

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷
C07C 63/42
C07D493/20 C07D307/20
A61K 31/19 A61K 31/40
A61P 3/10



[12] 发 明 专 利 说 明 书

[21] ZL 专利号 00814463. X

[45] 授权公告日 2005 年 3 月 16 日 [11] 授权公告号 CN 1192999C

[22] 申请日 2000. 8. 19 [21] 申请号 00814463. X [30] 优先权 [32] 1999. 10. 25 [33] EP [31] 99121241. 6 [86] 国际申请 PCT/EP2000/008103 2000. 8. 19 [87] 国际公布 WO2001/030736 英 2001. 5. 3 [85] 进入国家阶段日期 2002. 4. 18 [71] 专利权人 阿文蒂斯药物德国有限公司 地址 德国法兰克福 [72] 发明人 L · 沃泰希 M · 库尔兹 E · 保洛斯 审查员 戴年珍	[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利 商标事务所 代理人 唐伟杰
权利要求书 3 页 说明书 26 页	

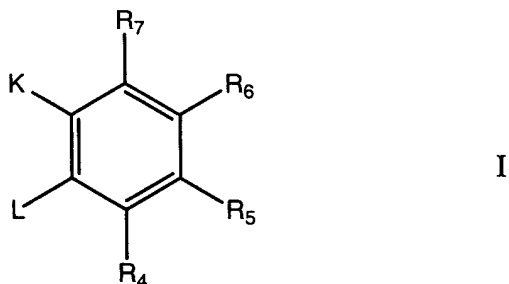
[54] 发明名称 用作葡萄糖 - 6 - 磷酸移位酶抑制剂的芳族二酮基衍生物

[57] 摘要

本发明涉及新颖的芳族二酮基衍生物和它们的药学上可接受的盐、酯、醚和其他明显的化学等价物。 这些衍生物是葡萄糖 - 6 - 磷酸移位酶抑制剂，能够用于糖尿病的治疗。 本发明进一步涉及这些衍生物的制备方法，涉及这些衍生物和它们的药学上可接受的盐、酯、醚和其他明显的化学等价物作为药物的用途，特别是它们在糖尿病治疗中的用途，还涉及包含这些衍生物、其药学上可接受的盐、酯、醚或其他明显的化学等价物的药物组合物。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

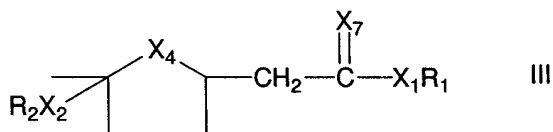
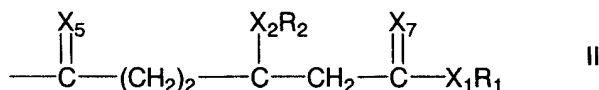
1、式 I 化合物，或其药学上可接受的盐，所有它们的立体异构或互变异构形式或其任意比例的混合物：



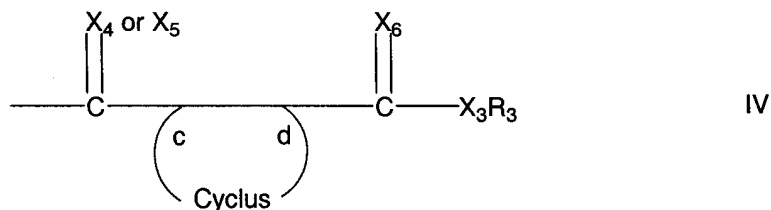
其中

R_4 、 R_5 、 R_6 和 R_7 独立地是 H、OH、 C_{1-6} 烷基、 $X-C_{1-6}$ 烷基，其中的 X 是 O 或 NH，

K 是下式 II 或 III 基团：



L 是下式 IV 的基团：

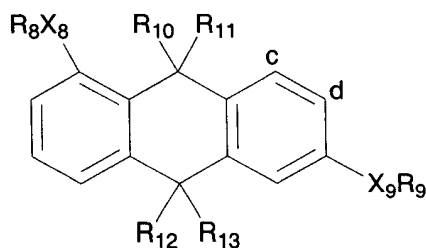


其中

R_1 、 R_2 和 R_3 独立地是 H 或 C_{1-6} 烷基，

X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、 X_5 、 X_6 和 X_7 独立地是 O 或 NH，

cyclus 环与标记为“c”和“d”的 C 原子一起是式 XVIA 残基，



XVIA

其中

X_8 和 X_9 独立地是 H 或 O,

R_8 和 R_9 独立地是 H 或 C_{1-6} 烷基,

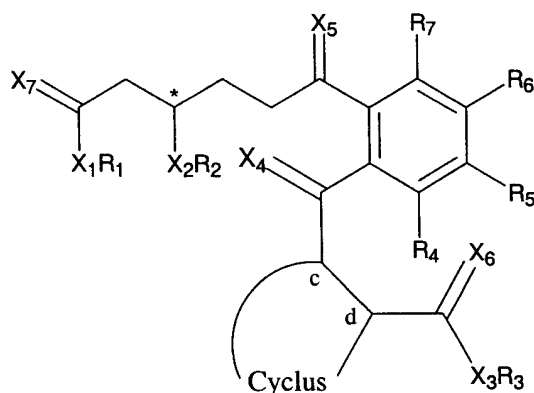
$R_{10}-R_{13}$ 是 H, 或 R_{10} 和 R_{11} 一起和/或 R_{12} 和 R_{13} 一起是 O,

排除这样的化合物, 其中的 K 是式 II 基团, L 是式 IV 基团, 其中的

X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、 X_5 、 X_6 和 X_7 是 O, R_1 、 R_2 和 R_3 是 H, R_4 是 OH,

R_5 、 R_6 和 R_7 是 H, cyclus 是 3,8-二羟基蒽醌。

2、如权利要求 1 所定义的式 I 化合物, 或其药学上可接受的盐, 所有它们的立体异构或互变异构形式或其任意比例的混合物, 式 I 化合物具有下式 XVIII 的结构:



XVIII

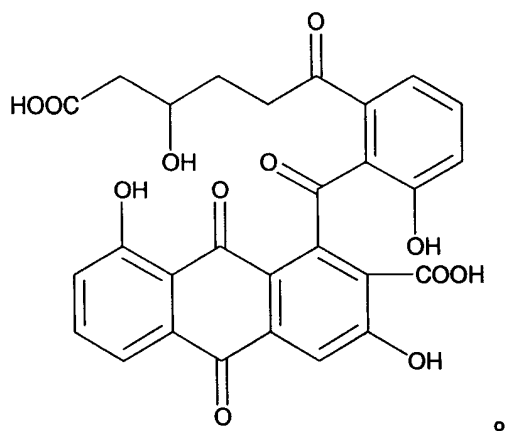
其中 R_1 至 R_7 、 X_1 至 X_7 、cyclus、c 和 d 是如权利要求 1 所定义的。

3、如权利要求 1 或 2 所定义的式 I 化合物, 其中 R_1 、 R_2 和 R_3 是 C_{1-6} 烷基。

4、如权利要求 2 所定义的式 I 化合物的制备方法, 包含使其中 R_1 、 R_2 和/或 R_3 是 H 的式 XVIII 化合物与烷基化剂反应, 再分离反应产物。

5、如权利要求 2 所定义的式 I 化合物的制备方法, 其中 $-X_3R_3$ 是 $-NH_2$, 该方法包含使其中 X_3R_3 是 OH 的式 XVIII 化合物与酰胺源反应。

6、如权利要求 5 所定义的方法，其中的式 XVIII 化合物是 mumbaistatin，mumbaistatin 的结构为：



7、如权利要求 1 或 2 所定义的化合物，其中 X_1 至 X_7 中任意一个或多个是 O。

8、如权利要求 2 所定义的化合物，其中标记为星号的碳具有 S 构型。

9、如权利要求 1 或 2 所定义的化合物，其中的 cyclus 是 3,8-二羟基蒽醌。

10、药物组合物，其包含有效量的如权利要求 1 所定义的化合物或其药学上可接受的盐，以及药学上可接受的载体。

11、如权利要求 1 所定义的化合物或其药学上可接受的盐用于制备作为葡萄糖-6-磷酸移位酶的抑制剂的药物中的用途。

12、如权利要求 1 所定义的化合物或其药学上可接受的盐用于制备用于糖尿病治疗的药物中的用途。

用作葡萄糖-6-磷酸移位酶抑制剂的 芳族二酮基衍生物

本发明涉及新颖的芳族二酮基衍生物和它们的药学上可接受的盐、酯、醚和其他明显的化学等价物。这些衍生物是葡萄糖-6-磷酸移位酶抑制剂，能够用于糖尿病的治疗。本发明进一步涉及这些衍生物的制备方法，涉及这些衍生物和它们的药学上可接受的盐、酯、醚和其他明显的化学等价物作为药物的用途，特别是它们在糖尿病治疗中的用途，还涉及包含这些衍生物、其药学上可接受的盐、酯、醚或其他明显的化学等价物的药物组合物。

肝糖输出率增加是糖尿病的普遍特征。特别是在非胰岛素依赖型糖尿病(NIDDM)中禁食血浆葡萄糖水平与肝糖输出之间存在密切的相互关系。肝内产生葡萄糖的两种途径是糖异生和糖原分解。两种途径的末端步骤都受微粒体葡萄糖-6-磷酸酶的催化，它是血糖水平的稳态调节中的关键酶。还已知这种酶的水平在糖尿病的实验与病理条件中都升高。对这种酶系统进行干涉因此应当导致肝糖产生减少。

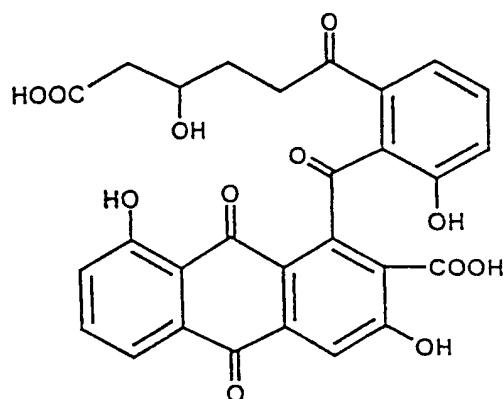
肝葡萄糖-6-磷酸酶是多组分系统，由至少三种功能活性组成：葡萄糖-6-磷酸移位酶(T1)、葡萄糖-6-磷酸磷酸水解酶和磷酸/焦磷酸移位酶(T2)。葡萄糖-6-磷酸移位酶有利于葡萄糖-6-磷酸转运至内质网(ER)的腔内。活性部位位于ER腔表面的磷酸水解酶水解葡萄糖-6-磷酸，向腔内释放葡萄糖和磷酸盐。磷酸/焦磷酸移位酶有利于磷酸盐的流出，不过葡萄糖流出的精确机理尚不清楚。

葡萄糖-6-磷酸移位酶的高度底物特异性使其成为潜在的糖尿病治疗中的药理学介入目标。因而，在生理学上已有的糖磷酸酯中，只有葡萄糖-6-磷酸是被移位酶转运的。相形之下，磷酸酶是非特异性的，已知水解各种有机磷酸酯。

文献已经描述了葡萄糖-6-磷酸酶的一系列非特异性抑制剂，例如

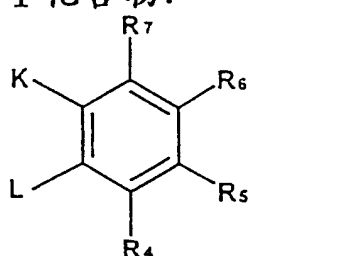
根皮苷(J. Biol. Chem. (生物化学杂志) 242, 1955-1960 (1967))、5,5'-二硫代-双-2-硝基苯甲酸(Biochem. Biophys. Res. Commun. (生物化学与生物物理学研究通讯) 48, 694-699 (1972))、2,2'-二异硫氰酸根合芪和 2-异硫氰酸根合-2'-乙酰氧基芪(J. Biol. Chem. (生物化学杂志) 255, 1113-1119 (1980))。EP-A-587 087 和 EP-A-587 088 提出了第一种治疗学上可利用的葡萄糖-6-磷酸酶系统的抑制剂。PCT/EP 98/02247 所述 Kodaistatins A、B、C 和 D 是第一种来自微生物来源的葡萄糖-6-磷酸移位酶抑制剂。

根据本发明的芳族二酮基衍生物可以从名为 mumbaistatin 的化合物衍生而来。PCT/EP 99/04127 描述了 mumbaistatin。它是可通过微生物石蕊杀菌素链霉菌(*Streptomyces litmocidini*)培养而获得的天然产物,其样本已于 1997 年 7 月 4 日保藏在德国微生物与细胞培养物保藏中心(German Collection of Microorganisms and Cell Cultures (DSMZ)),入藏号 DSM 11641。现已测定了 mumbaistatin 的结构式如下:



已经发现,某些 mumbaistatin 衍生物比 mumbaistatin 本身具有更高的活性,并且更好地为哺乳动物机体所耐受。而且,所分离的 mumbaistatin 非对映体优于 mumbaistatin 非对映体混合物。

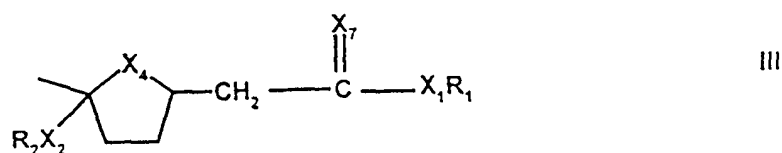
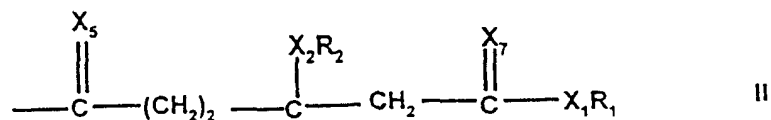
本发明因此提供通式 I 化合物:



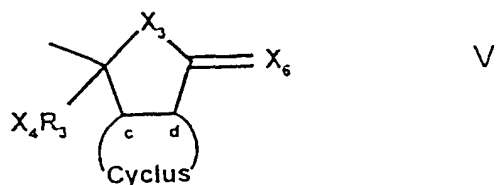
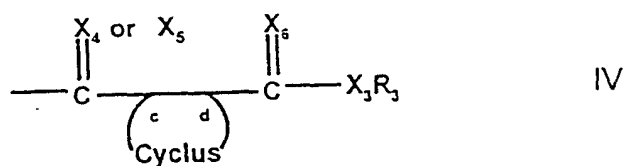
其中

R_4 、 R_5 、 R_6 和 R_7 独立地是 H、OH、卤素、可选被取代的烷基、芳基或酰基、X-烷基或 X-芳基，其中的 X 是 O、NH、N-烷基或 S，

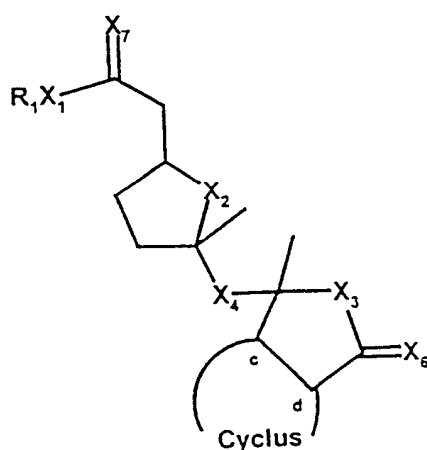
K 是下式 II 或 III 基团：



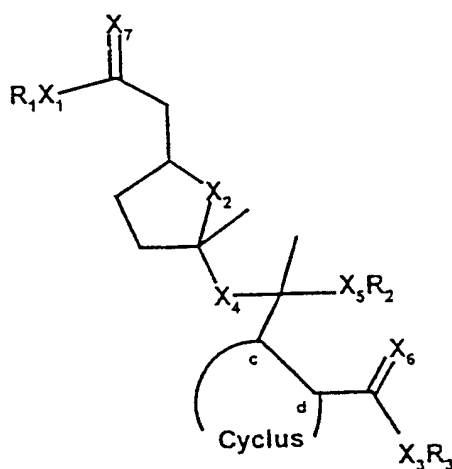
L 是下式 IV 或 V 基团：



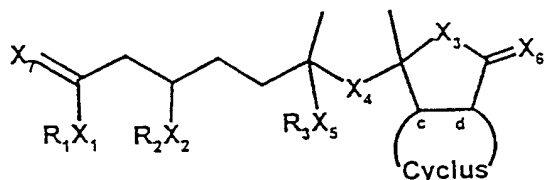
或者 K 和 L 与它们所键合的各个碳原子一起构成下式 VI、VII 或 VIII 基团：



VI



VII



VIII

其中

R_1 和 R_3 独立地是阳离子、H、烷基或芳基,

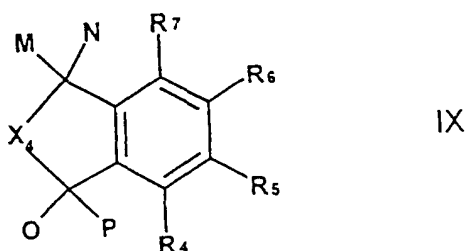
R₂ 是 H、烷基、芳基或酰基,

X₁、X₂、X₃、X₄、X₅、X₆和X₇独立地是O、NH、N-烷基或S, cyclus环与标记为“c”和“d”的C原子一起是可选被取代的饱和、部分不饱和或芳族、碳环或杂环、单一或稠合环系,

排除这样的化合物，其中的 K 是式 II 基团，L 是式 IV 基团，其中的 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、 X_5 、 X_6 和 X_7 是 O， R_1 、 R_2 和 R_3 是 H， R_4 是 OH， R_5 、 R_6 和 R_7 是 H，cyclyus 是 3,8-二羟基蒽醌，和这样的化合物，其中的 K 和 L 一起构成式 VI 基团，其中的 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、 X_5 、 X_6 和 X_7 是 O， R_1 是 CH_3 ，

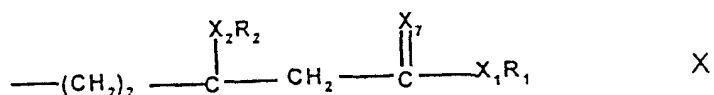
R_2 和 R_3 是 H, R_4 是 OH, R_5 、 R_6 和 R_7 是 H, cyclus 是 3,8-二羟基蒽醌, 及其药学上可接受的盐、酯和醚和其他明显的化学等价物, 所有它们的立体异构与互变异构形式及其任意比例的混合物。

本发明进而包括通式 IX 化合物:



其中

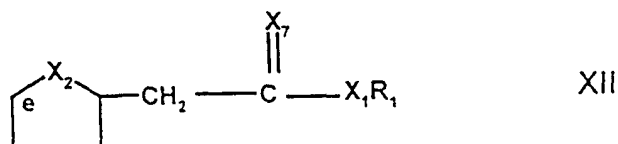
M 是式 X 基团



N 是式 XI 基团

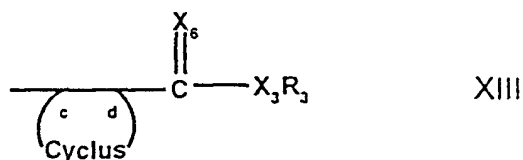


或者 M 和 N 与它们所键合的 C 原子一起构成式 XII 残基



它是通过标记为 "e" 的 C 原子键合的,

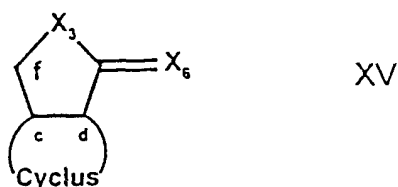
O 是式 XIII 基团



P 是式 XIV 基团



或者 O 和 P 与它们所键合的 C 原子一起构成式 XV 残基



它是通过标记为 “f” 的 C 原子键合的,

其中的 R_1 至 R_7 、 X_1 至 X_7 、cyclo、c 和 d 是如权利要求 1 所定义的, 及其药学上可接受的盐、酯和醚和其他明显的化学等价物, 所有它们的立体异构与互变异构形式及其任意比例的混合物。

本文所用的术语 “烷基” 代表可选被取代的直链或支链 C_1 - C_6 -烷基, 优选为 C_1 - C_4 -烷基, 例如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基或异丁基; 可选被取代的直链或支链 C_2 - C_6 -烯基, 优选为 C_2 - C_4 -烯基, 例如烯丙基; 可选被取代的直链或支链 C_2 - C_6 -炔基, 优选为 C_2 - C_4 -炔基, 例如丙炔基。

本文所用的术语 “芳基” 代表可选被取代的苄基或苯基。

本文所用的术语 “酰基” 代表可选被取代的脂族、芳族或杂环酰基, 例如 C_1 - C_4 -脂族酰基, 例如乙酰基或丙酰基; 芳族酰基, 例如苯甲酰基或甲苯甲酰基; 和杂环酰基, 它是从具有 1-4 个杂原子的 5-或 6-元环衍生的, 例如烟酰基、呋喃基、吡咯基、噻吩基、噻唑基和咪唑基。

本文所用的 “可选被取代” 表示有关基团可选地被一个或多个、优选为 1、2、3 或 4 个相同或不同的取代基取代, 取代基选自: 羟基、 C_1 - C_4 -烷基、 C_1 - C_4 -烯基、 C_1 - C_4 -烷氧基、 C_1 - C_4 -烷硫基、 C_1 - C_4 -烷氧羰基、氨基甲酰基、羧基、三氟甲基、氰基、硝基、氨基、 C_1 - C_4 -烷基氨基、二 C_1 - C_4 -烷基氨基、脒基、芳氧基、芳基氨基和卤素。

卤素代表 I、Br、Cl 或 F, 优选为 Cl 或 Br。

术语 “阳离子” 代表无机金属离子或有机铵离子。可以提到的实例特别是药理学上可接受的碱金属离子或碱土金属离子, 优选为钠、钾、钙或镁离子, 铵离子, 有机铵离子、特别是可选被取代的烷基化铵离子, 例如三乙铵或二乙醇铵离子, 以及吗啉、苄基铵、普鲁卡因、L-精氨酸和 L-赖氨酸离子。

用在各结构式中的包括标记为 “c” 和 “d” 的碳原子在内的 cyclo 环可以代表可选被取代的饱和、部分不饱和或芳族、碳环或杂环、单一或稠合环系。单一环系表示含有 3 至 6 个环原子的单环, 稠合环系

表示含有 6 至 14 个环原子的稠合二环或三环。

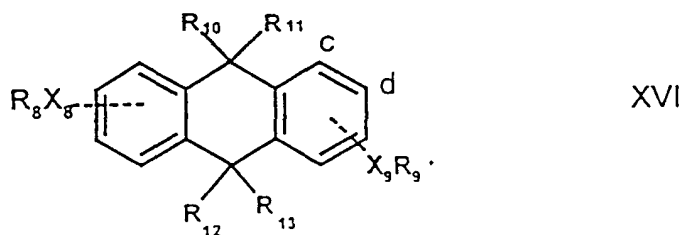
饱和碳环环系可以代表 3 至 14 元环系, 优选为单一的 3 至 8 元环, 例如环- C_3-C_8 -烷基, 更优选为环- C_3-C_6 -烷基, 例如环丙基、环丁基、环戊基或环己基。它还可以代表二环或三环的稠合环系, 例如二环并[3.3.1]壬烷和十四氢菲。

部分不饱和碳环环系不同于饱和碳环环系之处在于具有一条或两条双键或叁键。因而它可以代表 3 至 14 元环系, 优选为 3 至 8 元环, 例如环- C_3-C_8 -烯, 例如环戊二烯或环辛四烯, 更优选为环- C_3-C_6 -烯或环- C_5-C_8 -炔。

单一或稠合的芳族碳环环系可以代表 5 至 14 元单环、二环或三环环系, 例如苯基、萘基、菲或蒽醌。

杂环环系可以是饱和、部分不饱和或芳族的, 可以是如上所定义的单一或稠合环系。杂环环系代表如上所定义的碳环环系, 其中的 1、2、3 或 4 个 C 原子被相同或不同的选自 N、O 和 S 的杂原子所代替。它例如可以代表 5-或 6-元环, 具有 1 至 4 个选自 N、S 和 N 的杂原子, 特别是 N, 可选地与 S 或 O 一起作为环原子。一些杂环环系的实例是杂烷基, 例如吡咯烷、哌啶、四氢呋喃、噁唑烷和噻唑烷; 杂芳基残基, 例如吡啶基、嘧啶基、呋喃基、苯并噻唑基、苯并呋喃基和吲哚基。

优选地, cyclus 环是式 XVI 基团:



其中

R_8 是 H、烷基、芳基或酰基,

R_9 是阳离子、H、烷基、芳基或酰基,

R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 和 R_{13} 独立地是 H、烷基、 $-X_{10}H$ 或 $-X_{10}R$,

或者 R_{10} 与 R_{11} 和/或 R_{12} 与 R_{13} 一起是 $=X_{10}$,

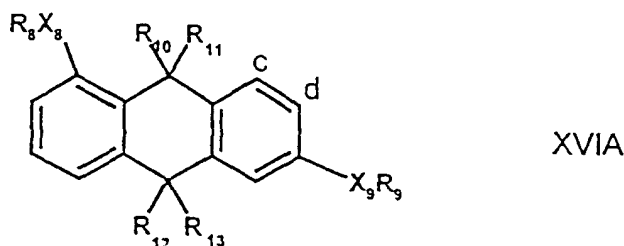
X_8 、 X_9 和 X_{10} 独立地是 O、NH 或 N-烷基或 S,

R 是烷基、芳基或酰基,

... 是可选的键,

cyclus 是通过标记为 "c" 和 "d" 的 C 原子键合的。

更优选地, cyclus 环是式 XVIA 残基:



其中

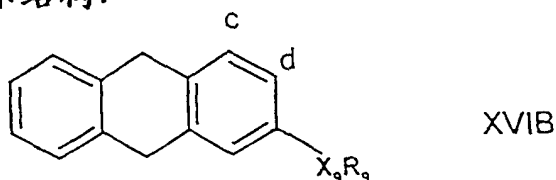
X8 和 X9 独立地是 H 或 O,

R8 和 R9 独立地是 H 或烷基,

R10 至 R13 是 H, 或者 R10 与 R13 一起和/或 R12 与 R13 一起是=O,

cyclus 是通过标记为 "c" 和 "d" 的 C 原子键合的。

该结构的 cyclus 部分可以是各种不同环结构的任意一种。不过有利的是在 cyclus 上具有取代, 优选为羟基或烷氧基。cyclus 优选为下式 XVIB 的芳环结构:

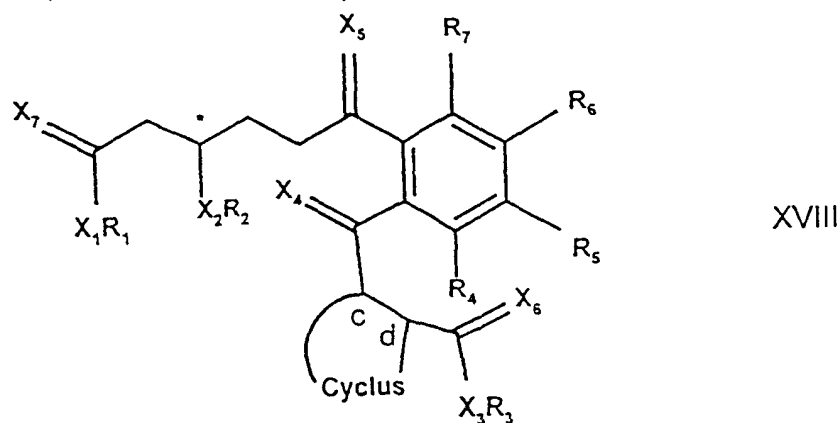


其中

R9 是 H 或 C1-C4-烷基,

X9 是 O。

优选的本发明化合物具有下列通式 XVIII:



其中

R_1 至 R_7 、 X_1 至 X_7 、cycclus、c 和 d 是如上所定义的，排除这样的化合物：其中的 X_1 至 X_7 是 O， R_1 、 R_2 和 R_3 是 H， R_4 是 OH， R_5 、 R_6 和 R_7 是 H，cycclus 是 3,8-二羟基蒽醌，

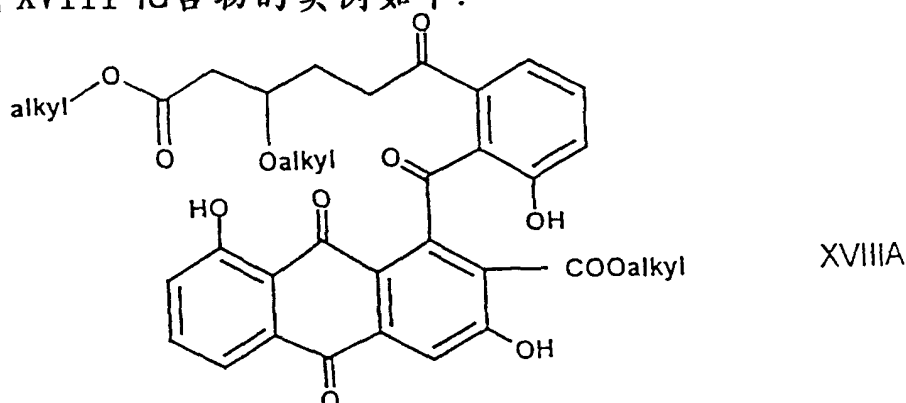
及其药学上可接受的盐、酯和醚和其他明显的化学等价物，所有它们的立体异构与互变异构形式及其任意比例的混合物。

优选地，标记为星号的碳具有 S 构型，在这种情况下不适用上述例外排除。

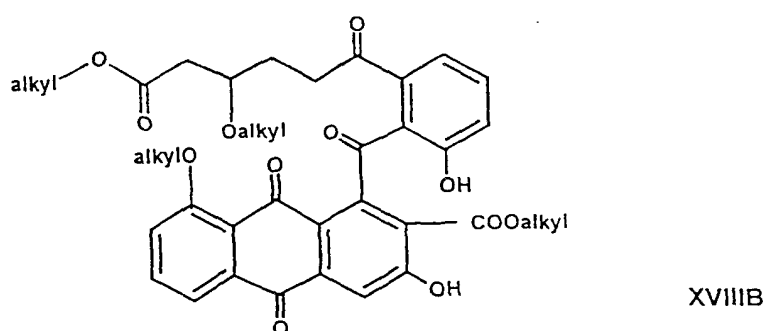
适合地， R_1 、 R_2 和 R_3 是 C_1 - C_6 -烷基，优选为 C_1 - C_4 -烷基，例如甲基。

适宜地，任意一个或多个 X_1 至 X_7 是 O。

上式 XVIII 化合物的实例如下：



上式 XVIII B 化合物的进一步实例如下：



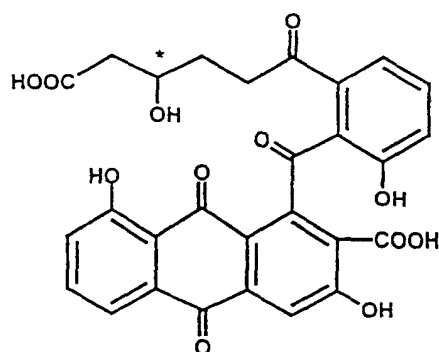
式 XVIII A 和式 XVIII B 的烷基化 mumbaistatin 衍生物是这样获得的：将 mumbaistatin 溶于溶剂，优选为有机溶剂，例如链烷醇，如甲醇，再与烷基化剂反应，例如重氮烷，如重氮甲烷、重氮乙烷，或二芳基甲基重氮甲烷，如二苯基重氮甲烷。上述式 XVIII A 和式 XVIII B 化合物中的烷基取代基优选为 C_1 - C_4 -烷基。若 C_1 - C_4 -烷基是甲基，则甲基化 mumbaistatin 衍生物例如可以是这样获得的，mumbaistatin 在

溶液中与甲基化剂，例如重氮甲烷反应。

mumbaistatin 理想地预先已用酸处理，优选为小分子有机酸，例如甲酸、乙酸或三氟乙酸。随后优选地通过色谱法分离反应产物。

从反应介质中分离根据本发明的化合物的方法可以是本身已知的，取决于所得化合物的溶解度。

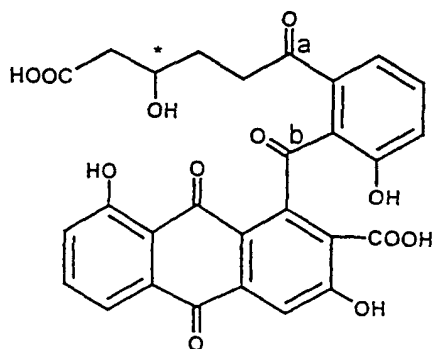
式 XVIII 化合物的进一步实例是下列非对映体：



XVIII C

其中标记为星号的 C 原子具有 S 构型。

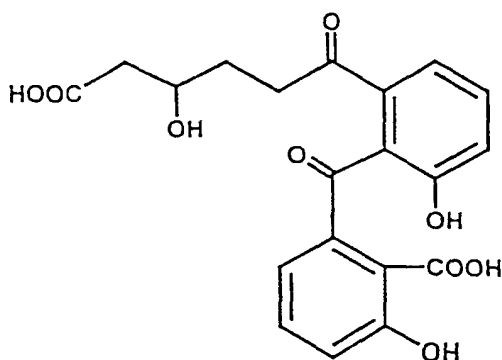
根据本发明的式 XVIII D 非对映体如下所示：



XVIII D

其中标记为 “a” 和 “b” 的半缩酮 (half-ketal) 或缩酮形式的碳原子，独立地具有 S 或 R 构型。

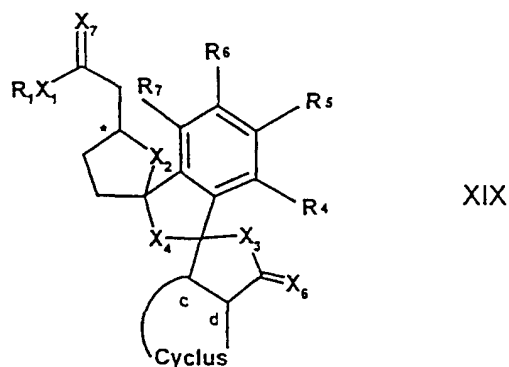
式 XVIII 化合物的进一步实例如下：



XVIII E

上述例证的有些优选的式 I 化合物可以通称为羟基-二酮基-二碳酸 (hydroxy-diketo-dicarboxylic acid) 衍生物。

本发明进一步涉及下列通式 XIX 化合物:

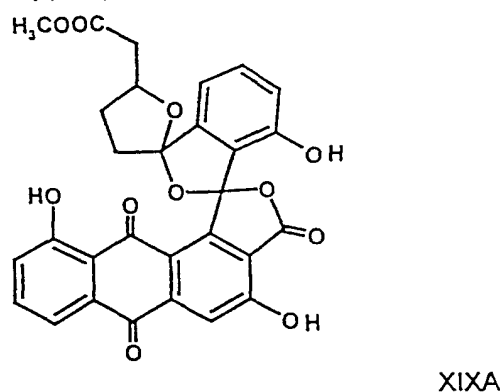


其中 R_1 至 R_7 、 X_1 至 X_7 、cycclus、c 和 d 是如上所定义的, 排除这样的化合物: 其中的 R_1 是甲基, R_4 是 $-OH$, X_1 至 X_7 是 O, cycclus 是 3,8-二羟基蒽醌,

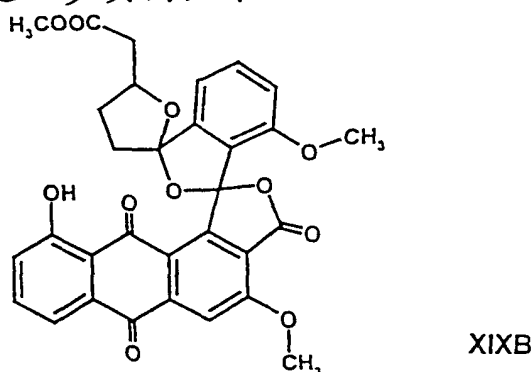
及其药学上可接受的盐、酯和醚和其他明显的化学等价物, 包括所有它们的立体异构与互变异构形式及其任意比例的混合物。

优选地, R_1 是 C_1 - C_6 -烷基, 例如甲基。 R_4 适合地是羟基或 C_1 - C_6 -烷氧基, 例如甲氧基。

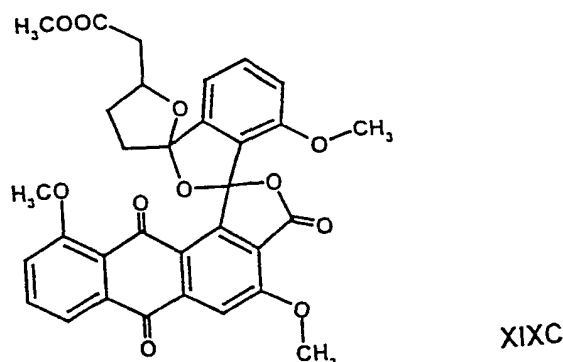
式 XIX 化合物的实例如下:



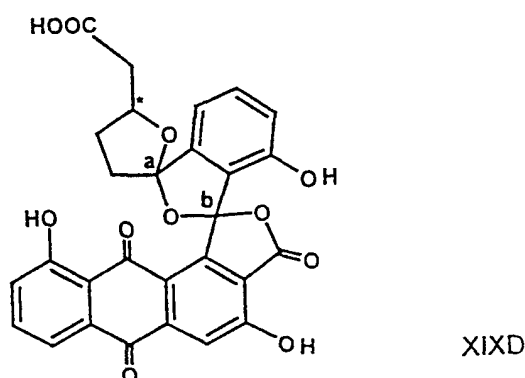
式 XIX 化合物的进一步实例如下:



式 XIX 化合物的更进一步实例如下:



式 XIX 化合物的另一个实例是下列非对映体:



其中标记为星号*的 C 原子具有 S 构型, 分别标记为 “a” 和 “b” 的 C 原子都具有 S 或 R 构型。

式 XIXA、XIXB 或 XIXC 化合物的一种制备方法包含将 mumbaistatin 溶于溶剂, 优选为有机溶剂, 例如链烷醇, 如甲醇, 再与甲基化剂反应, 例如重氮甲烷。mumbaistatin 理想地预先已用酸处理, 例如三氟乙酸。随后优选地通过色谱法分离反应产物。

mumbaistatin 在 pH 约 6 至 9 的溶液中的稳定性有限。在酸性 pH 下, mumbaistatin 迅速经历复杂的转化, 例如转化为上式 XIXD 化合物。因为 mumbaistatin 的酸形式与重氮甲烷反应生成上式 XVIIIA、XVIII B、XIXA、XIXB 和 XIXC 甲基化化合物, 所以需要加以特别小心, 以确保得到自然的、确定的甲基化产物。已经发现所需的甲基化产物是在冷却条件下得到的, 例如 -1°C 至 3°C 的温度, 优选为 0°C , 和/或是在反应时间不长的情况下得到的。惊人的是可以利用水与乙腈的混合物结晶至少这样的一种甲基化产物。这使通过 X 放射光谱测定法测定化合物的结构成为可能。

表 1:

三甲基-mumbaistatin (式 XVIII A) 的晶体数据和结构精修

鉴别代码	sh608
经验式	C ₃₃ H ₂₇ N O ₁₁
分子量	613.56
温度	293(2) K
波长	0.71073 Å
晶体系统	Monoclinic
空间群	P2(1)
晶胞尺寸	a = 12.907(4) Å α = 90°. b = 11.253(5) Å β = 96.56(2)°. c = 20.003(6) Å γ = 90°
体积	2886.2(17) Å ³
Z	4
密度 (计算值)	1.412 Mg/m ³
吸收系数	0.107 mm ⁻¹
F(000)	1280
晶体大小	0.04 x 0.1 x 0.2 mm ³
数据采集的θ范围	2.08 to 20.83°.
指数范围	-12 ≤ h ≤ 12, -11 ≤ k ≤ 11, -19 ≤ l ≤ 19
所收集的反射	9796
独立反射	5833 [R(int) = 0.0447]
对θ=20.83°的完整性	98.7 %
吸收校正	最大: 0.862, 最小: 0.632
求精方法	根据 F ² 的全矩阵最小平方
数据/限制/参数	5833 / 1 / 822
根据 F ² 的拟合优度	1.064
最终的 R 指数 [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0510, wR2 = 0.0966
R 指数 (所有数据)	R1 = 0.0981, wR2 = 0.1171
绝对结构参数	1(2)
消光系数	0.0035(4)
最大扩散峰和孔	0.194 和 -0.174 e.Å ⁻³

表 2

四甲基 mumbaistatin 内酯二螺酮的化学位移 (式 XIXC, CDCl₃, 280K)

	A ^{a)}	B ^{a)}	A	B
	¹ H	¹ H	¹³ C	¹³ C
1	-	-	159.50	159.51
1-OMe	3.87	3.87	56.28	56.28
2	7.26	7.26	118.27	118.27
3	7.67	7.67	134.57	134.57
4	7.85	7.85	119.32	119.32
5	-	-	134.44	134.44
6	-	-	183.27	183.24
7	-	-	139.57	139.57
8	-	-	124.51	124.50
9	-	-	180.29	180.26
10	-	-	122.56	122.50
11	7.88	7.88	110.55	110.58
12	-	-	160.33	160.33
12-OMe	4.21	4.20	57.00	57.00
13	-	-	121.33	121.28
14	-	-	149.95	149.81
15	-	-	164.43	164.15
16	-	-	111.33	111.33
17	-	-	126.62	126.34
18	-	-	153.44	153.39
18-OMe	3.54	3.54	55.52	55.52
19	6.76	6.77	110.97	110.92
20	7.46	7.47	132.15	132.23
21	7.12	7.09	114.38	114.32
22	-	-	141.76	142.18
23	-	-	119.28	119.58
24	2.74/2.58	2.70/2.63	36.05	35.22
25	2.41/1.92	2.41/1.97	30.36	29.87
26	4.77	4.77	77.64	76.54
27	2.90/2.63	2.86/2.63	41.46	40.15
28	-	-	171.74	171.21
28-OMe	3.67	3.71	51.72	51.78

a) A 和 B 相当于两种非对映体形式 (A:B 之比大约 1.2:1.0)

表 3

式 XVIII A 与式 XVIII B 的芳族质子对比

位置	式 XVIII A	式 XVIII B
2	7.29	7.26
3	7.59	7.67
4	7.85/7.84	7.85
11	7.91/7.90	7.88
19	6.92	6.76/6.77
20	7.68/7.67	7.46/7.47
21	6.92	7.12/7.09

表 4

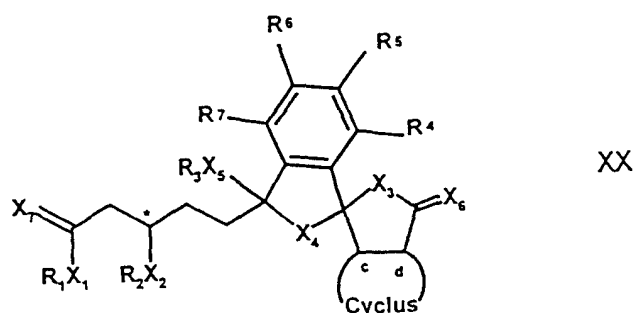
mumbaistatin 内酯-二-螺缩酮-单甲基酯 (式 XIX A, DMSO, 300K)
的化学位移

位置	XIX A ^1H	XIX A ^{13}C
1	-	161.38
1-OH	13.26	-
2	7.18	123.82
3	7.62	135.15
4	7.57	117.95
5	-	132.68
6	-	183.53
7	-	138.70
8	-	117.91
9	-	183.09(宽)
10	-	116.48
11	7.16(宽)	~122.1(宽)
12	-	153.87(宽)
12-OH	宽	-
13	-	a)
14	-	a)
15	-	166.45(宽)
16	-	110.11
17	-	124.64, 124.51
18	-	151.14, 151.09
18-OH	9.51, 9.52	-
19	6.68	115.32
20	7.26, 7.27	130.72, 130.78
21	6.97, 6.95	112.45
22	-	143.49, 143.68
23	-	117.93, 118.01
24	2.53/2.45, 2.59/2.37	~35.8(宽), ~34.9(宽)
25	2.26/1.74, 2.22/1.85	~29.8(宽) ~29.4(宽)
26	4.60, 4.54	76.84, 75.91
27	2.68, 2.63	41.09, 39.88
28	-	170.97, 170.86
28-OMe	3.59, 3.61	51.22, 51.28

a) 在 ^{13}C -光谱中没有观察到关于这些核的信号

若观察到两组信号（比例大约 1.1:1.0），则它们相当于两种非对映体形式。在这些非对映体显示不同的化学位移的情况下，两个数值用逗号隔开（第一个数值相当于主要组分）。

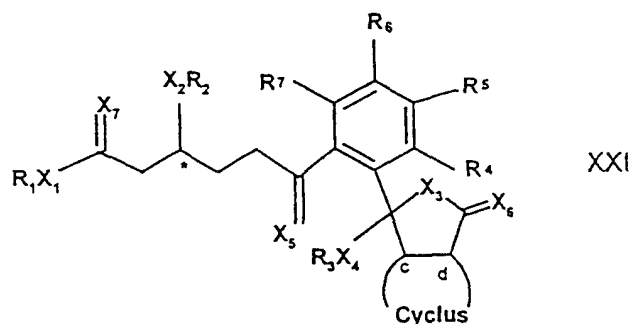
本发明还涉及通式 XX 化合物：



其中 R_1 至 R_7 、 X_1 至 X_7 、cyclus、c 和 d 是如上所定义的，及其药学上可接受的盐、酯和醚和其他明显的化学等价物，所有它们的立体异构与互变异构形式及其任意比例的混合物。

优选地， X_1 至 X_7 一个或多个是 0。

本发明此外涉及通式 XXI 化合物：

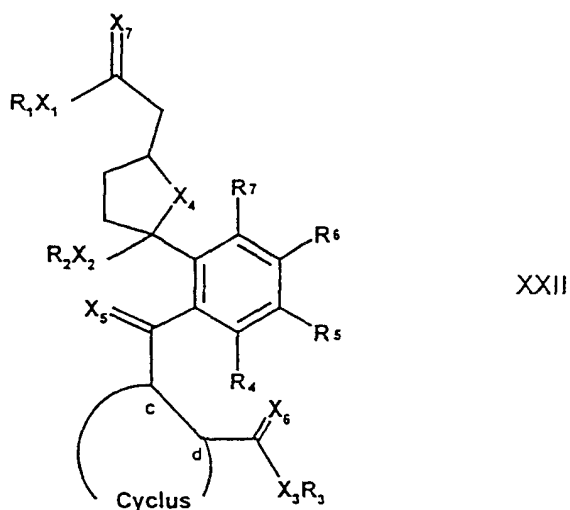


其中

R_1 至 R_7 、 X_1 至 X_7 、cyclus、c 和 d 是如上所定义的，及其药学上可接受的盐、酯和醚和其他明显的化学等价物，所有它们的立体异构与互变异构形式及其任意比例的混合物。

优选地， X_1 至 X_7 中一个或多个是 0。

本发明另外涉及通式 XXII 化合物：

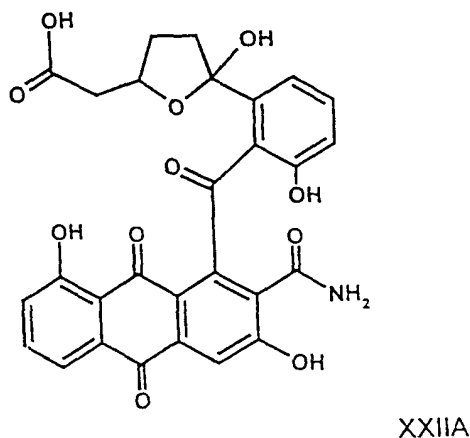


其中

R_1 至 R_7 、 X_1 至 X_7 、cyclus、c 和 d 是如上所定义的，及其药学上可接受的盐、酯和醚和其他明显的化学等价物，所有它们的立体异构与互变异构形式及其任意比例的混合物。

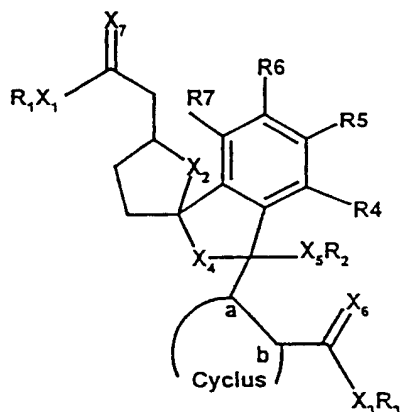
优选地， X_1 至 X_7 中一个或多个是 O。

式 XXII 化合物的实例如下：



式 XXIIA 化合物的制备方法包含将 mumbaistatin 溶于溶剂，优选为有机溶剂，例如链烷醇，再与酰胺源反应，例如氨溶液。该方法是在冷却条件下进行的，优选为 -1°C 至 3°C 的温度下，更优选为 0°C 。随后分离反应产物。

本发明此外涉及通式 XXIV 化合物:



XXIV

其中

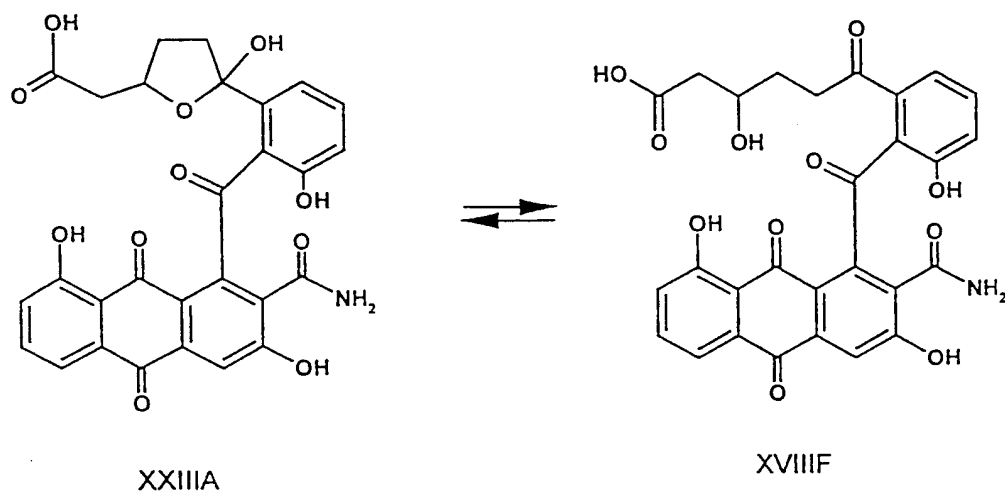
R_1 至 R_7 、 X_1 至 X_7 、cycclus、c 和 d 是如上所定义的，及其药学上可接受的盐、酯和醚和其他明显的化学等价物，所有它们的立体异构与互变异构形式及其任意比例的混合物。

优选地， X_1 至 X_7 中一个或多个是 O。

根据本发明的化合物是互变异构体，其中开放形式和封闭形式是平衡存在的。

通过与适合的碱反应，上述式 XIX 至 XXIV 的封闭结构可以转化为式 XVIII 的开放结构。适合用于该反应的碱是无机或有机碱。因而，可以使用叔胺和碱金属碳酸盐，后者例如碳酸钠、碳酸氢钠、碳酸氢钾、碳酸钾、碳酸锂。

根据本发明的互变异构体平衡是如下式 XXIIIA 和 XVIIIIF 化合物:



根据本发明的化合物可以转化为药学上可接受的盐和明显的化学等价物，象酯和醚，它们均为本发明所覆盖。本发明还涵盖本发明这样一些化合物的所有的盐和明显的化学等价物，它们本身不适合用作药物，但是它们可以作为中间体，用于药学上可接受的盐和衍生物的制备。本发明覆盖这些芳族二酮基衍生物和它们的盐、酯、醚和其他明显的化学等价物，包括它们的所有立体异构形式和互变异构形式。通过本领域技术人员已知的标准程序可以制备衍生物的盐（例如 Na、K、铵盐）。象钠与钾盐等盐例如可以这样制备，即将这些化合物用适合的钠或钾碱处理。

酯可以这样制备：例如，在例如二环己基碳二亚胺(DCC) 这样的试剂的存在下，使这些化合物与羧酸反应，或者将化合物用酰化剂，例如酰氯处理。酯的其他制备方法参见文献，例如 J. March, *Advanced Organic Synthesis* (有机合成进展)，第 4 版，John Wiley & Sons, 1992。

醚可以这样制备，例如在碱性条件下，使 mumbaistatin 与烷基化剂反应。醚的其他制备方法参见文献，例如 J. March, *Advanced Organic Synthesis* (有机合成进展)，第 4 版，John Wiley & Sons, 1992。

其他明显化学等价物包括还原或氧化产物和加成产物，例如水合物。例如，mumbaistatin 的蒽醌基可以被还原剂还原为氢醌。所得产物是葡萄糖-6-磷酸移位酶的有效抑制剂， $IC_{50} \sim 5nM$ 。

在若干关于 mumbaistatin 的生物化学试验系统中都已经显示出葡萄糖-6-磷酸移位酶活性。不过，石蕊杀菌素链霉菌培养物滤液的 mumbaistatin 收率极低，这妨碍了化合物的进一步开发。而且，迄今还没有可能确定 mumbaistatin 的结构式，原因是多方面的，包括化合物不能结晶和在溶液中的不稳定性。

不过现在已经发现有一种方法能够以相对高的收率从提取物中分离 mumbaistatin。本发明因此提供 mumbaistatin 的分离方法，包含在 pH 5-8、优选为 6 或 7 下，通过离子交换色谱法提取包括

mumbaistatin 的培养物滤液。尽管 PCT/EP 99/04127 提到了离子交换的使用, 不过显然尚未认识到可出于提高收率的目的而使用离子交换。这是从上述专利申请 PCT/EP 99/04127 中的实施例看出来的, 其中的离子交换器不是用于 mumbaistatin 的分离, 并且从 730 升培养物滤液仅得到 70mg 纯的 mumbaistatin。本发明的方法借助离子交换的方法可以实现 mumbaistatin 和与之有关的化合物的分离和富集, 所得收率至少在 50% 以上, 更通常为 >70%。按照本发明所得 mumbaistatin 与 PCT/EP 99/04127 所得 mumbaistatin 相比, IC_{50} 降低至 ~5nM。

在根据本发明的 mumbaistatin 分离方法中, 可以使用各种离子交换器。实例是 QAE-、DEAE-和 THAE-阴离子交换器。优选地, 在所选择的基质上携带取代或未取代的氨基。更优选地, 使用 DEAE-阴离子交换器, 例如 DEAE-[®]Sepharose Fast Flow 或 [®]Fractogel EMD DEAE。可以按照已知方式使用阴离子交换器。在缓冲系统中可以使用 5 至 85% 的有机溶剂。不过优选的是所用有机溶剂在缓冲系统中的含量高, 因此优选地使用在水性缓冲溶液中含量为 10 至 40% 的有机溶剂。适合的有机溶剂实例是水可混溶性有机溶剂, 例如低级醇、丙酮、乙腈、乙二醇、二噁烷、二甲基亚砷、甲酰胺等。优选的溶剂是甲醇、乙醇、异丙醇和丙酮。

利用所述方法, 可以得到纯度 >99% 的 mumbaistatin, 该化合物的收率可以在 70% 以上。所得富集的 mumbaistatin 可以按照简单方式加以纯化, 例如分子筛和/或反相色谱法。

根据本发明的化合物可抑制大鼠肝微粒体葡萄糖-6-磷酸移位酶。这些化合物因此可用作药理学上的活性成分, 特别是用于糖尿病的治疗, 更普遍地用于这样的病症的治疗或预防, 它们是由葡萄糖-6-磷酸移位酶活性升高所导致的或与之有关, 或者希望减少葡萄糖-6-磷酸移位酶活性的状况。根据本发明的化合物及其药理学上可接受的盐、酯、醚和其他明显的化学等价物可以作为药物对动物给药, 优选为哺乳动物, 特别是人, 药物可以是它们本身、彼此的混合物和药物组合物的形式, 允许肠内或肠胃外给药。

因此，本发明还涉及用作药物的芳族二酮基衍生物及其药学上可接受的盐、酯、醚和其他明显的化学等价物，涉及这些衍生物及其药学上可接受的盐、酯、醚和其他明显的化学等价物的用途，用于制备减少葡萄糖-6-磷酸移位酶活性的药物，特别是用于制备治疗糖尿病的药物。本发明进一步涉及药物组合物，其含有有效量的这些衍生物和/或一种或多种其药学上可接受的盐、酯、醚和/或明显的化学等价物以及药学上可接受的载体。

根据本发明的化合物可以通过口服、肌内、静脉内或其他给药方式给药。单独或者组合含有这些化合物或其药学上可接受的盐或明显的化学等价物的药物组合物可以按照标准工艺加以制备，包括将化合物与一种或多种药理学上可接受的赋形剂和/或助剂混合，例如填充剂、乳化剂、润滑剂、矫味剂、着色剂或缓冲物质，再将混合物转化为适合的药物剂型，例如片剂、包衣片、胶囊剂或适合于肠内或肠胃外给药的悬液或溶液。

可以提到的助剂和/或赋形剂的实例是淀粉、黄耆胶、乳糖、滑石、琼脂、多元醇、乙醇和水。适合和优选的肠胃外给药剂型是水悬液或水溶液。还有可能将活性物质以适合的剂型例如胶囊剂而没有载体或稀释剂进行给药。包含一种或多种这些化合物或药学上可接受的盐或明显的化学等价物的药物组合物还可以含有其他药学上的活性成分。

习惯上，盖仑制剂和给药方法以及适合于具体情况的剂量范围取决于所要治疗的物种和相应病症或疾病的状态，可以利用本领域已知的方法加以优化。一般来说，根据本发明的化合物的每日剂量对体重约 75kg 的患者来说是至少 0.001mg，至多 100mg，优选为至多 10.0mg。

除了用作药学上的活性成分和衍生物制备中的中间体以外，这些化合物及其盐和明显的化学等价物还可以作为助剂，用于诊断目的，例如体外诊断，还可用于其中需要抑制葡萄糖-6-磷酸移位酶的生物化学研究目的。

下列实施例是本发明的例证，但不限制其范围。

缩写：MeOH：甲醇；DMSO：二甲基亚砷；TFA：三氟乙酸。

实施例 1

培养物石蕊杀菌素链霉菌 DSM 11641 的维持

在下列培养基上维持培养物 DSM 11641:

麦芽提取物	: 10.0g
酵母提取物	: 4.0g
葡萄糖	: 4.0g
琼脂粉	: 13.0g
软化水	: 1.0 升
pH	: 7.0

加热彻底溶解上述成分后, 分配在试管内, 在 121℃ 下灭菌 20 分钟。然后将试管冷却, 呈倾斜位置固化。将琼脂斜面用线圈划线, 使培养物石蕊杀菌素链霉菌 DSM 11641 生长其中, 在 28℃ (±1℃) 下培养直至观察到良好的生长。将生长良好的培养物贮存在 8℃ 冰箱内。

实施例 2

培养物石蕊杀菌素链霉菌 DSM 11641 在发酵罐内发酵

第 1 阶段: 在摇瓶内制备种子培养物

种子培养基的组成

葡萄糖	: 15.0g
大豆粗粉	: 15.0g
玉米浆	: 5.0g
NaCl	: 5.0g
CaCO ₃	: 2.0g
软化水	: 1.0 升
pH	: 7.0

将上述种子培养基按 160ml 分配在 1L 埃伦迈厄瓶内, 在 121℃ 下高压灭菌 20 分钟。将烧瓶冷却至室温, 然后在每只烧瓶内接种一满环上述实施例 1 生长良好的培养物, 在 27℃ (±1℃) 和 240rpm 下, 在旋转摇动器上摇动 72 小时, 得到种子培养物。

生产培养基的组成

葡萄糖	: 20.0g
大豆粗粉	: 10.0g
CaCO ₃	: 0.2g
氯化钴	: 0.001g
软化水	: 1.0 升
pH	: 7.0

第 2 阶段: 在发酵罐内制备种子培养物

在 121℃ 下将 80 升上述种子培养基在 100 升 Marubishi 发酵罐内原位灭菌 45 分钟, 冷却至 27℃±1℃, 接种 4.5 升上述种子培养物。

利用下列参数进行发酵:

温度	: 27℃ (±0.5℃)
搅拌	: 80rpm
通气	: 50lpm
收获时间	: 24 小时

第 3 阶段: 大规模发酵

在 121℃ 下将 700 升上述生产培养基在 1000 升 Marubishi 发酵罐内与 150ml®Desmophen(聚氧丙烯)作为消泡剂一起原位灭菌 45 分钟, 冷却至 27℃±1℃, 接种 75 升来自第 2 阶段的种子培养物。

利用下列参数进行发酵:

温度	: 27℃ (±0.5℃)
搅拌	: 50rpm
换气	: 450lpm
收获时间	: 40-44 小时

通过测量葡萄糖-6-磷酸移位酶的抑制作用, 监测化合物的生产。当发酵中断时, 培养肉汤的 pH 为 6.0-7.0。收获后将培养肉汤离心, 如下实施例 3 所述从培养物滤液分离葡萄糖-6-磷酸移位酶抑制剂 mumbaistatin。

实施例 3

通过阴离子交换分离 mumbaistatin

收获大约 200 升培养肉汤，通过离心与菌丝体(12kg)分离。发现所需化合物 mumbaistatin 主要存在于培养物滤液中。使培养物滤液（180 升，含有 120mg mumbaistatin）通过填充有吸附树脂[®]MCI GEL CHP20P 的柱子（直径 20cm x 高 45cm，容量 14 升）。将柱子用 120 升 0.1%磷酸盐缓冲液 pH 6.3 至 120 升 45%异丙醇水溶液的梯度洗脱。柱子流通量为 18 升/小时。最大量的 mumbaistatin（12 升中 102mg）存在于不含盐的级分中，该级分是用 25 至 28%异丙醇水溶液步进梯度洗脱的。使所得活性洗脱液通过 DEAE-[®]Sepharose Fast Flow 填充柱（3 升），柱子已用磷酸盐缓冲液平衡至 pH 7.0。洗脱 mumbaistatin 的梯度过程是含 20%异丙醇的 0.1%磷酸钠缓冲液 pH 7.0 作为 A 缓冲液和含 20%异丙醇的 0.1%磷酸盐缓冲液与 0.25% NaCl 作为 B 缓冲液。使用 50ml/min 流速，收集 100 个级分，其中第 72 至 74 级分含有 81mg 高度富集的 mumbaistatin，第 75 级分含有另外不太纯的 18mg。合并各级分，在真空中浓缩。通过[®]Nucleosil 100-10 C₁₈AB 柱(2.1cm x 25cm)进一步纯化，在 pH 6.3 下用含 5-35%乙腈的 0.05%乙酸铵缓冲液步进梯度洗脱。冷冻干燥纯级分，得到总共 86mg (73 + 13mg) 纯的 mumbaistatin 铵盐。

mumbaistatin 的钠盐是这样制备的，将 40mg 铵盐溶于 10ml 水(pH 6.4)，用氯化钠增加溶液的流动性至 12mS/cm²。然后使所得水溶液通过[®]MCI GEL CHP20P 柱（宽 1cm x 高 9cm）。用水/40%乙腈水溶液梯度洗脱，柱子流速为 5ml/min，洗脱级分体积为 10ml。在第 16 至 19 级分中发现了钠盐，纯溶液的 pH 为 8.5。冷冻干燥后从这些级分得到 32mg mumbaistatin 钠盐，用 HPLC 测量的纯度为 99%。

溶于甲醇的 UV 最大值：

219 nm, ϵ = 33 000;

257 nm, ϵ = 19 500;

285 nm, ϵ = 19 000;

414 nm, ϵ = 5 100.

抑制大鼠肝微粒体葡萄糖-6-磷酸移位酶的 IC₅₀ = 5nM. 10 μ M 溶液

中微粒体葡萄糖-6-磷酸酶的抑制作用：活性证明不到。

实施例 4

mumbaistatin 甲基化产物

将 18mg 根据实施例 3 所得 mumbaistatin 溶于 50ml 水，冷却至 0℃，用冷三氟乙酸(TFA)保持 pH 2.8。之后直接使所得混合物通过填充有 6.2ml[®]MCI GEL CHP20P (75-150um) 的柱子(1cm x 8cm)，用 0.01% TFA 至含 30%乙腈的 0.01% TFA 梯度洗脱。流速为 2.5ml/min。将洗脱液冷却，含有 mumbaistatin 的级分直接冷冻至-40℃，冷冻干燥。

将冷冻干燥产物(15mg)溶于甲醇，用重氮甲烷甲基化。在真空中浓缩反应混合物后，通过[®]LiChrosorb RP18, 10u 柱分离十种以上甲基化产物的混合物，柱子尺寸为 1cm x 25cm (宽 x 长)。使用浓度为 5 至 55%的乙腈水溶液作为溶液。在冷却下合并各级分，进一步的加工都保持在冷却条件下。在真空中浓缩级分。第 19 级分是相当于式 XVIII A 的 mumbaistatin-单-甲基醚-二甲基酯，分子量为 590。关于该化合物的特征 NMR 数据如上表 3 所示。3μM 溶液对葡萄糖-6-磷酸移位酶的抑制作用：42%。

在冷却条件下真空浓缩后，从第 34 级分得到根据式 XIX B 的化合物。上表 1 提供了关于该化合物的结晶学数据。关于上示化合物存在非对映体 S, R, R 和 S, S, S。对葡萄糖-6-磷酸移位酶的抑制作用：IC₅₀ = > 100μM。

第 26 级分所含有的化合物在贮存后是相当于式 XIX C 的 mumbaistatin 四甲基衍生物。上表 2 提供了关于该化合物的有关 ¹H 和 ¹³C-NMR 数据。

实施例 5

mumbaistatin 半缩酮-酰胺 (式 XXIIIA)

在 0℃氨气氛下，在搅拌下向 10ml mumbaistatin 的 1ml 甲醇溶液中滴加 1ml 浓氨水溶液。将混合物在该温度下搅拌 2 小时，随后在真空中除去溶液。得到 10mg 米色粉末形式的 mumbaistatin-酰胺。通过电子喷射质谱法测定分子量(548, M+H⁺)，相当于化学式 C₂₈H₂₁NO₁₁。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6): δ = 7.8 (d, 1H), 7.75 (t, 1H), 7.35 (m, 1H), 7.25 (s, 1H), 6.85 (t, 1H), 6.55 (d, 1H), 3.85 (m, 1H), 2.2-2.35 (m), 2.05 (m, 1H), 1.8 (m, 1H), 1.2-1.4 (m) ppm.

式 XXIIIA 的 mumbaistatin-酰胺抑制葡萄糖-6-磷酸移位酶的 IC_{50} = $\sim 1\mu\text{M}$.

实施例 6

mumbaistatin 内酯二缩酮单-甲基-酯的制备

将 10mg 实施例 3 所得 mumbaistatin 溶于 1ml 无水甲醇, 与 0.1% TFA 水溶液反应, 在室温下放置 5 小时。如实施例 3 所述通过制备型色谱法纯化反应产物, 冷冻干燥后得到含有 7mg mumbaistatin 内酯单-甲基-酯(式 XIXA)的活性级分。该化合物的分子量为 544Da (ESI-MS)。