



(19)대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

| | | |
|--|-------------------------------------|--|
| (51) 。 Int. Cl. C07H 15/203 (2006.01) | (45) 공고일자 (11) 등록번호 (24) 등록일자 | 2006년12월22일 10-0660738 2006년12월18일 |
|--|-------------------------------------|--|

| | | | |
|-------------|-------------------|-------------|-----------------|
| (21) 출원번호 | 10-2002-7012263 | (65) 공개번호 | 10-2002-0086649 |
| (22) 출원일자 | 2002년09월17일 | (43) 공개일자 | 2002년11월18일 |
| 심사청구일자 | 2005년03월04일 | | |
| 번역문 제출일자 | 2002년09월17일 | | |
| (86) 국제출원번호 | PCT/JP2001/002041 | (87) 국제공개번호 | WO 2001/68660 |
| 국제출원일자 | 2001년03월15일 | 국제공개일자 | 2001년09월20일 |

(81) 지정국

국내특허 : 아랍에미리트, 안티구와바부다, 알바니아, 아르메니아, 오스트리아, 오스트레일리아, 아제르바이잔, 보스니아 헤르체고비나, 바베이도스, 불가리아, 브라질, 벨라루스, 벨리제, 캐나다, 스위스, 중국, 콜롬비아, 코스타리카, 쿠바, 체코, 독일, 덴마크, 도미니카, 알제리, 에스토니아, 스페인, 핀란드, 영국, 그라나다, 그루지야, 가나, 감비아, 크로아티아, 헝가리, 인도네시아, 이스라엘, 인도, 아이슬랜드, 일본, 케냐, 키르기스스탄, 북한, 대한민국, 카자흐스탄, 세인트루시아, 스리랑카, 리베이라, 레소토, 리투아니아, 룩셈부르크, 라트비아, 모로코, 몰도바, 마다가스카르, 마케도니아공화국, 몽고, 말라위, 멕시코, 모잠비크, 노르웨이, 뉴질랜드, 폴란드, 포르투갈, 루마니아, 러시아, 수단, 스웨덴, 싱가포르, 슬로베니아, 슬로바키아, 시에라리온, 타지키스탄, 투르크멘, 터키, 트리니다드토바고, 탄자니아, 우크라이나, 우간다, 미국, 우즈베키스탄, 베트남, 세르비아 앤 몬테네그로, 남아프리카, 짐바브웨,

AP ARIPO특허 : 가나, 감비아, 케냐, 레소토, 말라위, 모잠비크, 수단, 시에라리온, 스와질랜드, 탄자니아, 우간다, 짐바브웨,

EA 유라시아특허 : 아르메니아, 아제르바이잔, 벨라루스, 키르기스스탄, 카자흐스탄, 몰도바, 러시아, 타지키스탄, 투르크멘,

EP 유럽특허 : 오스트리아, 벨기에, 스위스, 사이프러스, 독일, 덴마크, 스페인, 핀란드, 프랑스, 영국, 그리스, 아일랜드, 이탈리아, 룩셈부르크, 모나코, 네덜란드, 포르투갈, 스웨덴, 터키,

OA OAPI특허 : 부르키나파소, 베닌, 중앙아프리카, 콩고, 코트디부아르, 카메룬, 가봉, 기니, 기니 비사우, 말리, 모리타니, 니제르, 세네갈, 차드, 토고,

(30) 우선권주장 JP-P-2000-00077304 2000년03월17일 일본(JP)

(73) 특허권자 깃세이 야쿠힌 고교 가부시기가이샤
일본 399 나가노켄 마츠모토시 요시노 19만 48고

(72) 발명자 후지쿠라 히데키
일본 390-0851 나가노켄 마츠모토시 오아자 시마우치 4152-1 모단타
파레스 모치즈키 101

 후시미 노부히코
일본 390-0313 나가노켄 마츠모토시 오카다시모오카다 89-6

니시무라 도시히로
일본 399-8304 나가노켄 미나미아즈미군 호타카마치 오아자 가시와바
라 4511

다타니 가즈야
일본 390-0805 나가노켄 마츠모토시 시미즈 1-3-5 산스시 21 -203

가츠노 겐지
일본 399-0601 나가노켄 가미이나군 다츠노마치 오아자 오노 272-1

히라토치 마사히로
일본 399-6101 나가노켄 기소군 히요시무라 5029

도쿠타케 요시키
일본 도쿄도 고타이라시 메구리타쵸 188-1 메존 고토부키 10 4코시쓰

이사지 마사유키
일본 399-0704 나가노켄 시오지리시 히로오카고바라 1763-18 9

(74) 대리인 김정옥
 박중혁
 정삼영

심사관 : 김란

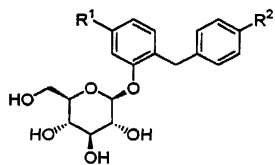
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 글루코피라노실록시 벤질벤젠 유도체, 그것을 함유하는의약조성물 및 그 제조중간체

(57) 요약

본 발명은, 우수한 사람 SGLT2 활성 저해작용을 가지고, 당뇨병, 비만증 등의 예방 또는 치료제로서 유용한, 화학식 I

(화학식 I)

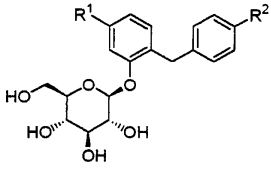


(식중 R¹은 수소원자 또는 히드록시 저급알킬기이고, R²는 저급알킬기, 저급알콕시기, 저급알킬티오기, 히드록시 저급알킬기, 히드록시 저급알콕시기, 히드록시 저급알킬티오기 등이다)로 표시되는 글루코피라노실록시 벤질벤젠 유도체 및 그 염, 또 그 제조중간체에 관한 것이다.

특허청구의 범위

청구항 1.

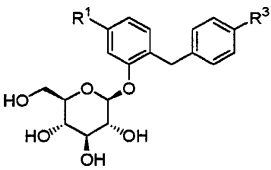
다음 화학식으로 표시되는 글루코피라노실록시 벤질벤젠 유도체 또는 그 약리학적으로 허용되는 염.



(식중 R¹은 수소원자 또는 히드록시 저급알킬기이고, R²는 저급알킬기, 저급알콕시기, 저급알킬티오기, 히드록시 저급알킬기, 히드록시 저급알콕시기 또는 히드록시 저급알킬티오기이다)

청구항 2.

제 1 항에 있어서, 다음 화학식으로 표시되는 것을 특징으로 하는 글루코피라노실록시 벤질벤젠 유도체 또는 그 약리학적 으로 허용되는 염.



(식중 R¹은 수소원자 또는 히드록시 저급알킬기이고, R³은 저급알킬기, 저급알콕시기 또는 히드록시 저급알킬기이다)

청구항 3.

삭제

청구항 4.

삭제

청구항 5.

제 1 항 또는 제 2 항에 기재된 글루코피라노실록시 벤질벤젠 유도체 또는 그 약리학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 하여 이루어지는, 당뇨병 또는 당뇨병성 합병증의 예방 또는 치료제인 것을 특징으로 하는 의약조성물.

청구항 6.

제 1 항 또는 제 2 항에 기재된 글루코피라노실록시 벤질벤젠 유도체 또는 그 약리학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 하여 이루어지는, 비만증의 예방 또는 치료제인 것을 특징으로 하는 의약조성물.

청구항 7.

삭제

청구항 8.

삭제

청구항 9.

삭제

청구항 10.

삭제

청구항 11.

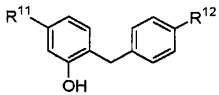
삭제

청구항 12.

삭제

청구항 13.

다음 화학식으로 표시되는 벤질페놀 유도체 또는 그 염.



(식중 R¹¹은 수소원자 또는 보호기를 갖는 히드록시 저급알킬기이고, R¹²는 저급알킬기, 저급알콕시기, 저급알킬티오기, 보호기를 갖는 히드록시 저급알킬기, 보호기를 갖는 히드록시 저급알콕시기 또는 보호기를 갖는 히드록시 저급알킬티오기 이고, 단, R¹¹이 수소원자인 경우는 R¹²가 메틸기, 에틸기, 이소프로필기, *tert*-부틸기 또는 메톡시기가 아니다)

명세서

기술분야

본 발명은, 의약품으로서 유용한 글루코피라노실록시 벤질벤젠 유도체 또는 그 약리학적으로 허용되는 염, 그것을 함유하는 의약조성물 및 그 제조중간체에 관한 것이다.

배경기술

당뇨병은 식생활의 변화나 운동부족을 배경으로 한 생활습관병의 하나이다. 그 때문에, 당뇨병 환자에게는 식사요법이나 운동요법이 실시되고 있는데, 충분한 컨트롤이나 계속적인 실시가 곤란한 경우, 약물요법이 병용되고 있다. 현재, 당뇨병 치료제로서는, 비구아나이드약, 술폰닐우레아약이나 인슐린저항성 개선약 등이 사용되고 있다. 그렇지만, 비구아나이드약에는 락트산 아시도시스, 술폰닐우레아약에는 저혈당, 인슐린저항성 개선약에는 부종 등의 부작용이 확인되는 점이 있는데다, 비만화를 촉진시키는 것이 우려되고 있다. 그 때문에, 이와 같은 문제를 해소하기 위한 새로운 작용 메커니즘에 의한 당뇨병 치료제의 개발이 촉망되고 있다.

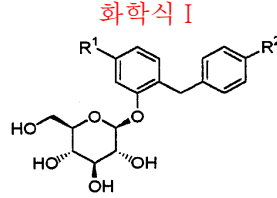
근래, 신장에서 과잉한 당의 재흡수를 저해함으로써 요당의 배설을 촉진시켜서 혈당치를 저하시키는, 새로운 타입의 당뇨병 치료약의 연구개발이 추진되고 있다(J. Clin. Invest., Vol. 79, pp.1510-1515(1987)). 또, 신장의 근위요세관의 S1 영역에 SGLT2(나트륨 의존성 글루코스 수송체2)가 존재하고, 이 SGLT2가 사구체 여과된 당의 재흡수에 주로 관여하고 있는 것이 보고되어 있다(J. Clin. Invest., Vol. 93, pp397-404(1994)). 그러므로, 사람 SGLT2를 저해함으로써 신장에서의 과잉한 당의 재흡수를 억제하고, 오줌으로 과잉한 당을 배설시켜서 혈당치를 정상화 할 수 있다. 따라서, 강력한 사람 SGLT2 활성 저해작용을 가지고, 새로운 작용 메커니즘에 의한 당뇨병 치료약의 조기개발이 대망된다. 게다가, 이와 같은 요당 배설촉진제는 과잉한 혈당을 오줌으로 배설하기 때문에, 체내에서의 당의 축적이 감소하므로, 비만화의 방지효과도 기대할 수 있다.

발명의 상세한 설명

본 발명자들은, 사람 SGLT2 활성 저해작용을 갖는 화합물을 발견하기 위해 예의 검토한 결과, 하기 화학식 I로 표시되는 글루코피라노실록시 벤질벤젠 유도체가, 하기와 같이 우수한 사람 SGLT2 저해활성을 나타낸다는 식견을 얻어, 본 발명을 달성하기에 이르렀다.

본 발명은, 사람 SGLT2 활성 저해작용을 가지고, 신장에서의 당의 재흡수를 억제하고 과잉한 당을 오줌중에 배설시킴으로써 혈당저하작용을 발휘하는, 하기의 글루코피라노실록시 벤질벤젠 유도체 또는 그 약리학적으로 허용되는 염, 그것을 함유하는 의약조성물 및 그 제조중간체를 제공하는 것이다.

즉, 본 발명은,



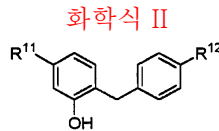
(식중 R¹은 수소원자 또는 히드록시 저급알킬기이고, R²는 저급알킬기, 저급알콕시기, 저급알킬티오기, 히드록시 저급알킬기, 히드록시 저급알콕시기, 히드록시 저급알킬티오기, 저급알콕시 저급알킬기, 저급알콕시 저급알콕시기 또는 저급알콕시 저급알킬티오기이다)로 표시되는 글루코피라노실록시 벤질벤젠 유도체 또는 그 약리학적으로 허용되는 염에 관한 것이다.

본 발명은, 상기 화학식 I로 표시되는 글루코피라노실록시 벤질벤젠 유도체 또는 그 약리학적으로 허용되는 염을 유효성분으로서 함유하는 의약조성물에 관한 것이다.

본 발명은, 상기 화학식 I로 표시되는 글루코피라노실록시 벤질벤젠 유도체 또는 그 약리학적으로 허용되는 염을 투여함으로써 고혈당에 기인하는 질환의 예방 또는 치료방법.

또, 본 발명은, 고혈당에 기인하는 질환의 예방 또는 치료용의 제제를 제조하기 위한, 상기 화학식 I로 표시되는 글루코피라노실록시 벤질벤젠 유도체 또는 그 약리학적으로 허용되는 염의 사용에 관한 것이다.

게다가, 본 발명은,



(식중 R¹¹은 수소원자 또는 보호기를 갖는 히드록시 저급알킬기이고, R¹²는 저급알킬기, 저급알콕시기, 저급알킬티오기, 보호기를 갖는 히드록시 저급알킬기, 보호기를 갖는 히드록시 저급알콕시기, 보호기를 갖는 히드록시 저급알킬티오기, 저급알콕시 저급알킬기, 저급알콕시 저급알콕시기 또는 저급알콕시 저급알킬티오기이고, 단, R¹¹이 수소원자인 경우는 R¹²가 메틸기, 에틸기, 이소프로필기, *tert*-부틸기 또는 메톡시기가 아니다)로 표시되는 벤질페놀 유도체 또는 그 염에 관한 것이다.

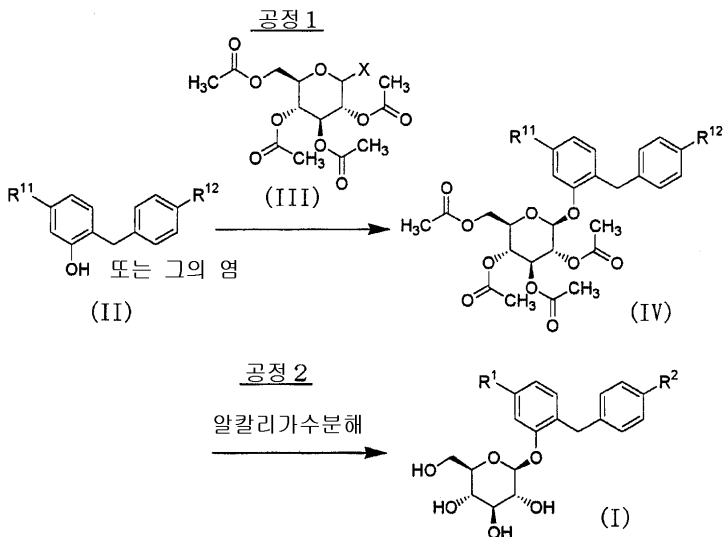
본 발명에 있어서, 저급알킬기란, 메틸기, 에틸기, 프로필기, 이소프로필기, 부틸기, 이소부틸기, *sec*-부틸기, *tert*-부틸기, 펜틸기, 이소펜틸기, 네오펜틸기, *tert*-펜틸기, 헥실기 등의 탄소수 1~6의 직쇄상 또는 분기상의 알킬기를 말하며, 저급알콕시기란, 메톡시기, 에톡시기, 프로폭시기, 이소프로폭시기, 부톡시기, 이소부톡시기, *sec*-부톡시기, *tert*-부톡시기, 펜틸옥시기, 이소펜틸옥시기, 네오펜틸옥시기, *tert*-펜틸옥시기, 헥실옥시기 등의 탄소수 1~6의 직쇄상 또는 분기상의 알콕시기를 말하고, 저급알킬티오기란, 메틸티오기, 에틸티오기, 프로필티오기, 이소프로필티오기, 부틸티오기, 이소부틸티오기, *sec*-부틸티오기, *tert*-부틸티오기, 펜틸티오기, 이소펜틸티오기, 네오펜틸티오기, *tert*-펜틸티오기, 헥실티오기 등의 탄소수 1~6의 직쇄상 또는 분기상의 알킬티오기를 말한다. 히드록시 저급알킬기란, 히드록시 메틸기, 2-히드록시 에틸기, 1-히드록시 에틸기, 3-히드록시 프로필기, 2-히드록시 프로필기, 1-히드록시 프로필기, 2-히드록시-1-메틸에틸기, 4-히드록시 부틸기, 3-히드록시 부틸기, 2-히드록시 부틸기, 1-히드록시 부틸기, 5-히드록시 펜틸기, 4-히드록시 펜틸기, 3-히드록시 펜틸기, 2-히드록시 펜틸기, 1-히드록시 펜틸기, 6-히드록시 헥실기, 5-히드록시 헥실기, 4-히드록시 헥실기, 3-히드록시 헥실기, 2-히드록시 헥실기, 1-히드록시 헥실기 등의 탄소수 1~6의 직쇄상 또는 분기상의 히드록시 알킬기를 말하고, 히드록시 저급알콕시기란, 2-히드록시 에톡시기, 3-히드록시 프로폭시기, 2-히드록시 프로폭시기, 2-히드록시-1-메틸에톡시기, 4-히드록시 부톡시기, 3-히드록시 부톡시기, 2-히드록시 부톡시기, 5-히드록시 펜틸옥시기,

4-히드록시 펜틸옥시기, 3-히드록시 펜틸옥시기, 2-히드록시 펜틸옥시기, 6-히드록시 헥실옥시기, 5-히드록시 헥실옥시기, 4-히드록시 헥실옥시기, 3-히드록시 헥실옥시기, 2-히드록시 헥실옥시기 등의 탄소수 1~6의 직쇄상 또는 분기상의 히드록시 알콕시기를 말하고, 히드록시 저급알킬티오기란, 히드록시 메틸티오기, 2-히드록시 에틸티오기, 1-히드록시 에틸티오기, 3-히드록시 프로필티오기, 2-히드록시 프로필티오기, 1-히드록시 프로필티오기, 2-히드록시-1-메틸에틸티오기, 4-히드록시 부틸티오기, 3-히드록시 부틸티오기, 2-히드록시 부틸티오기, 1-히드록시 부틸티오기, 5-히드록시 펜틸티오기, 4-히드록시 펜틸티오기, 3-히드록시 펜틸티오기, 2-히드록시 펜틸티오기, 1-히드록시 펜틸티오기, 6-히드록시 헥실티오기, 5-히드록시 헥실티오기, 4-히드록시 헥실티오기, 3-히드록시 헥실티오기, 2-히드록시 헥실티오기, 1-히드록시 헥실티오기 등의 탄소수 1~6의 직쇄상 또는 분기상의 히드록시 알킬티오기를 말한다. 저급알콕시 저급알킬기란, 상기 저급알킬기에서 O-알킬화 된 상기 히드록시 저급알킬기를 말하고, 저급알콕시 저급알콕시기란, 상기 저급알킬기에서 O-알킬화된 상기 히드록시 저급알콕시기를 말하고, 저급알콕시 저급알킬티오기란, 상기 저급알킬기에서 O-알킬화된 상기 히드록시 저급알킬티오기를 말한다.

수산기의 보호기란, 벤질기, 메톡시 메틸기, 아세틸기 등의 일반적인 유기합성반응에서 사용되는 수산기의 보호기를 말한다.

치환기 R¹에 있어서는, 바람직하게는 수소원자 또는 탄소수 1~3의 히드록시 알킬기이고, 치환기 R²에 있어서는, 바람직하게는 저급알킬기, 저급알콕시기 또는 히드록시 저급알킬기이고, 더욱 바람직하게는 탄소수 1~4의 알킬기, 탄소수 1~3의 알콕시기 또는 탄소수 1~3의 히드록시 알킬기이다.

상기 화학식 I로 표시되는 본 발명의 화합물은, 예를 들면, 본 발명의 화학식 II로 표시되는 벤질페놀 유도체를 사용하여, 이하의 방법에 따라 제조할 수 있다.



(식중 R¹¹은 수소원자 또는 보호기를 갖는 히드록시 저급알킬기이고, R¹²는 저급알킬기, 저급알콕시기, 저급알킬티오기, 보호기를 갖는 히드록시 저급알킬기, 보호기를 갖는 히드록시 저급알콕시기, 보호기를 갖는 히드록시 저급알킬티오기, 저급알콕시 저급알킬기, 저급알콕시 저급알콕시기 또는 저급알콕시 저급알킬티오기이고, X는 트리클로로아세트이미도일 옥시기, 아세톡시기, 브롬원자, 불소원자 등의 이탈기이고, R¹ 및 R²는 상기와 동일한 의미를 갖는다)

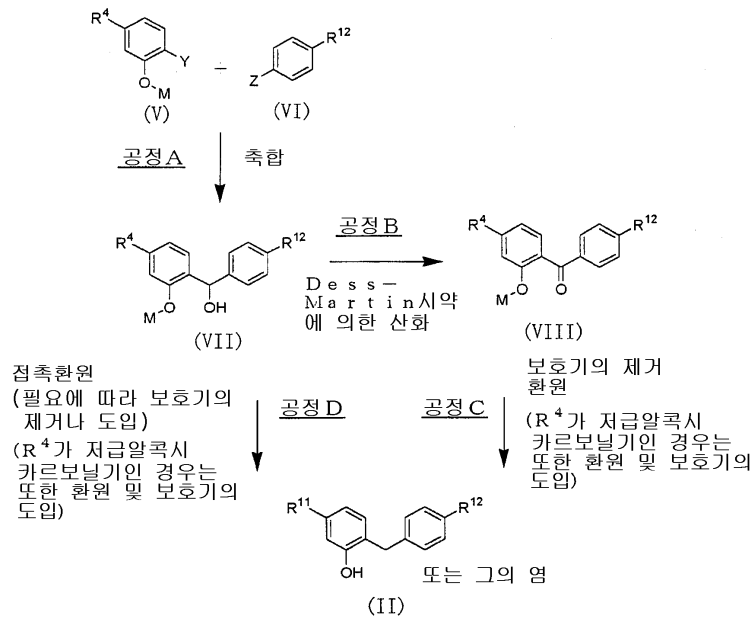
(공정 1)

상기 화학식 II로 표시되는 벤질페놀 유도체 또는 그 염을 2, 3, 4, 6-테트라-O-아세틸-1-O-트리클로로아세트이미도일- α -D-글루코피라노스, 1, 2, 3, 4, 6-펜타-O-아세틸- β -D-글루코피라노스, 2, 3, 4, 6-테트라-O-아세틸- α -D-글루코피라노실 브로마이드, 2, 3, 4, 6-테트라-O-아세틸- β -D-글루코피라노실 플루오라이드 등의 상기 화학식 III으로 표시되는 당 공여체를 사용하여, 불활성용매중, 3불화붕소-디에틸에테르 착체, 트리플루오로메탄 술폰산은, 염화제2주석, 트리플루오로메탄술폰산 트리메틸실릴 등의 활성화제의 존재하에 배당화시킴으로써 상기 화학식 IV로 표시되는 배당체를 제조할 수 있다. 사용되는 용매로서는, 예를 들면, 염화메틸렌, 톨루엔, 아세토니트릴, 니트로메탄, 아세트산에틸, 디에틸에테르, 클로로포름, 그들의 혼합용매 등을 들 수 있고, 반응온도는 통상 -30°C~환류온도이고, 반응시간은 사용하는 원료물질이나 용매, 반응온도 등에 따라 상이하지만, 통상 10분간 내지 1일간이다.

(공정 2)

상기 화학식 IV로 표시되는 배당체를 알칼리 가수분해시켜서 수산기의 보호기를 제거함으로써 본 발명의 화합물(I)을 제조할 수 있다. 사용되는 용매로서는, 예를 들면, 물, 메탄올, 에탄올, 테트라히드로푸란, 그들의 혼합용매 등을 들 수 있고, 염기성 물질로서는, 예를 들면, 수산화나트륨, 나트륨 메톡시드, 나트륨 에톡시드 등을 사용할 수 있다. 처리온도는 통상 0°C~환류온도이고, 처리시간은 사용하는 원료물질이나 용매, 처리온도 등에 따라 상이하지만, 통상 30분간 내지 6시간이다. 또한, 수산기의 보호기의 종류에 따라서 처리방법을 상법에 따라 적당히 변경 또는 추가하여 실시할 수 있다.

상기 제조방법에서 출발물질로서 사용되는 본 발명의 상기 화학식 II로 표시되는 화합물 및 그 염은, 예를 들면, 이하의 방법에 따라 제조할 수 있다.



(식중 M은 수소원자 또는 수산기의 보호기이고, R⁴는 수소원자, 보호기를 갖는 히드록시 저급알킬기 또는 저급알콕시 카르보닐기이고, Y 및 Z는 어느 한 쪽이 MgBr, MgCl, MgI 또는 리튬원자이고, 다른 쪽이 포르밀기이고, R¹¹ 및 R¹²는 상기와 동일한 의미를 갖는다)

(공정 A)

상기 화학식 V로 표시되는 벤즈알데히드 유도체와 상기 화학식 VI로 표시되는 그리냐르 시약 또는 리튬 시약 혹은 상기 화학식 V로 표시되는 그리냐르 시약 또는 리튬 시약과 상기 화학식 VI로 표시되는 벤즈알데히드 유도체를, 불활성용매중, 축합시킴으로써 상기 화학식 VII로 표시되는 화합물을 제조할 수 있다. 사용되는 용매로서는, 예를 들면, 테트라히드로푸란, 디에틸에테르, 그들의 혼합용매 등을 들 수 있고, 반응온도는 통상 -78°C~환류온도이고, 반응시간은 사용하는 원료물질이나 용매, 반응온도 등에 따라 상이하지만, 통상 10분간 내지 15일간이다.

(공정 B)

상기 화학식 VII로 표시되는 화합물을, 불활성용매중, Dess-Martin 시약을 사용하여 산화함으로써 상기 화학식 VIII로 표시되는 화합물을 제조할 수 있다. 사용되는 용매로서는, 예를 들면, 염화메틸렌, 클로로포름, 아세트니토릴, 그들의 혼합용매 등을 들 수 있고, 반응온도는 통상 0°C~환류온도이고, 반응시간은 사용하는 원료물질이나 용매, 반응온도 등에 따라 상이하지만, 통상 1시간 내지 1일간이다.

(공정 C)

상기 화학식 VIII로 표시되는 화합물의 보호기(M)를 일정한 규칙에 따라 제거한 후, (1) 불활성용매중, 트리에틸아민, 디이소프로필에틸아민, N,N-디메틸아미노 피리딘 등의 염기의 존재하에서, 클로로포름산 메틸과 축합하고, (2) 얻어진 탄산

에스테르 유도체를 수소화붕소나트륨 등의 환원제를 사용하여 환원함으로써, 본 발명의 상기 화학식 II의 화합물을 제조할 수 있다. 반응(1)에서, 사용되는 용매로서는, 예를 들면, 테트라히드로푸란, 염화메틸렌, 아세토니트릴, 아세트산에틸, 디에틸에테르, 그들의 혼합용매 등을 들 수 있고, 반응온도는 통상 0℃~환류온도이고, 반응시간은 사용하는 원료물질이나 용매, 반응온도 등에 따라 상이하지만, 통상 30분간 내지 1일간이다. 반응(2)에서, 사용되는 용매로서는, 예를 들면, 테트라히드로푸란과 물과의 혼합용매 등을 들 수 있고, 반응온도는 통상 0℃~환류온도이고, 반응시간은 사용하는 원료물질이나 용매, 반응온도 등에 따라 상이하지만, 통상 1시간 내지 1일간이다. 또한, R⁴가 저급알콕시 카르보닐기인 경우는, 불활성용매중, 수소화리튬 알루미늄 등의 환원제를 사용하여 히드록시 메틸기로 환원한 후, 상법에 따라 수산기를 보호함으로써 본 발명의 상기 화학식 II의 화합물로 유도할 수 있다. 환원시에 사용되는 용매로서는, 예를 들면, 디에틸에테르, 테트라히드로푸란, 그들의 혼합용매 등을 들 수 있고, 반응온도는 통상 0℃~환류온도이고, 반응시간은 사용하는 원료물질이나 용매, 반응온도 등에 따라 상이하지만, 통상 10분간 내지 1일간이다. 또, 본 발명의 상기 화학식 II의 화합물은, 상법에 따라 나트륨염, 칼륨염 등의 염으로 변환할 수 있다.

(공정 D)

상기 화학식 VII로 표시되는 화합물을, 불활성용매중, 염산 등의 산의 존재하 또는 비존재하에서, 팔라듐탄소분말 등의 팔라듐계 촉매를 사용하여 접촉 환원한 후, 필요에 따라서 보호기를 상법에 따라 제거나 도입함으로써 본 발명의 상기 화학식 II의 화합물을 제조할 수 있다. 접촉 환원에서 사용되는 용매로서는, 예를 들면, 메탄올, 에탄올, 테트라히드로푸란, 아세트산에틸, 아세트산, 이소프로판올, 그들의 혼합용매 등을 들 수 있고, 반응온도는 통상 실온~환류온도이고, 반응시간은 사용하는 원료물질이나 용매, 반응온도 등에 따라 상이하지만, 통상 30분간 내지 1일간이다. 또한, R⁴가 저급알콕시 카르보닐기인 경우는, 불활성용매중, 수소화리튬 알루미늄 등의 환원제를 사용하여 히드록시 메틸기로 환원한 후, 상법에 따라 수산기를 보호함으로써 본 발명의 상기 화학식 II의 화합물로 유도할 수 있다. 환원시에 사용되는 용매로서는, 예를 들면, 디에틸에테르, 테트라히드로푸란, 그들의 혼합용매 등을 들 수 있고, 반응온도는 통상 0℃~환류온도이고, 반응시간은 사용하는 원료물질이나 용매, 반응온도 등에 따라 상이하지만, 통상 10분간 내지 1일간이다. 또, 본 발명의 상기 화학식 II의 화합물은, 상법에 따라 나트륨염, 칼륨염 등의 염으로 변환할 수 있다.

상기 제조방법에서 얻어지는 본 발명의 화합물은, 관용의 분리수단인 분별 재결정법, 크로마토그래피를 사용한 정제법, 용매추출법, 고상추출법 등에 의해 단리 정제할 수 있다.

본 발명의 상기 화학식 I로 표시되는 글루코피라노실록시 벤질벤젠 유도체는, 상법에 따라, 그 약리학적으로 허용되는 염으로 할 수 있다. 이와 같은 염으로서, 나트륨염, 칼륨염 등의 무기물 염기와 염을 들 수 있다.

본 발명의 상기 화학식 I로 표시되는 화합물에는, 수화물이나 에탄올 등의 의약품으로서 허용되는 용매와의 용매화물도 포함된다.

본 발명의 상기 화학식 I로 표시되는 화합물 및 그 약리학적으로 허용되는 염은, 우수한 사람 SGLT2 활성 저해작용을 가지고 있고, 당뇨병, 당뇨병성 합병증, 비만증 등의 예방 또는 치료제로서 상당히 유용하다. 예를 들면, 하기의 사람 SGLT2 활성 저해작용 측정시험에서, 본 발명의 화합물은 강력한 사람 SGLT2 활성 저해작용을 발휘했다.

본 발명의 의약품 조성물을 실제의 치료에 사용하는 경우, 용법에 따라 여러 제형의 것이 사용된다. 이와 같은 제형으로서, 예를 들면, 산제, 과립제, 세립제, 드라이 시립제, 정제, 캡슐제, 주사제, 액제, 연고제, 좌제, 첩부제 등을 들 수 있고, 경구 또는 비경구적으로 투여된다.

이들 의약품 조성물은, 그 제형에 따라 조제학상 사용되는 수법에 의해 적당한 부형제, 붕괴제, 결합제, 활택제, 희석제, 완충제, 등장화제, 방부제, 습윤제, 유화제, 분산제, 안정화제, 용해보조제 등의 의약품 첨가물과 적당히 혼합 또는 희석·용해하고, 상법에 따라 조제함으로써 제조할 수 있다.

본 발명의 의약품 조성물을 실제의 치료에 사용할 경우, 그 유효성분인 상기 화학식 I로 표시되는 화합물 또는 그 약리학적으로 허용되는 염의 투여량은 환자의 연령, 성별, 체중, 질환 및 치료의 정도 등에 따라 적당히 결정되는데, 경구투여의 경우 성인 1일당 대체로 0.1~1000mg의 범위에서, 비경구투여의 경우는, 성인 1일당 대체로 0.01~300mg의 범위에서, 1회 또는 수회로 나누어서 적당히 투여할 수 있다.

실시예

본 발명의 내용을 이하의 참고예, 실시예 및 시험예로 더욱 상세하게 설명하는데, 본 발명은 그 내용에 한정되는 것은 아니다.

(참고예 1)

4-(3-벤질옥시프로필)브로모벤젠

수소화나트륨(60%, 0.97g), 3-(4-브로모페닐)-1-프로판올(1.0g) 및 벤질브로마이드(0.69mL)의 벤젠(24mL)현탁액을, 가열 환류하에서 7시간 교반했다. 실온에 냉각 후, 반응혼합물에 포화 염화암모늄 수용액(50mL)을 가하고, 아세트산에틸(100mL)로 추출했다. 유기층을 물(40mL), 포화식염수(40mL)로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조했다. 용매를 감압하에 증류제거하고, 잔사를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(용출용매: 헥산/아세트산에틸=20/1)로 정제하여, 4-(3-벤질옥시프로필)브로모벤젠(1.4g)을 얻었다.

¹H-NMR(CDCl₃) δppm:

1.85-2.00(2H, m), 2.60-2.75(2H, m), 3.47(2H, t, J=6.2Hz), 4.50(2H, s), 7.00-7.10(2H, m), 7.20-7.45(7H, m)

(참고예 2)

4-(4-에틸벤질)-3-히드록시벤조산메틸

아르곤 분위기하에서 1-브로모-4-에틸벤젠(0.41mL)의 테트라히드로푸란(15mL)용액에, -78℃에서 1.45mol/L의 *tert*-부틸리튬-*n*-펜탄 용액(2.3mL)를 가했다. -78℃에서 10분간 교반후, 반응혼합물에 4-포르밀-3-히드록시벤조산메틸(0.18g)의 테트라히드로푸란(5mL)용액을 가했다. 빙냉하에 45분간 교반후, 반응혼합물에 포화 염화암모늄 수용액 및 물을 가하고, 아세트산에틸로 추출했다. 추출액을 물로 세척한 후, 무수 황산마그네슘으로 건조하고 용매를 감압 하에서 증류 제거했다. 잔사를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(용출용매: 헥산/아세트산에틸=3/1)로 정제하여, 디페닐메탄올체(0.27g)를 얻었다. 얻어진 디페닐메탄올체(0.27g)을 메탄올(5mL)에 용해하고, 농염산(0.08mL) 및 10% 팔라듐카본분말(54mg)을 가했다. 수소분위기하에서 실온에서 18시간 교반한후, 촉매를 여과 제거하고, 감압하에 농축했다. 잔사를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(용출용매: 헥산/아세트산에틸=3/1)로 정제하고, 4-(4-에틸벤질)-3-히드록시벤조산메틸(0.20g)을 얻었다.

¹H-NMR(CDCl₃) δppm:

1.22(3H, t, J=7.6Hz), 2.62(2H, q, J=7.6Hz), 3.89(3H, s), 4.00(2H, s), 5.01(1H, s), 7.05-7.25(5H, m), 7.47(1H, d, J=1.6Hz), 7.56(1H, dd, J=1.6, 7.8Hz)

(참고예 3)

3-히드록시-4-(4-프로폭시벤질)벤조산메틸

아르곤 분위기하에서 1-알릴옥시-4-브로모벤젠(3.1g)의 테트라히드로푸란(70mL)용액에, -78℃에서 1.45mol/L의 *tert*-부틸리튬-*n*-펜탄 용액(11mL)을 가했다. -78℃에서 5분간 교반후, 반응혼합물에 4-포르밀-3-히드록시벤조산메틸(0.89g)의 테트라히드로푸란(15mL)용액을 가했다. 빙냉하에 30분간 교반후, 반응혼합물에 포화 염화암모늄 수용액 및 물을 가하고, 아세트산에틸로 추출했다. 추출액을 물로 세척한 후, 무수 황산마그네슘으로 건조하고 용매를 감압하에 증류 제거했다. 잔사를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(용출용매: 헥산/아세트산에틸=3/1)로 정제하여, 디페닐메탄올체(0.99g)를 얻었다. 얻어진 디페닐메탄올체(0.99g)를 메탄올(10mL)에 용해하고, 10% 팔라듐카본분말(0.30g)을 가했다. 수소분위기하에서 실온에서 24시간 교반한후, 촉매를 여과 제거하고, 감압하에 농축했다. 잔사를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(용출용매: 헥산/아세트산에틸=3/1)로 정제하고, 3-히드록시-4-(4-프로폭시벤질)벤조산메틸(0.50g)을 얻었다.

¹H-NMR(CDCl₃) δppm:

1.02(3H, t, J=7.4Hz), 1.70-1.85(2H, m), 3.80-3.95(5H, m), 3.97(2H, s), 4.99(1H, s), 6.75-6.90(2H, m), 7.05-7.20(3H, m), 7.47(1H, d, J=1.5Hz), 7.56(1H, dd, J=1.5, 7.8Hz)

(참고예 4)

3-히드록시-4-[4-(2-히드록시에틸)벤질]벤조산메틸

아르곤 분위기하에서 2-(4-브로모페닐)에닐알콜(1.7g)의 테트라히드로푸란(100mL)용액에, -78°C에서 1.45mol/L의 tert-부틸리튬n-펜탄 용액(12.6mL)을 가했다. -78°C에서 10분간 교반후, 반응혼합물에 4-포르밀-3-히드록시벤조산메틸(0.50g)의 테트라히드로푸란(10mL)용액을 가했다. 빙냉하에 30분간 교반후, 반응혼합물에 포화 염화암모늄 수용액 및 물을 가하고, 아세트산에틸로 추출했다. 추출액을 물로 세척한 후, 무수 황산마그네슘으로 건조하고, 용매를 감압하에 증류 제거했다. 잔사를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(용출용매: 헥산/아세트산에틸=1/3)로 정제하여, 디페닐메탄올체(0.28g)를 얻었다. 얻어진 디페닐메탄올체(0.28g)를 메탄올(5mL)에 용해하고, 10% 팔라듐카본분말(0.14g)을 가했다. 수소분위기하 실온에서 14시간 교반한 후, 촉매를 여과제거하고, 감압하에 농축했다. 잔사를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(용출용매: 헥산/아세트산에틸=1/1)로 정제하여, 3-히드록시-4-[4-(2-히드록시에틸)벤질]벤조산메틸(0.26g)을 얻었다.

¹H-NMR(CDCl₃) δppm:

1.37(1H, t, J=5.9Hz), 2.84(2H, t, J=6.5Hz), 3.75-3.95(5H, m), 4.01(2H, s), 5.10(1H, s), 7.05-7.25(5H, m), 7.47(1H, d, J=1.6Hz), 7.56(1H, dd, J=1.6, 7.8Hz)

(참고예 5)

2-(4-이소부틸벤질)페놀

2-벤질옥시브로모벤젠(0.20g), 금속마그네슘(0.026g), 촉매량의 요소 및 테트라히드로푸란(1mL)으로 그리냐르 시약을 조제했다. 얻어진 그리냐르 시약을 4-이소부틸벤즈알데히드(0.16g)의 테트라히드로푸란(2mL)용액에 가하고, 실온에서 30분간 교반했다. 반응혼합물을 아미노프로필 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(용출용매: 테트라히드로푸란)로 정제하여, 디페닐메탄올체(0.23g)를 얻었다. 얻어진 디페닐메탄올체를 에탄올(3mL) 및 농염산(0.1mL)에 용해하고, 촉매량의 10% 팔라듐카본분말을 가하고, 수소분위기하 실온에서 하룻밤 교반했다. 촉매를 여과 제거하고, 감압하에 농축했다. 잔사를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(용출용매: 염화메틸렌/헥산=1/1)로 정제하여 2-(4-이소부틸벤질)페놀(0.10g)을 얻었다.

¹H-NMR(CDCl₃) δppm:

0.89(6H, d, J=6.6Hz), 1.75-1.90(1H, m), 2.43(2H, d, J=7.2Hz), 3.97(2H, s), 4.66(1H, s), 6.75-6.85(1H, m), 6.85-6.95(1H, m), 7.00-7.20(6H, m)

(참고예 6)

2-(4-이소프로폭시벤질)페놀

4-이소부틸벤즈알데히드 대신에 4-이소프로폭시벤즈알데히드를 사용하여, 참고예 5와 동일한 방법으로 표기화합물을 합성했다.

¹H-NMR(CDCl₃) δppm:

1.31(6H, d, J=6.1Hz), 3.93(2H, s), 4.50(1H, heptet, J=6.1Hz), 4.72(1H, s), 6.75-6.85(3H, m), 6.85-6.95(1H, m), 7.05-7.20(4H, m)

(참고예 7)

2-(4-에톡시벤질)페놀

4-에톡시브로모벤젠(1.5g), 금속마그네슘(0.19g), 촉매량의 요소 및 테트라히드로푸란(2mL)으로부터 그리냐르 시약을 조제했다. 얻어진 그리냐르 시약용액에 2-벤질옥시벤즈알데히드(1.1g)의 테트라히드로푸란(15mL)용액을 적하하고, 실온에서 30분간 교반했다. 포화 염화암모늄 수용액(10mL) 및 물(20mL)을 가하고, 아세트산에틸(100mL)로 추출했다. 추출액을 물(20mL) 및 포화식염수(20mL)로 세척했다. 무수 황산나트륨으로 건조후, 감압하에서 용매를 증류 제거했다. 잔사를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(용출용매: 헥산/아세트산에틸=5/1)로 정제하여, 디페닐메탄올체(1.7g)를 얻었다. 얻어진 디페닐 메탄올체(1.7g)를 에탄올(25mL)에 용해하고, 농염산(0.42mL) 및 촉매량의 10% 팔라듐카본분말을 가하고, 수소분위기하, 실온에서 18시간 교반했다. 촉매를 여과 제거하고, 감압하에 농축했다. 잔사에 아세트산에틸(100mL)을 가하고, 포화 중조수(30mL) 및 포화식염수(30mL)로 세척했다. 무수 황산나트륨으로 건조하고, 용매를 감압하에 증류 제거했다. 잔사를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(용출용매: 헥산/아세트산에틸=8/1)로 정제하여, 2-(4-에톡시벤질)페놀(0.85g)을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ ppm:

1.39(3H, t, J=7.1Hz), 3.93(2H, s), 4.00(2H, q, J=7.1Hz), 4.72(1H, s), 6.75-6.85(3H, m), 6.85-6.95(1H, m), 7.05-7.20(4H, m)

(참고예 8)

2-[4-(3-벤조일옥시프로필)벤질]페놀

4-(3-벤질옥시프로필)브로모벤젠(3.2g), 금속마그네슘(0.25g), 촉매량의 요소 및 테트라히드로푸란(10.5mL)으로 그리냐르 시약을 조제했다. 얻어진 그리냐르 시약용액에 2-(메톡시메톡시)벤즈알데히드(1.1g)의 테트라히드로푸란(24mL)용액을 가하고 65°C에서 25분간 교반했다. 실온에 냉각 후, 포화 염화암모늄 수용액(10mL) 및 물(20mL)을 가하고, 아세트산에틸(100mL)로 추출했다. 추출액을 물(20mL) 및 포화식염수(20mL)로 세척했다. 무수 황산나트륨으로 건조 후, 용매를 감압하에 증류 제거하고, 잔사를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(용출용매: 헥산/아세트산에틸=5/1)로 정제하여, 디페닐메탄올체(2.5g)를 얻었다. 얻어진 디페닐메탄올체(2.5g)를 에탄올(42mL)에 용해하고, 촉매량의 10% 팔라듐카본분말을 가하고, 수소분위기하, 실온에서 7.5시간 교반했다. 촉매를 여과 제거하여, 여과액을 감압하에 농축했다. 잔사를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(용출용매: 헥산/아세트산에틸=5/2)로 정제하고, 페닐프로판올체(1.6g)를 얻었다. 얻어진 페닐프로판올체(1.6g)를 염화메틸렌(29mL)에 용해하고, 4-(디메틸아미노)피리딘(0.069g), 트리에틸아민(1.0mL) 및 벤조일클로라이드(0.79mL)를 가하고, 실온에서 3시간 교반했다. 반응혼합물에 아세트산에틸(100mL) 및 물(30mL)을 가하여 유기층을 분리했다. 추출액을 포화식염수(30mL)로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조 후, 용매를 감압하에 증류 제거했다. 잔사를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(용출용매: 헥산/아세트산에틸=20/1)로 정제하여, 에스테르체(2.2g)를 얻었다. 얻어진 에스테르체(2.2g), p-톨루엔술폰산일수화물(0.21g) 및 메탄올(28mL)의 혼합물을 실온에서 24시간 교반했다. 반응혼합물을 감압하에 농축하고, 잔사를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(용출용매: 헥산/아세트산에틸=5/1)로 정제하여, 2-[4-(3-벤조일옥시프로필)벤질]페놀(1.8g)을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ ppm:

2.00-2.15(2H, m), 2.70-2.80(2H, m), 3.96(2H, s), 4.33(2H, t, J=6.5Hz), 4.74(1H, brs), 6.75-6.85(1H, m), 6.85-6.95(1H, m), 7.05-7.20(6H, m), 7.35-7.50(2H, m), 7.50-7.65(1H, m), 8.00-8.10(2H, m)

(참고예 9)

2-[4-(2-벤조일옥시에틸)벤질]페놀

4-(3-벤질옥시프로필)브로모벤젠 대신에 4-(2-벤질옥시에틸)브로모벤젠을 사용하여, 참고예 8과 동일한 방법으로 표기 화합물을 합성했다.

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ ppm:

3.04(2H, t, J=7.1Hz), 3.98(2H, s), 4.51(2H, t, J=7.1Hz), 4.66(1H, s), 6.75-6.85(1H, m), 6.85-6.95(1H, m), 7.05-7.25(6H, m), 7.35-7.50(2H, m), 7.50-7.60(1H, m), 7.95-8.05(2H, m)

(참고예 10)

5-아세톡시메틸-2-(4-에틸벤질)페놀

수소화리튬알루미늄(95mg)의 디에틸에테르(10mL) 현탁액에, 4-(4-에틸벤질)-3-히드록시벤조산메틸(0.27g)의 디에틸에테르(5mL)용액을 빙냉하에 가했다. 45분간 가열 환류한 후, 빙냉하에 물(0.1mL), 15%수산화나트륨 수용액(0.1mL), 물(0.3mL)의 순으로 반응혼합물에 가했다. 실온에서 5분간 교반후, 혼합물을 0.5mol/L의 염산중에 쏟고, 아세트산에틸로 추출했다. 추출액을 무수 황산마그네슘으로 건조한 후, 용매를 감압하에 증류 제거했다. 잔사를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(용출용매: 헥산/아세트산에틸=1/1)로 정제하여, 환원체(0.22g)를 얻었다. 얻어진 환원체(0.22g)를 테트라히드로푸란(2mL)에 용해하고, 아세트산 비닐(2mL) 및 비스(디부틸염화주석)옥시드(24mg)를 가하고, 30℃에서 19시간 교반했다. 반응혼합물을 직접 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(용출용매: 헥산/아세트산에틸=3/1)로 정제하고, 5-아세톡시메틸-2-(4-에틸벤질)페놀(0.21g)을 얻었다.

¹H-NMR(CDCl₃) δppm:

1.21(3H, t, J=7.6Hz), 2.09(3H, s), 2.61(2H, q, J=7.6Hz), 3.95(2H, s), 4.74(1H, s), 5.03(2H, s), 6.80(1H, d, J=1.3Hz), 6.80-6.90(1H, m), 7.05-7.20(5H, m)

(참고예 11)

5-아세톡시메틸-2-(4-프로폭시벤질)페놀

4-(4-에틸벤질)-3-히드록시벤조산메틸 대신에 3-히드록시-4-(4-프로폭시벤질)벤조산메틸을 사용하여, 참고예 10과 동일한 방법으로 표기화합물을 합성했다.

¹H-NMR(CDCl₃) δppm:

1.02(3H, t, J=7.4Hz), 1.70-1.85(2H, m), 2.09(3H, s), 3.88(2H, t, J=6.6Hz), 3.91(2H, s), 5.02(2H, s), 5.28(1H, s), 6.70-6.90(4H, m), 7.00-7.20(3H, m)

(참고예 12)

2-[4-(2-아세톡시에틸)벤질]-5-아세톡시메틸페놀

4-(4-에틸벤질)-3-히드록시벤조산메틸 대신에 3-히드록시-4-[4-(2-히드록시에틸)벤질]벤조산메틸을 사용하여, 참고예 10과 동일한 방법으로 표기화합물을 합성했다.

¹H-NMR(CDCl₃) δppm:

2.03(3H, s), 2.09(3H, s), 2.90(2H, t, J=7.1Hz), 3.96(2H, s), 4.25(2H, t, J=7.1Hz), 4.82(1H, s), 5.03(2H, s), 6.80(1H, d, J=1.5Hz), 6.87(1H, dd, J=1.5, 7.7Hz), 7.05-7.20(5H, m)

(참고예 13)

2-(4-에틸티오벤질)페놀

1-브로모-4-(에틸티오)벤젠(1.1g), 금속마그네슘(0.12g), 촉매량의 요소 및 테트라히드로푸란(5mL)으로 그리냐르 시약을 조제했다. 얻어진 그리냐르 시약용액에 2-(메톡시메톡시)벤즈알데히드(0.56g)의 테트라히드로푸란(12mL) 용액을 가

하고, 65°C에서 10분간 교반했다. 실온에 냉각 후, 포화 염화암모늄 수용액(5mL) 및 물(20mL)을 가하고, 아세트산에틸(80mL)로 추출했다. 추출액을 물(20mL) 및 포화식염수(20mL)로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조 후, 용매를 감압하에 증류 제거했다. 잔사를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(용출용매: 헥산/아세트산에틸=4/1)로 정제하고, 디페닐메탄올체(0.91g)를 얻었다. 얻어진 디페닐메탄올체(0.90g)를 염화메틸렌(15mL)에 용해하고, Dess-Martin시약(1, 1, 1-트리아세톡시-1, 1-디히드로-1, 2-벤즈이오독솔-3(1H)-온)(1.5g)을 가하고, 25°C에서 26시간 교반했다. 반응혼합물에 디에틸 에테르(75mL) 및 1mol/L의 수산화나트륨 수용액(30mL)을 가하고 심하게 교반한 후, 유기층을 분취했다. 유기층을 1mol/L의 수산화나트륨 수용액(30mL), 물(30mLX3회) 및 포화식염수(30mL)로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조 후, 용매를 감압하에 증류 제거했다. 잔사를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(용출용매: 헥산/아세트산에틸=15/1-9/1)로 정제하여, 케톤체(0.82g)를 얻었다. 얻어진 케톤체(0.81g), p-톨루엔술폰산일수화물(0.10g) 및 메탄올(14mL)의 혼합물을 60°C에서 4시간 교반했다. 실온에 냉각 후, 반응혼합물을 감압하에 농축했다. 잔사를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(용출용매: 헥산/아세트산에틸=15/1)로 정제하여, 탈보호체(0.69g)를 얻었다. 얻어진 탈보호체(0.68g)를 테트라히드로푸란(11mL)에 용해하고, 트리에틸아민(0.41mL) 및 클로로포름산메틸(0.22mL)을 가하고, 25°C에서 1시간 교반했다. 트리에틸아민(0.11mL) 및 클로로포름산메틸(0.061mL)을 더 가하고, 30분간 교반했다. 반응혼합물을 여과하고, 여과액을 감압하에 농축했다. 잔사를 테트라히드로푸란(14mL) 및 물(7mL)에 용해하고, 수소화붕소 나트륨(0.40g)을 가하고, 25°C에서 7시간 교반했다. 1mol/L의 염산(15mL)을 적하하고, 아세트산에틸(75mL)로 추출했다. 추출액을 물(20mL), 포화 중조수(20mL) 및 포화식염수(20mL)로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조 후, 용매를 감압하에 증류 제거했다. 잔사를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(용출용매: 헥산/아세트산에틸=8/1)로 정제하여, 2-(4-에틸티오벤질)페놀(0.62g)을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ ppm:

1.29(3H, t, J=7.3Hz), 2.90(2H, q, J=7.3Hz), 3.96(2H, s), 4.62(1H, s), 6.75-6.80(1H, m), 6.85-6.95(1H, m), 7.05-7.20(4H, m), 7.20-7.30(2H, m)

(참고예 14)

2-(4-메톡시벤질)페닐 2, 3, 4, 6-테트라-O-아세틸- β -D-글루코피라노시드

2-(4-메톡시벤질)페놀(46mg)과 2, 3, 4, 6-테트라-O-아세틸-1-O-트리클로로아세트이미도일- α -D-글루코피라노스(0.13g)의 염화메틸렌(2mL) 용액에, 3불화붕소-디에틸에테르 착체(0.033mL)을 가하고 실온에서 1시간 교반했다. 반응혼합물을 아미노프로필 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(용출용매: 염화메틸렌)로 정제하고, 2-(4-메톡시벤질)페닐 2, 3, 4, 6-테트라-O-아세틸- β -D-글루코피라노시드(0.11g)를 얻었다.

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ ppm:

1.91(3H, s), 2.03(3H, s), 2.05(3H, s), 2.08(3H, s), 3.77(3H, s), 3.80-3.95(3H, m), 4.17(1H, dd, J=2.5, 12.2Hz), 4.29(1H, dd, J=5.5, 12.2Hz), 5.11(1H, d, J=7.5Hz), 5.10-5.25(1H, m), 5.25-5.40(2H, m), 6.75-6.85(2H, m), 6.95-7.10(5H, m), 7.10-7.25(1H, m)

(참고예 15)

2-(4-메틸벤질)페닐 2, 3, 4, 6-테트라-O-아세틸- β -D-글루코피라노시드

2-(4-메톡시벤질)페놀 대신에 2-(4-메틸벤질)페놀을 사용하여, 참고예 14와 동일한 방법으로 표기화합물을 합성했다.

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ ppm:

1.89(3H, s), 2.03(3H, s), 2.05(3H, s), 2.07(3H, s), 2.30(3H, s), 3.80-3.95(3H, m), 4.17(1H, dd, J=2.5, 12.3Hz), 4.28(1H, dd, J=5.5, 12.3Hz), 5.11(1H, d, J=7.5Hz), 5.10-5.25(1H, m), 5.25-5.40(2H, m), 6.90-7.20(8H, m)

(참고예 16)

2-(4-에틸벤질)페닐 2, 3, 4, 6-테트라-O-아세틸- β -D-글루코피라노시드

2-(4-메톡시벤질)페놀 대신에 2-(4-에틸벤질)페놀을 사용하여, 참고예 14와 동일한 방법으로 표기화합물을 합성했다.

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δppm :

1.20(3H, t, $J=7.6\text{Hz}$), 1.87(3H, s), 2.03(3H, s), 2.05(3H, s), 2.08(3H, s), 2.60(2H, q, $J=7.6\text{Hz}$), 3.80-4.00(3H, m), 4.18(1H, dd, $J=2.3, 12.2\text{Hz}$), 4.28(1H, dd, $J=5.4, 12.2\text{Hz}$), 5.11(1H, d, $J=7.5\text{Hz}$), 5.10-5.25(1H, m), 5.25-5.40(2H, m), 6.90-7.25(8H, m)

(참고예 17)

2-(4-이소부틸벤질)페닐 2, 3, 4, 6-테트라-O-아세틸- β -D-글루코피라노시드

2-(4-메톡시벤질)페놀 대신에 2-(4-이소부틸벤질)페놀을 사용하여, 참고예 14와 동일한 방법으로 표기화합물을 합성했다.

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δppm :

0.88(6H, d, $J=6.6\text{Hz}$), 1.75-1.90(1H, m), 1.87(3H, s), 2.03(3H, s), 2.05(3H, s), 2.08(3H, s), 2.42(2H, d, $J=7.2\text{Hz}$), 3.80-3.95(3H, m), 4.18(1H, dd, $J=2.4, 12.3\text{Hz}$), 4.29(1H, dd, $J=5.5, 12.3\text{Hz}$), 5.11(1H, d, $J=7.6\text{Hz}$), 5.10-5.25(1H, m), 5.25-5.40(2H, m), 6.90-7.25(8H, m)

(참고예 18)

2-(4-에톡시벤질)페닐 2, 3, 4, 6-테트라-O-아세틸- β -D-글루코피라노시드

2-(4-메톡시벤질)페놀 대신에 2-(4-에톡시벤질)페놀을 사용하여, 참고예 14와 동일한 방법으로 표기화합물을 합성했다.

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δppm :

1 ; 1.39(3H, t, $J=7.0\text{Hz}$), 1.91(3H, s), 2.03(3H, s), 2.05(3H, s), 2.07(3H, s), 3.80-3.95(3H, m), 3.99(2H, q, $J=7.0\text{Hz}$), 4.18(1H, dd, $J=2.5, 12.3\text{Hz}$), 4.28(1H, dd, $J=5.6, 12.3\text{Hz}$), 5.10(1H, d, $J=7.7\text{Hz}$), 5.15-5.25(1H, m), 5.25-5.40(2H, m), 6.75-6.85(2H, m), 6.95-7.10(5H, m), 7.10-7.20(1H, m)

(참고예 19)

2-(4-이소프로폭시벤질)페닐 2, 3, 4, 6-테트라-O-아세틸- β -D-글루코피라노시드

2-(4-메톡시벤질)페놀 대신에 2-(4-이소프로폭시벤질)페놀을 사용하여, 참고예 14와 동일한 방법으로 표기화합물을 합성했다.

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δppm :

1.30(6H, d, $J=6.0\text{Hz}$), 1.90(3H, s), 2.03(3H, s), 2.05(3H, s), 2.08(3H, s), 3.80-3.90(3H, m), 4.18(1H, dd, $J=2.3, 12.3\text{Hz}$), 4.28(1H, dd, $J=5.5, 12.3\text{Hz}$), 4.48(1H, heptet, $J=6.0\text{Hz}$), 5.10(1H, d, $J=7.7\text{Hz}$), 5.10-5.25(1H, m), 5.25-5.40(2H, m), 6.70-6.85(2H, m), 6.90-7.10(5H, m), 7.10-7.20(1H, m)

(참고예 20)

5-아세톡시메틸-2-(4-에틸벤질)페닐 2, 3, 4, 6-테트라-O-아세틸- β -D-글루코피라노시드

2-(4-메톡시벤질)페놀 대신에 5-아세톡시메틸-2-(4-에틸벤질)페놀을 사용하여, 참고예 14와 동일한 방법으로 표기화합물을 합성했다.

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δppm :

1.20(3H, t, $J=7.6\text{Hz}$), 1.88(3H, s), 2.02(3H, s), 2.05(3H, s), 2.07(3H, s), 2.09(3H, s), 2.60(2H, q, $J=7.6\text{Hz}$), 3.80-3.95(3H, m), 4.20(1H, dd, $J=2.4, 12.3\text{Hz}$), 4.27(1H, dd, $J=5.3, 12.3\text{Hz}$), 5.00-5.10(2H, m), 5.13(1H, d, $J=7.4\text{Hz}$), 5.15-5.40(3H, m), 6.95-7.15(7H, m)

(참고예 21)

5-아세톡시메틸-2-(4-프로폭시벤질)페닐 2, 3, 4, 6-테트라-O-아세틸- β -D-글루코피라노사이드

2-(4-메톡시벤질)페놀 대신에 5-아세톡시메틸-2-(4-프로폭시벤질)페놀을 사용하여, 참고예 14와 동일한 방법으로 표기화합물을 합성했다.

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δppm :

1, 01(3H, t, $J=7.4\text{Hz}$), 1.70-1.85(2H, m), 1.92(3H, s), 2.03(3H, s), 2.05(3H, s), 2.07(3H, s), 2.09(3H, s), 3.80-3.95(5H, m), 4.20(1H, dd, $J=2.4, 12.3\text{Hz}$), 4.27(1H, dd, $J=5.3, 12.3\text{Hz}$), 5.00-5.10(2H, m), 5.12(1H, d, $J=7.4\text{Hz}$), 5.15-5.40(3H, m), 6.75-6.85(2H, m), 6.95-7.10(5H, m)

(참고예 22)

2-[4-(2-아세톡시에틸)벤질]-5-아세톡시 메틸페닐 2, 3, 4, 6-테트라-O-아세틸- β -D-글루코피라노사이드

2-(4-메톡시벤질)페놀 대신에 2-[4-(2-아세톡시에틸)벤질]-5-아세톡시메틸페놀을 사용하여, 참고예 14와 동일한 방법으로 표기화합물을 합성했다.

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δppm :

1.89(3H, s), 2.03(3H, s), 2.03(3H, s), 2.05(3H, s), 2.07(3H, s), 2.09(3H, s), 2.88(2H, t, $J=7.1\text{Hz}$), 3.85-3.95(3H, m), 4.15-4.35(4H, m), 5.00-5.10(2H, m), 5.13(1H, d, $J=7.5\text{Hz}$), 5.15-5.40(3H, m), 6.95-7.15(7H, m)

(실시예 1)

2-(4-메톡시벤질)페닐 β -D-글루코피라노사이드

2-(4-메톡시벤질)페닐 2, 3, 4, 6-테트라-O-아세틸- β -D-글루코피라노사이드 (0.11g)의 메탄올(4mL)용액에, 나트륨 메톡시드(28% 메탄올용액, 0.12mL)를 가하고, 실온에서 30분간 교반했다. 용매를 감압하에 증류 제거하고, 잔사를 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(용출용매: 염화메틸렌/메탄올=10/1)로 정제하여, 2-(4-메톡시벤질)페닐 β -D-글루코피라노사이드(65mg)를 얻었다.

$^1\text{H-NMR}(\text{CD}_3\text{OD})$ δppm :

3.35-3.55(4H, m), 3.69(1H, dd, $J=5.1, 12.1\text{Hz}$), 3.73(3H, s), 3.80-4.00(2H, m), 4.03(1H, d, $J=15.1\text{Hz}$), 4.91(1H, d, $J=7.4\text{Hz}$), 6.75-6.85(2H, m), 6.85-6.95(1H, m), 6.95-7.10(1H, m), 7.10-7.20(4H, m)

(실시예 2)

2-(4-메틸벤질)페닐 β-D-글루코피라노시드

2-(4-메톡시벤질)페닐 2, 3, 4, 6-테트라-O-아세틸-β-D-글루코피라노시드 대신에 2-(4-메틸벤질)페닐 2, 3, 4, 6-테트라-O-아세틸-β-D-글루코피라노시드를 사용하여, 실시예 1과 동일한 방법으로 표기화합물을 합성했다.

¹H-NMR(CD₃OD) δppm:

2.27(3H, s), 3.35-3.55(4H, m), 3.69(1H, dd, J=5.2, 12.0Hz), 3.80-3.90(1H, m), 3.94(1H, d, J=15.0Hz), 4.05(1H, d, J=15.0Hz), 4.85-4.95(1H, m), 6.85-6.95(1H, m), 6.95-7.20(7H, m)

(실시예 3)

2-(4-에틸벤질)페닐 β-D-글루코피라노시드

2-(4-메톡시벤질)페닐 2, 3, 4, 6-테트라-O-아세틸-β-D-글루코피라노시드 대신에 2-(4-에틸벤질)페닐 2, 3, 4, 6-테트라-O-아세틸-β-D-글루코피라노시드를 사용하여, 실시예 1과 동일한 방법으로 표기화합물을 합성했다.

¹H-NMR(CD₃OD) δppm:

1.15-1.25(3H, m), 2.50-2.65(2H, m), 3.35-3.55(4H, m), 3.65-3.75(1H, m), 3.80-4.00(2H, m), 4.06(1H, d, J=14.9Hz), 4.85-5.00(1H, m), 6.85-7.00(1H, m), 7.00-7.20(7H, m)

(실시예 4)

2-(4-이소부틸벤질)페닐 β-D-글루코피라노시드

2-(4-메톡시벤질)페닐 2, 3, 4, 6-테트라-O-아세틸-β-D-글루코피라노시드 대신에 2-(4-이소부틸벤질)페닐 2, 3, 4, 6-테트라-O-아세틸-β-D-글루코피라노시드를 사용하여, 실시예 1과 동일한 방법으로 표기화합물을 합성했다.

¹H-NMR(CD₃OD) δppm:

0.80-0.95(6H, m), 1.70-1.90(1H, m), 2.4-(2H, d, J=7.1Hz), 3.30-3.55(4H, m), 3.60-3.75(1H, m) 13.80-3.95(1H, m), 3.95(1H, d, J=15.0Hz), 4.06(1H, d, J=15.0Hz), 4.85-4.95(1H, m), 6.80-7.20(8H, m)

(실시예 5)

2-(4-에톡시벤질)페닐 β-D-글루코피라노시드

2-(4-메톡시벤질)페닐 2, 3, 4, 6-테트라-O-아세틸-β-D-글루코피라노시드 대신에 2-(4-에톡시벤질)페닐 2, 3, 4, 6-테트라-O-아세틸-β-D-글루코피라노시드를 사용하여, 실시예 1과 동일한 방법으로 표기화합물을 합성했다.

¹H-NMR(CD₃OD) δppm:

1.35(3H, t, J=6.8Hz), 3.35-3.55(4H, m), 3.60-3.75(1H, m), 3.80-4.10(5H, m), 4.90(1H, d, J=7.1Hz), 6.70-6.85(2H, m), 6.85-6.95(1H, m), 7.00-7.20(5H, m)

(실시예 6)

2-(4-이소프로폭시벤질)페닐 β-D-글루코피라노시드

2-(4-메톡시벤질)페닐 2, 3, 4, 6-테트라-O-아세틸-β-D-글루코피라노시드 대신에 2-(4-이소프로폭시벤질)페닐 2, 3, 4, 6-테트라-O-아세틸-β-D-글루코피라노시드를 사용하여, 실시예 1과 동일한 방법으로 표기화합물을 합성했다.

¹H-NMR(CD₃OD) δppm:

1.27(6H, d, J=6.0Hz), 3.35-3.55(4H, m), 3.69(1H, dd, J=5.4, 12.1Hz), 3.88(1H, dd, J=2.0, 12.1Hz), 3.91(1H, d, J=15.0Hz), 4.02(1H, d, J=15.0Hz), 4.51(1H, heptet, J=6.0Hz), 4.91(1H, d, J=7.7Hz), 6.70-6.85(2H, m), 6.85-6.95(1H, m), 7.00-7.10(1H, m), 7.10-7.20(4H, m)

(실시예 7)

5-히드록시메틸-2-(4-프로폭시벤질)페닐 β-D-글루코피라노시드

2-(4-메톡시벤질)페닐 2, 3, 4, 6-테트라-O-아세틸-β-D-글루코피라노시드 대신에 5-아세톡시메틸-2-(4-프로폭시벤질)페닐 2, 3, 4, 6-테트라-O-아세틸-β-D-글루코피라노시드를 사용하여, 실시예 1과 동일한 방법으로 표기화합물을 합성했다.

¹H-NMR(CD₃OD) δppm:

1.02(3H, t, J=7.4Hz), 1.70-1.85(2H, m), 3.30-3.55(4H, m), 3.65-3.75(1H, m), 3.80-3.95(4H, m), 4.00(1H, d, J=15.0Hz), 4.54(2H, s), 4.93(1H, d, J=7.4Hz), 6.70-6.85(2H, m), 6.85-6.95(1H, m), 7.02(1H, d, J=7.7Hz), 7.05-7.20(3H, m)

(실시예 8)

2-(4-에틸벤질)-5-히드록시메틸페닐 β-D-글루코피라노시드

2-(4-메톡시벤질)페닐 2, 3, 4, 6-테트라-O-아세틸-β-D-글루코피라노시드 대신에 5-아세톡시메틸-2-(4-에틸벤질)페닐 2, 3, 4, 6-테트라-O-아세틸-β-D-글루코피라노시드를 사용하여, 실시예 1과 동일한 방법으로 표기화합물을 합성했다.

¹H-NMR(CD₃OD) δppm:

1.19(3H, t, J=7.6Hz), 2.57(2H, q, J=7.6Hz), 3.30-3.55(4H, m), 3.65-3.75(1H, m), 3.85-4.00(2H, m), 4.04(1H, d, J=15.0Hz), 4.54(2H, s), 4.93(1H, d, J=7.4Hz), 6.85-6.95(1H, m), 7.02(1H, d, J=7.7Hz), 7.06(2H, d, J=8.1Hz), 7.10-7.20(3H, m)

(실시예 9)

2-[4-(2-히드록시에틸)벤질]-5-히드록시메틸페닐 β-D-글루코피라노시드

2-(4-메톡시벤질)페닐 2, 3, 4, 6-테트라-O-아세틸-β-D-글루코피라노시드 대신에 2-[4-(2-아세톡시에틸)벤질]-5-아세톡시메틸페닐 2, 3, 4, 6-테트라-O-아세틸-β-D-글루코피라노시드를 사용하여, 실시예 1과 동일한 방법으로 표기화합물을 합성했다.

¹H-NMR(CD₃OD) δppm:

2.76(2H, t, J=7.1Hz), 3.30-3.55(4H, m), 3.60-3.75(3H, m), 3.85-4.00(2H, m), 4.05(1H, d, J=14.6Hz), 4.54(2H, s), 4.92(1H, d, J=7.2Hz), 6.85-6.95(1H, m), 7.03(1H, d, J=7.9Hz), 7.09(2H, d, J=7.8Hz), 7.10-7.20(3H, m)

(실시예 10)

2-[4-(2-(2-히드록시에틸)벤질)페닐 β-D-글루코피라노시드

2-[4-(2-(2-벤조일옥시에틸)벤질)페놀(0.49g) 및 1, 2, 3, 4, 6-펜타-O-아세틸-β-D-글루코피라노스(1.7g)의 톨루엔(5.2mL) 및 염화메틸렌(2.2mL) 용액에, 3불화붕소-디에틸에테르 착체(0.56mL)를 가하고, 25℃에서 8시간 교반했다. 반응혼합물에 아세트산에틸(70mL)과 포화 중조수(25mL)를 가하고, 유기층을 분취했다. 유기층을 포화식염수(25mL)로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조 후, 감압하에서 용매를 증류 제거했다. 잔사를 메탄올(5mL) 및 테트라히드로푸란(2.5mL)에 용해하고, 나트륨 메톡시드(28% 메탄올용액, 0.14mL)를 가하고, 25℃에서 12.5시간 교반했다. 반응혼합물에 아세트산에틸(75mL)과 물(20mL)을 가하고, 유기층을 분취했다. 유기층을 포화식염수(20mL)로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조 후, 용매를 감압하에 증류 제거했다. 잔사를 메탄올(7.5mL)에 용해하고, 나트륨 메톡시드(28% 메탄올용액, 0.085mL)를 가하고, 25℃에서 5시간 교반했다. 반응혼합물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(용출용매: 염화메틸렌/메탄올=4/1)로 정제했다. 용매를 감압하에 증류 제거하고, 잔사에 디에틸에테르를 가하여, 석출물을 여취했다. 얻어진 고체를 디에틸에테르로 세척 후, 감압하에서 건조하여, 2-[4-(2-(2-히드록시에틸)벤질)페닐 β-D-글루코피라노시드(0.47g)를 얻었다.

¹H-NMR(CD₃OD) δppm:

2.76(2H, t, J=7.1Hz), 3.35-3.55(4H, m), 3.65-3.75(3H, m), 3.88(1H, dd, J=1.8, 11.8Hz), 3.95(1H, d, J=15.2Hz), 4.07(1H, d, J=15.2Hz), 4.90(1H, d, J=7.4Hz), 6.85-6.95(1H, m), 7.00-7.20(7H, m)

(실시예 11)

2-[4-(3-(3-히드록시프로필)벤질)페닐 β-D-글루코피라노시드

2-[4-(2-(2-벤조일옥시에틸)벤질)페놀 대신에 2-[4-(3-(3-벤조일옥시프로필)벤질)페놀을 사용하여, 실시예 10과 동일한 방법으로 표기화합물을 합성했다.

¹H-NMR(CD₃OD) δppm:

1.70-1.85(2H, m), 2.55-2.65(2H, m), 3.30-3.60(6H, m), 3.69(1H, dd, J=5.2, 11.9Hz), 3.88(1H, dd, J=2.0, 11.9Hz), 3.95(1H, d, J=15.1Hz), 4.06(1H, d, J=15.1Hz), 4.90(1H, d, J=7.3Hz), 6.85-6.95(1H, m), 7.00-7.20(7H, m)

(실시예 12)

2-(4-에틸티오벤질)페닐 β-D-글루코피라노시드

2-(4-에틸티오벤질)페놀(0.51g) 및 1, 2, 3, 4, 6-펜타-O-아세틸-β-D-글루코피라노스(2.4g)의 톨루엔(6.3mL) 및 염화메틸렌(2.7mL)용액에, 3불화붕소-디에틸에테르 착체(0.78mL)을 가하고, 실온에서 9시간 교반했다. 반응혼합물에 아세트산에틸(70mL)과 포화 중조수(25mL)를 가하여 유기층을 분취했다. 유기층을 포화식염수(25mL)로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조 후, 용매를 감압하에 증류 제거했다. 잔사를 메탄올(10.5mL)에 용해하고, 나트륨 메톡시드(28% 메탄올용액, 0.08mL)를 가하고, 25℃에서 18시간 교반했다. 반응혼합물에 아세트산에틸(75mL)과 물(20mL)을 가하고, 유기층을 분취했다. 유기층을 포화식염수(20mL)로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조 후, 용매를 감압하에 증류 제거했다. 잔사를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(용출용매: 염화메틸렌/메탄올=10/1)에 정제했다. 용매를 감압하에 증류 제거하고, 잔사에 디에틸에테르를 가하여, 석출물을 여취했다. 얻어진 무색의 고체를 디에틸에테르로 세척 후, 감압하에서 건조하여, 2-(4-에틸티오벤질)페닐 β-D-글루코피라노시드(0.51g)를 얻었다.

¹H-NMR(CD₃OD) δppm:

1.24(3H, t, J=7.3Hz), 2.88(2H, q, J=7.3Hz), 3.35-3.55(4H, m), 3.69(1H, dd, J=5.0, 12.2Hz), 3.88(1H, dd, J=2.0, 12.2Hz), 3.95(1H, d, J=15.1Hz), 4.08(1H, d, J=15.1Hz), 4.91(1H, d, J=7.3Hz), 6.85-7.00(1H, m), 7.00-7.10(1H, m), 7.10-7.30(6H, m)

(시험예 1)

사람 SGLT2 활성 저해작용 확인시험

1) 사람 SGLT2 발현 플라스미드 벡터의 제조

SUPERSCRIPT Preamplification System(Gibco-BRL:LIFE TECHNOLOGIES제)를 사용하여, 사람 신장유래의 total RNA(Origene제)를 올리고dT를 프라이머로 하여 역전사하고, PCR 증폭용 cDNA 라이브러리를 제작했다. 상기 사람 신장 cDNA 라이브러리를 주형으로 하여, 배열번호 1 및 2로 표시되는 하기의 올리고 뉴클레오티드 0702F 및 0712R을 프라이머에 사용하고, Pfu DNA Polymerase(Stratagene사제)를 사용한 PCR 반응에 의해 사람 SGLT2를 코딩하는 DNA 단편을 증폭했다. 증폭된 DNA 단편을 클로닝용 벡터 pCR-Blunt(Invitrogen제)에 이 키트의 표준법에 따라 리게이션 했다. 상법에 의해 대장균 HB101 컴피턴트 셀(도요보(주)제)에 도입한 후, 형질전환주를 카나마이신 50µg/mL를 포함하는 LB 한천 배지에서 선택했다. 이 형질전환주의 하나로부터 플라스미드 DNA를 추출 정제하고, 배열번호 3 및 4로 표시되는 하기의 올리고 뉴클레오티드, 0714F 및 0715R을 프라이머로서 사용하고, Pfu DNA Polymerase(Stratagene사제)를 사용한 PCR 반응에 의해 사람 SGLT2를 코딩하는 DNA 단편을 증폭했다. 증폭된 DNA 단편을 제한효소 XhoI 및 HindIII에서 소화한 후, Wiard Purification System(Promega제)에 의해 정제했다. 이 정제한 DNA 단편을 융합화 단백질 발현용 벡터 pcDNA3.1(-)Myc/His-A(Invitrogen제)의 대응하는 제한효소 부위에 넣었다. 상법에 따라 대장균 HB101 컴피턴트 셀(도요보(주)제)에 도입한 후, 형질전환주를 암피실린 100µg/mL를 포함하는 LB 한천배지에서 선택했다. 이 형질전환주로부터 플라스미드 DNA를 추출정제하고, 벡터 pcDNA3.1(-)Myc/His-A의 멀티클로닝 부위에 삽입된 DNA 단편의 염기배열을 조사했다. Wells 등에 의해 보고된 사람 SGLT2(Am. J. Physiol., Vol. 263, pp459-465(1992))에 대해, 이 클로닝은 1염기의 치환(433번째의 이소로이신을 코딩하는 ATC가 GTC로 치환)을 갖고 있었다. 이 결과 433번째의 잔기의 이소로이신이 발린으로 치환한 클론을 얻었다. 이 카르복시 말단측 최종 잔기의 알라닌의 다음부터 배열번호 5로 표시되는 펩티드를 융합화한 사람 SGLT2를 발현하는 플라스미드 벡터를 KL29로 했다.

배열번호 1 ATGGAGGAGCACACAGAGGC

배열번호 2 GGCATAGAAGCCCCAGAGGA

배열번호 3 AACCTCGAGATGGAGGAGCACACAGAGGC

배열번호 4 AACAAAGCTTGGCATAGAAGCCCCAGAGGA

배열번호 5 KLGPEQKLISEEDLNSAVDHHHHHH

2) 사람 SGLT2 일과성 발현세포의 조제

사람 SGLT2 발현 플라스미드 KL29를 상기 천공법에 의해 COS-7 세포(RIKEN CELL BANK RCB0539)에 도입했다. 상기 천공법은 진펄서 II(Bio-Rad Laboratories제)를 사용하고, OPTI-MEM I배지(Gibco-BRL:LIFE TECHNOLOGIES제) 500µL에 대해 COS-7 세포 2×10⁶개와 KL2920µg을 포함하는 0.4cm큐벳 내에서 0.290kV, 975µF의 조건하에서 행했다. 유전자 도입 후, 세포를 원심분리에 의해 회수하고 세포 1큐벳 분량에 대해 1mL의 OPTI-MEM I 배지를 가하고현탁했다. 이 세포현탁액을 96웰 플레이트의 1웰당 125µL씩 나누어 부었다. 37°C, 5%CO₂의 조건하에서 하룻밤 배양한 후, 10% 소태아혈청(산코 준야쿠(주)제), 100 units/mL 페니실린G나트륨(Gibco-BRL: LIFE TECHNOLOGIES제), 100µg/mL 황산 스트렙토마이신(Gibco-BRL: LIFE TECHNOLOGIES제)을 포함하는 DMEM 배지(Gibco-BRL: LIFE TECHNOLOGIES제)를 1웰당 125µL씩 가했다. 다음날까지 배양하고 메틸-α-D-글루코피라노시드 편입 저해활성의 측정에 제공했다.

3) 메틸-α-D-글루코피라노시드 편입 저해활성의 측정

사람 SGLT2 일과성발현 COS-7 세포의 배지를 제거하고, 1웰당 전처치용 완충액(140mM 염화콜린, 2mM 염화칼륨, 1mM 염화칼슘, 1mM 염화마그네슘, 10mM 2-[4-(2-히드록시에틸)-1-피페라지닐]에탄술폰산, 5mM 트리스(히드록시메틸)아미노메탄을 포함하는 완충액 pH7.4)을 200 μ L 가하고, 37 $^{\circ}$ C에서 10분간 정치했다. 전처치용 완충액을 제거하고, 재차 동일 완충액을 200 μ L 가하고, 37 $^{\circ}$ C에서 10분간 정치했다. 시험화합물을 포함하는 편입용 완충액(140mM 염화나트륨, 2mM 염화칼륨, 1mM 염화칼슘, 1mM 염화마그네슘, 5mM 메틸- α -D-글루코피라노시드, 10mM 2-[4-(2-히드록시에틸)-1-피페라지닐]에탄술폰산, 5mM 트리스(히드록시메틸)아미노메탄을 포함하는 완충액 pH7.4) 525 μ L에 7 μ L의 메틸- α -D-(U-14C)글루코피라노시드(Amersham Pharmacia Biotech제)를 가하고 혼합하여, 편입용 완충액으로 했다. 대조군에 시험화합물을 포함하지 않는 편입용 완충액을 조제했다. 또 시험화합물 및 나트륨 비존재하의 기초편입 측정용 염화나트륨으로 바꾸어 140mM의 염화콜린을 포함하는 기초편입용 완충액을 동일하게 조제했다. 전처치용 완충액을 제거하고, 편입용 완충액을 1웰당 75 μ L씩 가하고 37 $^{\circ}$ C에서 2시간 정치했다. 편입용 완충액을 제거하고, 세척용 완충액(140mM 염화콜린, 2mM 염화칼륨, 1mM 염화칼슘, 1mM 염화마그네슘, 10mM 메틸- α -D-글루코피라노시드, 10mM 2-[4-(2-히드록시에틸)-1-피페라지닐]에탄술폰산, 5mM 트리스(히드록시메틸)아미노메탄을 포함하는 완충액 pH7.4)을 1웰당 200 μ L씩 가하고 곧바로 제거했다. 이 세척조작을 2회 더 행하고, 0.2N 수산화나트륨을 1웰당 75 μ L씩 가하여 세포를 가용화 했다. 가용화액을 피코플레이트(Packard제)에 옮기고, 150 μ L의 마이크로신치40(Packard제)를 가하여 마이크로 플레이트 신틸레이션 카운터 튜브 카운트(Packard제)로 방사활성을 측정했다. 대조군의 편입량으로부터 기초 편입량을 뺀 값을 100%로 하고, 편입량의 50% 저해하는 농도(IC₅₀ 값)를 농도-저해곡선으로부터 최소사승법에 의해 산출했다. 그 결과는 이하의 표 1과 같다.

[표 1]

| 시험화합물 | IC ₅₀ 값(nM) |
|--------|------------------------|
| 실시예 1 | 350 |
| 실시예 2 | 450 |
| 실시예 3 | 140 |
| 실시예 4 | 500 |
| 실시예 5 | 330 |
| 실시예 6 | 370 |
| 실시예 7 | 140 |
| 실시예 8 | 8.1 |
| 실시예 9 | 27 |
| 실시예 10 | 210 |
| 실시예 11 | 75 |
| 실시예 12 | 110 |

(시험예 2)

요당 배설촉진작용 확인시험

실험동물로서 하룻밤 절식한 SD계 래트(SLC, 웅성 7주령, 180~240g)를 사용했다. 시험화합물 10mg은 에탄올 300 μ L에 현탁 또는 용해시키고, 폴리에틸렌글리콜 400 1.2mL 및 생리식염수 1.5mL를 가해서 용해하여, 3.3mg/mL 용액으로 했다. 이 용해액 300 μ L를 희석용액 2.7mL(생리식염수:폴리에틸렌글리콜 400:에탄올=5:4:1)에 용해하고, 0.33(mg/mL)의 농도의 용해액을 조제했다. 래트의 체중을 측정하고, 시험화합물 용액을 3mL/kg의 용량(1mg/kg)으로 꼬리정맥내 투여했다. 대조군용에 생리식염수:폴리에틸렌글리콜 400:에탄올=5:4:1만을 3mL/kg의 용량으로 꼬리정맥내 투여했다. 꼬리정맥내 투여직후에 200g/L 글루코스 수용액을 10mL/kg의 용량(2g/kg)으로 경구투여했다. 꼬리정맥내 투여는 26G 주사침 및 1mL 시린지를 사용하여 행했다. 경구투여는 래트용 존데 및 2.5mL 시린지를 사용하여 행했다. 1군당의 마리수는 2 또는 3 마리로 했다. 글루코스타우 종료후부터 대사케이지로 체노를 행했다. 체노시간은 글루코스 투여 후 24시간으로 했다. 체노종료후, 오줌량을 기록하고, 오줌중에 포함되는 글루코스 농도를 측정했다. 글루코스 농도는 임상검사용 키트:글루코스B 테스트와코(와코 준야쿠(주)제)로 정량했다. 오줌량, 오줌중 글루코스 농도 및 체중으로부터 24시간에서의 체중 200g 당의 요당 배설량을 구했다. 그 결과는 이하와 같다.

[표 2]

| 시험화합물 | 요당배설량(mg) |
|--------|-----------|
| 실시예 1 | 27.4 |
| 실시예 7 | 109.1 |
| 실시예 8 | 238.9 |
| 실시예 10 | 69.5 |

(시험예 3)

급성독성시험

웅성 5주령 ICR계 마우스(일본 쿠레아제, 29~34g, 1군 5예)에 4시간 절식 후, 2-[4-(2-히드록시에틸)벤질]페닐 β-D-글루코피라노시드(실시예 10 기재의 화합물)에 생리식염수:폴리에틸렌글리콜 400:에탄올=5:4:1을 가하여 조제한 현탁액(666mg/mL)을 3mL/kg(2000mg/kg)의 용량으로 피하투여했다. 투여 24시간후, 사망예는 인지되지 않았다.

산업상 이용 가능성

본 발명의 상기 화학식 I로 표시되는 글루코피라노실록시 벤질벤젠 유도체는, 우수한 사람 SGLT2 활성 저해작용을 갖고 있다. 본 발명에 의해 당뇨병, 당뇨병성 합병증, 비만증 등의 예방 또는 치료제를 제공할 수 있다. 또, 본 발명의 상기 화학식 II로 표시되는 화합물은, 상기 화학식 I로 표시되는 화합물을 제조할 때의 중간체로서 중요하고, 이 화합물을 경유함으로써 본 발명의 상기 화학식 I로 표시되는 화합물을 용이하게 제조할 수 있다.