



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 113086

(13) C2

(51) МПК

C07D 471/10 (2006.01)

C07D 487/10 (2006.01)

A61K 31/4155 (2006.01)

A61K 31/438 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

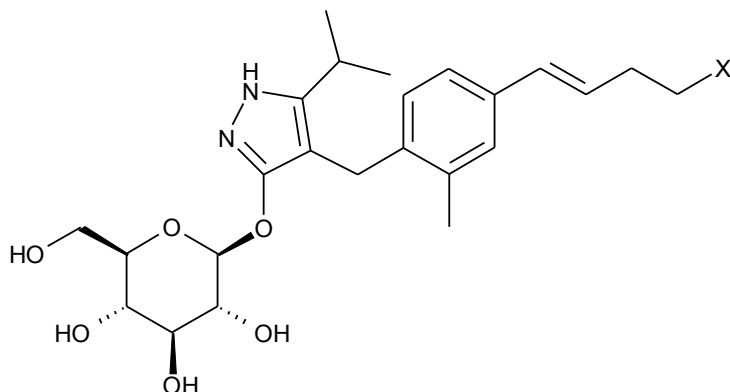
ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки:	а 2014 12088	(72) Винахідник(и):	Цюй Фучен (US), Ментлоу Нейтан Брайан (US)
(22) Дата подання заявки:	02.05.2013	(73) Власник(и):	ЕЛІ ЛІЛЛІ ЕНД КОМПАНІ, Lilly Corporate Center, Indianapolis, Indiana 46285, United States of America (US)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід:	12.12.2016	(74) Представник:	Шляховецький Ілля Олександрович, реєстр. №190
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	61/645,101, 61/769,221	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	EP 1544208 A1 (KISSEI PHARMACEUTICAL [JP]), 22.06.2005 WO 2005/121161 A1 (SANOFI AVENTIS DEUTSCHLAND [DE]; BRUMMERHOP HARM [DE]; FRICK WENDELIN), 22.12.2005 WO 2007/136116 A2 (TAISHO PHARMA CO LTD [JP]; KAKINUMA HIROYUKI [JP]; KOBASHI YOHEI [JP]), 29.11.2007
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	10.05.2012, 26.02.2013		
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку:	US, US		
(41) Публікація відомостей про заявку:	12.01.2015, Бюл.№ 1		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	12.12.2016, Бюл.№ 23		
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ	PCT/US2013/039164, 02.05.2013		

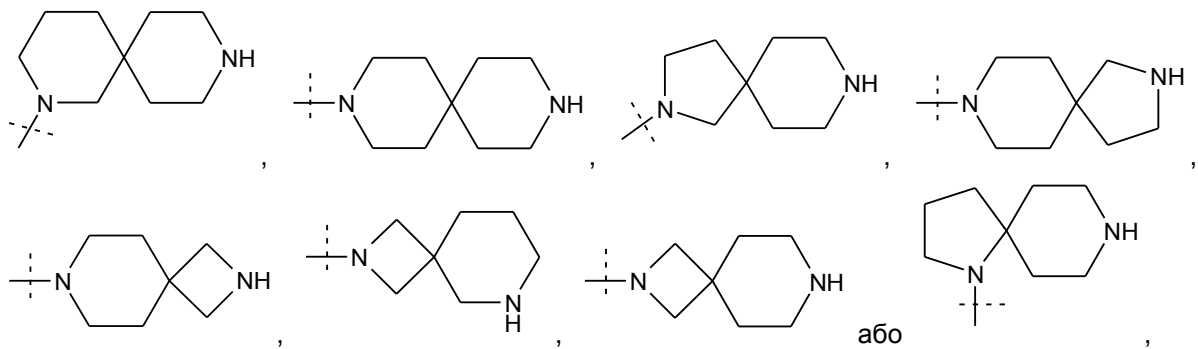
(54) ПІРАЗОЛЬНІ СПОЛУКИ ЯК ІНГІБІТОРИ SGLT1**(57) Реферат:**

У цьому винаході запропонована сполука Формули II:

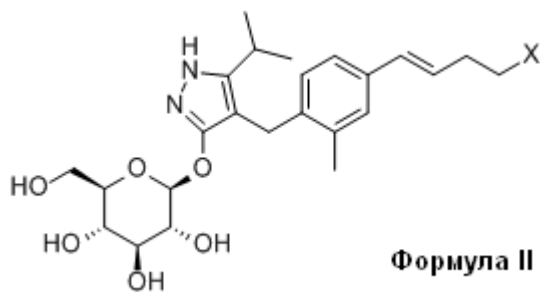


UA 113086 C2

де X являє собою таке:



або її фармацевтично прийнятна сіль.



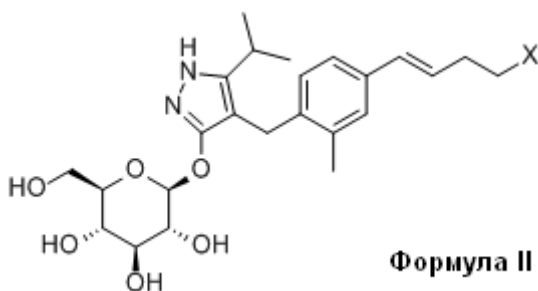
Цей винахід має відношення до нових піразольних сполук, фармацевтичних композицій, які містять ці сполуки, способів застосування цих сполук для лікування фізіологічних розладів, а також до проміжних хімічних продуктів і методів, придатних для синтезу цих сполук.

Цей винахід належить до області лікування цукрового діабету та інших захворювань і розладів, пов'язаних з гіперглікемією. Діабет являє собою групу захворювань, яку характеризує високий рівень глюкози в крові. Діабетом уражено приблизно 25 мільйонів людей в Сполучених Штатах, і він також є сьомою за значимістю причиною смерті в США відповідно до Національного інформаційного бюлетеня з питань діабету, 2011 (Міністерство охорони здоров'я і соціальних служб США, Центр з контролю і профілактики захворювань). Натрій-залежні котранспортери глюкози (SGLT) є одними з відомих транспортерів, які є відповідальними за поглинання вуглеводів, таких як глюкоза. Конкретніше, SGLT1 є відповідальним за перенесення глюкози через мембрану щіткової облямівки тонкої кишки. Інгібування SGLT1 може привести до зниження абсорбції глюкози в тонкій кишці, тим самим забезпечуючи продуктивний підхід до лікування діабету.

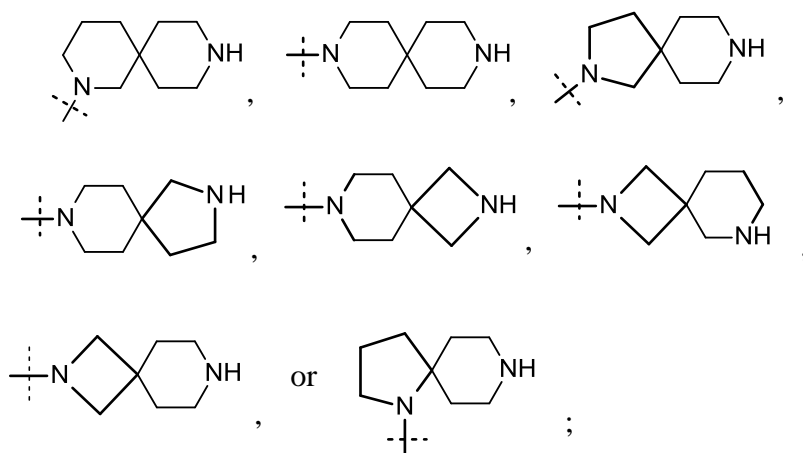
У патенті США № 7,655,632 описані деякі похідні піразолу з інгібуючою активністю відносно людського SGLT1, які також описані як корисні для профілактики або лікування захворювання, пов'язаного з гіперглікемією, такого як діабет. Крім того, у WO 2011/039338 описані деякі похідні піразолу з інгібуючою активністю відносно SGLT1/SGLT2, які додатково описані як корисні для лікування захворювань кісток, таких як остеопороз.

Існує необхідність в альтернативних лікарських засобах та методах лікування діабету. У цьому винаході запропоновані певні нові інгібітори SGLT1, які можуть бути придатними для лікування діабету.

Отже, в цьому винаході запропонована сполука Формули II

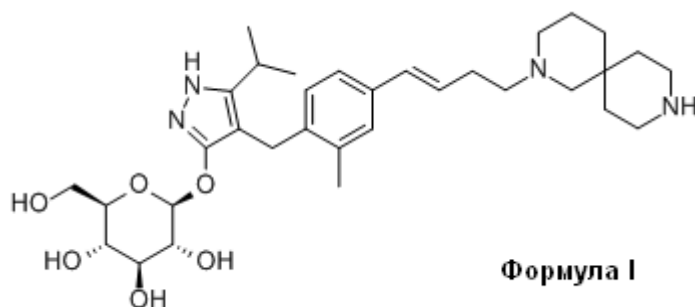


де X являє собою:



або її фармацевтично прийнятна сіль.

У цьому винаході також запропонована сполука Формули I



або її фармацевтично прийнятна сіль.

У цьому винаході також запропонований спосіб лікування цукрового діабету в пацієнта, і цей спосіб включає введення пацієнту, який потребує такого лікування, ефективної кількості сполуки Формули I або сполуки Формули II чи фармацевтично прийнятної солі цих сполук. У цьому винаході також запропонований спосіб лікування цукрового діабету першого типу в пацієнта, що включає введення пацієнту, який потребує такого лікування, ефективної кількості сполуки Формули I або Формули II чи фармацевтично прийнятної солі цієї сполуки. Крім того, у цьому винаході запропонований спосіб лікування цукрового діабету другого типу в пацієнта, що включає введення пацієнту, який потребує такого лікування, ефективної кількості сполуки Формули I або Формули II чи фармацевтично прийнятної солі такої сполуки. У цьому винаході також запропонований спосіб лікування порушення толерантності до глюкози (IGT), порушення рівня глюкози крові натщесерце (IFG) або метаболічного синдрому в пацієнта, і цей спосіб включає введення пацієнту, який потребує такого лікування, ефективної кількості сполуки Формули I або Формули II чи фармацевтично прийнятної солі такої сполуки.

Крім того, у цьому винаході запропонована сполука Формули I або Формули II чи фармацевтично прийнятна сіль цієї сполуки для застосування в терапії, зокрема для лікування цукрового діабету. Крім того, у цьому винаході запропонована сполука Формули I або Формули II чи фармацевтично прийнятна сіль цієї сполуки для застосування в лікуванні цукрового діабету першого типу. Крім того, у цьому винаході запропонована сполука Формули I або Формули II чи фармацевтично прийнятна сіль цієї сполуки для застосування в лікуванні цукрового діабету другого типу. У цьому винаході також запропоноване застосування сполуки Формули I або Формули II чи фармацевтично прийнятної солі цієї сполуки для виготовлення лікарського засобу для лікування цукрового діабету. Крім того, у цьому винаході запропоноване застосування сполуки Формули I або Формули II чи фармацевтично прийнятної солі цієї сполуки для виготовлення лікарського засобу для лікування цукрового діабету першого типу. У цьому винаході також запропоноване застосування сполуки Формули I або Формули II чи фармацевтично прийнятної солі цієї сполуки для виготовлення лікарського засобу для лікування цукрового діабету другого типу. У цьому винаході також запропоноване застосування сполуки Формули I або Формули II чи фармацевтично прийнятної солі цієї сполуки для виготовлення лікарського засобу для лікування порушення толерантності до глюкози (IGT), порушення рівня глюкози крові натщесерце (IFG) або метаболічного синдрому.

У цьому винаході також запропонована фармацевтична композиція, яка містить сполуку Формули I або Формули II, чи фармацевтично прийнятну сіль цієї сполуки, в комбінації з одним або більше фармацевтично прийнятним(-ми) носієм(-ями), розріджувачем(-ами) або наповнювачем(-ами). У певному варіанті здійснення ця композиція містить також один або більше інший(-их) терапевтичний(-их) засіб(-ів). У цьому винаході також охоплені нові проміжні хімічні продукти й способи синтезу сполуки Формули I або Формули II.

Термін "лікування" (або "лікувати"), вжитий в цьому описі, означає перешкоджання, стримування, уповільнення, зупинку або зворотання розвитку або тяжкості існуючого симптому або розладу.

Термін "пацієнт", вжитий в цьому описі, означає ссавця, наприклад, мишу, морську свинку, пацюка, собаку або людину. Зрозуміло, що пацієнтом переважно є людина.

Термін "ефективна кількість", вжитий в цьому описі, означає таку кількість або дозу сполуки за цим винаходом чи фармацевтично прийнятної солі цієї сполуки, яка після одноразового або багаторазового введення пацієнту забезпечує бажаний ефект у пацієнта при призначенні лікування або лікуванні.

Ефективна кількість може бути легко визначена лікарем, який призначає лікування, як фахівцем у цій галузі, із застосуванням відомих методик і внаслідок спостереження результатів,

одержаних за аналогічних обставин. При визначенні ефективної для пацієнта кількості лікар, який призначає лікування, розглядає низку факторів, у тому числі, але не обмежуючись ними: вид ссавця; розмір, вік і загальний стан здоров'я особи; конкретне захворювання або розлад, яким уражений пацієнт; ступінь чи ураження, чи тяжкість захворювання або розладу; індивідуальна реакція пацієнта; конкретна призначена сполука; спосіб введення; характеристики біодоступності введеного препарату; вибрана схема прийому лікарського засобу; використання супутнього лікарського засобу; та інші важливі обставини.

Сполуки Формули I і Формули II зазвичай є ефективними в широкому діапазоні доз. Наприклад, добові дози зазвичай становлять від приблизно 0,01 мг на кг маси тіла до приблизно 30 мг на кг маси тіла. У деяких випадках дози нижче нижньої межі згаданого діапазону можуть бути більш ніж достатніми, тоді як в інших випадках можуть бути використані ще більш високі дози без спричинення жодних шкідливих побічних ефектів, і, отже, згаданий діапазон доз жодним чином не є призначеним для обмеження обсягу цього винаходу.

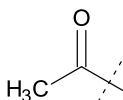
Сполуки за цим винаходом за варіантом, якому віддають перевагу, виготовляють у вигляді фармацевтичних композицій, які вводять будь-яким способом, який забезпечує біологічну активність цієї сполуки. За варіантом, якому віддають найбільшу перевагу, такі композиції призначені для перорального введення. Такі фармацевтичні композиції і способи їх одержання є добре відомими в цій галузі (дивись, наприклад, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (Troy, D.B. Editor, 21st Edition, Lippincott, Williams & Wilkins, 2006)).

За ще одним із аспектів цього винаходу згадані сполуки вводять у комбінації з одним або більше терапевтичним(-ми) засобом(-ами), таким(-ми) як протидіабетичні засоби. Введення в комбінації включає одночасне або послідовне введення. Крім того, одночасне введення згаданої комбінації може відбуватися у вигляді разової комбінованої дози або окремих доз кожного терапевтичного засобу. До прикладів протидіабетичних засобів належать метформін (metformin); інгібітор DPPIV (дипептидилпептидаза IV), такий як ситагліптин (sitagliptin) або лінагліптин (linagliptin); сульфонілсечовина, така як глімерірид (glimepiride); тіазолідиндіон, такий як піоглітазон (pioglitazone); базальний інсулін, такий як гларгін (glargine); швидкодіючий інсулін, такий як HUMALOG або NOVLOG; агоніст GLP-1 (глюкагоноподібний пептид), такий як екзенатид (exenatide) або ліраглутид (liraglutide); інгібітор SGLT2, такий як дапагліфлозин (dapagliflozin) або емпагліфлозин (empagliflozin); антагоніст рецептора глюкагону, такий як LY2409021 тощо.

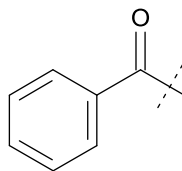
Сполуки Формули I і Формули II одержують, як показано в прикладах і на схемах, наведених нижче. Реагенти та вихідні матеріали є легко доступними фахівцеві в цій галузі. Усі замісники, якщо не зазначено інше, є такими, як визначено вище. Зрозуміло, що наведені схеми, препаративні методики та приклади жодним чином не призначені для обмеження обсягу цього винаходу.

До прикладів способів розділення належать селективні методи кристалізації або хіральна хроматографія (дивись, наприклад, Jacques, J., et al. "Enantiomers, Racemates, and Resolutions", John Wiley and Sons, Inc., 1981 та Eliel, E.L. and Wilen, S.H., "Stereochemistry of Organic Compounds", Wiley-Interscience, 1994). Фахівець в цій галузі має розуміти, що розділення та виділення окремих діастереомерів або геометричних ізомерів сполук Формули I чи Формули II, або окремих діастереомерів чи геометричних ізомерів проміжних хімічних сполук, що ведуть до одержання сполук Формули I або Формули II, засобами хроматографії, хіральної хроматографії або селективної кристалізації може відбуватися в будь-якій зручній точці процесу синтезу.

Позначка "δ", вжита в цьому описі, означає частину на мільйон у бік слабого поля від тетраметилсилану; "хв" означає хвилину або хвилини; "THF" означає тетрагідрофуран; "MeOH" означає метанол або метиловий спирт; "BEPX" означає високоефективну рідинну хроматографію; "Ac" означає ацетиловий замісник наведеної нижче структури:



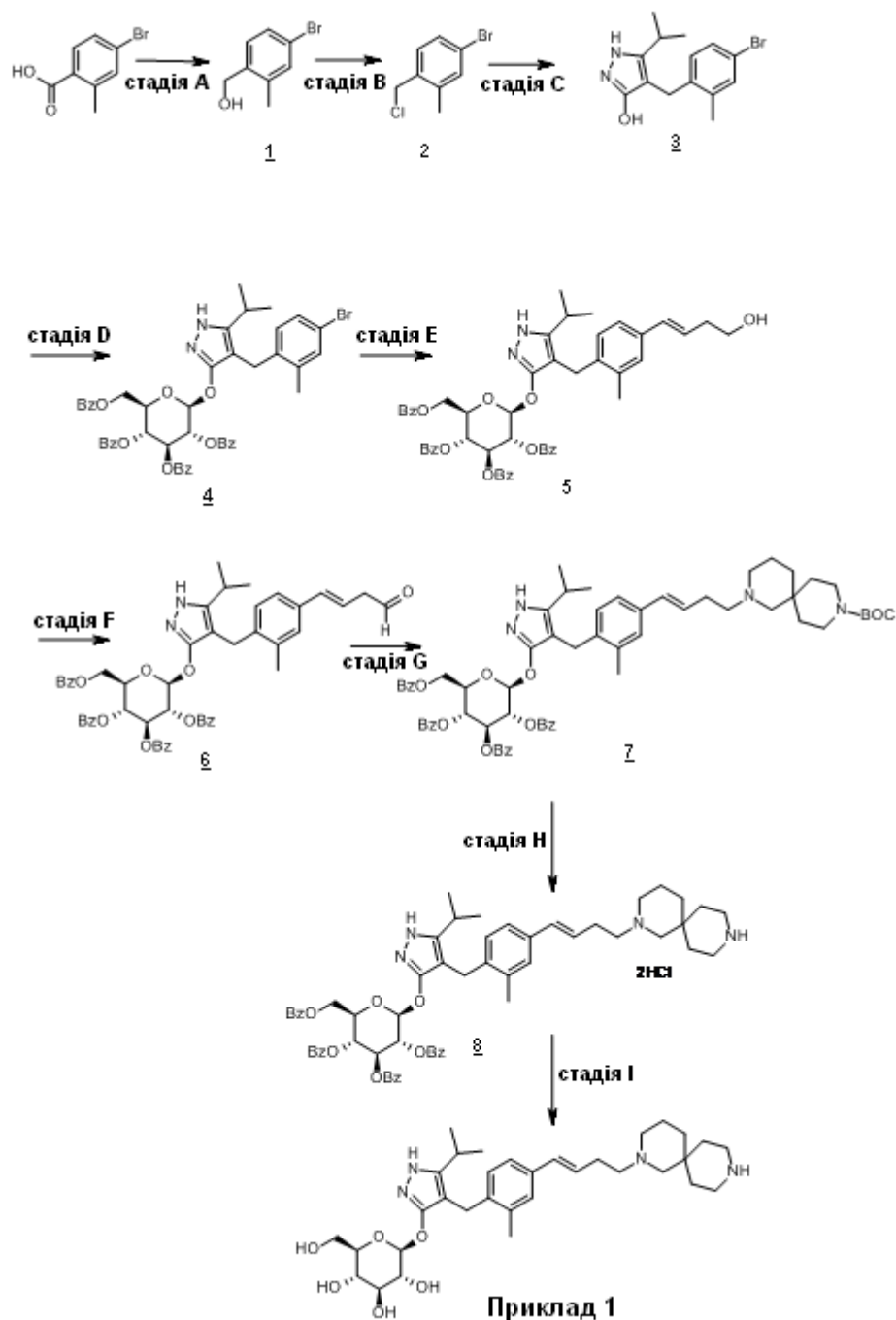
Позначка "Bz" означає бензоїльний замісник наведеної нижче структури:



Термін "BOC" означає трет-бутилоксикарбонільну захисну групу.

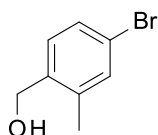
- 5 Фармацевтично прийнятні солі й загальна методика їх одержання є добре відомими в цій галузі (дивись, наприклад, Gould, P.L., "Salt selection for basic drugs", International Journal of Pharmaceutics, 33: 201-217 (1986); Bastin et al. "Salt Selection and Optimization Procedures for Pharmaceutical New Chemical Entities", Organic Process Research and Development, 4: 427-435 (2000) та Berge, S.M., et al., "Pharmaceutical Salts", Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol. 66, No. 1, January 1977). Фахівцеві в галузі синтезу буде зрозуміло, що сполуки Формули I і
- 10 Формули II, такі як аміни, є органічними основами, і що вони можуть бути легко перетворені на фармацевтично прийнятні солі та виділені у вигляді фармацевтично прийнятних солей, таких як тартратна сіль або хлористоводнева сіль, із застосуванням методів й умов, добре відомих фахівцеві в цій галузі.

Схема 1



Препаративна методика 1

5 Синтез (4-бром-2-метилфеніл)метанолу



10 Схема 1, стадія А: до розчину 4-бром-2-метилбензойної кислоти (39 г, 0,18 моль) в тетрагідрофурани (200 мл) додають комплекс борану з тетрагідрофураном (0,2 моль, 200 мл, 1,0 М розчин). Через 18 год витримки при кімнатній температурі розчинник видаляють при зниженому тиску, і одержують тверду речовину. Очищують засобами флеш-хроматографії, і

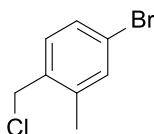
одержують вказану в заголовку сполуку у вигляді твердої речовини білого кольору (32,9 г, 0,16 моль). ^1H ЯМР (CDCl_3): δ 1,55 (s, 1H), 2,28 (s, 3H), 4,61 (s, 2H), 7,18-7,29 (m, 3H).

Альтернативний синтез (4-бром-2-метилфеніл)метанола

До розчину 4-бром-2-метилбензойної кислоти (24,3 г, 0,113 моль) у безводному тетрагідрофурани (THF, 146 мл) при температурі 3 °C повільно додають комплекс борану з диметилсульфідом (2 М розчин в тетрагідрофурани, 116 мл, 0,232 моль). Після перемішування на холоді протягом 10 хв охолоджувальну баню видаляють, і реакційну суміш витримують для повільного нагрівання до кімнатної температури. Через 1 год розчин охолоджують до температури 5 °C, і повільно додають воду (100 мл). Додають етилацетат (100 мл), і фази відокремлюють. Органічний шар промивають насиченим водним розчином NaHCO_3 (200 мл), і сушать над Na_2SO_4 . Після фільтрування й концентрування при зниженому тиску одержують залишок, який очищають фільтруванням через тонкий шар діоксиду кремнію, елюють 15 % розчином етилацетат/ізогексан, і одержують вказану в заголовку сполуку (20,7 г, вихід 91,2 %). MS (m/z): 183/185 (M+1-18).

15 Препаративна методика 2

Синтез 4-бром-1-хлорометил-2-метилбензолу



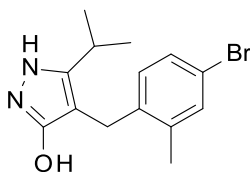
20 Схема 1, стадія В: до розчину (4-бром-2-метилфеніл)метанола (32,9 г, 0,16 моль) в дихлорометані (200 мл) і диметилформаміді (0,025 моль, 2,0 мл) при температурі 0 °C додають тіонілхлорид (14,31 мл, 0,2 моль). Через 1 год витримки при кімнатній температурі цю суміш вливають в льодоводяну суміш (100 г), екстрагують дихлорометаном (300 мл), екстракт промивають 5 % водним розчином бікарбонату натрію (30 мл) і сольовим розчином (200 мл), сушать над сульфатом натрію, концентрують при зниженому тиску, і одержують неочищену вказану в заголовку сполуку у вигляді твердої речовини білого кольору (35,0 г, 0,16 моль). Цей матеріал використовують на наступній стадії реакції без додаткового очищення. ^1H ЯМР (CDCl_3): δ 2,38 (s, 3H), 4,52 (s, 2H), 7,13-7,35 (m, 3H).

Альтернативний синтез 4-бром-1-хлорметил-2-метилбензолу

30 До охолодженого в льодоводяній суміші розчину (4-бром-2-метилфеніл)метанола (16,14 г, 80,27 ммоль) і триетиламіну (16,78 мл, 120,4 ммоль) в дихлорометані (80,7 мл) повільно додають метансульфонілхлорид (6,83 мл, 88,3 ммоль). Цю суміш лишають для повільного нагрівання до кімнатної температури, і перемішують протягом 16 год. Додають ще метансульфонілхлорид (1,24 мл, 16,1 ммоль), і суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 2 год. Додають воду (80 мл), і фази відокремлюють. Органічний шар промивають соляною кислотою (1 н. розчин; 80 мл), потім насиченим водним розчином гідрокарбонату натрію (80 мл), потім водою (80 мл), і сушать над Na_2SO_4 . Після фільтрування й концентрування при зниженому тиску одержують залишок, який очищають засобами флеш-хроматографії (з елюванням гексаном), і одержують вказану в заголовку сполуку (14,2 г, вихід 80,5 %). ^1H ЯМР (300,11 МГц, CDCl_3): δ 7,36-7,30 (m, 2H), 7,18 (d, J=8,1 Гц, 1H), 4,55 (s, 2H), 2,41 (s, 3H).

40 Препаративна методика 3

Синтез 4-[(4-бром-2-метилфеніл)метил]-5-ізопропіл-1Н-піразол-3-олу



45

Схема 1, стадія С: до розчину метил-4-метил-3-оксвалерату (27,1 мл, 0,19 моль) в тетрагідрофурани при температурі 0 °C додають гідрід натрію (8,29 г, 0,21 моль, 60 % дисперсія в маслі). Через 30 хв витримки при кімнатній температурі додають розчин 4-бром-1-хлорметил-2-метилбензолу (35,0 г, 0,16 моль) в тетрагідрофурани (50 мл). Одержану суміш гріють при температурі 70 °C протягом ночі (18 год). Додають 1,0 М розчин HCl (20 мл) для гасіння реакції. Екстрагують етилацетатом (200 мл), екстракт промивають водою (200 мл) і розсолем (200 мл),

сушать над Na_2SO_4 , фільтрують, і концентрують при зниженому тиску. Одержаний залишок розчиняють в толуолі (200 мл), і додають моногідрат гідрозину (23,3 мл, 0,48 моль). Суміш гріють при температурі 120 °C протягом 2 год з насадкою Діна-Старка для видалення води. Суміш охолоджують, і розчинник видаляють при зниженому тиску, залишок розчиняють

5 діхлорометаном (50 мл) і метанолом (50 мл). Цей розчин повільно виливають в хімічну склянку з водою (250 мл). Одержаний осаджений продукт збирають вакуумним фільтруванням. Сушать in vacuo в печі протягом ночі при температурі 40 °C, і одержують вказану в заголовку сполуку у вигляді твердої речовини (48,0 г, 0,16 моль). MS (m/z): 311,0 (M+1), 309,0 (M-1).

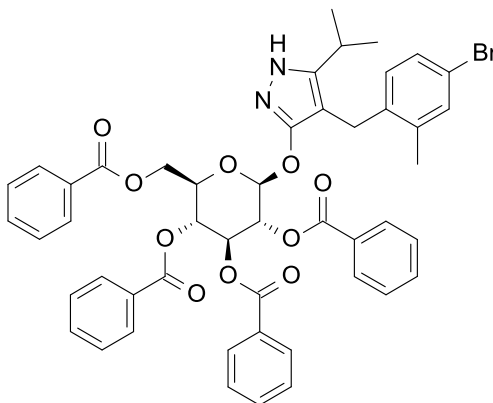
Альтернативний синтез 4-[(4-бром-2-метилфеніл)метил]-5-ізопропіл-1H-піразол-3-олу

10 Одержують розчин 4-бром-1-хлорметил-2-метилбензолу (13,16 г, 59,95 ммоль) в ацетонітрилі (65,8 мл). Додають карбонат калію (24,86 г, 179,9 ммоль), йодид калію (11,94 г, 71,94 ммоль) і метил-4-метил-3-оксвалерат (8,96 мл; 62,95 ммоль). Одержану суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 20 год. Додають соляну кислоту (2 н. розчин) до досягнення рівня pH 3. Розчин екстрагують етилацетатом (100 мл), органічну фазу

15 промивають розсолем (100 мл), і сушать над Na_2SO_4 . Суміш фільтрують, і концентрують при зниженому тиску. Залишок розчиняють у толуолі (65,8 мл), і додають моногідрат гідрозину (13,7 мл, 0,180 моль). Одержану суміш нагрівають зі зворотним холодильником, і воду видаляють із застосуванням насадки Діна-Старка. Через 3 год суміш охолоджують до температури 90 °C, додають додаткову кількість моногідрату гідрозину (13,7 мл, 0,180 моль), і суміш нагрівають зі зворотним холодильником протягом 1 год. Суміш охолоджують, і концентрують при зниженому тиску. Одержану тверду речовину розтирають з водою (200 мл), фільтрують, і сушать у вакуумній печі над P_2O_5 при температурі 60 °C. Тверду речовину розтирають в ізогексані (200 мл), фільтрують, і одержують вказану в заголовку сполуку (14,3 г; вихід 77,1 %). MS (m/z): 309/311 (M+1).

25 Препаративна методика 4

Синтез 4-(4-бром-2-метилбензил)-5-(пропан-2-іл)-1H-піразол-3-іл-2,3,4,6-тетра-О-бензоїл-бета-D-глюкопіранозиду



30 Схема 1, стадія D: в 1 л колбу додають 4-[(4-бром-2-метилфеніл)метил]-5-ізопропіл-1H-піразол-3-ол (20 г, 64,7 ммоль), альфа-D-глюкопіранозилброміду тетрабензоат (50 г, 76 ммоль), бензилтрибутиламонію хлорид (6 г, 19,4 ммоль), дихлорометан (500 мл), карбонат калію (44,7 г, 323 ммоль) і воду (100 мл). Реакційну суміш перемішують протягом ночі при кімнатній

35 температурі. Екстрагують дихлорометаном (500 мл). Екстракт промивають водою (300 мл) і розсолем (500 мл). Органічну фазу сушать над сульфатом натрію, фільтрують, і концентрують при зниженому тиску. Залишок очищають засобами флеш-хроматографії, і одержують вказану в заголовку сполуку (37 г, 64 ммоль). MS (m/z): 889,2 (M+1), 887,2 (M-1).

Препаративна методика 5

40 Синтез 4-{4-[(1E)-4-гідроксибут-1-ен-1-іл]-2-метилбензил}-5-(пропан-2-іл)-1H-піразол-3-іл-2,3,4,6-тетра-О-бензоїл-бета-D-глюкопіранозиду

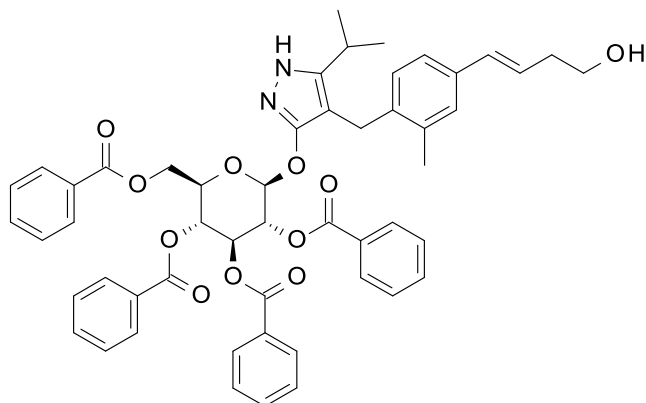


Схема 1, стадія Е: до розчину 4-(4-бром-2-метилбензил)-5-(пропан-2-іл)-1Н-піразол-3-іл-2,3,4,6-тетра-О-бензоїл-бета-D-глюкопіранозиду (3 г, 3,4 ммоль) в ацетонітрилі (30 мл) і триетиламіні (20 мл) додають 3-бутен-1-ол (0,58 мл, 6,8 ммоль). Розчин знегажують азотом протягом 10 хв. Додають три-о-толілфосфін (205 мг, 0,67 ммоль) і ацетат паладію (76 мг, 0,34 ммоль). Гріють зі зворотним холодильником при температурі 90 °С протягом 2 год. Охолоджують до кімнатної температури, і концентрують при зниженому тиску для видалення розчинника. Залишок очищають засобами флеш-хроматографії, і одержують вказану в заголовку сполуку (2,1 г, 2,4 ммоль). MS (m/z): 878,4 (M+1).

Препаративна методика 6

Синтез 4-{4-[(1E)-4-оксибут-1-ен-1-іл]-2-метилбензил}-5-(пропан-2-іл)-1Н-піразол-3-іл-2,3,4,6-тетра-О-бензоїл-бета-D-глюкопіранозиду

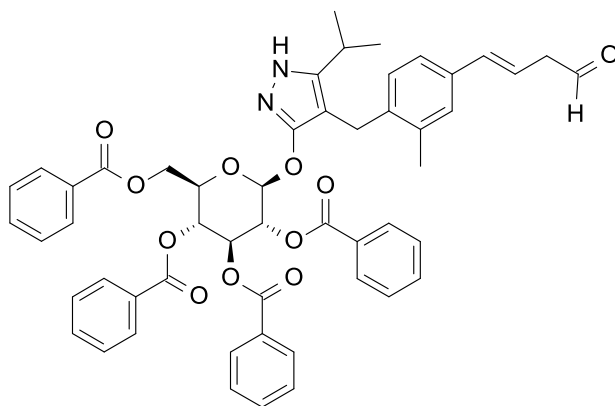


Схема 1, стадія F: до розчину 4-{4-[(1E)-4-гідроксибут-1-ен-1-іл]-2-метилбензил}-5-(пропан-2-іл)-1Н-піразол-3-іл-2,3,4,6-тетра-О-бензоїл-бета-D-глюкопіранозиду (280 мг, 0,32 ммоль) і бікарбонату натрію (133,8 мг, 1,6 ммоль) в дихлорометані (20 мл) при температурі 0 °С додають 3,3,3-триацетокси-3-йодофталід (134 мг, 0,96 ммоль). Через 15 хв витримки при кімнатній температурі реакцію гасять насиченим водним розчином тіосульфату натрію (10 мл). Екстрагують дихлорометаном (30 мл). Екстракт промивають водою (30 мл) і розсолем (40 мл). Органічну фазу сушать над сульфатом натрію, фільтрують, і концентрують при зниженому тиску. Одержаний залишок очищають засобами флеш-хроматографії, і одержують вказану в заголовку сполуку (270 мг, 0,31 ммоль). MS (m/z): 876,5 (M+1), 874,5 (M-1).

Препаративна методика 7

Синтез трет-бутил-2-[(3E)-4-[3-метил-4-[(5-(пропан-2-іл)-3-[(2,3,4,6-тетра-О-бензоїл-бета-D-глюкопіранозил)окси]-1Н-піразол-4-іл)метил)феніл]бут-3-ен-1-іл]-2,9-діазаспіро[5.5]ундекан-9-карбоксилату

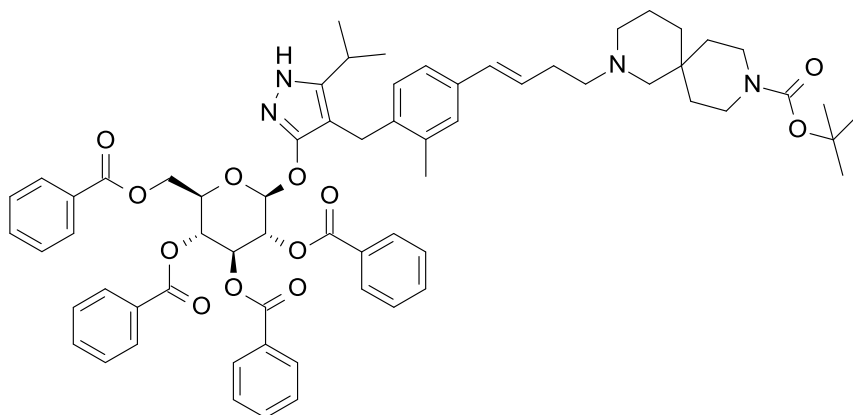


Схема 1, стадія G: до розчину 4-{4-[(1E)-4-оксибут-1-ен-1-іл]-2-метилбензил}-5-(пропан-2-іл)-1H-піразол-3-іл-2,3,4,6-тетра-О-бензоїл-бета-D-глюкопіранозиду (270 мг, 0,31 ммоль) і гідрохлориду трет-бутил-2,9-діазаспіро[5.5]ундекан-9-карбоксилату (179 мг, 0,62 ммоль) в 1,2-дихлороетані (5 мл) додають триацетоксиборогідрид натрію (98 мг, 0,46 ммоль). Через 30 хв витримки при кімнатній температурі реакцію гасять насиченим водним розчином бікарбонату натрію (10 мл). Екстрагують дихлорометаном (30 мл). Екстракт промивають водою (30 мл) і розсоллом (40 мл), органічну фазу сушать над сульфатом натрію, фільтрують, і концентрують при зниженому тиску. Одержаний залишок очищають засобами флеш-хроматографії, і одержують вказану в заголовку сполуку (275 мг, 0,25 ммоль). MS (m/z): 1115,6 (M+1).

Препаративна методика 8

Синтез 4-{4-[(1E)-4-(2,9-діазаспіро[5.5]ундец-2-іл)бут-1-ен-1-іл]-2-метилбензил}-5-(пропан-2-іл)-1H-піразол-3-іл-2,3,4,6-тетра-О-бензоїл-бета-D-глюкопіранозиду дигідрохлориду

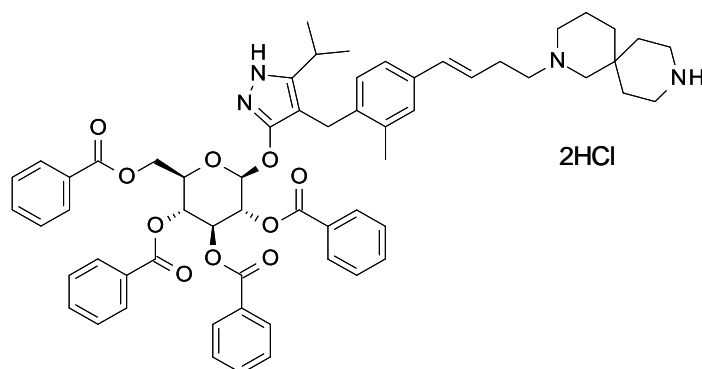
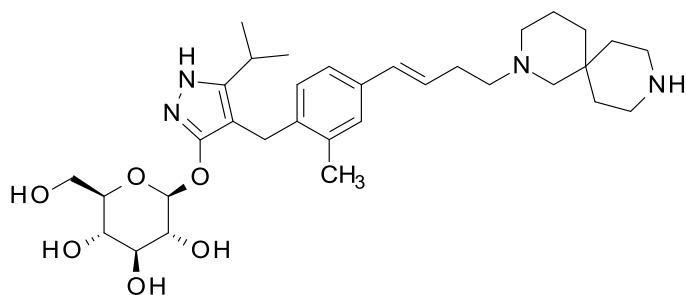


Схема 1, стадія H: до розчину трет-бутил-2-{(3E)-4-[3-метил-4-({5-(пропан-2-іл)-3-[(2,3,4,6-тетра-О-бензоїл-бета-D-глюкопіранозил)окси]-1H-піразол-4-іл}метил)феніл]бут-3-ен-1-іл}-2,9-діазаспіро[5.5]ундекан-9-карбоксилату (275 мг, 0,25 ммоль) в дихлорометані (5 мл) додають хлористий водень (4,0 М розчин в 1,4-діоксані, 0,6 мл, 2,4 ммоль). Після витримання протягом ночі (18 год) при кімнатній температурі розчин концентрують при зниженому тиску для видалення розчинника, і одержують вказану в заголовку сполуку у вигляді твердої речовини (258 мг, 0,24 ммоль). MS (m/z): 1015,6 (M+1).

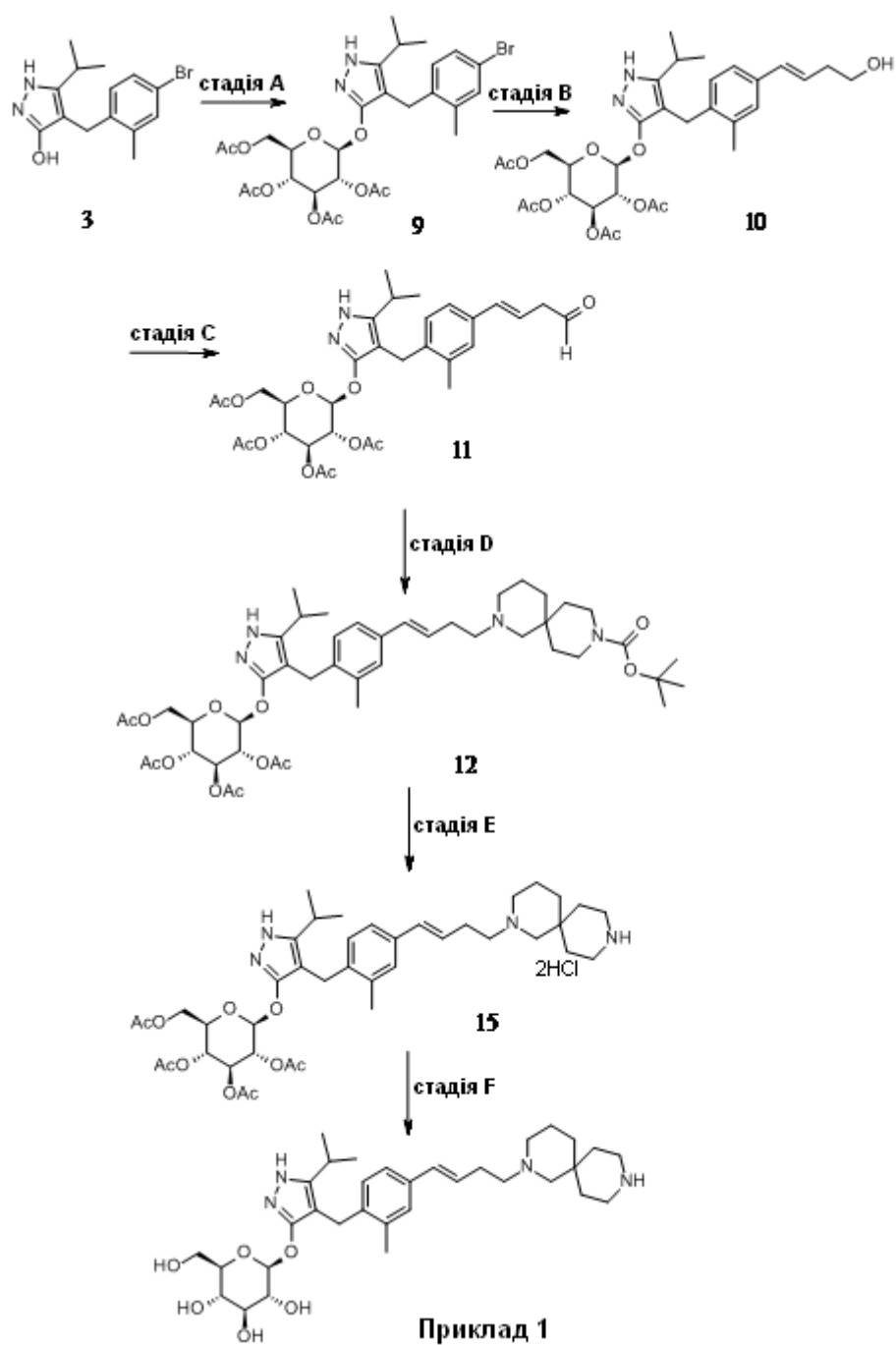
Приклад 1

Синтез 4-{4-[(1E)-4-(2,9-діазаспіро[5.5]ундец-2-іл)бут-1-ен-1-іл]-2-метилбензил}-5-(пропан-2-іл)-1H-піразол-3-іл-бета-D-глюкопіранозиду



- Схема 1, стадія І: до розчину 4-{4-[(1E)-4-(2,9-діазаспіро[5.5]ундец-2-іл)бут-1-ен-1-іл]-2-метилбензил}-5-(пропан-2-іл)-1Н-піразол-3-іл-2,3,4,6-тетра-О-бензоїл-бета-D-глюкопіранозиду
- 5 дигідрохлориду (258 мг, 0,24 ммоль) в метанолі (2 мл) додають гідроксид натрію (0,5 мл, 0,5 ммоль, 1,0 М розчин). Через 2 год витримки при температурі 40 °С розчин концентрують при зниженому тиску для видалення розчинника, і одержують залишок, який очищають засобами препаративної ВЕРХ: високий рівень рН, 25 % В протягом 4 хв, 25-40 % В протягом 4 хв при 85
- 10 мл/хв із застосуванням колонки C18XBridge ODB (30×75 мм, 5 мкм), розчинник А - H₂O+NH₄HCO₃, рН 10, розчинник В - MeCN, і одержують вказану в заголовку сполуку у вигляді твердої речовини (46 мг, 0,08 ммоль). MS (m/z): 598,8 (M+1), 596,8 (M-1).

Схема 2



Препаративна методика 9
 5 Синтез 4-(4-бром-2-метилбензил)-5-(пропан-2-іл)-1Н-піразол-3-іл-2,3,4,6-тетра-О-ацетил-
 бета-D-глюкопіранозиду

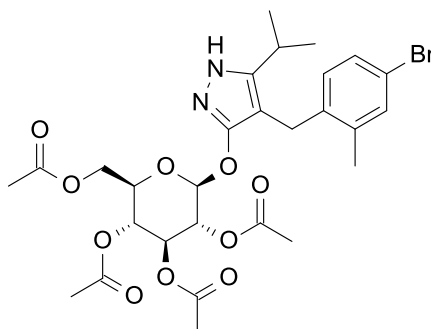


Схема 2, стадія А: в 1 л колбу додають 4-[(4-бром-2-метилфеніл)метил]-5-ізопропіл-1Н-піразол-3-ол (24 г, 77,6 ммоль), 2,3,4,6-тетра-О-ацетил-альфа-D-глюкопіранозилбромід (50,4 г, 116 ммоль), бензилтрибутиламонію хлорид (5 г, 15,5 ммоль), дихлорометан (250 мл), карбонат калію (32 г, 323 ммоль) і воду (120 мл). Реакційну суміш перемішують протягом ночі при кімнатній температурі. Екстрагують дихлорометаном (450 мл). Екстракт промивають водою (300 мл) і розсолем (500 мл). Органічну фазу сушать над сульфатом натрію, фільтрують, і концентрують при зниженому тиску. Одержаний залишок очищують засобами флеш-хроматографії, і одержують вказану в заголовку сполуку (36,5 г, 57 ммоль). MS (m/z): 638,5 (M+1), 636,5 (M-1).

Альтернативний синтез 4-(4-бром-2-метилбензил)-5-(пропан-2-іл)-1Н-піразол-3-іл-2,3,4,6-тетра-О-ацетил-бета-D-глюкопіранозиду

Реагенти 4-[(4-бром-2-метилфеніл)метил]-5-ізопропіл-1Н-піразол-3-ол (24,0 г, 77,6 ммоль), 2,3,4,6-тетра-О-ацетил-альфа-D-глюкопіранозилбромід (50,4 г, 116 ммоль), бензилтрибутиламонію хлорид (4,94 г, 15,52 ммоль), карбонат калію (32,18 г, 232,9 ммоль), дихлорометан (250 мл) і воду (120 мл) об'єднують, і суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 18 год. Суміш розподіляють між дихлорометаном (250 мл) і водою (250 мл). Органічну фазу промивають розсолем (250 мл), сушать над Na₂SO₄, фільтрують, і концентрують при зниженому тиску. Одержаний залишок очищують засобами флеш-хроматографії (з елюванням градієнтом від 10 % до 70 % розчину етилацетату в дихлорометані), і одержують вказану в заголовку сполуку (36,5 г, вихід 74 %). MS (m/z): 639/641 (M+1).

Препаративна методика 10

Синтез 4-{4-[(1E)-4-гідроксибут-1-ен-1-іл]-2-метилбензил}-5-(пропан-2-іл)-1Н-піразол-3-іл-2,3,4,6-тетра-О-ацетил-бета-D-глюкопіранозиду

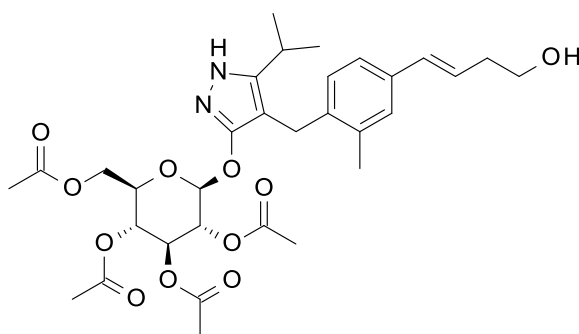
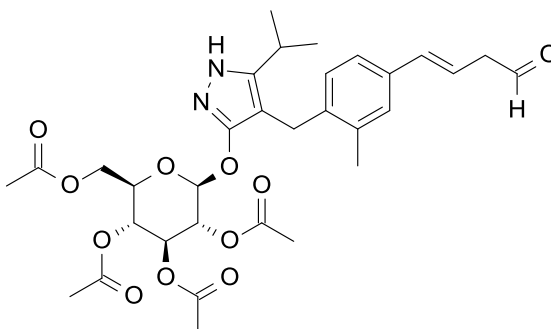


Схема 2, стадія В: до розчину 4-(4-бром-2-метилбензил)-5-(пропан-2-іл)-1Н-піразол-3-іл-2,3,4,6-тетра-О-ацетил-бета-D-глюкопіранозиду (15 г, 23,5 ммоль) в ацетонітрилі (200 мл) і триетиламіні (50 мл) додають 3-бутен-1-ол (6,1 мл, 70 ммоль). Розчин знегажують азотом протягом 10 хв. Додають три-о-толілфосфін (1,43 г, 4,7 ммоль) й ацетат паладію (526 мг, 2,35 ммоль). Після кип'ятіння зі зворотним холодильником при температурі 90 °С протягом 2 год суміш охолоджують, і концентрують при зниженому тиску для видалення розчинника. Одержаний залишок очищують засобами флеш-хроматографії, і одержують вказану в заголовку сполуку (7,5 г, 11,9 ммоль). MS (m/z): 631,2 (M+1), 629,2 (M-1).

Препаративна методика 11

Синтез 4-{4-[(1E)-4-оксибут-1-ен-1-іл]-2-метилбензил}-5-(пропан-2-іл)-1H-піразол-3-іл-2,3,4,6-тетра-О-ацетил-бета-D-глюкопіранозиду



5

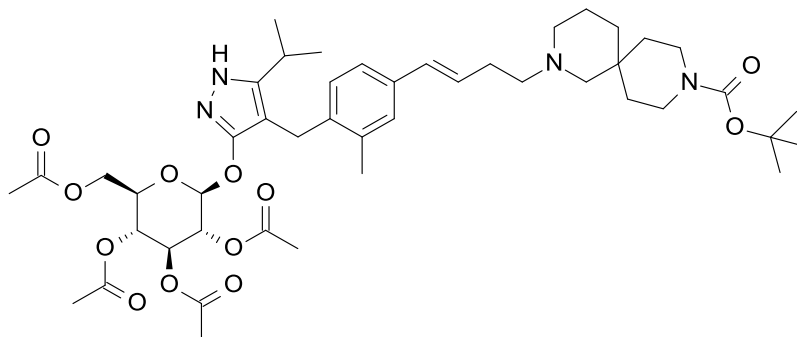
Схема 2, стадія С: до розчину 4-{4-[(1E)-4-гідроксибут-1-ен-1-іл]-2-метилбензил}-5-(пропан-2-іл)-1H-піразол-3-іл-2,3,4,6-тетра-О-ацетил-бета-D-глюкопіранозиду (1,5 г, 2,38 ммоль) і бікарбонату натрію (2 г, 23,8 ммоль) в дихлорометані (50 мл) при температурі 0 °С додають 3,3,3-триацетокси-3-йодофталід (2,1 г, 4,76 ммоль). Через 15 хв витримки при кімнатній температурі реакцію гасять насиченим водним розчином тіосульфату натрію (10 мл). Екстрагують дихлорометаном (30 мл), екстракт промивають водою (30 мл) і розсолем (40 мл). Органічну фазу сушать над сульфатом натрію, фільтрують, і концентрують при зниженому тиску. Одержаний залишок очищують засобами флеш-хроматографії, і одержують вказану в заголовку сполуку (0,95 г, 1,51 ммоль). MS (m/z): 628,8(M+1), 626,8 (M-1).

10

Препаративна методика 12

Синтез трет-бутил-2-[(3E)-4-[3-метил-4-[(5-(пропан-2-іл)-3-[(2,3,4,6-тетра-О-ацетил-бета-D-глюкопіранозил)окси]-1H-піразол-4-іл)метил)феніл]бут-3-ен-1-іл]-2,9-діазаспіро[5.5]ундекан-9-карбоксилату

15



20

Схема 2, Стадія D: до розчину 4-{4-[(1E)-4-оксибут-1-ен-1-іл]-2-метилбензил}-5-(пропан-2-іл)-1H-піразол-3-іл-2,3,4,6-тетра-О-ацетил-бета-D-глюкопіранозиду (600 мг, 0,95 ммоль) і трет-бутил-2,9-діазаспіро[5.5]ундекан-9-карбоксилату гідрохлориду (333 мг, 1,2 ммоль) в 1,2-дихлороетані (30 мл) додають триацетоксиборогідрид натрію (303 мг, 1,4 ммоль). Через 30 хв витримки при кімнатній температурі реакцію гасять насиченим водним розчином бікарбонату натрію (15 мл). Розчин екстрагують дихлорометаном (60 мл). Екстракт промивають водою (30 мл) і розсолем (60 мл). Органічну фазу сушать над сульфатом натрію, фільтрують, і концентрують при зниженому тиску. Одержаний залишок очищують засобами флеш-хроматографії, і одержують вказану в заголовку сполуку (500 мг, 0,58 ммоль). MS (m/z): 866,8, 867,8 (M+1), 864,8, 865,8 (M-1).

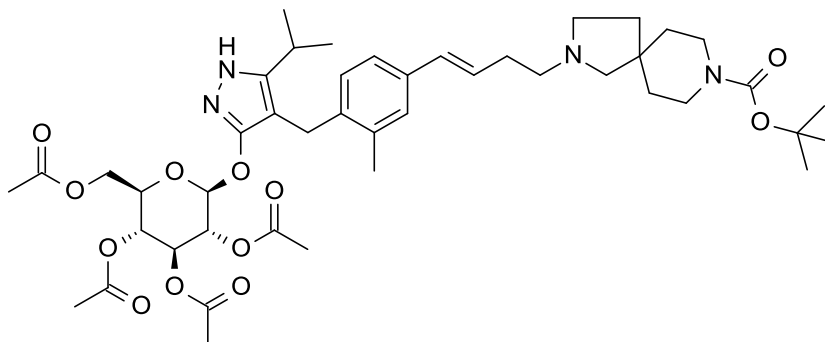
25

30

Препаративна методика 13

Синтез трет-бутил-2-[(3E)-4-[3-метил-4-[(5-(пропан-2-іл)-3-[(2,3,4,6-тетра-О-ацетил-бета-D-глюкопіранозил)окси]-1H-піразол-4-іл)метил)феніл]бут-3-ен-1-іл]-2,8-діазаспіро[4.5]декан-8-карбоксилату

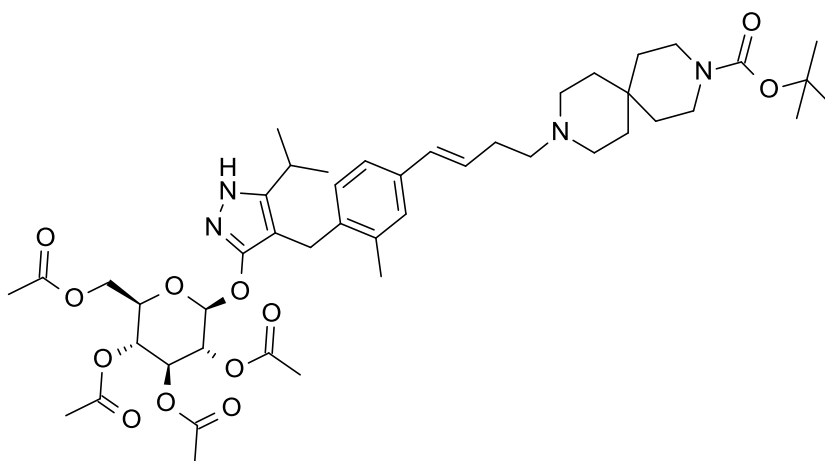
35



Указану в заголовку сполуку одержують по суті за методом, наведеним у Препаративній методиці 12. MS (m/z): 852,8, 853,6 (M+1), 850,8, 851,6 (M-1).

5 Препаративна методика 14

Синтез трет-бутил-9-((3E)-4-[3-метил-4-((5-(пропан-2-іл)-3-[(2,3,4,6-тетра-О-ацетил-бета-D-глюкопіранозил)окси]-1H-піразол-4-іл)метил)феніл]бут-3-ен-1-іл)-3,9-діазаспіро[5.5]ундекан-3-карбоксилату

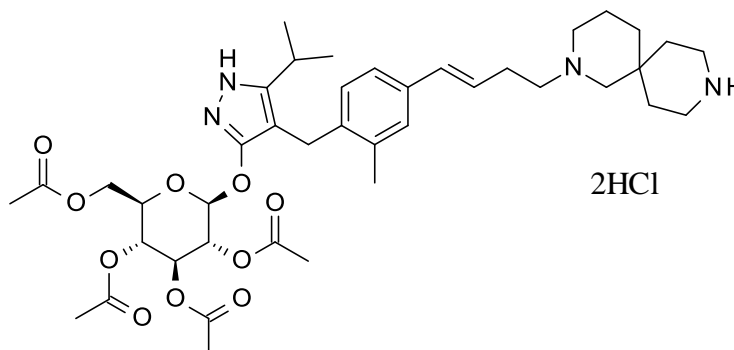


10

Указану в заголовку сполуку одержують по суті за методом, наведеним у Препаративній методиці 12. MS (m/z): 866,8, 867,6 (M+1), 864,8, 865,6 (M-1).

Препаративна методика 15

15 Синтез 4-{4-[(1E)-4-(2,9-діазаспіро[5.5]ундец-2-іл)бут-1-ен-1-іл]-2-метилбензил}-5-(пропан-2-іл)-1H-піразол-3-іл-2,3,4,6-тетра-О-ацетил-бета-D-глюкопіранозиду дигідрохлориду



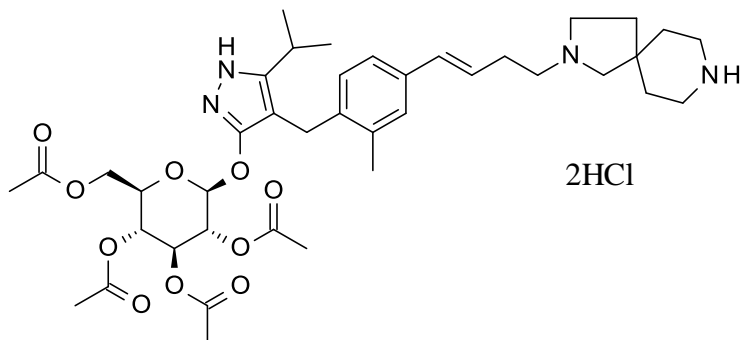
20

Схема 2, стадія Е: до розчину трет-бутил-2-((3E)-4-[3-метил-4-((5-(пропан-2-іл)-3-[(2,3,4,6-тетра-О-ацетил-бета-D-глюкопіранозил)окси]-1H-піразол-4-іл)метил)феніл]бут-3-ен-1-іл)-2,9-діазаспіро[5.5]ундекан-3-карбоксилату (500 мг, 0,58 ммоль) в дихлорометані (20 мл) додають хлористий водень (4,0 М розчин в 1,4-діоксані, 1,5 мл, 5,8 ммоль). Після 2 год витримки при

кімнатній температурі розчин концентрують при зниженому тиску для видалення розчинника, і одержують вказану в заголовку сполуку у вигляді твердої речовини (480 мг, 0,57 ммоль). MS (m/z): 767,4 (M+1).

Препаративна методика 16

- 5 Синтез 4-{4-[(1E)-4-(2,8-діазаспіро[4.5]дец-2-іл)бут-1-ен-1-іл]-2-метилбензил}-5-(пропан-2-іл)-1H-піразол-3-іл-2,3,4,6-тетра-О-ацетил-бета-D-глюкопіранозиду дигідрохлориду

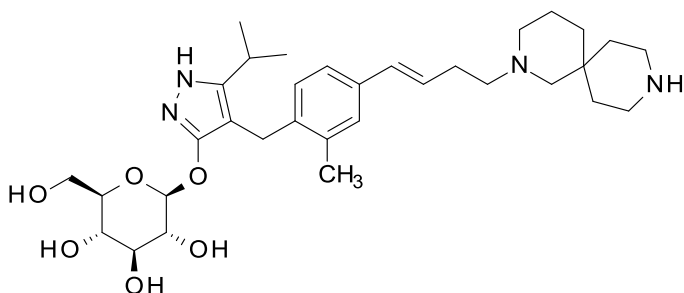


- 10 Указану в заголовку сполуку одержують по суті за методом, наведеним у Препаративній методиці 15. MS (m/z): 752,8, 753,8 (M+1), 750,8 (M-1).

Перший альтернативний синтез сполуки Прикладу 1

Перший альтернативний синтез 4-{4-[(1E)-4-(2,9-діазаспіро[5.5]ундец-2-іл)бут-1-ен-1-іл]-2-метилбензил}-5-(пропан-2-іл)-1H-піразол-3-іл-бета-D-глюкопіранозиду

15

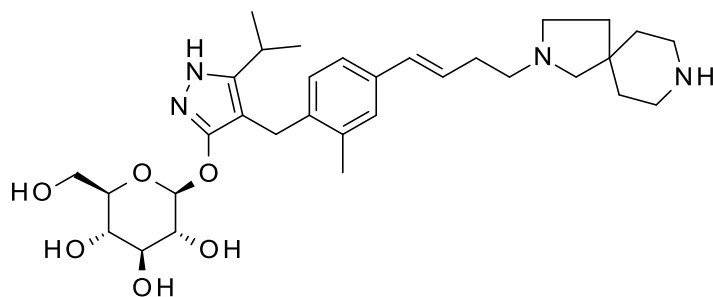


- Схема 2, стадія F: до 4-{4-[(1E)-4-(2,9-діазаспіро[5.5]ундец-2-іл)бут-1-ен-1-іл]-2-метилбензил}-5-(пропан-2-іл)-1H-піразол-3-іл-2,3,4,6-тетра-О-ацетил-бета-D-глюкопіранозиду дигідрохлориду (480 мг, 0,24 ммоль) додають метанол (5 мл), триетиламін (3 мл) і воду (3 мл). Після витримки протягом ночі (18 год) при кімнатній температурі розчин концентрують при зниженому тиску до суха. Одержаний залишок очищають засобами препаративної ВЕРХ: високий рівень pH, 25 % В протягом 4 хв, 25-40 % В протягом 4 хв при 85 мл/хв із застосуванням колонки C18XBridge ODB (30×75 мм, 5 мкм), розчинник А - H₂O+NH₄HCO₃, pH 10, розчинник В - MeCN, і одержують вказану в заголовку сполуку у вигляді твердої речовини (50 мг, 0,08 ммоль). MS (m/z): 598,8 (M+1), 596,8 (M-1). ¹H ЯМР (400,31 МГц, CD₃OD): δ 7,11 (d, J=1,3 Гц, 1H), 7,04 (dd, J=1,3 Гц, 8,0 Гц, 1H), 6,87 (d, J=8,0 Гц, 1H), 6,36 (d, J=15,8 Гц, 1H), 6,16 (dt, J=15,8 Гц, 6,3 Гц, 1H), 5,02 (m, 1H), 3,81 (d, J=11,7 Гц, 1H), 3,72 (d, J=16,8 Гц, 1H), 3,68 (d, J=16,8 Гц, 1H), 3,64 (m, 1H), 3,37-3,29 (m, 4H), 2,79 (m, 1H), 2,72 (t, J=5,8 Гц, 4H), 2,44-2,33 (m, 6H), 2,30 (s, 3H), 2,26 (широкий s, 2H), 1,59 (m, 2H), 1,50 (m, 2H), 1,43 (m, 2H), 1,36 (m, 2H), 1,11 (d, J=7,0 Гц, 3H), 1,10 (d, J=7,0 Гц, 3H).

Приклад 2

Синтез 4-{4-[(1E)-4-(2,8-діазаспіро[4.5]дец-2-іл)бут-1-ен-1-іл]-2-метилбензил}-5-(пропан-2-іл)-1H-піразол-3-іл-бета-D-глюкопіранозиду

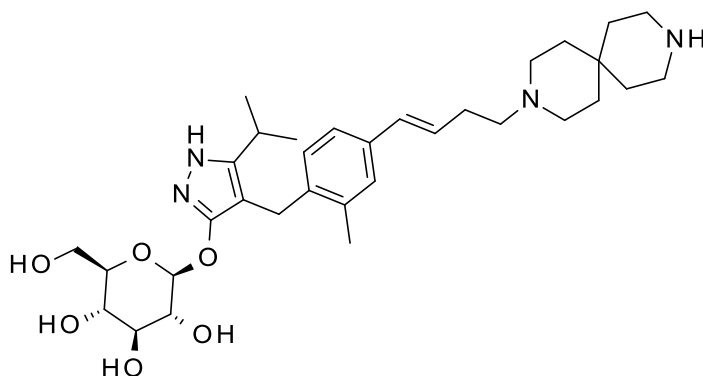
35



Указану в заголовку сполуку одержують по суті за методом, наведеним у Першому альтернативному синтезі сполуки Прикладу 1. MS (m/z): 584,7 (M+1), 582,8 (M-1).

5 Приклад 3

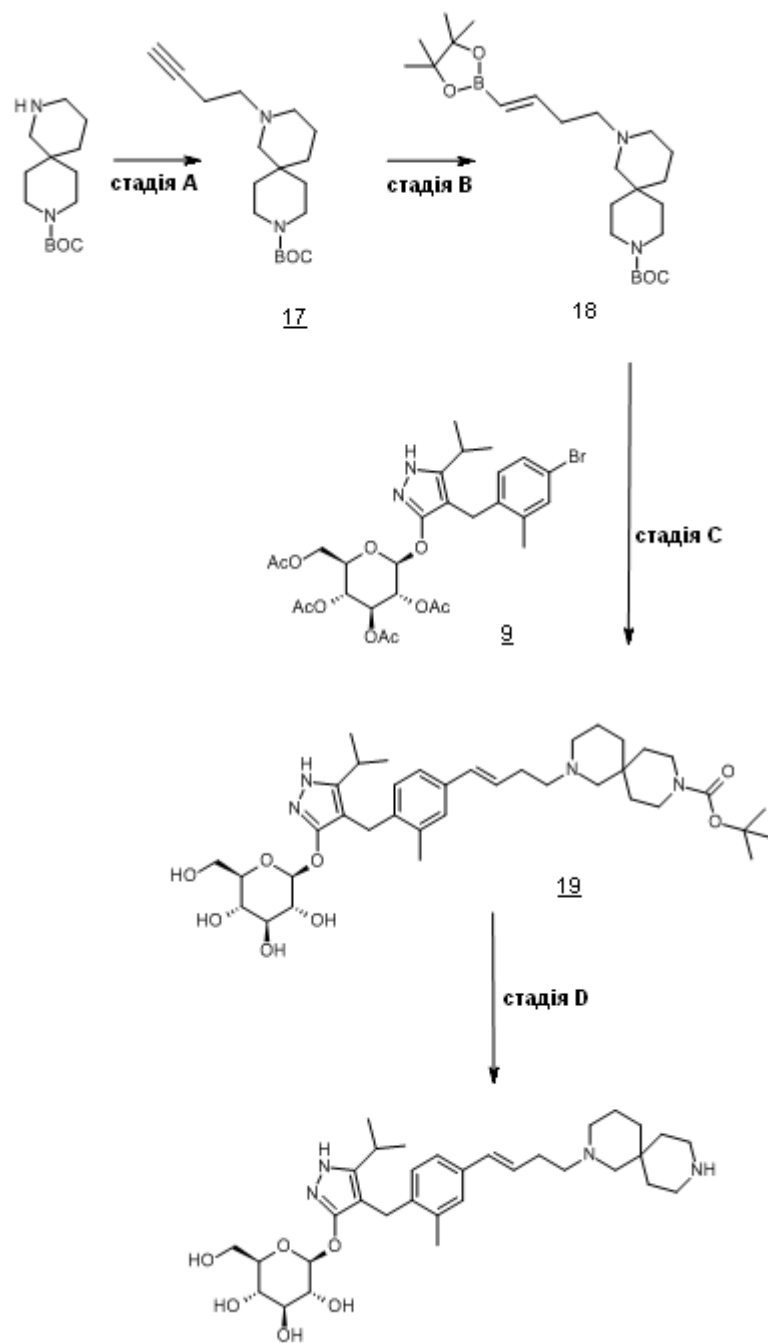
Синтез 4-{4-[(1E)-4-(3,9-діазаспіро[5.5]ундец-3-іл)бут-1-ен-1-іл]-2-метилбензил}-5-(пропан-2-іл)-1H-піразол-3-іл-бета-D-глюкопіранозиду



10

По суті, для одержання вказаної в заголовку сполуки спочатку сполуку Препаративної методики 14 обробляють хлористим воднем, як описано в Препаративній методиці 15, потім одержану гідрохлоридну сіль обробляють триетиламіном, як описано в Першому альтернативному синтезі сполуки Прикладу 1. MS (m/z): 598,8, 599,8 (M+1), 596,8, 597,8 (M-1).

Схема 3



Приклад 1

Препаративна методика 17

5 Синтез трет-бутил-4-бут-3-ініл-4,9-діазспіро[5.5]ундекан-9-карбоксилату

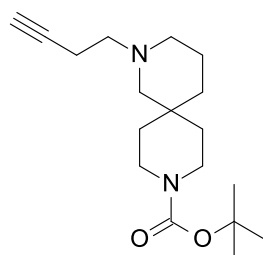


Схема 3, стадія А: до суспензії гідрохлориду трет-бутил-4,9-діазаспіро[5.5]ундекан-9-карбоксилату (16,66 г, 57,28 ммоль) в ацетонітрилі (167 мл) додають карбонат цезію (46,66 г, 143,21 ммоль). Одержану суміш перемішують протягом 10 хв при температурі навколишнього середовища, після чого додають 4-бромбутин (6,45 мл, 68,74 ммоль). Реакційну суміш нагрівають зі зворотним холодильником, і перемішують протягом 18 год. Суміш охолоджують, і концентрують при зниженому тиску. Залишок розподіляють між водою (200 мл) і етилацетатом (150 мл). Фази відокремлюють, і водний шар екстрагують етилацетатом (100 мл). Об'єднані органічні шари промивають водою (200 мл), потім розсолем (150 мл), сушать над $MgSO_4$, фільтрують, концентрують при зниженому тиску, і одержують вказану в заголовку сполуку (17,2 г, вихід 98 %). 1H ЯМР (300,11 МГц, $CDCl_3$): δ 3,43-3,31 (m, 4H), 2,53-2,48 (m, 2H), 2,37-2,29 (m, 4H), 2,20 (s, 2H), 1,94 (t, $J=2,6$ Гц, 1H), 1,44 (s, 17H).

Препаративна методика 18

Синтез трет-бутил-4-[(E)-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)бут-3-еніл]-4,9-діазаспіро[5.5]ундекан-9-карбоксилату

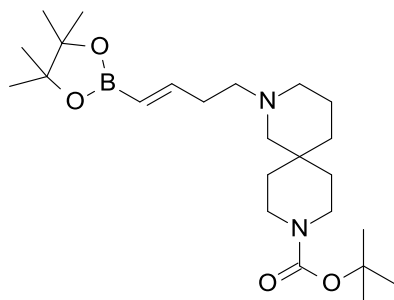


Схема 3, стадія В: до трет-бутил-4-бут-3-ініл-4,9-діазаспіро[5.5]ундекан-9-карбоксилату (17,21 г, 56,16 ммоль) додають триетиламін (5,62 ммоль; 0,783 мл), 4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан (8,56 мл, 59,0 ммоль) і хлорид цирконоцену (1,45 г, 5,62 ммоль). Одержану суміш нагрівають до температури 65 °С протягом 3,5 год. Суміш охолоджують, і розчиняють в дихлорометані (150 мл). Одержаний розчин пропускають через шар силікагелю завтовшки приблизно 4 см, і елюють дихлорометаном (2×200 мл). Фільтрат концентрують при зниженому тиску, і одержують вказану в заголовку сполуку (21,2 г, вихід 87 %). 1H ЯМР (300,11 МГц, $CDCl_3$): δ 6,65-6,55 (m, 1H), 5,49-5,43 (m, 1H), 3,42-3,29 (m, 4H), 2,40-2,27 (m, 6H), 2,25-2,08 (m, 2H), 1,70-1,13 (m, 29H).

Препаративна методика 19

Синтез трет-бутил-2-[(3E)-4-[3-метил-4-[(5-(пропан-2-іл)-3-бета-D-глюкопіранозил)окси]-1H-піразол-4-іл]метил)феніл]бут-3-ен-1-іл]-2,9-діазаспіро[5.5]ундекан-9-карбоксилату

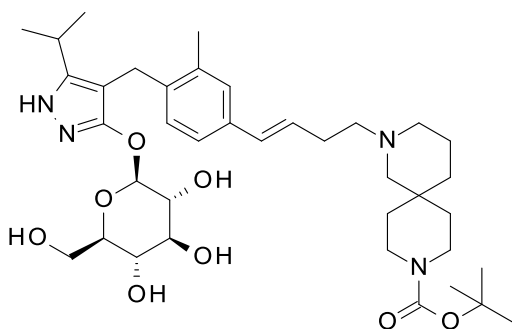


Схема 3, стадія С: розчин 4-(4-бром-2-метилбензил)-5-(пропан-2-іл)-1H-піразол-3-іл-2,3,4,6-тетра-О-ацетил-бета-D-глюкопіранозиду (20 г, 31,3 ммоль), трет-бутил-4-[(E)-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)бут-3-еніл]-4,9-діазаспіро[5.5]ундекан-9-карбоксилату (16,3 г, 37,5 ммоль) і карбонату калію (12,97 г, 93,82 ммоль) в тетрагідрофурані (200 мл) і воді (40 мл) знегажують протягом 15 хв барботуванням азотом. Додають $Pd(OAc)_2$ (140 мг, 625 мкмоль) й 2-дициклогексилфосфіно-2',4',6'-три-ізопропіл-1,1'-дифеніл (0,596 г, 1,25 ммоль), і реакційну суміш нагрівають зі зворотним холодильником протягом 16 год. Розчин охолоджують до температури навколишнього середовища, і додають метанол (200 мл). Через 30 хв розчинник видаляють при

зниженому тиску. Суміш розподіляють між етилацетатом (500 мл) і розсолем (500 мл), додаючи при цьому водний розчин MgSO_4 (1 M, 500 мл) для сприяння поділу фаз. Шари розділяють, органічний шар сушать над MgSO_4 , фільтрують через 10 см шар сілікагелю, й елюють етилацетатом (приблизно 1,5 л). Фільтрат відкидають, а шар діоксиду кремнію промивають 5 % розчином MeOH в тетрагідрофурани (2 л). Метанольний фільтрат концентрують при зниженому тиску, і одержують вказану в заголовку сполуку (20,1 г, 92 %).

Другий альтернативний синтез сполуки Прикладу 1

Другий альтернативний синтез 4-{4-[(1E)-4-(2,9-діазаспіро[5.5]ундец-2-іл)бут-1-ен-1-іл]-2-метилбензил}-5-(пропан-2-іл)-1H-піразол-3-іл-бета-D-глюкопіранозиду

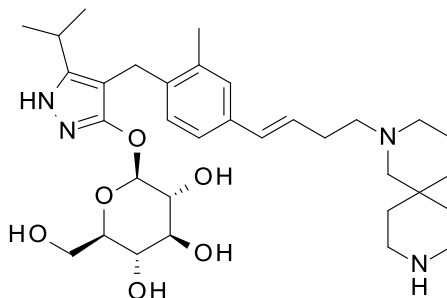
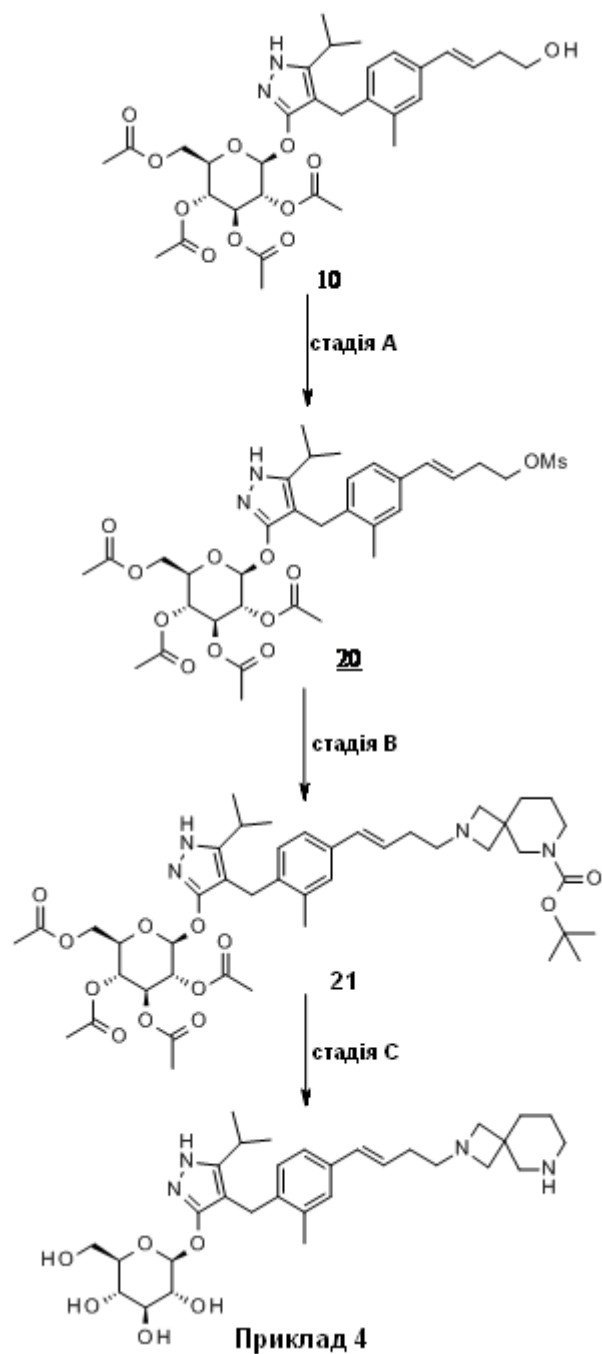


Схема 3, стадія D: до охолодженого льодяною водою розчину трет-бутил-2-((3E)-4-[3-метил-4-((5-(пропан-2-іл)-3-бета-D-глюкопіранозил)окси)-1H-піразол-4-іл]метил)феніл]бут-3-ен-1-іл)-2,9-діазаспіро[5.5]ундекан-9-карбоксилату (14,87 г, 21,28 ммоль) в дихлорометані (149 мл) додають трифторооцтову кислоту (32,2 мл, 0,426 моль). Розчин витримують для нагрівання до кімнатної температури. Через 30 хв суміш повільно додають до розчину аміаку в метанолі (2 M, 300 мл), застосовуючи за необхідності охолодження для підтримання незмінної температури. Розчин перемішують при кімнатній температурі протягом 15 хв. Суміш концентрують при зниженому тиску, і залишок очищають із використанням смоли SCX-2. Основний фільтрат концентрують при зниженому тиску, і залишок розтирають/обробляють ультразвуком в етилацетаті, фільтрують, і сушать. Одержану тверду речовину розчиняють в MeOH (200 мл), і концентрують in vacuo. Це повторюють декілька разів, і одержують вказану в заголовку сполуку (12,22 г, вихід 96 %). MS (m/z): 599 (M+1). $[\alpha]_D^{20} = -12^\circ$ (C=0,2, MeOH).

Схема 4



- 5 Препаративна методика 20
 Синтез (3E)-4-[3-метил-4-({5-(пропан-2-іл)-3-[(2,3,4,6-тетра-О-ацетил-бета-D-глюкопіранозил)окси]-1H-піразол-4-іл}метил)феніл]бут-3-ен-1-іл-метансульфонату

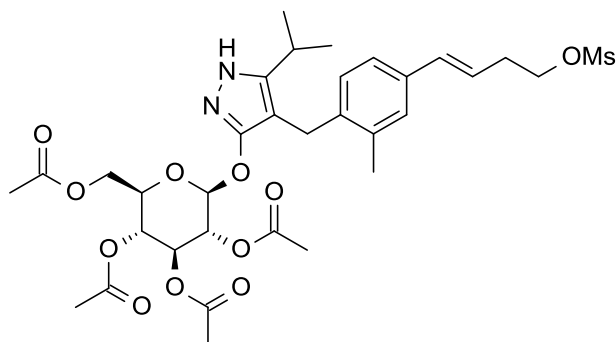


Схема 4, стадія А: до розчину 4-{4-[(1E)-4-гідроксибут-1-ен-1-іл]-2-метилбензил}-5-(пропан-2-іл)-1H-піразол-3-іл-2,3,4,6-тетра-О-ацетил-бета-D-глюкопіранозиду (3,7, 5,87 ммоль) в дихлорометані (15 мл) і триетиламіні (4 мл, 29 ммоль) при температурі 0 °С. Після кип'ятіння зі зворотним холодильником при кімнатній температурі протягом 30 хв розчин концентрують при зниженому тиску для видалення розчинника. Залишок очищають засобами флеш-хроматографії, і одержують вказану в заголовку сполуку (2,9 г, 4,1 ммоль). MS (m/z): 708,5 (M+1), 706,5 (M-1).

Препаративна методика 21

Синтез трет-бутил-2-((3E)-4-[3-метил-4-((5-(пропан-2-іл)-3-[(2,3,4,6-тетра-О-ацетил-бета-D-глюкопіранозил)окси]-1H-піразол-4-іл)метил)феніл]бут-3-ен-1-іл}-2,6-діазаспіро[3.5]нонан-6-карбоксилату

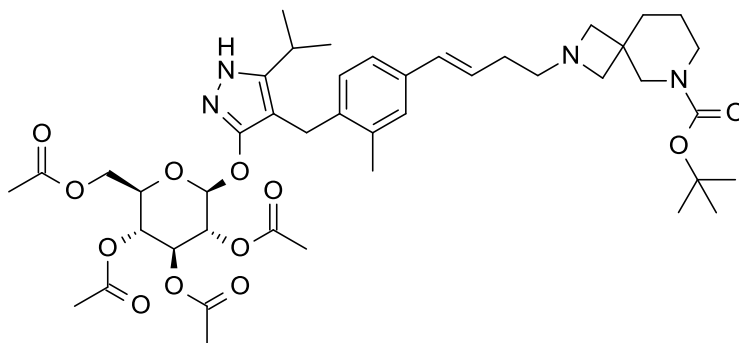
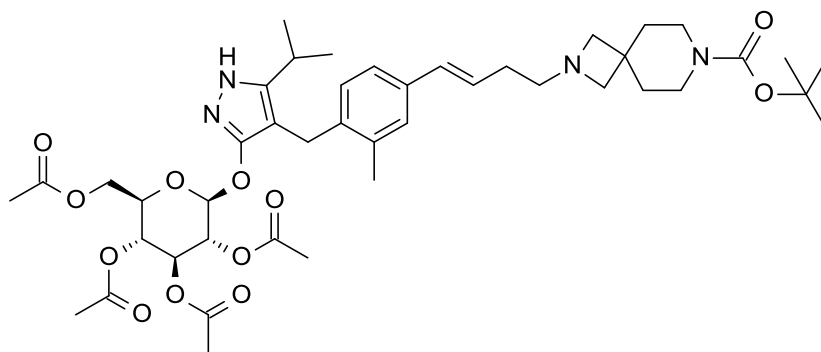


Схема 4, стадія В: до розчину (3E)-4-[3-метил-4-((5-(пропан-2-іл)-3-[(2,3,4,6-тетра-О-ацетил-бета-D-глюкопіранозил)окси]-1H-піразол-4-іл)метил)феніл]бут-3-ен-1-іл-метансульфонату (200 мг, 0,28 ммоль) і трет-бутил-2,6-діазаспіро[3.5]нонан-6-карбоксилату (77 мг, 0,34 ммоль) в ацетонітрилі (3 мл) додають діізопропілетиламін (0,2 мл, 1,1 ммоль). Суміш гріють при температурі 80 °С протягом ночі. Концентрують при зниженому тиску, залишок очищають засобами флеш-хроматографії, і одержують вказану в заголовку сполуку (127 мг, 0,15 ммоль). MS (m/z): 838,8, 839,6 (M+1), 836,8, 837,6 (M-1).

Препаративна методика 22

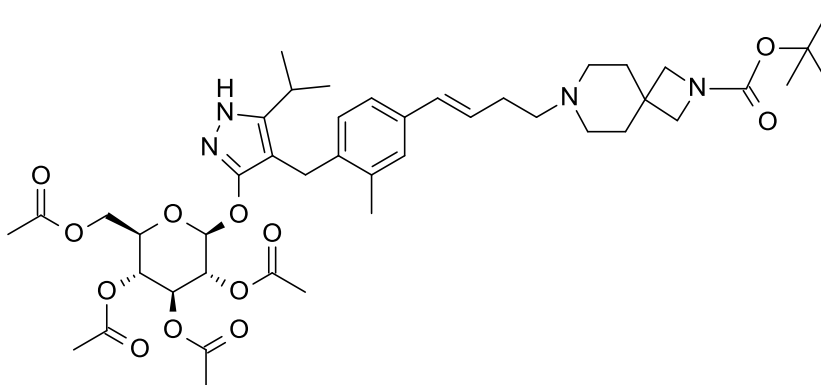
Синтез трет-бутил-2-((3E)-4-[3-метил-4-((5-(пропан-2-іл)-3-[(2,3,4,6-тетра-О-ацетил-бета-D-глюкопіранозил)окси]-1H-піразол-4-іл)метил)феніл]бут-3-ен-1-іл}-2,7-діазаспіро[3.5]нонан-7-карбоксилату



Указану в заголовку сполуку одержують по суті за методом, наведеним у Препаративній методиці 21. MS (m/z): 838,8, 839,6 (M+1), 836,8, 837,6 (M-1).

5 Препаративна методика 23

Синтез трет-бутил-7-((3E)-4-[3-метил-4-((5-(пропан-2-іл)-3-[(2,3,4,6-тетра-О-ацетил-бета-D-глюкопіранозил)окси]-1H-піразол-4-іл)метил)феніл]бут-3-ен-1-іл]-2,7-діазаспіро[3.5]нонан-2-карбоксилату

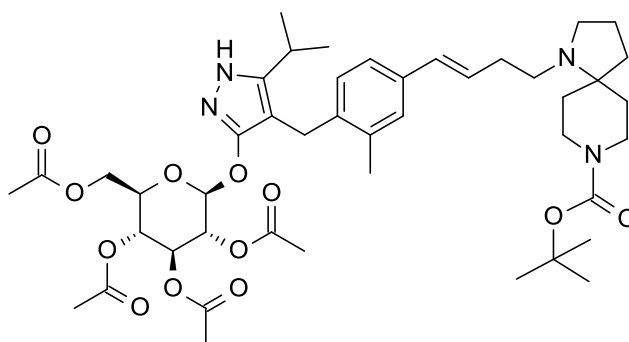


10

Указану в заголовку сполуку одержують по суті за методом, наведеним у Препаративній методиці 21. MS (m/z): 838,8, 839,6 (M+1), 836,8, 837,6 (M-1).

Препаративна методика 24

15 Синтез трет-бутил-1-((3E)-4-[3-метил-4-((5-(пропан-2-іл)-3-[(2,3,4,6-тетра-О-ацетил-бета-D-глюкопіранозил)окси]-1H-піразол-4-іл)метил)феніл]бут-3-ен-1-іл]-1,8-діазаспіро[4.5]декан-8-карбоксилату



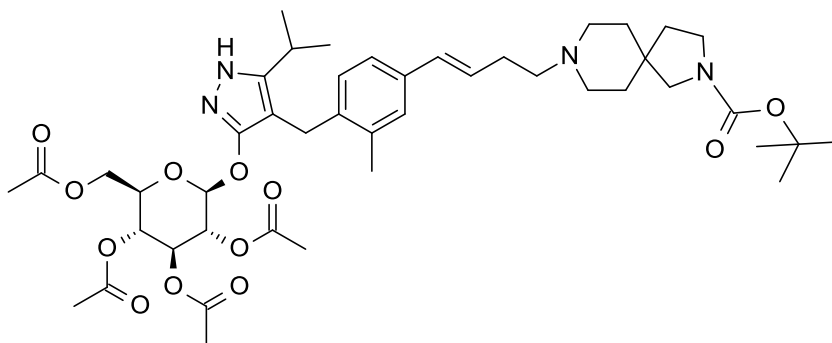
20

Указану в заголовку сполуку одержують по суті за методом, наведеним у Препаративній методиці 21. MS (m/z): 852,8, 853,6 (M+1), 850,8, 852,8 (M-1).

Препаративна методика 25

25 Синтез трет-бутил-8-((3E)-4-[3-метил-4-((5-(пропан-2-іл)-3-[(2,3,4,6-тетра-О-ацетил-бета-D-глюкопіранозил)окси]-1H-піразол-4-іл)метил)феніл]бут-3-ен-1-іл]-2,8-діазаспіро[4.5]декан-2-карбоксилату

карбоксилату



5 Указану в заголовку сполуку одержують по суті за методом, наведеним у Препаративній методиці 21. MS (m/z): 852,8, 853,6 (M+1), 850,8, 851,6 (M-1).

Приклад 4

Синтез 4-{4-[(1E)-4-(2,6-діазаспіро[3.5]нон-2-іл)бут-1-ен-1-іл]-2-метилбензил}-5-(пропан-2-іл)-1H-піразол-3-іл-бета-D-глюкопіранозиду

10

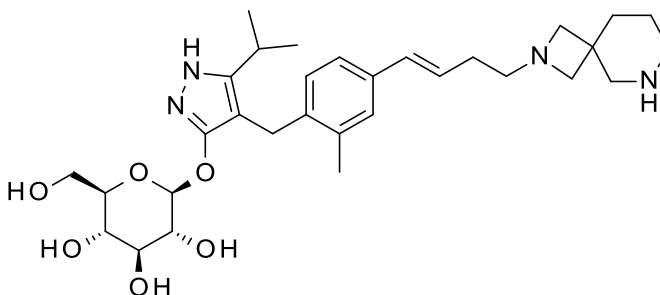
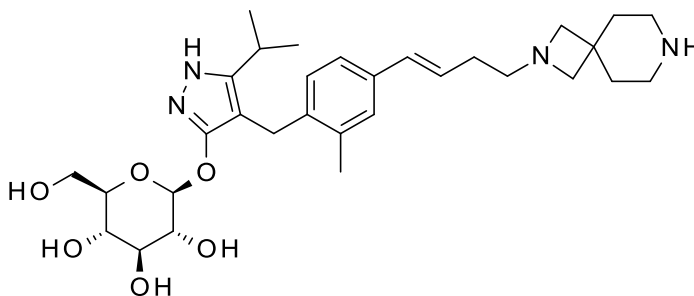


Схема 4, стадія С: до розчину трет-бутил-2-((3E)-4-[3-метил-4-((5-(пропан-2-іл)-3-((2,3,4,6-тетра-О-ацетил-бета-D-глюкопіранозил)окси)-1H-піразол-4-іл)метил)феніл]-бут-3-ен-1-іл)-2,6-діазаспіро[3.5]нонан-6-карбоксилату в дихлорометані (2 мл) додають 4,0 М розчин HCl/1,4-діоксан (1,5 мл, 1,5 ммоль), і перемішують при кімнатній температурі протягом 4,0 год. Суміш концентрують при зниженому тиску до одержання піноподібної твердої речовини. Цю тверду речовину протягом ночі обробляють 2,0 М розчином аміаку в MeOH (2 мл). Через 18 год витримки при кімнатній температурі розчин концентрують при зниженому тиску для видалення розчинника. Одержаний залишок очищують засобами препаративної ВЕРХ: високе значення рН, 19 % В протягом 3 хв, 19-34 % В протягом 5 хв при 85 мл/хв із застосуванням колонки C18XBridge ODB (30×75 мм, 5 мкм), розчинник А - H₂O+NH₄HCO₃, рН 10, розчинник В - MeCN, і одержують вказану в заголовку сполуку у вигляді твердої речовини (47 мг, 0,08 ммоль). MS (m/z): 570,8, 571,8 (M+1), 568,7, 569,8 (M-1).

25 Приклад 5

Синтез 4-{4-[(1E)-4-(2,7-діазаспіро[3.5]нон-2-іл)бут-1-ен-1-іл]-2-метилбензил}-5-(пропан-2-іл)-1H-піразол-3-іл-бета-D-глюкопіранозиду

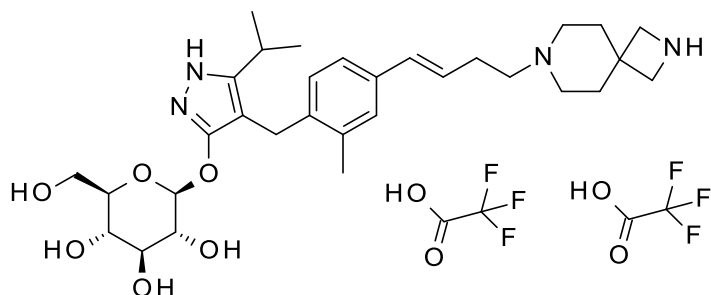


30

Указану в заголовку сполуку одержують по суті за методом, наведеним у Прикладі 4. MS (m/z): 570,8, 571,8 (M+1), 568,7, 569,8 (M-1).

Приклад 6

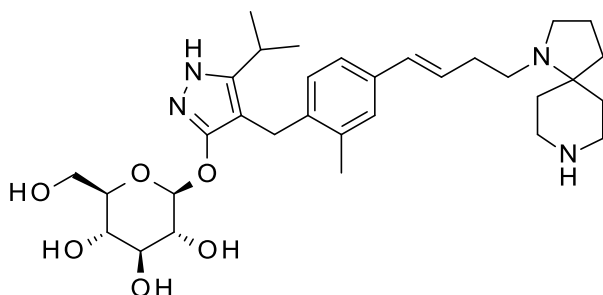
Синтез 4-{4-[(1E)-4-(2,7-діазаспіро[3.5]нон-7-іл)бут-1-ен-1-іл]-2-метилбензил}-5-(пропан-2-іл)-1H-піразол-3-іл-бета-D-глюкопіранозиду трифторацетату (1:2)



Указану в заголовку сполуку одержують по суті за методом, наведеним у Прикладі 4, з очищенням кінцевої сполуки засобами препаративної ВЕРХ з низьким значенням рН (низьке значення рН, 16 % В протягом 3 хв, 16-33 % В протягом 5 хв при 85 мл/хв із застосуванням колонки C18XBridge ODB (30×75 мм, 5 мкм), розчинник А - H₂O+0,1 % TFA, розчинник В - MeCN+0,1 % TFA). MS (m/z): 570,8, 571,8 (M+1), 568,7, 569,8 (M-1).

Приклад 7

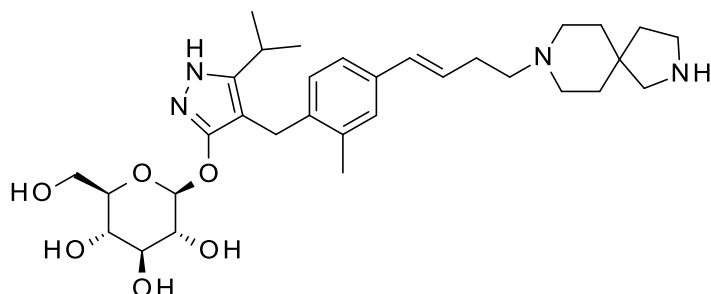
Синтез 4-{4-[(1E)-4-(1,8-діазаспіро[4.5]дец-1-іл)бут-1-ен-1-іл]-2-метилбензил}-5-(пропан-2-іл)-1H-піразол-3-іл-бета-D-глюкопіранозиду



Указану в заголовку сполуку одержують по суті за методом, наведеним у Прикладі 4. MS (m/z): 584,7, 585,8 (M+1), 582,8, 583,8 (M-1).

Приклад 8

Синтез 4-{4-[(1E)-4-(2,8-діазаспіро[4.5]дец-8-іл)бут-1-ен-1-іл]-2-метилбензил}-5-(пропан-2-іл)-1H-піразол-3-іл-бета-D-глюкопіранозиду



Указану в заголовку сполуку одержують по суті за методом, наведеним у Прикладі 4. MS (m/z): 584,7, 585,8 (M+1), 582,8, 583,8 (M-1).

Дослідження натрій-залежного транспортера глюкози 1 (SGLT1) і SGLT2 кДНК, які кодують людський SGLT1 (slc5a1, NM_000343), людський SGLT2 (slc5a2, NM_003041) і мишачий SGLT1 (slc5a1, NM_019810.4), одержують від компаній Openbiosystems,

Invitrogen і Openbiosystems, відповідно. Ці кДНК клонують в pcDNA3.1+ для експресії ссавцями, і стабільно трансфекують в клітини яєчника китайського хом'ячка (CHO)-K1 стандартними методами трансфекування ссавців. SGLT-експресуючий субклон кожної надекспресуючої лінії клітин вибирають на основі стійкості до неоміцину (генетицин (Geneticine), компанія Invitrogen) і активності в дослідженні поглинання ^{14}C - α -метил-D-глюкопіранозиду (^{14}C -AMG) (дивись нижче).

Стабільні SGLT-експресуючі клітини підтримують стандартними методами культивування клітин. Активність SGLT визначають як натрій-залежне поглинання ^{14}C -AMG у вищезгаданих клітинних лінях, як описано нижче. У кожну лунку 96-лункового планшета BioCoat poly-D-lysine (компанія Becton Dickinson) висівають 100 мкл культурального середовища, яке містить 30000 клітин, і культивують його при температурі 37 °C протягом ночі. Це культуральне середовище видаляють, і клітини двічі промивають 200 мкл реакційного буфера (140 mM NaCl, 2 mM KCl, 1 mM CaCl_2 , MgCl_2 і 14 mM N-2-гідроетилпіперазин-N'-2-етансульфонової кислоти (HEPES), pH 7,5). Надлишок буфера видаляють паперовими серветками. У кожну лунку додають 35 мкл реакційного буфера. У кожну лунку додають 5 мкл 10 % розчину диметилсульфоксиду (DMSO) в реакційному буфері, який містить різні концентрації досліджуваної сполуки або як контроль не містить сполуки. Реакцію ініціюють додаванням 10 мкл ^{14}C -AMG в реакційному буфері для доведення кінцевої концентрації до 4 мкМ. Планшет інкубують при температурі 37 °C протягом 125 хв. Реакцію зупиняють аспіруванням реакційного буфера з подальшим потрійним промиванням 200 мкл реакційного буфера, що має температуру танення льоду. Для забезпечення повного видалення реакційного буфера вдаються до ручної аспірації. У кожну лунку додають спочатку 10 мкл 0,1 н. розчину NaOH, потім 100 мкл сцинтиляційного коктейлю Supermix (компанія PerkinElmer). Після змішування сцинтиляційний сигнал планшета аналізують лічильником MicroBeta (компанія PerkinElmer). Десятидозову реакційну криву підганяють до емпіричної чотирипараметричної моделі із використанням ActivityBase (компанія ID Business Solution) для визначення концентрації інгібітора при напівмаксимальному інгібуванні (IC_{50}). Сполуки Прикладів 1-8 за цим винаходом випробовують по суті як описано вище, і вони демонструють значення IC_{50} для SGLT1 нижче ніж приблизно 500 нМ.

Таблиця 1

In vitro активність сполуки Прикладу 1 проти SGLT1 і SGLT2

Експериментальна сполука	Людський SGLT1 IC_{50} , нМ	Людський SGLT2 IC_{50} , нМ	Мишачий SGLT1 IC_{50} , нМ
Приклад 1	26±20 (n=10)	6100±1200 (n=10)	10±2 (n=9)

Отже, дані в Таблиці 1 свідчать, що сполука Прикладу 1 інгібує людський і мишачий SGLT1 in vitro, і є більш активною in vitro проти людського і мишачого SGLT1, ніж проти людського SGLT2.

Глюкозознижувальні ефекти при проведенні перорального глюкозотолерантного випробування (OGTT)

Досліджувану сполуку одержують доданням до попередньо зваженої досліджуваної сполуки носія, який містить 1 % гідроксietилцелюлози, 0,25 % Tween® 80 з 0,05 % піногасника, для одержання 1 мг/мл розчину. Суміш обробляють ультразвуком протягом приблизно 30 с. Одержаний розчин використовують як вихідний розчин, з якого за рахунок розбавлення носієм одержують дозовані розчини нижчої концентрації.

Індивідуально розміщені миші лінії C57Bl/6 голодують протягом ночі внаслідок припинення доступу до їжі пізно ввечері напередодні дня випробування. Наступного ранку мишей зважують, і надрізаанням хвостової вени відбирають одну пробу крові натщесерце для визначення рівня глюкози глюкометром (глюкометр AccuChek, компанія Roche). Експериментальні групи (n=5) визначають на підставі рівня глюкози в крові натщесерце, і за варіантом, якому віддають перевагу, ці групи включають тварин з рівнем глюкози в діапазоні 80-100 мг/дл.

Після розподілення на групи першій миші перорально шлунковим зондом вводять препарат експериментальної сполуки в дозі 10 мл на кг маси тіла, і запускають таймер. Кожній наступній тварині дозу вводять з інтервалом у півтори хвилини. Через три години після початку першої обробки сполукою відбирають базову пробу крові для визначення рівня глюкози (від першої тварини, через надріз хвостової вени). негайно після цього тварині перорально вводять дозу 50 % декстрази (компанія Hospira) із розрахунку 3 г на кг маси тіла. Проби крові на глюкозу відбирають з хвостової вени точно з півторахвилинним інтервалом, Отже, кров від кожної

тварини збирають через 20, 40, 60 і 120 хвилин після дози декстрази.

Таблиця 2

Глюкозознижувальні ефекти при проведенні OGTT

Результати перорального глюкозотолерантного тесту Середнє±середня квадратична похибка					
Двофакторний дисперсійний аналіз/метод Бонфероні *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001 у зіставленні з носієм					
	Носій	Сполука Прикладу 1 0,3 мг/кг	Сполука Прикладу 1 1 мг/кг	Сполука Прикладу 1 3 мг/кг	Сполука Прикладу 1 10 мг/кг
Глюкоза (мг/дл)					
0 хвилин	84±8,4	78±4,2	76±3,3	72±2,6	78±5,4
20 хвилин	268±49,3	185±13,7***	147±8,3***	133±7,1***	124±1,2***
40 хвилин	192±26,8	197±14,7	171±11,1	150±7,5	137±5,4**
60 хвилин	139±6,2	164±6,3	162±5,8	155±7,2	138±6,1
120 хвилин	105±5,1	121±11,8	109±7,3	115±10	114±4,3
Однофакторний дисперсійний аналіз/метод Даннета *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001 у зіставленні з носієм					
Базова відкоригована AUC	6408±1500	5400±519	4158±374	3606±421*	2693±309**
Глюкоза (мг/дл)					
Глюкоза Cmax	268±49,3	199±14,1	174±9,38**	161±5,00**	141±5,67**
Час (хвилини)					
Глюкоза Tmax	20±0	32±5	48±5	64±13**	44±7

Як показано вище у таблиці 2, сполука Прикладу 1 спричинює дозозалежне зменшення коливальності рівня глюкози після перорального болюсу 50 % декстрази (Hospira®) у мишей лінії C57Bl/6 з нормальним рівнем глюкози. Сполука Прикладу 1 також демонструє дозозалежне зменшення базової відкоригової площі під кривою (AUC) глюкози під час проведення перорального глюкозотолерантного випробування. Крім того, сполука Прикладу 1 дозозалежним чином зменшує середню максимальну концентрацію глюкози в плазмі (Cmax) протягом перорального глюкозотолерантного випробування з підвищенням середнього часу, необхідного для досягнення глюкозою максимальної концентрації (Tmax).

Рівні глюкози при проведенні випробування толерантності до змішаної їжі в пацюків-самців зі стрептозотоцин-індукованим діабетом

У пацюків, яким вводять стрептозотоцин (STZ), розвивається цукровий діабет. Вважають, що агенти, які модулюють рівень глюкози в цих тварин, є корисними при лікуванні діабету в людей.

Досліджувану сполуку одержують доданням до попередньо зваженої досліджуваної сполуки носія, який містить 1 % гідроксietилцелюлози (HEC), 0,25 % Tween®80 з 0,05 % піногасника, для одержання 2,5 мг/мл розчину. Суміш обробляють ультразвуком протягом приблизно 30 с. Одержаний розчин використовують як вихідний розчин, з якого за рахунок розбавлення носієм одержують дозовані розчини нижчої концентрації. Препарат стрептозотину (STZ), 45 мг на кг маси тіла, одержують розчиненням в 0,1 М цитратному буфері 3 мл аліквотами, й зберігають у темряві на льоду до введення. Використовують комбіновану їжу з високим вмістом жиру (Bio-Serv® Rodent Diet F3282 High Fat), що містить жирові калорії (60 %), вуглеводні калорії (26 %) і білкові калорії (15 %). Індивідуально розміщеним пацюкам лінії Sprague Dawley надають можливість акліматизації протягом періоду від 3 днів до 7 днів.

Для забезпечення того, що тварини нещодавно не вживали їжу, стрептозотоцин вводять у другий половині дня приблизно о шостій годині світлого періоду циклу чергування світла й темряви (світло вмикається о шостій годині ранку, вимикається о шостій годині вечора). Тварин анестезують ізофлураном, і вводять стрептозотину ін'єкцією в хвостову вену. Після відновлення свідомості тварин повертають до їх приміщень, і надають можливість відновлення протягом 7 днів.

За два дні, які безпосередньо передують випробуванню толерантності до їжі (MTT), усім пацюкам згодовують невелику кількість (2-4 г) раціону F3282, щоб вони звикли до нього перед одержанням цього раціону під час дослідження. Увечері перед дослідженням пацюків переводять до чистих кліток, і їжу прибирають. Наступного ранку тварин зважують, і відбирають

- проби крові надрізанням хвостової вени для визначення рівня глюкози (глюкометр AlphaTrak, компанія Abbott, код 29). Тварин поділяють на групи (n=6) на основі маси тіла натщесерце і рівня глюкози. Через тридцять хвилин після перорального введення досліджуваної сполуки двічі відбирають проби для визначення рівня глюкози. Після цього тваринам згодовують п'ятиграмові пелети раціону Bio-Serv® 3282. Через 20 хвилин залишки їжі прибирають, і зважують. Проби крові відбирають через 20 хв, 40 хв, 60 хв і 120 хв для визначення рівня глюкози.

Таблиця 3

Рівні глюкози при проведенні дослідження толерантності до змішаної їжі у пацюків-самців з STZ-індукованим діабетом

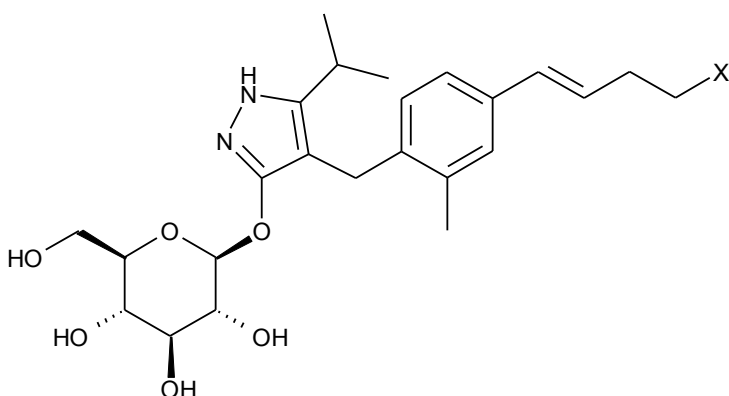
Обробка	Доза	Групи для визначення рівня глюкози (мг/дл), n=5-6, Середнє±середня квадратична похибка					
		0 хв	20 хв	40 хв	60 хв	120 хв	Базова відкоригована AUC
Носій		113,6±12,6	297,2±26,6	427,6±41	452,2±37,3	544,7±50,1	36429±3155
Сполука Прикладу 1	10 мг/кг	139±16,1	221,2±26,3	268,7±29*	330±36,7	490,8±39,2	22432±2234*
Сполука Прикладу 1	30 мг/кг	137,4±26,9	195,4±44,8	232±52,2**	263,9±62,2*	355,3±73,2*	14649±3673**
Акарбоза	60 мг/кг	124±16,9	181±22,8	301,3±51,2	371,5±63,9	433,7 ±83	23877±4649*

Двофакторний дисперсійний аналіз/метод Бонфероні *p<0,05, **p<0,01.

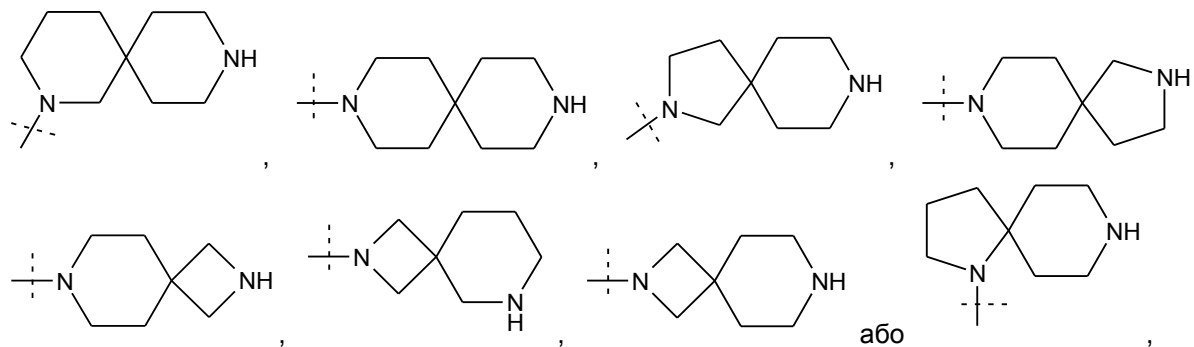
- Як показано в наведеній вище Таблиці 3, сполука Прикладу 1 значно знижує рівень глюкози (дозозалежним чином) при проведенні МТТ у порівнянні з контрольним носієм. Акарбоза несуттєво знижує рівень глюкози в порівнянні з контролями в будь-який момент часу. Крім того, спостерігається дозозалежне зниження глюкози в базових відкоригованих AUC глюкози, пов'язане з обробкою сполукою Прикладу 1. Акарбоза значно знижує AUC глюкози до рівнів, аналогічних відповідним показникам сполуки Прикладу 1 у дозі 10 мг/кг. Таблиця 3 свідчить, що сполука Прикладу 1 модулює рівні глюкози у пацюків-самців.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Сполука наведеної нижче формули:

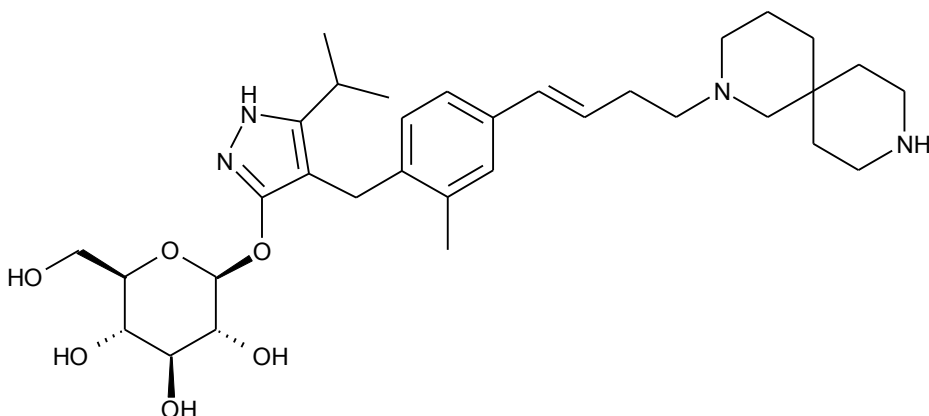


де X являє собою таке:

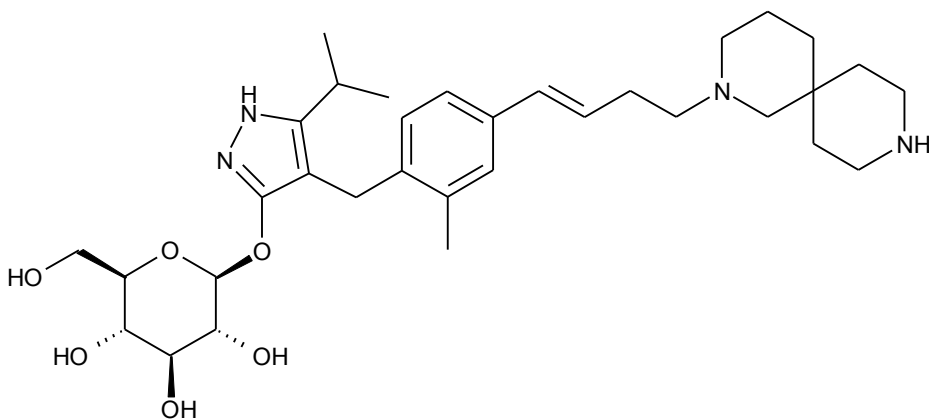


або її фармацевтично прийнятна сіль.

5 2. Сполука або сіль за п. 1, яка являє собою:



10 3. Сполука за п. 2, яка являє собою:



15 4. Спосіб лікування цукрового діабету в пацієнта, який включає введення пацієнту, що потребує такого лікування, ефективної кількості сполуки за будь-яким з пп. 1-3 або її фармацевтично прийнятної солі.

5. Сполука або її фармацевтично прийнятна сіль за будь-яким з пп. 1-3 для застосування в терапії.

6. Сполука або її фармацевтично прийнятна сіль за будь-яким з пп. 1-3 для застосування в лікуванні цукрового діабету.

20 7. Сполука або її фармацевтично прийнятна сіль за будь-яким з пп. 1-3 для застосування в лікуванні цукрового діабету першого типу.

8. Сполука або її фармацевтично прийнятна сіль за будь-яким з пп. 1-3 для застосування в лікуванні цукрового діабету другого типу.

9. Застосування сполуки або її фармацевтично прийнятної солі за будь-яким з пп. 1-3 для виготовлення лікарського засобу для лікування цукрового діабету.
10. Застосування сполуки або її фармацевтично прийнятної солі за будь-яким з пп. 1-3 для виготовлення лікарського засобу для лікування цукрового діабету першого типу.
- 5 11. Застосування сполуки або її фармацевтично прийнятної солі за будь-яким з пп. 1-3 для виготовлення лікарського засобу для лікування цукрового діабету другого типу.
12. Фармацевтична композиція, яка містить сполуку або її фармацевтично прийнятну сіль за будь-яким з пп. 1-3 в комбінації з одним або більше фармацевтично прийнятними носіями, розріджувачами або наповнювачами.
- 10 13. Фармацевтична композиція за п. 12, яка містить один або більше інших терапевтичних засобів.

Комп'ютерна верстка Т. Вахричева

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601