



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106255691 A

(43)申请公布日 2016.12.21

(21)申请号 201580019780.7

拉温德拉·钱德拉帕 科拉曼加拉

(22)申请日 2015.04.15

(74)专利代理机构 北京德琦知识产权代理有限公司

(30)优先权数据

公司 11018

1988/CHE/2014 2014.04.16 IN

代理人 康泉 王珍仙

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

(51)Int.Cl.

2016.10.14

C07D 471/04(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/IB2015/052748 2015.04.15

(87)PCT国际申请的公布数据

W02015/159236 EN 2015.10.22

(71)申请人 安瑟生物科技私人有限公司

地址 印度卡纳塔克邦

(72)发明人 拉朱卢·加瓦拉·戈文达

加内什·萨姆巴西瓦姆

汤姆·托马斯·皮蒂亚帕拉姆皮尔

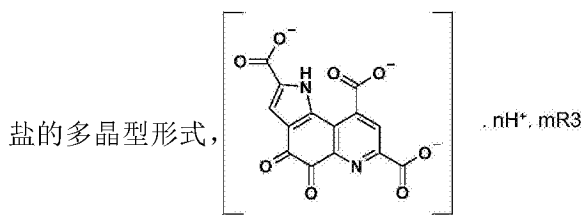
权利要求书3页 说明书14页 附图4页

(54)发明名称

4,5-二氢-1H-吡咯并[2,3-F]喹啉-2,7,9-三羧酸及其二钠盐的多晶型形式,其制备方法和用途

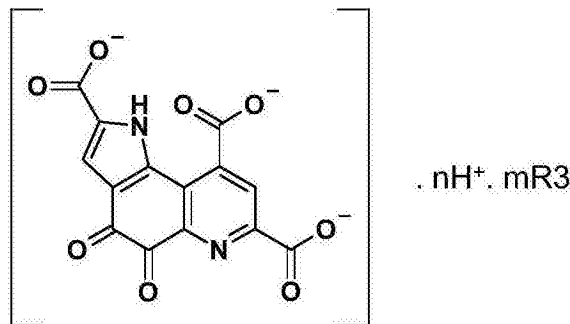
(57)摘要

本文披露内容涉及由式I表示的PQQ和/或其



其中“n”和“m”选自由(a)“n”=3、“m”=0和(b)“n”=1、“m”=2组成的组;并且R3为Na⁺。本文披露内容还涉及用于制备式I化合物和/或其盐的多晶型形式的方法,包含式I化合物和/或其盐的多晶型形式的组合物及其用途。

1. 由式I表示的PQQ或其盐的多晶型形式:



式 I

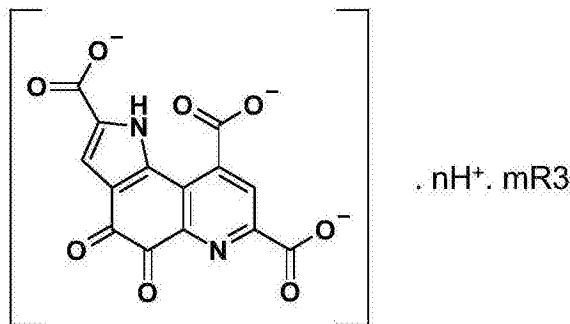
其中“n”和“m”选自由(a)“n”=3,“m”=0和(b)“n”=1,“m”=2组成的组;并且R3为Na⁺。

2. 权利要求1所述的多晶型形式,其中,当n=3且m=0时,PQQ的所述多晶型形式选自包括以下的组:具有在7.9447±0.2°、11.7552±0.2°、12.6559±0.2°、14.8219±0.2°、16.0264±0.2°、17.0684±0.2°、18.8257±0.2°、19.5474±0.2°、22.5303±0.2°、23.5594±0.2°、24.7954±0.2°、25.6632±0.2°、27.13±0.2°、28.3092±0.2°、29.1776±0.2°、30.2626±0.2°、31.923±0.2°、34.6208±0.2°、35.7228±0.2°、37.0506±0.2°、37.8323±0.2°、38.8985±0.2°、39.6034±0.2°、40.9434±0.2°、43.9407±0.2°、48.3058±0.2°、54.7932±0.2°、58.6411±0.2°的衍射角2θ处具有特征峰的X射线粉末衍射图案的形式1和具有在12.5376±0.2°、14.1135±0.2°、15.3635±0.2°、16.6934±0.2°、18.0525±0.2°、22.3898±0.2°、25.085±0.2°、28.2059±0.2°、31.2156±0.2°、35.8287±0.2°、37.3867±0.2°、39.5429±0.2°、42.936±0.2°、58.4641±0.2°的衍射角2θ处具有特征峰的X射线粉末衍射图案的形式2。

3. 权利要求1所述的多晶型形式,其中当n=1,m=2,且R3为Na⁺时,PQQ盐的所述多晶型形式选自包括以下的组:具有在8.3367±0.2°、9.5883±0.2°、12.2471±0.2°、15.2353±0.2°、16.6527±0.2°、20.989±0.2°、22.7837±0.2°、26.0084±0.2°、27.4215±0.2°、29.174±0.2°、34.4201±0.2°、38.7959±0.2°的衍射角2θ处具有特征峰的X射线粉末衍射图案的形式3、具有在6.2526±0.2°、8.09±0.2°、8.5645±0.2°、14.0915±0.2°、17.569±0.2°、18.6382±0.2°、22.2638±0.2°、23.0319±0.2°、23.9335±0.2°、26.4089±0.2°、27.2276±0.2°、28.2427±0.2°、29.5534±0.2°、31.7176±0.2°、33.7511±0.2°、34.7226±0.2°、36.9752±0.2°、38.8203±0.2°、40.9029±0.2°、43.1906±0.2°、45.3693±0.2°、47.3751±0.2°的衍射角2θ处具有特征峰的X射线粉末衍射图案的形式4、具有在6.3087±0.2°、8.787±0.2°、9.4638±0.2°、11.1383±0.2°、12.8604±0.2°、14.0298±0.2°、15.1081±0.2°、17.032±0.2°、21.1969±0.2°、22.3969±0.2°、23.3678±0.2°、26.8503±0.2°、27.6689±0.2°、29.435±0.2°、31.1489±0.2°、32.2817±0.2°、34.0255±0.2°、36.884±0.2°、38.6941±0.2°、43.2067±0.2°、45.2776±0.2°的衍射角2θ处具有特征峰的X射线粉末衍射图案的形式5、具有在8.186±0.2°、9.4246±0.2°、18.5305±0.2°、26.6158±0.2°、27.292±0.2°、31.6378±0.2°、45.4109±0.2°、56.4274±0.2°、66.1811±0.2°的衍射角2θ处具有特征峰的X射线粉末衍射图案的形式6以及具有在9.3426±0.2°、

11.6809±0.2°、13.6028±0.2°、14.9981±0.2°、16.0269±0.2°、18.9222±0.2°、20.4134±0.2°、22.0677±0.2°、23.7113±0.2°、25.6284±0.2°、26.4555±0.2°、27.4617±0.2°、28.5023±0.2°、30.7997±0.2°、31.6466±0.2°、32.4609±0.2°、35.9051±0.2°、36.7705±0.2°、38.0082±0.2°、38.7336±0.2°、41.5928±0.2°、43.7879±0.2°、45.3967±0.2°、46.9161±0.2°、48.9136±0.2°、52.7775±0.2°、56.5143±0.2°、61.0903±0.2°、66.189±0.2°的衍射角 2θ 处具有特征峰的X射线粉末衍射图案的形式7。

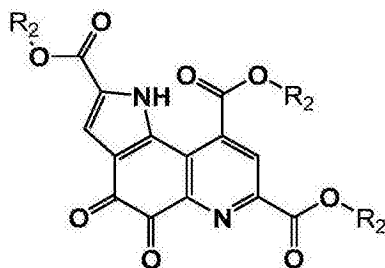
4. 用于制备由式I表示的PQQ或其盐的多晶型形式的方法，



式 I

其中“n”和“m”选自由(a)“n”=3，“m”=0和(b)“n”=1，“m”=2组成的组；并且R3为Na⁺，

其中，所述方法包括使式III与碱反应，之后通过酸处理以获得式I的化合物的步骤，



式 III

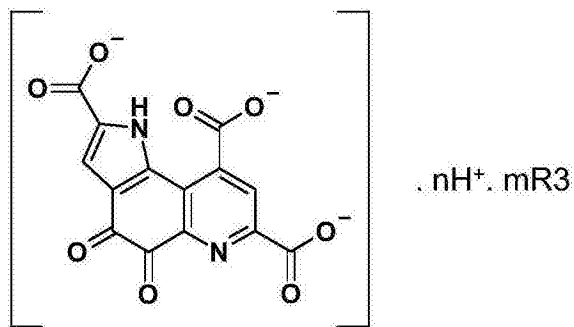
其中，R2选自包括以下的组：氢、直链或支链C1-8烷基、直链或支链C1-8烯基、直链或支链C1-8炔基、芳烷基、取代的芳烷基、杂芳烷基和取代的杂芳烷基，并且其中每个取代基任选地被取代。

5. 权利要求4所述的方法，其中，所述碱为氢氧化钠或碳酸钠。

6. 权利要求4所述的方法，其中，所述酸为盐酸或硫酸。

7. 权利要求4所述的方法，其中，所述方法在约10℃至约80℃的温度范围内进行，并且时长范围为约1小时至约18小时。

8. 包含由式I表示的PQQ或其盐的多晶型形式的组合物：



式 I

其中，“n”和“m”选自由(a)“n”=3，“m”=0和(b)“n”=1，“m”=2组成的组；并且；

R₃为Na⁺，

任选地伴随赋形剂。

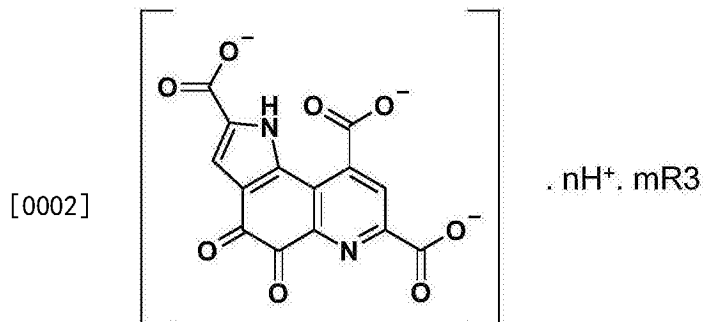
9. 权利要求8所述的组合物，其中，所述组合物是营养组合物或药物组合物；并且其中所述赋形剂选自包括以下的组：粘结剂、崩解剂、稀释剂、润滑剂、增塑剂、渗透促进剂和增溶剂，或它们的任意组合。

10. 权利要求8所述的组合物，其中，所述组合物被配制或选自包括以下的组的剂型：片剂、糖锭、锭剂、水性或油性混悬剂、油膏剂、贴剂、凝胶剂、洗剂、洁齿剂、胶囊剂、乳剂、霜剂、喷雾剂、滴剂、可分散性粉剂或颗粒剂、硬或软凝胶胶囊剂中的乳剂、糖浆剂、酏剂和食品补充剂，或它们的任意组合。

4,5-二氢-1H-吡咯并[2,3-F]喹啉-2,7,9-三羧酸及其二钠盐 的多晶型形式,其制备方法和用途

技术领域

[0001] 本文披露内容属于药物和化学科学领域。本文披露内容涉及由式I表示的吡咯并喹啉酮(PQQ)和/或其盐的多晶型形式。



式 I

[0003] 其中“n”和“m”选自由(a)“n”=3,“m”=0和(b)“n”=1,“m”=2组成的组;并且

[0004] R₃为Na⁺。

[0005] 本文披露内容还涉及用于制备式I的化合物的多晶型形式的方法、包含式I的化合物的多晶型形式的组合物及其用途。

背景技术

[0006] 吡咯并喹啉酮(PQQ)是一种天然产物并且被归为必需的微量营养素和膳食补充品,因为其在线粒体生物学中起关键作用。PQQ也被称为吡咯喹啉酮(methoxatin)。在许多应用中,PQQ的主要用途是保护线粒体免受氧化应激,提供神经保护和心脏保护。PQQ的常见食物来源为西芹、青椒、绿茶、番木瓜、猕猴桃、乳品和豆腐。然而,食品来源中可获得的PQQ浓度仅为皮摩尔(pM)至纳摩尔(nM)水平。这使得有必要开发能够产生大量PQQ及其盐的化学工艺。

[0007] 在文献中(J. Am. Chem. Soc. 103(1981), 5599-5600; Helv, Chem, Acta 76(1993), 1667; W02006/102642A1、JP 7-113024 A)很少有报道通过化学方法生产PQQ为游离酸及其盐。然而,合成涉及大量的步骤(9-10步)并且高级中间体和最终产物的分离进一步涉及繁琐的后处理程序。

[0008] 几个研究团队已经报道了具有或不具有金属盐的不同PQQ的多晶型物以及制备PQQ多晶型物的方法。多晶型现象是固态的化学品/药物化合物以具有相同的化学组成与改变的物理性质和各种各样的生物学应用的不同结晶形式存在的能力。对治疗上重要的化学分子的新的多晶型形式的鉴定在药物开发过程中是重要的步骤。

[0009] 最近,Junichi EDAHIRO等人(US 20120116087 A1)报道了PQQ二钠盐和三钠盐的确定的晶体结构。然而,最终的分离涉及使用有机溶剂。此外,已知醇类溶剂会与PQQ形成加合物。

[0010] 因此,能够看到对于获得吡咯并喹啉醌(PQQ)盐的更好的且更简单的合成途径存在巨大的需求。本文披露内容的目的在于克服现有技术的缺陷并由高级中间体通过具有最少步骤的改进的、成本有效的且可规模化的合成途径来提供PQQ及其盐的稳定结晶形式。

附图说明

[0011] 根据以下描述并结合附图将使得本文披露内容的特征更加清楚。应当理解,附图仅根据该披露内容描绘了若干实施方式,并且因此不应被认为是对其范围的限制,该披露内容的附加的特性和细节将通过使用附图来描述:

[0012] 图1示出了PQQ的多晶型物-1(形式1)的粉末XRD图谱。

[0013] 图2示出了PQQ的多晶型物-2(形式2)的粉末XRD图谱。

[0014] 图3示出了PQQ盐的多晶型物-3(形式3)的粉末XRD图谱。

[0015] 图4示出了PQQ盐的多晶型物-4(形式4)的粉末XRD图谱。

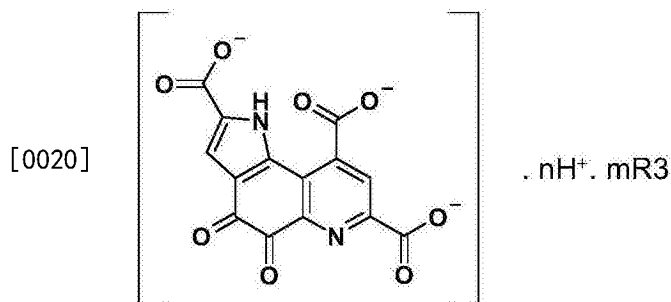
[0016] 图5示出了PQQ盐的多晶型物-5(形式5)的粉末XRD图谱。

[0017] 图6示出了PQQ盐的多晶型物-6(形式6)的粉末XRD图谱。

[0018] 图7示出了PQQ盐的多晶型物-7(形式7)的粉末XRD图谱。

发明内容

[0019] 因此,本文披露内容涉及由式I表示的PQQ或其盐的多晶型形式:

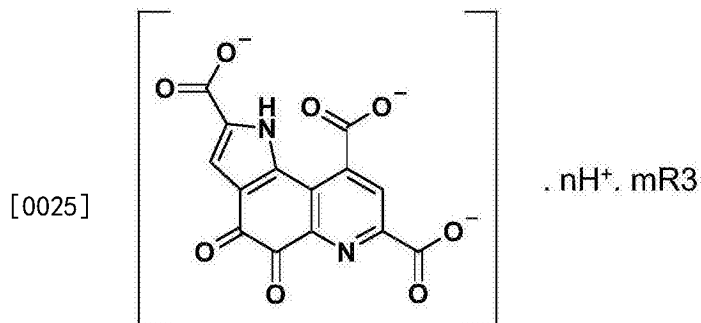


[0021] 式 I

[0022] 其中“n”和“m”选自由(a)“n”=3,“m”=0和(b)“n”=1,“m”=2组成的组,并且

[0023] R₃为Na⁺;

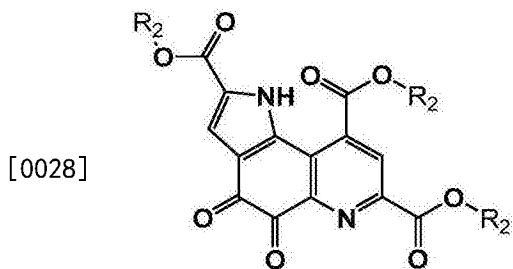
[0024] 用于制备由式I表示的PQQ或其盐的多晶型形式的方法:



式 I

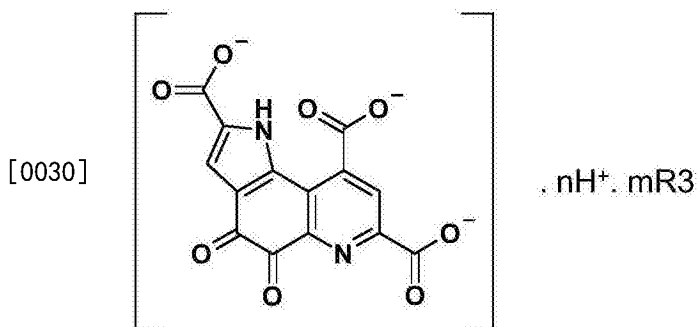
[0026] 其中,“n”和“m”选自由(a)“n”=3,“m”=0和(b)“n”=1,“m”=2组成的组,并且

[0027] R3为Na⁺,其中,所述方法包括使式III与碱反应,之后通过酸处理以获得式I的化合物的步骤,



式 III

[0029] 其中,R2选自包括以下的组:氢、直链或支链C1-8烷基、直链或支链C1-8烯基、直链或支链C1-8炔基、芳烷基、取代的芳烷基、杂芳烷基和取代的杂芳烷基,并且其中每个取代基任选地被取代;以及包含由式I表示的PQQ或其盐的多晶型形式的组合物:

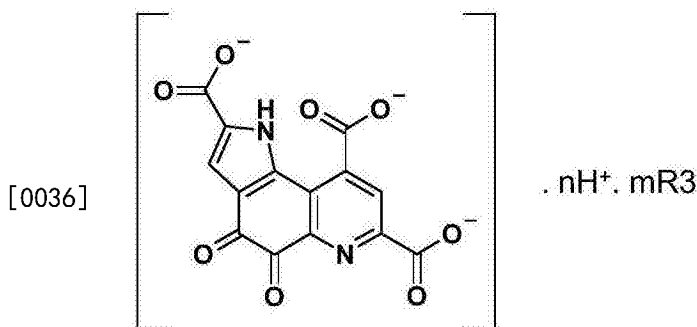


式 I

[0031] 其中“n”和“m”选自由(a)“n”=3,“m”=0和(b)“n”=1,“m”=2组成的组,并且
 [0032] R3为Na⁺,
 [0033] 任选地伴随赋形剂。

具体实施方式

[0035] 因此,本文披露内容涉及由式I表示的PQQ或其盐的多晶型形式:

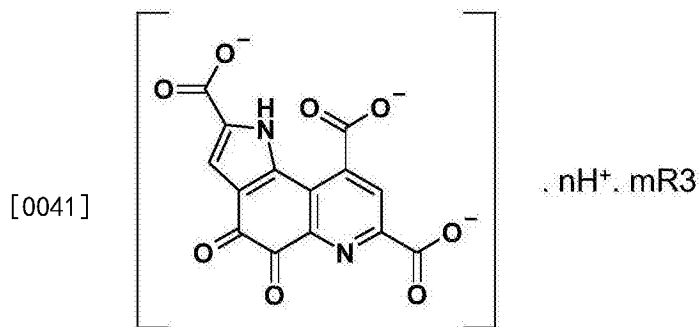


式 I

[0037] 其中“n”和“m”选自由(a)“n”=3,“m”=0和(b)“n”=1,“m”=2组成的组;并且
 [0038] R3为Na⁺.
 [0039] 在本文披露内容的一种实施方式中,当n=3且m=0时,PQQ的多晶型形式选自包括以下的组:具有在7.9447±0.2°、11.7552±0.2°、12.6559±0.2°、14.8219±0.2°、16.0264

$\pm 0.2^\circ$ 、 $17.0684 \pm 0.2^\circ$ 、 $18.8257 \pm 0.2^\circ$ 、 $19.5474 \pm 0.2^\circ$ 、 $22.5303 \pm 0.2^\circ$ 、 $23.5594 \pm 0.2^\circ$ 、 $24.7954 \pm 0.2^\circ$ 、 $25.6632 \pm 0.2^\circ$ 、 $27.13 \pm 0.2^\circ$ 、 $28.3092 \pm 0.2^\circ$ 、 $29.1776 \pm 0.2^\circ$ 、 $30.2626 \pm 0.2^\circ$ 、 $31.923 \pm 0.2^\circ$ 、 $34.6208 \pm 0.2^\circ$ 、 $35.7228 \pm 0.2^\circ$ 、 $37.0506 \pm 0.2^\circ$ 、 $37.8323 \pm 0.2^\circ$ 、 $38.8985 \pm 0.2^\circ$ 、 $39.6034 \pm 0.2^\circ$ 、 $40.9434 \pm 0.2^\circ$ 、 $43.9407 \pm 0.2^\circ$ 、 $48.3058 \pm 0.2^\circ$ 、 $54.7932 \pm 0.2^\circ$ 、 $58.6411 \pm 0.2^\circ$ 的衍射角 2θ 处具有特征峰的X射线粉末衍射图案的形式1和具有在 $12.5376 \pm 0.2^\circ$ 、 $14.1135 \pm 0.2^\circ$ 、 $15.3635 \pm 0.2^\circ$ 、 $16.6934 \pm 0.2^\circ$ 、 $18.0525 \pm 0.2^\circ$ 、 $22.3898 \pm 0.2^\circ$ 、 $25.085 \pm 0.2^\circ$ 、 $28.2059 \pm 0.2^\circ$ 、 $31.2156 \pm 0.2^\circ$ 、 $35.8287 \pm 0.2^\circ$ 、 $37.3867 \pm 0.2^\circ$ 、 $39.5429 \pm 0.2^\circ$ 、 $42.936 \pm 0.2^\circ$ 、 $58.4641 \pm 0.2^\circ$ 的衍射角 2θ 处具有特征峰的X射线粉末衍射图案的形式2。

[0040] 在本文披露内容的另一种实施方式中,由式II表示的化合物的盐的多晶型形式为二钠盐。



式 II

[0042] 其中,“n=1”且“m=2”;

[0043] 其中,R₃为Na⁺。

[0044] 在本文披露内容的又一种实施方式中,当n=1,m=2,且R₃为Na⁺时,PQQ盐的多晶型形式选自包括以下的组:具有在 $8.3367 \pm 0.2^\circ$ 、 $9.5883 \pm 0.2^\circ$ 、 $12.2471 \pm 0.2^\circ$ 、 $15.2353 \pm 0.2^\circ$ 、 $16.6527 \pm 0.2^\circ$ 、 $20.989 \pm 0.2^\circ$ 、 $22.7837 \pm 0.2^\circ$ 、 $26.0084 \pm 0.2^\circ$ 、 $27.4215 \pm 0.2^\circ$ 、 $29.174 \pm 0.2^\circ$ 、 $34.4201 \pm 0.2^\circ$ 、 $38.7959 \pm 0.2^\circ$ 的衍射角 2θ 处具有特征峰的X射线粉末衍射图案的形式3、具有在 $6.2526 \pm 0.2^\circ$ 、 $8.09 \pm 0.2^\circ$ 、 $8.5645 \pm 0.2^\circ$ 、 $14.0915 \pm 0.2^\circ$ 、 $17.569 \pm 0.2^\circ$ 、 $18.6382 \pm 0.2^\circ$ 、 $22.2638 \pm 0.2^\circ$ 、 $23.0319 \pm 0.2^\circ$ 、 $23.9335 \pm 0.2^\circ$ 、 $26.4089 \pm 0.2^\circ$ 、 $27.2276 \pm 0.2^\circ$ 、 $28.2427 \pm 0.2^\circ$ 、 $29.5534 \pm 0.2^\circ$ 、 $31.7176 \pm 0.2^\circ$ 、 $33.7511 \pm 0.2^\circ$ 、 $34.7226 \pm 0.2^\circ$ 、 $36.9752 \pm 0.2^\circ$ 、 $38.8203 \pm 0.2^\circ$ 、 $40.9029 \pm 0.2^\circ$ 、 $43.1906 \pm 0.2^\circ$ 、 $45.3693 \pm 0.2^\circ$ 、 $47.3751 \pm 0.2^\circ$ 的衍射角 2θ 处具有特征峰的X射线粉末衍射图案的形式4、具有在 $6.3087 \pm 0.2^\circ$ 、 $8.787 \pm 0.2^\circ$ 、 $9.4638 \pm 0.2^\circ$ 、 $11.1383 \pm 0.2^\circ$ 、 $12.8604 \pm 0.2^\circ$ 、 $14.0298 \pm 0.2^\circ$ 、 $15.1081 \pm 0.2^\circ$ 、 $17.032 \pm 0.2^\circ$ 、 $21.1969 \pm 0.2^\circ$ 、 $22.3969 \pm 0.2^\circ$ 、 $23.3678 \pm 0.2^\circ$ 、 $26.8503 \pm 0.2^\circ$ 、 $27.6689 \pm 0.2^\circ$ 、 $29.435 \pm 0.2^\circ$ 、 $31.1489 \pm 0.2^\circ$ 、 $32.2817 \pm 0.2^\circ$ 、 $34.0255 \pm 0.2^\circ$ 、 $36.884 \pm 0.2^\circ$ 、 $38.6941 \pm 0.2^\circ$ 、 $43.2067 \pm 0.2^\circ$ 、 $45.2776 \pm 0.2^\circ$ 的衍射角 2θ 处具有特征峰的X射线粉末衍射图案的形式5、具有在 $8.186 \pm 0.2^\circ$ 、 $9.4246 \pm 0.2^\circ$ 、 $18.5305 \pm 0.2^\circ$ 、 $26.6158 \pm 0.2^\circ$ 、 $27.292 \pm 0.2^\circ$ 、 $31.6378 \pm 0.2^\circ$ 、 $45.4109 \pm 0.2^\circ$ 、 $56.4274 \pm 0.2^\circ$ 、 $66.1811 \pm 0.2^\circ$ 的衍射角 2θ 处具有特征峰的X射线粉末衍射图案的形式6、以及具有在 $9.3426 \pm 0.2^\circ$ 、 $11.6809 \pm 0.2^\circ$ 、 $13.6028 \pm 0.2^\circ$ 、 $14.9981 \pm 0.2^\circ$ 、 $16.0269 \pm 0.2^\circ$ 、 $18.9222 \pm 0.2^\circ$ 、

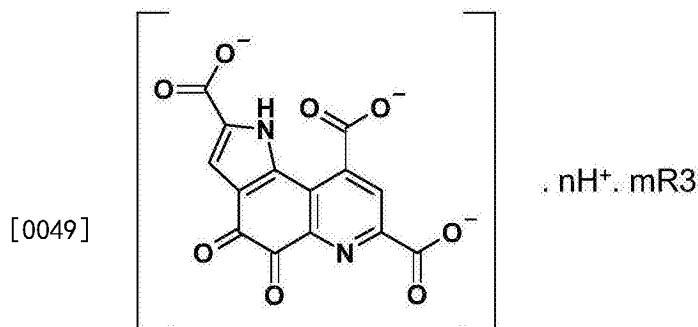
20.4134±0.2°、22.0677±0.2°、23.7113±0.2°、25.6284±0.2°、26.4555±0.2°、27.4617±0.2°、28.5023±0.2°、30.7997±0.2°、31.6466±0.2°、32.4609±0.2°、35.9051±0.2°、36.7705±0.2°、38.0082±0.2°、38.7336±0.2°、41.5928±0.2°、43.7879±0.2°、45.3967±0.2°、46.9161±0.2°、48.9136±0.2°、52.7775±0.2°、56.5143±0.2°、61.0903±0.2°、66.189±0.2°的衍射角2θ处具有特征峰的X射线粉末衍射图案的形式7。

[0045] 在本文披露内容的再一种实施方式中,其中形式1具有图1中所示特征峰的X射线粉末衍射图且形式2具有图2中所示特征峰的X射线粉末衍射图。

[0046] 在本文披露内容的再一种实施方式中,其中当n=1,m=2且R3为Na⁺时,PQQ盐的多晶型形式选自包括形式3、形式4、形式5、形式6和形式7的组。

[0047] 在本文披露内容的再一种实施方式中,其中形式3具有图3中所示特征峰的X射线粉末衍射图,形式4具有图4中所示特征峰的X射线粉末衍射图,形式5具有图5中所示特征峰的X射线粉末衍射图,形式6具有图6中所示特征峰的X射线粉末衍射图,并且形式7具有图7中所示特征峰的X射线粉末衍射图。

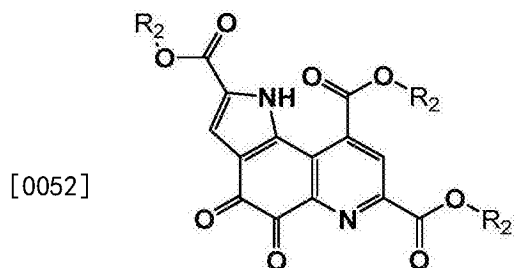
[0048] 本文披露内容进一步涉及用于制备由式I表示的PQQ或其盐的多晶型形式的方法:



式 I

[0050] 其中“n”和“m”选自由(a)“n”=3,“m”=0和(b)“n”=1,“m”=2组成的组;并且

[0051] R³为Na⁺,其中所述方法包括使式III与碱反应,之后再通过酸处理以获得式I的化合物的步骤,



式 III

[0053] 其中,R²选自包括以下的组:氢、直链或支链C1-8烷基、直链或支链C1-8烯基、直链或支链C1-8炔基、芳烷基、取代的芳烷基、杂芳烷基和取代的杂芳烷基,并且其中每个取代基任选地被取代。

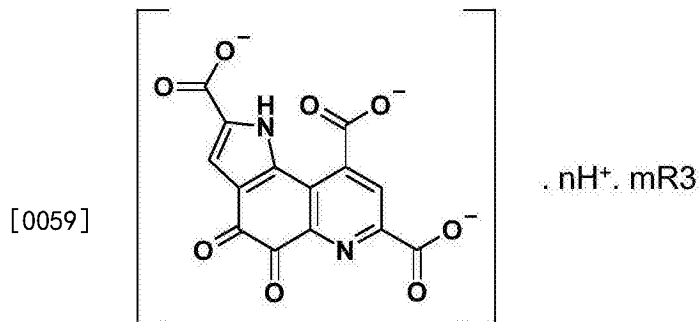
[0054] 在本文披露内容的一种实施方式中,上述方法在碱(氢氧化钠或碳酸钠)存在下实施。

[0055] 在本文披露内容的另一种实施方式中,上述方法在酸(盐酸或硫酸)存在下实施。

[0056] 在本文披露内容的又一种实施方式中,上述方法在约10°C至约80°C的温度范围下实施,并且持续范围约1小时至约18小时的时长。

[0057] 在本文披露内容的再一种实施方式中,上述方法进一步包含所获得的多晶型PQQ或其盐的分离和/或纯化。此外,所述分离包括选自包括以下的组的动作:加入溶剂、淬灭、过滤和萃取,以及它们以任意顺序的动作组合。

[0058] 本文披露内容进一步涉及包含由式I表示的PQQ或其盐的多晶型形式的组合物:



式 I

[0060] 其中“n”和“m”选自由(a)“n”=3,“m”=0和(b)“n”=1,“m”=2组成的组;并且

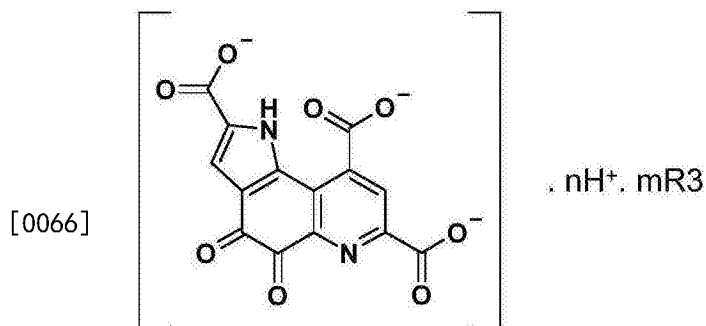
[0061] R₃为Na⁺,

[0062] 任选地伴随赋形剂。

[0063] 在本文披露内容的一种实施方式中,该组合物为营养组合物或药物组合物;并且其中所述赋形剂选自包括以下的组:粘结剂、崩解剂、稀释剂、润滑剂、增塑剂、渗透促进剂和增溶剂,或它们的任意组合。

[0064] 在本文披露内容的另一种实施方式中,将该组合物配制成选自包括以下的组的剂型:片剂、糖锭、锭剂、水性或油性混悬剂、油膏剂、贴剂、凝胶剂、洗剂、洁齿剂、胶囊剂、乳剂、霜剂、喷雾剂、滴剂、可分散性粉剂或颗粒剂、硬或软凝胶胶囊剂中的乳剂、糖浆剂、酞剂和食品补充剂,或它们的任意组合。

[0065] 本文披露内容进一步涉及由式I表示的PQQ和/或其盐的多晶型形式的用途:



式 I

[0067] 其中“n”和“m”选自由(a)“n”=3,“m”=0和(b)“n”=1,“m”=2组成的组;并且R₃为Na⁺;用于控制选自包括以下的组的病症:神经元性疾病、心血管疾病和营养失调以及它们

的组合。

[0068] 材料和方法：

[0069] 化学品获自多个商业供应商，例如Apollo Scientific、Sigma-Aldrich等等。利用Merck硅胶230-400筛来进行最终纯化。在氧化铝支持的硅胶40F254板(德国达姆施塔特市，Merck)上进行TLC实验。在UV(254nm)和KMnO₄下照射该板。利用Buchi B-540来测定熔点并且不经校正。在德国Bruker BioSpin公司的Bruker AM-300(¹H NMR 300MHz)上记录所有的¹H NMR图谱。通过Agilent Technology的LCMS6200系列来检测未知化合物的分子量。参比内标TMS，以ppm(δ)来报告化学位移。信号指定如下：s，单峰；d，双峰；t，三峰；m，多峰；brs，宽单峰。

[0070] 所采用的化学品如下：

[0071] 1)4,5-二氧-4,5-二氢-1H-吡咯并[2,3-f]喹啉-2,7,9-三羧酸三甲酯

[0072] 2)氢氧化钠

[0073] 3)碳酸钠

[0074] 4)盐酸

[0075] 5)水

[0076] 6)甲醇

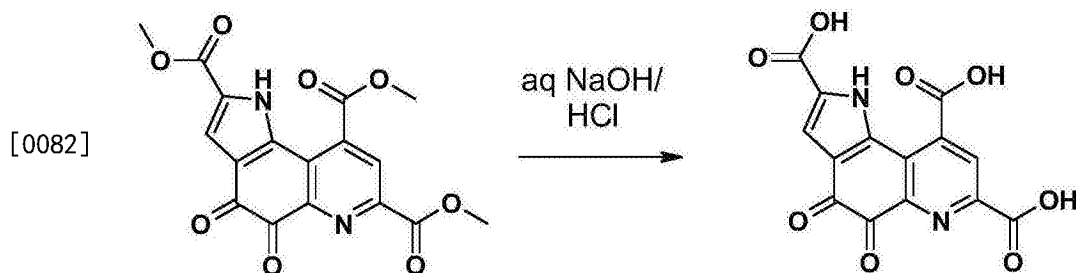
[0077] 7)乙醇

[0078] 对于本领域普通技术人员而言，基于本文中提供的描述，本文披露内容的另外实施方式和特征将是清楚的。然而，以下的实施例不应被解释为限制本文披露内容的范围。

[0079] 实施例

[0080] 实施例1：

[0081] 4,5-二氧-4,5-二氢-1H-吡咯并[2,3-f]喹啉-2,7,9-三羧酸(PQQ)多晶型物-形式1[式I, 'n'=3且'm'=0]的合成



[0083] 在约25-30°下向约15L的约3.5%氢氧化钠溶液中加入4,5-二氧-4,5-二氢-1H-吡咯并[2,3-f]喹啉-2,7,9-三羧酸三甲酯(1.0kg,1当量,2.686摩尔)。在约25℃至约30℃下搅拌反应混合物约3小时。通过HPLC来监控反应的完成。之后，用12N盐酸将反应混合物酸化(pH:<1)，并在40-60℃下搅拌12小时以使反应物料沉淀。过滤沉淀物以获得产物[4,5-二氧-4,5-二氢-1H-吡咯并[2,3-f]喹啉-2,7,9-三羧酸]，其为亮红色固体(约0.80Kg,产率：90%)。

[0084] 通过HPLC得到纯度：99.3%

[0085] ¹H NMR(DMSO,300MHz):7.20(s,1H),8.60(s,1H)和13.60(bs,3H)

[0086] IR(ATR,cm⁻¹)v:3553,3257,3009,2615,1746,1711,1644,1506,1399,1197和767

[0087] PQQ的多晶型物-1(形式1)的粉末XRD图谱：

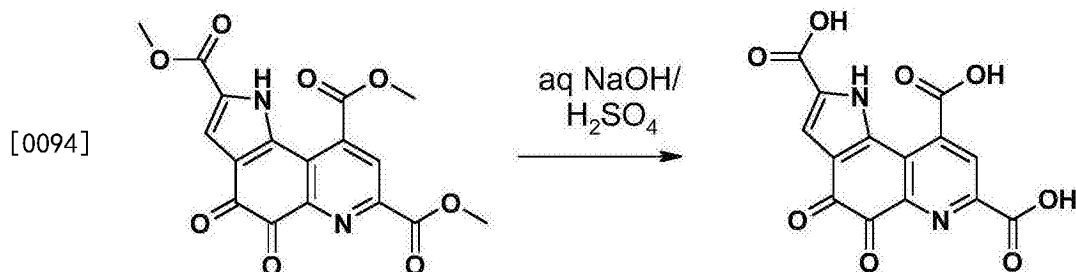
[0088] 图1中提供了PQQ的多晶型物-1(形式1)的粉末XRD图谱样式。

[0089] PQQ的多晶型物1(形式1)的峰值列表

位置[°2Th.]	高度[cts]	FWHM[°2Th.]	晶面间距[Å]	相对强度[%]
7.9447	17.79	0.4723	11.12865	2.18
11.7552	166.55	0.3149	7.52840	20.45
12.6559	7.20	0.4723	6.99459	0.88
14.8219	20.43	0.4723	5.97696	2.51
16.0264	84.11	0.4723	5.53036	10.33
17.0684	69.61	0.3149	5.19501	8.55
18.8257	113.17	0.3149	4.71384	13.90
19.5474	220.15	0.3149	4.54140	27.03
22.5303	61.96	0.4723	3.94645	7.61
23.5594	81.10	0.3149	3.77634	9.96
24.7954	294.10	0.4723	3.59083	36.11
25.6632	36.75	0.3936	3.47134	4.51
27.1300	53.40	0.3149	3.28690	6.56
28.3092	814.40	0.3149	3.15261	100.00
29.1776	42.37	0.3936	3.06073	5.20
30.2626	58.40	0.3149	2.95342	7.17
31.9230	194.87	0.3149	2.80350	23.93
34.6208	45.74	0.3149	2.59096	5.62
35.7228	27.88	0.4723	2.51353	3.42
37.0506	43.58	0.4723	2.42644	5.35
37.8323	31.07	0.3149	2.37809	3.82
38.8985	42.87	0.3149	2.31532	5.26
39.6034	15.21	0.3149	2.27572	1.87
40.9434	9.12	0.6298	2.20428	1.12
43.9407	15.67	0.6298	2.06063	1.92
48.3058	5.82	0.4723	1.88414	0.72
54.7932	12.32	0.4723	1.67542	1.51
58.6411	12.31	0.3840	1.57302	1.51

[0092] 实施例2:

[0093] 4,5-二氧-4,5-二氢-1H-吡咯并[2,3-f]喹啉-2,7,9-三羧酸(PQQ)多晶型物-形式2[式I, 'n'=3且'm'=0]的合成



[0095] 在25-30℃下向15L的3.5%氢氧化钠溶液中加入4,5-二氧-4,5-二氢-1H-吡咯并[2,3-f]喹啉-2,7,9-三羧酸三甲酯(1.0kg,1当量,2.686摩尔)。在25℃至30℃下搅拌反应混合物3小时。通过HPLC来监控反应的完成。之后,用硫酸将反应混合物酸化(pH:<1)并在25-30℃下搅拌12小时以使反应物料沉淀。过滤沉淀物以获得产物[4,5-二氧-4,5-二氢-

1H-吡咯并[2,3-f]喹啉-2,7,9-三羧酸],其为亮红色固体(约0.78Kg,产率:88%)。

[0096] 通过HPLC得到纯度:99.3%

[0097] ^1H NMR(DMSO,300MHz):7.02(s,1H),8.60(s,1H)和3.60(bs,3H)

[0098] IR(ATR, cm^{-1})v:3503,3255,2965,1746,1711,1644,1506,1320,1196和766

[0099] PQQ的多晶型物-2(形式2)的粉末XRD图谱:

[0100] 图2中提供了PQQ的多晶型物-2(形式2)的粉末XRD图谱样式。

[0101] PQQ的多晶型物-2(形式2)的峰值列表

[0102]

位置[$^{\circ}2\text{Th.}$]	高度[cts]	FWHM[$^{\circ}2\text{Th.}$]	晶面间距[\AA]	相对强度[%]
12.5376	89.27	0.4723	7.06033	12.04
14.1135	66.97	0.3936	6.27531	9.03
15.3635	52.59	0.5510	5.76742	7.09
16.6934	25.35	0.4723	5.31085	3.42
18.0525	75.28	0.6298	4.91397	10.15

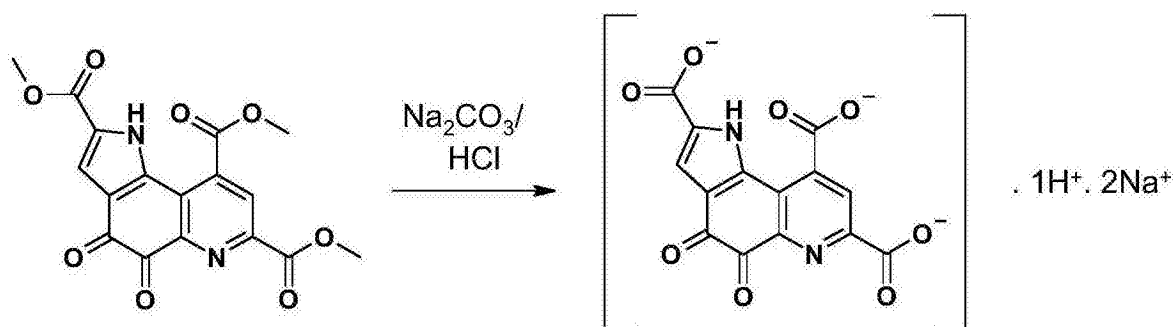
[0103]

22.3898	74.80	0.3936	3.97089	10.08
25.0850	12.67	0.9446	3.55002	1.71
28.2059	741.73	0.3936	3.16393	100.00
31.2156	12.29	0.4723	2.86539	1.66
35.8287	23.53	0.5510	2.50634	3.17
37.3867	33.07	0.4723	2.40540	4.46
39.5429	13.01	0.7085	2.27906	1.75
42.9360	11.31	0.6298	2.10649	1.52
58.4641	10.21	0.7680	1.57736	1.38

[0104] 实施例3:

[0105] 4,5-二氧-4,5-二氢-1H-吡咯并[2,3-f]喹啉-2,7,9-三羧酸二钠(PQQ.2Na)多晶型物-形式3[式II,“n”=1,“m”=2]的合成

[0106]



[0107] 程序:

[0108] 在25-30 $^{\circ}\text{C}$ 下向15L的10%碳酸钠溶液中加入4,5-二氧-4,5-二氢-1H-吡咯并[2,3-f]喹啉-2,7,9-三羧酸三甲酯(1.0kg,1当量,2.686摩尔)。在16小时内将反应混合物加热至70 $^{\circ}\text{C}$ 至75 $^{\circ}\text{C}$ 。通过HPLC来监控反应的完成。之后,用1N盐酸将反应混合物酸化(pH:3.0-3.5)以使反应物料沉淀。在0-5 $^{\circ}\text{C}$ 下过滤沉淀物以获得产物[4,5-二氧-4,5-二氢-1H-吡咯并[2,3-f]喹啉-2,7,9-三羧酸二钠],其为暗红色固体(约0.85Kg,产率:85%)。

[0109] $^1\text{H NMR}(\text{D}_2\text{O}, 300\text{MHz})$: 6.84(s, 1H), 8.48(s, 1H); LC-MS(ESI): 329(M-H), 通过HPLC得到纯度: 98.6%

[0110] IR(ATR, cm^{-1}) ν : 3407、1719、1666、1621、1580、1537、1497、1356、1243、975和731

[0111] 多晶型物-3(形式3)的粉末XRD图谱:

[0112] 图3中提供了PQQ盐的多晶型物3(形式3)的粉末XRD图谱样式。

[0113] PQQ盐的多晶型物-3(形式3)的峰值列表

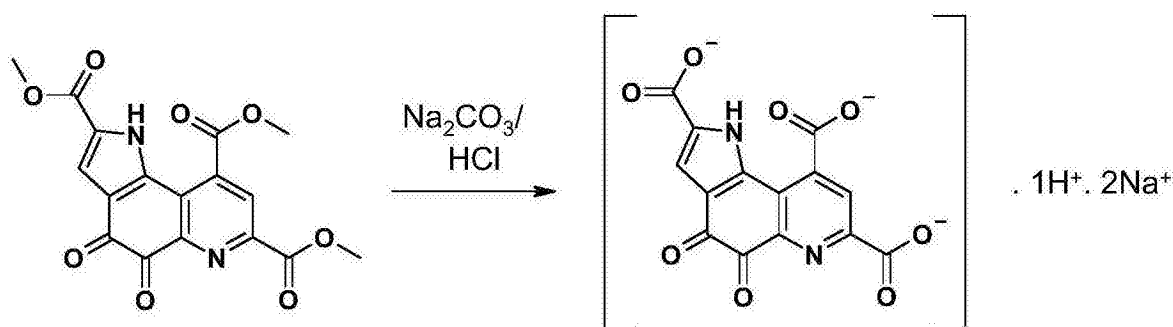
位置[$^{\circ}2\text{Th.}$]	高度[cts]	FWHM[$^{\circ}2\text{Th.}$]	晶面间距[\AA]	相对强度[%]
8.3367	378.90	0.3149	10.60627	100.00
9.5883	211.31	0.3936	9.22434	55.77
12.2471	20.02	0.3149	7.22714	5.28

15.2353	13.88	0.4723	5.81569	3.66
16.6527	13.17	0.3936	5.32372	3.48
20.9890	34.09	0.4723	4.23264	9.00
22.7837	12.25	0.4723	3.90312	3.23
26.0084	24.34	0.4723	3.42604	6.42
27.4215	180.10	0.3936	3.25262	47.53
29.1740	31.57	0.9446	3.06110	8.33
34.4201	21.52	0.3149	2.60561	5.68
38.7959	18.64	0.7872	2.32121	4.92

[0116] 实施例4:

[0117] 4,5-二氧-4,5-二氢-1H-吡咯并[2,3-f]喹啉-2,7,9-三羧酸二钠(PQQ.2Na)多晶型物-形式4[式II, “n”=1, “m”=2]的合成

[0118]



[0119] 程序:

[0120] 在25-30 $^{\circ}\text{C}$ 下向15L的10%碳酸钠溶液中加入4,5-二氧-4,5-二氢-1H-吡咯并[2,3-f]喹啉-2,7,9-三羧酸三甲酯(1.0kg, 1当量, 2.686摩尔)。在16小时内将反应混合物加热至70 $^{\circ}\text{C}$ 至75 $^{\circ}\text{C}$ 。通过HPLC来监控反应的完成。之后,用12盐酸将反应混合物酸化(pH: 3.0-3.5)以使反应物料沉淀。在0-5 $^{\circ}\text{C}$ 下过滤沉淀物以获得产物[4,5-二氧-4,5-二氢-1H-吡咯并[2,3-f]喹啉-2,7,9-三羧酸二钠],其为暗红色固体。在减压下,在25-30 $^{\circ}\text{C}$ 干燥该固体24小时以达到水含量为约22%(约0.90Kg, 产率: 90%)。

[0121] $^1\text{H NMR}(\text{D}_2\text{O}, 300\text{MHz})$: 7.07(s, 1H), 7.69(s, 1H); LC-MS(ESI): 329(M-H), 通过HPLC得到纯度: 99.5%

[0122] IR(ATR, cm^{-1}) ν : 3500、1669、1619、1540、1496、1356、1241和728

[0123] PQQ盐的多晶型物-4(形式4)的粉末XRD图谱:

[0124] 图4提供了PQQ盐的多晶型物4的粉末XRD图谱样式。

[0125] 多晶型物-4(形式4)的峰值列表

[0126] 峰值列表

[0127]

位置[°2Th.]	高度[cts]	FWHM[°2Th.]	晶面间距[Å]	相对强度[%]
6.2526	54.03	0.4723	14.13589	35.63
8.09	96.43	0.3149	10.92909	63.59
8.5645	84.08	0.4723	10.32463	55.45

[0128]

14.0915	61.1	0.3149	6.28507	40.29
17.569	17.93	0.3149	5.04809	11.83
18.6382	33.79	0.4723	4.76085	22.28
22.2638	17.22	0.4723	3.99309	11.36
23.0319	17.83	0.3149	3.86163	11.76
23.9335	19.32	0.3149	3.71815	12.74
26.4089	126.44	0.3149	3.37499	83.38
27.2276	151.64	0.4723	3.27533	100
28.2427	89.84	0.4723	3.15988	59.25
29.5534	62.19	0.3936	3.02266	41.01
31.7176	26.43	0.9446	2.82118	17.43
33.7511	34.13	0.3149	2.65571	22.51
34.7226	22.18	0.3149	2.5836	14.63
36.9752	22.96	0.6298	2.43121	15.14
38.8203	33.18	0.3149	2.3198	21.88
40.9029	28.27	0.3149	2.20638	18.64
43.1906	20.23	0.4723	2.09466	13.34
45.3693	6.97	0.4723	1.99901	4.6
47.3751	17.14	0.576	1.91737	11.3

[0129] 实施例5:

[0130] 4,5-二氧-4,5-二氢-1H-吡咯并[2,3-f]喹啉-2,7,9-三羧酸二钠(PQQ.2Na)多晶型物-形式5[式II,“n”=1,“m”=2]的合成

[0131] 在25-30°C下进一步干燥在实施例4中获得的产物,以达到水分含量为约12%。

[0132] 以下的图谱数据对应于具有12%水分含量的PQQ。

[0133] 峰值列表

[0134]

位置[°2Th.]	高度[cts]	FWHM[°2Th.]	晶面间距[Å]	相对强度[%]
6.3087	42.06	0.3149	14.01033	38.76
8.787	36.31	0.3149	10.06366	33.46
9.4638	99.09	0.3149	9.34542	91.31
11.1383	94.35	0.3149	7.94394	86.94
12.8604	30.31	0.3149	6.88381	27.93
14.0298	22.3	0.4723	6.31257	20.55
15.1081	14.35	0.3149	5.86436	13.23
17.032	19.52	0.3149	5.20602	17.99
21.1969	26.59	0.3149	4.19159	24.5
22.3969	28.59	0.4723	3.96965	26.35
23.3678	31.12	0.4723	3.80687	28.68
26.8503	92.63	0.4723	3.3205	85.36
27.6689	108.52	0.3149	3.22409	100
29.435	29.71	0.3149	3.03455	27.38
31.1489	28.06	0.3149	2.87138	25.86

[0135]

32.2817	24.94	0.4723	2.77316	22.99
34.0255	24.44	0.3149	2.63492	22.53
36.884	25.49	0.3149	2.43702	23.49
38.6941	25.47	0.3149	2.32708	23.47
43.2067	29.81	0.3149	2.09392	27.47
45.2776	7.82	0.864	2.00119	7.2

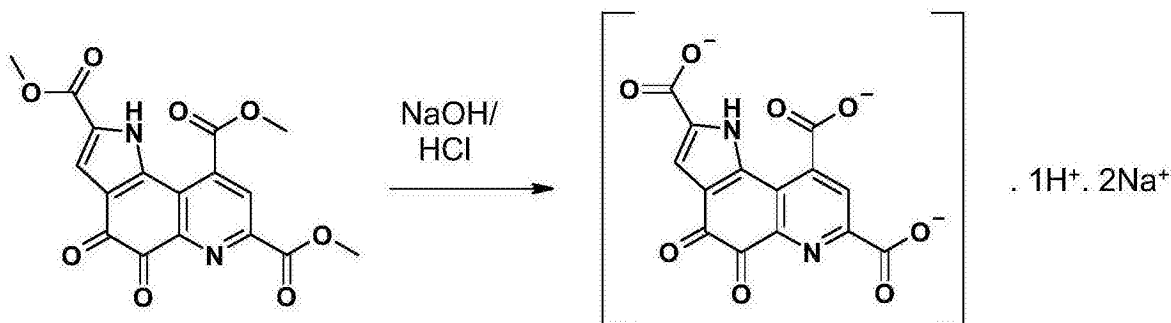
[0136] 注释:当水含量为12%时,在2θ为11.139处出现新的峰。

[0137] $^1\text{H NMR}(\text{D}_2\text{O}, 300\text{MHz}): 6.97(\text{s}, 1\text{H}), 8.48(\text{s}, 1\text{H}); \text{LC-MS}(\text{ESI}): 329(\text{M-H}),$ 通过HPLC得到纯度:99.5%[0138] $\text{IR}(\text{ATR}, \text{cm}^{-1})\nu: 3500, 3408, 1669, 1621, 1497, 1359, 1241$ 和729

[0139] 实施例6:

[0140] 4,5-二氧-4,5-二氢-1H-吡咯并[2,3-f]喹啉-2,7,9-三羧酸二钠(PQQ.2Na)多晶型物-形式6[式II, “n”=1, “m”=2]

[0141]



[0142] 程序:

[0143] 在25℃-30℃下向15L的3.5%氢氧化钠溶液中加入4,5-二氧-4,5-二氢-1H-吡咯并[2,3-f]喹啉-2,7,9-三羧酸三甲酯(1.0kg,1当量,2.68mol),并搅拌16小时。通过HPLC来监控反应的完成。之后,在1小时内用12N盐酸将反应混合物酸化(pH:3.0-3.5)以使反应物料沉淀。在20℃-30℃下过滤该沉淀物以获得产物[4,5-二氧-4,5-二氢-1H-吡咯并[2,3-f]喹啉-2,7,9-三羧酸二钠],其为暗红色固体(约0.84Kg,84%)。

[0144] ^1H NMR(D_2O ,300MHz):6.84(s,1H),8.48(s,1H);LC-MS(ESI):329(M-H),通过HPLC得到纯度:99.4%

[0145] IR(ATR, cm^{-1}) ν :3423,2558,1717,1674,1611,1543,1502,1235,1147,938和718

[0146] PQQ盐的多晶型物-5(形式6)的粉末XRD图谱:

[0147] 图6中提供了多晶型物6的粉末XRD图谱样式。

[0148] 多晶型物-6的峰值列表:

[0149]

位置[°2Th.]	高度[cts]	FWHM[°2Th.]	晶面间距[Å]	相对强度[%]
-----------	---------	-------------	---------	---------

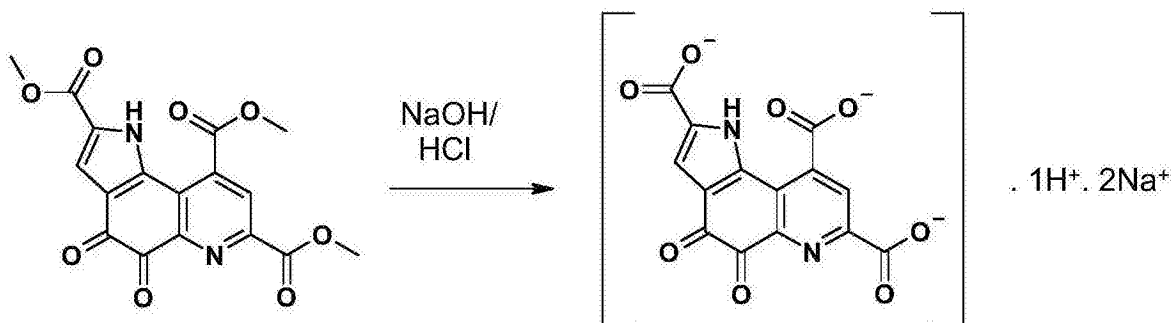
[0150]

8.1860	19.08	0.4723	10.80107	13.21
9.4246	42.36	0.3149	9.38425	29.33
18.5305	7.84	0.4723	4.78826	5.43
26.6158	56.41	0.3149	3.34922	39.06
27.2920	84.53	0.3149	3.26776	58.53
31.6378	144.43	0.4723	2.82812	100.00
45.4109	112.58	0.4723	1.99728	77.95
56.4274	23.86	0.3149	1.63071	16.52
66.1811	8.93	0.3840	1.41090	6.18

[0151] 实施例7:

[0152] 4,5-二氧-4,5-二氢-1H-吡咯并[2,3-f]喹啉-2,7,9-三羧酸二钠(PQQ.2Na)多晶型物-形式7[式II,“n”=1,“m”=2]

[0153]



[0154] 程序:

[0155] 在25-30℃下向15L的3.5%氢氧化钠溶液中加入4,5-二氧-4,5-二氢-1H-吡咯并[2,3-f]喹啉-2,7,9-三羧酸三甲酯(1.0kg,1当量,2.686摩尔)。在16小时内将反应混合物加热至25℃至30℃。通过HPLC来监控反应的完成。之后,在剧烈搅拌下在3小时内用12N盐酸将反应混合物酸化(pH:3.0-3.5)以使反应物料沉淀。在0-5℃下过滤该沉淀物以获得产物[4,5-二氧-4,5-二氢-1H-吡咯并[2,3-f]喹啉-2,7,9-三羧酸二钠],其为暗红色固体(约

0.88Kg,88%)。

[0156] ^1H NMR(D_2O ,300MHz):6.84(s,1H),8.48(s,1H);LC-MS(ESI):329(M-H),通过HPLC得到纯度:99.4%

[0157] IR(ATR, cm^{-1}) ν :3414、2474、1681、1643、1503、1356、1296、1238、1084、1049、811、723和698

[0158] PQQ盐的多晶型物-6(形式7)的粉末XRD图谱:

[0159] 图7中提供了多晶型物7的粉末XRD图谱样式。

[0160] 多晶型物-7的峰值列表

[0161]

位置[$^{\circ}2\text{Th.}$]	高度[cts]	FWHM[$^{\circ}2\text{Th.}$]	晶面间距[\AA]	相对强度[%]
9.3426	251.02	0.4723	9.46644	76.02
11.6809	15.80	0.4723	7.57611	4.78

[0162]

13.6028	41.11	0.3149	6.50976	12.45
14.9981	77.18	0.3149	5.90713	23.37
16.0269	72.44	0.4723	5.53017	21.94
18.9222	38.41	0.3149	4.69003	11.63
20.4134	46.95	0.4723	4.35067	14.22
22.0677	52.94	0.3149	4.02812	16.03
23.7113	50.53	0.4723	3.75250	15.30
25.6284	20.91	0.3149	3.47597	6.33
26.4555	63.79	0.3149	3.36915	19.32
27.4617	330.21	0.3149	3.24795	100.00
28.5023	157.52	0.3149	3.13169	47.70
30.7997	32.81	0.3149	2.90313	9.94
31.6466	228.13	0.3149	2.82735	69.09
32.4609	14.74	0.3936	2.75826	4.46
35.9051	57.91	0.3149	2.50118	17.54
36.7705	20.77	0.3936	2.44428	6.29
38.0082	46.45	0.3149	2.36748	14.07
38.7336	33.15	0.3936	2.32480	10.04
41.5928	15.95	0.6298	2.17136	4.83
43.7879	9.27	0.7872	2.06747	2.81
45.3967	126.11	0.4723	1.99787	38.19
46.9161	18.71	0.7872	1.93665	5.67
48.9136	9.44	0.4723	1.86214	2.86
52.7775	7.94	0.4723	1.73455	2.41
56.5143	35.19	0.4723	1.62841	10.66
61.0903	3.33	0.9446	1.51694	1.01
66.1890	13.72	0.3840	1.41075	4.15

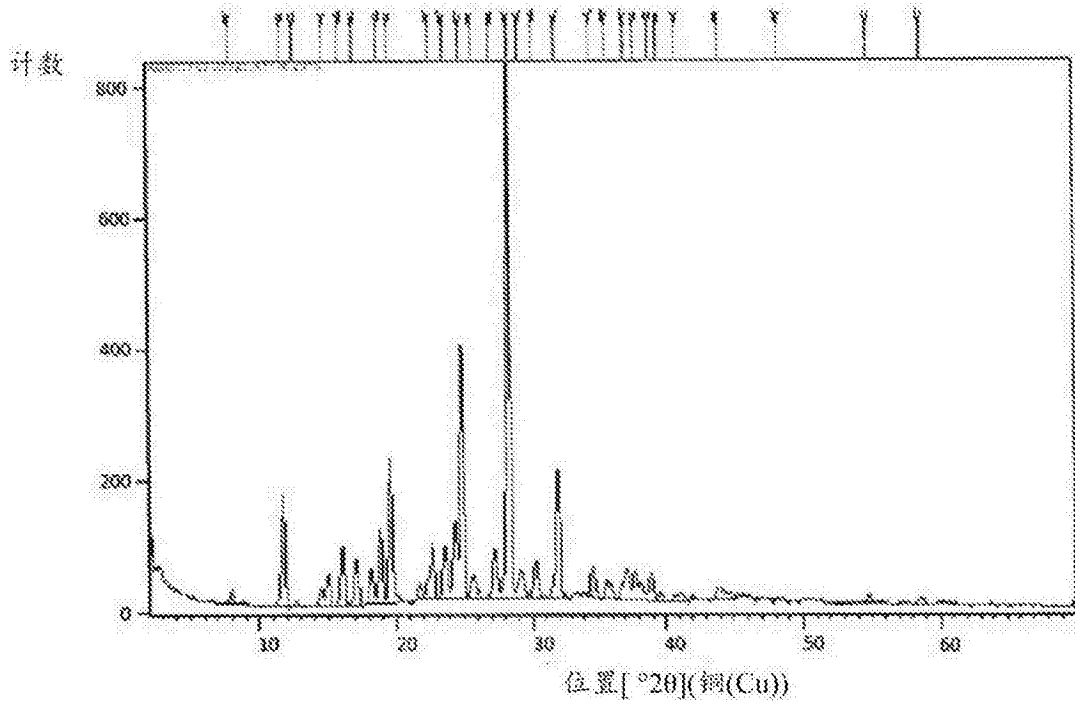


图1

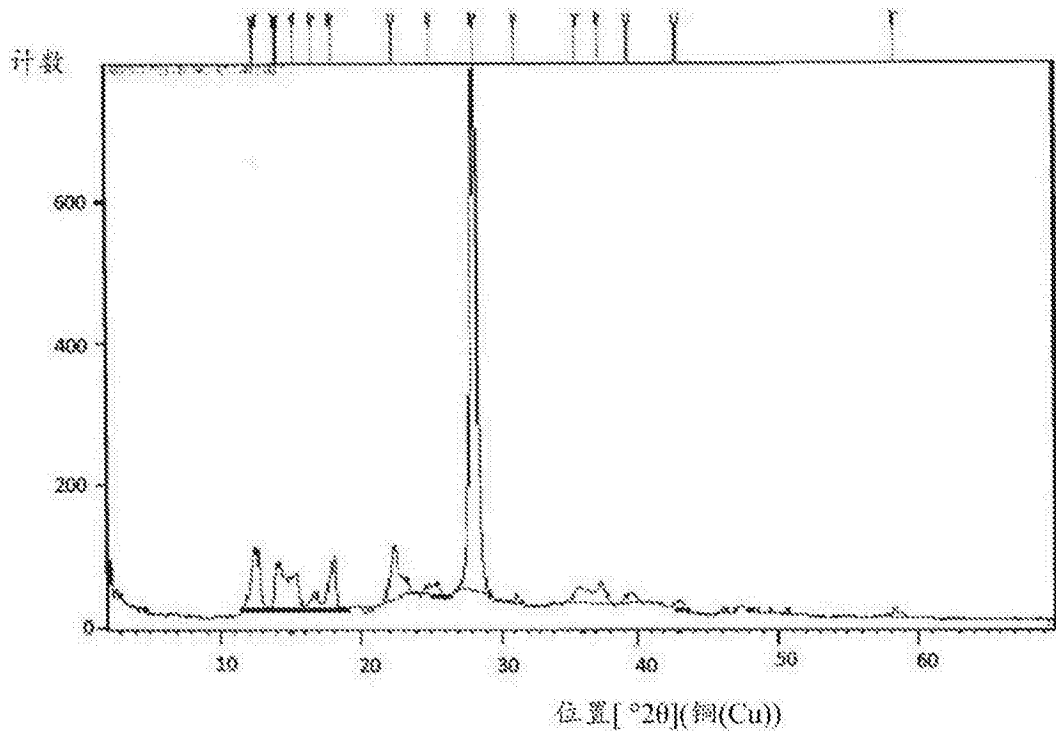


图2

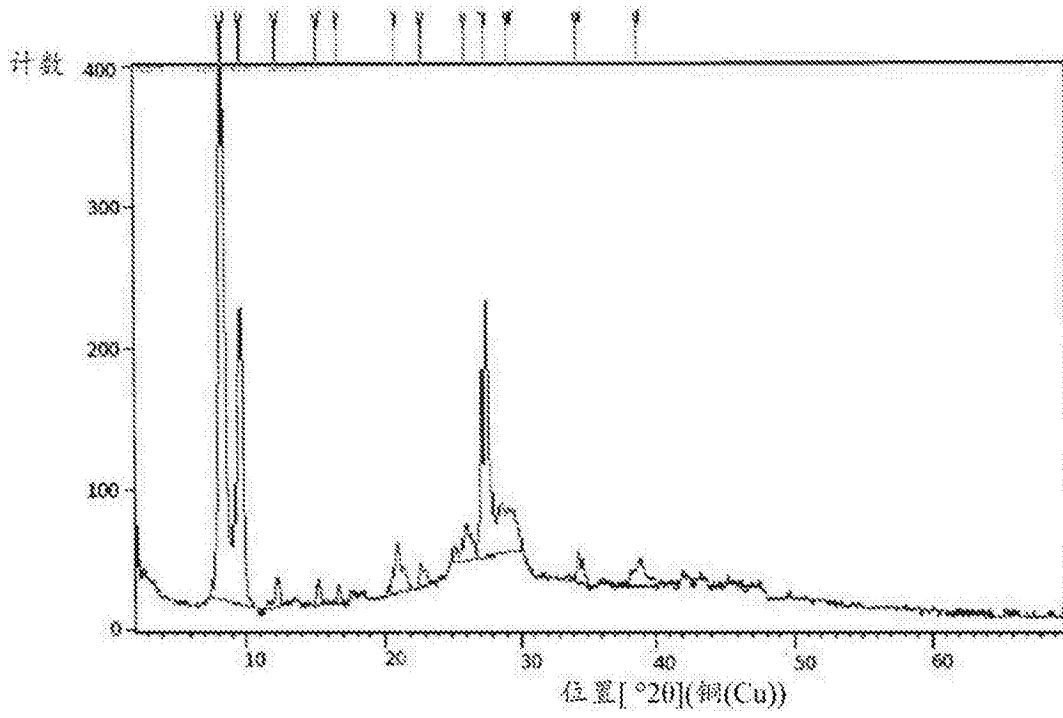


图3

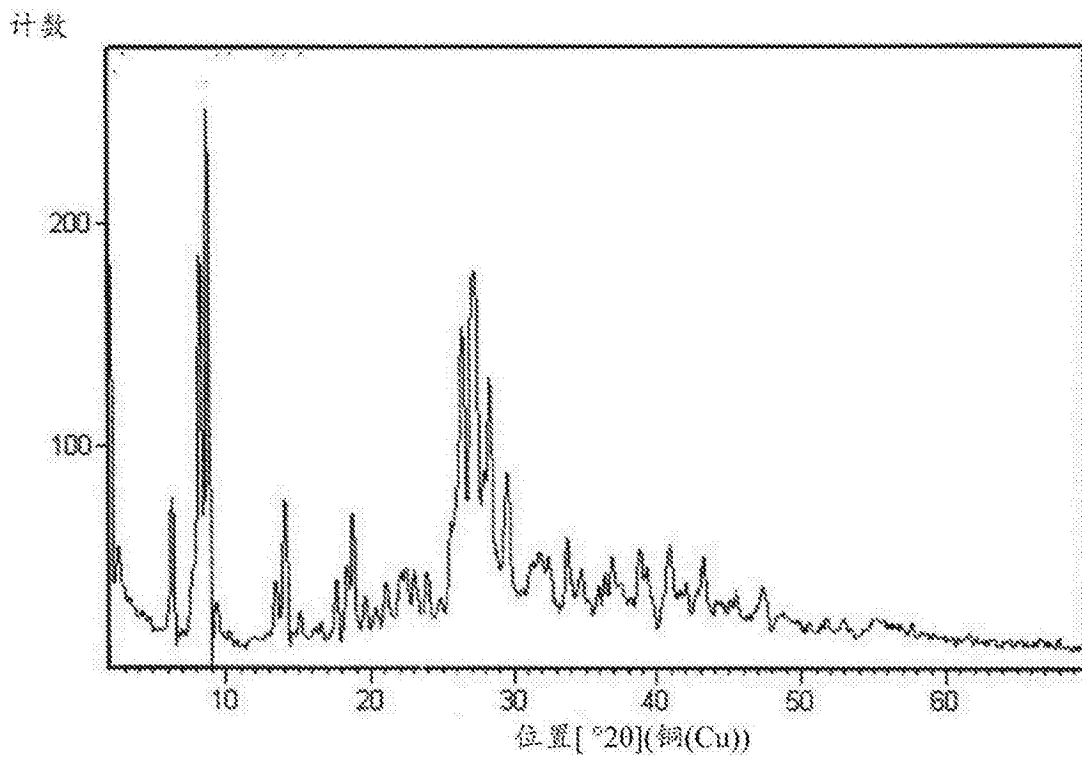


图4

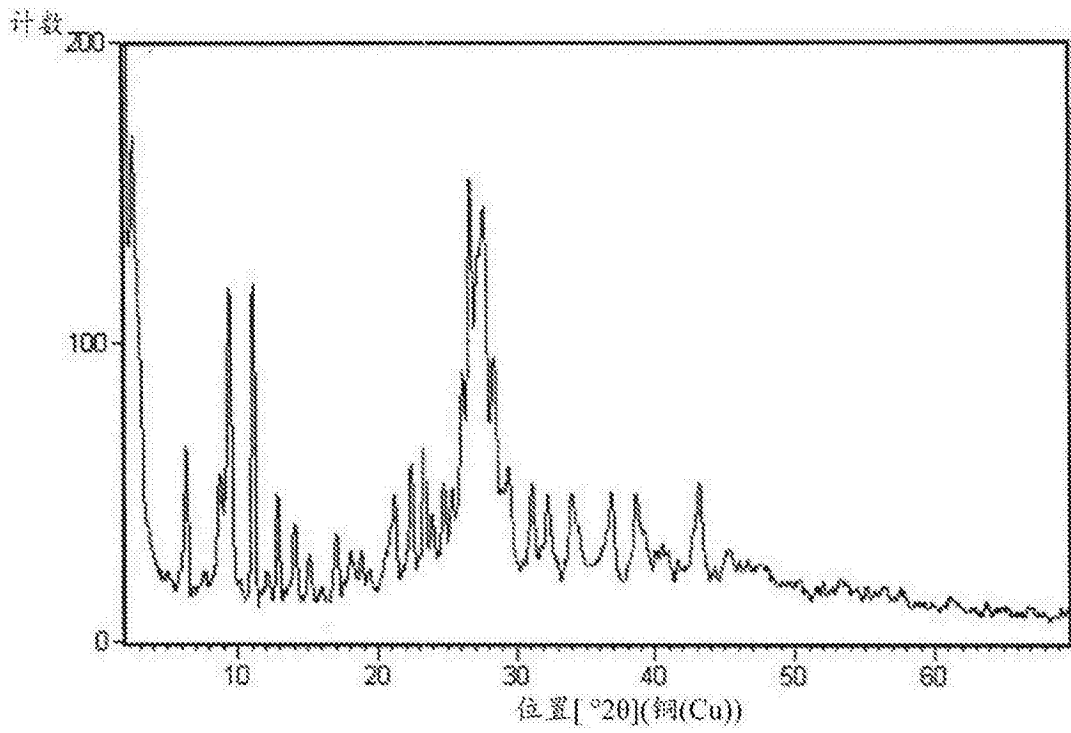


图5

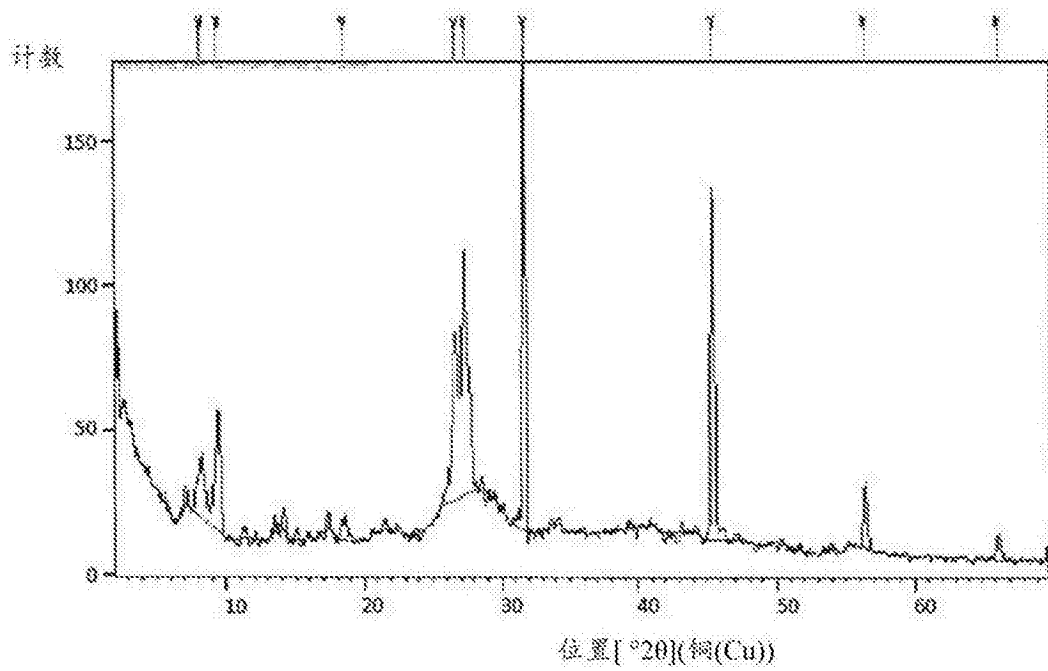


图6

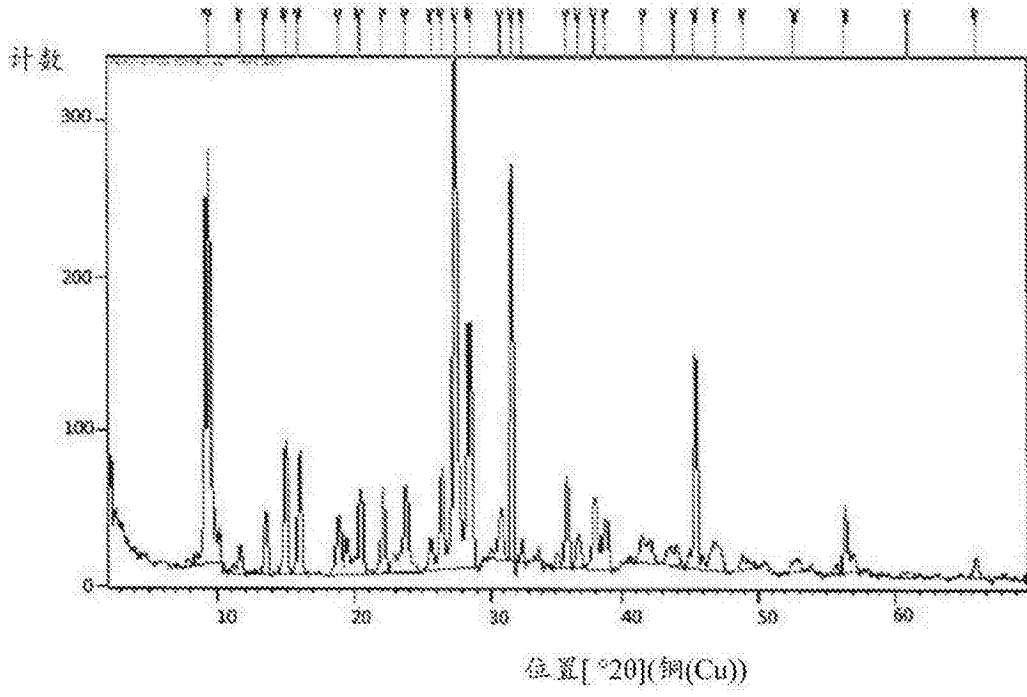


图7