

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5911514号  
(P5911514)

(45) 発行日 平成28年4月27日(2016.4.27)

(24) 登録日 平成28年4月8日(2016.4.8)

(51) Int.Cl.

F I

C O 7 C 279/26 (2006.01)

C O 7 C 279/26 C S P

C O 7 C 51/41 (2006.01)

C O 7 C 51/41

C O 7 C 57/03 (2006.01)

C O 7 C 57/03

A 6 1 K 31/202 (2006.01)

A 6 1 K 31/202

A 6 1 K 31/155 (2006.01)

A 6 1 K 31/155

請求項の数 15 (全 13 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2013-549539 (P2013-549539)  
 (86) (22) 出願日 平成24年1月12日(2012.1.12)  
 (65) 公表番号 特表2014-512333 (P2014-512333A)  
 (43) 公表日 平成26年5月22日(2014.5.22)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2012/021070  
 (87) 国際公開番号 W02012/097144  
 (87) 国際公開日 平成24年7月19日(2012.7.19)  
 審査請求日 平成27年1月13日(2015.1.13)  
 (31) 優先権主張番号 61/461, 113  
 (32) 優先日 平成23年1月12日(2011.1.12)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)  
 (31) 優先権主張番号 13/348, 265  
 (32) 優先日 平成24年1月11日(2012.1.11)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 513177772  
 テティス・ファーマシューティカルズ・エ  
 ルエルシー  
 アメリカ合衆国・コネチカット・0689  
 0・サウスポート・オールド・ポスト・ロ  
 ード・167  
 (74) 代理人 100108453  
 弁理士 村山 靖彦  
 (74) 代理人 100064908  
 弁理士 志賀 正武  
 (74) 代理人 100089037  
 弁理士 渡邊 隆  
 (74) 代理人 100110364  
 弁理士 実広 信哉

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 脂質低下抗糖尿病薬

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

メトホルミンとドコサヘキサエン酸との塩、またはメトホルミンとエイコサペンタエン酸およびドコサヘキサエン酸の混合物との塩である、固体化合物。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の化合物、および薬学的に許容可能な担体、ビヒクル、または希釈剤を含む、医薬組成物。

【請求項 3】

請求項 1 に記載の化合物または請求項 2 に記載の医薬組成物を含む単位剤形、使用のための指示、および前記単位剤形を収容するための少なくとも 1 つの容器を含むキット。

【請求項 4】

糖尿病、トリグリセリドの上昇、前糖尿病、肥満、心不整脈、心筋症または心筋梗塞から選択される哺乳類の症状を治療するための、請求項 2 に記載の医薬組成物。

【請求項 5】

a) 好適なメトホルミン塩からメトホルミンの遊離塩基を新しく調製すること；および  
 b) 新しく調製したメトホルミンの遊離塩基を、ドコサヘキサエン酸、またはエイコサペンタエン酸およびドコサヘキサエン酸の混合物と、1 から 60 の間の温度で反応させることを含む、請求項 1 に記載の化合物を製造するための方法。

【請求項 6】

治療が必要である被験者の血清トリグリセリドを低下するための、請求項 2 に記載の医

10

20

薬組成物。

【請求項 7】

前記被験者が、200 mg / d L を超える血清トリグリセリド濃度を有する、請求項 6 に記載の医薬組成物。

【請求項 8】

前記被験者が高トリグリセリド血症である、請求項 6 に記載の医薬組成物。

【請求項 9】

前記被験者が、発展中の糖尿病、前糖尿病状態、肥満、心不整脈、心筋梗塞、および高血清トリグリセリド濃度に起因する脳卒中を示す、またはこれらのリスクを有する被験者からなる群からさらに選択される、請求項 6 に記載の医薬組成物。

10

【請求項 10】

以下の工程：

アセトニトリル中のメトホルミン遊離塩基の濃縮溶液に、ドコサヘキサエン酸、またはエイコサペンタエン酸およびドコサヘキサエン酸の混合物を室温で滴下して加える工程、  
反応混合物を、光から防護された容器中で、1 時間室温で攪拌する工程、  
前記反応混合物を、1 時間、0 で冷却する工程、および  
冷却された前記反応混合物を窒素雰囲気下で濾過し、粉末になるまで乾燥させる工程、  
を含む、請求項 1 に記載の化合物を製造する方法。

【請求項 11】

メトホルミンとエイコサペンタエン酸との塩である、固体化合物。

20

【請求項 12】

請求項 11 に記載の化合物、および薬学的に許容可能な担体、ビヒクル、または希釈剤を含む、医薬組成物。

【請求項 13】

請求項 11 に記載の化合物または請求項 12 に記載の医薬組成物を含む単位剤形、使用のための指示、および前記単位剤形を収容するための少なくとも 1 つの容器を含むキット

。

【請求項 14】

糖尿病、トリグリセリドの上昇、前糖尿病、肥満、心不整脈、心筋症または心筋梗塞から選択される哺乳類の症状を治療するための、請求項 12 に記載の医薬組成物。

30

【請求項 15】

a) 好適なメトホルミン塩からメトホルミンの遊離塩基を新しく調製すること；および  
b) 新しく調製したメトホルミンの遊離塩基を、エイコサペンタエン酸と 1 から 60 の間の温度で反応させることを含む、請求項 11 に記載の化合物を製造するための方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、その内容を参照により本明細書に組み込む、2011 年 1 月 12 日出願の米国仮特許出願第 61 / 461, 113 号および 2012 年 1 月 11 日出願の米国特許出願第 13 / 348, 265 号の優先権を主張する。

40

【0002】

本発明は、ピグアニドと多価不飽和脂肪酸の塩に関する。

【背景技術】

【0003】

糖尿病は世界的に広まる流行病になっており、世界保健機構の予測によれば、2030 年までに糖尿病患者の数は急激に増大すると見られる。これは不吉な予測である。なぜなら、糖尿病の長期の合併症には、腎症、神経症、網膜症、および心血管系の合併症が含まれ、これらを管理するには、公的な医療予算に重大な影響が及ぶからだ。糖尿病の顕著な特徴は血糖値の慢性的な上昇である。血糖値の異常な上昇は、主要な糖尿病組織における

50

グルタチオン濃度にも悪影響を及ぼすことも、また、知られている。さらに、酸化ストレスの増加および反応の早い酸素種の産生の増加も、高血糖状態下では関係する。

【0004】

インスリンの早期の発見およびそれに続く糖尿病治療でのインスリンの広範な使用、ならびにその後のスルホニル尿素類、およびチアゾリデンジオン類、例えばトログリタゾン (troglitazone)、ロシグリタゾン (rosiglitazone) またはピオグリタゾン (pioglitazone) などの発見および経口血糖降下薬としてのそれらの使用にも関わらず、糖尿病の治療は満足できないままに留まっている。

【0005】

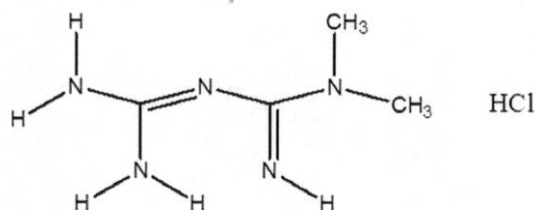
インスリンの使用には、通常、自己注射による1日に複数回の投与が必要とされる。インスリンの適正な投与量の決定には、尿または血中の糖の頻繁な概算が必要となる。非インスリン依存型糖尿病(2型糖尿病、NIDDM)の治療は、通常、食事療法、運動、経口血糖降下薬、例えば、チアゾリデンジオン類、およびより重症な症例では、インスリンの組合せから成る。しかしながら、臨床的に利用できる血糖降下薬は、それらの使用を制限する副作用を有しているか、または薬剤がある患者には有効でない可能性がある。インスリン依存型糖尿病(I型)では、インスリン投与が、通常、主要な治療過程を構成する。

【0006】

ビグアニドメトホルミンは、米国食品医薬品局により、糖尿病の治療的処置に対して認可されている既知の化合物である。この化合物ならびにその調製および調整は、例えば、米国特許第3,174,901号で開示されている。メトホルミンは、2型糖尿病の治療において経口で有効である。メトホルミン(N,N-ジメチルイミドジカルボンイミド酸ジアミド)は、その塩酸塩、1,1-ジメチルビグアニド塩酸塩の形式(式1a)で米国において、現在、市場に出荷されているビグアニド抗高血糖治療薬である。

【0007】

【化1】



式1a

【0008】

メトホルミン塩酸塩は市販品を購入することができ、さらに、例えば、J. Chem. Soc., 1922年、121巻、1790頁に開示されている要領で調製することもできる。

【0009】

米国特許第7,973,073 B2 (Mylari)は、メトホルミンR-(+)リガ酸塩の使用が糖尿病または糖尿病の合併症の治療に有用であるとして記述している。

【0010】

米国特許公開第2005/0165102号は、輸送成分(脂肪酸が言及されている)を有する薬物(メトホルミンが言及されている)の複合体を使って、使用されている薬物の吸収を高め、その送達を制御することが記述されている。言及された脂肪酸錯化剤の中には、カプリン酸塩、ラウリン酸塩、パルミチン酸塩、およびオレイン酸塩がある。

【0011】

米国特許公開第2005/0182029号は、親油性酸塩(脂肪酸が言及されている

10

20

30

40

50

)のメトホルミン塩およびそれらの製剤処方、ならびに高血糖の治療のためのメトホルミン塩の投与方法を記述している。

【0012】

英国の見方による糖尿病試験 (United Kingdom Prospective Diabetes Study: UKPDS) (Clarkeら、Diabetologia、2005年、48巻、868~877頁)によれば、メトホルミン治療は、費用を節約し、質を調整した平均余命を増加する。このUKPDSでは、メトホルミンによる初期治療に無作為に割り当てられた体重過多および肥満の患者は、心筋梗塞および糖尿病関連の死亡の顕著な減少を経験した。メトホルミンは、体重増加を促進せず、いくつもの心臓血管系の危険因子に対して有益な効果を有する。したがって、メトホルミンは、2型糖尿病の患者のほとんどにとって選択すべき薬物と広く認識されている。

10

【0013】

前糖尿病はシンドロームである。2型糖尿病およびメタボリックシンドロームとして知られる前糖尿病症状を有する患者の多くは、トリグリセリドの上昇を含め、様々な脂質疾患を患う。身体は脂肪を蓄えるためにトリグリセリドを使うが、高い(>200mg/dl)および非常に高い(>500mg/dl)濃度のトリグリセリドは、心臓発作および脳卒中の患者リスクを増加するアテローム硬化症を伴う。

【0014】

耐糖能異常を伴う初期糖尿病は、もう1つの前糖尿病の症状である。全体として、2型糖尿病および耐糖能異常を伴う初期糖尿病は肥満、高トリグリセリド血症を含む脂質異常症、ならびに、不整脈、心筋症、心筋梗塞、脳卒中、および心不全を含む心臓血管系の合併症と密接に関連している。臨床的に、前糖尿病は、血糖値が正常値より高いが、2型糖尿病と分類されるまでにはまだ増加していないことを意味する。しかしながら、介入をしないと、前糖尿病はやがて2型糖尿病になる可能性が高い。

20

【0015】

糖尿病患者には、足および下肢の傷の治癒が遅いという現象で現れる、循環障害も起こり、患者は切断のリスクに置かれる。

【0016】

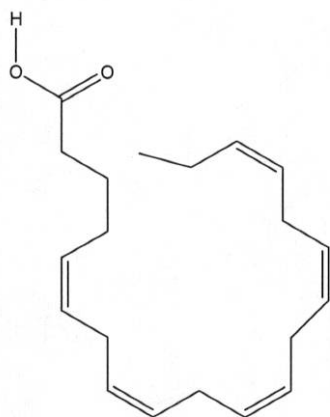
上昇したトリグリセリドは、食事療法および運動によって低下されることもあり得る、ナイアシンおよび一般に魚油として知られるオメガ3脂肪酸は、高トリグリセリド血症の管理に頻繁に利用される。オメガ3脂肪酸は、メチル末端、3位からの3つの炭素の末端二重結合を有する不飽和カルボン酸である。オメガ3脂肪酸は一般に、サケ、サバおよびメンハーデンから抽出される。イカおよびオキアミなどの他の海洋資源から抽出されることもある。オメガ3脂肪酸は市販されている。魚から最も一般的に抽出されるオメガ3脂肪酸は、エイコサペンタエン酸およびドコサヘキサエン酸である。これらの化合物は、肥満、不整脈および心筋梗塞の治療に有益な効果があることが示されており、以下の構造を有する：

30

エイコサペンタエン酸：

【0017】

## 【化 2】



構造 1

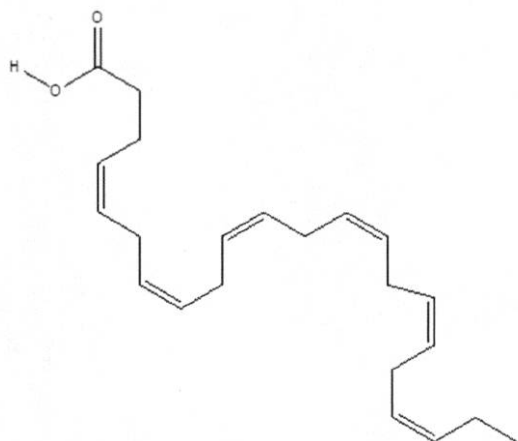
10

## 【 0 0 1 8 】

ドコサヘキサエン酸：

## 【 0 0 1 9 】

## 【化 3】



構造 2

20

30

## 【 0 0 2 0 】

レゾルピンは、有力な抗炎症および免疫調節作用を有するポリヒドロキシル化オメガ 3 脂肪酸の特殊クラスである。レゾルピンのこのような生物学的作用は、心臓血管系および糖尿病症状に顕著な役割を果たすものと考えられている。

## 【先行技術文献】

## 【特許文献】

## 【 0 0 2 1 】

40

【特許文献 1】米国特許第 3, 174, 901 号

【特許文献 2】米国特許第 7, 973, 073 号

【特許文献 3】米国特許公開第 2005 / 0165102 号

【特許文献 4】米国特許公開第 2005 / 0182029 号

## 【非特許文献】

## 【 0 0 2 2 】

【非特許文献 1】J. Chem. Soc., 1922 年、121 巻、1790 頁

【非特許文献 2】Clarke ら、Diabetologia、2005 年、48 巻、868 ~ 877 頁

## 【発明の概要】

50

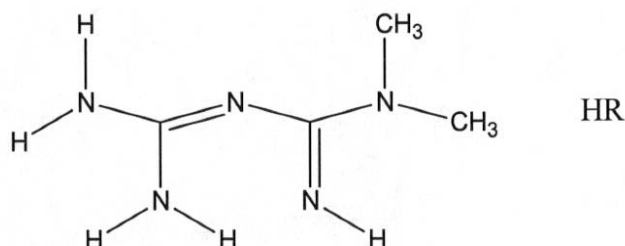
## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0023】

本発明は、式 I の化合物を提供する：

## 【0024】

## 【化 4】



10

## 【0025】

式中、HR は、1～3 のヒドロキシ基によって任意で置換されるオメガ 3 多価不飽和 C<sub>16</sub>～C<sub>24</sub> 脂肪酸である。

## 【0026】

これらの化合物は、通常、ピグアニド成分にプロトンが付加され、酸成分が少なくとも部分的にはイオン形式になっている、メトホルミンとオメガ 3 多価不飽和脂肪酸 (RH) との塩の形式の化合物である。しかしながら、いくつかの場合、例えば、環境の pH によっては、組成物は、ピグアニドと酸成分の混合物の形式となり得る。本発明は、また、式 I の組成物と薬学的に許容可能な賦形剤とを含む薬学的組成物も提供する。本発明は、さらに、糖尿病 (特に 2 型糖尿病)、肥満、心不整脈、心筋梗塞およびトリグリセリド値の上昇の治療のための方法を提供する。本発明の化合物および組成物は、好ましくは経口投与により、患者に投与したとき、構造 1 の化合物の高血中濃度をも提供し得る。

20

## 【0027】

とりわけ有用な化合物は、HR が、4, 7, 10, 13, 16, 19 - ドコサヘキサエン酸、5, 8, 11, 14 - エイコサペンタエン酸およびこれらの酸に由来するレゾルピン、例えば、レゾルピン E 1 として知られる 5, 12, 18 - トリヒドロキシエイコサペンタエン酸、レゾルピン E 2 として知られる 15, 18 - ジヒドロキシエイコサペンタエン酸、レゾルピン D 1 として知られる 7, 8, 17 - トリヒドロキシドコサヘキサエン酸、およびレゾルピン D 2 として知られるその 7, 16, 17 - トリヒドロキシエピマー、レゾルピン D 3 として知られる 4, 11, 17 - トリヒドロキシドコサヘキサエン酸、レゾルピン D 4 として知られる 4, 5, 17 - トリヒドロキシドコサヘキサエン酸などの必須オメガ 3 不飽和結合に加えて、4 または 5 の不飽和結合を有する 20 または 22 の炭素原子の脂肪酸である化合物である。

30

## 【発明を実施するための形態】

## 【0028】

本発明は、メトホルミンとオメガ 3 多価不飽和脂肪酸との塩である、式 I の化合物に関し、その任意の多形体、溶媒和物および水和物を含むものとする。

40

## 【0029】

1 つの好ましい実施形態において、RH はレゾルピンである。最も好ましい実施形態において、RH はエイコサペンタエン酸またはドコサヘキサエン酸である。

## 【0030】

本発明の化合物は、デザイナー二重作用薬 (designer dual-acting drugs) とみなすことができ、高度な水溶性の結果として、それらの化合物の成分のバイオアベイラビリティを向上する手段を追加的に有する。

## 【0031】

ある実施形態において、本発明は、メトホルミンまたはその薬学的に許容可能な塩 (例えば、塩酸塩、コハク酸塩、フマル酸塩) とオメガ 3 多価不飽和脂肪酸 (RH) またはそ

50

これらの薬学的に許容可能な塩との混合物に関する。1つの好ましい実施形態において、R Hはレゾルピンである。最も好ましい実施形態において、R Hはエイコサペンタエン酸またはドコサヘキサエン酸である。

【0032】

本発明は、式Iの化合物および薬学的に許容可能な担体、ビヒクルまたは希釈剤を含む、本発明の医薬組成物を提供する。

【0033】

医薬組成物は、例えば、錠剤、カプセル、丸薬、粉末、持続的放出製剤、液体、懸濁液など、経口投与に好適な形態、無菌液、懸濁液または乳剤など、非経口注射に好適な形態としてよい。このような組成物およびそれらの調製方法は、例えば、「Remington's Pharmaceutical Sciences」、19版(Mack Publishing Company、1995年)に記載されている。この医薬組成物は、10  
、精確な投与量を単回投与するのに適した単位投与量形態としてもよい。この医薬組成物は、従来の医薬担体または賦形剤および活性化合物を含む。

【0034】

経口投与に適した製剤は、錠剤、微粒子、液体または粉末を含有するカプセル、ロゼンジ剤(液体を充填したロゼンジ剤も含む)、咀嚼剤などの固形剤、マルチおよびナノ微粒子、ゲル、固溶体、リポソーム、フィルム、腔坐剤(ovule)、スプレー、および液体製剤を含む。

【0035】

錠剤剤形は、通常、崩壊剤(デンプングリコール酸ナトリウム、カルボキシメチルセルロースナトリウム、カルボキシメチルセルロースカルシウム、ポリビニルピロリドン、メチルセルロース、微結晶性セルロース、低級アルキル置換ヒドロキシプロピルセルロース、デンプン、アルファ化デンプンおよびアルギン酸ナトリウムなど)、結合剤(微結晶性セルロース、ゼラチン、糖、ポリエチレングリコール、天然および合成ガム、ポリビニルピロリドン、アルファ化デンプン、ヒドロキシプロピルセルロース、およびヒドロキシプロピルメチルセルロースなど)、ならびに潤滑剤(ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸亜鉛、フマル酸ステアリルナトリウム、およびステアリン酸マグネシウムとラウリル硫酸ナトリウムとの混合物など)も含有する。ラクトース、マンニトール、キシリトール、デキストロース、スクロース、ソルビトール、微結晶性セルロース、デンプンおよびリン酸水素カルシウム二水和物などの希釈剤も存在し得る。本発明の組成物は、また、例えばゼラチンまたはヒドロキシプロピルメチルセルロースで作られたカプセルなどとして投与することもできる

【0036】

液体製剤は、懸濁液、液体、シロップ、およびエリキシル剤を含む。このような製剤は、軟カプセルまたは硬カプセルに詰めた充填剤として使用することもでき、典型的には、例えば、水、エタノール、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、メチルセルロース、または適切な油などの担体を含有する。液体製剤は、また、例えば小袋(sachet)からの固体の再構成により調製することもできる。本発明の組成物は、LiangとChen(2001年)による「Expert Opinion in Therapeutic Patents」、11(6)、981~986頁に記述されたものなど、速やかに溶解し、速やかに崩壊する剤形で使用されることもできる。

【0037】

その他の製剤は、当業者には明白である。

【0038】

本発明は、さらに、式Iの組成物を治療に有効量投与することによる、治療または糖尿病、特に2型糖尿病、前糖尿病、肥満、不整脈、心筋梗塞および脳卒中などの症状を発現するリスクを低下するための方法を提供する。このような組成物は、また、被験者のトリグリセリド濃度を低下する目的にも使用することができるので、高トリグリセリド濃度によって悪化した糖尿病の治療にも役割を持つ。適切な投与量は従来の手段によって求め

10

20

30

40

50

られ得る。

【0039】

本発明の化合物のトリグリセリド低下効能は、S i d i k aらが記述した手順(J o u r n a l o f L i p i d R e s e a r c h、1992年、33巻、1~7頁)に従う動物モデルで求めることが可能である。

【0040】

以下の例は、心臓および心臓組織の虚血後の損傷の治療および予防のための方法に通じる症状を求める目的で使用し得る糖尿病ラットモデルを記述している。

【0041】

ウースターのマサチューセッツ大学医療センター(the University of Massachusetts Medical Center)で維持されているコロニー由来の自発症糖尿病のB i o - B r e d (B B / W)ラットをこの調査では使用した。B B / Wラットは、自己免疫のヒトインスリン依存の糖尿病(I D D M)の有用なモデルと考えられるため、本調査で選ばれた。ヒトのI D D Mと同様に、自然発症性糖尿病は、青年期の間に、体重減少、高血糖症、低インスリン血症、およびケトン尿症を特徴とする臨床的突発を伴って現れる。ヒトの糖尿病の場合におけるように、網膜、心筋、肝臓、腎臓、骨代謝および末梢神経における病変がすべてB Bラットにおいて十分に立証されており、これはD i a b . M e t a b . R e v .、8:9頁(1992年)に記載されている。そのB B / Wラットは、月齢3~4ヶ月であり、体重は300~350gの間である。そのB B / Wラットは、高血糖状態に導くように毎日インスリンを受け、単離心臓灌流検査を実施する前の24時間はそれを中断した。これらのラットは、急性的に糖尿病になったものであり、毎日 $2.02 \pm 0.04$ 単位のインスリンを受け、少なくとも $12 \pm 3$ 日間は糖尿病になっていた。これらの糖尿病のラットにおける平均血糖値は、 $386 \pm 24$ mg/dLだった。年齢をマッチさせた非糖尿病のコントロールは $92 \pm 12$ mg/dLの平均血糖値を有する。

【0042】

単離灌流心臓モデル

この実施例は、本発明の開発に使用した単離したラットの灌流心臓モデルについて記述する。検査は、一定容積の単離したラットの心臓標本を用いて行う。急性的に糖尿病になったオスのB B / Wラットと非糖尿病の年齢をマッチさせた(3~4ヶ月)コントロールとをヘパリン(1000u;腹腔内)により事前に処置し、続いてペントバルビタールナトリウム(65mg/kg;腹腔内)により処置する。足の反射のないことにより判定される深い麻酔が達成された後、その心臓を速やかに摘出し、氷で冷やした生理食塩水中に入れる。その静止した心臓を、それらの摘出後2分以内に大動脈中の非再循環モデルで逆行灌流させる。最大左心室圧(L V D P)を圧力トランスジューサーに接続されている高圧管を有する左心室内のラテックス製の風船を用いて測定する。灌流圧を灌流ラインから離れた高圧管を用いて監視する。血行動態計測を4チャンネルのG o u l dレコーダーに記録する。そのシステムは、灌流媒体を急速に変化させることを可能にする共通の温度制御以外は別々の人工肺、ポンプおよび気泡トラップを備えた2つの平行する灌流ラインを有する。その心臓は、正確なローラーポンプを用いて灌流する。その灌流液は、118mMのNaCl、0.47mMのKCl、12mMのCaCl<sub>2</sub>、12mMのMgCl<sub>2</sub>、25mMのNaHCO<sub>3</sub>および基質のグルコース11mMからなる。その灌流装置は、全状況下で心臓温度を $37 \pm 0.5$ に維持するために灌流液および灌流管の周りの水ジャケットのために加熱バスを使用して温度を厳重に制御する。室温の容器中の酸素を送り込んだ灌流液を、37の蒸留水で取り巻かれている25フィートの薄肉のシリコンチューブを通過させ、95%酸素を飽和させる。その灌流液は、次に水ジャケットした(37)管に入り、水ジャケットした気泡トラップを通して心臓に至る。この調整は、規定どおり3~4時間にわたって安定している優れた酸素化を提供する。

【0043】

ゼロフロー虚血のモデル



この実施例は、糖尿病コントロール心臓、処置した糖尿病の心臓、処置した非糖尿病心臓、およびコントロールの単離した心臓におけるゼロフロー虚血の検査に使用した手順を記述する。糖尿病コントロール(DC)、処置した糖尿病(DZ)、正常(C)のコントロールおよび処置した正常(CZ)の心臓を、20分間の正常酸素圧の灌流、続いての20分間の灌流液の流れが完全に止められるゼロフローの虚血、続いての60分間の再灌流にかける。心臓は、10  $\mu$ Mのメトホルミンエイコサペンタエン酸により処置する。メトホルミンエイコサペンタエンで処置した糖尿病群(DZ)においては、心臓を正常のKrebs-Henseleit緩衝液による10分間の正常酸素圧の灌流および10  $\mu$ Mのメトホルミンエイコサペンタエン酸を含有するKrebs-Henseleit緩衝液による10分間の正常酸素圧の灌流にかける。それらの心臓を、次に、20分間のゼロ

10

#### 【0044】

##### 低流動性虚血のモデル

この実施例は、糖尿病コントロール心臓、処置した糖尿病の心臓、処置した非糖尿病心臓、および非糖尿病のコントロールの単離した心臓における低流動性虚血の検査のために使用する手順を記述する。糖尿病コントロール心臓(DC)を、20分間の流速12.5 mL/分の正常酸素圧の灌流に、続いて灌流の流れを正常な灌流の約10%である1.25 mL/分に減速した30分間の低流動性虚血に、続いて正常な流速(12.5 mL/分)

20

#### 【0045】

本明細の化合物の糖尿病および糖尿病性合併症に対する効果を測定するための動物モデルは、Tirabassiらにより、ILAR Journal、2004年、45

30

#### 【0046】

本発明は、以下の非制限的な実施例により裏付けられる。

#### 【実施例】

#### 【0047】

##### 実施例1

{[アミノ(イミノ)メチル]アミノ}(ジメチルアミノ)メタニミニウム(5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z)-エイコサ-5, 8, 11, 14, 17-ペンタエノアート)の調製

40

#### 【0048】

N, N-ジメチルイミドジカルボンイミド・ジアミド。N, N-ジメチルイミドジカルボンイミド・ジアミド塩酸塩(4.01 g、24.3 mmol)を、1 Nの水酸化ナトリウム(24.2 mL、24.2 mmol)に溶解し、室温で30分間攪拌した。溶液を真空で濃縮し、残渣にエタノール(80 mL)を添加した。共沸により水分を除去するために、混合物を注意して濃縮した。得た固体に、EtOH(60 mL)を添加し、懸濁液を

50

濾過して、沈殿したNaClを除去した。濾過物を濃縮し、得た固体を一晩、高真空中に置き、白色固体としてメトホルミン3.18g(102%)を生じた。

【0049】

{[アミノ(イミノ)メチル]アミノ}(ジメチルアミノ)メタニミニウム(5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z)-エイコサ-5, 8, 11, 14, 17-ペンタエノート。メトホルミン遊離塩基(2.67g、20.7mmol)をアセトニトリル(100mL)に溶解し、得た溶液をメディアムフリット(medium frit)を通して濾過し、沈殿していた少量のNaClを除去した。濾過物に、室温で(5分の期間をかけて)、(5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z)-エイコサ-5, 8, 11, 14, 17-ペンタン酸(5.40g、17.8mmol)を含むアセトニトリル(30mL)溶液を滴下した。白色の固体が酸の添加後、直ちに沈殿した。反応フラスコを光から防護するためにホイルで包んだ。混合物を室温で1時間攪拌した後、1時間0で冷却し、その後、窒素雰囲気下で濾過した。得た固体を50mLのアセトニトリルで洗浄した後、ホイルで包んだ丸底フラスコに急いで移し、高真空中に置いた。この物質を一晩、高真空中で放置し、淡褐色の固体として、実施例1の表題化合物6.5(84%)を生じた；融点121~124(分解あり)； $^1\text{H}$  NMR(400MHz、MeOD)  $\delta$  5.36(m, 10H)、3.03(s, 6H)、2.84(m, 8H)、2.18(m, 2H)、2.10(m, 4H)、1.66(m, 2H)、0.97(t,  $J=7.57\text{Hz}$ , 3H)； $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_2$ に対する質量分析(エレクトロスプレーイオン化法)  $m/z$  301.2(M-H) $^+$ 。

【0050】

実施例2

{[アミノ(イミノ)メチル]アミノ}(ジメチルアミノ)メタニミニウム(4Z, 7Z, 10Z, 13Z, 16Z, 19Z)-ドコサ-4, 7, 10, 13, 16, 19-ヘキサン酸の調製

【0051】

N,N-ジメチルイミドジカルボンイミド・ジアミド。N,N-ジメチルイミドジカルボンイミド・ジアミド塩酸塩(4.06g、24.5mmol)を1Nの水酸化ナトリウム(24.5mL、24.5mmol)に溶解し、室温で30分間攪拌した。溶液を真空中で濃縮し、残渣にエタノール(80mL)を添加した。共沸により水分を除去するために、混合物を注意して濃縮した。得た固体に、(60mL)を添加し、懸濁液を濾過して、沈殿した塩化ナトリウムを除去した。濾過物を濃縮し、得た固体を一晩、高真空中に置き、白色固体としてN,N-ジメチルイミドジカルボンイミド・ジアミド3.22g(102%)を生じた。

【0052】

{[アミノ(イミノ)メチル]アミノ}(ジメチルアミノ)メタニミニウム(4Z, 7Z, 10Z, 13Z, 16Z, 19Z)-ドコサ-4, 7, 10, 13, 16, 19-ヘキサン酸。

【0053】

N,N-ジメチルイミドジカルボンイミド・ジアミド(968mg、7.61mmol)をアセトニトリル(36mL)に溶解し、得た溶液をメディアムフリットを通して濾過し、沈殿していた少量の塩化ナトリウムを除去した。濾過物に、室温で(5分の期間をかけて)、(4Z, 7Z, 10Z, 13Z, 16Z, 19Z)-ドコサ-4, 7, 10, 13, 16, 19-ヘキサン酸(2)(2.00g、6.09mmol)を含むアセトニトリル(35mL)溶液を滴下した。白色の固体が酸の添加後、直ちに沈殿した。反応フラスコを光から防護するためにホイルで包んだ。混合物を室温で1時間攪拌した後、1時間0で冷却し、その後、窒素雰囲気下で濾過した。得た固体を50mLの氷冷のアセトニトリルで洗浄した後、ホイルで包んだ丸底フラスコに急いで移し、高真空中に置いた。この物質を一晩、高真空中で放置し、淡褐色の固体として、1を2.54g(91%)生じた。この物質は空気および光に感応することが判明し、したがって、窒素下で琥珀色

のガラス瓶で保管した：融点 124 ~ 127 (褐色に変色)；<sup>1</sup>H NMR (400 MHz、MeOD) 5.36 (m, 12H)、3.03 (s, 6H)、2.85 (m, 10H)、2.37 (m, 2H)、2.19 (m, 2H)、2.09 (m, 2H)、0.97 (t, J = 7.57 Hz, 3H)；C<sub>22</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub> に対する質量分析 (エレクトロスプレーイオン化法) m/z 327.3 (M-H)。

【0054】

#### 実施例 3

{[アミノ(イミノ)メチル]アミノ}(ジメチルアミノ)メタニミニウム (5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z) - ドコサ - 5, 8, 11, 14, 17 - ペンタ塩酸の調製

【0055】

N, N - ジメチルイミドジカルボンイミド・ジアミド。

【0056】

メトホルミン塩酸塩 (331.25 g、2 モル) を攪拌棒を含む 4000 mL に測り取った。1 N の KOH (1980 mL, 1.998 モル) を添加し、ビーカーを覆い、混合物を 2 時間攪拌した。真空濾過により固体を採取し、濾過物を濃縮して、湿気を帯びた固体にした。イソプロパノール (500 mL) を添加し、短時間、回旋した後、混合物を濃縮した。残渣の白色固体を真空オーブンで 16 時間、乾燥した (収量：269.08 g)。

【0057】

{[アミノ(イミノ)メチル]アミノ}(ジメチルアミノ)メタニミニウム (5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z) - エイコサ - 5, 8, 11, 14, 17 - ペンタエン酸。

【0058】

メトホルミン遊離塩基 (50.10 g、0.366 モル) を攪拌棒を含む 4000 mL ビーカーに測り取った。CH<sub>3</sub>CN (2000 mL) を添加し、メトホルミンが溶解するまで、混合物を素早く攪拌した。細かい白色固体を真空濾過により除去した (注 10、11)。~ 30 分後、濁った濾過物を同一の溶媒を通して濾過し、透明な濾過物を 5000 mL の三口平底フラスコに移し、それに完全な攪拌シャフトアセンブリ、N<sub>2</sub> 取入口および添加漏斗および気泡管を装着した。漏斗にエイコサペンタエン酸 (100.01 g、0.324 モル) を含むアセトニトリル (500 mL) 溶液を 70 分かけて滴下し、装填した。2 時間、攪拌した後、フラスコに N<sub>2</sub> バルーンを装着し、密封し、一晚、冷蔵庫に保管した。灰白白固体を真空濾過で採取し、アセトニトリル (500 mL) で洗浄した。湿気を帯びた固体をパイレックスの皿に移し、24 時間、真空オーブンの中に保管した。オーブンは窒素ガスで通気し、ベージュ色固体を乳棒を使って、乳鉢の中で粗く粉碎した後、N<sub>2</sub> で洗浄しておいた琥珀色の瓶に写し、実施例 3 の化合物を得た (収量：130.49 g)。

【0059】

#### 実施例 4

実施例 1 の化合物の水溶性を、エイコサペンタエン酸 (EPA) の水溶性と比較した。

【0060】

試験化合物の水溶性の測定は、当業者にはよく知られた方法を使って達成される。具体的には、実施例 1 の試験化合物の計量した量に対して、透明な溶液が得られるまで少量ずつ蒸留水を添加する。溶液の総容量を測定する。水溶性は、塩の重量 (単位：mg) を溶液の容量 (単位：mL) で除算することにより求められる。上記の手法を使って測定したとき、実施例 1 の化合物の水溶性は、50 mg/mL と計算された。同様に、EPA の水溶性は < 0.2 mg/mL と求められた。したがって、実施例 1 の化合物の水溶性は、EPA そのものの水溶性より、少なくとも 250 倍高い。これは本発明の化合物が予想せぬほど高い度合いのバイオアベイラビリティを有するという明確な示唆である。水溶性の高

10

20

30

40

50

い医薬調製物を経口投与したとき、かかる調製物は、胃腸管から体循環へと効率よく吸収される。かかる調製物は血流に急速に吸収されるので、血中に活性薬剤が高濃度で流れることになる。さらに、水溶性調製物は、非経口投与、例えば、静脈内投与にも特に適している。

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I	
A 6 1 P	3/10	(2006.01)	A 6 1 P	3/10
A 6 1 P	3/06	(2006.01)	A 6 1 P	3/06
A 6 1 P	3/04	(2006.01)	A 6 1 P	3/04
A 6 1 P	9/00	(2006.01)	A 6 1 P	9/00
A 6 1 P	9/06	(2006.01)	A 6 1 P	9/06

- (72)発明者 バナヴァラ・エル・ミラリ  
 アメリカ合衆国・フロリダ・33558・ルッツ・アシュトン・グリーン・ドライブ・16617
- (72)発明者 フランク・シー・シャヴォリーノ  
 アメリカ合衆国・コネチカット・06385・ウォーターフォード・オスウェガチ・ロード・51

審査官 品川 陽子

- (56)参考文献 国際公開第2010/127099(WO, A1)  
 特表2007-509971(JP, A)  
 特表2010-539229(JP, A)  
 特表2010-516759(JP, A)  
 特表2009-526033(JP, A)  
 特表2006-520335(JP, A)  
 特表2004-517105(JP, A)  
 米国特許出願公開第2003/0220301(US, A1)  
 米国特許出願公開第2010/0021555(US, A1)  
 米国特許出願公開第2009/0054513(US, A1)  
 米国特許出願公開第2008/0260819(US, A1)  
 米国特許出願公開第2010/0105773(US, A1)

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)  
 C 0 7 C 2 7 9 / 2 6  
 C 0 7 C 2 7 7 / 0 8  
 C 0 7 C 5 1 / 4 1  
 C 0 7 C 5 7 / 0 3  
 A 6 1 K 3 1 / 1 5 5  
 A 6 1 K 3 1 / 2 0 2  
 C A p l u s / R E G I S T R Y ( S T N )