g 加入 5mL 蒸馏水中，加入 111mg 碳酸钠或 144mg 碳酸钾，搅拌至全部溶解，冷冻干燥，制得川楝素琥珀酸钠或川楝素琥珀酸钾。

效果实施例 1

实施例 1 和 2 制得的川楝素琥珀酸酯和川楝素丙酸酯用 10%乙醇、10%吐温-80、10%聚乙醇及 70%的蒸馏水作溶剂，并根据实验需要稀释成适当的浓度。A 型肉毒毒素购自兰州生物制品研究所。实验用上海种小鼠购自中国科学院上海实验动物中心，体重 18-22 克，雌雄适当搭配。

川楝素琥珀酸酯和川楝素丙酸酯急性毒性 LD_{50} 测定：实验设立空白对照组、溶剂对照组和 5 个剂量的给药组，每组各 10 只小鼠。小鼠以皮下注射给药，观察 96 小时，根据小鼠死亡的数目，按 Bliss 法计算其 LD_{50} 值。结果见表 3。

川楝素琥珀酸酯和川楝素丙酸酯治疗 A 型肉毒中毒小鼠半数有效剂量 ED_{50} 测定：实验设定溶剂对照组、A 型肉毒毒素组、川楝素衍生物治疗组（4 个剂量组）。其中溶剂对照组和 A 型肉毒组各 10 只小鼠，川楝素衍生物治疗组每个剂量各 20 只小鼠（4 个剂量组共 80 只小鼠）。A 型肉毒毒素的攻毒量为 1.7 倍小鼠半数致死量，川楝素琥珀酸酯和川楝素丙酸酯给药剂量按该化

合物 LD₅₀ 值的倍数计算，给药方式是皮下注射，总量一次给完。川楝素琥珀酸酯和川楝素丙酸酯对于 A 型肉毒中毒的小鼠疗效见表 1、2。

表 1. 不同剂量的川楝素琥珀酸酯对 A 型肉毒中毒小鼠的疗效

给药剂量		存活率(%)
LD ₅₀ 倍数	剂量(mg/kg)	
0.1	29.4	6
0.2	58.8	55
0.4	117.6	85
0.6	176.4	95

注：溶剂对照组小鼠无死亡，A 型肉毒毒素组小鼠全部死亡。

表 2. 不同剂量的川楝素丙酸酯对 A 型肉毒中毒小鼠的疗效

给药剂量		存活率(%)
LD ₅₀ 倍数	剂量(mg/kg)	
0.1	11	10
0.2	22	55
0.4	44	85
0.6	66	95

注：溶剂对照组小鼠无死亡，A 型肉毒毒素组小鼠全部死亡。

川楝素琥珀酸酯和川楝素丙酸酯治疗半数有效剂量 ED₅₀ 值用 Bliss 法计算得到，结果见表 3。

表 3. 川楝素衍生物对 A 型肉毒毒素中毒小鼠的疗效

化合物	ED ₅₀ (mg/kg)	LD ₅₀ (mg/kg)
川楝素琥珀酸酯	56	294
川楝素丙酸酯	22	110