

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 656 812**

51 Int. Cl.:

A61K 45/06 (2006.01) **A61P 3/04** (2006.01)
A61K 31/155 (2006.01) **A61P 3/10** (2006.01)
A61K 31/4439 (2006.01)
A61K 31/495 (2006.01)
A61K 31/5377 (2006.01)
A61K 31/64 (2006.01)
A61K 31/7028 (2006.01)
A61K 47/02 (2006.01)
A61K 9/14 (2006.01)
A61K 9/20 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.10.2009 PCT/KR2009/005970**
 87 Fecha y número de publicación internacional: **22.04.2010 WO10044637**
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.10.2009 E 09820787 (1)**
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.11.2017 EP 2351567**

54 Título: **Composición farmacéutica para la prevención y el tratamiento de la diabetes u obesidad que comprende un compuesto que inhibe la actividad de dipeptidil peptidasa-IV y otros agentes antidiabéticos o antiobesidad como ingredientes activos**

30 Prioridad:

17.10.2008 KR 20080101932

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
28.02.2018

73 Titular/es:

**DONG-A ST CO., LTD. (100.0%)
(Yongdu-dong) 64, Cheonho-daero,
Dongdaemun-gu
Seoul 130-823, KR**

72 Inventor/es:

**SHIN, CHANG YELL;
CHOI, SONG-HYEN;
CHAE, YU NA;
YANG, EUN KYOUNG;
AHN, GOOK JUN;
SON, MOON-HO;
KIM, HEUNG JAE;
KWAK, WOO YOUNG;
MIN, JONG PIL;
YOON, TAE HYUN;
KIM, SOON HOE y
YOO, MOOHI**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 656 812 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composición farmacéutica para la prevención y el tratamiento de la diabetes u obesidad que comprende un compuesto que inhibe la actividad de dipeptidil peptidasa-IV y otros agentes antidiabéticos o antiobesidad como ingredientes activos

[Campo técnico]

La presente invención se refiere a una composición farmacéutica para uso en la prevención y tratamiento de diabetes u obesidad que comprende como ingredientes activos un compuesto de fórmula 1 como se define en la reivindicación 1, que inhibe la actividad de dipeptidil peptidasa-IV (DPP-IV), una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un hidrato del mismo, o un solvato del mismo, y uno o más agentes antidiabéticos o antiobesidad diferentes.

[Técnica antecedente]

La dipeptidil peptidasa-IV (en lo sucesivo, denominada DPP-IV) es una enzima que se identifica en general como EC 3.4.14.5 por clasificación enzimática, funcionalmente pertenece a serina proteasa (Barrett AJ et al., Arch. Biochem. Biophys., 1995, 247-250), y escinde el dipéptido N-terminal de péptidos que comienzan con la secuencia H-Xaa-Pro-Y (o H-Xaa-Ala-Y en donde Xaa representa cualquier aminoácido lipofílico, Pro representa prolina y Ala representa alanina) (Heins J., et al., Biochim. et Biophys. Acta 1988, 161), y también se conoce como DP-IV, DP-4 o DAP-IV. La enzima está ampliamente distribuida y se encuentra en una variedad de tejidos de mamíferos tales como riñón, hígado e intestino delgado (Hegen M. et al., J. Immunol., 1990, 2908-2914). La DPP-IV se identificó primero como una proteína unida a la membrana. Más recientemente, se ha identificado una forma soluble de la misma (Duke-Cohan J. S. et al., J. Biol. Chem., 1995, 14107-14114). De acuerdo con estudios e informes que se han publicado recientemente, se reveló que una forma soluble de DPP-IV tiene la misma estructura y función que una forma de la enzima unida a la membrana y se encuentra sin un cierto dominio unido a la membrana en sangre (Christine D. et al., Eur. J. Biochem., 2000, 5608 - 5613).

El interés inicial en DPP-IV se ha centrado en su papel en la activación de los linfocitos T. La DPP-IV responsable de la activación de los linfocitos T se designó específicamente como CD26. Con el informe que muestra que CD26 se une a o interactúa con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) (Guteil WG et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 1994, 6594-6598), se propuso que los inhibidores de DPP-IV podrían ser útiles en el tratamiento del SIDA (Doreen MA et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1996, 2745 - 2748).

Además de un papel crítico que participa en el sistema inmune, la función principal de DPP-IV se deriva de su actividad peptidolítica como se describió anteriormente. Se prestó especial atención al papel de DPP-IV, ya que se encontró que DPP-IV es una enzima clave implicada en la degradación de la proteína 1 similar al glucagón (en lo sucesivo, "GLP-1") en el intestino delgado (Mentlein R. et al., Eur. J. Biochem., 1993, 829 - 835). GLP-1 es una hormona peptídica de 30 aminoácidos que es secretada por células L intestinales como respuesta a la ingesta de alimentos del intestino delgado (Goke R. et al., J. Biol. Chem., 1993, 19650-19655). Como se sabe que esta hormona tiene efectos potenciadores sobre la acción de la insulina en el control de los niveles de glucosa en sangre postprandial (Hoist JJ et al., Diabetes Care, 1996, 580-586), se postuló que los inhibidores de DPP-IV también podrían ser útilmente empleados en el tratamiento de la diabetes tipo 2. Basándose en esta suposición, se desarrolló una forma temprana del inhibidor de DPP-IV con algunos informes que demuestran la efectividad terapéutica de un fármaco en experimentos con animales (Pauly R. P. et al., Metabolism, 1999, 385-389). Además, los ratones o ratas con deficiencia de DPP-IV mantenían la actividad de GLP-1 y altos niveles de insulina, dando como resultado niveles de glucosa en sangre disminuidos y tal interrupción genética o mutación del gen DPP-IV no exhibía ningún efecto significativo sobre la supervivencia de animales individuales (Marguet D. et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 2000, 6874 - 6879). Como consecuencia, se propuso que DPP-IV es factible como un potente agente terapéutico para el tratamiento de la diabetes tipo 2, lo que dio como resultado una investigación y desarrollo acelerados del inhibidor DPP-IV.

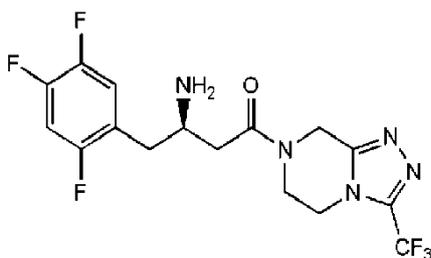
La unión de GLP-1 con un receptor en una variedad de tejidos da como resultado saciedad (sensación de llenura), retraso en el vaciamiento gástrico y crecimiento facilitado de las células beta pancreáticas. Por lo tanto, los ensayos clínicos para el tratamiento de la diabetes tipo 2 como se describió anteriormente aumentan gradualmente a través de la administración intravenosa de GLP-1 per se (Verdich C. et al., J. Clin. Endocrinol. Metab., 2001, 4382-4389). Una vida media in vivo de GLP-1 es meramente de 2 min (Kieffer TJ, et al., Endocrinology, 1995, 3585-3596), por lo que una vida media tan corta es un obstáculo principal para el uso directo de GLP-1 como un agente terapéutico. Desde entonces, numerosos grupos de investigación e instituciones han realizado muchos intentos hacia la derivación de GLP-1, lo que resulta en el desarrollo y la comercialización de un péptido que es capaz de prolongar la corta vida media in vivo (Deacon CF, Diabetes, 2004, 2181-2189) Sin embargo, tal derivado de GLP-1 todavía adolece de una limitación fundamental en el sentido de que es una formulación inyectable. Además, un gran interés se ha centrado cada vez más en el desarrollo de un inhibidor eficiente de DPP-IV, debido al hecho de que el GLP-1 activo (7-36) se degrada por DPP-IV y luego se convierte en GLP-1 inactivo (9-36) solo dentro de un corto período de tiempo, por ejemplo 2 minutos.

El comienzo en el desarrollo de inhibidores de DPP-IV fue similar a la tendencia de desarrollo de otros inhibidores. Es decir, la mayoría de los resultados de la investigación fueron para análogos de sustrato. Uno representativo de estos análogos de sustrato es un derivado dipéptido que se obtuvo como el producto de la investigación inicial que se realizó en un núcleo parental que tiene una estructura similar a la de Proline (Pro), basándose en el hecho de que DPP-IV exhibe pronunciada afinidad por un péptido que contiene un determinado aminoácido Prolina (Chinnaswamy T. et al., J. Biol. Chem., 1990, 1476-1483). Ejemplos típicos de estructuras de tipo Prolina incluyen pirrolidida y tiazolidida, y los derivados que contienen estos compuestos del núcleo parental exhiben actividad inhibidora reversible y competitiva para la enzima DPP-IV (Augustyns KJ L., et al., Eur. J. Med. Chem., 1997, 301-309). Entre los productos de tal investigación y desarrollo tan extensa, hay experimentos continuos sobre el mecanismo de acción y la eficacia de ciertos compuestos, específicamente Val-Pyr (Valine-Pyrrolidide) e Ile-Thia (Isoleucine-Thiazolidide). Particularmente, se ha enfocado una gran atención en Ile-Thia, porque la estructura de Val-Pyr exhibía una actividad inhibidora relativamente pobre en DPP-IV (Hanne BR, et al., Nat. Struct. Biol., 2003, 19-25), que como tal provocó una intensa investigación y estudio sobre los derivados del compuesto Ile-Thia.

Fuera de los compuestos derivados enfocados y obtenidos por la investigación y el estudio mencionados anteriormente, un compuesto que tiene la actividad más prominente fue la serie de beta-aminoácido tiazolidida que se intentó desarrollar por Merck & Co., Inc. Sin embargo, de acuerdo con los resultados de experimentos farmacodinámicos y farmacocinéticos realizados en ratas, el compuesto obtenido mostró una biodisponibilidad significativamente baja junto con una limitación aparente en la inhibición de la actividad enzimática (Jinyou Xu, et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 2004, 4759-4762). Como consecuencia, el desarrollo adicional de los compuestos de esta serie se interrumpió debido a las profundas desventajas.

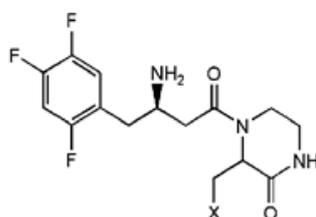
Durante la investigación mencionada anteriormente, Merck notó que un beta-aminoácido, además de un núcleo parental de tiazolidida, también es un factor clave que tiene efectos significativos sobre la actividad inhibidora de DPP-IV. Este hallazgo se aplicó al enfoque para la sustitución del núcleo parental de tiazolidida con un compuesto de núcleo parental diferente (Linda L. B., et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 2004, 4763-4766). Con una investigación posterior de este tipo, se sintetizaron una variedad de derivados que tienen sustitución del núcleo parental de tiazolidida con un núcleo parental de piperazina con pruebas de eficacia del fármaco y estudios farmacodinámicos. Desafortunadamente, los derivados de piperazina de Merck todavía sufrían de una biodisponibilidad significativamente pobre. De acuerdo con la optimización del compuesto para hacer frente a tal desventaja, la sitagliptina, el producto MK-0431 (nombre comercial: JANUVIA), se desarrolló con la modificación de una unidad estructural de piperazina en una unidad estructural de triazolopiperazina. Este producto ahora está disponible comercialmente bajo la aprobación de nuevos fármacos por la FDA de los Estados Unidos en 2006.

[Sitagliptina]



Por lo tanto, los presentes inventores descubrieron que cuando se realiza una sustitución que incluye un heteroátomo en una unidad estructural piperazinona, el compuesto así modificado no solo tiene una excelente actividad inhibidora de DPP-IV, sino que también es capaz de lograr una biodisponibilidad significativamente mejorada en comparación con los inhibidores de DPP-IV convencional, luego tuvieron éxito en la síntesis de un nuevo compuesto heterocíclico que contiene un grupo beta-amino, y completaron una invención de un compuesto representado por la siguiente Fórmula 1. a esto, su aplicación se presentó como la Solicitud de Patente de Corea No. 2007- 0038462.

<Fórmula 1>



(En la fórmula 1, X es OR¹, SR¹, o NR¹R², en donde R¹ y R² son independientemente un alquilo inferior C₁-C₅, o R¹ y R² de NR¹R² puede formar un anillo de 5 miembros a 7 miembros que contiene un elemento hetero de O)

5 Además de los inhibidores de DPP-IV que se encuentran actualmente bajo desarrollo activo, los agentes terapéuticos para la diabetes o la obesidad que se usan clínicamente o que están bajo desarrollo incluyen inhibidores de α -glucosidasa, biguanidas, secretagogos de insulina, sensibilizadores a insulina y antagonistas del receptor-1 de cannabinoide. Los inhibidores de α -glucosidasa exhiben la acción de retrasar la absorción de carbohidratos del intestino delgado e incluyen acarbosa, voglibosa, emiglitalo y miglitol. Los ejemplos de biguanidas incluyen metformina, fenformina o buformina. Los secretagogos de insulina se pueden dividir en especies de sulfonilurea y no sulfonilurea. Ejemplos de especies de sulfonilurea incluyen glibenclamida (gliburida), glipizida, gliclazida, glimepirida, tolazamida, tolbutamida, acetohexamida, carbutamida, clorpropamida, glibornurida, gliquidona, glisentida, glisolamida, glisoxepida, glicopilamida, glicilamida y glipentida. Ejemplos de especies no sulfonilureas incluyen repaglinida y nateglinida.

15 La metformina, una biguanida representativa, es un agente hipoglucemiante que regula los niveles elevados de glucosa en sangre sin estimular la secreción de insulina del páncreas, y es ventajoso porque el fármaco puede aplicarse a pacientes diabéticos obesos ya que la metformina no está asociada con el aumento de peso y también se aplica a pacientes que no son susceptibles a los fármacos de sulfonilureas debido a su mecanismo de acción diferente. Aunque el mecanismo de acción de metform no se conoce claramente, el fármaco solo reduce los niveles de glucosa en sangre de pacientes diabéticos sin afectar los niveles de glucosa en sangre de sujetos normales y no tiene ninguna acción de estimular células β en el páncreas para estimular la secreción de insulina en comparación con fármacos de sulfonilurea. Se sabe que la metformina aumenta la acción de la insulina en las células periféricas, tal como el hígado y los músculos, y disminuye la producción de glucosa del hígado, y se informó en algunos estudios que la metformina actúa en los músculos esqueléticos y aumenta el movimiento de la glucosa a través de una membrana celular. Además, el fármaco se caracteriza por mejorar la dislipidemia para reducir los niveles de colesterol LDL y triglicéridos en la sangre. Clínicamente, la metformina puede administrarse en una dosis relativamente alta, hasta 200 mg por día, y dos veces al día, por ejemplo, mañana y tarde. Cuando la metformina se administra en exceso de 2000 mg, se administra con la comida tres veces al día y la dosis máxima por día es de 2500 mg.

30 Cuando la metformina se aplica a pacientes diabéticos con sobrepeso, se evalúa como un excelente agente terapéutico para la diabetes. Sin embargo, se debe tener cuidado porque los efectos secundarios adversos pueden estar acompañados de trastornos del sistema gastrointestinal, como diarrea, náuseas y vómitos, trastornos del sistema sanguíneo, como la deficiencia de vitamina B12 y acidosis láctica, que es una complicación metabólica grave que es escasa pero puede conducir a una mortalidad del 50% por acumulación interna de metformina.

35 Los sensibilizadores a la insulina son fármacos desarrollados recientemente, tienen una estructura de tzolidin-diona (TZD) y actúan sobre los receptores activados por el proliferador de peroxisomas (PPAR). Ejemplos de sensibilizadores a la insulina incluyen troglitazone, ciglitazone, rosiglitazona (AVNADIA), pioglitazone (ACTOS) y englitazone. Además de ellos, están en marcha diversos estudios.

40 Los antagonistas del receptor 1 cannabinoide son objetivos farmacológicos desarrollados recientemente, inhiben la actividad excesiva del endocannabinoide para regular el equilibrio del peso corporal y la energía, así como el metabolismo de la glucosa y los lípidos, y actúan sobre el receptor 1 cannabinoide (receptor CB1) presente en sistemas nerviosos central y periférico.

45 Ejemplos de antagonistas del receptor 1 cannabinoide incluyen Rimonabant (ACOMPLIA), Otenabant, Ibinabant y Surinabant. Además de ellos, diversos estudios están en marcha.

50 Sin embargo, debido a que la diabetes o la obesidad es una enfermedad crónica y sus condiciones son complicadas, hay muchos casos en los que los síntomas de la enfermedad están en progreso, acompañados por diversas complicaciones. Por lo tanto, es necesario elegir el medicamento más apropiado para las condiciones individuales del paciente. Cuando los medicamentes individuales se administran solos, hay casos en los que se pueden obtener suficientes efectos de acuerdo con sus síntomas. Además, hay muchos casos en los que es difícil en la práctica clínica elegir un medicamento debido a muchos problemas, tales como el aumento de la dosis o la aparición de efectos secundarios adversos como resultado de una administración prolongada. Por lo tanto, en lugar de métodos para administrar un solo fármaco, recientemente se han sugerido diversos métodos para administrar uno o más fármacos con diferentes mecanismos en combinación.

60 En particular, se divulgan estudios sobre literaturas de administración combinada de inhibidores de DPP-IV y agentes terapéuticos diabéticos convencionales muestran que una composición farmacéutica preparada mezclando 3 ~ 20% (p/p) de sitagliptina, 25~94% (p/p) de metformina, 0,1 ~ 10% (p/p) de un lubricante, y 0 ~ 35% (p/p) de un aglutinante. En el caso de la vidagliptina, que es un compuesto disponible comercialmente como nombre comercial de Galvus de Novartis, las píldoras combinadas de vildagliptina y metformina en relaciones de 50~98%, 60~98%, 70~98%, or 80~98% son divulgado en la Publicación Internacional Gazette WO 07/078726, y las píldoras combinadas de vidagliptina y pioglitazona, un agonista de PPAR, por el método de compresión directa se describen

en el Publicación Internacional Gazette WO 06/135693. Sin embargo, estas literaturas describen relaciones de composición farmacéuticamente óptimas en una preparación que incluye un inhibidor de DPP-IV y metformina o un agonista de PPAR, en lugar de efectos sinérgicos de los dos fármacos.

5 Además, se describe en JPET (2004), 310, 614-619 que un inhibidor de DPP-IV valina-pirrolidida (val-pyr), cuando se administra a un animal en combinación con metformina, aumentó los niveles de proteína similar a glucagón, disminuyó la ingesta de alimentos y el aumento de peso, y la tolerancia a la glucosa sinérgicamente mejorada.

10 Se divulga en Life Science (2007), 81, 72-79 que la administración combinada de vildagliptina y rosiglitazona produjo una mejoría significativa en la glucosa sérica, triglicéridos y tolerancias a la glucosa, y se aliviaron los efectos secundarios adversos preexistentes como el edema de la rosiglitazona. por administración combinada de vildagliptina.

15 Se identifica en la Publicación Internacional Gaceta WO 04/052362 que como resultado de una prueba de tolerancia a la glucosa en vildagliptina y un agonista PPAR micronizado fenofibrato, el área bajo la curva (AUC) se redujo en un 18% con una sola administración de vildagliptina y en un 7% con una sola administración de fenofibrato, mientras que el AUC disminuyó en un 33%, la sensibilidad a la insulina mejoró, y el aumento de peso se redujo con una administración combinada de los dos fármacos.

20 Se menciona en J. Pharmacol Sci. (2007), 104, 29-38 que los altos niveles de glucosa en sangre posprandiales disminuyen de manera efectiva con una administración combinada de E3024 que es un inhibidor de DPP-IV, voglibosa que es un inhibidor de α -glucosidasa y acarbosa, y en JPET (2007) , 320 (2), 738-746 que cuando se administra E3024 en combinación con glibenclamida o nateglinida, que es un tipo de secretagogo de insulina, los altos niveles de glucosa postprandial también se reducen de manera efectiva.

25 Se menciona en la Publicación de Patente de Corea No. 2003-0019440 que cuando se administra un compuesto descrito en la Publicación Internacional Gaceta WO 99/061431 en combinación con un agente terapéutico para la diabetes convencional, la actividad de DPP-IV en plasma, la concentración de hemoglobina (HbA1C,%), y la glucosa en plasma se reduce significativamente.

30 Se describe en la Publicación Internacional Gaceta WO 07/074884 que cuando se administra alogliptina en combinación con voglibosa o pioglitazona, se potencian los efectos protectores del páncreas.

35 En la Publicación Internacional Gaceta WO 07/006769 se menciona que vildagliptina y rimonabant, que son antagonistas del receptor 1 cannabinoide , se administran en combinación, los niveles de glucosa y lípidos en sangre y el peso se mejoran de manera efectiva, y se describe en el documento WO 06/119260 que cuando sitagliptina y un antagonista del receptor 1 cannabinoide se administra en combinación, se mejoran la tolerancia a la glucosa y la resistencia a la insulina.

40 El documento WO 2008/130151 divulga una composición para uso en el tratamiento de diabetes que comprende compuestos de Fórmula 1 que son inhibidores de DPP-IV. También se divulga que pueden usarse en combinación con fármacos antidiabéticos específicos. El documento WO 03/004498 divulga un inhibidor de DPP-IV análogo a la Fórmula 1 para uso en el tratamiento de diabetes u obesidad solo o en combinación con otro agente antidiabético o antiobesidad.

45 Por lo tanto, los presentes inventores han desarrollado un compuesto de Fórmula 1, que es un nuevo inhibidor de DPP-IV, descubrieron que cuando el compuesto se administra en combinación con un agente antidiabético o antiobesidad, se exhibe una excelente tolerancia a la glucosa, los niveles de glucosa en sangre son efectivamente inhibidos, y la masa grasa se reduce, lo que conduce a la finalización de la presente invención.

50 [Divulgación de la invención]

[Problema técnico]

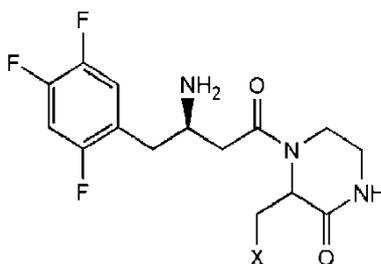
55 Un objeto de la presente invención es proporcionar una composición farmacéutica para uso en la prevención y tratamiento de diabetes u obesidad que comprende como ingredientes activos un compuesto que inhibe la actividad de dipeptidil peptidasa IV y otros agentes antidiabéticos o antiobesidad.

[Solución técnica]

60 De acuerdo con la presente invención, una composición farmacéutica para uso en la prevención y tratamiento de diabetes u obesidad que comprende como ingredientes activos (1) un compuesto representado por la siguiente Fórmula 1, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un hidrato del mismo o un solvato del mismo y (2) uno o más agentes antidiabéticos o antiobesidad diferentes, en donde los otros agentes antidiabéticos o antiobesidad se seleccionan del grupo que consiste en biguanidas, sensibilizadores a la insulina, secretagogos de insulina, inhibidores de α -glucosidasa y antagonistas del receptor 1 cannabinoide .

65

<Fórmula 1>



5 (En la Fórmula 1, X es como se define aquí.)

[Efectos ventajosos]

10 De acuerdo con la presente invención, una composición farmacéutica que comprende como ingredientes activos un compuesto que es un tipo de un nuevo inhibidor de DPP-IV y uno o más agentes antidiabéticos o antiobesidad del grupo mencionado anteriormente puede ser útil en la prevención y el tratamiento de la diabetes y obesidad administrando la composición para mejorar los efectos de tolerancia a la glucosa, la inhibición de los niveles de glucosa en sangre y los efectos reductores de la masa grasa, en comparación con otros agentes antidiabéticos o antiobesidad convencionales.

15 [Descripción de dibujos]

20 La FIG. 1 es un isoblograma que muestra los efectos antidiabéticos de composiciones mixtas que contienen un compuesto de Fórmula 1 y metformina;

La FIG. 2 es un gráfico que muestra el porcentaje de inhibición de los componentes individuales solamente y una composición mixta del compuesto de Fórmula 1 y metformina a diversas dosis de administración animal;

25 La FIG. 3 es un gráfico que muestra el porcentaje de inhibición en términos de mejora en la tolerancia a la glucosa de un compuesto de dosis única 1, metformina y una composición mixta a diversas relaciones de dosis de administración animal de 1:50 a 1: 150 en ratones obesos;

30 La FIG. 4 es un gráfico que muestra el porcentaje de inhibición en términos de glucosa en plasma de un compuesto 1, metformina y una composición mixta mediante administración a diversas relaciones de dosis de administración en animales de 1:50 a 1: 150 durante dos semanas en ratones obesos;

35 La FIG. 5 es un gráfico que muestra el porcentaje de inhibición en términos de glucosa en sangre de un compuesto 1, un agonista de PPAR γ y una composición mixta mediante administración a diversas relaciones de dosis de administración animal de 1: 0,01 a 1: 0,4 durante siete días en ratones diabéticos;

La FIG. 6 es un gráfico que muestra el porcentaje de inhibición en términos de mejora en la tolerancia a la glucosa de un compuesto 1, un agente de serie de sulfonilurea y una composición mixta mediante administración a diversas relaciones de dosis de 1: 0,2 a 1: 3,2;

40 La FIG. 7 es un gráfico que muestra el porcentaje de inhibición en términos de mejora en la tolerancia a la glucosa de un compuesto 1, un inhibidor de α -glucosidasa y una composición mixta mediante administración a diversas relaciones de dosis de 1: 0,03 a 1: 0,18; y

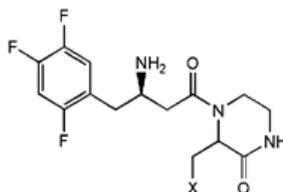
45 La FIG. 8 es un gráfico que muestra el porcentaje de inhibición en términos de mejora en la tolerancia a la glucosa de un compuesto 1, un antagonista del receptor 1 cannabinoide , una composición mixta por administración a diversas relaciones de dosis de 1: 1 a 1:10.

[Mejor modo]

50 En lo sucesivo, la presente invención se describirá en detalle.

55 La presente invención proporciona una composición farmacéutica para uso en la prevención y tratamiento de diabetes u obesidad que comprende como ingredientes activos (1) un compuesto representado por la siguiente Fórmula 1, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un hidrato del mismo o un solvato del mismo, y (2) uno o más agentes antidiabéticos o antiobesidad diferentes, en donde los otros agentes antidiabéticos o antiobesidad se seleccionan del grupo que consiste en biguanidas, sensibilizadores a la insulina, secretagogos de insulina, inhibidores de α -glucosidasa y antagonistas del receptor 1 cannabinoide .

[Fórmula 1]



En la Fórmula 1,

5 X es OR^1 , SR^1 , o NR^1R^2 ,

en donde R^1 y R^2 son independientemente un alquilo inferior C_1 - C_5 , o R^1 y R^2 de NR^1R^2 pueden formar un anillo de 5 miembros a 7 miembros que contiene un heteroelemento de O.

10 El alquilo inferior de C_1 - C_5 en la Fórmula 1 puede incluir un alquilo C_1 a C_5 y un cicloalquilo

El compuesto representado por la Fórmula 1 puede tener dos centros asimétricos, y así puede tener centros asimétricos en el β -carbono y en el carbono de la posición 3 de la piperazina. Por lo tanto, el centro puede estar presente en forma de un solo diastereómero, racemato, mezcla racémica o mezcla diastereoisomérica, todos los cuales se pueden incluir en el compuesto representado por la Fórmula 1 de acuerdo con la presente invención.

15

Además, el compuesto representado por la Fórmula 1 de la presente invención puede estar parcialmente presente como un tautómero, y los tautómeros individuales así como las mezclas de los mismos pueden incluirse en el compuesto de la presente invención.

20 El estereómero de la presente invención se puede obtener mediante síntesis estereoselectiva de acuerdo con un método convencional conocido en la técnica, usando un material de partida ópticamente puro o un reactivo conocido.

25 Ejemplos preferibles del compuesto representado por la Fórmula 1 de la presente invención son los siguientes.

1) (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona;

30 2) (S)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona;

3) (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(metoximetil)piperazin-2-ona;

4) (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(isopropoximetil)piperazin-2-ona;

35 5) (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(ciclopentiloximetil)piperazin-2-ona;

6) (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-[(dietilamino)metil]piperazin-2-ona;

7) (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-[(etilmetilamino)metil]piperazin-2-ona;

40 8) (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(morfolinometil)piperazin-2-ona;

9) (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butiltiometil)piperazin-2-ona.

45 La sal farmacéuticamente aceptable del heterocompuesto que contiene el grupo beta-amino de Fórmula 1 de acuerdo con la presente invención se puede preparar mediante cualquier método convencional para la preparación de sales conocidas en la técnica.

50 Como se usa aquí, el término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sal preparada a partir de una base o ácido no tóxico farmacéuticamente aceptable que incluye una base inorgánica u orgánica y un ácido inorgánico u orgánico. Los ejemplos de sal derivada de una base inorgánica incluyen aluminio, amonio, calcio, cobre, férrico, ferroso, litio, magnesio, manganato, manganeso, potasio, sodio y zinc. Particularmente preferidas son las sales de amonio, calcio, magnesio, potasio y sodio. Una sal sólida puede tener una o más estructuras cristalinas, o puede estar de otra manera en forma de un hidrato. Los ejemplos de la sal derivada de una base orgánica no tóxica farmacéuticamente aceptable incluyen una amina primaria, secundaria o terciaria, una amina sustituida tal como una amina sustituida de origen natural, una amina cíclica o una resina de intercambio iónico básica tal como arginina,

55

betaína, cafeína, colina, N,N'-dibenciletildiamina, dietilamina, 2-dietilaminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, etanolamina, etilendiamina, N-etilmorfolina, N-etilpiperidina, glucamina, glucosamina, histidina, hidrabamina, isopropilamina, lisina, metilglucamina, morfolina, piperazina, piperidina, resina de poliamina, procaína, purina, teobromina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina y trometamina.

5 Cuando el compuesto de la presente invención es básico, se puede preparar una sal del mismo a partir de ácidos no tóxicos farmacéuticamente aceptables que incluyen ácidos inorgánicos y orgánicos. Ejemplos del ácido incluyen ácido acético, ácido benzenosulfónico, ácido benzoico, ácido canforsulfónico, ácido cítrico, ácido etanosulfónico, ácido fumárico, ácido glucónico, ácido glutámico, ácido bromhídrico, ácido clorhídrico, ácido isetiónico, ácido láctico, ácido maleico, ácido málico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido múxico, ácido nítrico, ácido pamoico, ácido pantoténico, ácido fosfórico, ácido succínico, ácido sulfúrico, ácido tartárico, ácido p-toluenosulfónico y ácido adípico. Preferiblemente, la sal farmacéuticamente aceptable puede ser ácido acético, cítrico, clorhídrico, málico, fosfórico, succínico, tartárico y adípico. Más preferiblemente, la sal farmacéuticamente aceptable puede ser ácido tartárico.

10 Como se usa aquí, el compuesto de Fórmula 1 designado pretende abarcar una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 Un hidrato de un compuesto de Fórmula 1 de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo pretende abarcar una cantidad estequiométrica o no estequiométrica de agua unida a la misma por fuerzas intermoleculares no covalentes. El hidrato puede contener 1 o más equivalentes de agua, típicamente de 1 a 5 equivalentes de agua. El hidrato se puede preparar por cristalización del compuesto de Fórmula 1 de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en agua o disolvente que contiene agua.

20 Un solvato de un compuesto de Fórmula 1 de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo pretende abarcar una cantidad estequiométrica o no estequiométrica de un disolvente unido a la misma por fuerzas intermoleculares no covalentes. Los disolventes preferidos son volátiles, no tóxicos y adecuados para administración a humanos. Por ejemplo, se puede hacer mención de etanol, metanol, propanol y cloruro de metileno.

25 Un compuesto de Fórmula 1 de la presente invención se puede obtener fácilmente como se describe en la Solicitud de Patente de Corea N° 2007-0038462. Específicamente, (R)- (3-t-butoximetil) piperazin-2-ona sintetizada a partir de 1) ácido (3R)-t-butoxicarbonilamino-4- (2,4,5-trifluorofenil) butanoico y metil éster de D-serina como los materiales de partida se pueden sintetizar en un intermediario (R) -4 [(R) -2- (t-butoximetil) -3-oxopiperazin-1-il] -4-oxo-1- (2,4,5) -trifluorofenil) -butan-2-ilcarbamato de t-butilo por reacción de peptidización estándar (etapa 1), y luego se sometió a desprotección (etapa 2), seguido de neutralización para obtener un compuesto en forma de Fórmula 1.

30 El compuesto de Fórmula 1 es un tipo de inhibidor de DPP-IV, exhibe una excelente actividad inhibidora sobre DPP-IV y biodisponibilidad, y puede ser útil en la prevención y tratamiento de enfermedades tales como diabetes y obesidad, causadas por DPP-IV.

35 El agente antidiabético o antiobesidad que se mezcla con un compuesto representado por la Fórmula 1 en la presente invención para proporcionar una composición para prevención y tratamiento de diabetes u obesidad se selecciona del grupo que consiste en inhibidor de α -glucosidasa, Biguanida, secretagogo de insulina, sensibilizador de insulina y antagonista del receptor 1 cannabinoide.

40 La biguanida de la presente invención se refiere a un fármaco que incluye una estructura de biaguanida y que tiene efectos tales como efectos promotores de la glicólisis anaeróbica, potenciación de los efectos de la insulina periférica, supresión de la absorción de glucosa del tracto intestinal y supresión de la ginecogénesis hepática. La biaguanida se puede seleccionar del grupo que consiste en metformina, buformina y fenformina, pero no está limitada a esto.

45 El sensibilizador de insulina de la presente invención se refiere a un fármaco que mejora la disfunción de la acción de la insulina para reducir los niveles de glucosa en sangre, comúnmente tiene una estructura de tiazolidindiona (TZD) y actúa sobre receptores activados por el proliferador de peroxisoma (PPAR). El sensibilizador a la insulina se puede seleccionar del grupo que consiste en troglitazona, ciglitazona, rosiglitazona (AVNADIA), pioglitazona (ACTOS) y englitazona, pero no se limita a esto.

50 El secretagogo de insulina de la presente invención se refiere a un fármaco que promueve la secreción de insulina a partir de células beta del páncreas, y puede ser un fármaco que tiene una estructura de sulfonilurea o no sulfonilurea. Preferiblemente, el secretagogo de insulina puede ser un fármaco que tiene una estructura de sulfonilurea, seleccionada del grupo que consiste en glibenclamida (gliburida), glipizida, gliclazida, glimiperida, tolazamida, tolbutamida, acetohexamida, carbutamida, clorpropamida, glibornurida, gliquidona, glisentida, glisolamida, glisoxepide, gliclopiamida, glicilamida, y glipentido, o un fármaco que tiene una estructura no sulfonilurea, tal como repaglinida o nateglinida, pero no se limita a esto.

55

60

65

El inhibidor de α -glucosidasa de la presente invención se refiere a un fármaco que inhibe competitivamente α -glucosidasa que es un tipo de enzima digestiva en el intestino para suprimir la digestión y la absorción de almidón y disacáridos. El inhibidor de α -glucosidasa se puede seleccionar del grupo que consiste en acarbosa, voglibosa, emiglitato y miglitol, pero no se limita a esto.

El antagonista del receptor 1 cannabinoide de la presente invención se refiere a un fármaco que inhibe la actividad excesiva del endocannabinoide para regular el equilibrio del peso corporal y la energía, así como el metabolismo de la glucosa y los lípidos. El antagonista del receptor 1 cannabinoide se puede seleccionar del grupo que consiste en rimonabant (ACOMPLIA), Otenabant, lbinabant y Surinabant, pero no se limita a esto.

La dosis o dosificación de una composición farmacéutica para uso de acuerdo con la presente invención varía dependiendo del peso corporal del paciente, edad, sexo, condiciones de salud, dieta, tiempo de administración, método de administración, tasa de evacuación y la gravedad de una enfermedad. La unidad de dosificación general se calcula en base a la cantidad de ingrediente activo que se puede administrar a un sujeto humano de 70 kg en una sola dosis para juzgar si se alcanza una dosis terapéuticamente efectiva. Sin embargo, se apreciará que la dosis terapéuticamente efectiva precisa de los ingredientes activos variará dependiendo de la cantidad relativa de cada componente activo que se use, del fármaco particular que se esté usando y de las relaciones sinérgicas antes mencionadas.

El compuesto de Fórmula 1 se puede incluir preferiblemente en la composición farmacéutica en un rango de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 1.500 mg. Sin embargo, el rango puede aumentar o disminuir, dependiendo del síntoma.

Además, una dosis recomendada bien conocida es adecuada como una dosis clínica diaria de otros agentes antibióticos o antiobesidad incluidos en una composición farmacéutica de la presente invención. Por ejemplo, una dosis de aproximadamente 500 mg a aproximadamente 2000 mg se conoce generalmente como una dosis clínica diaria de metformina.

Una relación de mezcla de un compuesto representado por la Fórmula 1 incluida en una composición farmacéutica de la presente invención y otros agentes antibióticos o antiobesidad puede seleccionarse en el rango de 1: 16,7 a 1: 450 en función de la dosis que se va a administrar. Los expertos en la materia pueden determinar fácilmente las dosis terapéuticamente eficaces óptimas a administrar y variarán con la cantidad de ingredientes activos usados en una relación sinérgica basada en una fracción de sus respectivos valores ED_{30} , la intensidad de la preparación, el modo de administración y el avance de la condición o trastorno que se va a tratar. Además, los factores asociados con el sujeto particular que se está tratando, incluyendo la edad del sujeto, el peso corporal, la dieta y el tiempo de administración, darán como resultado la necesidad de ajustar la dosis a un nivel terapéuticamente efectivo apropiado.

La composición farmacéutica de la presente invención se puede administrar dentro del rango de una relación sinérgica basada en una fracción de sus respectivos valores ED_{30} . El valor ED_{30} se refiere a una dosis de una composición farmacéutica, a la que se exhibe un 30% del porcentaje de inhibición. El porcentaje de inhibición puede obtenerse calculando un área bajo la curva de un grupo experimental, excepto un área bajo la curva de un grupo en el que no se ha administrado glucosa, en la curva de cambio de glucosa en sangre, comparando el valor con el de un grupo de control en el que se ha administrado la glucosa y calculando la relación de inhibición. En general, se sugiere que una dosis efectiva se define como una dosis para suprimir el AUC en 30% o más en experimentos con ratones (WO2006/076231 A2).

En la composición farmacéutica de la presente invención, el compuesto de Fórmula 1 y Biguanida se puede incluir en el rango de relación de 9: 1 a 1: 3 basado en una fracción de sus respectivos valores de ED_{30} , y más preferiblemente en la relación de 1: 1.

En la composición farmacéutica de la presente invención, cuando la relación de mezcla del compuesto de Fórmula 1 y Biguanida es 1:16,7 o menos, o 1: 450 o más basado en la relación en peso, puede producirse una eficacia deficiente o efectos secundarios adversos. Por el contrario, en el rango de 1: 16,7 a 1: 450, pueden ocurrir efectos de mejora sinérgicos en la tolerancia a la glucosa. Por lo tanto, los dos agentes se pueden incluir preferiblemente en el rango de 1: 16,7 a 1: 450 en función de la relación en peso. Sin embargo, la relación no está limitada a esto.

En la composición farmacéutica de la presente invención, cuando la relación de mezcla del compuesto representado por la Fórmula 1 y un sensibilizador de insulina es 1: 0,01 o menos, o 1: 0,4 o más basado en la relación en peso, puede producirse la eficacia deficiente o los efectos secundarios adversos porque es un valor que se desvía de una dosis clínica diaria del sensibilizador de la insulina. Por el contrario, en el rango de 1: 0,01 a 1: 0,4, pueden ocurrir efectos de mejora sinérgicos en la eficacia. Por lo tanto, la relación de mezcla del compuesto 1 y el sensibilizador a la insulina puede estar preferiblemente en el rango de 1: 0,01 a 1: 0,4 basado en la relación en peso. Sin embargo, la relación no está limitada a eso y puede ajustarse dependiendo de los síntomas.

En la composición farmacéutica de la presente invención, cuando la relación de mezcla del compuesto de Fórmula 1 y un secretagogo de insulina es 1: 0,2 o menos, o 1: 3,2 o más basado en la relación en peso, la dosis puede exceder una dosis clínica diaria del secretagogo de insulina o puede presentarse una eficacia deficiente. Por el contrario, los efectos de mejora sinérgica en la eficacia pueden ocurrir en el rango de 1: 0.2 a 1: 3.2. Por lo tanto, la relación de mezcla del compuesto 1 y el secretagogo de insulina puede estar preferiblemente en el rango de 1: 0,2 a 1: 3,2. Sin embargo, la relación no está limitada a esto.

Además, en la composición farmacéutica de la presente invención, cuando la relación de mezcla del compuesto representado por la Fórmula 1 y un inhibidor de α -glucosidasa es 1: 0,03 o menos, o 1:0,18 o más basado en la relación en peso, la dosis puede exceder una dosis clínica diaria del inhibidor de α -glucosidasa o puede tener una eficacia deficiente. Por el contrario, los efectos de mejora sinérgica en la eficacia pueden ocurrir en el rango de 1: 0.03 a 1: 0.18. Por lo tanto, es preferible tener la relación de mezcla del compuesto 1 y el inhibidor de α -glucosidasa en el rango de 1: 0.03 a 1: 0.18. Sin embargo, la relación no está limitada a esto.

En la composición farmacéutica de la presente invención, cuando la relación de mezcla del compuesto de Fórmula 1 y un antagonista del receptor 1 cannabinoide es 1: 0,1 o menos, o 1: 1 o más basado en la relación en peso, la dosis puede exceder una dosis clínica diaria del antagonista del receptor 1 cannabinoide o puede producirse una eficacia deficiente. Por lo tanto, es preferible tener la relación de mezcla del compuesto 1 y el antagonista del receptor 1 cannabinoide en el rango de 1: 1 a 1:10. Sin embargo, la relación no está limitada a esto.

Como se usa aquí, el término "administración" significa la introducción de un material predeterminado en pacientes usando un método adecuado. La composición de la presente invención puede administrarse por vía oral o parenteral a través de cualquiera de las rutas comunes, siempre que sea capaz de alcanzar el tejido deseado. Además, la composición se puede administrar usando un cierto aparato capaz de transportar sustancias activas en las células objetivo. Es preferible administrar oralmente la composición farmacéutica de la presente invención, pero no está limitada a la misma. La administración parenteral incluye inyecciones subcutáneas, intravenosas, intramusculares o intratorácicas, pero no se limita a las mismas.

La composición farmacéutica de la presente invención se puede formular en diversas formas orales o parenterales de un amplio rango durante la administración clínica y se puede administrar.

Ejemplos de la forma de dosificación para administración oral pueden incluir tabletas, píldoras, cápsulas duras/blandas, soluciones, suspensiones, emulsiones, jarabes, gránulos y elixires. Estas formulaciones farmacéuticas pueden contener, además del ingrediente activo, uno o más diluyentes o excipientes convencionales, tales como agentes de relleno, extendedores, agentes humectantes, disgregantes, deslizantes, aglutinantes y surfactantes. Los ejemplos de los disgregantes pueden incluir agar, almidón, ácido algínico o una sal de sodio del mismo y fosfato de monohidrógeno de calcio anhidro. Los ejemplos de deslizantes pueden incluir sílica, talco, ácido esteárico o una sal de magnesio o calcio del mismo y polietilenglicol. Los ejemplos del aglutinante pueden incluir silicato de magnesio y aluminio, pasta de almidón, gelatina, tragacanto, metilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, polivinilpirrolidona e hidroxipropilcelulosa poco sustituida. Además, la formulación farmacéutica puede incluir diluyentes, por ejemplo lactosa, dextrosa, sacarosa, manitol, sorbitol, celulosa y glicina. Si se desea, la formulación puede contener además mezclas efervescentes conocidas convencionalmente, absorbentes, colorantes, aromatizantes y edulcorantes.

Ejemplos de la forma de dosificación para administración parenteral pueden incluir soluciones acuosas esterilizadas, soluciones no acuosas, suspensiones, emulsiones, agentes liofilizados o supositorios. Como disolventes no acuosos o agentes de suspensión, pueden usarse propilenglicol, polietilenglicol, aceites vegetales tales como aceite de oliva, ésteres inyectables tales como oleato de etilo. Como la base de la preparación inyectable, se pueden usar aditivos convencionales tales como solubilizantes, agentes isotónicos, agentes de suspensión, agentes emulsionantes, estabilizantes y conservantes. La composición farmacéutica de acuerdo con un ejemplo de la presente invención se puede preparar como una solución o suspensión mezclando el compuesto de fórmula 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y metformina con un estabilizador o regulador en agua, y se puede preparar en una dosificación unitaria forma (por ejemplo, ampolla o vial). La composición puede esterilizarse o contener un adyuvante (por ejemplo, un conservante, un estabilizador, un agente humectante o un emulsionante, una sal para regulación osmótica y un agente regulador). Además, la composición puede contener además otras sustancias terapéuticamente útiles. La composición se puede fabricar de manera convencional mezclando, granulando o aplicando métodos de recubrimiento.

[Modo de la invención]

En lo sucesivo, la presente invención se describirá con más detalle con referencia a los siguientes Ejemplos de preparación, Ejemplos, Ejemplos experimentales y Ejemplos de preparación. Sin embargo, los siguientes ejemplos se proporcionan solo con fines ilustrativos, y el alcance de la presente invención no debe limitarse a ellos de ninguna manera.

<Ejemplo de preparación> Preparación del compuesto de fórmula 1 y sales farmacéuticamente aceptables del mismo

<Ejemplo de preparación 1> Preparación de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)-butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona

Etapa 1): Preparación de (R)-metil 1-tritilaziridin-2-carboxilato

200 g de clorhidrato de metil éster de D-serina se agregaron a 1.8 L de cloroformo, y la solución de reacción se enfrió hasta 0°C, a la que se agregaron lentamente 448 ml de trietilamina. Se agregaron lentamente 358.4 g de cloruro de tritilo a la mezcla de reacción que se había agitado durante 1 hora. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente, y se agregó 1 L de cloroformo a la misma, seguido por lavado con 2.5 L de agua. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio y se enfrió nuevamente hasta 0°C, a la que se agregaron entonces secuencial y lentamente 484 ml de trietilamina y 15.7 g de 4-metilaminopiridina. La mezcla de reacción se agitó durante 5 min y se agregaron lentamente 139 ml de cloruro de metanosulfonilo a la misma. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente, se agitó durante otras 4 horas y luego se sometió a reflujo durante 12 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, y se lavó con 4 L de agua y luego 3 L de salmuera. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró hasta sequedad bajo presión reducida. Se agregaron 3 L de etanol al residuo resultante que luego se agitó. Los sólidos resultantes se filtraron para proporcionar 329 g del compuesto del título.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) : 7.42~7.49 (m, 6H), 7.18~7.32 (m, 9H), 7.68(s, 1H), 3.74(s, 3H), 2.24(m, 1H), 1.87(m, 1H), 1.40(m, 1H)

Etapa 2): Preparación de aziridin-1,2-dicarboxilato de (R)-1-bencil 2-metilo

328.4 g de 1-tritilaziridin-2-carboxilato de (R)-metilo se disolvieron en 1.4 L de cloroformo y la solución de reacción se enfrió hasta 0°C, a la que se agregaron entonces lentamente 462 ml de ácido trifluoroacético. La mezcla de reacción se agitó durante 1 hora, a la que se agregaron entonces 2 L de agua, seguido por agitación durante 10 min y eliminación de la capa orgánica. La capa acuosa se neutralizó con hidrogenocarbonato de sodio y se usó en reacciones posteriores sin más purificación.

Se agregaron 2 L de dietil éter y 120.5 g de hidrogenocarbonato de sodio a la capa acuosa, y la solución de reacción se enfrió hasta 0°C, a la que se agregaron entonces lentamente gota a gota 165 ml de cloroformiato de bencilo. La mezcla de reacción se agitó durante otras 2 horas y la capa acuosa se eliminó. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se concentró y se secó bajo presión reducida, y se purificó por cromatografía de columna, proporcionando de ese modo 108.5 g del compuesto del título.

¹H NMR (400 MHz, DMSO) : 7.32-7.36(m, 5H), 5.13(s, 2H), 3.09(dd, J=3.2, 5.4Hz, 1H), 2.58(dd, J=1.2, 3.2Hz, 1H), 2.47(dd, J=1.2, 5.4Hz, 1H),

Etapa 3): Preparación de metil éster de (R)-2-amino-3-t-butoxiopropano

1.1 g de 2-metil aziridin-1,2-dicarboxilato de (R)-1-bencilo se disolvieron en 11 ml de cloroformo, a la que se agregaron entonces 18 ml de t-butanol. A la mezcla de reacción se agregaron lentamente gota a gota 1.2 ml de BF₃OEt₂, seguido por agitación durante 12 horas. La reacción se terminó con la adición de 2 L de agua a la mezcla de reacción. Luego, la capa orgánica se separó y se secó sobre sulfato de magnesio, se concentró y se secó bajo presión reducida, y luego se usó en reacciones subsecuentes sin purificación adicional.

El residuo resultante se disolvió en 10 ml de metanol, al que se agregaron entonces 740 mg de paladio/carbono en 2 ml de acetate de etilo, seguido de burbujeo de hidrógeno durante 1 hora bajo presión atmosférica ambiental. La mezcla de reacción se filtró y se secó bajo presión reducida para proporcionar 736 mg del compuesto del título.

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) : 4.21(m, 1H), 3.82(s, 3H), 3.74~3.88(m, 2H), 1.20(s, 9H)

Etapa 4): Preparación de metil éster del ácido (R)-3-t-butoxi-2-(2-(t-butoxicarbonilamino)etilamino)propiónico

736 mg de metil éster de (R)-2-amino-3-t-butoxiopropano preparado en Etapa 3 se disolvieron en 14 ml de diclorometano, a la que se agregaron lentamente 6335 mg de metanol de N-t-butoxicarbonil-2-aminoacetaldehído. La mezcla de reacción se enfrió hasta 0°C, seguido por adición gradual de 1.2 ml de trietilamina y 1.78 g de triacetoxiborohidruro de sodio. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente, seguido por agitación durante 12 horas. Se añadió una solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio para terminar la reacción, y la capa orgánica se lavó con 10 ml de agua y salmuera, se concentró y se secó bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía de columna, proporcionando por lo tanto, 355 mg del compuesto del título.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 5.10 (m, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.56 (m, 2H), 3.40 (m, 1H), 3.15~3.28 (m, 2H), 2.81 (m, 1H), 2.67 (m, 1H), 1.42 (s, 9H), 1.13 (s, 9H)

5 Etapa 5): Preparación de metil éster del ácido (R)-2-((benciloxicarbonil)(2-t-butoxicarbonilamino)etil)amino)-3-t-butoxiopropiónico

10 355 mg de metil éster del ácido (R)-3-t-butoxi-2-(2-(t-butoxicarbonilamino)etilamino)propiónico preparado en Etapa 4 se disolvieron en 11 ml de tetrahidrofurano, y la mezcla de reacción se enfrió hasta 0°C, a la que se agregó entonces 187 mg de hidrogenocarbonato de sodio. 192 µl de bencilcloroformiato se agregó lentamente gota a gota a la misma, y la mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente. Después de 12 horas, la mezcla de reacción se secó bajo presión reducida, seguido de la adición de 10 ml de acetato de etilo, y la capa orgánica se lavó con 10 ml de agua. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se secó bajo presión reducida, y se purificó por cromatografía de columna, proporcionando por lo tanto, 410 mg del compuesto del título.

15 ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.36~7.25 (m, 5H), 5.82~5.72 (m, 1H), 5.17~5.03 (m, 2H), 4.15 (m, 1H), 3.98 (m, 1H), 3.81 (m, 1H), 3.73 (s, 3H), 3.60 (m, 1H), 3.42~3.28 (m, 3H), 1.40 (s, 9H), 1.14 (s, 9H)

Etapa 6): Preparación de 2-(t-butoximetil)-3-oxopiperazin-1-carboxilato de (R)-bencilo

20 410 mg de metil éster del ácido (R)-2-((benciloxicarbonil)(2-t-butoxicarbonilamino)etil)amino)-3-t-butoxiopropiónico preparado en Etapa 5 se disolvieron en 10 ml de metanol, y la mezcla de reacción se enfrió hasta 0°C, a la que se agregaron lentamente 4 ml de ácido 2-N clorhídrico /dielil éter, seguido por agitación durante 3 horas. La mezcla de reacción se secó bajo presión reducida y se usó en reacciones subsecuentes sin purificación adicional.

25 El residuo resultante se disolvió en 10 ml de diclorometano y la mezcla de reacción se enfrió hasta 0°C, a la que se agregaron entonces lentamente 152 µl de trietilamina. 1.1 ml de trimetilaluminio (solución 2.0 M en tolueno) se agregó lentamente a la misma, y la mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y luego se agitó durante 12 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta 0°C y se añadió una solución acuosa saturada de cloruro de amonio para terminar la reacción. 10 ml de acetato de etilo se agregaron a la mezcla de reacción que se lavó entonces con 10 ml de salmuera. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio y se secó bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía de columna para producir 103 mg del compuesto del título.

35 ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.34~7.25 (m, 5H), 6.27 (m, 1H), 5.14 (m, 2H), 4.57 (m, 1H), 4.19 (m, 1H), 4.08 (m, 1H), 3.94 (m, 1H), 3.74 (m, 1H), 3.64 (m, 1H), 3.42 (m, 1H), 3.29 (m, 1H), 1.09 (s, 9H)

Etapa 7): Preparación de (R)-(3-t-butoximetil)piperazin-2-ona

40 103 mg de 2-(t-butoximetil)-3-oxopiperazin-1-carboxilato de (R)-bencilo preparado en Etapa 6 se disolvieron en 2 ml de metanol, a la que se agregaron entonces 50 mg de paladio/carbono en 1 ml de acetato de etilo, seguido de burbujeo de hidrógeno durante 1 hora bajo presión atmosférica ambiental. La mezcla de reacción se filtró y se secó bajo presión reducida para proporcionar 58 mg del compuesto del título.

45 ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 6.41 (brs, 1H), 3.76 (m, 3H), 3.63 (m, 1H), 3.52 (m, 1H), 3.42 (m, 1H), 3.28 (m, 1H), 3.16 (m, 1H), 2.95 (m, 1H), 2.45 (brs, 1H), 1.17 (s, 9H)

Etapa 8): Preparación de (R)-4-[(R)-2-(t-butoximetil)-3-oxopiperazin-1-il]-4-oxo-1-(2,4,5-trifluorofenil)butan-2-ilcarbamato de t-butilo

50 104 mg de ácido (3R)-t-butoxicarbonilamino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoico y 58 mg de (R)-(3-t-butoximetil)piperazin-2-ona se agregaron a 4 ml de N,N-dimetilformamida, a la que se agregaron entonces 63 mg de 1-hidroxibenzotriazol (HOBT) y 217 µl de diisopropiletilamina. La mezcla de reacción se enfrió hasta 0°C y se agregó a la misma 78 mg de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC), seguido de agitación a temperatura ambiente durante 12 horas. La mezcla de reacción se diluyó con 10 ml de acetato de etilo y se lavó dos veces con salmuera. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró. El residuo resultante se purificó por cromatografía de columna para producir 97 mg del compuesto del título.

60 ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.03 (m, 1H), 6.88 (m, 1H), 5.97 (m, 1H), 5.48 (m, 1H), 4.16~4.07 (m, 1H), 4.02~3.91 (m, 1H), 3.74 (m, 2H), 3.37 (m, 2H), 3.24 (m, 1H), 2.92 (m, 2H), 2.80 (m, 1H), 2.59 (m, 2H), 1.34 (d, 9H), 1.13 (s, 9H)

Etapa 9): Preparación de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona

65 97 mg de (R)-4-[(R)-2-(t-butoximetil)-3-oxopiperazin-1-il]-4-oxo-1-(2,4,5-trifluorofenil)butan-2-ilcarbamato de t-butilo preparado en Etapa 8 se disolvieron en 3 ml de metanol, seguido por la adición de 2 ml de ácido 2N-clorhídrico /dielil éter y agitación a temperatura ambiente durante 3 horas.

La mezcla de reacción se concentró y se secó bajo presión reducida, a la que se agregaron 10 ml solución acuosa de hidrogeno carbonato de sodio al 5% y 10 ml de solución mixta de diclorometano/2-propanol (4/1 (v/v)) para la extracción dos veces, seguido por el secado de la capa orgánica bajo presión reducida para proporcionar 55 mg del compuesto del título como un sólido.

5 ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): 7.27 (m, 1H), 7.14 (m, 1H), 4.56~4.39 (m, 1H), 3.96~3.81 (m, 3H), 3.70 (m, 1H), 3.46 (m, 1H), 3.43~3.32 (m, 1H), 2.83~2.65 (m, 3H), 2.58~2.40 (m, 2H), 1.16 (s, 3H), 1.11 (s, 6H)

10 <Ejemplo de preparación 2> Preparación de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(metoximetil)piperazin-2-ona

Se usó metanol en lugar de t-butanol en la Etapa 3 del Ejemplo de preparación 1, y el compuesto del título se sintetizó entonces de forma similar a las Etapas 4 hasta 9 del Ejemplo de preparación 1.

15 <Ejemplo de preparación 3> Preparación de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(isopropoximetil)piperazin-2-ona

Se usó Isopropanol en lugar de t-butanol en la Etapa 3 del Ejemplo de preparación 1, y el compuesto del título se sintetizó entonces de forma similar a las Etapas 4 hasta 9 del Ejemplo de preparación 1.

20 <Ejemplo de preparación 4> Preparación de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(ciclopentiloximetil)piperazin-2-ona

25 Se usó ciclopentanol en lugar de t-butanol en la Etapa 3 del Ejemplo de preparación 1, y el compuesto del título se sintetizó entonces de forma similar a las Etapas 4 hasta 9 del Ejemplo de preparación 1.

<Ejemplo de preparación 5> Preparación de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-[[diethylamino)metil]piperazin-2-ona

30 Se agregó Dietilamina en lugar de t-butanol y se llevó a cabo reflujo en lugar de la adición de BF_3OEt_2 en la Etapa 3 del Ejemplo de preparación 1, y el compuesto del título se sintetizó entonces de forma similar a las Etapas 4 hasta 9 del Ejemplo de preparación 1.

35 <Ejemplo de preparación 6> Preparación de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-[[etilmetilamino)metil]piperazin-2-ona

Se agregó etilmetilamina en lugar de t-butanol y se llevó a cabo reflujo en lugar de la adición de BF_3OEt_2 en la Etapa 3 de Ejemplo 1, y el compuesto del título se sintetizó entonces de forma similar a las Etapas 4 hasta 9 del Ejemplo de preparación 1.

40 <Ejemplo de preparación 7> Preparación de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(morfolinometil)piperazin-2-ona

45 Se agregó morfolina en lugar de t-butanol y se llevó a cabo reflujo en lugar de la adición de BF_3OEt_2 en la Etapa 3 del Ejemplo de preparación 1, y el compuesto del título se sintetizó entonces de forma similar a las Etapas 4 hasta 9 del Ejemplo de preparación 1.

50 <Ejemplo de preparación 8> Preparación de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butiltiometil)piperazin-2-ona

Se usó t-butil tiol en lugar de t-butanol en la Etapa 3 del Ejemplo de preparación 1, y el compuesto del título se sintetizó entonces de forma similar a las Etapas 4 hasta 9 del Ejemplo de preparación 1.

55 <Ejemplo de preparación 9> Preparación de (S)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona

Se usó clorhidrato de metil éster de L-serina en lugar de clorhidrato de metil éster de D-serina en la Etapa 1 del Ejemplo de preparación 8, y el compuesto del título se sintetizó entonces de forma similar a las Etapas 2 hasta 9 del Ejemplo de preparación 8.

60 <Ejemplo> Preparación de una composición que contiene un compuesto de Fórmula 1 y un fármaco antidibético o antiobesidad

65 <Ejemplo 1> Preparación de una composición mixta de un compuesto representado por la Fórmula 1 y Biguanida

<Ejemplo 1-1> Preparación de una composición farmacéutica que contiene (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona(tartrato) y metformina en una relación de 9:1 basado en ED₃₀

5 El compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y metformina fueron pesadas, y se usó metilcelulosa al 0.5% para preparar 10 ml/kg de una suspensión con cada composición (0.045 ~ 0.36 mg/kg del compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 : 0.75 ~ 6 mg/kg de metformina)/10 ml.

10 <Ejemplo 1-2> Preparación de una composición farmacéutica que contiene (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona (tartrato) y metformina en una relación de 5:1 basado en ED₃₀

La preparación se realizó de manera similar al método en el Ejemplo 1-1 para tener cada composición (0.042 ~ 0.33 mg/kg del compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 : 1.25 ~ 10 mg/kg de metformina)/10 ml.

15 <Ejemplo 1-3> Preparación de una composición farmacéutica que contiene (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona(tartrato) y metformina en una relación de 1:1 basado en ED₃₀

La preparación se realizó de manera similar al método en el Ejemplo 1-1 para tener cada composición (0.025 ~ 0.2 mg/kg del compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 : 3.25 ~ 30 mg/kg de metformina)/10 ml.

20 <Ejemplo 1-4> Preparación de una composición farmacéutica que contiene (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona(tartrato) y metformina en una relación de 1:3 basado en ED₃₀

La preparación se realizó de manera similar al método en el Ejemplo 1-1 para tener cada composición (0.0125 ~ 0.1 mg/kg del compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 : 5.625 ~ 45 mg/kg de metformina)/10 ml.

25 <Ejemplo 2> Preparación de una composición mixta de un compuesto representado por la Fórmula 1 y sensibilizador de insulina

30 <Ejemplo 2-1> Preparación de una composición farmacéutica que contiene (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona(tartrato) y rosiglitazona en una relación de 1:0.4 basado en relación en peso

35 El compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y rosiglitazona se pesaron, y se usó metilcelulosa al 0,5% para preparar 5 ml/kg de una suspensión con cada composición (1 mg del compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 + 0.4 mg de rosiglitazona)/5 ml.

40 <Ejemplo 2-2> Preparación de una composición farmacéutica que contiene (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona(tartrato) y rosiglitazona en una relación de 1:0.01 basado en relación en peso

La preparación se realizó de manera similar al método en el Ejemplo 2-1 para tener cada composición (40 mg del compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 + 0.4 mg de rosiglitazona)/5 ml.

45 <Ejemplo 3> Preparación de una composición mixta de un compuesto representado por la Fórmula 1 y secretagogo de insulina

50 <Ejemplo 3-1> Preparación de una composición farmacéutica que contiene (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona(tartrato) y glimepirida en una relación de 1:0.2 basado en relación en peso

El compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y glimepirida se pesaron, y se usó metilcelulosa al 0,5% para preparar 10 ml/kg de una suspensión con cada composición (0.1 mg del compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 + 0.02 mg de glimepirida)/10 ml.

55 <Ejemplo 3-2> Preparación de una composición farmacéutica que contiene (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona(tartrato) y glimepirida en una relación de 1:3.2 basado en relación en peso

60 La preparación se realizó de manera similar al método en el Ejemplo 3-1 para tener cada composición (0.1 mg del compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 + 0.32 mg de rosiglitazona)/10 ml.

<Ejemplo 4> Preparación de una composición mixta de un compuesto representado por la Fórmula 1 e inhibidor de α -glucosidasa

65 <Ejemplo 4-1> Preparación de una composición farmacéutica que contiene (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona(tartrato) y voglibose en una relación de 1:0.03

El compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y voglibose se pesaron, y se usó metilcelulosa al 0,5% para preparar 10 ml/kg de una suspensión con cada composición (0.3 mg del compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 + 0.009 mg de voglibose)/10 ml.

5 <Ejemplo 4-2> Preparación de una composición farmacéutica que contiene (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona(tartrato) y voglibose en una relación de 1:0.18

La preparación se realizó de manera similar al método en el Ejemplo 4-1 para tener cada composición (0.3 mg del compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 + 0.054 mg de voglibose)/10 ml.

10 <Ejemplo 5> Preparación de una composición mixta de un compuesto representado por la Fórmula 1 y antagonista receptor 1 cannabinoide

15 <Ejemplo 5-1> Preparación de una composición farmacéutica que contiene (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona (tartrato) y rimonabant en una relación de 1:10 basado en relación en peso

20 El compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y rimonabant se pesaron, y se usó metilcelulosa al 0,5% para preparar 5 ml/kg de una suspensión con cada composición (0.3 mg del compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 + 3 mg de rimonabant)/5 ml.

25 <Ejemplo 5-2> Preparación de una composición farmacéutica que contiene (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona(tartrato) y rimonabant en una relación de 1:1 basado en relación en peso

La preparación se realizó de manera similar al método en el Ejemplo 5-1 para tener cada composición (3 mg del compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 + 3 mg de rimonabant)/5 ml.

30 <Ejemplo experimental 1> Medición de los efectos sinérgicos de una composición mixta de un compuesto obtenido en la preparación

<1-1> Medición de los efectos sinérgicos de una composición mixta de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y metformina por administración única en ratones normales

35 Con el fin de examinar los efectos sinérgicos de una composición mixta de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 de la presente invención y metformina mediante administración única, se realizó el siguiente experimento sobre los materiales individuales y la composición mixta.

Sujeto experimental y método experimental

40 Los ratones de laboratorio (ratones C57BL/6) como sujetos experimentales se mantuvieron en ayunas durante 16 a 17 horas antes de los experimentos. La sangre se recogió de las venas caudales de los ratones en la mañana del día del experimento y se midió un nivel de glucosa en sangre con un medidor de glucosa en sangre ACCU-CHEK ACTIVE (Roche Diagnostics). La composición farmacéutica de la presente invención se administró por vía oral 30 minutos antes de la administración de glucosa (-30 min), seguido de la administración oral de una solución de glucosa (2 g/kg/10 ml) después de 30 minutos (0 min). La extracción de sangre se realizó en puntos de tiempo designados, justo antes de la administración del fármaco, justo antes de la administración de glucosa, y 15, 30, 60 y 90 minutos después de la administración de glucosa.

50 Cálculo de ED₃₀ de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y metformina

Los efectos de la administración única de los agentes individuales en una curva de cambio de glucosa en sangre en una prueba de tolerancia oral a la glucosa (OGTT) se identificaron mediante el porcentaje de inhibición (%) y ED₃₀. Los valores de inhibición porcentual para cada tratamiento se generaron a partir de los datos de área bajo curva (AUC) normalizados para los controles sin glucosa expuestos por AUC de glucosa en sangre restada de controles expuestos sin glucosa de grupos con glucosa expuestos, y comparando el valor con el de un grupo de control en el que se ha administrado la glucosa. En general, se sugiere que una dosis efectiva se define como una dosis para suprimir el AUC en 30% o más en experimentos con ratones (WO2006/076231 A2). El valor ED₃₀ se refiere a una dosis a la que se exhibe el 30% del porcentaje de inhibición, y se calculó usando un análisis de regresión lineal en el tercer intervalo de dosis en el presente Ejemplo.

Como resultado, se identificó que el ED₃₀ de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 de la presente invención era 0,20 mg/kg y el ED₃₀ de metformina era 29,6 mg/kg (Tabla 1, Tabla 2).

65 <Tabla 1> Resultados de la tolerancia a la glucosa de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1

[Tabla 1]

Dosis de administración única (mg/kg)	Porcentaje de inhibición (%)	ED ₃₀ ± (SEM)
0.1	18.5	0.20 ± 0.04
0.3	38.7	
1	54.8	

<Tabla 2> Resultados de tolerancia a la glucosa de metformina

5

[Tabla 2]

Dosis de administración única (mg/kg)	Porcentaje de inhibición (%)	ED ₃₀ ± (SEM)
10	7.43	29.6 ± 6.68
30	29.06	
100	54.46	

10 Medición del grado de efectos sinérgicos de un compuesto mixto de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y metformina (una composición mixta en el ejemplo 1)

15 Los efectos sinérgicos factibles de una composición en cada relación fija se analizaron mediante isoblograma (R. J. Tallarida et al., Life Sci. 1989, 45, 947). Este proceso incluye la decisión de una dosis de la mezcla, en la cual se exhibe el porcentaje de inhibición del 30% (ED_{30mix}) en el experimento OGTT y la dosis correspondiente (ED_{30add}) esperada bajo una aditividad simple. Cuando el resultado de ED_{30mix} <ED_{30add} se establece a una determinada relación fija, la mezcla tiene efectos sinérgicos. El ED_{30add} se calculó a partir de ED₃₀ de cada fármaco. En la Fig. 1, fracciones de los valores de ED₃₀ de cada material están presentes en cada eje del mismo. El valor de ED₃₀ del compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 solo es de 0,2 mg/kg y se muestra como el valor 1 en la FIG. 1, y el valor ED₃₀ de metformina solo es de 30 mg/kg y se muestra como valor 1 en la FIG. 1. Por lo tanto, la línea que combina los valores ED₃₀ de los dos fármacos individuales indica una aditividad simple (ED_{30add}) calculada a partir de los efectos de tolerancia a la glucosa en diferentes relaciones. Por lo tanto, los puntos designados como A, B, C y D en la FIG. 1 con respecto a cada mezcla estudiada indican fracciones de valores ED₃₀ (ED_{30mic}) determinados por experimentos reales realizados en una mezcla del compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y metformina en relaciones de 9:1, 5:1, 1:1 y 1:3. Los puntos A', B', C' y D' en la FIG. 1 indican fracciones de dosis (ED_{30add}) correspondientes a mezclas del compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y metformina a relaciones de 9:1, 5:1, 1:1 y 1:3 esperadas bajo una aditividad simple.

20 Las relaciones de las dosis realmente administradas a los animales en cada fracción se calcularon multiplicando 0,2 mg/kg y 30 mg/kg que son valores de ED₃₀ del compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y metformina, respectivamente con una relación deseada. Las administraciones se realizaron en los rangos de: 0,045 ~ 0,36 mg/kg del compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 + 0,75 ~ 6 mg/kg de metformina en una relación de 9:1, 0,042 ~ 0,33 mg/kg del compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 + 1,25 ~ 10 mg/kg de metformina en una relación de 5:1, 0,025 ~ 0,2 mg/kg del compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 + 3,25 ~ 30 mg/kg de metformina en una relación de 1:1, 0,0125 ~ 0,2 mg/kg del compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 + 5,625 ~ 45 mg/kg de metformina en una relación de 1:3. Cuando esto se aplica a un adulto sano (aproximadamente 70 kg), la dosis corresponde a 0,88 ~ 25,2 mg del compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y 52,5 ~ 3150 mg de metformina, e incluye una dosis clínica diaria de metformina, que es 500 ~ 2000 mg.

30 Como resultado de los experimentos, los valores ED_{30mix}/ED_{30add} de las mezclas a relaciones de 9:1, 5:1, 1:1 y 1:3 son 0.817, 0.437, 0.359 y 0.443, valores calculados basados en fracciones de cada valor ED₃₀ del compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y la metformina (Tabla 3). A partir de este resultado, ED_{30mix} se calculó multiplicando la dosis real de ED_{30add} correspondiente a cada relación con ED_{30mix}/ED_{30add}, y se identificó que se observaron efectos de mejora en la tolerancia a la glucosa sinérgica debido a ED_{30mix} <ED_{30add} en todas las relaciones. En particular, se observaron efectos de mejora de 2 veces o más en la tolerancia a la glucosa (ED_{30add}/ED_{30mix}) en mezclas a relaciones de 5:1, 1:1 y 1:3. Las interacciones de las relaciones correctas seleccionadas en base a las fracciones de los valores ED₃₀ de cada material se muestran en la Tabla 3 y el isoblograma de la FIG. 1.

40 <Tabla 3> Efectos sinérgicos de una composición mixta de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y metformina

[Tabla 3]

	Fracción del valor ED ₃₀	ED _{30mix}	ED _{30add}	
	Compuesto del Ejemplo preparación 1:metformina	Compuesto del Ejemplo preparación 1:metformina (mg/kg, p.o.)	Compuesto del Ejemplo preparación 1:metformina (mg/kg, p.o.)	ED _{30mix} /ED _{30add}
Ejemplo 1-1	9:1	0.147 + 2.45 (A)	0.18 + 3 (A')	0.817
Ejemplo 1-2	5:1	0.073 + 2.19 (B)	0.167 + 5 (B')	0.437
Ejemplo 1-3	1:1	0.036 + 5.38 (C)	0.1 + 15 (C')	0.359
Ejemplo 1-4	1:3	0.022 + 9.96 (D)	0.05 + 22.5 (D')	0.443

() Indica una posición en el isoblograma en la FIG. 1.

5 Además, la FIG. 2 muestra que la composición mixta exhibió efectos de mejora significativos en la tolerancia a la glucosa, en comparación con el porcentaje de inhibición de cada material administrado solo.

10 Como resultado, cuando la relación se convierte en una relación de dosis de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y la metformina administrada realmente a animales, se observaron efectos de mejora en la tolerancia a la glucosa en el amplio rango de dosis de 1:16,7 a 1:450.

<1-2> de efectos sinérgicos de una composición mixta de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y metformina por administración única y por administración repetida en ratones obesos

15 Sujeto experimental y método experimental

20 Para examinar los efectos sinérgicos de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 de la presente invención y complejo de metformina por administración repetida, se evaluaron efectos de una administración única en ratones obesos en una curva de cambio de glucosa en sangre OGTT y de una administración repetida de 2 semanas en el porcentaje de inhibición de la glucosa en sangre. Los ratones con obesidad inducida por dieta obtenidos suministrando ratones experimentales (ratones C57BL/6) con forraje con alto contenido de grasa (60 kcal% de grasa, Research Diets, D12492) durante 5 meses se usaron como sujetos experimentales. Se usó 0,5% de metilcelulosa (MC) para preparar una suspensión del compuesto 1 preparado en el Ejemplo de preparación 1 con una composición de 0,1 mg/kg y 0,15 mg/kg. Se usó 0,5% de MC para preparar una suspensión de metformina con una composición de 7,5 mg/kg y 15 mg/kg. Se prepararon 6 ml/kg del complejo en dosis de (0,1 mg/kg de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 + 15 mg/kg de metformina)/5 ml y (0,15 mg/kg de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 + 7,5 mg/kg de metformina)/5 ml.

30 Los ratones obesos se dejaron en ayunas durante 16 a 17 horas antes de los experimentos, se recogió sangre de las venas caudales de los ratones en la mañana del día del experimento y se midió un nivel de glucosa en sangre con un medidor de glucosa en sangre ACCU-CHEK ACTIVE (Roche Diagnostics) La composición mixta de la presente invención se administró por vía oral 30 minutos antes de la administración de glucosa (-30 min), seguido de la administración oral de una solución de glucosa (2 g/kg/10 ml) después de 30 minutos (0 min). La recolección de sangre se realizó en puntos de tiempo designados, justo antes de la administración del fármaco, justo antes de la administración de glucosa, y 15, 30, 60 y 90 minutos después de la administración de glucosa. El porcentaje de inhibición se calculó calculando un área bajo la curva de cada grupo y comparando el valor con el de un grupo de control en el que se había administrado la glucosa.

40 Medición de los efectos sinérgicos por una única administración de una composición mixta

El porcentaje de inhibición por una sola administración de cada fármaco administrado se mostró en la siguiente Tabla 4, Tabla 5, y la FIG. 3.

45 <Tabla 4> Porcentaje de inhibición de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y metformina

[Tabla 4]

Fármaco administrado y dosis administrada (mg/kg)	Porcentaje de inhibición (%)
Compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 0.1	2
Compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 0.15	3
Metformina 7.5	7
Metformina 15	11

5 <Tabla 5> Porcentaje de inhibición de una composición mixta de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y metformina

[Tabla 5]

	Fármaco administrado y dosis administrada (mg/kg)	Porcentaje de inhibición (%)
Ejemplo 1-2	Compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 0.1 + Metformina 15	19
Ejemplo 1-3	Compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 0.15 + Metformina 7.5	28

10 Para mejorar el AUC de glucosa en sangre, se exhibieron inhibiciones del 2% y 3% por un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 a 0,1 mg/kg y 0,15 mg/kg, mientras que 7% y 11% de inhibición se mostraron por la metformina a 7,5 mg/kg y 15 mg/kg. Por el contrario, las AUC de glucosa en sangre de complejos de un compuesto preparado en el Ejemplo de Preparación 1 a 0,1 mg/kg + metformina a 15 mg/kg y un compuesto preparado en el Ejemplo de Preparación 1 a 0,15 mg/kg + metformina a 7,5 mg/kg fueron inhibidos en un 19% y 28%, respectivamente. Esto indica que se observaron efectos sinérgicos superiores a la suma aritmética de administraciones individuales de fármacos individuales (Figura 3).

15

Efectos sinérgicos por administración repetida

20 El porcentaje de inhibición por administración repetida 2 semanas después de la administración se muestra en la Tabla 6, Tabla 7, y la FIG. 4.

25 <Tabla 6> Porcentaje de inhibición mediante la administración de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y metformina

[Tabla 6]

Fármaco administrado y dosis administrada (mg/kg)	Porcentaje de inhibición (%)
Compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 0.1	2
Compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 0.15	15
Metformina 7.5	13
Metformina 15	14

30 <Tabla 7> Porcentaje de inhibición de una composición mixta de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y metformina

[Tabla 7]

	Fármaco administrado y dosis administrada (mg/kg)	Porcentaje de inhibición (%)
Ejemplo 1-2	Compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 0.1 + Metformina 15	21
Ejemplo 1-3	Compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 0.15 + Metformina 7.5	31

La glucosa plasmática mediante la administración de un compuesto preparado en el Ejemplo de Preparación 1 a 0,1 y 0,15 mg/kg se mejoró en un 2% y un 15%, en comparación con un grupo control. La metformina a 7,5 y 15 mg/kg mejoró la glucosa plasmática en un 13% y 14%, en comparación con un nivel de un grupo de control. Por el contrario, los complejos de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 a 0,1 mg/kg + metformina a 15 mg/kg o un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 a 0,15 mg/kg + metformina a 7,5 mg/kg % y 31%, respectivamente. Esto indica que se observaron efectos sinérgicos superiores a la suma aritmética de administraciones únicas de fármacos individuales (Figura 4).

Como resultado, cuando la relación se convierte en una relación de dosis de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y la metformina administrada realmente a animales durante una administración repetida, se observaron efectos de mejora en las eficacias sinérgicas en un amplio rango de dosis de 1:50 a 1: 150.

<Ejemplo experimental 2> Medición de efectos sinérgicos mediante la administración de una composición mixta de un compuesto de Fórmula 1 y sensibilizador a insulina a ratones obesos

<2-1> Medición de efectos sinérgicos mediante administración repetida de una composición mixta de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y rosiglitazona a ratones obesos

Sujeto experimental y método experimental

Con el fin de examinar los efectos sinérgicos de un complejo mediante un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 de la presente invención y un agonista de PPAR γ sensibilizador de insulina, se evaluó el porcentaje de inhibición de glucosa en sangre mediante administración repetida del complejo a ratones db/db como ratones diabéticos. Se usaron ratones machos de ocho semanas (ratones db/db) como sujetos experimentales. Se sabe que la rosiglitazona es un fármaco de la serie TZD que tiene el mismo núcleo parental que la pioglitazona que se utiliza actualmente en la práctica clínica y regula la glucosa sanguínea a través del mismo mecanismo, y la dosis en la presente evaluación se seleccionó como 0,4 mg/kg en consideración de una relación esencial de dosis clínica basada en ED₃₀ con respecto a la disminución de glucosa en sangre en un experimento con ratones diabéticos. La dosis de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 con respecto a rosiglitazona a una dosis fija se seleccionó a 1 mg/kg y 40 mg/kg (relación de complejo 1:0,01~1:0,4) en consideración de una relación compleja en una dosis clínica esperada. Dado que la relación compleja de 1: 0,01 o menos a 1: 0,4 o más es un valor que se desvía de una dosis clínica diaria de rosiglitazona y existe preocupación acerca de la posibilidad de poca eficacia o efectos secundarios adversos, la relación compleja se limitó a 1:0,01 ~ 1:0,4. 0,5% de metilcelulosa (MC) estaba en cada concentración de fármaco para preparar suspensiones. Se pesó cada compuesto y se usó 0,5% de metilcelulosa para preparar 5 ml/kg de suspensiones con cada composición de (1 mg del compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 + 0,4 mg de rosiglitazona)/5 ml y (40 mg del compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 + 0,4 mg de rosiglitazona)/5 ml.

El fármaco se administró por vía oral a ratones diabéticos y se recogió sangre de las venas caudales de los ratones después de 1 hora de la administración para medir la glucosa en sangre con un medidor de glucosa en sangre ACCU-CHEK ACTIVE (Roche Diagnostics). El porcentaje de inhibición con respecto a la glucosa en sangre se calculó por comparación con un grupo de control.

Medición de efectos sinérgicos mediante la administración

Los resultados experimentales sobre el porcentaje de inhibición de la glucosa en sangre en comparación con un grupo control mediante la administración del fármaco durante 7 días se muestran en la siguiente Tabla 8, Tabla 9 y Figura 5.

<Tabla 8> Porcentaje de inhibición durante la administración de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y rosiglitazona

[Tabla 8]

Fármaco administrado y dosis administrada (mg/kg)	Porcentaje de inhibición (%)
Compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 1	21
Compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 40	11
Rosiglitazona 0.4	10

<Tabla 9> Porcentaje de inhibición durante la administración de una composición mixta de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y rosiglitazona

[Tabla 9]

	Fármaco administrado y dosis administrada (mg/kg)	Porcentaje de inhibición (%)
Ejemplo 2-1	Compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 1 + Rosiglitazona 0.4	49
Ejemplo 2-2	Compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 40 + Rosiglitazona 0.4	79

5 El porcentaje de inhibiciones de glucosa en sangre por administración de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 a 1 mg/kg y 40 mg/kg en comparación con un grupo control se calculó como 21% y 11%, respectivamente, y se realizó una mejora del 10% mediante administración de una rosiglitazona agonista de PPAR γ a 0,4 mg/kg. Además, las mejoras en los complejos de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 a 1 mg/kg + rosiglitazona a 0,4 mg/kg o un compuesto preparado en el ejemplo de preparación 1 a 40 mg/kg + rosiglitazona a 0,4 mg/kg se calcularon como 49 % y 79%, respectivamente. Esto indica que se observaron efectos sinérgicos superiores a la suma aritmética de administraciones únicas de fármacos individuales (Figura 5).

10 Como resultado, cuando la relación se convierte en una relación de dosis de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y un agonista de PPAR γ rosiglitazona realmente administrado a ratones diabéticos, se observaron efectos de mejora en las eficacias sinérgicas en el rango de dosis de 1: 0,01 a 1 : 0.4.

15 <Ejemplo experimental 3> Medida de los efectos sinérgicos de una composición mixta de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y secretagogo de insulina

20 <3-1> Medida de los efectos sinérgicos de una composición mixta de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y glimepirida mediante administración única

Sujeto experimental y método experimental

25 Con el fin de examinar los efectos sinérgicos de un complejo de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 de la presente invención y un fármaco de la serie sulfonil urea secretagogo de insulina, se evaluaron las inhibiciones porcentuales de las curvas de cambio de glucosa en sangre de administración única OGTT por materiales y complejos individuales. Se usaron ratones experimentales machos de 8 semanas de edad (ratones C57BL/6) y se dejaron en ayunas durante 16 a 17 horas antes de los experimentos. La sangre se recogió en las venas caudales de los ratones en la mañana del día del experimento y se midió un nivel de glucosa en sangre con un medidor de glucosa en sangre ACCU-CHEK ACTIVE (Roche Diagnostics). La composición mixta de la presente invención se administró por vía oral 30 minutos antes de la administración de glucosa (-30 min), seguido de la administración oral de una solución de glucosa (2 g/kg/10 ml) después de 30 min (0 min). La extracción de sangre se hizo en puntos de tiempo designados, justo antes de la administración del fármaco, justo antes de la administración de glucosa, y 15, 30, 60 y 90 minutos después de la administración de glucosa. El porcentaje de inhibición se calculó calculando un área bajo la curva de cada grupo, a excepción de un grupo en el que no se había administrado glucosa, y comparando el valor con el de un grupo de control en el que se había administrado glucosa. Para evaluar los efectos sinérgicos o aditivos por complejo en la presente evaluación, se usó 0,5% de metilcelulosa (MC) para preparar una suspensión con una dosis de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 a 0,1 mg/kg, y 0,5% de MC también utilizado para preparar una suspensión con una composición de un fármaco de la serie de sulfonilurea secretagogo de insulina y glimepirida a 0,02 mg/kg y 0,32 mg/kg de tal manera que se pueda incluir una relación compleja a una dosis clínica esperada en un estado fijo de un compuesto preparado en la preparación Ejemplo 1. La glimepirida es un fármaco que promueve la secreción de insulina del páncreas con el mismo mecanismo que la glipizida y la glibenclamida. Un complejo del mismo se preparó a 10 ml por kg pesando compuestos individuales y mezclando los compuestos con cada composición ((un compuesto preparado en el Ejemplo de Preparación 1 0.1 mg + glimepirida 0.02 mg)/10 ml y (un compuesto preparado en el Ejemplo de Preparación 1 0.1 mg + glimepirida 0,32 mg)/10 ml)). Cuando la relación de mezcla es 1: 0,2 o menos, o 1: 3,2 o más, puede ocurrir poca eficacia o efectos secundarios adversos. Por lo tanto, la relación de mezcla de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y glimepirida se estableció en 1: 0,2~1: 3,2.

50 Medición de efectos sinérgicos mediante la administración

Los resultados experimentales del porcentaje de inhibición de la glucosa en sangre en comparación con un grupo de control en experimentos se muestran en la siguiente Tabla 10, Tabla 11 y FIG. 6.

55 <Tabla 10> Porcentaje de inhibición por administración de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y glimepirida

[Tabla 10]

Fármaco administrado y dosis administrada (mg/kg)	Porcentaje de inhibición (%)
Compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 0.1	7.7
Glimepirida 0.02	-3.69
Glimepirida 0.32	10.9

- 5 <Tabla 11> Porcentaje de inhibición mediante la administración de una composición mixta de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y glimepirida

[Tabla 11]

	Fármaco administrado y dosis administrada (mg/kg)	Porcentaje de inhibición (%)
Ejemplo 3-1	Un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 0.1 + Glimepirida 0.02	20.2
Ejemplo 3-2	Un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 0.1 + Glimepirida 0.32	48.7

10 Como resultado del experimento, se exhibió un 7,7% de porcentaje de inhibición en el caso de un compuesto 1 preparado en el Ejemplo de preparación 1 a 0,1 mg/kg en comparación con un grupo de control. Cuando se utilizó glimepirida a 0,02 mg/kg y 0,32 mg/kg, el porcentaje de inhibición de la glucosa en sangre se calculó en -3,69% y 10,9%, respectivamente, en comparación con un grupo de control. Además, cuando se usaron complejos de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 a 0,1 mg/kg + glimepirida a 0,02 mg/kg y un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 a 0,1 mg/kg + glimepirida a 0,32 mg/kg, el porcentaje la inhibición se calculó como 20.2% y 48.7%, respectivamente. Esto indica que se observaron efectos sinérgicos superiores a la suma aritmética de administraciones únicas de fármacos individuales (Figura 6).

15 20 En resumen, se observaron mejoras en los efectos sinérgicos sobre la relación de dosis de 1: 0,2 a 1: 3,2 de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y glimepirida.

<Ejemplo experimental 4> Medición de los efectos sinérgicos de una composición mixta de un compuesto de Fórmula 1 y un inhibidor de α -glucosidasa

25 <4-1> Medición de los efectos sinérgicos mediante la administración de una composición mixta de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y voglibosa

Sujeto experimental y método experimental

30 Con el fin de examinar los efectos sinérgicos de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 de la presente invención y un fármaco de la serie inhibidora de α -glucosidasa mediante fármacos complejadores, se evaluó el porcentaje de inhibición en una sola administración de prueba oral de tolerancia a la sacarosa, la curva de cambio de glucosa en sangre por materiales individuales y un complejo de los mismos. Se usaron ratones experimentales machos de 8 semanas de edad (ratones C57BL/6) como sujetos experimentales. Los ratones se mantuvieron en ayunas durante 16 a 17 horas antes de los experimentos. La sangre se recogió de las venas caudales de los ratones en la mañana del día del experimento y se midió un nivel de glucosa en sangre con un medidor de glucosa en sangre ACCU-CHEK ACTIVE (Roche Diagnostics). La composición farmacéuticamente mezclada de la presente invención se administró por vía oral 30 minutos antes de la administración de sacarosa (-30 min), seguido de la administración oral de una solución de glucosa (2 g/kg/10 ml) después de 30 minutos (0 min). La extracción de sangre se hizo en puntos de tiempo designados, justo antes de la administración del fármaco, justo antes de la administración de sacarosa, y 15, 30, 60, 90 y 120 minutos después de la administración de sacarosa. El porcentaje de inhibición se calculó calculando un área bajo la curva de cada grupo, excepto que no se había administrado sacarosa, y comparando el valor con el de un grupo control en el que se había administrado sacarosa. Para evaluar los efectos sinérgicos o aditivos por los complejos en la presente evaluación, se usó 0,5% de metilcelulosa (MC) para preparar una suspensión con un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 a una dosis de 0,3 mg/kg, y 0,5% de MC también utilizado para preparar una suspensión con una composición de un inhibidor de α -glucosidasa y voglibosa a 0.009 mg/kg y 0.054 mg/kg (relación de complejo 1: 0.03~1: 0.18) de manera que se pueda incluir una relación compleja a una dosis clínica esperada en un estado donde se fijó una dosis de un compuesto preparado en el Ejemplo de Preparación 1. La voglibosa es un fármaco con el mismo mecanismo que la acarbosa, y los fármacos individuales se pesaron para tener una composición ((un compuesto

preparado en el ejemplo de preparación 1 0,3 mg + voglibosa 0,009 mg)/10 ml y (un compuesto preparado en el ejemplo de preparación 1 0,3 mg + voglibosa 0.054 mg)/10 ml y prepara 10 ml por kg de suspensión. Cuando la relación de mezcla es 1:0,03 o menos, o 1:0,18 o más, puede ocurrir poca eficacia o efectos secundarios adversos. Por lo tanto, la relación de mezcla se estableció en 1:0,03 ~ 1: 0,18.

5 Efectos sinérgicos por administración

Los resultados experimentales del porcentaje de inhibición de la glucosa en sangre en comparación con un grupo de control en experimentos se muestran en la Tabla 12, la Tabla 13 y la FIG. 7.

10 <Tabla 12> Porcentaje de inhibición durante la administración de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y voglibosa

[Tabla 12]

Fármaco administrado y dosis administrada (mg/kg)	Porcentaje de inhibición (%)
Un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 0.3	12
Voglibose 0.009	1
Voglibose 0.054	53

15 <Tabla 13> Porcentaje de inhibición durante la administración de una composición mixta de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y voglibosa

[Tabla 13]

	Fármaco administrado y dosis administrada (mg/kg)	Porcentaje de inhibición (%)
Ejemplo 4-1	Un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 0.3 + Voglibose 0.009	25
Ejemplo 4-2	Un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 0.3 + Voglibose 0.054	65

25 Como resultado del experimento, se exhibió un 12% de porcentaje de inhibición en el caso de un compuesto 1 preparado en el Ejemplo de preparación 1 a 0,3 mg/kg en comparación con un grupo de control. Cuando se utilizó voglibosa a 0,009 mg/kg y 0,054 mg/kg, el porcentaje de inhibición de la glucosa en sangre se calculó al 1% y 53%, respectivamente, en comparación con un grupo de control. Además, cuando se usaron complejos de un compuesto preparado en el Ejemplo de Preparación 1 a 0,3 mg/kg + voglibosa a 0,009 mg/kg y un compuesto preparado en el Ejemplo de Preparación 1 a 0,3 mg/kg + voglibosa a 0,054 mg/kg, el porcentaje de inhibición se calculó como 25% y 65,7%, respectivamente. Esto indica que se observaron efectos sinérgicos o aditivos superiores a la suma aritmética de administraciones únicas de fármacos individuales (Figura 7).

30 En resumen, se observaron mejoras en los efectos sinérgicos o aditivos sobre la relación de dosis amplia de 1:0,03 a 1:0,18 de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y voglibosa.

35 <Ejemplo experimental 5> Medición de los efectos sinérgicos de una composición mixta de un compuesto de Fórmula 1 y antagonista del receptor 1 cannabinoide

40 <5-1> Efectos sinérgicos de una composición mixta de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y rimonabant con respecto a una curva de cambio de glucosa en sangre OGTT mediante administración repetida

Sujeto experimental y método experimental

45 Para examinar los efectos sinérgicos por administración repetida de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y antagonista del receptor 1 cannabinoide, se evaluaron los efectos de la administración de 4 semanas en ratones obesos en una curva de cambio de glucosa en sangre OGTT y en la masa grasa. Los ratones con obesidad inducida por dieta obtenidos suministrando ratones experimentales (ratones C57BL/6) con forraje con alto contenido de grasa (60 kcal% de grasa, Research Diets, D12492) durante 5 meses se usaron como sujetos experimentales. Se usó 0,5% de metilcelulosa (MC) para preparar una suspensión del compuesto 1 preparado en el Ejemplo de preparación 1 con una composición de 0,3 mg/kg que se supone que es una dosis de eficacia efectiva mínima y 3 mg/kg. Se usaron 0,5% de MC para preparar una suspensión de rimonabant, un antagonista del receptor 1 cannabinoide con una composición de 3 mg/kg. Rimonabant tiene la misma estructura de núcleo parental que un

antagonista del receptor 1 cannabinoide, tal como Otenabant, lbinabant y Surinabant, y se prepararon 5 ml/kg del complejo del mismo en dosis de (0,3 mg de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 + 3 mg de rimonabant)/5 ml y (3 mg de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 + 3 mg/kg de rimonabant)/5 ml. Cuando la relación de mezcla es 1: 0.1 o menos, o 1:1 o más, la dosis puede exceder una dosis clínica diaria de rimonabant o puede ocurrir una eficacia deficiente. Por lo tanto, la relación de mezcla se estableció en 1: 1 ~ 1: 10.

Los ratones obesos se dejaron en ayunas durante 16 a 17 horas antes de los experimentos, se recogió sangre de las venas caudales de los ratones en la mañana del día del experimento y se midió un nivel de glucosa en sangre con un medidor de glucosa en sangre ACCU-CHEK ACTIVE (Roche Diagnostics). La composición farmacéuticamente mezclada de la presente invención se administró por vía oral 30 minutos antes de la administración de glucosa (-30 min), seguido de la administración oral de una solución de glucosa (2 g/kg/10 ml) después de 30 min (0 min). La extracción de sangre se hizo en puntos de tiempo designados, justo antes de la administración del fármaco, justo antes de la administración de glucosa, y 15, 30, 60, 90 y 120 minutos después de la administración de glucosa. El porcentaje de inhibición se calculó calculando un área bajo la curva de cada grupo y comparando el valor con el de un grupo de control en el que se había administrado la glucosa.

Efectos sinérgicos mediante administración

Los resultados experimentales del porcentaje de inhibición de glucosa en sangre en comparación con un grupo de control en experimentos se muestran en la Tabla 14, la Tabla 15 y la FIG. 8.

<Tabla 14> Porcentaje de inhibición de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y rimonabant por administración

[Tabla 14]

Fármaco administrado y dosis administrada (mg/kg)	Porcentaje de inhibición (%)
Un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 0.3	18.2
Un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 3	35.3
Rimonabant 3	1.1

<Tabla 15> Porcentaje de inhibición de una composición mixta de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y rimonabant por administración

[Tabla 15]

	Fármaco administrado y dosis administrada (mg/kg)	Porcentaje de inhibición (%)
Ejemplo 5-1	Un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 0.3 + Rimonabant 3	32.8
Ejemplo 5-2	Un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 3 + Rimonabant 3	30.7

El AUC de la sangre en 0,3 mg/kg y 3 mg/kg de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 se inhibió en un 18,2% y 35,3% en comparación con un grupo control. El AUC de la sangre en 3 mg/kg de rimonabant se inhibió en un 1,1%, en comparación con un grupo de control. Por el contrario, el AUC sanguíneo en 0,3 mg/kg de un compuesto preparado en el Ejemplo de Preparación 1 + 3 mg/kg de rimonabant o 3 mg/kg de un compuesto preparado en el Ejemplo de Preparación 1 + 3 mg/kg de rimonabant fue inhibido por 32,8% y 30,7%, respectivamente. Por lo tanto, se observaron efectos sinérgicos o aditivos (figura 8).

<5-2> Efectos de la reducción de la masa grasa mediante la administración repetida de una composición mixta de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y rimonabant

Sujeto experimental y método experimental

Los experimentos se realizaron sobre el sujeto experimental y el fármaco experimental de la misma manera que en el Ejemplo Experimental 5-1, la masa grasa se calculó como una suma de grasa epididimal y grasa retroperitoneal, y se midió la masa grasa 4 semanas después de la administración.

Los resultados se muestran en las siguientes Tablas 16 y 17.

<Tabla 16> Efectos de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y rimonabant en la reducción de la masa grasa

[Tabla 16]

Grupo experimental	Masa de grasa (g)	% de reducción
HF-DIO grupo de control	3.61 ± 0.20	-
Un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 0.3 mg/kg	3.67 ± 0.12	-1.65
Un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 3 mg/kg	3.29 ± 0.21	8.71
Rimonabant 3 mg/kg	2.11 ± 0.31*	41.5
*P>0.05 vs. HF-DIO grupo de control		

5 <Tabla 17> Efectos de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y rimonabant en la reducción de la masa grasa

[Tabla 17]

	Grupo experimental	Masa de grasa (g)	% de reducción
Ejemplo 5-1	Un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 0.3 mg/kg + Rimonabant 3 mg/kg	2.09 ± 0.32*	42.1
Ejemplo 5-2	Un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 3 mg/kg + Rimonabant 3 mg/kg	1.76 ± 0.35*	51.2
*P>0.05 vs. HF-DIO grupo de control			

10 Después de 4 semanas de administración, la masa grasa mediante la administración de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 a 0,3 mg/kg o 3 mg/kg se redujo en -1,65% y 8,71%, respectivamente, mientras que la masa grasa mediante la administración de un agonista del receptor 1 cannabinoide a 3 mg/kg se redujo en 41,5%.
 15 Además, la masa grasa mediante la administración de un compuesto preparado en el Ejemplo de Preparación 1 a 0,3 mg/kg + un antagonista del receptor 1 cannabinoide a 3 mg/kg o un compuesto preparado en el Ejemplo de Preparación 1 a 3 mg/kg + un antagonista del receptor 1 cannabinoide a 3 mg/kg se redujo en un 42,1% y 51,2%, respectivamente. Por lo tanto, se observaron efectos aditivos.

20 En consecuencia, se observaron efectos de mejora de la eficacia aditiva o sinérgica de un compuesto preparado en el Ejemplo de preparación 1 y un antagonista del receptor 1 cannabinoide en ratones obesos en la relación de dosis de 1: 1 a 1:10.

<Ejemplo de formulación> Preparación de una preparación farmacéutica

25 <1-1> Preparación de polvo

Una composición mixta de un compuesto preparado en Preparación

Ejemplo 1 y metformina	2 g
Lactosa	1 g

Los ingredientes anteriores se mezclan y se llenan en una bolsa hermética para preparar una formulación en polvo.

30 <1-2> Preparación de la formulación de tablet

Una composición mixta de un compuesto preparado en Preparación

Ejemplo 1 y metformina	100 mg
Almidón de maíz	100 mg
Lactosa	100 mg
Estearato de magnesio	2 mg

ES 2 656 812 T3

Los ingredientes anteriores se mezclan y luego se comprimen de acuerdo con un método de preparación convencional para preparar una formulación de tableta.

<1-3> Preparación de la formulación de la cápsula

5	Una composición mixta de un compuesto preparado en Preparación	
	Ejemplo 1 y metformina	100 mg
	Almidón de maíz	100 mg
	Lactosa	100 mg
	Estearato de magnesio	2 mg

10 Los ingredientes anteriores se mezclaron, y luego se sellaron en una cápsula de gelatina de acuerdo con un método de preparación convencional para preparar una formulación de cápsula.

<1-4> Preparación de la solución de inyección

	Una composición mixta de un compuesto preparado en Preparación	
	Ejemplo 1 y metformina	10 µg/ml
15	Se añadió ácido clorhídrico diluido BP hasta alcanzar pH 3,5	
	Cloruro de sodio BP para inyección	Max. 1 ml

20 Después de disolver el derivado 7α-aminoesteroide de Fórmula 1 en cloruro de sodio BP para inyección que tiene un volumen apropiado, el pH de la solución formada se ajustó a pH 3,5 con ácido clorhídrico BP diluido. El volumen de la solución se controló con cloruro de sodio BP para inyección, y luego se mezcló suficientemente. Después de llenar la solución en una ampolla Tipo I de 5 ml hecha de vidrio transparente, la ampolla se selló fundiendo la parte superior vacía de la muestra y se esterilizó durante más de 15 minutos a 120 ° C en un autoclave para preparar una solución de inyección.

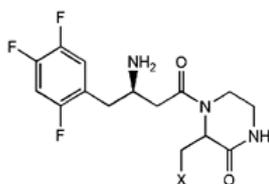
REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica para uso en la prevención y el tratamiento de la diabetes u obesidad, que comprende como ingredientes activos:

5 (1) un compuesto representado por la siguiente Fórmula 1, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un hidrato del mismo, o un solvato del mismo, y

10 (2) uno o más agentes antidiabéticos o antiobesidad diferentes, en donde los otros agentes antidiabéticos o antiobesidad se seleccionan del grupo que consiste en biguanidas, sensibilizadores a la insulina, secretagogos de insulina, inhibidores de α -glucosidasa y antagonistas del receptor 1 cannabinoide.

<Fórmula 1>



15 (donde, X es OR¹, SR¹, or NR¹R² en donde R¹ y R² son independientemente un alquilo C¹- C⁵ inferior, o R¹ y R² de NR¹R² pueden formar un anillo de 5 miembros a 7 miembros que contiene un heteroelemento de O)

2. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el compuesto representado por la Fórmula 1 se selecciona del grupo que consiste en:

- 20 1) (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona;
- 2) (S)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona;
- 25 3) (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(metoximetil)piperazin-2-ona;
- 4) (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(isopropoximetil)piperazin-2-ona;
- 30 5) (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(ciclopentiloximetil)piperazin-2-ona;
- 6) (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-[(dietilamino)metil]piperazin-2-ona;
- 7) (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-[(etilmetilamino)metil]piperazin-2-ona;
- 35 8) (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(morfolinometil)piperazin-2-ona; and
- 9) (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butiltiometil)piperazin-2-ona.

3. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la sal farmacéuticamente aceptable se selecciona del grupo que consiste en ácido acético, ácido bencenosulfónico, ácido benzoico, ácido canforsulfónico, ácido cítrico, ácido etanosulfónico, ácido fumárico, ácido glucónico, ácido glutámico, ácido bromhídrico, ácido clorhídrico, ácido isetiónico, ácido láctico, ácido málico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido múxico, ácido nítrico, ácido pamoico, ácido pantoténico, ácido fosfórico, ácido succínico, ácido sulfúrico, ácido tartárico, ácido p-tolueno sulfónico y ácido adípico.

4. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, donde el compuesto representado por la siguiente Fórmula 1, la sal farmacéuticamente aceptable del mismo, el hidrato del mismo, o el solvato del mismo es un inhibidor de Dipeptidil Peptidasa-IV (DPP-IV).

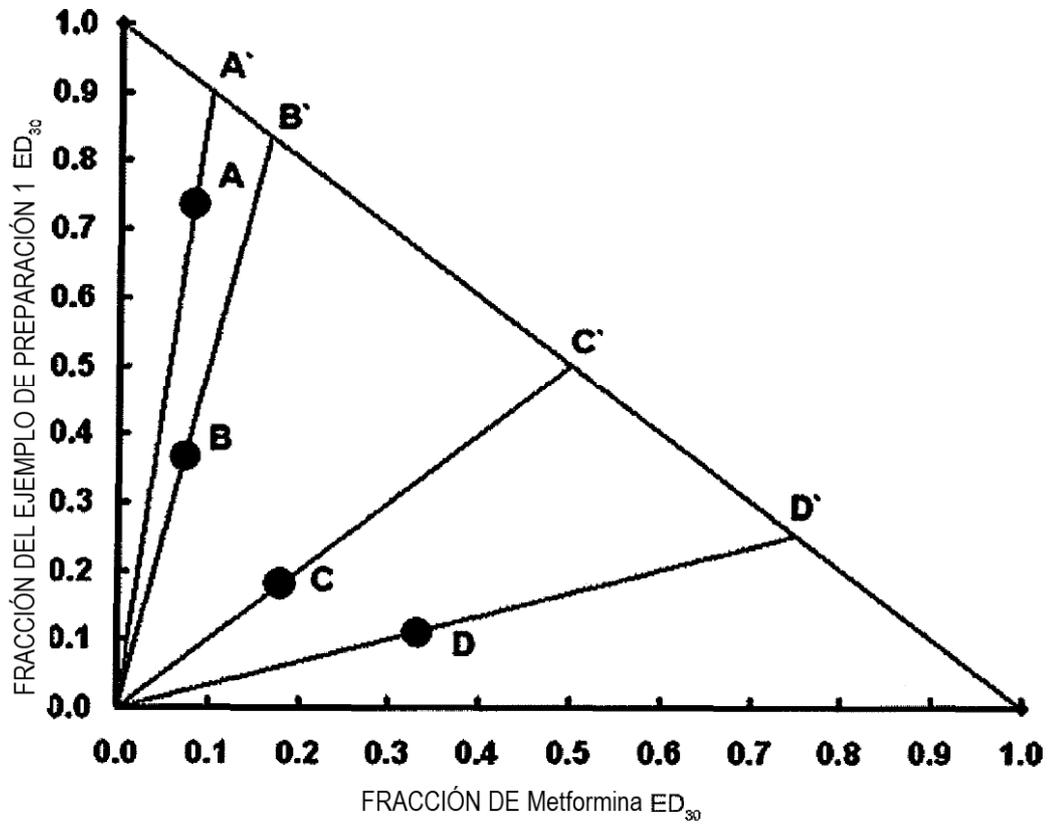
5. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde los otros agentes antidiabéticos o antiobesidad son Biguanidas.

6. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 5, en donde la Biguanida es metformina, buformina o fenformina.

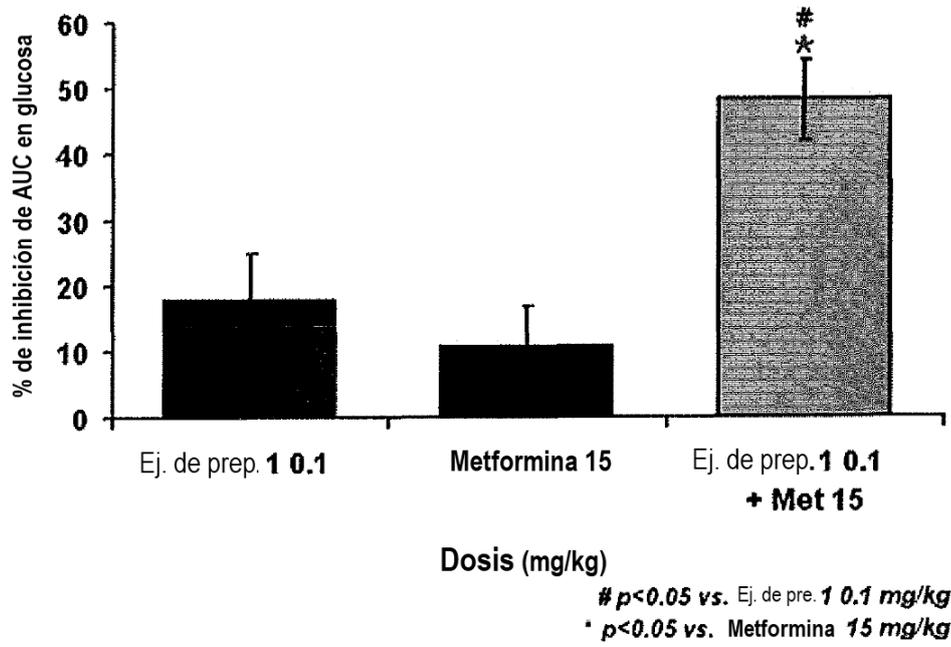
55 7. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 5, en donde la composición farmacéutica comprende de 16,7 a 450 partes en peso de Biguanida en base a 1 parte en peso del compuesto 1 representado por la Fórmula 1.

8. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde los otros agentes antidiabéticos o antiobesidad son sensibilizadores a la insulina.
- 5 9. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 8, en donde el sensibilizador a la insulina tiene una estructura de tiazolidin-diona (TZD).
- 10 10. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 8, en donde el sensibilizador a la insulina se selecciona del grupo que consiste en troglitazona, ciglitazona, rosiglitazona, pioglitazona y englitazona.
- 10 11. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 8, en donde la composición farmacéutica comprende de 0,01 a 0,4 partes en peso del sensibilizador a la insulina basado en 1 parte en peso del compuesto representado por la Fórmula 1.
- 15 12. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde los otros agentes antidiabéticos o antiobesidad son secretagogos de insulina.
- 20 13. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 12, en donde el secretagogo de insulina se selecciona del grupo que consiste en glibenclamida (gliburida), glipizida, gliclazida, glimepirida, tolazamida, tolbutamida, acetohexamida, carbutamida, clorpropamida, glibornurida, gliquidona, glisentida, glisolamida, glixoxepida, gliclopiamida, glicilamids, glipentida, repaglinida, y nateglinida.
- 25 14. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 12, en donde la composición farmacéutica comprende de 0,2 a 3,2 partes en peso del secretagogo de insulina basado en 1 parte en peso del compuesto representado por la Fórmula 1.
- 30 15. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde los otros agentes antidiabéticos o antiobesidad son inhibidores de α -glucosidasa.
- 30 16. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 15, en donde el inhibidor de α -glucosidasa se selecciona del grupo que consiste en acarbosa, voglibosa, emiglitalo y miglitol.
- 35 17. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 15, en donde la composición farmacéutica comprende de 0,03 a 0,18 partes en peso del inhibidor de α -glucosidas basado en 1 parte en peso del compuesto representado por la Fórmula 1.
- 40 18. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde los otros agentes antidiabéticos o antiobesidad son antagonistas del receptor 1 cannabinoide.
- 40 19. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 18, en donde el antagonista del receptor 1 cannabinoide se selecciona del grupo que consiste en Rimonabant, Otenabant, Ibinabant y Surinabant.
- 45 20. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 18, en donde la composición farmacéutica comprende de 1 a 10 partes en peso del antagonista del receptor 1 cannabinoide basado en 1 parte en peso del compuesto representado por la Fórmula 1.
- 45 21. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, donde el compuesto representado por la siguiente Fórmula 1, la sal farmacéuticamente aceptable del mismo, el hidrato del mismo, o el solvato del mismo, y los otros agentes antidiabéticos o antiobesidad se premezclan para formulación o formulado por separado.
- 50 22. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la composición farmacéutica se formula para administrarse por vía oral.

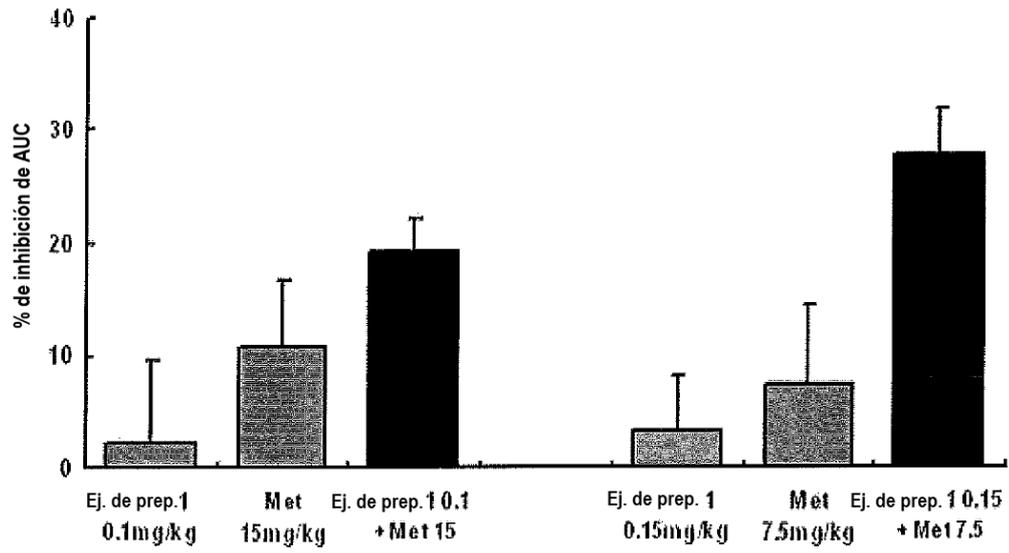
[Fig.1]



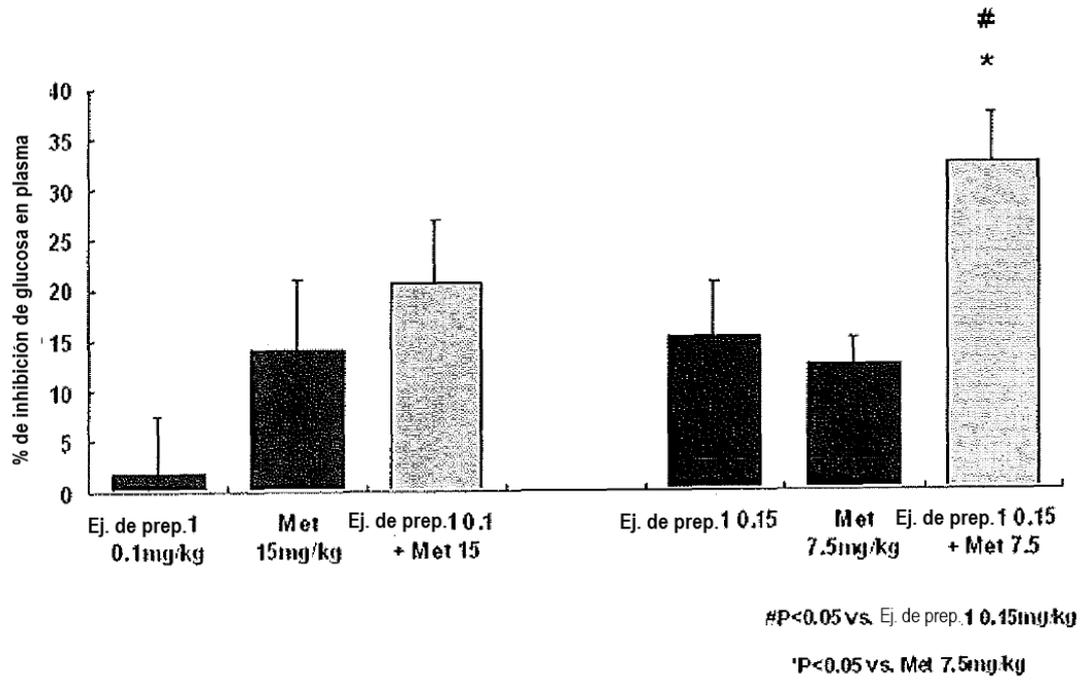
[Fig.2]



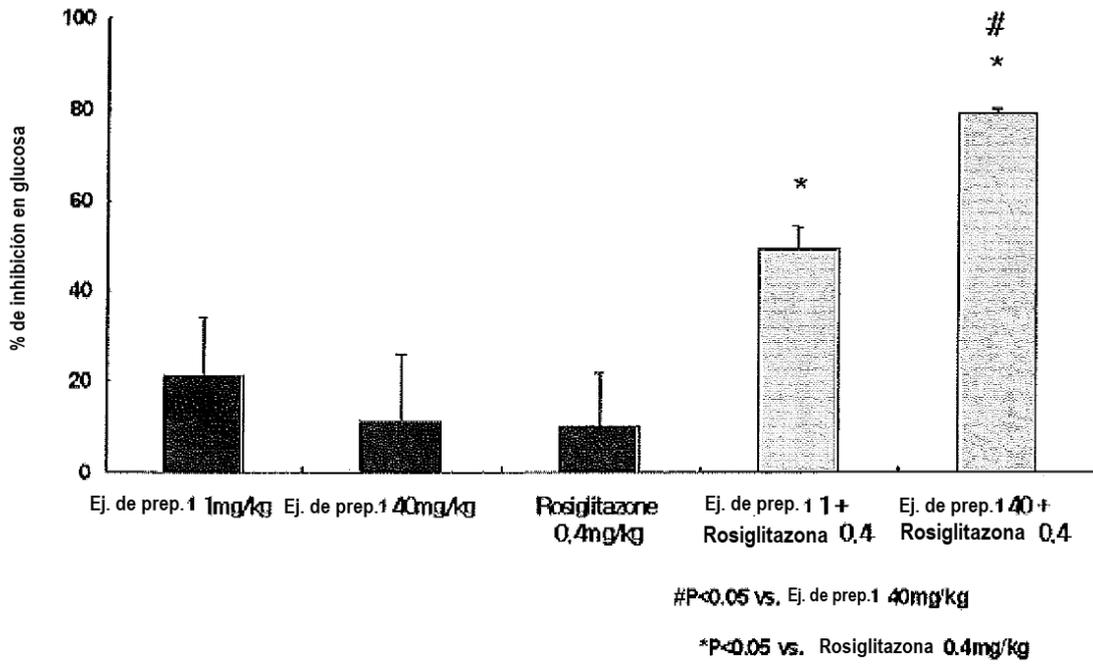
[Fig. 3]



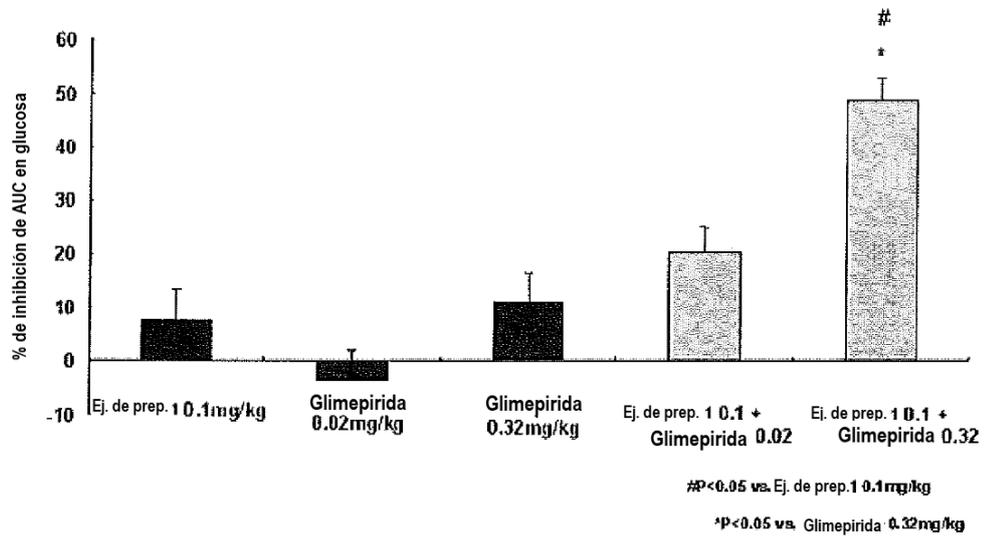
[Fig. 4]



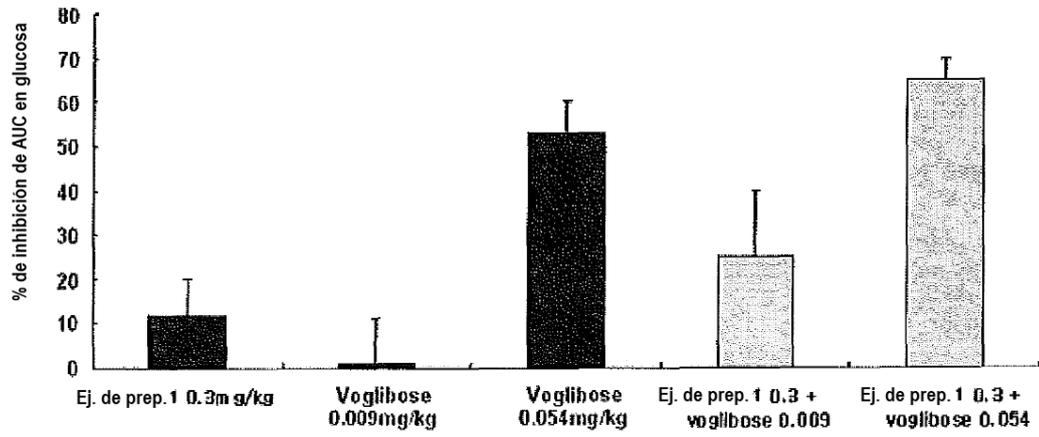
[Fig. 5]



[Fig. 6]



[Fig. 7]



[Fig. 8]

