



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102333528 B

(45) 授权公告日 2013. 12. 18

(21) 申请号 201080005473. 0

审查员 陈玉平

(22) 申请日 2010. 01. 26

(30) 优先权数据

61/147, 382 2009. 01. 26 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2011. 07. 26

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2010/022129 2010. 01. 26

(87) PCT申请的公布数据

W02010/085811 EN 2010. 07. 29

(73) 专利权人 台北医学大学

地址 中国台湾台北市信义区吴兴街 250 号

(72) 发明人 徐凤麟 刘兴华 汪炳钧

(74) 专利代理机构 北京连和连知识产权代理有限公司 11278

代理人 贺小明

(51) Int. Cl.

A61K 31/12 (2006. 01)

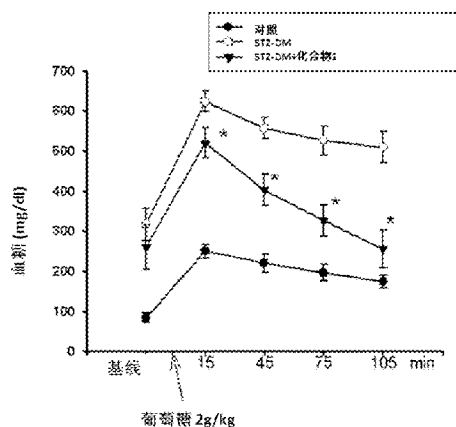
权利要求书1页 说明书19页 附图10页

(54) 发明名称

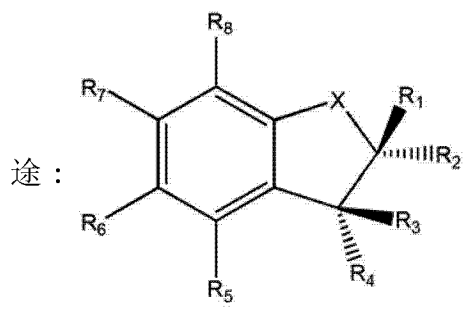
蕨素化合物用于治疗糖尿病及肥胖之用途

(57) 摘要

本发明是关于式 I 的蕨素化合物用于治疗包括第 I 型和第 II 型糖尿病的用途。本发明亦揭示该蕨素化合物用于治疗肥胖的用途。



1. 一种式 I 蕨素化合物在制备用于治疗个体的糖尿病的药物中的用途：



其中 X 为 C=O, $R_1=R_6=R_8=CH_3$, R_2 为 CH_2OH , $R_3=R_4=R_5=H$, R_7 为 CH_2CH_2OH 。

2. 如权利要求 1 所述的用途, 其中该糖尿病是第 I 或第 II 型糖尿病。
3. 如权利要求 1 所述的用途, 其中该药物是经由口服或注射予以投药。
4. 如权利要求 1 所述的用途, 其中该个体是肥胖的。
5. 如权利要求 1 所述的用途, 其中该蕨素化合物是一种经分离的蕨素化合物。
6. 如权利要求 1 所述的用途, 其中该蕨素化合物是存在于制备自碗蕨科 (Dennstaedtiaceae) 或凤尾蕨科 (Pteridaceae) 蕨类植物的蕨类产品内。
7. 如权利要求 6 所述的用途, 其中该蕨类植物是选自以下构成的群组：刺柄碗蕨 (*Dennstaedtia scandens*)、栗蕨 (*Histiopteris incisa*)、热带鳞盖蕨 (*Microlepia speluncae*)、蕨菜 (*Pteridium aquilinum* var. *latiusculum*)、峦大蕨 (*Pteridium revolutum*)、姬蕨 (*Hypolepis punctata*)、水蕨 (*Ceratopteris thalictroides*)、金钗凤尾蕨 (*Pteris fauriei*)、半边羽裂凤尾蕨 (*Pteris dimidiata*) 和箭叶凤尾蕨 (*Pteris ensiformis*)。
8. 一种如权利要求 1 所述的式 I 蕨素化合物在制备用于治疗肥胖的药物中的用途。
9. 如权利要求 8 所述的用途, 其中该药物是经由口服或注射予以投药。
10. 如权利要求 8 所述的用途, 其中该蕨素化合物是一种经分离的蕨素化合物。
11. 如权利要求 8 所述的用途, 其中该蕨素化合物是存在于制备自碗蕨科或凤尾蕨科蕨类植物的蕨类产品内。
12. 如权利要求 11 所述的用途, 其中该蕨类植物是选自以下构成的群组：刺柄碗蕨 (*Dennstaedtia scandens*)、栗蕨 (*Histiopteris incisa*)、热带鳞盖蕨 (*Microlepia speluncae*)、蕨菜 (*Pteridium aquilinum* var. *latiusculum*)、峦大蕨 (*Pteridium revolutum*)、姬蕨 (*Hypolepis punctata*)、水蕨 (*Ceratopteris thalictroides*)、金钗凤尾蕨 (*Pteris fauriei*)、半边羽裂凤尾蕨 (*Pteris dimidiata*) 和箭叶凤尾蕨 (*Pteris ensiformis*)。
13. 如权利要求 8 所述的用途, 其中该药物足以降低一个体之血脂或胆固醇的含量。

蒎素化合物用于治疗糖尿病及肥胖之用途

背景技术

[0001] 本发明是关于式 I 的蒎素化合物用于治疗包括第 I 型和第 II 型糖尿病的用途。本发明亦揭示该蒎素化合物用于治疗肥胖的用途。

[0002] 蒎素化合物为存在于蒎类植物 (Bracken) 内的倍半萜类 (sesquiterpenoids)。已发现此家族的一些成员如先前所述具有抗肿瘤活性, 例如, 描述于日本专利案第 63146839A2 号, Chem. Pharm. Bull. 1978, 26 :2346, Molecules 2008, 13 :255。

[0003] 糖尿病为具有异常高血糖浓度之特征的一种糖代谢性疾病。有两种不同类型的糖尿病, 亦即非胰岛素依赖或成人型, 亦称为第 II 型糖尿病; 以及胰岛素依赖或幼儿型, 亦称为第 I 型糖尿病。

[0004] 第 II 型糖尿病通常发生于成人且与肥胖具有高度关联性。第 II 型糖尿病患者必需控制其饮食及鼓励减重和运动。病患服用可增加胰岛素敏感性或刺激胰脏分泌胰岛素的药物。目前用于第 II 型糖尿病的药物包括磺酰尿素类、美格耐德类 (meglitinides)、双胍类、噻唑烷二酮类, 以及 α -糖苷酶抑制剂, 然而其具有许多限制, 例如, 副作用和高比例的继发性药物失效 (secondary failure)。对照之下, 第 I 型糖尿病患者相对其年龄和身高并无过重, 且在幼年即快速发作。第 I 型糖尿病患者终其一生必须藉由注射投与胰岛素。虽然已有很多有关口服投药胰岛素的研究, 但是目前仍无有效的胰岛素口服剂型。

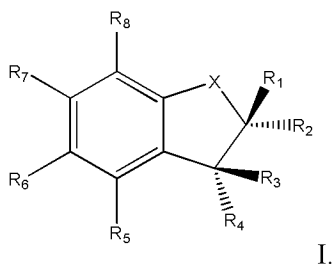
[0005] 因此, 仍亟需一种用于治疗糖尿病 (第 I 型和第 II 型) 以及肥胖的另类药物, 较佳为较低副作用及可被口服投药。

发明内容

[0006] 本发明系根据许多蒎素化合物具有抗糖尿病和抗肥胖活性的非可预期的发现。

[0007] 因此, 在一方面, 本发明提供一种用于治疗糖尿病 (第 I 型或第 II 型) 的方法, 其包括将有效量的式 I 蒎素化合物投与至需治疗的个体:

[0008]



I.

[0009] 在式 I 中, R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 各独立为 H、 OR_a 、胺基、卤素、烷氧羰基、烷硫基、烷胺基、烷基、烯基、炔基、 $-(G)_x$ 、 $-O-(G)_x$ 或 $R_b-O-(G)_x$, R_a 和 R_b 各独立为 H、烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基, G 为单糖残基, 以及 x 为 1-4 的整数; R_5 、 R_6 、 R_7 和 R_8 各独立为 H、 OR_c 、胺基、硝基、氰基、卤素、烷氧羰基、烷硫基、烷胺基、烷基、烯基、炔基、芳基、杂芳基、环烷基、杂环烷基、 $-(G)_x$ 、 $-O-(G)_x$ 或 $R_d-O-(G)_x$, 各 R_c 和 R_d 为 H、烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基; 或 R_5 、 R_6 和其连接的两个碳原子共同形成选择性地含 1、2 或 3 个杂原子的 3-8 员环; 或 R_6 、 R_7 和其连接的两个碳原子共同形成选择性地含 1、2 或 3 个杂原子

的 3-8 员环 ;或 R_7 、 R_8 和其连接的两个碳原子共同形成选择性地含 1、2 或 3 个杂原子的 3-8 员环 ;以及 X 为 C(O)、C(S)、S(O)、COH、C($R_e R_e$) 或 C(NR_e) , R_e 和 R_e 各独立为 H、烷基或氰基以及 R_f 为 H、OR_a、胺基、卤素、烷氧羰基、烷硫基、烷胺基、烷基、烯基或炔基。

[0010] 本发明的范围亦包括任何上述蕨素化合物于治疗糖尿病以及用于制造治疗糖尿病之药物的用途。

[0011] 在另一方面,本发明提供一种用于治疗肥胖的方法,其包括将有效量之上述式 I 蕨素化合物投与至有需要此治疗的个体。

[0012] 本发明的范围亦包括任何上述蕨素化合物于治疗肥胖以及用于制造治疗肥胖之药物的用途。

[0013] 在下列的描述中详细说明本发明的一或多项具体实施例。从下列数种具体实施例的详细说明,以及从申请专利范围附件将可更彰显本发明的其他特色或优点。

附图说明

[0014] 为达说明本发明之目的示于附图中者代表本发明较佳的具体实施例。然而,应了解本发明并非仅局限于该所示的较佳具体实施例。

[0015] 在图式中 :

[0016] 图 1 为葡萄糖耐受性试验中链脲菌素 (STZ) 诱发糖尿病小鼠以化合物 1 (100mg/kg/ 天) 口服治疗 14 天 (实例 3) 的结果。* $p < 0.05$ 表示与对照组比较具有统计显着性。

[0017] 图 2 为胰岛素敏感性试验中以不同化合物 1 浓度处理 C2C12 肌细胞 (实例 4) 的结果。* $p < 0.05$ 表示与对照组比较具有统计显着性。

[0018] 图 3 为葡萄糖消耗 / 摄取试验中以不同化合物 1 浓度处理 C2C12 肌细胞 (实例 5) 的结果。* $p < 0.05$ 表示与对照组比较具有统计显着性。

[0019] 图 4 为葡萄糖运输蛋白 (Glut4) 表现分析试验中 STZ- 诱发糖尿病小鼠以化合物 1 (100mg/kg/ 天) 口服治疗 14 天 (实例 6) 的结果。* $p < 0.05$ 表示与对照组比较具有统计显着性 ;以及 * $p < 0.05$ 表示与 STZ- 诱发糖尿病小鼠比较具有统计显着性。

[0020] 图 5 为磷酸烯醇丙酮酸羧激酶 (PEPCK) 试验中 STZ- 诱发糖尿病小鼠以化合物 1 (100mg/kg/ 天) 口服治疗 14 天 (实例 7) 的结果。* $p < 0.05$ 表示与对照组比较具有统计显着性。

[0021] 图 6 为葡萄糖耐受性试验中 db/db 小鼠以化合物 1 (100mg/kg/ 天) 口服治疗 28 天 (实例 8) 的结果。

[0022] 图 7 为葡萄糖耐受性试验中 db/db 小鼠以化合物 1 (30mg/kg/ 天) 注射治疗 21 天 (实例 8) 的结果。

[0023] 图 8 为葡萄糖耐受性试验中 db/db 小鼠以化合物 1 (30mg/kg/ 天) 注射治疗 28 天 (实例 8) 的结果。

[0024] 图 9 为 HbA1c (血红素 A1c) 试验中 db/db 小鼠以化合物 1 (100mg/kg/ 天) 口服治疗 28 天 (实例 9) 的结果。* $p < 0.05$ 表示与对照组比较具有统计显着性 ;以及 * $p < 0.05$ 表示与 db/db 小鼠比较具有统计显着性。

[0025] 图 10 为 HOMA-IR (稳态模型胰岛素抗性指数) 试验中 db/db 小鼠以化合物 1 (100mg/kg/ 天) 口服治疗 28 天 (实例 10) 的结果。* $p < 0.05$ 表示与对照组比较具有统

计显著性；以及 * $p < 0.05$ 表示与 db/db 小鼠比较具有统计显著性。

[0026] 图 11 为 (A) AMP-活化蛋白激酶 (AMPK) 磷酸化试验, 以及 (B) 乙酰基 CoA 羧酸酶 (ACC) 磷酸化试验中以不同化合物 1 浓度处理 C2C12 肌细胞 (实例 11) 的结果。

[0027] 图 12 为 (A) 高脂饮食饲料 (HFD) 小鼠之血脂 / 胆固醇试验, 以及 (B) 高密度脂蛋白 (HDL) - 胆固醇 / 总胆固醇和低密度脂蛋白 (LDL) - 胆固醇 / 总胆固醇之比例的结果。* $p < 0.05$ 表示与对照组比较具有统计显著性；以及 * $p < 0.05$ 表示与 HFD 小鼠比较具有统计显著性。

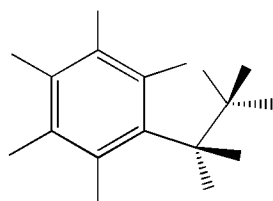
具体实施方式

[0028] 除非另有说明, 否则此处使用之全部技术和科学名词与熟习本领域之技术者通常所了解者的意义相同。藉由引述并入本文内提及的全部专利说明其目的为揭示和描述专利说明内所述及可能和本发明有关的方法和 / 或材料。

[0029] 除非本文中另有明述否则用于此处的单数型 "a"、"an" 和 "the" 皆包括复数的涵意。因此, 例如, 提及「一盐类」时包括熟知本领域技术者所习知的复数种该盐类和相等物。

[0030] 在一方面, 本发明系有关一种用于治疗糖尿病的方法, 其包括将有效量的式 I 蒽素化合物投与至有需要的个体:

[0031]



I.

R₈

R₇

在式 I 中, R₁、R₂、R₃ 和 R₄ 各独立为 H、OR_a、胺基、卤素、烷氧羰基、烷硫基、烷胺基、烷基、烯基、炔基、-(G)_x、-O-(G)_x 或 R_b-O-(G)_x, R_a 和 R_b 各独立为 H、烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基, G 为单糖残基, 以及 x 为 1-4 的整数; R₅、R₆、R₇ 和 R₈ 各独立为 H、OR_c、胺基、硝基、氰基、卤素、烷氧羰基、烷硫基、烷胺基、烷基、烯基、炔基、芳基、杂芳基、环烷基、杂环烷基、-(G)_x、-O-(G)_x 或 R_d-O-(G)_x, 各 R_c 和 R_d 为 H、烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基; 或 R₅、R₆ 和其连接的两个碳原子共同形成选择性地含 1,2 或 3 个杂原子的 3-8 员环; 或 R₆、R₇ 和其连接的两个碳原子共同形成选择性地含 1,2 或 3 个杂原子的 3-8 员环; 或 R₇、R₈ 和其连接的两个碳原子共同形成选择性地含 1,2 或 3 个杂原子的 3-8 员环; 以及 X 为 C(O)、C(S)、S(O)、COH、C(R_eR_e') 或 C(NR_f), R_e 和 R_e' 各独立为 H、烷基或氰基以及 R_f 为 H、OR_a、胺基、卤素、烷氧羰基、烷硫基、烷胺基、烷基、烯

基或炔基。

[0032] 除非另有说明否则名词「烷基」指含 1-20 个碳原子（例如 $C_1 \sim C_8$ ）的直链或支链单价烃。烷基的实施例包括，但不局限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基，和第三丁基。名词「亚烷基」指含 1-20 个碳原子（例如 $C_1 \sim C_8$ ）的直链或支链双价烃。亚烷基的实例包括，但不局限于亚甲基及亚乙基。名词「烯基」指含 2 ~ 20 个碳原子（例如 $C_2 \sim C_{10}$ ）及一或多个双键的直链或支链单价或双价烃。烯基的实例包括，但不局限于乙烯基、丙烯基、亚丙烯基、烯丙基和 1,4- 丁二烯基。名词「炔基」指含 2 ~ 20 个碳原子（例如 $C_2 \sim C_{10}$ ）及一或多个三键的直链或支链单价或双价烃。炔基的实例包括，但不局限于乙炔基、亚乙炔基、1- 丙炔基、1- 和 2- 丁炔基，及 1- 甲基-2- 丁炔基。名词「烷氧羰基」指 $-O-C(O)-R$ 基团，其 R 可为 H、烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、杂环烷基、杂环烯基、芳基或杂芳基。名词「胺基」指 NH_2 、烷胺基或芳胺基。名词「烷胺基」和「烷硫基」分别指 $-N(R)-$ 烷基和 $-S(R)-$ 烷基基团，其 R 可为 H、烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、杂环烷基、杂环烯基、芳基或杂芳基。名词「酰胺基」指 $-NRC(O)R'$ 基团，其 R 和 R' 各独立为 H、烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、杂环烷基、杂环烯基、芳基或杂芳基。

[0033] 名词「环烷基」指具有 3 至 30 个碳原子（例如 $C_3 \sim C_{12}$ ）的单价或双价饱和烃环系统。环烷基的实例包括，但不局限于环丙基、环丁基、环戊基、环己基、1,4- 环亚己基、环庚基、环辛基和金刚烷。名词「杂环烷基」指具有一或多个杂原子（例如，O、N、S 或 Se）的单价或双价非芳香族 5 ~ 8 员单环、8 ~ 12 员双环，或 11 ~ 14 员三环环状系统。杂环烷基的实例包括，但不局限于哌嗪基、吡咯烷基、二恶烷基、吗啉基和四氢呋喃基。

[0034] 名词「芳基」指单价 6- 碳单环、10- 碳双环、14- 碳三环芳香环系统。芳基的实例包括，但不局限于苯基、萘基和蒽基。名词「杂芳基」指具有一或多个杂原子（例如，O、N、S 或 Se）的单价芳香族 5-8 员单环、8-12 员双环，或 11-14 员三环环状系统。杂芳基的实例包括吡啶基、呋喃基、咪唑基、苯并咪唑基、嘧啶基、噻吩基、喹啉基、吲哚基和噻唑基。名词「单糖残基」于此处意指经由糖苷（醚）键相互连接及代表一构造上不同类生物分子的糖。这些化合物的构造上多样性起因于许多不同的糖以及糖衍生物，例如，发现于多糖的醛糖酸，非局限于葡萄糖残基和阿拉伯糖，且各个糖可经由糖环上的许多不同位置被共价键地连接至其他糖。此外，该糖苷键由于糖的立体化学而可具有 α 或 β 构型，以及相同分子内可同时存在该两种类型的键结。

[0035] 除非特别指出，否则此处所述烷基、烯基、炔基、烷氧羰基、胺基、烷胺基、烷硫基、环烷基、杂环烷基、芳基和杂芳基包括经取代和未经取代分子部位。名词「经取代」指分别取代一氢原子的一或多个取代基（其可为相同或不同）。取代基的实例包括，但不局限于卤素（例如，F、Cl、Br 和 I）、羟基、胺基、氰基、硝基、巯基、烷氧羰基、酰胺基、羧基、烷磺酰基、烷羰基、脲基、胺羰基、羧基、硫脲基、硫氰酸基、磺酰胺基、烷基、烯基、炔基、烷氧基、芳基、杂芳基、环烷基和杂环烷基，其烷基、烯基、炔基、烷氧基、芳基、杂芳基、杂芳氧基、烷胺基、芳胺基、氧基（ $O =$ ）、硫代基（ $S =$ ）、硫基、硅烷基、烷硫基、芳硫基、烷磺酰基、芳磺酰基、酰胺基、胺酰基、胺硫酰基、脒基、硫脲基、硫氰酸基、磺酰胺基、胍基、脲基、酰基、硫酰基、胺羰基（ $-C(O)NH_2$ ）、羧基（ $-COOH$ ），以及羧酸酯其烷基、烯基、炔基、烷氧羰基、芳基、杂芳基、环基和杂环基可被进一步取代。环烷基、环烯基、杂环烷基、杂环烯基、芳基和杂芳基亦可被相互融合。取代基在合成过程中亦可为保护基。名词「保护基」于此处指在制程步骤中用于保

护或遮蔽官能性以避免产生非预期反应的基团或分子部位。步骤中避免产生反应之保护基可被移除而展现其原始官能性。保护基的实例包括,但不局限于三乙硅烷基 (TES)、第三丁氧羰基 (tBoc)、羧苄氧基 (CBZ) 和苄甲氧羰基 (Fmoc)。

[0036] 此处所述蕨素化合物包括该化合物本身,以及其可能存在的盐、前药和溶剂合物。蕨素化合物上的阳电荷基(例如胺基)与阴离子间可形成例如盐。适当阴离子包括氯化物、溴化物、碘化物、硫酸盐、硝酸盐、磷酸盐、柠檬酸盐、甲硫酸盐、三氟乙酸盐、醋酸盐、苹果酸盐、甲苯磺酸盐、酒石酸盐、富马酸盐、赖氨酸盐、醛糖酸盐、乳酸盐、戊二酸盐和马来酸盐。同样地,蕨素化合物上的负电荷基(例如,甲酸盐)与阳离子间亦可形成盐。适当阳离子包括钠离子、钾离子、镁离子、钙离子,以及铵阳离子,例如,四甲铵离子。该蕨素化合物亦包括含有四级氮原子的盐。前药的实例包括酯及其他医药上可接受化合物,其在被投与至个体时能产生活化的蕨素化合物。溶剂合物指形成于活性蕨素化合物与医药上可接受溶剂之间的复合物。医药上可接受溶剂的实例包括水、乙醇、异丙醇、醋酸乙酯、醋酸和乙醇胺。

[0037] 在一具体实施例中,X系C(O)或CH₂,以及特别是C(O)。

[0038] 在另一具体实施例中,R₁、R₂、R₃和R₄各独立为H、OR_a、-(G)_x、-O-(G)_x、R_b-O-(G)_x或烷基,其选择性地被卤素、COOR_g、OR_g,R_g为H、烷基、环烷基、杂环烷基或保护基取代。

[0039] 在又另一具体实施例中,R₅、R₆、R₇和R₈各独立为H、OR_c、-(G)_x、-O-(G)_x、R_d-O-(G)_x或烷基,其选择性地被卤素、COOR_g、OR_g,R_g为H、烷基、环烷基、杂环烷基或保护基取代。

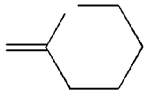
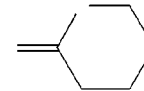
[0040] 特定而言,表1为本发明式I的范例蕨素化合物。

[0041]

表 1

化合物	X	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈
1	C=O	CH ₃	CH ₂ OH	H	H	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₃
2	C=O	H	CH ₃	H	H	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₃
3	C=O	CH ₃	H	H	H	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₃
4	C=O	H	CH ₃	H	OH	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₃
5	C=O	CH ₃	H	H	OH	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₃
6	C=O	CH ₃	H	OH	H	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₃
7	C=O	CH ₃	CH ₃	H	OH	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₃
8	C=O	H	CH ₃	H	H	H	CH ₃	C ₂ H ₄ COOH	CH ₃
9	C=O	H	CH ₃	H	H	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ Cl	CH ₃
10	C=O	H	CH ₂ OH	H	H	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₃
11	C=O	CH ₃	CH ₃	H	H	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ Cl	CH ₃
12	C=O	CH ₃	CH ₃	H	H	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OCH ₃	CH ₃
13	C=O	CH ₃	H	H	OH	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ Cl	CH ₃
14	C=O	CH ₃	CH ₂ OH	H	H	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ Cl	CH ₃
15	C=O	CH ₃	CH ₂ OH	H	OH	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₃
16	C=O	CH ₃	CH ₂ OH	H	OH	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₃
17	C=O	CH ₃	OH	H	H	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₃
18	C=O	CH ₃	H	H	H	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OCH ₃	CH ₃
19	C=O	H	CH ₃	H	H	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OCH ₃	CH ₃
20	C=O	CH ₃	H	H	H	H	CH ₂ OH	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₃
21	C=O	CH ₃	H	H	OH	H	CH ₃	CH(OH)CH ₂ OH	CH ₃
22	C=O	CH ₃	CH ₃	H	H	OH	CH ₃	CH ₂ CH ₂ Cl	CH ₃
23	C=O	CH ₃	H	H	OH	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₂ OH
24	C=O	CH ₃	H	H	OH	H	CH ₂ OH	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₂ OH
25	C=O	CH ₃	H	H	OH	H	CH ₂ OH	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₂ OH
26	C=O	CH ₂ OH	CH ₃	H	H	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OCH ₃	CH ₃
27	C=O	CH ₃	CH ₃	OH	H	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₂ OH
28	C=O	CH ₃	CH ₃	H	OH	H	CH ₂ OH	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₃
29	C=O	CH ₂ OH	CH ₃	H	OH	H	CH ₂ OH	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₃
30	C=O	CH ₃	CH ₃	H	H	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₃
31	C=O	CH ₃	CH ₂ OH	H	H	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ Oglu	CH ₃
32	C=O	CH ₃	CH ₂ OH	H	H	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ Oglu	CH ₃
33	C=O	CH ₃	CH ₂ Oglu	H	H	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₃
34	C=O	H	CH ₃	H	H	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ Oglu	CH ₃

[0042]

35	C=O	CH ₃	H	H	H	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ Oglu	CH ₃
36	C=O	H	CH ₃	OH	H	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ Oglu	CH ₃
37	C-O	CH ₃	H	OH	H	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ Oglu	CH ₃
38	C=O	CH ₃	H	H	OH	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ Oglu	CH ₃
39	C-O	CH ₃	H	H	Oglu	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₃
40	C=O	CH ₃	H	Oglu	H	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ Oglu	CH ₃
41	C=O	CH ₃	CH ₃	OH	H	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH	H
42	C-O	CH ₃	CH ₃	H	Oglu	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₃
43	C=O	CH ₃	CH ₃	H	Oara	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ Cl	CH ₃
44	C=O	CH ₃	CH ₂ OH	H	OH	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ Oglu	CH ₃
45	C=O	CH ₃	CH ₃	H	OH	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ Oglu	CH ₃
46	C=O	CH ₃	CH ₃	H	OH	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₃
47	C=O	CH ₃	CH ₃	H	Oara	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ Oglu	H
48	C=O	CH ₃	CH ₃	H	Oglu	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ Oglu	CH ₃
49	C=O	CH ₃	CH ₃	H	H	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OCH ₃	CH ₃
50	C=O	CH ₃	CH ₃	H	H	H	CH ₂ OH	CH ₂ CH ₂ Oglu	CH ₃
51	C=O	CH ₃	CH ₃	H	H	OH	CH ₃	CH ₂ CH ₂ Oglu	CH ₃
52	C=O	CH ₃	CH ₃	H	H	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ Oglu	CH ₃
53	C=O	CH ₃	CH ₃	H	Oara	H	CH ₃	CHOHCH ₂ OH	CH ₃
54	C=O	CH ₃	CH ₃	H	H	Oglu	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₃
55	C=O	CH ₃	CH ₃	H	OH	H			H
56	C=O	CH ₃	H	CH ₃	Oglu	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₃
57	C=O	CH ₃	H	H	H	OH	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₃
58	C=O	CH ₃	CH ₂ OH	H	H	OH	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₃
59	C=O	CH ₃	CH ₂ OH	H	OH	H			CH ₃
60	C=O	CH ₃	CH ₃	H	OH	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OCH ₃	H
61	C=O	CH ₂ OH	H	H	OH	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH	H
62	C-O	CH ₂ OH	H	H	OH	H	CH ₂ OH	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₃
63	C=O	OH	CH ₃	H	OH	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₃
64	C-O	OH	CH ₃	H	OH	H	CH ₂ OH	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₃
65	C=O	CH ₃	CH ₃	H	OH	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ Cl	CH ₃
66	C=O	CH ₃	CH ₂ OH	H	OH	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₂ OH
67	CH ₂	CH ₃	H	H	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₃	H
68	C=O	CH ₃	H	H	H	H	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₃	H
69	C=O	CH ₃	CH ₃	H	OH	H	CH ₃	CH ₃	CH ₃
70	C=O	CH ₃	OH	H	H	H	CH ₃	CH ₃	CH ₃
71	C=O	CH ₃	CH ₃	H	H	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ Oglu	CH ₃
72	C=O	CH ₃	CH ₃	H	4cou-glu	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₃
73	C=O	CH ₃	CH ₃	3glu	H	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₃
74	C=O	CH ₃	CH ₃	6cou-glu	H	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₃

[0043]

75	C=O	OH	CH ₃	H	OH	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₃
76	C=O	H	H	H	H	H	CH ₃	Br	CH ₃
77	C=O	COOEt	H	H	H	H	CH ₃	Br	CH ₃
78	C=O	COOEt	CH ₃	H	H	H	CH ₃	Br	CH ₃
79	C=O	COOEt	CH ₃	H	H	H	CH ₃	C=C	CH ₃
80	COH	CH ₂ OH	CH ₃	H	H	H	CH ₃	C=C	CH ₃
81	COH	CH ₂ OTES	CH ₃	H	H	H	CH ₃	C=C	CH ₃
82	COH	CH ₂ OTES	CH ₃	H	H	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₃
83	COH	CH ₂ OTES	CH ₃	H	H	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ TIPSO	CH ₃
84	C=O	CH ₂ OTES	CH ₃	H	H	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ TIPSO	CH ₃

[0044] 化合物 76 ~ 84 指分别述于下列实例 1 中的合成化合物 3 ~ 11

[0045] glu :葡萄糖 ;ara :阿拉伯糖

[0046] 4cou-glu :4-O- 对香豆酸基 -D- 葡萄糖

[0047] 3glu :3-O-67-D- 葡萄糖苷

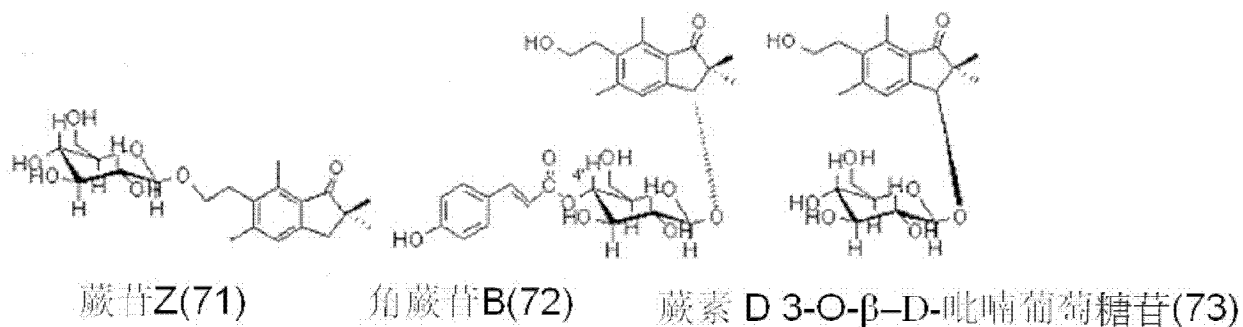
[0048] 6cou-glu :6-O- 对香豆酸基 -D- 葡萄糖

[0049] * 碳原子与式中所示相同

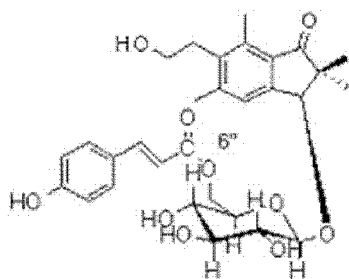
[0050] 更特定而言,本发明式 I 的蕨素化合物为化合物 1、4、5、7、10、12、15、17、28、63 和 71-75。

[0051] 又更特定而言,下列所示为本发明的某些蕨素化合物及其构造 :

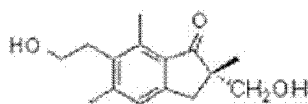
[0052]



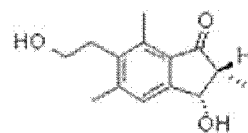
[0053]



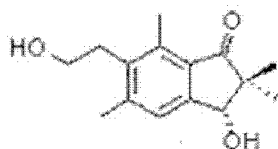
角蕨苷C(74)



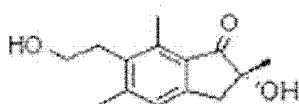
蕨素A(1)



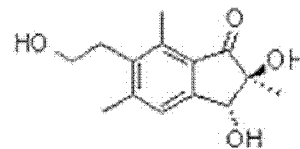
(2R,3S)-蕨苷C(4)



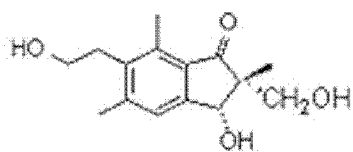
蕨素D(7)



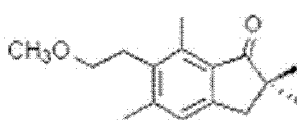
蕨素N(17)



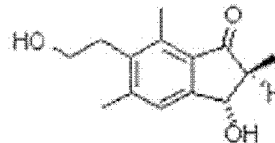
2-羟基蕨素C(75)



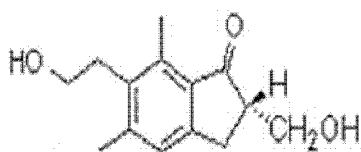
蕨素L(15)



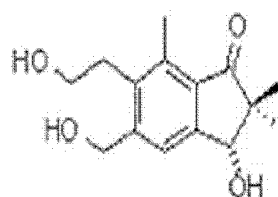
蕨素I(12)



(2S,3S)-蕨素C(5)



蕨素G(10)



蕨素X(28)

[0054] 用于本发明的蕨素化合物可为分离型,即由合成法制备或富集自天然来源,例如,蕨类植物 (Bracken),如碗蕨科 (Dennstaedtiaceae) 和凤尾蕨科 (Pteridaceae)。这些植物的某些实例包括,但不局限于刺柄碗蕨 (*Dennstaedtia scandens*)、栗蕨 (*Histiopteris incisa*)、热带鳞盖蕨 (*Microlepia speluncae*)、蕨菜 (*Pteridium aquilinum* var. *latiusculum*)、畛大蕨 (*Pteridium revolutum*)、姬蕨 (*Hypolepis punctata*)、水蕨 (*Ceratopteris thalictroides*)、金钗凤尾蕨 (*Pteris fauriei*)、半边羽裂凤尾蕨 (*Pteris dimidiata*) 和箭叶凤尾蕨 (*Pteris ensiformis*)。这些植物可被发现于台北县乌来乡和台北

市大屯山。例如,此处所述的一些蕨素化合物(例如化合物 1、7、28 和 71)为天然产物,可分离自天然来源。经分离的蕨素化合物系指含有至少 40%化合物的制备物(以干重计)。经分离化合物的纯度可予以测定,例如,藉由管柱层析法、质谱法、高效液态层析法(HPLC)、核磁共振法(NMR),或任何其他适当的方法。

[0055] 用于分离这些化合物的方法已为技术中所习知。参见例如 Takahashi 等人, *Phytother. Res.* 2004, 18 :573 ; Sheridan 等人, *Planta Med.* 1999, 65 :271 ; Nagao 等人, *Mutation Res.* 1989, 215 :173 ; Murakami 等人, *Chem. Pharm. Bull.*, 1976, 24 :2241 ; 以及 Kuraishi 等人, *Chem. Pharm. Bull.*, 1985, 33 :2305。亦可藉由化学合成制造这些化合物。非天然蕨素化合物可由天然物质转换(参见例如 Banerji 等人, *Tetrah. Letters*, 1974, 15 :1369 ; Hayashi 等人, *Tetrah. Letters*, 1991, 33 :2509 ; 以及 McMorris 等人, *J. Org. Chem.* 1992, 57 :6876) 或藉由技术中习知方法合成自原始物质。

[0056] 有助于合成该所欲蕨素化合物的合成化学转化及保护基方法学(保护和去保护)已为技术中所习知,例如描述于 R. Larock, *Compreh. Org. Transf.*, VCH 出版社(1989) ; T. W. Greene 和 P. G. M. Wuts, *Prot. Gr. in Org. Syn.*, 第三版, John Wiley and Sons(1999) ; L. Fieser 和 M. Fieser, *Fieser and Fieser ' s Reag. for Org. Syn.*, John Wiley and Sons(1994) ; 以及 L. Paquette 编辑, *Encyclo. of Reag. for Org. Syn.*, John Wiley and Sons(1995) 及其后版。

[0057] 所合成的蕨素化合物可由适当溶剂从反应混合物中予以分离,并选择性地藉由快速管柱层析法、高效液态层析法、结晶法或任何其他适当方法予以进一步纯化。

[0058] 此处所述的蕨素化合物可含有非芳香族双键及一或多个不对称中心。因此,可为消旋物和消旋混合物、单镜像异构物、个别非镜像异构物、非镜像异构混合物,以及顺式-或反式异构型。本发明涉及全部此类的异构型。

[0059] 本发明之蕨素化合物亦可存在于制备自蕨类植物如碗蕨科和凤尾蕨科的蕨类产品内。这些植物的某些实例包括,但不局限于刺柄碗蕨(*Dennstaedtia scandens*)、栗蕨(*Histiopteris incisa*)、热带鳞盖蕨(*Microlepia speluncae*)、蕨菜(*Pteridium aquilinum* var. *latiusculum*)、峦大蕨(*Pteridium revolutum*)、姬蕨(*Hypolepis punctata*)、水蕨(*Ceratopteris thalictroides*)、金钗凤尾蕨(*Pteris fauriei*)、半边羽裂凤尾蕨(*Pteris dimidata*)和箭叶凤尾蕨(*Pteris ensiformi*)。此处所述蕨类产品指任何产自至少一种上述品种本身、其部分如叶、花、根、籽、梗和果实的植物,或其任何改良型例如汁液、粉末、颗粒、萃取物、切片、浓缩物和沉淀物。特定而言,该蕨类产品系来自新鲜的全颗植物。

[0060] 可藉由技术领域习知的任何标准方法或技术制备此处所述蕨类植物的蕨类产品。下列为根据本发明蕨类萃取物之制剂的实例。

[0061] 蕨类萃取物的制备

[0062] 可利用 Diaion HP 20(100-200 网孔,三菱化学工业公司)、MCI-凝胶 CHP 20P(75-150 微米,三菱化学工业公司)、Cosmosil C18-OPN(75 微米, Nacalai Tesque 公司)、硅胶板(60F-250, Merck 公司)上 TLC(薄膜层析法),以及用作为遇热显色剂的 10% 硫酸溶液进行管柱层析法。以甲醇(x3, 每次两天)在室温下萃取新鲜全颗植物。在 45℃ 真空内蒸发溶剂之后可获得残留物。此残留物被溶解于蒸馏水内然后以正己烷和醋酸乙酯成

功地萃取出正己烷可溶部分、醋酸乙酯可溶部分以及水可溶部分。以水-甲醇、乙醇-葡聚糖凝胶法 (Sephadex LH-20)、高多孔性聚苯乙烯凝胶法 (Diaion HP-20, MCI CHP-20P) 凝胶管柱层析法 (CC) 进行该有机可溶部分的洗提或以正己烷、苯、二氯甲烷和甲醇溶剂系统的硅胶 CC 进行纯化。藉由核磁共振 (NMR) 和质谱 (MS) 光谱分析以及实体数据确认经纯化化合物的构造。

[0063] 根据本发明,式 I 之蕨素化合物可有效治疗包括第 I 型和第 II 型的糖尿病。

[0064] 此处「第 I 型糖尿病」、「幼儿型糖尿病」或「胰岛素依赖型糖尿病」等名词指胰脏制造极少或无胰岛素为特征的疾病。罹患第 I 型糖尿病的病人需依赖胰岛素维生;亦即在没有胰岛素之下该病人将造成严重的代谢性并发症,例如酮酸血症和昏迷。

[0065] 此处「第 II 型糖尿病」、「成人型糖尿病」或「非胰岛素依赖型糖尿病」等名词指不论是否有可利用胰岛素仍产生过量葡萄糖以及由于不良的葡萄糖廓清而造成循环葡萄糖含量过高为特征的疾病。

[0066] 「个体」特别指需此处所述治疗的哺乳动物,例如,人类,但亦可为宠物(如犬、猫等)、农畜动物(如牛、羊、猪、马等)或实验动物(如大鼠、小白鼠、天竺鼠等)。在一具体实施例中,该个体呈现肥胖。

[0067] 名词「治疗」包括预防该特定疾病或病症,或减轻伴随特定疾病或病症的症状及/或预防或消除该症状。例如,此处「治疗糖尿病」一词通常指降低葡萄糖浓度、改善胰岛素敏感度,或增加葡萄糖的消耗。

[0068] 此处「有效量」一词指对个体可产生治疗效应之单独或结合一或多种其他活性剂的所需各活性剂数量。如熟习本领域技术者所知有效量视投药途径、所使用赋形剂及其他共享活性剂而不同。在本发明的具体实施例中,该蕨素化合物的口服剂量为从 10 至 250mg/kg,较佳为 25 至 200mg/kg,更佳为 50 至 150mg/kg,以及最佳为约 100mg/kg。在本发明的另一具体实施例中,该蕨素化合物经由皮下注射、腹腔注射、肌肉注射或静脉注射的投药剂量为从 5 至 150mg/kg,较佳为 10 至 100mg/kg,更佳为 20 至 80mg/kg,以及最佳为约 30mg/kg。

[0069] 为进行上述的治疗,可将一或多种此处所述的蕨素化合物混合医药上可接受载剂以形成医药组合物。「可接受」意指该载剂必需与组合物之活性成分兼容(较佳为能稳定化该活性成分)且对被治疗个体无害。可利用助溶剂如环糊精(其可与一或多种萃取的活性化合物形成特殊、更易溶复合物)作为用于传递活性化合物的医药上赋形剂。其他载剂的实例包括二氧化硅胶体、硬脂酸镁、纤维素、月桂基硫酸钠,及 D&C 黄色 10 号。

[0070] 该医药组合物可经由口服、肠道外、吸入性喷雾法或植入式胶囊被投药。此处「肠道外」一词包括皮下、皮内、静脉内、肌肉内、关节内、动脉内、滑膜内、胸骨内、椎管内、病灶内以及颅内注射或输注技术。

[0071] 根据本领域已知技术利用适当分散或湿润剂(例如 Tween 80)和悬浮剂配制灭菌可注射组合物(例如,水性或油性悬浮液)。灭菌可注射制剂亦可为于无毒性肠道外可接受稀释剂或溶剂内的灭菌可注射溶液或悬浮液,例如于 1,3-丁二醇内的溶液。在可接受载剂和溶剂之中可被运用者为甘露糖醇、水、林格氏液和等张氯化钠溶液。此外,传统上使用灭菌、固定油作为溶剂或悬浮介质(例如合成单-或双甘油酯)。如同天然医药上可接受油例如特别指聚氧乙基化型的橄榄油或蓖麻油,如油酸的脂肪酸及其甘油酯衍生物可被用于制备注射剂。这些油溶液或悬浮液亦可含长链醇稀释剂或分散剂,或羧甲基纤维素或类似分

散剂。

[0072] 口服组合物可为任何口服可接受剂型包括,但不局限于锭剂、胶囊、乳剂和水性悬浮剂、分散剂和溶剂。用于锭剂的常用载剂包括乳糖和玉米淀粉。锭剂内一般亦添加润滑剂如硬脂酸镁。用于口服胶囊内的有用稀释剂包括乳糖和干燥玉米淀粉。当口服投与水性悬浮剂或乳剂时,该活性成分可被悬浮或溶解于结合乳化剂或悬浮剂的油相内。需要时,可加入某些甜味剂、香料或着色剂。

[0073] 可根据医药配制物的习知技术制备吸入性组合物以及可利用苧醇或其他适当防腐剂、促进生物利用率的助吸收剂、氟化碳及 / 或技术中习知的其他助溶剂或分散剂被制成食盐水溶液。

[0074] 本发明亦有关于所述式 I 之蕨素化合物具有抗肥胖活性的非可预期的发现。

[0075] 因此,本发明进一步提供一种用于治疗肥胖的方法,其包括将有效量的根据本发明式 I 之蕨素化合物投与至需其的个体。

[0076] 特定而言,本发明的方法可降低个体的血清脂(例如,三酸甘油酯)或胆固醇浓度。

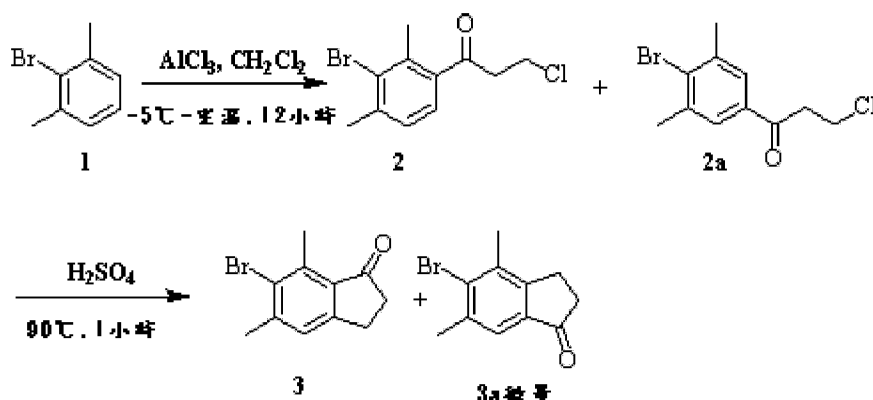
[0077] 可利用适当的体外试验初步判定蕨素化合物于治疗糖尿病和肥胖的药效。可进一步于体内检测该化合物于治疗糖尿病和肥胖的药效。例如,可将该化合物投与至患有糖尿病或肥胖的动物(例如,藉由化学、基因突变或高脂食物诱发糖尿病或肥胖的动物模式)以获得其治疗效应。根据结果,可测定出适当的剂量范围及投药途径。

[0078] 在不需进一步阐述之下已认为上述描述已足够说明本发明。因此,下列特定实例仅作为说明之用途,并且在任何情况下对其余的揭示无特殊的限制。藉由引述将全部的刊物包括此处所引证的专利案完整并入于此。

[0079] 实例 1: 化合物 1 的合成

[0080] 1.1 6-溴-5,7-二甲基-1-茚酮 (3)

[0081]



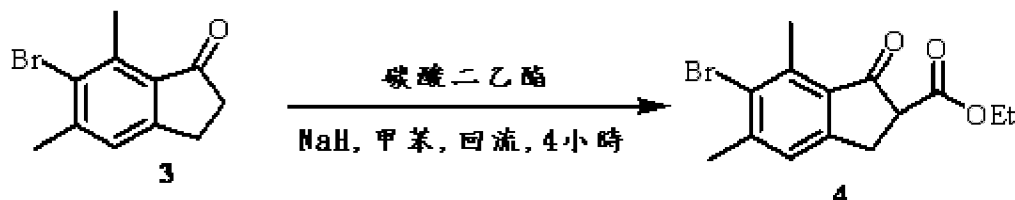
[0082] 在 CH_2Cl_2 (80 毫升) 中的 AlCl_3 (20.2 克, 151.3 毫摩尔) 和 3-丙酰氯 (16.5 克, 129.7 毫摩尔) 之搅拌溶液中, 于 0°C 以滴液漏斗逐滴加入 40 毫升 CH_2Cl_2 之溴二甲苯 (20.0 克, 108.1 毫摩尔)。将反应混合物加热至室温然后再搅拌 12 小时。以冰 (200 克) 及 50 毫升盐酸 (纯) 冷却该反应混合物然后再搅拌 15 分钟。以醋酸乙酯 (300 毫升 x2 毫升) 萃取粗反应混合物, 以水 (400 毫升)、食盐水 (500 毫升) 清洗, 干燥 (Na_2SO_4) 及在真空内浓缩。

[0083] 将纯 H_2SO_4 (165 毫升) 加入该粗化合物然后在 90°C 搅拌 1 小时。反应混合物恢复

至室温之后,以水(400 克)冷却。粗反应混合物以醋酸乙酯(400 毫升 x2 毫升)萃取,以水(500 毫升)、食盐水(500 毫升)清洗,干燥(NaSO_4)及在真空内浓缩。藉由硅胶管柱层析法(己烷/醋酸乙酯,12 : 1 体积/体积)纯化该粗产物而获得固体的纯化合物 3(10.1 克,39.1%)。

[0084] 1.2 6-溴-5,7-二甲基-1-氧茚-2-羧酸乙酯(4)

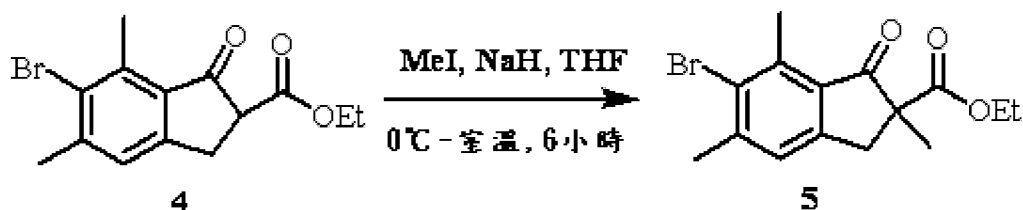
[0085]



[0086] 将加入碳酸二乙酯(30.5 毫升,251.04 毫摩尔)之甲苯(100 毫升)内的 60%氢化钠分散液(3.01 克,125.5 毫摩尔)加入所产生的溶液中,并予以机械性地搅拌及回流。将甲苯(50 毫升)中的 1-茚满酮(10.0 克,41.8 毫摩尔)于 3 小时期间缓慢加入回流溶液。以苯(20 毫升)清洗滴液漏斗及将反应混合物再回流 0.5 小时。将该反应混合物缓慢加入饱和含水 NH_4Cl 内。以醋酸乙酯将含水层萃取三次并以水清洗该混合醋酸乙酯萃取物,干燥(Na_2SO_4),然后在真空中移除溶剂。藉由硅胶管柱层析法(己烷/醋酸乙酯,15 : 1 体积/体积)纯化该粗产物而获得固体的纯化合物 4(11.5 克,88.4%)。

[0087] 1.3 6-溴-2,5,7-三甲基-1-氧茚-2-羧酸乙酯(5)

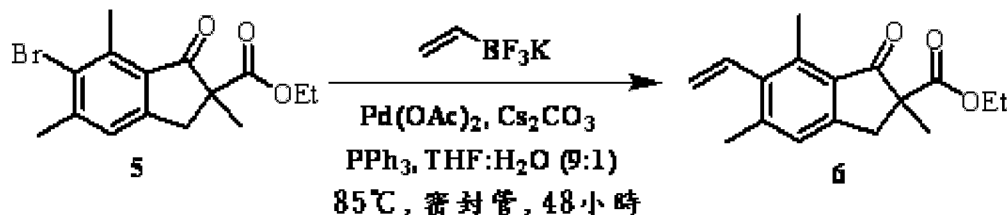
[0088]



[0089] 将滴液漏斗内固体氢化钠(0.85 克,35.4 毫摩尔)的 60%分散液于 0°C 下分成数部分加入干燥 THF(50 毫升)内的化合物 4(5.0 克,16.1 毫摩尔)搅拌溶液。将反应混合物加热至室温然后再搅拌 1 小时。在氩气下于 0°C 逐滴加入 MeI(2.0 毫升,32.15 毫摩尔)。将反应混合物加热至室温然后搅拌 5 小时。于 0°C 下以饱和含水 NH_4Cl 溶液冷却该反应混合物然后搅拌 15 分钟。以醋酸乙酯(100 毫升 x2 毫升)萃取该粗反应混合物,及以水(100 毫升)、食盐水(100 毫升)清洗,干燥(Na_2SO_4)然后在真空内浓缩。藉由硅胶管柱层析法(己烷/醋酸乙酯,15 : 1 体积/体积)进行纯化而获得纯化合物 5(4.5 克,86.5%)。

[0090] 1.4 2,5,7-三甲基-1-氧-6-乙烯基茚-2-羧酸乙酯(6)

[0091]

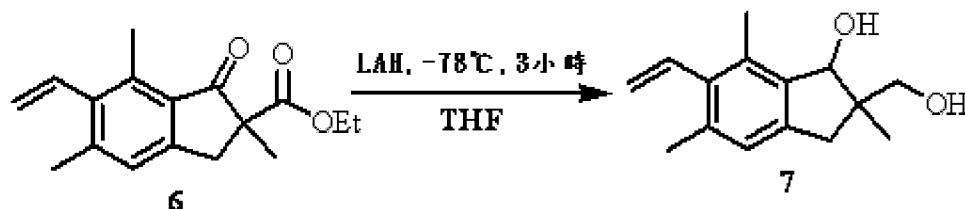


[0092] 在密封管内于 85°C 的氩气下加热 THF/ H_2O (9 : 1)(3 毫升)内的乙烯基三氟硼酸钾(0.186 克,1.38 毫摩尔)、 PdCl_2 (0.033 克,0.18 毫摩尔)、 PPh_3 (0.073 克,0.27 毫摩尔)、

Cs_2CO_3 (1.2 克, 3.69 毫摩尔) 及化合物 5 (0.3 克, 0.92 毫摩尔)。在 85°C 将该反应混合物搅拌 48 小时, 然后冷却至室温及以 H_2O (6 毫升) 稀释接着以醋酸乙酯 (30 毫升) 萃取, 干燥 (Na_2SO_4) 然后在真空内浓缩。藉由硅胶管柱层析法 (SiO_2 , 石油醚洗提液内 2 至 4% EtOAc) 进行纯化而获得纯化化合物 6 (0.23 克, 92%)。

[0093] 1.5 2-羟甲基-2,5,7-三甲基-6-乙烯基茚-1-醇 (7)

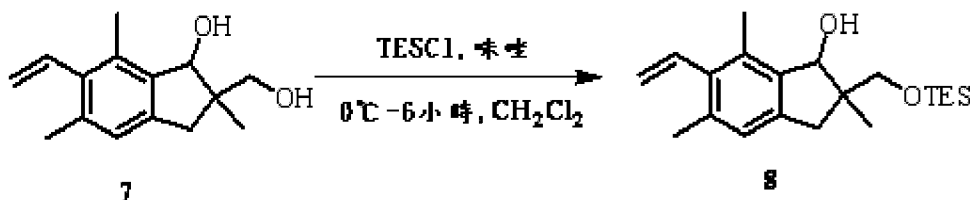
[0094]



[0095] 于 -78°C 的氩气下将 LAH (0.212 克, 5.73 毫摩尔) 加入干燥 THF (10 毫升) 内化合物 6 (1.3 克, 4.77 毫摩尔) 的搅拌溶液及将该反应混合物搅拌 3 小时然后将反应混合物加热至 0°C 及在 0°C 以醋酸乙酯 (30 毫升) 冷却。当该反应混合物恢复至室温之后, 以 2 克分子酒石酸钾钠溶液萃取, 以食盐水 (20 毫升) 清洗, 干燥 (Na_2SO_4) 然后在真空内浓缩。藉由硅胶管柱层析法 (SiO_2 , 石油醚洗提液内 15 至 20% EtOAc) 进行纯化而获得胶黏浆液状的纯化化合物 7 (0.88 克, 80%)。

[0096] 1.6 2,5,7-三甲基-2-三乙基硅烷氧甲基-6-乙烯基茚-1-醇 (8)

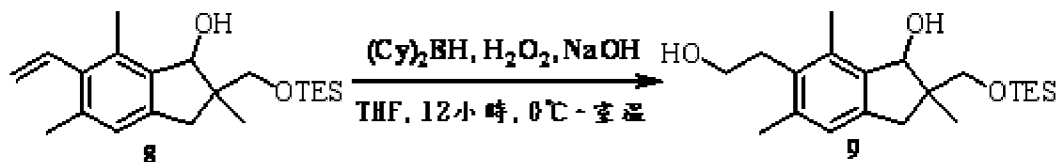
[0097]



[0098] 于 0°C 的氩气下依续地将咪唑 (0.5 克, 7.32 毫摩尔) 和 TIPSCI (0.6 毫升, 3.66 毫摩尔) 加入干燥 CH_2Cl_2 内起始材料 7 (0.85 克, 3.66 毫摩尔) 的搅拌溶液然后在相同温度下将反应混合物搅拌 6 小时。以 H_2O (10 毫升) 稀释该反应混合物接着以 CH_2Cl_2 (50 毫升)、食盐水 (25 毫升) 萃取, 干燥 (Na_2SO_4) 然后在真空内浓缩。藉由管柱层析法 (SiO_2 , 石油醚洗提液内 5 至 10% EtOAc) 进行纯化而获得浆液状的纯化化合物 8 (0.85 克, 88%)。

[0099] 1.7 6-(2-羟乙基)-2,5,7-三甲基-2-三乙基硅烷氧甲基-茚-1-醇 (9)

[0100]



[0101] 于 0°C 的氩气下缓慢地将 $(\text{Cy})_2\text{BH}$ (0.87 克, 4.91 毫摩尔) 加入干燥 THF 内化合物 8 (0.85 克, 2.45 毫摩尔) 的搅拌溶液。将反应混合物加热至室温然后搅拌 12 小时。于 0°C 下以 2 当量 NaOH (6 毫升) 和 H_2O_2 (3 毫升) 冷却该反应混合物然后搅拌 4 小时。以醋酸乙酯 (40 毫升) 萃取粗反应混合物, 以水 (10 毫升)、食盐水 (10 毫升) 清洗, 干燥 (Na_2SO_4) 然后在真空内浓缩。藉由管柱层析法 (SiO_2 , 石油醚洗提液内 8 至 10% EtOAc) 进行纯化而获得胶黏浆液状的纯化化合物 9 (0.72 克, 81%)。

成 2-1 ~ 2-2 区份。藉由 Sephadex LH-20CC (H₂O → MeOH) 纯化 2-1 区份, 而获得 2-1-1 ~ 2-1-3 区份。藉由 MCI 凝胶 CHP-20P CC (H₂O → MeOH) 纯化 2-1-2 部分获得蕨素 A (128 毫克)。将区份 3 置入硅胶 CC, 以 CH₂Cl₂ 和 MeOH 逐渐洗提, 而获得 3-1 ~ 3-5 区份。将 3-2 区份置入硅胶 CC, 以 CH₂Cl₂-MeOH (9 : 1) 展开, 而获得蕨素 Z (790 毫克)。将区份 3 ~ 4 置入硅胶 CC, 以 EtOAc-正己烷 (4 : 1) 洗提, 而获得蕨素 I (24 毫克)。将区分 4 置入 Sephadex LH-20 凝胶 CC, 以 MeOH 洗提, 而产生两区分。藉由 MIC CHP-20P 凝胶 CC (H₂O → MeOH) 与以 EtOAc-正己烷 (7 : 3) 展开的硅胶 CC 纯化区分 4-1, 而获得蕨素 D (20 毫克)。

[0114] 2.2 密大蕨 (*Pteridium revolutum* (Bl.) Nakai)

[0115] 密大蕨系收集自台北市大屯山。在室温下以 MeOH (20 升 x3) 萃取新鲜全颗密大蕨 (20 公斤), 而产生 MeOH 萃取物, 将有机溶剂蒸发后, 对该萃取物进行 Celite 层析, 接着以正己烷、CH₂Cl₂ 和 MeOH 洗提, 而获得三个区分。将 CH₂Cl₂ 可溶部分置入 MCI CHP-20P 凝胶 CC, 以 H₂O 和 MeOH (1 : 1 → 0 : 1) 洗提, 而获得三个区分。以硅胶 CC 纯化区分 1, 以 CH₂Cl₂ 和 MeOH (14 : 1) 洗提, 而获得 1-1 ~ 1-3 部分。将区分 1-1 置入硅胶 CC (正己烷-EtOAc = 1 : 2) 和 ODS 凝胶 CC (CH₃CN-H₂O = 20 : 80 → 30 : 70), 而获得 (2S)-蕨素 A (238 毫克)、(3R)-蕨素 D (38 毫克)、(2R)-蕨素 N (21 毫克)、(2R, 3R)-蕨素 L (179 毫克) 和 (2R)-蕨素 G (73 毫克)。以硅胶 CC 纯化区分 1-2, 以正己烷-EtOAc (1 : 2) 洗提, 并以 ODS 凝胶 CC 纯化, 以 CH₃CN 洗提, 而产生 (3R)-蕨素 X (2.2 毫克) 和 (2)-羟基蕨素 C (4.3 毫克)。将区分 2 置入硅胶 CC (正己烷-EtOAc = 1 : 2) 和 HPLC-硅层析 (10 微米, 正己烷-EtOAc = 2 : 1 → 1 : 2), 而获得 (2S, 3S)-蕨素 C (162 毫克) 和 (2R, 3S)-蕨素 C (13 毫克)。

[0116] 2.3 其他品种

[0117] 上述萃取其他品种蕨菜包括刺柄碗蕨 (*Dennstaedtia scandens*)、栗蕨 (*Histiopteris incisa*)、热带鳞盖蕨 (*Microlepia speluncae*)、鹰蕨 (*Pteridium aquilinum* var. *latiusculum*)、水蕨 (*Ceratopteris thalictroides*)、金钗凤尾蕨 (*Pteris fauriei*)、半边羽裂凤尾蕨 (*Pteris dimidiata*) 和叉羽凤尾蕨 (*Pteris ensiformis*) 的全颗植物并且确认其至少含有蕨素 A、蕨素 I 和蕨素 Z (数据未显示)。

[0118] 实例 3 : 第 I 型糖尿病小鼠的葡萄糖耐受性试验

[0119] 将化合物 1 (50mg/kg) 以口服投与经链脲菌素 (STZ) 诱发的糖尿病小鼠。STZ-诱发糖尿病小鼠为习知的第 I 型糖尿病 (胰岛素依赖) 小鼠模式。参见, 例如, Liu IM 等人, *Neuroscience Letters* 2001 ; 307 : 81 ~ 84。

[0120] 两小时之后, 进行正常小鼠、STZ-诱发糖尿病小鼠和经化合物 1 治疗 STZ-小鼠的葡萄糖耐受性试验。简言之, 全部小鼠接受 1 克 / 公斤葡萄糖口服投与, 在第 30、60、90、120 和 150 分钟之后测定这些小鼠的血中葡萄糖浓度。正常小鼠和 STZ-糖尿病小鼠在摄取葡萄糖 30 分钟之后, 血中葡萄糖浓度上升。非可预期地, 于经化合物 1 治疗 STZ-小鼠中, 在摄取葡萄糖 30 分钟之后, 血中葡萄糖浓度仅些微上升, 且在摄取葡萄糖 60 分钟之后则完全被抑制。

[0121] 另外, 将化合物 1 口服投与 STZ-诱发糖尿病小鼠 (100mg/kg) 14 天。然后将 2 克 / 公斤剂量葡萄糖口服投与小鼠。于投与葡萄糖的第 15、45、75 和 105 分钟后, 检查血中葡萄糖浓度。图 1 显示其结果。

[0122] 获得的结果证明投与葡萄糖 15 分钟之后, 健康对照小鼠、STZ-诱发糖尿病小鼠和

经化合物 1 治疗 STZ- 诱发糖尿病小鼠的血中葡萄糖浓度均上升。在检查期间, STZ- 诱发糖尿病小鼠仍维持高血中葡萄糖浓度, 反之经化合物 1 治疗 STZ- 诱发糖尿病小鼠在投与葡萄糖 45 分钟之后, 则明显地降低。这些经治疗小鼠的血中葡萄糖浓度接近健康对照小鼠的浓度。因此, 所述的结果证明化合物 1 可明显地降低 STZ- 诱发糖尿病小鼠的血中葡萄糖浓度。列举于表 1 的本发明其他蕨素化合物包括化合物 7、72、73、74, 于此检测中亦被证明具有相同的效果。

[0123] 更特别地, 投与化合物的小鼠, 在血液检查和病理评估中未发现有任何例如异常结果的不良效应(数据未显示)。

[0124] 实例 4: 胰岛素敏感性试验

[0125] 根据 Exp. And Mol. Med. 第 39 卷第 2 号第 222 ~ 229 页 2007 中所述的方法利用分化 C2C12 肌细胞(美国标准菌种中心; ATCC) 进行胰岛素敏感性试验。简言之, 存在 100nM 胰岛素之下, 以不同化合物 1 浓度与细胞共同培养, 然后测定葡萄糖的摄取量。使用 AMPK 活化剂 AICAR(5- 氨基 -4- 甲酰胺咪唑核苷 5' - 磷酸盐, 1 微克分子) 作为阳性对照。图 2 显示其结果。

[0126] 因此, 此处所述结果证明化合物 1 可明显地增强 C2C12 肌细胞的胰岛素敏感性。列举于表 1 的本发明其他蕨素化合物包括化合物 7、72、73、74, 于此检测中亦被证明具有相同的效果。

[0127] 实例 5: 葡萄糖消耗 / 摄取试验

[0128] 根据 Exp. And Mol. Med. 第 39 卷第 2 号第 222 ~ 229 页 2007 中所述的方法利用分化 C2C12 肌细胞(美国标准菌种中心; ATCC) 进行葡萄糖消耗 / 摄取试验。简言之, 以 0.5 μ Ci [14 C] 2-DG 将 C2C12 细胞预处理 20 分钟, 然后与化合物培养 1 小时, 俾藉由放射性测定葡萄糖的摄取量。以三项试验的平均 $\pm$ 标准偏差表示全部的值。图 3 显示其结果。

[0129] 因此, 此处所述结果证明化合物 1 可明显地增强 C2C12 肌细胞的葡萄糖消耗 / 摄取量。因此, 此处所述结果显示化合物 1 可明显地增强 C2C12 肌细胞的胰岛素敏感性。列举于表 1 的本发明其他蕨素化合物包括化合物 5、7、17、63、72、73、74, 于此检测中亦被证明具有相同的效果。

[0130] 实例 6: 第四型葡萄糖运输蛋白 (Glut4) 表现分析试验

[0131] Glut4 在胰岛素诱发葡萄糖摄取以维持正常血糖浓度上, 扮演重要角色。在此试验中, 将化合物 1 (100mg/kg) 口服投与 STZ- 诱发糖尿病小鼠 14 天, 然后根据 Biochem. J. 1996, 313 (Pt 1): 133 ~ 140 中所述方法, 分析正常小鼠、STZ- 诱发糖尿病小鼠及经化合物 1 治疗 STZ- 小鼠之 Glut4 于比目鱼肌的表现情形。简言之, 试验结束时, 在二乙醚麻醉之下以驱血法杀死该动物。从各动物切下比目鱼肌并称重。以细胞裂解液均质化该比目鱼肌及离心, 然后藉由西方墨点分析法测定 Glut4 蛋白的表现。图 4 显示其结果。

[0132] 因此, 此处所述结果证明化合物 1 可于 STZ- 诱发糖尿病小鼠内显着地使 Glut4 (葡萄糖转运蛋白 4, 胰岛素调节葡萄糖转运体) 进入比目鱼肌细胞膜的再分配情形予以复原。列举于表 1 的本发明其他蕨素化合物包括化合物 5、7、72、73、74 亦被证明具有相同的效果。结果认为本发明的蕨素化合物可藉由活化 Glut4 以降低糖尿病小鼠的血糖。

[0133] 实例 7: 磷酸烯醇丙酮酸羧激酶 (PEPCK) 试验

[0134] 已知 PEPCK 系一种控制肝脏内糖质新生的关键酶。在此试验中, 将化合物

1 (100mg/kg) 口服投与至 STZ- 诱发糖尿病小鼠 14 天, 然后根据 Bull. of Exp. Bio. And Med. 1979, 87 :568 ~ 571 中所述方法分析正常小鼠、STZ- 诱发糖尿病小鼠及经化合物 1 治疗 STZ- 小鼠之 PEPCK mRNA 于肝内的表现情形。简言之, 试验结束时, 在二乙醚麻醉之下以驱血法杀死该动物。从各动物切下肝脏并称重。制备均质化的肝脏, 藉由 RT-PCR 分析法测定 PEPCK mRNA 的表达。图 5 显示其结果。

[0135] 据此, 此处所述结果证明化合物 1 可于 STZ- 诱发糖尿病小鼠内明显抑制肝脏 PEPCK mRNA 的过度表现。列举于表 1 的本发明其他蕨素化合物包括化合物 7 和 73 亦被证明具有相同的效果。

[0136] 实例 8 : 第 II 型糖尿病小鼠的葡萄糖耐受性试验

[0137] 糖尿病 (胰岛素抗性 C57BL/6J-Lepr^{db}/Lepr^{db}; 此处称为 db/db) 小鼠为第 II 型糖尿病的习知小鼠模式 (参见例如 Metcabolism 2000, 49 :22 ~ 31)。此试验中, 将化合物 1 (100mg/kg/ 天) 口服投与至 db/db 小鼠 (Jackson 实验室) 达 28 天, 或经由腹腔内 (i. p.) 注射投与化合物 1 达 21 或 28 天 (30mg/kg/ 天)。两小时之后, 如实例 1 所述, 进行正常小鼠、db/db 小鼠及经化合物 1 治疗 db/db 小鼠的葡萄糖耐受性试验。图 6 至 8 显示其结果。

[0138] 获得的结果证明化合物 1 明显可改善 db/db 小鼠的葡萄糖耐受性。

[0139] 实例 9 : 第 II 型糖尿病小鼠的糖化血红蛋白 (HbA1c) 试验

[0140] 在血流中, 葡萄糖附着至血红蛋白而形成被称为血红蛋白 A1c 或 HbA1c 的「糖基化血红蛋白」分子。血中的葡萄糖越多, 则血中存在越多的血红蛋白 A1c 或 HbA1c。HbA1c 试验为在可控糖尿病之下目前最常用的一种检查法。参见例如 Diabetes Care 2001, 24 :465 ~ 471。

[0141] 此试验中, 将化合物 1 (100mg/kg/ 天) 口服投与至 db/db 小鼠 (Jackson 实验室) 达 28 天。接着, 根据 Life Sci. 2005, 77 :1391 ~ 403 中所述的方法进行正常小鼠、db/db 小鼠及经化合物 1 治疗 db/db 小鼠的 HbA1c 试验。简言之, 试验结束时, 在二乙醚麻醉之下以驱血法杀死该动物。藉由离心从血液分离出血浆。藉由标准方法测量血液中的 HbA1c。图 9 显示其结果。

[0142] 获得的结果证明化合物 1 可明显地降低 db/db 小鼠的 HbA1c 浓度。

[0143] 实例 10 : 第 II 型糖尿病小鼠的 HOMA-IR (稳态模型评估法 - 胰岛素抗性) 试验

[0144] 根据作为体内胰岛素敏感性替代指标的空腹血糖和空腹血浆胰岛素浓度, 藉由实验数学公式表示 HOMA-IR ; 胰岛素抗性 HOMA 值 : (HOMA-IR) = 空腹胰岛素 (微单位 / 毫升) x 空腹血糖 (毫摩尔 / 升) / 22.5。参见例如 Biol. Pharm. Bull. 2007, 30 :2196 ~ 2200。

[0145] 此试验中, 将化合物 1 (100mg/kg/ 天) 口服投与至 db/db 小鼠 (Jackson 实验室) 达 28 天。接着, 根据 Biol. Pharm. Bull. 2007, 30 :2196 ~ 2200 中所述的方法进行正常小鼠、db/db 小鼠及经化合物 1 治疗 db/db 小鼠的 HOMA-IR 试验。简言之, 利用小鼠胰岛素酶免疫 ELISA 套组测定血浆胰岛素浓度。藉由稳态模型评估法 (HOMA) 测量胰岛素抗性。图 10 显示其结果。

[0146] 获得的结果证明化合物 1 可明显地降低 db/db 小鼠的 HOMA-IR 浓度。列举于表 1 的本发明其他蕨素化合物包括化合物 7 和 73 于此检测中亦被证明具有相同的效果。

[0147] 实例 11 : AMPK 磷酸化试验

[0148] AMP- 活化蛋白激酶 (AMPK) 为能量代谢的一种重要指标, 其可藉由低 AMP/ATP 比、运动、缺氧和营养缺乏而被活化。Thr¹⁷² 的磷酸化可导致 AMPK 的活化, 其因而活化下游效应

子包括乙酰基 CoA 羧化酶、HMGCoA 还原酶、Glut4、葡萄糖-6-磷酸酶和 PEPCK 以及分别调节脂肪酸 β -氧化、胆固醇合成、葡萄糖运输和糖合成。因此,AMPK 可被视为是一种用于代谢症候群和第 II 型糖尿病的分子标志。

[0149] 在此试验中,根据 Exp. And Mol. Med. 第 39 卷第 2 号第 222 ~ 229 页 2007 中所述的方法利用分化 C2C12 肌细胞(美国标准菌种中心 ;ATCC) 进行 AMPK 磷酸化试验。简言之,如实例 1,将细胞与不同化合物 1 浓度(0、1、3、10 和 30 微克分子)在 37°C 下共同培养 1 小时,然后裂解细胞。以磷-AMPK 特异抗体免疫检测该细胞溶解物。各条带的等同负载量证明其具有类似的 AMPK 强度。使用 AMPK 活化剂 AICAR(5-氨基-4-甲酰胺咪唑核苷 5'-磷酸盐,1 微克分子)作为阳性对照。图 11A 显示其结果。

[0150] 因此,此处所述结果证明 C2C12 肌细胞与化合物 1 的培养可增加 AMPK α -亚单位以剂量依赖方式在 Thr¹⁷² 的磷酸化。列举于表 1 的本发明其他蕨素化合物包括化合物 1、4、7、52、72、73 和 74 于此检测中亦被证明具有相同的效果。

[0151] 藉由化合物 1 活化 AMPK 伴随着增加其下游受质、乙酰基 CoA 羧酸酶在 Ser⁷⁹ 的磷酸化(参见图 11B)。乙酰基 CoA 羧酸酶的磷酸化和不活化将导致脂肪酸 β -氧化作用的增加。

[0152] 总之,这些初步结果认为本发明化合物可活化 AMPK 而调节碳水化合物(参见实例 4 所述的葡萄糖消耗/摄取试验)和脂肪酸代谢(参见下列的实例 12)的胰岛素,以及可被视为是一种强效的抗糖尿病和抗肥胖剂。

[0153] 实例 12:血脂/胆固醇试验

[0154] 根据先前述于 Diabetes 53(补充 3):S215 ~ S219,2004 中的方法准备作为第 II 型糖尿病模式的高脂饮食饲料(HFD)小鼠。此试验中,小鼠以高脂饮食(TestDiet,美国印第安纳州 Richmond 市;含 60% 仟卡脂肪)喂饲 8 周使诱发出第 II 型糖尿病。HFD 小鼠以化合物 1(100mg/kg)口服治疗 28 天;然后藉由 ELISA 套组分析正常小鼠、HFD 小鼠及经化合物 1 治疗 HFD 小鼠的血脂肪,包括总胆固醇、三酸甘油酯、高密度脂蛋白(HDL)-胆固醇和低密度脂蛋白(LDL)-胆固醇的含量。图 12A 显示其结果。图 12B 显示 HDL-胆固醇/总胆固醇以及 LDL-胆固醇/总胆固醇的比例。获得的结果证明化合物 1 可明显地降低 HFD 小鼠的血脂及具有抗肥胖效应。

[0155] 其他具体实施例

[0156] 此专利说明书中的所揭露的全部特征可以任何方式予以组合。揭露于此专利说明书中的每一种特性可被作为相同、等效或类似目的之另一特征所取代。因此,除非另有说明,否则所揭露的每一种特征仅为具有等效或类似特性的上位系列的一个实例。

[0157] 从上述的描述,本领域的技术人员可轻易地确认本发明的主要特征,以及在不偏离本发明的精神和范围之下可作出各种的改变和修饰以适应各种的用途和状况。因此,其他具体实例亦在权利要求范围之内。

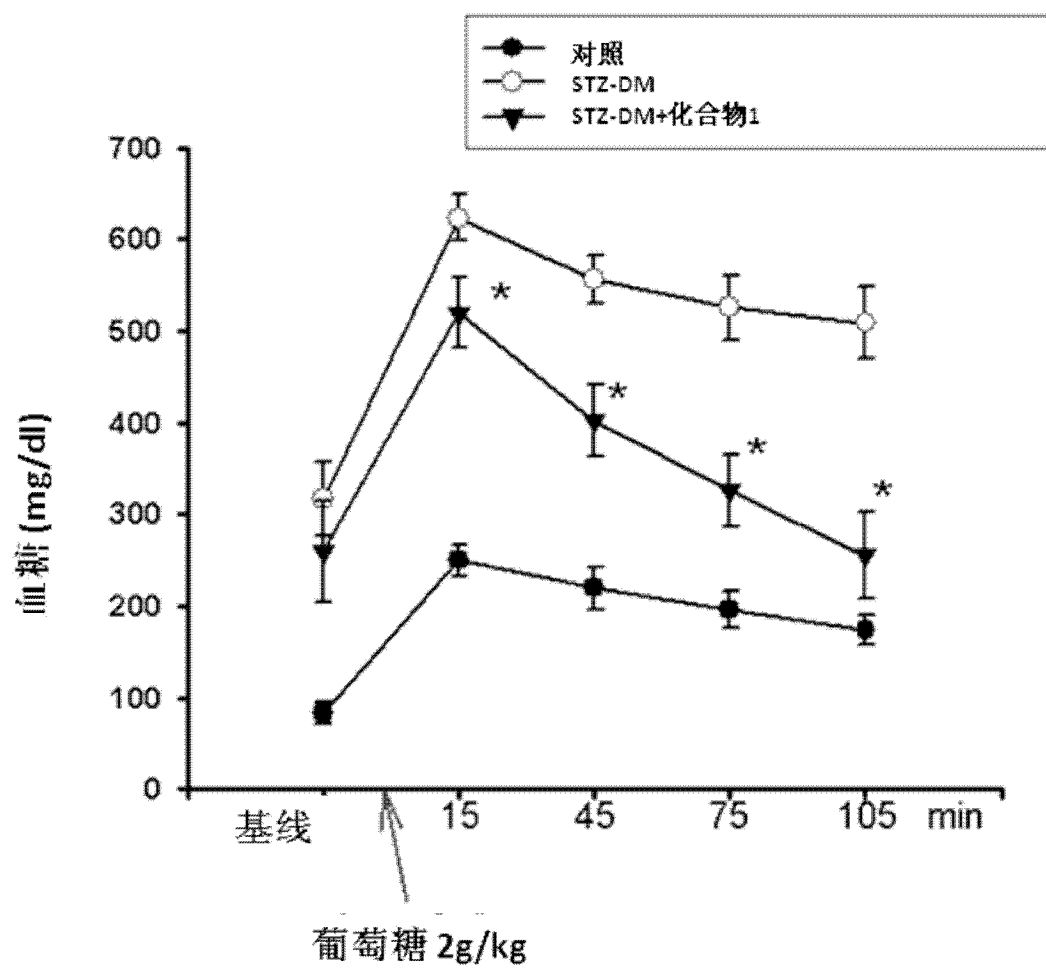


图 1

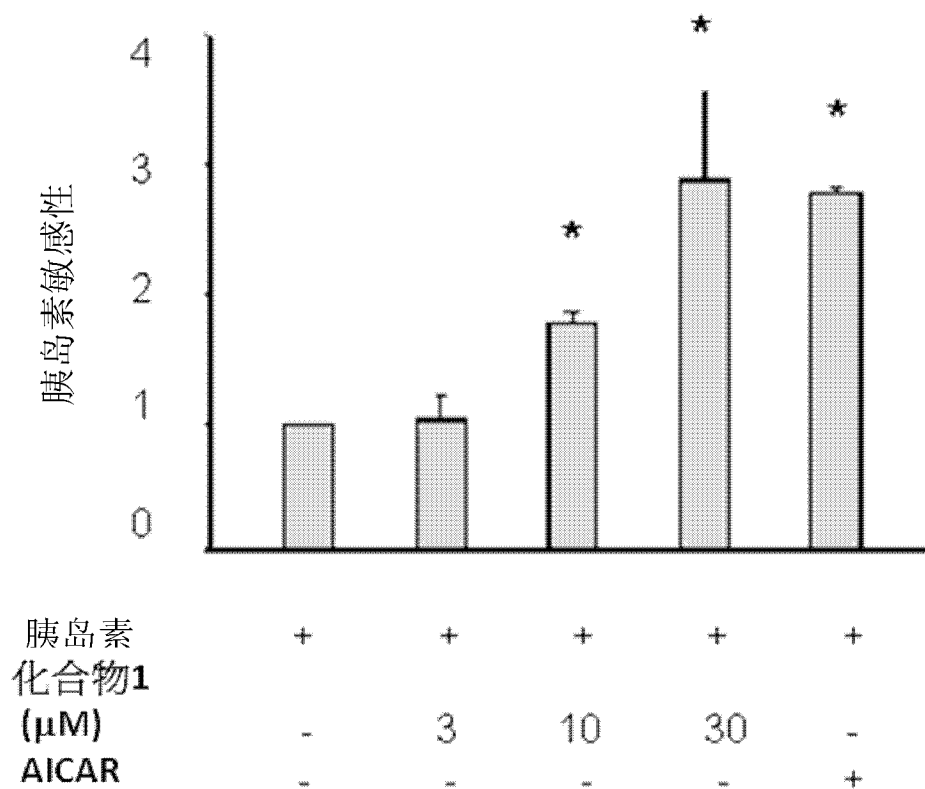


图 2

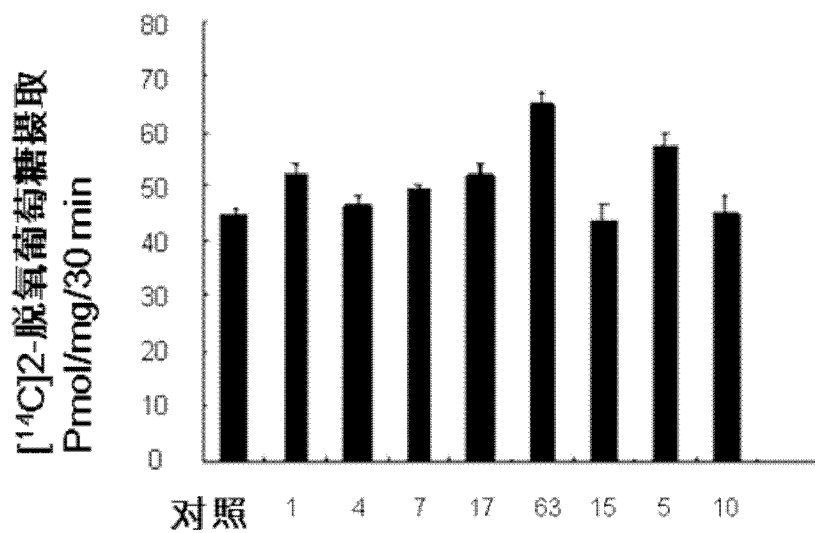


图 3

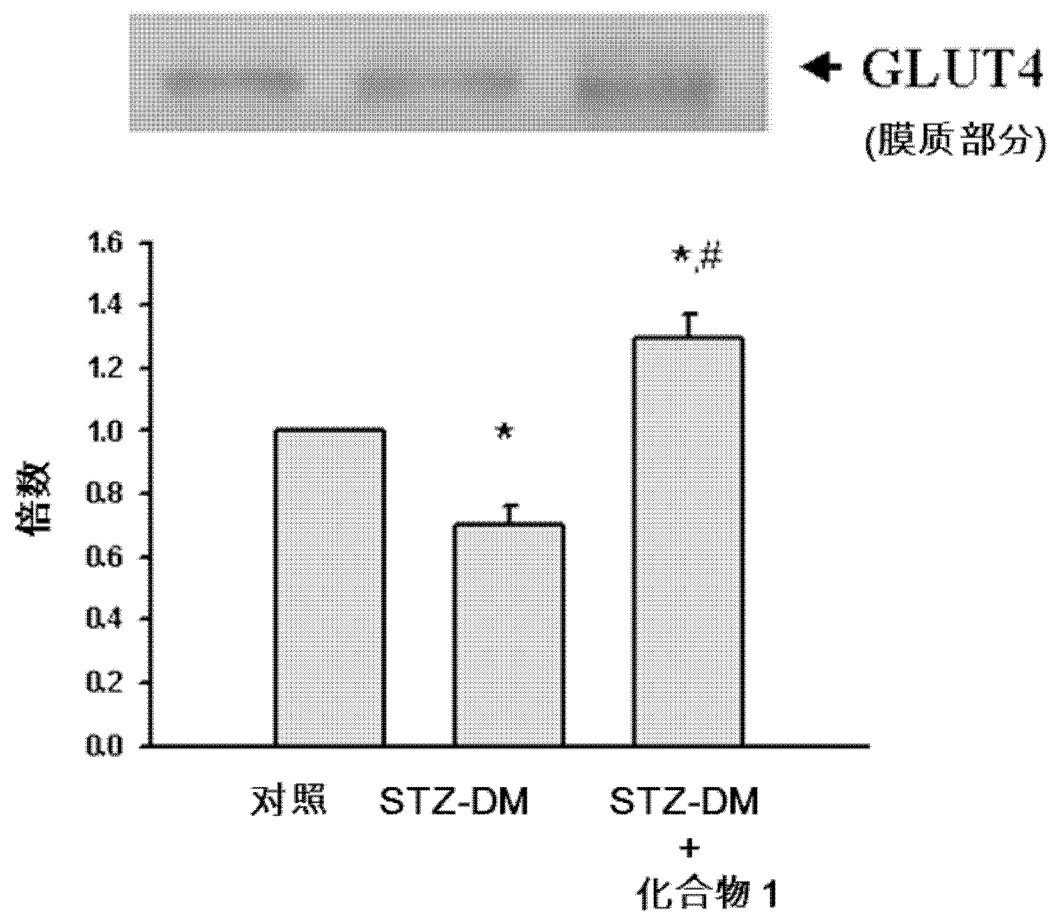


图 4

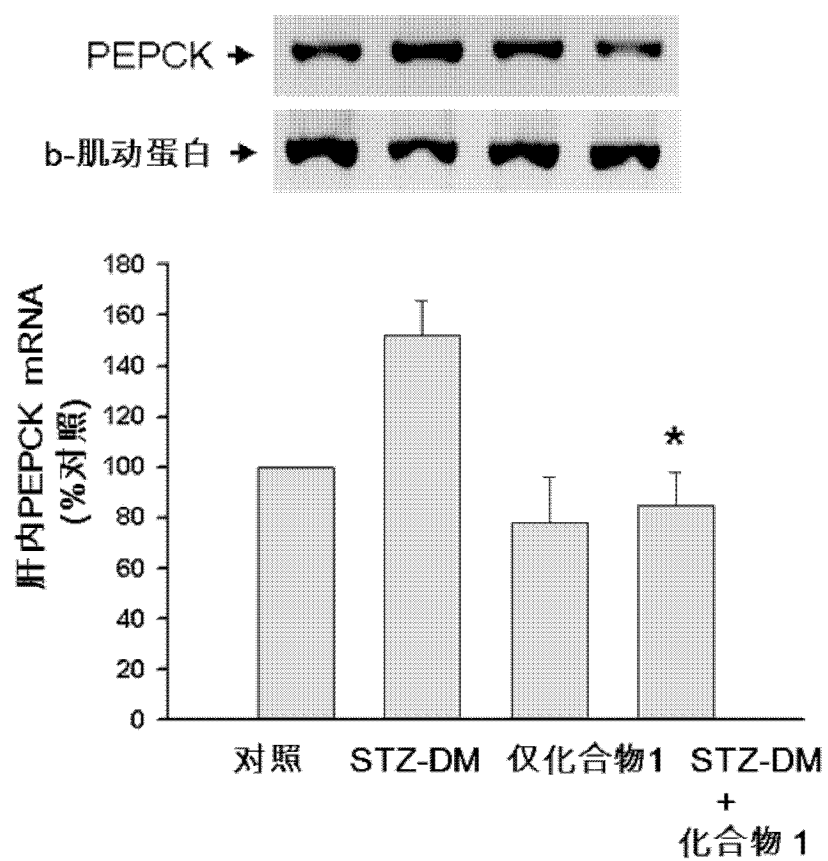


图 5

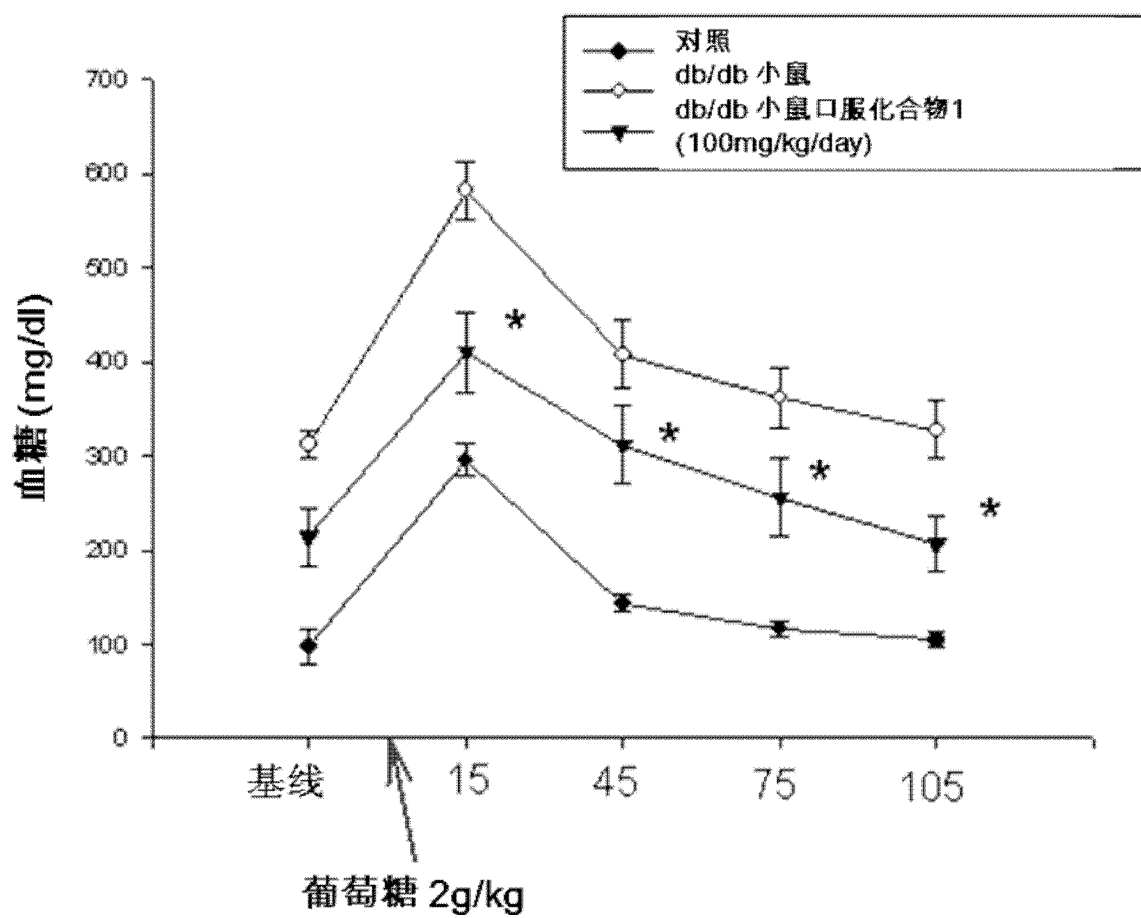


图 6

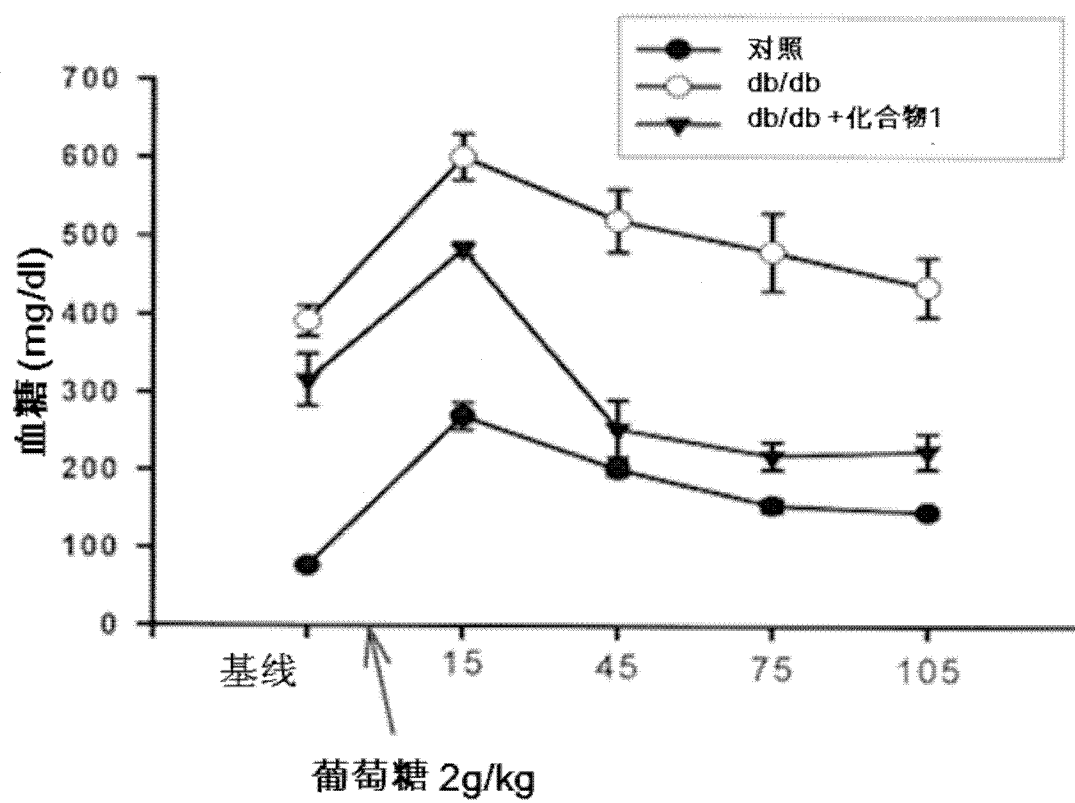


图 7

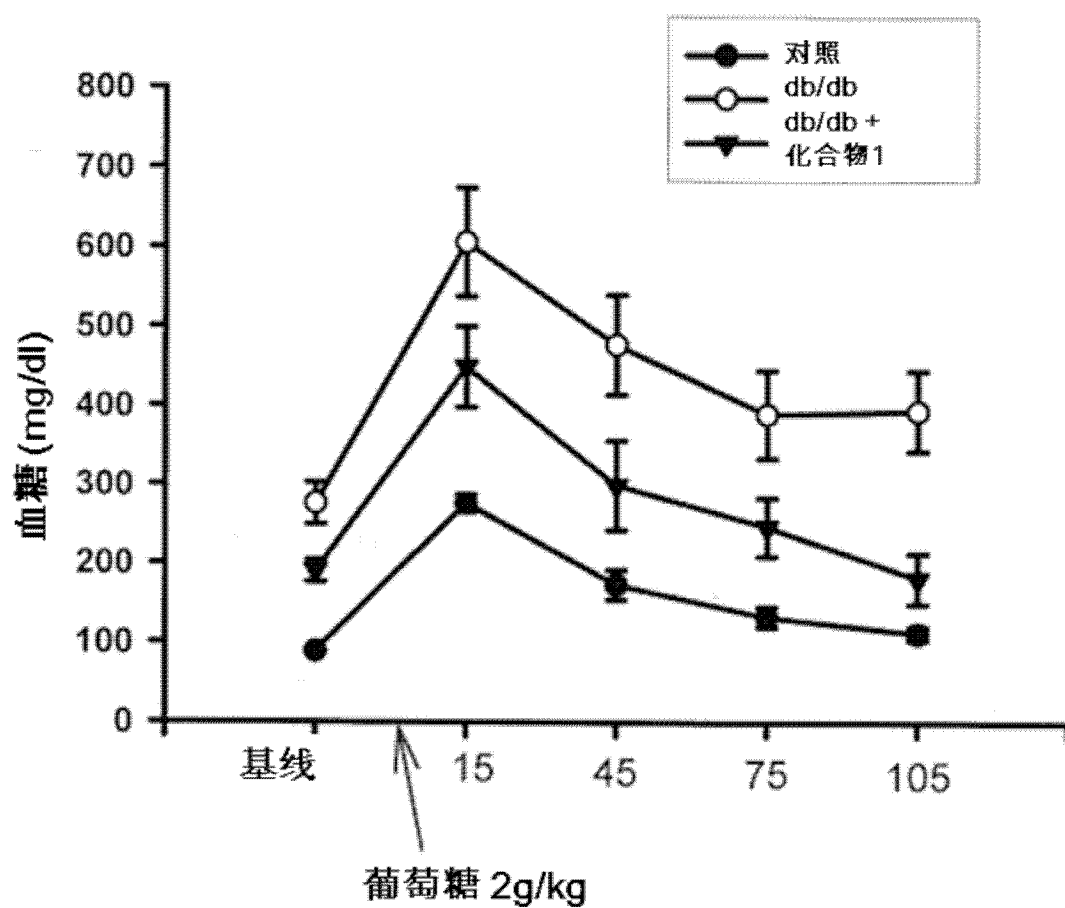


图 8

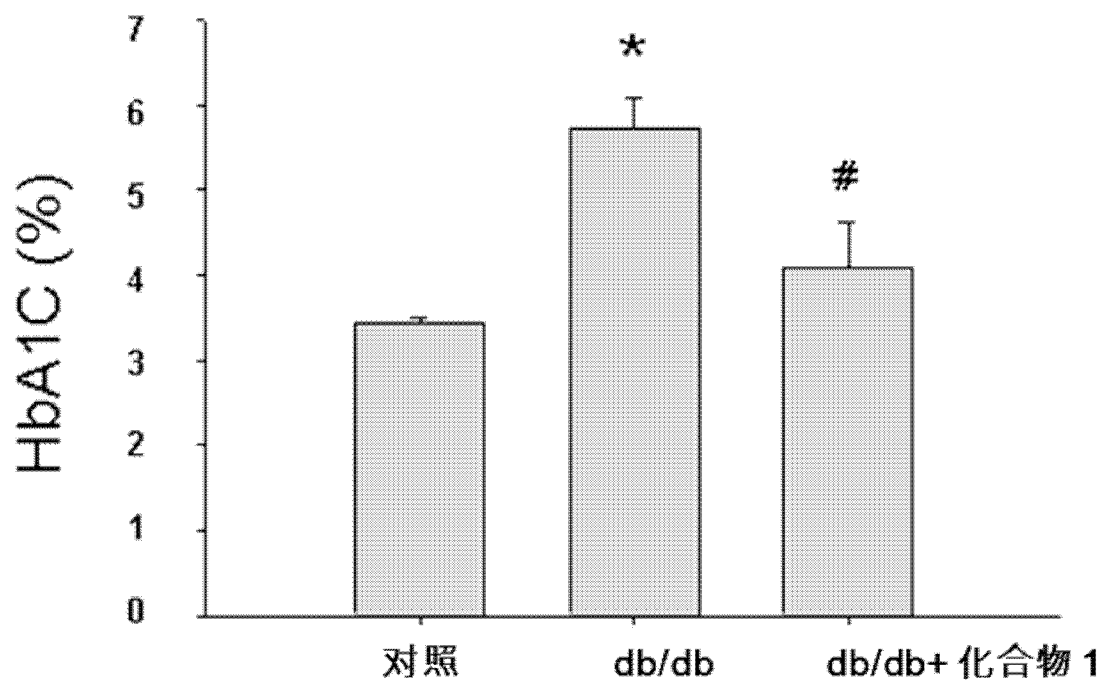


图 9

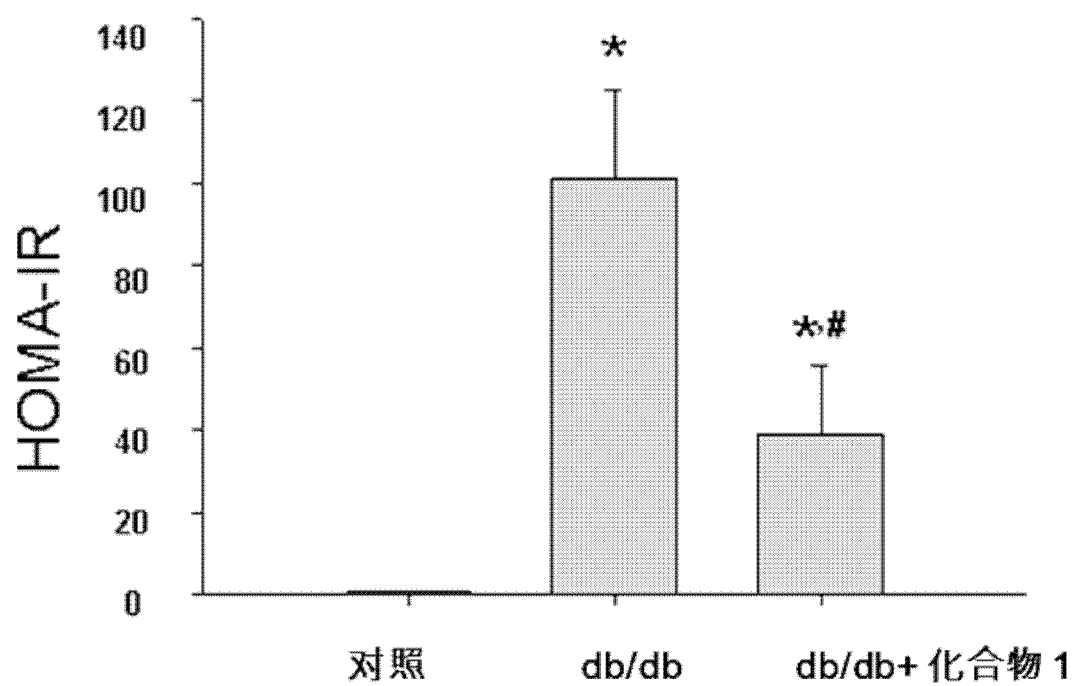
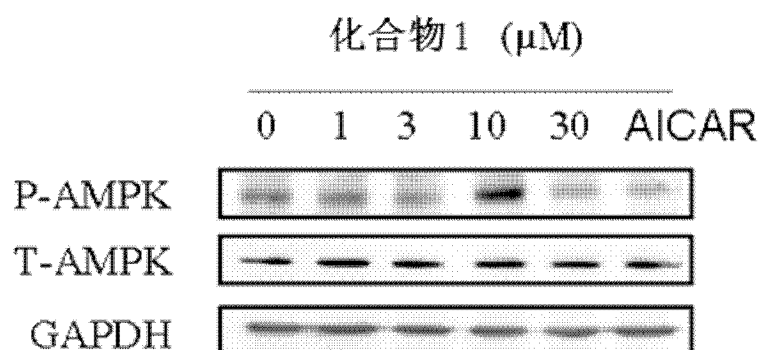


图 10

A.



B.

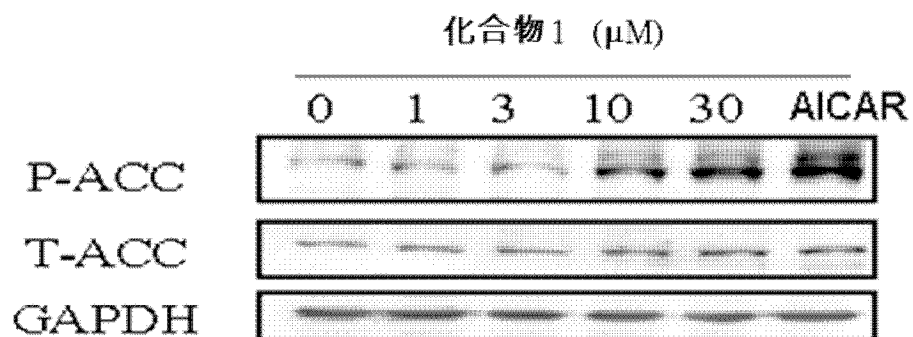
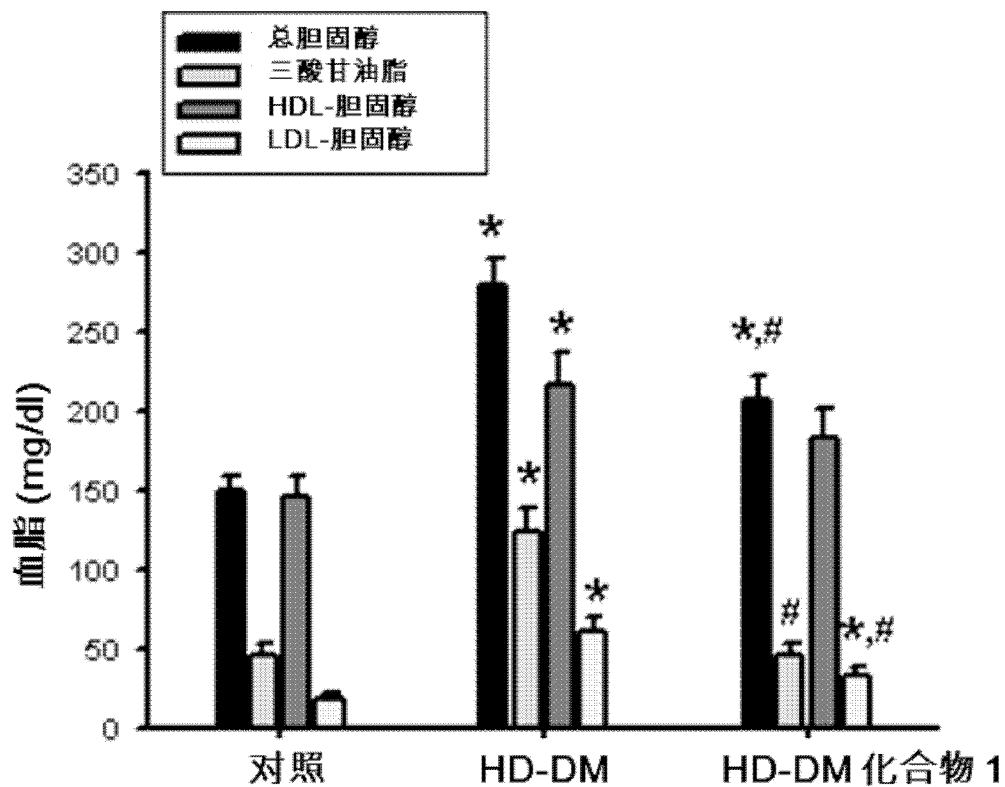


图 11

A.



B.

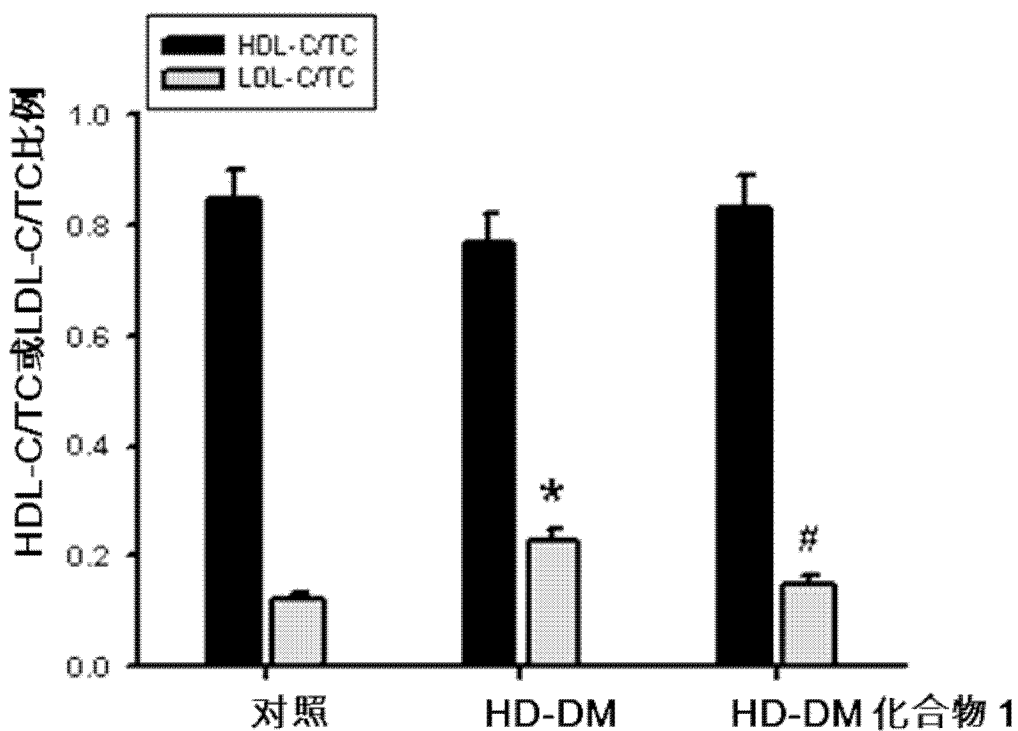


图 12