

РЕПУБЛИКА БЪЛГАРИЯ



(19) **BG**

(11) **107674 A**

7(51) C 07 H 15/203
A 61 K 31/7034
A 61 P 43/00
A 61 P 3/10
A 61 P 3/04

ЗАЯВКА ЗА ПАТЕНТ
ЗА
ИЗОБРЕТЕНИЕ

ПАТЕНТНО ВЕДОМСТВО

(21) Регистров № 107674
(22) Заявено на 26.03.2003
(24) Начало на действие
на патента от:

Приоритетни данни

(31) 2000-301523 (32) 29.09.2000 (33) JP

(41) Публикувана заявка в
бюлетин № 1 на 30.01.2004
(45) Отпечатано на
(46) Публикувано в бюлетин №
на
(56) Информационни източници:

(62) Разделена заявка от рег. №

(71) Заявител(и):
KISSEI PHARMACEUTICAL CO. LTD.
NAGANO (JP)

(72) Изобретател(и):
Hideki Fujikura,
Nobuhiko Fushimi,
Toshihiro Nishimura,
Kazuya Tatani,
Masayuki Isaji,
Nagano (JP)

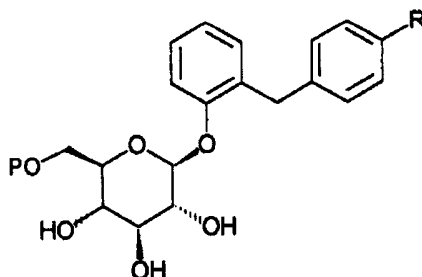
(74) Представител по индустриална
собственост:
Георги Цветанов Перев, 1124 София,
ул. "Леонардо да Винчи" 3

(86) № и дата на РСТ заявка:
PCT/JP01/08239, 21.09.2001

(87) № и дата на РСТ публикация:
WO02/28872, 11.04.2002

(54) ГЛЮКОПИРАНОЗИЛОКСИБЕНЗИЛБЕНЗЕНОВИ ПРОИЗВОДНИ И СЪДЪРЖАЩИ ГИ
ЛЕКАРСТВЕНИ СЪСТАВИ

(57) Изобретението се отнася до глюкопиранозилоксибензилбензенови производни с обща формула



Те имат доказана орална абсорбируемост, инхибират човешка SGLT2 активност in vivo и се използват като превантивни или терапевтични лекарства за лечение на заболявания, предизвикани от хипергликемия като диабет, усложнения от диабет и затлъстяване. Във формулата Р представлява група, съставяща пролекарство; R е нисша алкилова група, нисша алкокси група, нисша алкилтио група, нисша алкокси нисша алкилова група, нисша алкокси нисша алкокси група, или нисша алкокси нисша алкилтио група.

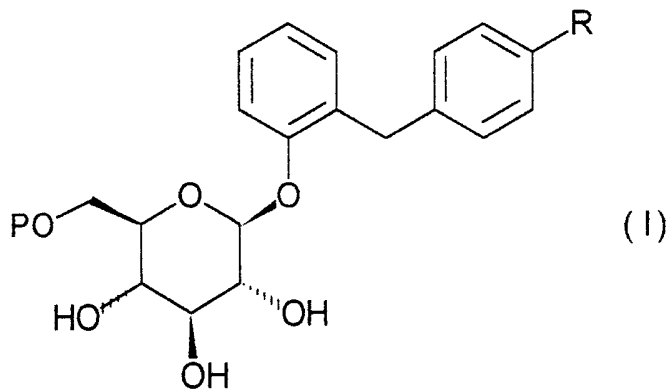
BG 107674 A

ГЛЮКОПИРАНОЗИЛОКСИБЕНЗИЛБЕНЗЕНОВИ ПРОИЗВОДНИ И СЪДЪРЖАЩИ ГИ ЛЕКАРСТВЕНИ СЪСТАВИ

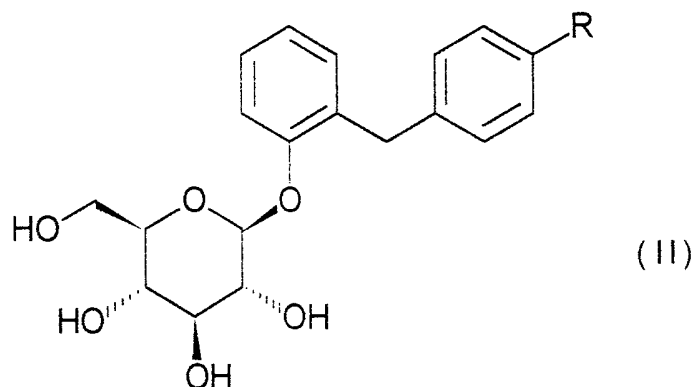
ОБЛАСТ НА ТЕХНИКАТА

Настоящото изобретение се отнася до глюकोпиранозилоксибензилбензенови производни, които се използват като лекарства, и до съдържащи ги фармацевтични състави.

По-специално, настоящето изобретение се отнася до глюकोпиранозилоксибензилбензенови производни, които се използват като средства за предотвратяване, или за лечение на заболяване, асоциирано с хипергликемия, като диабет, усложнения от диабет, или затлъстяване, представени с общата формула



където Р представлява група, формираща пролекарство; а R представлява ниша алкилова група, ниша алкокси група, ниша алкилтио група, ниша алкокси-заместена (ниша алкилова) група, ниша алкокси-заместена (ниша алкокси) група, или ниша алкокси-заместена (ниша алкилтио група), чиито глюкопиранозилоксибензилбензенови производни, които имат инхибиторна активност в човешки SGLT2, са представени с общата формула:



където R представлява ниша алкилова група, ниша алкокси група, ниша алкилтио група, ниша алкокси-заместена (ниша алкилова) група, ниша алкокси-заместена (ниша алкокси) група, или ниша алкокси-заместена (ниша алкилтио група), са активни форми, и се отнасят до фармацевтични състави, които ги съдържат.

ПРЕДШЕСТВАЩО СЪСТОЯНИЕ НА ТЕХНИКАТА

Диабетът е едно от заболяванията, свързани със стила на живот, с предшестваща промяна на хранителните навици, и липса на физическо упражнение. Следователно, терапии с диета и упражнения се прилагат при пациенти с диабет. Освен това, когато необходимият контрол и непрекъснатото изпълнение

са трудни, едновременно се прилага лекарствено лечение. Понастоящем, бигуаниди, сулфонилуреи и средства за намаляване на инсулинова резистентност се използват като противодиабетични средства. Обаче, бигуанидите и сулфонил-уреите показват понякога неблагоприятни ефекти, такива като лактоацидоза и хипоглиземия, съответно. В случаите, когато се използват средства за намаляване на инсулиновата резистентност, понякога се наблюдават неблагоприятни ефекти, такива като едем, и това също се приема като увеличаващо се затлъстяване. Поради това, с цел да се разрешат тези проблеми, желателно беше да се развият противодиабетични средства, имащи нов механизъм на действие.

В последните години, развитието на нов вид противодиабетични средства напредна, което подпомага изхвърляне на глюкозата с урината, и по-ниско ниво на глюкозата в кръвта, като се предотвратява излишно повторно абсорбиране на глюкоза в бъбреците (J. Clin. Invest., Vol. 79, pp. 1510 – 1515 (1987)). Също така, докладвано е, че SGLT2 (Na⁺/глюкоза котранспортър 2) присъства в сегмент S1 на проксималните тубули на бъбреците, и участва главно в повторно абсорбиране на глюкоза, филтрувана през гломерули (J. Clin. Invest., Vol. 93, pp. 397 – 404 (1994)). Съгласно това, инхибирането на човешки SGLT2 предотвратява повторното абсорбиране на излишна глюкоза в бъбреците, следователно подпомага изхвърлянето на излишната глюкоза посредством урината, и нормализира нивото на глюкозата в кръвта. Ето защо, желателно беше бързото развиване на противодиабетични средства, които подпомагат изхвърлянето на глюкозата в урината, и по-ниско ниво на глюкозата в кръвта,

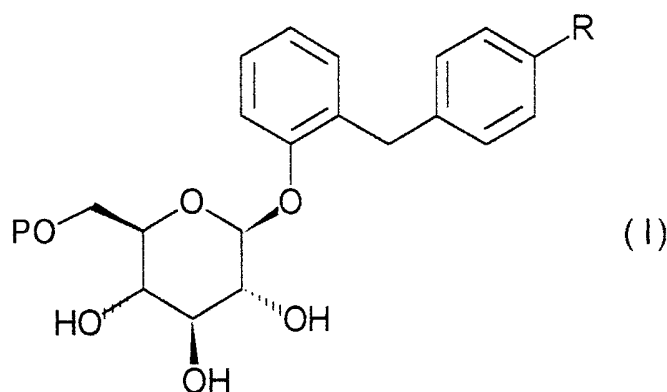
като предотвратяват повторно абсорбиране на излишната глюкоза в бъбреците (J. Clin. Invest., Vol. 79, pp. 1510-1515 (1987)). Освен това, докладвано е, че SGLT2 (Na⁺/котранспортер 2 на глюкоза) присъства в S1 сегмента на проксималните тубули на бъбреците, и участва главно в повторното абсорбиране на глюкоза, филтрирана през гломерулите (J. Clin. Invest., Vol. 93, pp. 397-404 (1994)). В съгласие с това, инхибирането на човешки SGLT2 активност предотвратява повторно абсорбиране на излишната глюкоза в бъбреците, следователно подпомага изхвърлянето на излишната глюкозата с урината, и нормализира нивото на глюкозата в кръвта. Поради това, желателно е бързо развитие на противодиабетични средства, които имат мощна инхибиторна активност в човешки SGLT2, и имат нов механизъм на действие. Също така, тъй като такива средства подпомагат изхвърлянето на излишната глюкозата с урината, и следователно се намалява натрупването на глюкоза в кръвта, очаква се също така те да имат превантивен ефект върху затлъстяването.

ТЕХНИЧЕСКА СЪЩНОСТ НА ИЗОБРЕТЕНИЕТО

Настоящото изобретение направи сериозно изследване за намиране на съединения, имащи инхибираща активност в човешки SGLT2. В резултат на това, беше установено, че съединения, представени с горната обща формула (I) се конвертират *in vivo* в техните активни форми, глюкопиранозил-оксибензилбензенови производни представени с горната обща формула (II), и показват отлична инхибираща активност в човешки SGLT2, както се посочва по-долу, като чрез това оформят основата на настоящето изобретение.

Настоящото изобретение предоставя следващите глюкопиранозилоксибензилбензенови производни, които показват инхибираща активност върху човешки SGLT2 *in vivo*, и показват отличен хипогликемичен ефект, като изхвърлят излишната глюкоза в урината, като по този начин предотвратяват повторното абсорбиране на глюкоза в бъбреците, и фармацевтични състави, които ги съдържат.

Така че, настоящето изобретение се отнася до глюкопиранозилоксибензилбензенови производни, представени с общата формула:



където P представлява група, формираща пролекарство; а R представлява ниша алкилова група, ниша алкокси група, ниша алкилтио група, ниша алкокси-заместена (ниша алкилова) група, ниша алкокси-заместена (ниша алкокси) група, или ниша алкокси-заместена (ниша алкилтио група).

Настоящото изобретение се отнася до фармацевтичен състав, съдържащ като активна съставна част глюкопиранозилоксибензилбензеново производно, представено с горната обща формула (I).

Настоящото изобретение се отнася до инхибитор на човешки SGLT2, съдържащ като активна съставна част

глюкопиранозилоксибензилбензеново производно, представено с горната обща формула (I).

Настоящото изобретение се отнася до средство за предотвратяването, или за лечението на заболяване, асоциирано с хипергликемия, което съдържа като активна съставна част глюкопиранозилоксибензилбензеново производно, представено с горната обща формула (I).

Настоящото изобретение се отнася до метод за предотвратяването, или за лечението на заболяване, асоциирано с хипергликемия, който се състои в приложение на терапевтично ефективно количество глюкопиранозилоксибензилбензеново производно, представено с горната общата формула (I).

Настоящото изобретение се отнася до използване на глюкопиранозилоксибензилбензеново производно, представено с горната общата формула (I), за получаването на фармацевтичен състав за предотвратяването, или за лечението на заболяване, асоциирано с хипергликемия.

В настоящето изобретение, терминът "пролекарство" означава съединение, което се конвертира в глюкопиранозилоксибензилбензеново производно, представено с горната обща формула (II), като негова активна съставна част *in vivo*. Като примери за групи, формиращи пролекарства, показани са хидрокси-защитна група, използвана обикновено като пролекарство, такава като ниша алкилова група, ниша алкокси-заместена (ниша ацилна) група, ниша алкоксикарбонил-заместена (ниша ацилна) група, ниша алкоксикарбонилна група, и ниша алкокси-заместена (ниша алкоксикарбонилна група).

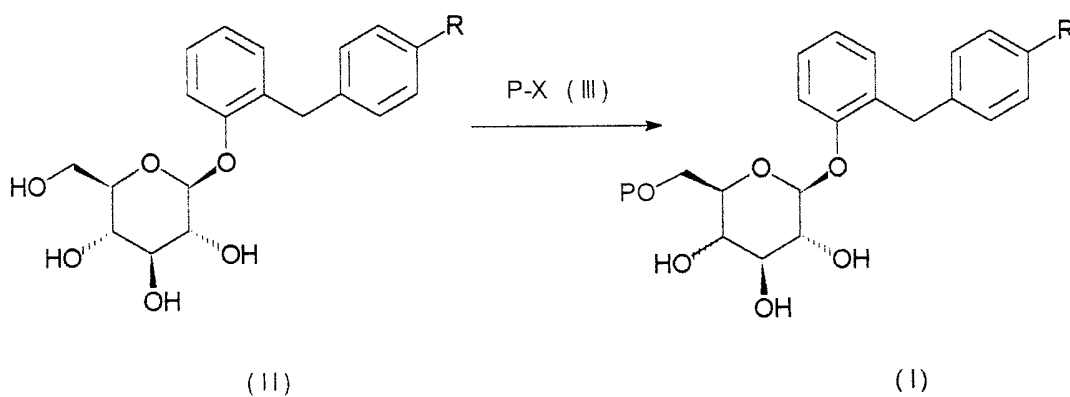
Също така, в настоящето изобретение, терминът "ниша алкилова група" означава алкилова група с права, или с разклонена верига, имаща от 1 до 6 въглеродни атоми, такава

като метилова група, етилова група, пропилова група, изопропилова група, бутилова група, изобутилова група, сек-бутилова група, трет-бутилова група, пентилова група, изопентилова група, неопентилова група, трет-пентилова група, хексилова група, или други подобни; терминът “ниша алкокси група” означава алкокси група с права, или с разклонена верига, имаща от 1 до 6 въглеродни атоми, такава като метокси група, етокси група, пропокси група, изопропокси група, бутокси група, изобутокси група, сек-бутокси група, трет-бутокси група, пентилокси група, изопентилокси група, неопентилокси група, трет-пентилокси група, хексилокси група, или други подобни; а терминът “ниша алкилтио група” означава алкилтио група с права, или с разклонена верига, имаща от 1 до 6 въглеродни атоми, такава като метилтио група, етилтио група, пропилтио група, изопропилтио група, бутилтио група, изобутилтио група, сек-бутилтио група, трет-бутилтио група, пентилтио група, изопентилтио група, неопентилтио група, трет-пентилтио група, хексилтиогрупа, или други подобни. Терминът “ниша алкокси-заместена (ниша алкилова) група означава горната ниша алкилова група, заместена с горната ниша алкокси група; терминът “ниша алкокси-заместена (ниша алкокси) група означава горната ниша алкокси група, заместена с горната ниша алкокси група; и терминът “ниша алкокси-заместена (ниша алкилтио) група означава горната ниша алкилтио група, заместена с горната ниша алкокси група. Терминът “ниша ацилна група” означава циклична ацилна група с права, или с разклонена верига, имаща от 2 до 7 въглеродни атоми, такава като ацетилна група, пропионилна група, бутирилова група, изобутирилова група, пивалоилна група, хексаноилна група, и циклохексилкарбонилна група; а терминът “ниша алкокси-

заместена (ниша ацилна) група” означава горната ниша ацилна група, заместена с горната ниша алкокси група. Терминът “ниша алкоксикарбонилна група” означава алкоксикарбонилна група с права, с разклонена, или с циклична верига, имаща от 2 до 7 въглеродни атоми, такава като метоксикарбонилна група, етоксикарбонилна група, изопропилоксикарбонилна група, изобутилоксикарбонилна група, и циклохексилоксикарбонилна група; терминът “ниша алкоксикарбонил-заместена (ниша ацилна) група” означава горната ниша ацилна група, заместена с горната ниша алкоксикарбонилна група, такава като 3-(етоксикарбонилна)пропионилна група; и терминът “ниша алкокси-заместена (ниша алкоксикарбонилна) група” означава горната ниша алкоксикарбонилна група, заместена с горната ниша алкокси група, такава като 2-метоксиетоксикарбонилна група.

В заместителя R, ниша алкилова група и ниша алкокси група са предпочитани, алкилова група с права, или с разклонена верига, имаща от 1 до 4 въглеродни атоми, и алкокси група, с права, или с разклонена верига, имаща от 1 до 3 въглеродни атоми са по-предпочитани, а етилова група и метокси група са най-предпочитани. В заместителя R, ниша ацилна група и ниша алкоксикарбонилна група са предпочитани. За нишата ацилна група, ниша ацилна група с права, или с разклонена верига, имаща от 4 до 6 въглеродни атоми е предпочитана, а бутирилова група и хексаноилова група са по-предпочитани. За нишата алкоксикарбонилната група, ниша алкоксикарбонилна група с права, или с разклонена верига, имаща от 2 до 5 въглеродни атоми е предпочитана, а метоксикарбонилна група и етоксикарбонилна група са по-предпочитани.

Съединенията съгласно настоящето изобретение могат да се получат чрез въвеждане по обичайния начин на хидрокси-защитна група, която може да се използва обикновено в пролекарства, в хидрокси групата на гликопиранозилокси-бензилбензеново производно, представено с горната обща формула (II). Например, съединенията, представени чрез горната обща формула (I) съгласно настоящето изобретение, могат да се получат, използвайки гликопиранозилокси-бензилбензеново производно, представено с горната обща формула (II). Съгласно следващата методика:

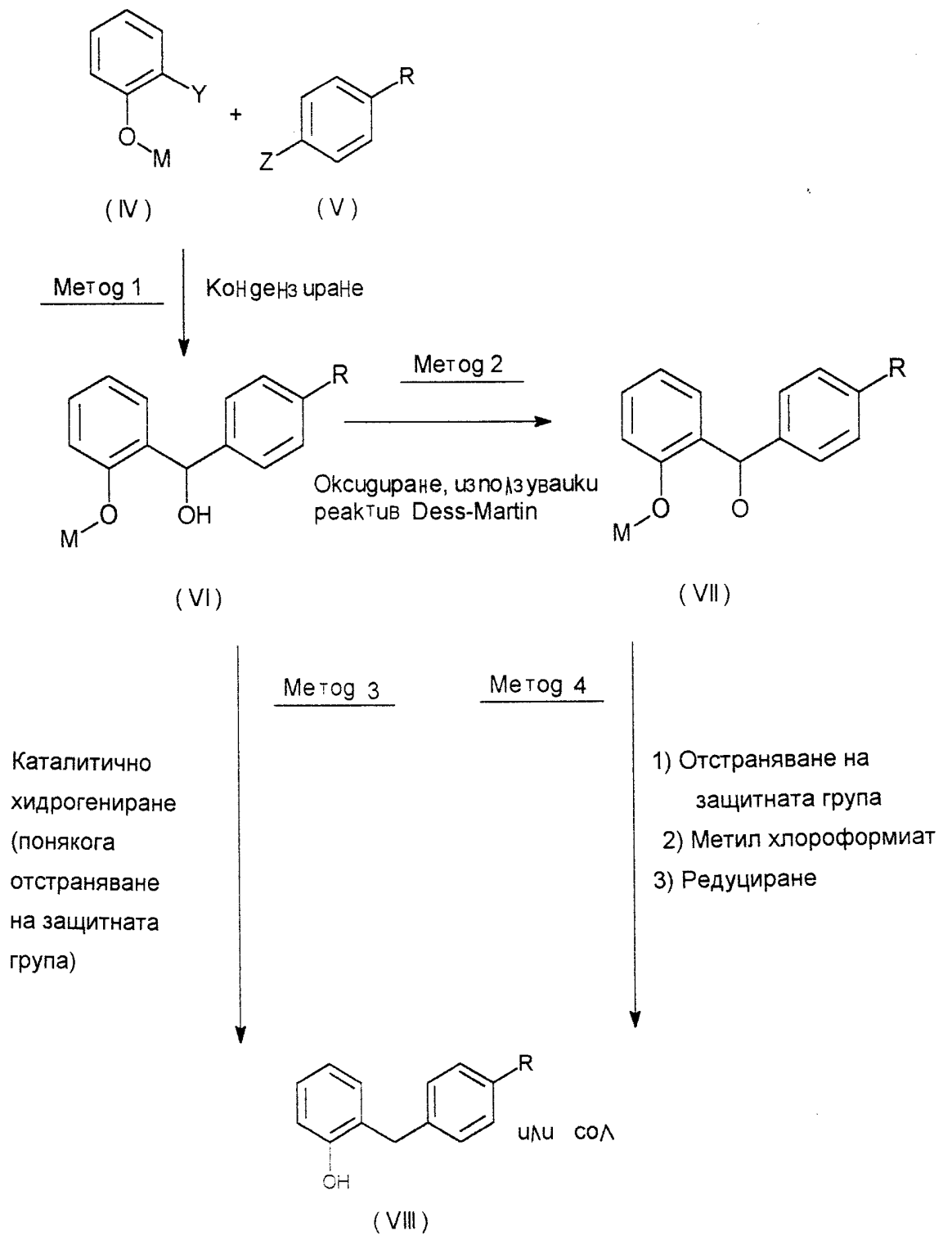


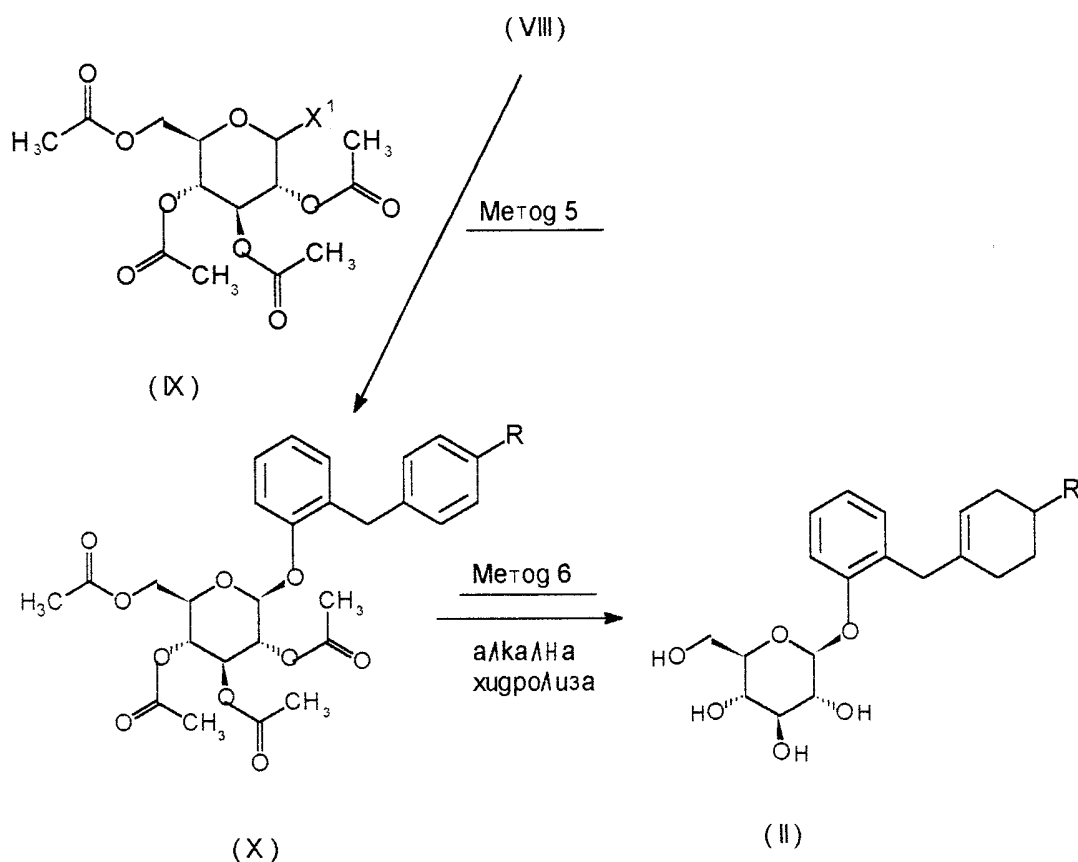
където X представлява напускаща група, такава като бромнен атом и хлорен атом; а R и P имат същите значения, както са дефинирани по-горе.

Пролекарство, представено с горната обща формула (I) може да се получи, като се защити хидрокси групата на гликопиранозилоксибензилбензеново производно, представено с горната обща формула (II) със защитен реактив, представен с горната обща формула (III), в присъствие на основа, такава като пиридин, N,N-диизопропилетиламин, пиколин, лутидин, колидин, хинуклидин, 1,2,2,6,6-пентаметилпиперидин, или 1,4-диазабицикло[2.2.2]октан в инертен разтворител, или без

разтворител. Като използван разтворител могат да се илюстрират дихлорметан, ацетонитрил, етил ацетат, диизопропилов етер, хлороформ, тетраhydroфуран, 1,2-диметоксиетан, 1,4-диоксан, ацетон, трет-бутанол, смесен разтворител от горните и други подобни. Реакционната температура обикновено е от -40°C до температура на кипене под обратен хладник, а реакционното време обикновено е от 30 минути до 2 дена, като варира въз основа на използваните изходни продукти, разтворителя и реакционната температура.

Например, съединенията, представени с горната обща формула (II) съгласно настоящето изобретение, които се използват като изходни продукти в посочения по-горе метод на получаване, могат да се получат съгласно следващата методика:





където M представлява хидрокси-защитна група; X^1 представлява напускаща група, такава като трихлорацетоимидаилокси група, ацетокси група, бромнен атом, или флуорен атом; единият от Y и Z е $MgBr$, $MgCl$, MgI , или литиев атом, докато другият представлява формилна група; а R има същото значение, както дефинираното по-горе.

Метод 1

Съединение, представено посредством горната обща формула (VI) може да се получи, като се кондензира бензалдехидно производно, представено посредством горната обща формула (IV) с Гринярдов реактив, или с литиев реактив, представен посредством горната обща формула (V), или като се кондензира Гринярдов реактив, или с литиев реактив,

представен посредством горната обща формула (IV), с бензалдехидно производно, представено посредством горната обща формула (V) в инертен разтворител. Като използвани разтворители, могат да се илюстрират тетраhydroфуран, диетилов етер, смес от тези разтворители, и други подобни. Реакционната температура обикновено е от -78°C до температурата на кипене под обратен хладник, и реакционното време обикновено е от 10 минути до 1 ден, вариращо, в зависимост от използвания изходен продукт, от използвания разтворител, и от температурата на реакцията.

Метод 2

Съединение, представено посредством горната обща (VII) може да се получи, като съединение, представено посредством горната обща формула (VI) се подложи на оксидиране, използвайки реактив на Dess-Martin в инертен разтворител. Като използвани разтворители могат да се илюстрират дихлорметан, хлороформ, ацетонитрил, смес от тези разтворители, и други подобни. Реакционната температура обикновено е от 0°C до температурата на кипене под обратен хладник, и реакционното време обикновено е от 1 час до 1 ден, вариращо, в зависимост от използвания изходен продукт, от използвания разтворител, и от температурата на реакцията.

Метод 3

Съединение, представено посредством горната обща формула (VIII) може да се получи, като съединение, представено посредством горната обща формула (VI) се подложи на каталитично хидрогениране, използвайки паладиев катализатор, такъв като паладиево-въглеродна пудра, в присъствие, или

в отсъствие на киселина, такава като солна киселина, в инертен разтворител, и отстраняване, на защитна група по обичайния начин, в зависимост от изискването на случая. Като разтворители, използвани при каталитичното хидрогениране, могат да се илюстрират метанол, етанол, тетраhydroфуран, етил ацетат, оцетна киселина, изопропанол, смес от тези разтворители, и други подобни. Реакционната температура обикновено е от стайна температура до температурата на кипене под обратен хладник, и времето на реакцията обикновено е от 30 минути до 1 ден, вариращо, в зависимост от използвания изходен продукт, от използвания разтворител, и от температурата на реакцията. Съединението с горната обща формула (VIII) може да се конвертира в негова сол, такава като натриева сол, или калиева сол, по обичайния начин.

Метод 4

Съединение, представено посредством горната обща формула (VIII) може да се получи, чрез отстраняване на защитната група М на съединение, представено посредством горната обща формула (VII) по обичайния начин, кондензирайки полученото съединение с метил хлороформиат, в присъствието на основа, такава като триетиламин, диизопропилетиламин, или 4-(N,N-диметиламино) пиридин, в инертен разтворител, и подлагане на полученото карбонатно съединение на редукция, използвайки редуциращо средство, такава като натриев борохидрид. Като разтворители, използвани при реакцията на кондензиране, могат да се илюстрират тетраhydroфуран, дихлорметан, ацетонитрил, етил ацетат, диетилов етер, смес от тези разтворители, и други подобни. Реакционната температура обикновено е от 0°C до температурата на

кипене под обратен хладник, и времето на реакцията обикновено е от 30 минути до 1 ден, вариращо, в зависимост от използвания изходен продукт, от използвания разтворител, и от температурата на реакцията. Смесен разтворител с тетраhydroфуран и вода, и Като разтворители, използвани при реакцията на редуциране, могат да се илюстрират тетраhydroфуран и вода, и други подобни. Реакционната температура обикновено е от 0°C до температурата на кипене под обратен хладник, и времето на реакцията обикновено е от 1 час до 1 ден, вариращо, в зависимост от използвания изходен продукт, от използвания разтворител, и от температурата на реакцията. Съединението с горната обща формула (VIII) може да се конвертира в негова сол, такава като натриева сол, или калиева сол, по обичайния начин.

Метод 5

Глюкозид, представен посредством горната обща формула (X) може да се получи, като се подложи бензилфенолно производно, представено посредством горната обща формула (VIII), или негова сол, на глюкозиране, използвайки гликозил-ен-донор, представен посредством горната обща формула (IX), такъв като 2, 3, 4, 6-тетра-О-ацетил-1-О-трихлорацетимидоил- α -D-глюкопираноза, 1, 2, 3, 4, 6-пента-О-ацетил- β -D-глюкопираноза, 2, 3, 4, 6-тетра-О-ацетил- α -D-глюкопиранозил бромид, и 2, 3, 4, 6-тетра-О-ацетил- β -D-глюкопиранозил флуорид, в присъствие на активиращ реактив, такъв като комплекс борен три-флуорид диетилов етер, сребърен трифлуорометансулфонат, калаен (IV) хлорид, или триметилсилил трифлуорометансулфонат, в инертен разтворител. Като използвани разтворители могат да се илюстрират дихлорметан, толуен, ацето-

нитрил, нитрометан, етил ацетат, диетилов етер, хлороформ, смес от тези разтворители, и други подобни. Реакционната температура обикновено е от -30°C до температурата на кипене под обратен хладник, и реакционното време обикновено е от 10 минути до 1 ден, вариращо, в зависимост от използвания изходен продукт, от използвания разтворител, и от реакционната температура.

Метод 6

Гликопиранозилоксибензилбензеново производно, представено посредством горната обща формула (II) съгласно настоящето изобретение, може да се получи, като глюкозид, представен посредством горната обща формула (X) се подложи на алкална хидролиза, за да се отстранят хидрокси-защитните групи. Като използвани разтворители, могат да се илюстрират вода, метанол, етанол, тетраhydroфуран, смес от тези разтворители, и други подобни, а като алкални продукти могат да се използват натриева основа, натриев метоксид, натриев етоксид, или други подобни. Температурата на обработването обикновено е от 0°C , до температурата на кипене под обратен хладник, и реакционното време обикновено е от 30 минути до 6 часа, вариращи, в зависимост от използвания изходен продукт, от използвания разтворител, и от температурата на реакцията.

Съединенията съгласно настоящето изобретение, получени съгласно посочения по-горе метод могат да се изолират, и да се пречистят посредством конвенционалните начини за разделяне, такива като фракционно прекристализиране, пречистване посредством използване на хроматография, екстрахиране с разтворители, и екстрахиране в твърда фаза.

Пролекарството, представено посредством горната обща формула (I) съгласно настоящето изобретение включва неговите хидрати, и неговите солвати с фармацевтично приемливи разтворители, такива като етанол.

Пролекарството, представено посредством горната обща формула (I) съгласно настоящето изобретение се конвертира в гликопиранозилоксибензилбензеново производно, представено посредством горната обща формула (II) като негова активна форма *in vivo*, и може да упражнява отлична инхибиторна активност в човешки SGLT2. Освен това, Пролекарството, представено посредством горната обща формула (I) съгласно настоящето изобретение има доказано орално абсорбиране, и фармацевтични състави, съдържащи активната съставна част на пролекарството, имат висока полезност като орални лекарствени форми. Освен това, пролекарствата, съгласно настоящето изобретение, са изключително полезни като средства за предотвратяване, или за лечение на заболяване, асоциирано с хипергликемия, такова като диабет, диабетични усложнения, затлъстяване, или други подобни.

Когато фармацевтичните състави съгласно настоящето изобретение се използват в практиката за лечение, използват се различни единични форми за еднократно дозиране, в зависимост от използването им. Като примери за единични форми за еднократно дозиране се илюстрират прахове, гранули, финни гранули, сухи сиропи, таблетки, капсули, инжекции, разтвори, мазила, супозитории, poultices и други подобни, които се прилагат орално, или парентерално.

Тези фармацевтични състави могат да се получат, като се смеси със, или като се разрежи, или се разтвори подходяща фармацевтична добавка, такова като инертни разтворители,

дезинтегриращи средства, слепващи средства, омазняващи средства, разредители, буфери, средства за изотоничност, антисептични средства, овлажняващи средства, емулгиращи средства, диспергиращи средства, стабилизиращи средства, средства подпомагащи разтварянето, и други подобни, и като от сместа се изготвят лекарствени форми, съгласно фармацевтични конвенционални методи, в зависимост от техните единични форми за еднократно дозиране.

Когато фармацевтичните състави съгласно настоящето изобретение се използват в практиката за лечение, дозата на съединение съгласно настоящето изобретение, като активната съставна част, се решава подходящо, в зависимост от възрастта, от пола, от телесното тегло и от степента на симптомите и от лечението на всеки пациент, което е приблизително в границите от 0,1 до 1,000 mg на ден за възрастен пациент, когато се касае за орално приложение, и приблизително в границите от 0,01 до 300 mg на ден за възрастен пациент, когато се касае за парентерално приложение, и дневната доза може да се раздели на един до няколко приема на ден, и да се прилагат последователно.

ПРИМЕРИ ЗА ИЗПЪЛНЕНИЕ НА ИЗОБРЕТЕНИЕТО

Настоящото изобретение се илюстрира, също така, в по-голями подробности, посредством следващите референтни примери, примери и примери за изследвания. Обаче, настоящето изобретение не се ограничава от тях.

Референтен пример 1

2-(4-изобутилбензил) фенол

Приготвя се Гринярдов реактив от 2-бензилокси-1-бром-бензен (0,20 g), магнезий (0,026 g), каталитично количество йод и тетраhydroфуран (1 mL) по обичайния начин. Полученият Гринярдов реактив се прибавя към разтвор на 4-изобутил-бензалдехид (0,16 g) в тетраhydroфуран (2 mL), и сместа се разбърква при стайна температура в продължение на 30 минути. Реакционната смес се пречиства посредством колонна хроматография с аминопропил силика гел (елуент: тетраhydroфуран), при което се получава дифенилметанолово съединение (0,23 g). Полученото дифенилметанолово съединение се разтваря в етанол (3 mL), и концентрирана солна киселина (0,1 mL). Към разтвора се прибавя каталитично количество 10 % паладиево-въглеродна пудра, и сместа се разбърква във водородна атмосфера при стайна температура в продължение на една нощ. Катализаторът се отстранява посредством филтруване, и филтрат се концентрира при понижено налягане. Остатък се пречиства посредством колонна хроматография със силика гел (елуент: дихлор-метан/хексан = 1/1), при което се получава 2-(4-изобутил-бензил) фенол (0,10 g).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ ppm:

0,89 (6H, d, $J = 6,6$ Hz), 1,75 – 1,90 (1H, m), 2,43 (2H, d, $J = 7,2$ Hz), 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).

Референтен пример 2

2-(4-изопропоксибензил) фенол

Съединението съгласно заглавието се получава по начин, подобен на този, описан в референтен пример 1, използвайки 4-изопропокси-бензалдехид, вместо 4-изобутилбензалдехид.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ ppm:

1,31 (6H, d, $J = 6,1$ Hz), 3,93 (2H, s), 4,50 (1H, хептет, $J = 6,1$ Hz), 4,72 (1H, s), 6,75 – 6,85 (3H, m), 6,85 – 6,95 (1H, m), 7,05 – 7,20 (4H, m).

Референтен пример 3

2-(4-етоксибензил) фенол

Приготвя се Гринярдов реактив от 1-бромо-4-етоксибензен (1,5 g), магнезий (0,19 g), каталитично количество йод и тетра-хидрофуран (2 mL) по обичайния начин. Към получения Гринярдов реактив се прибавя на капки разтвор на 2-бензил-оксибензалдехид (1,1 g) в тетра-хидрофуран (15 mL), и сместа се разбърква при стайна температура в продължение на 30 минути. Към реакционната смес се прибавят наситен воден разтвор на амониев хлорид (10 mL) и вода (20 mL), и сместа се екстрахира с етил ацетат (100 mL). Екстракта се промива с вода (20 mL) и солна луга (20 mL), и се суши над безводен натриев сулфат. След това разтворителят се отстранява при понижено налягане. Остатъка се пречиства посредством колонна хроматография със силика гел (елуент: хексан/етил ацетат = 5/1), при което се получава дифенилметанолово съединение (1,7 g). Полученото дифенилметанолово съединение (1,7 g) се разтваря в етанол (25 mL). Към разтвора се прибавят концентрирана солна киселина (0,42 mL) и каталитично количество 10 % паладиево – въглеродна пудра, и сместа се

разбърква във водородна атмосфера при стайна температура в продължение на 18 часа. Катализаторът се отстранява посредством филтруване, и филтрат се концентрира при понижено налягане. Към остатъка се прибавя етил ацетат (100 mL), и сместа се промива с наситен воден разтвор на кисел натриев карбонат (30 mL) и солна луга (30 mL). Органичният слой се суши над безводен натриев сулфат, и разтворителя се отстранява при понижено налягане. Остатъка се пречиства посредством колонна хроматография със силика гел (елуент: хексан/етил ацетат = 8/1), при което се получава 2-(4-етоксибензил) фенол (0,85 g).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ ppm:

1,39 (3H, t, $J = 7,1$ Hz), 3,93 (2H, s), 4,00 (2H, q, $J = 7,1$ Hz), 4,72 (1H, s), 6,75 – 6,85 (3H, m), 6,85 – 6,95 (1H, m), 7,05 – 7,20 (4H, m).

Референтен пример 4

2-(4-етилтиобензил) фенол

Приготвя се Гринярдков реактив от 1-бромо-4-етилтиобензен (1,1 g), магнезий (0,12 g), каталитично количество йод и тетраhydroфуран (5 mL) по обичайния начин. Към получения разтвор на Гринярдковия реактив се прибавя разтвор на 2-(метоксиметокси) бензалдехид (0,56 g) в тетраhydroфуран (12 mL), и сместа се разбърква при 65°C в продължение на 10 минути. След охлаждане до обикновена температура, към реакционната смес се прибавят наситен воден разтвор на амониев хлорид (5 mL) и вода (20 mL), и сместа се екстрахира с етил ацетат (80 mL). Екстракта се промива с вода (20 mL) и със солна луга (20 mL), суши се над безводен натриев сулфат, след това разтворителят се отстранява при понижено налягане.

Остатъка се пречиства посредством колонна хроматография със силика гел (елуент: хексан/етил ацетат = 4/1), при което се получава дифенилметанолово съединение (0,91 g). Полученото дифенилметанолово съединение (0,90 g) се разтваря в дихлорметан (15 mL). Към разтвора се прибавя реактив Dess-Martin (1,1,1-трис (ацетилокси)-1,1-дихидро-1,2-бензйодоксол-3-(1H)-он) (1,5 g), и сместа се разбърква при 25°C в продължение на 26 часа. Към реакционната смес се прибавят диетилов етер (75 mL) и 1 mol/L воден разтвор на натриева основа (30 mL), сместа се разбърква енергично, и органичния слой се отделя. Органичния слой се промива с 1 mol/L воден разтвор на натриева основа (30 mL), с вода (30 mL, 3 пъти), и със солна луга (30 mL), суши се над безводен натриев сулфат, и разтворителят се отстранява при понижено налягане. Остатъка се пречиства посредством колонна хроматография със силика гел (елуент: хексан/етил ацетат = 15/1 – 9/1), при което се получава кетонно съединение (0,82 g). Смес от полученото кетонно съединение (0,81 g), p-толуенсулфонова киселина монохидрат (0,10 g), и метанол (14 mL), се разбърква при 60°C в продължение на 4 часа. След охлаждане до обикновена температура, реакционната смес се концентрира при понижено налягане. Остатъка се пречиства посредством колонна хроматография със силика гел (елуент: хексан/етил ацетат = 15/1), при което се получава незащитено съединение (0,69 g). Полученото незащитено съединение (0,68 g) се разтваря в тетраhydroфуран (11 mL), и към разтвора се прибавят триетил-амин (0,41 mL), и метил хлороформиат (0,22 mL), и сместа се разбърква при 25°C в продължение на 1 час. След това към реакционната смес се прибавят триетиламин (0,11 mL), и метил хлороформиат (0,061 mL), и сместа се разбърква в

продължение на 30 минути. Реакционната смес се филтрува, и филтрат се концентрира при понижено налягане. Остатък се разтваря в тетраhydroфуран (14 mL) и вода (7 mL), към разтвора се прибавя натриев борохидрид (0,40 g), и сместа се разбърква при 25°C в продължение на 7 часа. Към реакционната смес се прибавя на капки 1 mol/L солна киселина (15 mL), и сместа се екстрахира с етил ацетат (75 mL). Екстракта се промива с вода (20 mL), с наситен воден разтвор на кисел натриев карбонат (20 mL), и със солна луга (20 mL), суши се над безводен натриев сулфат, и разтворителя се отстранява при понижено налягане. Остатък се пречиства посредством колонна хроматография със силика гел (елуент: хексан/етил ацетат = 8/1), при което се получава 2-(4-етилтиобензил) фенол (0,62 g).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ ppm:

1,29 (3H, t, $J = 7,3$ Hz), 2,90 (2H, q, $J = 7,3$ Hz), 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).

Референтен пример 5

2-(4-метоксибензил) фенил 2,3,4,6-тетра-О-ацетил- β -D-
глюкопиранозид

Към разтвор на 2-(4-метоксибензил) фенол (46 mg) и 2,3,4,6-тетра-О-ацетил-1-О-трихлорацетоимидоил- α -D-глюкопираноза (0,13 g) в дихлорметан (2 mL), се прибавя комплекс борен трифлуорид диетилов етер (0,033 mL), и сместа се разбърква при стайна температура в продължение на 1 час. Реакционната смес се пречиства посредством колонна хроматография с аминопропилов силика гел (елуент: дихлорметан), при

което се получава 2-(4-метоксибензил) фенил 2,3,4,6-тетра-О-ацетил-β-D-глюкопиранозид (0,11 g).

¹H-NMR (CDCl₃) 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, 12,2 Hz), 4,29 (1H, dd, J = 5,5, 12,2 Hz), 5,11 (1H, d, J = 7,5, Hz), 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).

Референтен пример 6

2-(4-метилбензил) фенил 2,3,4,6-тетра-О-ацетил-β-D-глюкопиранозид

Съединението съгласно заглавието се получава по начин, подобен на този, описан в референтен пример 5, използвайки 2-(4-метилбензил) фенол, вместо 2-(4-метоксибензил) фенол.

¹H-NMR (CDCl₃) 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, 12,3 Hz), 4,28 (1H, dd, J = 5,5, 12,3 Hz), 5,11 (1H, d, J = 7,5, Hz), 5,10 - 5,25 (1H, m), 5,25 - 5,40 (2H, m), 6,90 - 7,20 (8H, m).

Референтен пример 7

2-(4-етилбензил) фенил 2,3,4,6-тетра-О-ацетил-β-D-глюкопиранозид

Съединението съгласно заглавието се получава по начин, подобен на този, описан в референтен пример 5, използвайки 2-(4-етилбензил) фенол, вместо 2-(4-метоксибензил) фенол.

¹H-NMR (CDCl₃) δ ppm:

1,20 (3H, t, J = 7,6 Hz), 1,87 (3H, s), 2,03 (3H, s), 2,05 (3H, s), 2,08 (3H, s), 2,60 (2H, q, J = 7,6 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).

Референтен пример 8

2-(4-изобутилбензил) фенил 2,3,4,6-тетра-О-ацетил- β -D- глюкопиранозид

Съединението съгласно заглавието се получава по начин, подобен на този, описан в референтен пример 5, използвайки 2-(4-изобутилбензил) фенол, вместо 2-(4-метоксибензил) фенол.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ ppm:

0,88 (6H, d, $J = 6,6, \text{ Hz}$), 1,75 – 1,90 (1H, m), (1H, m), 1,87 (3H, s), 2,03 (3H, s), 2,05 (3H, s), 2,08 (3H, s), 2,42 (1H, 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).

Референтен пример 9

2-(4-етоксибензил) фенил 2,3,4,6-тетра-О-ацетил- β -D- глюкопиранозид

Съединението съгласно заглавието се получава по начин, подобен на този, описан в референтен пример 5, използвайки 2-(4-етоксибензил) фенол, вместо 2-(4-метоксибензил) фенол.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ ppm:

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), (1H, m).

Референтен пример 7

2-(4-етилбензил) фенил 2,3,4,6-тетра-О-ацетил-β-D-
глюкопиранозид

Съединението съгладно заглавието се получава по начин, подобен на този, описан в референтен пример 5, използвайки 2-(4-етилбензил) фенол, вместо 2-(4-метоксибензил) фенол.

¹H-NMR (CDCl₃) δ ppm:

1,20 (3H, t, J = 7,6 Hz), 1,87 (3H, s), 2,03 (3H, s), 2,05 (3H, s), 2,08 (3H, s), 2,60 (2H, q, J = 7,6 Hz), 3,80 – 4,00 (3H, m), 4,18 (1H, dd, J = 2,3, 12,2 Hz), 4,28 (1H, dd, J = 5,4, 12,2 Hz), 5,11 (1H, d, J = 7,5, Hz), 5,10 – 5,25 (1H, m), 5,25 – 5,40 (2H, m), 6,90 – 7,25 (8H, m).

Референтен пример 10

2-(4-изопропоксибензил) фенил 2,3,4,6-тетра-О-ацетил-β-D-
глюкопиранозид

Съединението съгладно заглавието се получава по начин, подобен на този, описан в референтен пример 5, използвайки 2-(4-изопропоксибензил) фенол, вместо 2-(4-метоксибензил) фенол.

¹H-NMR (CDCl₃) δ ppm:

1,30 (6H, d, J = 6,0, 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 Hz), 4,28 (1H, dd, J = 5,5, 12,3 Hz), 4,48 (1H, хептет, J = 6,0, Hz), 5,10 (1H, d, J = 7,7, 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).

Референтен пример 11

2-(4-метоксибензил) фенил β-D-глюкопиранозид

Натриев метоксид (28 % метанолов разтвор; 0,12 mL) се прибавя към разтвор на 2-(4-метоксибензил) фенил 2,3,4,6-

тетра-О-ацетил-β-D-глюкопиранозид (0,11 g) в метанол (4 mL), и сместа се разбърква при стайна температура в продължение на 30 минути. Разтворителят се отстранява при понижено налягане. Остатъка се пречиства посредством колонна хроматография със силика гел (елуент: дихлорметан/метанол = 10/1), при което се получава 2-(4-метоксибензил) фенил β-D-глюкопиранозид (65 mg).

¹H-NMR (CD₃OD) δ ppm:

3,35 – 3,55 (4H, m), 3,69 (1H, dd, J = 5,1, 12,1 Hz), 3,73 (3H, s), 3,80 – 4,00 (2H, m), 4,03 (1H, d, J = 15,1 Hz), 4,91 (1H, d, J = 7,4, 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).

Референтен пример 12

2-(4-метилбензил) фенил β-D-глюкопиранозид

Съединението съгласно заглавието се получава по начин, подобен на този, описан в пример 11, използвайки 2-(4-метилбензил) фенил 2,3,4,6-тетра-О-ацетил-β-D-глюкопиранозид, вместо 2-(4-метоксибензил) фенил 2,3,4,6-тетра-О-ацетил-β-D-глюкопиранозид.

¹H-NMR (CD₃OD) δ ppm:

2,27 (3H, s), 3,35 – 3,55 (4H, m), 3,69 (1H, dd, J = 5,2, 12,0 Hz), 3,80 - 3,90 (1H, m), 3,94 (1H, d, J = 15,0 Hz), 4,05 (1H, d, J = 15,0 Hz), 4,85 – 4,95 (1H, m), 6,85 - 6,95 (1H, m), 6,95 - 7,20 (7H, m).

Референтен пример 13

2-(4-етилбензил) фенил β-D-глюкопиранозид

Съединението съгласно заглавието се получава по начин, подобен на този, описан в пример 11, използвайки 2-(4-

етилбензил) фенил 2,3,4,6-тетра-О-ацетил-β-D-глюкопиранозид, вместо 2-(4-метоксибензил) фенил 2,3,4,6-тетра-О-ацетил-β-D-глюкопиранозид.

¹H-NMR (CD₃OD) δ ppm:

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 = 14,9 Hz), 4,85 – 5,00 (1H, m), 6,85 – 7,00 (1H, m), 7,00 - 7,20 (7H, m).

Референтен пример 14

2-(4-изобутилбензил) фенил β-D-глюкопиранозид

Съединението съгласно заглавието се получава по начин, подобен на този, описан в пример 11, използвайки 2-(4-изобутилбензил) фенил 2,3,4,6-тетра-О-ацетил-β-D-глюкопиранозид, вместо 2-(4-метоксибензил) фенил 2,3,4,6-тетра-О-ацетил-β-D-глюкопиранозид.

¹H-NMR (CD₃OD) δ ppm:

0,80 – 0,95 (6H, m), 1,70 – 1,90 (1H, m), 2,41 (2H, d, J = 7,1, Hz), 3,30 – 3,55 (4H, m), 3,60 – 3,75 (1H, m), 3,80 – 3,95 (1H, m), 3,95 (1H, d, J = 15,0 Hz), 4,06 (1H, d, J = 15,0 Hz), 4,85 – 4,95 (1H, m), 6,80 – 7,20 (8H, m).

Пример 15

2-(4-етоксибензил) фенил β-D-глюкопиранозид

Съединението съгласно заглавието се получава по начин, подобен на този, описан в пример 11, използвайки 2-(4-етоксилбензил) фенил 2,3,4,6-тетра-О-ацетил-β-D-глюкопиранозид, вместо 2-(4-метоксибензил) фенил 2,3,4,6-тетра-О-ацетил-β-D-глюкопиранозид.

¹H-NMR (CD₃OD) δ ppm:

1,35 (3H, t, $J = 6,8$ Hz), 3,35 – 3,55 (4H, m), 3,60 – 3,75 (1H, m), 3,80 – 4,10 (5H, m), 4,90 (1H, d, $J = 7,1$ Hz), 6,70 - 6,85 (2H, m), 6,85 – 6,95 (1H, m), 7,00 - 7,20 (5H, m).

Референтен пример 16

2-(4-изопропоксibenзи) фенил β -D-глюкопиранозид

Съединението съгласно заглавието се получава по начин, подобен на този, описан в пример 11, използвайки 2-(4-изопропоксилбензил) фенил 2,3,4,6-тетра-О-ацетил- β -D-глюкопиранозид, вместо 2-(4-метоксибензил) фенил 2,3,4,6-тетра-О-ацетил- β -D-глюкопиранозид.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ ppm:

1,27 (6H, d, $J = 6,0$ Hz), 3,35 – 3,55 (4H, m), 3,69 (1H, dd, $J = 5,4, 12,1$ Hz), 3,88 (1H, dd, $J = 2,0, 12,1$ Hz), 3,91 (1H, d, $J = 15,0$ Hz), 4,02 (1H, d, $J = 15,0$ Hz), 4,51 (1H, хептет, $J = 6,0$ Hz), 4,91 (1H, d, $J = 7,7$ Hz), 6,70 - 6,85 (2H, m), 6,85 – 6,95 (1H, m), 7,00 - 7,10 (1H, m), 7,10 – 7,20 (4H, m).

Пример 17

2-(4-етилтиобензил) фенил β -D-глюкопиранозид

Към разтвор на 2-(4-етилтиобензил) фенол (0,51 g) и 1,2,3,4,6-пента-О-ацетил- β -D-глюкопираноза (2,4 g) в толуен (6,3 mL) и дихлорметан (2,7 mL) се прибавя борен трифлуорид диетилов етерен комплекс (0,78 mL), и сместа се разбърква при стайна температура в продължение на 9 часа. Към реакционната смес се прибавят етил ацетат (70 mL) и наситен воден разтвор на кисел натриев карбонат (25 mL), и органичния слой се отделя. Органичния слой се промива със солна луга (25 mL), суши се над безводен натриев сулфат, и разтворителят се отстранява при понижено налягане. Остатъка се разтваря в

метанол (10,5 mL), към разтвора се прибавя натриев метоксид (28 % метанолов разтвор, 0,08 mL), и сместа се разбърква при 25°C в продължение на 18 часа. Към реакционната смес се прибавят етил ацетат (75 mL) и вода (20 mL), и органичния слой се отделя. Органичния слой се промива със солна луга (20 mL), суши се над безводен натриев сулфат, и разтворителят се отстранява при понижено налягане. Остатъка се пречиства посредством колонна хроматография със силика гел (елуент: дихлорметан/метанол = 10/1). Разтворителят се отстранява при понижено налягане, към остатъка се прибавя диетилов етер, и получените утайки се събират посредством филтруване. Полученият безцветен твърд продукт се промива с диетилов етер, и се суши при понижено налягане, при което се получава 2-(4-етилтиобензил) фенил β -D-глюкопиранозид (0,51 g).

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ ppm:

1,24 (3H, t, $J = 7,3$ Hz), 2,88 (2H, q, $J = 7,3$ Hz), 3,35 – 3,55 (4H, m), 3,69 (1H, dd, $J = 5,0, 12,2$ Hz), 3,88 (1H, dd, $J = 2,0, 12,2$ Hz), 3,95 (1H, d, $J = 15,1$ Hz), 4,08 (1H, d, $J = 15,1$ Hz), 4,91 (1H, d, $J = 7,3$ Hz), 6,85 – 7,00 (1H, m), 7,00 – 7,10 (1H, m), 7,10 – 7,30 (6H, m).

Пример 1

2-(4-метоксибензил) фенил 6-О-етоксикарбонил- β -D-глюкопиранозид

Към разтвор на 2-(4-метоксибензил) фенил- β -D-глюкопиранозид (0,075 mg) в 2,4,6-триметилпиридин (2 mL) се прибавя етил хлороформиат (0,04 mL) при стайна температура. След като сместа се разбърква при стайна температура в продължение на 16 часа, към реакционната смес се прибавя наситен воден разтвор на лимонена киселина, и сместа се

екстрахира с етил ацетат. Екстракта се промива с вода, и се суши над безводен магнезиев сулфат, и разтворителят се отстранява при понижено налягане. Остатъка се пречиства посредством препаративна тънкослойна хроматография със силика гел (елуент: дихлорметан/метанол=10/1), при което се получава аморфен 2-(4-метоксибензил) фенил 6-О-етокси-карбонил- β -D-глюкопиранозид (0,032 g).

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ ppm:

1,23 (3H, t, $J = 7,1$ Hz), 3,30 – 3,65 (4H, m), 3,74 (3H, s), 3,93 (1H, d, $J = 15,1$ Hz), 4,02 (1H, d, $J = 15,1$ Hz), 4,05 – 4,20 (2H, m), 4,29 (1H, dd, $J = 6,4, 11,7$ Hz), 4,45 (1H, dd, $J = 2,2, 11,7$ Hz), 4,89 (1H, d, $J = 7,4$ Hz), 6,75 – 6,85 (2H, m), 6,85 - 7,05 (2H, m), 7,05 – 7,2 (4H, m).

Пример 2

2-(4-метоксибензил) фенил 6-О-метоксикарбонил- β -D-глюкопиранозид

Съединението съгласно заглавието се получава по начин, подобен на този, описан в пример 1, използвайки метил хлороформиат, вместо етил хлороформиат.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ ppm:

3,30 – 3,65 (4H, m), 3,71 (3H, s), 3,74 (3H, s), 3,93 (1H, d, $J = 15,1$ Hz), 4,01 (1H, d, $J = 15,1$ Hz), 4,30 (1H, dd, $J = 6,4, 11,7$ Hz), 4,45 (1H, dd, $J = 2,1, 11,7$ Hz), 4,89 (1H, d, $J = 7,4$ Hz), 6,75 – 6,85 (2H, m), 6,85 – 6,95 (1H, m), 6,95 - 7,10 (1H, m), 6,75 – 6,85 (2H, m), 6,85 – 7,05 (2H, m), 7,05 - 7,20 (4H, m).

Пример 3

2-(4-метоксибензил) фенил 6-O-[2-(метокси)етилоксикарбонил]-
β-D-глюкопиранозид

Съединението съгласно заглавието се получава по начин, подобен на този, описан в пример 1, използвайки 2-(метокси) етил хлороформиат, вместо етил хлороформиат.

¹H-NMR (CD₃OD) δ ppm:

3,30 – 3,65 (9H, m), 3,74 (3H, s), 3,92 (1H, d, J = 15,1 Hz), 4,02 (1H, d, J = 15,1 Hz), 4,10 – 4,25 (2H, m), 4,30 (1H, dd, J = 6,3, 11,7 Hz), 4,47 (1H, dd, J = 2,1, 11,7 Hz), 4,89 (1H, d, J = 7,4, Hz), 6,70 – 6,85 (2H, m), 6,85 – 7,05 (2H, m), 7,05 - 7,20 (4H, m).

Пример 4

2-(4-метоксибензил) фенил 6-O-хексаноил-β-D-глюкопиранозид

Към разтвор на 2-(4-метоксибензил) фенил β-D-глюкопиранозид (0,10 g) в 2,4,6-триметилпиридин (2 mL) се прибавя хексаноил хлорид (0,072 g) при 0°C, и сместа се разбърква в продължение на 3 часа. Към реакционната смес се прибавя 10 % воден разтвор на лимонена киселина, и сместа се екстрахира с етил ацетат. Органичният слой се промива с 10 % воден разтвор на лимонена киселина, и със солна луга. Органичният слой се суши над безводен магнезиев сулфат, и разтворителят се отстранява при понижено налягане. Остатъкът се пречиства посредством препаративна тънкослойна хроматография със силика гел (елуент: дихлорметан/мета-нол=10/1), при което се получава 2-(4-метоксибензил) фенил 6-O-хексаноил-β-D-глюкопиранозид (0,030 g).

¹H-NMR (CD₃OD) δ ppm:

0,80 – 0,95 (3H, m), 1,20 – 1,35 (4H, m), 1,50 – 1,65 (2H, m), 2,25 – 2,35 (2H, m), 3,30 – 3,65 (4H, m), 3,74 (3H, s), 3,93 (1H, d, $J = 15,1$ Hz), 4,01 (1H, d, $J = 15,1$ Hz), 4,22 (1H, dd, $J = 6,7, 11,8$ Hz), 4,42 (1H, dd, $J = 2,2, 11,8$ Hz), 4,85 – 4,95 (1H, m), 6,75 – 6,85 (2H, m), 6,85 – 7,05 (2H, m), 7,05 – 7,20 (4H, m).

Пример 5

2-(4-метоксибензил) фенил 6-О-пропионил-β-D-глюкопиранозид

Съединението съгласно заглавието се получава по начин, подобен на този, описан в пример 4, използвайки пропионил хлорид, вместо хексаноил хлорид.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ ppm:

1,08 (3H, t, $J = 7,6$ Hz), 2,25 – 2,40 (2H, m), 3,30 – 3,55 (3H, m), 3,55 – 3,65 (1H, m), 3,74 (3H, s), 3,93 (1H, d, $J = 15,1$ Hz), 4,01 (1H, d, $J = 15,1$ Hz), 4,23 (1H, dd, $J = 6,7, 11,8$ Hz), 4,40 (1H, dd, $J = 2,1, 11,8$ Hz), 4,85 – 4,95 (1H, m), 6,75 – 6,85 (2H, m), 6,85 – 7,05 (2H, m), 7,05 – 7,20 (4H, m).

Пример 6

2-(4-метоксибензил) фенил 6-О-бутирил-β-D-глюкопиранозид

Съединението съгласно заглавието се получава по начин, подобен на този, описан в пример 4, използвайки бутирил хлорид, вместо хексаноил хлорид.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ ppm:

0,90 (3H, t, $J = 7,4$ Hz), 1,50 – 1,70 (2H, m), 2,20 – 2,35 (2H, m), 3,30 – 3,65 (4H, m), 3,74 (3H, s), 3,93 (1H, d, $J = 15,1$ Hz), 4,01 (1H, d, $J = 15,1$ Hz), 4,22 (1H, dd, $J = 6,7, 11,8$ Hz), 4,42 (1H, dd, $J = 2,2, 11,8$ Hz), 4,85 – 4,95 (1H, m), 6,75 – 6,85 (2H, m), 6,85 – 7,05 (2H, m), 7,05 – 7,20 (4H, m).

Пример 7

2-(4-метоксибензил) фенил 6-О-ацетил-β-D-глюкопиранозид

Съединението съгласно заглавието се получава по начин, подобен на този, описан в пример 4, използвайки ацетил хлорид, вместо хексаноил хлорид.

¹H-NMR (CD₃OD) δ ppm:

2,02 (3H, s), 3,30 – 3,65 (4H, m), 3,74 (3H, s), 3,93 (1H, d, J = 15,1 Hz), 4,01 (1H, d, J = 15,1 Hz), 4,24 (1H, dd, J = 6,5, 11,9 Hz), 4,38 (1H, dd, J = 2,2, 11,9 Hz), 4,85 – 4,95 (1H, m), 6,75 – 6,85 (2H, m), 6,85 – 7,05 (2H, m), 7,05 - 7,20 (4H, m).

Пример 8

2-(4-метоксибензил) фенил 6-О-изобутирил-β-D-
глюкопиранозид

Съединението съгласно заглавието се получава по начин, подобен на този, описан в пример 4, използвайки изобутирил хлорид, вместо хексаноил хлорид.

¹H-NMR (CD₃OD) δ ppm:

1,11 (3H, d, J = 7,0, Hz), 1,12 (3H, d, J = 7,0, Hz), 2,45 – 2,60 (1H, m), 3,30 – 3,65 (4H, m), 3,74 (3H, s), 3,93 (1H, d, J = 15,1 Hz), 4,00 (1H, d, J = 15,1 Hz), 4,19 (1H, dd, J = 6,9, 11,8 Hz), 4,43 (1H, dd, J = 2,1, 11,8 Hz), 4,85 – 4,95 (1H, m), 6,75 – 6,85 (2H, m), 6,85 – 7,05 (2H, m), 7,05 - 7,20 (4H, m).

Пример 9

2-(4-метоксибензил) фенил 6-О-етилсукцинил-β-D-
глюкопиранозид

Съединението съгласно заглавието се получава по начин, подобен на този, описан в пример 4, използвайки етилсукцинил хлорид, вместо хексаноил хлорид.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ ppm:

1,19 (3H, t, $J = 7,1$ Hz), 2,50 – 2,70 (4H, m), 3,30 – 3,65 (4H, m), 3,74 (3H, s), 3,93 (1H, d, $J = 15,1$ Hz), 4,02 (1H, d, $J = 15,1$ Hz), 4,08 (2H, q, $J = 7,1$ Hz), 4,22 (1H, dd, $J = 6,7, 11,8$ Hz), 4,44 (1H, dd, $J = 2,1, 11,8$ Hz), 4,85 – 4,95 (1H, m), 6,75 – 7,25 (8H, m).

Пример 10

2-(4-метоксибензил) фенил 6-О-етилсукцинил- β -D- глюкопиранозид

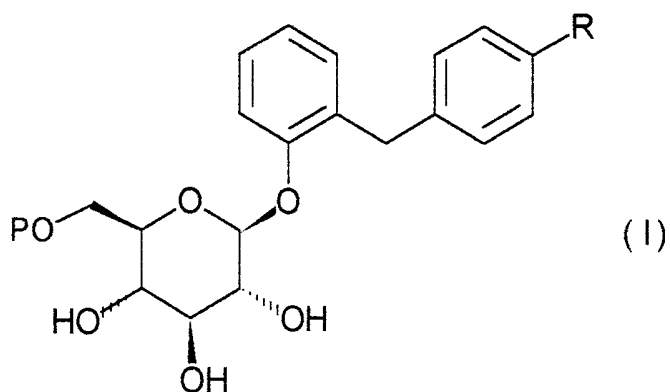
Към разтвор на изопропанол (0,12 g) в 2,4,6-триметил-пиридин (2 mL) се прибавя трифосген (0,022 g) при 0°C , и сместа се разбърква в продължение на 1 час. След това към реакционната смес се прибавя 2-(4-метоксибензил) фенил β -D-глюкопиранозид (0,075 g), и сместа се разбърква при стайна температура в продължение на една нощ. Към реакционната смес се прибавя 10 % воден разтвор на лимонена киселина, и сместа се екстрахира с етил ацетат. Органичният слой се промива с 10 % воден разтвор на лимонена киселина, и с вода, и се суши над безводен магнезиев сулфат, и разтворителят се отстранява при понижено налягане. Остатъкът се пречиства посредством препаративна тънкослойна хроматография със силика гел (елуент: дихлорметан/мета-нол=10/1), при което се получава 2-(4-метоксибензил) фенил 6-О-изопропилокси-карбонил- β -D-глюкопиранозид (0,024 g).

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ ppm:

1,20 (1H, d, $J = 6,3$ Hz), 1,23 (3H, d, $J = 6,3$ Hz), 3,30 – 3,65 (4H, m), 3,74 (3H, s), 3,93 (1H, d, $J = 15,1$ Hz), 4,02 (1H, d, $J = 15,1$ Hz), 4,28 (1H, dd, $J = 6,4, 11,7$ Hz), 4,43 (1H, dd, $J = 2,2, 11,7$ Hz), 4,70 – 4,85 (1H, m), 4,85 – 4,95 (1H, m), 6,75 – 7,20 (8H, m).

Примери 11 – 22

Съединенията в следващата таблица 1 се получават по начин, подобен на този, описан в пример 1, или 2, използвайки съединение, получено в референтни примери 12 – 17.



[Таблица 1]

Пример	R	P
11	Метил	Етоксикарбонил
12	Метил	Метоксикарбонил
13	Етил	Етоксикарбонил
14	Етил	Метоксикарбонил
15	Изобутил	Етоксикарбонил
16	Изобутил	Метоксикарбонил
17	Етокси	Етоксикарбонил
18	Етокис	Метоксикарбонил
19	Изопропил	Етоксикарбонил
20	Изопропил	Метоксикарбонил
21	Етилтио	Етоксикарбонил
22	Етилтио	Метоксикарбонил

Изследване пример 1

Изследване за инхибиторен ефект върху човешки SGLT2 активност

1) Конструирание на плазмидния вектор експресиращ човешки SGLT2

Получаване на сДНК библиотека за PCR амплифициране се осъществява посредством обръщане на транскрибирането на общата РНК извлечена от човешки бъбрек (Ori gene) с олиго dT като праймер, използвайки SUPERScript Preamplification System (Gibco – BRL: LIFE TECHNOLOGIES). ДНК фрагмент кодиращ за човешки SGLT2 се амплифицира посредством Pfu ДНК полимераза (Stratagene) – използвана PCR реакция, при която описаната по-горе библиотека на сДНК от човешки бъбрек, се използва като матрица, и следните олиго нуклеотиди 0702F и 0712R, представени като последователности номера 1 и 2, съответно, се използват като праймери. Усиленият ДНК фрагмент се лигира в pCR – Blunt (Invitrogen), вектор за клониране, съгласно стандартен метод на набора. Компетентна клетка, *Escherichia coli* HB101 (Toyobo), се трансформира съгласно обичаен метод, и след това се осъществява селектиране на трансформанти на LB агарова среда, съдържаща 50 µg/mL канамицин. След като плазмидна ДНК се екстрахира и се пречисти от единия от трансформантите, амплифицирането на ДНК фрагмента кодиращ за човешки SGLT2 се осъществява посредством Pfu ДНК полимераза (Stratagene) – използвана PCR реакция, при която следните олиго нуклеотиди 0714F и 0715R, представени като последователности номера 3 и 4, съответно, се използват като праймери. Амплифицираният ДНК фрагмент се усвоява с рестрикционни ензими, Xho I и Hind III, и след това се пречиства

с Wizard Purification System (Promega). Този пречистен ДНК фрагмент се инсерира в съответните мултиклонирани сайтове на рсДНК3.1 (-) Мус/His – В (Invitrogen), вектор за експресиране на слят протеин. Компетентната клетка, *Escherichia coli* HB101 (Toyobo), се трансформира съгласно обичаен метод, и след това се осъществява селектиране на трансформанта на LB агарова среда, съдържаща 100 µg/mL ампицилин. След като плазмидна ДНК се екстрахира и се пречисти от този трансформант, основната последователност на ДНК фрагмента, инсериран на мулти-клонирани сайтове на рсДНК3.1 (-) Мус/His-В, се анализира. Този клон имаше заместване на единична основа (АТС, който кодира за изолевцина-433, се замества с GTC) в сравнение с човешки SGLT2 докладвано от Wells et al (*Am. J. Physiol.*, Vol. 263, pp. 459 – 465 (1992)). Последователно, се получава клон, в който валин е заместен за изолевцина - 433. Този плазмиден вектор експресиращ SGLT2, в който пептида, представен като последователност номер 5 е слят към карбоксилния терминален аланинов остатък, се означава KL29.

Последователност номер 1 ATGGAGGAGCACACAGAGGC

Последователност номер 2 GGCATAGAAGCCCCAGAGGA

Последователност номер 3

 AACCTCGAGATGGAGGAGCACACAGAGGC

Последователност номер 4

 AACAAAGCTTGGCATAGAAGCCCCAGAGGA

Последователност номер 5

 KLGPEQKLISEEDLNSAVDHHHHHH

2) Получаване на клетката експресираща преходно човешки SGLT2

KL29, плазмид кодиращ човешки SGLT2, се трансфектира в COS-7 клетки (RIKEN CELL BANK RCB0539) посредством електропорация. Електропорацията се осъществява с GENE PULSER II (Bio-Rad Laboratories) при условията: 0,290 kV, 975 μ F, 2×10^6 клетки от COS-7 клетка и 20 μ g от KL29 в 500 μ L среда OPTI-MEM I (Gibco-BRL: LIFE TECHNOLOGIES) в кювета тип 0,4 cm. След генния трансфер, клетките се събират чрез центрофугиране и повторно суспендиране със среда OPTI-MEM I (1 mL/кювета). Към всяка ямка на 96-ямково микроблюдо, се прибавят по 125 μ L от тази клетъчна суспензия. След култивиране в продължение на една нощ при 37°C в 5 % CO₂, към всяка ямка се прибавят 125 μ L от среда DMEM (Gibco-BRL: LIFE TECHNOLOGIES), която съдържа 10 % серум от говежди зародиш (Sanko Jyunyaku), 100 единици/mL натриев пеницилин G (Gibco-BRL: LIFE TECHNOLOGIES), 100 μ g/mL стрептомицин сулфат (Gibco-BRL: LIFE TECHNOLOGIES). След култивиране до следващия ден, тези клетки се използват за измерване на инхибиторната активност спрямо извличането на метил- α -D-глюкопиранозид.

3) Измерване на инхибиторната активност спрямо извличането на метил- α -D-глюкопиранозид

След като изследваното съединение се разтвори в диметил сулфоксид и се разреди с буфер за извличане (буфер с pH 7,4, съдържащ 140 mM натриев хлорид, 2 mM калиев хлорид, 1 mM калциев хлорид, 1 mM магнезиев хлорид, 5 mM метил- α -D-глюкопиранозид, 10 mM 2-[4-(2-хидроксиетил)-1-пиперазинил] етан сулфонова киселина и 5 mM трис

(хидроксиметил)аминометан), всеки един разредител се използва като изследвана проба за измерване на инхибиторната активност. След като се отстрани средата от клетките COS-7 експресиращи краткотраен човешки SGLT2, към всяка ямка се прибавят 200 μL буфер за предварително третиране (рН 7,4 буфер, съдържащ 140 mM холин хлорид, 2 mM калиев хлорид, 1 mM калциев хлорид, 1 mM магнезиев хлорид, 10 mM 2-[4-(2-хидроксиетил)-1-пиперазинил] етан сулфонова киселина и 5 mM трис (хидроксиметил)аминометан), и клетките се инкубират при 37°C в продължение на 10 минути. След като буфера за предварително третиране се отстрани, и отново се прибавят 200 μL от същия буфер, и клетките се инкубират при 37°C в продължение на 10 минути. Буфера за измерване се получава, като се прибавят 7 μL метил- α -D-(U-14C) глюкопиранозид (Amersham Pharmacia Biotech) към 525 μL от получената проба за изследване. За контролата, се получава буфера за измерване без изследваното съединение. За оценяване на основния извлек в отсъствие на изследвано съединение и натрий, буфера за измерване на основния извлек, който съдържа 140 mM холин хлорид, вместо натриев хлорид, се получава по подобен начин. След като буфера за предварително третиране се отстрани, към всяка ямка се прибавят 75 μL от буфера за измерване, и клетките се инкубират при 37°C в продължение на 2 часа. След като буфера за измерване се отстрани, към всяка ямка се прибавят 200 μL буфер за промиване (рН 7,4 буфер, съдържащ 140 mM холин хлорид, 2 mM калиев хлорид, 1 mM калциев хлорид, 1 mM магнезиев хлорид, 10 mM метил- α -D- глюкопиранозид, 10 mM 2-[4-(2-хидроксиетил)-1-пиперазинил] етан сулфонова киселина и 5 mM трис (хидроксиметил)аминометан), и веднага

се отстранява. След две допълнителни промивания, клетките се разтварят, като се прибавят 75 μL 0,2 N натриева основа към всяка ямка. След като клетъчните лизати се прехвърлят в PicoPlate (Packard), и във всяка ямка се прибавят 150 μL MicroScint-40 (Packard), се измерва радиоактивността с брояч TopCount (Packard) за сцинтилиране на микроблюдо. Разликата между извлеките се получава като 100 % стойност, като се извади радиоактивността в основния извлек от тази в контролата, и след това концентрациите, при които 50 % от извлека е инхибиран (стойност IC_{50}) се изчислява от кривата концентрация-инхибиране, посредством метод на най-малкия квадрат. Резултатите са показани в следващата таблица 2.

[Таблица 2]

Изследвано съединение	Стойност IC_{50} (nM)
Референтен пример 11	350
Референтен пример 12	450
Референтен пример 13	140
Референтен пример 14	500
Референтен пример 15	330
Референтен пример 16	370
Референтен пример 17	110

Изследване пример 2

Изследване за орално абсорбиране

1) Получаване на пробите за измерване концентрацията на лекарството след интравенозно инжектиране в опашната вена

Като експериментални животни се използват SD плъхове (CLEA Japan, INC., на възраст 5 седмици, 140 – 170 g),

които не са получавали храна в продължение на една нощ. Шестдесет mg изследвано съединение се суспендира, или се разтваря в 1,8 mL етанол, и след това се разтваря, като се прибавя 7,2 mL полиетилен гликол 400 и 9 mL физиологичен разтвор, като се получава разтвор 3,3 mg/mL. Измерва се теглото на плъховете, и след това от разтвора на изследваното съединение се инжектира интравенозно в опашната вена на неанестезирани плъхове, при доза 3 mL/kg (10 mg/kg). Интравенозното инжектиране в опашната вена се осъществява с 26 G инжекционна игла и 1 mL спринцовка. Времето за събиране на кръвна пробата е 2, 5, 10, 20, 30, 60 и 120 минути след интравенозното инжектиране в опашната вена. Кръвта се центрофугира, и плазмата се използва като проба за измерване концентрацията на лекарството в кръвта.

2). Получаване на пробите за измерване концентрацията на лекарството след орално приложение

Като експериментални животни се използват SD плъхове (CLEA Japan, INC., на възраст 5 седмици, 140 – 170 g), които не са получавали храна в продължение на една нощ. Изследвано съединение се суспендира, или се разтваря в 0,5 % разтвор на натриев карбоксиметилцелулоза с концентрация 1 mg/mL активна форма. След като се измери теглото на плъховете, течността, съдържаща изследваното съединение, описано по-горе, се прилага орално при доза 10 mL/kg (10 mg/kg активна форма). Оралното приложение се осъществява със стомашна тръба за плъхове и 2,5 mL спринцовка. Времето за събиране на кръвна пробата е 15, 30, 60, 120 и 240 минути след оралното приложение. Кръвта се центрофугира, и плазмата се

използва като проба за измерване концентрацията на лекарството в кръвта.

3). Измерване концентрацията на лекарството

Към 0,1 mL от плазмата, получена в 1) и 2), описани по-горе, се прибавя 1 μ g 2-(4-етоксибензил) фенил β -D-глюкопиранозид, описан в референтен пример 15, като вътрешен стандартен образец, и след това се осъществява депротеинизиране, чрез прибавяне на 1 mL метанол. След центрофугиране метанолната фаза се изпарява до сухо в азотна струя. Остатък се разтваря в 300 μ L от подвижната фаза, и 30 μ L аликвотни части от разтвора се инжектира в HPLC. Концентрацията на лекарството в плазмата се анализира посредством HPLC, при следващите условия.

Колона: Inertsil ODS-2 (4,6 x 250 mm)

Подвижна фаза: ацетонитрил/10 mM фосфатен буфер (pH 3,0) = 25:75 (обем/обем).

Температура на колоната: 50°C

Скорост на потока: 1,0 mL/минута.

Дължина на вълната за измерване: UV 232 nm

След прибавяне на 1 μ g от 2-(4-етоксибензил) фенил β -D-глюкопиранозид, описан в референтен пример 15, като вътрешен стандартен образец, и всяка концентрация (1,0, 0,5, 0,2, 0,1, 0,05 и 0,02 μ g) от 2-(4-метоксибензил) фенил β -D-глюкопиранозид, описан в референтен пример 11 към 0,1 mL празна плазма, се осъществява подобна обработка, като описаната по-горе, и след това се получава стандартната крива.

Всяка област под кривата плазмена концентрация-време чрез интравенозно инжектиране в опашната вена и орално приложение на изследваното съединение се оценява с WinNonlin Standard made by Pharsight Corporation от плазмените концентрации във всяко време, получени от HPLC, и след това бионаличността (%) се изчислява чрез формулата както следва. Резултатите са показани в следващата таблица 3.

Бионаличност (%) =

Област под кривата плазмена концентрация-време чрез
орално приложение

_____ x 100

Област под кривата плазмена концентрация-време чрез
интравенозно инжектиране в опашната вена

[Таблица 3]

Изследвано съединение	Бионаличност (%)
Пример 1	46
Пример 4	61
Референтен пример 11	15

Изследване пример 3

Изследване за ефекта на улесняване изхвърлянето на
глюкозата в урината

Като експериментални животни се използват SD плъхове (SLC., женски, на възраст 8 седмици, 270 – 320 g), които не са лишавани от храна. Изследвано съединение се суспендира, в 0,5 % разтвор на карбоксиметил, и се получава суспензия с 0,3, 1 и 3 mg/mL. След като се измери теглото на плъховете,

изследваното съединение се прилага орално, при доза 10 mL/kg (3, 10 и 30 mg/kg). За контролата, само 0,5 % разтвор на карбоксиметилцелулоза прилага орално, при доза 10 mL/kg. Оралното приложение се осъществява с гастрична тръба за плъхове, и спринцовка от 2,5 ml. В една група се правят 5, или 6 отчитания. Събирането на урината се осъществява в метаболитен кафез, след като приключи оралното приложение. Времето за събиране на пробата от урина е 24 часа след оралното приложение. След като събирането на урина приключи, обемът на урината се записва, и се измерва концентрацията на глюкозата в урината. Концентрацията на глюкозата се измерва с набор (кит) за лабораторно тестване: Glucose B-Test WAKO (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.). Количеството на изхвърлената с урината глюкоза за 24 часа на 200 g телесно тегло се изчислява от обема на урината, от концентрацията на глюкозата в урината, и от телесното тегло. Резултатите са показани в следващата таблица 4.

[Таблица 4]

Изследвано съединение	Доза (mg/kg)	Количество изхвърлена глюкоза в урината (mg/24часа 200g телесно тегло)
Пример 1	3	52
	10	239
	30	513

Изследване пример 4

Изследване за остра токсичност

Женски мишки ICR на възраст четири седмици (CLEA JAPAN, INC. 22 – 28 g, по 5 животни във всяка група), се оставят без храна в продължение на 4 часа, и 60 mg/mL суспензия от изследваното съединение в 0,5 % разтвор на карбоксиметилцелулоза се прилага орално при доза 10 mL/kg (600 mg/kg). Не се наблюдава смъртен случай до 24 часа след приложението, както е показано в следващата таблица 5.

[Таблица 5]

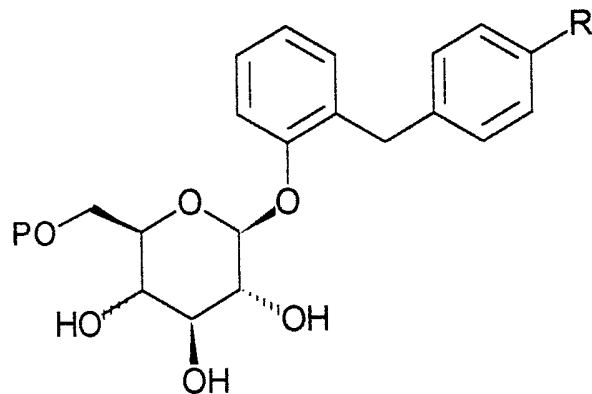
Изследвано съединение	Брой смъртни случаи
Пример 1	0 / 5

Приложимост в промишлеността

Глюкопиранозилоксибензилбензените производни, представени чрез горната обща формула (I) съгласно настоящото изобретение, имат подобро орално абсорбиране, и могат да упражняват отлична инхибиторна активност спрямо човешки SGLT2, чрез конвертиране в глюкопиранозилоксибензилбензенови производни, представени чрез горната обща формула (II) като техни активни форми *in vivo*, след орално приложение. Настоящото изобретение може да осигури средства за предотвратяването, или за лечението на заболявания, асоциирани с хипергликемия, такива като диабет, усложнения от диабет, затлъстяване, или други подобни, които са също така подходящи като лекарствени форми за орално приложение.

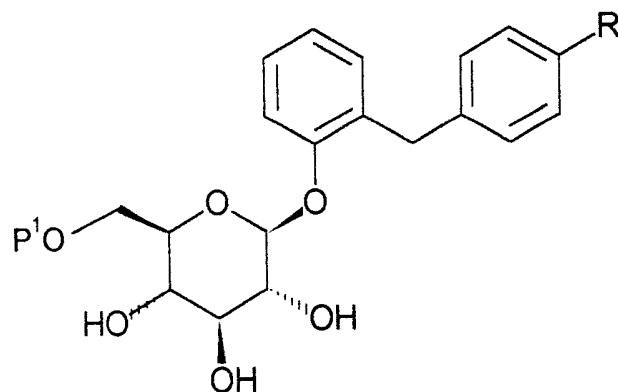
ПАТЕНТНИ ПРЕТЕНЦИИ

1. Глюкопиранозилоксибензилбензенови производни, представени с общата формула



където Р представлява група, формираща пролекарство; а R представлява ниша алкилова група, ниша алкокси група, ниша алкилтио група, ниша алкокси-заместена (ниша алкилова) група, ниша алкокси-заместена (ниша алкокси) група, или ниша алкокси-заместена (ниша алкилтио група).

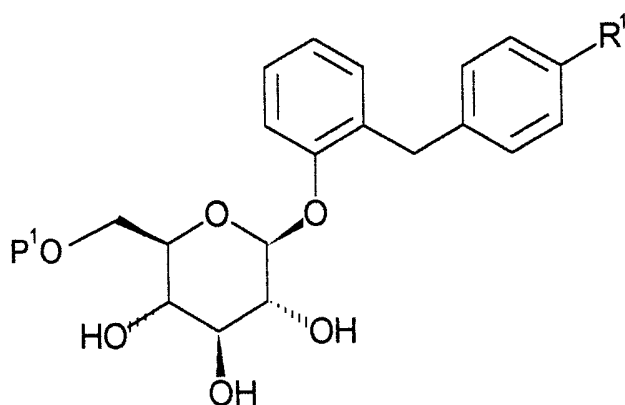
2. Глюкопиранозилоксибензилбензенови производни, представени с общата формула



където R представлява ниша алкилова група, ниша алкокси група, ниша алкилтио група, ниша алкокси-заместена (ниша алкилова) група, ниша алкокси-заместена (ниша алкокси)

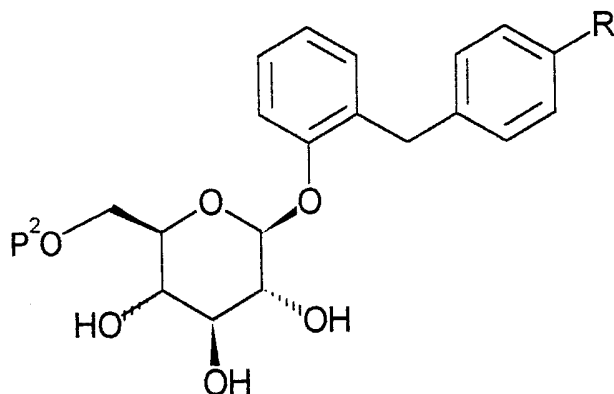
група, или ниша алкокси-заместена (ниша алкилтио група); а R^1 представлява ниша ацилна група, ниша алкокси-заместена (ниша ацилна) група, ниша алкоксикарбонил-заместена (ниша ацилна) група, ниша алкоксикарбонилна група, или ниша алкокси-заместена (ниша алкоксикарбонилна група).

3. Глюкопиранозилоксибензилбензеново производно, съгласно претенция 2, представено с общата формула



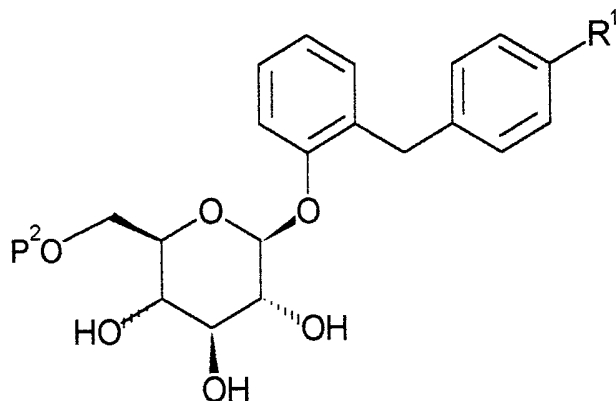
където R^1 представлява ниша алкилова група, или ниша алкокси група; а P^1 представлява ниша ацилна група, ниша алкокси-заместена (ниша ацилна) група, ниша алкоксикарбонил-заместена (ниша ацилна) група, ниша алкоксикарбонилна група, или ниша алкокси-заместена (ниша алкоксикарбонилна група).

4. Глюкопиранозилоксибензилбензеново производно, съгласно претенция 2, представено с общата формула



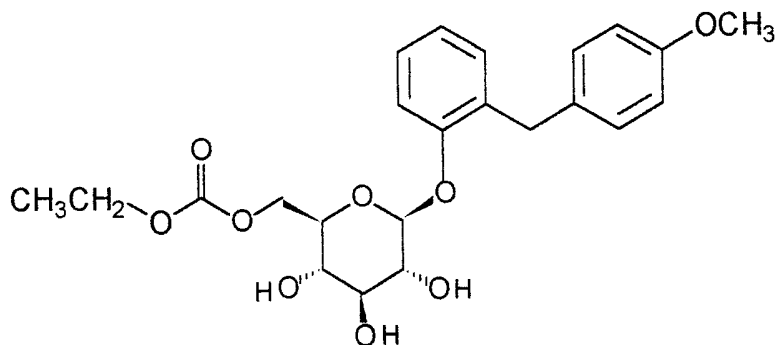
където R представлява ниша алкилова група, ниша алкокси група, ниша алкилтио група, ниша алкокси-заместена (ниша алкилова) група, ниша алкокси-заместена (ниша алкокси) група, или ниша алкокси-заместена (ниша алкилтио група); а P^2 представлява ниша ацилна група, или ниша алкоксикарбонилна група.

5. Глюкопиранозилоксибензилбензеново производно, съгласно претенция 3, или 4, представено с общата формула

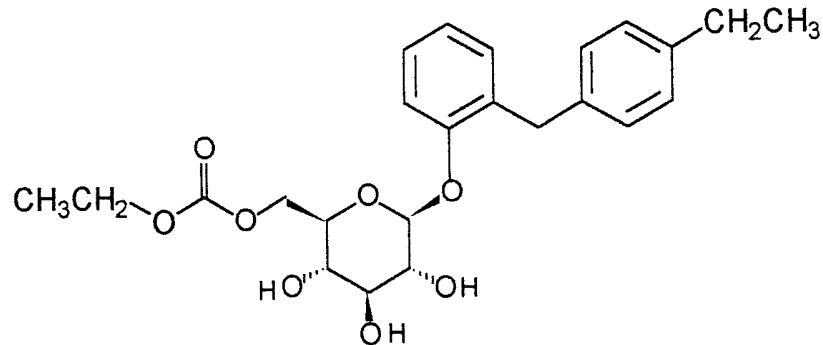


където R^1 представлява ниша алкилова група, или ниша алкокси група; а P^2 представлява ниша ацилна група, или ниша алкоксикарбонилна група.

6. Глюкопиранозилоксибензилбензеново производно, съгласно претенция 5, представено с общата формула



7. Глюкопиранозилоксибензилбензеново производно, съгласно претенция 5, представено с общата формула



8. Фармацевтичен състав, характеризиращ се с това, че съдържа като активна съставна част глюкопиранозилоксибензилбензеново производно, съгласно претенция 1 – 7.

9. Фармацевтичен състав, съгласно претенция 8, характеризиращ се с това, че съставът е инхибитор на човешки SGLT2.

10. Фармацевтичен състав, съгласно претенция 9, характеризиращ се с това, че съставът е средство за предотвратяване, или за лечение на заболяване, асоциирано с хипергликемия.

11. Фармацевтичен състав, съгласно претенция 10, характеризиращ се с това, че заболяването, асоциирано с хипергликемия е диабет, или усложнения от диабет.

12. Фармацевтичен състав, съгласно претенция 10, характеризиращ се с това, че заболяването, асоциирано с хипергликемия е затлъстяване.

13. Фармацевтичен състав, съгласно претенция 8 - 12, характеризиращ се с това, че съставът е орална лекарствена форма.

14. Метод за предотвратяване, или за лечение на че заболяване, асоциирано с хипергликемия, характеризиращ се с това, че се състои в приложение на терапевтично ефективно количество глюकोпиранозилоксибензилбензеново производно, съгласно претенция 1 – 7.

15. Използване на глюकोпиранозилоксибензилбензеново производно, съгласно претенция 1 – 7, за получаването на фармацевтичен състав за за предотвратяване, или за лечение на че заболяване, асоциирано с хипергликемия.