



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103168035 B

(45) 授权公告日 2016.01.20

(21) 申请号 201180040334.6

(22) 申请日 2011.08.19

(30) 优先权数据

2010-184854 2010.08.20 JP

2010-189739 2010.08.26 JP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2013.02.20

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2011/068736 2011.08.19

(87) PCT国际申请的公布数据

W02012/023598 JA 2012.02.23

(73) 专利权人 大正制药株式会社

地址 日本东京都

(72) 发明人 木村好博 伊村维晃 大崎尚人

松岛步

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

72001

代理人 郭煜 孟慧岚

(51) Int. Cl.

C07D 309/10(2006.01)

(56) 对比文件

JP 特开 2009-107997 A2, 2009.05.21,

CN 101490028 A, 2009.07.22,

CN 1688596 A, 2005.10.26,

Kentth Johansson, 等. Crystal

structure of sorbitol dehydrogenase.

《Chemico-Biological Interactions》. 2001, 第 130-132 卷(第 30 期),

李仲德, 等. 结晶山梨醇的制备. 《河北工业科技》. 2000, 第 17 卷(第 1 期),

审查员 原静

权利要求书2页 说明书23页 附图11页

(54) 发明名称

4- 异丙基苯基山梨醇化合物的晶型及其制备方法

(57) 摘要

本发明针对(1S)-1,5-脱水-1-[5-(4-((1E)-4-[(1-[[2-(二甲基氨基)乙基]氨基)-2-甲基-1-氧代丙烷-2-基]氨基]-3,3-二甲基-4-氧代丁-1-烯-1-基)苯甲基)-2-甲氧基-4-(丙烷-2-基)苯基]-D-山梨醇,提供稳定性高的晶体及其制备方法。具体而言,是具有以下物理性质的乙醇溶剂合物以及由乙醇溶剂合物转变成的其他多种晶型;(a)在粉末X射线衍射(Cu-K $\alpha$ )中,在 $2\theta = 5.9$ 度、17.1度、17.6度和21.5度具有峰;(b)在红外吸收光谱中,特征吸收谱带位于 $3538\text{cm}^{-1}$ 、 $3357\text{cm}^{-1}$ 、 $2964\text{cm}^{-1}$ 、 $1673\text{cm}^{-1}$ 、 $1634\text{cm}^{-1}$ 和 $1505\text{cm}^{-1}$ ;且(c)熔点在 $111^{\circ}\text{C}$ 附近。

1. (1S)-1,5-脱水-1-[5-(4-((1E)-4-[(1-[[2-(二甲基氨基)乙基]氨基]-2-甲基-1-氧代丙烷-2-基)氨基]-3,3-二甲基-4-氧代丁-1-烯-1-基)苯甲基)-2-甲氧基-4-(丙烷-2-基)苯基]-D-山梨醇的乙醇溶剂合物的晶体,其具有下述(a)~(c)的物理性质,

(a)在采用Cu-K $\alpha$ 的粉末X射线衍射中,在 $2\theta = 5.9$ 度、17.1度、17.6度和21.5度具有峰;

(b)在红外线吸收光谱中,特征吸收谱带位于 $3538\text{cm}^{-1}$ 、 $3357\text{cm}^{-1}$ 、 $2964\text{cm}^{-1}$ 、 $1673\text{cm}^{-1}$ 、 $1634\text{cm}^{-1}$ 和 $1505\text{cm}^{-1}$ ;且

(c)熔点为 $108^{\circ}\text{C} \sim 114^{\circ}\text{C}$ 。

2.具有下述(a)~(c)的物理性质的晶体的制备方法,其特征在于,在乙醇或者具有与乙醇相混合的性质的庚烷、叔丁基甲基醚或乙酸乙酯和乙醇的混合液中,溶解(1S)-1,5-脱水-1-[5-(4-((1E)-4-[(1-[[2-(二甲基氨基)乙基]氨基]-2-甲基-1-氧代丙烷-2-基)氨基]-3,3-二甲基-4-氧代丁-1-烯-1-基)苯甲基)-2-甲氧基-4-(丙烷-2-基)苯基]-D-山梨醇后,在 $0 \sim 80^{\circ}\text{C}$ 结晶,将得到的晶体在 $50^{\circ}\text{C}$ 以下进行干燥,

(a)在采用Cu-K $\alpha$ 的粉末X射线衍射中,在 $2\theta = 5.9$ 度、17.1度、17.6度和21.5度具有峰;

(b)在红外线吸收光谱中,特征吸收谱带位于 $3538\text{cm}^{-1}$ 、 $3357\text{cm}^{-1}$ 、 $2964\text{cm}^{-1}$ 、 $1673\text{cm}^{-1}$ 、 $1634\text{cm}^{-1}$ 和 $1505\text{cm}^{-1}$ ;且

(c)熔点为 $108^{\circ}\text{C} \sim 114^{\circ}\text{C}$ 。

3. (1S)-1,5-脱水-1-[5-(4-((1E)-4-[(1-[[2-(二甲基氨基)乙基]氨基]-2-甲基-1-氧代丙烷-2-基)氨基]-3,3-二甲基-4-氧代丁-1-烯-1-基)苯甲基)-2-甲氧基-4-(丙烷-2-基)苯基]-D-山梨醇的晶体,具有下述(a)~(b)的物理性质,

(a)在采用Cu-K $\alpha$ 的粉末X射线衍射中,在 $2\theta = 6.1$ 度、13.7度、18.0度和18.7度具有峰;且

(b)熔点为 $107^{\circ}\text{C} \sim 113^{\circ}\text{C}$ 。

4.具有下述(a)~(b)的物理性质的晶体的制备方法,其特征在于,在磷酸盐缓冲液中悬浊(1S)-1,5-脱水-1-[5-(4-((1E)-4-[(1-[[2-(二甲基氨基)乙基]氨基]-2-甲基-1-氧代丙烷-2-基)氨基]-3,3-二甲基-4-氧代丁-1-烯-1-基)苯甲基)-2-甲氧基-4-(丙烷-2-基)苯基]-D-山梨醇的乙醇溶剂合物后,将得到的晶体在 $35^{\circ}\text{C}$ 以下进行干燥,

(a)在采用Cu-K $\alpha$ 的粉末X射线衍射中,在 $2\theta = 6.1$ 度、13.7度、18.0度和18.7度具有峰;且

(b)熔点为 $107^{\circ}\text{C} \sim 113^{\circ}\text{C}$ 。

5. (1S)-1,5-脱水-1-[5-(4-((1E)-4-[(1-[[2-(二甲基氨基)乙基]氨基]-2-甲基-1-氧代丙烷-2-基)氨基]-3,3-二甲基-4-氧代丁-1-烯-1-基)苯甲基)-2-甲氧基-4-(丙烷-2-基)苯基]-D-山梨醇的晶体,具有下述(a)~(b)的物理性质,

(a)在采用Cu-K $\alpha$ 的粉末X射线衍射中,在 $2\theta = 6.4$ 度、10.9度、16.9度和18.1度具有峰;且

(b)熔点为 $112^{\circ}\text{C} \sim 118^{\circ}\text{C}$ 。

6. 具有下述(a) ~ (b) 的物理性质的晶体的制备方法, 其特征在于, 在具有与异丙基醚相混合的性质的甲醇、异丙醇或叔丁基甲基醚和异丙基醚的混合液中, 悬浊(1S)-1, 5-脱水-1-[5-(4-{(1E)-4-[(1-[2-(二甲基氨基)乙基]氨基)-2-甲基-1-氧代丙烷-2-基]氨基]-3,3-二甲基-4-氧代丁-1-烯-1-基}苯甲基)-2-甲氧基-4-(丙烷-2-基)苯基]-D-山梨醇的乙醇溶剂合物后, 将得到的晶体在室温~100°C下进行干燥, 其中, 在室温下干燥时的湿度为20%以下,

(a) 在采用Cu-K $\alpha$ 的粉末X射线衍射中, 在 $2\theta = 6.4$ 度、10.9度、16.9度和18.1度具有峰;且

(b) 熔点为112°C~118°C。

## 4- 异丙基苯基山梨醇化合物的晶型及其制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及作为糖尿病治疗药的有效成分有用的 4- 异丙基苯基山梨醇的晶型及其制备方法。

### 背景技术

[0002] 血糖值已成为代谢综合症的生物标记之一,如果空腹时血糖显示 126mg/dL 以上,则诊断为糖尿病。另外,即使空腹时血糖正常,餐后 2 小时血糖值达到 140 ~ 200mg/dL 的情况下,也会诊断为糖耐量异常(或餐后高血糖)。近年来的流行病学研究报导糖耐量异常会增加心血管障碍的风险(参见非专利文献 1 和 2)。而且,有报导称通过施以运动疗法或药物治疗,可以抑制糖耐量异常向 2 型糖尿病的发展,也可以显著抑制高血压的发病(参见非专利文献 3)。

[0003] 由此认为抑制餐后高血糖对于抑制糖尿病和代谢综合症的发病是很重要的,对控制餐后高血糖的药物的需求正逐步增加。

[0004] 过去,作为改善餐后高血糖的药物,抑制糖类的水解酶、延缓糖从小肠吸收的  $\alpha$ - 葡萄糖苷酶抑制剂被广泛应用,同时也在开发具有新作用机理的餐后高血糖改善药。

[0005] 在哺乳动物的小肠上皮,钠依赖性葡萄糖协同转运蛋白 1(SGLT1)高频率表达。已知该 SGLT1 在小肠依赖于钠,负责葡萄糖和半乳糖的能运输送。基于此,报道了能够通过抑制 SGLT1 活性,抑制从食物中吸收葡萄糖,对餐后高血糖的预防或治疗有用的吡啶衍生物(参见专利文献 1 ~ 6)。另一方面,钠依存性葡萄糖协同转运蛋白 2 (SGLT2)在肾脏高频率表达,已被肾小球过滤的葡萄糖会通过 SGLT2 被再吸收(参见非专利文献 4)。而且,有报道称通过抑制 SGLT2 活性,可以促进糖排泄到尿中,显示出降血糖作用(参见非专利文献 5)。作为 SGLT2 抑制剂的特征,其临时降低血糖的作用优良,但像 SGLT1 抑制剂那样控制餐后高血糖的作用则较差。另外,有报道称 C- 苯基山梨醇衍生物不仅抑制 SGLT1 活性,同时还抑制 SGLT2 活性(参见专利文献 7)。

[0006] 另一方面,对餐后高血糖改善药这样需要持续给药的药物而言,药物有效剂量和表现出毒性、副作用的剂量之间有较宽的安全范围是很重要的。特别是,体内残留性药物的情况下,难以控制治疗所必需的给药量,加上体内残留的药物就会表现出过量的药物效果,导致不希望的毒性和副作用。例如,已知在分子内具有叔胺等亲水基团和芳香环等疏水基团的阳离子性药物,往往会与磷脂疏水结合,并被摄取到溶酶体内,在全身的器官中蓄积。作为典型的例子,氯喹会出现视网膜障碍的问题,环己哌啶会在肺或小脑发生改变,导致神经障碍的问题(参见非专利文献 6)。

[0007] 因此,我们希望药物在显示出药效后能快速从体内排泄,特别是对于必须连续给药的餐后高血糖改善药,希望有不存体内残留问题的药物。

[0008] 另外,作为药品,希望有工业规模容易处理,以及产品的保存稳定性优良的物理特性。

[0009] 【专利文献】

- [0010] 【专利文献 1】国际公开第 W02002/098893 号说明书
- [0011] 【专利文献 2】国际公开第 W02004/014932 号说明书
- [0012] 【专利文献 3】国际公开第 W02004/018491 号说明书
- [0013] 【专利文献 4】国际公开第 W02004/019958 号说明书
- [0014] 【专利文献 5】国际公开第 W02005/121161 号说明书
- [0015] 【专利文献 6】国际公开第 W02004/050122 号说明书
- [0016] 【专利文献 7】国际公开第 W02007/136116 号说明书
- [0017] 【非专利文献】
- [0018] 【非专利文献 1】Pan XR 等, Diabetes Care, 第 20 卷, 第 537 页, 1997 年
- [0019] 【非专利文献 2】M Tominaga 等, Diabetes Care, 第 22 卷, 第 920 页, 1999 年
- [0020] 【非专利文献 3】J. -L. Chiasson 等, Lancet, 第 359 卷, 第 2072 页, 2002 年
- [0021] 【非专利文献 4】E. M. Wright, Am. J. Physiol. Renal. Physiol., 第 280 卷, 第 F10 页, 2001 年
- [0022] 【非专利文献 5】G. Toggenburger 等, Biochim. Biophys. Acta, 第 688 卷, 第 557 页, 1982 年
- [0023] 【非专利文献 6】日药理志, Folia Pharmacol. Jpn. 第 113 卷, 第 19 页, 1999 年。

## 发明内容

[0024] 本发明目的在于, 提供药效剂量和表现出毒性、副作用的剂量之间的安全范围宽, 显示 SGLT1 抑制作用, 且上述物理特性优良的新型化合物晶体。

[0025] 本发明人等为了完成上述课题, 反复进行悉心研究, 结果发现(1S)-1,5-脱水-1-[5-(4-((1E)-4-[(1-[[2-(二甲基氨基)乙基]氨基]-2-甲基-1-氧代丙烷-2-基)氨基]-3,3-二甲基-4-氧代丁-1-烯-1-基)苯甲基)-2-甲氧基-4-(丙烷-2-基)苯基]-D-山梨醇(以下有时也称为化合物(A))药效剂量与表现出毒性、副作用的剂量之间的安全范围宽, 显示 SGLT1 抑制作用, 且通过制成其乙醇溶剂合物, 可以提供上述物理特性优良的新型化合物晶体, 另外, 上述乙醇溶剂合物能够容易地向其他晶型转变, 从而完成了本发明。

[0026] 本发明的一种实施方式是, (1S)-1,5-脱水-1-[5-(4-((1E)-4-[(1-[[2-(二甲基氨基)乙基]氨基]-2-甲基-1-氧代丙烷-2-基)氨基]-3,3-二甲基-4-氧代丁-1-烯-1-基)苯甲基)-2-甲氧基-4-(丙烷-2-基)苯基]-D-山梨醇的乙醇溶剂合物的晶体, 具有下述(a)~(c)的物理性质。

[0027] (a) 在粉末 X 射线衍射(Cu-K $\alpha$ )中, 在  $2\theta = 5.9$  度、17.1 度、17.6 度和 21.5 度具有峰;

[0028] (b) 在红外线吸收光谱中, 特征吸收谱带位于  $3538\text{cm}^{-1}$ 、 $3357\text{cm}^{-1}$ 、 $2964\text{cm}^{-1}$ 、 $1673\text{cm}^{-1}$ 、 $1634\text{cm}^{-1}$  和  $1505\text{cm}^{-1}$ ; 且

[0029] (c) 熔点在  $111^\circ\text{C}$  附近。

[0030] 本发明的另一实施方式是, 具有下述(a)~(c)的物理性质的晶体的制备方法, 其特征在于, 在乙醇或者具有与乙醇相混合的性质的有机溶剂和乙醇的混合液中, 溶解(1S)-1,5-脱水-1-[5-(4-((1E)-4-[(1-[[2-(二甲基氨基)乙基]氨基]-2-甲

基-1-氧代丙烷-2-基)氨基]-3,3-二甲基-4-氧代丁-1-烯-1-基}苯甲基)-2-甲氧基-4-(丙烷-2-基)苯基]-D-山梨醇后,在0~80℃结晶,将得到的晶体在50℃以下进行干燥。

[0031] (a) 在粉末X射线衍射(Cu-K $\alpha$ )中,在 $2\theta = 5.9$ 度、17.1度、17.6度和21.5度具有峰;

[0032] (b) 在红外线吸收光谱中,特征吸收谱带位于 $3538\text{cm}^{-1}$ 、 $3357\text{cm}^{-1}$ 、 $2964\text{cm}^{-1}$ 、 $1673\text{cm}^{-1}$ 、 $1634\text{cm}^{-1}$ 和 $1505\text{cm}^{-1}$ ;且

[0033] (c) 熔点在111℃附近。

[0034] 本发明的另一实施方式是,(1S)-1,5-脱水-1-[5-(4-{(1E)-4-[(1- {[2-(二甲基氨基)乙基]氨基}-2-甲基-1-氧代丙烷-2-基)氨基]-3,3-二甲基-4-氧代丁-1-烯-1-基}苯甲基)-2-甲氧基-4-(丙烷-2-基)苯基]-D-山梨醇的晶体(A型晶体),具有下述(a)~(b)的物理性质。

[0035] (a) 在粉末X射线衍射(Cu-K $\alpha$ )中,在 $2\theta = 6.1$ 度、13.7度、18.0度和18.7度具有峰;且

[0036] (b) 熔点在110℃附近。

[0037] 本发明的另一实施方式是,具有下述(a)~(b)的物理性质的晶体(A型晶体)的制备方法,其特征在于,在水或磷酸缓冲溶液中悬浊(1S)-1,5-脱水-1-[5-(4-{(1E)-4-[(1- {[2-(二甲基氨基)乙基]氨基}-2-甲基-1-氧代丙烷-2-基)氨基]-3,3-二甲基-4-氧代丁-1-烯-1-基}苯甲基)-2-甲氧基-4-(丙烷-2-基)苯基]-D-山梨醇的乙醇溶剂合物后,在35℃以下进行干燥。

[0038] (a) 在粉末X射线衍射(Cu-K $\alpha$ )中,在 $2\theta = 6.1$ 度、13.7度、18.0度和18.7度具有峰;且

[0039] (b) 熔点在110℃附近。

[0040] 本发明的另一实施方式是,(1S)-1,5-脱水-1-[5-(4-{(1E)-4-[(1- {[2-(二甲基氨基)乙基]氨基}-2-甲基-1-氧代丙烷-2-基)氨基]-3,3-二甲基-4-氧代丁-1-烯-1-基}苯甲基)-2-甲氧基-4-(丙烷-2-基)苯基]-D-山梨醇的晶体(B型晶体),具有下述(a)~(b)的物理性质。

[0041] (a) 在粉末X射线衍射(Cu-K $\alpha$ )中,在 $2\theta = 6.4$ 度、10.9度、16.9度和18.1度具有峰;且

[0042] (b) 熔点在115℃附近。

[0043] 本发明的另一实施方式是,具有下述(a)~(b)的物理性质的晶体(B型晶体)的制备方法,其特征在于,在具有与异丙基醚相混合的性质的有机溶剂(乙醇除外)和异丙基醚的混合液或者具有与己烷或庚烷相混合的性质的有机溶剂(乙醇除外)和己烷或庚烷的混合液中,悬浊(1S)-1,5-脱水-1-[5-(4-{(1E)-4-[(1- {[2-(二甲基氨基)乙基]氨基}-2-甲基-1-氧代丙烷-2-基)氨基]-3,3-二甲基-4-氧代丁-1-烯-1-基}苯甲基)-2-甲氧基-4-(丙烷-2-基)苯基]-D-山梨醇的乙醇溶剂合物后,在室温~100℃进行干燥。

[0044] (a) 在粉末X射线衍射(Cu-K $\alpha$ )中,在 $2\theta = 6.4$ 度、10.9度、16.9度和18.1度具有峰;且

[0045] (b) 熔点在 115°C 附近。

[0046] 本发明的另一实施方式是, (1S)-1,5-脱水-1-[5-(4-{(1E)-4-[(1- {[2-(二甲基氨基)乙基]氨基})-2-甲基-1-氧代丙烷-2-基]氨基})-3,3-二甲基-4-氧代丁-1-烯-1-基]苯甲基)-2-甲氧基-4-(丙烷-2-基)苯基]-D-山梨醇的晶体(C型晶体), 具有下述(a)~(b)的物理性质。

[0047] (a) 在粉末 X 射线衍射(Cu-K $\alpha$ )中, 在  $2\theta = 10.7$  度、17.9 度和 19.7 度具有峰; 且

[0048] (b) 熔点在 127°C 附近。

[0049] 本发明的另一实施方式是, 具有下述(a)~(b)的物理性质的晶体(C型晶体)的制备方法, 其特征在于, 将(1S)-1,5-脱水-1-[5-(4-{(1E)-4-[(1- {[2-(二甲基氨基)乙基]氨基})-2-甲基-1-氧代丙烷-2-基]氨基})-3,3-二甲基-4-氧代丁-1-烯-1-基]苯甲基)-2-甲氧基-4-(丙烷-2-基)苯基]-D-山梨醇的晶体(A型晶体)在减压条件下升温至室温~150°C后, 用己烷和乙酸乙酯的混合溶剂悬浊后, 在 35°C 以下进行干燥。

[0050] (a) 在粉末 X 射线衍射(Cu-K $\alpha$ )中, 在  $2\theta = 10.7$  度、17.9 度和 19.7 度具有峰; 且

[0051] (b) 熔点在 127°C 附近。

[0052] 本发明的另一实施方式是, (1S)-1,5-脱水-1-[5-(4-{(1E)-4-[(1- {[2-(二甲基氨基)乙基]氨基})-2-甲基-1-氧代丙烷-2-基]氨基})-3,3-二甲基-4-氧代丁-1-烯-1-基]苯甲基)-2-甲氧基-4-(丙烷-2-基)苯基]-D-山梨醇的晶体(二水合物的晶体), 具有下述(a)~(b)的物理性质。

[0053] (a) 在粉末 X 射线衍射(Cu-K $\alpha$ )中, 在  $2\theta = 17.2$  度、17.8 度和 20.9 度具有峰; 且

[0054] (b) 熔点在 121°C 附近。

[0055] 本发明的另一实施方式是, 具有下述(a)~(b)的物理性质的晶体(二水合物的晶体)的制备方法, 其特征在于, 在异丙基醚与甲醇的混合液中, 悬浊(1S)-1,5-脱水-1-[5-(4-{(1E)-4-[(1- {[2-(二甲基氨基)乙基]氨基})-2-甲基-1-氧代丙烷-2-基]氨基})-3,3-二甲基-4-氧代丁-1-烯-1-基]苯甲基)-2-甲氧基-4-(丙烷-2-基)苯基]-D-山梨醇的乙醇溶剂合物后, 在室温进行干燥。

[0056] (a) 在粉末 X 射线衍射(Cu-K $\alpha$ )中, 在  $2\theta = 17.2$  度、17.8 度和 20.9 度具有峰; 且

[0057] (b) 熔点在 121°C 附近。

[0058] (1S)-1,5-脱水-1-[5-(4-{(1E)-4-[(1- {[2-(二甲基氨基)乙基]氨基})-2-甲基-1-氧代丙烷-2-基]氨基})-3,3-二甲基-4-氧代丁-1-烯-1-基]苯甲基)-2-甲氧基-4-(丙烷-2-基)苯基]-D-山梨醇的乙醇溶剂合物是在室温附近的温度下稳定的晶型, 保存稳定性优良。另外, 由于可以通过简便的方法精制成高纯度, 因此非常适于工业生产。而且, 上述乙醇溶剂合物也可以根据需要, 容易地转变成其他晶型。

## 附图说明

[0059] 【图 1】表示乙醇溶剂合物的粉末 X 射线衍射图。

- [0060] 【图 2】表示乙醇溶剂合物的红外吸收光谱(KBr 法)。  
 [0061] 【图 3】表示乙醇溶剂合物的示差热分析 / 热重测定曲线。  
 [0062] 【图 4】表示 A 型晶体的粉末 X 射线衍射图。  
 [0063] 【图 5】表示 A 型晶体的示差热分析 / 热重测定曲线。  
 [0064] 【图 6】表示 B 型晶体的粉末 X 射线衍射图。  
 [0065] 【图 7】表示 B 型晶体的示差热分析 / 热重测定曲线。  
 [0066] 【图 8】表示 C 型晶体的粉末 X 射线衍射图。  
 [0067] 【图 9】表示 C 型晶体的示差热分析 / 热重测定曲线。  
 [0068] 【图 10】表示二水合物晶体的粉末 X 射线衍射图。  
 [0069] 【图 11】表示二水合物晶体的示差热分析 / 热重测定曲线。

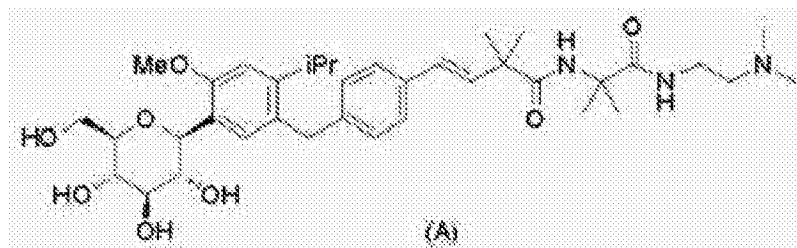
### 具体实施方式

[0070] 以下具体说明实施本发明的方式。

[0071] 本发明的化合物(1S)-1,5-脱水-1-[5-(4-{(1E)-4-[(1- {[2-(二甲基氨基)乙基]氨基}-2-甲基-1-氧代丙烷-2-基)氨基]-3,3-二甲基-4-氧代丁-1-烯-1-基}苯甲基)-2-甲氧基-4-(丙烷-2-基)苯基]-D-山梨醇(以下有时称为化合物(A)),具有如下所示的化学结构式。

[0072] 【化 1】

[0073]



[0074] 化合物(A)的乙醇溶剂合物(以下有时称为“本发明晶体”)可以作为具有一定品质的单一晶体获得,其再现性良好,是能够作为制备药品用的原药的晶体稳定地供给,保存稳定性优良的晶体。另外,本发明晶体通过悬浊于水或有机溶剂(乙醇除外),可以容易地转变成其他晶型。这些晶型的不同特别是可以通过粉末 X 射线衍射以及示差热分析 / 热重测定曲线来区分。另外,“本发明晶体”是指还包含乙醇溶剂合物与无水晶体的混合物、以及乙醇溶剂合物与无水晶体的混晶的概念。

[0075] 化合物(A)的乙醇溶剂合物具有下述(a)~(c)的物理性质。

[0076] (a) 在粉末 X 射线衍射(Cu-K $\alpha$ )中,在  $2\theta = 5.9$  度、17.1 度、17.6 度和 21.5 度具有峰;

[0077] (b) 在红外线吸收光谱中,特征吸收谱带位于  $3538\text{cm}^{-1}$ 、 $3357\text{cm}^{-1}$ 、 $2964\text{cm}^{-1}$ 、 $1673\text{cm}^{-1}$ 、 $1634\text{cm}^{-1}$ 和  $1505\text{cm}^{-1}$ ;且

[0078] (c) 熔点在  $111^\circ\text{C}$ 附近,优选  $108^\circ\text{C} \sim 114^\circ\text{C}$ 。

[0079] 化合物(A)的乙醇溶剂合物的粉末 X 射线衍射图如图 1 所示,红外吸收光谱(KBr 法)如图 2 所示,示差热分析 / 热重测定曲线如图 3 所示。

[0080] 化合物(A)的乙醇溶剂合物可以通过由化合物(A)溶解于乙醇或者具有与乙醇相



混合的性质的有机溶剂和乙醇的混合液得到的溶液进行结晶化得到。

[0081] 重结晶前的原料化合物(A)是非晶形的。

[0082] 通过从该溶液重结晶得到乙醇溶剂合物时,化合物(A)溶解成该溶液以及由该溶液结晶化可以采用常规的方法进行。例如,可以采用在具有与乙醇相混合的性质的有机溶剂和乙醇构成的混合液中,将非晶形的化合物(A)加热溶解后冷却的方法。

[0083] 作为具有与乙醇相混合的性质的有机溶剂,可以例举庚烷等烃、叔丁基甲基醚、乙酸乙酯等。

[0084] 溶解化合物(A)的浓度为 0.5 ~ 70 质量%,优选 5 ~ 50 质量%。其中,质量%是指溶液中或者悬浊液中化合物(A)的乙醇溶剂合物的质量百分比。

[0085] 具有与乙醇相混合的性质的有机溶剂和乙醇的混合溶剂的混合比可以适当改变。

[0086] 乙醇溶剂合物的结晶化在 0 ~ 80℃进行。

[0087] 析出的乙醇溶剂合物的晶体通过由溶液过滤、离心分离等与溶剂分离后,在 50℃以下进行干燥。

[0088] 化合物(A)的 A 型晶体具有下述(a) ~ (b)的物理性质。

[0089] (a)在粉末 X 射线衍射(Cu-K $\alpha$ )中,在  $2\theta = 6.1$  度、13.7 度、18.0 度和 18.7 度具有峰;且

[0090] (b)熔点在 110℃附近,优选 107℃ ~ 113℃。

[0091] 化合物(A)的 A 型晶体的粉末 X 射线衍射图如图 4 所示,示差热分析 / 热重测定曲线如图 5 所示。

[0092] 化合物(A)的 A 型晶体可以通过将化合物(A)的乙醇溶剂合物悬浊于水或磷酸缓冲溶液得到。

[0093] 作为可以用于磷酸缓冲液的磷酸,可以例举磷酸、磷酸二氢钠及其水合物(例如 2 水合物)、磷酸氢二钠及其水合物(例如 12 水合物)、磷酸二氢钾及其水合物、磷酸氢二钾及其水合物等。

[0094] 悬浊化合物(A)的乙醇溶剂合物的浓度,相对于悬浊液为 0.5 ~ 30 质量%,优选 1 ~ 20 质量%。

[0095] 悬浊温度为 35℃以下,通常为 25℃。

[0096] 悬浊的时间根据溶剂的种类、温度、其他条件并非是固定的。悬浊温度为 25℃的情况下,悬浊时间为 24 小时以上,通常为 24 小时。悬浊的条件只要不破坏化合物(A)的悬浊状态即可,也可以通过加热,缩短转变成 A 型晶体的时间。转变成 A 型晶体的终点可以通过由悬浊液过滤收集一部分晶体,测定该晶体的粉末 X 射线衍射图等进行确认。

[0097] 如上所述得到的 A 型晶体通过由分散(悬浊)液中过滤、离心分离等与溶剂分离后,在 35℃以下,通常在室温(25℃)下进行干燥。

[0098] 采用上述任何一种方法,干燥的时间根据干燥温度、使用原料的晶型、粒径、其他条件并非是固定的,晶型变化的终点可以通过收集一部分干燥晶体,测定该晶体的粉末 X 射线衍射图等进行确认。

[0099] 化合物(A)的 B 型晶体具有下述(a) ~ (b)的物理性质。

[0100] (a)在粉末 X 射线衍射(Cu-K $\alpha$ )中,在  $2\theta = 6.4$  度、10.9 度、16.9 度和 18.1 度具有峰;且

[0101] (b) 熔点在 115℃ 附近, 优选 112℃ ~ 118℃。

[0102] 化合物(A) 的 B 型晶体的粉末 X 射线衍射图如图 6 所示, 示差热分析 / 热重测定曲线如图 7 所示。

[0103] 化合物(A) 的 B 型晶体可以通过将化合物(A) 的乙醇溶剂合物悬浊于具有与异丙基醚相混合的性质的有机溶剂(乙醇除外) 和异丙基醚的混合液或者具有与己烷或庚烷相混合的性质的有机溶剂(乙醇除外) 和己烷或庚烷的混合液中得到。

[0104] 作为具有与异丙基醚相混合的性质的有机溶剂(乙醇除外), 可以例举甲醇、异丙醇、叔丁基甲基醚等。

[0105] 作为具有与己烷或庚烷相混合的性质的有机溶剂(乙醇除外), 可以例举乙酸乙酯、丙酮、叔丁基甲基醚等。

[0106] 悬浊化合物(A) 的乙醇溶剂合物的浓度相对于悬浊液为 0.5 ~ 30 质量%, 优选 1 ~ 20 质量%。

[0107] 悬浊温度为 35℃ 以下, 通常为 25℃。

[0108] 悬浊的时间根据溶剂的种类、温度、其他条件并非是固定的。悬浊温度为 25℃ 的情况下, 悬浊时间为 1 周以上, 通常为 1 周。悬浊的条件只要不破坏化合物(A) 的悬浊状态即可, 也可以通过加热缩短转变成 B 型晶体的时间。转变成 B 型晶体的终点可以通过由悬浊液过滤收集一部分晶体, 测定该晶体的粉末 X 射线衍射图等进行确认。

[0109] 如上所述得到的 B 型晶体通过由分散(悬浊)液中过滤、离心分离等与溶剂分离后, 在室温 ~ 100℃ 进行干燥。

[0110] 在室温下进行干燥时的湿度为 20% 以下, 通常为 11% 以下。

[0111] 采用上述任何一种方法, 干燥的时间根据干燥温度、使用原料的晶型、粒径、其他条件并非是固定的, 晶型变化的终点可以通过收集一部分干燥晶体, 测定该晶体的粉末 X 射线衍射图等进行确认。

[0112] 作为一个实例, 化合物(A) 的 B 型晶体可以通过将化合物(A) 的乙醇溶剂合物从上述溶剂的悬浊液分离后, 暴露于 25℃、湿度 11% 的状态下得到。

[0113] 作为另一个实例, 化合物(A) 的 B 型晶体可以通过将化合物(A) 的乙醇溶剂合物从上述溶剂的悬浊液分离后, 暴露于 60℃、湿度 0% 的状态下得到。

[0114] 作为另一个实例, 化合物(A) 的 B 型晶体可以通过将化合物(A) 的乙醇溶剂合物从上述溶剂的悬浊液分离后, 暴露于 100℃ 的条件下得到。

[0115] 化合物(A) 的 C 型晶体具有下述(a) ~ (b) 的物理性质。

[0116] (a) 在粉末 X 射线衍射(Cu-K $\alpha$ ) 中, 在  $2\theta = 10.7$  度、17.9 度和 19.7 度具有峰; 且

[0117] (b) 熔点在 127℃ 附近, 优选 124℃ ~ 130℃。

[0118] 化合物(A) 的 C 型晶体可以通过将化合物(A) 的 A 型晶体在减压条件下升温至室温 ~ 150℃ 后, 悬浊于己烷和乙酸乙酯的混合液得到。

[0119] 将化合物(A) 的 A 型晶体在减压条件下升温的温度为室温 ~ 150℃, 优选室温 ~ 120℃, 更优选 120℃。

[0120] 将化合物(A) 的 A 型晶体在减压条件下升温后, 用己烷与乙酸乙酯的混合液悬浊的浓度相对于悬浊液为 0.5 ~ 30 质量%, 优选 1 ~ 20 质量%。

- [0121] 悬浊温度为 55 ~ 75°C,通常为 65°C。
- [0122] 悬浊的时间根据溶剂的种类、温度、其他条件并非是固定的。65°C的情况下,悬浊时间为 8 小时以上,通常为 8 小时。转变成 C 型晶体的终点可以通过由悬浊液过滤收集一部分晶体,测定该晶体的粉末 X 射线衍射图等进行确认。
- [0123] 如上所述得到的 C 型晶体通过用旋转式汽化器蒸馏除去溶剂或者由分散(悬浊)液中过滤、离心分离等与溶剂分离后,在 35°C 以下,通常在室温下进行干燥。
- [0124] 采用上述任何一种方法,干燥的时间根据干燥温度、使用原料的晶型、粒径、其他条件并非是固定的,晶型变化的终点可以通过收集一部分干燥晶体,测定该晶体的粉末 X 射线衍射图等进行确认。
- [0125] 化合物(A)的二水合物的晶体具有下述(a)~(b)的物理性质。
- [0126] (a)在粉末 X 射线衍射(Cu-K $\alpha$ )中,在  $2\theta = 17.2$  度、17.8 度和 20.9 度具有峰;  
且
- [0127] (b)熔点在 121°C 附近,优选 118°C ~ 124°C。
- [0128] 可以通过化合物(A)的乙醇溶剂合物悬浊于异丙基醚与甲醇的混合液得到。
- [0129] 悬浊化合物(A)的乙醇溶剂合物的浓度相对于悬浊液为 0.5 ~ 20% 质量%,优选 0.5 ~ 10 质量%。
- [0130] 悬浊温度为 35°C 以下,通常为 25°C。
- [0131] 悬浊的时间根据溶剂的种类、温度、其他条件并非是固定的。悬浊温度为 25°C 的情况下,悬浊时间为 6 天以上,通常为 6 天。悬浊的条件只要不破坏化合物(A)的悬浊状态即可,也可以通过加热缩短转变成二水合物的晶体的时间。转变成二水合物的晶体的终点可以通过由悬浊液过滤收集一部分晶体,测定该晶体的粉末 X 射线衍射图等进行确认。
- [0132] 如上所述得到的二水合物的晶体通过由分散(悬浊)液中过滤、离心分离等与溶剂分离后,在室温下进行干燥。
- [0133] 在室温下进行干燥时的湿度为 40% ~ 85%。二水合物的晶体确认在湿度 40% 以上的条件下由 B 型晶体转变,另外,在湿度 85% 以上潮解。
- [0134] 采用上述任何一种方法,干燥的时间根据干燥温度、使用原料的晶型、粒径、其他条件并非是固定的,晶型变化的终点可以通过收集一部分干燥晶体,测定该晶体的粉末 X 射线衍射图等进行确认。

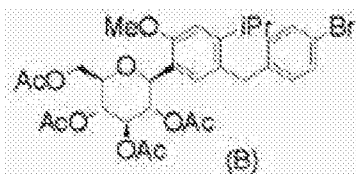
## 实施例

[0135] 以下结合参考例、实施例和试验例进一步详细说明本发明,但本发明并不受这些内容的限定。

[0136] NMR(核磁共振)光谱在室温下采用 200MHz(GEMINI 2000/200, Varian Instruments)、300MHz(INOVA 300, Varian Instruments、JEOL JNM-ECP300, 日本电子、JEOL JNM-ECX300, 日本电子)600MHz(JEOL JNM-ECA600, 日本电子)测定。本说明书中的化学位移值用相对于内标物(四甲基硅烷)的 parts per million( $\delta$ )值表示。

[0137] 质谱采用 Waters micromass GCT(EI:电子离子化法)、micromass Platform-LC mass spectrometer(ESI:电喷雾离子化法)或者岛津 LCMS-2010EV(ESI:电喷雾离子化法/APCI:大气压离子化法 Dual)测定。

- [0138] 元素分析采用 PerkinElmer 2400Z 测定。  
 [0139] 粉末 X 射线采用 Rigaku RINT2200Ultima III 测定。  
 [0140] 示差热分析 / 热重测定 (TG/DTA) 采用 Rigaku Thermo plus EvoTG8120 测定。  
 [0141] 硅胶柱色谱法使用关东化学“硅胶 60”或“硅胶 60N”。  
 [0142] 室温均指 25°C。  
 [0143] 参考例 1 中间体 (B) 的制备  
 [0144] 【化 2】  
 [0145]



- [0146] 参考例 1-1 化合物 (B1)  
 [0147] 【化 3】  
 [0148]



[0149] 在 3-异丙基苯酚 (25g, 0.184mol) 的乙酸 (200mL) 溶液中加入碘酸钾 (7.88g, 0.0368mol) 的水悬浊溶液 (75mL) 和碘 (18.7g, 0.0736mol), 将该反应溶液在室温下搅拌 20 小时。加入乙醚 (400mL) 和水 (300mL) 后, 分离有机层。将该有机层用水、饱和碳酸氢钠水溶液、饱和食盐水洗涤后, 用无水硫酸镁干燥。过滤除去干燥剂后, 在减压条件下蒸馏除去溶剂, 将得到的残渣用中性硅胶柱色谱法 (己烷 : 乙酸乙酯 = 95 : 5) 精制, 得到无色油状的化合物 (B1) (27.6g, 57%)。

[0150]

<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CHLOROFORM-d)  $\delta$  ppm 1.16 - 1.25 (m, 6 H) 2.64 - 2.98 (m, 1 H) 5.21 (s, 1 H) 6.57 (dd, J=8.13, 2.20 Hz, 1 H) 6.88 (d, J=2.20 Hz, 1 H) 7.54 (d, J=8.13 Hz, 1 H).

- [0151] 参考例 1-2 化合物 (B2)  
 [0152] 【化 4】  
 [0153]



[0154] 在化合物 (B1) (27.4g, 0.104mol) 与碳酸钾 (21.7g, 0.156mol) 的乙腈悬浊液 (200mL) 中, 加入碘代甲烷 (9.8mL, 0.156mol), 在 40°C 下搅拌 2.5 小时。再加入碘代甲烷 (3.5mL, 0.052mol), 在相同温度下搅拌 1 小时。过滤不溶物, 用乙酸乙酯稀释滤液。用水、10% 硫代硫酸钠水溶液、饱和食盐水洗涤有机层, 用无水硫酸镁干燥。过滤除去干燥剂后, 在减压条件下蒸馏除去溶剂。将得到的残渣用中性硅胶柱色谱法 (己烷  $\rightarrow$  己烷 : 乙酸乙酯 =

95 :5) 精制,得到淡黄色油状的化合物(B2) (24.5g,85%)。

[0155]

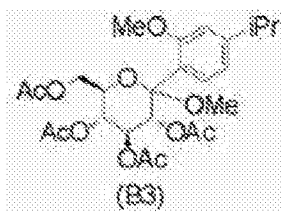
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CHLOROFORM-d)  $\delta$  ppm 1.24 (d, J=6.84 Hz, 6 H) 2.87 (quint, J=6.92 Hz, 1 H) 3.88 (s, 3 H) 6.58 - 6.65 (m, 1 H) 6.70 (d, J=1.87 Hz, 1 H) 7.65 (d, J=8.08 Hz, 1 H).

MS ESI/APCI Dual posi : 277[M+H]<sup>+</sup>.

[0156] 参考例 1-3 化合物(B3)

[0157] 【化 5】

[0158]



[0159] 在化合物(B2) (24.5g,88.6mmol)的 THF (100mL)溶液中,在氮气环境下,在 -78℃ 滴加 2.6M 正丁基锂己烷溶液(34mL,88.6mmol),在相同温度下搅拌 5 分钟。接着用 25 分钟滴加 2,3,4,6-四-O-三甲基甲硅烷基-D-葡萄糖酸-1,5-内酯(37.6g,80.5mmol)的 THF (60mL)溶液,在相同温度下搅拌 10 分钟。在反应液中加入冰和水,将混合物升温至室温后,用乙酸乙酯萃取。合并有机层,用饱和食盐水洗涤,用无水硫酸镁干燥。过滤除去干燥剂后,在减压条件下蒸馏除去溶剂。

[0160] 将得到的残渣溶解于含有甲磺酸(1.55g,16.1mmol)的甲醇(380mL)溶液中,在室温下搅拌 2 小时。用三乙胺(11.2mL,80.5mmol)中和,浓缩反应混合物。

[0161] 将得到的残渣(30.2g)溶解于吡啶(100mL),加入乙酸酐(100mL),在室温下搅拌 14 小时。加入冰水(400mL),用乙酸乙酯(200mL)萃取混合物 2 次。合并有机层,用 1M 盐酸、饱和碳酸氢钠水溶液、饱和食盐水洗涤,用无水硫酸镁干燥。过滤除去干燥剂后,在减压条件下蒸馏除去溶剂,将得到的残渣用中性硅胶柱色谱法(己烷→己烷:乙酸乙酯=6:4)精制,得到淡黄色油状的化合物(B3) (32.8g,80%;3 步)。

[0162]

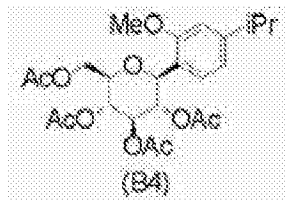
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CHLOROFORM-d)  $\delta$  ppm 1.23 (d, 6 H) 1.84 (s, 3 H) 1.97 (s, 3 H) 2.06 (s, 3 H) 2.10 (s, 3 H) 2.87 (dt, J=13.83, 6.92 Hz, 1 H) 3.32 (s, 3 H) 3.87 (s, 3 H) 4.04 (ddd, J=10.26, 4.74, 2.41 Hz, 1 H) 4.17 - 4.23 (m, 1 H) 4.28 - 4.36 (m, 1 H) 5.25 (dd, J=10.18, 9.40 Hz, 1 H) 5.36 (d, J=10.10 Hz, 1 H) 5.60 (dd, J=10.03, 9.40 Hz, 1 H) 6.74 (d, J=1.55 Hz, 1 H) 6.79 (dd, J=8.08, 1.24 Hz, 1 H) 7.26 - 7.33 (m, 1 H).

MS ESI/APCI Dual posi : 533[M+Na]<sup>+</sup>.

[0163] 参考例 1-4 化合物(B4)

[0164] 【化 6】

[0165]



[0166] 在化合物(B3) (32.8g, 64.0mmol) 的氯仿(150mL) 和乙腈(150mL) 溶液中, 在氮气环境中在 4℃加入  $\text{Et}_3\text{SiH}$  (21mL, 128mmol) 和  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  (49mL, 385mmol), 在相同温度下搅拌 1 小时。在反应液中加入饱和碳酸氢钠水溶液, 用氯仿萃取后, 用饱和食盐水洗涤有机层, 用无水硫酸镁干燥。过滤除去干燥剂后, 在减压条件下蒸馏除去溶剂, 将得到的残渣用中性硅胶柱色谱法(己烷:乙酸乙酯=2:1) 精制, 得到淡黄色胶状的化合物(B4) (22.9g, 74%)。

[0167]

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CHLOROFORM-d}$ )  $\delta$  ppm 1.22 (d,  $J=6.99$  Hz, 6 H) 1.77 (s, 3 H) 2.01 (s, 3 H) 2.05 (s, 3 H) 2.07 (s, 3 H) 2.87 (dt,  $J=13.76, 6.96$  Hz, 1 H) 3.80 - 3.87 (m, 1 H) 3.84 (s, 3 H) 4.09 - 4.16 (m, 1 H) 4.22 - 4.29 (m, 1 H) 4.88 - 4.95 (m, 1 H) 5.18 - 5.27 (m, 1 H) 5.32 - 5.38 (m, 2 H) 6.71 (d,  $J=1.55$  Hz, 1 H) 6.83 (dd,  $J=7.93, 1.55$  Hz, 1 H) 7.23 - 7.30 (m, 1 H).

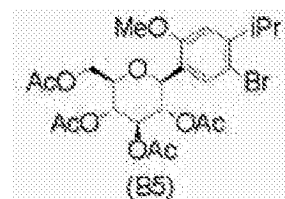
MS ESI/APCI Dual posi : 503[M+Na] $^+$ .

MS ESI/APCI Dual nega : 515[M+Cl] $^-$ .

[0168] 参考例 1-5 化合物(B5)

[0169] 【化 7】

[0170]



[0171] 在化合物(B4) (22.9g, 47.7mmol) 的乙酸(90mL) 溶液中, 在室温下滴加溴(2.4mL, 47.6mmol)。将反应混合液搅拌 1 小时, 将反应液加入到饱和碳酸氢钠水溶液(400mL) 中。用乙酸乙酯萃取该混合物 2 次, 合并有机层, 用 10% 食盐水洗涤, 用无水硫酸镁干燥。过滤除去干燥剂后, 在减压条件下蒸馏除去溶剂。将得到的残渣用中性硅胶柱色谱法(己烷:乙酸乙酯=3:2) 精制, 得到淡黄色无定形的化合物(B5) (25.5g, 96%)。

[0172]

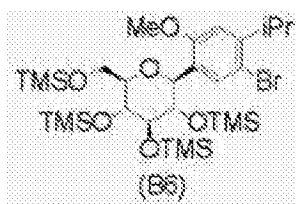
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CHLOROFORM-d)  $\delta$  ppm 1.20 (d, J=6.84 Hz, 3 H) 1.23 (d, J=6.84 Hz, 3 H) 1.80 (s, 3 H) 2.01 (s, 3 H) 2.05 (s, 3 H) 2.09 (s, 3 H) 3.31 (quin, J=6.84 Hz, 1 H) 3.77 - 3.82 (m, 1 H) 3.83 (s, 3 H) 4.10 - 4.17 (m, 1 H) 4.22 - 4.30 (m, 1 H) 4.83 (d, J=9.48 Hz, 1 H) 5.17 - 5.38 (m, 3 H) 6.75 (s, 1 H) 7.49 (s, 1 H).

MS ESI/APCI Dual posi : 581[M+Na]<sup>+</sup>, 583[M+2+Na]<sup>+</sup>.

[0173] 参考例 1-6 化合物(B6)

[0174] 【化 8】

[0175]



[0176] 在化合物(B5)(25.5g, 45.6mmol)的甲醇(250mL)悬浊液中,加入 25wt% 甲醇钠·甲醇溶液(1mL, 4.9mmol),在室温下搅拌 2 小时。在反应溶液中加入干冰后,在减压条件下蒸馏除去溶剂。将得到的残渣溶解于 N,N-二甲基甲酰胺(135mL),在冰冷条件下加入三乙胺(45mL)和氯三甲基硅烷(35mL)。将反应混合物在室温下搅拌 2 小时,加入冰水。用甲苯萃取该混合物 2 次,合并有机层,用饱和食盐水洗涤,用无水硫酸镁干燥。过滤除去干燥剂后,在减压条件下蒸馏除去溶剂,得到茶色油状的化合物(B6)(30.3g)。对其不进行精制,直接用于后面的反应。

[0177]

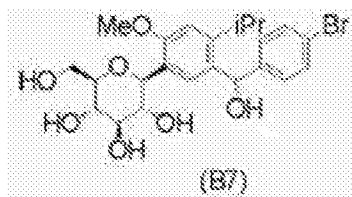
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CHLOROFORM-d)  $\delta$  ppm -0.32 (s, 9 H) 0.09 (s, 9 H) 0.18 (s, 9 H) 0.20 (s, 9 H) 1.19 (d, J=6.84 Hz, 3 H) 1.23 (d, J=6.84 Hz, 3 H) 3.26 - 3.44 (m, 3 H) 3.52 - 3.58 (m, 2 H) 3.65 - 3.75 (m, 3 H) 3.76 - 3.83 (m, 1 H) 3.80 (s, 3 H) 4.60 (d, J=8.55 Hz, 1 H) 6.72 (s, 1 H) 7.51 (s, 1 H).

MS ESI/APCI Dual posi : 701[M+Na]<sup>+</sup>, 703[M+2+Na]<sup>+</sup>.

[0178] 参考例 1-7 化合物(B7)

[0179] 【化 9】

[0180]



[0181] 在化合物(B6) (8.7g, 12.9mmol) 的 THF (40mL) 溶液中,在氩气环境中,在 -78°C

滴加 2.7M 正丁基锂己烷溶液(4.7mL, 12.9mmol), 在相同温度下搅拌 10 分钟。接着, 用 15 分钟滴加 4-溴苯甲醛(2.6g, 14.2mmol) 的 THF (25mL) 溶液, 在相同温度下搅拌 30 分钟。在反应液中加入饱和氯化铵水溶液, 将该混合物升温至室温后, 用乙酸乙酯萃取 2 次。合并有机层, 用饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸镁干燥。过滤除去干燥剂后, 在减压条件下蒸馏除去溶剂。

[0182] 将得到的残渣溶解于含有甲磺酸(0.2g) 的甲醇(65mL) 溶液中, 在室温下搅拌 14 小时。用三乙胺(1.8mL) 中和, 浓缩反应混合物。将得到的残渣用酸性硅胶柱色谱法(氯仿→氯仿:甲醇=9:1) 精制, 得到无色无定形的化合物(B7) (2.9g, 45%)。

[0183]

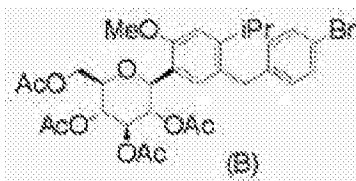
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, METHANOL-*d*<sub>4</sub>) δ ppm 1.00 - 1.11 (m, 6 H) 3.10 - 3.27 (m, 2 H) 3.34 - 3.40 (m, 5H) 3.43 - 3.70 (m, 4H) 3.84 (s, 4 H) 4.66 (d, J=9.64 Hz, 1 H) 5.47 (s, 1 H) 6.89 (d, J=1.24 Hz, 1 H) 7.20 (d, J=2.18 Hz, 1 H) 7.22 (d, J=2.18 Hz, 1 H) 7.37 - 7.47 (m, 3 H).

MS ESI/APCI Dual posi : 479[M-H<sub>2</sub>O+H]<sup>+</sup>

[0184] 参考例 1-8 中间体(B) 的制备

[0185] 【化 10】

[0186]



[0187] 将化合物(B7) (2.9g, 5.8mmol) 溶解于吡啶(18mL) 中。在该溶液中加入乙酸酐(9mL), 在室温下搅拌 5 小时。加入冰水, 用乙酸乙酯萃取混合物 2 次。合并有机层, 用 3N 盐酸、饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸镁干燥。过滤除去干燥剂后, 在减压条件下蒸馏除去溶剂, 得到粗产物(3.3g)。

[0188] 在该粗产物(3.3g) 的氯仿(25mL) 和乙腈(25mL) 溶液中加入 Et<sub>3</sub>SiH (1.1mL, 7.1mmol), 在氮气环境中用冰冷却。在冰冷条件下, 用 10 分钟滴加 BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub> (0.9mL, 7.1mmol), 在相同温度下搅拌 30 分钟。在反应液中加入饱和碳酸氢钠水溶液, 用氯仿萃取后, 用饱和食盐水洗涤有机层, 用无水硫酸镁干燥。过滤除去干燥剂后, 在减压条件下蒸馏除去溶剂。将得到的残渣用酸性硅胶柱色谱法(己烷:乙酸乙酯=9:1→6:4) 精制, 得到无色油状物的中间体(B) (2.9g, 76%)。

[0189]



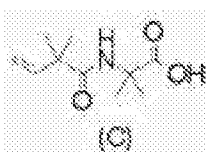
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CHLOROFORM-d)  $\delta$  ppm 1.04 (d, J=6.84 Hz, 3 H) 1.09 (d, J=6.84 Hz, 3 H) 1.76 (s, 3 H) 2.01 (s, 3 H) 2.05 (s, 3 H) 2.06 (s, 3 H) 2.91 - 3.06 (m, 1 H) 3.80 - 3.88 (m, 4 H) 3.91 (d, J=5.13 Hz, 2 H) 4.06 - 4.18 (m, 1 H) 4.20 - 4.31 (m, 1 H) 4.82 - 4.93 (m, 1 H) 5.15 - 5.43 (m, 3 H) 6.77 (s, 1 H) 6.92 (d, J=8.55 Hz, 2 H) 7.11 (s, 1 H) 7.36 (d, J=8.55 Hz, 2 H).

MS ESI/APCI Dual posi : 671[M+Na]<sup>+</sup>, 666[M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>

[0190] 参考例 2 中间体(C)的制备

[0191] 【化 11】

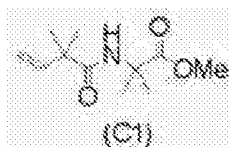
[0192]



[0193] 参考例 2-1 化合物(C1)

[0194] 【化 12】

[0195]



[0196] 在 2,2-二甲基-3-丁烯酸(J. Org. Chem., 第 65 卷, 第 8402 页, 2000 年) (5.42g, 47.5mmol) 的氯仿(250mL) 溶液中, 在氮气环境中, 加入草酰氯(4.43mL, 49.9mmol) 和 N,N-二甲基甲酰胺(3 滴), 在室温下搅拌 1.5 小时。然后, 用冰冷却反应液, 加入三乙胺(19.9mL, 143mmol) 和  $\alpha$ -氨基异丁酸甲酯盐酸盐(10.9g, 71.2mmol), 在室温下搅拌 1 小时。在反应液中加入水, 用氯仿萃取后, 用 3M 盐酸、饱和碳酸氢钠水溶液、饱和食盐水洗涤有机层, 用无水硫酸镁干燥。过滤除去干燥剂后, 在减压条件下蒸馏除去溶剂, 将得到的残渣用硅胶柱色谱法(己烷 $\rightarrow$ 己烷:乙酸乙酯=4:1)精制, 得到无色粉末的化合物(C1) (9.38g, 93%)。

[0197]

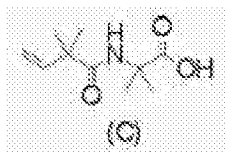
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CHLOROFORM-d)  $\delta$  ppm 1.27 (s, 6 H) 1.51 (s, 6 H) 3.73 (s, 3 H) 5.17 - 5.32 (m, 2 H) 6.02 (dd, J=17.56, 10.57 Hz, 1 H) 6.25 (br. s., 1 H).

MS ESI/APCI Dual posi : 214[M+H]<sup>+</sup>.

[0198] 参考例 2-2 中间体(C)

[0199] 【化 13】

[0200]



[0201] 在化合物(C1) (9.38g, 43.9mmol) 的甲醇(20mL) 溶液中加入 4M 氢氧化钠水溶液(16.5mL, 66.0mmol), 在室温下搅拌 1 小时。然后, 浓缩反应混合物。将得到的残渣溶解于水, 加入 3M 盐酸中和。用乙酸乙酯萃取该混合物 2 次, 合并有机层, 用饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸镁干燥。过滤除去干燥剂后, 在减压条件下蒸馏除去溶剂, 得到无色粉末的中间体(C) (8.19g, 94%)。

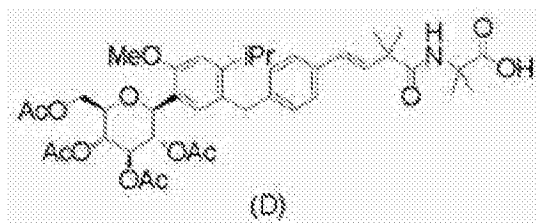
[0202]

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CHLOROFORM-d)  $\delta$  ppm 1.29 (s, 6 H) 1.54 (s, 6 H) 5.16 - 5.36 (m, 2 H) 6.01 (dd, J=17.49, 10.65 Hz, 1 H) 6.14 (s, 1 H).  
 MS ESI/APCI Dual posi : 200[M+H]<sup>+</sup>; 222[M+Na]<sup>+</sup>.  
 MS ESI/APCI Dual nega : 198[M-H]<sup>-</sup>.

[0203] 参考例 3 化合物 D 的制备

[0204] 【化 14】

[0205]



[0206] 在氩气环境中, 将中间体(B) (1.2g, 1.85mmol)、中间体(C) (2.59g, 13.0mmol)、乙酸钪(II) (44mg, 0.19mmol)、三邻甲苯基膦(112mg, 0.37mmol)、三乙胺(1.3mL, 9.25mmol) 的乙腈(36mL) 悬浊液在微波照射下在 120℃ 搅拌 30 分钟。用硅藻土(セライト, 注册商标) 过滤反应液, 用乙酸乙酯洗涤。在减压条件下浓缩滤液, 将得到的残渣用中性硅胶柱色谱法(氯仿→氯仿: 甲醇= 9:1) 精制, 作为粗精制物得到化合物(D) (1.5g)。将得到的化合物(D) (1.5g) 用中性硅胶柱色谱法(己烷: 乙酸乙酯= 7:3 → 2:8) 进一步精制, 得到淡黄色无定形的化合物(D) (854mg, 60%)。

[0207]

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CHLOROFORM-d)  $\delta$  ppm 1.08 (d, J=6.84 Hz, 3 H) 1.12 (d, J=6.84 Hz, 3 H) 1.38 (s, 6 H) 1.53 (s, 6 H) 1.77 (s, 3 H) 2.00 (s, 3 H) 2.05 (s, 6 H) 3.06 (quin, J=6.64 Hz, 1 H) 3.78 - 3.83 (m, 1 H) 3.84 (s, 3 H) 3.97 (s, 2 H) 4.07 - 4.18 (m, 1 H) 4.17 - 4.27 (m, 1 H) 4.87 (dd, J=6.76, 2.88 Hz, 1 H) 5.16 - 5.25 (m, 1 H) 5.27 - 5.40 (m, 2 H) 6.18 - 6.33 (m, 2 H) 6.54 (d, J=16.48 Hz, 1 H) 6.77 (s, 1 H) 7.03 (d, J=8.08 Hz, 2 H) 7.10 (s, 1 H) 7.29 (d, J=8.08 Hz, 2 H).

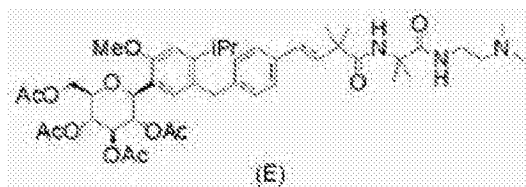
MS ESI/APCI Dual posi : 768[M+H]<sup>+</sup>, 790[M+Na]<sup>+</sup>.

MS ESI/APCI Dual nega : 766[M-H]<sup>-</sup>.

[0208] 参考例 4 化合物(E)的制备

[0209] 【化 15】

[0210]



[0211] 在化合物(D) (100mg, 0.13mmol)、1-羟基苯并三唑一水合物(HOBT · H<sub>2</sub>O) (30mg, 0.20mmol)、N, N-二甲基乙二胺(42  $\mu$ L, 0.39mmol)的氯仿(1.5mL)/N, N-二甲基甲酰胺(1.5mL)溶液中,加入N-乙基-N'-3-二甲基氨基丙基碳化二亚胺盐酸盐(EDC-HCl) (37mg, 0.20mmol),在室温下搅拌过夜。将反应液倒入水中,用乙酸乙酯萃取2次。合并有机层,用饱和食盐水洗涤,用无水硫酸镁干燥。过滤除去干燥剂后,在减压条件下蒸馏除去溶剂。将得到的残渣用中性硅胶柱色谱法(己烷:乙酸乙酯=7:3  $\rightarrow$  2:8)精制,得到无色无定形的化合物(E) (103mg, 94%)。

[0212]

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CHLOROFORM-d)  $\delta$  ppm 1.05 (d, J=6.84 Hz, 3 H) 1.10 (d, J=6.84 Hz, 3 H) 1.38 (s, 6 H) 1.49 (s, 6 H) 1.77 (s, 3 H) 2.00 (s, 3 H) 2.05 (s, 3 H) 2.06 (s, 3 H) 2.46 (s, 6 H) 2.64 - 2.78 (m, 2 H) 3.04 (quin, J=6.80 Hz, 1 H) 3.38 - 3.49 (m, 2 H) 3.78 - 3.83 (m, 1 H) 3.85 (s, 3 H) 3.87 - 4.04 (m, 2 H) 4.08 - 4.18 (m, 1 H) 4.18 - 4.30 (m, 1 H) 4.87 (d, J=9.48 Hz, 1 H) 5.16 - 5.27 (m, 1 H) 5.28 - 5.44 (m, 2 H) 6.35 (s, 1 H) 6.40 - 6.57 (m, 2 H) 6.77 (s, 1 H) 7.01 (d, J=8.24 Hz, 2 H) 7.13 (s, 1 H) 7.32 (d, J=8.24 Hz, 2 H) 7.40 (s, 1 H).

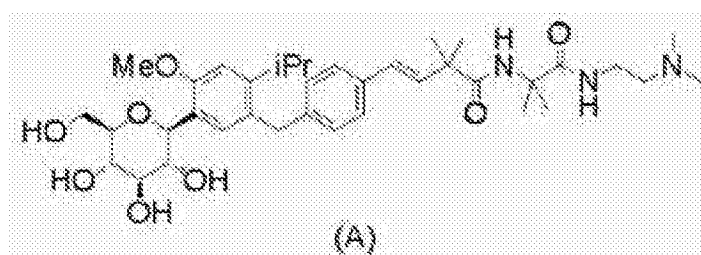
MS ESI/APCI Dual posi : 838[M+H]<sup>+</sup>.

MS ESI/APCI Dual nega : 872[M+Cl]<sup>-</sup>.

[0213] 参考例 5 化合物(A)的制备

[0214] 【化 16】

[0215]



[0216] 在化合物(E) (103mg, 0.12mmol)中加入三乙胺 / 水 / 甲醇(1/1/5, 2.5mL)。将反应混合物在室温下搅拌 17 小时,在减压条件下蒸馏除去溶剂。将得到的残渣用中性硅胶柱色谱法(氯仿→氯仿:甲醇=8:2)精制,得到无色无定形的化合物(A) (62.1mg, 75%)。

[0217]

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, METHANOL-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  ppm 1.07 (d, *J*=5.04 Hz, 3 H) 1.09 (d, *J*=5.04 Hz, 3 H) 1.36 (s, 6 H) 1.44 (s, 6 H) 2.23 (s, 6 H) 2.41 (t, *J*=6.88 Hz, 2 H) 3.10 (quin, *J*=6.76 Hz, 1 H) 3.26 - 3.30 (m, 2 H) 3.38 (d, *J*=5.96 Hz, 2 H) 3.45 - 3.52 (m, 1 H) 3.54 - 3.60 (m, 1 H) 3.62 - 3.69 (m, 1 H) 3.79 - 3.89 (m, 4 H) 3.99 (s, 2 H) 4.65 (d, *J*=9.63 Hz, 1 H) 6.39 (d, *J*=16.51 Hz, 1 H) 6.52 (d, *J*=16.51 Hz, 1 H) 6.88 (s, 1 H) 7.07 (d, *J*=8.25 Hz, 2 H) 7.23 (s, 1 H) 7.31 (d, *J*=8.25 Hz, 2 H).

MS ESI/APCI Dual posi : 670[M+H]<sup>+</sup>.

MS ESI/APCI Dual nega : 704[M+Cl]<sup>-</sup>.

Anal. Calcd for C<sub>27</sub>H<sub>39</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub> · 1.0H<sub>2</sub>O : C, 64.6; H, 8.36; N, 6.11. Found : C, 64.5; H, 8.31; N, 6.02.

[0218] 参考例 6 化合物(A)的精制

[0219] 将无色无定形的化合物(A) (9.88g, 纯度 96.0%)用中性硅胶柱色谱法(氯仿:甲醇 = 7:3 → 1:1)精制,得到无色无定形的化合物(A) (6.24g, 回收率 63%, 纯度 99.5%)。接着,再将无色无定形的化合物(A) (6.24g, 纯度 99.5%)用中性硅胶柱色谱法(氯仿:甲醇 = 7:3 → 3:7)精制,得到无色无定形的化合物(A) (3.31g, 回收率 53%, 纯度 99.9%)。

[0220] 实施例 1

[0221] 将无色无定形的化合物(A) (纯度 99.9%) 25mg 在室温下溶解于乙醇 0.08mL 后,在室温下搅拌 1 天,得到晶体。将该晶体在室温下减压干燥,得到无色的晶体 27mg(回收率 100%)。测定该晶体的粉末 X 射线衍射图及示差热分析 / 热重测定 (TG/DTA), 确认是化合物(A)的乙醇溶剂合物的晶体。

[0222] 实施例 2

[0223] 将无色无定形的化合物(A) (纯度 96.0%) 56g 在 66°C 下溶解于乙醇 135mL 后,在搅拌的同时加入庚烷 135mL, 冷却, 在 45°C 附近加入实施例 1 得到的化合物(A)的乙醇溶剂合物的晶体后,将温度降低至 1°C。过滤收集析出的晶体后,在 40°C 下减压干燥,得到无色的晶体 46g (回收率 82%, 纯度 99.1%)。测定该晶体的粉末 X 射线衍射图、示差热分析 / 热重测定 (TG/DTA) 和红外吸收光谱, 确认是化合物(A)的乙醇溶剂合物的晶体。

[0224]

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, METHANOL-*d*<sub>2</sub>)  $\delta$  ppm 1.06 (d, J=5.04 Hz, 3 H) 1.07 (d, J=5.50 Hz, 3 H) 1.15 (t, J=6.88 Hz, 3 H) 1.34 (s, 6 H) 1.43 (s, 6 H) 2.20 (s, 6 H) 2.37 (t, J=6.88 Hz, 2 H) 3.08 (quin, J=6.88 Hz, 1 H) 3.26 (t, J=6.88 Hz, 2 H) 3.28-3.30 (m, 4 H) 3.34 - 3.38 (m, 2 H) 3.43 - 3.49 (m, 1 H) 3.55 (t, J=9.17 Hz, 1 H) 3.58 (q, J=6.88 Hz, 2 H) 3.62 - 3.66 (m, 1 H) 3.78 - 3.85 (m, 4 H) 3.96 (s, 2 H) 4.63 (d, J=9.62 Hz, 1 H) 6.37 (d, J=16.50 Hz, 1 H) 6.50 (d, J=16.50 Hz, 1 H) 6.86 (s, 1 H) 7.05 (d, J=7.80 Hz, 2 H) 7.22 (s, 1 H) 7.29 (d, J=7.79 Hz, 2 H).

MS ESI/APCI Dual posi : 670[M+H]<sup>+</sup>.

MS ESI/APCI Dual nega : 704[M+Cl]<sup>-</sup>.

Anal. Calcd for C<sub>22</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub> · 0.6H<sub>2</sub>O : C, 64.94; H, 8.61; N, 5.83. Found: C, 64.75; H, 8.46; N, 5.82.

#### [0225] 实施例 3

[0226] 在化合物(A)的乙醇溶剂合物 0.10g 中加入磷酸盐缓冲液(磷酸二氢钠·2 水合物和磷酸氢二钠·12 水合物的混合液)(pH6.8) 600  $\mu$ L, 在 25°C 下悬浊 24 小时。离心分离(3000rpm, 25°C, 10 分)后, 除去上清液, 在室温下干燥, 得到无色的晶体。测定该晶体的粉末 X 射线衍射图及示差热分析 / 热重测定(TG/DTA), 确认为 A 型晶体。

#### [0227] 实施例 4

[0228] 在化合物(A)的乙醇溶剂合物 0.10g 中加入异丙基醚 / 甲醇(9/1)2mL, 使之悬浊, 在 25°C 下悬浊 1 周。离心分离(3000rpm, 25°C, 10 分)后, 除去上清液, 在室温下干燥, 得到无色的晶体。测定该晶体的粉末 X 射线衍射图及示差热分析 / 热重测定(TG/DTA), 确认为 B 型晶体。

#### [0229] 实施例 5

[0230] 在减压状态下将化合物(A)的 A 型晶体 1.00g 升温至 120°C 后, 取 0.5g, 加入己烷 / 乙酸乙酯(2/1)10mL, 使之悬浊, 在 65°C 下悬浊 8 小时。蒸馏除去悬浊液的溶剂后, 在室温下干燥, 得到无色的晶体。测定该晶体的粉末 X 射线衍射图及示差热分析 / 热重测定(TG/DTA), 确认为 C 型晶体。

#### [0231] 实施例 6

[0232] 在化合物(A)的乙醇溶剂合物 0.40g 中加入异丙基醚 / 甲醇(9/1) 10mL, 使之悬浊, 在 25°C 下悬浊 3 天。再追加异丙基醚 / 甲醇(9/1) 50mL 后, 在 25°C 下悬浊 6 天。离心分离(3000rpm, 25°C, 10 分)后, 除去上清液, 在室温下干燥, 得到无色的晶体。测定该晶体的粉末 X 射线衍射图及示差热分析 / 热重测定(TG/DTA), 确认为二水合物的晶体。

#### [0233] 试验例 1

[0234] (1) 稳定表达人 SGLT1 的 CHO-K1 细胞的制备

[0235] 将表达人 SGLT1 蛋白质的质粒载体,用 Lipofectamine 2000 (Invitrogen 公司) 转染到 CHO-K1 细胞。SGLT1 表达细胞在 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  浓度的遗传霉素 (Geneticin) 存在下培养,选择耐性株,通过下述体系获得糖摄取能力作为指标。

[0236] (2) 稳定表达人 SGLT2 的 CHO-K1 细胞的制备

[0237] 方法 A (W02007/136116 记载的方法):将表达人 SGLT2 羧基末端的最终残基上添加了 LeuGluSerArgGly ProVal 的蛋白质的质粒载体,用 Lipofectamine2000(Invitrogen 公司) 转染到 CHO-K1 细胞。SGLT2 表达细胞在 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  浓度的潮霉素 B 存在下培养,选择耐性株,通过下述体系获得糖摄取能力作为指标。使用该稳定表达细胞计算出的结果在表 1 中作为方法 A 示出。

[0238] 方法 B :将表达人 SGLT2 蛋白质的质粒载体,用 Lipofectamine LTX (Invitrogen 公司)转染至 CHO-K1 细胞。SGLT2 表达细胞在 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  浓度的遗传霉素存在下培养,选择耐性株,通过下述体系获得糖摄取能力作为指标。使用该稳定表达细胞计算出的结果在表 1 中作为方法 B 示出。

[0239] (3) 稳定表达细胞的钠依赖性糖摄取抑制试验

[0240] 使用上述制备的稳定表达细胞进行下述试验。

[0241] 将前处理用缓冲液(140mM 氯化胆碱、2mM KCl、1mM  $\text{CaCl}_2$ 、1mM  $\text{MgCl}_2$ 、10mM HEPES/5mM Tris、pH7.4) 200  $\mu\text{L}$  加入 SGLT1 稳定表达细胞,或者将 2mL 加入各 SGLT2 稳定表达细胞,温育 20 分钟。除去前处理用缓冲液,加入含有试验化合物的摄取用缓冲液(含有 [ $^{14}\text{C}$ ] 甲基  $\alpha$ -D- 吡喃葡萄糖苷的甲基  $\alpha$ -D- 吡喃葡萄糖苷(1mM)、140mM NaCl、2mM KCl、1mM  $\text{CaCl}_2$ 、1mM  $\text{MgCl}_2$ 、10mM HEPES/5mM Tris、pH7.4) 75  $\mu\text{L}$  (SGLT1 的情形) 或者 200  $\mu\text{L}$  (SGLT2 的情形),在 37 $^\circ\text{C}$  下进行摄取反应 30 分钟(SGLT1) 或者 60 分钟(SGLT2)。反应后用洗涤用缓冲液(10mM 甲基  $\alpha$ -D- 吡喃葡萄糖苷、140mM 氯化胆碱 2mM KCl、1mM  $\text{CaCl}_2$ 、1mM  $\text{MgCl}_2$ 、10mM HEPES/5mM Tris、pH7.4) 200  $\mu\text{L}$  (SGLT1 的情形) 或者 2mL (SGLT2 的情形) 将细胞洗涤 2 次,溶于 0.25M NaOH 溶液 75  $\mu\text{L}$  (SGLT1 的情形) 或者 400  $\mu\text{L}$  (SGLT2 的情形)。加入液体闪烁体(Perkin Elmer 公司),充分混和后,使用  $\beta$  线测定装置,测定放射活性。作为对照组,配制不含有试验化合物的摄取用缓冲液。另外,作为基础摄取用,配制含有氯化胆碱代替 NaCl 的摄取用缓冲液。

[0242] 在求  $\text{IC}_{50}$  值时,使用适当的 6 种浓度的试验化合物,计算出相对于对照组的糖摄取量(100%),糖摄取量被 50% 抑制的试验化合物浓度( $\text{IC}_{50}$  值)。试验结果如表 1 所示。

[0243] 【表 1】

[0244]

化合物	对 hSGLT1 的 $\text{IC}_{50}$ (nM)	对 hSGLT2 的 $\text{IC}_{50}$ (nM) 方法A	对 hSGLT2 的 $\text{IC}_{50}$ (nM) 方法B
(A)	29	1276	20

[0245] 表 1 表明化合物(A)具有强的 SGLT1 抑制活性,且 SGLT2 抑制活性虽然弱,但仍具有某种程度的活性。

[0246] 以下给出化合物(A)相对于类似结构化合物的优越性。

[0247] 试验例 2 链脲佐菌素糖尿病模型大鼠的血糖值上升抑制作用确认试验

[0248] (1) 糖尿病模型大鼠的制备

[0249] 对 7 周龄的 SD/IGS 大鼠(日本 Charles River 株式会社, 雄性)断食约 16 小时后, 在乙醚麻醉下, 将链脲佐菌素(STZ) 50mg/kg 尾静脉内给药, 制作糖尿病模型大鼠。同样在乙醚麻醉下, 将 1.25mmol/L 枸橼酸生理盐水 1mL/kg 尾静脉内给药, 制作正常对照大鼠。STZ 或 1.25mmol/L 枸橼酸生理盐水给药 1 周后(8 周龄), 用于口服葡萄糖负荷试验。

[0250] (2) 口服葡萄糖负荷试验

[0251] 给大鼠断食约 16 小时后, 药物给药组口服给予溶解于 0.5% 羧甲基纤维素钠(CMC) 水溶液中的药物(1mg/kg), 对照组仅口服给予 0.5%CMC 水溶液。药物给药 5 分钟后, 口服给予葡萄糖溶液(2g/kg), 在药物给药前(0time) 以及口服给药 0.25、0.5、1、2 小时后共计 5 个时间点取血。

[0252] 取血在乙醚麻醉下由大鼠尾静脉使用肝素涂层采血管进行, 离心分离后, 分离收集血浆。血浆中葡萄糖浓度的定量使用葡萄糖 CII-test Wako (和光纯药株式会社) 进行测定。血糖值上升抑制作用强度, 由各药物给药组的 0 至 1 小时的血糖值采用梯形法计算出血糖值-时间曲线下面积(AUC), 减去 basal, 作为血糖增加面积( $\Delta$  AUC), 用相对于对照组的血糖增加面积的降低比例表示。

[0253] 结果如表 2 和表 3 所示。

[0254] 试验例 3

[0255] (1) W02007/136116 公开的化合物口服给药后 1 周的肾脏中浓度变化

[0256] 向 7 周龄的 SD/IGS 大鼠(日本 Charles River 株式会社, 雄性、非断食)口服给予用 0.5%CMC 水溶液配制的化合物 4、10、33 (各 1mg/kg) 以及化合物 11 (0.3mg/kg)。药物给药后 24、72、168 小时在乙醚麻醉下, 由后腔静脉放血, 确认安乐死后摘除肾脏。用生理盐水洗涤组织表面后, 测定重量, 加入 4 倍量的净化水, 在冰冷条件下匀化。在匀浆中加入含有内标物的乙腈/甲醇溶液, 除蛋白后, 将上清液供于 LC-MS/MS (Applied Biosystems API3000)。通过选择反应监测检测出用阳离子型的电喷雾离子化法生成的来源于药物的离子。由得到的萃取离子色谱的峰面积采用内标法计算出匀浆中药物浓度。

[0257] 其中, 化合物 10 和 33 的内标物使用(1S)-1,5-脱水-1-[5-(4-乙氧基苯基)-2-甲氧基-4-甲基苯基]-1-硫代-D-山梨醇, 乙基-D<sub>5</sub>, 化合物 4 和 11 的内标物分别使用化合物 11 和化合物 11 氘标记物(三羟基甲基-D<sub>6</sub>; -C(CD<sub>2</sub>OH)<sub>3</sub>)。

[0258] 实验结果如表 2 所示。

[0259] (2) 本发明化合物(A) 反复口服给药 3 天后的肾脏中浓度

[0260] 向 7 周龄的 SD/IGS 大鼠(日本 Charles River 株式会社, 雄性、非断食)1 日 1 次连续 3 日口服给予用 0.5%CMC 水溶液配制的化合物(A) (3mg/kg)。最后一天给药后 48 小时在异氟烷麻醉下, 由后腔静脉放血, 确认安乐死后摘除肾脏。用生理盐水洗涤组织表面后, 测定重量, 加入 4 倍量的净化水, 在冰冷条件下匀化。匀浆中药物浓度的测定按照与上述试验例 3 之(1) 相同的方法使用上述化合物 11 作为内标物, 采用 LC-MS/MS 进行。

[0261] 实验结果如表 3 所示。

[0262] 【表 2】

[0263] 现有技术化合物的糖负荷试验结果及肾脏内浓度



[0264]

WO2007/136116 中的化合物编号	STZ 大鼠 OGTT <sup>a</sup> % 抑制 $\Delta AUC_{0-1h}$ (mg/dl) @1 mg/kg/po	给雄性Sprague-Dawley大鼠以1mg/kg的剂量单 次口服给药后化合物在肾脏中的浓度		
		1天后 (ng/g)	3天后 (ng/g)	7天后 (ng/g)
化合物4	51	68.4 ± 7.49	85.5 ± 23.1	76.3 ± 15.5
化合物10	69	167 ± 36.3	124 ± 12.2	53.8 ± 7.6
化合物11	68	63.5 ± 20.1 <sup>*</sup>	67.3 ± 3.15 <sup>*</sup>	48.7 ± 18.3 <sup>*</sup>
化合物33	81 <sup>*</sup>	29.8 ± 6.79	25.5 ± 8.68	16.2 ± 3.11

[0265] \* 该值表示化合物 11 以 0.3mg/kg 口服给药时平均值 ± S. D.

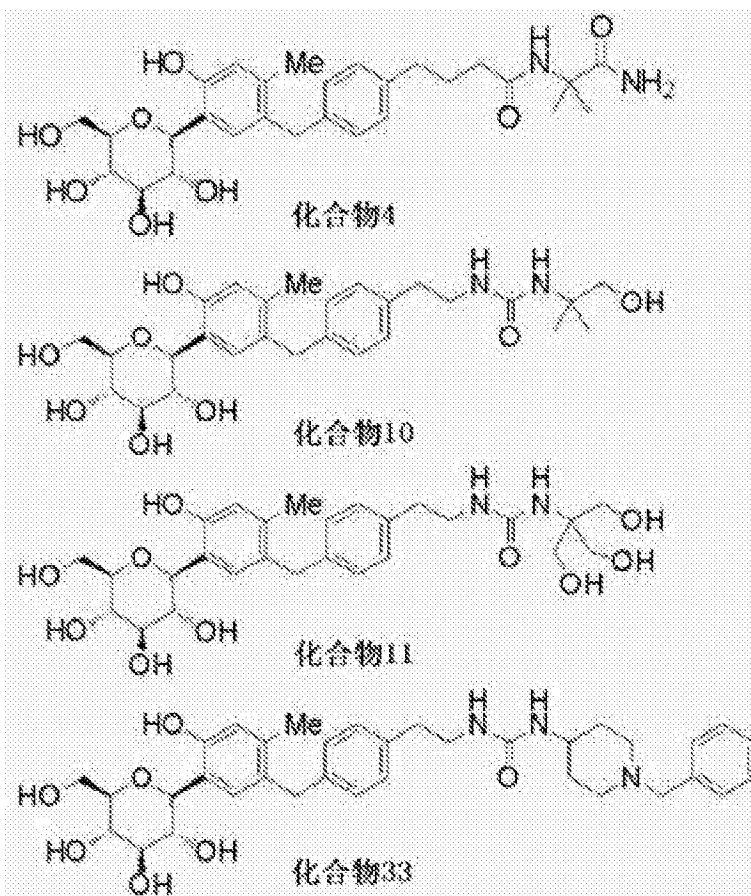
[0266] \* 在以 1mg/kg 的剂量口服后, 链脲佐菌素 (STZ) 诱导的糖尿病大鼠的葡萄糖  $AUC_{0-1h}$  相对于赋形剂对照组的抑制

[0267] \* OGTT 使用 Sprague-Dawley 大鼠。

[0268] WO2007/136116 中公开的化合物 4、10、11 和 33 的结构如下所示。

[0269] 【化 17】

[0270]



[0271] 【表 3】

[0272]

化合物	STZ 大鼠 OGTT* %抑制 $\Delta AUC_{0-1h}$ (mg/dl) @ 1 mg/kg/po	对雄性Sprague-Dawley大鼠以3mg/kg 的剂量连续3天口服给药后化合物在肾脏 中的浓度 3天后 (ng/g)
(A)	65	ND

[0273] \*以 1mg/kg 的剂量口服后, STZ 诱导的糖尿病大鼠的葡萄糖  $AUC_{0-1h}$  相对于赋形剂对照组的抑制

[0274] \*ND (not determined) 表示检测限 (5ng/g)。

[0275] W02007/136116 中公开的化合物在口服给药 1mg/kg 后的糖负荷试验中, 显示强的降血糖作用。但是, 口服给药 1mg/kg 后, 化合物由肾脏中消失的速度缓慢, 即使在 7 天后仍可见化合物未排泄出, 还残留在肾脏的趋势(表 2)。

[0276] 另一方面, 化合物(A)具有与上述现有技术化合物同样强的降血糖作用。另外, 尽管以 3mg/kg 的用量连续给药 3 天, 给药 2 日后意外地显示出化合物没有在肾脏残留的特征(表 3)。

[0277] 作为这种差异的原因, 认为是由于化合物(A)在体内被吸收的情况下会迅速排泄出去, 而不会残留在肾脏。

[0278] 因此, 认为化合物(A)没有体内残留性, 具有作为连续给药引起的副作用和毒性小的药品实用性优良的性质。

[0279] 工业实用性

[0280] 本发明的(1S)-1,5-脱水-1-[5-(4-{{(1E)-4-[(1-{{[2-(二甲基氨基)乙基]氨基}-2-甲基-1-氧代丙烷-2-基]氨基]-3,3-二甲基-4-氧代丁-1-烯-1-基}苯甲基)-2-甲氧基-4-(丙烷-2-基)苯基]-D-山梨醇的晶体, 具有优良的保存稳定性及其他物理性质, 作为药品原药有用, 且适于工业生产。

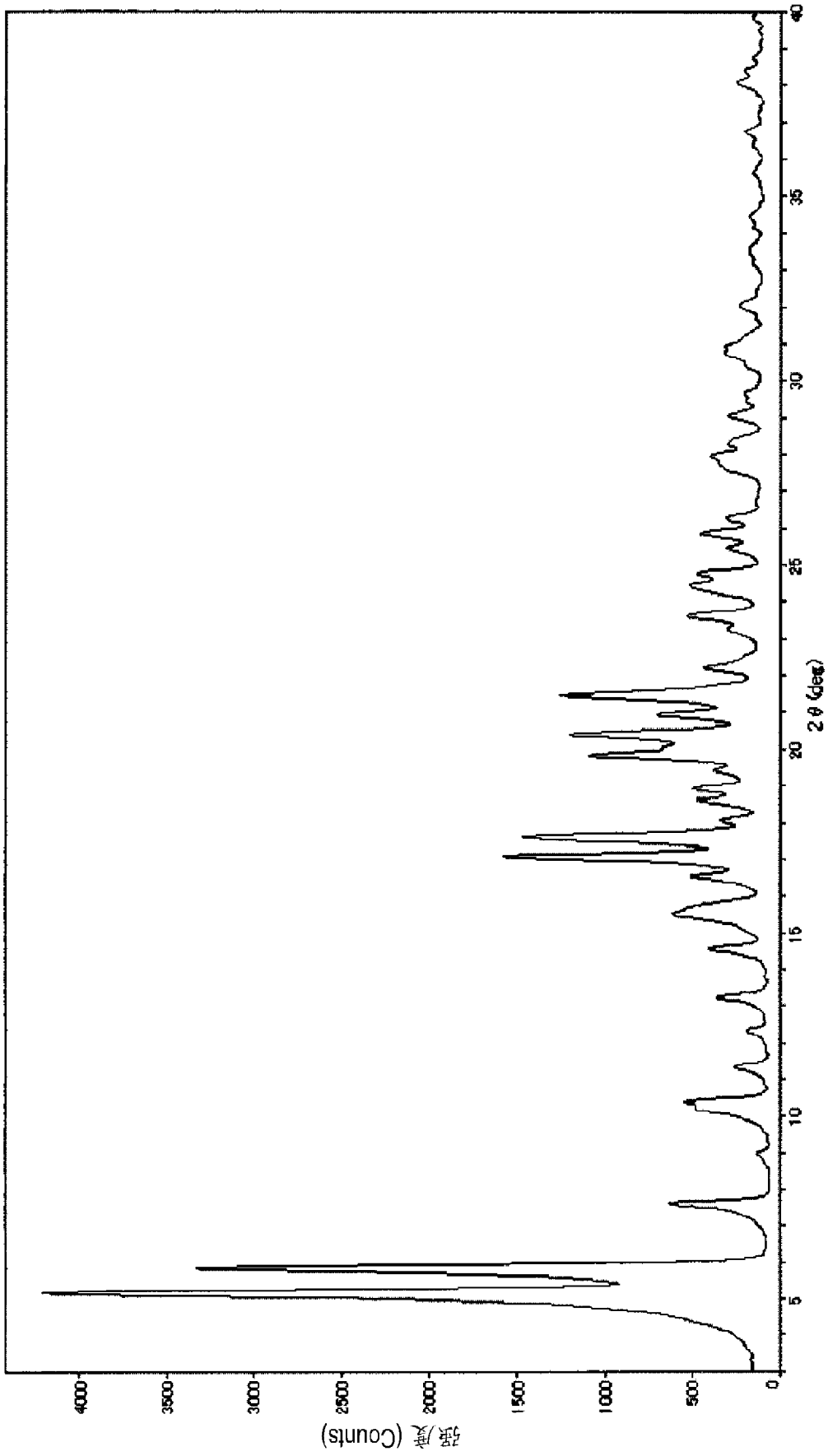


图 1

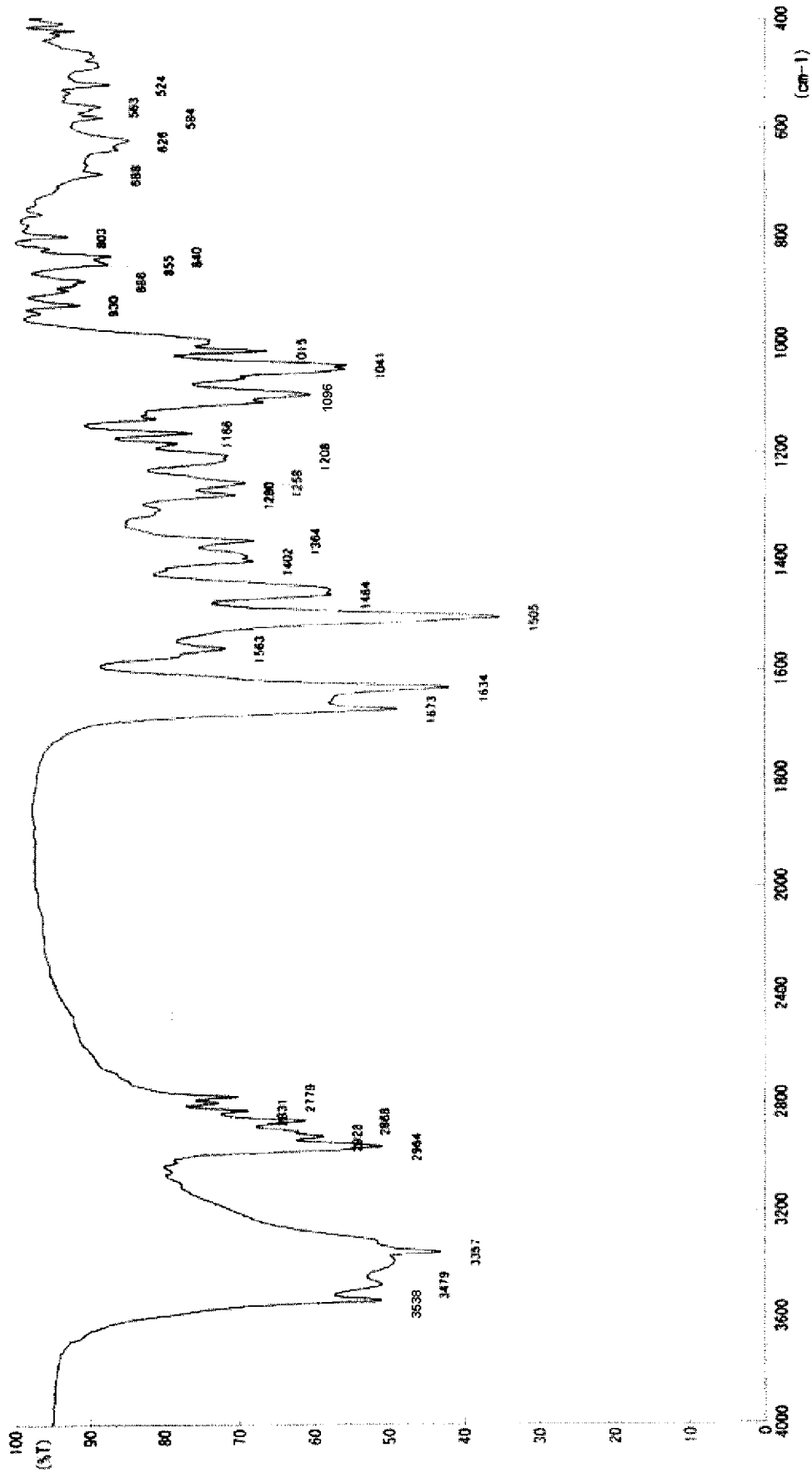


图 2

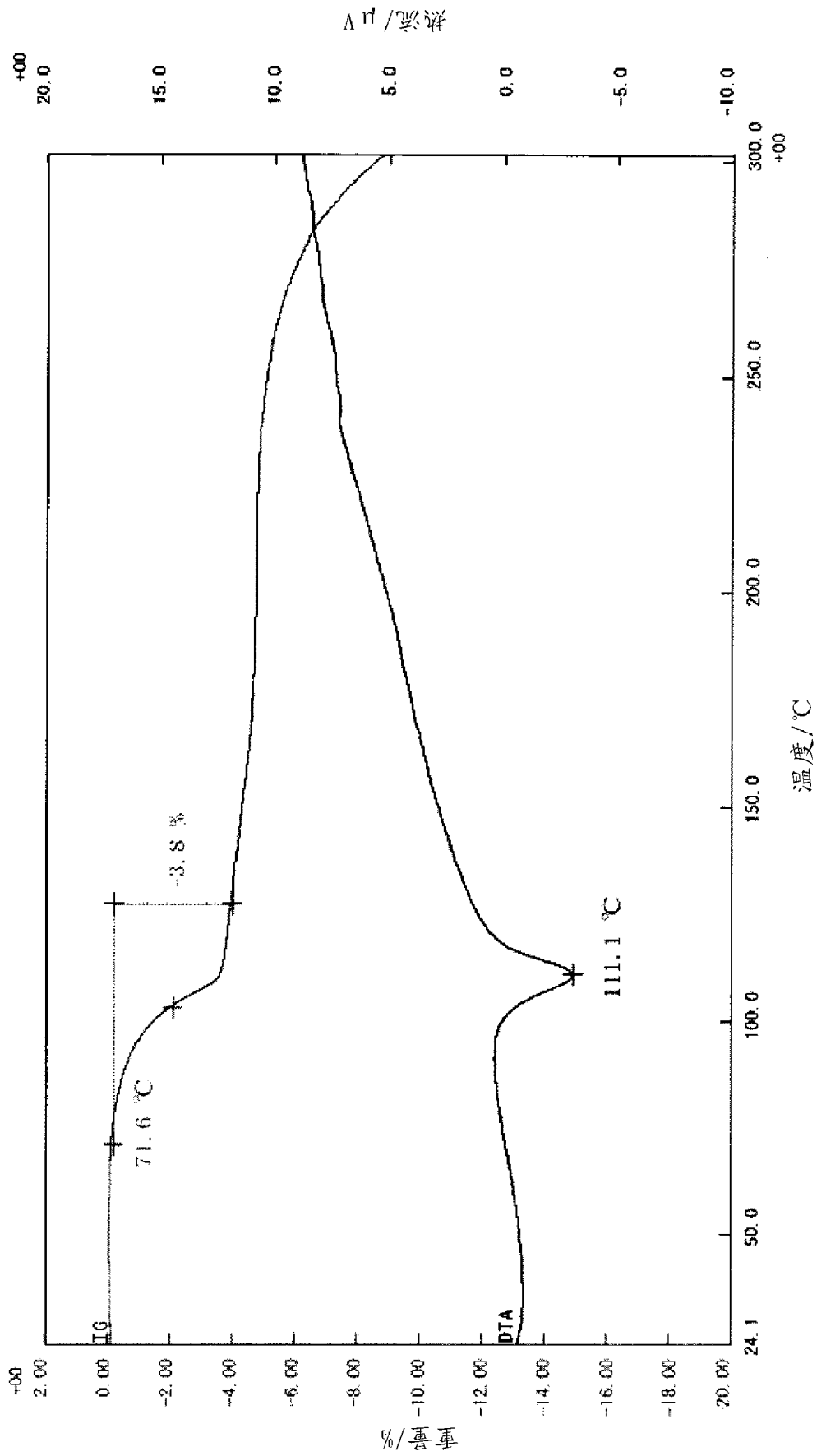


图 3

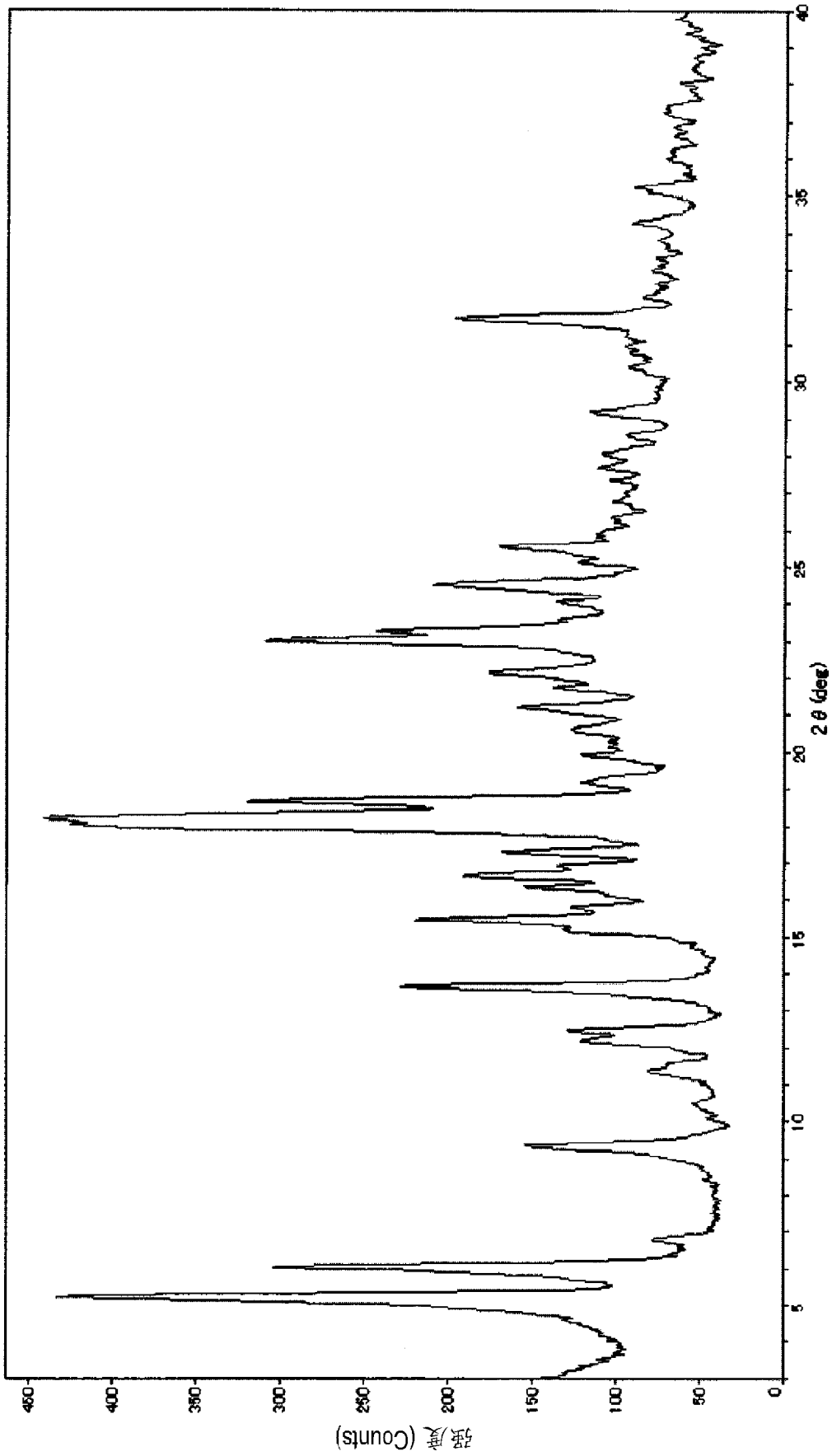


图 4

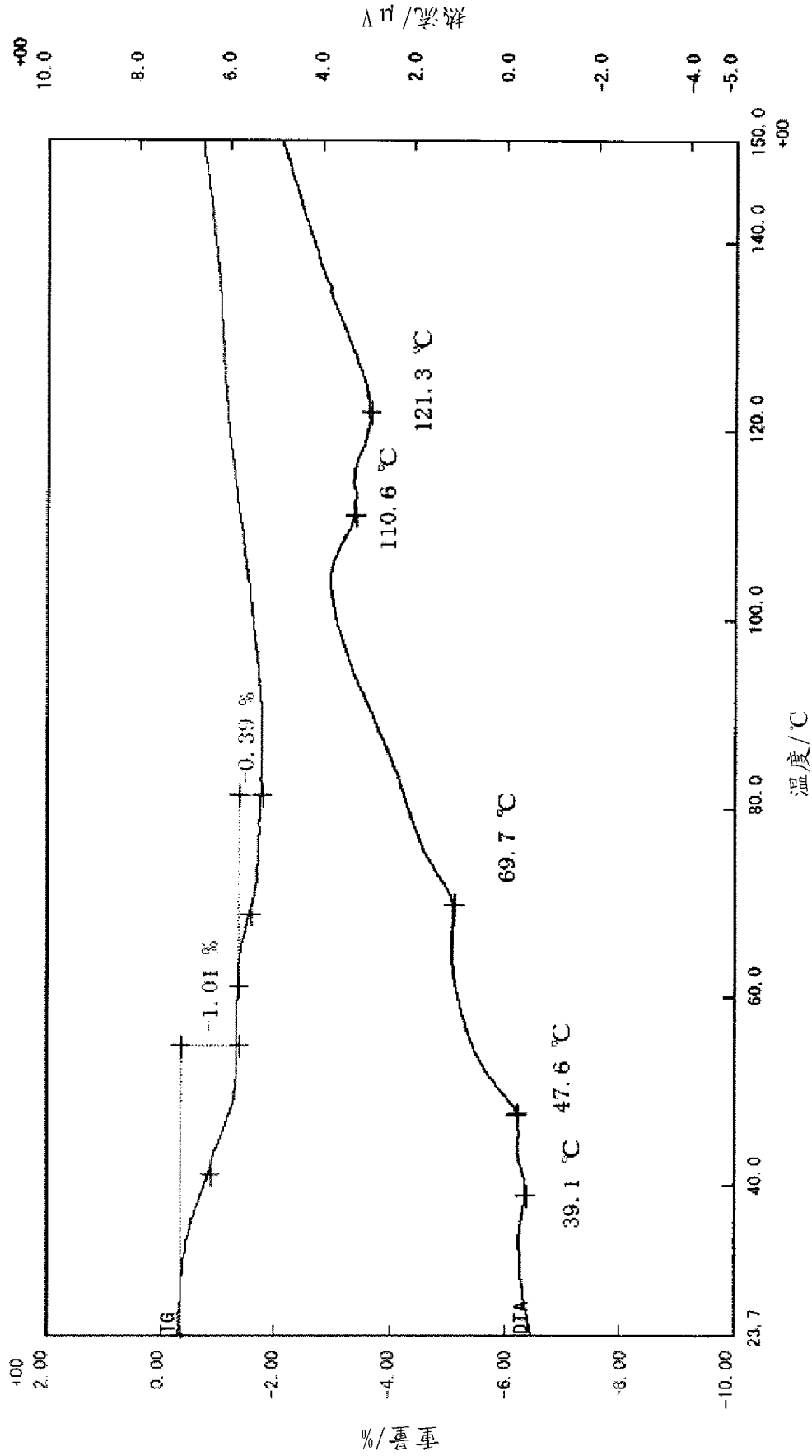


图 5

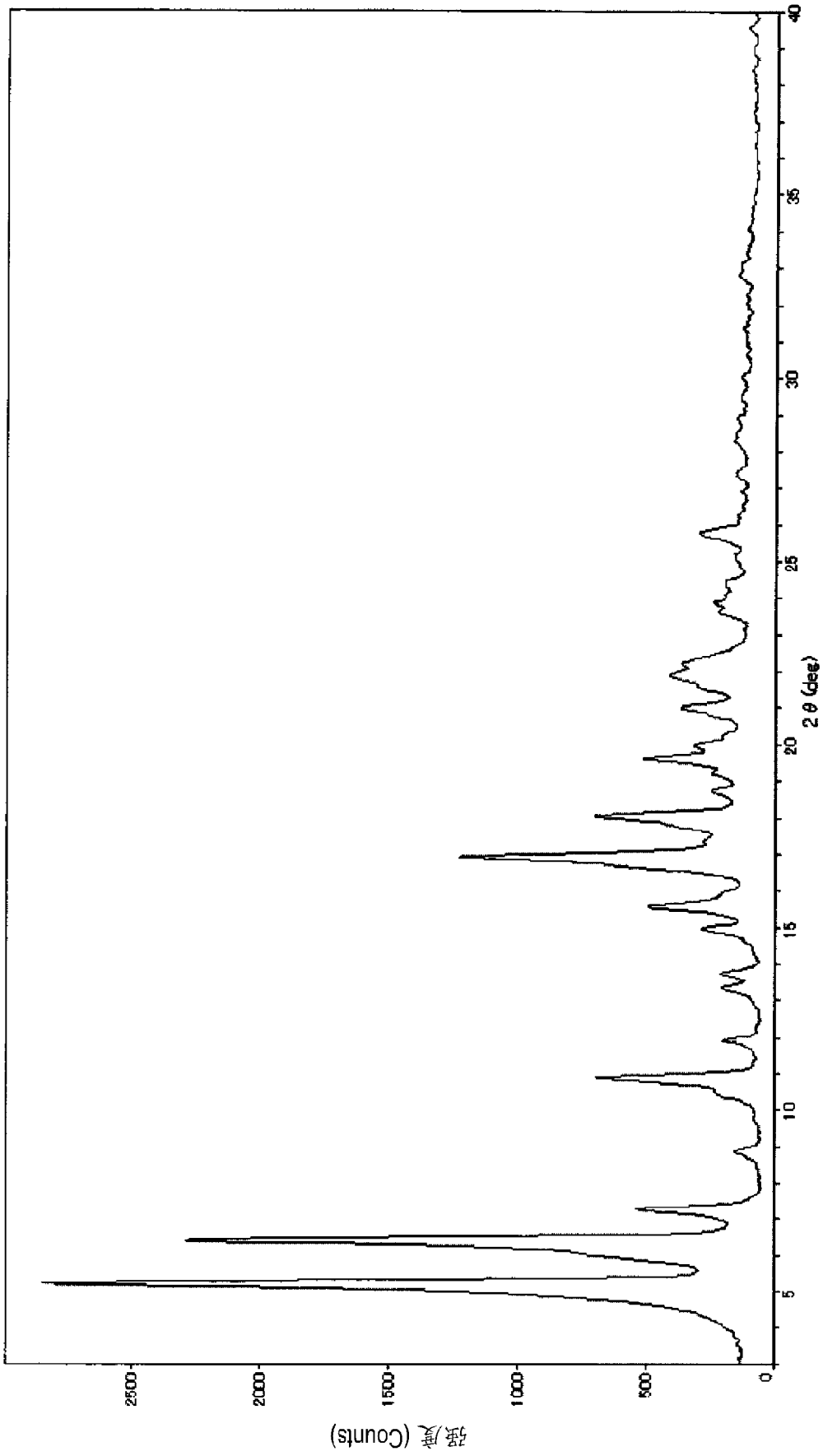


图 9



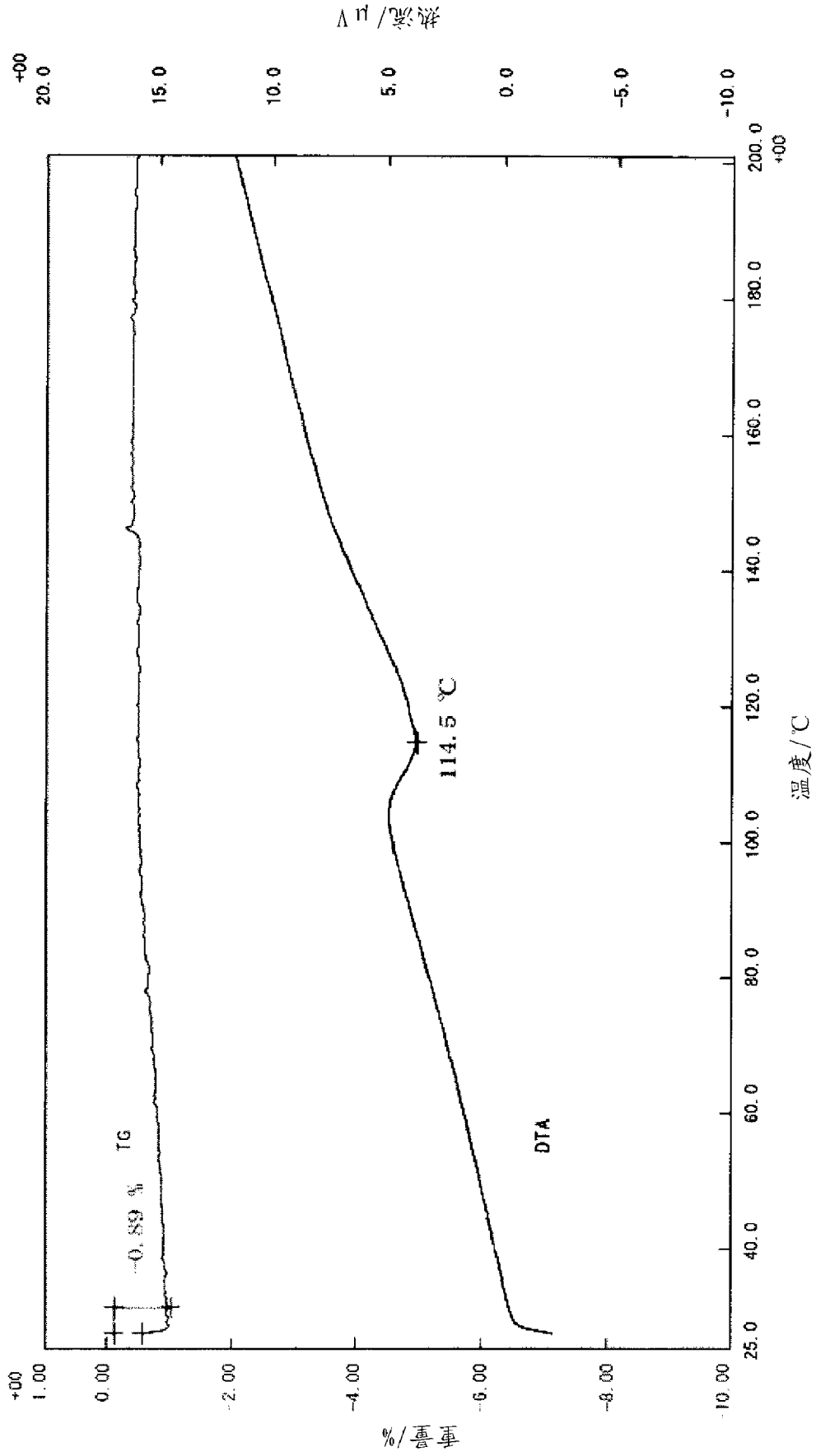


图 7

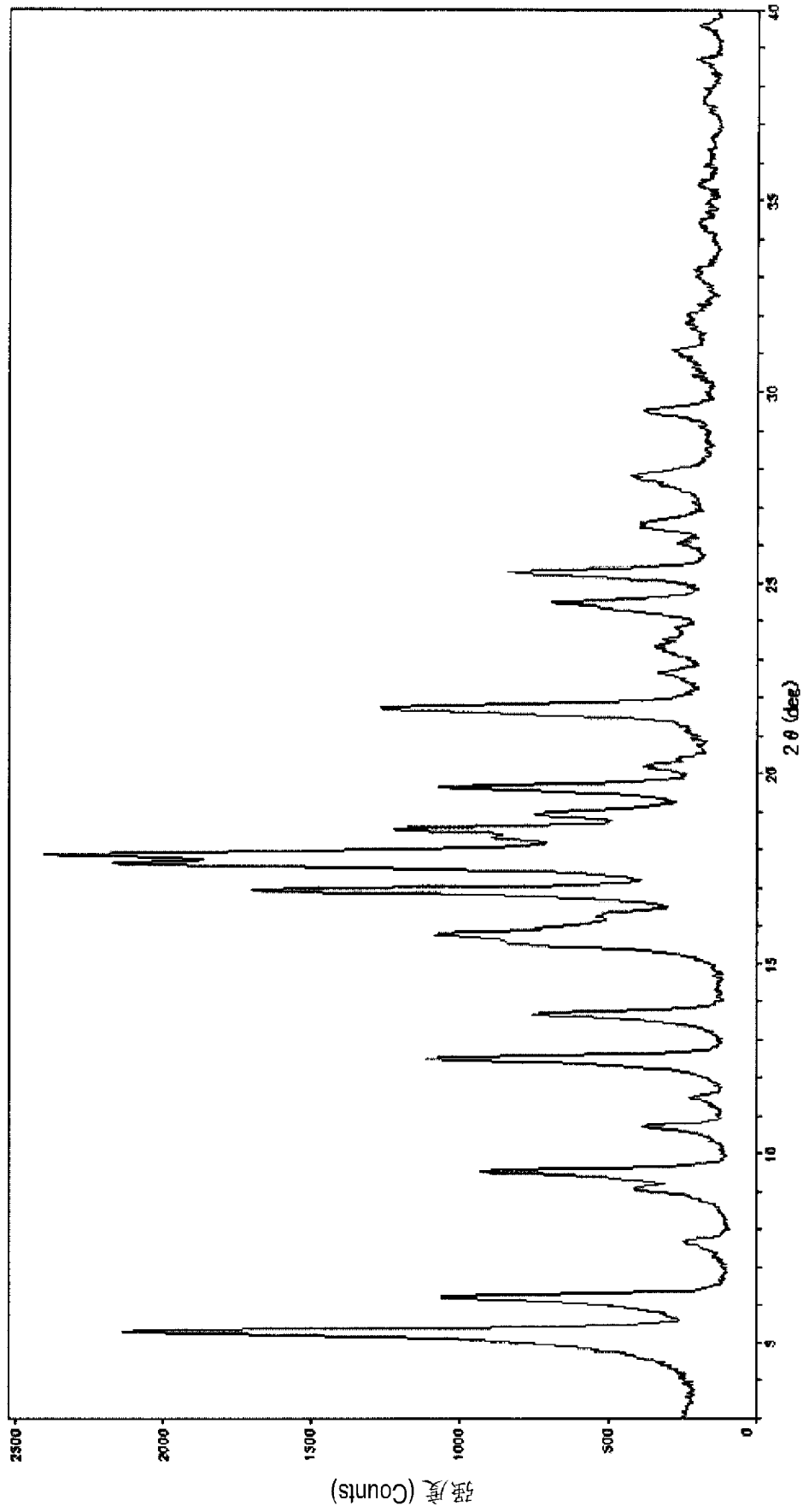


图 8

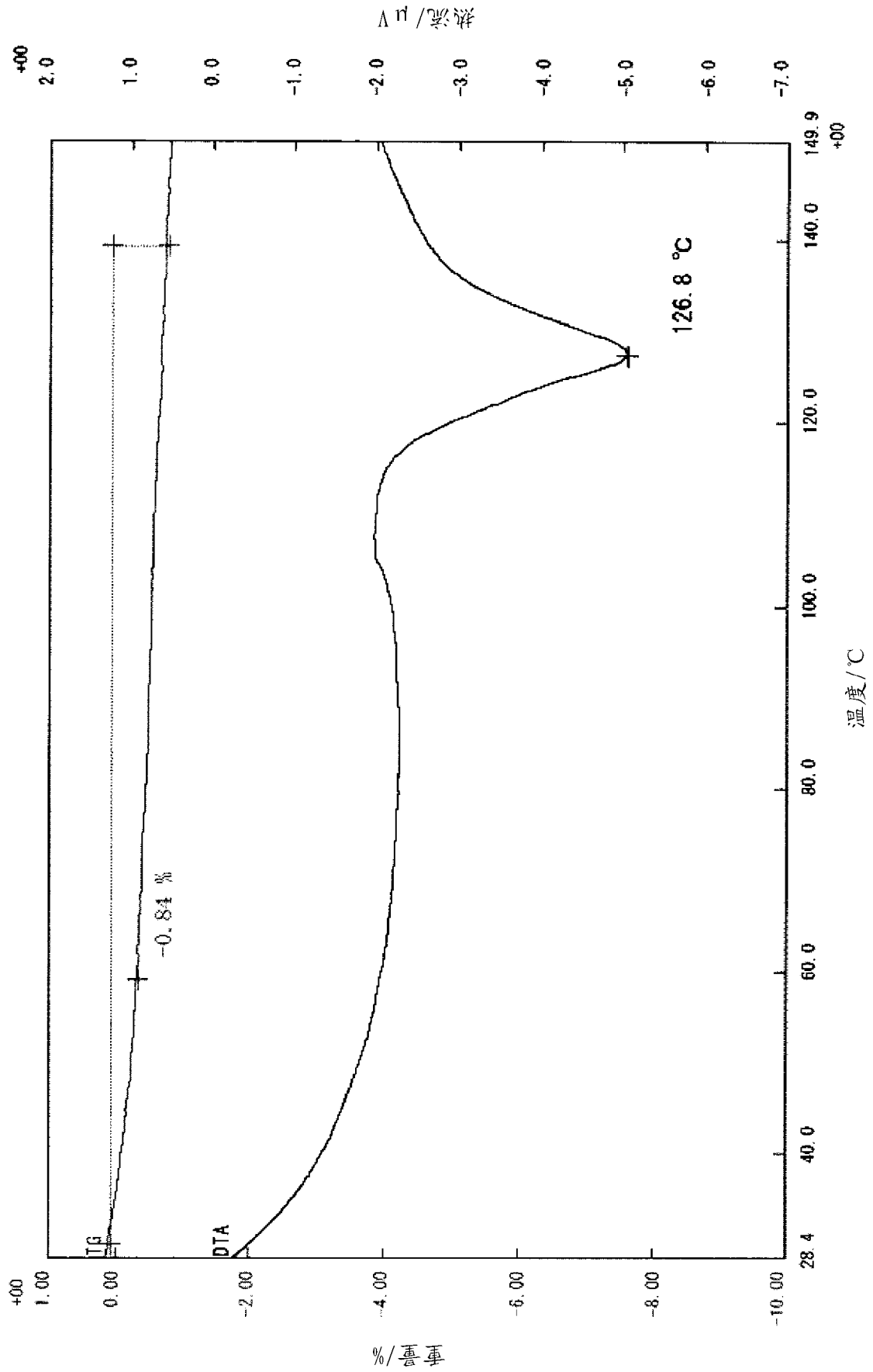


图 9

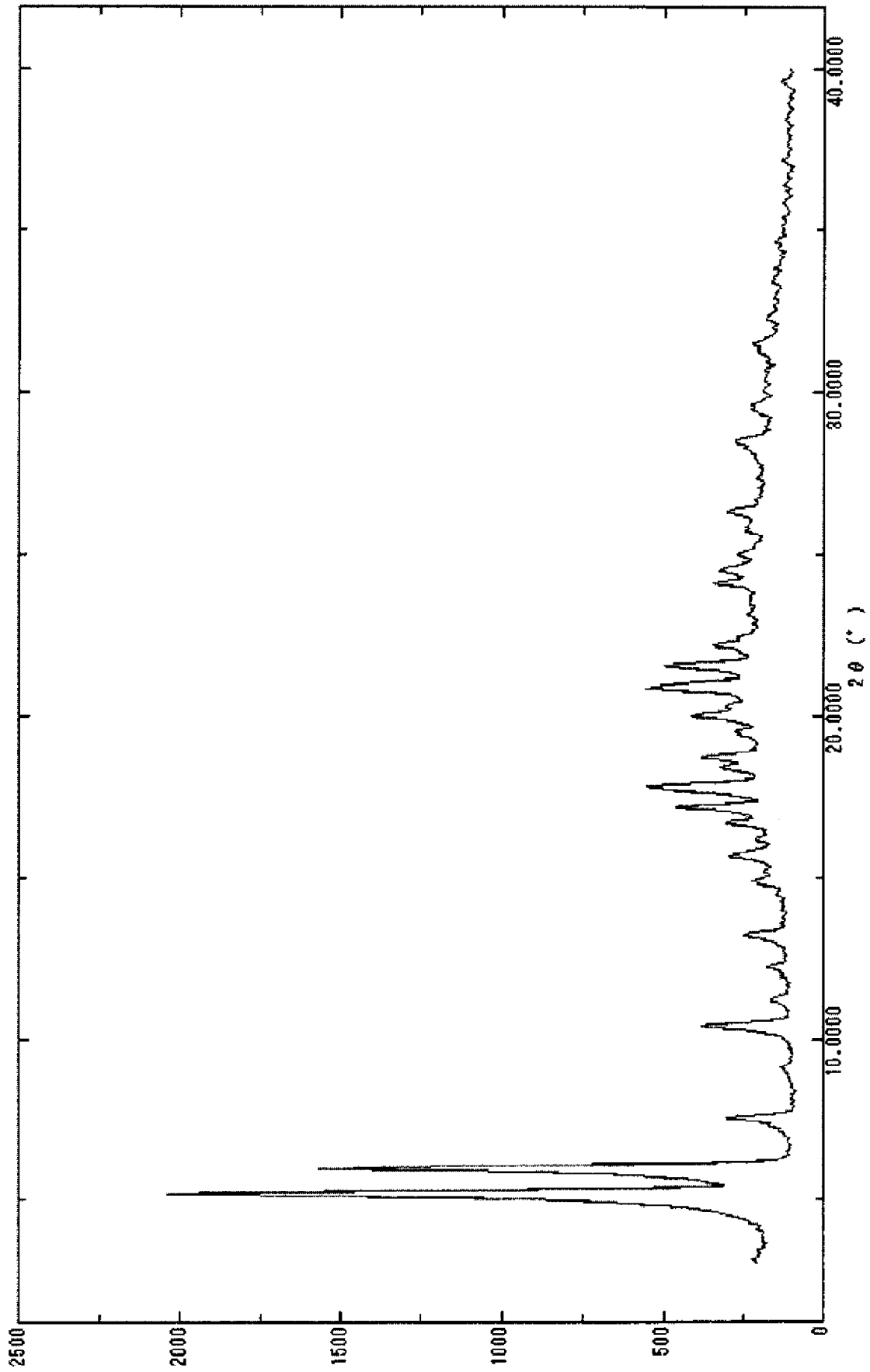


图 10

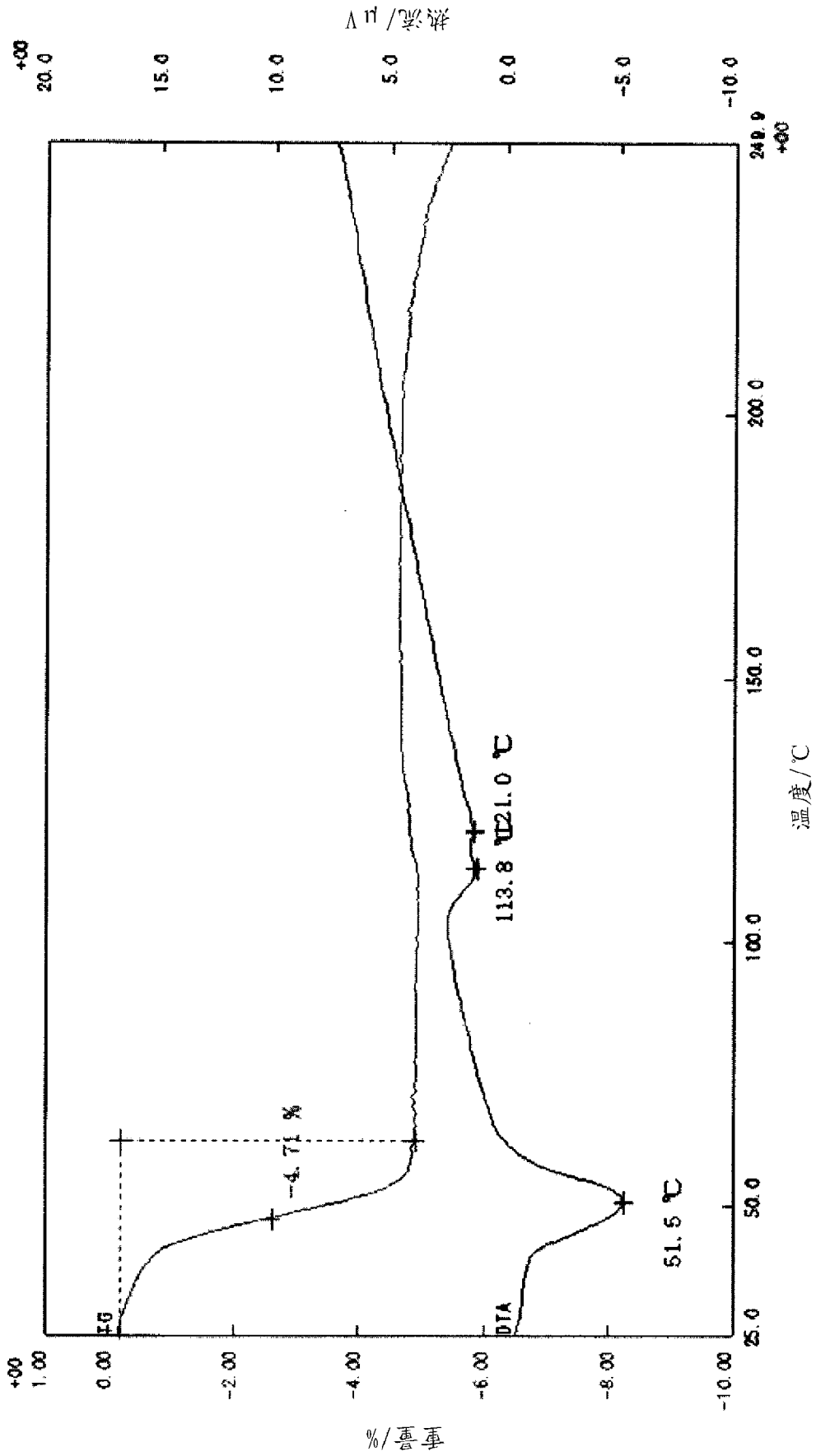


图 11